

# ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ PH VÀ DINH DƯỠNG NITƠ LÊN KHẢ NĂNG QUANG HỢP VÀ CỐ ĐỊNH NITƠ CỦA HAI GIỐNG BÈO HOA DẦU AZOLLA PINNATA XANH VÀ AZOLLA FILICULOIDES LAM

VŨ VĂN VU, WONG FONG SANG  
H. W., KIJNE J., PLANQUE K., KRAAYENHOF R.

Bèo hoa dầu là một hệ cộng sinh giữa dương xỉ và vi khuẩn lam *Cyanobacteria* — *Anabaena azollae*. Cả hai cơ thể chủ và cộng sinh đều có khả năng biến đổi năng lượng ánh sáng mặt trời nhờ quá trình quang hợp thành dạng năng lượng hóa học tự do trong các sản phẩm hữu cơ và riêng vi khuẩn lam lại còn có khả năng cung cấp cho hệ cộng sinh toàn bộ nguồn nitơ bằng quá trình đồng hóa nitơ khí quyển [1].

Trong nông nghiệp, bèo hoa dầu đã được phát hiện rất sớm ở Đông Nam Á, Thái Lan và Việt Nam, bèo hoa dầu *A. Pinnata* đã được sử dụng như nguồn phân xanh cho ruộng lúa nước [2]. Nhiều thông báo cho rằng năng suất lúa tăng từ 14 — 40% khi nuôi bèo hoa dầu ở ruộng lúa [3].

Vì vậy bèo hoa dầu là một đối tượng nghiên cứu quan trọng đối với các nước trồng lúa.

Đã có nhiều công trình nghiên cứu về bèo hoa dầu thuộc lĩnh vực sinh lý quang hợp, sắc tố, tách tảo và lục lạp [4], hoạt tính của nitrogenase [5], sự phân bố các enzym đồng hóa nitơ dạng amon, protein, chất diệt lục giữa chủ và thể cộng sinh [6], đặc điểm quang hợp của thể cộng sinh và của các thành phần cộng sinh [7], phycobiliprotein [8], sinh trưởng và khả năng cố định nitơ [9], sự thích nghi sinh thái và sinh lý của vi khuẩn lam trong hệ cộng sinh [10], hoạt động quang hợp của bèo hoa dầu *A. pinnata* ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau [11]...

Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu về một vài đặc trưng sinh lý của hai giống bèo hoa dầu *A. pinnata* Xanh (giống bèo chịu nóng) và *A. filiculoides* Lam (giống bèo chịu lạnh) trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Trong bèo hoa dầu có một mối liên quan rất chặt chẽ giữa quá trình quang hợp, cố định nitơ và sinh trưởng. Do đó các tác giả bài báo này đã sử dụng khả năng quang hợp và cố định nitơ như hai chỉ tiêu chính để đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ, độ pH môi trường và dinh dưỡng nitơ lên quá trình sinh trưởng của bèo hoa dầu.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

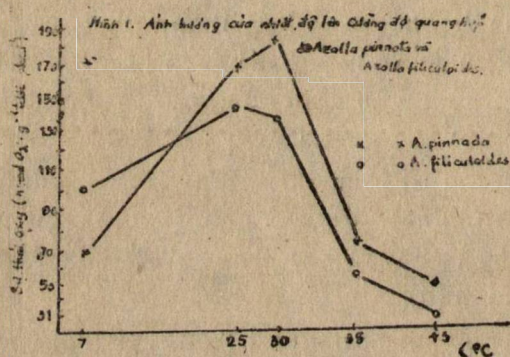


1. Nuôi bèo hoa dâu: Bèo *A. pinnata* Xanh và bèo *A. filiculoides* Lam đã được nuôi trong phòng nuôi bèo có chiếu sáng với cường độ  $6,5W.m^2$  với chu kỳ 15 giờ sáng, 9 giờ tối và nhiệt độ  $25^{\circ}C$  ban ngày và  $18^{\circ}C$  ban đêm, ẩm độ không khí trong phòng nuôi 67 — 95%.

2. Dung dịch nuôi bèo: Dung dịch Richter 10% cùng với dung dịch vi lượng Hoagland và Fe — chelat. Dung dịch Richter đầy đủ được ký hiệu là R, dung dịch Richter không có nitơ là R — N.

3. Phương pháp xác định cường độ quang hợp: Cường độ quang hợp được xác định bằng cường độ thải oxy của cả cây bèo trong phòng phản ứng của máy cực phổ với điện cực oxy Clark [12]

4. Phương pháp xác định khả năng cố định nitơ: khả năng cố định nitơ được xác định bằng khả năng khử axetylen thành êtylen trong quá trình cố định nitơ của bèo bằng máy sắc ký khí HP 5730A.



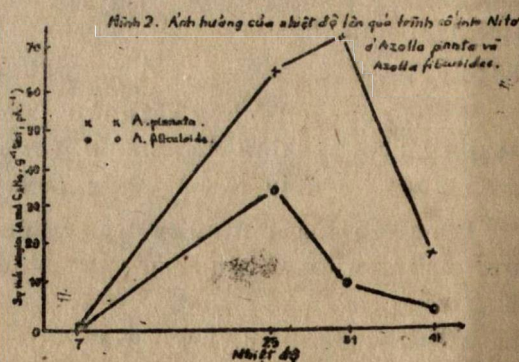
### Kết quả nghiên cứu

1. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên khả năng quang hợp và cố định nitơ của bèo *A. pinnata* và *A. filiculoides*.

Hai giống bèo hoa dâu lấy từ phòng nuôi bèo ra nuôi ở phòng điều hòa nhiệt độ trong điều kiện 7, 25, 30,  $0^{\circ}C$  trong 4 giờ, sau đó đem đo cường độ thải  $O_2$  và khả năng khử axetylen. Các kết quả được dẫn ra ở hình 1 và hình 2. Hình 1 cho thấy: Ở

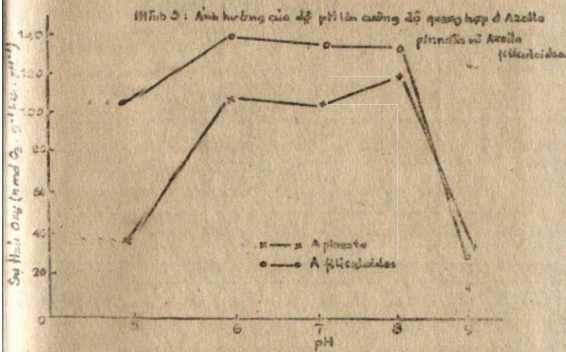
nhiệt độ thấp ( $7^{\circ}C$ ) cả hai giống bèo đều có cường độ thải  $O_2$  tuy nhiên cường độ của bèo *A. filiculoides* cao hơn khi so sánh với bèo *A. pinnata*. Cường độ thải  $O_2$  của *A. filiculoides* cao nhất ở  $25^{\circ}C$ , trong khi đó của *A. pinnata* cao nhất ở  $30^{\circ}C$ . Ở nhiệt độ cao ( $43^{\circ}C$ ) cường độ thải  $O_2$  của cả hai giống bèo đều rất thấp, đặc biệt là ở bèo *A. filiculoides*, thấp hơn nhiều so với bèo *A. pinnata*.

Ảnh hưởng của nhiệt độ khác nhau lên khả năng cố định nitơ của hai giống bèo được minh họa ở hình 2. Nhiệt độ thấp ( $7^{\circ}C$ ) kìm hãm hoàn toàn khả năng cố định nitơ của cả hai giống bèo. Khả năng cố định nitơ cao nhất ở  $25^{\circ}C$  đối với bèo *A. filiculoides* và ở  $31^{\circ}C$  đối với bèo *A. pinnata*. Ở nhiệt độ cao ( $43^{\circ}C$ ) khả năng cố định nitơ của cả hai giống bèo đều rất thấp, đặc biệt là bèo *A. filiculoides*.





2. Ảnh hưởng của độ pH lên khả năng quang hợp và cố định nitơ của bèo *pinnata* và *A. filiculoides*.

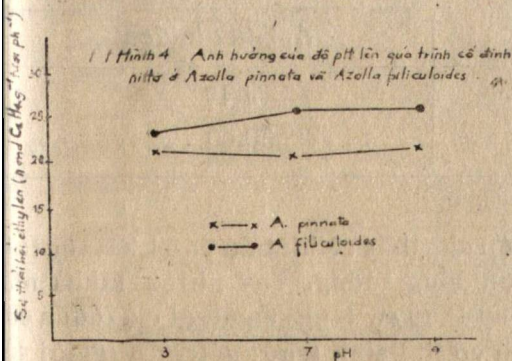


Bèo được nuôi trong phòng điều hòa nhiệt độ với dung dịch Richter không có nitơ (R - N) và ở các pH khác nhau. Sau 3 ngày nuôi, bèo được dùng làm đối tượng đo khả năng quang hợp và cố định nitơ. Các kết quả nghiên cứu được dẫn ra ở hình 3 và hình 4. Hình 3 cho thấy: Ở pH 5 và pH 9 khả năng quang hợp của cả hai giống bèo đều thấp, nhưng từ pH 6 đến pH 8 khả năng quang hợp của cả hai giống bèo hầu như không thay đổi. Hình 4 cho thấy

không có ảnh hưởng của các độ pH khác nhau lên khả năng cố định nitơ của hai giống bèo hoa dâu *A. pinnata* và *A. filiculoides*. Khả năng cố định nitơ của cả hai giống bèo không thay đổi ở pH từ 5 đến 9.

Bảng 1. Ảnh hưởng của độ pH môi trường lên tốc độ sinh trưởng của *Azolla filiculoides*.

pH	Tốc độ sinh trưởng (mg tươi . g <sup>-1</sup> tươi . ngày <sup>-1</sup> )
5.5	129.80
6.6	152.00
7.7	156.30
8.8	148.80
9.9	113.50



Ảnh hưởng của pH môi trường lên tốc độ sinh trưởng của bèo *A. filiculoides* cũng được xác định (bảng 1). Tốc độ sinh trưởng của bèo *A. filiculoides* không thay đổi nhiều ở các pH từ 5 đến 9. Như vậy rõ ràng là không có ảnh hưởng của độ pH môi trường trong giới hạn từ 5 đến 9 đến khả năng quang hợp, khả năng cố định nitơ và tốc độ sinh trưởng của bèo hoa dâu. Để tìm hiểu kỹ hơn vấn đề này, chúng tôi đã tiến hành những thí nghiệm

hác. Đó là những thí nghiệm về khả năng điều chỉnh pH môi trường của giống bèo *A. filiculoides*. Các kết quả nghiên cứu (bảng 2) chỉ rằng: Bèo hoa dâu có thể điều chỉnh pH môi trường pH 5, pH 6 lên pH 7 và từ pH 8, pH 9 xuống pH 7 sau một vài ngày sinh trưởng trong môi trường dinh dưỡng.



Bảng 2 Các thí nghiệm về sự điều chỉnh pH môi trường bởi *A. filiculoides* (2g tươi trong 100ml môi trường nuôi)

pH bắt đầu nuôi	pH sau 3 ngày	pH sau 6 ngày
5	5,62	6,58
6	6,23	6,94
7	6,97	7,01
8	7,74	7,12
9	8,03	7,14

3. Ảnh hưởng của dinh dưỡng nitơ lên khả năng quang hợp và cố định nitơ của bèo *A. pinnata* và *A. filiculoides*

Các số liệu của những thí nghiệm này trong bảng 3 và bảng 4 cho thấy Sau 5 ngày sinh trưởng trong dung dịch đầy đủ nitơ (R), cả hai giống bèo đều có khả năng quang hợp và cố định nitơ thấp hơn rất nhiều khi so sánh với bèo sinh trưởng trong môi trường không có nitơ.

Bảng 3 Ảnh hưởng của dinh dưỡng nitơ lên khả năng thải  $O_2$  của bèo *A. pinnata* và *A. filiculoides*

Dung dịch dinh dưỡng	Khả năng thải $O_2$ ( $nmol O_2 \cdot g^{-1}$ tươi $\cdot$ phút $^{-1}$ )	
	<i>A. pinnata</i>	<i>A. filiculoides</i>
R	22,72	57,53
R-N	66,96	147,79

Bảng 4 Ảnh hưởng của dinh dưỡng nitơ lên khả năng cố định nitơ của Bèo *A. pinnata* và *A. filiculoides*

Dung dịch dinh dưỡng	Khả năng thải $C_2H_4$ ( $nmol C_2H_4 \cdot g^{-1}$ tươi $\cdot$ phút $^{-1}$ )	
	<i>A. pinnata</i>	<i>A. filiculoides</i>
R	22,00	4,17
R-N	40,83	30,00

#### Thảo luận

Kinh nghiệm thực tiễn trong nông nghiệp cho thấy: Nhiệt độ cao không thích hợp với sự sinh trưởng của bèo hoa dâu trên đồng ruộng. Tuy nhiên khả năng cố định nitơ, theo một số tác giả, có thể tăng theo sự tăng của nhiệt độ đến  $40^\circ C$  [10]. Peters et al [13] cho biết: Bèo hoa dâu có thể sinh trưởng trong giới hạn nhiệt độ từ  $5^\circ C$  đến  $45^\circ C$  và nhiệt độ tối thích ở  $27^\circ C$ . Các tác giả khác cũng cho thấy: Nhiệt độ tối thích của bèo hoa dâu đối với sự sinh trưởng trong giới hạn từ  $18^\circ C$  đến  $28^\circ C$  [14]. trong các thí nghiệm của chúng tôi với *A. pinnata* và *A. filiculoides*, thấy: Nhiệt độ tối thích đối với khả năng quang hợp và cố định nitơ của bèo *A. pinnata* là  $30 - 31^\circ C$  và của bèo *A. filiculoides* là  $25^\circ C$ . Ở nhiệt độ



áp ( $7^{\circ}\text{C}$ ) quá trình cố định nitơ bị kim hãm hoàn toàn, trong khi đó khả năng  
hấp  $\text{O}_2$  vẫn còn, mặc dù với cường độ rất thấp ở cả hai giống bèo.

Khi so sánh khả năng quang hợp, khả năng cố định nitơ, tốc độ sinh trưởng  
của hai giống bèo *A. pinnata* và *A. filiculoides* ở nhiệt độ thấp, tối thích và cao  
thì thấy *A. filiculoides* thích ứng tốt hơn với nhiệt độ thấp, trong khi đó  
*A. pinnata* thích ứng tốt hơn với nhiệt độ cao. Trần Quang Thuyết và Đào Thế  
ấn (144) cho biết: Giống bèo *A. pinnata* Xanh có khả năng chống chịu tốt với  
nhiệt độ cao. Becking (10) cũng chỉ rằng: Nhiệt độ  $27^{\circ}\text{C}$  là thích hợp đối với sự  
sinh trưởng của bèo *A. pinnata*.

pH tối thích đối với sự sinh trưởng của bèo hoa dâu trong khoảng từ 4.5 - 7.5  
Peters et al (13) chỉ rằng: Hệ cộng sinh bèo hoa dâu có khả năng sinh trưởng ở  
pH từ 4 đến 10. Toja et al (15) cho biết: Sự sinh trưởng và quá trình cố định  
nitơ tốt nhất ở bèo hoa dâu trong khoảng từ 6 đến 8 với dung dịch dinh dưỡng  
NRI và ở nhiệt độ  $25 - 30^{\circ}\text{C}$ . Holst và Yopp (16) cũng cho biết: pH tối thích  
đối với vi khuẩn lam cộng sinh cho sự khử nitrat là 4.5, cho sự cố định nitơ là  
4 và cho cả hai quá trình là từ 4 đến 8. Thí nghiệm của chúng tôi cho thấy rằng  
pH tối thích đối với khả năng quang hợp ở bèo hoa dâu từ 6 đến 8, đối với  
khả năng cố định nitơ từ 5 đến 9 và đối với tốc độ sinh trưởng cũng từ 5-9 ở  
hai giống *A. pinnata* và *A. filiculoides*. Những kết quả dẫn ra ở bảng 2 cho thấy  
sau một vài ngày sinh trưởng trong môi trường dinh dưỡng, bèo hoa dâu có khả  
năng điều chỉnh pH của môi trường từ pH 5 lên pH 7 và từ pH 9 xuống pH 7.  
Độ giới hạn rộng của pH (từ 4 - 10) đối với sự sinh trưởng tốt của bèo hoa dâu  
điều đó có thể hiểu được.

Những thí nghiệm về ảnh hưởng của dung dịch dinh dưỡng lên khả năng  
quang hợp và cố định nitơ của bèo hoa dâu cho thấy: Việc loại trừ nitơ ra  
bởi dung dịch dinh dưỡng đã kích thích khả năng quang hợp và cố định nitơ  
của cả hai giống bèo *A. pinnata* và *A. filiculoides* khi so sánh với bèo nuôi trong  
dung dịch có chứa nitơ dạng  $\text{NO}_3^-$ . Peters và Mayne (4) cho biết: Nuôi bèo 85  
ngày với nguồn nitrat hoặc urê thì quá trình khử axetylen giảm 30% khi so sánh  
với bèo đối chứng. Nuôi bèo trong nguồn  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  đã làm giảm trọng lượng  
sấy khô 30% và hàm lượng nitơ tổng số 42% khi so sánh với bèo đối chứng, nhưng  
không thấy bèo *A. filiculoides* trong dung dịch dinh dưỡng nitrat lại thấy không  
có sự thay đổi tốc độ sinh trưởng khi so với môi trường dinh dưỡng thiếu nitrat  
(7). Peblters et al (18) còn chỉ rằng: Bèo *A. caroliniana* không có phản ứng gì về  
sinh trưởng đối với các nguồn nitơ như  $\text{N}_2$ ,  $\text{N}_2 + \text{urê}$ , + nitrat hoặc urê, ni-  
trat đơn độc.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Pettters, G.A.: The Azolla - Anabaena Azollae symbiosis. In A Hollaender  
ed., Genetic Engineering for Nitrogen Fixation Plenum Publishing Corp.  
New York: 231 - 258, 1979.
- Moore, A.W.: Azolla: biology and agronomic significance Bol. Rev. 35  
17 - 34, 1969.
- Talbot, S.N. and Rains, D.W.: Azolla filiculoides lam. as a fallow - season  
green manure for rice in temperate climate. Agronomy Journal 72: 11-18, 1980.



4. Petegz, G.A. and Mayne, B.C.: The Azolla-Anabaena azollae Relationship. I. Characterization of the association. *Plant Physiol.* 53: 813 — 819, 1974.
5. Peters, G.A. and Mayne, B.C.: The Azolla, Anabaena azollae Relationship. II. Localization of nitrogenase activity as assayed by acetylene reduction. *Plant Physiol.* 53: 820 — 824, 1974.
6. Ray, T.B., Peters, G.A., Mayne, C.C., Toja, R.E.Jr.: Azolla — Anabaena azollae Relationship. VII. Distribution of ammonia — assimilating enzymes, protein and chlorophyll between host and symbionte. *Plant Physiol.* 62: 463 — 467, 1978.
7. Ray, T.B., Mayne, B.C., Toja, R.E.Jr. and Peters, G.A.: Azolla — Anabaena azollae Relationship. VIII. Photosynthetic characterization of the association and individual partners. *Plant Physiol.* 64: 791 — 795; 1979.
8. Tyagi, V.V.S., Mayne, B.C. and Peters, G.A.: Purification and initial characterization of phycobiliproteins from the endophytic cyanobacterium of Azolla. *Arch. Microbiol.* 128: 41 — 44, 1980.
9. Tung, H.F. and Shea, T.C.: Studies of the Azolla pinnata — Anabaena azollae symbiosis: Growth and Nitrogen fixation. *New Phytol.* 87: 743 — 749, 1981.
10. Beching, J.H.: Environmental requirements of Azolla for use in tropical rice production. Symposium on nitrogen and rice. 18 — 21. September, 1978. IRRI Los Banos Laguna, Philippines, 1979.
11. Tinh, N.H. and Daniel, A.F.: Photosynthetic Activity and C — labelling Pattern in Azolla pinnata at various temperatures. *Photosynthetica* 15 (1): 87 — 91, 1981.
12. Kraayenhof, R., Shuurmans, J.J., Valkier, L.J., Veen, J.P.C., Van Marum, D., Jasper, C.G.G.: A thermoelectrically regulated multipurpose cuvet for simultaneous time — dependent measurement. *Anal. Biochem.* 127: 93 — 99, 1982.
13. Peters, G.A., Mayne, B.C., Ray T.B., and Toja, R.E.Jr.: Physiology Biochemistry of the Azolla — Anabaena symbiosis. Symposium on nitrogen and rice. 18 — 21. September, 1978. IRRI Los Banos, Laguna, Philippines, 1979.
14. Tuan, D.T. and Thuyét, T.Q.: Use of Azolla in rice production in Vietnam. Symposium on nitrogen and rice. 18 — 21. September 1978. IRRI Los Banos Laguna, Philippines, 1979.
15. Toja, R.E. Jr., Crist, D.K., Poole, R.E., Peters, G.A., Evans, W.R. and Mayne B.C.: Initial characterizations and comparisons of five Azolla species: Growth parameters. *Plant Physiol.* 63: 624, 1979.
16. Holst, R.W. and Yopp, J.H.: Effect of light quantity, osmotic stress, temperature and pH on nitrogen fixation and nitrate reduction by the Azolla — Anabaena symbiosis. *Plant Physiol.* 57: 103, 1976.
17. Hill, D.J.: The pattern of development of Anabaena in Azolla — Anabaena symbiosis. *Plants.* 122: 178 — 184, 1975.
18. Peters, G.A., Evans, W.R. and Toja, R. E. Jr.: The Azolla — Anabaena Azollae Relationship. IV. Photosynthetically driven, nitrogenase — catalysed H<sub>2</sub> production. *Plant Physiol.* 58: 119 — 126, 1976.



Ван НВУ и др.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ pH И АЗОТНОГО ПИТАНИЯ НА СПОСОБНОСТЬ К ФОТОСИНТЕЗУ И АЗОТОФИКСАЦИИ У ДВУХ ВИДОВ: СИНИЕ АГОЛЛА И ГОЛУБЫЕ АГОЛЛА

Способность к фотосинтезу (выделение кислорода) и азотофиксация (восстановление ацетилена) использована как два показателя для оценки влияния температуры, pH среды и азотного питания на рост двух видов — синие Аголла и голубые Аголла.

Результаты исследования показывают. Оптимальная температура для действия фотосинтеза и азотофиксации при 25°C у голубых аголла и при 31°C у синих аголла. Оптимальный pH для действия фотосинтеза у обоих видов от 6—8, при этом оптимальный pH для действия азотофиксации 5—9 находится в нам более широком диапазоне.

После нескольких дней культивирования голубых аголла в питательной среде с pH от 5—9, то они имеют способность к подвиганию pH питательной среды к нейтральному. Два выше сказанного вида Аголла были одновременно культивированы в нитратной и в безазотной среде.

Результаты показывают; оба вида Аголла в безазотной среде имеют в 2—3 раза большую способность к фотосинтезу и азотофиксации от двух до трёх раз выше, чем в среде с нитратом.

Van WU a. o.

EFFECTS OF TEMPERATURE, pH AND BOUND NITROGEN ON PHOTOSYNTHESIS AND NITROGEN FIXATION OF AZOLA PINNATA XANH AND AZOLA FILICULOIDES LAM.

Photosynthesis and nitrogen fixation measured as rates of  $O_2$  evolution and acetylene reduction, respectively, were used as parameters to determine the effects of temperature, different growth pH and bound nitrogen on the growth of *Azolla pinnata* Xanh and *A. filiculoides* Lam.

The optimum temperature for  $O_2$  evolution and nitrogen fixation of *A. filiculoides* was about 25°C and of *A. pinnata* 30—31°C. The optimum pH for  $O_2$  evolution for both *Azolla* species ranged from pH 6 to 8, while for the nitrogen fixation from pH 5 to 9. After growing for some days on media with different initial pH, ranging from pH 5 to 9, *A. filiculoides* was able to adjust the pH of the media to a final pH of about 7.

Growth on media containing bound nitrogen ( $NO_3^-$ ), inhibited  $O_2$  evolution and nitrogen fixation in both *Azolla* species.

Nhận bài ngày 6-3-1986