

Khảo sát ảnh hưởng của nitrogen lên sự tăng trưởng và tích lũy nitrate ở cây cải bẹ xanh (*Brassica juncea* L.) trong hệ thống thủy canh hồi lưu

Trần Thị Thanh Hiền*, Trần Thanh Thắng



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Hàm lượng nitrate (NO_3^-) trong thực phẩm, đặc biệt là rau ăn lá là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng rau quả hiện nay. Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm kiểm tra dư lượng nitrate nhưng chủ yếu là thu mẫu và phân tích hàm lượng trong rau ở các khu chợ địa phương. Ở Việt Nam, các công bố về mối tương quan giữa hàm lượng nitrogen, tỉ lệ $\text{NO}_3^- / ^+\text{NH}_4$ lên sự tăng trưởng và tích lũy nitrate còn khá hạn chế và đa phần trên đối tượng được trồng trên đất. Cải bẹ xanh là một loại rau có giá trị cao và được sử dụng phổ biến trên cả nước. Tuy nhiên, ảnh hưởng của nitrogen đến sự tích tụ nitrate trong cải bẹ xanh được trồng bằng phương pháp thủy canh vẫn chưa được làm rõ. Bài báo trình bày việc khảo sát cây cải bẹ xanh được nuôi trong môi trường MS với bốn nghiệm thức có tỉ lệ $\text{NO}_3^- / ^+\text{NH}_4$ khác nhau (2/1; 1,5/1; 3/1 và 4/0) trong hệ thống thủy canh hồi lưu. Kết quả cho thấy, nhu cầu về nitrogen của cây thay đổi ở mỗi giai đoạn, cây cần tỉ lệ $\text{NO}_3^- / ^+\text{NH}_4$ thấp ở giai đoạn tăng trưởng chậm và tỉ lệ $\text{NO}_3^- / ^+\text{NH}_4$ cao ở giai đoạn tăng trưởng nhanh. Ngoài ra, sự gia tăng hàm lượng nitrate còn giúp gia tăng hàm lượng chlorophyll trong lá. Sự loại $^+\text{NH}_4$ hoàn toàn trong môi trường kích thích sự tích lũy nitrate trong cây. Nghiên cứu cho thấy môi trường phù hợp với sự nuôi trồng thủy canh ở cây cải bẹ xanh là môi trường MS có bổ sung gấp đôi hàm lượng KNO_3 . Trong môi trường này, cây tăng trưởng tốt, hàm lượng chlorophyll trong lá cao và đặc biệt hàm lượng nitrate trong lá ($417,59 \pm 10,51$ mg/kg trọng lượng tươi) nằm trong giới hạn cho phép để sử dụng (< 500 mg/kg rau tươi).

Từ khoá: cải bẹ xanh, nitrate, nitrogen, tăng trưởng, thủy canh hồi lưu, tích lũy

Khoa Sinh học và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Liên hệ

Trần Thị Thanh Hiền, Khoa Sinh học và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Email: ttthien@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 25-2-2022
- Ngày chấp nhận: 05-8-2022
- Ngày đăng: 21-8-2022

DOI: 10.32508/stdjns.v6i3.1170



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



MỞ ĐẦU

Cải bẹ xanh (*Brassica juncea* L.) là một loại rau ăn lá phổ biến có giá trị kinh tế cao, chứa nhiều chất xơ, chất chống oxy hoá, khoáng chất như Ca, P, Zn và các vitamin nhóm B tốt cho sức khỏe con người^{1,2}. Trong y học, cải bẹ xanh còn có công dụng giảm đau họng, đau đầu, làm sạch máu, điều trị béo phì, cải thiện chức năng thận, tim mạch và hệ tiêu hóa^{3,4}. Với nhu cầu tiêu dùng ngày càng cao như hiện nay, một số phương pháp cải tiến đã được áp dụng nhằm gia tăng năng suất thu hoạch, và thủy canh là một trong những phương pháp hiệu quả. Tuy nhiên, cũng giống như canh tác trồng đất thông thường, nếu môi trường dinh dưỡng không được kiểm soát hiệu quả dễ gây ra hiện trạng dư thừa hàm lượng nitrate trong rau. Thậm chí, cây trồng trong hệ thống thủy canh có mức độ dư lượng nitrate cao hơn so với được trồng thông thường⁵. Tại Việt Nam, nhiều nghiên cứu cũng cho thấy hàm lượng nitrate trong các loại rau ăn lá ở các khu vực như Huế, Bắc Ninh, thành phố Hồ Chí Minh phần lớn đều vượt ngưỡng tiêu chuẩn của theo quy định quốc

gia⁶⁻⁸. Việc tiêu thụ các loại rau có hàm lượng nitrate cao có thể làm oxy hóa hemoglobin thành methemoglobin dẫn đến việc thiếu oxy vận chuyển đến các tế bào. Ngoài ra, sự chuyển đổi nitrate thành nitrite có thể liên kết với amine để tạo ra nitrosamine gây ung thư cho cơ thể^{9,10}. Do đó, việc đảm bảo hàm lượng nitrate trong rau ăn lá đã trở thành một mục tiêu quan trọng nông nghiệp và thực phẩm.

Theo Bian và cs.¹¹, sự tích tụ nitrate trong các mô thực vật xảy ra khi có sự mất cân bằng giữa sự hấp thụ và đồng hóa của các dạng nitrogen, và lượng nitrogen dư sẽ được dự trữ trong không bào. Các yếu tố chính ảnh hưởng đến sự tích tụ nitrate trong thực vật là yếu tố di truyền, môi trường sống, yếu tố dinh dưỡng, đặc biệt là tỉ lệ ion chứa nitrogen¹². Chính vì vậy, cần đánh giá ảnh hưởng của nitrogen và tỉ lệ $\text{NO}_3^- / ^+\text{NH}_4$ lên sự tăng trưởng và tích lũy nitrate trong cải bẹ xanh được trồng theo phương pháp thủy canh hồi lưu.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Trích dẫn bài báo này: Hiền T T T, Thắng T T. Khảo sát ảnh hưởng của nitrogen lên sự tăng trưởng và tích lũy nitrate ở cây cải bẹ xanh (*Brassica juncea* L.) trong hệ thống thủy canh hồi lưu. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 6(3):2158-2166.

Vật liệu

Hột cải bẹ xanh mỡ cao sản (*Brassica juncea* L.) có khả năng kháng bệnh, năng suất cao, thời gian phát triển 1–1,5 tháng, trồng chủ yếu ở khu vực Đông Nam Bộ và đồng bằng sông Cửu Long được cung cấp bởi Công ty TNHH và thương mại Phú Nông.

Thí nghiệm 1: Chuẩn bị cây giống thí nghiệm và khảo sát sự tăng trưởng của cây cải xanh theo thời gian

Hột giống được ngâm trong nước 60 phút rồi gieo vào khay nhựa 28 x 35 x 7 cm có trải miếng mút dày 2,5 cm thấm nước. Sau 7 ngày, các cây con có chiều cao 2 cm với lá thật sẽ được chọn lựa và đặt vào hệ thống thủy canh hồi lưu (kích thước ống nhựa 6 x 6 cm) chứa môi trường MS¹³ (chứa khoáng đa lượng và vi lượng). Môi trường dinh dưỡng MS (30 L) được chứa trong các thùng xốp có dung tích 50 L với kích thước 60 x 40 x 30 cm kèm theo một hệ thống bơm nước liên tục (2 cm/s) để dẫn dòng dinh dưỡng vào các ống nhựa. Diện tích một ô thí nghiệm là 1,2 m² (gồm 3 hàng, mỗi hàng 13 rọ, mỗi rọ gieo 2 cây). Hệ thống thủy canh được đặt trong nhà lưới với cường độ ánh sáng khoảng 6000 lux, nhiệt độ 28–33°C và độ ẩm không khí khoảng 70% (Hình 1). Trong thời gian thí nghiệm, nồng độ TDS của môi trường được điều chỉnh mỗi ngày về giá trị ban đầu (cây ở giai đoạn từ tuần 2–4 có TDS là 450–500 ppm, cây ở giai đoạn từ tuần 4–5 có TDS là 750–800 ppm, cây ở giai đoạn từ tuần 5–6 có TDS là 950–1000 ppm) bằng cách thêm từ từ dung dịch MS vào thùng chứa sẵn điện cực của máy đo EC/TDS HI9835 (Hanna, Rumani). Theo dõi sự tăng trưởng của cây, ghi nhận diện tích lá (chụp ảnh và sử dụng phần mềm LIA-32¹⁴) và trọng lượng tươi của cây sau mỗi tuần.



Hình 1: Hệ thống thủy canh hồi lưu cây cải bẹ xanh. Thanh ngang 10 cm.

Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của nitơ lên sự tăng trưởng và tích lũy nitrate của cây cải xanh

Các cây con 7 ngày tuổi được đặt vào hệ thống thủy canh với 4 nghiệm thức dinh dưỡng khác biệt về hàm lượng nitrogen trong các nghiệm thức được trình bày trong Bảng 1. Trong thời gian thí nghiệm, nồng độ TDS của các nghiệm thức được điều chỉnh mỗi ngày về giá trị ban đầu bằng cách thêm từ từ dung dịch dinh dưỡng tương ứng vào thùng chứa (tương tự với thí nghiệm 1). Theo dõi sự tăng trưởng của cây, ghi nhận các giá trị chiều cao chồi (dùng thước đo cm đo từ vị trí cổ rễ đến ngọn chồi), số lá, diện tích lá và trọng lượng tươi của cây theo thời gian.

Nghiệm thức 1: Đối chứng (môi trường MS)¹³

Nghiệm thức 2: Môi trường MS với hàm lượng NH₄NO₃ gấp đôi

Nghiệm thức 3: Môi trường MS với hàm lượng KNO₃ gấp đôi

Nghiệm thức 4: Môi trường MS với hàm lượng KNO₃ gấp đôi và loại hoàn toàn NH₄NO₃

Phân tích hàm lượng chlorophyll a và b

Cân 1 g lá cải, sau đó nghiền nát trong cối với 10 mL dung dịch ethanol 96%, ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút trong 5 phút và lọc nhanh dịch chiết vào bình đựng mức. Tiếp theo, tiến hành định mức thành 50 mL, đo mật độ quang của dung dịch ở các bước sóng 470 nm, 649 nm và 665 nm. Hàm lượng chlorophyll được tính theo công thức của Lichtenthaler (1987)¹⁵.

Chlorophyll a = 13,36.A₆₆₅ - 5,19.A₆₄₉

Chlorophyll b = 27,34.A₆₄₉ - 8,12.A₆₆₅

Phân tích hàm lượng nitrate

Hàm lượng nitrate trong mẫu lá được xác định theo TCVN 8742:2011. Phương pháp sử dụng theo nguyên tắc chiết xuất nhanh nitrate trong môi trường nước bằng năng lượng vi sóng, sau đó chuyển hóa nitrate thành nitrophenoldisulfonic trong môi trường kiềm và đo sản phẩm có màu vàng đặc trưng ở bước sóng 410 nm¹⁶.

Chuẩn bị mẫu: Cân 1 g lá cải, sau đó nghiền nát trong cối với 50 mL nước cất, phá mẫu trong lò vi sóng 10 phút, ly tâm hỗn hợp trong 5 phút ở tốc độ 5000 vòng/phút, lọc lấy phần dịch nổi và định mức thành 100 mL.

Xây dựng đồ thị đường chuẩn và đo mẫu: Hút 5 mL dịch chiết mẫu và các dung dịch KNO₃ có nồng độ từ 0,2 đến 2 mg/L cho vào các erlen tương ứng. Sau đó có cạn dung dịch bằng lò vi sóng trong khoảng 10 phút.

Bảng 1: Hàm lượng nitrogen ở các nghiệm thức dinh dưỡng

Nghiệm thức	Hàm lượng (mM)			Tỉ lệ $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$
	Tổng nitrogen	NO_3^-	NH_4^+	
Đối chứng (MS)	0,6	0,4	0,2	2:1
MS x 2 NH_4NO_3	1,0	0,6	0,4	1,5:1
MS x 2 KNO_3	0,8	0,6	0,2	3:1
MS - NH_4NO_3 x 2 KNO_3	0,4	0,4	0,0	4:0

Tiếp theo, thêm vào môi erlen 1 mL dung dịch phenoldisulfonic acid, lắc đều và để phản ứng xảy ra trong 10 phút. Tiếp tục, thêm vào môi erlen 20 mL nước cất và kiểm hóa môi trường bằng dung dịch NaOH 10% dư đến khi dung dịch chuyển sang màu vàng ở pH từ 10 đến 11. Dung dịch được định mức đến 50 mL và đo mật độ quang ở bước sóng 410 nm. Hàm lượng nitrate trong mẫu được tính dựa theo đường chuẩn KNO_3 và được biểu thị với đơn vị mg nitrate/kg mẫu tươi.

Xử lý thống kê

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Số liệu được phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) dùng cho Windows phiên bản 20.0. Sự khác biệt có ý nghĩa 95% của giá trị được thể hiện bởi các mẫu tự kèm theo.

KẾT QUẢ

Sự tăng trưởng của cây cải bẹ xanh trong điều kiện nuôi trồng thủy canh hồi lưu

Sự tăng trưởng của cây cải bẹ xanh được nuôi trong môi trường đối chứng (MS) trên hệ thống thủy canh hồi lưu được chia thành 2 giai đoạn chính: tăng trưởng chậm (từ tuần thứ 2 đến tuần thứ 4) và tăng trưởng nhanh (từ tuần thứ 4 đến tuần thứ 6) tương ứng với sự thay đổi diện tích lá và trọng lượng tươi (Hình 2 và Hình 3). Trong giai đoạn tăng trưởng chậm, trọng lượng tươi và diện tích lá tăng rất chậm trong khi đó các giá trị này tăng nhanh trong giai đoạn tăng trưởng nhanh và cao gấp hai lần tại thời điểm tuần thứ 6.

Ảnh hưởng của nitrogen lên sự tăng trưởng của cây cải bẹ xanh

Kết quả thí nghiệm cho thấy ảnh hưởng của nitrogen phụ thuộc vào các giai đoạn tăng trưởng của cây cải bẹ xanh. Ở giai đoạn cây con và đầu tăng trưởng, diện tích lá và trọng lượng tươi của cây đạt cao nhất

ở nghiệm thức tăng gấp đôi hàm lượng NH_4NO_3 với các giá trị tương ứng $29,96 \pm 2,26 \text{ cm}^2$, $12,30 \pm 0,87 \text{ g}$ vào tuần 2 và $49,06 \pm 2,82 \text{ cm}^2$, $112,46 \pm 9,19 \text{ g}$ vào tuần 4. Tuy nhiên ở giai đoạn cuối tăng trưởng (tuần 6), diện tích lá và trọng lượng tươi đạt cao nhất ở nghiệm thức tăng gấp đôi hàm lượng KNO_3 với các giá trị tương ứng là $133,00 \pm 12,09 \text{ cm}^2$, $198,15 \pm 5,83 \text{ g}$. Sự thay đổi hàm lượng nitrogen và tỉ lệ $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ không làm thay đổi chiều cao chồi và số lá của cây (Bảng 2, Hình 4).

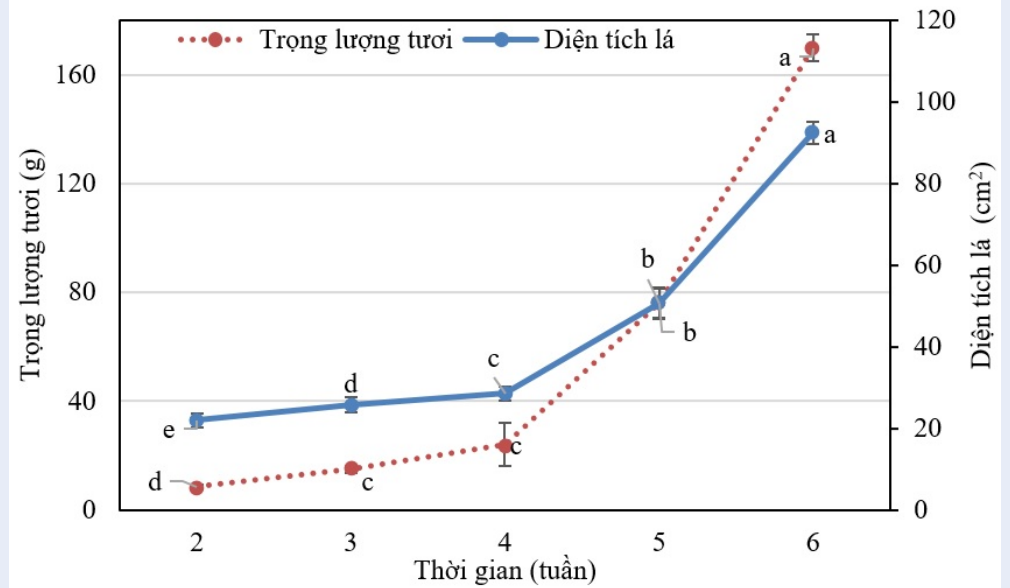
Ảnh hưởng của nitrogen lên sự thay đổi hàm lượng chlorophyll và tích lũy nitrate trong lá

Sau 4 tuần nuôi trồng trong hệ thống thủy canh, hàm lượng chlorophyll a và b đạt thấp nhất ở nghiệm thức tăng gấp đôi hàm lượng NH_4NO_3 , các nghiệm thức còn lại không có sự khác biệt ý nghĩa. Sau 2 tuần tiếp theo, hàm lượng chlorophyll a và b ở các nghiệm thức đều giảm mạnh và nghiệm thức có bổ sung gấp đôi hàm lượng KNO_3 đạt giá trị cao nhất ($0,35 \pm 0,02 \text{ mg/g}$ trọng lượng tươi).

Ngược lại, hàm lượng nitrate trong cây ở các nghiệm thức đều có sự gia tăng đáng kể theo thời gian. Ở thời điểm 4 tuần, hàm lượng nitrate đạt cao nhất ở hai nghiệm thức có bổ sung gấp đôi KNO_3 . Tại thời điểm thu hoạch (6 tuần), hàm lượng nitrate ở nghiệm thức có bổ sung gấp đôi KNO_3 đạt $417,59 \pm 10,51 \text{ mg/kg}$ trọng lượng tươi và nằm trong giới hạn cho phép của Tổ chức Y tế thế giới ($< 500 \text{ mg/kg}$ rau tươi). Sự loại hoàn toàn NH_4NO_3 và tăng gấp đôi hàm lượng KNO_3 dẫn đến sự vượt ngưỡng cho phép về hàm lượng nitrate trong rau ($658,37 \pm 9,59 \text{ mg/kg}$ trọng lượng tươi) (Bảng 3).

THẢO LUẬN

Trong nuôi trồng thủy canh có nhiều loại môi trường được nghiên cứu và sử dụng phổ biến, trong đó có môi trường MS. Môi trường MS được biết đến là một môi trường giàu dinh dưỡng, cung cấp các yếu tố khoáng cần thiết bao gồm đa lượng và vi lượng với



Hình 2: Sự tăng trưởng của cây cải bẹ xanh trong môi trường MS theo thời gian trên hệ thống thủy canh hồi lưu



Hình 3: Cây cải bẹ xanh tăng trưởng trong môi trường MS trên hệ thống thủy canh hồi lưu sau 2 (A), 3 (B), 4 (C), 5 (D) và 6 (E) tuần. Thanh ngang 2 cm.

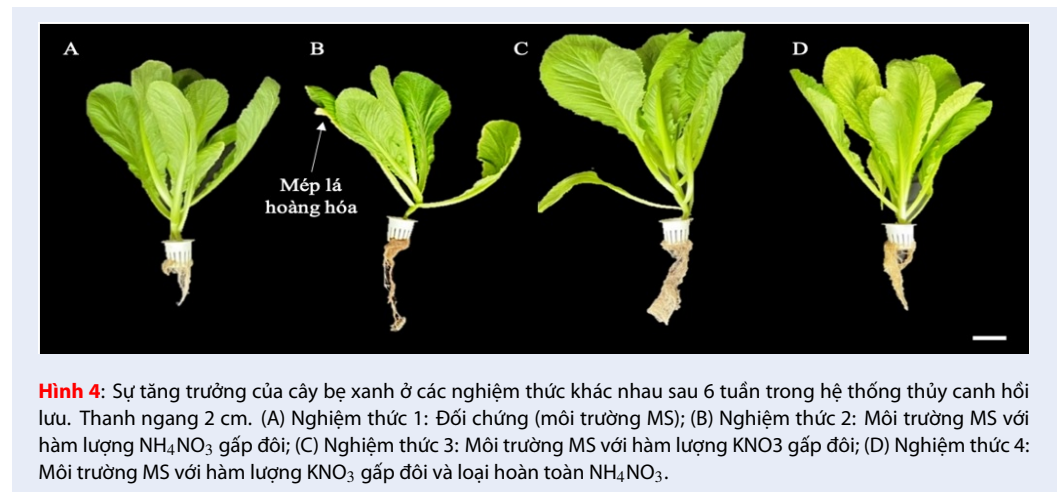
thành phần nguyên tố cao và cân đối¹⁷. Do đó, môi trường MS thường được sử dụng trong nghiên cứu cơ bản và thực tế ở một số loài cây như cúc, khoai tây, *Solanum microdontum*, *Taraxacum kok-saghz...*¹⁷⁻¹⁹. Do đó, trong nghiên cứu này môi trường MS được sử dụng như môi trường nền cho các thí nghiệm thay đổi nồng độ và tỉ lệ $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$. Ở thực vật, sự hấp thu và đồng hóa hai dạng nitrogen chính là nitrate (NO_3^-) và ammonium (NH_4^+) phụ thuộc vào tỉ lệ $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ trong môi trường, kiểu gene và trạng thái sinh lý của cây trồng²⁰. Phần lớn các loài thực vật ưu tiên hấp thu và sử dụng NO_3^- hơn NH_4^+ , mặc dù nhu cầu năng lượng cho việc hấp thu và đồng hóa NO_3^- cao hơn vì trong tế bào NO_3^- được khử

thành NH_4^+ dưới tác động của hệ thống reductase và NADPH^{21,22}. Kết quả thí nghiệm cho thấy, ở nghiệm thức có bổ sung gấp đôi KNO_3 cho hiệu quả tăng trưởng của cây cao hơn các nghiệm thức còn lại vào tuần thứ 6 (Bảng 2). Những nhóm cây thích NO_3^- hơn NH_4^+ thường có các biểu hiện ngộ độc NH_4^+ ở nồng độ khoảng 0,5 mM²¹. Tuy nhiên, sự tăng gấp đôi hàm lượng NH_4^+ lại cho kết quả cây tăng trưởng tốt ở giai đoạn tăng trưởng chậm (từ tuần 2 đến tuần 4) nhưng sau đó cây có dấu hiệu ngộ độc, lá hoàng hóa và giảm sinh khối (Bảng 2, Hình 2B). Điều này cho thấy sự hấp thu và mức độ gây độc của NH_4^+ còn phụ thuộc vào giai đoạn tăng trưởng của cây trồng. Ở giai đoạn cây con, NH_4^+ được ưu tiên sử

Bảng 2: Sự tăng trưởng của cây cải bẹ xanh theo thời gian

Thời điểm (tuần)	Nghiệm thức	Chiều cao chồi (cm)	Số lá	Diện tích lá (cm ²)	Trọng lượng tươi (g)
2	Đối chứng (MS)	2,40 ± 0,26 <i>ns</i>	4,00 ± 0,00 <i>ns</i>	21,90 ± 1,67 <i>b</i>	8,40 ± 0,89 <i>b</i>
	MS x 2 NH ₄ NO ₃	2,47 ± 0,21 <i>ns</i>	4,00 ± 0,00 <i>ns</i>	29,96 ± 2,26 <i>a</i>	12,30 ± 0,87 <i>a</i>
	MS x 2 KNO ₃	2,23 ± 0,68 <i>ns</i>	4,00 ± 0,00 <i>ns</i>	12,60 ± 2,95 <i>c</i>	8,20 ± 1,03 <i>b</i>
	MS - NH ₄ NO ₃ x 2 KNO ₃	2,27 ± 0,40 <i>ns</i>	4,00 ± 0,00 <i>ns</i>	13,20 ± 1,40 <i>c</i>	6,45 ± 0,51 <i>b</i>
4	Đối chứng (MS)	5,30 ± 0,67 <i>ns</i>	6,57 ± 0,33 <i>ab</i>	27,22 ± 1,72 <i>b</i>	88,00 ± 7,68 <i>b</i>
	MS x 2 NH ₄ NO ₃	6,12 ± 0,52 <i>ns</i>	7,05 ± 0,42 <i>a</i>	49,06 ± 2,82 <i>a</i>	112,46 ± 9,19 <i>a</i>
	MS x 2 KNO ₃	5,50 ± 1,50 <i>ns</i>	7,12 ± 0,30 <i>a</i>	54,61 ± 3,27 <i>a</i>	114,70 ± 7,48 <i>a</i>
	MS - NH ₄ NO ₃ x 2 KNO ₃	6,06 ± 1,05 <i>ns</i>	6,42 ± 0,67 <i>ab</i>	23,23 ± 2,79 <i>b</i>	86,33 ± 7,48 <i>b</i>
6	Đối chứng (MS)	7,90 ± 0,46 <i>ns</i>	8,73 ± 0,42 <i>ns</i>	90,00 ± 2,29 <i>b</i>	166,42 ± 4,81 <i>b</i>
	MS x 2 NH ₄ NO ₃	7,72 ± 1,51 <i>ns</i>	8,04 ± 0,58 <i>ns</i>	60,28 ± 5,43 <i>c</i>	138,53 ± 4,29 <i>c</i>
	MS x 2 KNO ₃	7,74 ± 0,63 <i>ns</i>	8,88 ± 0,37 <i>ns</i>	133,00 ± 12,09 <i>a</i>	198,15 ± 5,83 <i>a</i>
	MS - NH ₄ NO ₃ x 2 KNO ₃	8,16 ± 1,88 <i>ns</i>	8,73 ± 0,25 <i>ns</i>	75,69 ± 16,74 <i>c</i>	161,42 ± 9,23 <i>b</i>

Trong cùng một thời điểm, các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt với mức $p \leq 0,05$



Hình 4: Sự tăng trưởng của cây cải bẹ xanh ở các nghiệm thức khác nhau sau 6 tuần trong hệ thống thủy canh hồi lưu. Thanh ngang 2 cm. (A) Nghiệm thức 1: Đối chứng (môi trường MS); (B) Nghiệm thức 2: Môi trường MS với hàm lượng NH₄NO₃ gấp đôi; (C) Nghiệm thức 3: Môi trường MS với hàm lượng KNO₃ gấp đôi; (D) Nghiệm thức 4: Môi trường MS với hàm lượng KNO₃ gấp đôi và loại hoàn toàn NH₄NO₃.

dụng do trực tiếp tham gia vào quá trình biến dưỡng các acid amin, trong khi đó cây ở giai đoạn trưởng thành với tốc độ hấp thu ion tăng thì sự hiện diện của $^{+}NH_4$ quá mức sẽ gây độc cho tế bào²³. Điều này cũng được ghi nhận ở một số loài như đậu, thuốc lá, dưa hấu tăng trưởng trên môi trường có hàm lượng $^{+}NH_4$ cao²⁴⁻²⁶. Sự ngộ độc $^{+}NH_4$ có triệu chứng tương đồng với thiếu K^{+} do sự cạnh tranh hấp thu giữa các cation vào tế bào rễ²⁷. Theo Coskun và cs²⁸ nồng độ K^{+} cao trong dung dịch dinh dưỡng có thể làm giảm độc tính $^{+}NH_4$ bằng cách ngăn chặn hấp thu $NH_3/^{+}NH_4$ trong thời gian ngắn. Điều này giải thích tại sao ở nghiệm thức bổ sung gấp đôi KNO₃

cho hiệu quả tăng trưởng cao nhất vì không những làm giảm tỉ lệ $^{+}NH_4/NO_3^{-}$ mà còn cung cấp thêm nguồn K^{+} cho tế bào. Sự ngộ độc $^{+}NH_4$ ở lá có thể được nhận thấy thông qua sự hoàng hóa và sự giảm hàm lượng chlorophyll (Bảng 3). Theo Wen và cs.²⁹, khi tăng tỉ lệ $^{+}NH_4/NO_3^{-}$ sự biểu hiện của các gen *MdHEMA1* và *MdHEMA2*, mã hóa enzyme GlutRNA reductase bị ức chế, làm giảm sự biến đổi acid 5-aminolevulinic thành porphobilinogen (tiền chất trong quá trình tổng hợp chlorophyll). Thêm vào đó, sự cạnh tranh của $^{+}NH_4$ với Mg^{2+} cũng làm giảm hàm lượng chlorophyll trong lá vì Mg^{2+} là thành phần của vòng porphyrin trong cấu trúc phân tử chloro-

Bảng 3: Hàm lượng chlorophyll và nitrate trong lá cải bẹ xanh ở tuần thứ 4

Thời điểm (tuần)	Nghiệm thức	Hàm lượng (mg/g TLT)		Hàm lượng (mg/kg TLT)
		Chlorophyll ^a	Chlorophyll ^b	Nitrate
4	Đối chứng (MS)	0,93 ± 0,05 ^a	0,43 ± 0,02 ^a	87,39 ± 5,07 ^c
	MS x 2 NH ₄ NO ₃	0,64 ± 0,12 ^b	0,31 ± 0,01 ^b	87,85 ± 5,57 ^c
	MS x 2 KNO ₃	0,96 ± 0,11 ^a	0,46 ± 0,02 ^a	173,82 ± 11,49 ^b
	MS - NH ₄ NO ₃ x 2 KNO ₃	0,91 ± 0,04 ^a	0,45 ± 0,02 ^a	210,78 ± 25,03 ^a
6	Đối chứng (MS)	0,19 ± 0,02 ^b	0,15 ± 0,02 ^a	103,27 ± 7,56 ^c
	MS x 2 NH ₄ NO ₃	0,22 ± 0,02 ^b	0,16 ± 0,02 ^a	112,20 ± 9,54 ^c
	MS x 2 KNO ₃	0,35 ± 0,02 ^a	0,18 ± 0,02 ^a	417,59 ± 10,51 ^b
	MS - NH ₄ NO ₃ x 2 KNO ₃	0,27 ± 0,02 ^b	0,15 ± 0,03 ^a	658,37 ± 9,59 ^a

Trong cùng một thời điểm, các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt với mức $p \leq 0,05$

phyll²². Đi kèm với sự hoang hóa là sự giảm diện tích lá và sinh khối ở nghiệm thức bổ sung gấp đôi $^{+}NH_4$. Ở thực vật, tỉ lệ $^{+}NH_4/NO_3^{-}$ cao không những ức chế sự phân chia và kéo dài tế bào mà còn cản sự vận chuyển điện tử trong quá trình quang phosphoryl hóa ở lá dẫn đến sự giảm cường độ quang hợp và sinh khối cây³⁰. Kết quả phân tích cũng cho thấy cây tăng trưởng trong nghiệm thức MS bổ sung gấp đôi KNO₃ đạt giá trị hàm lượng chlorophyll a và b cao nhất (Bảng 3). Sự gia tăng hàm lượng chlorophyll trong cây ăn lá có ý nghĩa trong thực tế sản xuất vì việc bổ sung nguồn chlorophyll tự nhiên có trong thực phẩm giúp tăng cường khả năng chống viêm và oxy hóa ở người³¹. Chlorophyll giúp loại bỏ các gốc tự do có hại trong cơ thể và tránh các tổn thương cho tế bào³². Thêm vào đó, chlorophyll có thể tạo thành phức hợp với một số hóa chất gây ung thư như aflatoxin-B1 và một số amine dị vòng; và sự hình thành các cấu trúc này giúp hạn chế sự hấp thu của chúng vào đường tiêu hóa³³.

Kết quả phân tích nitrate trong cây cho thấy, càng gia tăng tỉ lệ $NO_3^{-}/^{+}NH_4$ thì hàm lượng nitrate trong lá càng cao (Bảng 3). Kết quả này cũng tương đồng với các công bố trên cây rau diếp được trồng theo phương pháp thủy canh và khí canh^{34,35}. Trong điều kiện giàu nitrate, rễ cây tăng cường hấp thụ NO_3^{-} vì NO_3^{-} có thể tích trữ an toàn trong không bào ở nồng độ 20–70 mM. Khi quá ngưỡng tích lũy, nitrate được vận chuyển lên tế bào lá và dự trữ tại không bào. Tế bào thực vật sở hữu hai hệ thống vận chuyển nitrate có các ái lực khác nhau là hệ thống vận chuyển ái lực cao (0,2–0,5 mM) và hệ thống vận chuyển ái lực thấp (trên 0,5 mM). Điều này giúp thực vật có thể hấp thụ nitrate mà gần như không có hiệu ứng bão hòa³⁶. Mặt khác, sự hiện diện của $^{+}NH_4$ trong

tế bào còn ức chế sự phiên mã gene tổng hợp nitrate reductase từ đó làm giảm quá trình chuyển hóa tri-trate thành nitrite³⁷. Điều này giải thích tại sao mặc dù tổng hàm lượng nitrate trong môi trường dinh dưỡng cao hơn ở nghiệm thức 3 (có NH₄NO₃ và gấp đôi KNO₃) nhưng hàm lượng nitrate trong lá lại thấp hơn nghiệm thức 4 (loại NH₄NO₃ và gấp đôi KNO₃) (Bảng 3). Hàm lượng nitrate trong nghiên cứu này (417,56 mg/kg trọng lượng tươi) ở nghiệm thức bổ sung gấp đôi hàm lượng KNO₃ thấp hơn mức quy định theo quy định số 99/2008/QĐ-BNN của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (< 500 mg/kg trọng lượng tươi) và điều này có ý nghĩa thực tế trong ứng dụng sản xuất, sử dụng để hạn chế các rủi ro liên quan đến việc tiêu thụ nitrate được ban hành bởi Tổ chức Y tế Thế giới^{38,39}.

KẾT LUẬN

Sự tăng trưởng của cây cải bẹ xanh trong hệ thống thủy canh hồi lưu gồm hai giai đoạn chính là tăng trưởng chậm (4 tuần đầu) và nhanh (2 tuần sau). Ở giai đoạn tăng trưởng chậm, cây cần tỉ lệ $NO_3^{-}/^{+}NH_4$ thấp và ở giai đoạn tăng trưởng nhanh cây cần tỉ lệ $NO_3^{-}/^{+}NH_4$ cao. Môi trường phù hợp cho sự nuôi trồng thủy canh là môi trường MS có bổ sung gấp đôi KNO₃, trong môi trường này cây tăng trưởng tốt và hàm lượng nitrate trong lá đạt chuẩn cho phép để sử dụng.

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

- EC: Electrical conductivity (Độ dẫn điện)
- TCVN: Tiêu chuẩn Việt Nam
- TDS: Total dissolved solids (Tổng chất rắn hòa tan)
- TLT: Trọng lượng tươi
- TNHH: Trách nhiệm hữu hạn

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Tác giả khẳng định không có bất cứ xung đột lợi ích nào.

ĐÓNG GÓP CỦA TÁC GIẢ

Các tác giả có đóng góp như nhau trong việc thực hiện thí nghiệm, phân tích kết quả và viết bản thảo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Dewi SK, Rahayu YS. The effectiveness of nutrient variation to hydroponic Caisim (*Brassica juncea* L.) growth Journal of Physics: Conference Series (Vol. 1417, No. 1, p. 012038). IOP Publishing; 2019; Available from: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1417/1/012038>.
- Kwon HY, Choi SI, Park HI, Choi SH, Sim WS, Yeo JH et al. Comparative analysis of the nutritional components and antioxidant activities of different *Brassica juncea* cultivars. *Foods*. 2020;9(6):840. doi: 10.3390/foods9060840, PMID 32604920; PMID: 32604920. Available from: <https://doi.org/10.3390/foods9060840>.
- Lee JJ, Kim HA, Lee J. The effects of *Brassica juncea* L. leaf extract on obesity and lipid profiles of rats fed a high-fat/high-cholesterol diet. *Nutr Res Pract*. 2018;12(4):298-306; PMID: 30090167. Available from: <https://doi.org/10.4162/nrp.2018.12.4.298>.
- Kumar A, Rana AK, Singh A, Singh A. Bioactivity of methanolic extract of *Brassica juncea* in animal model of diabetes mellitus. *Chin Herb Med*. 2019;11(4):434-7; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2019.04.007>.
- Beninni ERY, Takahashi HW, Neves CSVJ, Fonseca ICdB. Level of nitrate in lettuce cultivated in hydroponic and conventional systems. *Hortic Bras*. 2002;20(2):183-6; Available from: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362002000200013>.
- Trí NM, Trinh NH, Thăng NV, Phương NTH. Khảo sát tình hình sản xuất và dư lượng nitrat trên một số sản phẩm rau xanh vụ xuân-hè tại hợp tác xã Hương Long, thành phố Huế. Báo cáo Hội nghị Khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ năm. Hà Nội, ngày. 2013;18:1689-4.
- Trung ĐT, Thạch NQ, Dũng ĐT. Thực trạng dư lượng nitrate (NO₃⁻) trong một số loại rau tại tỉnh Bắc Ninh. *Tạp Chí Khoa Học Nông Nghiệp Việt Nam*. 2018;16(1):1-8.
- Thang NQ, Tho NTM, Phương NTK. Nitrate, nitrite, and lead contamination in leafy vegetables collected from local market sites of Go Vap district, Ho Chi Minh City. *Viet J Chem*. 2021;59(1):79-86.
- Karwowska M, Kononiuk A. Nitrates/nitrites in food-Risk for nitrosative stress and benefits. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(3):241. doi: 10.3390/antiox9030241, PMID 32188080. ; PMID: 32188080. Available from: <https://doi.org/10.3390/antiox9030241>.
- Uddin R, Thakur MU, Uddin MZ, Islam GMR. Study of nitrate levels in fruits and vegetables to assess the potential health risks in Bangladesh. *Sci Rep*. 2021;11(1):4704; PMID: 33632329. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84032-z>.
- Bian Z, Wang Y, Zhang X, Li T, Grundy S, Yang Q et al. A review of environment effects on nitrate accumulation in leafy vegetables grown in controlled environments. *Foods*. 2020;9(6):732; PMID: 32503134. Available from: <https://doi.org/10.3390/foods9060732>.
- Daiane dSLW, Daniele FdO, Hudson dOR, Guilherme FF, Luiz AAG, Erica CAL et al. Nitrate concentration and nitrate/ammonium ratio on lettuce grown in hydroponics in Southern Amazon. *Afr J Agric Res*. 2021;17(6):862-8; Available from: <https://doi.org/10.5897/AJAR2020.15087>.
- Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. 1962;15(3):473-97; Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- Nasahara KN, Muraoka H, Nagai S, Mikami H. Vertical integration of leaf area index in a Japanese deciduous broad-leaved forest. *Agric Forest Meteorol*. 2008;148(6-7):1136-46; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2008.02.011>.
- Lichtenthaler HK. [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol*. 1987;148:350-82; Available from: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2001. TCN 452. Phân tích cây trồng - Phương pháp xác định nitrate và nitrite.
- Ward ACW, Davey MR, POWER JB, Cooper-Bland S, Powell W. An improved method involving hydroponic culture for the production of sexual hybrids between dihaploid *Solanum tuberosum* and Diploid *S. microdontum*. *J Exp Bot*. 1992;43(10):1333-8; Available from: <https://doi.org/10.1093/jxb/43.10.1333>.
- Benzle K, Cornish K. Improved axenic hydroponic whole plant propagation for rapid production of roots as transformation target tissue. *Plant Methods*. 2017;13(1):37; PMID: 28523073. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0189-z>.
- Nhut DT, Don NT, An TTT, Van TPT, Vu NH, Huyen PX et al. Microponic and hydroponic techniques in disease-free chrysanthemum (*Chrysanthemum* sp.) production. *J Appl Hortic*. 2005;7(2):67-71; Available from: <https://doi.org/10.37855/jah.2005.v07i02.18>.
- Esteban R, Ariz I, Cruz C, Moran JF. Review: Mechanisms of ammonium toxicity and the quest for tolerance. *Plant Sci*. 2016;248:92-101; PMID: 27181951. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.04.008>.
- Britto DT, Kronzucker HJ. Ecological significance and complexity of N-source preference in plants. *Ann Bot*. 2013;112(6):957-63; PMID: 23884397. Available from: <https://doi.org/10.1093/aob/mct157>.
- Việt BT 2016. Giáo trình Sinh lý thực vật đại cương. trường Đại học Khoa học Tự nhiên-Đại học Quốc gia TP HCM-lưu hành nội bộ.
- Boschiero BN, Mariano E, Trivelin PCO. Preferential ammonium uptake by sugarcane does not increase the 15-N recovery of fertilizer sources. *Plant Soil*. 2018;429(1):253-69; Available from: <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3672-z>.
- Zhu Z, Gerendás J, Bendixen R, Schinner K, Tabrizi H, Sattelmacher B et al. Different tolerance to light stress in NO₃⁻ and NH₄⁺ grown *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Biol*. 2000;2(5):558-70; Available from: <https://doi.org/10.1055/s-2000-7498>.
- Walch-Liu P, Neumann G, Bangerth F, Engels C. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. *J Exp Bot*. 2000;51(343):227-37; PMID: 10938829. Available from: <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.343.227>.
- Na L, Li Z, Xiangxiang M, Ara N, Jinghua Y, Mingfang Z. Effect of nitrate/ammonium ratios on growth, root morphology and nutrient elements uptake of watermelon (*Citrullus lanatus*) seedlings. *J Plant Nutr*. 2014;37(11):1859-72; Available from: <https://doi.org/10.1080/01904167.2014.911321>.
- Hoopen FT, Cuin TA, Pedas P, Hegelund JN, Shabala S, Schjoerring JK et al. Competition between uptake of ammonium and potassium in barley and *Arabidopsis* roots: molecular mechanisms and physiological consequences. *J Exp Bot*. 2010;61(9):2303-15; PMID: 20339151. Available from: <https://doi.org/10.1093/jxb/erq057>.
- Coskun D, Britto DT, Li M, Becker A, Kronzucker HJ. Rapid ammonia gas transport accounts for futile transmembrane cycling under NH₃/NH₄⁺ toxicity in plant roots. *Plant Physiol*. 2013;163(4):1859-67; PMID: 24134887. Available from: <https://doi.org/10.1104/pp.113.225961>.
- Wen B, Li C, Fu X, Li D, Li L, Chen X et al. Effects of nitrate deficiency on nitrate assimilation and chlorophyll synthesis of detached apple leaves. *Plant Physiol Biochem*. 2019;142:363-71; PMID: 31398585. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.07.007>.
- Peltier G, Thibault P. Ammonia exchange and photorespiration in *Chlamydomonas*. *Plant Physiol*. 1983;71(4):888-92; PMID: 16662924. Available from: <https://doi.org/10.1104/>

- pp.71.4.888.
31. Egner PA, Muñoz A, Kensler TW. Chemoprevention with chlorophyllin in individuals exposed to dietary aflatoxin. *Mutat Res Fundam Mol Mech Mutagen*. 2003;523-524:209-16; Available from: [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(02\)00337-8](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(02)00337-8).
 32. Hsu CY, Chen YH, Chao PY, Chen CM, Hsieh LL, Hu SP. Naturally occurring chlorophyll derivatives inhibit aflatoxin b1-DNA adduct formation in hepatoma cells. *Mutat Res*. 2008;657(2):98-104; PMID: 18775795. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.08.001>.
 33. Inanç AL. Chlorophyll: structural properties, health benefits and its occurrence in virgin olive oils. *Academic food journal/akademik GIDA*. 2011;.
 34. Demsar J, svalg, J. *Agrochimica (Italy)*. 2003. Influence of NO₃:-NH₄ ratio on growth and nitrate accumulation in lettuce (*Lactuca sativa L. var capitata*) in an aeroponic system;47(3-4):112-21;.
 35. Daiane dSLW, Daniele FdO, Hudson dOR, Guilherme FF, Luiz AAG, Erica CAL et al. Nitrate concentration and nitrate/ammonium ratio on lettuce grown in hydroponics in Southern Amazon. *Afr J Agric Res*. 2021;17(6):862-8; Available from: <https://doi.org/10.5897/AJAR2020.15087>.
 36. Bhatla SC, Lal MA. *Plant physiology, development and metabolism*. Springer; 2018; Available from: <https://doi.org/10.1007/978-981-13-2023-1>.
 37. Heldt HW, Piechulla B. *Plant biochemistry*. Academic Press; 2021;.
 38. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Quyết định số 99/2008/QĐ-BNN: giới hạn tối đa cho phép của một số vi sinh vật và hoá chất gây hại trong sản phẩm rau, quả, chè; 2008;.
 39. Joint FAO, WHO Expert Committee on Food Additives, World Health Organization. Evaluation of the toxicity of a number of antimicrobials and antioxidants: sixth report of the Joint FAO. World Health Organization; 1962;.

Effects of nitrogen on growth and nitrate accumulation in mustard green (*Brassica juncea* L.) in the hydroponic system

Tran Thi Thanh Hien*, Tran Thanh Thang



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

Nitrate content (NO_3^-) is one of the important indicators to assess the quality of leafy vegetables. Many studies have shown that vegetables in local markets containing high levels of nitrate that induce harmful effects on human health. In Vietnam, publications on the correlation between $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio and the nitrate accumulation are limited. Mustard green (*Brassica juncea* L.) is a popular vegetable and has a high nutrient (rich in fiber and micronutrients). However, the effect of nitrogen on the nitrate accumulation by hydroponic has not been elucidated. In this study, mustard green was grown in four media with different $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios (2/1; 1.5/1; 3/1, and 4/0) in the hydroponic reflux system. Results showed that the nitrogen requirement of mustard green depended on growth stages. Mustard green needed a low $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio at the slow growth stage (seedlings) and a high $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio at the fast one. In addition, the increase of the nitrate content also improved the chlorophyll content in the leaves. The complete removal of NH_4^+ in the medium stimulated the nitrate accumulation in leaves. The study showed that the suitable hydroponic medium for mustard green was MS medium supplemented with twice KNO_3 . The KNO_3 addition in the hydroponic medium increased the chlorophyll content, the fresh weight, and ensured the content of nitrate (417.59 ± 10.51 mg/kg) within the allowable limits (< 500 mg/kg).

Key words: accumulation, *Brassica juncea* L., growth, hydroponic system, nitrate, nitrogen

Faculty of Biology and Biotechnology,
University of Science, VNUHCM,
Vietnam

Correspondence

Tran Thi Thanh Hien, Faculty of Biology
and Biotechnology, University of
Science, VNUHCM, Vietnam

Email: ttchien@hcmus.edu.vn

History

- Received: 25-2-2022
- Accepted: 05-8-2022
- Published: 21-8-2022

DOI : 10.32508/stdjns.v6i3.1170



Copyright

© VNUHCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Hien T T T, Thang T T. Effects of nitrogen on growth and nitrate accumulation in mustard green (*Brassica juncea* L.) in the hydroponic system. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 2022, 6(3):2158-2166.