

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC TÔN ĐỨC THẮNG**  
**KHOA KHOA HỌC ỨNG DỤNG**  
**NGÀNH CÔNG NGHỆ SINH HỌC**



# **GIÁO TRÌNH MÔN THÍ NGHIỆM**

# **SINH LÝ THỰC VẬT**

**LƯU HÀNH NỘI BỘ**  
**-2023-**

## MỤC LỤC

<b>LỊCH TRÌNH GIẢNG DẠY.....</b>	<b>3</b>
<b>HÌNH THỨC ĐÁNH GIÁ MÔN HỌC .....</b>	<b>3</b>
<b>NỘI QUY PHÒNG THÍ NGHIỆM.....</b>	<b>4</b>
<b>BÀI 1: PLANT ANATOMY – GIẢI PHẪU THỰC VẬT .....</b>	<b>5</b>
1. LÝ THUYẾT.....	5
2. CÁCH THỰC HIỆN TIÊU BẢN.....	5
3. VẬT LIỆU .....	9
3.1. Nguyên liệu, hóa chất .....	9
3.2. Dụng cụ, thiết bị.....	9
4. THỰC HÀNH.....	9
5. YÊU CẦU KẾT QUẢ.....	11
<b>BÀI 2: SỰ HẤP THU DINH DƯỠNG CỦA THỰC VẬT .....</b>	<b>13</b>
1. LÝ THUYẾT.....	13
2. VẬT LIỆU.....	18
2.1. Nguyên liệu, hóa chất.....	18
2.2. Dụng cụ, thiết bị.....	18
3. THỰC HÀNH .....	18
4. YÊU CẦU KẾT QUẢ.....	21
<b>BÀI 3: SỰ HÔ HẤP Ở THỰC VẬT .....</b>	<b>22</b>
1. LÝ THUYẾT.....	22
2. VẬT LIỆU .....	24
2.1. Nguyên liệu, hóa chất.....	24
2.2. Dụng cụ, thiết bị.....	24
3. THỰC HÀNH .....	24
4. YÊU CẦU KẾT QUẢ.....	26
<b>BÀI 4: VAI TRÒ ACID GIBBERELIC LÊN SỰ NẤY MẦM CỦA HẠT .....</b>	<b>27</b>
1. LÝ THUYẾT .....	27
2. VẬT LIỆU .....	31
2.1. Nguyên liệu, hóa chất.....	31

2.2 Dụng cụ, thiết bị.....	31
3. THỰC HÀNH.....	31
4. YÊU CẦU KẾT QUẢ.....	34
<b>BÀI 5: VAI TRÒ CỦA HOOCMON SINH TRƯỞNG LÊN SỰ KÉO DÀI CÂY....</b>	<b>36</b>
1. LÝ THUYẾT.....	36
2. VẬT LIỆU.....	39
2.1.Nguyên liệu, hóa chất.....	39
2.2.Dụng cụ, thiết bị.....	39
3. THỰC HÀNH .....	39
4. YÊU CẦU KẾT QUẢ.....	40

## LỊCH TRÌNH GIẢNG DẠY

TUẦN	NỘI DUNG GIẢNG DẠY	SỐ TIẾT			TÀI LIỆU
		LT	BT	TH	
1	<b>Bài 1: Plant anatomy- GIẢI PHẪU THỰC VẬT</b>			6	Giáo trình
2	<b>Bài 2: SỰ HẤP THU DINH DƯỠNG CỦA THỰC VẬT</b>			6	Nt
3	<b>Bài 3: SỰ HÔ HẤP Ở THỰC VẬT</b>			6	Nt
4	<b>Bài 4: VAI TRÒ ACID GIBBERELLIC LÊN SỰ NẢY MẦM CỦA HẠT</b>			6	Nt
5	<b>Bài 5: VAI TRÒ CỦA HOOCMON SINH TRƯỞNG LÊN SỰ KÉO DÀI CÂY</b>			6	Nt
	<b>Tổng cộng</b>			<b>30</b>	

## HÌNH THỨC ĐÁNH GIÁ MÔN HỌC

- Điểm trung bình các bài kiểm tra đầu giờ: 20%
- Điểm trung bình các bài báo cáo thí nghiệm: 30%
- Thi vấn đáp cuối kỳ: 50%

## **NỘI QUY PHÒNG THÍ NGHIỆM**

1. Tuân thủ nội quy phòng thí nghiệm.
2. Sinh viên phải có mặt đủ và đúng giờ trong các buổi thí nghiệm, không bỏ về sớm.
3. Vắng 01 buổi thí nghiệm sẽ bị cấm thi.
4. Sinh viên phải đọc kỹ, nắm vững nội dung bài thí nghiệm và chuẩn bị sẵn bản báo cáo kết quả trước khi đến phòng thí nghiệm. Trước buổi thí nghiệm giáo viên hướng dẫn sẽ kiểm tra việc chuẩn bị của sinh viên. Đạt yêu cầu, sinh viên mới được làm thí nghiệm.
5. Áp dụng điểm trừ trên từng bài thí nghiệm: không chuẩn bị bài trước; không có áo blouse; đi trễ quá 10 phút; không giữ trật tự, tác phong không nghiêm túc; vi phạm nội quy PTN; thao tác cầu thả không cẩn thận; chép bài báo cáo của nhau; viết báo cáo không đúng mẫu quy định; nộp báo cáo không đúng quy định ...
6. Trong phòng thí nghiệm phải mặc áo blouse, rất thận trọng khi sử dụng dụng cụ dễ cháy nổ và hóa chất độc hại.
7. Khi làm thí nghiệm phải trật tự, cẩn thận, giữ sạch nơi làm thí nghiệm, tiết kiệm hóa chất. Làm vỡ, hoặc gây hư hỏng dụng cụ, thiết bị thì phải bồi thường. Không tự ý xê dịch máy móc thiết bị và không được sử dụng khi chưa có sự hướng dẫn của giáo viên.
8. Sau khi thí nghiệm, sinh viên phải rửa sạch dụng cụ - tráng lại bằng nước cất, sắp xếp lại dụng cụ - hóa chất đúng chỗ, lau sạch bàn thí nghiệm và bàn giao cho cán bộ phòng thí nghiệm. Mỗi buổi thí nghiệm lớp cử một tổ trực nhật. Tổ trực nhật có nhiệm vụ nhắc nhở các bạn giữ vệ sinh chung và làm sạch phòng thí nghiệm sau giờ thí nghiệm.
9. Cuối buổi thí nghiệm sinh viên phải nộp bản báo cáo kết quả thí nghiệm và kết quả tính toán cho giáo viên hướng dẫn.
10. Viết và nộp báo cáo thí nghiệm theo mẫu theo đúng thời hạn giảng viên quy định.

# BÀI 1: PLANT ANATOMY – GIẢI PHẪU THỰC VẬT

## 1. LÝ THUYẾT

Hình thái giải phẫu học thực vật là một khoa học chuyên nghiên cứu về hình thái, cấu tạo và tổ chức của hệ thống sống.

Đối tượng của hình thái giải phẫu thực vật là nghiên cứu hình thái, cấu trúc của những hệ thống sống trên tất cả mọi mức độ tổ chức từ cơ thể đến hệ thống cơ quan, mô, tế bào, bào quan và dưới bào quan tạo thành một thể thống nhất, có quan hệ chặt chẽ với môi trường sống. Do đó, nhiệm vụ cơ bản của hình thái giải phẫu thực vật là nghiên cứu hình thái học toàn bộ cơ thể, hình thái học cơ quan, mô học, hình thái học tế bào, bào quan và dưới bào quan.

## 2. CÁCH THỰC HIỆN TIÊU BẢN

Làm tuân tự các bước sau:

- Cho 1 giọt dung dịch quan sát (nước cất, glycerin, KI, Soudan III...) vào giữa phiến kính dày (phiến kính mang vật, lame).
- Đặt mẫu vật cần quan sát vào giữa giọt dung dịch.
- Đậy nhẹ nhàng phiến kính mỏng (phiến kính đậy vật, lamelle) lên mẫu vật sao cho không có bọt khí trong dung dịch

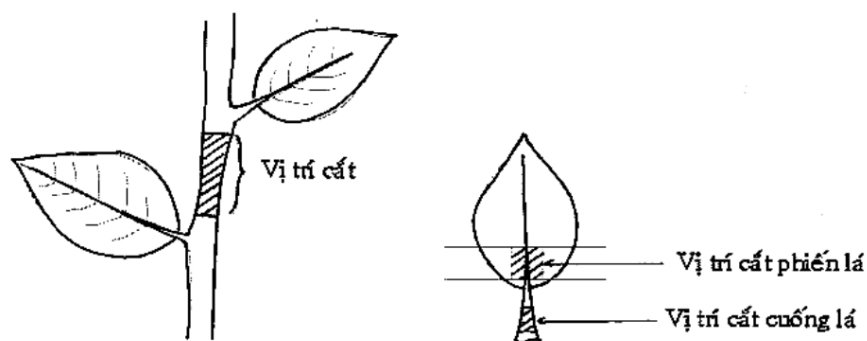
❖ **Phương pháp cắt vi phẫu:** Cầm mẫu vật cần cắt trên tay hay đặt trên bàn. Dùng dao lam cắt ngang (hay cắt dọc) thành những lát mỏng.

*Chú ý:* - Dao lam dùng cắt vi phẫu phải là dao mới.

- Khi cắt, dao lam được đặt thẳng góc với mẫu vật.
- Vị trí cắt trên mẫu vật thay đổi tùy theo cơ quan: (Hình 1)

Đối với thân cây: Cắt ở phần lóng, không cắt sát và ngay mấu.

Đối với phiến lá: Cắt ở khoảng 1/3 phía dưới nhưng không sát đáy phiến. Nếu phiến rộng quá thì có thể bỏ bớt phần thịt lá, chỉ chừa lại khoảng 1cm ở hai bên gân giữa.



**Hình 1.** Các vị trí cắt vi phẫu trên thân và lá

### ❖ Phương pháp nhuộm vi phẫu

Áp dụng phương pháp nhuộm kép bằng phẩm nhuộm Carmino-vert de Mirande (thành phần chính là son phèn và lục iod). – thay bằng xanh methylene ( nhuộm 2 lần)  
*Trình tự nhuộm vi phẫu như sau:*

- Ngâm vi phẫu trong nước javel đến khi mẫu trắng, nhưng tối đa không quá 30 phút. Nếu sau 30 phút mà vi phẫu không trắng thì phải thay nước javel khác rồi tiếp tục ngâm vi phẫu.
- Rửa sạch vi phẫu bằng nước thường (3-4 lần).
- Ngâm vi phẫu đã rửa trong dung dịch acid acetic 10% trong 10 phút.
- Loại bỏ hết acid acetic.
- Ngâm vi phẫu trong phẩm nhuộm 15 phút.
- Rửa sạch vi phẫu bằng nước thường.
- Ngâm trong nước thường hay glycerin.

Sau khi nhuộm, vách tế bào sẽ có màu:

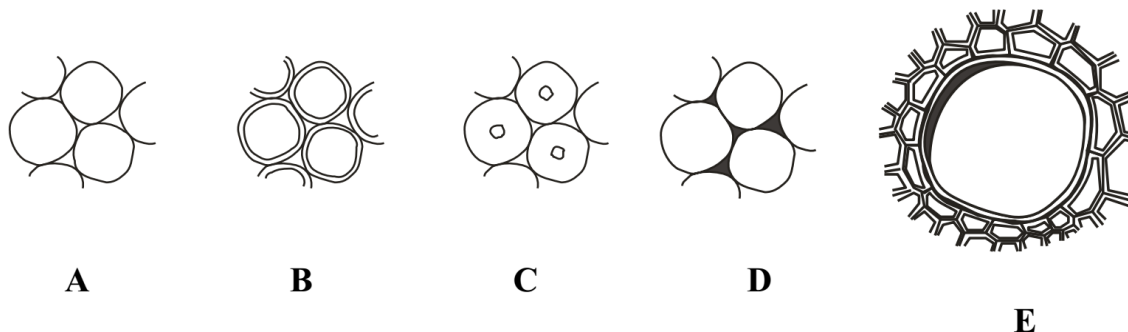
- Màu hồng hay màu hồng tím khi vách tế bào bằng cellulose (tế bào biểu bì, mô mềm, mô dày và libe).
- Màu xanh nước biển, màu xanh rêu hay màu vàng chanh khi vách tế bào thấm chất gỗ (mô cứng, gỗ) hay chất bần (bần, tầng thấm suberin và tầng suberoid).

### ❖ Phương pháp vẽ vi phẫu

Chọn những vi phẫu đạt yêu cầu để khảo sát và vẽ cấu tạo. Để thể hiện cấu tạo giải phẫu của cơ quan, thường phải vẽ sơ đồ và chi tiết

❖ **Vẽ sơ đồ** - dùng các ký hiệu để vẽ (Hình 3). *Chọn vùng để vẽ:*

- Nếu vi phẫu có cấu tạo đối xứng qua trục (thân và rễ) thì có thể chỉ vẽ  $\frac{1}{2}$  vi phẫu.
- Nếu vi phẫu có cấu tạo đối xứng qua mặt phẳng (phiên lá, cuống lá) thì vẽ toàn bộ



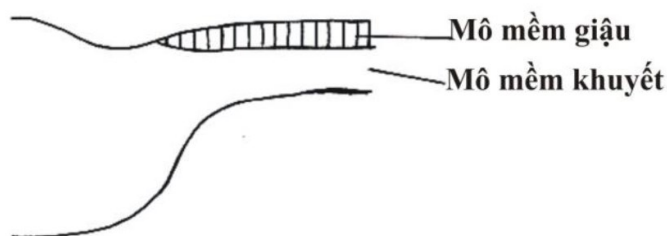
**Hình 3. Các qui ước dùng vẽ chi tiết cấu tạo vi phẫu**

A: Tế bào vách cellulose, B và C: Tế bào vách tấm chất gỗ hay chất bần, D: Mô dày, E: Mạch gỗ và mô mềm gỗ

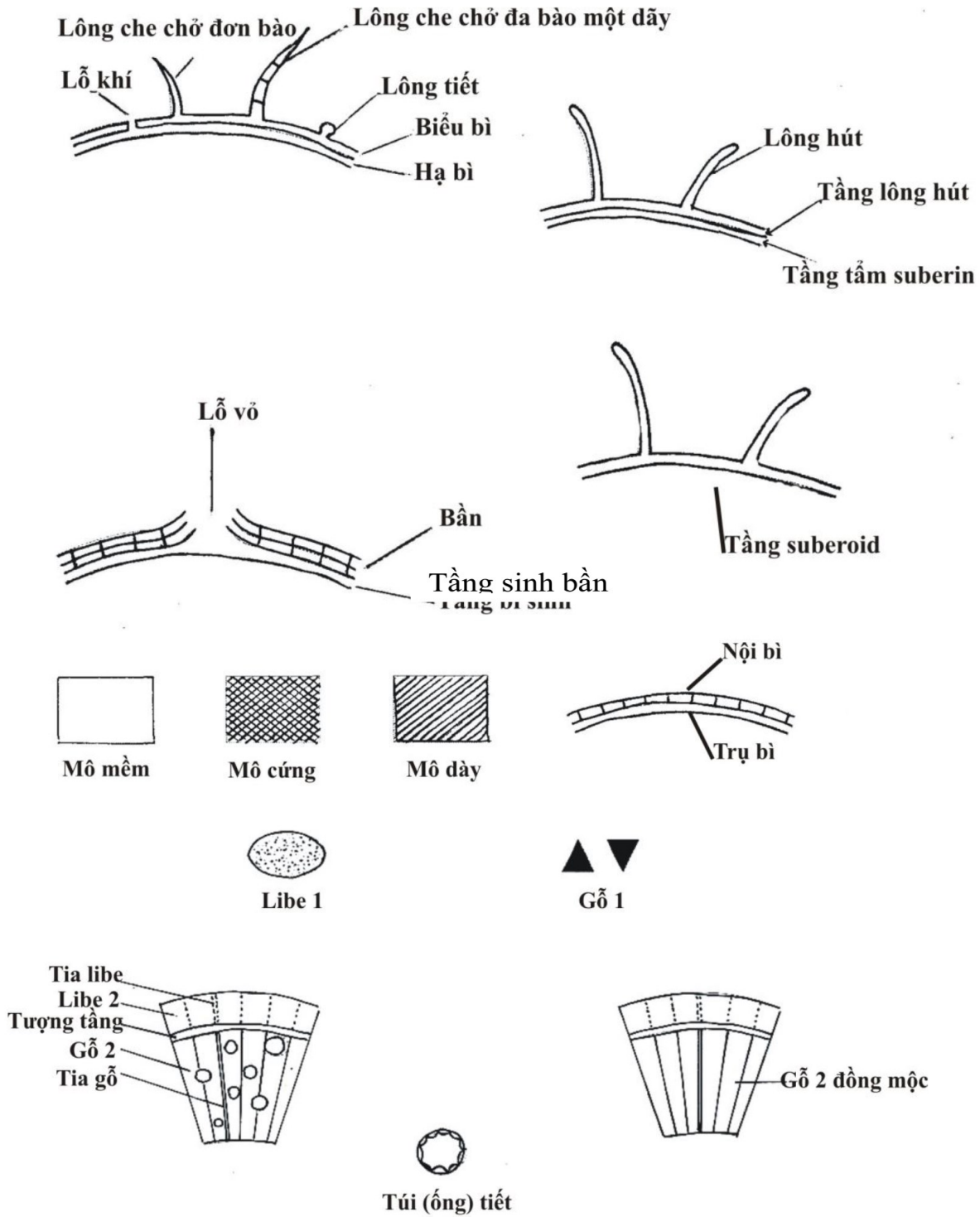
❖ Vẽ chi tiết là vẽ đúng hình dạng, cách sắp xếp của các tế bào và tỉ lệ tương đối giữa các tế bào với nhau trong một mô và giữa các mô trong một cơ quan.

❖ **Các qui ước dùng để vẽ chi tiết:** (Hình 4)

- Vách tế bào nhuộm màu hồng thì vẽ nét đơn, nhuộm màu xanh thì vẽ nét đôi (2 nét gần hay xa nhau là tùy theo độ dày của vách tế bào).
- Đối với mô dày: Những vùng dày lên của vách tế bào thì tô đen.
- Đối với mạch gỗ: Tô đen ở  $\frac{1}{4}$  phía trên bên trái của nét trong.







**Hình 4. Các qui ước dùng vẽ chi tiết cấu tạo vi phần**

### 3. VẬT LIỆU

#### 3.1. Nguyên liệu, hóa chất

Phẩm nhuộm Carmino-vert de Mirande/ xanh methylene	Acid acetic 10%
Nước cất	Glycerin 50%
Javel	

#### 3.2. Dụng cụ, thiết bị

Lame	Kính hiển vi: dùng chung
Lamelle	Lưỡi dao
Cán dao mổ	

### 4. THỰC HÀNH

❖ Chuẩn bị các mẫu vật sau:

- Thân Diếp cá non và thân Măng tây
- Rễ - Thân – Lá cây rau muống

❖ Thực hiện tiêu bản vi phẫu của các mẫu vật trên

❖ Quan sát và vẽ hình

a. Cắt ngang và nhuộm kép thân Diếp cá non và thân Măng tây

❖ **Thân Diếp cá (non) (thân cấp 1, lớp Ngọc lan)**

Vi phẫu thân gồm 3 vùng rõ rệt:

- Biểu bì.

- Vùng vỏ từ hạ bì đến nội bì, vùng này nhỏ hơn vùng trung trụ, gồm các mô: hạ bì, mô mềm vỏ, nội bì.

- Vùng trung trụ gồm các mô: trụ bì, bó libe gỗ, mô mềm tuỷ.

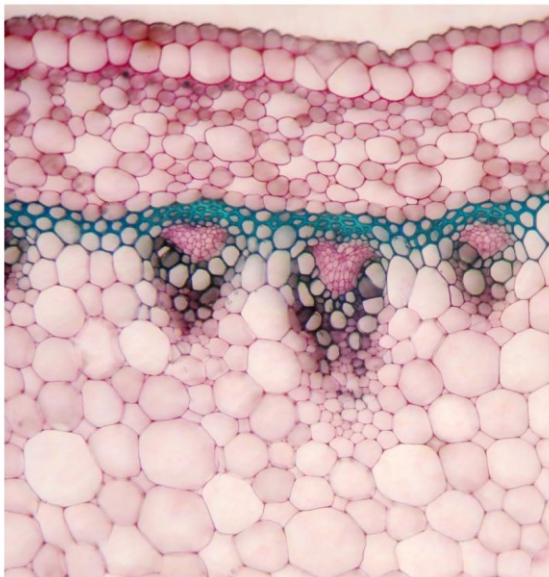
#### ❖ Thân Măng tây (thân cây lớp Hành)

Lớp nội bì không xác định được, do đó không phân biệt được chính xác ranh giới giữa vùng vỏ và vùng trung trụ như ở thân cây lớp Ngọc lan. Tuy nhiên, vi phẫu thân cũng có 3 vùng rõ rệt:

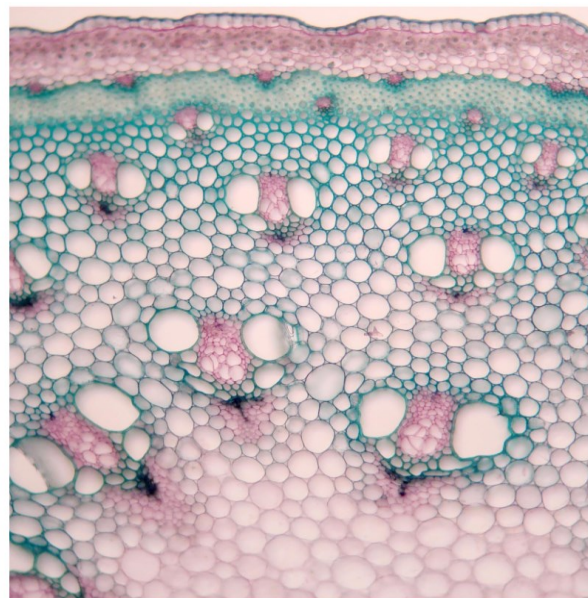
- Biểu bì

- Vùng vỏ từ biểu bì đến hết mô mềm vỏ, vùng này nhỏ hơn vùng trung trụ.

- Vùng trung trụ từ vòng đai mô cứng trở vào trong. Hệ thống dẫn là các bó libe-gỗ riêng biệt theo kiểu gỗ hình chữ V kẹp libe ở giữa



Hình 15. Cấu tạo thân Diệp cá



Hình 16. Cấu tạo thân Măng tây

b. Thực hiện tiêu bản vi phẫu rễ và lá cây **rau muống non**

### ❖ Rễ Rau muống non (rễ cấp 1 lớp Ngọc lan)

Vi phẫu rễ cấu tạo đối xứng qua trục, gồm 2 vùng rõ rệt:

- Vùng vỏ từ tầng lông hút đến nội bì, vùng này chiếm khoảng 2/3 bán kính vi phẫu, gồm các mô: tầng lông hút, tầng tằm chất bần, mô mềm vỏ và nội bì.
- Vùng trung trụ gồm từ trụ bì trở vào trong, vùng này chiếm khoảng 1/3 bán kính vi phẫu, gồm các mô: trụ bì, các bó libe, các bó gỗ và tủy



Hình 12. Cấu tạo rễ Rau muống (non)

Vi phẫu lá có cấu tạo đối xứng qua một mặt phẳng, gồm 2 phần :

- Gân giữa: Mặt dưới lồi nhiều hơn so với mặt trên. Hệ thống dẫn gồm gỗ ở trên và libe ở dưới, xếp thành hình cung, cấu tạo cấp 1; có thể gặp thêm hai bó libe- gỗ của gân phụ, hình tròn, với gỗ ở trong và libe ở ngoài.
- Thịt lá có cấu tạo dị thể không đối xứng.

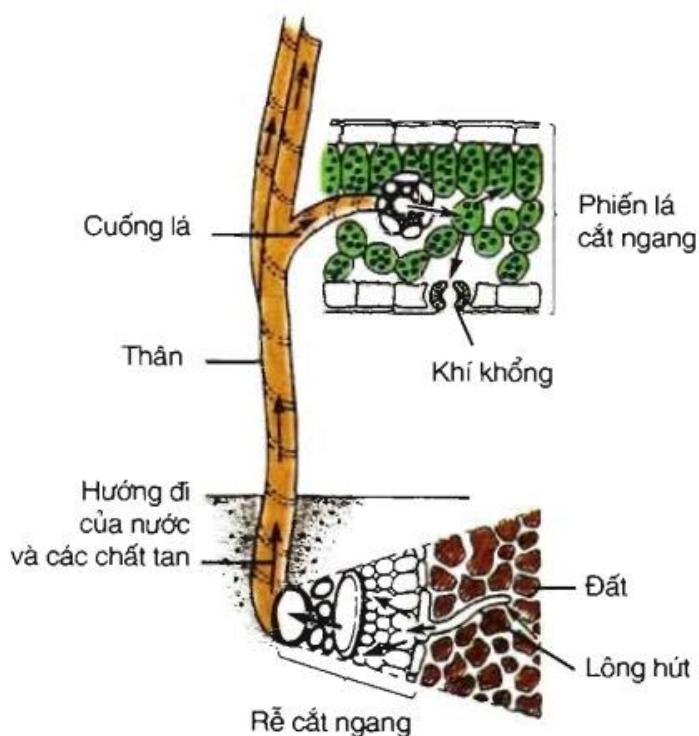
## 5. YÊU CẦU KẾT QUẢ

**Vẽ sơ đồ cấu tạo và chú thích cụ thể cấu tạo chi tiết của các mẫu:** các mô từ ngoài vào trong, hình dạng và cách sắp xếp của các tế bào trong từng mô (**kèm hình ảnh minh họa**)

## BÀI 2: SỰ HẤP THU DINH DƯỠNG CỦA THỰC VẬT

### 1. LÝ THUYẾT

Ở cây trồng việc hấp thu dinh dưỡng sẽ qua 2 con đường chính: qua đường rễ và qua đường lá (việc chích dinh dưỡng qua thân/mạch là quá trình can thiệp nhân tạo).



### Những Cách Hấp Thu Dinh Dưỡng Ở Cây Trồng

#### 1. Cơ chế hấp thụ và vận chuyển chất dinh dưỡng qua đường rễ

Rễ cây là cơ quan hút nước và các chất dinh dưỡng của thực vật trên cạn. Nhờ lông hút mà nước, muối khoáng được vận chuyển từ đất qua vỏ tới mạch gỗ và đi lên các bộ phận của cây. Rễ hút các chất dinh dưỡng theo hai hình thức:

### **a. Cơ chế hút chất dinh dưỡng bị động**

Hút bị động là hình thức hấp thu chất dinh dưỡng nhờ sự khuếch tán các chất do chênh lệch nồng độ. Chất từ nơi có nồng độ cao di chuyển đến nơi có nồng độ thấp mà không cần tiêu hao năng lượng. Cơ chế hút khoáng thụ động này không có tính chọn lọc. Không phụ thuộc vào hoạt động sinh lý của cây.

Bón phân là một kỹ thuật chăm sóc cây trồng. Giúp cung cấp thêm lượng dinh dưỡng cần thiết cho cây sinh trưởng và phát triển

### **b. Cơ chế hút chất dinh dưỡng chủ động**

Hút thụ động là hình thức chất dịch chuyển từ nơi có nồng độ thấp đến nơi có nồng độ cao và cần sự tiêu hao năng lượng để thực hiện quá trình. Phần lớn các chất dinh dưỡng đưa vào cơ thể thực vật qua hình thức này.

Quá trình hấp thu chất dinh dưỡng của cây có liên quan tới quá trình hô hấp của rễ. Điều kiện cần thiết cho quá trình hấp thu chất dinh dưỡng là quá trình hô hấp. Sự hút nito từ gốc nitrat với sự đào thải  $\text{CO}_2$  và các sản phẩm của quá trình hô hấp, trao đổi các anion và cation luôn được đảm bảo một cách liên tục.

Quá trình hấp thu chủ động giúp cây có thể hút các chất dinh dưỡng với hàm lượng thấp hơn từ đất vào rễ. Màng tế bào bán thấm, không cho các ion từ trong tế bào đi ra ngoài.

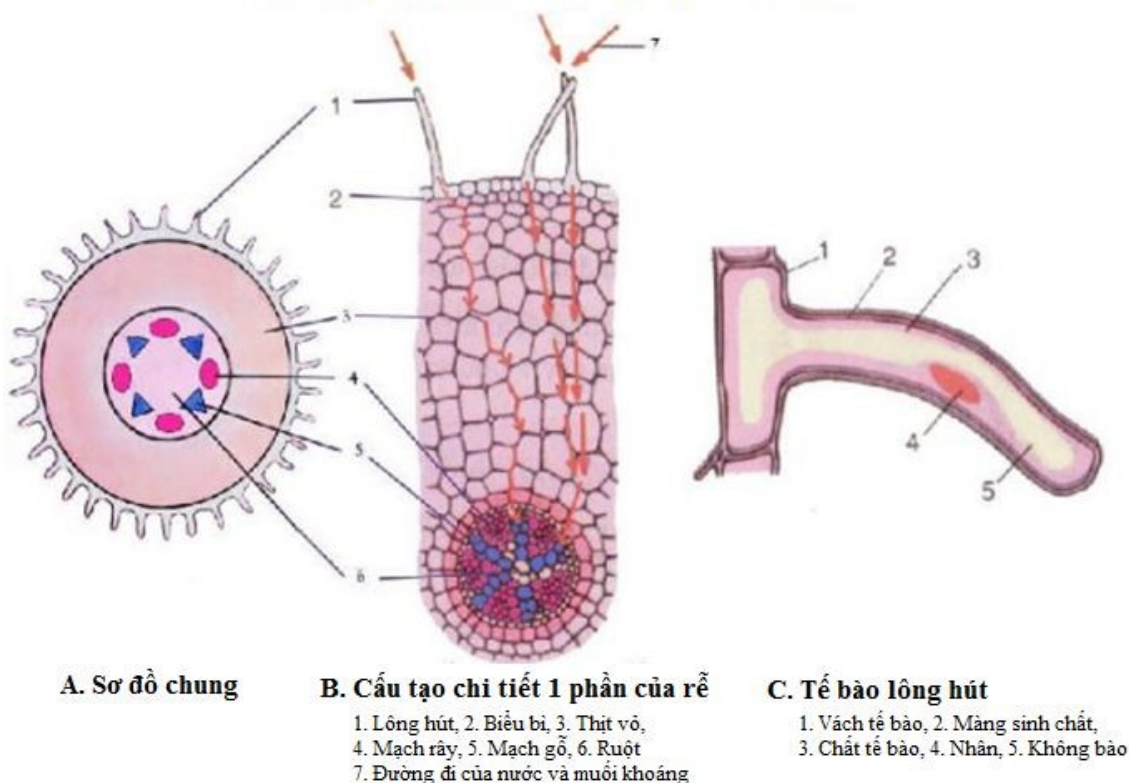
Quá trình này được diễn ra khi xuất hiện một loại chất mang trên bề mặt màng, chúng có thể tương tác với các ion bên ngoài màng, vừa vận chuyển chúng qua màng. Phức hệ chất mang – ion sau khi xâm nhập vào trong màng được phá hủy, giải phóng ion và chất mang lại quay lại mang tế bào.

Các chất dinh dưỡng khi được rễ hấp thụ từ đất, được chuyển hóa ít nhiều tại bộ rễ, tạo thành các sản phẩm trung gian, đồng hóa. Hình thành hai dòng vận chuyển ở rễ, là dòng



đi lên thân lá và dòng từ lá xuống rễ. Dòng đi lên chủ yếu là vận chuyển các chất để lá cây tổng hợp, dự trữ vào hoa, quả. Dòng đi xuống là các chất được lá cây đồng hóa, xuống tích trữ ở hạt, củ và bộ rễ.

### CẤU TẠO MIỀN HÚT VÀ SỰ HÚT CỦA RỄ



## 2. Cơ chế hấp thụ chất dinh dưỡng qua đường lá

Trên bề mặt lá có các lỗ khí khổng. Là các lỗ cực nhỏ, giúp cây thoát hơi nước, cân bằng nhiệt độ trong cây, mở để  $\text{CO}_2$  đi vào bên trong tham gia cho quá trình quang hợp. Các chất khí như  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NH}_3$  cũng có thể đi vào lá qua khí khổng, cũng được cây đồng hóa trở thành chất hữu cơ. Hàng ngày cây có thể hấp thụ qua lá 100 – 450g/ha  $\text{NH}_3$ .

Một số ion còn thẩm thấu trực tiếp qua lớp biểu bì lá, con đường này phụ thuộc vào nhiều cấu tạo của lá cây, tầng cutin... Quá trình hút ion vào ban đêm thường hoạt động và diễn ra mạnh hơn do khí khổng mở. Lá già hấp thụ kém hơn các lá còn non.



Hiệu quả hấp thu qua lá lên đến 95% tuy nhiên không thể thay thế dinh dưỡng hấp thu qua rễ vì hàm lượng không cao.

### ***3. Các yếu tố ảnh hưởng lên sự hấp thu chất dinh dưỡng của thực vật***

Quá trình hấp thu dinh dưỡng của cây trồng chịu ảnh hưởng của nhiều các yếu tố khác nhau. Từ bên trong cây trồng và từ môi trường ngoài.

#### **a. Tình trạng sức khỏe của cây trồng**

Cây trồng khỏe, phát triển mạnh thì nhu cầu về dinh dưỡng càng cao. Rễ cây cần tăng cường hấp thu và vận chuyển các chất lên để phát triển. Nếu cây yếu ớt, phát triển chậm, bị sâu bệnh thì quá trình hấp thu chất dinh dưỡng cũng kém.

Quá trình quang hợp, hô hấp, trao đổi chất càng mạnh thì hấp thu dinh dưỡng càng mạnh. Bởi nguồn nguyên liệu của bộ máy hô hấp, quang hợp là nước, các chất khoáng đưa từ rễ lên.

Cây ở thời kỳ sinh trưởng mạnh, ra hoa, kết trái nhu cầu về dinh dưỡng. Khả năng hấp thu mạnh hơn ở các thời kỳ cuối, khi cây đã già yếu.

#### **b. Hàm lượng chất dinh dưỡng trong đất, phân bón**

Cây lấy dinh dưỡng từ đất và phân bón. Khi bón phân vào đất, ở nồng độ thích hợp, mức hấp thụ của cây sẽ dễ dàng hơn, cây hấp thụ được nhiều hơn. Ở nồng độ cao, cây hấp thụ quá nhiều. Đặc biệt là theo cơ chế thụ động. Các chất dịch chuyển ồ ạt vào cây, sẽ làm cây ngộ độc, cháy lá, thối rễ. Còn khi ở nồng độ quá thấp, làm cây khó khăn trong việc hấp thu từ đất.

Nồng độ của các chất dinh dưỡng còn ảnh hưởng qua lại với nhau. Có một số nguyên tố mà khi có mặt nguyên tố này ở nồng độ cao sẽ làm ức chế việc hấp thu nguyên tố kia.

Ví dụ: Khi có mặt Kali ở nồng độ cao, cây sẽ hấp thụ nhiều kali, gây cản trở việc hấp thụ canxi vào, dẫn đến thiếu canxi cây phát triển yếu ớt, dễ gãy, dễ bị sâu bệnh tấn công.

*Một số nguyên tố có quan hệ hỗ trợ lẫn nhau, là khi có mặt nguyên tố này sẽ tăng khả năng hấp thụ nguyên tố khác. Ví dụ, có mặt Kali sẽ làm tăng khả năng hút ion  $NO_3^-$ ...*

Ngoài ra, các chất dinh dưỡng từ đất hay từ phân bón thường ở dạng khó tiêu, để cây hấp thụ được dễ dàng cần một số loại vi sinh vật đất phân giải, hòa tan, các phản ứng hóa học xảy ra. Một số chất còn bị keo đất giữ lại, làm cây khó hấp thụ.

Cần bổ sung thêm vào đất các loại chất hữu cơ, thường là từ các loại phân bón hữu cơ, phân bón hữu cơ vi sinh, phân vi sinh có thể tăng cường hệ vi sinh vật phân giải, chuyển hóa thành dạng dễ hấp thụ hơn cho cây trồng. Đồng thời, cung cấp nguồn dinh dưỡng dễ tiêu, cây có thể hấp thụ, chuyển hóa luôn.

### **c. Yếu tố môi trường**

Các yếu tố về nhiệt độ, ánh sáng, lượng mưa, độ ẩm,...đều có ảnh hưởng tới quá trình hút, hấp thụ chất dinh dưỡng. Điều kiện thích hợp sẽ làm quá trình diễn ra thuận lợi hơn.

Khi trời quá nóng, làm sự mất nước của cây diễn ra liên tục, cây không đủ lượng nước để hòa tan các chất khoáng, khiến quá trình hấp thụ vận chuyển từ rễ lên khó khăn. Ngược lại, khi điều kiện ngập lụt, úng nước, trong điều kiện yếm khí, hô hấp giảm cũng khiến quá trình hút chất dinh dưỡng kém.

### **d. Các yếu tố như độ pH**

Môi trường kiềm hút các cation mạnh hơn, còn môi trường axit hút anion nhiều hơn cation. pH còn ảnh hưởng tới khả năng hòa tan, dạng tồn tại của các nguyên tố dinh dưỡng, hoạt động phân giải của các loại vi sinh vật trong đất.

## 2. VẬT LIỆU

### 2.1. Nguyên liệu, hóa chất

$\text{CuCl}_2$	$\text{FeSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$
$\text{H}_3\text{BO}_3$	$\text{Na}_2\text{EDTA}$
$\text{H}_2\text{MoO}_4 . \text{H}_2\text{O}$	$\text{KNO}_3$
$\text{MnCl}_2 . 4 \text{H}_2\text{O}$	$\text{MgSO}_4$
$\text{ZnSO}_4$	$\text{CaCl}_2.2\text{H}_2\text{O}$
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Cây cà chua/ rau mồng tơi 8 ngày tuổi

### 2.2. Dụng cụ, thiết bị

Bình nuôi cây	Bercher 200mL
Nút xốp/ nút bông	Ống đong
Khay trồng cây	Bình phun tia
Giấy bạc	Máy lắc
Đất trồng cây	

## 3. THỰC HÀNH

Thử nghiệm 6 chế độ dinh dưỡng đối với sự phát triển của cây cà chua/ xà lách:

1. Dinh dưỡng hoàn toàn
2. Chỉ có nước
3. trừ N
4. trừ Ca
5. trừ P
6. trừ Fe

Điều này đòi hỏi phải tạo ra năm dung dịch dinh dưỡng khác nhau. Để làm điều này, hãy sử dụng các môi trường gốc đã được cung cấp cho bạn. Tất cả đều được điều chỉnh độ pH từ 6 đến 6,5 sau khi chuẩn bị, để được môi trường dinh dưỡng có pH không đổi. Điều này là cần thiết cho sự tăng trưởng tối ưu.

Tất cả các môi trường (ngoại trừ 2 và 6 – cần kiểm tra cẩn thận!) đều có hai dung dịch bổ sung (A và B) được pha như sau:

<b>Dung dịch A – sử dụng 1mL/ L môi trường dinh dưỡng</b>	
<b>Thành phần vi lượng</b>	<b>g/L</b>
CuCl <sub>2</sub>	0.1
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3.0
H <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	0.05
MnCl <sub>2</sub> . 4 H <sub>2</sub> O	0.05
ZnSO <sub>4</sub>	0.1

<b>Dung dịch B – Sắt – sử dụng 2 mL/ L môi trường dinh dưỡng</b>	
<b>Thành phần</b>	<b>mg</b>
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	2780
Na <sub>2</sub> EDTA	3730
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cân từng chất và hòa tan trong 100mL nước cất trong từng becher riêng</li> <li>- Khuấy đều, gia nhiệt đến khi ấm có khói bốc lên là được</li> <li>- Đổ từ từ dung dịch FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O vào dung dịch Na<sub>2</sub>EDTA, vừa cho vào vừa khuấy đều.</li> <li>- Định mức lại cho đủ 200mL bằng nước cất, để nguội và cho vào bình tối (phủ giấy bạc), bảo quản lạnh.</li> </ul>	

Pha 1 L dung dịch dinh dưỡng cho mỗi nhóm theo bảng sau:

<b>Thành phần dinh dưỡng</b>	<b>Trong 1L môi trường</b>	<b>Hoàn toàn</b>	<b>Chỉ có nước</b>	<b>Trừ N</b>	<b>Trừ Ca</b>	<b>Trừ Fe</b>	<b>Trừ P</b>
1. KNO <sub>3</sub>	1900 mg	X			X	X	X
2. MgSO <sub>4</sub>	370 mg	X		X	X	X	X
3. CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440 mg	X		X		X	X
4. KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170 mg	X		X	X	X	
5. Iron (dd B)	2 mL	X		X	X		X
6. Vi lượng (dung dịch A)	1 mL	X		X	X	X	X

- Vật liệu trồng được sử dụng là cây giống 8 ngày tuổi. Cần thận loại bỏ chúng khỏi khay gieo nhẹ nhàng rửa sạch rễ của chúng.
- Cắm rễ cây xuyên qua lỗ chính giữa trên nắp lọ, sau đó cần thận đặt nút xốp vào lỗ để giữ cây thẳng đứng. Đổ đầy bình dung dịch dinh dưỡng thích hợp. Vặn nắp cây vào lọ và đặt ở nơi có ánh sáng. Chế độ ánh sáng sẽ là chu kỳ quang học 16h (sáng từ 6h sáng – 10h tối).
- Hệ thống rễ phải được thông khí; nếu không cây sẽ chết vì thiếu oxy (thiếu oxy để hô hấp). Do đó, hãy lắp pipet Pasteur gắn với nguồn không khí vào lỗ nhỏ hơn trên nắp và thổi khí từ từ qua dung dịch. Sau khi cài đặt tốc độ không khí, hãy dùng giấy bạc che phần thủy tinh của chậu để ngăn ánh sáng và ngăn chặn sự phát triển của tảo. Kiểm tra 2 lần/tuần để biết mức dung dịch dinh dưỡng trong lọ và bổ sung nếu cần.
- Sau 2 tuần, lấy cây ra khỏi lọ và cân toàn bộ cây để lấy trọng lượng tươi. Sau đó sấy khô đến nhiệt độ không đổi để thu được trọng lượng khô. So sánh các nghiệm thức môi trường dinh dưỡng với nhau.

#### **4. YÊU CẦU KẾT QUẢ**

- Quan sát quá trình phát triển của cây qua từng tuần, bao gồm: chiều cao của cây từ nắp lọ đến ngọn thân cây và các hình thức bên ngoài của cây.
- Viết báo cáo và biện luận so sánh các số liệu trọng lượng tươi- khô dưới dạng biểu đồ. Ghi nhận sau 2 tuần.

## BÀI 3: SỰ HÔ HẤP Ở THỰC VẬT

### 1. LÝ THUYẾT

Hô hấp ở thực vật bản chất chính là hô hấp tế bào là một chuỗi các phản ứng oxy hóa khử, khử tách điện tử và hydro từ nguyên liệu hô hấp chuyển tới oxy không khí và tạo thành nước. Năng lượng giải phóng ra trong các phản ứng oxy hoá khử đó được cố định lại trong các mối liên kết giàu năng lượng. Thông qua chuỗi các phản ứng này phân tử glucozo được phân giải từ từ, năng lượng giải phóng không ồ ạt. Tốc độ của quá trình hô hấp phụ thuộc vào nhu cầu năng lượng của tế bào, ngoài ra còn có các yếu tố khác như enzyme, nhiệt độ, ...

Quá trình hô hấp được chia làm hai giai đoạn chính là:

- Giai đoạn 1: gồm quá trình phân giải oxy hoá chất hữu cơ với sự tách  $H^+$  ra khỏi cơ chất hô hấp và giải phóng  $CO_2$ .

- Giai đoạn 2: gồm quá trình oxy hoá liên tục  $H_2$  liên kết với các coenzym oxy hoá khử là  $NADH_2$ ,  $FADH_2$ ,  $NADPH_2$  để giải phóng năng lượng tích lũy trong các liên kết cao năng của ATP.

Cơ chất hô hấp có thể là các chất hữu cơ khác nhau, nhưng chủ yếu là glucid và trực tiếp là glucose. Các chất khác phải được chuyển hóa thành đường trước khi tham gia hô hấp.

Bào quan hô hấp: Ty thể là bào quan đóng vai trò chính trong quá trình hô hấp và được xem là “trạm biến thế năng lượng” của tế bào. Hình dạng, số lượng, kích thước của ti thể thay đổi rất nhiều phụ thuộc vào từng loài, từng cơ quan, loại tế bào khác nhau và mức độ trao đổi chất của chúng.

Trong quá trình hô hấp môi trường đóng vai trò quan trọng được thể hiện qua các yếu tố sau:

- Nước: Cần cho hô hấp, mất nước làm giảm cường độ hô hấp; đối với các cơ quan đang ở trạng thái ngủ (hạt) thì tăng lượng nước sẽ dẫn đến quá trình hô hấp tăng; cường độ hô hấp tỉ lệ thuận với hàm lượng nước trong cơ thể.

- Nhiệt độ: Khi nhiệt độ tăng thì cường độ hô hấp tăng đến giới hạn chịu đựng của cây. Nhiệt độ tối ưu cho quá trình hô hấp theo nghiên cứu là từ khoảng 30 độ đến 35 độ C.

- Nồng độ oxy ( $O_2$ ): Nếu trong không khí nồng độ oxi giảm xuống dưới 10% thì hô hấp bị ảnh hưởng, khi giảm xuống 5% thì cây chuyển sang phân giải kỵ khí (năng lượng thấp gây bất lợi cho cây trồng).

- Nồng độ  $CO_2$ : Nếu trong môi trường nồng độ  $CO_2$  cao hơn 40% làm cho hô hấp bị ức chế,  $CO_2$  là sản phẩm cuối cùng của hô hấp hiếu khí và lên men ethylic.

❖ ***Ý nghĩa của quá trình hô hấp ở thực vật:***

Hô hấp được xem là quá trình sinh lí quan trọng của thực vật, có vai trò đặc biệt quan trọng trong quá trình trao đổi chất và chuyển hóa năng lượng. Quá trình hô hấp ở thực vật có những ý nghĩa sau:

- Ý nghĩa sinh học: Hô hấp tế bào là quá trình chuyển hóa năng lượng từ các nguyên liệu hữu cơ (glucozo, oxi, ...) để tạo thành năng lượng ATP. Quá trình hô hấp có ý nghĩa là tạo ra năng lượng cung cấp cho các hoạt động sống cho tế bào và cơ thể. Hô hấp là thực vật sẽ lấy khí oxi để phân giải chất hữu cơ sản sinh ra năng lượng cung cấp cho mọi hoạt động sống cho cây, đồng thời thải ra khí cacbonic và hơi nước. Các năng lượng này được sử dụng cho chính các hoạt động sống của thực vật như tổng hợp nên các chất cần thiết cho tế bào, vận chuyển các chất qua màng, sinh công cơ học, ... Trong quá trình hô hấp còn có giải phóng ra dạng năng lượng nhiệt, năng lượng nhiệt sẽ giúp cơ thể thực vật duy trì nhiệt độ thuận lợi cho các hoạt động sống của cơ thể thực vật

- Có thể thấy quá trình hô hấp của thực vật đã giúp biến những nguyên liệu hữu cơ nghèo nàn thành các sản phẩm vô cơ giàu năng lượng cung cấp cho tất cả hoạt động sống của cơ thể thực vật và tạo ra những sản phẩm trung gian làm nguyên liệu cho các quá trình trao đổi chất khác nhau ở trong cây. Đồng thời hô hấp có thể tiếp nhận các sản phẩm đang được phân giải đang dở từ hợp chất khác và tiếp tục phân giải triệt để.



## 2. VẬT LIỆU

### 2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Lá cây 1 lá mầm

Lá cây 2 lá mầm

Vaseline

safranine

glycerin

Giấy  $\text{CoCl}_2$

### 2.2. Dụng cụ, thiết bị

Kẹp giấy

Đĩa Petri

cốc thủy tinh

kính hiển vi

Dây treo

Mặt kính đồng hồ

Bàn chải

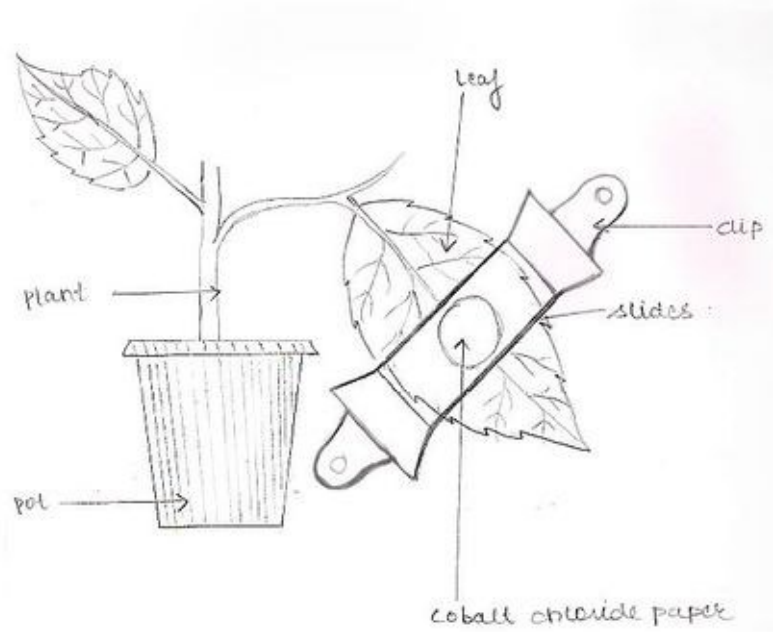
Kim

Đồng hồ bấm giờ

## 3. THỰC HÀNH

### a. Thí nghiệm 1: Sự thoát hơi nước của lá

Drawing courtesy- Ayushi Kalaria (ISC 2014)



- Lấy hai dải giấy coban clorua từ bình hút ẩm.
- Đặt từng cái một lên mỗi bề mặt của chiếc lá.
- Đậy chúng hoàn toàn bằng lam kính.
- Bịt kín các phiên kính bằng Vaseline.
- Giữ lam kính cố định bằng dây cao su hoặc dùng kẹp lá thay cho lam kính để giữ các hình vuông.

**Lưu ý:**

- Mặt trên của lá có số lượng khí khổng ít hơn trong khi mặt dưới có số lượng khí khổng lớn. Do đó, cần nhiều thời gian hơn để giấy coban clorua ở mặt trên chuyển từ màu xanh sang màu hồng.
- Vì số lượng khí khổng ở bề mặt dưới nhiều hơn nên giấy coban clorua mất ít thời gian hơn để chuyển sang màu hồng từ màu xanh ở bề mặt dưới. Điều này cũng cho thấy sự thoát hơi nước chủ yếu ở mặt dưới, tức là sự thoát hơi nước không đều xảy ra từ hai phía của lá.

**b. Thí nghiệm 2: Sự sắp xếp và phân bố khí khổng ở lá**

- Lấy mẫu lá cây 1 lá mầm, bóc một phần nhỏ của lớp biểu bì phía dưới rồi ngâm vào nước trong mặt kính đồng hồ.
- Lấy mẫu ra khỏi nước, đặt lên lam kính và thêm 2-3 giọt để safranin nhuộm màu.
- Loại bỏ vết bẩn dư thừa bằng giấy lọc và nhỏ một giọt glycerine lên mẫu.
- Quan sát dưới kính hiển vi (độ phóng đại cao).
- Đếm số lượng khí khổng trên mỗi vùng quan sát và lấy giá trị trung bình.
- Tìm diện tích trường của kính hiển vi bằng cách đo đường kính bằng thước kính đã hiệu chuẩn hoặc thước trong suốt.
- Diện tích yêu cầu bằng  $\pi r^2$  (trong đó  $r$  là bán kính của trường nhìn và  $\pi=3,142$ ).
- Sau đó có thể tính được số lượng khí khổng trên mỗi milimet vuông.

- Tương tự, từ mặt bên kia của lá, đếm số lượng khí khổng nếu có
- Lặp lại quy trình cho lá 2 lá mầm

### c. Thí nghiệm 3: Sự thoát hơi nước qua khí khổng

- Lấy 4 lá tươi và dán nhãn A, B, C, D, E.
- Lá A được phủ một lớp Vaseline trên cả hai bề mặt.
- Mặt dưới lá B được phủ một lớp Vaseline.
- Ngược lại, mặt trên của lá C được phủ một lớp Vaseline.
- Lá D không được phủ.

Vaseline đóng khí khổng và do đó ngăn ngừa sự mất nước qua khí khổng.

- Những chiếc lá được buộc theo trình tự tương tự trên dây và đặt dưới ánh sáng mặt trời. Quan sát và ghi nhận hiện tượng sau 1 ngày và 2 ngày.

❖ **Lưu ý:** Thực hiện các thí nghiệm với 02 loại mẫu của cây 1 lá mầm và cây 2 lá mầm

## 4. YÊU CẦU KẾT QUẢ

- Quan sát thời gian thay đổi màu của giấy coban clorua chuyển từ xanh sang hồng. Thời gian cần thiết để thay đổi khác nhau trên cả hai bề mặt.

Thời gian để giấy coban clorua chuyển từ màu xanh sang màu hồng ở mặt trên  
= \_\_\_\_ phút.

Thời gian để giấy coban clorua chuyển từ màu xanh sang màu hồng ở mặt dưới  
= \_\_\_\_ phút.

- Tính toán mật độ khí khổng trên cả 2 mặt lá
- Viết báo cáo và trình bày hình ảnh minh họa cho các thí nghiệm

## **BÀI 4: VAI TRÒ ACID GIBBERELIC LÊN SỰ NẤY MẦM CỦA HẠT**

### **1. LÝ THUYẾT**

Gibberellin là một hormone nội sinh được tổng hợp mạnh trong lục lạp thực vật. Đồng thời Gibberellin còn được tổng hợp trong phôi đang sinh trưởng và trong các cơ quan đang sinh trưởng khác nhau như quả non, lá non, rễ non.

Gibberellin có tác dụng điều chỉnh sự phát triển và ảnh hưởng đến hàng loạt quá trình phát triển của cây như làm cho hạt nảy mầm, thân dài, ra hoa, tình trạng già yếu của lá và trái, kích thích enzym,....

Có rất nhiều loại Gibberellin được tìm thấy và phân lập trong thực vật, nấm, vi sinh vật,... Trong đó, GA<sub>3</sub> là loại gibberellin được sử dụng nhiều nhất.

#### **❖ Ảnh hưởng của Gibberellin đến các bộ phận của cây**

Chức năng chính của Gibberellin là kích thích sự kéo dài của tế bào, từ đó kích thích tăng trưởng chiều dài của rễ, cành, lóng và chiều cao thân cây.

Gibberellin kích thích sự nảy mầm của hạt và củ; phá bỏ trạng thái ngủ của mầm để chúng nảy chồi.

Gibberellin phân hoá giới tính của hoa và kích thích ra hoa.

Tương tự Auxin, Gibberellin cũng kích thích quá trình hình thành trái và tạo trái không hạt, từ đó, giúp tăng chất lượng năng suất cây trồng, mùa vụ.

Gibberellin và Auxin có sự liên hệ nhất định trong cơ thể thực vật, trong một vài trường hợp, hoạt động của GA bổ sung cho hoạt động của Auxin.

#### **❖ Ứng dụng của Gibberellin vào nông nghiệp**

GA đã được ứng dụng rộng rãi trong sản xuất nông nghiệp và đã mang lại những hiệu quả to lớn như kích thích sự sinh trưởng của cây để tăng sản lượng (như với các rau ăn lá), kích thích ra hoa nhanh và nhiều, hạn chế rụng hoa, rụng quả non và tăng kích thước của quả (với các cây lấy quả), kích thích hạt nảy mầm (với lúa...) và nhiều ứng dụng khác. Với mỗi nhóm cây có thể sử dụng GA tùy theo mục đích.

\* Đối với cây lúa: Thường sử dụng GA để kích thích hạt nảy mầm, kích thích đẻ nhánh, kích thích bông lúc trổ nhanh và thoát, hạn chế nghẹn bông.

\* Đối với cây mía: Phun vào giai đoạn bắt đầu vươn lóng làm lóng dài và to, có thể tăng năng suất 20-30%. Phun GA cho cây đay có thể làm chiều cao cây tăng gấp 2 lần.

\* Đối với các loại rau ăn lá: như rau cải, rau muống, rau dền... phun 2-3 lần ở giai đoạn cây sinh trưởng mạnh có thể tăng năng suất trên 30%.

\* Đối với cà phê, điều và các cây ăn quả: (nhãn, vải, xoài, chôm chôm, táo, vú sữa...) để kích thích cây ra hoa nhiều, nhanh và đồng loạt phun GA khi mầm hoa bắt đầu hình thành, khoảng 20-30 ngày trước khi trổ hoa chính vụ hoặc sau khi đã thực hiện các biện pháp xử lý ra hoa (để khô hạn, bóc khoanh vỏ hoặc phun, tưới thuốc), phun GA lúc này còn làm tăng tỉ lệ đậu quả, hạn chế rụng hoa và quả non.

Một kết quả nghiên cứu của Trường Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh cho thấy khi phun GA cho cà phê vào giai đoạn hoa bắt đầu hình thành làm cho 80% hoa nở tập trung trong thời gian ngắn 15-20 ngày, quả chín đồng loạt, thuận lợi cho thu hoạch.

- Phun GA khi quả bắt đầu lớn làm quả lớn nhanh, quả to và ít bị rụng. Ở nhiều nước trong nghề trồng nho sử dụng GA rất phổ biến để tăng năng suất và chất lượng nho, có thể làm nho ít hạt hoặc không hạt. Phun cho nho 2 lần khi mầm hoa mới nhú và khi quả mới hình thành.

- Phun GA lên lá và quả khi quả già sắp chín để neo quả trên cây, làm chậm thời gian thu hoạch để giãn vụ hoặc chờ giá cao, với cam quýt, chanh có thể chậm thu hoạch hàng tháng.

Cũng như các chất điều hòa sinh trưởng thực vật khác, các GA thể hiện hiệu quả với cây ở liều rất thấp và phụ thuộc nhiều vào đặc điểm cây và thời điểm sử dụng. Không tự ý tăng liều lượng và cần áp dụng đúng kỹ thuật sử dụng để có hiệu quả cao và không gây ảnh hưởng xấu tới cây. Chú ý kết hợp cung cấp nước và dinh dưỡng theo yêu cầu. Các GA

thuộc nhóm độc IV (LD50 qua miệng > 15.000mg/kg), tuy rất ít độc với người nhưng khi sử dụng cũng cần đảm bảo thời gian cách ly....

### ❖ **Hiện tượng ngủ nghỉ**

Khi hạt hoặc củ vẫn còn sức sống nhưng ở trạng thái đứng yên không nảy mầm được gọi là trạng thái ngủ nghỉ. Trong thời gian ngủ nghỉ có sự giảm sút đáng kể về hoạt động trao đổi chất nhưng khả năng chống chịu lại tăng. Hiện tượng ngủ nghỉ cũng là hình thức thích ứng của thực vật với điều kiện ngoại cảnh bất lợi để bảo tồn nòi giống.

Các thực vật khác nhau hiện tượng ngủ nghỉ khác nhau. Khi hiện tượng ngủ nghỉ chịu tác động của các yếu tố nội tại như: độ chín, thành phần các phytohormon cấu trúc của vỏ hạt, vỏ củ được gọi là **ngủ nghỉ sâu**. Còn lại, khi ngủ nghỉ được gây ra bởi các yếu tố ngoại cảnh bất lợi về nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng được gọi là **ngủ nghỉ bắt buộc**.

Thực tế, người ta lợi dụng hiện tượng này để bảo quản nông sản thông qua việc kéo dài thời gian ngủ nghỉ. Đối với các loại hạt, biện pháp hữu hiệu nhất là phơi hạt cho tới khi độ ẩm nhỏ hơn độ ẩm tới hạn mới đưa vào bảo quản. Ở độ ẩm này, hàm lượng nước tự do thấp, giảm cường độ hô hấp, năng lượng giải phóng ra chỉ đủ để duy trì các hoạt động sống của hạt ở mức tối thiểu. Tương tự, còn có nhiều biện pháp khác nhau như giảm  $O_2$ , tăng  $CO_2$ , xử lý các chất ức chế hô hấp, tăng độ an toàn trong bảo quản.

Ngược lại, khi bảo quản các loại củ (khoai tây, khoai lang, sắn) cần tránh hiện tượng khô héo làm giảm nhanh khối lượng của chúng, gây rối loạn quá trình trao đổi chất và làm giảm chất lượng nông sản. Một trong những giải pháp bảo quản hữu hiệu đối với loại nông sản này là ức chế hô hấp trong điều kiện nhiệt độ thấp làm chậm quá trình trao đổi chất để có thể kéo dài thời gian bảo quản. Ví dụ, khoai tây có thể bảo quản từ 5 đến 8 tháng trong kho có nhiệt độ từ 1-3°C, độ ẩm 85-95%.

Nên trong giai đoạn hạt hoặc củ đang ở giai đoạn ngủ sâu mà đem gieo hạt hoặc mang củ đi trồng thì khả năng nảy mầm của nông sản là rất thấp hoặc là không nảy mầm

### ❖ **Hiện tượng nảy mầm**

Khi hạt, củ đã qua giai đoạn chín sinh lý, chúng đều có thể nảy mầm khi gặp điều kiện thuận lợi. Nếu hiện tượng này có thể xảy ra ngay trong giai đoạn bảo quản khi điều kiện bảo quản không đảm bảo và làm giảm nhanh chất lượng của các nông sản .

Ví dụ, hạt hướng dương có lượng dầu trong hạt trước nảy mầm là 55,32% và sau nảy mầm chỉ còn 28,81%

Hoặc hạt ngô hàm lượng tinh bột trước nảy mầm là 73% và sau nảy mầm chỉ còn 17,15%. Đây cũng là một dạng hư hỏng của khối nông sản trong quá trình cất giữ. Hiện tượng nảy mầm xảy ra 2 quá trình biến đổi về sinh lý và hoá sinh đặc trưng sau :

#### **\* Biến đổi hoá sinh**

Khi hạt nảy mầm quá trình thủy phân tăng lên đột ngột. Các enzyme thủy phân như  $\alpha$ -amylaza, proteaza, lipaza được tăng cường tổng hợp.

Nhờ vậy mà chất dự trữ ở dạng các polime được phân giải thành các monome làm thay đổi hoạt động thẩm thấu của tế bào.

Và phần lớn các sản phẩm thủy phân này được sử dụng làm nguyên liệu cho quá trình hô hấp.

**\* Biến đổi sinh lý- Biến đổi sinh lý đặc trưng nhất trong quá trình nảy mầm là sự tăng cường độ hô hấp.**

Vì vậy, cơ sở khoa học của các biện pháp kỹ thuật trong ngâm ủ hạt giống là tác động vào quá trình hô hấp, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình hô hấp xảy ra với cường độ cao để cung cấp đủ năng lượng và sản phẩm trung gian cần thiết cho sự nảy mầm của hạt giống.

- Thay đổi về cân bằng hormone: Cân bằng hormone điều chỉnh sự nảy mầm hay ngủ nghỉ là tỷ lệ giữa gibberellin (GA) và abscisic acid (ABA).

Khi hạt đang ở trạng thái ngủ nghỉ, hàm lượng ABA rất cao và GA là không đáng kể.

Ngược lại, khi hạt giống hút nước, phôi phát động sinh trưởng tăng cường tổng hợp GA,

GA vận chuyển ra khỏi phôi và kích thích sự tổng hợp  $\alpha$ -amylase từ lớp aleron. Đây là enzyme quan trọng thực hiện quá trình phân giải tinh bột thành đường sử dụng làm nguyên liệu hô hấp. Đồng thời một phần trong số đường tạo thành được vận chuyển vào phôi làm nguyên liệu thúc đẩy sự sinh trưởng, phát triển của mầm.

Do đó, trong thực tế sản xuất, để phá bỏ ngủ nghỉ, kích thích sự nảy mầm của hạt, của củ người ta phải phá bỏ trạng thái ngủ nghỉ bằng cách tạo mọi điều kiện thuận lợi cho quá trình hô hấp như cung cấp đầy đủ  $H_2O$ , nhiệt độ, oxy hoặc có thể điều chỉnh sự cân bằng giữa hai loại hormone này bằng cách xử lý  $GA_3$  sẽ giúp hạt, củ, quả nảy mầm nhanh và đều.

Quan sát phôi điều chỉnh sự biểu hiện của gen  $\alpha$ -amylase trong aleurone lúa mạch thông qua việc giải phóng acid gibberellic đã trở thành một trong những quan sát kinh điển về sinh lý thực vật.

## **2. VẬT LIỆU**

### **2.1. Nguyên liệu, hóa chất**

- |                             |                              |
|-----------------------------|------------------------------|
| ✓ Bacto-agar                | ✓ Nước cất vô trùng 500mL    |
| ✓ tinh bột khoai tây        | ✓ Chloramphenicol 0.3 mg/ mL |
| ✓ Gibberelic acid 1 $\mu$ M | ✓ Hạt giống lúa/ đậu         |
| ✓ Cycloheximide 0.15 mg/ml  | ✓ Còn 70 và Còn 96           |

### **2.2 Dụng cụ, thiết bị**

- |                      |                 |
|----------------------|-----------------|
| ✓ Đĩa petri 8 cái    | ✓ Cốc thủy tinh |
| ✓ Dầu tip xanh, vàng | ✓ Javel         |
| ✓ Micro pipet        | ✓ Cán dao       |
| ✓ Dao mổ             | ✓ Đèn cồn       |

## **3. THỰC HÀNH**

### **a. Chuẩn bị môi trường**



- 100mL môi trường thạch tinh bột (1% bacto-agar và 2% tinh bột khoai tây hòa tan), hấp khử trùng, nấu chảy trước khi sử dụng.
- 7 đĩa petri lớn hấp vô trùng, đánh dấu từ 1 đến 7
- Sử dụng pipet có đầu vô trùng, thêm 1,0 ml dung dịch chloramphenicol (chloromycetin) (nồng độ 0,3 mg/mL) vào mỗi trong số bảy đĩa petri. Chỉ mở nắp mỗi đĩa đủ để phân phối dung dịch, sau đó đậy nắp lại.
- Bổ sung các thành phần bổ sung vào đĩa petri như sau:

<b>Petri dish No.</b>	<b>Nước cất</b>	<b>Gibberelic acid 1 <math>\mu</math>M</b>	<b>Cycloheximide 0.15 mg/ml</b>
<b>1</b>	1.0 ml		
<b>2</b>	1.0 ml		
<b>3</b>	1.0 ml	10 $\mu$ l	
<b>4</b>	1.0 ml	100 $\mu$ l	
<b>5</b>		100 $\mu$ l	1.0 ml
<b>6</b>		1.0 ml	
<b>7</b>		1.0 ml	1.0 ml

- Xoay nhẹ các đĩa đã đậy nắp để trộn các thành phần. Bây giờ, thêm thạch tinh bột đã nguội (nhưng vẫn ở nhiệt độ 50°C hoặc ấm hơn) vào mỗi đĩa, nhanh chóng đậy nắp lại.

(Để trộn kỹ tất cả nguyên liệu có trong đĩa, hãy sử dụng kỹ thuật sau: Xoay mỗi đĩa sáu lần theo chiều kim đồng hồ, sáu lần ngược chiều kim đồng hồ, sáu lần tiến và lùi, sau đó sáu lần từ trái sang phải)

- Trải các đĩa lên mặt bàn để thạch nguội nhanh và đông đặc lại.

#### **b. Chuẩn bị mẫu hạt giống:**

- Đặt 50 hạt giống vào cốc thủy tinh 100 ml hoặc 250 ml và phủ chúng bằng 20 ml thuốc tẩy gia dụng không pha loãng (khoảng 5% NaOCl, natri hypochlorite) để tiêu diệt vi sinh vật trên bề mặt của chúng. Thỉnh thoảng lắc bình trong khoảng thời gian từ 10 đến 20 phút. Đậy cốc bằng lưới hoặc vải thưa để tránh làm mất hạt, sau đó gạn chất tẩy và loại bỏ. Rửa sạch hạt giống bằng 10 phần nước vô trùng riêng biệt, mỗi phần khoảng 10 ml hoặc cho đến khi không còn mùi thuốc tẩy trên hạt. Tiết kiệm đủ nước vô trùng để có thể sử dụng 10 ml vào đĩa petri dùng để cấy hạt.

### **c. Thực hiện:**

- Đặt ít nhất 6 hạt vào đĩa petri chưa sử dụng còn lại, thêm khoảng 10 ml nước vô trùng và đậy nắp lại. Nhúng lưỡi dao mổ vào ethanol 95%, đốt cồn trên ngọn lửa, sau đó tháo một phần nắp đĩa petri để lộ ra ít hạt nhất. Cắt ngang 6 hạt ở giữa. Trong khi cắt chúng, nhóm các nửa hạt còn chứa phôi tách biệt với những hạt không có phôi.

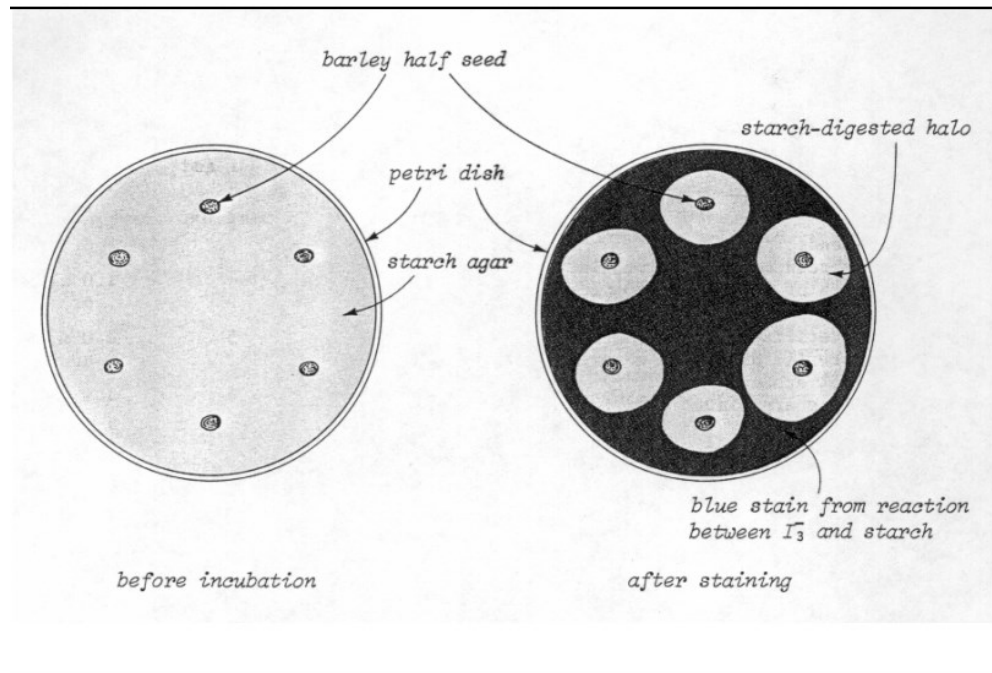
- Dùng kẹp đốt bằng cồn chuyển 6 nửa hạt chứa phôi vào đĩa số 1, dàn đều xung quanh đĩa cách mép đĩa khoảng 2 cm. Gắn các đầu cắt chắc chắn xuống môi trường thạch. Đậy nắp đĩa petri ngay lập tức. Tương tự, chuyển sáu nửa hạt không chứa phôi vào đĩa số 2.

- Cắt 1 nhóm hạt khác, loại bỏ những nửa có phôi và đặt những nửa không có phôi vào đĩa số 3. Lặp lại cho đến khi tất cả các đĩa từ 3-7 đều có sáu *nửa hạt không có phôi*.

- Đặt đĩa ở nơi thuận tiện ở nhiệt độ phòng (20° đến 23°C) trong 05 ngày. (Sau năm ngày, có thể để chúng vào tủ lạnh cho đến đợt quan sát tiếp theo.) Trong thời gian này, amylase do một nửa hạt tiết ra sẽ phân tán ra bên ngoài và tiêu hóa tinh bột trong đĩa.

- Quá trình tiêu hóa tinh bột có thể được phát hiện bằng cách nhìn vào ánh sáng khuếch tán qua các đĩa. Để làm cho tinh bột đã tiêu hóa trở nên rõ ràng hơn, các đĩa có thể được nhuộm bằng iốt. Mở nắp và phun thuốc thử iốt loãng vào các đĩa để tạo thành màu xanh lam của tinh bột chưa tiêu hóa (1,0 gam I<sub>2</sub> và 2,0 gam KI trong 1 lít H<sub>2</sub>O). Ngoài ra, có thể đổ I<sub>2</sub>/KI lên bề mặt thạch, sau đó đổ đi sau 2 hoặc 3 phút. Lưu ý các quang sáng không màu xung quanh một nửa hạt đã tiết ra α-amylase.

- Đo và tính đường kính (cm) trung bình của quang sáng trong mỗi đĩa; liệt kê dữ liệu vào bảng báo cáo.



#### 4. YÊU CẦU KẾT QUẢ

- Viết báo cáo thí nghiệm

- Trả lời các câu hỏi sau đây trong báo cáo:

1. Nửa hạt không chứa phôi có tiết ra nhiều amylase như nửa phôi không? Tại sao?
2. Mô tả ảnh hưởng của các lượng GA<sub>3</sub> khác nhau đến quá trình tiêu hóa tinh bột.
3. Chức năng của cloramphenicol trong đĩa petri là gì?
4. Tác dụng của cycloheximide (actidione) đối với quá trình tiêu hóa tinh bột là gì? Điều này gợi ý gì về cơ chế sản xuất  $\alpha$ -amylase trong lớp aleurone?
5. Liên quan đến cơ chế tác dụng kháng sinh đã biết của cloramphenicol và cycloheximide, tại sao cloramphenicol và cycloheximide lại không ngăn chặn bất kỳ quá trình sản xuất  $\alpha$ -amylase nào?



## **BÀI 5: VAI TRÒ CỦA HOOCMON SINH TRƯỞNG LÊN SỰ KÉO DÀI CÂY**

### **1. LÝ THUYẾT**

- Sinh trưởng là sự tạo mới các yếu tố cấu trúc một cách không thuận nghịch của tế bào, mô, toàn cây và kết quả dẫn đến sự tăng về số lượng, kích thước, thể tích, sinh khối của chúng. Nói chung, sinh trưởng là sự tăng trưởng về mặt lượng.

- Phát triển là quá trình biến đổi về chất bên trong tế bào, mô và toàn cây để dẫn đến sự thay đổi về hình thái và chức năng của chúng. Nói chung, phát triển là phạm trù biến đổi về chất.

#### **❖ CÁC CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN Ở THỰC VẬT:**

- Các chất điều hòa sinh trưởng, phát triển thực vật là các chất hữu cơ có bản chất hóa học khác nhau nhưng đều có tác dụng điều tiết quá trình sinh trưởng, phát triển của cây.

- Các chất điều hòa sinh trưởng phát triển của thực vật bao gồm các phytohormon và các chất điều hòa sinh trưởng tổng hợp nhân tạo. Phytohormon được tổng hợp với một lượng rất nhỏ trong cơ quan bộ phận nhất định của cây và được vận chuyển đến các cơ quan khác để điều hòa các hoạt động liên quan đến quá trình sinh trưởng, phát triển của cây và bảo đảm mối quan hệ hài hòa giữa các cơ quan và của toàn cây.

- Về hoạt tính sinh lý, các chất điều hòa sinh trưởng, phát triển có thể chia thành hai nhóm có tác dụng đối kháng về hiệu quả sinh lý. Đó là các chất kích thích sinh trưởng và các chất ức chế sinh trưởng.

**1.Auxin:** Cơ quan chính tổng hợp auxin trong cây là ngọn chồi. Từ đây, nó được vận chuyển phân cực khá nghiêm ngặt xuống các cơ quan phía dưới theo hướng gốc (không di chuyển ngược lại), nên càng xa đỉnh ngọn thì hàm lượng của auxin càng giảm dần. Auxin có tác dụng điều chỉnh rất nhiều quá trình sinh trưởng của tế bào, cơ quan và toàn cây. Auxin có tác dụng kích thích mạnh lên sự dẫn của tế bào, làm cho tế bào phình to lên chủ yếu theo hướng ngang của tế bào. Sự dẫn của các tế bào gây nên sự tăng trưởng của cơ quan và toàn cây.

**2. Gibberellin :** được tổng hợp trong lá non, một số cơ quan non đang sinh trưởng như phôi hạt đang nảy mầm, quả non, rễ non... Sự vận chuyển của nó trong cây theo hệ thống mạch dẫn và không phân cực như auxin. GA trong cây cũng có thể ở dạng tự do và dạng liên kết với các hợp chất khác

Hiệu quả rõ rệt nhất của GA là kích thích mạnh mẽ sự sinh trưởng và chiều cao của thân, chiều dài của cành, rễ, sự kéo dài của lóng cây hòa thảo. Hiệu quả này có được là do ảnh hưởng kích thích đặc trưng của GA lên sự dẫn theo chiều dọc của tế bào. GA kích thích sự nảy mầm của hạt, củ, nên có tác dụng đặc trưng trong việc phá bỏ trạng thái ngủ nghỉ của chúng. GA có tác dụng hoạt hóa sự hình thành các enzym thủy phân trong hạt như  $\alpha$ -amylase. Enzym này sẽ xúc tác phản ứng biến đổi tinh bột thành đường, tạo điều kiện cho sự nảy mầm.

**3. Cytokinin:** Cơ quan tổng hợp cytokinin là hệ thống rễ. Từ rễ, xytokinin được vận chuyển lên các bộ phận trên mặt đất theo hướng ngược chiều với auxin nhưng không có tính phân cực rõ rệt như auxin. Ngoài rễ, một số cơ quan non đang sinh trưởng cũng có khả năng tổng hợp một lượng nhỏ bổ sung thêm cho nguồn cytokinin của rễ. Hiệu quả đặc trưng nhất của xytokinin là hoạt hóa sự phân chia tế bào. Cytokinin là hoocmon hóa trẻ. Nó có tác dụng kìm hãm sự hóa già và kéo dài tuổi thọ của cây.

Cytokinin có hiệu quả lên sự phân hóa giới tính cái, làm tăng tỷ lệ hoa cái của các cây đơn tính như các cây trong họ bầu bí và các cây có hoa đực, hoa cái riêng rẽ như nhãn, vải...Giới tính cái còn được điều chỉnh bằng etilen. Cytokinin có tác dụng kích thích sự nảy mầm của hạt, củ và cũng có tác dụng phá ngủ như GA nhưng không đặc trưng như GA.

**4. Absciscic acid (ABA):** ABA được tổng hợp ở hầu hết các cơ quan rễ, lá, hoa, quả, củ...nhưng chủ yếu là cơ quan sinh sản. Sau khi hình thành hoa, hàm lượng của ABA tăng lên rất nhanh. ABA được tích lũy nhiều trong các cơ quan đang ngủ nghỉ, cơ quan dự trữ, cơ quan sắp rụng. Sự tích lũy ABA sẽ kìm hãm quá trình trao đổi chất, giảm sút các hoạt động sinh lý và có thể chuyển cây vào trạng thái ngủ nghỉ sâu. Điều chỉnh sự rụng, điều chỉnh sự ngủ nghỉ, điều chỉnh sự đóng mở khí khổng. ABA là hocmon hóa già.

**5. Ethylen:** Ethylen được tổng hợp trong tất cả các tế bào, các mô, nhưng nhiều nhất ở các mô già và đặc biệt trong quả đang chín. Khác với các phitohocmon khác được vận chuyển theo hệ thống mạch dẫn, etylen là chất khí nên được vận chuyển bằng phương thức khuếch tán, do đó phạm vi vận chuyển không xa.

Ethylen là hoocmon điều chỉnh sự chín, điều chỉnh sự rụng, kích thích sự ra hoa, đặc biệt là ra hoa trái vụ ở nhiều thực vật. Ethylen có tác động lên sự phân hóa giới tính cái cùng với xytokinin.

### **6. Sự cân bằng hoocmon trong cây**

*Cân bằng hoocmon chung:* Cân bằng hoocmon chung là sự cân bằng của hai tác nhân đối kháng nhau là các chất kích thích sinh trưởng và các chất ức chế sinh trưởng. Lúc cây còn non, các chất kích thích sinh trưởng được tổng hợp nhiều trong các cơ quan dinh dưỡng như lá, rễ, chồi... và kích thích sự hình thành và sinh trưởng của các cơ quan dinh dưỡng một cách mạnh mẽ. Theo sự tăng của tuổi cây, dần dần các chất ức chế sinh trưởng bắt đầu được tổng hợp (ABA, ethylene...) và gây ức chế sinh trưởng lên cây, cây sinh trưởng chậm dần. Đến một thời điểm nào đó, hai tác nhân đối lập đó cân bằng nhau và đây là thời điểm chuyển giai đoạn: kết thúc giai đoạn sinh trưởng dinh dưỡng và chuyển sang giai đoạn sinh trưởng sinh thực, biểu hiện bằng sự hình thành hoa. Sau khi hình thành cơ quan sinh sản thì các chất ức chế sinh trưởng ưu thế, cây già nhanh.

*Cân bằng hoocmon riêng:* Cân bằng hocmon riêng là sự cân bằng của hai hoặc vài hocmon quyết định đến một biểu hiện sinh trưởng phát triển nào đấy của cây.

### **❖ TƯƠNG QUAN SINH TRƯỞNG TRONG CÂY:**

#### **a. Tương quan kích thích**

- Tương quan kích thích xảy ra khi bộ phận này sinh trưởng sẽ kích thích bộ phận khác sinh trưởng theo.
- Nguyên nhân gây nên tương quan kích thích: Về dinh dưỡng: Rễ sẽ cung cấp nước và các chất khoáng cho các bộ phận trên mặt đất và ngược lại, các bộ phận trên mặt đất sẽ vận chuyển các sản phẩm quang hợp từ lá xuống cho rễ. Về hocmon: rễ là cơ quan tổng hợp

xytokinin và vận chuyển lên cung cấp cho sự sinh trưởng của các chồi, làm trẻ hóa các bộ phận trên mặt đất và ngược lại, chồi ngọn và lá non là nguồn auxin và cả Gb cho sự hình thành và sinh trưởng của hệ rễ.

### **b. Tương quan ức chế**

- Hiện tượng ưu thế ngọn: Hiện tượng ưu thế ngọn là một đặc tính phổ biến của thực vật. Chồi ngọn luôn luôn ức chế các chồi bên sinh trưởng. Đó là sự ức chế tương quan. Loại bỏ chồi ngọn tức chồi bên được giải phóng khỏi ức chế tương quan sẽ lập tức sinh trưởng.
- Nguyên nhân gây ra ưu thế ngọn: Về dinh dưỡng: Chồi ngọn là trung tâm sinh trưởng mạnh, thu hút các chất dinh dưỡng về mình làm cho các chồi bên nghèo dinh dưỡng và không sinh trưởng được. Về nguyên nhân hormone: người ta cho rằng chồi ngọn là cơ quan tổng hợp auxin với hàm lượng cao và khi vận chuyển xuống đã ức chế các chồi bên.

## **2. VẬT LIỆU**

### **2.1. Nguyên liệu, hóa chất**

- |  |                                  |
|--|----------------------------------|
| ✓ Nước cất                                   | ✓ indoleacetic acid (IAA) 0.1 mM |
| ✓ gibberellic acid (GA <sub>3</sub> ) 0.1 mM | ✓ kinetin (Kin) 0.1 mM           |

### **2.2. Dụng cụ, thiết bị**

- |                |                        |
|----------------|------------------------|
| ✓ Thước đo     | ✓ Cây đậu 01 tuần tuổi |
| ✓ khay ươm hạt | ✓ Chậu trồng cây       |
| ✓ Đất trồng    | ✓ Bình tia             |

## **3. THỰC HÀNH**

### **a. Chuẩn bị dung dịch nuôi mẫu:**

- 5 chậu cây, mỗi chậu 04 cây đậu 01 tuần tuổi
- 100 mL GA<sub>3</sub> 0.1 mM, pha với Tween 20 (6 giọt/ L)
- 100 mL IAA 0.1 mM, pha với Tween 20 (6 giọt/ L)



- 100 mL kinetin 0.1 mM, pha với Tween 20 (6 giọt/ L)

**b. Thực hiện:**

- Đo và ghi lại chiều cao của từng cây trong cả bốn chậu.
- Tưới phun tất cả các cây trong một chậu chỉ bằng nước (đối chứng) và các cây xử lý bằng từng dung dịch thích hợp (bốn cây mỗi chậu cho mỗi hóa chất) (1 lần/ ngày trong 7 ngày)

Đảm bảo không có sự chuyển giao hormone giữa các chậu, tức là không có sự tiếp xúc giữa các cây trong các chậu khác nhau

- Trồng cây trong nhà kính trong một tuần, đo lại và chuẩn bị biểu đồ thanh hiển thị kết quả.

#### **4. YÊU CẦU KẾT QUẢ**

- Viết báo cáo trình bày phương thức hoạt động lý thuyết của từng chất điều hòa sinh trưởng (chỉ về độ giãn dài) và liên hệ với kết quả thí nghiệm của nhóm.
- Tại sao một số chất điều hòa sinh trưởng chỉ có tác dụng ở một số mô của một số loài mà không có tác dụng ở những loài khác?