

- bằng thức ăn nhân tạo. Hội thảo quốc tế sinh học, tr 80-85.
- Đặng Thị Dung**, 2003. Một số dẫn liệu về sâu đục thân ngô *Ostrinia furnacalis* Guenee (Lepidoptera: Pyralidae) trong vụ Xuân 2003 tại Gia Lâm, Hà Nội. *Tạp chí Bảo vệ thực vật* (6): 7-11.
- Lại Tiến Dũng và Lưu Thị Hồng Hạnh**, 2011. Một số dẫn liệu về đặc điểm sinh học, sinh thái của sâu đục thân ngô *Ostrinia furnacalis* (Guenee) (Lepidoptera: Pyralidae). *Tạp chí Bảo vệ thực vật* (5): 26-29.
- Lại Tiến Dũng, Phạm Văn Lâm, Nguyễn Văn Liêm**, 2015. Đặc điểm sinh vật học của sâu đục thân ngô châu Á *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, số 11: 30-39.
- Phạm Văn Lâm**, 2013. *Các loài chân đốt sử dụng cây ngô làm thức ăn đã phát hiện được ở Việt Nam*. NXB Nông Nghiệp, tr 242-264.
- Hirai Yoshio and Legacion Danilo M.**, 1985. Improvement of the mass rearing techniques for the Asiatic corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Guenee), in the Philippines. *Japan Agricultural research quarterly*, Vol 19, No 3: 224-233.
- Jae Woo Park and Kyung Saeng Boo**, 1993. An Artificial diet and the rearing method for Asian Corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Guenee). (Lepidoptera; Pyralidae). *Korean J. Appl. Entomol*, 32(4): 395-406.

Effect of artificial diet on Asian corn-borer *Ostrinia furnacalis* (Geunee) (Lepidoptera: Pyralidae)

Le Ngoc Anh, Le Quang Khai

Abstract

This study was carried out to conduct how artificial diet effect on Asian corn-borer *Ostrinia furnacalis*. Results showed that artificial diet effect the larvae developmental time, pupae and its life cycle as well as pupation rate, sex ratio (larvae reared on baby corn were highest, lowest recorded at the larvae reared on artificial diet). Total number of egg laid by female, egg hatch ability and pupal weigh were highest recorded on the larvae reared on baby corn in compare with the larvae reared on artificial diet. Biological aspects of *Ostrinia furnacalis* were decreased from the first generation to the eight generation when reared in the lab.

Key words: *Ostrinia furnacalis*, Asian corn-borer, artificial diet, total number of egg laid by female, life cycle, generation

Ngày nhận bài: 30/7/2017

Ngày phản biện: 9/8/2017

Người phản biện: TS. Lê Xuân Vĩ

Ngày duyệt đăng: 25/8/2017

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY ĐẾN KHẢ NĂNG SINH INVERTASE NGOẠI BÀO CỦA CÁC CHỦNG NẤM MEN *Saccharomyces cerevisiae* 263 VÀ 259

Phạm Thùy Trang¹, Nguyễn Hoàng Anh², Nguyễn Văn Giang¹

TÓM TẮT

Bài báo này trình bày các kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường nuôi cấy lên khả năng sinh invertase của 02 chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* 263 và 259. Đã xác định được ảnh hưởng của thời gian nuôi, nguồn carbon, nguồn nitơ hữu cơ và vô cơ, nồng độ sucrose, các ion kim loại và pH môi trường nuôi cấy tới khả năng tổng hợp invertase của 02 chủng nấm men đã nói ở trên. Thời gian thu invertase thích hợp đối với chủng 259 là 48 giờ, chủng 263 là 56 giờ với hoạt độ enzyme lần lượt là 2.735 IU/ml và 2.658 IU/ml. Nguồn carbon thích hợp cho 02 chủng này tổng hợp invertase là sucrose với nồng độ 200 mM (hoạt độ invertase của chủng 259 đạt 11.95 IU/ml, của chủng 263 là 12.37 IU/ml), nguồn nitơ hữu cơ thích hợp là pepton, nguồn nitơ vô cơ thích hợp với chủng 259 là KNO₃, với chủng 263 là (NH₄)₂SO₄. Hai chủng này sinh trưởng và tổng hợp invertase mạnh tại pH6-7. Bổ sung Ion Mg²⁺ vào môi trường nuôi cấy làm tăng hoạt độ invertase của cả 02 chủng nấm men 259 và 263.

Từ khóa: Nấm men *Saccharomyces cerevisiae*, invertase, điều kiện nuôi cấy

¹ Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Invertase (β -D. fructofuranosidase, EC.3.2.1.26) thủy phân liên kết α -1,4 glycosid giữa α -D-glucose và β -D-fructose của phân tử sucrose để giải phóng hỗn hợp đường đơn là fructose và glucose, ngọt hơn sucrose (Reena *et al.*, 2016). Invertase là một enzyme công nghiệp quan trọng được ứng dụng nhiều trong công nghiệp sản xuất đồ uống, bánh kẹo do sản phẩm tạo ra ngọt hơn, ổn định và không bị kết tinh (Shankar *et al.*, 2013, Lê Văn Việt Mẫn và *ctv.*, 2006). Nhiều vi sinh vật như vi nấm, vi khuẩn, nấm men có thể tổng hợp lượng lớn invertase như *Neurospora crassa*, *Candida utilis*, *Fusarium oxysporium*, *Phytophthora megasperma*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*. *Saccharomyces cerevisiae* là những vi sinh vật được chọn để sản xuất invertase vì khả năng lên men sucrose mạnh của nó. Các thông số như nhiệt độ, pH, thành phần môi trường nuôi cấy có ý nghĩa rất quan trọng trong thiết lập các điều kiện lên men để thu enzyme cũng như sinh khối vi sinh vật. Mục đích của nghiên cứu này là khảo sát các yếu tố môi trường nuôi cấy tới khả năng tổng hợp invertase của 02 chủng nấm men *S.cerevisiae* đang được lưu giữ tại Phòng thí nghiệm Bộ môn Công nghệ vi sinh, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các chủng nấm men *S. cerevisiae* 263 và 259 được phân lập từ bánh men dùng để sản xuất rượu truyền thống được thu thập từ Thái Bình, Nam Định.

Môi trường nuôi các chủng nấm men là YPS (Yeast extract, pepton và sucrose) với các thành phần (g/l): yeast extract - 3, pepton - 5, sucrose - 20, agar - 20, pH 6 (Ikram-ul-haq and Sikander Ali, 2005).

Các loại đường: Sucrose, maltose, fructose, D-glucose, lactose. Các loại muối: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NH_4Cl , KNO_3 . Các loại cao nấm men (yeast extract), cao thịt (meat extract) và pepton. Các muối của một số kim loại: KCl , CuCl_2 , CaCl_2 , NaNO_3 , MnSO_4 , ZnSO_4 , MgSO_4 , FeSO_4 .

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định hoạt độ của invertase

Hoạt độ invertase được xác định theo phương pháp của Sumner và Howell (Sumner and Howell, 1935). Các chủng nấm men được nuôi trong bình chứa 50 ml môi trường YPS, ở 30°C, lắc 200 vòng/phút trong 24 giờ. Sau đó, cấy chuyển 1 ml dịch nuôi

nấm men (1×10^6 CFU /ml) sang các bình tam giác (V=250 ml) chứa 50 ml môi trường YPS. Các bình này được đặt trên máy lắc 200 vòng/phút, ở 30°C trong 48 giờ. Ly tâm dịch nuôi cấy 10.000 vòng/phút, ở 4°C trong 10 phút bằng máy ly tâm lạnh Centrifuge 5810R (Đức), loại bỏ các tế bào nấm men, thu dịch enzyme. Sau đó, ủ 0,1 ml dịch enzyme thu được với 0,9 ml ml sucrose 300 mM trong đệm acetate 0,03 M (pH=5) ở 30°C trong 10 phút, kết thúc phản ứng bằng cách cho dịch ủ vào bể ủ nhiệt (100°C). Sau đó, nhỏ 1ml thuốc thử DNS (3,5-Dinitrosalicylic acid) vào ống phản ứng rồi cho vào bể ủ nhiệt (100°C) trong 5 phút. Đối chứng là enzyme bất hoạt. Độ hấp phụ được đo trên máy đo quang phổ Spectro UV-VIS double beam PC 8 scanning auto cell UVD 3200 (USA) ở bước sóng 540 nm (Miller, 1959).

2.2.2. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy

Môi trường YPS được sử dụng để nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy lên khả năng sinh enzyme của các chủng nấm men. Thời gian lấy mẫu xác định invertase lần lượt là: 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72 giờ. Thời gian, tại đó hai chủng nấm men thí nghiệm sinh tổng hợp nhiều invertase nhất được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.3. Ảnh hưởng của nguồn carbon

Các chủng nấm men được nuôi cấy trong môi trường YPS nhưng nguồn sucrose đã được thay thế lần lượt bằng maltose, fructose, glucose và lactose với nồng độ 20 g/l mỗi loại, thời gian nuôi cấy thích hợp cho từng chủng nấm men được lấy từ kết quả của thí nghiệm 2.2.2.

2.2.4. Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Các chủng nấm men được nuôi cấy trong môi trường YPS nhưng nguồn nitơ được sử dụng trong thí nghiệm này là pepton, cao thịt, NH_4Cl , KNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ với nồng độ 5 g/l, nguồn carbon thích hợp.

2.2.5. Ảnh hưởng của một số ion kim loại

Trong thí nghiệm này các ion kim loại được khảo sát bao gồm: Mg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} . Dịch enzyme được ủ trước với muối của các kim loại trên (KCl , CuCl_2 , CaCl_2 , NaNO_3 , MnSO_4 , ZnSO_4 , MgSO_4 , FeSO_4) với nồng độ 5 mM trong 30 phút ở 30°C trước khi thử hoạt tính của enzyme. Ống đối chứng là ống chứa enzyme không được ủ với ion kim loại nào. Hoạt tính invertase được xác định sau 48 giờ nuôi cấy tại 30°C.

2.2.6. Ảnh hưởng của pH

Các chủng nấm men được nuôi trong môi trường YPS với các giá trị pH là 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. Hoạt độ invertase được xác định sau 48 giờ nuôi cấy tại 30°C.

2.2.7. Ảnh hưởng của nồng độ sucrose

Các nồng độ sucrose khác nhau: 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 mM đã được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của sucrose tới khả năng sinh tổng hợp invertase của các chủng nấm men thí nghiệm.

2.2.8. Xử lý số liệu

Các kết quả thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013.

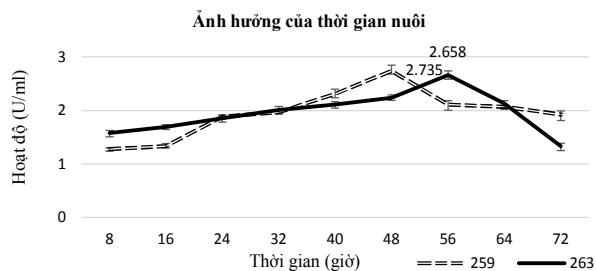
2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm của Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, thời gian từ tháng 1 đến tháng 12 năm 2016.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy

02 chủng nấm men *S. cerevisiae* 263 và 259 được nuôi trong môi trường YPS, hoạt độ invertase được xác định sau 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72 giờ nuôi cấy.



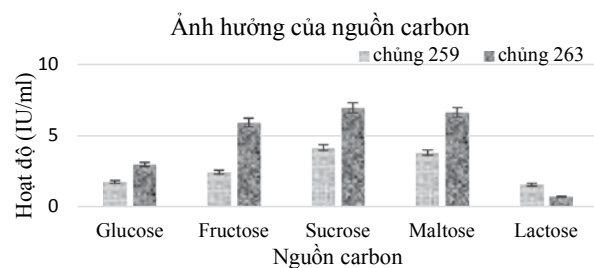
Hình 1. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến khả năng sinh invertase của 02 chủng nấm men *S. cerevisiae* 259 và 263

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở hình 1. Sau 8 giờ nuôi cấy, hoạt độ invertase của cả 02 chủng tương đối thấp chỉ đạt 1,278 U/ml (với chủng nấm men 259) và 1,576 U/ml với chủng nấm men 263. Sau đó, theo thời gian nuôi cấy hoạt độ invertase của chúng tăng dần và hoạt độ invertase của chủng nấm men 263 đạt cực đại sau 48 giờ (đạt 2,73 IU/ml), còn hoạt độ invertase của chủng 259 đạt giá trị cao nhất (2,658 IU/ml) sau 56 giờ. Sau 2 thời điểm trên thì khả năng sinh enzyme của các chủng giảm dần, hoạt độ invertase của chủng nấm men 263 sau 72 giờ thấp hơn tại thời điểm 8 giờ (Hình 1). Các kết quả tương tự cũng đã được công bố, khả năng

tổng hợp invertase của *S. cerevisiae* tốt nhất khi nuôi trong vòng 24 - 48 giờ (Shankar *et al.*, 2013). Còn hoạt độ invertase được tổng hợp bởi nấm mốc *Aspergillus flavus* và *Cladosporium cladosporioides* đạt cực đại trong khoảng thời gian 72 - 96 giờ nuôi (Uma *et al.*, 2010, 2012).

3.2. Ảnh hưởng của nguồn carbon

Các nguồn carbon khác nhau, gồm sucrose, maltose, fructose, glucose và lactose, đã được sử dụng để khảo sát ảnh hưởng của chúng tới quá trình sinh tổng hợp invertase của 02 chủng nấm men 259 và 263. Từ kết quả được trình bày tại hình 2 cho thấy, hoạt độ invertase của cả 02 chủng nấm men đều đạt giá trị cao nhất, lần lượt là 4,176 U/ml và 6,98 U/ml khi được nuôi trong môi trường có sucrose và giảm dần khi nguồn carbon được sử dụng là maltose, fructose và glucose. Khi nguồn carbon trong môi trường được thay thế bằng lactose thì hoạt tính invertase của cả 02 chủng thấp nhất, chỉ đạt 1.59 U/ml và 0,76 U/ml. Shanker (2013) khi khảo sát ảnh hưởng của nguồn carbon tới sinh tổng hợp invertase của chủng *S. cerevisiae* MK cũng khẳng định sucrose là nguồn carbon tốt nhất. Chủng nấm mốc *Aspergillus flavus* cũng tổng hợp invertase nhiều nhất khi được nuôi trong môi trường có sucrose (Uma *et al.*, 2010; Cairns, 1995) đã thông báo rằng, tổng hợp invertase được cảm ứng bởi sự có mặt của sucrose. Glucose không tham gia vào quá trình cảm ứng tổng hợp invertase.

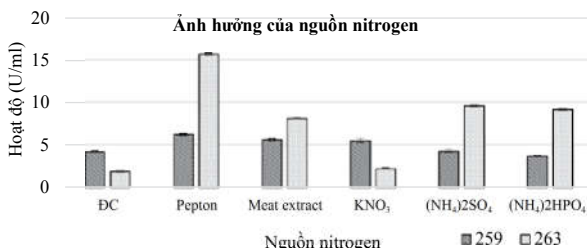


Hình 2. Ảnh hưởng của nguồn carbon đến khả năng sinh invertase của 02 chủng nấm men *S. cerevisiae* 259 và 263

3.3. Ảnh hưởng của nguồn nitơ

05 nguồn nitơ gồm nguồn nitơ hữu cơ là pepton và cao thịt, nguồn nitơ vô cơ: KNO_3 , $(NH_4)_2SO_4$, $(NH_4)_2HPO_4$ được sử dụng trong thí nghiệm này. Chúng được bổ sung vào môi trường nuôi cấy 02 chủng nấm men 259 và 263 với hàm lượng 20 g/l. Kết quả thí nghiệm (Hình 3) cho thấy, hoạt độ invertase trong môi trường nuôi cấy có pepton đạt cao nhất lần lượt là 6,2 IU/ml và 15,63 IU/ml đối với 02 chủng nấm men 259 và 263. Nguồn nitơ vô cơ cũng ảnh

hưởng rõ rệt tới quá trình tổng hợp invertase của 02 chủng nấm men nói trên. Đối với chủng 259, nguồn nitơ vô cơ thích hợp là KNO_3 (hoạt độ invertase đạt 5.494 IU/ml), nhưng $(NH_4)_2SO_4$ lại là nguồn nitơ vô cơ thích hợp cho chủng 263, hoạt độ invertase của chủng này đạt 9.545 IU/ml.

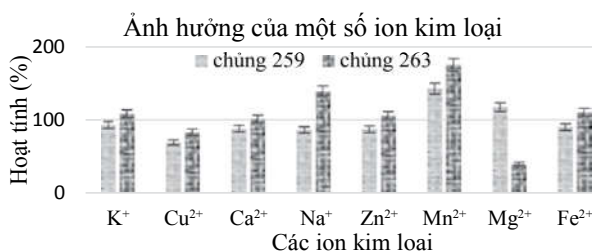


Hình 3. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến khả năng sinh invertase của 02 chủng nấm men *S. cerevisiae* 259 và 263

Kết quả thí nghiệm nhận được có khác so với các kết quả đã được một số tác giả khác công bố. Shankar và cộng tác viên đã thông báo chủng nấm men *S. cerevisiae* MK tổng hợp invertase mạnh nhất khi nuôi trong môi trường chứa nitơ hữu cơ là cao nấm men (yeast extract), và nguồn nitơ vô cơ là chloride ammonium (NH_4Cl) (Shankar *et al.*, 2013). Shafiq và cộng tác viên (2002) lại khẳng định pepton là nguồn nitơ hữu cơ thích hợp nhất với chủng *S. cerevisiae* GCB-K5 để tổng hợp invertase.

3.4. Ảnh hưởng của một số ion kim loại

Trong thí nghiệm này, ảnh hưởng của các muối KCl , $CuCl_2$, $CaCl_2$, $NaNO_3$, $MnSO_4$, $ZnSO_4$, $MgSO_4$, $FeSO_4$ tới sinh tổng hợp invertase được đánh giá như là ảnh hưởng của các ion kim loại. Từ kết quả được mô tả tại hình 4 cho thấy, đối với chủng nấm men 259, hoạt tính của invertase thay đổi không đáng kể trong môi trường có chứa các kim loại thí nghiệm. Enzyme hoạt động mạnh nhất khi môi trường chứa Mn^{2+} ứng với hoạt tính là 143% và hoạt động kém nhất trong môi trường có Cu^{2+} ứng với hoạt tính là 70% khi so sánh với hoạt độ enzyme invertase trong ống đối chứng (100%).

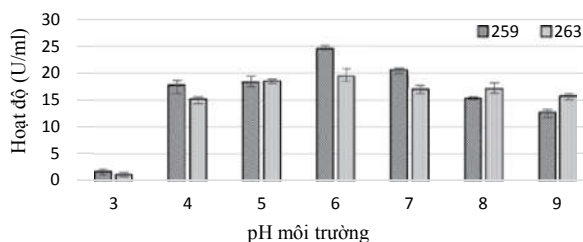


Hình 4. Ảnh hưởng các ion kim loại tới hoạt tính của invertase của 02 chủng nấm men *S. cerevisiae* 259 và 263

Ngược lại với chủng 259, hoạt tính invertase của chủng 263 có sự khác biệt rõ rệt khi trong môi trường có các ion kim loại khác nhau (Hình 4). Ion Mg^{2+} ức chế hoạt động invertase của chủng này mạnh nhất. Hoạt tính của chủng giảm xuống chỉ còn 41%. Ion Na^+ và ion Mn^{2+} kích thích tương đối mạnh hoạt tính của enzyme chủng 263. Ion Na^+ làm hoạt tính của enzyme tăng lên 40% trong khi ion Mn^{2+} làm hoạt tính tăng lên 75%. Shankar và cộng tác viên (2013) thông báo hoạt tính invertase của chủng nấm men *S. cerevisiae* MK đạt cực đại khi môi trường nuôi chủng này có chứa muối $CaCl_2$ và thấp nhất nếu môi trường nuôi cấy có $MnSO_4$. Uma và cộng tác viên (2010) khi đánh giá ảnh hưởng của các ion kim loại tới hoạt tính invertase thu được từ chủng *Aspergillus flavus* đã công bố rằng ion Ca^{2+} làm tăng hoạt tính của invertase, ngược lại Zn^{2+} ức chế hoạt động của enzyme này.

3.5. Ảnh hưởng của pH

Trong số các yếu tố vật lý ảnh hưởng tới sinh trưởng và phát triển của sinh vật, pH môi trường sống có vai trò quan trọng vì kích thích những thay đổi về trao đổi chất, tiết các enzyme. Thay đổi pH trong suốt quá trình sinh trưởng của vi sinh vật có ảnh hưởng tới mức độ ổn định của sản phẩm trong môi trường nuôi. pH thích hợp cho tổng hợp invertase đã được thông báo nằm trong khoảng 4,0 đến 6,8 cho các chủng vi nấm (Uma *et al.*, 2012), pH 5 cho các chủng xạ khuẩn (Reena *et al.*, 2016) và pH 6,0 đối với chủng nấm men *S. cerevisiae* MK do pH quá cao hoặc quá thấp thì quá trình tiết enzyme từ tế bào nấm men sẽ bị ngăn cản (Shankar *et al.*, 2013). Trong thí nghiệm của nghiên cứu trong bài báo này, invertase của chủng nấm men 259 và 263 đạt giá trị cao nhất tại pH 6,0 lần lượt là 24,56 U/ml và 19,41 U/ml. Trong môi trường nuôi cấy có giá trị pH bằng 3,0, invertase của 02 chủng nấm men này chỉ đạt 1,78 U/ml và 1,26 U/ml (Hình 5).

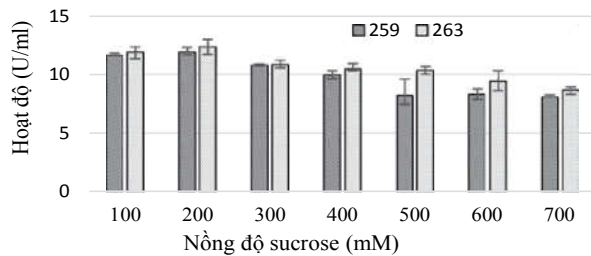


Hình 5. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh enzyme invertase của 02 chủng nấm men *S. cerevisiae* 259 và 263

3.6. Ảnh hưởng của nồng độ sucrose

Các nồng độ sucrose khác nhau (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 mM) được khảo sát để xác

định ảnh hưởng của nồng độ sucrose tới hoạt độ của invertase.



Hình 6. Ảnh hưởng của nồng độ sucrose tới hoạt độ invertase của 02 chủng nấm men *S. cerevisiae* 259 và 263

Kết quả thí nghiệm (Hình 6) cho thấy nồng độ cơ chất ảnh hưởng không đáng kể đến hoạt độ của enzyme. Hoạt độ của invertase cao nhất khi nồng độ sucrose là 200mM, tăng nồng độ sucrose vượt ngưỡng 500 mM, hoạt độ enzyme giảm dần, đạt giá trị thấp nhất tại nồng độ sucrose là 700 mM (chỉ đạt 8,13 U/ml với chủng nấm men 259 và 8,73 U/ml với chủng 263). Kết quả này có khác với kết quả nghiên cứu của Miguel Plascencia-Espinosa và cộng tác viên (2014). Các tác giả này thông báo, invertase tinh khiết INV3-N được thu nhận từ *Candida guilliermondii* MpIIIa hoạt động mạnh mẽ nhất khi nồng độ cơ chất là 400 mM. Theo như thông báo của Suresh và Jyotsna (2012), nồng độ cao sucrose trong môi trường nuôi nấm men không làm tăng hàm lượng invertase có thể do đã tạo nên trong môi trường nuôi nấm men hỗn hợp đường glucose và fructose (được gọi là hỗn hợp đường nghịch đảo/ inverted sugar) ức chế tổng hợp invertase.

IV. KẾT LUẬN

- Thời gian nuôi cấy thích hợp để thu invertase từ 02 chủng nấm men 259 và 263 lần lượt là 48 và 56 giờ. Hoạt tính enzyme tương ứng là 2.735 IU/ml và 2.658 IU/ml.

- Nguồn carbon thích hợp để 02 chủng nấm men này tổng hợp invertase mạnh nhất là sucrose với nồng độ 200 mM.

- Nguồn nitơ hữu cơ là pepton, nguồn nitơ vô cơ là KNO₃ (đối với chủng 259, hoạt độ invertase đạt 5.494 U/ml) và (NH₄)₂SO₄ (đối với chủng 263, hoạt tính đạt 9,545 U/ml) tại pH 6.

- Ion kim loại Mn²⁺ làm tăng hoạt độ của invertase của 02 chủng nấm men 259 và 263.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lê Văn Việt Mẫn, Trần Thẩm Minh Hoàng, Nguyễn Ngọc Tuyết Suong, 2006. Nghiên cứu quá trình tự phân bã nấm men bia để thu nhận chế phẩm invertase. *Tạp chí Phát triển KH&CN*, tập 9, số 12, tr. 49-55.
- Ikram-ul-haq and Sikander Ali, 2005. Invertase production from a hyperproducing *saccharomyces cerevisiae* strain isolated from dates. *Pak. J. Bot.*, 37(3): 749-759, 2005.
- Miller, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31: 426-428.
- Miguel Plascencia-Espinosa, Alejandro Santiago-Hernández, Patricia Pavón-Orozco, Vanessa Vallejo-Becerra, Sergio Trejo-Estrada, Alejandro Sosa-Peinado, Claudia G. Benitez-Cardoza, María Eugenia Hidalgo-Lara, 2014. Effect of deglycosylation on the properties of thermophilic invertase purified from the yeast *Candida guilliermondii* MpIIIa. *Process Biochemistry* vol 49(9): 1480-1487.
- Reena C. Chauhan, Poonam B Chauhan, Mayur Gahlout, 2016. Isolation screening and optimization of invertase production under submerged fermentation. *IJRSI*, Volume III, Issue V, May 2016, p.35-40.
- Shafiq K., S. Ali and I. Haq, 2002. Effect of different mineral nutrients on invertase production by *Saccharomyces cerevisiae* GCB-K5. *Biotechnol.*, 1: 40-44.
- Shankar T., P. Thangamathi, R. Rama, T. Sivakumar, 2013. Optimization of invertase production using *Saccharomyces cerevisiae* MK under varying cultural conditions. *International Journal of Biochemistry and Biophysics* 1(3): 47-56.
- Sumner, J.B. and S.F. Howell, 1935. A method for determination of saccharase activity. *J. Biol. Chem.*, 108: 51-54.
- Suresh P, Kamble, C. B. Jyotsna, 2012. Effect of nitrogen sources on the production of invertase by yeast *Saccharomyces cerevisiae* 3090. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, Vol. 2: 539-550.
- Uma C., D. Gomathi, C. Muthulakshmi and V.K. Gopalakrishnan, 2010. Production, purification and characterization of invertase by *Aspergillus flavus* using fruit peel waste as substrate. *Advances in Biological Research* 4 (1): 31-36.
- Uma C., D.Gomathi, G.Ravikumar, M.Kalaiselvi and M.Palaniswamy, 2012. Production and properties of invertase from a *Cladosporium cladosporioides* in SmF using pomegranate peel waste as substrate. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* (2012) S605-S611.

Effects of cultural parameters on extracellular invertase production of *Saccharomyces cerevisiae* strains 259 and 263

Pham Thuy Trang, Nguyen Hoang Anh, Nguyen Van Giang

Abstract

The aim of this study was to determine the effects of different cultural parameters such as incubation time, carbon source, nitrogen source (organic and inorganic), sucrose concentrations, metal ions on invertase production by two *Saccharomyces cerevisiae* strains 259 and 263. Maximum invertase activity was found at pH 6 in 48 hours incubation for strain 259 (invertase activity is 2.735 IU/ml), and in 56 hours for strain 263 (invertase activity is 2.658 IU/ml). Sucrose with concentration of 200 mM was proper invertase production of strain 259 (invertase activity was 11.95 IU/ml) and strain 263 with invertase activity of 12.37 IU/ml. These two yeast strains grew well and synthesized strongly invertase at pH 6 - 7. Pepton was suitable for organic nitrogen source for both strains, KNO_3 and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ were proper inorganic nitrogen sources for strains 259 and 263, respectively. Ion Mg^{2+} increased invertase activity of both strains.

Key words: Invertase, yeast *Saccharomyces cerevisiae*, cultural conditions

Ngày nhận bài: 2/8/2017

Người phản biện: TS. Tống Kim Thuận

Ngày phản biện: 12/8/2017

Ngày duyệt đăng: 25/8/2017

ẢNH HƯỞNG CỦA TỶ LỆ NATRI-CANXI TRAO ĐỔI TRONG ĐẤT ĐỐI VỚI SINH TRƯỞNG VÀ NĂNG SUẤT LÚA DO TƯỚI NƯỚC MẶN TRÊN ĐẤT NHIỄM MẶN

Trần Ngọc Hữu¹, Nguyễn Kim Quyên², Ngô Ngọc Hưng¹

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ natri-canxi trao đổi trong đất đối với thiệt hại sinh trưởng và năng suất lúa trong chậu ở các nồng độ và giai đoạn tưới mặn trên đất nhiễm mặn. Thí nghiệm được thực hiện từ 10/2016 đến 01/2017 tại khu vực nhà lưới, trường Đại học Cần Thơ, đất thí nghiệm được thu từ khu vực không nhiễm mặn và xâm nhập mặn tại Long Phú, Sóc Trăng. Hai thí nghiệm nhà lưới được thực hiện riêng biệt ở hai thời điểm tưới mặn là 20 và 45 ngày sau gieo. Thí nghiệm theo thể thức thừa số 3 nhân tố: (i) 03 tỷ lệ $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ là 2; 4; 6; (ii) 03 nồng độ tưới mặn là 0; 3‰; 5‰; (iii) 02 thời gian tưới mặn là 1 tuần và 2 tuần liên tục. Kết quả thí nghiệm cho thấy năng suất bị ảnh hưởng nặng nhất khi xử lý mặn vào giai đoạn 45 ngày sau gieo so với giai đoạn 20 ngày sau gieo. Nâng cao hàm lượng Ca trao đổi trong đất có hiệu quả rõ rệt trong việc giảm thiểu thiệt hại do mặn. So với đất không xử lý mặn, đất với tỷ lệ $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ là 2; 4; 6; và 7,5 có năng suất lúa đạt được theo thứ tự là 89%; 55%; 36% và 22%.

Từ khóa: Đất nhiễm mặn, nồng độ mặn nước tưới, sinh trưởng và năng suất lúa, tỷ lệ Na : Ca trao đổi

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tác hại của nhiễm mặn có thể làm giảm sinh trưởng cây trồng qua thiếu nước, độc tính ion, mất cân bằng ion, hoặc sự tác động tổng hợp của các yếu tố này (Cramer *et al.*, 1986). Lúa (*Oryza sativa* L.) được đánh giá là một trong những cây lương thực chính trên thế giới, nhưng cũng được coi là cực kỳ nhạy với muối (Maas and Hoffman, 1977). Giống chịu mặn thường được chọn để trồng trong điều kiện đất bị nhiễm mặn vì giống chịu mặn sẽ sinh trưởng tương đối tốt hơn trong điều kiện mặn bởi vì

nó duy trì tỷ lệ K/Na cao hơn trong tế bào (Yeo and Flowers, 1985). Tuy nhiên, giống chịu mặn thường cho năng suất thấp chỉ từ 2,69 - 4,87 tấn/ha (Quan Thị Ái Liên và *ctv.*, 2013) và tình hình xâm nhập mặn xảy ra bất thường, khó biết trước để chọn giống chịu mặn trong canh tác. Ca^{2+} có hiệu quả đối với cải tạo đất mặn (Hanay *et al.*, 2004). Bên cạnh đó nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy việc bón đủ lượng Ca trên đất nhiễm mặn có thể làm giảm ảnh hưởng ức chế trên sinh trưởng cây trồng (Barnabas *et al.*, 1998). Theo Reyes và cộng tác viên (1983), đất mặn

¹ Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Khoa học nông nghiệp, Trường Đại học Cửu Long