

ẢNH HƯỞNG CỦA HẠN ĐẾN PHỔ PROTEIN VÀ HOẠT ĐỘ CỦA MỘT SỐ ENZYME CỦA ĐẬU XANH ĐX 14 VÀ ĐX 208 Ở GIAI ĐOẠN NẤY MẦM VÀ CÂY NON

THE EFFECT OF DROUGHT ON PROTEIN PROFILES AND ACTIVITIES OF ENZYMES OF GERMINATING SEEDS AND SEEDLINGS OF VIGNA RADIATA OF DX 14 AND DX 208

Trương Thị Huệ, Ngô Hồng Đức

Trường Đại học Quy Nhơn; truongthihue@qnu.edu.vn

Tóm tắt - Hạn là một trong các stress phi sinh học chủ yếu làm giảm năng suất của cây trồng. Hạn hán dẫn đến nhiều thay đổi về sinh lý, sinh hóa của cây liên quan đến chống chịu stress. Mục đích của nghiên cứu là xác định sự biến đổi phổ protein và hoạt độ của một số enzyme ở giai đoạn mầm và cây non của 2 giống đậu xanh ĐX 208 và ĐX 14 sau 3, 5 và 7 ngày xử lý hạn. Kết quả điện di trên gel polyacrylamide có SDS cho thấy, protein mới có khối lượng khoảng 50 kDa được kích hoạt sau 5 ngày và 7 ngày xử lý hạn ở cả 2 giống ĐX 208 và ĐX 14. Ngoài ra, giống ĐX 14 còn xuất hiện một nhóm protein khoảng 45 kDa sau 7 ngày hạn. Trong điều kiện thiếu nước, hoạt độ amylase và lipase của mầm và lá non đậu xanh tăng so với đối chứng; trong đó giống ĐX 14 tăng nhiều hơn ĐX 208; hoạt độ catalase bị giảm sút rõ theo thời gian xử lý hạn, trong đó giống ĐX 208 giảm nhiều hơn giống ĐX 14.

Từ khóa - Phổ protein; enzyme; hạn hán; đậu xanh

1. Đặt vấn đề

Đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) là cây trồng mang lại hiệu quả kinh tế cao, có giá trị trong y học và cũng là cây cải tạo đất. Tuy nhiên, năng suất đậu xanh bị hạn chế bởi những ảnh hưởng của môi trường, đặc biệt là hạn hán. Đê có thể tồn tại được trong điều kiện thiếu nước của môi trường, đậu xanh phải có những biến đổi sinh lý, sinh hóa để thích nghi [1]. Vì vậy, việc nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện thiếu nước lên thực vật nói chung và đậu xanh nói riêng là một việc rất cần thiết. Ở Việt Nam, việc nghiên cứu trên đối tượng đậu xanh đã và đang được tiến hành. Đã có các công trình nghiên cứu về chọn tạo giống thích nghi với thời vụ và điều kiện sinh thái, nghiên cứu quy trình trồng và chăm sóc đậu xanh, nghiên cứu phân lập gen liên quan đến khả năng chịu hạn,... Tuy nhiên, đối với từng giống thì mức độ tác động của điều kiện thiếu nước đến các chỉ tiêu hóa sinh và sự sinh trưởng, phát triển của đậu xanh có khác nhau. Nghiên cứu này đi sâu làm rõ một số biến đổi về phổ protein và hoạt độ một số enzyme ở giai đoạn hạt nảy mầm và cây non trong điều kiện thiếu nước làm cơ sở cho nghiên cứu về khả năng chống chịu của 2 giống đậu xanh nghiên cứu.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Hai giống đậu xanh ĐX 14 và ĐX 208 do Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Duyên hải Nam Trung bộ cung cấp.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Hạt đậu xanh được ngâm trong dung dịch đường sucrose 0,37 M để tạo áp suất thẩm thấu (ASTT) 9 atm theo phương pháp gây áp suất thẩm thấu của Volcova [2], công thức đối

Abstract - Drought is one of the major abiotic stresses that reduce crop productivity. Drought leads to many physiological and biochemical changes of plants related to stress tolerance. The purpose of this study is to determine the variation of protein profiles and activity of some enzymes in the germination and seedling stage of two varieties of mung bean DX 208 and DX 14 after 3, 5 and 7 days of drought treatment. Electrophoresis results on SDS polyacrylamide gel show that, the new protein with a molecular weight of about 50 kDa is activated after 5 days and 7 days of drought treatment in both DX 208 and DX 14. In addition, DX 14 also appears a protein group of about 45 kDa after 7 days of drought. In the condition of dehydration, the activity of amylase and lipase of germinated seeds and leaves increase compared to the control. Particularly, DX 14 increases more than DX 208; the catalase activity is significantly reduced over drought treatment time, in which the variety of DX 208 decreases more than DX 14.

Key words - protein profiles; enzyme; drought; mung bean

chúng là hạt nảy mầm trong nước cất. Hạt được gieo trên khay có giấy thấm, bổ sung kháng sinh nistatin 1 viên trong 1 lít dung dịch đường, mỗi khay có 30 hạt với 3 lần nhắc lại. Hoạt độ enzyme amylase, lipase và catalase trong mầm đậu xanh được phân tích sau 3, 5 và 7 ngày gây hạn.

Cây non được trồng trong chậu nhỏ kích thước 20 x 20 cm và gây hạn nhân tạo theo phương pháp của Lê Trần Bình [3]. Số lượng cây/chậu là 15 cây, mỗi công thức lặp lại 3 lần. Cây được đảm bảo chế độ chăm sóc thông thường, đến ngày thứ 7 sau khi gieo, cây có 3 lá thật, gây héo lá thí nghiệm bằng cách không tưới nước và cách li với nước, lô đối chứng tưới nước bình thường. Sau 3, 5 và 7 ngày gây hạn, lấy mẫu để phân tích hoạt độ enzyme amylase, catalase và phổ điện di protein.

2.3. Chỉ tiêu nghiên cứu và phương pháp xác định

Protein tổng số được điện di trên gel polyacrylamide 12% có SDS theo Laemmli [4].

Nghiên cứu 0,2 g mẫu lá đậu tương với 200 µl đệm tách chiết (Tris-HCl 50 mM, pH 8,0, sucrose 5% và β-mercaptoethanol 1%) thành dịch đồng nhất; ly tâm với tốc độ 12.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C, hút dịch nổi và ly tâm đến khi được dịch trong suốt, bao quan dịch protein ở -20°C cho tới khi dùng [5].

Hoạt độ enzyme amylase được xác định theo phương pháp Rukhliadeva Geriacheva [6].

Hoạt độ enzyme catalase được xác định theo phương pháp Bakh - Oparin [6].

Hoạt độ enzyme lipase được xác định dựa trên sự thủy phân lipid dưới tác dụng của enzyme lipase giải phóng các axit béo. Hàm lượng axit béo được chuẩn độ bằng kiềm [6].

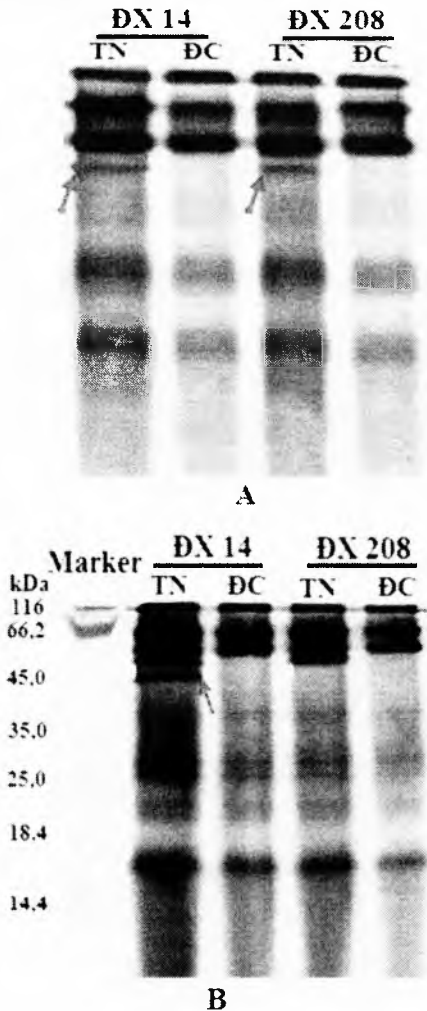
2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê toán học qua các thông số: Giá trị trung bình mẫu (\bar{X}), độ lệch chuẩn (δ), sai số trung bình (m).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của hạn đến phổ protein tổng số trong lá đậu xanh ở giai đoạn cây non

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu phổ điện di protein sau 5 ngày và 7 ngày xử lý hạn.



Hình 1. Phổ protein của lá đậu xanh sau 5 ngày gây hạn (A) và 7 ngày gây hạn (B) của 2 giống DX 14 và DX 208

Từ Hình 1 A, sau 5 ngày xử lý hạn, đã có sự biến động

Bảng 1. Hoạt độ α -amylase trong mầm đậu xanh tại các thời điểm nghiên cứu

Giống	CTTN	Hoạt độ amylase (ĐVHĐ)					
		Sau 3 ngày	% so ĐC	Sau 5 ngày	% so ĐC	Sau 7 ngày	% so ĐC
DX 208	ĐC	43.67±0.67	100.00	62.70±0.15	100.00	67.62±0.98	100.00
	9 atm	45.21±0.2	103.53	68.54±0.53	109.31	67.72±0.47	100.15
DX 14	ĐC	46.47±0.97	100.00	66.77±0.70	100.00	70.58±0.42	100.00
	9 atm	48.38±0.88	104.11	74.69±0.51	111.86	72.76±0.89	103.09

Hoạt độ amylase ở giai đoạn mầm tăng cao khi xử lý áp suất thẩm thấu 9 atm từ 3 ngày đến 5 ngày. Sau 3 ngày, giống DX 208 tăng 3.53%, giống DX 14 tăng 4,11% so với

rõ rệt của phổ băng protein tổng số trong cây đậu xanh ở 2 giống thí nghiệm. Trong điều kiện thiếu nước, giống DX 14 và DX 208 đều xuất hiện thêm băng protein mới (băng protein thứ 4 tính từ giếng gel), tuy nhiên băng protein còn khá mờ nhạt. Nhóm protein mới này được khẳng định ở Hình 1 B, sau khi đậu tương được xử lý hạn 7 ngày. So với thang protein chuẩn, protein mới có kích thước khoảng 50 kDa. Riêng đối với giống DX 14, sau 7 ngày xử lý hạn, hệ protein còn có thêm băng protein có kích thước khoảng 45 kDa rất đậm nét (băng protein thứ 5 tính từ giếng gel). Như vậy, quá trình tổng hợp protein đã được tăng cường ở giống DX 14 trong điều kiện hạn dài hơn. Nhóm tác giả cho rằng, có thể các gen liên quan đến tính chống chịu tồn tại trong giống đậu xanh chịu hạn và đã hoạt hóa khi gặp điều kiện bất lợi của môi trường, thể hiện thành protein mới.

Protein đối phó với stress hạn gồm protein dehydrin, protein LEA (Late embryogenesis abundant protein)..., có khối lượng phân tử dao động lớn từ 9-200 kDa [7], nhưng phần lớn từ 22 - 60 kDa, có vai trò quan trọng trong việc giữ nước, ổn định màng, dòng chảy ion và bảo vệ các thành phần của tế bào chất trong điều kiện hạn [8, 9]. Kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước đây. Những thay đổi trong biểu hiện protein, sự tích lũy và tổng hợp các protein đã được quan sát thấy ở lá cây đậu tương trong điều kiện khô hạn trong suốt thời gian phát triển [10]. Trong điều kiện khô hạn, ngoài sự suy giảm hàm lượng của một số protein đồng thời cũng diễn ra quá trình tổng hợp các protein mới. Sự xuất hiện của các protein mới trong điều kiện stress đóng vai trò quan trọng trong cơ chế chịu hạn của thực vật [11].

3.2. Ảnh hưởng của hạn đến hoạt độ của enzyme amylase của 2 giống đậu xanh nghiên cứu

Amylase là enzyme phân giải tinh bột. Quá trình phân giải tinh bột làm cho hàm lượng đường tăng lên dẫn đến tăng ASTT của tế bào, có ý nghĩa quan trọng trong quá trình nảy mầm của hạt, đồng thời thúc đẩy quá trình sinh trưởng, phát triển của mầm và cây non trong điều kiện thiếu nước. Do đó, việc khảo sát hoạt độ α -amylase của đậu xanh ở giai đoạn hạt nảy mầm và cây non là một trong những cơ sở để đánh giá tính chịu hạn của 2 giống đậu xanh.

3.2.1. Hoạt độ của enzyme α -amylase của 2 giống đậu xanh ở giai đoạn mầm

Số liệu ở Bảng 1 cho thấy, dưới tác động của ASTT cao thì hoạt độ α -amylase ở lô thí nghiệm đều cao hơn so với lô đối chứng và hoạt độ của amylase khác nhau giữa 2 giống ở các thời điểm xử lý ASTT khác nhau.

đối chứng. Sau 5 ngày hạn, giống DX 208 tăng 9,31%, giống DX 14 tăng 11,86%. Sau 3 ngày và 5 ngày gây hạn, sự gia tăng hoạt độ enzyme amylase cho thấy, phản ứng

mạnh mẽ của mầm đậu xanh trước điều kiện thiếu nước, trong đó giống ĐX 14 tăng nhiều hơn ĐX 208. Đây có thể là phản ứng thích nghi của mỗi giống khi gặp ASTT cao. Giống có khả năng chịu được điều kiện thiếu nước thì hoạt độ enzyme amylase tăng mạnh hơn so với giống chống chịu

kém hơn. Kết quả này cũng phù hợp với công bố về ảnh hưởng của điều kiện thiếu nước lên một số chỉ tiêu sinh lí, hoá sinh trên đậu tương [12].

3.2.2. Hoạt độ của enzyme α -amylase của 2 giống đậu xanh ở giai đoạn cây non

Bảng 2. Hoạt độ enzyme amylase của 2 giống đậu xanh ở giai đoạn cây non

Giống	CTTN	Hoạt độ enzyme amylase (ĐVHĐ)					
		Sau 3 ngày	% so ĐC	Sau 5 ngày	% so ĐC	Sau 7 ngày	% so ĐC
ĐX 208	ĐC	36.61±0.49	100.00	44.27±0.42	100.00	51.03±0.32	100.00
	TN	38.46 ±0.45	105.05	49.38±0.29	111.54	52.58±0.21	103.04
ĐX 14	ĐC	38.54±0.42	100.00	47.53±0.36	100.00	53.17±0.10	100.00
	TN	40.38±0.53	104.77	55.15±0.50	116.03	57.66±0.39	108.44

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hoạt độ α -amylase của 2 giống đậu xanh ở giai đoạn cây non thấp hơn so với giai đoạn mầm, tuy nhiên trong điều kiện xử lý hạn thì hoạt độ amylase tăng nhiều hơn so với công thức đối chứng, đặc biệt tăng cao sau 5 ngày gây hạn, tăng 11,54% (giống ĐX 208) và tăng 16,03% (giống ĐX 14). Hoạt độ amylase của giống ĐX 14 tăng cao hơn giống ĐX 208. Điều này phù hợp với sự biến động về hàm lượng đường khur trong nghiên cứu của nhóm tác giả, đó là giống ĐX 14 có hàm lượng đường khur cao hơn giống ĐX 208 (số liệu chưa công bố). Kết quả này cũng phù hợp với những công bố trên các giống đậu tương, lúa, lạc [13, 14].

3.3. Hoạt độ enzyme catalase của 2 giống đậu xanh nghiên cứu dưới tác động của điều kiện thiếu nước

Catalase là enzyme hô hấp, thuộc nhóm enzyme chống oxy hóa, xúc tác cho phản ứng phân giải peroxy hydro thành nước và oxy. Dưới tác động của điều kiện thiếu nước thì lượng H_2O_2 tăng lên gây độc cho cây [15]. Vì vậy, việc xác định hoạt độ enzyme catalase trong giai đoạn mầm và cây non của đậu xanh trong điều kiện thiếu nước là rất cần thiết.

3.3.1. Hoạt độ enzyme catalase của mầm đậu xanh trong điều kiện nghiên cứu

Bảng 3. Hoạt độ catalase trong mầm đậu xanh của 2 giống đậu xanh nghiên cứu

Giống	CTTN	Hoạt độ enzyme catalase (ĐVHĐ)					
		Sau 3 ngày	% so ĐC	Sau 5 ngày	% so ĐC	Sau 7 ngày	% so ĐC
ĐX 208	ĐC	13.80±0.26	100.00	12.17±0.15	100.00	11.60±0.11	100.00
	9 atm	13.27±0.25	96.16	10.5±0.14	86.28	8.93±0.20	73.53
ĐX 14	ĐC	14.97±0.25	100.00	13.52±0.12	100.00	12.97±0.23	100.00
	9 atm	14.63±0.15	97.73	12.75±0.10	94.30	11.83±0.24	86.58

Qua Bảng 3 ta thấy, hoạt độ catalase của 2 giống đậu xanh giảm khi gây hạn ở ASTT cao, trong đó giống ĐX 208 giảm nhiều hơn ĐX 14, đặc biệt sau 7 ngày hạn, giảm 26,47% (ĐX 208) và giảm 13,42% (ĐX 14).

ASTT cao sẽ ức chế mạnh sự hoạt động của enzyme catalase. Nguyên nhân có thể là do enzyme catalase làm nhiệm vụ phân giải H_2O_2 nhưng trong môi trường thiếu hụt nước thì giảm cường độ hô hấp nên giảm cơ chất cho sự hoạt động của enzyme catalase.

Tuy nhiên, hoạt độ enzyme catalase của giống ĐX 14 giảm ít hơn so với giống ĐX 208, có thể đây là phản ứng thích nghi của giống chịu hạn tốt hơn khi gặp điều kiện bất lợi, chúng tăng cường tổng hợp các enzyme chống oxy hóa để loại bỏ các gốc tự do được sinh ra dưới tác động của môi trường bất lợi, bảo vệ màng tế bào [15].

3.3.2. Hoạt độ enzyme catalase của 2 giống đậu xanh ở giai đoạn cây non

Ở giai đoạn cây non, trong điều kiện thiếu nước, hoạt độ enzyme catalase có sự biến động tương tự như giai đoạn mầm. Sau 3 ngày gây hạn, hoạt độ catalase giảm 7,24% (ĐX 208), giảm 5,68% (ĐX 14); Sau 5 ngày gây hạn, hoạt độ catalase giảm 14,04% (ĐX 208), giảm 8,6% (ĐX 14); Sau 7 ngày xử lý hạn, hoạt độ catalase giảm 20,11% (ĐX 208), giảm 13,52% (ĐX 14).

Từ kết quả phân tích trên cho thấy, hạn tác động mạnh đến hoạt độ của catalase của 2 giống đậu xanh nghiên cứu, thời gian hạn càng kéo dài thì sự tác động càng lớn, làm cho hoạt độ enzyme catalase giảm nhanh hơn. Sự giảm hoạt độ catalase phụ thuộc vào đặc điểm và khả năng thích nghi của từng giống.

Bảng 4. Hoạt độ catalase của 2 giống đậu xanh ở giai đoạn cây non

Giống	CTTN	Hoạt độ enzyme catalase (ĐVHĐ)					
		Sau 3 ngày	% so ĐC	Sau 5 ngày	% so ĐC	Sau 7 ngày	% so ĐC
ĐX 208	ĐC	8.98±0.27	100.00	8.12±0.28	100.00	7.41±0.15	100.00
	TN	8.33±0.25	92.76	6.98±0.15	85.96	5.92±0.15	79.89
ĐX 14	ĐC	10.57±0.25	100.00	9.53±0.13	100.00	9.32±0.21	100.00
	TN	9.97±0.30	94.32	8.71±0.19	91.4	8.06±0.22	86.48

3.4. Hoạt độ enzyme lipase trong mầm của 2 giống đậu xanh nghiên cứu trong điều kiện thiếu nước

Enzym lipase phân giải lipid, khi cây gặp điều kiện bất lợi thì lipid dự trữ sẽ được phân giải trong các glyoxysome

Bảng 5. Hoạt độ lipase của 2 giống đậu xanh nghiên cứu ở giai đoạn mầm

Giống	CTTN	Hoạt độ enzyme lipase (ĐVHD)					
		Sau 3 ngày	% so ĐC	Sau 5 ngày	% so ĐC	Sau 7 ngày	% so ĐC
ĐX 208	ĐC	13.78±0.39	100.00	19.42±0.55	100.00	18.64± 0.36	100.00
	9 atm	17.07±0.38	123.87	24.87±0.40	128.06	19.17±0.23	102.84
ĐX 14	ĐC	14.09±0.32	100.00	20.17±0.33	100.00	18.84±0.49	100.00
	9 atm	17.85± 0.35	126.69	26.47± 0.38	131.23	20.42±0.49	108.39

Qua Bảng 5, nhóm tác giả nhận thấy hoạt độ lipase của 2 giống đậu xanh trong điều kiện gây hạn cao hơn so với đối chứng, đặc biệt sau 5 ngày thiếu nước, tăng 28,06% (ĐX 208) và tăng 31,23% (ĐX 14). Như vậy, điều kiện thiếu nước đã ảnh hưởng đến hoạt độ lipase của 2 giống đậu xanh và mức độ ảnh hưởng phụ thuộc vào đặc điểm của từng giống.

Kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu khi khảo sát về hoạt tính và biểu hiện gen của phospholipase D ở mầm hạt đậu đũa: Nghiên cứu cho thấy, hoạt tính phospholipase D tăng lên khi gặp hạn [16]. Hoạt tính enzyme lipase trong lá đậu tương tăng lên gấp 2 lần trong 4 ngày đầu của hạn và quay lại trạng thái như đối chứng sau 3 ngày tưới nước trở lại [17].

4. Kết luận

Đã phát hiện được sự biến đổi của phổ băng protein tổng số trong lá đậu xanh của cả 2 giống ĐX 14 và ĐX 208 trong điều kiện thiếu nước. Sau 5 ngày và 7 ngày hạn, cả 2 giống ĐX 208 và ĐX 14 đều xuất hiện một/một nhóm protein mới khoảng 50 kDa. Giống ĐX 14 còn xuất hiện thêm một/một nhóm protein khoảng 45 kDa sau 7 ngày hạn.

Hạn làm tăng hoạt độ enzyme amylase và lipase của mầm và lá non đậu xanh, trong đó giống ĐX 14 tăng nhiều hơn ĐX 208. Hoạt độ enzyme amylase tăng cao sau 5 ngày xử lý hạn, tăng 9,31% (ĐX 208) và 11,86% (ĐX 14) ở giai đoạn mầm; tăng 11,54% (ĐX 208) và 16,03% (ĐX 14) ở giai đoạn cây non. Hoạt độ enzyme lipase trong mầm đậu xanh cũng tăng mạnh sau 5 ngày hạn, tăng 28,06% (ĐX 208) và tăng 31,23% (ĐX 14).

Hoạt độ enzyme catalase của mầm và lá non đậu xanh bị giảm sút rõ trong điều kiện thiếu nước theo thời gian xử lý hạn, trong đó giống ĐX 208 giảm nhiều hơn giống ĐX 14 sau 7 ngày gây hạn; giảm 26,47% ở ĐX 208 và giảm 13,42% ở ĐX 14 (giai đoạn mầm); giảm 20,11% ở ĐX 208 và giảm 13,52% ở ĐX 14 (giai đoạn cây non).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Trần Đình Long, Lê Khả Tường. *Cây đậu xanh*. Nxb Nông nghiệp, 1998.
[2] A.M. Volcova, N.N.Kozushko, V.I.Makarov. Xác định tính chịu

theo con đường β -oxy hóa và đi vào chu trình glyoxylate, sản phẩm của quá trình này là tiền chất để tổng hợp đường [1]. Chính vì vậy, khi đánh giá khả năng chịu hạn và ảnh hưởng của hạn đến 2 giống đậu xanh nghiên cứu thì việc khảo sát hoạt độ enzyme lipase là cần thiết.

nồng và chịu hạn tương đối của các mẫu ngũ cốc bằng phương pháp gieo hạt trong dung dịch đường và sau xử lý nhiệt. NXB Leningrat (ban dịch tiếng Nga). 1984.
[3] Lê Trần Bình, Lê Thị Muội. Phân lập gen và chọn dòng chống chịu ngoại canh bất lợi ở cây lúa. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, 1998.
[4] Brunelle J.L. and Green R.. "One-dimensional SDS-polyacrylamide Gel Electrophoresis (1D SDS-PAGE)". *Methods Enzymol* 541. 2014. 151-159.
[5] D. Pavokovic, B. Kriznik. "Evaluation of protein extraction methods for proteomic analysis of non-model recalcitrant plant tissues". *Croatica Chemica Acta* 85(2). 2012. 177-183.
[6] Nguyễn Văn Mùi. *Thực hành hóa sinh học*. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, 2001.
[7] T. J. Close. "Dehydrin: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins". *Physiology of Plant* 97 (4). 1996. 795-803.
[8] Y. Jiang and B. Huang (2002). "Protein alterations in response to water stress and ABA in tall fescue". *Crop Science*. 42 (1), 2002. 202-207.
[9] C. G. Lopez, G. M. Banowetz, C. J. Peterson and W. E. Kronstad. "Differential accumulation of a 24-kd dehydrin protein in wheat seedlings correlates with drought stress tolerance at grain filling". *Hereditas*. 135 (2-3). 2001. 175-181.
[10] T. H. Chen, N. Muranta. "Enhancement of tolerance of a family of plant dehydrin protein". *Physiol plant*, 2002. 795 – 803.
[11] E. L. Arumingtyas, E. S. Savitri, and J. Kusnadi. "Identification and characterization of drought stress protein on soybean (*Glycine max* L. Merr)". *Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2013. 789-796.
[12] Đinh Thị Vinh Hà, Nguyễn Văn Mã, Lê Thị Phương Hoa. "Ảnh hưởng của điều kiện thiếu nước lên một số chỉ tiêu sinh lý, hoá sinh của cây đậu tương thời kỳ ra hoa". *Tạp chí Sinh học*. 31 (4). 2009. 89-94.
[13] Hà Tiến Sỹ. "Khả năng chịu hạn của một số giống đậu tương (*Glycine max* (L.) Merrill) địa phương của tỉnh Cao Bằng". *Tạp chí Khoa học Công nghệ. Đại học Thái Nguyên*. số 3 (43). 2007. 13-19.
[14] Đinh Thị Phòng. *Nghiên cứu khả năng chịu hạn và chọn dòng chịu hạn ở lúa bằng kỹ thuật nuôi cấy mô thực vật*. Luận án Tiến sĩ Sinh học. Viện Công nghệ Sinh học, 2001.
[15] D.Q. Binh, P. Kiss, L.E. Heszky, E. Kiss, and B. Asboth. "Some specific responses and requirements during growth and plant redifferentiation of long-term salt adapted rice cells". *Plant physiol* 14. 1995. 1-10.
[16] H.E.I. Maarouf, Z.F. Yasmine, M. Gareil, A.L. Agnes, A.T. Pham. "Enzymatic activity and gene expression under water stress of phospholipase D in two cultivars of *Vigna unguiculata* L. Walp. differing in drought tolerance". *Plant Molecular Biology* 39 (6). 1999. 1257-1265.
[17] A. Hirata, M. Adachi, A. Sekine, Y-N. Kang, S. Utsumi, and B. Mikami. "Structural and enzymatic analysis of soybean α -amylase mutants with increased pH optimum". *Journal of Biological Chemistry* 279 (8). 2004. 7287-7295.