

IMPROVING THE DROUGHT TOLERANCE OF MAIZE SEEDLING BY EXOGENOUS APPLICATION OF MELATONIN

Truong Thi Hue*, Le Huynh Nhu Quyen

Quy Nhon Univiversity

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Received: 01/01/2022</p> <p>Revised: 08/4/2022</p> <p>Published: 13/4/2022</p>	<p>Drought inhibits crop growth and reduces maize productivity. Therefore, it is imperative to enhance maize drought tolerance. In this study, HN68 hybrid maize was treated with melatonin at 50 μM, 100 μM and 150 μM at the seed stage and three-leaf stage seedlings. Maize seedlings were drought-treated by not watering and isolating it from water. Research results show that 150 μM melatonin treatment reduce damage and increase relative drought tolerance index. Maize was treated with 150 μM melatonin showed the superiority in some biochemical parameters such as soluble sugar content, proline content, α-amylase enzyme activity, and catalase compared with the control. Research results show that application of exogenous melatonin is a potential target for improving maize resistance to drought stress.</p>
<p>KEYWORDS</p> <p>Melatonin</p> <p>Maize</p> <p>HN68</p> <p>Drought</p> <p>Tolerance</p>	

CẢI THIỆN KHẢ NĂNG CHỊU HẠN CỦA CÂY NGÔ NON BẰNG VIỆC XỬ LÝ MELATONIN NGOẠI SINH

Trương Thị Huệ*, Lê Huỳnh Như Quyên

Trường Đại học Quy Nhơn

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
<p>Ngày nhận bài: 01/01/2022</p> <p>Ngày hoàn thiện: 08/4/2022</p> <p>Ngày đăng: 13/4/2022</p>	<p>Hạn hán ức chế sự sinh trưởng và giảm năng suất của ngô. Vì vậy, việc tăng cường khả năng chịu hạn cho ngô là điều cấp thiết. Trong nghiên cứu này, hạt giống ngô nếp lai HN68 và cây ngô non 3 lá được xử lý melatonin với 3 nồng độ 50 μM, 100 μM và 150 μM. Cây ngô được xử lý hạn bằng cách không tưới nước và cách li với nước. Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc xử lý melatonin 150 μM cho ngô làm giảm tỷ lệ thiệt hại và tăng chỉ số chịu hạn tương đối. Ngô được xử lý melatonin 150 μM đều thể hiện sự vượt trội về một số chỉ tiêu hóa sinh như hàm lượng đường khử, hàm lượng proline, hoạt độ enzyme α-amylase, catalase so với đối chứng. Kết quả này chứng tỏ ứng dụng melatonin ngoại sinh là giải pháp tiềm năng có thể cải thiện khả năng chịu hạn cho cây ngô.</p>
<p>TỪ KHÓA</p> <p>Melatonin</p> <p>Cây ngô</p> <p>HN68</p> <p>Hạn hán</p> <p>Chống chịu</p>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5412>

* Corresponding author. Email: truongthihue@qnu.edu.vn

1. Giới thiệu

Hạn hán ức chế sự sinh trưởng, phát triển và giảm năng suất cây trồng trên toàn thế giới. Để cải thiện năng suất nông nghiệp, điều cấp thiết là phải nâng cao khả năng chịu hạn của cây trồng bằng nhiều cách tiếp cận khác nhau. Việc ứng dụng các chất điều hòa sinh trưởng thực vật ngoại sinh được coi là một cách hiệu quả để tăng cường khả năng chịu hạn cho cây trồng [1], [2].

Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) hoạt động như một chất điều hòa sinh trưởng, được phát hiện ở thực vật vào năm 1995, đóng vai trò quan trọng trong nhiều quá trình như sự nảy mầm của hạt giống, sự phát triển của rễ, quang hợp, sự ra hoa và già hóa của quả. Quan trọng hơn, melatonin còn là tín hiệu trung gian của cây trồng đối với các stress phi sinh học [2]. Nhiều nghiên cứu cho thấy, melatonin giảm thiểu stress hạn thông qua cơ chế trực tiếp là “nhốt” các gốc tự do (reactive oxygen species-ROS) và gián tiếp bằng việc phục hồi hệ thống quang hợp, cân bằng nước, bảo vệ màng tế bào [3], [4].

Có nhiều báo cáo trên thế giới về việc ứng dụng melatonin ngoại sinh trên lúa mì [5], ngô [1], [6], đậu tương [4] cho thấy hiệu quả của nó đối với việc tăng cường khả năng chống chịu cho cây, bảo vệ cây trồng khỏi những tác động bất lợi của hạn. Tuy nhiên, cơ chế tác động của melatonin đến khả năng chịu hạn của cây trồng chưa được hiểu rõ, chỉ một số ít công trình nghiên cứu trên các cây trồng quan trọng.

Ngô (*Zea mays*. L) là một trong những cây lương thực quan trọng nhất trên thế giới, là nguồn thức ăn chủ lực cho chăn nuôi và là nguồn nhiên liệu sinh học [2], [7]. Hiện nay, việc canh tác ngô gặp khó khăn do biến đổi khí hậu, các vùng đất trồng trọt bị hạn hán, ảnh hưởng nghiêm trọng đến sản xuất nông nghiệp nói chung và sản xuất ngô nói riêng. Thực tế, hầu hết ngô được trồng trên các vùng đất khó khăn, không chủ động nguồn nước tưới, vì vậy khô hạn là yếu tố chính làm giảm năng suất của ngô, đặc biệt là những vùng canh tác phụ thuộc vào nước trời [8].

Ở Việt Nam, đã có nhiều công trình nghiên cứu về khả năng sinh trưởng, phát triển, phân lập gen liên quan đến khả năng chịu hạn của ngô... Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào về ứng dụng hoạt chất melatonin ngoại sinh đến khả năng chịu hạn cho cây ngô. Giống ngô HN68 là giống ngắn ngày (65-85 ngày), năng suất cao (năng suất bắp tươi đạt 14-16 tấn/ha), chất lượng ăn tươi ngon, chống đổ khá, hiệu quả kinh tế vượt trội so với các giống ngô lai khác [9]. Vì vậy, việc nâng cao khả năng chịu hạn cho cây ngô nếp lai HN68 cần được quan tâm. Nghiên cứu này đề cập đến ảnh hưởng của việc xử lý melatonin ngoại sinh đến một số chỉ tiêu hóa sinh liên quan đến khả năng chịu hạn của giống ngô HN68. Kết quả nghiên cứu nhằm đánh giá phản ứng của ngô trong điều kiện hạn dưới tác động của melatonin ngoại sinh, làm cơ sở khoa học cho việc xử lý melatonin tăng khả năng chịu hạn cho ngô.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Giống ngô được dùng trong nghiên cứu là ngô nếp lai HN68 được Viện nghiên cứu Ngô lai tạo, do công ty cổ phần Tập đoàn Giống cây trồng Việt Nam (Vinaseed) cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xử lý melatonin và gây hạn nhân tạo [1], [2]

Xử lý hạt giống: Hạt ngô được ngâm trong dung dịch melatonin 50 μ M, 100 μ M và 150 μ M trong 4 giờ, ủ hạt giống trong các đĩa petri có giấy thấm đủ độ ẩm, đặt trong tối ở nhiệt độ phòng. Hạt không xử lý melatonin được ngâm trong nước cất.

Hạt giống nảy mầm tốt được lựa chọn gieo trong túi bầu. Các túi bầu trồng cây là túi nilon, màu đen có kích thước 24 cm x 18 cm; mỗi túi bầu chứa 4 kg đất thịt phối trộn với 2 kg cát mịn. Sau khi hạt ngô mọc, mỗi chậu chọn để lại 10 cây. Các túi bầu trồng cây được đặt trong nhà lưới có mái che bằng ni lông trắng ở Vườn thực nghiệm Sinh học của khoa Khoa học Tự nhiên,

Trường Đại học Quy Nhơn. Các lô thí nghiệm được xếp thành 5 hàng, mỗi hàng có 3 túi bầu, tiếp tục xử lý melatonin ở giai đoạn ngô non theo các công thức sau:

- + Công thức 1 (CT1): không xử lý melatonin và gây hạn
- + Công thức 2 (CT2): xử lý melatonin 50 μM và gây hạn
- + Công thức 3 (CT3): xử lý melatonin 100 μM và gây hạn
- + Công thức 4 (CT4): xử lý melatonin 150 μM và gây hạn
- + Công thức 5 (CT5): tưới nước đầy đủ

Khi ngô có 3 lá, xử lý melatonin bằng cách tưới vào gốc 1 lần/ngày trong 7 ngày liên tiếp tương ứng với các nồng độ 50 μM , 100 μM và 150 μM . Mỗi lần tưới 40 ml dung dịch melatonin/chậu cây. Lô đối chứng không xử lý melatonin. Việc xử lý melatonin được thực hiện ở điều kiện ánh sáng yếu (lúc 5 h chiều) để tránh melatonin phân hủy. Sau đó, tiến hành gây hạn nhân tạo bằng cách không tưới nước và cách ly với nước, mỗi công thức lặp lại 3 lần. Sau 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày gây hạn thì tiến hành thu mẫu lá để phân tích các chỉ tiêu hóa sinh như hàm lượng đường khử, proline, hoạt độ α -amylase và hoạt độ catalase đặc trưng cho tính chịu hạn của ngô. Mỗi công thức phân tích lặp lại 3 lần.

2.2.2. Phương pháp đánh giá nhanh khả năng chịu hạn

Thí nghiệm đánh giá nhanh khả năng chịu hạn của ngô non được bố trí theo phương pháp của Lê Trần Bình (1998) [10]. Số lượng cây/chậu là 10 cây, mỗi công thức lặp lại 3 lần. Theo dõi mức độ héo của cây sau 3, 5, 7 ngày gây hạn. Các chỉ tiêu phân tích gồm: Tỷ lệ thiệt hại và chỉ số chịu hạn tương đối.

- Tỷ lệ thiệt hại do hạn gây ra được tính theo công thức:

$$a = \frac{\sum(N_o \times b)}{N \times c} \times 100\% \quad (1)$$

Trong đó: a là tỷ lệ thiệt hại do hạn gây ra (%); b là trị số thiệt hại của mỗi cấp; c là trị số thiệt hại của cấp cao nhất; N_o là số cây của mỗi cấp thiệt hại; N là tổng số cây xử lý. Các trị số: Số cây chết: trị số 3; Số cây héo: trị số 1; Số cây không bị ảnh hưởng: trị số 0.

- Chỉ số chịu hạn tương đối (S): được xác định thông qua tỉ lệ % cây không héo sau hạn 3, 5, 7 ngày và tỉ lệ % cây phục hồi sau 3, 5, 7 ngày tưới nước và được xác định bằng diện tích đồ thị hình sao gồm 6 trục mang các trị số tương ứng a, b, c, d, e, g của mỗi công thức. Chỉ số chịu hạn càng lớn thì khả năng chịu hạn càng cao.

$$S = \frac{1}{2\sqrt{2}}(ab + bc + cd + de + eg + ga) \quad (2)$$

Trong đó: S là chỉ số chịu hạn tương đối của ngô ở mỗi CTTN; a là tỉ lệ % cây không héo sau 3 ngày hạn; b là tỉ lệ % cây phục hồi sau 3 ngày tưới nước; c là tỉ lệ % cây không héo sau 5 ngày hạn; d là tỉ lệ % cây phục hồi sau 5 ngày tưới nước; e là tỉ lệ % cây không héo sau 7 ngày hạn; g là tỉ lệ % cây phục hồi sau 7 ngày tưới nước.

2.2.3. Phương pháp xác định các chỉ tiêu hóa sinh

- Hàm lượng đường khử được xác định theo phương pháp Bertrand [11].

Hàm lượng đường khử được xác định dựa trên cơ sở trong môi trường kiềm, các đường khử (glucose, fructose, maltose,...) khử Cu^{++} thành Cu^+ . Định lượng Cu^{++} bị đường khử bằng KMnO_4 0,1N. Cứ 1 ml KMnO_4 0,1N tương đương với 6,36 mg Cu, khối lượng Cu có trong dung dịch phân tích (g) là: $g_1 = V_c \cdot 6,36$ (V_c : Số ml KMnO_4 0,1N chuẩn độ). Từ g_1 xác định được khối lượng đường khử (mg) trong dung dịch mẫu phân tích (V_p), đổi mg thành g (g_2).

Hàm lượng đường khử có trong nguyên liệu là:

$$X (\%) = \frac{g_2 \cdot V \cdot 100}{V_p \cdot g} \quad (3)$$

V: Số ml dung dịch mẫu pha loãng

V_p : Số ml dung dịch mẫu đem phân tích

g : Số gam mẫu đem phân tích

- Hàm lượng proline được xác định theo phương pháp Bates [12].

Hàm lượng proline được xác định dựa vào phản ứng của proline với thuốc thử ninhydrin ở nhiệt độ cao, sản phẩm tạo thành có màu vàng da cam. Hỗn hợp phản ứng được tách chiết bằng dung dịch toluen, so màu ở bước sóng 520 nm.

0,5 g lá nghiền trong 10 ml axit sulphosalisilic 3% (w/v). Lấy 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm vào 2 ml ninhydrin (1,25g ninhydrin (Merck) + 30 ml acid acetic + 20 ml acid phosphoric 6 M) và 2 ml acid acetic lạnh, để ở 100°C trong 1 giờ, kết thúc phản ứng ở điều kiện lạnh. Cho thêm 4 ml toluen vào hỗn hợp trên, trộn mạnh trong 15-20 s, hợp chất màu được đo ở bước sóng 520 nm. Hàm lượng proline được xác định dựa vào đường chuẩn proline (Merck) có phương trình $y = 0,0216x + 0,0648$ ($R^2 = 0,99$), trong đó x là nồng độ proline ($\mu\text{g/ml}$), y là $OD_{520\text{nm}}$.

- Hoạt độ enzyme α -amylase được xác định theo phương pháp Rukhliadeva Geriacheva [13].

Phương pháp này dựa vào sự thủy phân tinh bột bởi enzyme α -amylase có trong mẫu nghiên cứu thành dextrin có khối lượng phân tử khác nhau. Khi cho tác dụng với iot, chúng sẽ tạo màu. Đo cường độ màu ở 656 nm bằng máy quang phổ (CECIL-4002, England) để xác định hoạt độ enzyme. Một đơn vị hoạt độ là lượng enzyme α -amylase xúc tác thủy phân 1g cơ chất tinh bột thành dextrin có khối lượng phân tử khác nhau ở nhiệt độ 30°C trong 1 giờ.

Lượng tinh bột bị thủy phân (c) tính theo công thức:

$$c = \frac{OD_1 - OD_2}{OD_1} \times 0,1 \quad (4)$$

OD_1 : mật độ quang của dung dịch đối chứng

OD_2 : mật độ quang của dung dịch nghiên cứu

0,1: lượng tinh bột phân tích (g)

Từ lượng tinh bột bị thủy phân (c) tính được hoạt độ enzyme α -amylase trong mẫu nghiên cứu.

- Hoạt độ enzyme catalase được xác định theo phương pháp Bach - Oparin [11].

Hoạt độ catalase được xác định dựa vào lượng H_2O_2 bị thủy phân dưới tác dụng của enzyme catalase bằng cách chuẩn độ với dung dịch KMnO_4 0,1N. Một đơn vị hoạt độ catalase là lượng enzyme xúc tác biến đổi 1 μmol H_2O_2 sau 1 phút trong điều kiện chuẩn (30°C, 30 phút).

Số mg H_2O_2 (x) trong mẫu bị phân giải dưới tác dụng của enzyme catalase:

$$x = \frac{(A - B) \cdot 1,7 \cdot V_1}{V_2 \cdot a} \quad (5)$$

A: Số ml KMnO_4 0,1N đã dùng chuẩn độ H_2O_2 của bình đối chứng.

B: Số ml KMnO_4 0,1N đã dùng chuẩn độ H_2O_2 còn lại của bình thí nghiệm.

V_1 : Tổng thể tích dung dịch enzyme

V_2 : Số ml dung dịch enzyme lấy phân tích

1,7: Số mg H_2O_2 tương ứng với 1 ml KMnO_4 0,1N

$$\frac{x}{30 \cdot 0,034} \quad (6)$$

a : Số gam mẫu nghiên cứu

Số đơn vị catalase trong mẫu:

30: thời gian enzyme tác dụng (phút)

0,034: 1 micromol đương lượng $\text{H}_2\text{O}_2 = 0,034$ mg

2.2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm thống kê Statistix 8.0.

Ghi chú: Trong cùng một cột số liệu, các giá trị mang chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của melatonin ngoại sinh đến hàm lượng đường khử và hàm lượng proline của ngô non trong điều kiện hạn

Đường khử và proline là các chất bảo vệ có hoạt tính thẩm thấu quan trọng giúp cây trồng điều chỉnh áp suất thẩm thấu dịch bào trong điều kiện stress hạn. Trong điều kiện thiếu nước, các chất hòa tan sẽ dần được tích lũy trong tế bào nhằm tăng khả năng giữ nước [14]. Do vậy, việc xác định hàm lượng đường khử và proline là cần thiết khi đánh giá khả năng chịu hạn của cây trồng.

Có thể thấy hàm lượng đường khử của lá ngô HN68 trong điều kiện hạn (CT1) tăng nhiều so với tưới nước đầy đủ (CT5), tăng 27,74% sau 3 ngày; 51,39% sau 5 ngày và tăng 55,06% sau 7 ngày gây hạn. Việc xử lý melatonin ở nồng độ thích hợp đã làm tăng hàm lượng đường khử của lá ngô so với hạn không xử lý melatonin. Trong nghiên cứu này, CT4 xử lý melatonin 150 μM có hàm lượng đường khử tăng cao nhất, tăng lần lượt là 22,28%, 31,19% và 20,41% sau 3 ngày, 5 ngày và 7 ngày gây hạn; hàm lượng đường khử ở CT2 và CT3 không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê so với CT1 (bảng 1).

Bảng 1. Hàm lượng đường khử và hàm lượng proline trong lá ngô non ở các công thức nghiên cứu

CTTN	Hàm lượng đường khử (%)			Hàm lượng proline ($\mu\text{mol/g}$ khối lượng tươi)		
	Sau 3 ngày	Sau 5 ngày	Sau 7 ngày	Sau 3 ngày	Sau 5 ngày	Sau 7 ngày
CT1	1,75 ^{bc} \pm 0,02	2,18 ^b \pm 0,03	2,45 ^b \pm 0,03	0,37 ^{cd} \pm 0,02	1,30 ^d \pm 0,13	2,95 ^d \pm 0,22
CT2	1,73 ^c \pm 0,03	2,09 ^c \pm 0,04	2,39 ^c \pm 0,02	0,52 ^c \pm 0,06	1,65 ^c \pm 0,11	5,60 ^c \pm 0,04
CT3	1,80 ^b \pm 0,04	2,15 ^{bc} \pm 0,05	2,50 ^b \pm 0,03	1,62 ^b \pm 0,12	2,12 ^b \pm 0,13	7,11 ^b \pm 0,07
CT4	2,15 ^a \pm 0,05	2,86 ^a \pm 0,02	2,95 ^a \pm 0,01	2,52 ^a \pm 0,16	2,62 ^a \pm 0,06	12,67 ^a \pm 0,10
CT5	1,37 ^d \pm 0,02	1,44 ^d \pm 0,05	1,58 ^d \pm 0,04	0,32 ^d \pm 0,03	0,40 ^e \pm 0,04	0,56 ^e \pm 0,03
CV%	1,85	1,77	1,11	1,76	1,06	1,93
LSD _{0,05}	0,06	0,07	0,05	0,17	0,18	0,2

Trong điều kiện hạn, đường có vai trò duy trì sức trương và bảo vệ màng tế bào bằng cách tương tác với các phức hợp protein, enzyme, loại bỏ ROS và là cơ chất hỗ trợ cho quá trình trao đổi chất cơ bản trong điều kiện stress [6], [14], [15]. Kết quả của sự biến động hàm lượng đường khử trong lá ngô non là cơ sở để đánh giá mức độ phản ứng của ngô trong điều kiện hạn ở các công thức nghiên cứu. Hàm lượng đường khử tăng cao khi ngô gặp hạn là phản ứng thích nghi giúp cây chịu hạn tốt hơn. Việc xử lý melatonin 150 μM có hiệu quả tích cực, tăng hàm lượng đường khử, làm tăng áp suất thẩm thấu nội bào, giúp cây hút được nước từ môi trường. Việc xử lý melatonin trên ngô làm tăng các chất có hoạt tính thẩm thấu, trong đó có đường tan và proline, giúp tế bào duy trì sức trương cao hơn, góp phần giữ cho khí khổng mở và tốc độ quang hợp cao [16].

Proline là một axit amin ưa nước, đóng vai trò như một chất điều hòa thẩm thấu, chống oxy hóa và là một phân tử tín hiệu, được tích lũy nhiều ở mô lá, mô phân sinh chóp rễ và ở hạt phân khi thực vật bị mất nước [5], [17]. Kết quả nghiên cứu ở bảng 1 cho thấy, ngô non gặp hạn có hàm lượng proline trong lá luôn tăng cao so với tưới nước đầy đủ, thời gian gây hạn càng lâu thì hàm lượng proline càng cao, đạt 2,95 $\mu\text{mol/g}$, tăng 5,37 lần sau 7 ngày hạn. Trong điều kiện hạn, ngô có xử lý melatonin có hàm lượng proline tăng lên rất nhiều lần so với hạn không xử lý melatonin. Trong đó, CT4 có hàm lượng proline tăng vượt bậc (tăng 4,29 lần), tiếp đến là CT3 (tăng 2,41 lần) và thấp nhất là CT2 (tăng 1,9 lần) sau 7 ngày hạn. Điều này chứng tỏ melatonin có vai trò quan trọng trong cơ chế điều hòa sinh tổng hợp proline. Nghiên cứu trên giống ngô Wanchuan-1306 cũng cho kết quả tương tự, trong điều kiện hạn, xử lý melatonin làm tăng hàm lượng đường hòa tan và hàm lượng proline của ngô giai đoạn 5-6 lá lần lượt là 43,55% và 50,55% [1]. Hàm lượng proline của cà chua có xử lý melatonin cũng tăng cao khi gặp stress mặn muối. Sự gia tăng hàm lượng proline là do sự tăng hoạt tính của enzyme chìa khóa P5CS xúc tác quá trình sinh tổng hợp proline [17].

3.2. Ảnh hưởng của melatonin đến hoạt độ enzyme α -amylase của lá ngô non trong quá trình gây hạn

Amylase là enzyme phân giải tinh bột thành đường. Hàm lượng đường tăng dẫn đến tăng áp suất thẩm thấu của tế bào nên tăng khả năng hút nước trong môi trường hạn. Điều này có ý nghĩa quan trọng, thúc đẩy quá trình sinh trưởng, phát triển của cây non trong điều kiện thiếu nước.

Bảng 2. Hoạt độ enzyme α -amylase trong lá ngô non ở các công thức nghiên cứu

CTTN	Hoạt độ enzyme α -amylase (ĐVHD)		
	Sau 3 ngày	Sau 5 ngày	Sau 7 ngày
CT1	45,55 ^d ± 0,70	54,86 ^b ± 0,40	64,32 ^b ± 0,65
CT2	49,59 ^c ± 0,19	53,97 ^{bc} ± 0,27	64,25 ^b ± 0,13
CT3	51,05 ^b ± 0,34	53,26 ^c ± 0,15	64,97 ^b ± 0,22
CT4	54,64 ^a ± 0,85	61,42 ^a ± 0,96	70,28 ^a ± 0,33
CT5	42,86 ^e ± 0,19	42,71 ^d ± 0,55	52,26 ^c ± 0,88
CV%	1,08	0,99	0,83
LSD _{0,05}	0,96	0,96	0,95

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, hoạt độ enzyme α -amylase của lá ngô ở công thức gây hạn cao hơn so với tưới nước đầy đủ, đạt 64,32 ĐVHD, tăng 23,08% sau 7 ngày gây hạn. Trong điều kiện hạn, ngô có xử lý melatonin 150 μ M có hoạt độ enzyme α -amylase tăng nhiều so với hạn đối chứng, tăng 19,96% sau 3 ngày, 11,96% sau 5 ngày và tăng 9,27% sau 7 ngày hạn. CT2 và CT3 không có sự sai khác có ý nghĩa ở mức 5% so với CT1. Điều này chứng tỏ việc xử lý melatonin ngoại sinh 150 μ M là thích hợp cho ngô nếp lai HN68 trong điều kiện thiếu nước. Nghiên cứu xử lý melatonin ở 2 giống lúa Khitish và Muktaashri giai đoạn cây non trong điều kiện nhiễm Asen cho thấy hoạt tính của enzyme amylase tăng lần lượt là 33% và 23% so với đối chứng. Tương tự, sự biểu hiện của gen mã hóa amylase tăng 1,3 lần ở Khitish và 1,1 lần ở Muktaashri khi bổ sung melatonin trong điều kiện stress Asen [15].

3.3. Ảnh hưởng của melatonin đến hoạt độ enzyme catalase của lá ngô non trong điều kiện hạn

Enzyme catalase xúc tác phản ứng phân giải H₂O₂, giải độc cho cây, là một trong những chỉ thị quan trọng về khả năng chống oxy hóa của cây trồng [18]. Vì vậy, việc xác định hoạt độ enzyme catalase của lá ngô non dưới tác động của hạn là rất cần thiết để đánh giá khả năng chịu hạn của ngô ở các công thức thí nghiệm.

Bảng 3. Hoạt độ enzyme catalase trong lá ngô non ở các công thức nghiên cứu

CTTN	Hoạt độ enzyme catalase (ĐVHD)		
	Sau 3 ngày	Sau 5 ngày	Sau 7 ngày
CT1	8,95 ^c ± 0,05	6,89 ^c ± 0,13	5,67 ^c ± 0,25
CT2	8,0 ^d ± 0,08	6,83 ^{cd} ± 0,08	5,75 ^c ± 0,08
CT3	7,83 ^e ± 0,10	6,71 ^c ± 0,17	5,59 ^d ± 0,17
CT4	10,56 ^a ± 0,13	10,03 ^a ± 0,13	8,94 ^a ± 0,21
CT5	9,25 ^b ± 0,17	9,22 ^b ± 0,21	8,47 ^b ± 0,13
CV%	1,26	1,91	2,59
LSD	0,2	0,27	0,32

Kết quả phân tích ở bảng 3 cho thấy, hạn làm giảm hoạt độ enzyme catalase so với công thức tưới nước đầy đủ, giảm lần lượt là 3,24%, 25,27% và 33,06% sau 3 ngày, 5 ngày và 7 ngày hạn. Trong điều kiện hạn có xử lý melatonin 150 μ M, hoạt độ enzyme catalase tăng mạnh so với đối chứng; tăng lần lượt là 17,99%, 45,57% và 57,67% sau 3 ngày, 5 ngày và 7 ngày hạn.

Một số nghiên cứu gần đây cho thấy, ngô có xử lý melatonin đã làm tăng hoạt tính của các enzyme chống oxy hóa trong đó có catalase [1], [19]. Báo cáo đầu tiên về tác động của melatonin đến các enzyme chống oxy hóa trong rễ cây cải dầu cũng cho thấy chỉ có enzyme catalase có hoạt tính tăng lên so với đối chứng [20].

3.4. Ảnh hưởng của melatonin đến khả năng phản ứng của cây ngô non đối với hạn

3.4.1. Tỷ lệ thiệt hại của cây ngô non trong môi trường hạn có xử lý melatonin

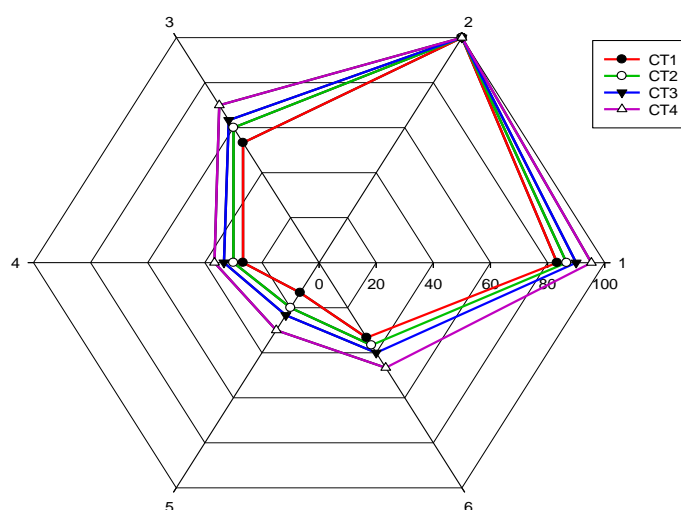
Tỷ lệ thiệt hại của ngô non ở các công thức tăng lên đáng kể sau 5 ngày và 7 ngày hạn. Tuy nhiên, ngô có xử lý melatonin khi gặp hạn có tỷ lệ thiệt hại ít hơn so với hạn không xử lý melatonin, trong đó CT4 xử lý melatonin 150 μM có tỷ lệ thiệt hại thấp nhất, chiếm 30,55% sau 7 ngày hạn (hạn không xử lý melatonin là 52,22%) (bảng 4).

Bảng 4. Tỷ lệ thiệt hại của ngô non ở các công thức nghiên cứu

CTTN	Tỷ lệ thiệt hại (%)		
	Hạn 3 ngày	Hạn 5 ngày	Hạn 7 ngày
CT1	7,78 ^a ± 1,92	26,67 ^a ± 1,67	52,22 ^a ± 1,92
CT2	6,67 ^{ab} ± 1,67	23,11 ^b ± 1,34	46,11 ^b ± 0,77
CT3	5,56 ^{ab} ± 1,93	22,44 ^b ± 0,84	45,33 ^b ± 0,88
CT4	3,89 ^b ± 0,96	12,22 ^c ± 1,92	30,55 ^c ± 2,54
CV%	4,91	4,09	3,9
LSD _{0,05}	3,14	2,82	3,2

3.4.2. Chỉ số chịu hạn tương đối

Kết quả thực nghiệm cho thấy việc xử lý melatonin có tác động tích cực đến tỷ lệ cây không héo và tỷ lệ cây phục hồi (hình 1), trong đó CT4 có chỉ số chịu hạn tương đối cao nhất ($S_n = 9106,054$), tiếp đến lần lượt là CT3 ($S_n = 8044,958$), CT2 ($S_n = 7417,051$) và thấp nhất là CT1 đối chứng ($S_n = 6599,251$), chứng tỏ việc xử lý melatonin 150 μM là hiệu quả cho cây ngô nếp lai HN68. Khả năng chịu hạn của ngô ở mỗi công thức còn được xác định bằng đồ thị hình radar (hình 1), đó chính là tổng diện tích của các tam giác hợp thành hình đa giác 6 cạnh liên quan đến 6 chỉ số nghiên cứu của mỗi công thức. Diện tích radar càng lớn thì khả năng chịu hạn của ngô ở công thức đó càng cao. Ngô xử lý melatonin 150 μM có khả năng chịu hạn tốt nhất (diện tích hình radar lớn nhất). Kết quả này phù hợp với kết quả đánh giá khả năng chịu hạn của ngô qua các chỉ tiêu hóa sinh.



Hình 1. Đồ thị hình radar thể hiện khả năng chịu hạn của ngô non 3 lá ở 4 công thức nghiên cứu

- 1, 3, 5: Tỷ lệ % cây không héo sau 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày gây hạn
2, 4, 6: Tỷ lệ % cây phục hồi sau 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày tưới nước

4. Kết luận

Việc xử lý melatonin ngoại sinh đã cải thiện khả năng chống chịu hạn của ngô non bằng cách tăng cường tổng hợp một số chất có hoạt tính thẩm thấu và chống oxy hóa, trong đó công thức 4 xử lý melatonin 150 μM là hiệu quả cho ngô nếp lai HN68.

Ngô được xử lý melatonin 150 μM có hàm lượng đường khử và proline tăng qua các ngày hạn; hàm lượng đường khử tăng 20,41% và hàm lượng proline tăng 4,29 lần sau 7 ngày gây hạn.

Trong điều kiện thiếu nước, ngô có xử lý melatonin 150 μM có hoạt độ α -amylase đạt 70,28 đơn vị hoạt độ, tăng 9,27% so với đối chứng; hoạt độ catalase đạt 8,94 đơn vị hoạt độ, tăng 57,67% sau 7 ngày hạn so với đối chứng.

Ở giai đoạn cây non 3 lá, ngô được xử lý melatonin có khả năng chịu hạn cao hơn so với đối chứng, đạt hiệu quả cao là CT4 xử lý melatonin 150 μM (chỉ số chịu hạn $S_n = 9106,054$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] S. Ahmad, I. Muhammad, G. Y. Wang, L. Yang, I. Ali, and X. B. Zhou, "Ameliorative effect of melatonin improves drought tolerance by regulating growth, photosynthetic traits and leaf ultrastructure of maize seedlings," *BMC Plant Biology*, vol. 21, no. 368, pp. 1-14, 2021.
- [2] J. Ren, X. Yang, C. Ma, Y. Wang, and J. Zhao, "Melatonin enhances drought stress tolerance in maize through coordinated regulation of carbon and nitrogen assimilation," *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 167, pp. 958-969, 2021.
- [3] C. Zhao, G. Nawaz, Q. Cao, and T. Xu, "Melatonin is a potential target for improving horticultural crop resistance to abiotic stress," *Scientia Horticulturae*, vol. 291, pp. 1-9, 2021.
- [4] J. N. Zou, X. J. Jin, Y. X. Zhang, C. Y. Ren, M. C. Zhang, and M. X. Wang, "Effects of melatonin on photosynthesis and soybean seed growth during grain filling under drought stress," *Photosynthetica* vol. 57, no. 2, pp. 512-520, 2019.
- [5] G. Cui, X. Zhao, S. Liu, F. Su, C. Zhang, and Y. Xi, "Beneficial effects of melatonin in overcoming drought stress in wheat seedlings," *Plant Physiology Biochemistry*, vol. 118, pp. 138-149, 2017.
- [6] S. Ahmad, W. Cui, M. Kamran, I. Ahmad, X. Meng, X. Wu, W. Su, T. Javed, H. A. El-Serehy, and Z. Jia, "Exogenous application of melatonin induces tolerance to salt stress by improving the photosynthetic efficiency and antioxidant defense system of maize seedling," *Journal of Plant Growth Regulation*, vol. 40, pp. 1270-1283, 2020.
- [7] T. M. H. Phan and P. Nguyen, "Evaluation of agrbiological characteristics of 6 waxy corn inbred lines and superiority of hybrid combinations," *Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology*, vol. 6, no. 115, pp. 3-9, 2020.
- [8] T. L. Duong, T. T. H. Tran, T. B. H. Vu, and V. L. Vu, "Evaluation of drought tolerance of waxy maize inbred lines and their hybrids," *Journal of Science and Development*, vol. 12, no. 8, pp. 1202-1212, 2014.
- [9] Vinaseed, "Instructions for planting F1 HN68 hybrid maize", 2018. [Online]. Available: <https://www.vinaseed.com.vn/vi/news/m35/instructions-for-planting-f1-hn68-hybrid-maize-699.htm>. [Accessed Dec. 9, 2021].
- [10] T. B. Le and T. M. Le, *Isolation of genes and selection of resistant variety to adverse environmental conditions in rice*. Vietnam National University Press (In Vietnamese), Ha Noi, 1998.
- [11] T. T. C. Pham, T. H. Nguyen, and G. T. Phung, *Practices in Biochemistry*. Vietnam Education Publishing House (in Vietnamese), 1997.
- [12] L. S. Bates, "Rapid determination of free protein for water- stress studies," *Plant and Soil*, vol. 39, pp. 205-207, 1973.
- [13] V. M. Nguyen, *Practices in Biochemistry*. Vietnam National University Press (In Vietnamese), HaNoi, 2007.
- [14] B. Nohong and S. Nompo, "Effect of water stress on growth, yield, proline and soluble sugars nontents of Signal grass and Napier grass species," *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, vol. 9, pp. 14-21, 2015.
- [15] S. Samanta, A. Singh, A. Banerjee, and A. Roychoudhury, "Exogenous supplementation of melatonin alters representative organic acids and enzymes of respiratory cycle as well as sugar metabolism

- during arsenic stress in two contrasting indica rice cultivars,” *Journal of Biotechnology*, vol. 324, pp. 220-232, 2020.
- [16] B. Huang, Y. E. Chen, Y. Q. Zhao, C. B. Ding, J. Q. Liao, C. Hu, L. J. Zhou, Z. W. Zhang, S. Yuan, and M. Yuan, “Exogenous melatonin alleviates oxidative damage and protect photosystem II in maize seedlings under drought stress,” *Frontier in Plant science*, vol. 10, no. 577, pp. 1-16, 2019.
- [17] M. H. Siddiqui, S. Alamri, M. Y. A. Khaishany, M. N. Khan, A. A. Amri, H. M. Ali, I. A. Alaraidh, and A. A. Alsahli, “Exogenous melatonin counteracts NaCl-induced damage by regulating the antioxidant system, proline and carbohydrates metabolism in tomato seedlings,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 353, pp. 1-23, 2019.
- [18] L. K. Gudeva, V. B. Gjoroska, F. Trajkova, and L. Mihajlov, “Activity of enzyme catalase in Alfafa (*Medicago sativa* L.) as an indicator for abiotic stress,” *Journal of Agriculture and Plant Sciences*, vol. 17, no. 2, pp. 45-52, 2019.
- [19] C. Zhao, M. Yang, X. Wu, Y. Wang, and R. Zhang, “Physiological and transcriptomic analyses of the effects of exogenous melatonin on drought tolerance in maize (*Zea mays* L.),” *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 168, pp. 128-142, 2021.
- [20] L. Dai, J. Li, H. Harmens, X. Zheng, and C. Zhang, “Melatonin enhances drought resistance by regulating leaf stomatal behaviour, root growth and catalase activity in two contrasting rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes,” *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 149, pp. 86-95, 2020.