

ẢNH HƯỞNG CỦA CHITOSAN KLPT THẤP ĐẾN SỰ SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA MỘT SỐ LOẠI RAU

Nguyễn Văn Bình, Nguyễn Thị Thơm, Hoàng Đăng Sáng, Trần Băng Diệp,
Trần Xuân An, Trần Minh Quỳnh

Trung tâm Chiếu xạ Hà Nội

*Viện Năng lượng Nguyên tử Việt Nam, *tmqthuquynh@gmail.com*

Tóm tắt:

Các chitosan khối lượng phân tử (KLPT) thấp khác nhau đã được chuẩn bị bằng cách chiếu xạ cắt mạch trên thiết bị chiếu xạ gamma tại Trung tâm Chiếu xạ Hà Nội. Ảnh hưởng của chúng đến sự sinh trưởng và phát triển rau cải bắp, cà chua, cải củ đã được khảo sát bằng cách phun các dung dịch chitosan khác nhau với nồng độ 50 ppm lên thân và lá. Các chỉ tiêu nông học gồm chiều cao cây, độ dài rễ, sinh khối tươi và khô đã được xác định nhằm lựa chọn phân đoạn chitosan có khả năng kích thích tăng trưởng cao nhất làm thành phần kích thích sinh trưởng trong công thức phân bón. Kết quả đã lựa chọn được phân đoạn chitosan có KLPT trong khoảng 10-30 kDa, CTS2 đạt được khi chiếu xạ dung dịch chitosan ban đầu với liều 25 kGy là phân đoạn phù hợp nhất làm thành phần kích thích sinh trưởng thực vật trong công thức phân bón. Và hàm lượng CTS2 trong khoảng 50-75 ppm là thích hợp để tăng hiệu quả phân bón lá đối với cây rau.

Từ khóa: *Chitosan, chiếu xạ gamma, khối lượng phân tử, sinh trưởng*

1. MỞ ĐẦU

Các polysaccharit biển đã được quan tâm nghiên cứu và ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau nhờ đặc tính phân hủy, tương hợp sinh học và không độc. Trong số đó, chitosan được biết đến như là polysaccharit tự nhiên, đa nhóm chức với phổ ứng dụng rộng trong nhiều lĩnh vực. Là sản phẩm deacetyl hóa của chitin, chitosan chứa các đơn vị glucosamine và N-acetylglucosamine liên kết với nhau thông qua liên kết $\beta(1-4)$ -glucoside. Cấu trúc này có thể biến đổi để mở rộng phạm vi ứng dụng thực tiễn, nhất là làm vật liệu y sinh. Trong lĩnh vực nông nghiệp, chitosan có khả năng kích thích và điều hòa sự sinh trưởng của cây trồng. Khả năng kháng vi sinh vật chitosan được dùng như tác nhân kích kháng bệnh bổ sung vào thuốc bảo vệ thực vật mà không gây ô nhiễm môi trường. Bên cạnh đó, chitosan còn có thể tạo màng sinh học với khả năng điều chỉnh và kiểm soát độ ẩm, độ thoáng khí cũng như hình thành môi trường vi khí quyển xung quanh thực phẩm bảo quản, cung cấp oxy tốt hơn nhiều so với màng bao gói bằng polyethylene, polypropylene thông thường. Dù cơ chế kích thích và điều hòa sinh trưởng thực vật của chitosan vẫn chưa hoàn toàn sáng tỏ, song các kết quả nghiên cứu cho thấy chitosan giúp làm tăng hoạt tính của các enzym chuyển hóa nitơ chính (nitrate reductase, glutamine synthetase và protease) của cây trồng, cải thiện tốc độ vận chuyển N trong lá, thúc đẩy sự sinh trưởng và phát triển của cây [1-3].

Một số kết quả nghiên cứu gần đây cho thấy, hoạt tính kích thích sinh trưởng thực vật của chitosan được cải thiện khi khối lượng phân tử của nó giảm xuống, đến mức mà cây trồng có thể hấp thu một cách hiệu quả, đặc biệt hoạt tính này của các oligo-chitosan (KLPT dưới 10 kDa) cao hơn nhiều so với chitosan ban đầu [4]. Chitosan KLPT thấp khoảng 20 kDa có khả năng kích thích hạt giống nảy mầm, và sản phẩm KLPT dưới 6 kDa có hiệu quả kích thích sinh trưởng mạnh, nên chitosan KLPT thấp hoặc oligochitosan đã được dùng kết hợp với thành phần khác trong công thức phân bón [5]. Một số phương pháp khác nhau đã được áp dụng để cắt mạch chitosan như thủy phân hóa học, phân hủy enzyme hoặc xử lý vật lý... Trong số các phương pháp đang được áp dụng, cắt mạch bức xạ đã được xem là một trong những biện pháp thân thiện và hiệu quả, có thể áp dụng trên quy mô lớn.

Nghiên cứu về hiệu ứng bức xạ đối với dung dịch chitosan, Kume và Takehisa là những người đầu tiên nhận thấy, bức xạ gamma đã làm thay đổi một số đặc tính hoá lý của dung dịch chitosan như điện tích bề mặt, độ nhớt, và KLPT của chúng. Kết quả của họ chỉ ra

rằng bức xạ gamma đã làm đứt gãy mạch phân tử chitosan tạo các sản phẩm chitosan có KLPT thấp hơn so với khi chiếu xạ bột chitosan ở trạng thái khô [6]. Trong nghiên cứu này, các phân đoạn chitosan KLPT thấp CTS1, CTS2, CTS3 và CTS4, với KLPT tương ứng <10, 10-30, 30-60 và 60-100 kDa được tạo ra bằng cách chiếu xạ dung dịch chitosan dạng bột ngâm trong H_2O_2 với liều xạ 10, 15, 25 và 50 kGy, và ảnh hưởng của chúng đến sự sinh trưởng, phát triển của cải bắp, cà chua và cải củ đã được khảo sát nhằm lựa chọn loại KLPT chitosan có hiệu quả kích thích tăng trưởng tốt nhất làm thành phần kích thích sinh trưởng thực vật và hàm lượng phù hợp bổ sung làm tăng hiệu quả phân bón lá.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Chitosan có KLPT 287.000 daltons, độ deacetyl hóa 80%, dạng bột trắng đục được cung cấp bởi công ty TNHH Chitosan Việt Nam (Kiên Giang). Axit acetic (dạng tinh thể băng glacial), hydrogen peroxide (H_2O_2) được mua từ công ty hóa chất DeaJung (Gyeonggi, Hàn Quốc) và các chất khác được mua từ hãng Merck, Đức.

Dung dịch chitosan 2,5% được chuẩn bị trong axit axetic 2%, bổ sung H_2O_2 1% [7] và chiếu xạ các liều 50, 25, 15 và 10 kGy để thu được các phân đoạn CTS1, CTS2, CTS3 và CTS4 có KLPT <10, 10-30, 30-60 và 60-100 kDa.

2.2. Bố trí thực nghiệm



Hình 1. Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của chitosan đến sự phát triển của cây rau

Trong nghiên cứu này, đất trồng được sử dụng là đất phù sa, được làm xốp và đánh luống rộng $1,2 \times 2,5 \text{ m}^2$, cao 15-20cm, rãnh luống rộng 20-25cm. Các cây con của 3 loại rau cải bắp, cà chua, cải củ khỏe mạnh, cứng cáp được mua từ vườn ươm, được trồng thành 3-5 hàng trên luống tùy theo loại rau. Mỗi loại rau được trồng trên các luống thí nghiệm khác nhau và được chăm sóc theo quy định hiện hành [Nghị định 108/2017/NĐ-CP]. Các công thức bón phân khác nhau được áp dụng cho từng luống, mỗi công thức lặp lại 3 lần theo mô hình khối ngẫu nhiên (Hình 1). Các chỉ tiêu nông học gồm chiều cao cây, chiều dài rễ, sinh khối tươi và khô của cây rau ở giai đoạn phát triển sớm được theo dõi. Chitosan cũng được bổ sung

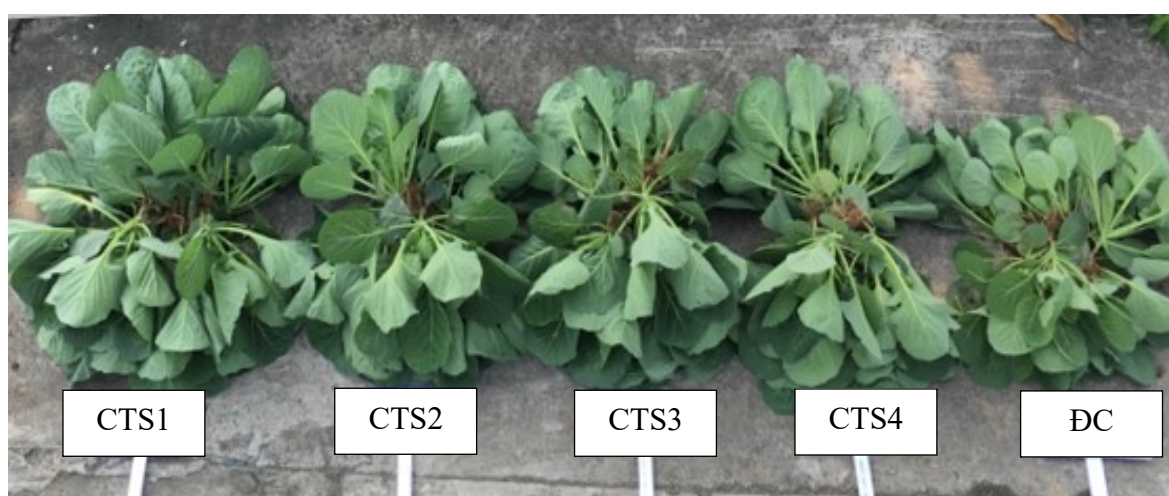
vào phân bón lá với hàm lượng khác nhau, và ảnh hưởng của chúng đến năng suất cải bắp được xác định.

2.3. Lựa chọn liều lượng chitosan bổ sung làm tăng hiệu quả phân bón

Các dung dịch chitosan KLPT thấp khác với cùng nồng độ 50 ppm được sử dụng để phun trên thân và lá cải bắp, cà chua và cải củ mỗi tuần một lần từ sau trồng 3 ngày đến khi thu hoạch. Ảnh hưởng của chúng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây được xác định và phân tích nhằm lựa chọn loại chitosan có hiệu quả kích thích sinh trưởng cao nhất làm thành phần kích thích sinh trưởng trong công thức phân bón. Phân đoạn này được bổ sung vào dung dịch phân bón Niphoska và phun trên cải bắp từ sau khi trồng đến lúc cuốn bắp, và liều lượng chitosan mà ở đó năng suất và bội thu năng suất cải bắp cao nhất được chọn để bổ sung làm tăng hiệu quả phân bón lá.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của chitosan đến sự sinh trưởng và phát triển của cây rau



Hình 2. Cây bắp cải 1 tháng tuổi được phun các dung dịch chitosan khác nhau

Ảnh hưởng của chitosan đến sự sinh trưởng và phát triển của cây rau đã được khảo sát với chitosan KLPT thấp đạt được bằng phương pháp cắt mạch bức xạ và chitosan không chiếu xạ, trong khi mẫu đối chứng chỉ được tưới bằng nước sạch với cùng điều kiện. Rõ ràng chitosan chiếu xạ đã làm cho cây bắp cải tăng trưởng mạnh như chỉ ra trên Hình 2. Thực tế, số lá trên mỗi cây, kích thước lá cũng như chiều cao cây, độ dài rễ đều tăng lên đáng kể khi được phun phân bón lá bổ sung chitosan chiếu xạ.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các dung dịch chitosan khác nhau đến đặc tính nông học của cải bắp

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Độ dài rễ (cm)	Sinh khối tươi (gam)	Sinh khối khô (gam)
Đối chứng	24,03	8,85	52,42	4,09
CTS0	27,96	10,33	95,41	7,00
CTS1	30,25	11,79	173,13	13,32
CTS2	30,21	11,09	168,34	12,93
CTS3	30,14	10,38	144,36	9,72
CTS4	28,65	11,25	124,2	8,68
LSD _{0,05}	0,37	0,5	1,4	0,25

Kết quả Bảng 1 cho thấy tất cả các chỉ tiêu nông học của cải bắp được phun dung dịch chitosan đều tăng so với đối chứng. Trong các mẫu được phun chitosan thì hiệu quả kích thích sinh trưởng của chitosan chiếu xạ cao hơn nhiều so với chitosan ban đầu, và tốc độ phát triển cao nhất đạt được với cây cải bắp được phun bổ sung dung dịch CTS1 và CTS2, với mức tăng

sinh khối trên 3 lần, từ 52,42 g đến 173,13 và 168,34 g tương ứng. Kết quả này cũng cho thấy sự phát triển chiều cao cây và chiều dài rễ giữa các công thức được phun bổ sung chitosan cắt mạch là không quá rõ rệt, nghĩa là sinh khối tăng chủ yếu do kích thước và diện tích lá tăng lên. Kết quả này phần nào chứng tỏ khả năng hấp thụ chitosan qua lá được cải thiện khi kích thước phân tử của nó giảm xuống.

Bảng 2. Ảnh hưởng của CTS2 tới sự phát triển của cây cà chua

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Độ dài rễ (cm)	Sinh khối tươi (gam)	Sinh khối khô (gam)
Đối chứng	36,87	11,0	30,59	4,28
CTS0	47,26	15,47	43,81	5,18
CTS1	65,2	18,59	64,26	7,82
CTS2	66,04	18,97	65,29	7,72
CTS3	56,34	15,34	57,19	6,31
CTS4	58,5	13,18	49,26	6,48
LSD _{0,05}	0,28	0,2	0,12	0,15

Kết quả tương tự cũng được ghi nhận đối với cây cà chua và củ cải như trình bày trên Bảng 2 và 3. Tuy nhiên, có sự khác biệt rõ rệt hơn về chiều cao cây và độ dài rễ của các cây cà chua, củ cải được phun các dung dịch chitosan khác nhau. Các kết quả thu được cũng khẳng định việc phun chitosan đã kích thích sự sinh trưởng và phát triển của cây rau, và các cây rau được phun chitosan cả chiếu xạ và không chiếu xạ đều có chỉ số nông học cải thiện so với mẫu đối chứng chỉ tưới bằng nước lạnh. Cây cà chua phát triển mạnh nhất khi được phun dung dịch CTS2, trong khi đối với củ cải là CTS1, song sự khác biệt với mẫu rau được phun CTS2 là không đáng kể.

Bảng 3. Ảnh hưởng của CTS2 tới sự phát triển của cây cải củ

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Độ dài rễ (cm)	Sinh khối tươi (gam)	Sinh khối khô (gam)
Đối chứng	22,34	6,8	8,33	0,68
CTS0	25,05	8,38	11,45	0,864
CTS1	30,34	9,72	15,67	1,23
CTS2	29,49	9,45	15,47	1,19
CTS3	26,32	9,31	13,03	0,94
CTS4	26,07	7,21	12,68	0,99
LSD _{0,05}	0,32	0,56	0,57	0,05

Nghiên cứu ảnh hưởng của chitosan KLPT thấp và oligo-chitosan đến sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng, một số tác giả cũng cho thấy hiệu ứng kích thích sinh trưởng thực vật của oligo-chitosan cao hơn chitosan [8-10]. Kết quả của chúng tôi còn cho thấy, cây được phun chitosan chiếu xạ ít bị sâu bệnh hơn cây đối chứng. Điều này là phù hợp với một số nghiên cứu rằng chitosan có khả năng kích kháng bệnh thực vật [9].

3.2. Lựa chọn chitosan và hàm lượng phù hợp cho sản xuất phân bón lá

Trên cơ sở kết quả thu được, có thể khẳng định rằng sự sinh trưởng của các cây rau được phun dung dịch CTS1 có KLPT <10 kDa, và CTS2 có KLPT trong khoảng 10-30 kDa trong giai đoạn phát triển sớm là tốt hơn so với các mẫu còn lại, song sự khác biệt về các chỉ tiêu nông học giữa chúng là không đáng kể. Trong khi để thu được CTS1 đòi hỏi liều chiếu cao gấp đôi so với CTS2 (50 và 25 kGy). Do vậy, phân đoạn CTS2 được lựa chọn để làm thành phần có khả năng kích thích sinh trưởng thực vật bổ sung vào công thức phân bón. Để xác định hàm lượng chitosan phù hợp làm tăng hiệu quả phân bón lá CTS2 đã được bổ sung vào dung dịch phân bón lá Niphoska với nồng độ 0, 25, 50, 75 và 100 ppm, và được bón cho cây cải bắp vào các giai đoạn 1, 3, 5 và 7 tuần sau khi trồng cho đến lúc cuốn bắp. Tương tự như đối với cải bắp trong

giai đoạn phát triển sớm, sự sinh trưởng và phát triển của cải bắp tăng mạnh khi sử dụng phân bón lá có bổ sung CTS2. Kết quả Bảng 4 cho thấy năng suất thực thu của cây cải bắp tăng mạnh thể hiện cả ở các chỉ tiêu về số lá trung bình trên cây trước khi cuốn bắp, kích thước và khối lượng bắp. Ngay cả khi lượng chitosan bổ sung thấp ở mức 25 ppm cũng làm tăng năng suất cải bắp đến 27,84%. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu của Ouyang S và Xu L [11] về ảnh hưởng của chitosan đến đặc tính nông học của cải bắp.

Bảng 4. Ảnh hưởng của phân bón lá bổ sung CTS2 đến năng suất cây cải bắp

Hàm lượng chitosan (ppm trong phân bón lá)	Năng suất thực thu (kg/m ²)	Bội thu năng suất (%)
0	19,68	0
25	25,17	27,84
50	30,07	52,85
75	30,46	54,78
100	29,93	52,03

Bội thu năng suất cải bắp do được chăm sóc bằng phân bón lá bổ sung CTS2 như thành phần kích thích sinh trưởng cũng được xác định theo chênh lệch năng suất giữa công thức thí nghiệm và đối chứng (0 ppm). Kết quả Bảng 4 cũng cho thấy bội thu năng suất cao nhất đối với cải bắp đạt được khi được chăm bằng phân bón lá bổ sung CTS nồng độ 50-75 ppm. Cụ thể, bội thu năng suất đạt 52,85 và 54,78% khi được phun phân bón lá Niphoska chứa 50 và 75 ppm CTS2. Khi nghiên cứu về hoạt tính kích thích sinh trưởng của chitosan đối với cà chua và ớt, Islam và CS cũng cho thấy hoạt tính kích thích sinh trưởng của chitosan tăng theo hàm lượng của nó, và hiệu ứng kích thích sinh trưởng cao nhất đạt được khi nồng độ chitosan là 75 ppm [9].

KẾT LUẬN

Hiệu ứng kích thích tăng trưởng của chitosan đã được khẳng định đối với sự sinh trưởng của cây cải bắp, cà chua và cải củ ở giai đoạn phát triển sớm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu ứng này tăng lên khi KLPT của chitosan giảm xuống. Các chỉ tiêu nông học của cây rau được tưới bổ sung với dung dịch chitosan nồng độ 50 ppm đều tăng so với đối chứng và tốc độ phát triển cao nhất đạt được khi phun CTS1 có KLPT <10 kDa với cải bắp và cải củ, và khi phun CTS2 có KLPT trong khoảng 10-30 kDa đối với cà chua.

Do sự chênh lệch về các chỉ tiêu nông học giữa các lô cây được phun CTS1 và CTS2 là không quá khác biệt, liều chiếu xạ để thu được CTS1 cao gấp đôi so với CTS2, nên phân đoạn CTS2 đã được lựa chọn để làm thành phần kích thích sinh trưởng bổ sung vào công thức phân bón. Cây cải bắp đã được chăm sóc bằng phân bón lá Niphoska bổ sung CTS2 nồng độ khác nhau, năng suất và bội thu năng suất cải bắp đã được xác định. Kết quả cho thấy hàm lượng CTS2 trong khoảng 50-75 ppm là phù hợp để làm tăng hiệu quả phân bón lá, giúp bội thu năng suất đạt trên 50%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. ChunYan L, GuoRui M, WenYing H. "Induction effect of chitosan on suppression of tomato early blight and its physiological mechanism", *J Zhejiang Univ Agric Life Sci*, (29), 280-286, 2003.
2. Gornik K, Grzesik M, Duda BR. "The effect of chitosan on rooting of grapevine cuttings and on subsequent plant growth under drought and temperature stress", *J Fruit Ornamental Plant Res*, (16), 333-343, 2008.
3. Ravi Kuma, M. "A review of chitin and chitosan applications", *Reactive and Functional Polymers*, 46(1), 1-27, 2000.
4. Xia W, Liu P, Zhang J, Chan J. "Biological activities of chitosan and oligosaccharides", *Food Hydrocolloids*, (25), 170-179, 2011.

5. Hossain HA, Hoque MM, Khan MA, Islam JMM, Naher S. "Foliar Application of Radiation processed chitosan as Plant growth promoter and Anti-fungal agent on Tea plants", *Int J Sci & Eng Res*,4(8), 1693-1698, 2013.
6. Kume and Takehisa M. "Effect of gamma irradiation on chitosan". In: *Proceedings of the 2nd International Conference on chitin and chitosan. Sapporo, Japan*, 66-70, 1982.
7. N. N. Duy, D. V. Phu, N. T. Anh, N. Q. Hien. "Synergistic degradation to prepare oligochitosan by γ -irradiation of chitosan solution in the presence of hydrogen peroxide", *Radiation Physics and Chemistry*, (80), 848-853, 2011.
8. Katiyar, D., Hemantaranjan, A., Singh, B., & Bhanu, A. N. "A future perspective in crop protection: Chitosan and its oligosaccharides", *Advances in Plants and Agriculture Research*, (1), 00006, 2014.
9. Islam MM, Kabir MH, Mamun ANK, Islam M, Das P. "Studies on yield and yield attributes in tomato and chilli using foliar application of oligo-chitosan", *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 03(03), 020–028, 2018.
10. Xia, W. Liu, P., Zhang, J., & Chen, J. "Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides", *Food Hydrocolloids*, (25), 170–179, 2011.
11. Ouyang S, Xu L. "Effects of chitosan on nutrient qualities and some agronomic characters of non-heading Chinese cabbage", *Plant Physiology Communications*, 39(1), 21-24, 2003.

EFFECTS OF LOW MOLECULAR WEIGHT CHITOSAN TO GROWTH OF VEGETABLES

NV. Binh, NT. Thom, HD. Sang, TB. Diep, TX.An, TM. Quynh¹

*Radiation Technology and Materials Department, Hanoi Irradiation Center,
Vietnam Atomic Energy Institute, Ly Thuong Kiet, Hanoi, Vietnam,
tmqthuquynh@gmail.com

Abstract:

Different low molecular weight chitosan prepared by radiation degradation of chitosan solution containing H₂O₂ under gamma Co-60 at Hanoi Irradiation Center. And their effects on the growth of vegetables have been investigated with cabbage, tomato, and radish as model plants by spraying 50 ppm chitosan on the plant leaves. The control samples were sprayed with clean water. In these experiments, the development criteria include in plant height, root length, dry biomass, and fresh biomass were investigated using plant bio-physiology methods. The results indicated that CTS2, a chitosan with Mw of 10-30 kDa, obtained by gamma irradiation at 25 kGy can be applied as a plant growth promoter. The solution of 50-75 ppm CTS2 was suitable to add to foliar fertilizer in order to promote its efficiency for vegetable.

Keywords: *Chitosan, gamma irradiation, molecular weight, growth*