

HOẠT TÍNH NITRAT REDUCTAZA (N_1R) CỦA BÈO HOA DÂU (*Azolla*)

Nguyễn Văn Mùi

Khoa Sinh học, ĐHTH Hà Nội

MỞ ĐẦU

Hoạt tính Nitrat reductasa (N_1R) có liên quan đến dinh dưỡng nitrat, đến tính chống của thực vật đối với điều kiện môi trường. N_1R là ensim cảm ứng, nó được hình thành mà đáp ứng lại sự xâm nhập dư thừa của nitrat vào tế bào, khi chuyển thực vật sang dinh dưỡng thì hoạt tính của N_1R tăng lên một cách đáng kể. Hoạt tính của N_1R có liên quan máy quang hợp, đến hoạt tính của glutamin sintetasa, glutamat dehydrogenasa [5]. Sự khu còn phụ thuộc vào nhiệt độ [2], ánh sáng và bóng tối [1], nồng độ muối [9].

Một số công trình cho biết rằng khi nuôi bèo trong môi trường có đạm thì tốc độ sinh của bèo chậm hơn so với môi trường không có đạm [4]. Vì vậy chúng tôi thử tìm hiểu hoạt tính N_1R của bèo hoa dâu và sự dinh dưỡng đạm của bèo.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

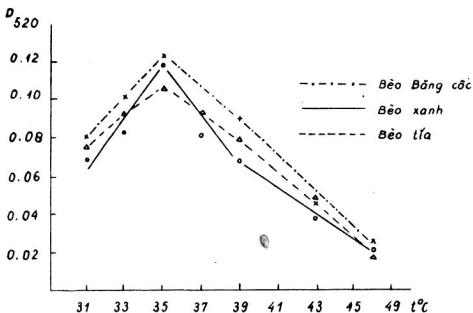
Hoạt tính N_1R được xác định ở 4 giống bèo hoa dâu: bèo xanh, bèo tía, bèo Băng cốc (loại *Asollapinata*) và bèo Đức (thuộc loài *Azolla filiculoides*) lấy từ trung tâm bèo giống ương - Mai dịch Hà Nội.

Bèo nuôi trong môi trường Hoagland có đạm và không đạm, diệt tảo trong bèo bằng phương pháp kháng sinh [7].

Xác định hoạt tính N_1R dựa trên nguyên tắc dùng hợp chất nitrat làm cơ chất và định sản phẩm nitrit được tạo thành bằng phương pháp ứng với thuốc thử Griess [11]: Cho vào bình nón 50cc 0,5 g bèo tươi, ở bình kiểm tra cho thêm 1ml axit axetic 32%. Sau đó cho mỗi bình 5ml dung dịch đệm photphat 0,06 M pH 7,2, 1 ml KNO_3 0,1M, 2ml nước cất và isopropanol 10% [3, 6, 8]. Hút không khí trong bình ra, sau một thời gian phản ứng cho thêm axit axetic 32% vào các bình thí nghiệm để ngừng phản ứng. Lọc lấy dịch, làm phản ứng với thuốc thử Griess, sau 15-20 phút đem so màu ở bước sóng 520-555nm.

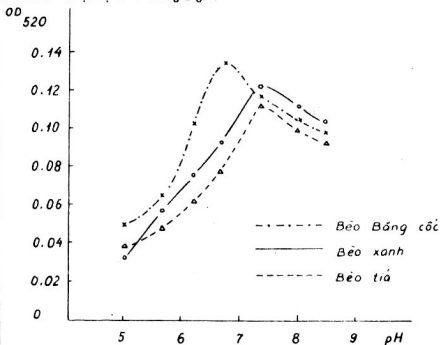
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ở hình 1 giới thiệu hoạt tính N_1R của bèo xanh (*A. pinnata*) bèo tía (*A. pinnata*) và Băng cốc (*A. pinnata*) nuôi trong môi trường có đạm, phản ứng được ở trong 2 giờ ở các độ khác nhau. Qua kết quả cho thấy rằng hoạt tính N_1R của 3 giống bèo đều tăng lên theo thời gian và đạt cực đại ở 35°C, ở nhiệt độ cao hơn hoạt tính của N_1R bắt đầu giảm xuống.



Hình 1 - Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hoạt tính nitrat reductasa của bèo hoa dâu

Nhiệt độ môi trường là yếu tố tác động mạnh lên sự sinh trưởng của bèo hoa dâu. Những nghiên cứu về bèo hoa dâu của viện nghiên cứu lúa IRRI (Philippin) cho thấy rằng bèo dâu rất mẫn cảm với nhiệt độ, ở nhiệt độ 31°C cánh bèo đổi màu, trọng lượng tươi giảm [14]. Vì vậy, khi nóng cho bèo ngoài việc bón các nguyên tố vi lượng [12], chúng ta có thể bón thêm đạm để độ hoạt động của N_1R giúp cho bèo sinh trưởng tốt hơn. Ở hình 2 giới thiệu kết quả xác định pH thích hợp cho hoạt động của N_1R : lấy 0,5 g bèo tươi cho phản ứng với KNO_3 theo các cách khác nhau ở nhiệt độ 35°C trong 2 giờ.

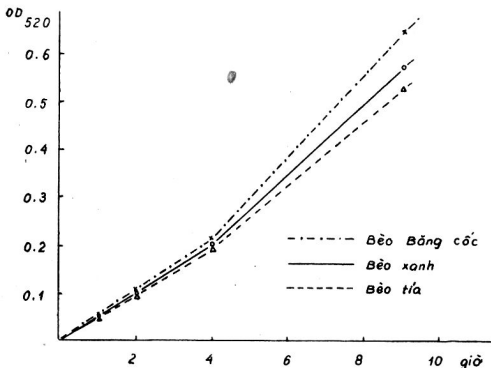


Hình 2 - Ảnh hưởng của pH lên hoạt tính N_1R của bèo hoa dâu

Hoạt tính N_1R của cả 3 giống bèo đều đạt cực đại ở pH 6,8-7,3. Như vậy N_1R của dâu hoạt động thích hợp nằm trong giới hạn pH trung tính tương tự như N_1R của một vật khác : ở thuốc lá pH 7,4, ở cà chua pH 7,5, ở ngô pH 7,5, ở đậu tương 6,5.

Ở hình 3 là kết quả xác định ảnh hưởng của thời gian phản ứng lên hoạt tính N_1R hoa dâu. Phản ứng được tiến hành ở pH 7,2, nhiệt độ 35°C theo các thời gian khác nhau.

Qua kết quả cho thấy trong thời gian từ 0-9 giờ hoạt tính N_1R ở cả 3 giống bèo đều tuyến tính theo thời gian. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của một số tác giả về hoạt tính N_1R của thuốc lá nuôi cấy sau 24 giờ vẫn tăng của bèo dâu sau 40 giờ vẫn tăng 50 giờ mới bắt đầu cân bằng [10].



Hình 3 - Ảnh hưởng của thời gian phản ứng lên hoạt tính N_1R của bèo hoa dâu

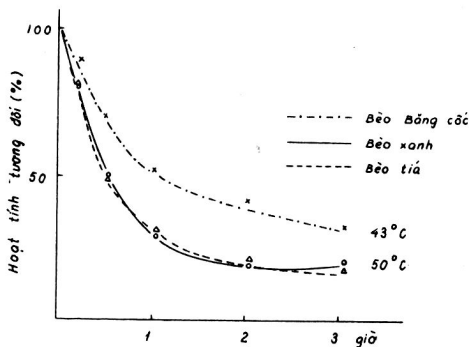
Độ bền nhiệt N_1R của bèo hoa dâu giới thiệu trên hình 4. Phản ứng tiến hành với 0,5 tươi và 2ml nước ở 43°C và 50°C theo các thời gian khác nhau sau đó làm lạnh trong nước đang tan.

Qua kết quả cho thấy rằng ở 45°C sau 15 phút đầu xử lý hoạt tính N_1R của bèo còn sau 30 phút còn 70%, sau 1 giờ còn 50%, sau 2 giờ còn 40% và sau 3 giờ còn 30%. Ở 50°C hoạt tính N_1R giảm nhanh gần 2 lần so với 43°C: sau 30 phút còn 55%, sau 1 giờ còn 30%, sau 2 giờ còn 20% và sau 3 giờ chỉ còn 16%. Như vậy N_1R của bèo hoa dâu không có khả năng chịu nhiệt độ cao và kéo dài và không phải là enzim chịu nhiệt.

Để tìm hiểu vai trò của N_1R trong bèo hoa dâu, chúng tôi đã xác định hoạt tính enzim của bèo nuôi trong môi trường có đạm và không đạm. Phản ứng được tiến hành ở pH 7,2, trong 2 giờ với 5 g bèo tươi. Kết quả phân tích cho thấy hoạt tính N_1R của cả 3 giống bèo trong môi trường có đạm lớn hơn một ít so với bèo nuôi trong môi trường không đạm (bảng 1).

Qua kết quả cho thấy rằng sự dinh dưỡng nitrat của bèo không đáng kể, giá trị hoạt tính của N_1R của bèo không quan trọng trong dinh dưỡng đạm. Trong khi đó nhiều nghiên cứu

trở lại hoạt tính N_1R của nhiều thực vật khác trồng trên môi trường không có nitrat gần như không, còn trên môi trường có nitrat hoạt tính N_1R tăng lên rất lớn có thể đến 1500 lần sau [10].



Hình 4 - Độ bền nhiệt của N_1R của bèo hoa dâu ở 43°C và 50°C

Bảng 1 - Hoạt tính N_1R của bèo dâu nuôi trong môi trường có đạm và không đạm

Giống bèo	Môi trường có đạm		Môi trường không đạm	
	$A_{520-550}$	% hoạt tính	$A_{520-550}$	% hoạt tính
Bèo xanh	0,092	100	0,08	87
Bèo tía	0,120	100	0,11	90
Bèo Bông cúc	0,095	100	0,09	97

Để kiểm tra vai trò của N_1R của bèo chúng tôi xác định hoạt tính N_1R của bèo đã diệt tảo so với bèo phát triển bình thường (không diệt tảo). Phản ứng được tiến hành với 0,5 g bèo tươi ở 35°C trong 5 giờ. Qua kết quả ở bảng 2 chúng tôi thấy hoạt tính N_1R của cả 2 giống bèo diệt tảo tăng lên gấp đôi so với bèo không bị diệt tảo, điều đó có thể giải thích là khi bèo diệt tảo nên không có enzym nitrogenasa hoạt động, để bảo đảm dinh dưỡng bắt buộc N_1R trong môi trường hoạt động. Song hoạt tính N_1R tăng lên cũng không lớn như những thực vật khác.

Bảng 2 - Hoạt tính nitrat reductaza của bèo dâu không bị diệt tảo và bị diệt tảo

Giống bèo	Bèo không bị diệt tảo		Bèo bị diệt tảo	
	A ₅₂₀₋₅₅₀	% hoạt tính	A ₅₂₀₋₅₅₀	% hoạt tính
Bèo tía	0,175	100	0,40	229
Bèo Đức	0,150	100	0,32	214

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Andrew J. Reed and David T. Canvin. Light and dark control of nitrate reductase (Tritium aestivum) protoplasts. Plant physiol. (1982) 69, 508-513.
2. Becleing J. H. Ecology and physiological adaptation of Anabaena in the Azolla-Anabaena symbiosis. Ecology Bulletin (1978) 26, 266-280.
3. Haga K. I. and Sodek L. Borate inhibition of leaf nitrate reductase activity Plant phy 67, 8.
4. Haselkorn R. Cyanobacterial heterocyst differentiation and nitrogen fixation in Cyanobacter green algae) Fd by Newton and Ormejhanson Univer. Parkopress, etal (1980) Vol. II.
5. Hriday N. Singh. Amar H. Rai and Surendra N. Barydri. Evidence for a comm regulation of glutamine synthetase and nitrate uptake and reductase in the Cyanobacterium cycadeae. Mol Gen Genel (1985) 198, 367-368.
6. Palmer C. E. Effect of abscisic acid on nitrate accumulation and nitrate reductase activity tunberg slices. Plant physiol (1981) 67, 7.
7. Peters G. A. and Berger B. The Azolla Anabaena azollae relationship. Plant physiol. 813-819
8. Peters G. A and Sloger G. Ontogenetic variation of nitrogenase, nitrate reductase and sythetase activity in oryza sativa. Plant physiol. (1981) 68, 722-726.
9. Sahulka J. Регуляция нитратредуказы, глутаминсинтетазы и глутаматдегидр в изолированных корнях гороха. Физ-рас (1980) 145, 20
10. Кретович В. Л. Обмен азота в растениях. Москва (1982) 86 - 418.
11. Рубина Б. А. Баншой практикум по физиология растений Москва (1978) 103.
12. Nguyễn Như Khanh. Ảnh hưởng của các nguyên tố vi lượng Mn và Cu đến tính chịu nóng hoa dâu. Tạp chí Kh và KTNN (1970).
13. Nguyễn Vy. Cách giải quyết vấn đề phân bón ở nước ta. Tạp chí KH và KTNN (1979)

NITRATE REDUCTASE ACTIVITY OF AZOLLA

Nguyen Van Mui

Faculty of Biology, Hanoi University

Nitrate Reductase (N₁R) activity of three varieties of Azolla: Green, Bangkok and azolla (belonging to Azolla pinnata) is maximal at 35°C. PH_{opt} of N₁R is neutral. N₁R still increases after 9h of its reaction. At 50°C N₁R expresses the similar stability. In the containing media N₁R activity is higher than that in those without nitrogen. N₁R activity without algae is markedly higher than that of the symbios