

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA HẠT NANO COBALT HOÁ TRỊ 0 LÊN HÀM LƯỢNG CHLOROPHYLL A VÀ CÁC THÔNG SỐ QUANG HỢP CỦA CÂY ĐẬU TƯƠNG *Glycine max* (L). MERRILL “DT96”

LƯU THỊ TÂM ⁽¹⁾, PHAN THỊ THU HIỀN ⁽³⁾, VŨ THỊ LOAN ⁽⁴⁾, ĐẶNG DIỄM HỒNG ^(1,2)

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Có nhiều biện pháp để tăng năng suất ở cây trồng như chọn tạo giống có tiềm năng, sử dụng kỹ thuật canh tác hợp lý, tăng hiệu quả quang hợp của cây trồng hoặc sử dụng các kỹ thuật di truyền hiện đại (như chuyển gen, sử dụng các hạt nano kim loại...). Trong đó, việc sử dụng các hạt nano kim loại để kích thích sinh trưởng, tăng tỷ lệ nảy mầm, thúc đẩy sinh trưởng và phát triển, tăng năng suất và giá trị dinh dưỡng của thực vật cũng đang là hướng đi mới tiềm năng và cho hiệu quả kinh tế cao. Cobalt được xem là một nguyên tố kim loại có ích đối với thực vật bậc cao, tham gia vào quá trình tổng hợp chlorophyll, hạn chế sự phân hủy của sắc tố này trong tối, kích thích quá trình phát triển của cây. Chúng tham gia vào quá trình trao đổi đạm do nó được tìm thấy nhiều trong các phức protein trong ty thể của tế bào. Cobalt là một yếu tố cần thiết cho một số loại vi sinh vật đặc biệt là vi sinh vật cố định nitơ, giúp tăng số lượng và khối lượng của nốt sần hữu hiệu ở cây họ đậu [1]. Sử dụng các hạt nano kim loại hóa trị 0 có nhiều đặc điểm nổi trội như kích thước nhỏ, diện tích bề mặt tiếp xúc lớn, có độc tính thấp hơn rất nhiều so với dạng chelates và muối của chúng, dễ dàng hấp thu và có khả năng kích thích các quá trình sinh lý, sinh hóa ở thực vật ngay cả ở nồng độ thấp (< 300 mg/hecta). Hơn nữa, việc sử dụng phương pháp siêu âm để phân tán các hạt nano kim loại trước khi sử dụng sẽ giúp hoạt tính sinh học của các hạt này được tăng cường. Khi đó các nguyên tử hoạt động trên bề mặt của chúng sẽ bị ôxy hóa tạo ra các electron tự do để kích thích quá trình trao đổi chất của cây trồng. Đặc biệt, xử lý hạt giống bằng hạt nano hóa trị 0 trước khi gieo có ảnh hưởng tích cực lên quá trình hô hấp và nảy mầm của cây do đây là giai đoạn rất cần các electron tự do để thực hiện các phản ứng trao đổi của chúng [2]. Một số công trình nghiên cứu về việc sử dụng hạt nano cobalt trên các giống đậu tương khác nhau giúp làm tăng hàm lượng chlorophyll a (khoảng 7-15%), số lượng các nốt sần tăng 20-49% và sản lượng trên đồng ruộng tăng 5-16% so với công thức đối chứng - không xử lý hạt nano cobalt [2, 3, 4, 5, 6].

Giống đậu tương DT96 (*Glycine max* (L.) Merr. ‘DT96’) là tổ hợp lai giữa hai giống đậu tương DT90 và DT84 do Viện Di truyền nông nghiệp (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn) lai tạo. Đây là giống đậu tương có năng suất cao, chống chịu sâu bệnh tốt, thích hợp cho các vùng đất khô hạn và có thể trồng được ba vụ/năm. Giống đậu tương này hiện đang được trồng phổ biến tại Vĩnh Phúc, và đã góp phần mang lại hiệu quả kinh tế cao cho địa phương. Việc sử dụng phân dạng nano để tăng năng suất cây trồng hiện đang là giải pháp triển vọng, giúp nền nông nghiệp phát triển bền vững theo công nghệ xanh, thân thiện với môi trường. Nghiên cứu [7] cho thấy hạt nano cobalt ở nồng độ 0,33 mg/kg hạt đã làm tăng tỷ lệ nảy mầm (93,03%); các chỉ tiêu sinh trưởng (như chiều cao thân, chiều dài rễ, khối lượng khô của thân rễ) của cây đậu tương DT96 đều cao hơn so với công thức đối

chúng. Để làm sáng tỏ hơn nữa tác động tích cực của hạt nano cobalt hóa trị 0 lên việc tăng năng suất của cây đậu tương DT96, trong nghiên cứu này chúng tôi tiếp tục đánh giá sự thay đổi của hàm lượng chlorophyll a và các thông số quang hợp của cây đậu tương DT96 ở các giai đoạn phát triển khác nhau khi có và không có mặt hạt cobalt ở qui mô pilot.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Hạt nano cobalt hóa trị 0 có kích thước < 50 nm do Viện Công nghệ Môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam chế tạo và cung cấp [2]. Các hạt này được phân tán trong nước RO bằng máy siêu âm Sonic & Materials (Mỹ) với công suất 375 W, tần số 20 KHz trong 3 phút 30 giây, sử dụng chất bảo vệ CMC và tác nhân khử NaBH_4 để khử ion Co^{2+} thành Co^0 . Hạt đậu tương giống DT96 do Viện Di truyền nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp (VAAS) cung cấp.

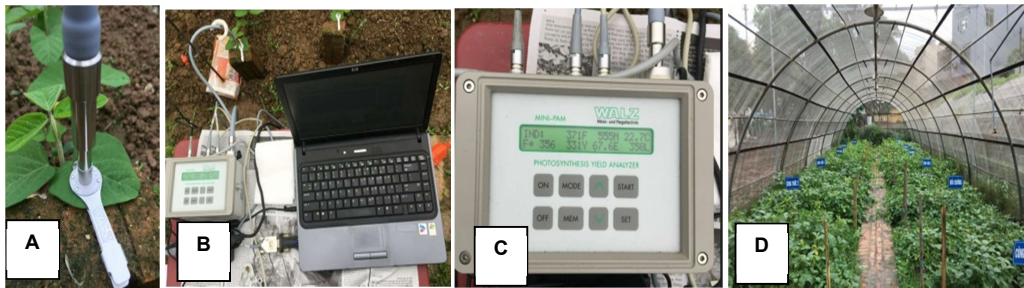
2.2. Phương pháp

Xử lý hạt đậu tương: Quy trình xử lý hạt đậu tương DT96 được thực hiện theo mô tả trong tài liệu [5] nhưng có một số thay đổi về nồng độ hạt nano cobalt sử dụng. Cụ thể: Pha dung dịch nano cobalt bằng nước RO và siêu âm trong 3 phút 30 giây để bảo đảm hạt nano phân tán hoàn toàn trong nước để đạt nồng độ là 6,67; 13,34 và 4000 mg/L, tương ứng. Lượng thể tích dịch nano nêu trên cho xử lý hạt đậu tương là 25 mL dung dịch nano/kg hạt. Chọn các hạt đậu tương chắc mẩy, màu vàng sáng, kích thước đồng đều để tiến hành xử lý. Bổ sung dung dịch nano cobalt tương ứng vào các lô thí nghiệm để đạt nồng độ 0,17; 0,33 và 100 mg/kg hạt, sau đó lắc đảo cho hạt thấm đều dung dịch nano cobalt. Ủ hạt với dung dịch nano cobalt trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, vớt hạt ra và dàn đều trên giấy thấm ở nhiệt độ phòng tới khi vỏ hạt khô thì tiến hành gieo.

Xác định hàm lượng chlorophyll a ở lá đậu tương DT96 khi được xử lý với hạt nano cobalt ở các thời điểm khác nhau: Chlorophyll a của lá đậu tương non hoàn chỉnh nhất được thu ở các thời điểm 10, 20, 30, 40 và 60 ngày sau gieo trồng và được tách chiết theo công bố [5]. Cụ thể như sau: Lá đậu tương (0,1-0,2 g) được cắt nhỏ, nghiền đồng thể trong tối và lạnh trong cối chày sứ với acetone 80% có bổ sung thêm ít cát thủy tinh. Bổ sung acetone trong quá trình nghiền (khoảng 10 mL). Ly tâm 12000 vòng/phút trong 5 phút. Hút phần dịch trong phía trên, định mức lên 10 mL và đo OD ở bước sóng 663 nm (A_{663}) và 646 nm (A_{646}). Hàm lượng chlorophyll a được tính theo công thức của Lichtenthale và Wellburn [8, 9], $\text{Ca} = 12,21 A_{663} - 2,81 A_{646}$ ($\mu\text{g/mL}$).

Xác định tốc độ quang hợp thực của lá cây đậu tương DT96 khi được xử lý với hạt nano cobalt ở các thời điểm khác nhau: Tốc độ quang hợp thực ($-P_n$) là thông số đặc trưng nhất của quá trình quang hợp, trực tiếp phản ánh khả năng quang hợp của thực vật. Thông số này có mối liên hệ chặt chẽ với hàm lượng chlorophyll a và được xác định bằng công thức $Y = 5,134 X - 2,094$ (trong đó X là hàm lượng chlorophyll a và hệ số tương quan r là 0,939) [10].

Đo huỳnh quang chlorophyll a hấp thụ ở bước sóng 680 nm của lá đậu tương DT 96 khi được xử lý với hạt nano cobalt ở các thời điểm khác nhau: Xác định huỳnh quang chlorophyll a có hấp thụ tại bước sóng 680 nm thuộc tâm phản ứng của hệ quang hóa II (P680 nm) ở lá đậu tương DT96 bằng máy Photosynthesis Yield Analyzer - Mini PAM (Walz, Đức) theo [5]. Thời gian ủ tối là 7 phút để các tâm phản ứng của quang hệ II (PSII) ở trạng thái “mở” hoàn toàn hay toàn bộ chất nhận điện tử đầu tiên trong mạch vận chuyển điện tử quang hợp Quinon A (Q_A) ở trạng thái ôxy hóa. Các thông số liên quan đến huỳnh quang chlorophyll như F_o (huỳnh quang ổn định), F_m (huỳnh quang cực đại), F_v/F_m (hiệu suất quang hoá cực đại), tốc độ vận chuyển điện tử (ETR), hiệu suất quang hoá của quang hệ II (PSII) được đọc giá trị trực tiếp trên máy Mini PAM thông qua bộ phận kết nối với máy tính. hình 1 là ảnh minh họa quy trình đo huỳnh quang chlorophyll a bằng máy Mini PAM tại thực địa.



Hình 1. Ảnh minh họa quá trình đo huỳnh quang chlorophyll a bằng máy MINI PAM. A: ủ tối lá đậu tương; B-C: quá trình đo huỳnh quang chlorophyll a; D: ảnh minh họa cây đậu tương DT96 ở các công thức đối chứng và thí nghiệm tại thời điểm 40 ngày

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được tiến hành với 4 công thức: đối chứng (ký hiệu ĐC) - xử lý bằng nước RO; Công thức thí nghiệm 1, 2 và 3 (ký hiệu là CT1, CT2, CT3) - xử lý với hạt nano cobalt ở các liều là 0,17; 0,33 và 100 mg/kg hạt, tương ứng. Mỗi công thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hạt đậu tương ở công thức ĐC và thí nghiệm được gieo trong các ô đất có diện tích 6 m² (kích thước dài x rộng = 3m x 2 m) với mật độ gieo là 35 x 10 cm (gieo 2 - 3 hạt/hốc). Đất được bón phân hữu cơ, phân đạm, lân và kali (tính cho 1 sào - 360 m²) theo tỷ lệ: Phân hữu cơ 360 kg, phân đạm 3 kg, supe lân 10 kg và kali 5 kg trước khi sử dụng. Chế độ dinh dưỡng và chăm sóc được thực hiện theo khuyến cáo của Viện di truyền Nông nghiệp. Thí nghiệm gieo trồng đậu tương DT96 được thực hiện trong vụ đông (từ tháng 10 đến tháng 12 trong năm) tại khu nhà lưới có mái che với ánh sáng tự nhiên của Đại học Sư Phạm Hà Nội 2.

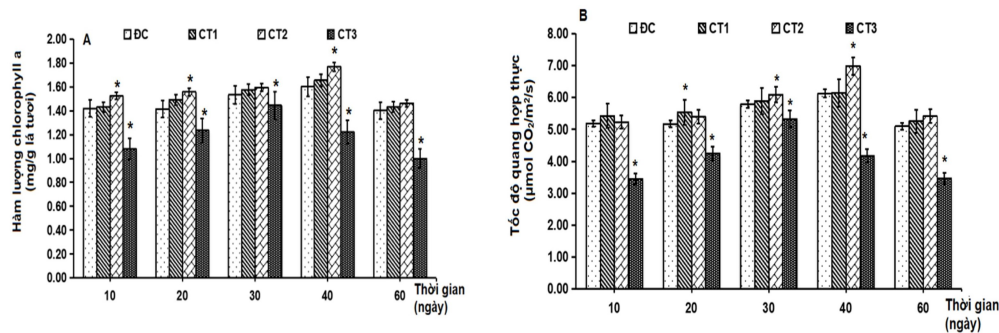
Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel. Sự sai khác giữa các công thức thí nghiệm được đánh giá bằng phân tích ANOVA và Tukey's test với mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Hàm lượng chlorophyll a và tốc độ quang hợp thực của lá đậu tương DT96 ở các giai đoạn khác nhau trong điều kiện có và không xử lý bằng hạt nano cobalt

Sắc tố quang hợp là thành phần thiết yếu của bộ máy quang hợp. Quang hợp của thực vật phụ thuộc vào khả năng hấp thụ năng lượng ánh sáng mặt trời của các sắc tố quang hợp và vận chuyển năng lượng này về tâm phản ứng quang hệ I (PSI) và PS II để thực hiện phản ứng quang hóa với sản phẩm được tạo thành là phân tử ATP và các hợp chất hữu cơ và sau đó tích lũy vào sinh khối. Chlorophyll là sắc tố chính trong hệ sắc tố có khả năng hấp thụ năng lượng ánh sáng mặt trời và sử dụng trong phản ứng quang hóa để tổng hợp lên các hợp chất hữu cơ. Trong nghiên cứu của chúng tôi, hàm lượng chlorophyll a trong lá đậu tương DT96 có xu hướng tăng dần và đạt cực đại ở thời điểm 40 ngày, sau đó giảm dần ở thời điểm 60 ngày. Hàm lượng chlorophyll a trong lá đạt cao nhất tại nồng độ cobalt 0,33 mg/kg hạt giống, giá trị này cao hơn so với các nồng độ cobalt khác và công thức đối chứng ở tại cùng thời điểm. Hàm lượng chlorophyll a đạt giá trị cao nhất là $1,77 \pm 0,05$ mg/g lá tươi ở công thức CT2 sau 40 ngày nuôi, cao hơn 14% so với giá trị tương ứng ở công thức đối chứng. Sự sai khác là có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô đối chứng ($p < 0,05$) (hình 2A). Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với công bố [2] về xử lý hạt nano kim loại (đồng, sắt, cobalt) giúp hàm lượng chlorophyll a của lá cây đậu tương tăng 10% so với công thức đối chứng. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ cobalt lên 100 mg/kg hạt, hàm lượng chlorophyll a lại có xu hướng giảm và thấp hơn so với công thức đối chứng. Điều này có thể do cobalt ức chế hoạt tính của các enzym liên quan đến sinh tổng hợp chlorophyll, giống như 5-aminolevulinic acid và protoporphyrin. Kết quả của chúng tôi cũng tương tự với công bố của Abdul Jaleel và cộng sự [11] khi cho rằng các sắc tố quang hợp như chlorophyll a, chlorophyll b của lá cây đậu xanh *Vigna radiata* có xu hướng tăng ở nồng độ cobalt thấp (< 50 mg/kg), trong khi đó ở nồng độ cobalt cao thì hàm lượng sắc tố có xu hướng giảm.

Tốc độ quang hợp thực (P_n) là một thông số đặc trưng cho quá trình quang hợp và có mối quan hệ chặt chẽ với hàm lượng chlorophyll a. Thông số này có thể trực tiếp phản ánh khả năng quang hợp của thực vật. Giá trị P_n cũng có xu hướng tăng dần và đạt giá trị cực đại tại thời điểm 40 ngày - đây là thời điểm cây đậu tương sinh trưởng mạnh nhất, sau đó, giá trị này giảm ở thời điểm 60 ngày (hình 2B). So với lô đối chứng, các lô được xử lý với hạt nano cobalt (liều xử lý 0,17 và 0,33 mg/kg hạt) giúp cho cây đậu tương sinh trưởng tốt hơn nên tốc độ quang hợp thực cũng đạt được giá trị cao hơn, với giá trị tương ứng đạt $6,14 \pm 0,04$ và $6,98 \pm 0,07$ $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$. Sự sai khác có ý nghĩa thống kê khi so sánh giữa lô đối chứng và lô xử lý hạt nano cobalt ở liều 0,33 và 100 mg/kg hạt ($p < 0,05$) tại thời điểm 40 ngày. Tuy nhiên, không có sự khác biệt giữa liều xử lý 0,17 mg/kg hạt và công thức đối chứng ($p > 0,05$). Khi cây đậu tương vào giai đoạn bắt đầu ra hoa, giá trị P_n của cây giảm đáng kể. Việc giảm giá trị P_n có thể là do ở giai đoạn này cây đậu tương ngừng sinh trưởng sinh dưỡng và tập trung cho việc sinh trưởng sinh thực (ra hoa và kết quả) của cây.



Hình 2. Hàm lượng chlorophyll a (A) và tốc độ quang hợp thực (B) của lá đậu tương DT96 ở các giai đoạn khác nhau khi có và không xử lý bằng hạt nano cobalt

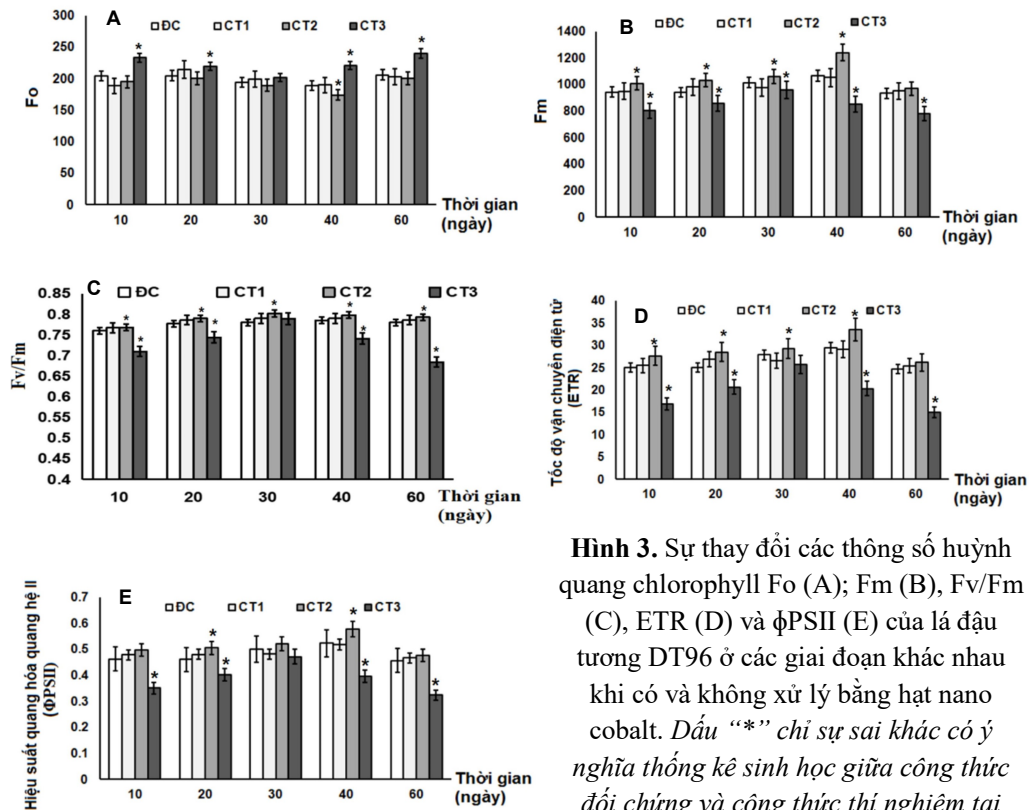
Dấu “*” chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê sinh học giữa công thức đối chứng và công thức thí nghiệm tại cùng một thời điểm ($p < 0,05$).

3.2. Sự thay đổi huỳnh quang chlorophyll a hấp thụ ở bước sóng 680 nm của lá đậu tương DT96 khi được xử lý với hạt nano cobalt ở các thời điểm khác nhau

Ở thực vật, quá trình quang hợp có ý nghĩa vô cùng quan trọng bởi vì 95% năng suất sinh khối của cây phụ thuộc vào quá trình này. Phương pháp đo huỳnh quang chlorophyll a 680 nm - tức là đo huỳnh quang của phân tử chlorophyll a có hấp thụ cực đại ở bước sóng 680 nm thuộc tâm phản ứng PSII của bộ máy quang hợp. Huỳnh quang chlorophyll a là một thông số quan trọng được sử dụng trong nghiên cứu quang hợp, cho phép đánh giá được tình trạng bộ máy quang hợp của thực vật; khả năng chống chịu của cây trồng dưới các điều kiện bất lợi của môi trường. Trong nghiên cứu này, thông số huỳnh quang chlorophyll a được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của hạt nano cobalt hoá trị 0 lên khả năng sử dụng năng lượng ánh sáng được hấp thụ bởi PSII trong phản ứng quang hóa trong quang hợp của cây đậu tương ở các giai đoạn sinh trưởng khác nhau. Kết quả thu trong nghiên cứu được chỉ ra trong hình 3 đã cho thấy các thông số quang hợp như Fm, Fv/Fm, ΦPSII và ETR của lá đậu tương đều có xu hướng tăng và đạt giá trị cực đại tại thời điểm 40 ngày (trừ công thức CT3 - đạt cực đại ở thời điểm 30 ngày). Đồng thời, hạt đậu tương được xử lý bằng hạt nano cobalt với liều 0,17 và 0,33 mg/kg đã làm tăng giá trị của Fm, Fv/Fm, ΦPSII và ETR và đều cao hơn so với đối chứng. Tuy nhiên, một xu hướng ngược lại đã được quan sát thấy trong sự thay đổi của giá trị Fo.

Giá trị Fo có xu hướng giảm dần theo thời gian sinh trưởng của cây đậu tương từ giai đoạn 10 - 40 ngày, sau đó lại có xu hướng tăng lên. Riêng công thức xử lý hạt nano cobalt ở liều 100 mg/kg, giá trị Fo giảm dần trong giai đoạn từ 0 - 30 ngày, sau đó bắt đầu tăng lên. Giá trị Fo của lô xử lý hạt nano cobalt ở nồng độ 0,33 mg/kg hạt tại thời điểm 40 ngày là thấp hơn so với công thức đối chứng ($p < 0,05$). Việc giảm giá trị Fo đã cho thấy tổn thương của quang hệ II đã được giảm bớt khi hạt đậu tương được xử lý bằng hạt nano cobalt (hình 3A).

Sự thay đổi của tham số Fm được chỉ ra ở hình 3B cho thấy giá trị Fm ở tất cả các lô đối chứng và thí nghiệm có xu hướng tăng tăng dần và đạt cực đại ở giai đoạn 40 ngày sau đó đồng loạt giảm ở giai đoạn sau đó. Khi so sánh trong cùng một thời điểm thì Fm của các lô được xử lý với hạt nano cobalt đều cao hơn so với lô đối chứng (trừ liều xử lý 100 mg/kg hạt). Sự sai khác có ý nghĩa thống kê sinh học khi so sánh giữa lô đối chứng và các lô được xử lý với hạt nano cobalt từ giai đoạn 10 ngày đến 40 ngày ($p < 0,05$). Việc giá trị Fm tăng dần theo các giai đoạn sinh trưởng cho thấy vai trò quan trọng của hạt nano cobalt đến việc giảm sự nhạy cảm của bộ máy quang hợp ở cây đậu tương với quá trình quang ức chế xảy ra ở cây đậu tương.



Hình 3. Sự thay đổi các thông số huỳnh quang chlorophyll Fo (A); Fm (B), Fv/Fm (C), ETR (D) và Φ PSII (E) của lá đậu tương DT96 ở các giai đoạn khác nhau khi có và không xử lý bằng hạt nano cobalt. Dấu “*” chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê sinh học giữa công thức đối chứng và công thức thí nghiệm tại cùng một thời điểm ($p < 0,05$)

Tỷ lệ Fv/Fm đặc trưng cho hiệu quả sử dụng năng lượng ánh sáng được hấp thụ bằng PSII được sử dụng trong phản ứng quang hóa. Kết quả cho thấy Fv/Fm tăng ở tất cả các lô cho tới cực đại ở giai đoạn 40 ngày và có xu hướng giảm nhẹ ở thời điểm 60 ngày (hình 3C). Riêng công thức xử lý hạt nano cobalt ở liều 100 mg/kg hạt, giá trị Fv/Fm đạt cực đại tại thời điểm 30 ngày và sau đó giảm dần. Trong đó, lô thí nghiệm được xử lý với hạt nano cobalt ở liều 0,33 mg/kg hạt luôn cao hơn so với đối chứng trong cùng giai đoạn nghiên cứu (từ giai đoạn 10 - 40 ngày). Sự sai khác này là có ý nghĩa thống kê sinh học ($p < 0,05$). Thời điểm 40 ngày là thời điểm quan trọng và có ý nghĩa quyết định đến khả năng quang hợp và năng

suất của cây đậu tương. Tỷ lệ Fv/Fm ở các lô thí nghiệm được xử lý hạt nano cobalt cao hơn so với lô đối chứng theo thời gian là do Fo giảm và Fm tăng cao hơn từ giai đoạn 10 ngày đến 40 ngày. Ở giống đậu tương DT96, ở công thức CT2- xử lý với nồng độ hạt nano cobalt 0,33 mg/kg hạt có tỷ lệ Fv/Fm vẫn đạt giá trị cao nhất, với giá trị tương ứng đạt 0,802, cao hơn 2,7% so với giá trị tương ứng ở công thức đối chứng. Tỷ lệ Fv/Fm đạt giá trị cao đã cho thấy việc sử dụng hiệu quả năng lượng ánh sáng được hấp thụ ở PSII đã được sử dụng trong phản ứng quang hóa của quang hợp đạt cao hơn dẫn tới tăng hiệu suất quang hợp. Theo sau công thức CT2 là đến công thức CT1 - lô thí nghiệm xử lý với nồng độ 0,17 mg/kg, tiếp theo là lô đối chứng và thấp nhất là CT3 - lô xử lý hạt nano cobalt nồng độ 100 mg/kg hạt, với giá trị Fv/Fm đạt tương ứng đạt là 0,790; 0,785 và 0,741, lần lượt. Như vậy, việc xử lý hạt đậu tương với dung dịch hạt nano cobalt ở nồng độ 100 mg/kg không những không kích thích sinh trưởng của cây đậu tương, mà còn có tác dụng ức chế sinh trưởng của cây, được thể hiện qua các thông số liên quan đến quang hợp đều đạt giá trị thấp nhất. Việc tăng giá trị Fv/Fm có thể dẫn đến việc giảm mức độ proton điện hóa trên màng thylakoid nên làm giảm đập tắt không quang hóa trong hệ thống sắc tố ăng ten của quang hệ II (đây là sự mất năng lượng dưới dạng nhiệt). Qua đó kích thích vận chuyển điện tử trong quang hệ II. Kết quả nghiên cứu thu được ở đây bước đầu đã cho thấy bộ máy quang hợp của cây đậu tương được xử lý bằng hạt nano cobalt vẫn duy trì hoạt động tốt trong giai đoạn cuối của quá trình sinh trưởng sinh dưỡng so với cây không được xử lý (cây đậu tương ở lô đối chứng).

Tốc độ vận chuyển điện tử (ETR) là thông số đặc trưng cho khả năng vận chuyển điện tử trong mạch vận chuyển điện tử quang hợp. Kết quả chỉ ra ở hình 3D cho thấy ETR của lá đậu tương DT96 có xu hướng thay đổi tương tự như giá trị của Fv/Fm ở các lô thí nghiệm và đối chứng. Giá trị ETR cao nhất đạt được ở giai đoạn 40 ngày ở liều xử lý 0,33 mg/kg hạt. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa công thức này so với đối chứng và các nồng độ xử lý hạt nano cobalt khác.

Hiệu suất quang hóa PSII ở tất cả các lô thí nghiệm được xử lý với hạt nano cobalt (ở nồng độ 0,17 và 0,33 mg/kg hạt) đều cao hơn so với công thức đối chứng ở cùng một thời điểm nghiên cứu. PSII có xu hướng tăng dần từ giai đoạn 10 ngày và đạt giá trị cực đại ở 40 ngày, sau đó bắt đầu giảm nhẹ ở thời điểm 60 ngày. Giá trị PSII cao nhất đạt được là 0,578 với liều xử lý 0,33 mg/kg hạt tại thời điểm 40 ngày. Tại thời điểm này, có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa lô xử lý hạt nano cobalt ở nồng độ 0,33 mg/kg so với các lô còn lại. Riêng công thức 100 mg/kg hạt, giá trị PSII đạt được thấp nhất so với công thức đối chứng và thí nghiệm ở tất cả các giai đoạn sinh trưởng khác nhau của cây đậu tương (hình 3E). Theo công bố [12] đã cho thấy khi nồng độ cobalt cao sẽ gây stress cho cây, từ đó dẫn đến giảm đáng kể tỷ lệ quang hợp thực trong tất cả các giống cà chua thử nghiệm, đây có thể là kết quả trực tiếp của việc giảm độ dẫn của khí khổng và nồng độ CO₂ bên trong tế bào bên cạnh việc giảm hàm lượng sắc tố quang hợp và hoạt động của enzym anhydrase carbonic. Điều này giải thích tại sao giá trị Pn của công thức được xử lý cobalt trong thí nghiệm của chúng tôi ở nồng độ thấp lại đạt giá trị cao hơn. Ảnh hưởng của hạt nano cobalt lên sinh trưởng và các thông số quang hợp của cây đậu tương DT96 trong nghiên cứu này cũng có xu hướng tương tự với các công bố [3, 4, 5] trên giống

đậu tương DT26 và DT51. Tuy nhiên, nồng độ nano cobalt kích thích tốt nhất cho sinh trưởng của cây đậu tương DT96 là 0,33 mg/kg hạt, nồng độ này là cao hơn so với nồng độ sử dụng trong các công bố nêu trên (nồng độ kích thích là 0,17 mg/kg hạt giống). Điều này có thể do sự sai khác về đặc điểm di truyền giữa giống đậu tương DT 96 và DT26 và DT51, cũng như sai khác về đặc điểm thổ nhưỡng và điều kiện khí hậu nơi trồng đậu tương. Như vậy, xử lý hạt giống đậu tương với hạt nano cobalt nồng độ 0,33 mg/kg hạt giúp tăng hiệu quả sử dụng tối đa năng lượng ánh sáng được hấp thụ bằng PSII trong phản ứng quang hóa, tăng hiệu suất quang hợp và duy trì hoạt động của bộ máy quang hợp tốt khi sinh trưởng của cây giảm, góp phần nâng cao năng suất ở cây đậu tương DT96 (với sản lượng thực thu tăng khoảng 9 % so với giá trị tương ứng ở công thức đối chứng [7]).

4. KẾT LUẬN

- Việc xử lý hạt đậu tương bằng dung dịch nano cobalt hóa trị 0 làm tăng hàm lượng chlorophyll a trong lá đậu tương và tăng cường khả năng quang hợp của cây đậu tương thông qua tăng giá trị Pn so với công thức đối chứng không xử lý.

- Các thông số quang hợp của lá cây đậu tương như Fm, tỷ lệ Fv/Fm, tốc độ vận chuyển điện tử trong mạch vận chuyển điện tử quang hợp (ETR), hiệu suất quang hóa quang hệ II (ΦPSII) ở cả lô đối chứng và thí nghiệm có xu hướng tăng và đạt cực đại ở thời điểm 40 ngày, sau đó giảm ở thời điểm 60 ngày. Cây đậu tương được xử lý với hạt nano cobalt (liều 0,33 mg/kg hạt) đều cao hơn so với lô đối chứng ở tất cả các giai đoạn phát triển. Khi nồng độ hạt nano cobalt tăng lên 100 mg/kg hạt, các thông số quang hợp của cây đều có xu hướng giảm và thấp hơn so với công thức đối chứng. Như vậy, xử lý hạt đậu tương với hạt nano cobalt ở liều 0,33 mg/kg hạt đã giúp quá trình quang hợp ở cây đậu tương DT96 đạt hiệu quả hơn. Kết quả này cung cấp những cơ sở khoa học cho việc cải thiện năng suất của cây đậu tương.

Lời cảm ơn: Công trình được hỗ trợ bởi đề tài cấp Bộ Giáo dục và đào tạo, mã số B.2021-SP2-04 do TS. Phan Thị Thu Hiền làm chủ nhiệm năm 2021-2022.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Balai C. M., Majumdar S. P., Kumawat B. L., *Effect of soil compaction, potassium and cobalt on growth and yield of cowpea*, Indian Journal of Pulses Research, 2005, **18**(1):38-39.
2. Ngo Q. B., Dao T. H., Nguyen H. C., Tran X. T., Nguyen T. V., Khuu T. D., Huynh T. H., *Effects of nanocrystalline powders (Fe, Co and Cu) on the germination, growth, crop yield and product quality of soybean (Vietnamese species DT-51)*, Adv. Nat. Sci.: Nanosci Nanotechnol, 2014, **5**: 015016, 7pp.
3. Phan Hoàng Tuấn, Hoàng Thị Lan Anh, Lưu Thị Tâm, Ngô Thị Hoài Thu, Đào Trọng Hiền, Nguyễn Hoài Châu, Đặng Diễm Hồng, *Đánh giá hiệu quả tác động của hạt nano cobalt hóa trị 0 lên sinh trưởng và các thông số quang hợp của cây đậu tương Glycine max (L). Merril "DT51" ở các giai đoạn sinh trưởng khác nhau*, NXB. Khoa học tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội, 2018, tr.331- 1338.

4. Phan Hoàng Tuấn, Lưu Thị Tâm, Hoàng Thị Lan Anh, Ngô Thị Hoài Thu, Nguyễn Hoài Châu, Đặng Diễm Hồng, *Nghiên cứu ảnh hưởng của hạt nano coban dạng đơn lẻ và hỗn hợp lên sự thay đổi các thông số quang hợp và hoạt độ của enzyme chống oxy hóa ở cây đậu tương Glycine max Merr. (DT26)*, Tạp chí Sinh học, 2018, **40**(2):333-343.
5. Dang D. H., Hoang T. L. A., Luu T. T., Show P. L., Leong H. Y., *Effects of nanoscale zerovalent cobalt on growth and photosynthetic parameters of soybean Glycine max (L.) Merr. DT26 at different stages*, BMC Energy, 2019, **1**(1):1-6.
6. Lê Thị Thu Hiền, Trần Thị Trường, *Đánh giá ảnh hưởng của việc xử lý hạt đậu tương bằng nano cobalt trước khi gieo lên sự sinh trưởng, phát triển, năng suất và chất lượng của giống đậu tương DT12*, Tạp chí Sinh học, 2019, **41**(2):61-70.
7. Phan Thị Thu Hiền, Hà Đức Chính, Phạm Phương Thu, Đỗ Thu Thảo, Bùi Thị Thủy, Hà Đăng Chiến, Kiều Thị Hương Mai, Nguyễn Văn Đình, *Bước đầu nghiên cứu ảnh hưởng của nano coban đến một số đặc tính nông sinh học của giống Đậu tương DT96 trồng tại Vĩnh Phúc*, Tạp chí Khoa học và công nghệ Việt Nam, 2022, **64**(7):44-48.
8. Lichtenthal H. K., *Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic*, Methods Enzymol., 1994, **148**:350-382.
9. Wellburn A. R., *The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution*, J. Plant. Physiol., 1994, **144**:307-313.
10. Qiu Z., Wang L., Zhou Q., *Effects of bisphenol A on growth, photosynthesis and chlorophyll fluorescence in above ground organs of soybean seedlings*, Chemosphere, 2013, **90**:1274-1280.
11. Abdul Jaleel C., Jayakumar K., Chang-Xing Z., Azooz M. M., *Antioxidant potentials protect Vigna radiata (L.) Wilczek plants from soil cobalt stress and improve growth and pigment composition*, Plant. Omics. J., 2009, **2**:120-126.
12. Sarropoulou V., Dimessi- Theriou K., Therios I., *Effect of the ethylene inhibitors silver nitrate, silver sulfate, and cobalt chloride on micropropagation and biochemical parameters in the cherry rootstocks CAB-6P and Gisela 6*, Turk. J. Biol., 2016, **40**:670-83.

SUMMARY

RESEARCH ON THE EFFECTS OF ZEROVALENT COBALT NANOPARTICLE ON THE CHLOROPHYLL A CONTENT AND PHOTOSYNTHETIC PARAMETERS OF SOYBEAN *Glycine max* (L) MERRILL “DT96”

The application of nanotechnology in agriculture is a promising way to increase crop production and yield, reduce the amount of fertilizer, increase the storage time of the productions and protect the environmental sustainability. Soybean is one of the four important crops of Vietnam's agriculture and a source of

food for humans and domestic animals. In this study, the effect of zerovalent cobalt nanoparticles with different concentrations (0; 0.17; 0.33 and 100 mg/kg seed) on chlorophyll a content and photosynthesis parameters of soybean plant *Glycine max* (L). Merr. DT96 which was planted in the autumn-winter crop in Xuan Hoa, Phuc Yen, Vinh Phuc were carried out. The obtained results showed that zerovalent cobalt nanoparticles had a positive effect on the photosynthetic parameters of soybean plants. At the used concentration of 0.33 mg cobalt/kg seed, the chlorophyll a content and photosynthetic parameters of soybean were the highest and there was a statistically significant difference compared with control. The chlorophyll a content tends to increase gradually and reaches the maximum value of 1.77 ± 0.05 mg/g fresh leaves after 40 days of sowing. The parameters related to chlorophyll fluorescence such as F_o (initial fluorescence), F_m (maximal fluorescence), F_v/F_m (maximal photochemical efficiency), effective quantum yield of photosystem II (ΦPSII), photosynthetic electron transport rate (ETR), P_n (net photosynthetic rate) of soybean seedlings which were treated by cobalt nanoparticles were higher than the control (except at the concentration of 100 mg/kg). The soybean seeds treated by cobalt nanoparticles had increased the chlorophyll a content of leaves and photosynthetic efficiency, leading to improve productivity of soybean.

Keywords: *Chlorophyll a, chlorophyll fluorescence, cobalt zerovalent nanoparticles, Glycine max (L). Merr. DT96, Nanotechnology, huỳnh quang chlorophyll, nano cobalt hoá trị 0, công nghệ nano.*

Nhận bài ngày 11 tháng 8 năm 2022

Phản biện xong ngày 06 tháng 10 năm 2022

Hoàn thiện ngày 08 tháng 11 năm 2022

⁽¹⁾ Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁽²⁾ Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁽³⁾ Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

⁽⁴⁾ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Liên hệ: **GS. TS. Đặng Diễm Hồng**

Phòng Công nghệ tạo, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

18 Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội

Điện thoại: 0915343660; Email: ddhong@ibt.ac.vn