

# HIỆU ỨNG KÍCH THÍCH SINH TRƯỞNG VÀ GIA TĂNG HOẠT TÍNH CHITINASE CỦA CHẾ PHẨM NANO BẠC/SiO<sub>2</sub> ỔN ĐỊNH TRONG OLIGOCHITOSAN CHẾ TẠO BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ TRÊN CÂY ĐẬU NÀNH

Trần Đức Trọng<sup>1</sup>, Võ Tấn Phúc<sup>2</sup>, Nguyễn Thanh Vũ<sup>1</sup>, Ngô Trần Vũ<sup>1</sup>, Trần Lệ Trúc Hà<sup>3</sup>, Lê Quang Luân<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>3</sup>Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

## TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá hiệu ứng thúc đẩy tăng trưởng và hoạt tính chitinase của chế phẩm nano bạc gắn trên vi hạt silica ổn định trong oligochitosan (AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS) trên cây đậu nành. Kết quả thí nghiệm ở giai đoạn nảy mầm cho thấy việc xử lý hạt với 0,4% chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS đã có tác dụng rút ngắn thời gian nảy mầm trung bình (19,59%), gia tăng đáng kể tỷ lệ nảy mầm (11,62%), chiều dài mầm (39,15%), sinh khối tươi (39,43%), sinh khối khô (46,67%) và hoạt tính chitinase (29,27%) so với hạt đậu nành ở lô đối chứng không xử lý. Bên cạnh đó, kết quả thí nghiệm trong nhà lưới cũng cho thấy việc phun 0,4 % chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS cũng đã làm gia tăng đáng kể chiều cao cây (26,91%), chiều dài rễ (29,22%), sinh khối tươi (71,91%), sinh khối khô (108,76%) và hoạt tính chitinase (20,69 - 80,33%) ở cây đậu nành giai đoạn 35 ngày tuổi. Ngoài ra, kết quả thử nghiệm trên đồng ruộng cũng cho thấy khi sử dụng chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS với nồng độ 0,4% còn có tác dụng làm tăng năng suất của cây đậu nành lên đến 51,4% so với đối chứng. Kết quả nghiên cứu này cho thấy chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma Co-60 rất có triển vọng trong việc ứng dụng vào sản xuất nông nghiệp.

*Từ khóa:* AgNPs/SiO<sub>2</sub>/Oligochitosan, Chitinase, đậu nành, nano bạc, tăng trưởng.

## MỞ ĐẦU

Đậu nành là một trong các loại ngũ cốc phổ biến ở Việt Nam và trên thế giới. Theo thống kê năm 2017 của Tổng cục Thống kê Việt Nam, nước ta có 68.500 ha gieo trồng đậu nành, sản lượng đạt 102.300 tấn. Tuy nhiên, sản lượng đậu nành trong nước chỉ đáp ứng được khoảng 7% nhu cầu cho các ngành công nghiệp (Tổng cục Thống kê, 2017), do đó việc gia tăng năng suất đậu nành là vấn đề đáng quan tâm trong giai đoạn hiện nay. Bên cạnh đó, với xu hướng quay trở lại nền nông nghiệp hữu cơ của Việt Nam nói riêng và thế giới nói chung hiện nay, việc sử dụng các chế phẩm bảo vệ thực vật có nguồn gốc sinh học, ứng dụng công nghệ cao, an toàn, thân thiện với môi trường và người sử dụng cũng như có khả năng thúc đẩy sinh trưởng và kích kháng giúp cây trồng đề kháng lại đa dạng các loại dịch hại do vi sinh vật gây ra từ đó gia tăng năng suất là hướng đi đúng đắn và rất cần thiết (Báo cáo phân tích xu hướng công nghệ, 2012).

Oligochitosan (OCTS) được biết đến là sản phẩm cắt mạch từ chitosan, một polymer có nguồn gốc tự nhiên chiết xuất từ phụ phẩm vỏ tôm cua của ngành chế biến thủy hải sản. Oligochitosan đã được chứng minh là có khả năng thúc đẩy hoạt động của các enzyme phytoalexin như chitinase, phenylalanine ammonia lyase và peroxidases trong quá trình nảy mầm ở hạt đậu nành và đại mạch (Luan *et al.*, 2006). Trong khi đó silica chế tạo từ tro trấu vốn là phụ phẩm rất dồi dào của ngành xay xát lúa gạo với giá thành rẻ và có nhiều tiềm năng ứng dụng trong nông nghiệp. Silica (SiO<sub>2</sub>) có trong cấu trúc vách của tế bào thực vật, giúp thực vật chống lại sự xâm nhập của vi sinh gây hại thông qua cơ chế tăng cường hoạt động của các enzyme phytoalexin (Belanger *et al.*, 1995). Các nghiên cứu về khả năng tăng cường chống chịu, đề kháng thực vật của nano silica kháng lại các vi sinh vật gây bệnh và tăng cường khả năng sinh trưởng phát triển của thực vật ngày càng được quan tâm rộng rãi (Phu *et al.*, 2017). Ngoài ra nano bạc (AgNPs) cũng đã được nhiều nhà khoa học chứng minh là có hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm cao, đặc biệt đối với một số chủng nấm gây bệnh trên cây trồng có thể kể đến như *Corynespora cassicola* (Nhiên *et al.*, 2018), *Phytophthora capsici* (Luan *et al.*, 2014), *Rhizoctonia solani* và *Colletotrichum gloeosporioides* (Trong *et al.*, 2022). Thêm vào đó, nano bạc còn tham gia vào một số chu trình chuyển hóa của cây trồng giúp tăng cường sự sinh trưởng và phát triển của thực vật trong giai đoạn nuôi cấy mô (Nhut *et al.*, 2014).

Nghiên cứu kết hợp cả ba loại hoạt chất nano bạc, vi hạt silica và chitosan trong cùng một chế phẩm hứa hẹn sẽ mang lại hiệu quả không chỉ thúc đẩy sinh trưởng và phát triển mà còn gia tăng hoạt tính chitinase (loại enzyme

có tác dụng tăng khả năng kích kháng bệnh) ở cây trồng nói chung và trên cây đậu nành nói riêng. Chính vì vậy nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu đánh giá hiệu ứng kích thích sinh trưởng và gia tăng hoạt tính chitinase của AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ trên cây đậu nành nhằm ứng dụng chế phẩm như loại phân bón có khả năng kích kháng bệnh mới trong nông nghiệp.

## NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Nguyên liệu

Chế phẩm nano bạc (AgNPs) (1mM) gắn trên vi hạt silica (SiO<sub>2</sub>) (2%) ổn định trong oligochitosan (OCTS) (5%) được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma Co-60 (Tuan et al., 2021) tại Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh. Hạt đậu nành (*Glycine max* L) có mã giống PN được cung cấp bởi Công ty TNHH giống cây trồng Phú Nông (Thành phố Hồ Chí Minh).

### Phương pháp

#### Đánh giá hiệu quả của chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS trên mầm đậu nành

Các hạt đậu nành (không sâu, lép, hỏng) được xử lý khử trùng với cồn 70° trước khi được ngâm trong chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS hoặc oligochitosan (OCTS) với nồng độ được mô tả ở bảng 1, đối chứng chỉ sử dụng nước cất. Sau 30 phút, các hạt được chuyển vào các khay nhựa có lót bông giữ ẩm và theo dõi sự nảy mầm trong điều kiện phòng thí nghiệm. Mỗi nghiệm thức sử dụng 100 hạt và được lặp lại 3 lần.

**Bảng 1. Bố trí thí nghiệm đánh giá hiệu quả của chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS trên mầm đậu nành**

Nghiệm thức	ĐC (H <sub>2</sub> O)	OCTS	Chế phẩm AgNPs/SiO <sub>2</sub> /OCTS			
Nồng độ sử dụng, %	-	0,4	0,1	0,2	0,3	0,4

Tiến hành quan sát, ghi nhận các chỉ tiêu như tỉ lệ nảy mầm, thời gian nảy mầm trung bình và sinh khối tươi bằng các công thức sau (Ranal et al., 2006):

Tỷ lệ nảy mầm (%) = 100×(số hạt nảy mầm/tổng số hạt)

Thời gian nảy mầm (giờ) = (G<sub>1</sub>T<sub>1</sub> + G<sub>2</sub>T<sub>2</sub> + ... + G<sub>n</sub>T<sub>n</sub>)/(G<sub>1</sub> + G<sub>2</sub> + ... + G<sub>n</sub>). Trong đó, G: số hạt nảy mầm và T: thời gian theo dõi.

Sinh khối tươi (g/50 mầm) được xác định bằng cách cân ngẫu nhiên 50 mầm.

**Xác định hoạt tính chitinase trong mầm đậu nành:** Chitinase từ các mầm đậu nành ở các lô thí nghiệm được ly trích và thu nhận theo quy trình của Dinesh và đồng tác giả (2010). Cụ thể, 1 g mầm đậu nành thu được ở các nghiệm thức được cho vào các eppendorf có chứa 1 mL đệm CH<sub>3</sub>COONa (0,1 M, pH ~ 4,8) và làm lạnh nhanh ở -80°C trong 20 phút. Mẫu sau đó được đồng hóa trong 10 phút và tiến hành ly tâm trong 30 phút với tốc độ 12000 vòng/phút ở 4°C để thu dịch nổi. Bổ sung muối (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bão hòa (80%) với tỷ lệ 1:1 vào phần dịch nổi, để lạnh ở 4°C trong 1 giờ. Ly tâm dịch nổi trong 30 phút với tốc độ 12000 vòng/phút ở 4°C để thu nhận tủa. Tiến hành hòa tan tủa trong đệm CH<sub>3</sub>COONa để thu dung dịch enzyme. Hoạt tính của chitinase ở các nghiệm thức xác định bằng chitinase assay kit (CS-980-1KT, Sigma, Mỹ). Hoạt tính chitinase được tính toán dựa trên công thức sau:

$$\text{Hoạt tính chitinase (UI/mL)} = \frac{(\text{ODmẫu} - \text{ODblank}) \times 0,05 \times 0,3 \times \text{DF}}{\text{OD chuẩn} \times 15 \times 0,3}$$

Trong đó: OD mẫu: Độ hấp thụ của mẫu đo ở bước sóng 405 nm.

OD blank: Độ hấp thụ của đệm CH<sub>3</sub>COONa đo ở bước sóng 405 nm.

OD mẫu chuẩn: Độ hấp thụ của mẫu chuẩn đo ở bước sóng 405 nm.

DF: Hệ số pha loãng.

#### Đánh giá hiệu quả của chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS trên giai đoạn cây con trồng trong nhà lưới

Các hạt đậu nành được xử lý khử trùng với cồn 70°, sau đó được gieo trong khay nhựa chứa giá thể mùn dừa. Khi cây con được 10 ngày tuổi, tiến hành chọn các cây con đồng đều chuyển vào chậu nhựa và được để ổn định 24 giờ trong nhà lưới trước khi phân lô thí nghiệm. Thí nghiệm gồm 06 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 5 chậu, mỗi chậu trồng 3 cây và được lặp lại 3 lần. Các nghiệm thức được phun 200 mL chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS hoặc oligochitosan với nồng độ được mô tả ở bảng 2, phun ướt đều mặt lá với tần suất 7 ngày 1 lần, nghiệm thức đối chứng chỉ phun với nước cất. Đánh giá chỉ tiêu sinh trưởng (chiều cao cây, chiều dài rễ, sinh khối tươi và sinh khối khô) và hoạt tính chitinase của cây đậu nành khi cây được 35 ngày tuổi.

**Bảng 2. Bố trí thí nghiệm đánh giá hiệu quả của chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS trên đậu nành ở giai đoạn cây con**

Nghiệm thức	ĐC (H <sub>2</sub> O)	OCTS	Chế phẩm AgNPs/SiO <sub>2</sub> /OCTS			
Nồng độ sử dụng, %	-	0,4	0,1	0,2	0,3	0,4

Xác định hoạt tính chitinase trong cây đậu nành 35 ngày tuổi: Các mẫu lá, rễ và thân cây con đậu nành (10 g/mẫu) ở các nghiệm thức được thu nhận vào các ống falcon 50 mL có chứa 10 mL đệm CH<sub>3</sub>COONa, tiến hành ly trích và xác định hoạt tính chitinase theo quy trình đã trình bày ở trên.

### Khảo sát khả năng gia tăng năng suất ở đậu nành của chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS trên đồng ruộng

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 7 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức gồm 40 ô, mỗi ô trồng 3 cây và mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Khoảng cách giữa các nghiệm thức là 0,3 m, giữa các ô là 15 cm.

Gieo 5 hạt/ô, sau 15 ngày gieo hạt, tiến hành tỉa bỏ, chọn các cây đồng nhất để đạt mật độ 3 cây/ô. Phun chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS (nồng độ xem bảng 3); ĐC: Chỉ phun nước cất, không sử dụng chế phẩm và không sử dụng thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) phòng trừ sâu bệnh hại; ĐC(+): Sử dụng thuốc BVTV thường dùng để phòng và trừ các loại sâu bệnh như sau: YomiSuper, Tilt super, Valivithaco 5WP, Ridomint Gold (phòng trị bệnh thối thân và rỉ sắt), Newgard, Peran, Fastac (trị sâu ăn lá, ăn quả và trị rệp sáp) phun khi cây được 15 ngày tuổi với liều lượng khuyến cáo của nhà sản xuất. 7 ngày 1 lần và mỗi lần sử dụng 300 mL cho mỗi nghiệm thức. Đối với các nghiệm thức sử dụng chế phẩm thì hoàn toàn không sử dụng thuốc BVTV.

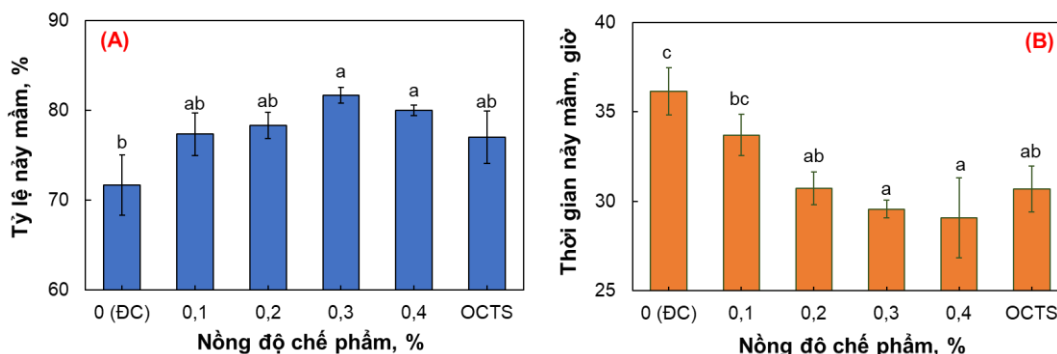
**Bảng 3. Bố trí thí nghiệm đánh giá hiệu quả tăng năng suất của chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS trên đậu nành**

Nghiệm thức	ĐC (H <sub>2</sub> O)	BVTV	Chế phẩm AgNPs/SiO <sub>2</sub> /OCTS			
<b>Nồng độ sử dụng, %</b>	-	Theo khuyến cáo của nhà sản xuất	0,1	0,2	0,3	0,4

Theo dõi các chỉ tiêu phát triển như số hoa, số quả trên cây và tỷ lệ đậu quả, năng suất cá thể và năng suất thực tế của mỗi nghiệm thức trong suốt giai đoạn thí nghiệm cho đến khi thu hoạch. Ghi nhận các chỉ tiêu trên 10 ô/nghiệm thức (Các ô theo dõi được lấy ngẫu nhiên trên 2 đường chéo của nghiệm thức). Các kết quả thu được từ các thí nghiệm được tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel và xử lý thống kê bằng phần mềm IBM SPSS Startistics 20.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

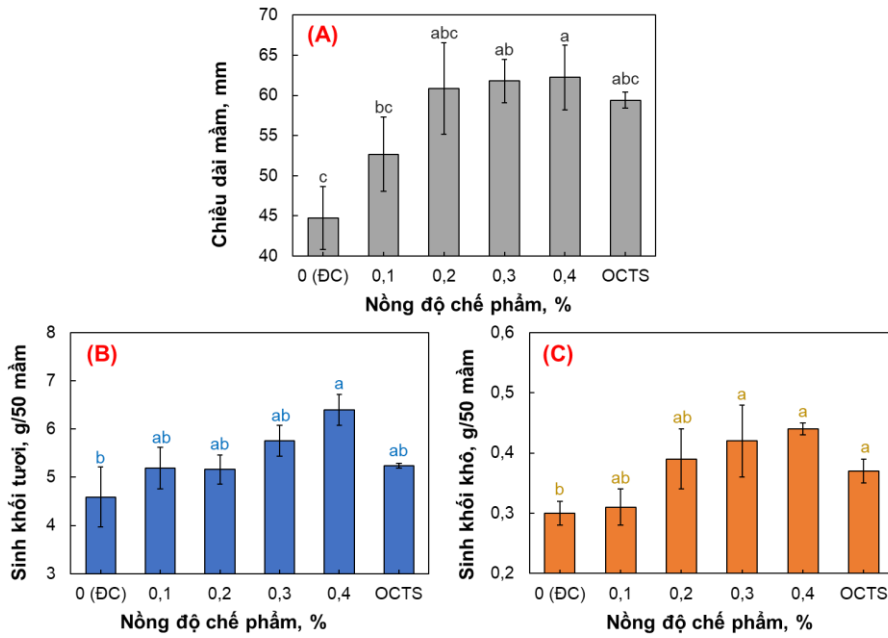
### Hiệu quả của chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS trên mầm đậu nành



**Hình 1. Tỷ lệ nảy mầm (A) và thời gian nảy mầm trung bình (B) của hạt đậu nành khi được xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS ở các nồng độ khác nhau. Trong cùng 1 hình, các giá trị theo sau bởi cùng ký tự thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ )**

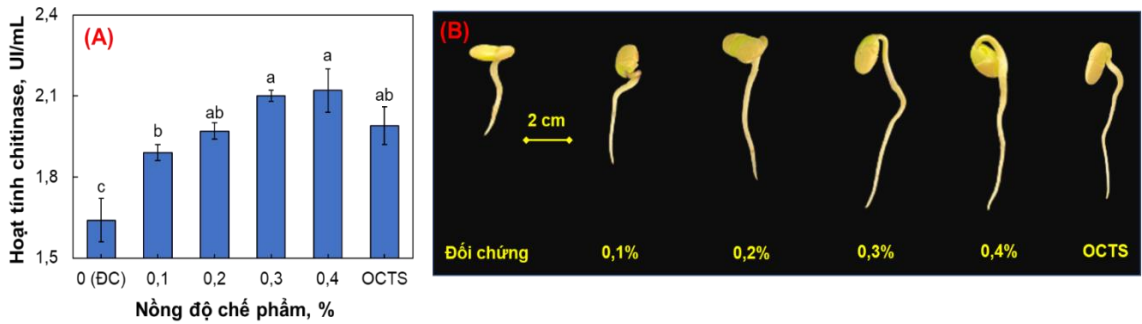
Kết quả Hình 1 cho thấy khi xử lý ngâm hạt với chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS ở các nồng độ khác nhau ảnh hưởng khá lớn đến tỷ lệ nảy mầm và thời gian nảy mầm của đậu nành. Ở nghiệm thức ĐC tỷ lệ nảy mầm và thời gian nảy mầm trung bình lần lượt đạt 71,67% và 36,15 giờ. Khi tăng nồng độ chế phẩm từ 0,1 - 0,4%, mầm đậu nành phát triển mạnh, tỷ lệ nảy mầm và sinh khối tươi của mầm tăng dần, đạt từ 77,33 - 81,67% và 5,19 - 6,4 g/50 mầm. Đồng thời, hạt đậu nành cũng nảy mầm nhanh hơn, với thời gian nảy mầm trung bình giảm từ 36,15 giờ (ở lô ĐC) xuống còn từ 29,07 - 33,71 giờ (ở các lô xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS). Bên cạnh đó, kết quả từ hình 2 và 3B cũng cho thấy mầm đậu nành phát triển mạnh sau 3 ngày được xử lý với 0,1 - 0,4% chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS, chiều dài mầm tăng từ 17,78 - 39,15%, chỉ tiêu sinh khối tươi của mầm đậu nành tăng từ 13,07 - 39,43% và chỉ tiêu sinh khối khô của mầm đậu nành tăng từ 3,33 - 46,67% so với nghiệm thức đối chứng (SVĐC).

Kết quả nhận được từ Hình 3A còn cho thấy ở điều kiện nảy mầm bình thường (không xử lý chế phẩm) thì hoạt tính chitinase của mầm đậu nành chỉ đạt khoảng 1,64 UI/mL. Trong khi đó, hoạt tính chitinase trong mầm đậu nành tăng lên 1,89 - 2,12 UI/mL nghiệm thức sử dụng 0,1 - 0,4% chế phẩm. Hoạt tính chitinase của mầm đậu nành tăng cao nhất tại nghiệm thức xử lý với 0,3 và 0,4% chế phẩm, lần lượt đạt 2,1 và 2,12 UI/mL, cao hơn SVĐC là 28,05 và 29,27%.



Hình 2. Khả năng sinh trưởng của mầm đậu nành khi được xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS ở các nồng độ khác nhau. Trong đó: A, B và C lần lượt tương ứng với chiều dài mầm, sinh khối tươi và sinh khối khô. Trong cùng 1 hình, các giá trị theo sau bởi cùng ký tự thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

Kết quả này khá tương đồng với nghiên cứu của Hameed (2013), Amira và đồng tác giả (2015), Noshad và đồng tác giả (2019) khi thông báo rằng việc sử dụng vi hạt silica, OCTS hoặc AgNPs có vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng của hạt lúa mì, đậu răng ngựa và cà chua. Bên cạnh đó, việc tiền xử lý hạt đậu nành với chế phẩm còn làm gia tăng đáng kể hoạt tính chitinase, một trong những enzyme có vai trò quan trọng trong quá trình sinh tổng hợp ở thực vật, thúc đẩy quá trình tạo phôi, tổng hợp ethylene, giúp thực vật chống chịu lại các điều kiện bất lợi của ngoại cảnh như khô hạn, nhiễm mặn, nhiệt độ thấp, v.v. (Smith & Osburn, 2016)



Hình 3. Hoạt tính chitinase (A) ở mầm đậu nành (B) khi được xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS ở các nồng độ khác nhau. Trong cùng 1 hình, các giá trị theo sau bởi cùng ký tự thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

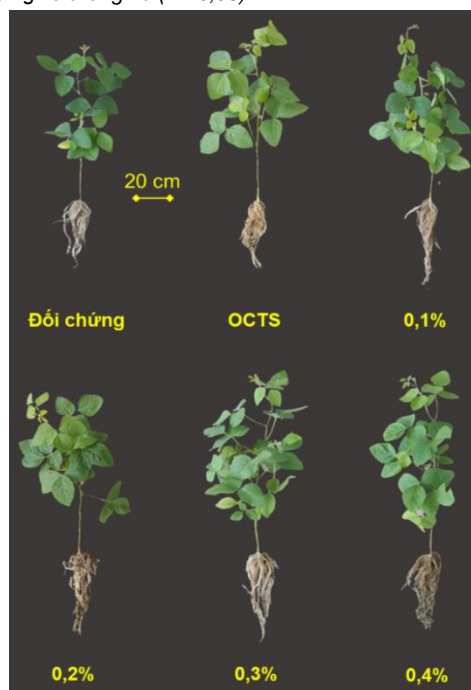
**Hiệu quả của chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS giai đoạn cây con trồng trong nhà lưới**

**Bảng 4. Các chỉ tiêu sinh trưởng của cây đậu nành khi xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS ở các nồng độ khác nhau trong giai đoạn 35 ngày tuổi**

Nồng độ chế phẩm, %	Chiều cao cây, cm (±SE)	Chiều dài rễ, cm (±SE)	Sinh khối tươi, g/cây (±SE)	Sinh khối khô, g/cây (±SE)
0(ĐC)	65,4 <sup>b</sup> ± 1,4	30,8 <sup>b</sup> ± 1,6	73,5 <sup>b</sup> ± 2,1	8,3 <sup>c</sup> ± 1,0
0,1	65,2 <sup>b</sup> ± 2,5	33,6 <sup>ab</sup> ± 2,5	73,4 <sup>b</sup> ± 7,2	8,4 <sup>c</sup> ± 0,7
0,2	70,4 <sup>b</sup> ± 0,5	36,8 <sup>ab</sup> ± 1,0	73,6 <sup>b</sup> ± 5,8	8,6 <sup>c</sup> ± 0,5
0,3	82,8 <sup>a</sup> ± 2,0	36,0 <sup>ab</sup> ± 2,2	120,0 <sup>a</sup> ± 10,6	16,0 <sup>ab</sup> ± 1,6
0,4	83,0 <sup>a</sup> ± 1,8	39,8 <sup>a</sup> ± 2,1	126,4 <sup>a</sup> ± 9,7	17,4 <sup>a</sup> ± 2,7
OCTS	78,0 <sup>a</sup> ± 1,7	34,8 <sup>ab</sup> ± 1,9	93,9 <sup>b</sup> ± 3,2	12,0 <sup>bc</sup> ± 1,5

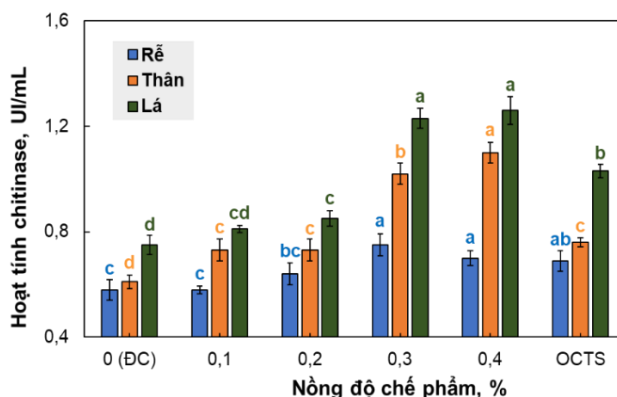
Trong cùng 1 cột, các giá trị theo sau bởi cùng ký tự thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

Kết quả từ Bảng 4 và Hình 4 cho thấy ở giai đoạn 35 ngày tuổi trồng trong điều kiện nhà lưới, chiều cao cây và chiều dài rễ của cây đậu nành ở lô ĐC lần lượt đạt 65,4 và 30,8 cm, sinh khối tươi và sinh khối khô đạt tương ứng 73,5 và 8,3 g/cây. Trong khi đó, ở các lô thí nghiệm có xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS ở các nồng độ khác nhau cũng như lô thí nghiệm xử lý với oligochitosan, các chỉ tiêu về sinh trưởng được gia tăng đáng kể, đặc biệt ở nồng độ chế phẩm là 0,3 và 0,4% hiệu ứng tăng cường tăng trưởng được thể hiện rõ nhất. Cụ thể, ở lô thí nghiệm xử lý với 0,3 và 0,4% chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS chiều cao cây đậu nành đạt 82,8 và 83,0 cm tăng 26,6 và 26,9% SVĐC. Chiều dài rễ đạt 36 - 39 cm và tăng 16,9-26,2% so với lô đối chứng (hình 4). Sinh khối tươi và sinh khối khô ở lô xử lý 0,3 và 0,4% chế phẩm cũng tăng từ 63,3 - 71,9% đối với sinh khối tươi và từ 92 - 108,8% đối với sinh khối khô khi SVĐC. Các kết quả này khá phù hợp với nghiên cứu của Phu và đồng tác giả (2017), việc phun oligochitosan hoặc hợp phần oligochitosan-nanosilica làm gia tăng đáng kể chiều cao cây và sinh khối của cây đậu nành SVĐC.



**Hình 4. Khả năng sinh trưởng của cây đậu nành khi được xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS ở các nồng độ khác nhau**

Kết quả nhận được từ hình 5 cũng cho thấy việc xử lý đậu nành với 0,1 - 0,4% chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS làm gia tăng hoạt tính chitinase ở rễ, thân và lá đậu nành. Cụ thể, hoạt tính chitinase ở rễ tăng 0,5 - 29,3%, ở thân tăng 19,7 - 80,3% và ở lá tăng 8,0 - 68,0% SVĐC. Trong đó, hoạt tính chitinase thu được ở các mẫu cây đậu nành được xử lý với chế phẩm AgNPs/ SiO<sub>2</sub>/OCTS ở nồng độ 0,3 và 0,4% cho hiệu quả cao nhất. Kết quả này khá phù hợp với nghiên cứu của Luan và đồng tác giả (2006), nhóm nghiên cứu đã thông báo rằng oligochitosan không chỉ có tác dụng thúc đẩy sự tăng trưởng của thực vật mà còn tăng cường hoạt động của enzyme phytoalexin cụ thể là PAL và chitinase giúp cây trồng ngăn ngừa sự lây nhiễm các bệnh do vi sinh vật. Tuan và đồng tác giả (2019) cũng đã báo cáo rằng việc xử lý kết hợp oligochitosan và silica trên cây thanh long làm gia tăng đáng kể hoạt tính chitinase so với các cây thanh long ở lô đối chứng không xử lý cũng như cây thanh long chỉ xử lý với oligochitosan.



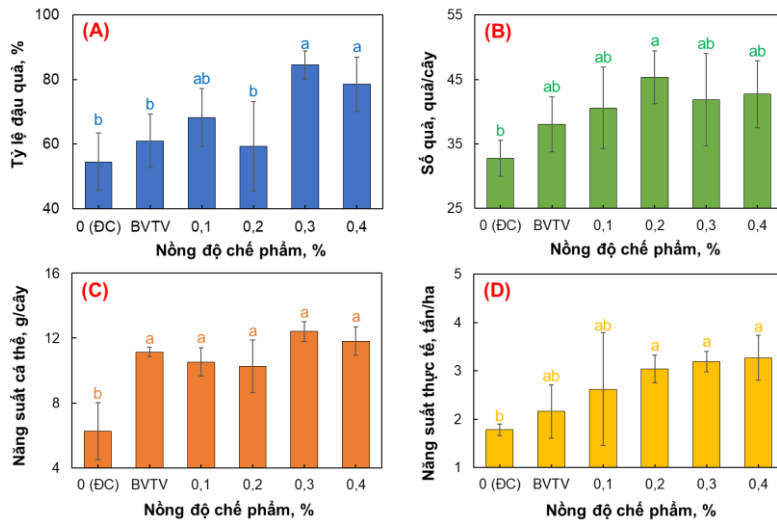
**Hình 5. Hoạt tính chitinase ở mầm đậu nành khi được xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS ở các nồng độ khác nhau.**  
 Trong cùng 1 hình, các giá trị theo sau bởi cùng ký tự thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

**Hiệu quả gia tăng năng suất của chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS trên cây đậu nành trồng ngoài đồng ruộng**

Kết quả hình 6 cho thấy chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS đã có ảnh hưởng đến các chỉ tiêu cấu thành năng suất ở cây đậu nành như tỷ lệ đậu quả, số quả, năng suất cá thể và năng suất thực tế của cây đậu nành. Cụ thể, ở nghiệm thức đối chứng số quả chỉ đạt 32,73 quả/cây, tỷ lệ đậu quả là 54,56%, quả bị lép nhiều, năng suất cá thể chỉ đạt 6,26 g/cây và năng suất thực tế là 1,78 tấn/ha. Ở nghiệm thức sử dụng các biện pháp canh tác như bình thường (sử dụng thuốc BVTV và không phun chế phẩm), cây đậu nành hầu như không bị sâu bệnh. Tuy nhiên, số quả chỉ đạt 38,03 quả/cây, tỷ lệ đậu quả hầu như không tăng so với đối chứng (61,04%), quả ít lép, tuy nhiên năng suất cá thể và năng suất thực tế chỉ đạt là 11,3 g/cây và 2,16 tấn/ha. Ở những nghiệm thức sử dụng chế phẩm, số quả và tỷ lệ đậu quả cao, với 40,57 - 43,56 quả/cây, tỷ lệ đậu quả và năng suất cá thể đạt 84,53% và

11,82 - 12,4 g/cây, ở những nghiệm thức sử dụng từ 0,3 - 0,4% chế phẩm thì có số quả, tỷ lệ đậu quả, năng suất cá thể và năng suất thực tế cao nhất. Số quả có 3 hạt chiếm tỷ lệ cao, hạt to và đồng nhất. Ở các nghiệm thức này, năng suất thực tế tăng mạnh và đạt lần lượt là 3,19 và 3,27 tấn/ha, cao hơn 47,7 - 51,4% so với nghiệm thức sử dụng các biện pháp canh tác thông thường.

Các kết quả nhận được khá phù hợp với nghiên cứu của Kumaraswamy và đồng tác giả (2020) khi nhóm nghiên cứu đã thông báo rằng việc xử lý chế phẩm phân bón chitosan-SiO<sub>2</sub> trên cây ngô mang lại hiệu quả gia tăng năng suất lên đến 43,5% so với nghiệm thức chỉ sử dụng SiO<sub>2</sub> và 65,1% so với lô đối chứng không xử lý chế phẩm. El-Sawy và đồng tác giả (2010) cũng báo cáo rằng OCTS với khối lượng phân tử thấp kích thích sinh trưởng và tăng năng suất hạt đậu tằm tốt hơn so với chitosan có khối lượng phân tử cao. Vật liệu tổ hợp giữa OCTS và nano silica giúp tăng cường năng suất trên cây đậu nành lên đến 35% (Phu *et al.*, 2017).



Hình 6. Các chỉ tiêu năng suất của cây đậu nành sau khi xử lý với chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS ở các nồng độ khác nhau. Trong đó: A, B, C và D tương ứng với Tỷ lệ đậu quả, Số quả, Năng suất cá thể và năng suất thực tế. Trong cùng 1 hình, các giá trị theo sau bởi cùng ký tự thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

## KẾT LUẬN

Chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma Co-60 đã có tác dụng thúc đẩy sinh trưởng ở các giai đoạn khác nhau trên cây đậu nành đặc biệt khi sử dụng chế phẩm ở nồng độ 0,4%. Cụ thể, trong giai đoạn mầm, chế phẩm làm gia tăng 11,62% tỷ lệ nảy mầm, rút ngắn 19,59% thời gian nảy mầm trung bình, tăng cường sinh trưởng mầm thể hiện qua sự gia tăng 39,15% chiều dài mầm, gia tăng 39,43% sinh khối tươi và 47,67% sinh khối khô của mầm, đồng thời tăng 29,27% hoạt tính chitinase SVĐC. Mặt khác, việc phun chế phẩm trong giai đoạn cây con trồng trong nhà lưới cũng có tác dụng tăng khả năng sinh trưởng (26,91% chiều cao cây; 29,22% chiều dài rễ; 71,91% sinh khối tươi và 108,76% sinh khối khô) và cảm ứng gia tăng hoạt tính chitinase ở rễ (20,69%), thân (80,33%) và lá (68%) đậu nành. Thêm vào đó, kết quả thử nghiệm trên đồng ruộng cũng cho thấy khi sử dụng 0,4% chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS có tác dụng tăng 43,95% tỷ lệ đậu quả và 30,46% số quả trên cây từ đó dẫn đến gia tăng năng suất đậu nành sau khi thu hoạch lên 51,4% SVĐC. Như vậy, có thể thấy chế phẩm AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS có tiềm năng ứng dụng rất lớn trong canh tác đậu nành nói riêng và trong ngành trồng trọt nói chung.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Amira MS, Qados A, Moftah AE (2015). Influence of silicon and nano-silicon on germination, growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress conditions. *AJEA*, 5(6):509-524.
- Belanger RB, Bowen PA, Ehret DL, Menzies JG (1995). Soluble silicon: Its role in crop and disease management of greenhouse crops. *Plant Dis*, 79:329-336.
- Dinesh KP, SantaRam A, Shivanna MB (2010). Studies on the chitinase activity in coffee (*Coffea arabica* L.) genetic resources in India. *Res J Agric Biol Sci*, 6(4):449-452.
- El-Sawy NM, El-Rehim HAA, Elbarbary AM, El-Sayed AH (2010). Radiation-induced degradation of chitosan for possible use as growth promoter in agricultural purposes. *Carbohydr Polym*, 79(3):555-562.
- Hameed A (2013). Chitosan priming enhances the seed germination, antioxidants, hydrolytic enzymes, soluble proteins and sugars in wheat seeds. *Agrochimica*, VII(1): 32-46.
- Kumaraswamy RV, Saharan V, Kumari S, Chandra CR, Pal A, Sharma SS, Rakshit S, Raliya R, Biswas P (2020). Chitosan-silicon nanofertilizer to enhance plant growth and yield in maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiol Biochem*, 159:53-66.

- Luan LQ, Nagasawa N, Tamada M, Nakanishi TM (2006). Enhancement of plant growth activity of irradiated chitosan by molecular weight fractionation. *Radiol isotopes*, 55:21-27.
- Luan LQ, Uyen NHP, Giang PH (2014). Study on the antifungal effect of silver nano particle-chitosan prepared by irradiation method on *Phytophthora capsici* causing the blight disease on pepper plant. *Tạp chí sinh học*, 36(1se):152-157.
- Noshad A, Hetherington C, Iqbal M (2019). Impact of AgNPs on Seed Germination and Seedling Growth: A Focus Study on Its Antibacterial Potential against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Infection in *Solanum lycopersicum*. *J Nanomater*, 2019:1-12.
- Nhien LTA, Luong ND, Tien LT, Luan LQ (2018). Radiation Synthesis of Silver Nanoparticles/Chitosan for Controlling Leaf Fall Disease on Rubber Trees Causing by *Corynespora cassiicola*. *J Nanomater*, 2018:1-9.
- Nhut DT, Tan HT, Hien NTT, Cuong LK, Luan VQ, Nam NB, Huy NP, Hien VT, Huong TT, Hoang NH, Tuan NX, Sang NT, Cuong NV, Cuong DM, Chau NH, Buu NQ (2014). Effects of nanosilver on growth of *Chrysanthemum* sp., *Fragaria* sp., and *Gerbera* sp. cultured *in vitro*. *Tạp chí công nghệ sinh học*, 12(1):103-111.
- Phu DV, Du BD, Tuan LNA, Tam HV, Hien NQ (2017). Preparation and foliar application of oligochitosan-nanosilica on the enhancement of soybean seed yield. *Int J Environ Agric Biotechnol*, 2(1):421-428.
- Ranal MA, Santana DGD (2006). How and why to measure the germination process?. *Braz J Bot*, 29(1):1-11.
- Smith RS, Osburn RM (2016). Combined Used of Lipo-Chitooligosaccharides and Chitinous Compounds for Enhanced Plant Growth and Yield. U.S. Patent 9,253,989,9 February 2016.
- Tuan LNA, Du BD, Ha LDT, Dung LTK (2019). Induction of chitinase and brown spot disease resistance by oligochitosan and nano silica-oligochitosan in dragon fruit plants. *Agric Res*, 8(2):184-190.
- Tuan NX, Trong TD, Vu NT (2021). Study on the preparation of growth promotion and phytoalexin stimulation AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS material by irradiation method. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 3(124):74-80.
- Trong TD, Vu NT, Anh NTN, Ha TLT, Luan LQ (2022). The antifungal of plant-disease effect of silver nano particles/SiO<sub>2</sub> stability in oligochitosan prepared by gamma Co-60 irradiation. *Proceedings of Vietnam National Conference on Biotechnology 2022*, 721-728.
- Trung tâm Thông tin Khoa học và Công nghệ thành phố Hồ Chí Minh (2012). Báo cáo phân tích xu hướng công nghệ: Sử dụng chế phẩm sinh học trong canh tác cây trồng. Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh.

## THE GROWTH STIMULATION AND CHITINASE ACTIVITY ENHANCEMENT EFFECTS OF IRRADIATION SYNTHESIZED SILVER NANOPARTICLES/SiO<sub>2</sub> STABILIZED IN OLIGOCHITOSAN ON SOYBEAN

Tran Duc Trong<sup>1</sup>, Vo Tan Phuc<sup>2</sup>, Nguyen Thanh Vu<sup>1</sup>,  
Phan Le Tram Anh<sup>1</sup>, Tran Le Truc Ha<sup>3</sup>, Le Quang Luan<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Biotechnology center of Ho Chi Minh city

<sup>2</sup>Nong Lam University

<sup>3</sup>Nguyen Tat Thanh University

### SUMMARY

The study was carried out to evaluate the growth promotion and chitinase activity enhancement effects of the silver nanoparticles doped on silica microparticles and stabilized in oligochitosan (AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS) on soybean plants. The germination test results indicated that the treatment with 0.4% of AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS product decreased the average germination time (19.59%), remarkably enhanced the average germination rate (11.62%), sprout length (39.15%), fresh biomass (39.43%), dry biomass of sprouts (46.67%) and chitinase activity (29.27%) compared to those of soybean seeds in the untreated control group. Besides, the results from the greenhouse experiment also showed that the treatment with 0.4% of AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS product also remarkably enhanced the plant height (26.91%), root length (29.22%), fresh biomass (71.91%), dry biomass (108.76%) and chitinase activity (20.69 - 80.33%) in 35-day-old soybean plants. Furthermore, field trial results demonstrated that the use of AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS product at a concentration of 0.4% also increased soybean yield up to 51.4% compared to that of the control one. The above results showed that the AgNPs/SiO<sub>2</sub>/OCTS product prepared by gamma-ray irradiation is very promising for application in agricultural production.

**Keywords:** AgNPs/SiO<sub>2</sub>/Oligochitosan, Chitinase, Growth, Silver nanoparticles, Soybean.

\* Author for correspondence: Tel: +84-913711223; Email: lequangluan@gmail.com