



ẢNH HƯỞNG CỦA NANO BẠC LÊN KHẢ NĂNG NẢY MẦM VÀ MỘT SỐ CHỈ TIÊU HÓA SINH CỦA HẠT GIỐNG LÚA ĐÀI THƠM 8

Nguyễn Quang Hoàng Vũ, Hoàng Thị Kim Hồng*

Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Huế, Việt Nam

Tóm tắt. Bài báo này trình bày các kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc lên khả năng nảy mầm và một số chỉ tiêu hóa sinh của hạt lúa Đài Thơm 8 ở giai đoạn nảy mầm trong vụ Đông Xuân 2017 – 2018 và vụ Hè Thu 2018. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc xử lý hạt giống với nano bạc đã làm tăng tỷ lệ nảy mầm rút ngắn thời gian nảy mầm trung bình của hạt so với lô đối chứng. Ngoài ra, việc xử lý hạt giống với nano bạc ở giai đoạn nảy mầm đã làm tăng hoạt độ α -amylase, hàm lượng đường tan tổng số, hoạt độ của enzyme chống oxy hóa catalase và lượng H_2O_2 trong hạt mầm so với các chỉ tiêu hóa sinh tương ứng của hạt ở lô đối chứng. Kết quả trong nghiên cứu này là các chứng cứ thực nghiệm làm cơ sở khoa học cho việc định hướng ứng dụng nano bạc như là một phương pháp kỹ thuật trong xử lý hạt giống lúa ở giai đoạn nảy mầm nhằm nâng cao hiệu suất nảy mầm và phát triển của hạt lúa giống.

Từ khóa: giống lúa Đài Thơm 8, chỉ tiêu sinh hóa, nano bạc, nảy mầm

1 Đặt vấn đề

Nảy mầm là một quá trình quan trọng trong chu trình phát sinh hình thái của thực vật; đây nhanh quá trình nảy mầm có thể tác động tích cực đến sự phát triển của cây và hiệu quả trồng trọt [10]. Trong nông nghiệp thương mại, khả năng nảy mầm nhanh chóng của hạt giống và sự đồng nhất về thời gian, hình thái nảy mầm là những yếu tố quan trọng, có ảnh hưởng quyết định đến chất lượng và khả năng sinh trưởng, phát triển của cây sau này. Hạt giống lúa sau khi thu hoạch bảo quản trong không khí ít nhiều sẽ bị suy giảm do những tổn thương tự phát xảy ra ở cấp độ tế bào dẫn đến lão hóa và hạn chế khả năng sinh trưởng, năng suất cây trồng [8]. Một số giải pháp thường được sử dụng để nâng cao hiệu suất nảy mầm là xử lý hạt giống với polyethylen glycol, muối vô cơ, chất dinh dưỡng, nước ấm và gần đây là các hạt nano. Công nghệ nano đang hướng tới sự phát triển như là một trong các ứng dụng chi phí thấp để cải thiện canh tác và tăng trưởng của thực vật. Việc ứng dụng công nghệ nano vào trong nông nghiệp đang mang đến một hiệu ứng đáng kể và mở ra một hướng nghiên cứu mới trong hệ thống nông nghiệp. Gần đây, một số dạng nano (AgNPs – nano bạc, AuNPs – nano vàng, CuNPs – nano đồng, ZnNPs – nano kẽm và nano carbon với tiêu biểu full-

* Liên hệ: hkhong@hueuni.edu.vn

erene hay nano dạng ống...) đã được áp dụng như các tác nhân tiền xử lý hạt giống nhằm thúc đẩy khả năng nảy mầm, sinh trưởng và nâng cao khả năng chống chịu stress ở một số cây trồng [13]; trong đó, nano bạc là một trong các nguồn vật liệu nano được sớm thương mại hóa và ứng dụng rộng rãi hơn so với các loại vật liệu nano khác [11].

Trong nông nghiệp, lúa (*Oryza sativa* L.) là một cây lương thực quan trọng ở Việt Nam, đồng thời cũng là nguồn thức ăn quan trọng của nhiều người dân trên thế giới. Việt Nam là một nước nông nghiệp với trên 75 % dân số sống phụ thuộc chủ yếu vào nông nghiệp, vào lúa gạo và các sản phẩm từ lúa gạo. Giống lúa Đài Thơm 8 là giống lúa thuần do Công ty cổ phần Giống cây trồng Miền Nam (SSC) lai tạo từ tổ hợp lai giữa giống mẹ BVN và giống bố OM 4900 (BVN/OM4900), và đã được ủy quyền cho Công ty cổ phần Giống cây trồng Trung ương sản xuất kinh doanh. Giống lúa này mang một số đặc tính trội như có năng suất cao, chất lượng gạo tốt và có khả năng thích nghi tốt với điều kiện khí hậu khắc nghiệt. Đây là giống lúa đã được trồng và phát triển rộng rãi ở khu vực đồng bằng Sông Hồng, trung du Bắc Bộ, Tây Nguyên, Nam Trung Bộ..., nhưng ở Thừa Thiên Huế, chưa có địa phương nào trồng Đài Thơm 8. Từ những lý do trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc lên khả năng nảy mầm và một số chỉ tiêu hóa sinh của hạt lúa Đài Thơm 8 ở giai đoạn nảy mầm để góp phần khai thác và phát triển tiềm năng kinh tế của giống lúa này trên một số địa bàn của Thừa Thiên Huế.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Vật liệu thí nghiệm

Giống thí nghiệm là hạt giống lúa Đài Thơm 8 do Công ty cổ phần giống cây trồng Trung ương – Chi nhánh miền Trung và Tây Nguyên cung cấp. Hạt giống lúa được phơi sấy đến độ ẩm 13–14 % ở thời điểm 2 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm, sau đó bảo quản trong bao giống ở nhiệt độ phòng (20 – 25 °C) đến khi tiến hành thí nghiệm; dung dịch nano bạc được cung cấp bởi bộ môn Vật lý chất rắn, Khoa Vật lý, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, hạt nano có đường kính từ 4–5 nm. Nồng độ dung dịch 40 ppm.

2.2 Địa điểm

Các chỉ tiêu hóa sinh (hàm lượng đường tan tổng số, lượng nước hấp thu, nồng độ H₂O₂, hoạt độ enzyme catalase, enzyme α -amylase) được tiến hành xác định tại phòng thí nghiệm Sinh học ứng dụng, Khoa Sinh học, trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, thành phố Huế.

Các chỉ tiêu thực nghiệm đánh giá khả năng nảy mầm tiến hành tại làng Mong An, xã Phú Mỹ, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên Huế.

2.3 Phương pháp

Xử lý nano bạc trong ngâm ủ giống:

Hạt của giống lúa Đài Thom 8 được xử lý trước khi gieo với tỷ lệ 5 kg giống/1 sào (tương ứng với diện tích ô thí nghiệm để xác định lượng giống) theo phương pháp cụ thể sau. Hạt giống sau khi cân được – ngâm ngập trong 3,9 lít nước ấm (khoảng 40–45 °C, tương ứng 3 sôi – 2 lạnh). Sau khi ngâm được 5 phút, hòa trực tiếp 100 mL dung dịch nano bạc 40 ppm vào chậu ngâm giống (tức nồng độ nano bạc ở dịch ngâm là 1 ppm). Ngâm trong thời gian 30–36 giờ. Trong thời gian ngâm cần thay nước, pha lại dịch nano bạc ngâm hạt giống như trên định kì 1–2 lần (kể từ khi ngâm 12–15 giờ), đồng thời loại bỏ các hạt lửng, hạt lép. Sau khi giống được ngâm no nước, tiến hành đãi sạch rồi đem ủ kín. Thời gian ủ 2–4 ngày (tùy thời tiết). Sau đêm thứ nhất, kiểm tra hạt giống để điều tiết cách ủ cho phù hợp, nếu thấy khô thì thêm nước. Định kì đảo đều hạt giống trong quá trình ủ để hạt lên đều. Đến khi chồi mầm đạt chiều dài 1/3 hạt thóc, rễ mầm đạt 1/2 chiều dài hạt thóc thì đạt yêu cầu đem gieo. Mẫu đối chứng (không xử lý nano bạc) được tiến hành đồng thời tương tự, nhưng thay 100 mL dung dịch nano bạc bằng 100 mL nước cất.

Xác định các chỉ số nảy mầm

Tỉ lệ nảy mầm trung bình được xác định theo Scott có cải biến bằng cách lấy ngẫu nhiên 100 hạt, đếm số hạt nảy mầm đạt yêu cầu ở thời điểm 48 giờ (kể từ khi ủ) và được tính theo công thức 1 [18].

$$\text{Công thức 1: } GP(\%) = \frac{A}{A+B} \times 100$$

trong đó GP là tỉ lệ nảy mầm trung bình; A là số hạt nảy mầm đạt yêu cầu; B là số hạt còn lại (không đạt + không nảy mầm).

Tốc độ nảy mầm được đánh giá thông qua các chỉ số T₁₀, T₂₅, T₅₀, T₇₅, T₉₀ – là khoảng thời gian cần thiết để lô hạt giống lúa ngâm ủ đạt tỷ lệ nảy mầm tương ứng 10 %, 25 %, 50 %, 75 %, 90 % tính từ thời điểm bắt đầu ủ T₀.

Thời gian nảy mầm trung bình và chỉ số nảy mầm được xác định theo phương pháp của Eliss và Roberts [17], có cải tiến bởi Ranal và Santana [16] và được tính lần lượt theo công thức 2 và công thức 3.

$$\text{Công thức 2: } MGT = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \times T_i}{\sum_{i=1}^k n_i} = \frac{(n_1 \times T_1) + (n_2 \times T_2) + \dots + (n_k \times T_k)}{n_1 + n_2 + \dots + n_k}$$

$$\text{Công thức 3: } GI = \sum_{i=1}^k \frac{n_i}{T_i}$$

trong đó n_i là số hạt lúa nảy mầm mới ở thời gian quan sát T_i (hạt); T_i là thời gian tính từ lúc bắt đầu thí nghiệm T_0 đến thời gian kiểm tra số hạt nảy mầm ở thời điểm thứ i (biểu thị bằng giờ hoặc ngày); k là thời gian nảy mầm cuối cùng; điều kiện ($0 \leq T \leq k$). $\sum n$ là tổng số hạt lúa nảy mầm.

Chỉ số Vigour Index (VI) được xác định theo công thức của Abul-Baki [1]

Công thức 4: $VI = GP \times [\text{Chiều dài rễ mầm(mm)} + \text{chiều dài chồi mầm(mm)}]$

Xác định lượng nước hấp thụ

Lấy ngẫu nhiên 100 hạt, sấy khô ở 105 °C trong vòng 24 giờ đến khối lượng không đổi. Tiến hành xác định khối lượng khô tuyệt đối, rồi ngâm và lấy ngẫu nhiên 15 hạt ở thời điểm 6 giờ, 24 giờ, 48 giờ ngâm hạt để xác định khối lượng hạt tương ứng ở từng thời điểm cũng như lượng nước hấp thụ theo công thức 5.

Công thức 5: $W_{H_2O} = W_{F_i} - W_0$

trong đó W_{H_2O} là khối lượng nước hấp thụ tương ứng ở thời điểm xác định; W_{F_i} là khối lượng tươi của hạt ở thời điểm i tương ứng; W_0 là khối lượng được sấy khô tuyệt đối.

Xác định, đánh giá ảnh hưởng của nano bạc lên khả năng phát triển của rễ mầm và chồi mầm

Lấy ngẫu nhiên 50 hạt giống nảy mầm (đã xử lý nano bạc) ở thời điểm 48 giờ sau khi ủ, tiến hành đo chính xác chiều dài rễ mầm (mm) và chồi mầm (mm).

Xác định hàm lượng đường tan tổng số

Hàm lượng đường tổng số được xác định bằng phương pháp của Dubois có cải tiến [7]. Cân 1 g hạt lúa nảy mầm rồi đồng nhất với 10 mL nước cất và ly tâm 10.000 vòng trong 25 phút ở 4 °C. Thu dịch nổi, bổ sung 1 mL phenol 5 % và 3 mL H₂SO₄ đậm đặc, đợi phản ứng màu trong 10 phút. Hàm lượng đường tổng số được xác định bằng cách dựng đường chuẩn với saccharose 0,1 % và đo mật độ quang ở bước sóng 490 nm. Phương trình đường chuẩn có dạng $y = 0.0051 \cdot x - 0.0537$.

Xác định nồng độ H₂O₂ và enzyme catalase

Nồng độ H₂O₂ được định lượng theo phương pháp mô tả bởi Velikova [19]. Cân 0,5 g hạt lúa nảy mầm đồng nhất với 0,1 % trichloroacetic acid (TCA) và ly tâm 12.000 vòng trong 15 phút ở 4 °C. Lấy 0,5 mL dịch nổi, bổ sung lần lượt 1,5 mL đệm phosphate (pH = 7), 1 mL KI 1 M, đợi phản ứng màu 5 phút. Đo mật độ quang ở bước sóng 390 nm. Nồng độ H₂O₂ được tính dựa trên phương trình đường chuẩn được dựng có dạng $y = 0,071 \cdot x - 0,0147$.

Hoạt độ của enzyme catalase được xác định theo phương pháp của Velikova [19]; đo hấp thụ quang ở bước sóng 240 nm ($\epsilon = 39,4 \text{ mM/cm}$). Hoạt độ enzyme catalase được tính là lượng hoạt hóa H_2O_2 trong thời gian 1 phút/ 1 mg protein.

Xác định hoạt độ enzyme α -amylase

Hoạt độ enzyme α -amylase được xác định theo phương pháp Somogyi-Nelson [14]. Hoạt độ enzyme được tính thông qua lượng đường khử tiêu hao khi xảy ra phản ứng với cơ chất là hồ tinh bột 1 %. Enzyme được trích ly bằng đệm phosphate (pH = 4,9). Tạo màu bằng dung dịch Iod (0.2 % I_2 + 2 % KI) và đem đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 500 nm.

Xử lý số liệu

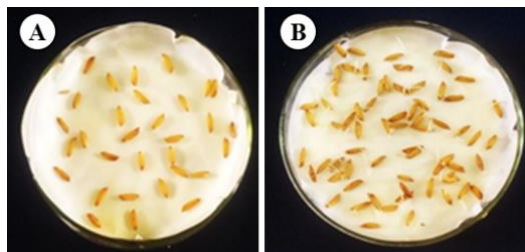
Số liệu được thu thập và xử lý thống kê bằng Microsoft Excel. Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần, tiến hành 5 lần độc lập. Đối chứng tiến hành tương tự. Các số liệu trung bình (\pm SD) được kiểm tra bằng *t*-test với độ tin cậy 95 % bằng phần mềm SPSS 20.0.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Ảnh hưởng của nano bạc đến một số chỉ tiêu đánh giá khả năng nảy mầm hạt giống lúa ở vụ Đông Xuân và Hè Thu

Hạt giống được xử lý trong giai đoạn này mầm bằng cách ngâm ủ như đã trình bày ở phần phương pháp. Kết quả thu được trình bày ở Hình 1, Bảng 1 và Bảng 2.

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy ở việc xử lý nano bạc ở giai đoạn ngâm ủ hạt giống tác động tích cực tới các chỉ số tỷ lệ nảy mầm (GP), thời gian nảy mầm trung bình (MGT) và chỉ số nảy mầm (GI). Xử lý nano bạc làm tăng tỷ lệ nảy mầm đạt 95,73 % ở vụ Đông Xuân và 97,43 % ở vụ Hè Thu, trong khi ở mẫu đối chứng (không xử lý) chỉ đạt xấp xỉ 92 % ở cả 2 vụ. Ngoài ra, xử lý nano bạc còn giúp đẩy nhanh quá trình nảy mầm với thời gian nảy mầm trung bình (MGT) được rút ngắn lại với 1,51 và 1,43 ngày so với 1,56 và 1,55 ở mẫu đối chứng tương ứng lần lượt ở vụ Đông Xuân, Hè Thu. Chỉ số nảy mầm (GI) cũng được nâng cao và có sự khác biệt đáng kể với mẫu đối chứng.



Hình 1. Sự khác biệt tỉ lệ nảy mầm của hạt giống đối chứng (A) và xử lý nano bạc (B) ở thời điểm 12 giờ kể từ khi ủ

Bảng 1. Ảnh hưởng của nano bạc lên tỷ lệ nảy mầm, thời gian nảy mầm trung bình và chỉ số nảy mầm

	GP (%)		MGT (ngày)		GI	
	ĐX	HT	ĐX	HT	ĐX	HT
TN	95,73 ± 1,05	97,47 ± 0,54	1,51 ± 0,29	1,43 ± 0,04	67,51	78,35
ĐC	92,02 ± 1,21	92,83 ± 0,84	1,56 ± 0,04	1,55 ± 0,02	62,00	65,00
F	*	*	*	*	*	*

Ghi chú: GP là tỉ lệ nảy mầm (%), MGT là thời gian nảy mầm trung bình, GI là chỉ số nảy mầm, TN là mẫu thí nghiệm (có xử lý nano bạc), ĐC là đối chứng (không xử lý nano bạc), ĐX là vụ Đông Xuân, HT là vụ Hè Thu. Trong cùng một cột, * cho thấy số liệu khác biệt có ý nghĩa thống kê 5 % ($p < 0,05$).

Bảng 2. Ảnh hưởng của nano bạc lên các chỉ số tốc độ nảy mầm

	T ₁₀ (giờ)		T ₂₅ (giờ)		T ₅₀ (giờ)		T ₇₅ (giờ)		T ₉₀ (giờ)	
	ĐX	HT	ĐX	HT	ĐX	HT	ĐX	HT	ĐX	HT
TN	12,98±0,38	11,65±2,07	20,34±0,52	19,60±0,37	25,00±0,47	24,10±0,38	27,6±0,37	27,50±0,39	31,87±1,07	31,00±0,61
ĐC	17,20±0,48	16,75±0,73	22,70±0,99	20,95±1,68	27,65±0,86	26,15±0,70	30,29±0,76	29,35±1,02	38,25±0,98	35,75±0,52
F	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Ghi chú: TN là mẫu thí nghiệm, ĐC là mẫu đối chứng, ĐX là vụ Đông Xuân, HT là vụ Hè Thu. Trong cùng một cột, * số liệu cho thấy khác biệt có ý nghĩa thống kê 5 % ($p < 0,05$).

Tốc độ nảy mầm của hạt giống với các cột mốc T₁₀, T₂₅, T₅₀, T₇₅, T₉₀ cũng được xác định và thể hiện ở Bảng 2. T₁₀, T₂₅, T₅₀, T₇₅, T₉₀ là khoảng thời gian cần thiết để hạt giống nảy mầm đạt yêu cầu với 10 %, 25 %, 50 %, 75 % và 90 % (kể từ khi ủ). Nghiên cứu cho thấy tác động của nano bạc lên tốc độ nảy mầm lớn nhất ở vụ Hè Thu. Hạt giống chỉ cần xấp xỉ 18 giờ ủ kể từ khi no nước để đến khi hạt nảy mầm. Điểm đáng chú ý là nano bạc có tác động đáng kể lên khoảng thời gian đầu (T₁₀), hạt giống được xử lý chỉ cần khoảng 13 giờ (Hình 1) để 10 % hạt đầu tiên nảy mầm, trong khi con số này ở mẫu đối chứng xấp xỉ 17 giờ (17,2 giờ và 16,75 giờ) ở 2 vụ Đông Xuân và Hè Thu, rút ngắn gần 1/3 thời gian cần thiết (Hình 1).

3.2 Ảnh hưởng của nano bạc đến một số chỉ tiêu hóa sinh của hạt giống ở giai đoạn nảy mầm

Để kiểm tra xem việc tiến hành ngâm hạt giống với nano bạc có thể ảnh hưởng đến sự hấp thu nước của hạt giống lúa ở quá trình nảy mầm sớm hay không, sự hấp thu nước của hạt ở thời điểm 6 giờ và 24 giờ, 48 giờ từ khi bắt đầu của quá trình hấp thu được xác định. Kết quả nghiên cứu ở Bảng 3 cho thấy các hạt giống hấp thu nước nhanh chóng ở thời gian sau 6 giờ ngâm. Lượng nước hấp thu ở hạt giống được xử lý nano bạc có sự khác biệt: hạt giống được xử lý hấp thu lượng nước gấp 1,4 lần (5,25 mg/3,77 mg) so với những hạt không được xử lý ($p < 0,05$). Ở lần lượt thời điểm 24 giờ, 48 giờ, hạt giống đã hấp thu lượng nước cần thiết tối đa và gần như không có sự khác biệt giữa nhóm thí nghiệm và đối chứng (12,35 mg và 12,31 mg, $p >$

0,05) và sau 48 giờ kể từ thời điểm no nước; lượng nước hạt giống hấp thu được giữ ổn định cần thiết cho quá trình chuyển hóa sau này.

Theo Qian và cs., mức độ phiên mã của các gen aquaporin ở *Arabidopsis* (gồm PIP 1,2; PIP 2,1; PIP 2,2; SIP 1,1; TIP 1,1) tăng gấp 2 lần khi được xử lý với nano bạc với nồng độ 0,2–0,5 mg/L trong vòng 7 ngày [15]. Sự gia tăng sự hấp thu nước ở hạt giống lúa trong nghiên cứu khi được xử lý nano bạc của chúng tôi có thể được giải thích dựa trên nghiên cứu của Qian như sau: các hạt nano bạc làm tăng mức độ phiên mã các gen aquaporin (các kênh nước) là các protein xuyên màng, đóng vai trò khuếch tán nước qua màng sinh học và tạo điều kiện cho các chất dinh dưỡng cần thiết ra vào. Như vậy, xử lý nano bạc giúp tăng cường mức độ phiên mã các gen aquaporin được xem như là một cơ chế tăng cường khả năng nảy mầm hạt giống lúa.

Trong quá trình nảy mầm hạt lúa, enzyme α -amylase trong lớp aleurone đóng một vai trò quan trọng trong thủy phân tinh bột nội nhũ chuyển hóa thành đường, cung cấp năng lượng cho sự phát triển rễ mầm và chồi mầm [3]. Kết quả về tác động của nano bạc lên một số chỉ tiêu hóa sinh của hạt giống lúa ở giai đoạn nảy mầm được trình bày ở Bảng 4. Mẫu hạt giống thí nghiệm được xử lý nano bạc trong giai đoạn ngâm ủ cho thấy sự gia tăng vượt trội hoạt độ của enzyme α -amylase là 50,1 và 53,3 (U/g) so với 40,0 và 38,9 (U/g) ở mẫu đối chứng tương ứng lần lượt ở vụ Đông Xuân và Hè Thu, gấp lần lượt 1,25 và 1,37 lần.

Hoạt độ α -amylase của hạt giống lúa xử lý nano bạc ở giai đoạn nảy mầm cũng là một cơ sở lý giải cho cơ chế tác động của nano bạc đến khả năng nảy mầm. Nano bạc thấm qua lớp vỏ hạt tăng khả năng hấp thu nước, thúc đẩy gia tăng hoạt độ của các enzyme như nitrate reductase, α -amylase. Chính sự gia tăng hoạt độ của các enzyme này mà tiêu biểu là α -amylase đã đẩy nhanh quá trình thủy phân carbohydrate dự trữ (tinh bột) trong nội nhũ thành đường, rồi qua các quá trình chuyển hóa, phân giải (tạo pyruvate) cung cấp năng lượng cho quá trình nảy mầm và sinh trưởng của hạt giống lúa một cách nhanh chóng, nâng cao tốc độ cũng như tỷ lệ nảy mầm. Sự gia tăng hàm lượng đường nhanh chóng trong hạt gạo nảy mầm khi xử lý nano bạc được minh chứng ở Bảng 4 với 12,55 và 12,75 (mg/g) hàm lượng đường tan tổng số với chỉ tương ứng lần lượt 7,23 và 7,46 (mg/g) ở mẫu đối chứng.

Bảng 3. Tác động của nano bạc lên khả năng hấp thu nước của hạt giống lúa ở giai đoạn nảy mầm

	Khối lượng nước hấp thu (mg)					
	Sau 6 giờ ngâm		Sau 24 giờ ngâm		Sau 48 giờ ngâm	
	ĐX	HT	ĐX	HT	ĐX	HT
TN	5,02 ± 0,46	5,25 ± 0,52	12,85 ± 1,18	12,35 ± 3,32	11,02 ± 0,27	11,29 ± 0,97
ĐC	3,72 ± 0,18	3,77 ± 1,25	12,76 ± 0,88	12,31 ± 2,12	10,65 ± 0,53	10,87 ± 2,06
F	*	*	*	ns	*	*

Ghi chú: TN là mẫu thí nghiệm (xử lý nano bạc), ĐC là mẫu đối chứng (không xử lý nano bạc), ĐX là vụ Đông Xuân, HT là vụ Hè Thu. Trong cùng một cột, * cho thấy số liệu khác biệt có ý nghĩa thống kê 5 % ($p < 0,05$). ns là sai khác không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 4. Tác động của nano bạc lên một số chỉ tiêu hóa sinh của hạt giống lúa ở giai đoạn nảy mầm

	*α-amylase (U/g)		Đường tan tổng số (mg/g)		H ₂ O ₂ (μmol/g)		CAT (U/g)	
	ĐX	HT	ĐX	HT	ĐX	HT	ĐX	HT
TN	50,1 ± 0,5	53,3 ± 1,2	12,6 ± 0,4	12,8 ± 0,6	8,2 ± 0,4	8,2 ± 0,5	0,027	0,034
ĐC	40,0 ± 0,1	38,9 ± 0,8	7,2 ± 0,6	7,5 ± 0,1	6,9 ± 0,5	6,6 ± 0,9	0,012	0,017
F	*	*	*	*	*	*	*	*

Ghi chú: TN là mẫu thí nghiệm (có xử lý nano bạc), ĐC là mẫu đối chứng (không xử lý nano bạc), ĐX là vụ Đông Xuân, HT là vụ Hè Thu, CAT là hoạt độ enzyme catalase. Trong cùng một cột, * cho thấy số liệu khác biệt có ý nghĩa thống kê 5 % ($p < 0,05$).

Kết quả nghiên cứu ở Bảng 4 cũng cho thấy tác động trái chiều của nano bạc trong việc gia tăng nồng độ các chất oxy hóa H₂O₂ và enzyme chống oxy hóa catalase. Hạt bảo quản sau một thời gian sẽ bị tổn thương ít nhiều do sự tích lũy ROS (Reactive Oxygen Species) bởi sự gia tăng các chất oxy hóa nội sinh như H₂O₂ hay các gốc tự do O₂⁻ [12], kết hợp với suy giảm của tiềm năng các chất chống oxy hóa trong tế bào, dẫn đến nguy cơ lão hóa và mất khả năng nảy mầm [20]. Sự gia tăng nồng độ H₂O₂ ở Bảng 4 có thể là dấu hiệu sự có mặt của ion Ag⁺, trong quá trình xử lý nano đã được các tế bào nhận diện như tín hiệu lạ tác động có khả năng gây tổn thương lên tế bào và biểu hiện lại bằng cách “bùng nổ” H₂O₂ như là một tín hiệu để khởi động quá trình ROS. Trùng với thời điểm này, kết quả nghiên cứu cho thấy sự gia tăng đáng kể (gấp 2,25 và 2 lần) hoạt độ enzyme chống oxy hóa catalase so với mẫu không được xử lý. Điều này phù hợp với những báo cáo gần đây, H₂O₂ đóng vai trò như một phân tử báo hiệu cho quá trình điều chỉnh nảy mầm hạt giống [2, 12] và được quy định chính xác bởi sự cân bằng kiểm soát của các chất chống oxy hóa [10]. Đồng thời, việc gia tăng hoạt độ enzyme chống oxy hóa như catalase khi xử lý nano bạc giúp cây nâng cao khả năng chống chịu trong những điều kiện bất lợi, nâng cao khả năng nảy mầm [4, 5].

Kết hợp với số liệu ở Bảng 3 và Bảng 4, chúng tôi nhận thấy tại thời điểm 24 giờ khi khả năng hấp thụ nước của hạt giống gia tăng nhanh chóng, sự tích lũy H₂O₂ gia tăng đáng kể so với đối chứng không xử lý nano bạc. Cordeiro [6], khi mô phỏng động lực phản ứng stress oxy hóa ROS với quá trình vận chuyển các chất qua màng nhờ aquaporin, cho rằng có sự tương tác phức tạp giữa ROS và aquaporin. Kết hợp kết quả nghiên cứu của chúng tôi, sự gia tăng hấp thụ nước, tích lũy H₂O₂ và sự xuất hiện với hoạt độ cao của catalase, có thể thấy rằng đường như đã có một mối tương tác đa chiều phức tạp giữa Nano bạc – aquaporin – ROS – khả năng hấp thụ nước để từ đó tác động nâng cao khả năng nảy mầm.

3.3 Ảnh hưởng của nano bạc lên các chỉ tiêu đánh giá khả năng sinh trưởng của hạt giống lúa ở giai đoạn nảy mầm

Tác động của nano bạc lên khả năng sinh trưởng của hạt giống được đánh giá thông qua chiều dài rễ mầm và chồi mầm ở thời điểm 48 giờ (thời điểm nảy mầm đạt yêu cầu đem gieo).

Bảng 5. Ảnh hưởng của nano bạc lên chiều dài rễ mầm, chồi mầm và sức sống hạt giống

	Chiều dài rễ mầm (mm)		Chiều dài chồi mầm (mm)		Vigour Index (VI)	
	ĐX	HT	ĐX	HT	ĐX	HT
TN	10,13 ± 1,55	11,63 ± 1,49	4,68 ± 0,52	6,05 ± 0,38	1417,76	1723,27
ĐC	9,31 ± 1,15	9,37 ± 1,57	3,97 ± 0,50	4,49 ± 0,68	1222,02	1286,62
F	*	*	*	*	*	*

Ghi chú: ĐX là vụ Đông Xuân, HT là vụ Hè Thu, TN là mẫu thí nghiệm (có xử lý nano bạc), ĐC là mẫu đối chứng (không xử lý nano bạc), VI là chỉ số sức sống hạt giống. Trong cùng một cột, * cho thấy số liệu khác biệt có ý nghĩa thống kê 5 % ($p < 0,05$).

Kết quả thu được (Bảng 5) cho thấy việc xử lý hạt với dung dịch nano bạc đã làm tăng chiều dài rễ mầm và chồi mầm. Chiều dài rễ mầm của hạt có xử lý với dung dịch nano bạc đạt 10,13 mm ở vụ Đông Xuân và 11,63 mm ở vụ Hè Thu so với 9,31 mm và 9,37 mm lần lượt tương ứng ở mẫu đối chứng không được xử lý nano. Chiều dài chồi mầm tăng đáng kể so với đối chứng ở cùng thời điểm (1,17 lần ở vụ Đông Xuân; 1,35 lần ở vụ Hè Thu).

Nghiên cứu cũng cho thấy chỉ số Vigour Index (VI) biểu thị cho sức sống hạt giống được xử lý nano bạc ở mức cao (lần lượt là 1417,6 và 1723,27 ở Đông Xuân, Hè Thu) so với hạt đối chứng chỉ đạt lần lượt 1222,02 và 1286,62.

4 Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy xử lý nano bạc có những tác động tích cực về các chỉ số đánh giá khả năng nảy mầm như nâng cao tỷ lệ nảy mầm, chỉ số sức sống hạt giống VI và rút ngắn thời gian nảy mầm trung bình và các chỉ số tốc độ nảy mầm (T_{10} , T_{25} , T_{50} , T_{75} , T_{90}). Các chỉ tiêu sinh hóa bên trong hạt giống nảy mầm cũng cho thấy những biến đổi khi xử lý nano bạc như tăng khả năng hấp thụ nước ở thời gian đầu của quá trình ngâm hạt, làm tăng hàm lượng đường tan tổng số, tăng hoạt độ enzyme α -amylase. Bên cạnh đó, xử lý nano bạc còn cho thấy những biểu hiện của hiện tượng stress oxy hóa thông qua gia tăng lượng H_2O_2 cũng như enzyme chống oxy hóa catalase ở giai đoạn nảy mầm so với đối chứng.

Tài liệu tham khảo

1. Abul-Baki A. A., Anderson J. D. (1973), *Vigour determination in soybean by multiple criteria*, Crop Science, 3, 630–637.
2. Bailly C., El-Maarouf-Bouteau H., Corbineau F. (2008), *From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology*, Comptes Rendus Biologies, 331, 806–814.
3. Beck E., Ziegler P. (1989), *Biosynthesis and degradation of starch in higher plants*, Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 40, 95–117.
4. Bienert G. P., Chaumont F. (2014), *Aquaporin-facilitated transmembrane diffusion of hydrogen peroxide*, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 1840, 1596 – 1604.

5. Butler L., Hay F., Ellis R., Smith R., Murray T. (2009), *Priming and re-drying improve the survival of mature seeds of Digitalis purpurea during storage*, *Annals of Botany*, 103, 1261–1270.
6. Cordeiro R. M. (2015), *Molecular dynamics simulations of the transport of reactive oxygen species by mammalian and plant aquaporins*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 1850, 1786–1794.
7. DuBois M., Gilles Ka., Hamilton J. K., Rebers Pa., Smith F. (1956), *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*, *Annals of Chemistry*, 28, 350–356.
8. Hussain S. (2015), *Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions*, *Scientific Reports* 5, 81–101.
9. Ibrahim E. A. (2016), *Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds*, *Journal of Plant Physiology*, 192, 38–46.
10. Kibinza S., Bazin J., Bailly C., Farrant J.M., Corbineau F., El-Maarouf-Bouteau H. (2011), *Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming*, *Plant Science*, 181(3), 309–315.
11. Kole C., Kole P., Randunu K. M., Choudhary P., Podila R., Ke P. C., Rao A. M., Marcus R. K. (2013), *Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytochemistry content in bitter melon (Momordica charantia)*, *BMC Biotechnology*, 13–37.
12. Leymarie J., Vitkauskaitė G., Hoang H. H., Gendreau E., Chazoule V., Meimoun P., Corbineau F., Maarouf-Bouteau, Bailly C. (2012), *Role of Reactive Oxygen Species in the Regulation of Arabidopsis Seed Dormancy*, *Plant and Cell Physiology*, 53(1), 96–106.
13. Malecka A., Piechalak A., Tomaszewska B. (2009), *Reactive oxygen species production and antioxidative defense system in pea root tissues treated with lead ions: the whole roots level*, *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 1053–1063.
14. Mohamed A. K. S. et al. (2017). *Interactive effect of salinity and silver nanoparticles on photosynthetic and biochemical parameters of wheat*, *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63(12), 1736–1747.
15. Qian H., Peng X., Xiao H. J. R., Sun L., Zengwei F. (2013), *Comparison of the toxicity of silver nanoparticles and silver ions on the growth of terrestrial plant model Arabidopsis thaliana*. *Journal of Environmental Sciences*, 25, 1947–1956.
16. Ranal M. A., Santana D. G. (2006), *How and why to measure the germination process?*. *Brazilian Journal of Botany*, 29, 1–11.
17. Roberts E. H., Ellis R. A. (1981), *The Quantification of Ageing and Survival in Orthodox Seeds*, *Seed Science and Technology*, 9, 373–409.
18. Scott S., Jones, R., Williams, W. (1984), *Review of data analysis methods for seed germination*, *Crop Science*, 24, 1192–1199.
19. Velikova V., Yordanov I., Edreva A. (2000), *Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain - Treated Bean Plants: Protective Role of Exogenous Polyamines*, *Plant Science*, 151, 59–66.
20. Yin G., Xin X., Song C., Chen X., Zhang J., Wu S., Li R., Liu X., Lu X. (2014), *Activity levels and expression of antioxidant enzymes in the ascorbate–glutathione cycle in artificially aged rice seed*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 1–9.

EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES ON SEED GERMINATION AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF DAI THOM 8 RICE VARIETY

Nguyen Quang Hoang Vu, Hoang Thi Kim Hong*

University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue St., Hue, Vietnam

Abstract. This paper presents the results of a study on the effects of silver nanoparticles (AgNPs) on germination and some biochemical characteristics of Dai Thom 8 rice variety at the germination stage in the Winter-Spring crop 2017 - 2018 and Summer-Autumn crop 2018. The results showed that the treatment of rice seeds with silver nanoparticles at the germination stage significantly improved the germination rate of the seed, the length of radicle and plumule and reduced the mean germination time compared with the control. In addition, the exposure to AgNPs also significantly increased α -amylase, total soluble sugar content, catalase activity, and H₂O₂ content during seed germination. The results of this study were empirical evidence as the scientific basis for the application of AgNPs as a technique to improve seed germination and seedling growth.

Keywords: biochemical characteristics, Dai Thom 8, rice germination, silver nanoparticles