

- nông nghiệp ở Việt Nam và các giải pháp hạn chế. *Kỹ yếu hội thảo quốc gia về khoa học và công nghệ bảo vệ thực vật*. Nhà xuất bản Nông nghiệp: 172-180.
- Phạm Văn Lâm**, 2000. *Danh mục các loài sâu hại lúa và thiên địch của chúng ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Hà Nội.
- Viện Bảo vệ thực vật**, 1999. *Phương pháp nghiên cứu bảo vệ thực vật*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp. Hà Nội.
- Viện Sinh thái học miền Nam**, 2017. *Hướng tới quản lý tài nguyên thiên nhiên bền vững ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Thế giới. Hà Nội.
- Borrer Donald, J., M. Delong Dwight, and A. Triplehorn Charles**, 1976. *An introduction to the study of insects (fourth edition)*: 852 p.
- Rosenzweig M.L.**, 1995. *Species Diversity in Space and Time*. Cambridge University Press, New York.

## Initial survey of natural enemy insects diversity on floating rice field at Vinh Phuoc commune, Tri Ton district, An Giang province

Nguyen Thi Thai Son, Tran Vinh Sang

### Abstract

The research was conducted in Vinh Phuoc commune, Tri Ton district, An Giang province to identify the diversity of natural enemy insects on floating rice field. The results showed that the natural insects in the field included 86 species belonging to 10 families (Diptera, Coleoptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Orthoptera, Thysanoptera, Odonata, Dermaptera, Homoptera) with four major families (Hemiptera, Hymenoptera, Diptera and Coleoptera). The result also identified 17 spider species; of which, 16 species belong to Araneae order and 1 species belong to Acari order. The diversity index of insects and spiders on floating rice fields were higher than on high-yielding rice fields.

**Keywords:** Natural enemy, diversity, floating rice, An Giang province

Ngày nhận bài: 05/3/2021

Ngày phản biện: 18/3/2021

Người phản biện: TS. Vũ Tiến Khang

Ngày duyệt đăng: 30/3/2021

## NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO CHẾ PHẨM TĂNG TRƯỞNG VÀ KÍCH KHÁNG BỆNH AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ

Nguyễn Xuân Tuấn<sup>1</sup>, Trần Đức Trọng<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thanh Vũ<sup>1</sup>, Lê Quang Luân<sup>1\*</sup>

### TÓM TẮT

Chế phẩm nano bạc gắn trên vi hạt silica ổn định trong oligochitosan (AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS) được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ hỗn hợp gồm 1 mM Ag<sup>+</sup>, 2% vi hạt silica và 5% CTS Mw thấp. Các đặc trưng về trúc như kích thước AgNPs và Mw chitosan được phân tích bằng phổ tử ngoại - khả kiến (UV- vis), phổ nhiễu xạ tia X (XRD), ảnh chụp bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) và sắc ký qua gel (GPC). Kết quả cho thấy, chế phẩm AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS có sự hình thành của nano bạc với kích thước khoảng 6,67 nm và khối lượng phân tử (Mw) của oligochitosan khoảng 19,5 kDa ở liều chiếu xạ 4 kGy. Chế phẩm tạo thành đã có tác dụng gia tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt đậu nành lên đến 96,33%, rút ngắn thời gian nảy mầm trung bình của hạt đậu nành xuống còn 26,67 giờ cũng như làm gia tăng sinh khối tươi của mầm đậu nành lên 40,4 gram/100 mầm sau 3 ngày sinh trưởng. Ngoài ra, chế phẩm còn làm tăng hoạt tính enzyme chitinase trên mầm đậu nành lên 159% khi so với đối chứng.

**Từ khóa:** Bạc nano, chiếu xạ, kích kháng, oligochitosan, silic, thúc đẩy sinh trưởng

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Chitosan là sản phẩm deacetyl từ chitin, chitosan còn được gọi là 2-amino-2-deoxy-β(1.4)-D-glucopyranose. Chitosan là một polymer không độc, có khả năng kháng khuẩn và phân hủy sinh học cao, là phụ phẩm của ngành chế biến thủy hải sản. Tuy nhiên, chitosan không hòa tan trong nước nên khả năng

ứng dụng của chitosan còn khá thấp (Rinaudo, 2006). Oligochitosan (OCTS) là sản phẩm cắt mạch của chitosan, gia tăng khả năng hòa tan của chitosan trong nước. Nhiều nghiên cứu cho thấy OCTS kích thích hệ thống kháng các loại vi sinh vật gây bệnh trên thực vật thông qua cơ chế phytoalexin (Ryan, 1988; Darvill *et al.*, 1984). OCTS thúc đẩy sự hoạt

<sup>1</sup> Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh

động của enzyme chitinase, gia tăng tỷ lệ sống sót ngoài vườn ươm của cây cóc, cây salem, cây hoa cát tường và dâu tây *in vitro* (Luan *et al.*, 2005), tăng cường hoạt động của các enzyme phytoalexin khác như phenylalanine ammonia lyase, peroxidases và chitinase trong quá trình nảy mầm của hạt đậu nành và đại mạch (Luan *et al.*, 2006).

Silica chế tạo từ tro trấu được quan tâm rộng rãi gần đây với các ưu điểm như: nguồn nguyên liệu rẻ tiền, phụ phẩm từ nông nghiệp, là thành phần cấu trúc vách tế bào thực vật, tăng cường khả năng chống xâm nhập của vi sinh vật gây bệnh vào tế bào thực vật thông qua cơ chế tăng cường hoạt động của các enzyme chitinase, peroxidase, polyphenol oxydase,... (Belanger *et al.*, 1995). Các nghiên cứu về khả năng tăng cường chống chịu, đề kháng thực vật của silica, silica kết hợp với OCTS 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 cả trong và ngoài nước (Dung *et al.*, 2017; Suriyaprabha, 2014). Các nghiên cứu cũng chỉ ra rằng hiệu quả kích kháng bệnh cũng như gia tăng năng suất cây trồng của chế phẩm phụ thuộc vào nồng độ sử dụng, kích thước phân đoạn oligochitosan cũng như kích thước hạt silica. Nano bạc (AgNPs) được biết đến là một tác nhân có khả năng kháng khuẩn, kháng nấm và virus (Shin *et al.*, 2004). Nano bạc tham gia vào một số chu trình chuyển hóa của cây trồng, hấp phụ ethylen, hợp chất phenolic và tăng cường sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng. Hiện nay, có nhiều phương pháp để chế tạo nano bạc cũng như cát mạch chitosan tạo OCTS. Trong đó, phương pháp chiếu xạ cho thấy nhiều ưu điểm như: không sử dụng các tác nhân khử hóa học, tác nhân khử tự sinh ra trong quá trình chiếu xạ, sản phẩm có độ đồng đều và tinh sạch cao, có thể dễ dàng điều chỉnh phân bố và kích thước hạt nano tạo thành bằng cách điều chỉnh suất liều chiếu xạ, thực hiện phản ứng ở điều kiện nhiệt độ và áp suất thường, dễ triển khai, sản xuất trên quy mô công nghiệp (Li *et al.*, 2007). Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện để kết hợp cả ba loại vật liệu trên vào trong một vật liệu bằng phương pháp chiếu xạ, chế tạo AgNPs gắn trên nền của vi hạt silic được ổn định trong OCTS bằng phương pháp chiếu xạ và đánh giá khả năng tăng cường sinh trưởng và hiệu ứng kích kháng bệnh thông qua đánh giá hoạt tính enzyme chitinase trên mầm cây đậu nành.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chitosan Mw thấp có Mw ~ 48,4 kDa, độ deacetyl hóa (DD) ~ 80%, vi hạt silic có kích thước trung bình khoảng 1,021  $\mu\text{m}$  được cung cấp bởi Trung tâm Công nghệ Sinh học Tp. Hồ Chí Minh. Hạt giống đậu nành DT84 được cung cấp bởi công ty Hoàng Nông, Tp.HCM.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Chế tạo AgNPs gắn trên vi hạt silica ổn định trong OCTS

Hòa tan hoàn toàn 10 g chitosan Mw thấp trong 150 ml acid lactic 2%. Bổ sung từ từ 0,034 g  $\text{AgNO}_3$  vào dung dịch chitosan và khuấy đều tạo hỗn hợp CTS/ $\text{AgNO}_3$ . Sau đó, 4 g vi hạt silica được bổ sung vào dung dịch CTS/ $\text{AgNO}_3$ , đồng hóa mẫu trong 30 phút và bổ sung thêm nước khử ion để thể tích mẫu đạt 200 ml tạo hỗn hợp  $\text{AgNO}_3/\text{SiO}_2/\text{CTS}$  (2%  $\text{SiO}_2$ , 1 mM  $\text{AgNO}_3$  và 5% CTS). Các mẫu  $\text{AgNO}_3/\text{SiO}_2/\text{CTS}$  sau chế tạo được cho vào bình thủy tinh có nắp đậy và chiếu xạ ở các liều xạ 4 - 16 kGy trên nguồn gamma Co-60 (GC 5000, BRIT, Ấn Độ) tạo chế phẩm  $\text{AgNPs@Si/OCTS}$ .

#### 2.2.2. Xác định các đặc trưng của mẫu $\text{AgNPs@SiO}_2/\text{OCTS}$ sau chiếu xạ

Phổ tử ngoại- khả kiến (UV-vis): Phổ UV-vis của mẫu  $\text{AgNPs@SiO}_2/\text{OCTS}$  được xác định trên máy Genesys 10S UV-vis (Thermo Scientific-Mỹ). Các mẫu  $\text{AgNPs@Si/OCTS}$  được pha loãng 20 lần và tiến hành đo ở 375 - 425 nm để xác định bước sóng hấp thụ cực đại ( $\lambda_{\text{max}}$ ) của mẫu.

Mw của OCTS: Mẫu  $\text{AgNPs@SiO}_2/\text{OCTS}$  được ly tâm 15000 vòng/phút để loại bỏ phần cặn, thu OCTS. Mw của OCTS sau khi chiếu xạ được xác định bằng máy GPC Agilent e2965 (Water, Mỹ) với hệ dung môi  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$  và sử dụng Pullulan là mẫu chuẩn.

Phổ nhiễu xạ tia X (XRD): Phổ XRD của mẫu  $\text{AgNPs@SiO}_2/\text{OCTS}$  sau khi đông khô được xác định trên hệ máy nhiễu xạ tia X D8 Advance Eco (Bruker, Mỹ), sử dụng ống phát bức xạ  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ , U = 40 kV, I = 25 mA).

Xác định kích thước hạt AgNPs: Kích thước hạt AgNPs được tính toán dựa trên diện tích peak tại  $38,1^\circ$  trên phổ nhiễu xạ tia X bằng công thức Debye-Scherrer trên phần mềm Diffraction Eva V.4.3.1.

Phân tích kích thước hạt AgNPs bằng ảnh SEM: Mẫu AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS được rửa nhiều lần bằng nước khử ion và ly tâm 15.000 vòng/phút thu nhận vi hạt silic gắn bạc nano (AgNPs@SiO<sub>2</sub>). Mẫu AgNPs@SiO<sub>2</sub> sau ly tâm được phân tích kích thước hạt AgNPs tạo thành bằng ảnh SEM và phân tích thành phần cấu tạo bằng phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX) trên máy FE-SEM S4800 (Hitachi - Nhật Bản).

### 2.2.3. Xác định hiệu ứng tăng trưởng của chế phẩm AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS trên mầm đậu nành

Các hạt đậu nành (không sâu, lép, hỏng) được xử lý với cồn 70° trước khi được ngâm trong chế phẩm AgNPs@Si/OCTS với nồng độ 0,06 - 0,22% chế phẩm trong 30 phút. Sau đó, các hạt được đặt trong các khay nhựa có lót bông giữ ẩm. Mỗi nghiệm thức bao gồm 100 hạt và được lặp lại 3 lần. Quan sát, ghi nhận các chỉ tiêu sinh trưởng như: Tỷ lệ nảy

mầm, thời gian nảy mầm trung bình và sinh khối tươi/100 mầm đậu nành bằng các công thức sau (Ranal and Santana, 2006).

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

Thời gian nảy mầm (giờ) = (G1T1 + G2T2 + ... + GnTn)/(G1 + G2 + ... + Gn) (Trong đó G: số hạt nảy mầm, T: thời gian theo dõi).

### 2.2.4. Xác định hiệu ứng tăng cường hoạt tính enzyme chitinase trên mầm đậu nành của chế phẩm AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS

Enzyme chitinase từ các mầm đậu nành đã xử lý với các nồng độ khác nhau của chế phẩm AgNPs@Si/OCTS được ly trích và thu nhận theo quy trình của Dinesh và cộng tác viên (2010). Sau đó, hoạt tính của enzyme chitinase xác định bằng chitinase assay kit (Sigma, Mỹ). Hoạt độ enzyme chitinase được tính toán dựa trên công thức sau:

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

Trong đó: OD mẫu: độ hấp thụ của mẫu ở bước sóng 405 nm; OD Blank: độ hấp thụ của đệm CH<sub>3</sub>COONa ở bước sóng 405 nm; DF: hệ số pha loãng (1\*); OD mẫu chuẩn: độ hấp thụ của mẫu chuẩn ở bước sóng 405 nm.

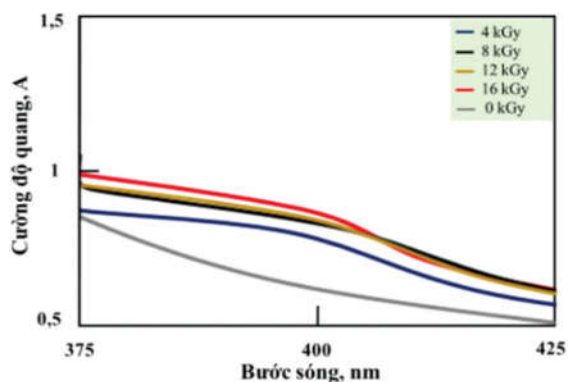
## 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm được tiến hành tại phòng Công nghệ Sinh học Vật liệu và Nano, Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 4/2019 đến tháng 02/2021.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của liều xạ đến các đặc trưng cấu tạo của mẫu AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS

Kết quả nhận được từ hình 1 và bảng 1 cho thấy phổ UV-Vis của các mẫu AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS tạo thành sau chiếu xạ đều có các đỉnh hấp thụ đặc trưng cho sự hình thành của nano bạc với bước sóng hấp thụ cực đại khoảng 390 - 415 nm do hiệu ứng plasmon bề mặt của nano bạc (Đặng Văn Phú và ctv., 2015), trong khi đó ở mẫu không chiếu xạ hoàn toàn không có các đỉnh hấp thụ đặc trưng tại vùng này. Các đỉnh hấp thụ cực đại này có bước sóng hấp thụ cực đại tăng dần khi tăng dần liều xạ. Cụ thể, ở liều chiếu xạ là 4 kGy, bước sóng hấp thụ cực đại của mẫu AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS là 397,5 nm. Khi tăng dần liều chiếu xạ lên từ 8 - 16 kGy, bước sóng hấp thụ cực đại của mẫu AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS lần lượt tăng từ 404,5 - 413,5 nm.



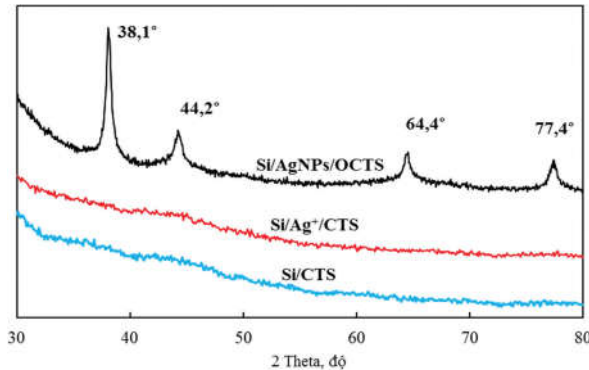
Hình 1. Phổ UV-Vis của mẫu AgNPs@Si/OCTS sau chiếu xạ

Bảng 1. Bước sóng hấp thụ cực đại của các mẫu AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS chiếu xạ ở các liều xạ khác nhau

Liều chiếu xạ (kGy)	4	8	12	16
Bước sóng hấp thụ cực đại (λ <sub>max</sub> )	397,5	404,5	405,0	413,5

Phân tích các mẫu SiO<sub>2</sub>/CTS, SiO<sub>2</sub>/Ag<sup>+</sup>/CTS (mẫu không chiếu xạ) và mẫu AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS bằng phổ nhiễu xạ tia X (XRD) với góc 2 theta từ 30 đến 80°. Kết quả được thể hiện trên hình 2 cho thấy sự hiện diện của đỉnh peak tại 38,1; 44,2; 64,4 và 77,4° của mẫu AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS. Đây là đỉnh sóng đặc

trưng cho các mặt phẳng nhiễu xạ (111), (200), (211) và (220) của nano bạc trong mẫu  $\text{AgNO}_3/\text{Si}/\text{CTS}$  sau chiếu xạ (Phú và *ctv.*, 2015). Trong khi đó ở mẫu đối chứng  $\text{SiO}_2/\text{CTS}$  và  $\text{AgNO}_3/\text{SiO}_2/\text{CTS}$  không chiếu xạ hoàn toàn không có các đỉnh ở các góc nhiễu xạ kể trên. Kết quả trên cùng với kết quả phổ UV-vis có thể khẳng định sự hình thành của nano bạc của mẫu  $\text{AgNO}_3/\text{Si}/\text{CTS}$  sau chiếu xạ.



**Hình 2.** Phổ nhiễu xạ tia X (XRD) của mẫu  $\text{AgNPs}@/\text{SiO}_2/\text{OCTS}$  sau chiếu xạ

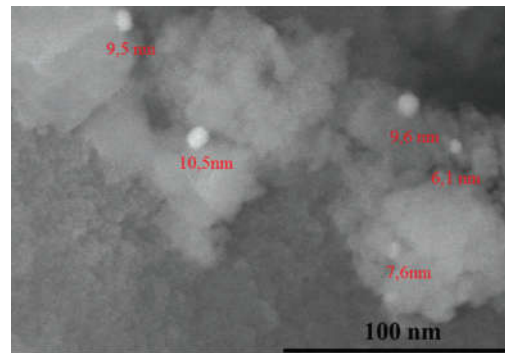
**Bảng 2.** Kích thước hạt nano bạc trong mẫu  $\text{AgNPs}@/\text{SiO}_2/\text{OCTS}$  khi chiếu xạ ở các liều xạ khác nhau

Liều xạ (kGy)	4	8	12	16
Kích thước hạt (nm)	6,69	7,6	9,41	10,6

Trong nghiên cứu này, kích thước của AgNPs được xác định từ các diện tích đỉnh tại vị trí  $38.1^\circ$  dựa trên công thức Debye-Scherrer đối với các chế phẩm sau chiếu và được thể hiện ở bảng 2. Kết quả cho thấy khi tăng dần liều chiếu xạ từ 4 đến 16 kGy thì kích thước hạt nano bạc tạo thành tăng dần. Ở liều chiếu xạ 4 kGy kích thước hạt nano bạc tạo thành là 6,69 nm. Kích thước hạt nano bạc tăng đáng kể khi tăng dần liều chiếu xạ, nano bạc có kích thước 7,76 và 9,41 nm khi tăng liều chiếu xạ lên 8 và

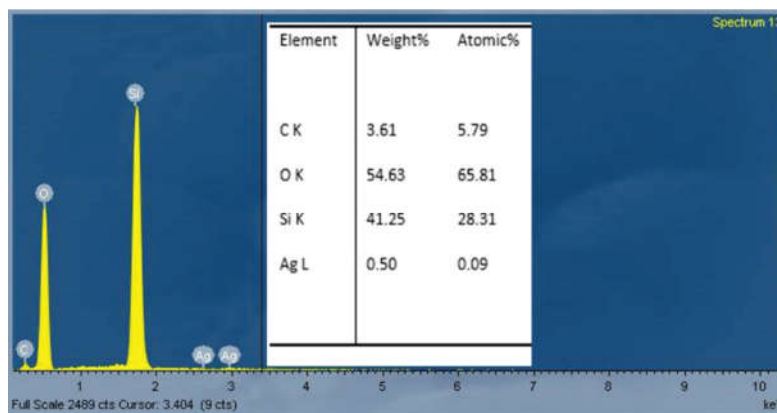
12 kGy. Kích thước hạt nano bạc tiếp tục tăng đến 10,6 nm trong mẫu  $\text{AgNPs}@/\text{Si}/\text{OCTS}$  khi sử dụng liều xạ là 16 kGy.

Để khẳng định quá trình gắn AgNPs lên vi hạt silic, mẫu  $\text{AgNPs}@/\text{SiO}_2/\text{OCTS}$  được rửa nước nhiều lần và ly tâm để loại bỏ các hạt AgNPs không liên kết trên nền vi hạt silic và chụp ảnh SEM để phân tích kích thước hạt. Kết quả hình 3 cho thấy có sự hiện diện của hạt AgNPs, các hạt AgNPs này gắn trên bề mặt vi hạt silic với kích thước hạt khoảng 6,1 - 10,5 nm.



**Hình 3.** Ảnh SEM hạt AgNPs gắn trên vi hạt silic của chế phẩm  $\text{AgNPs}@/\text{SiO}_2/\text{OCTS}$

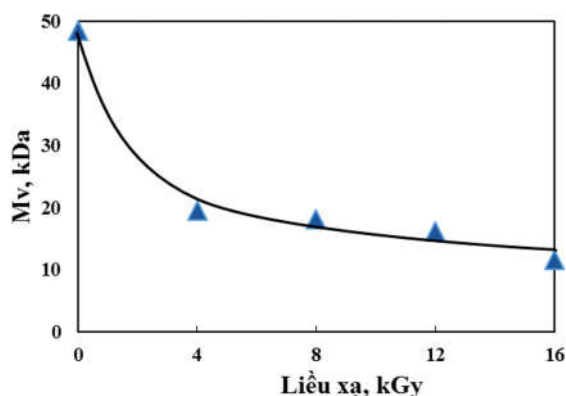
Kết quả hình 4 cũng chỉ ra rằng sau khi rửa nước và ly tâm, mẫu  $\text{AgNPs}@/\text{SiO}_2$  có các thành phần cấu tạo bao gồm các nguyên tố: cacbon, oxi, Si và Ag. Trong đó hàm lượng C chỉ chiếm 3,61% (w/w) cho thấy hầu như toàn bộ OCTS được loại bỏ khỏi mẫu trước khi được phân tích phổ tán xạ năng lượng tia X. Hàm lượng AgNPs trong mẫu  $\text{AgNPs}@/\text{SiO}_2$  được phân tích chiếm 0,5% tương đương với 108 ppm AgNPs (~ 1 mM Ag+). Kết quả này cũng cho thấy rằng toàn bộ lượng Ag+ trước chiếu xạ đã được khử tạo thành nano bạc và hầu như toàn bộ lượng AgNPs đều được gắn trên các vi hạt silica trong chế phẩm tạo thành sau chiếu xạ.



**Hình 4.** Phổ tán xạ năng lượng tia X và thành phần cấu tạo của mẫu  $\text{AgNPs}@/\text{SiO}_2$  sau ly tâm

CTS với Mw khoảng 48,4 kDa được sử dụng để chế tạo chế phẩm AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS với mục đích vừa là chất ổn định hạt nano vừa là chất kích kháng, tăng cường sinh trưởng đối với thực vật, do đó Mw CTS sau chiếu xạ đóng vai trò quan trọng. Sự suy giảm Mw của CTS sau khi chiếu xạ ở các liều xạ khác nhau được thể hiện ở hình 5. Kết quả cho thấy sau khi chiếu xạ, Mw CTS giảm khi tăng dần liều xạ. Mw CTS giảm mạnh, từ 48,4 kDa xuống còn khoảng 19,5 khi chiếu xạ ở liều xạ thấp (4 kGy) và tiếp tục suy giảm chậm khi tiếp tục tăng liều xạ lên từ 8 - 16 kGy (18,1; 16,1 và 11,6 kDa).

Nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy CTS có Mw từ 10 - 20 kDa có hoạt tính tăng cường sinh trưởng trên thực vật (Luan *et al.*, 2006). Do đó, để tạo thành một chế phẩm gia tăng sinh trưởng trên thực vật, với kích thước hạt AgNPs nhỏ, chế phẩm AgNPs@Si/OCTS được chiếu xạ với liều 4 kGy được lựa chọn.



Hình 5. Sự suy giảm Mw của chitosan trong mẫu AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS sau chiếu xạ

### 3.2. Hiệu ứng tăng trưởng của chế phẩm AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS trên mầm đậu nành

Kết quả bảng 3 cho thấy khi xử lý ngâm hạt với các nồng độ khác nhau của chế phẩm AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS thì có ảnh hưởng khá lớn đến tỷ lệ nảy mầm, thời gian nảy mầm trung bình và sinh khối tươi của mầm đậu nành. Cụ thể, ở nghiệm thức đối chứng (không sử dụng chế phẩm), tỷ lệ nảy mầm, thời gian nảy mầm trung bình và sinh khối tươi của mầm đậu nành lần lượt đạt 74,67%, 38,34 giờ và 35,5 g. Khi tăng dần nồng độ của chế phẩm từ 0,06 - 0,14%, tỷ lệ nảy mầm và sinh khối tươi của mầm tăng dần, đạt từ 82 - 92,33% và, tương ứng. Đồng thời, thời gian nảy mầm trung bình giảm từ 37,42 giờ xuống còn 31,47 giờ.

Ở các nghiệm thức sử dụng 0,18 và 0,22% chế phẩm AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS, hạt đậu nành nảy mầm nhanh, hầu hết các hạt nảy mầm quan sát được trong

khoảng 24 giờ đầu sau ngâm chế phẩm. Không có sự khác biệt về mặt thống kê giữa 2 nghiệm thức này về các chỉ tiêu tỷ lệ nảy mầm, thời gian nảy mầm trung bình và sinh khối tươi của các mầm đậu nành. Tỷ lệ nảy mầm đạt 96,33% và thời gian nảy mầm trung bình đạt 26,77 giờ. Hạt mầm đậu nành phát triển mạnh, sau 3 ngày sinh trưởng, sinh khối tươi của hạt mầm tăng đến 40,4 g. Kết quả nghiên cứu này khá tương đồng với các nghiên cứu của các tác giả khác (Amira *et al.*, 2015; Hameed, 2013; Noshad *et al.*, 2019) khi cho thấy silic, oligochitosan và AgNPs đóng vai trò quan trọng trong quá trình tăng cường sinh trưởng của hạt mầm.

Bảng 3. Hiệu ứng tăng trưởng của chế phẩm AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS trên mầm đậu nành

Nồng độ chế phẩm, %	Tỷ lệ nảy mầm, %	Thời gian nảy mầm, giờ	Sinh khối tươi, g/100 mầm
0 (ĐC)	74,67 <sup>a</sup> ± 2,52	38,34 <sup>c</sup> ± 1,52	35,5 <sup>c</sup> ± 0,39
0,06	82,00 <sup>b</sup> ± 6,25	37,42 <sup>c</sup> ± 2,79	37,2 <sup>c</sup> ± 0,26
0,1	85,67 <sup>b</sup> ± 4,04	33,37 <sup>b</sup> ± 2,22	38,4 <sup>b</sup> ± 0,28
0,14	92,33 <sup>a</sup> ± 2,08	31,47 <sup>b</sup> ± 1,88	38,8 <sup>b</sup> ± 0,54
0,18	96,33 <sup>a</sup> ± 1,53	26,77 <sup>a</sup> ± 1,20	40,4 <sup>a</sup> ± 0,91
0,22	95,33 <sup>a</sup> ± 1,15	25,60 <sup>a</sup> ± 0,71	40,5 <sup>a</sup> ± 0,95

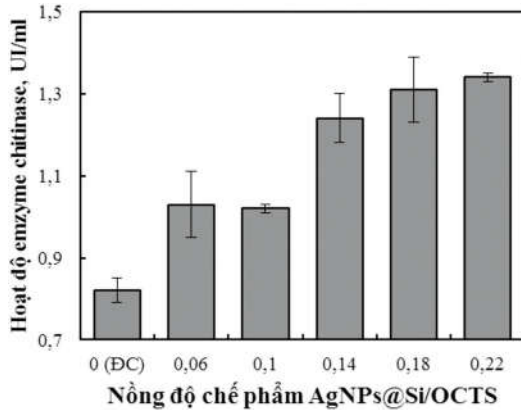
Ghi chú: Trong cùng 1 cột, các giá trị theo sau bởi cùng ký tự thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê (P < 0,05).

### 3.3. Hiệu ứng tăng cường hoạt tính enzyme chitinase trên mầm đậu nành của chế phẩm AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS

Ngoài ra, các nghiên cứu còn cho thấy silic và oligochitosan, AgNPs đóng vai trò quan trọng trong quá trình kích kháng bệnh, kích thích sự hoạt động của các enzyme đóng vai trò chống lại sự xâm nhiễm của các vi sinh vật gây bệnh thực vật thông qua cơ chế vaccine thực vật (phytoalexin). Do đó, trong nghiên cứu này, các hạt đậu nành sau khi được ngâm trong chế phẩm AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS ở các nồng độ khác nhau sau 3 ngày sinh trưởng được xác định hoạt độ enzyme chitinase (Hình 6).

Kết quả thể hiện ở hình 6 cho thấy, ở điều kiện nảy mầm bình thường, hoạt độ enzyme chitinase của mầm đậu nành chỉ đạt 0,82 UI/ml. Hoạt độ enzyme chitinase của mầm đậu nành tăng từ 1,03 - 1,24 UI/ml nghiệm thức sử dụng 0,06 - 0,14% chế phẩm. Hoạt độ enzyme chitinase của mầm đậu nành tăng cao nhất tại nghiệm thức xử lý với 0,18 và 0,22% chế phẩm, lần lượt đạt 1,31 và 1,34 UI/ml, cao hơn so với đối chứng từ 159 - 163%. Chitinase là một trong những enzyme quan trọng trong hệ thống

miễn dịch của thực vật, phân giải chitin của thành tế bào nấm bệnh trước khi nấm bệnh xâm nhiễm (Pusztahelyi *et al.*, 2018). Do đó, hoạt độ chitinase cao cho thấy khả năng đề kháng cao mầm đậu nành trước nấm bệnh xâm nhiễm.



**Hình 6.** Hoạt độ enzyme chitinase của mầm đậu nành khi xử lý với các nồng độ khác nhau của chế phẩm AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS

#### IV. KẾT LUẬN

Đã chế tạo thành công chế phẩm nano bạc gắn trên vi hạt silica và ổn định trong oligochitosan bằng phương pháp chiếu xạ. Chế phẩm chế tạo được có tác dụng tăng tỷ lệ nảy mầm, sinh trưởng, phát triển và hoạt tính enzyme chitinase trong quá trình nảy mầm của đậu nành. Chế phẩm chế tạo được hứa hẹn sẽ là một chế phẩm sạch, an toàn cho người và động vật, có tiềm năng làm phân bón sinh học giúp tăng cường sinh trưởng và kích kháng bệnh trên cây trồng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

**Đặng Văn Phú, Nguyễn Ngọc Duy, Nguyễn Thị Kim Lan, Võ Thị Kim Lăng, Nguyễn Quốc Hiến và Lê Anh Quốc**, 2015. Nghiên cứu chế tạo bạc nano trên nền Zeolite bằng phương pháp chiếu xạ ứng dụng làm tác nhân diệt khuẩn trong nhựa. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam* 2(7): 25-30.

**Amira, M.S., Qados A. and A.E., Moftah**, 2015. Influence of silicon and nano-silicon on germination, growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress conditions. *American Journal of Experimental Agriculture* 5(6): 509-524.

**Belanger, R.B., Bowen, P.A., Ehret, D.L. and J.G., Menzies**, 1995. Soluble silicon: Its role in crop and disease management of greenhouse crops. *Plant Disease* 79: 329-336.

**Darvill, A.G. and P., Albersheim**, 1984. Phytoalexin and their elicitors a defense against microbial infection in plants. *Annual Review of Plant Physiology* 35: 243-275.

**Dinesh, K. P., SantaRam, A., and M. B., Shivanna**, 2010. Studies on the chitinase activity in coffee (*Coffea arabica* L.) genetic resources in India. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 6(4): 449-452.

**Dung, P.D., Hung, L.T., Ngoc, L.S., Hiet, H.D., Le, B.V., Thang, N.T., Phu, D.V., Duy, N.N. and N.Q., Hien**, 2017. Induction of anthracnose disease resistance on chili fruit by treatment of oligochitosan-nanosilica hybrid material. *Agricultural Sciences* 8: 1105-1113.

**Hameed, A.**, 2013. Chitosan priming enhances the seed germination, antioxidants, hydrolytic enzymes, soluble proteins and sugars in wheat seeds. *Agrochimica Pisa* VII(1): 32-46.

**Li, T., Park, H.G. and S.H Choi**, 2007.  $\gamma$ - irradiation-induced preparation of Ag and Au nanoparticles and their characterizations. *Materials Chemistry and Physics* 105, 325-330.

**Luan, L.Q., Ha, V.T.T., Nagasawa, N., Kume T., Yoshi F. and T.M., Nakanishi**, 2005. Biological effect of irradiated chitosan on plant *in vitro*. *Biotechnology Applied Biochemistry* 41: 49-57.

**Luan, L.Q., Nagasawa, N., Tamada, M. and T.M., Nakanishi**, 2006. Enhancement of plant growth activity of irradiated chitosan by molecular weight fractionation. *Radioisotopes* 55: 21-27.

**Noshad, A., Hetherington, C. and M., Iqbal**, 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*. *Journal of nano materials* doi.org/10.1155/2019/6316094.

**Pusztahelyi, T.**, 2018. Chitin and chitin-related compounds in plant-fungal interactions. *Mycology* 2018; 9(3): 189-201.

**Ranal, M. A., and D.G.D., Santana**, 2006. How and why to measure the germination process? *Brazilian Journal of Botany* 29(1): 1-11.

**Rinaudo, M.**, 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in polymer science* 31(7): 603-632.

**Ryan, C.A.**, 1988. Oligosaccharides as recognition signals for the expression of defensive genes in plants. *Biochemistry* 27(25): 8879-8883.

**Shin, H.S.**, 2004. Mechanism of growth of colloidal silver nanoparticles stabilized by polovinyl pyrrolidone in  $\gamma$ - irradiated silver nitrate solution. *Journal of Colloid and Interface Science* 274(1): 89-94.

**Suriyaprabha, R., Karunakaran, G., Kavitha, K., Yuvakkumar, R., Rajendran, V. and N., Kannan**, 2014. Application of silica nanoparticles in maize to enhance fungal resistance. *IET Nanobiotechnol* 8(3): 133-140.

## Study on the preparation of growth promotion and phytoalexin stimulation AgNPs@SiO<sub>2</sub>/OCTS material by irradiation method

Nguyen Xuan Tuan, Tran Duc Trong,  
Nguyen Thanh Vu, Le Quang Luan

### Abstract

The silver nano particles (AgNPs) dopped on silica microparticles and stabilized on oligochitosan (AgNPs@Si/OCTS) have been prepared by irradiating the mixture of 1 mM Ag<sup>+</sup>, 2% silica microparticles (size~ 40 μm) and 5% low molecular weight (Mw) chitosan. The structural characteristics of product such as particle size of AgNPs and Mw of chitosan were determined by ultraviolet - visible (Uv - vis), X-ray diffraction (XRD) spectra, scanning electron microscope (SEM) image and gel permeation chromatography (GPC). The results indicated that, AgNPs were formed in the AgNPs@Si/OCTS product with the particle size was about 6.67 nm and the molecular weight of the oligochitosan was about 19.5 kDa at the irradiation dose of 4 kGy. The results also showed that, the prepared product enhanced the soybean seed germination rate up to 96.33%, reduced germination time down to 26.67 hours as well as increased the fresh biomass up to 40.4 gram/100 seedlings at a concentration of 0.18% after 3 days germinating. Besides, the product also stimulated the chitinase enzyme activity up to 159% compared to control.

**Keywords:** AgNPs, growth promotion, irradiation method, oligochitosan, phytoalexin stimulation, silica microparticles

Ngày nhận bài: 05/3/2021  
Ngày phản biện: 20/3/2021

Người phản biện: PGS. TSKH. Ngô Quốc Bưu  
Ngày duyệt đăng: 30/3/2021

## PHÂN LẬP, NHẬN DẠNG VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ ENZYME PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASE 1B CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT TỪ CÂY XUN (*Anacolosa poilanei*)

Nguyễn Phi Hùng<sup>1</sup>, Đỗ Thị Thúy<sup>1</sup>, Trịnh Ngọc Thảo Vy<sup>2</sup>,  
Ngô Thị Ngọc Yến<sup>2</sup>, Ngũ Trường Nhân<sup>2</sup>, Đỗ Văn Mãi<sup>3</sup>,  
Nguyễn Thị Thu Trâm<sup>4</sup>, Giang Thị Kim Liên<sup>5</sup>

### TÓM TẮT

Cây Xun (*Anacolosa poilanei* Gagnep.) thu hái tại Đồng Hới, Quảng Bình sau xử lý được chiết với metanol. Dịch chiết thu được được tách phân đoạn với EtOAc, sau khi quay khô dưới áp suất giảm thu được cao chiết EtOAc và nước tương ứng. Bằng các phương pháp sắc ký khác nhau, ba hợp chất bao gồm trichadonic acid (1), trichadenic acid A (2), và β-sitosterol (3) đã được phân lập và nhận dạng cấu trúc bằng các phương pháp phổ. Cả ba hợp chất phân lập được được thử nghiệm đánh giá hoạt tính ức chế hoạt lực enzyme protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) *in vitro* với DMSO là đối chứng và ursolic acid (UA) được sử dụng là chất đối chứng dương. Hợp chất 1 và 2 thể hiện hoạt tính ức chế enzyme PTP1B mạnh với các giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 22,6 ± 0,9 (1) và 18,6 ± 0,7 (2), trong khi đó hợp chất 3 thể hiện tác dụng yếu với giá trị IC<sub>50</sub> là 49,7 ± 1,4 μM. Ở thử nghiệm này, UA biểu hiện tác dụng với giá trị IC<sub>50</sub> là 3,5 ± 0,2 μM. Đây là lần đầu tiên hoạt tính ức chế enzyme PTP1B của cây Xun và các hoạt chất phân lập được từ cây này được nghiên cứu.

**Từ khóa:** Cây Xun (*Anacolosa poilanei* Gagnep.), PTP1B, Ursolic acid, Trichadonic acid, Trichadenic acid A, β-sitosterol

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Xun là loại đại mộc cao tới 15 m và có tên khoa học là *Anacolosa poilanei* Gagnep., thuộc họ Dương đầu (Olacaceae). Lá đơn nguyên cứng, mọc cách, không có lông. Hoa lưỡng tính, đều, quả dạng

hạch, hạt nằm trong đài đồng trường (Phạm Hoàng Hộ, 2003). Cây sống chủ yếu ở các vùng cận nhiệt đới Trung Quốc và Việt Nam. Ở Việt Nam, cây phân bố nhiều ở các tỉnh Nam Trung Bộ như Quảng Bình, Nha Trang, Khánh Hòa và Phú Yên (Phạm Hoàng Hộ,

<sup>1</sup> Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup> Trường Đại học Tây Nguyên; <sup>3</sup> Trường Đại học Tây Đô

<sup>4</sup> Khoa Khoa học cơ bản, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

<sup>5</sup> Viện Nghiên cứu và Đào tạo Việt - Anh, Đại học Đà Nẵng