

ISSN 1859-4581

Tạp chí

**NÔNG NGHIỆP
&
PHÁT TRIỂN
NÔNG THÔN**

*Science and Technology Journal
of Agriculture & Rural Development*

MINISTRY OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT, VIETNAM

Chuyên đề

**SINH LÝ THỰC VẬT ỨNG DỤNG TRONG
NÔNG NGHIỆP CÔNG NGHỆ CAO**

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

Tháng 12

2017

TẠP CHÍ

**NÔNG NGHIỆP
& PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN**
ISSN 1859 - 4581

NĂM THỨ MƯỜI BẢY

**CHUYÊN ĐỀ
SINH LÝ THỰC VẬT ỨNG DỤNG
TRONG NÔNG NGHIỆP
CÔNG NGHỆ CAO
THÁNG 12/2017**

**TỔNG BIÊN TẬP
PHẠM HÀ THÁI**
ĐT: 04.37711070

**PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
DƯƠNG THANH HẢI**
ĐT: 04.38345457

TOÀ SOẠN - TRỊ SỰ
Số 10 Nguyễn Công Hoan
Quận Ba Đình - Hà Nội
ĐT: 04.37711072
Fax: 04.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@vnn.vn
Website: www.tapchikhoahocnongnghiep.vn

**VĂN PHÒNG ĐẠI DIỆN TẠP CHÍ
TẠI PHÍA NAM**
135 Pasteur
Quận 3 - TP. Hồ Chí Minh
ĐT/Fax: 08.38274089

Giấy phép số:
290/GP - BTTTT
Bộ Thông tin - Truyền thông
cấp ngày 03 tháng 06 năm 2016.

**Công ty cổ phần Khoa học và
công nghệ Hoàng Quốc Việt**
Địa chỉ: Số 18 Hoàng Quốc Việt,
Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội

MỤC LỤC

- ❑ NGUYỄN THỊ THUỞ, VÕ CÔNG THÀNH, LÊ VĂN HÒA. Khảo sát đặc điểm nông học của một số dòng lúa nếp được chọn tạo theo hướng cứng cây chống đổ ngã phục vụ cho sản xuất 5-12
- ❑ PHÙNG THỊ HẢI HUYỀN, ĐIỀU THỊ MAI HOA. Ảnh hưởng của NaCl đến khả năng nảy mầm, sinh trưởng và một số chỉ tiêu hóa sinh 5 dòng/giống lúa 13-19
- ❑ KHÚC NGỌC VY, PHẠM PHƯỚC NHÃN. Tăng cường khả năng chịu mặn của lúa OM4900 giai đoạn mạ bằng calcium silicate 20-25
- ❑ NGUYỄN THỊ HUYỀN, ĐOÀN VĂN TÚ, NGUYỄN THỊ THỦY, NGUYỄN QUANG THẠCH. Hiện tượng mất màu xanh của lá rau mồng tơi (*Basella Alba* L.) trồng thủy canh và biện pháp khắc phục bằng bổ sung Fe-EDTA 26-32
- ❑ NGUYỄN THỊ Y THANH, VÕ MINH THỨ, HỒ ĐẮC AN. Ảnh hưởng của phân bón NPK đến chỉ tiêu sinh hóa của lá và năng suất, phẩm chất quả của giống bí đao chanh F1 TN61 (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) 33-41
- ❑ TRẦN KHÁNH VÂN, ĐÀO THỊ HƯỜNG, LÊ HẢI ĐĂNG. Nghiên cứu ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh Sông Gianh và chế phẩm DHL2 đến một số chỉ số sinh lý - hóa sinh ở rau cải ngồng 42-47
- ❑ NGUYỄN THỊ PHƯƠNG DUNG, PHẠM TUẤN ANH, ĐOÀN THỊ GIANG, TRẦN ANH TUẤN. Ảnh hưởng salicylic acid tiền xử lý hạt giống đến khả năng nảy mầm và một số đặc điểm cấu trúc lá dưa chuột trong điều kiện hạn 48-52
- ❑ HOÀNG THỊ KIM HỒNG, VÕ THỊ MAI HƯƠNG, NGUYỄN THỊ QUỲNH TRANG, NGUYỄN THỊ TƯỜNG VY, ĐẶNG THÀNH LONG. Tạo dòng và xác định trình tự gen mã hóa ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (rubisco) ở cây *Mesembryanthemum crystallinum* (Ice plant) 53-60
- ❑ NGUYỄN KHẮC HÙNG, TRẦN THỊ LOAN, VŨ THỊ MỸ, NGUYỄN THỊ THU HIỀN, PHẠM BÍCH NGỌC. Ứng dụng DNA Barcode trong định danh cây tỏi ở tỉnh Hà Giang và bước đầu khảo sát khả năng tái sinh cây tỏi thông qua mô sẹo từ lát cắt phôi 61-66
- ❑ NGUYỄN MINH LÝ, VÕ CHÁU TUẤN, NGUYỄN THỊ NHƯ THẢO. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến sự phát sinh callus từ bao phấn mướp đắng (*Momordica charantia* L.) in vitro 67-72
- ❑ TRẦN THỊ THANH HUYỀN, LÊ THỊ THỦY, LÊ THỊ HỒNG GIANG. Một số biến đổi sinh hóa theo tuổi phát triển và thành phần dinh dưỡng của quả chanh leo tím (*Passiflora edulis* Sims) trồng tại Nho Quan, Ninh Bình 73-79
- ❑ DƯƠNG TẤN NHỰT, PHẠM THỊ SƯƠNG, TRẦN TIỂU HÀNG, ĐỖ MẠNH CƯỜNG, HOÀNG THANH TÙNG, VŨ QUỐC LUẬN, VŨ THỊ HIỀN, NGUYỄN BÁ NAM. Nhân nhanh chồi cây hồng môn (*Anthurium andreaeanum* 'Tropical') thông qua nuôi cấy PLB 80-87
- ❑ PHAN MINH ĐẠT, NGUYỄN THỊ NHẢ. Đánh giá đa dạng di truyền các giống mai vàng (*Ochna integerrima*) bằng chỉ thị RAPD 88-94
- ❑ PHẠM THỊ PHƯƠNG THẢO, LÊ VĂN HÒA, LÂM THỊ MUỘI, NGUYỄN THỊ KIM NGÂN. Ảnh hưởng của naphthalene acetic acid (NAA) đến chất lượng cành giâm cây bông trang đỏ (*Ixora chinensis* L.) và cây dâm bụt kép hồng (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) 95-100
- ❑ ĐỖ ĐỨC THẮNG, LÊ ĐỨC TUẤN, BÙI MINH TRÍ, NGUYỄN THỊ HUYỀN TRANG, TRẦN TRỌNG TUẤN, ĐỖ ĐĂNG GIÁP. Ảnh hưởng của dịch chiết nấm men và peptone lên sự sinh trưởng của cây lan gấm (*Anoectochilus roxburghii*) in vitro 101-112

TẠP CHÍ

**NÔNG NGHIỆP
& PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN**
ISSN 1859 - 4581

NĂM THỨ MƯỜI BẢY

CHUYÊN ĐỀ
SINH LÝ THỰC VẬT ỨNG DỤNG
TRONG NÔNG NGHIỆP
CÔNG NGHỆ CAO
THÁNG 12/2017

TỔNG BIÊN TẬP
PHẠM HÀ THÁI
ĐT: 04.37711070

PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
DƯƠNG THANH HẢI
ĐT: 04.38345457

TOÀ SOẠN - TRỊ SỰ
Số 10 Nguyễn Công Hoan
Quận Ba Đình - Hà Nội
ĐT: 04.37711072
Fax: 04.37711073

E-mail: tapchinongnghiep@vnn.vn
Website: www.tapchikhoahocnongnghiep.vn

VĂN PHÒNG ĐẠI DIỆN TẠP CHÍ
TẠI PHÍA NAM
135 Pasteur
Quận 3 - TP. Hồ Chí Minh
ĐT/Fax: 08.38274089

Giấy phép số:
290/GP - BTTTT
Bộ Thông tin - Truyền thông
cấp ngày 03 tháng 06 năm 2016.

Công ty cổ phần Khoa học và
công nghệ Hoàng Quốc Việt
Địa chỉ: Số 18 Hoàng Quốc Việt,
Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội

- ❑ ĐẶNG VĂN KHẢI, NGUYỄN THỊ NHÃ, VŨ THỊ HUYỀN 113-118
TRANG. Lựa chọn, thiết kế, thử nghiệm và ứng dụng một số môi
nhằm khuếch đại các vùng trình tự tiềm năng để nhận diện các
loài lan hài (*Paphiopedilum*) Việt Nam
- ❑ LÊ VĂN TRỌNG. Ảnh hưởng của molybden (Mo) đến khả năng 119-126
chịu hạn của một số giống đậu cô ve ở giai đoạn cây con
- ❑ ĐỖ TIẾN VINH, MAI THỊ PHƯƠNG HOA, TRẦN VĂN MINH 127-133
NGUYỄN QUANG THẠCH. Nhân giống cây đậu núi (*Plukenetia*
volubilis L.) bằng kỹ thuật nuôi cấy chồi đỉnh
- ❑ VƯƠNG THỊ THU THỦY, NGUYỄN VĂN MÃ. Ảnh hưởng của 134-140
thiếu nước ở các thời kì sinh trưởng tới hàm lượng prolin, sự sinh
trưởng, năng suất và phẩm chất đậu Hà Lan
- ❑ SULINET SING BUNHUONG, TRẦN NGỌC TOÀN, NGUYỄN 141-146
ĐÌNH SAN, MAI VĂN CHUNG. Ảnh hưởng của vi khuẩn lam
Nostoc calcicola HN9 đối với stress “oxy hóa” ở cây đậu xanh
(*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek cv. ĐX208)
- ❑ VŨ TIẾN DŨNG, VŨ ĐÌNH CHÍNH. Ảnh hưởng của công thức 147-154
phân bón lên sinh trưởng và năng suất đậu tương hè thu trồng
trên đất Gia Lâm - Hà Nội
- ❑ TRẦN THỊ THÚY, NGUYỄN PHÚC ĐẠT, TRẦN THỊ THANH 155-160
HUYỀN. Hoạt độ enzyme nội sinh và hàm lượng một số yếu tố
dinh dưỡng trong giai đoạn nảy mầm sớm của vùng đen
Campuchia và vùng trắng V6 (*Sesamum indicum*)
- ❑ LÊ THỊ THÚY, ĐẶNG THỊ KIM THÚY. Ảnh hưởng của chất điều 161-165
hòa sinh trưởng thực vật lên khả năng nhân chồi và tạo rễ cây
Thương lục (*Phytolacca americana* L.)
- ❑ PHAN VĂN TÂN, NGUYỄN HỮU KHẢI. Nghiên cứu ảnh hưởng 166-170
của chế độ che sáng và phân bón đến sinh trưởng, năng suất cây
Sâm đá (*Curcuma sp.*) trồng tại Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk
- ❑ NGUYỄN THANH HUYỀN, NGUYỄN THỊ THÚY HẠNH, 171-176
NGUYỄN HUY THUẬN, NGUYỄN XUÂN CẢNH. Nghiên cứu
tách dòng, biểu hiện và tinh sạch protein ERF8 từ cây *Arabidopsis*
thaliana trong vi khuẩn *Escherichia coli*
- ❑ TRẦN TRỌNG TUẤN, NGUYỄN THỊ THU HẰNG, NGÔ NHỨT 177-183
ĐẰNG, TRỊNH THỊ HƯƠNG, NGUYỄN THỊ DƯỢC, ĐẶNG THỊ
KIM THÚY, NGUYỄN THỊ HUYỀN TRANG, ĐỖ ĐẰNG GIÁP.
Cảm ứng tạo mô sẹo từ lá và nuôi cấy huyền phù tế bào cây Bá
bệnh (*Eurycoma longifolia*)
- ❑ NGUYỄN THỊ TƯỜNG VI, NGUYỄN THỊ ANH, NGUYỄN LÊ 184-188
THẢO TÂM. Nuôi cấy phôi dừa sáp bằng phương pháp *in vitro*
- ❑ LÊ THỊ THU HẰNG, BÙI MINH TRÍ, HÀ THỊ LOAN. Ảnh hưởng 189-196
của nồng độ naphthalene acetic acid, benzyl adenine và tuổi cây
đến khả năng nảy chồi, sinh trưởng và ra hoa của lan *Dendrobium*
White 5N
- ❑ NGUYỄN VĂN VINH, TRẦN HỒNG ANH, BÙI MINH TRÍ, BÙI 197-203
VĂN LÊ. Đánh giá khả năng hữu thụ của hai mươi tổ hợp lai của
lan *Dendrobium mini*
- ❑ NGUYỄN TRƯỜNG GIANG, DƯƠNG HOA XÔ, HUỲNH HỮU 204-210
ĐỨC. Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị DNA Barcode để xác định loài
lan thạch học tía (*Dendrobium officinale*)
- ❑ HUỲNH HỮU ĐỨC, VÕ THANH HUY, HÀ THỊ LOAN, DƯƠNG 211-218
HOA XÔ. Nhân nhanh giống lan *Dendrobium Caesar White* bằng
kỹ thuật nuôi cấy lớp mỏng tế bào

ẢNH HƯỞNG CỦA VI KHUẨN LAM *Nostoc calcicola* HN9 ĐỐI VỚI STRESS “ÔXY HÓA” Ở CÂY ĐẬU XANH (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) ĐX208

Sulinet Sing BunHuong¹, Trần Ngọc Toàn², Nguyễn Đình San², Mai Văn Chung²

TÓM TẮT

Chủng vi khuẩn lam (VKL) *Nostoc calcicola* HN9 ở pha suy vong đã gây stress “ôxy hóa” ở giống đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) ĐX208 trong giai đoạn cây có 1 lá kép ba trưởng thành với sự bùng nổ về hàm lượng gốc tự do superoxide ($O_2^{\bullet-}$) và hydrogen peroxide (H_2O_2) nội sinh. Trong lá bị stress, hệ thống chống ôxy hóa đã được cảm ứng với sự gia tăng mạnh mẽ hoạt độ của các enzyme chống ôxy hóa (superoxide dismutase-SOD, catalase-CAT, ascorbate peroxidases-APX và polyphenol oxidase-PPO). Hoạt động của các enzyme chống ôxy hóa đã làm giảm hàm lượng $O_2^{\bullet-}$ và H_2O_2 trong giai đoạn cây có 3-6 lá kép ba, góp phần kiểm soát stress “ôxy hóa” ở các tế bào lá. Trái lại, xử lý *N. calcicola* HN9 ở pha cân bằng không gây stress “ôxy hóa” ở lá đậu xanh ĐX208; do đó, trong các cây đậu xanh này, hàm lượng các dạng ôxy hoạt hóa $O_2^{\bullet-}$ và H_2O_2 duy trì ở mức thấp, gia tăng hàm lượng axit ascorbic và hoạt độ của SOD và APX, nhưng chưa có ảnh hưởng rõ ràng đến biểu hiện của phenol tổng số và các enzyme CAT, PPO.

Từ khóa: Chất chống ôxy hóa, đậu xanh ĐX208, *Nostoc calcicola* HN9, stress “ôxy hóa”, vi khuẩn lam.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn lam (VKL) là sinh vật nhân sơ có vai trò quan trọng trong sản xuất nông nghiệp. Chúng được biết đến là có khả năng định tiết ra các hoạt chất là hooc-môn thực vật hay enzyme điều hòa trao đổi chất [1], một số khác lại có khả năng kháng vi khuẩn, virus, nấm bệnh [2]. Nhiều chủng/loài VKL đã được nuôi thu sinh khối ở pha cân bằng (giai đoạn VKL đạt sinh khối cao) để khai thác, ứng dụng những lợi ích trên. Tuy nhiên, vào cuối thời kỳ sinh trưởng (pha suy vong), VKL chết làm gia tăng các sản phẩm phân hủy như axit hữu cơ, ethanol... có tính độc đối với thực vật [3]. Sinh khối VKL ở pha suy vong, nếu tác động lên cây trồng, có thể làm giảm sức sống hay gây chết đối với tế bào, tác động bất lợi đến đời sống của cây.

Ở trạng thái bình thường của tế bào thực vật, các dạng ôxy hoạt hóa như hydrogen peroxide (H_2O_2), gốc tự do superoxide ($O_2^{\bullet-}$) luôn được sinh ra một lượng nhất định để tham gia những phản ứng tự bảo vệ trước các yếu tố môi trường bất lợi [4]. Tuy nhiên, khi hàm lượng H_2O_2 và $O_2^{\bullet-}$ cao thường gây stress “ôxy hóa” gây nên những tổn thương cho tế bào như rối loạn tính thấm của màng, biến tính lipid, protein, axit nucleic..., thậm chí làm chết tế bào [5]. Để kiểm soát stress “ôxy hóa”, trong cơ thể thực vật luôn tồn tại cơ chế kiểm soát sinh tổng hợp các dạng ôxy hoạt hóa, đó là hệ thống chống ôxy hóa với sự tham gia của các hoạt chất là axit ascorbic, các hợp chất

phenol, flavonoid và các enzyme như superoxide dismutase-SOD, catalase-CAT, ascorbate peroxidases-APX, polyphenol oxidase-PPO. Hoạt động của các thành phần này duy trì sinh tổng hợp H_2O_2 và $O_2^{\bullet-}$ đủ hàm lượng để tham gia cơ chế phòng vệ của cây trồng, đồng thời hạn chế độc tính của chúng đối với tế bào.

Mục tiêu nghiên cứu: đánh giá tác động của sinh khối VKL *Nostoc calcicola* HN9 thu ở pha cân bằng và pha suy vong đối với sinh tổng hợp các dạng ôxy hoạt hóa và biểu hiện của các chất chống ôxy hóa ở lá đậu xanh ĐX208 (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) trong thời kỳ cây sinh trưởng phát triển sinh dưỡng (trước khi ra hoa).

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Giống đậu xanh được sử dụng trong nghiên cứu này là ĐX208. Hạt giống được cung cấp bởi Trung tâm giống Cây trồng tỉnh Nghệ An.

Chủng VKL dùng để xử lý trên đậu xanh ĐX208 là *Nostoc calcicola* HN9 được phân lập từ đất lúa, nhân nuôi thuần khiết, thu sinh khối tại phòng thí nghiệm Tảo, Trường Đại học Vinh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị dịch VKL

Chủng *N. calcicola* HN9 được nuôi trong môi trường BG11 không đậm, pH 6.5, với điều kiện nhiệt độ $27\pm 2^\circ C$, cường độ chiếu sáng $110-130 \mu M$ photon. $m^{-2}.s^{-1}$, thời gian chiếu sáng 14 giờ liên tục/ngày. Sinh khối được thu vào ngày thứ 24-25 khi VKL ở pha cân bằng và ngày thứ 29-30 khi VKL ở pha

¹ Sở Nông nghiệp Huaphanh, Lào

² Trường Đại học Vinh, Việt Nam

suy vong. Dịch huyền phù chứa VKL được ly tâm loại bỏ toàn bộ môi trường nuôi để thu sinh khối. Sinh khối tươi VKL được pha với nước cất tiệt trùng thành các dung dịch có nồng độ là 0,1, 0,3 và 0,5 gam/lít (g.L^{-1}) để xử lý trên đậu xanh.

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Hạt đậu xanh giống được ngâm 4 giờ, hạt được ủ trong các đĩa Petri có đủ độ ẩm, đặt trong tối ở nhiệt độ 23-25°C. Sau 48 giờ ủ, những hạt nảy mầm tốt được lựa chọn để trồng trong dung dịch dinh dưỡng Hoagland với điều kiện nuôi cấy: 27±2°C, độ ẩm 70-75%, cường độ ánh sáng 110-130 $\mu\text{M photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ với chu kỳ 12 giờ chiếu sáng /12 giờ tối.

Thí nghiệm được thực hiện với 07 công thức (CT) khác nhau:

+ CT1 (đối chứng): xử lý cây đậu xanh bởi nước cất 2 lần.

+ CT2: xử lý cây đậu xanh bởi dịch VKL ở pha cân bằng, nồng độ 0,1 g.L^{-1}

+ CT3: xử lý cây đậu xanh bởi dịch VKL ở pha cân bằng, nồng độ 0,3 g.L^{-1}

+ CT4: xử lý cây đậu xanh bởi dịch VKL ở pha cân bằng, nồng độ 0,5 g.L^{-1}

+ CT5: xử lý cây đậu xanh bởi dịch VKL ở pha suy vong, nồng độ 0,1 g.L^{-1}

+ CT6: xử lý cây đậu xanh bởi dịch VKL ở pha suy vong, nồng độ 0,3 g.L^{-1}

+ CT7: xử lý cây đậu xanh bởi dịch VKL ở pha suy vong, nồng độ 0,5 g.L^{-1}

Sau khi trồng 10 ngày, các cây đậu xanh ĐX208 được xử lý riêng rẽ với 07 dung dịch theo các CT nói trên. Các dung dịch được phun dưới dạng sương mù với lượng phun 1 mL/lá.

Lá đậu xanh được thu lần đầu vào thời điểm trước khi phun dịch VKL (ngày thứ 10 sau trồng) và các lần tiếp theo khi cây ở giai đoạn V1 (lá kép ba đầu tiên mở rộng), V3 (có 3-4 lá kép ba hoàn chỉnh) và V5 (có 5-6 lá kép ba hoàn chỉnh). Trong mỗi CT, lựa chọn ngẫu nhiên 10 cây để thu mẫu. Lá đậu xanh được thu cẩn thận, tránh bị rách hay tổn thương, sau đó được cố định bằng nito lỏng để phân tích các hoạt chất và enzyme chống oxy hóa. Hàm lượng H_2O_2 và $\text{O}_2^{\bullet-}$ được phân tích trên mẫu lá tươi.

2.2.3. Phương pháp phân tích

a. Hàm lượng các dạng oxy hoạt hóa

Hàm lượng gốc tự do $\text{O}_2^{\bullet-}$ trong lá đậu xanh được xác định theo phương pháp của Doke (1983) [6] thực hiện trên máy đo màu quang phổ UV-Vis CARY 60 (hãng Agilent, Mỹ) kết nối máy tính có

phần mềm Agilent Cary WinUV 5.0 để phân tích phổ hấp thụ.

Chỉ tiêu H_2O_2 trong lá đậu xanh được xác định bằng phương pháp của Becana et al. (1986) [7] trên hệ thống đo màu quang phổ UV-Vis CARY 60 kết nối máy tính cài đặt phần mềm phân tích phổ.

b. Định lượng các chất chống oxy hóa

Hàm lượng axit ascorbic, phenol tổng số tương ứng được phân tích theo các phương pháp của Kampfenkel và cộng sự (1995) [8], Mechikova và cộng sự (2007) [9]. Đơn vị tính của các chất là miligam/gam lá tươi ($\text{mg.g}^{-1}\text{FW}$).

c. Hoạt độ các enzyme chống oxy hóa

Hoạt độ enzyme superoxide dismutase (SOD) được phân tích bằng phương pháp của Beauchamp and Fridovich (1971) [10], enzyme catalase (CAT) được xác định theo phương pháp của Chen et al. (2000) cải tiến [11], hoạt độ enzyme ascorbate peroxidase (APX) được phân tích theo phương pháp của Cao et al. (2004) [12], hoạt độ enzyme polyphenol oxidase (PPO) xác định theo phương pháp của Vital et al. (2008) [13]. Đơn vị hoạt độ của các enzyme là nanokatal/miligam protein ($\text{ngat.mg}^{-1}\text{protein}$). Hàm lượng protein được xác định theo phương pháp của Bradford (1976) với chất chuẩn là bovine serum albumin (Sigma-Aldrich) [14].

Các nội dung nghiên cứu được thực hiện trong năm 2016 tại phòng thí nghiệm Sinh lý thực vật, Trường Đại học Vinh.

2.2.4. Xử lý số liệu

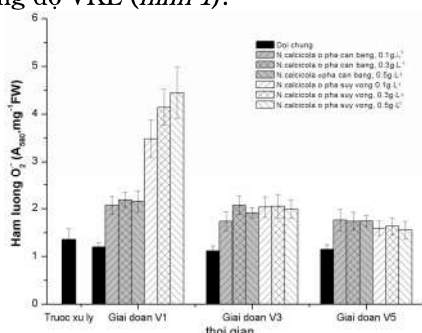
Thí nghiệm được lặp lại 5 lần. Số liệu xử lý bằng toán thống kê trên phần mềm IRRISTAT 5.0. Sự sai khác giữa giá trị trung bình của các nghiệm thức được đánh giá theo phân tích ANOVA ở mức ý nghĩa $P<0,05$. Các biểu đồ được vẽ trên phần mềm OriginPro 8.0, thể hiện giá trị trung bình và sai số chuẩn mỗi nghiệm thức của các chỉ số nghiên cứu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của *N. calcicola* HN9 đối với sinh tổng hợp các dạng oxy hoạt hóa trong lá đậu xanh ĐX208

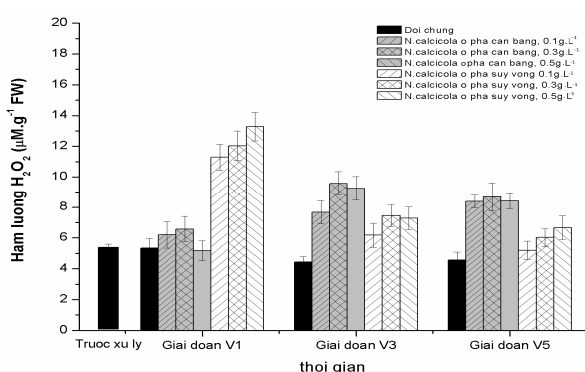
Trong cây đậu xanh xử lý bởi dịch VKL *N. calcicola* HN9 ở pha suy vong, hàm lượng gốc tự do $\text{O}_2^{\bullet-}$ cảm ứng tăng mạnh mẽ và đạt cao đỉnh ở giai đoạn V1; lượng $\text{O}_2^{\bullet-}$ sinh ra tỷ lệ thuận với nồng độ tác động của VKL và sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các công thức xử lý ở mức ý nghĩa $P<0,05$. Sau khi giảm xuống ở các giai đoạn V3 và V5, hàm lượng

$O_2^{\bullet-}$ ít thay đổi và không có sai khác giữa các công thức nồng độ VKL (*hình 1*).



Hình 1. Biến đổi hàm lượng superoxide ($O_2^{\bullet-}$) trong lá đậu xanh ĐX208

Trái lại, gốc tự do $O_2^{\bullet-}$ trong các cây đậu xanh xử lý bởi dịch VKL ở pha cân bằng ít biến đổi, nhưng cao đỉnh đạt được có trị số thấp hơn rất nhiều. Hàm lượng $O_2^{\bullet-}$ cao nhất trong giai đoạn V1 ở công thức nồng độ VKL $0,3 g.L^{-1}$ ($2,18 A_{580} \cdot g^{-1} FW$), chỉ đạt 46,54 % so với trị số cao nhất của chỉ số này trong cây xử lý bởi VKL ở pha suy vong ($4,45 A_{580} \cdot g^{-1} FW$). Trong các giai đoạn V3 và V5, $O_2^{\bullet-}$ ít thay đổi và không có sai khác có ý nghĩa ($P > 0,05$) giữa các công thức thí nghiệm cũng như giữa các thời điểm nghiên cứu.



Hình 2. Biến đổi hàm lượng hydrogen peroxide (H_2O_2) trong lá đậu xanh ĐX208

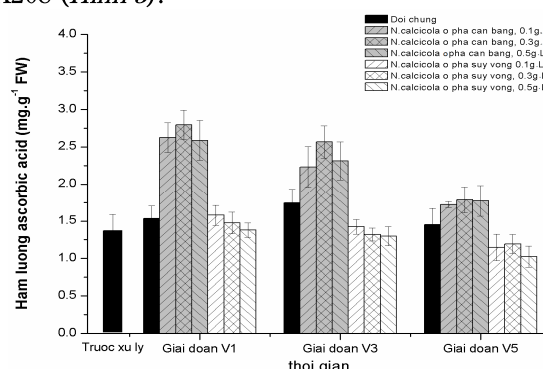
Tương tự $O_2^{\bullet-}$, dưới ảnh hưởng của dịch VKL ở pha cân bằng, hàm lượng H_2O_2 trong lá đậu xanh ít biến đổi trong suốt quá trình nghiên cứu. Chỉ số này trong các giai đoạn V3 và V5 cao hơn so với các công thức xử lý dịch VKL ở pha suy vong (*hình 2*). Trong các công thức nồng độ VKL ở pha suy vong, chỉ số này tăng nhanh, cũng đạt cao đỉnh trong giai đoạn V1, sau đó giảm mạnh. Lượng H_2O_2 tổng hợp nhiều khi cây đậu xanh được xử lý bởi dịch VKL có nồng độ cao và ngược lại. Hàm lượng H_2O_2 cao nhất ($13,27 \mu M \cdot g^{-1} FW$) đạt được ở công thức nồng độ VKL $0,5 g.L^{-1}$ trong giai đoạn V1, cao hơn 3,07 lần so với đối chứng ($4,56 \mu M \cdot g^{-1} FW$).

Stress “ôxy hóa” là hiện tượng xuất hiện trong cơ thể sinh vật khi có sự mất cân bằng trong việc tổng hợp các dạng ôxy hoạt hóa với hoạt động của các chất chống ôxy hóa, dưới tác động của dịch chiết VKL ở pha suy vong, sự gia tăng mạnh mẽ sinh tổng hợp các dạng ôxy hoạt hóa $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 trong lá đậu xanh ĐX208 ở giai đoạn V1 là biểu hiện cơ bản của stress “ôxy hóa”.

3.2. Ảnh hưởng của *N. calcicola* HN9 đối với các chất chống ôxy hóa trong lá cây đậu xanh ĐX208

3.2.1. Sinh tổng hợp axit ascorbic trong lá đậu xanh ĐX208

Axit ascorbic (vitamin C) là chất chống ôxy hóa quan trọng nội sinh của nhiều loài thực vật với vai trò chủ đạo là ngăn chặn hoặc làm chậm quá trình ôxy hóa các chất trong tế bào. Tác động của dịch VKL *N. calcicola* HN9 đã gây những biến đổi khác nhau trong quá trình sinh tổng hợp axit ascorbic ở lá xanh ĐX208 (*Hình 3*).



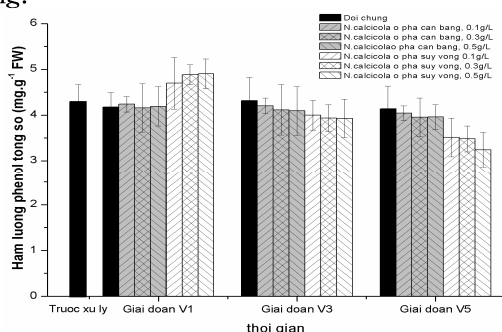
Hình 3. Ảnh hưởng của *N. calcicola* HN9 đối với hàm lượng axit ascorbic trong lá đậu xanh ĐX208

Ở các cây đậu xanh xử lý bởi VKL ở pha cân bằng, hàm lượng của axit ascorbic đã tăng trong suốt quá trình nghiên cứu và đạt giá trị cực đại ở nồng độ $0,3 g.L^{-1}$. Hàm lượng cao nhất ($2,79 mg \cdot g^{-1} FW$) đạt được trong giai đoạn V1, tương ứng cao hơn 1,82 lần so với đối chứng và 2 lần so với trước khi xử lý VKL. Trái lại, hàm lượng axit ascorbic trong tất cả các công thức xử lý bởi VKL ở pha suy vong ít biến đổi và sai khác không có ý nghĩa so với đối chứng ($P > 0,05$).

3.2.2. Sinh tổng hợp phenol tổng số trong lá đậu xanh ĐX208

Phenol tổng số là một nhóm lớn bao gồm các chất hữu cơ là phenol và dẫn xuất của chúng. Các hợp chất phenol trong cơ thể thực vật có nhiều tác dụng như chống oxi hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, chống dị ứng. Trong nhiều loại thực vật, phenol có tác dụng chống oxi hóa rất rõ rệt và mạnh hơn nhiều so với axit ascorbic.

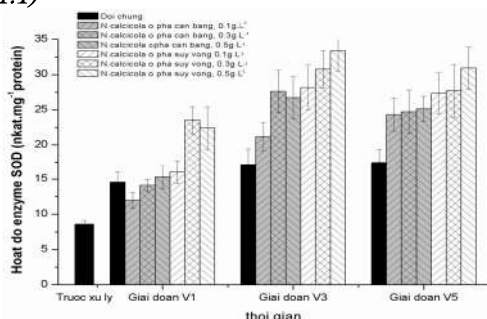
Dưới tác động của dịch *N. calcicola* HN9, hàm lượng phenol ở giai đoạn V1 không biến đổi nhiều khi tác động VKL ở pha cân bằng, tuy nhiên ở pha suy vong hàm lượng này liên tục tăng theo nồng độ của VKL, đạt giá trị cực đại ở nồng độ 0,5 g.L⁻¹ (4,90 mg.g⁻¹ FW), tăng 1,17 lần so với đối chứng và 1,20 lần so với không sử dụng VKL. Sau đó, dưới tác động của 2 loại dịch VKL, hàm lượng phenol đều giảm dần ở các công thức thí nghiệm, hàm lượng thấp nhất đạt được ở giai đoạn V5 đã giảm 1,28 lần so với đối chứng.



Hình 4. Ảnh hưởng của *N. calcicola* HN9 đối với hàm lượng phenol tổng số trong lá đậu xanh ĐX208

3.3. Ảnh hưởng của *N. calcicola* HN9 đối với các enzyme chống oxy hóa trong lá đậu xanh ĐX208

3.3.1. Enzyme superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)



Hình 5. Biến đổi hoạt độ enzyme superoxide dismutase (SOD) trong lá đậu xanh ĐX208

Khác với biểu hiện của SOD trong công thức đối chứng là thay đổi không nhiều (14,55-17,48 nkat.mg⁻¹protein), hoạt độ enzyme này trong lá đậu xanh ĐX208 ở các công thức xử lý VKL đã có những biến động khác nhau (hình 5).

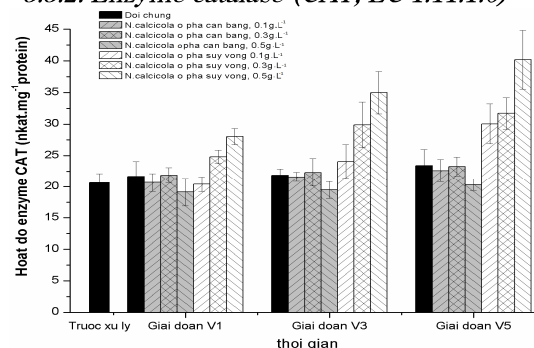
Hoạt độ SOD trong lá đậu xanh xử lý bởi VKL ở pha cân bằng dao động không nhiều ở giai đoạn V1, tăng nhanh và đạt cao nhất ở giai đoạn V3. Sang giai đoạn V5, hoạt độ SOD ở cả ba công thức nồng độ VKL đều giảm nhẹ.

Trong khi đó, dịch VKL ở pha suy vong đã cảm ứng mạnh mẽ đối với SOD từ giai đoạn V1. Hoạt độ

enzyme này tăng nhanh, đạt giá trị cao nhất (27,59 nkat.mg⁻¹protein) ở giai đoạn V3 với nồng độ tác động 0,3 g.L⁻¹, cao hơn 1,71 lần so với đối chứng (16,09 nkat.mg⁻¹protein) và 3,26 lần so với trước khi xử lý VKL (8,46 nkat.mg⁻¹protein). Trong tất cả các thời điểm nghiên cứu, hoạt độ SOD luôn cao hơn so với các công thức xử lý VKL ở pha cân bằng và đối chứng.

Là enzyme chuyển hóa O₂^{•-} thành H₂O₂ và O₂, hoạt độ cao của SOD đã góp phần làm giảm đáng kể lượng của O₂^{•-} nội sinh trong lá đậu xanh ĐX208, đồng thời duy trì lượng gốc tự do này ở mức thấp trong giai đoạn V3÷V5 của cây đậu xanh ĐX208 (hình 1).

3.3.2. Enzyme catalase (CAT, EC 1.11.1.6)



Hình 6. Biến đổi hoạt độ enzyme catalase (CAT) trong lá đậu xanh ĐX208

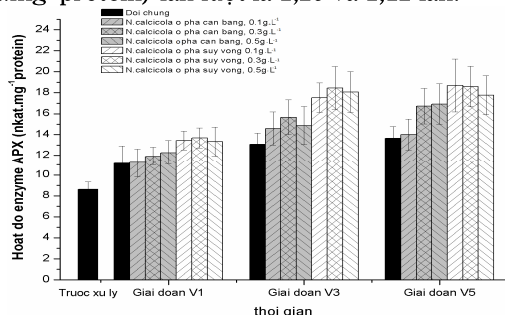
Hoạt độ CAT trong tất cả các công thức xử lý bởi VKL ở pha cân bằng ít biến đổi (19,12-22,28 nkat.mg⁻¹protein) và sai khác không có ý nghĩa so với đối chứng (hình 6). Trái lại, ở các công thức đậu xanh xử lý bởi VKL ở pha suy vong, độ hoạt động của CAT đã tăng liên tục trong suốt quá trình nghiên cứu và tỷ lệ thuận với nồng độ VKL sử dụng. Hoạt độ cao nhất (40,18 nkat.mg⁻¹protein) đạt được ở công thức nồng độ 0,5 g.L⁻¹ trong giai đoạn V5, tương ứng cao hơn 1,72 lần so với đối chứng và 1,94 lần so với trước khi xử lý VKL.

Với chức năng phân giải H₂O₂ thành H₂O và O₂, sự gia tăng mạnh mẽ và liên tục về hoạt độ của CAT trong các công thức xử lý VKL ở pha suy vong đã góp phần làm giảm và duy trì hàm lượng H₂O₂ trong lá đậu xanh ở mức thấp trong giai đoạn V3÷V5 (hình 2).

3.3.3. Enzyme ascorbate peroxidase (APX, EC 1.11.1.11)

Dịch VKL đã cảm ứng hoạt độ của APX trong lá đậu xanh ĐX208 tăng liên tục theo thời gian, trong đó, các nồng độ VKL ở pha suy vong luôn cho hiệu quả tác động cao (Hình 7). Hoạt độ APX ở lá đậu

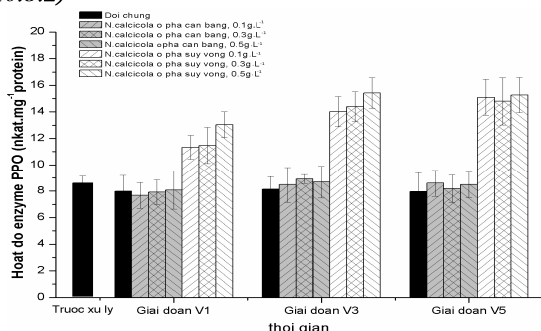
xanh xử lý bởi VKL ở pha suy vong tăng nhanh ở giai đoạn V3 và có xu hướng tăng chậm ở giai đoạn V5, nhưng luôn cao hơn có ý nghĩa so với đối chứng và các công thức nồng độ VKL ở pha cân bằng. Hoạt độ cao nhất của APX là 14,59 nkat.mg⁻¹protein đạt được trong lá cây đậu xanh ĐX208 xử lý nồng độ VKL 0,3 g.L⁻¹ ở giai đoạn V3, cao hơn thời điểm trước khi xử lý VKL (11,25 nkat.mg⁻¹protein) và đối chứng (13,08 nkat.mg⁻¹protein) lần lượt là 1,29 và 1,12 lần.



Hình 7. Biến đổi hoạt độ enzyme ascorbate peroxidase (APX) trong lá đậu xanh ĐX208

Khi có cơ chất là axit ascorbic, APX là enzyme xúc tác cho quá trình phân giải các hợp chất peroxide trong tế bào chất, trong đó có H₂O₂, góp phần khử độc cho tế bào. Do đó, thay đổi hoạt độ của APX có ảnh hưởng trực tiếp đến sự biến đổi H₂O₂ nội sinh. Mối quan hệ này đã biểu hiện rõ ở cây đậu xanh ĐX208 chịu tác động của dịch VKL ở pha suy vong: khi APX (cùng với CAT) duy trì hoạt độ cao trong các giai đoạn V3 và V5, hàm lượng H₂O₂ trong lá được duy trì ở mức thấp.

3.3.4. Enzyme polyphenol oxidase (PPO, EC 1.10.3.2)



Hình 8. Ảnh hưởng của *N. calcicola* HN9 đối với hoạt độ enzyme PPO trong lá đậu xanh ĐX208

Dịch VKL *N. calcicola* HN9 ở pha cân bằng không cảm ứng đối với PPO. Trong 3 giai đoạn V1, V3 và V5 của cây đậu xanh ĐX208, hoạt độ của PPO trong lá xử lý bởi VKL và đối chứng không sai khác nhau về mặt thống kê (Hình 8). Trái lại, dịch VKL ở pha suy vong đã cảm ứng gia tăng hoạt độ của PPO.

Trong 3 giai đoạn nghiên cứu, hoạt độ enzyme này luôn cao hơn nhiều so với các công thức thí nghiệm khác, giá trị hoạt độ lớn nhất đạt được ở nồng độ VKL xử lý là 0,5 g.L⁻¹ (13,04 nkat.mg⁻¹protein; 15,42 nkat.mg⁻¹ protein và 11,26 nkat.mg⁻¹protein) tương ứng cao hơn 1,63; 1,87 và 1,92 lần so với đối chứng.

Enzyme PPO đóng vai trò phân giải các cơ chất tương ứng là các hợp chất phenol trong các phản ứng các dạng oxy hoạt hóa và chuyển hóa chúng thành các dạng ít độc hoặc không độc đối với tế bào sống. PPO cũng đã được ghi nhận là có vai trò nhất định trong cơ chế tự bảo vệ của thực vật trong điều kiện bất lợi [5].

4. KẾT LUẬN

Dịch *N. calcicola* HN9 ở pha cân bằng không cảm ứng sinh tổng hợp các dạng oxy hoạt hóa O₂^{•-} và H₂O₂, gia tăng hàm lượng axit ascorbic và hoạt độ của các enzyme SOD và APX, nhưng chưa có ảnh hưởng rõ ràng đến hoạt chất phenol tổng số và các enzyme CAT, PPO.

Dịch VKL ở pha suy vong đã gây stress “oxy hóa” ở lá đậu xanh ĐX208 trong giai đoạn V1 với sinh tổng hợp mạnh mẽ gốc tự do O₂^{•-} và H₂O₂, đồng thời cảm ứng gia tăng hoạt độ của các enzyme chống oxy hóa CAT, SOD, APX và PPO, góp phần kiểm soát sinh tổng hợp các dạng oxy hoạt hóa O₂^{•-} và H₂O₂ giảm xuống trong giai đoạn V3-V5.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Richa K.M. and Sinha R.P. (2011). Antioxidants as natural arsenal against multiple stresses in cyanobacteria. *Int. J. Pharma. Bio. Sci.*, 2:168-187.
- [2] Grima E.M., Belarbi E.H., Acien F.F.G., Robles M.A. and Chisti Y. (2003). Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnology Advances* 20: 491-515.
- [3] El-Sheekh M.M., Khairy H.M. and El-Shenody R. (2014). Allelopathic effect of cell-free medium of *Microcystis aeruginosa* Kützinger on the chromosomal changes in *Allium cepa* root tips and plumule formation of *Zea mays* seedling. *Br. Biotechnol. J.*, 4(5):622-629
- [4] Maffei M.E., Mithöfer A. and Boland W. (2007). Insects feeding on plants: Rapid signals and responses preceding the induction of phytochemical release. *Phytochemistry*, 68:2946-2959.
- [5] Ahmad P., Sarwat M. and Sharma S. (2008). Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *J. Plant Biol.*, 51:167-173.

- [6] Doke N. (1983). Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the hyphal wall components. *Physiol. Plant Pathol*, 23:345-357.
- [7] Becana M., Aparicio-Tejo P., Irigoyen J.J. and Sanchez-Diaz M. (1986). Some enzymes of hydrogen peroxide metabolism in leaves and root nodules of *Medicago sativa*. *Plant Physiol.*, 82:1169-1171.
- [8] Kampfenkel K., Van Montagu M. and Inze D. (1995). Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. *Anal. Biochem.*, 225:165-167.
- [9] Mechikova G.Y., Stepanova T.A. and Zaguzova E.V. (2007). Quantitative determination of total phenols in strawberry leaves. *Pharmaceutical Chemistry J.*, 41:97-100
- [10] Beauchamp C. and Fridovich I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.*, 44:276-287.
- [11] Chen Y., Cao X.D., Lu Y., and Wang X.P. (2000). Effects of rare earth ions and their EDTA complexes on antioxidant enzymes of fish liver. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65:357-365.
- [12] Cao X., Ma L.Q. and Tu C. (2004). Antioxidative responses to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator chinese barke fern (*Pteris vittata* L.). *Environ. Pol.*, 128:317-325.
- [13] Vital S.A., Fowler R.W., Virgen A., Gossett D.R., Banks S.W. and Rodriguez J. (2008). Opposing roles for superoxide and nitric oxide in the NaCl stress-induced upregulation of antioxidant enzyme activity in cotton callus tissue. *Environ. Exp. Bot.*, 62:60-68.
- [14] Bradford M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72:248-254.

EFFECT OF CYANOBACTERIAL EXTRACT OF STRAIN *Nostoc calcicola* HN9 ON OXIDATIVE STRESS IN MUNGBEAN (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek cv. DX208)

**Sulinet Sing BunHuong, Tran Ngoc Toan,
Nguyen Dinh San, Mai Van Chung**

Summary

The cyanobacterial suspension of strain *Nostoc calcicola* HN9 collected in death phase caused the oxidative stress in leaves of mungbean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek cv. DX208) through a strong release of superoxide anion radical (O_2^-) and hydrogen peroxide (H_2O_2) in stage V1. In cyanobacteria-treated plants, enzymatic antioxidants such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidases (APX) and polyphenol oxidase (PPO) were enhanced to high activity during the vegetative stages. An enhancement of enzymes SOD, CAT, APX and PPO helps to control accumulation of O_2^- and H_2O_2 , therefore, reduces cellular damage from oxidative stress. Being different from that, suspension of *N. calcicola* HN9 collected in log phase only raised biosynthesis of ascorbic acid and total phenol as well as activity of SOD and CAT, however, the induced effect was lower than that of suspension in death phase.

Keywords: antioxidants, cyanobacteria, mungbean DX208, *Nostoc calcicola* HN9, oxidative stress

Người phản biện: PGS.TS Phạm Văn Hiền, PGS.TS Nguyễn Văn Mã,

Ngày nhận bài: 6/10/2017

Ngày thông qua phản biện: 3/11/2017

Ngày duyệt đăng: 9/11/2017