581,2
S 312 L

VŨ VĂN VỤ (Chủ biên)
VŨ THANH TÂM – HOÀNG MINH TẤN

SINH LÍ HỌC THỰC VẬT

Giáo trình dùng cho sinh viên khoa Sinh học,
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội

(Tái bản lần thứ chín)

TRƯỜNG CAO ĐẲNG LTTP
THƯ VIỆN
VL 001691

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC VIỆT NAM

Công ty CP dịch vụ phát triển Giáo dục tại Hà Nội - Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam giữ quyền công bố tác phẩm

04 - 2009/CXB/299 - 2117/GD Mã số: 7K171h9 - DAI

LỜI NÓI ĐẦU

Cuốn sách "Sinh lí học thực vật" được biên soạn theo chương trình cải cách giáo dục của Tiểu ban chương trình Sinh lí học thực vật Bộ Giáo dục và Đào tạo. Sách dùng làm giáo trình cho sinh viên khoa Sinh học Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc Gia Hà Nội và làm tài liệu tham khảo cho sinh viên, nghiên cứu sinh các trường Đại học Sư phạm, Đại học Nông, Lâm nghiệp, Dược học và các cán bộ khoa học các ngành liên quan. Sách do GS. TS. Vũ Văn Vụ, chủ tịch Hội Sinh lí thực vật Việt Nam làm chủ biên cùng tập thể tác giả biên soạn. Giáo trình gồm bài mở đầu và 6 chương (Vũ Văn Vụ : chương I, II, III, IV ; Vũ Thanh Tâm : chương II, V ; Hoàng Minh Tấn : chương VI).

Sách đã được tái bản lần thứ 6 vào năm 2005. Lần tái bản thứ 7 này, các tác giả đã đưa thêm nhiều kiến thức cập nhật cùng với các hình ảnh minh hoạ. Dựa theo những tài liệu tham khảo từ các sách giáo khoa mới xuất bản của các trường Đại học trên thế giới về Sinh lí học thực vật. Cụ thể : Chương II : thêm các kiến thức về cơ chế đóng mở khí khổng ; Chương III : thêm các kiến thức, hình ảnh minh hoạ mới về cơ chế quang hợp, về điều khiển chức năng quang hợp theo hướng có lợi nhất cho con người ; Chương IV : Viết gọn hơn và bổ sung một số hình ảnh minh hoạ, cơ chế hô hấp. Đặc biệt ở lần tái bản này, trong chương VI các tác giả sắp xếp lại các mục và thêm một số kiến thức, hình ảnh cập nhật với mục đích tăng tính logic của chương và tạo điều kiện thuận lợi trong việc nắm bắt kiến thức của người học.

Việc sửa chữa, bổ sung kiến thức ở lần tái bản này là sự cố gắng của các tác giả.

Tuy nhiên, để góp phần làm cho cuốn sách ngày càng hoàn chỉnh hơn, Nhà xuất bản Giáo dục mong nhận được nhiều ý kiến đóng góp xây dựng của bạn đọc.

Ý kiến đóng góp xin gửi về Nhà xuất bản Giáo dục 81 Trần Hưng Đạo Hà Nội.

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

BÀI MỞ ĐẦU

1. Nội dung và nhiệm vụ của Sinh lí học thực vật

Sinh lí học thực vật là một bộ môn khoa học nghiên cứu về các quá trình sống trong cơ thể thực vật. Đó là các quá trình nhận các nguồn vật chất và năng lượng từ môi trường ngoài vào cơ thể thực vật ; quá trình chuyển hoá vật chất và năng lượng mà thực vật nhận được thành vật chất của chúng ; quá trình sử dụng nguồn vật chất và năng lượng đã được tổng hợp vào việc tạo nên cấu trúc mới, tế bào mới, cơ quan mới, thế hệ mới ; diễn biến của các quá trình sống và thay đổi cấu trúc để thích nghi và tồn tại với môi trường bất lợi xung quanh thực vật.

Nhiệm vụ của Sinh lí học thực vật là phát hiện ra quy luật của các quá trình sống nói trên, tức là tìm hiểu bản chất hoá học, vật lí học và sinh học của chúng, tìm hiểu mối liên quan giữa các quá trình sống trong cơ thể thực vật với điều kiện môi trường và giữa chúng với nhau với mục đích sử dụng các hiểu biết đó để điều khiển, khống chế các quá trình sống, bắt nó phải hoạt động theo chiều hướng có lợi nhất cho con người, đó là việc làm sao cho cây trồng thu được năng suất cao nhất và chất lượng tốt nhất.

Trong quá trình phát triển, Sinh lí học thực vật được phân chia thành các hướng nghiên cứu và các chuyên khoa khác nhau. Đó là hướng nghiên cứu sinh lí cơ chế hay là hướng nghiên cứu sinh lí – sinh hoá – lí sinh của các quá trình sống và hướng nghiên cứu sinh lí – sinh thái.

Theo hướng thứ nhất, Sinh lí học thực vật nghiên cứu bản chất hoá học và lí học của các quá trình sinh lí và diễn đạt chúng bằng "ngôn ngữ hoá sinh, lí sinh" nhằm hiểu rõ bản chất của các quá trình sống, tìm ra các biện pháp điều khiển cơ chế của quá trình và "bắt chước" các quá trình, thực hiện một phần hay toàn bộ quá trình trong điều kiện nhân tạo. Hiện nay các nhà sinh lí – hoá sinh – lí sinh thực vật đang tập trung nghiên cứu các quá trình quang hợp, quá trình cố định nitơ khí quyển, quá trình sinh trưởng và phát triển,...

Theo hướng thứ hai, Sinh lí học thực vật nghiên cứu mối liên quan giữa các quá trình sinh lí với các yếu tố của môi trường (nước, ánh sáng, nhiệt độ, không khí), với các điều kiện của phòng thí nghiệm, bán tự nhiên và tự nhiên, nhằm tìm ra các quy luật hoạt động của các quá trình sinh lí trong những điều kiện môi trường xác định ; tìm ra các đặc trưng của từng giới thực vật trong các vùng nhất định, tìm ra các tác nhân chủ yếu của điều kiện môi trường ảnh hưởng đến quá trình sống của thực vật. Hiện nay hướng nghiên cứu sinh lí – sinh thái chuyển mạnh sang hướng sinh lí – sinh thái thực nghiệm. Đó là hướng nghiên cứu trồng cây trong điều kiện sinh thái cực thuận (trong phytotron), nhằm xây dựng mô hình tối ưu sinh thái học cho các quá trình sinh lí, nhằm đạt hiệu quả trồng trọt cao nhất.

Về các chuyên khoa trong Sinh lí học thực vật, ngày nay chúng ta thấy có : Sinh lí thực vật đại cương, chuyên nghiên cứu chức năng sinh lí chung của thực vật như sinh lí tế bào thực vật, quang hợp, hô hấp thực vật, dinh dưỡng khoáng thực vật, sinh lí sinh trưởng và phát triển, sinh lí học các quá trình chống chịu thực vật. Nếu như nhiệm vụ của Sinh lí học thực vật đại cương là nghiên cứu các quy luật chung của các quá trình sống cho toàn giới thực vật thì Sinh lí học thực vật chuyên khoa có nhiệm vụ nghiên cứu các quy luật sinh lí học cho từng nhóm cây, thậm chí cho từng cây như sinh lí cây trồng, sinh lí cây rừng, sinh lí cây ăn quả, sinh lí tảo, sinh lí cây lúa, cây ngô, cây khoai tây, cây đậu đỗ,...

Sự phát triển gần đây của Sinh lí học thực vật ngày càng tiếp cận với nhiệm vụ của thực tiễn sản xuất nông nghiệp, lâm nghiệp, dược liệu, bảo quản và chế biến nông sản và tỏ ra là công cụ đắc lực cho các ngành sản xuất này. Chính chuyên khoa Sinh lí học thực vật ứng dụng đã ra đời trong điều kiện này. Nhiệm vụ của Sinh lí học thực vật ứng dụng là nghiên cứu ứng dụng những quy luật sinh lí đã biết vào thực tiễn sản xuất như sinh lí tạo giống cây trồng, sinh lí bảo quản và chế biến rau, quả, cơ sở sinh lí của việc bón phân hợp lí, tưới nước hợp lí, của việc sử dụng các chất điều hoà sinh trưởng cho cây trồng, sinh lí quang hợp và vấn đề thâm canh tăng năng suất cây trồng,...

2. Mối liên quan giữa Sinh lí học thực vật với các bộ môn khoa học khác

Trong Sinh học, Sinh lí học thực vật được xem là một chuyên ngành. Trước đây Sinh học chỉ mới chia ra Động vật học và Thực vật học thì Sinh lí học thực vật nằm trong Thực vật học. Nhưng sau đó, ngay từ thế kỉ XVIII Sinh lí học thực vật như một chuyên ngành đã ra đời. Hiện nay, Sinh học có khuynh hướng chia thành 3 ngành : Sinh học cấu trúc (Hình thái giải phẫu học, Tế bào học, Hệ thống học,...), Sinh học chức năng (Sinh lí học, Di truyền học, hoá sinh học, lí sinh học,...) và Sinh học lí thuyết (toán sinh, sinh học hệ thống,...) thì Sinh lí học thực vật là một chuyên ngành nằm trong sinh học chức năng.

Trong Sinh học chức năng, Sinh lí học thực vật có mối liên quan chặt chẽ với Hoá sinh học, Lí sinh học, hai chuyên ngành nghiên cứu các quá trình hoá học và vật lí học trong sinh vật. Thực ra 3 bộ môn Sinh lí, Hoá sinh, Lí sinh có nhiều vấn đề khó mà phân biệt được rõ rệt về ranh giới. Tuy nhiên, trong khi giảng dạy, chúng tôi quan niệm Sinh lí học thực vật là môn học về các quá trình hoá học, lí học "động" xảy ra trong một quá trình sống của thực vật, khác với hoá sinh, lí sinh mang tính chất "tĩnh". Sinh lí học thực vật còn liên quan chặt chẽ với Di truyền học và chọn giống.

Trong khoa học tự nhiên, những kiến thức toán sinh, lí học, hoá học, đặc biệt là hoá học hữu cơ, khí hậu, khí tượng học, thổ nhưỡng và nông hoá học,... rất cần cho học tập và nghiên cứu sinh lí thực vật. Sinh lí học thực vật còn có mối liên quan đến các khoa học trồng trọt, lâm học, dược liệu, công nghiệp chế biến, bảo quản nông sản, thực phẩm,... với tư cách phát hiện các vấn đề nghiên cứu và quan trọng hơn là với tư cách là khoa học cơ sở cho các khoa học trên, cũng như việc ứng dụng các kết quả nghiên cứu của mình.

3. Đặc điểm của Sinh lí học thực vật

a) Đặc điểm lịch sử

Sinh lí học thực vật là một môn khoa học xuất hiện rất sớm, so với nhiều môn khoa học khác như Lí sinh, Hoá sinh,... Nó được tách ra khỏi Thực vật học ngay từ năm 1727, sau khi nhà sinh học Stefen Hales (1677 – 1761) xuất bản cuốn sách *"Tình trạng cây cỏ"* (Vegetable state) và Stefen Hales được coi là người sáng lập ra môn khoa học Sinh lí học thực vật. Thực ra những hiểu biết và khái niệm về sự sống của cây, những khái niệm về sinh lí thực vật đã có từ thời cổ đại. Aristote (–384 – –322) nhà tư tưởng vĩ đại nhất thời cổ đại, khối óc toàn diện nhất trong các triết gia cổ Hy Lạp, đã đưa ra quan niệm đầu tiên về dinh dưỡng thực vật. Ông cho rằng : thực vật khác động vật ở chỗ nó không có dạ dày vì đã có đất thay thế. Đất "chế biến" các loại thức ăn cần thiết cho cây và cây chỉ việc hút "dịch đất" làm nguồn thức ăn.

Sau đó Theophraste (–372 – –287) trong cuốn sách *"Về các nguyên nhân thực vật"* đã dự đoán : cây dinh dưỡng không chỉ nhờ rễ mà còn nhờ lá. Từ đó đến nay, Sinh lí học thực vật đã trải qua một thời kì lịch sử rất dài. Các phạm trù thứ nhất : Cây lấy gì từ môi trường ngoài, đến phạm trù thứ hai : Sự vận chuyển và biến đổi vật chất trong cây, rồi đến phạm trù thứ ba : Sự sinh trưởng và phát triển của thực vật và phạm trù thứ tư : Khả năng chống chịu của thực vật trước môi trường bất lợi. Rõ ràng là với lịch sử lâu dài như vậy, các kiến thức của Sinh lí học thực vật được tích luỹ thật là lớn và Sinh lí học thực vật được xem như một môn học có tính chất cổ điển. Tuy nhiên, Sinh lí học thực vật với sự giúp đỡ của các phương pháp hiện đại của Hoá học, Lí học, Toán học, Hoá Sinh, Lí sinh, vẫn luôn luôn được bổ sung những kiến thức mới. Các quá trình sinh lí mới vẫn luôn được phát hiện.

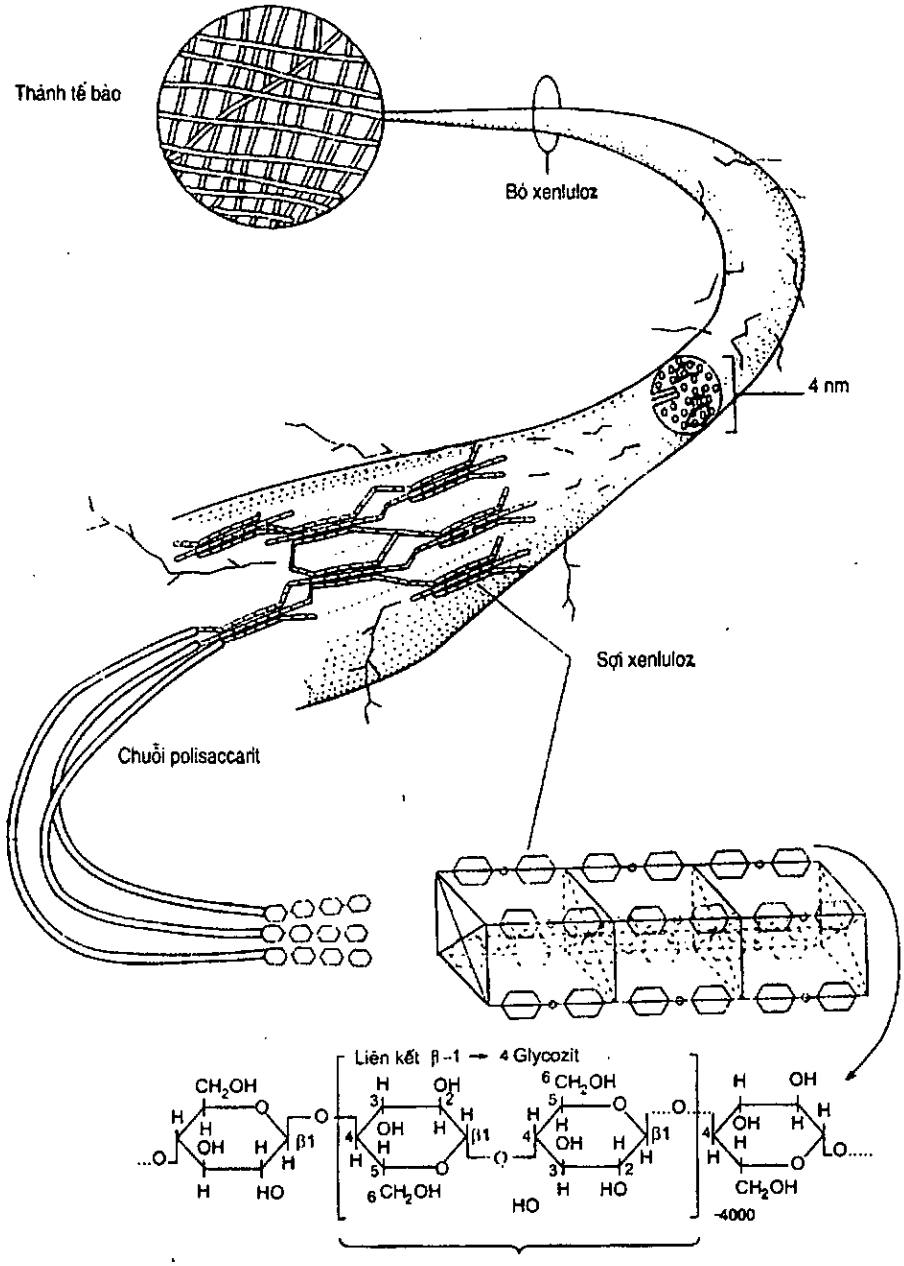
Ví dụ : Quang hợp ở thực vật C_4, thực vật CAM (vào những năm 1960 – 1970), chu trình cố định nitơ trong thực vật, mối liên quan giữa quang hợp, hô hấp và quá trình cố định nitơ, cơ chế vận chuyển các chất qua các màng (membran) sinh chất,...

b) Sinh lí học thực vật là một môn khoa học vừa mang tính lí thuyết, vừa mang tính thực tiễn và ứng dụng

Nhìn lại tất cả các chương của giáo trình Sinh lí học thực vật, chúng ta đều thấy rất rõ tính lí thuyết và tính thực tiễn dẫn đến những hướng ứng dụng cụ thể. Nói chung có thể chia mỗi chương thành hai phần : phần lí thuyết và phần ứng dụng.

Ví dụ : Chương sinh lí tế bào : Phần lí thuyết là phần cấu trúc và chức năng tế bào, cấu trúc và chức năng màng, các cơ quan tử, sự hút nước và các chất vào tế bào,... phần ứng dụng là phần sinh lí tế bào và vấn đề nuôi cấy mô tế bào thực vật và những ứng dụng của nó. Chương sự trao đổi nước ở thực vật : Phần lí thuyết là các quá trình hút nước, quá trình vận chuyển nước, quá trình thoát hơi nước,... phần thực tiễn và ứng dụng là phần chế độ nước và việc tưới nước hợp lí cho cây trồng. Chương quang hợp : Phần lí thuyết là các cơ chế của pha sáng – pha tối, phần thực tiễn và ứng dụng là quang hợp và vấn đề thâm

Sơ đồ cấu trúc chi tiết của thành tế bào được minh hoạ ở hình 4.



Hình 4 – Sơ đồ cấu trúc thành tế bào

II – TỔ CHỨC CẤU TRÚC VÀ ĐẶC ĐIỂM LÍ HOÁ CỦA TẾ BÀO

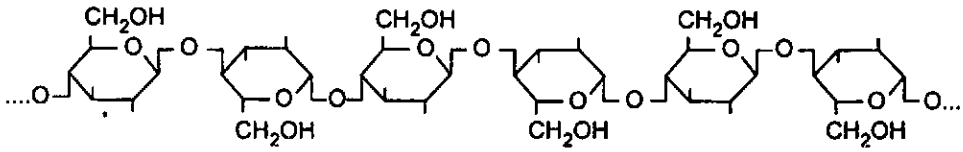
Các tế bào trong cơ thể hay trong các cơ thể khác nhau có kích thước, hình dạng và chức năng có thể rất khác nhau, nhưng về căn bản, xét về mặt tổ chức cấu trúc, các tế bào đều gồm có một số thành phần quan trọng giống nhau.

Thành tế bào (màng ngoài) và chất nguyên sinh là hai thành phần chính của tế bào thực vật.

1. Thành tế bào

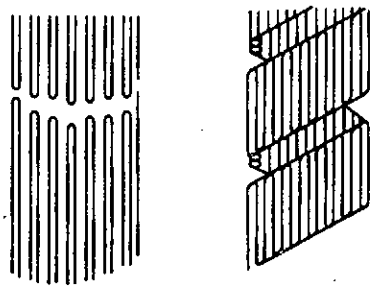
Thành tế bào ví như cái khung ngoài của tế bào, quy định hình dạng tế bào. Thành bao bọc quanh chất nguyên sinh để ngăn cách tế bào này và tế bào lân cận. Thành tế bào thực vật bậc cao gồm xenluloz liên kết với pectin và linhin. Xenluloz là polisaccarit có công thức phân tử là $(C_6H_{10}O_5)_n$ (n = 5000 – 10000).

Công thức khai triển của phân tử xenluloz như sau (hình 1) :



Hình 1 – Công thức phân tử xenluloz

Các phân tử xenluloz liên kết với nhau bởi các cầu nối hiđro làm thành bó gọi là bó mixen (hình 2).



Hình 2 – Các bó mixen
(Các bó mixen cắt dọc và các bó mixen cắt ngang)

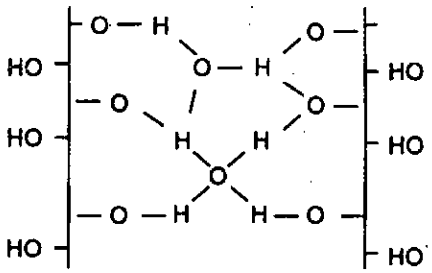
Giữa các bó mixen có các khoảng trống. Ở các thành sơ cấp của các tế bào nhu mô thì khoảng trống là pectin, trong các mô gỗ thì khoảng trống chứa linhin, còn các lớp tế bào bề mặt chứa cutin, trong các tế bào sợi chứa đầy nước.

Thành phần và dạng thành tế bào thay đổi theo quá trình phát triển :

– Hoá gỗ : Màng chứa nhiều linhin ($C_{57}H_{60}O_{70}$) làm cho tế bào trở nên cứng rắn. Tuy vậy nước vẫn thấm qua được.

– Hoá liege : Ở các lớp màng xenluloz có chất giống mỡ là suberin, chất này hầu như không thấm nước. Do vậy nước không thấm được vào trong tế bào và chất nguyên sinh bị chết.

Thành tế bào có khả năng thấm nước rất mạnh. Nước có thể thấm được vào tận trong các sợi xenluloz làm cho thành tế bào bị trương lên (hình 3).



Hình 3 – Thành tế bào ngậm nước

Bảng 2. **Cấu trúc tế bào nhân thực và chức năng**

STT	Cấu trúc	Mô tả	Chức năng
• CÁC THÀNH TỐ CẤU TRÚC			
1	Thành tế bào	Lớp xenluloz hoặc lớp kitin ở ngoài hoặc không có	Bảo vệ ; nâng đỡ
2	Khung nâng đỡ	Màng lưới của các sợi protein	Nâng đỡ cấu trúc, sự vận động tế bào
3	Roi, lông	Phần kéo dài của tế bào với sự sắp xếp của các cặp vi quản theo kiểu 9 + 2	Vận động hoặc di chuyển chất lỏng khắp bề mặt
• HỆ THỐNG MÀNG TRONG			
1	Màng sinh chất	Tầng kép lipit với các kênh protein vắt qua màng.	Điều hoà các chất đi vào và đi ra khỏi tế bào ; nhận dạng tế bào
2	Lưới nội chất	Mạng lưới của các nội màng	Tạo thành các xoang và túi
3	Nhân	Cấu trúc hình cầu được giới hạn bởi màng kép và có chứa nhiễm sắc thể	Trung tâm kiểm soát của tế bào ; điều hành sự tổng hợp protein và sự sinh sản của tế bào
4	Phức hệ Golgi	Gồm nhiều túi dẹt	Bao gói protein để bài xuất khỏi tế bào ; tạo ra các túi tiết
5	Lizoxom	Những túi bắt nguồn từ phức hệ Golgi có chứa các enzim thuỷ phân	Bài tiết
• CÁC BÀO QUAN SẢN XUẤT NĂNG LƯỢNG			
1	Ti thể	Các thành phần có màng trong giống vi khuẩn	Nhà máy sản xuất năng lượng của tế bào ; vùng oxi hoá của tế bào
2	Lục lạp	Thành phần giống vi khuẩn có túi chứa chất diệp lục	Vùng quang hợp của tế bào thực vật
• CÁC BÀO QUAN BIỂU HIỆN GEN			
1	Nhiễm sắc thể	Sợi ADN dài tạo phức hợp với protein	Chứa thông tin di truyền
2	Nhân con	Vùng nhiễm sắc thể tổng hợp ARN riboxom	Lắp ráp các riboxom
3	Riboxom	Phức hợp protein – ARN và thường liên kết vào mạng lưới nội chất	Vị trí tổng hợp protein

Bảng 1. **So sánh tế bào vi khuẩn, động vật và thực vật**

Các yếu tố cấu trúc	Vi khuẩn	Động vật	Thực vật
• CẤU TRÚC NGOÀI			
Thành tế bào	Có (protein polisacarit)	Không có	Có (xenluloz)
Màng tế bào	Có	Có	Có
Roi	Có thể có (một sợi)	Có thể có	Không có, trừ một số loài
• CẤU TRÚC TRONG			
Mạng lưới nội chất	Không có	Có	Có
Vi quản	Không có	Có	Có
Trung tử	Không có	Có	Không có
Phức hệ Golgi	Không có	Có	Có
• CÁC BÀO QUAN			
Nhân	Không	Có	Có
Ti thể	Không	Có	Có
Lục lạp	Không	Không có	Có
Nhiễm sắc thể	Vòng đơn và ADN trần	Nhiều đơn vị ADN kết hợp với protein	Nhiều đơn vị ADN kết hợp với protein
Riboxom	Có	Có	Có
Lizoxom	Không	Có	Cấu trúc tương đương gọi là thể cầu
Không bào	Không	Không có hoặc nhỏ	Ở tế bào trưởng thành thường có một không bào lớn

Cấu trúc tế bào nhân thực phức tạp và đa dạng hơn nhiều so với cấu trúc tế bào nhân sơ. Sự khác nhau cơ bản nhất của hai loại tế bào này là sự xoang hoá phần trong của tế bào nhân thực bằng các màng tạo nên các vùng riêng biệt có màng giới hạn mà vùng nổi bật nhất là nhân. Cho nên có tên gọi là tế bào nhân thực.

Trong tế bào nhân sơ không có xoang với màng giới hạn tương tự. Tuy màng của một số vi khuẩn quang hợp tạo nhiều nếp gấp nhưng không phân chia tế bào thành từng vùng. Do đó, một phân tử có thể di chuyển từ chỗ này sang chỗ khác mà không bị cản trở.

Trong các chương tiếp theo chúng ta sẽ xem xét các hậu quả của sự khác nhau về cấu trúc này đã ảnh hưởng đến sự trao đổi chất và chức năng của tế bào nhân thực thế nào. Cấu trúc thường đi kèm với chức năng, đó là hai nguyên lí cơ bản, nhất quán tồn tại trong sinh giới (bảng 2).

Chương I

SINH LÍ TẾ BÀO THỰC VẬT

I – KHÁI NIỆM CHUNG

Sự sống của thực vật là một chuỗi vô cùng phức tạp gồm nhiều hiện tượng sống liên kết chặt chẽ với nhau và phù hợp với nhau một cách hết sức tinh vi. Sự phù hợp chặt chẽ như vậy chỉ có thể thực hiện được trên cơ sở một tổ chức phức tạp và rất tinh vi của cơ thể sống. Vậy thì đơn vị cấu trúc cơ sở của tổ chức phức tạp của cơ thể là gì ? Đó chính là tế bào. Tế bào là đơn vị cơ sở mà tất cả các cơ thể sống đều hình thành nên từ đó. Tập hợp các tế bào tạo nên các mô, tập hợp các mô tạo nên cơ quan và tập hợp các cơ quan tạo nên cơ thể. Nhưng không nên hiểu rằng một cơ quan chỉ là một tập hợp đơn giản (tổng số đơn giản) của những tế bào mà khi các tế bào tập hợp lại với nhau thì đã sinh ra một chất lượng mới mà bản thân mỗi tế bào không có được. Tuy nhiên nói như vậy không có nghĩa là việc nghiên cứu sinh lí tế bào không có ý nghĩa và không có liên quan đến sinh lí cơ thể.

Lí thuyết tế bào được hình thành từ thế kỉ XIX gắn liền với tên tuổi của nhà sinh lí học Purkynhe, 1837 (Tiệp Khắc cũ) và hai nhà bác học Sleiden và Swan, 1839 (Đức). Nhưng khái niệm về tế bào đã có từ thế kỉ XVII. Ngay từ năm 1667 R. Hook đã đặt tên cho đơn vị cấu trúc cơ sở của cơ thể sống là "Tế bào". Đồng thời và độc lập với R. Hook, nhà bác học A. Leeuwenhoek (Hà Lan) và Malpighi (Italia) cũng đã dùng kính hiển vi nghiên cứu ở đối tượng động vật và cũng phát hiện ra tế bào.

Đến thế kỉ XX, nhờ sự hoàn thiện của kĩ thuật kính hiển vi, đặc biệt là sự ra đời của kính hiển vi điện tử, việc nghiên cứu về tế bào phát triển rất mạnh và đạt được nhiều thành tựu quan trọng không những về cấu tạo mà cả về chức năng của từng bộ phận trong tế bào.

Việc nghiên cứu về tế bào khoảng 100 năm trở lại đây đã được tiến hành theo 2 hướng :

– Hướng tế bào học : Để nguyên tế bào nghiên cứu và vẽ sơ đồ cấu tạo tế bào, tìm ra chức năng của từng bộ phận.

– Hướng sinh hoá học : Phá vỡ tế bào bằng các phản ứng hoá học và tìm ra các phản ứng sinh hoá xảy ra trong tế bào. Chính các phản ứng này là cơ sở của các quá trình sống.

Hai khuynh hướng này nghiên cứu song song và bổ sung cho nhau.

Trong giáo trình này chúng ta sẽ lần lượt nghiên cứu một số vấn đề về cấu tạo tế bào, một số tính chất của các thành phần trong tế bào, cũng như chức năng của chúng với mục đích làm sáng tỏ các quá trình sinh lí tế bào.

Trước khi đi vào những kiến thức cụ thể của tế bào thực vật, ta cần nắm vững một số đặc trưng cấu trúc của tế bào nhân sơ và tế bào nhân thực (bảng 1).

Hiện nay có một số giáo trình Sinh lí học thực vật trên thế giới đã thay thế hầu hết các câu hỏi bằng các bài tập, bài toán cuối mỗi chương hoặc bằng các loại câu hỏi trắc nghiệm (yêu cầu trả lời, đúng hay sai, có hay không),... Chúng tôi hi vọng sẽ có được một giáo trình như vậy. Tất nhiên để làm được việc này, thầy giáo phải mất rất nhiều công sức trong việc soạn thảo giáo trình và thể hiện giáo trình.

g) Việc phân bố lịch trình giảng dạy

Trên cơ sở phân tích về mối quan hệ giữa Sinh lí học thực vật với các bộ môn khoa học khác, đặc biệt là mối liên quan đến Toán, Lí, Sinh và Hoá sinh học, chúng tôi thấy nên dạy giáo trình Sinh lí học thực vật sau khi học sinh đã học xong các giáo trình cơ bản về toán, lí, hoá, sinh, các giáo trình cơ sở Hoá sinh, Lí sinh và Vi sinh vật học.

Tóm lại, Sinh lí học thực vật là một môn khoa học giảng dạy và nghiên cứu về các quá trình sống của thực vật. Học xong môn này, học sinh có kiến thức cơ sở về đời sống thực vật, hiểu được, giải thích được nhiều hiện tượng trong thế giới thực vật, trong trồng trọt và bảo quản giống, nông sản, thực phẩm. Học sinh cũng có thể vận dụng phương pháp luận, phương pháp cụ thể về sinh lí thực vật để giải quyết một số vấn đề thực tiễn của trồng trọt, bảo quản, điều khiển các quá trình sống theo hướng nâng cao năng suất và phẩm chất cây trồng. Sinh lí học thực vật là một môn học quan trọng trong các môn học cơ sở của các Trường Đại học Nông nghiệp, cũng như ngành Sinh học ở Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Sư phạm.

a) Quan điểm lịch sử

Xuất phát từ đặc điểm lịch sử của môn học, khi dạy cần thiết phải chú ý đến lịch sử của quá trình nhận thức một khái niệm, một quá trình từ đơn giản đến phức tạp, từ cổ điển đến hiện đại. Nhưng phải nhấn mạnh và khẳng định cái hiện đại, giảng và học chủ yếu cái hiện đại, cái mới nhất. Có như vậy mới rút gọn được giáo trình.

b) Chú ý đến tính logic của nhận thức, tính logic trong cấu tạo chương trình

Nhìn toàn thể giáo trình nên đi từ cái riêng đến cái chung. Ví dụ : Chương đầu tiên của giáo trình là chương sinh lí tế bào thực vật. Các kiến thức của chương này là các quá trình sinh lí xảy ra ở mức độ tế bào, mối liên quan giữa cấu trúc và chức năng sinh lí của các bộ phận trong tế bào như thành tế bào, màng, cơ quan tử, nhân, không bào,... Nắm được những kiến thức này, học sinh sẽ nắm dễ dàng hơn các quá trình xảy ra trong cơ quan, cơ thể, quần thể.

Nhưng trong một chương thì lại nên đi từ cái chung đến cái riêng theo tính logic của vấn đề và của nhận thức. Ví dụ : Chương quang hợp, phần sinh lí và sinh hoá quang hợp, phải đi vào bộ máy quang hợp từ lá – cơ quan làm nhiệm vụ quang hợp, đến lục lạp – cơ quan tử làm nhiệm vụ quang hợp, đến sắc tố – phân tử làm nhiệm vụ quang hợp, rồi đến các thành phần tạo nên đơn vị tối thiểu cho quang hợp – nơi xảy ra quá trình quang hợp,... Tuy nhiên, tính hợp lí nhất hiện nay là việc chia giáo trình Sinh lí học thực vật ra 2 phần theo chức năng : Phần sinh lí trao đổi chất (chương chế độ nước, quang hợp, hô hấp) và phần sinh lí sinh trưởng và phát triển (chương sinh trưởng và phát triển). Chương sinh lí tế bào và sinh lí tính chống chịu phân vào các chương khác.

c) Chú ý phương pháp so sánh

Phương pháp này sẽ giúp học sinh tư duy năng động hơn, gây ấn tượng sâu sắc hơn và dễ nhớ hơn. Phương pháp này phải dùng bảng, biểu đồ, đồ thị, sơ đồ. Có thể so sánh các quá trình với nhau, so sánh một quá trình trong các giai đoạn nhận thức, một quá trình trong nhiều nhóm thực vật khác nhau, cơ quan khác nhau,...

d) Bố trí cân đối giữa lí thuyết, ứng dụng thực tế và thực tập minh hoạ

Chúng tôi thường dành mỗi chương khoảng 1/4 số giờ cho phần thực tế ứng dụng, nhằm giúp học sinh có một phương pháp luận trong tư duy, trong vận dụng kiến thức lí thuyết vào thực tiễn, trong việc xây dựng phương pháp cụ thể để ứng dụng những cái học được vào thực tiễn và giải thích thực tiễn. Chúng tôi cũng dành 1/3 số giờ cho phần thực tập minh hoạ bài giảng (thực tập nhỏ). Sắp tới, số giờ thực tập nhỏ có thể tăng lên đến 1/2 số giờ để giúp học sinh hiểu thêm lí thuyết, củng cố bài giảng lí thuyết.

e) Vấn đề chính xác hoá giáo trình

Chúng tôi đang rất cố gắng về mặt này bằng cách tăng cường các sơ đồ minh hoạ, các công thức lí học, hoá học, toán học, các hình vẽ, ảnh chụp trong các chương và đặc biệt bằng các bài toán, các bài tập thay cho các câu hỏi ở cuối mỗi chương.

canh tăng năng suất cây trồng. Chương hô hấp thực vật : Phần lí thuyết là các cơ chế hô hấp, phần thực tiễn và ứng dụng là hô hấp và quá trình bảo quản nông sản, thực phẩm. Chương dinh dưỡng khoáng và nitơ ở thực vật : Phần lí thuyết là cơ chế hút khoáng, vai trò của các nguyên tố khoáng, các quá trình biến đổi các nguyên tố trong cây, phần ứng dụng thực tiễn là phần dinh dưỡng khoáng và vấn đề bón phân hợp lí cho cây trồng. Chương sinh lí sinh trưởng và phát triển thực vật : Phần lí thuyết là các khái niệm về sinh trưởng, các thuyết về sự phát triển, phần ứng dụng thực tiễn là phần ứng dụng các chất điều hoà sinh trưởng trong trồng trọt,...

c) Sinh lí học thực vật là một môn học vừa mang tính trừu tượng, giả thuyết, vừa mang tính chính xác cao

Đặc điểm này cũng thể hiện rõ nét trong tất cả các chương của giáo trình Sinh lí học thực vật.

Ví dụ : Chương quang hợp : bằng các ngôn ngữ lí học, hoá học, người ta đã mô tả các quá trình lí học, hoá học trong pha sáng, pha tối của quang hợp như chu trình chuyền điện tử, chu trình cố định CO_2. Đó là phần mô tả mang tính trừu tượng. Nhưng cũng trong chương này, người ta có thể tính toán trên cơ sở đo đạc, trên các phản ứng hoá học, những số liệu rất cụ thể về hệ số sử dụng quang năng, về cường độ quang hợp, cũng như việc định vị chính xác các quá trình trên màng của tilacoit,...

Chương sinh lí sinh trưởng và phát triển cũng vậy. Phần trừu tượng là các giả thuyết, là các khái niệm về sinh trưởng, phát triển. Phần chính xác là phần sử dụng các chất điều hoà sinh trưởng cụ thể, nồng độ xác định để điều khiển sự sinh trưởng, phát triển của thực vật từ mức độ cơ quan tử, tế bào, mô đến cơ quan, cơ thể.

d) Mối liên quan khăng khít giữa 3 môn học : Lí sinh học, Hoá sinh học và Sinh lí học thực vật

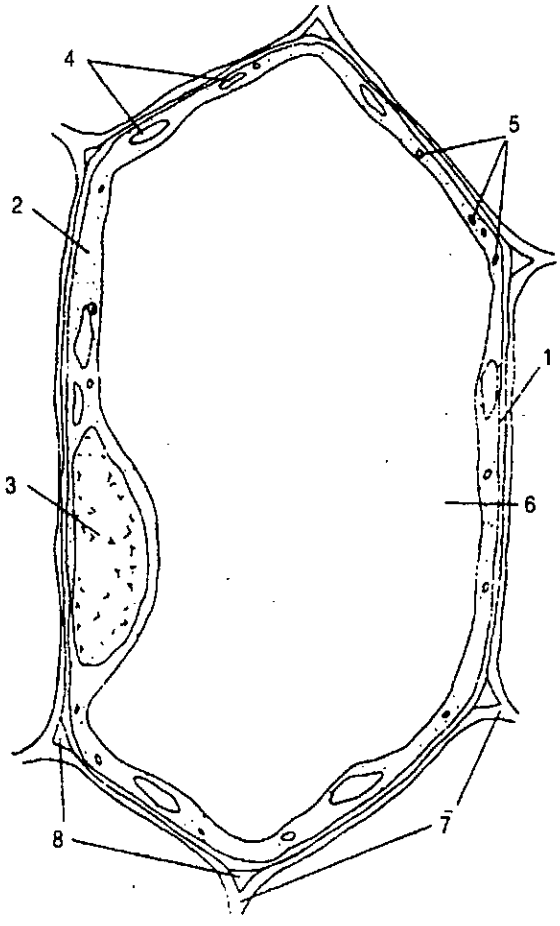
Việc mô tả, giải thích các quá trình sinh lí thực vật hầu hết là dựa vào kiến thức của lí sinh và hoá sinh. Ví dụ : Nếu không sử dụng kiến thức về thẩm thấu, về tính thấm, về các lực của lí sinh thì không thể giải thích quá trình hút nước và các chất vào tế bào, quá trình chuyển vận nước trong tế bào. Nếu không sử dụng kiến thức về quang lí, quang hoá của lí sinh, về các phản ứng hoá học, về sinh tổng hợp các chất,... của hoá sinh thì không thể nào mô tả được pha sáng và pha tối trong quang hợp, trong hô hấp,... Chính vì vậy, có thể nói rằng, nếu không có kiến thức lí sinh và hoá sinh, sinh viên rất khó tiếp thu kiến thức sinh lí thực vật hoặc để giảng được và học được, cả thầy và trò phải mất rất nhiều thời gian dạy và học.

e) Giáo trình Sinh lí học thực vật, khi dạy vận dụng nhiều phương pháp : mô tả, giải thích, so sánh,... vì vậy dùng nhiều sơ đồ, bảng biểu, đồ thị, kiến thức thực tế để minh hoạ.

4. Vài suy nghĩ về phương pháp giảng dạy giáo trình Sinh lí học thực vật

Xuất phát từ nhiệm vụ, nội dung và đặc điểm của giáo trình Sinh lí học thực vật, chúng tôi có một vài suy nghĩ về phương pháp giảng dạy môn học này như sau :

2. Chất nguyên sinh (protoplasm) : Gồm có chất tế bào (cytoplasm) và nhân. Trong chất tế bào thường có những yếu tố hình thái khác nhau. Đó là các bào quan của tế bào như lạp thể (chloroplast), ti thể (mitochondri), vi thể (microsome), peroxixom... Đến một giai đoạn phát triển nhất định, trong tế bào hình thành ra không bào chứa đầy dịch tế bào (hình 5).



Hình 5 – Sơ đồ cấu trúc tế bào thực vật

1. Thành tế bào
2. Chất tế bào
3. Nhân
4. Lạp thể
5. Ti thể
6. Không bào
7. Thành tế bào bên cạnh
8. Gian bào

a) Chất tế bào : Là phần tiếp cận ngay với thành tế bào. Ở tế bào non, nó chiếm hầu hết thể tích tế bào. Ở tế bào già, có không bào nên nó bị ép vào thành.

Chất tế bào thể hiện đầy đủ đặc tính sống của mình, nghĩa là trong nó xảy ra các quá trình sống của tế bào, quá trình đồng hoá, dị hoá, sinh tổng hợp, sinh trưởng, phản ứng với các tác động bên ngoài. Chất tế bào là một phức hệ gồm nhiều chất phức tạp và luôn luôn thay đổi do sự biến đổi của các quá trình lí, hoá xảy ra trong nó. Người ta gọi chất tế bào là một chất cơ động và chính vì vậy việc phân tích thành phần hoá học của nó gặp rất nhiều trở ngại.

– *Thành phần hoá học của chất tế bào :* Ở thực vật bậc thấp (nấm nhầy – myxophyta), tách ra được chất tế bào với thành phần hoá học như sau : nước 82,6% ; chất khô 17,4%.

+ Chất hoà tan trong nước (theo % chất khô)	40,7
Monosaccarit	14,2
Albumin	2,2
Axit amin	24,3
+ Chất không hoà tan trong nước	59,3
Nucleoprotein	32,3
Axit nucleic tự do	2,5
Globulin	0,5
Lipoprotein	4,8
Lipit trung tính	6,8
Phytosterin	3,2
Photphatit	1,3
Các chất hữu cơ khác	4,5
Chất khoáng	3,4
	100

Một điều cần chú ý là qua bảng trên, ta thấy thành phần protein chiếm tỉ lệ khá lớn, sau đó đến các loại chất béo (lipit).

Ở thực vật bậc cao (lá cải), thành phần chất tế bào như sau (% chất khô) :

Protein	63,10
Lipit và các chất khác tan trong ête	20,75
Tro khoáng	6,45
Các chất chưa xác định	9,70

Như vậy thành phần hoá học của chất tế bào ở tế bào thực vật bậc cao cũng tương tự như ở thực vật bậc thấp, nghĩa là protein vẫn chiếm ưu thế, sau đó đến lipit.

– *Cấu tạo chất tế bào :* Chất tế bào là một chất sống. Vậy nó cấu tạo ra sao để đảm bảo các hoạt động sống phức tạp ấy ? Câu hỏi này đã được đặt ra từ những năm cuối thế kỉ XIX (1870 – 1890).

Sau đây là một số giả thuyết về cấu tạo chất tế bào :

+ Thuyết cấu tạo hình sợi của Flemming (1882) : Năng lượng cần thiết cho sự sống tập trung trong các sợi. Có hai loại sợi : sợi không chia nhánh và sợi chia nhánh. Các sợi này chìm trong chất keo lỏng, trong suốt.

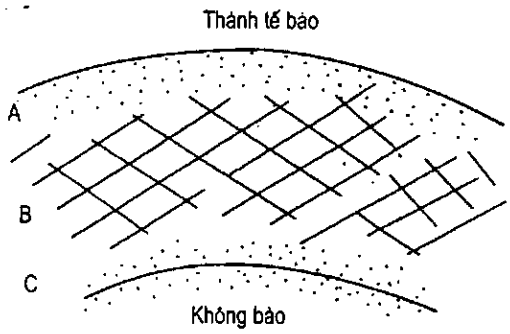
+ Thuyết cấu tạo lỗ tổ ong của Bucherli (1878 – 1892) : Chất tế bào là một hệ hai pha gồm một pha là chất keo lỏng liên tục, còn một pha khác không liên tục. Thuyết này phủ nhận thuyết cấu tạo hình sợi.

+ Thuyết thoả hiệp của Strasbuge (1892) : Chất tế bào gồm 2 loại sinh chất : sinh chất hình tổ ong để bảo đảm trao đổi chất và dinh dưỡng ; sinh chất hình sợi thực hiện việc chuyển động hay co giãn.

+ Thuyết cấu tạo hạt của Altman (1880 – 1890) : Chất tế bào gồm những phân tử hữu cơ có cấu tạo hạt (granula).

Sở dĩ có nhiều giả thuyết về cấu tạo của chất tế bào như vậy, là vì các tác giả đã nghiên cứu chất tế bào ở trạng thái không sống khi lấy ra khỏi tế bào với kĩ thuật tách tế bào lúc bấy giờ còn hạn chế.

Hiện nay người ta công nhận chất tế bào có cấu tạo 3 lớp : ngoại chất, trung chất và nội chất (hình 6).



Hình 6 – Sơ đồ cấu tạo chất tế bào

A : Ngoại chất

B : Trung chất

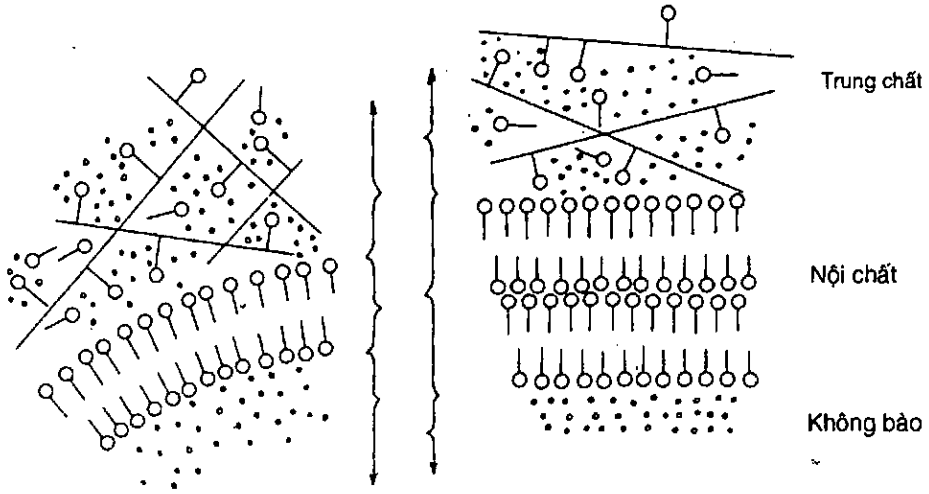
C : Nột chất

Các phân tử protein được biểu diễn bằng đường dài : ———

Các phân tử lipoit bằng nét chấm : .....

Màng ngoài của chất tế bào (ngoại chất) có hàm lượng lipoit cao hơn trung chất, nhưng cũng có cả một lượng đáng kể các phân tử protein.

Trung chất gồm nhiều thành phần, trong đó có hàm lượng cao các chất protein. Nội chất gồm 2 lớp lipoit có các cực ưa nước quay ra ngoài (phía trung chất) và vào trong (phía không bào) (hình 7).



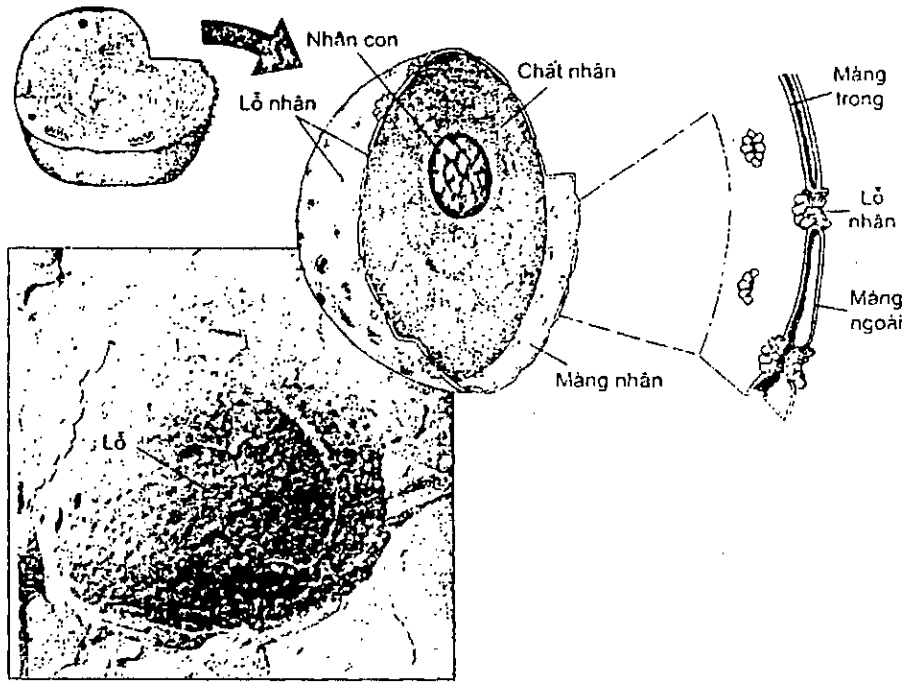
Hình 7 – Cấu tạo siêu hiển vi của trung chất và nội chất

VL001691
TRƯỜNG CAO ĐẲNG LTTP
THƯ VIỆN

b) Nhân tế bào : Nhân là bào quan đầu tiên của tế bào đã lôi cuốn sự chú ý của nhiều nhà nghiên cứu. Các thành tựu nghiên cứu về nhân rất phong phú và đa dạng.

– *Màng nhân :* Các nghiên cứu gần đây cho biết màng nhân gồm 2 lớp : Lớp trong dày đặc mà trong đó người ta chưa xác định được một loại cấu tạo nào và lớp ngoài có những lỗ nhỏ đường kính 400Å (màng nhân của nơron có 10 000 lỗ nhỏ). Sự có mặt các lỗ nhỏ trong màng nhân có một ý nghĩa hết sức quan trọng, nó giúp cho sự trao đổi chất giữa nhân và chất tế bào xảy ra thuận lợi (hình 8).

Kích thước của lỗ cho phép đi qua không chỉ những phân tử protein, ARN mà cả những tập hợp không lớn lắm của chúng.



Hình 8 – Cấu trúc của nhân và màng nhân

– *Thành phần hoá học của nhân :* protein : 50 – 80% chất khô ; ADN : 5 – 10% ; ARN : 3,3% – 0,5% ; lipit : 8 – 12% (Serra, 1955).

Protein là thành phần chủ yếu trong nhân. Protein trong nhân gồm các nhóm sau : histon, globulin, protein axit và protein kết tủa.

Axit nucleic trong nhân chủ yếu là ADN. Tuy nhiên không phải tất cả ADN trong tế bào đều tập trung trong nhân mà còn thấy ở các bào quan khác.

Ngoài ra nhân còn là một kho enzim đủ loại chứng tỏ nhân là nơi xảy ra nhiều quá trình sinh tổng hợp và phân giải các chất.

– *Chức năng của nhân :* Còn nhiều ý kiến khác nhau, tuy nhiên mọi người đều công nhận nhân là trung tâm tổng hợp axit nucleic và đóng vai trò quan trọng về mặt di truyền của tế bào.

c) Các bào quan khác : Do sự phát triển của kĩ thuật hiển vi, người ta đã tìm thấy trong chất tế bào các phần tử rất nhỏ gọi chung là các bào quan.

– *Lạp thể* là những bào quan chứa sắc tố. Ở lạp thể xảy ra quá trình biến đổi năng lượng. Ta sẽ xét kĩ cấu tạo và chức năng của lạp thể trong Chương quang hợp.

– *Ti thể* (mitochondri) : Ti thể có trong hầu hết các tế bào. Thường có dạng hạt nhỏ hình cầu, dạng que hay là dạng sợi dài, đường kính từ 0,5 – 1μm. Ở giới hạn tối đa có thể đến 2μm. Chiều dài lớn nhất không quá 7μm. Đặc điểm cấu tạo của ti thể là sự có mặt các màng 3 lớp của vỏ ngoài và của các vách ngăn trong. Các vách ngăn trong thường nằm song song và thẳng góc với trục chính của ti thể (xem cấu tạo của ti thể ở chương V).

Thành phần hoá học của ti thể đã được nghiên cứu khá chi tiết. Trong ti thể, hàm lượng protein khá cao : 65 – 70% khối lượng khô, lipit : 25 – 30%. Trong ti thể có đầy đủ một phức hệ các enzim xúc tác cho tất cả các phản ứng của chu trình axit tricacboxilic, các enzim oxi hoá các axit béo, oxi hoá photpholipit... Các enzim nằm dọc theo bề mặt các vách ngăn trong ti thể.

Về chức năng của ti thể, trong báo cáo tại Hội nghị Hoá sinh quốc tế lần thứ 5, Green đã cho rằng ti thể có 3 chức năng chính :

1. Nơi xảy ra quá trình oxi hoá trong chu trình tricacboxilic.

2. Chứa đầy đủ một hệ thống vận chuyển điện tử và thực hiện sự vận chuyển các ion hiđro và điện tử từ các enzim oxi hoá cơ chất trong chu trình Krep đến oxi.

3. Thực hiện quá trình photphorin hoá oxi hoá. Như vậy ti thể là trung tâm của quá trình hô hấp trong tế bào, nơi tích luỹ năng lượng dưới dạng ATP và từ đây năng lượng được cung cấp cho các bào quan khác.

Tuy nhiên, năng lượng của ti thể chỉ được chuyển trong những đoạn gần, cho nên thực tế các ti thể thường được phân bố khá đều trong khắp chất tế bào. Trong các tế bào có cực, ti thể thường tập trung ở những phần có hoạt động trao đổi chất mạnh nhất.

– *Vi thể :* Thuật ngữ vi thể (microsome) chỉ chung những yếu tố có cấu tạo rõ ràng của chất tế bào. Phần vi thể tách được bằng cách li tâm phân tầng là một hỗn hợp nhiều yếu tố cấu tạo khác nhau của chất tế bào, có thể có các chức năng khác nhau.

Một trong những yếu tố cấu tạo quan trọng của vi thể phải kể trước hết là riboxom – một trung tâm chủ yếu của quá trình tổng hợp protein trong tế bào. Sau nữa phải kể đến lizoxom, fagoxom là những bào quan có chứa một số enzim nhất định có khả năng phân giải phần lớn các hợp chất tự nhiên ngoài lipit (hiđrolaza, nucleaza, photphataza,...). Vì

vậy có giả thiết cho rằng các bào quan này làm nhiệm vụ tiêu hoá những hợp chất hữu cơ phức tạp.

– *Bộ máy Golgi :* Gần đây người ta cho rằng nó có mặt ở các tế bào thực vật, nhưng chức năng sinh lí là bao gói protein để bài xuất khỏi tế bào, tạo ra các túi tiết.

– Một bào quan mới được biết đến là *peroxixom* (nơi xảy ra một khâu trong quá trình hô hấp ánh sáng ở thực vật C_3).

d) Không bào : Ở các tế bào trưởng thành bắt đầu xuất hiện không bào. Trong không bào chủ yếu là nước và một số chất khác gọi chung là dịch tế bào. Thành phần của dịch tế bào như sau : các axit hữu cơ, đường, axit amin, protein, các chất hoạt tính sinh lí, một số sắc tố như antoxian, một số chất dự trữ khác như alcaloit. Trong dịch tế bào cũng có chứa một số enzim.

e) Màng sinh chất (membran) : Vấn đề tính thẩm thấu và sự chuyển vận các chất không chỉ qua thành tế bào mà cả các phần bên trong tế bào đã đặt ra việc xác định vai trò của màng sinh chất. Các ảnh chụp của kính hiển vi điện tử đã chỉ ra rằng : trong tế bào đã hình thành một diện tích lớn màng sinh chất.

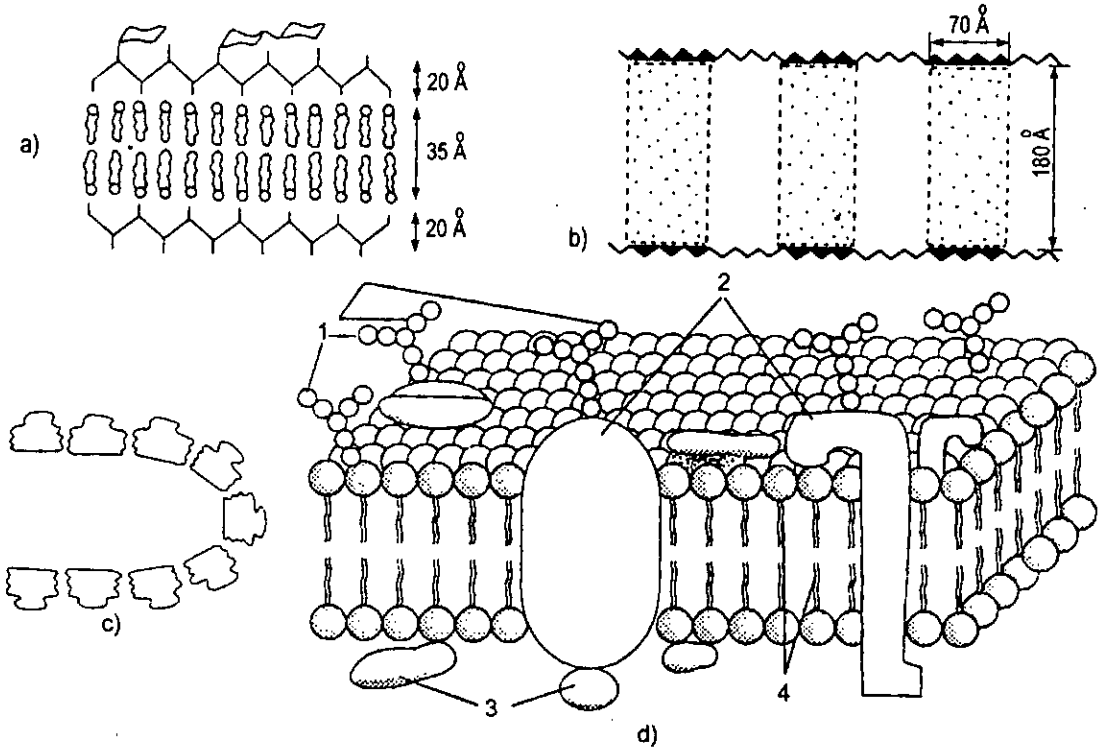
Sau đây ta sẽ xét thành phần, cấu tạo và chức năng của màng sinh chất :

Thành phần màng sinh chất : Tất cả các màng sinh chất đều hình thành từ protein và lipit. Về thành phần protein của màng sinh chất còn biết rất ít. Một vài tác giả cho rằng, đó là các protein globulin (protein không tan trong nước). Một số tác giả khác cho rằng protein của màng sinh chất có cấu trúc xếp nếp và đã tách được ở ti thể loại protein cấu trúc này. Đó là protein không tan khi pH trung tính, nhưng trong vùng pH axit thì phân giải thành các tiểu phần nhỏ hơn. Protein cấu trúc có ái lực cao với lipit.

Thành phần lipit đại diện cho tất cả màng sinh chất trước hết là lơxitin và kefalin. Trong các màng dày, ví dụ như các màng tế bào ngoài của phôi hoặc thần kinh, photpholipit gồm các axit béo bão hoà, ngoài ra còn gồm nhiều colesterol và glicolipit. Ngược lại trong các màng trung gian (màng nhân hoặc trung chất) photpholipit gồm một số lượng lớn axit béo không no.

Cấu tạo của màng sinh chất : Dưới kính hiển vi điện tử, các màng đều thể hiện một hình ảnh tương tự : Ở giữa màng nhìn thấy các dải sáng hơn và hai bên là các dải tối hơn. Bề dày của màng là 70 – 100Å. Các dải sáng là các lớp lipit, hai dải tối hai bên là các bản protein.

Cấu tạo này phù hợp với quan điểm về "màng cơ bản" đưa ra năm 1935 bởi Davson và Danielli : Lipit gồm 2 lớp, các nhóm phân cực quay ra ngoài, các chuỗi kị nước hướng vào trong. Các tâm protein xếp gần nhóm phân cực của lipoit, đồng thời là yếu tố bảo trợ (hình 9).



Hình 9 – Cấu tạo các màng sinh chất
1. Gluxit ; 2. Protein bên trong ; 3. Protein bên ngoài ; 4. Lớp lipit kép

– Sơ đồ "màng cơ bản" của Davson và Danielli (a) : giữa là photpholipit, hai phía hai bên là protein (chính xác hơn là glicoprotein).

– Màng theo Kanavan (b) : giữa là lipit, hai bên là protein.

– Màng theo Green (c) : các đơn vị lipoprotein xếp cạnh nhau. Hình dạng các đơn vị này giống với cấu tạo màng ở ti thể dưới kính hiển vi điện tử.

– Màng theo Singer và Nicolson : cấu trúc khảm (d)

Chức năng của màng : Chức năng quan trọng nhất và phổ biến nhất của màng là giới hạn sự trao đổi chất giữa các khoảng không gian có phản ứng khác nhau và các phức hệ khác nhau, đồng thời thực hiện tính thẩm thấu chọn lọc : một số chất không cho đi qua, một số chất đi qua dễ dàng, một số chất khác lại đi vào hoặc đi ra ngược với gradien nồng độ (chuyển vận chủ động).

Tóm lại màng sinh chất được xác định như là một lớp màng phân cực, phân chia giữa bên "trong" và bên "ngoài" màng tế bào.

3. Tính chất lí hoá của chất nguyên sinh

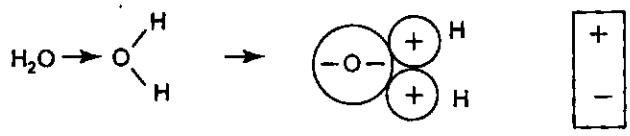
Chất nguyên sinh được đặc trưng bởi tính đồng nhất, tính không tan trong nước, tính đàn hồi, khả năng thay đổi thuận nghịch thành phần và độ nhớt. Tất nhiên những tính chất trên của chất nguyên sinh chỉ biểu hiện khi nó ở trong một tế bào sống nguyên vẹn.

Theo quan điểm lí hoá, ta xét hai tính chất quan trọng của chất nguyên sinh :

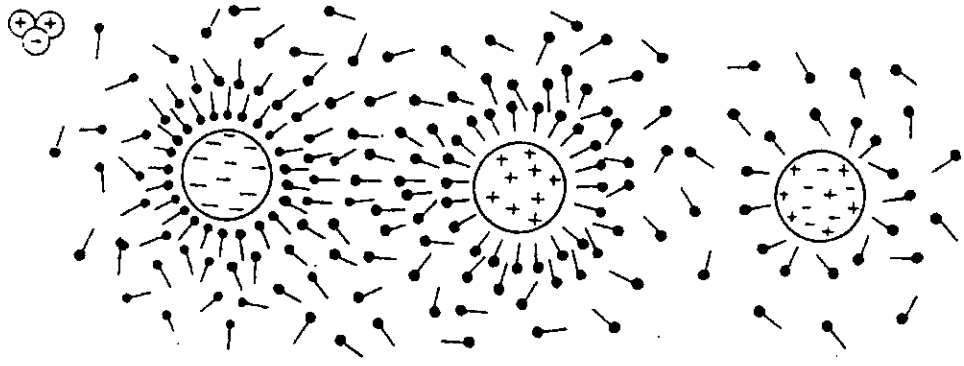
a) Chất nguyên sinh là một hệ keo phức tạp. Chất nguyên sinh là một hệ keo phức tạp có đầy đủ những tính chất và dấu hiệu của những đại phân tử trong dung dịch.

Hệ keo được phân biệt với dung dịch thật ở chỗ mức độ phân tán của tướng phân tán thấp hơn, vì các phân tử hoà tan gồm những mixen (nhiều ion liên kết lại với nhau). Các mixen này phân tán ít và phân bố không đều. Dung dịch keo này gọi là *sol*. Nếu dung môi của dung dịch là H_2O thì gọi là *hiđrosol*.

Hiện tượng các phân tử H_2O liên kết với các hạt keo gọi là *sự thuỷ hoá*. Hiện tượng này có được nhờ tính lưỡng cực của phân tử H_2O (hình 10, 11).



Hình 10 – Sơ đồ lưỡng cực của H_2O



Hình 11 – Sơ đồ thuỷ hoá mixen

Như vậy, trong hiđrosol mỗi một mixen đều có các phân tử H_2O bao bọc xung quanh và sự di chuyển rất khó khăn.

Những biến đổi trong hệ thống keo :

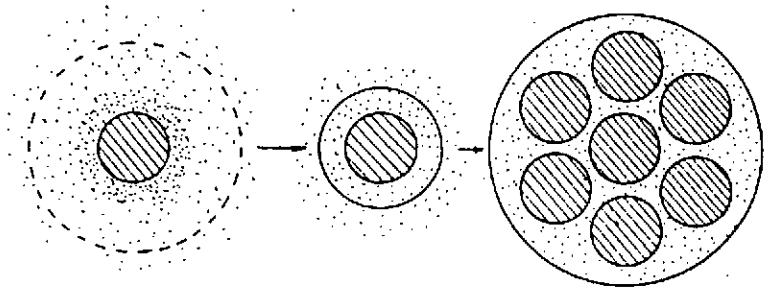
– *Sự ngưng kết* : Mỗi phần tử trong hệ keo đều tích điện. Nếu các phần tử keo mang điện cùng dấu thì chúng đẩy nhau, nếu khác dấu thì hút nhau. Nếu sức đẩy lớn thì hệ keo bền. Ngược lại nếu lực hút lớn thì các phần tử keo gần lại với nhau, lớn dần và lắng xuống. *Đó là hiện tượng ngưng kết.* Trong hiện tượng ngưng kết hình thành 2 pha rõ rệt : pha dung môi hoà tan, pha chất hoà tan.

Sự ngưng kết phụ thuộc vào sự tăng nồng độ của chất điện phân (làm triệt tiêu điện tích của các phần tử keo) và sự tăng nồng độ các phần tử keo (tăng lực hút của các phần tử keo).

– *Hiện tượng chuyển sol – gel* : Sol là trạng thái lỏng của keo (nhớt), gel là trạng thái rắn hay nửa rắn của keo (đàn hồi).

Đặc điểm của keo là khả năng chuyển từ trạng thái sol sang trạng thái gel và ngược lại. Sự chuyển sol – gel trong hệ keo có thể được tạo ra do thay đổi nhiệt độ, nồng độ ion hiđro, tăng thêm chất điện phân hay tác động cơ học.

– *Hiện tượng coaxecva* : Các phần tử keo có lớp H_2O bao quanh, nhưng vì một lí do nào đó, lớp H_2O này giảm đi và các hạt keo liên kết với nhau trong một màng nước chung. Sau đây là sơ đồ hiện tượng coaxecva (hình 12).



Hình 12 – Sơ đồ hiện tượng coaxecva

Trong chất nguyên sinh đã xảy ra những hiện tượng ngưng kết, chuyển sol – gel ra coaxecva đúng như trong những hệ keo nói chung. Tuy nhiên chất nguyên sinh có độ bền vững cao, do các mixen keo được bao phủ bởi một lớp kép các ion và có màng H_2O rất dày. Vì vậy muốn làm cho chất nguyên sinh ngưng kết rất khó. Thường dùng axeton hoặc rượu hay các loại muối đặc để hút H_2O.

Hiện tượng coaxecva trong chất nguyên sinh có liên quan đến sự hình thành các bào quan, vì đây như là sự hình thành một tổ chức đầu tiên. *Oparin* cho rằng các hạt coaxecva có khả năng hấp thụ các enzim và ảnh hưởng đến hoạt động của enzim.

b) Chất nguyên sinh có độ nhớt cấu trúc : Mặc dù chứa một lượng H_2O lớn (80%), chất nguyên sinh vẫn có một độ nhớt đáng kể. Vì vậy từ lâu người ta xem nó như một chất nửa lỏng.

Độ nhớt ở đây được biểu hiện như sức cản của các phần tử trượt trên nhau. Nhưng việc xác định độ nhớt của chất nguyên sinh rất khó khăn vì để làm việc đó ta không thể dùng một dụng cụ đo độ nhớt thông thường là dụng cụ đo độ nhớt theo vận tốc chảy của H_2O qua ống mao dẫn.

Để xác định độ nhớt của chất nguyên sinh người ta thường căn cứ vào vận tốc vận chuyển của những mảnh sắt nhỏ đưa vào chất nguyên sinh một cách nhân tạo khi bị nam châm tác dụng hoặc căn cứ vào vận tốc di chuyển của hạt tinh bột trong chất nguyên sinh do tác dụng của lực li tâm. Những cách xác định như thế đã chứng tỏ chất nguyên sinh có độ nhớt đáng kể. Ví dụ, trong tế bào của thân cây đậu, chất nguyên sinh có độ nhớt lớn gấp 24 lần độ nhớt của nước nguyên chất, lớn hơn 13 lần độ nhớt của dịch tế bào của chính tế bào đó.

Nhưng điểm đặc biệt ở đây là độ nhớt của chất nguyên sinh là độ nhớt cấu trúc, nghĩa là các phần tử trượt trên nhau theo một đường nhất định.

Điều này thể hiện một cấu trúc phức tạp của chất nguyên sinh liên quan đến khả năng của mixen hình thành nên những liên kết tạm thời không bền. Các mixen ở đây chính là các cao phân tử sinh học (protein, axit nucleic, lipoit). Ngày nay người ta biết rằng chính là các cao phân tử sinh học kiến tạo nên chất nguyên sinh thực ra là những chất đa điện phân (polielectrolit) có khả năng làm thay đổi cấu hình của mình, tự co lại và giãn ra khi thay đổi nồng độ ion hiđro trong môi trường (Vonkenstein, 1958).

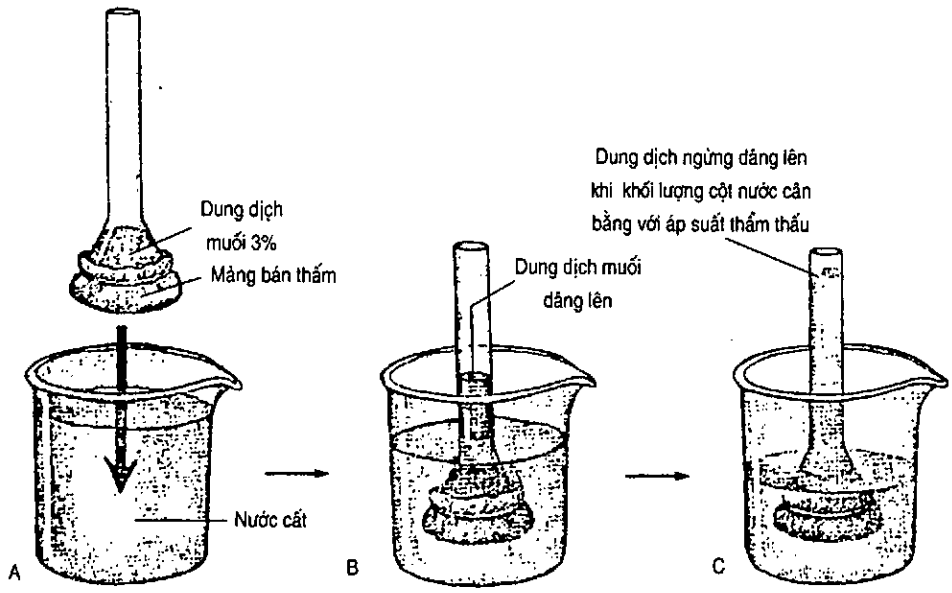
III – SỰ HÚT NƯỚC VÀO TẾ BÀO

1. Tế bào là một hệ thẩm thấu

a) Hiện tượng khuếch tán và thẩm thấu : Giống như ở trạng thái khí, trong dung dịch, các phân tử của chất hoà tan cũng luôn luôn ở trạng thái chuyển động không ngừng. Sự chuyển động này mặc dù chậm chạp hơn sự chuyển động của các phân tử khí khá nhiều cũng vẫn dẫn đến kết quả là có thể choán được các khoảng không gian (khoảng ấy chính là thể tích của dung môi). Đó là hiện tượng khuếch tán trong dung dịch. Về quy luật khuếch tán trong dung dịch cũng giống như quy luật khuếch tán của chất khí. Chẳng hạn vận tốc khuếch tán tỉ lệ nghịch với độ lớn của các phần tử khuếch tán.

Nếu trên đường khuếch tán, phần tử khuếch tán gặp phải một màng, thì sự khuếch tán của nó trở nên phức tạp theo những mức độ nhanh chậm khác nhau. Khi màng có lỗ nhỏ thì sự khuếch tán tiến hành chậm hơn. Sự khác nhau về vận tốc khuếch tán của các chất có độ lớn phân tử khác nhau thể hiện một cách rõ rệt hơn và chỉ những mixen lớn nhất của một vài chất keo mới có thể bị màng giữ lại hẳn.

Sự khuếch tán của nước và chất hoà tan qua màng như vậy gọi là *sự thẩm thấu*. Những nghiên cứu tiếp còn cho thấy ngoài loại màng trên ra, còn có những màng khác chỉ cho nước hay nói một cách tổng quát hơn là chỉ cho dung môi đi qua mà không cho chất hoà tan đi qua. Những màng như vậy gọi là *màng bán thấm*. Sự khuếch tán qua màng bán thấm là sự khuếch tán một chiều của nước hoặc dung môi sang dung dịch (hình 13).



Hình 13 – Thí nghiệm chứng minh sự thẩm thấu

A. Ống có chứa 3% dung dịch muối trong màng bán thấm. Màng sẽ có phân tử nước đi qua nhưng không cho phân tử muối đi qua.

B. Ống này được nhúng vào một cốc chứa nước cất. Muối không thể qua màng nhưng nước thì có thể. Nước vào làm dung dịch muối dâng lên trong ống.

C. Nước tiếp tục đi vào ống cho đến khi lực đẩy nước ra trong ống cân bằng với lực kéo phân tử nước vào. Lực này gọi là áp suất thẩm thấu.

Lực gây ra sự chuyển dịch của dung môi vào dung dịch qua màng gọi là *áp suất thẩm thấu.*

Theo Van-Hôp (Van't Hoff) áp suất thẩm thấu phụ thuộc vào nồng độ phân tử, nhiệt độ, sự điện li của dung dịch và có thể tính theo công thức :

$$P = RTCi$$

R : Hằng số khí = 0,0821.

T : Nhiệt độ tuyệt đối ($t^oC + 273$).

C : Nồng độ dung dịch tính theo M.

i : Hệ số Van–Hôp biểu thị mức độ ion hoá của dung dịch.

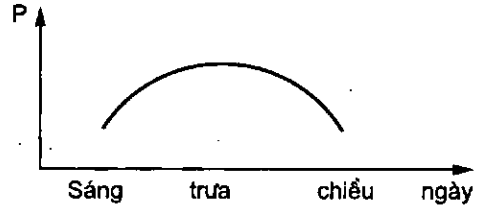
$i = 1 + \alpha (n - 1)$; α : hệ số phân li ; n : số ion mà phân tử phân li.

Đối với những chất không điện phân thì i = 1. Đại lượng P là một đại lượng biến đổi. Những nhóm cây sinh thái khác nhau thì có P khác nhau. Cây mọc ở đất khô cằn thì có P lớn.

Ví dụ : Áp suất thẩm thấu của dịch tế bào :

Rong đuôi chó	3,14 atm
Bèo hoa dâu	3,49 –
Cây đậu leo	10,23 –
Cây bí ngô	9,63 –
Phi lao	19,86 atm
Cây sơn	24,08 –

P còn thay đổi theo thời gian và có nhịp điệu ngày (hình 14).



Hình 14 – Nhịp điệu ngày của áp suất thẩm thấu ở thực vật

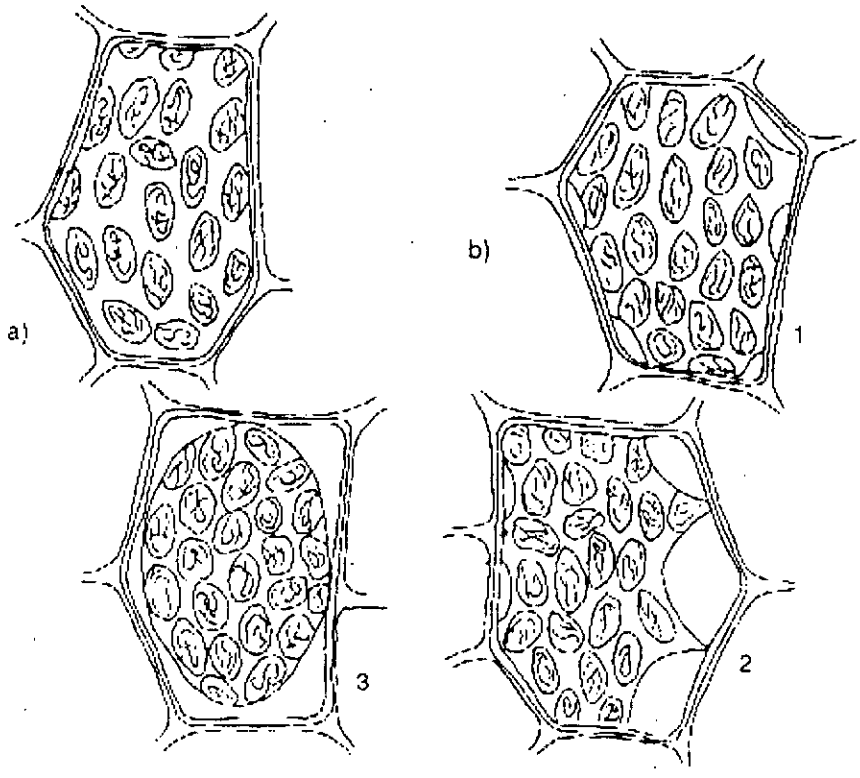
b) Các quá trình thẩm thấu trong tế bào thực vật : Trong tế bào thực vật, các lớp màng của chất nguyên sinh là những lớp màng gây nên hiện tượng thẩm thấu trong tế bào (vận tốc xâm nhập của nước vào trong tế bào hoặc thoát ra khỏi tế bào và màng chất nguyên sinh). Sự xâm nhập của nước vào tế bào có thể xảy ra theo 3 trường hợp : đẳng trương, nhược trương, ưu trương.

Dung dịch có áp suất thẩm thấu thấp hơn áp suất thẩm thấu của dịch tế bào gọi là dung dịch nhược trương. Ngược với dung dịch nhược trương là dung dịch ưu trương (có P > P dịch tế bào). Khi hai dung dịch có cùng áp suất thẩm thấu thì gọi là dung dịch đẳng trương. Nếu ta ngâm tế bào vào nước hoặc vào dung dịch nhược trương thì nước từ

dung dịch bên ngoài đi vào không bào và làm tăng thể tích của không bào. Áp suất làm cho không bào to ra ép vào thành tế bào gọi là *áp suất trương nước*. Áp suất này làm thành tế bào căng ra. Thành tế bào sinh ra một sức chống lại và gọi là *sức căng trương nước*. Khi hai áp suất này bằng nhau thì sự thẩm thấu dừng lại. Tế bào ở trạng thái bão hoà nước và thể tích của tế bào là cực đại. Khi đó chất nguyên sinh dính chặt vào thành tế bào và sức căng trương nước cũng đạt đến giá trị cực đại.

Ngược lại nếu đem tế bào đó ngâm vào dung dịch ưu trương thì nước từ tế bào ra ngoài và thể tích tế bào nhỏ đi, thành tế bào trở lại trạng thái bình thường, sức căng trương nước bằng 0 và thể tích tế bào ở mức tối thiểu. Nếu dung dịch ngâm tế bào quá ưu trương thì nước từ không bào tiếp tục đi ra ngoài làm cho không bào co lại kéo theo nguyên sinh chất tách rời khỏi thành tế bào.

Hiện tượng chất nguyên sinh tách khỏi thành tế bào gọi là hiện tượng *co nguyên sinh*. Có nhiều dạng co nguyên sinh : Lúc đầu là co nguyên sinh góc, sau là co nguyên sinh lõm và sau cùng là co nguyên sinh lồi (hình 15).



Hình 15 – Hình ảnh minh hoạ hiện tượng co nguyên sinh ở tế bào thực vật
a) Tế bào bình thường ; b) Tế bào co nguyên sinh
1. Góc ; 2. Lõm ; 3. Lồi

Nếu như đem tế bào đang co nguyên sinh này đặt lại vào dung dịch nhược trương thì tế bào lại dần dần trở về trạng thái bình thường và xảy ra *hiện tượng phản co nguyên sinh*.

Hiện tượng co nguyên sinh thể hiện sự sống của tế bào. Bởi vì chỉ có tế bào sống mới có hiện tượng co nguyên sinh. Tế bào chết thì màng bán thấm bị phá huỷ.

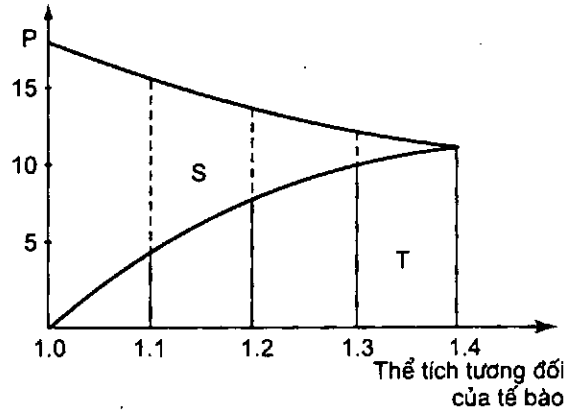
Cơ sở của hiện tượng co và phản co nguyên sinh là *tính chất thẩm thấu* của tế bào.

2. Khái niệm về sức hút nước của tế bào

Khi ngâm tế bào vào dung dịch nhược trương thì nước đi vào trong tế bào và tế bào bão hoà nước. Tuy nhiên trong một cây nguyên vẹn, lúc nào cũng có sự thoát hơi nước từ lá. Do vậy ít khi có sự bão hoà nước trong tế bào, mà cây thường ở trạng thái thiếu nước.

Ở trường hợp tế bào bão hoà nước thì áp suất trương nước (P) bằng với sức căng trương nước (T).

Như vậy ở trạng thái thiếu nước của tế bào thì P > T và P – T = S (S là sức hút của nước).

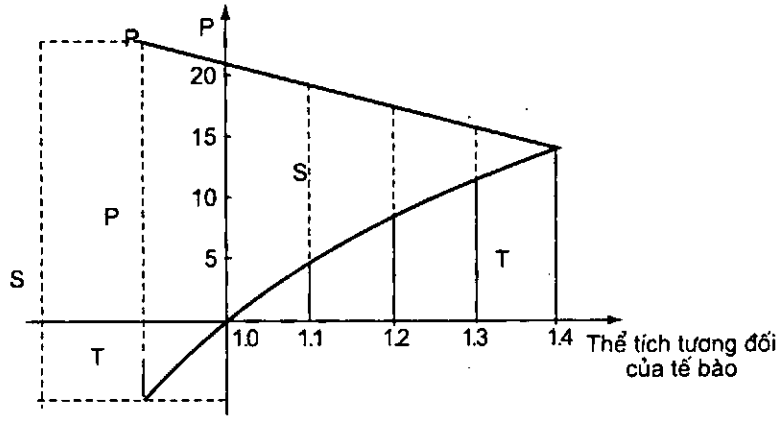


Hình 16 – Sơ đồ usprung biểu diễn mối liên hệ giữa S, P, T

Nhờ sức hút nước S mà nước có thể đi liên tục vào tế bào. Sức hút nước phụ thuộc vào trạng thái bão hoà nước của tế bào. Khi tế bào héo thì S lớn, khi tế bào bão hoà nước thì S = 0, vì lúc ấy P = T ; P – T = 0.

Như vậy chính áp suất thẩm thấu P đã tạo ra sức hút nước S. Nhưng nếu theo công thức S = P – T thì S luôn luôn nhỏ hơn P, mà trong thực tế có thể S > P. Macximop đã cho thấy có trường hợp tế bào mất nước không phải do thẩm thấu mà do bay hơi trong môi trường không khí khô, lúc đó tế bào mất nước rất nhanh, thể tích của cả tế bào giảm đi, do đó tế bào nhăn nheo lại. Chất nguyên sinh trong trường hợp này không tách khỏi thành tế bào. Hiện tượng này gọi là *hiện tượng xitoriz* (hình 17). Trong hiện tượng xitoriz thì sức căng trương nước T mang giá trị âm. Khi thay vào công thức S = P – T ta có :

$$S = P - (-T) = P + T.$$



Hình 17 – Sơ đồ Usprung giải thích hiện tượng xitoriz

Sức hút nước S biểu thị tình trạng thiếu nước trong tế bào và do đó có ý nghĩa lớn trong việc sử dụng chỉ tiêu này để xây dựng chế độ tưới nước cho cây.

3. Vai trò của keo sinh chất trong việc hút nước

Ta biết rằng S xuất hiện do có P trong không bào. Nhưng trong những tế bào chưa có không bào vẫn có S. S trong trường hợp này do áp lực phồng của keo gây nên khi các mixen keo hấp thụ nước.

Như vậy S không phải chỉ sinh ra do quá trình thẩm thấu thuần tuý mà còn do tính chất lí hoá của hệ keo của chất nguyên sinh.

IV – SỰ HÚT CÁC CHẤT HOÀ TAN VÀO TẾ BÀO

1. Tính thấm của tế bào

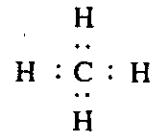
Khả năng cho các chất hoà tan đi vào hoặc đi ra khỏi một màng ngăn là tính thấm. Vậy tính thấm của tế bào là khả năng của tế bào hấp thụ những chất hoà tan vào tế bào và cho những chất hoà tan đi ra khỏi tế bào.

Đối với tế bào, tính thấm có đặc điểm riêng. Đó là khả năng chỉ thấm những chất hoà tan này mà không thấm các chất hoà tan khác, nghĩa là nó không thấm một cách thụ động theo tính chất vật lí và hoá học đơn thuần và được gọi là *tính thấm chọn lọc*.

2. Phân loại các chất theo tính chất vật lí và xác định khả năng thấm của chúng vào tế bào

a) Các chất không phân cực : là những chất trong đó điện tử phân bố đồng đều giữa 2 nguyên tử liên kết với nhau.

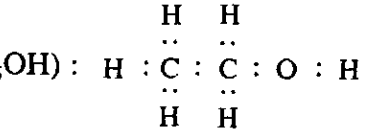
Ví dụ : Metan : CH_4 :



Những chất này dễ hoà tan trong lipit (chất béo) và các dung môi khác, nó thường có nhóm CH_3, C_2H_5, C_4H_9, C_6H_5 (các cacbua hiđro) và dễ xâm nhập vào tế bào.

b) Các chất phân cực : các điện tử liên kết giữa hai nguyên tử với nhau quá nghiêng về một nguyên tử nào đó. Vì thế mà chúng giống như một chất lưỡng cực.

Ví dụ : Rượu etilic (C_2H_5OH) :



các điện tử hoá trị quá nghiêng về phía OH.

Những hợp chất này thường có nhóm OH, NH_2, CHO, CO, $CONH_2$, SH,... và là những chất có nối đôi, nối ba và khó xâm nhập vào tế bào.

Trong thực tế có những hợp chất vừa có nhóm phân cực và nhóm không phân cực. Ví dụ C_2H_5OH thì nhóm không phân cực nhiều, nên dễ thấm, còn etilenglicon ($HOCH_2CH_2OH$) thì khó thấm.

c) Đối với các muối vô cơ : thấm vào tế bào chậm hơn cả các chất hữu cơ phân cực và quy luật rất phức tạp.

Trong thực tế sản xuất người ta đã áp dụng những hiểu biết này để chế các loại thuốc trừ sâu, diệt cỏ.

3. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự xâm nhập các chất vào tế bào

a) Mối liên quan giữa tính thấm và hệ số phân tán : Trong việc xác định tính thấm, ta còn tính đến hệ số phân tán :

$$\text{Hệ số phân tán} = \frac{\text{khả năng hoà tan trong lipit}}{\text{khả năng hoà tan trong nước}}$$

Đối với chất không phân cực thì khả năng hoà tan trong lipit nhiều, tức là hệ số phân tán lớn. Ngược lại đối với chất phân cực thì khả năng hoà tan trong nước lớn, nên hệ số phân tán nhỏ.

Các phân tử có hệ số phân tán cao thường dễ xâm nhập vào tế bào và không phụ thuộc vào kích thước của chúng.

b) Tính thấm và kích thước, khối lượng các phân tử : Khối lượng và kích thước các phân tử càng lớn thì càng khó xâm nhập vào tế bào. Ví dụ : saccaroz thì dễ xâm nhập vào tế bào. Nhưng tinh bột, glicogen thì không xâm nhập được vào tế bào. Nói chung các loại protein xâm nhập vào tế bào rất khó.

Tuy vậy việc xâm nhập vào tế bào đối với các chất khác nhau còn phụ thuộc vào đặc tính cấu tạo của từng loại tế bào, nhất là thành tế bào, chất nguyên sinh.

c) Ảnh hưởng của sự ion hoá các chất lên sự xâm nhập của chúng vào tế bào

Nói chung các *chất điện phân thì xâm nhập* vào tế bào *khó hơn*. Khả năng xâm nhập của các chất điện phân phụ thuộc vào số phân tử không phân li. Nếu số phân tử không phân li nhiều thì sự xâm nhập dễ dàng hơn, nhanh hơn. Việc tích điện đã ảnh hưởng đến sự xâm nhập vào tế bào.

Những ion tích điện cao thì sự xâm nhập càng khó. Na^+, K^+ xâm nhập dễ hơn Ca^{2+}, Mg^{2+}. Ion Fe^{3+} lại càng khó hơn khi xâm nhập vào tế bào. Tương tự đối với các anion cũng vậy.

Tuy nhiên đối với ion cùng hoá trị thì khả năng thấm vào tế bào cũng khác nhau. Ví dụ, NH_4^+ xâm nhập nhanh hơn vào tế bào so với K^+, K^+ lại nhanh hơn Na^+.

Vì sao vậy ? Người ta giải thích bằng mức độ thuỷ hoá các ion. Các ion thường hút và giữ các phân tử nước quanh mình và *chính màng nước này làm cho sự xâm nhập của ion bị cản trở.* Như vậy là mức độ thuỷ hoá của các ion không giống nhau và do đó gây nên sự xâm nhập nhanh, chậm khác nhau vào tế bào.

Ta xét một trường hợp cụ thể của hai ion Li^+ và K^+ cùng hoá trị 1.

Nhìn vào sơ đồ cấu tạo 2 nguyên tử này, ta thấy lực hút của Li^+ với nước mạnh hơn K^+. Do đấy mức độ thuỷ hoá của $Li^+ > K^+$ hay nói cách khác kích thước ion thuỷ hoá của $Li^+ > K^+$.

Nguyên tố	*Số điện tử trong lớp*				
	K	L	M	N	O
Li	2	1			
K	2	8	8	1	

Đối với các anion : $CN^- > I^- > NO_3^- > Cl^-$. Nói chung đối với các phần tử không tích điện thì xâm nhập vào tế bào dễ dàng còn các phần tử tích điện thì khi xâm nhập vào tế bào bị các điện tích trái dấu của màng hút và giữ lại.

Người ta đã đo điện tích chung của màng tế bào và thấy nó tích điện dương.

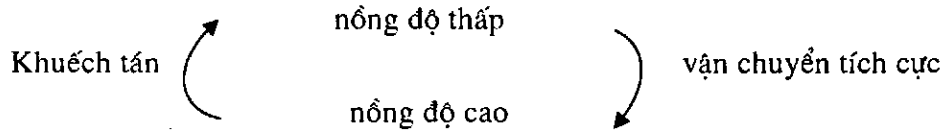
d) Ảnh hưởng của nhiệt độ lên tính thấm : Khi nhiệt độ tăng đã cung cấp năng lượng cho một số phân tử làm cho số phân tử này có đủ khả năng vượt qua được chướng ngại nào đó trên thành tế bào.

Hệ số nhiệt của tính thấm khoảng 1 – 4 ($Q_{10} = 2 - 4$).

e) Khi tế bào bị thương tổn thì tính thấm cũng tăng lên và có khi mất hẳn (ví dụ : hạt chết).

g) Ảnh hưởng của trạng thái sinh lí đến tính thấm : Tế bào ở trạng thái hoạt động cao thì đòi hỏi nhiều chất dinh dưỡng. Vì thế mà chúng luôn luôn tồn tại một gradien nồng độ tạo điều kiện cho sự khuếch tán liên tục các chất vào tế bào.

Tuy nhiên cũng có trường hợp các chất xâm nhập vào tế bào ngược với gradien nồng độ. Đó là trường hợp vận chuyển tích cực qua màng. Tất nhiên khác với trường hợp khuếch tán, trường hợp này phải có sự cung cấp năng lượng.



Trong thực tế thấy có loài tảo *Nitela* nồng độ K^+ trong tế bào gấp 1065 lần môi trường, nhưng K^+ vẫn đi vào tế bào.

4. Các thuyết giải thích tính thấm của màng tế bào

a) Thuyết Orerton. Qua thí nghiệm thấy rằng hầu hết các chất tan trong lipit đều dễ thấm vào tế bào và đã đi đến kết luận : Màng tế bào căn bản phải được cấu tạo bằng những chất lipit.

b) Thuyết màng rây của Traube – Ruland : màng tế bào có cấu tạo lỗ hổng.

c) Thuyết Lepeskin : Màng tế bào ngoài lipit ra còn có các protein. Nó có cấu tạo khảm. Theo thuyết này thì sự biến đổi tính thấm phụ thuộc vào sự biến đổi tỉ lệ giữa lipit và protein. Khi màng cấu tạo chứa nhiều lipit thì dễ cho các chất tan trong mỡ đi qua, khi nhiều protein thì dễ cho các chất tan trong nước đi qua.

d) Quan niệm hiện nay thấy rằng bản chất tính thấm của tế bào là rất phức tạp. Tính thấm là một quá trình sinh lí rất phức tạp, nó liên quan đến toàn bộ hoạt động sống của tế bào (nhất là hô hấp và các quá trình trao đổi chất khác).

Người ta chia các chất đi vào tế bào ra 2 giai đoạn : Giai đoạn I : Các chất qùa ngoại chất vào trung chất. Giai đoạn II : Qua nội chất vào không bào. Sự thấm qua nội chất khó khăn hơn sự thấm qua ngoại chất.

(Một số thí nghiệm cụ thể sẽ được minh hoạ trong giáo trình Thực tập Sinh lí tế bào).

V – SỰ TÍCH LUỸ PROTEIN, AXIT NUCLEIC VÀ CÁC HỢP CHẤT CHỨA NITƠ Ở CÁC GIAI ĐOẠN SINH TRƯỞNG KHÁC NHAU CỦA TẾ BÀO

1. Sự tích luỹ protein và các hợp chất chứa N hoà tan (axit amin, amit,...)

Ở những tế bào phân sinh đang phân chia nó luôn luôn tự tạo ra chính bản thân mình. Cho nên những protein đã tích luỹ, được phân bố cho các bào quan khác nhau của tế bào mới hình thành sau phân chia cũng theo tỉ lệ tương tự như tỉ lệ phân phối protein của tế bào ban đầu.

Sau khi ngừng phân chia, tuỳ theo mức độ sinh trưởng, những protein do tế bào tổng hợp nên được phân bố cho các bào quan không theo một tỉ lệ nhất định như cũ nữa mà sẽ thay đổi tuỳ theo nhu cầu của từng bào quan.

Ở thời kì giãn của tế bào, tỉ lệ tương đối của protein trong nhân bị giảm. Trước khi chuyển sang giãn, trong tế bào có sự dự trữ protein dưới dạng thể ẩn nhập trong không bào và dạng hạt alơron (như kiểu tích luỹ tinh bột trong rễ).

Sự tích luỹ protein trong tế bào ở giai đoạn giãn có ý nghĩa quan trọng trong việc tìm hiểu bản chất của quá trình giãn. Như vậy sự giãn không phải là sự tăng thể tích tế bào đơn thuần mà còn là sự tăng cả về số lượng, kích thước các bào quan của tế bào.

Sự sinh trưởng của tế bào và sự tích luỹ protein trong tế bào phụ thuộc vào điều kiện ngoại cảnh.

Chẳng hạn ở nhiệt độ tương đối cao sự sinh trưởng vẫn mạnh, nhưng sự tích luỹ protein có thể bị giảm. Hay hiện nay thấy rằng sự tích luỹ protein trong lá phụ thuộc chủ yếu vào sự cung cấp nitơ cho cây.

Trong quá trình sinh trưởng của tế bào, sự đổi mới protein được đẩy mạnh (phân giải và tái tổng hợp thường xuyên protein). Vấn đề này có liên quan với sự tích luỹ vào tế bào những hợp chất nitơ có khối lượng phân tử nhỏ.

2. Động thái của hàm lượng axit nucleic trong tế bào đang sinh trưởng

Cũng như protein, trong các tế bào phân sinh đang phân chia sự phân phối axit nucleic cũng giữ đúng tỉ lệ cho từng bào quan riêng biệt như trong các tế bào khởi sinh. Sau đó ở giai đoạn giãn lại có sự phân bố lại. Sự phân bố lại ARN có liên quan đến quá trình tổng hợp protein trong chất tế bào và việc xây dựng những bào quan của tế bào. Hiện nay người ta thấy rằng nhân giữ vai trò quan trọng nhất trong việc tổng hợp ARN và có thể trong nó đã tạo ra hầu như cả ARN của tế bào, phần lớn ARN này, sau đó chuyển vào chất tế bào. Những ý kiến này thống nhất với các tài liệu về sự tham gia của nhân trong việc tạo thành các riboxom. Như vậy có thể giả thiết rằng : trong nhân của tế bào phân sinh có tích luỹ thừa một số ARN, khi tế bào chuyển sang giai đoạn giãn thì ARN này được sử dụng để nhanh chóng tham gia vào việc tạo thành các bào quan và các protein của chất tế bào.

Người ta thấy có sự tăng ARN/protein trước khi tổng hợp protein ở các tế bào đang sinh trưởng mạnh. Trong giai đoạn giãn tỉ lệ này cũng tăng, chứng tỏ trong giai đoạn này sự tích luỹ ARN mạnh hơn sự tích luỹ protein.

3. Vai trò của axit nucleic trong quá trình sinh trưởng của tế bào

Người ta thấy sự sinh trưởng của tế bào phân sinh và tế bào giãn bị kìm hãm khi những chất tương tự các bazơ purin và pirimidin tác dụng đến chúng. Những chất này đã phá huỷ sự tổng hợp ARN (ví dụ như các chất 2,6 diaminopurin, barbitanat, tiourexin). Sự sinh trưởng của rễ hành tây bị kìm hãm khi có tác động của enzim ribonucleaza, mặc dù cơ chế tác dụng chưa rõ.

Như vậy là mới bắt đầu nghiên cứu được vai trò tác dụng của ARN trong sinh trưởng của tế bào qua ảnh hưởng của các chất kìm hãm tổng hợp ARN. Các kết quả bước đầu này ở thực vật mới chỉ có tính chất định hướng. Chắc chắn là những nghiên cứu sâu hơn theo hướng này sẽ cho những kết quả quan trọng để xây dựng lí luận về điều hoà sinh trưởng của tế bào thực vật. Thực ra cho đến nay vẫn chưa hiểu rõ ngoài việc tham gia vào quá trình tổng hợp protein, ARN có còn giữ vai trò nào nữa trong quá trình sinh trưởng hay không ? Hoặc là sự tổng hợp ARN thông tin có vai trò nào đó trong việc chuyển tế bào từ giai đoạn sinh trưởng này sang giai đoạn sinh trưởng khác ?

VI – NUÔI CẤY MÔ – TẾ BÀO THỰC VẬT

Nuôi cấy mô – tế bào là phương pháp sử dụng các điều kiện nhân tạo để duy trì sự sống của tế bào trong ống nghiệm (trong điều kiện *in vitro*). Nuôi cấy mô – tế bào bao gồm có nuôi cấy mô – tế bào động vật và nuôi cấy mô – tế bào thực vật. Hai lĩnh vực này khác nhau về đối tượng nuôi cấy, dẫn đến môi trường và kĩ thuật nuôi cấy cũng khác nhau. Mục đích chung của nuôi cấy mô – tế bào là sử dụng các điều kiện như nhiệt độ,

ánh sáng, thành phần dinh dưỡng, phytohoocmon... để điều khiển quá trình sinh trưởng và phát triển của tế bào, mô nuôi cấy theo mục tiêu và yêu cầu đặt ra.

Trong nhiều thập kỉ qua công nghệ nuôi cấy mô – tế bào thực vật đã phát triển mạnh mẽ ở nhiều quốc gia trên thế giới. Nó chiếm một vai trò quan trọng trong "Cuộc cách mạng xanh lần thứ hai" mà ở đó sự biến đổi của các gen và sự ra đời của Công nghệ Sinh học được ứng dụng để tăng năng suất và chất lượng cây trồng.

Nuôi cấy mô – tế bào thực vật là một công cụ cần thiết trong nhiều lĩnh vực nghiên cứu cơ bản và ứng dụng của ngành Sinh học. Nhờ áp dụng các kĩ thuật nuôi cấy mô phân sinh, mô sẹo... con người đã thúc đẩy thực vật sinh sản nhanh hơn gấp nhiều lần tốc độ vốn có trong tự nhiên. Do đó sẽ tạo ra hàng loạt cá thể mới giữ nguyên tính trạng di truyền của cơ thể mẹ và làm rút ngắn thời gian đưa ra một giống mới và sản xuất quy mô lớn. Hơn nữa dựa vào kĩ thuật nuôi cấy để duy trì và bảo quản được nhiều giống cây trồng quý hiếm hoặc có thể loại bỏ các mầm bệnh (phục chế giống).

Mặt khác sử dụng các kĩ thuật nuôi cấy và dung hợp protoplast (tế bào trần) để thực hiện được, cũng như chuyển các gen mong muốn vào cây trồng... Bên cạnh đó các nhà nghiên cứu còn thu nhận các chất trao đổi thứ cấp từ tế bào nuôi cấy dẫn đến một sự ổn định và độc lập hơn, ít lệ thuộc vào sản xuất của thực vật ngoài tự nhiên.

Ngoài ra, nuôi cấy mô – tế bào thực vật là một phương pháp nghiên cứu hiệu quả nhất quá trình phát sinh hình thái ở nhiều loài thực vật. Phương pháp này giúp mở ra những hướng mới trong nghiên cứu sinh lí và di truyền thực vật như : Cơ chế sinh tổng hợp các chất, sinh lí phân tử – đột biến, sinh lí dinh dưỡng ở tế bào thực vật và nhiều vấn đề sinh học khác,...

1. Lịch sử phát triển

Kĩ thuật nuôi cấy cấp mô – tế bào thực vật đã trải qua gần một trăm năm phát triển. Có thể tạm thời phân chia quá trình phát triển đó thành 4 giai đoạn :

a) Giai đoạn khởi xướng (1898 – 1930)

Bắt đầu từ những thí nghiệm đầu tiên của Haberlandt (1898 – 1902) khi ông đề xướng ra tính toàn năng của tế bào, nghĩa là mỗi tế bào đều mang toàn bộ lượng thông tin di truyền của cơ thể, theo ông mỗi tế bào ấy có khả năng phát triển thành cơ thể hoàn chỉnh khi gặp điều kiện thuận lợi. Tiếc rằng các thí nghiệm của ông đã không thành công. Tiếp theo Haberlandt là Kotte và Robbins (1924) đã thành công trong việc nuôi cấy đầu rễ trong 12 ngày, từ đó đầu rễ được sử dụng để nuôi và hoàn thiện môi trường nuôi cấy.

Phải đến những năm 30 của thế kỉ XX người ta mới đạt được những tiến bộ thực sự : Schmucker (1929), Scheitterer (1931), Pfeiffer (1931 – 1933), Larue (1933) thông báo về nuôi cấy thành công đoạn đầu rễ riêng rẽ trong môi trường nhân tạo, các đoạn rễ này phát triển thành những chiếc rễ hoàn chỉnh, đây là tiến bộ đánh dấu một giai đoạn phát triển mới.

b) Giai đoạn nghiên cứu sinh lí (1930 – 1950)

Bắt đầu thành công của White (1934) nuôi cấy được một dòng rễ cà chua sinh trưởng mạnh và liên tục, cùng năm đó Gautherets đã thành công trong nuôi cấy mô tượng tầng trên môi trường Knop bổ sung glucoz và cysteinhypochloride. Năm 1983 White nuôi cấy được mô tượng tầng của cây thuốc lá lai, vào cuối thời kì này đã có sự quan sát về sự phân hoá cơ quan rễ, lá trong mô nuôi cấy của cây cà rốt hoặc cây thuốc lá lai. Thành công quan trọng của thời kì này là xây dựng, vận dụng có kết quả một số loại môi trường nửa nhân tạo, đồng thời phát hiện được vai trò của một số vitamin đảm bảo sự thành công trong nuôi cấy đối với cơ quan (rễ) và mô (tượng tầng) ở thực vật.

c) Giai đoạn nghiên cứu phát sinh hình thái (1950 – 1960)

Đại diện cho giai đoạn này là Miller, Skoog Steward và Reinert. năm 1956 và là công trình của Miller và Skoog đã tạo chồi thành công từ mô thuốc lá nuôi cấy. Trong giai đoạn này, Skoog đã phát hiện ra kinetin là một chất điều khiển quá trình phân bào (thuộc nhóm Cytokinin) và phân hoá mầm chồi. Năm 1958 – 1959 Steward và Reinert đã sử dụng nước dừa vào nuôi cấy tế bào cà rốt và đã thu được phôi từ nuôi cấy tế bào cà rốt. Năm 1960 Bergmann đã phát triển kĩ thuật tế bào đơn lên một bước mới tạo được khối mô sẹo từ một tế bào đơn bằng kĩ thuật gieo trải tế bào thực vật trên đĩa thạch như trải tế bào vi sinh vật.

d) Giai đoạn triển khai nuôi cấy mô vào Công nghệ Sinh học thực vật

1959 Melchers sử dụng mô đơn bội của *Antrirrinum majus* nghiên cứu tính biến động mức bội thể trong nuôi cấy và gây đột biến.

1967 Nitsch, 1968 Nakata và Tanaka tạo được cây đơn bội từ bao phấn thuốc lá, mở ra triển vọng ứng dụng đơn bội vào công tác giống và nghiên cứu di truyền.

1960 Cooking tách được tế bào trần (protoplast) và từ đó trở đi nuôi cấy tế bào tách rời đã có những bước phát triển đáng khích lệ.

1964 Guha và Mahefwari tạo được cây cà độc dược có bộ nhiễm sắc thể đơn bội từ nuôi cấy bao phấn.

1968 Niieki và Ono nuôi cấy thành công bao phấn và tạo cây đơn bội ở lúa.

1971 Takebe tái sinh được cây thuốc lá hoàn chỉnh từ protoplast thuốc lá.

1977 Melchers lai xoma thành công cây cà chua và cây khoai tây.

1985 cây thuốc lá mang gen biến nạp đầu tiên được công bố.

1994 giống củ cải đường mang gen kháng bệnh virus biến nạp được đưa vào sản xuất đại trà ở Nauy. Ở Mĩ có hàng trăm giống cây mang gen biến nạp đã được sản xuất hàng loạt và thị trường chấp nhận.

2. Các kĩ thuật nuôi cấy mô – tế bào

a) Nuôi cấy mô và cơ quan tách rời

Năm 1946 hai tác giả Lon và Ball đã khởi đầu nuôi cấy mô và cơ quan tách rời bằng thí nghiệm nuôi cấy đỉnh chồi cây măng tây *Apragus ofcinalis*, sau đó những tác giả này đã nuôi cấy cả những bộ phận khác của cây : lá, hoa, thân.

Nhu cầu dinh dưỡng của nuôi cấy mô hoặc cơ quan tách rời đều có điểm chung : nguồn cacbon (đường), các nguyên tố đa lượng (N, P, K, Ca), vi lượng (Mg, Fe, Mn, Zn, Co,..) các vitamin. Tuy nhiên nuôi cấy mô đòi hỏi cao hơn nuôi cấy cơ quan tách rời như phải bổ sung thêm các chất hữu cơ N (axit amin) và đặc biệt là chất điều hoà sinh trưởng phải đầy đủ vì mô tách rời không có khả năng tổng hợp những chất này.

Trong nghiên cứu mô và cơ quan tách rời thì chọn mẫu có tầm quan trọng đặc biệt : mẫu phải ở tình trạng sinh lí tốt và đang phát triển. Đó là những phần non của cây hoặc phôi hợp tử trưởng thành, phần trên lá mầm, chồi bên của lá thứ nhất hay thứ hai, chúng chứa nhiều tế bào mô phân sinh.

Nuôi cấy mô và cơ quan tách rời được ứng dụng : Nghiên cứu điều kiện sinh trưởng đối với một bộ phận hoặc một mô của cây ; Nhân cây *in vitro* ; tạo mô sẹo phục vụ cho các nghiên cứu cơ bản như chọn dòng tế bào, đột biến xoma.

b) Nuôi cấy mô phân sinh

Thí nghiệm nuôi cấy mô phân sinh được bắt đầu từ thập kỉ 50 bởi các tác giả Morel và Martin (1952), sau đó là Murashige (1970)... để nuôi cấy mô phân sinh, có thể dùng môi trường White, Murashige và Skoog (1962), Gamborg... có bổ sung thêm vitamin, đường, các phytohoocmon.

Đặc điểm của mô phân sinh là chứa các tế bào non trẻ, phân chia mạnh, lại không bị virus xâm nhập, vì vậy mô phân sinh là mô duy nhất của cây sạch virus. Morel và Martin (1975) đã thu nhận được những cây khoai tây sạch virus từ nuôi cấy đỉnh sinh trưởng.

Nuôi cấy mô phân sinh được dùng trong các trường hợp :

– Tạo ra những giống cây sạch virus từ những giống bị bệnh (phục hồi giống).

– Nhân giống *in vitro*.

– Tạo cây đa bội thông qua xử lí conxixin.

– Nghiên cứu quá trình hình thành cơ quan.

c) Nuôi cấy mô sẹo (callus)

Khi sự cân bằng các chất kích thích sinh trưởng trong thực vật thay đổi, cụ thể các mô đỉnh sinh trưởng hay nhu mô được tách ra và nuôi cấy trên môi trường giàu auxin thì mô sẹo được hình thành. Đó là một khối các tế bào phát sinh vô tổ chức và có hình dạng không nhất định với màu vàng, trắng hoặc hơi xanh.

Nguyên liệu để tạo mô sẹo là các phần non của cây, được đưa vào môi trường nuôi cấy trên các môi trường MS, Gamborg... và cần thiết phải thêm các chất thuộc nhóm auxin. Loại và nồng độ auxin phụ thuộc vào mô nuôi cấy (Ycoman và Macleod, 1977). Trong quá trình nuôi cấy tạo mô sẹo, mẫu thường phải để trong bóng tối, tạo mô sẹo có thể là quá trình giải biệt hoá, đưa

những mẫu đã biệt hoá rồi trở về dạng ban đầu của nhu mô. Mô sẹo khi hình thành sẽ gồm hai loại :

– Loại xốp : chứa nhiều tế bào xốp với nhân nhỏ, chất tế bào loãng và không bào to.

– Loại cứng thì ngược lại : các tế bào chắc, nhân to, chất tế bào đậm đặc và không bào nhỏ.

Từ các khối mô sẹo có thể đưa vào môi trường nhân sinh khối để thu lượng lớn mô sẹo.

Nuôi cấy mô sẹo được ứng dụng trong nhiều trường hợp :

– Nhân giống *in vitro* ở những loài thực vật mà phương pháp nhân giống bằng nuôi cấy đỉnh sinh trưởng ít có hiệu quả hoặc không thực hiện được.

– Làm nguyên liệu cho nuôi cấy tế bào đơn, thu nhận các chất có hoạt tính sinh học.

– Nguyên liệu cho chọn dòng tế bào : đột biến, chọn dòng tế bào chịu mặn, chịu bệnh,...

– Nghiên cứu quá trình hình thành cơ quan.

d) Nuôi cấy phôi

Năm 1904 Hanning nuôi cấy phôi *Raphams spp* và *Chochlearia daminca* một cách có hệ thống trong điều kiện vô trùng và đã nhận được cây hoàn chỉnh. Laibach (1952) có những đóng góp trong nuôi cấy phôi lai giữa hai loài xa nhau về mặt phân loại. Năm 1958 những tế bào phôi dinh dưỡng đầu tiên được thu nhận từ mô dinh dưỡng của cây cà rốt *Daucus carota* và đưa vào nuôi cấy *in vitro* (Reinest và Steward, 1958) mở ra hướng mới trong nuôi cấy phôi vô tính. Phôi vô tính có khả năng nảy mầm tạo cây như phôi hữu tính, đây là đặc điểm quan trọng đáng chú ý nhất của chúng.

Các môi trường nuôi cấy phôi đều xuất phát từ những môi trường cơ bản : môi trường MS, môi trường White (1963), môi trường Gamborg (1968)... phối hợp với đường, vitamin, chất điều hoà sinh trưởng và một số chất khác.

Nuôi cấy phôi vô tính hiện nay được xem như một kĩ thuật mang lại nhiều hiệu quả hơn trong nhân giống cây trồng mà nhân giống vô tính theo phương pháp cổ điển còn nhiều hạn chế.

Ngoài ra nuôi cấy phôi vô tính còn dùng để :

– Thử sức sống của phôi hạt.

– Duy trì phôi yếu và cứu phôi lai xa.

– Sản xuất hạt nhân tạo mà bản chất là tế bào phôi được bọc trong vỏ algilat.

e) Nuôi cấy bao quanh phấn và hạt phấn

Các thí nghiệm nuôi cấy bao phấn đầu tiên được Guha và Mahisuswari (1966) tiến hành ở cây cà độc dược (*Dautura inoxia*) và đã thu được cây đơn bội. Năm 1967 Borugin và Nisth cũng tạo thành công cây đơn bội ở nhiều loài thực vật, góp phần tăng thêm các kho tàng kiến thức và thực tiễn trong chọn giống cây trồng.

Nuôi cấy bao phấn có ưu điểm là đơn giản, về thao tác kĩ thuật và môi trường nuôi cấy, nhưng có thể tạo ra cả cây lưỡng bội từ mô xoma của thành bao phấn, do vậy sẽ khó phân biệt với cây tự lưỡng bội từ cây đơn bội.

Trong nuôi cấy bao phấn và hạt phấn, tuỳ từng loài thực vật mà dùng các môi trường như : môi trường MS, môi trường N6... có bổ sung thêm các loại dịch chiết, chất điều hoà sinh trưởng... Đối với nuôi cấy hạt phấn thì môi trường phải giàu dinh dưỡng hơn. Nhiều tác giả nhận thấy rằng 2,4D thích hợp cho việc tạo mô sẹo ở hầu hết các loài, NAA cũng có kết quả tốt nhưng mô sẹo tạo thành thường phân hoá rễ, khó có thể tái sinh chồi.

Nuôi cấy bao phấn và hạt phấn được dùng cho tạo các dòng thuần để :

– Nghiên cứu gen lặn vì chúng không biểu hiện ở cơ thể dị hợp tử.

– Chọn các dòng đột biến.

f) Nuôi cấy tế bào đơn và tế bào trần

Melcher và Berman (1959) là người đầu tiên tách, nuôi cấy tế bào đơn thực vật. Tiếp theo nhiều tác giả khác đã nghiên cứu nuôi cấy tế bào đơn nhưng các thí nghiệm điển hình nhất là của Street (1970) ông nuôi cấy và duy trì được sự sinh trưởng liên tục của huyền phù tế bào.

Các tế bào đơn tách từ mô thực vật bằng phương pháp nghiền hoặc xử lí enzim. Sau đó chúng được nuôi cấy dịch lỏng, có khuấy hoặc lắc tạo điều kiện thuận lợi cho sự trao đổi khí và tiếp xúc với các chất dinh dưỡng (Thomas and Davey, 1975). Một số tác giả sử dụng mô sẹo cho nuôi cấy tế bào đơn.

Yêu cầu dinh dưỡng cho nuôi cấy tế bào đơn khá phức tạp, do chúng bị mất nhiều chất cần thiết cho sinh trưởng khi tách rời khỏi quần thể tế bào. Vì thế việc lựa chọn môi trường dinh dưỡng và điều khiển nuôi cấy phù hợp là nghiên cứu đầu tiên trong nuôi cấy tế bào đơn (King và Street, 1977).

Ứng dụng nuôi cấy tế bào đơn cho các mục đích :

– Nghiên cứu sự sinh trưởng, phát triển và phân hoá tế bào trong những điều kiện khác nhau.

– Chọn dòng tế bào.

– Thu nhận các chất trao đổi thứ cấp.

– Nuôi cấy Protoplast được bắt đầu từ những công trình của Cooking (1960) ông đã thu được protoplast từ tế bào rễ cà chua bằng phương pháp enzim.

– Mô hay dùng để tách protoplast là nhu mô thịt lá, ngoài ra có thể dùng mô sẹo hay tế bào đơn. Sau khi xử lí enzim thì thành tế bào bị loại bỏ, chỉ còn màng tế bào bao bọc tất cả các cấu trúc của tế bào. Do vậy Protoplast là đối tượng lí tưởng cho các nghiên cứu :

– Tạo con lai xoma nhờ phương pháp dung hợp protoplast.

– Chuyển các bào quan (ti thể, lạp thể) hoặc cả nhân vào tế bào.

– Quá trình sinh tổng hợp màng tế bào.

3. Nguyên tắc của nuôi cấy mô – tế bào thực vật

Nuôi cấy mô – Tế bào thực vật dựa trên hai nguyên tắc sau :

a) Dựa vào tính toàn năng của tế bào

Năm 1902, Haberlandt G (nhà khoa học người Đức) đưa ra giả thiết về tính toàn năng của tế bào thực vật. Ông cho rằng tất cả các tế bào đều có tính toàn năng (totipotency), nghĩa là mỗi tế bào đều mang toàn bộ lượng thông tin di truyền của cơ thể và có khả năng phát triển thành một cơ thể hoàn chỉnh khi gặp điều kiện thuận lợi.

Đến năm 1922, Kotte và Robbins đã nuôi được đỉnh sinh trưởng tách từ đầu rễ một cây hoà thảo trong 12 ngày. Như vậy, lần đầu tiên tính toàn năng của tế bào được chứng minh bằng thực nghiệm. Sau đó 43 năm (1965), Vasil và Hildebrant đã nuôi từng tế bào riêng biệt của cây thuốc lá và tạo được cây thuốc lá hoàn chỉnh trong ống nghiệm. Kết quả này chứng minh toàn diện tính toàn năng của tế bào.

b) Dựa vào khả năng biệt hoá và phản biệt hoá của tế bào

Biệt hoá là sự biến đổi của tế bào từ trạng thái tế bào phôi cho đến khi thể hiện một chức năng nào đó.

Các tế bào dùng trong môi trường cấy đều đã biệt hoá về cấu trúc và chức năng. Trong những điều kiện thích hợp, có thể làm cho những tế bào này trở lại trạng thái của tế bào đầu tiên đã sinh ra chúng – tế bào phôi và quá trình đó gọi là quá trình phản biệt hoá (dedifferentiation).

Trong cùng một cơ thể, mỗi loại tế bào đều có khả năng biệt hoá, phản biệt hoá và vì thế triển vọng nuôi cấy thành công cũng khác nhau. Những tế bào càng chuyên hoá về một chức năng nào đó (đã biệt hoá sâu) thì càng khó xảy ra quá trình biệt hoá và ngược lại, như các tế bào mạch dẫn của hệ thống mạch dẫn ở thực vật, tế bào thần kinh động vật. Người ta đã tổng kết rằng : những tế bào càng gần với trạng thái của tế bào phôi bao nhiêu thì khả năng nuôi cấy thành công càng cao bấy nhiêu.

Đối với các loài thực vật thì các tế bào phôi non, các tế bào mô phân sinh, các tế bào của cơ quan sinh sản (hạt phấn, noãn) rất dễ xảy ra quá trình biệt hoá. Vì vậy, nói một cách hình tượng như Galson (1986) và Murasshige (1974) thì khả năng hình thành cơ quan hay cơ thể của các tế bào thực vật lại giảm dần theo chiều từ ngọn xuống gốc.

Các tế bào động vật nói chung khó nuôi cấy hơn do chúng đã được biệt hoá quá sâu sắc và vì thế quá trình ngược lại (phản biệt hoá) rất khó thực hiện.

4. Sự phân hoá và hình thành cơ quan ở trong mô và tế bào nuôi cấy

Trong các tế bào nuôi cấy thường xảy ra hai dạng đó là phân hoá cơ quan bằng con đường hình thành nhu mô và phân hoá cơ quan qua sự tạo phôi xoma.

a) Sự phân hoá nhu mô

Sự phân hoá nhu mô trong môi trường nuôi cấy *in vitro* được bắt đầu bằng sự ngừng phân hoá và tạo thành mô sẹo – một tổ chức tế bào không phân hoá. Dưới tác dụng của

các chất điều hoà sinh trưởng và các yếu tố của môi trường nuôi cấy, khả năng phân hoá của các mô mất phân hoá lại được khôi phục và phân hoá thành cơ thể hoàn chỉnh.

Phân hoá cơ quan : Trong quá trình phân hoá cơ quan, ở những mô sẹo không có tổ chức được hình thành các cấu trúc hình thái dẫn đến việc tạo chồi, rễ, cành, hoa, cây hoàn chỉnh. Quá trình phân hoá này có thể thực hiện bằng cách thay đổi một số chất dinh dưỡng và các chất điều hoà sinh trưởng trong môi trường nuôi cấy.

Quá trình hình thành cơ quan trong mô xảy ra qua hai giai đoạn : đó là tái phân hoá và giai đoạn hình thành các mầm mống cơ quan. Khả năng hình thành cơ quan khác nhau ở các loại mô (Galston, 1968, Murashige). Đối với mô sẹo, xu thế tạo cơ quan giảm dần khi mô cấy chuyển nhiều lần vì khi mô cấy chuyển nhiều lần thường hình thành các tế bào đa bội và lệch bội, ngoài ra có thể mất các yếu tố di truyền.

Sự phân hoá của mô nuôi cấy đã cho thấy một tiềm năng mãnh liệt trong tế bào thực vật, nhờ đó các tế bào đã tái phân hoá để tạo thành tế bào mới của mô thực vật nuôi cấy và tạo thành cơ thể hoàn chỉnh.

b) Phân hoá phôi

Ở một số loài thực vật tái sinh cây hoàn chỉnh từ một tế bào, xảy ra theo sự phân hoá phôi như trong trường hợp phân hoá cơ quan, phân hoá phôi cũng bắt đầu từ sự tái phân hoá của các tế bào đã biệt hoá trong mô nuôi cấy và sau đó xảy ra quá trình tạo phôi. Steward và cộng sự (1958) đã mô tả sự hình thành cấu trúc phôi trong tế bào cà rốt nuôi cấy trong môi trường lỏng. Đầu tiên tế bào phân chia mạnh để tạo thành các cụm tế bào, trong các cụm này các phần tử của xylem được hình thành sau đó xảy ra quá trình tạo mầm mống rễ. Khi chuyển sang môi trường nuôi tiếp thì quan sát thấy hình thành chồi và sau đó là cây hoàn chỉnh.

Cả hai quá trình phân hoá phôi và phân hoá nhu mô để hình thành cơ quan như chồi, rễ, đều chịu tác động của các chất sinh trưởng và các điều kiện nuôi cấy.

5. Yêu cầu cơ bản của kĩ thuật nuôi cấy mô – tế bào thực vật

a) Phòng thí nghiệm nuôi cấy mô – tế bào

Những yêu cầu cơ bản đối với phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tương tự như phòng thí nghiệm nghiên cứu vi sinh vật. Những yêu cầu này gồm các điều kiện thuận lợi cho việc chuẩn bị khử trùng và bảo vệ môi trường dinh dưỡng, khử trùng các dụng cụ nuôi cấy, vô trùng trong khi thao tác nuôi cấy và tiến hành nuôi cấy trong điều kiện được kiểm tra chặt chẽ.

Số phòng thí nghiệm tối thiểu phụ thuộc vào những điều kiện và nhiệm vụ cụ thể, nhưng ít nhất phải có những phòng sau :

1. Phòng chuẩn bị và giữ môi trường dinh dưỡng
2. Phòng thao tác nuôi cấy
3. Phòng nuôi cấy
4. Phòng phân tích
5. Phòng làm việc

Phòng chuẩn bị và giữ môi trường dinh dưỡng :

Phòng này dùng để làm các công việc sau : Chuẩn bị, khử trùng các môi trường nuôi cấy, bảo vệ một số môi trường dự trữ.

Thiết bị : Tủ sấy, thiết bị khử trùng, tủ lạnh, máy cất nước, pitet, ống đong, cân phân tích, cân kĩ thuật, bể rửa chai lọ.

Các chai lọ, ống nghiệm, pipet, ống đong cần rửa sạch, tráng nước cất và sấy khô trước khi sử dụng.

Phòng thao tác nuôi cấy :

Đây là phòng để tiến hành các thao tác nuôi cấy, phòng này cần làm sao hạn chế đến mức tối thiểu sự gây bụi, phòng phải kín gió. Tường lát gạch men là tốt nhất, phòng có hệ thống đèn tím khử trùng trước khi vào làm việc.

Thiết bị : Các tủ cấy vô trùng, giá bàn để môi trường, máy li tâm và kính hiển vi (trong trường hợp để tiến hành các thí nghiệm nuôi cấy tế bào và protoplast) và các dụng cụ như dao, kéo, đèn cồn.

Phòng nuôi cấy :

Phòng này dùng để nuôi mô hoặc cây trong ống nghiệm. Có phòng nuôi sáng và phòng nuôi tối.

– Phòng nuôi sáng : Tường có thể sơn màu trắng để đỡ bắt bụi và làm cho phòng sáng sủa.

Thiết bị phòng cần có giá có tầng để bình hoặc ống nghiệm nuôi cấy. Các giá được lắp đèn ống (ánh sáng trắng) để chiếu sáng. Trong phòng cần có máy móc kiểm tra chính xác, nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm, máy điều hoà nhiệt độ.

– Phòng nuôi tối : Để nuôi mô sẹo và các xử lí đặc biệt. Phòng tối cần tất cả các thiết bị như phòng nuôi sáng chỉ có một điều khác là không cần lắp đèn chiếu sáng cho cây. Các cửa sổ cần che bằng vải đen hoặc bịt kín.

Phòng phân tích :

Phòng này dùng để tiến hành các phân tích sinh hoá và di truyền.

Thiết bị : Tủ hút, cân các loại, tủ ấm, máy cắt tiêu bản, máy đo pH, li tâm lạnh, máy điện di, máy soi ADN, tủ lạnh sâu, máy sắc kí, quang phổ, lò vi sóng, pipet tự động các loại, phòng rửa và các tủ đựng hoá chất.

Phòng làm việc :

Đối với các phòng này tuỳ thuộc theo từng điều kiện cụ thể có thể bố trí thế nào đó cho hợp lí.

b) Trang thiết bị, dụng cụ

Phòng nuôi cấy mô cần trang bị một số các dụng cụ thuỷ tinh sau : ống đong, pipet, bình tam giác, cốc thí nghiệm, bình đun môi trường, ống nghiệm, phễu, lọ thuỷ tinh, hộp lồng, phòng đếm hồng cầu.

Dụng cụ nuôi cấy :

Dụng cụ dùng trong nuôi cấy mô bao gồm : Dao, kéo, panh, que cấy, tất cả đều làm bằng thép không gỉ, độ dài tuỳ thuộc vào độ dài của bình và ống nghiệm nuôi cấy. Các dụng cụ có thể khử trùng bằng nồi khử hoặc đốt kĩ trước khi sử dụng.

6. Môi trường nuôi cấy

a) Các thành phần cơ bản của môi trường nuôi cấy

Nghiên cứu về môi trường nuôi cấy giữ một vị trí quan trọng trong lịch sử phát triển nuôi cấy mô – tế bào. Vào thời kì Haberlandt tiến hành các thí nghiệm nuôi cấy tế bào phân lập, những hiểu biết về nhu cầu dinh dưỡng khoáng và mô tế bào thực vật còn rất hạn chế, đặc biệt là vai trò của các chất điều khiển sinh trưởng hầu như chưa được khám phá. Chính vì vậy mà Haberlandt đã không thành công.

Tiếp đó các nhà nuôi cấy mô sử dụng các môi trường tự nhiên có nguồn gốc thực vật (dịch chiết lá, nước nội nhũ) rồi một số môi trường đơn giản như Knop đã sử dụng.

Cơ sở cho việc xây dựng các môi trường nuôi cấy là việc xem xét các thành phần cần cho sự sinh trưởng và phát triển của cây, vì thế chỉ dùng nước chiết không thì không đủ. Từ đầu những năm 20 đã có một số công trình sử dụng môi trường dinh dưỡng tổng hợp. Ngoài muối khoáng và nguồn cacbon, bổ sung vào môi trường còn có vitamin và một số chất khác. Kotte và Robbins (1922) đã hoàn thiện thành phần môi trường, trong đó bổ sung thêm các loại đường, aminoaxit và dịch chiết nấm. Trong những năm 60 nhiều môi trường nuôi cấy đã được xây dựng và được sử dụng cho đến nay, chỉ cần cải tiến chút ít. Đó là các môi trường White (1953), môi trường Murashige và Skoog (1962), môi trường Nitch (1969), môi trường Gamborg (1968).

Đến nay có hàng trăm loại môi trường dinh dưỡng đã được xây dựng và thử nghiệm có kết quả. Hầu hết các loại môi trường đều bao gồm những thành phần chính sau đây :

1. Các loại muối khoáng
2. Nguồn cacbon
3. Vitamin
4. Các chất điều hoà sinh trưởng
5. Các nhóm chất bổ sung
6. Chất độn

– Các loại muối khoáng

Các nguyên tố khoáng dùng trong môi trường dinh dưỡng nuôi cấy mô – tế bào thực vật được chia thành hai nhóm theo hàm lượng sử dụng : nhóm đa lượng và nhóm vi lượng.

+ Các nguyên tố khoáng đa lượng :

Nitơ (N) : thường được sử dụng ở hai dạng nitrat (NO_3^-) hoặc muối amôni (NH_4^+) riêng rẽ hoặc phối hợp với nhau. Nitrat có thể dùng 2 – 25mM, nồng độ tổng hợp cả nitrat

và amonium có thể lên tới 60 mM (Gamborg và Cộng sự 1976). Một số axit amin như alanin, axit glutamic, glutamin, axit asparagic cũng được sử dụng như nguồn nitơ (Nitch, 1957 ; Demetriades, 1958). Kết quả nghiên cứu cho thấy nếu chỉ dùng axit amin làm nguồn nitơ thì mô phát triển rất yếu. Vì vậy hầu hết các loại môi trường đều dùng nitrat và amonium dạng phối hợp và tuỳ theo đặc tính hấp thụ nitơ của loài cây đó mà phối hợp theo tỉ lệ thích hợp.

Lưu huỳnh (S) : Chủ yếu và tốt nhất là muối SO_4^{2-}.

Photpho (P) : Mô và tế bào thực vật nuôi cấy có nhu cầu về photpho rất cao. Chính vì vậy photpho là một nguyên tố cần thiết của môi trường và thường được đưa vào môi trường ở dạng ortophotphat hoặc đường photphat. Ngoài ra khi photpho ở dạng H_2PO_4 và HPO_4^- còn có tác dụng như một hệ thống đệm làm ổn định pH của môi trường trong quá trình nuôi cấy.

+ Các nguyên tố khoáng vi lượng

Ngoài các nguyên tố khoáng đa lượng, trong môi trường còn cần các nguyên tố vi lượng là Fe, B, Mn, I, Mo, Cu, Zn, Ni, Co.

– Nguồn cacbon

Hầu hết các mô nuôi cấy là dị dưỡng, không có khả năng tổng hợp cacbon. Vì vậy việc đưa vào môi trường nuôi cấy nguồn cacbon hữu cơ là điều kiện bắt buộc. Trong phần lớn các môi trường nguồn cacbon và năng lượng chủ yếu là saccaroz và glucoz là nguồn cacbon tốt nhất. Ở một số mô thì có thể dùng mantoz, fructoz và galactoz.

– Vitamin

Mặc dù tất cả các loại mô và tế bào thực vật nuôi cấy *in vitro* có khả năng tự tổng hợp được hầu hết các loại vitamin, nhưng thường không đủ về lượng do đó phải bổ sung thêm vào môi trường một số vitamin, đặc biệt là các vitamin thuộc nhóm B như vitamin B_1, B_3, B_5, B_6, axit nicotinic và meso-inosit. Trong đó vitamin B_1 được coi là vitamin thiết yếu đối với sự sinh trưởng của tế bào thực vật (Weaver R.J., 1972 ; Bhojwani và Razdan, 1983).

Vitamin B_1 đóng vai trò quan trọng trong quá trình biến đổi cacbon và tham gia tạo thành phần tổ hợp enzim xúc tác quá trình oxi hoá khử cacbon ở axit hữu cơ. Nồng độ thường dùng từ 0,1 – 1,0 mg/l. Vitamin B_6 tham gia vào thành phần các enzim khử cacbon và thay đổi vị trí nhóm amin trong các axit amin. Nồng độ từ 0,1 – 1 mg/l. Axit nicotinic đi vào thành phần enzim oxi hoá khử đehiđrogennaza xúc tác việc tách hiđro khỏi các axit hữu cơ. Nồng độ dùng 0,5 – 1mg/l.

Một số trường hợp phải bổ sung thêm vitamin C ở nồng độ cao vì vitamin C giúp chống lại các hiện tượng oxi hoá. Số lượng và nồng độ các vitamin cần sử dụng biến đổi theo loài.

– Các chất điều hoà sinh trưởng

Các chất điều hoà sinh trưởng thực vật (phytohoocmon) là thành phần quan trọng bậc nhất của môi trường nuôi cấy. Nhờ những chất này, các nhà nghiên cứu có thể chủ động điều khiển quá trình phát sinh hình thái của thực vật *in vitro*. Có hai nhóm chất được sử dụng rộng rãi là auxin và xytokinin. Nhóm auxin bao gồm một số hợp chất có chứa nhân indol trong phân tử. Ở *in vivo* các auxin gây ra một loạt những biến đổi sinh trưởng như : tính trội đỉnh, tính hướng kích thích, sự rụng lá – quả, sự ra rễ và ảnh hưởng tới nhiều hoạt động sinh trưởng khác của cây. Trong nuôi cấy *in vitro*, auxin thúc đẩy sinh trưởng của mẫu qua sự phân chia và giãn nở của tế bào, kích thích các quá trình tổng hợp và trao đổi chất, tham gia điều chỉnh sự phân hoá của rễ, chồi (Bhowani và Razdan, 1983). Trong vài trường hợp bản thân mẫu nuôi cấy tạo ra đủ lượng auxin cho nhu cầu của chúng và không cần đến auxin ngoại sinh.

Các auxin đều có hiệu quả sinh lí ở nồng độ thấp, phạm vi sử dụng từ 0,1 – 1mg/l tuỳ theo mục đích và vật liệu nuôi cấy. Auxin được thêm vào sẽ kết hợp với auxin nội sinh để điều khiển chiều hướng và cường độ các quá trình sinh trưởng. Hàm lượng auxin thấp sẽ kích thích sự phân hoá rễ, ngược lại ở hàm lượng cao sẽ phát động sự tạo mô sẹo. Các chất thuộc nhóm auxin hay dùng là IBA, IAA, NAA và 2,4D. IAA do kém bền nhiệt nên ít sử dụng, IBA và NAA dùng cho quá trình tạo rễ ở đa số các loài cây. 2,4D sử dụng rất có hiệu quả trong việc tạo mô sẹo ở nhiều loài thực vật, nó không được dùng trong môi trường tái sinh cơ quan.

Xytokinin là nhóm các phytohoocmon dẫn xuất của adenin, có vai trò sinh lí tương tự nhau. Ở phôi, quả non và trong rễ xytokinin có hàm lượng cao nhất. Xytokinin liên quan chặt chẽ với phân bào, duy trì sự trẻ hoá của các cơ quan, làm giảm hiện tượng ưu thế ngọn, kích thích sự phân hoá chồi từ mô sẹo nuôi cấy. Đối với nuôi cấy phôi ở nhiều loài cây, xytokinin có ảnh hưởng dương tính rõ rệt, vì thế trong giai đoạn đầu của phát sinh phôi xoma, sự có mặt của auxin là cần thiết nhưng trong giai đoạn sau phôi phải được nuôi cấy trên môi trường có xytokinin để biệt hoá chồi. Các xytokinin thường dùng trong môi trường nuôi cấy là kinetin, zip BAP với nồng độ biến đổi từ 1 – 2 mg/l thích hợp cho nhiều loại mô nuôi cấy. Các mức thấp hơn của xytokinin biểu hiện hiệu quả kích thích kém, dẫn đến sự tạo chồi và sinh trưởng của chồi giảm. Hàm lượng xytokinin cao sẽ hoạt hoá thành chồi bất định (Me Comb, 1978 ; Zimmerman và Brome, 1980), chồi nhiều nhưng có kích thước nhỏ. Để kéo dài chồi thì cần chuyển chúng sang môi trường có nồng độ xytokinin thấp hơn và có thể phải bổ sung thêm cả GA_3. Ngoài ra nồng độ cao của xytokinin còn kìm hãm sự hình thành và phát triển của rễ (Narayanaswamy S., 1994).

Theo Bhojwani (1980) ở một số loài, môi trường nuôi cấy chỉ có một loại xytokinin cũng cho hệ số tạo chồi cực đại. Với các cây ngũ cốc sự phối hợp của 2 hay nhiều loại xytokinin cho kết quả tốt hơn khi sử dụng xytokinin riêng rẽ. Tuy nhiên muốn có tương quan sinh trưởng tối ưu thì phải có cân bằng hoocmon thích hợp. Nhiều tác giả đã tổng kết rằng sự biệt hoá cơ quan thực vật *in vitro* là kết quả tác động qua lại giữa 2 nhóm

auxin và xytokinin. Tỉ lệ cao auxin/ xytokinin kích thích sự tạo rễ, trái lại sẽ đẩy mạnh sự biệt hoá chồi, còn tỉ lệ trên trung bình mô sẹo được hình thành. Đó là nguyên tắc chung, còn phản ứng của các loại mô là không giống nhau. Vì thế với mỗi loại mô, ở từng giai đoạn sinh trưởng khác nhau thì tổ hợp nồng độ giữa auxin – xytokinin là rất quan trọng.

Ngoài auxin và xytokinin, trong nuôi cấy mô – tế bào thực vật, người ta còn sử dụng các phytohoocmon khác như : GA, ABA, etilen. Đặc điểm cơ bản của GA là kích thích kéo dài lóng, đốt và sự sinh trưởng của cây. Phản ứng kéo dài thân chủ yếu do sự tăng trưởng của tế bào, bên cạnh đó GA giúp phá vỡ trạng thái lùn di truyền ở cây, kích thích nảy mầm của hạt mà bản chất là hoạt hoá các quá trình tổng hợp enzim thuỷ phân tinh bột. So sánh với auxin và xytokinin thì GA là nhóm rất ít dùng, vì có biểu hiện ức chế sinh trưởng và phát sinh hình thái *in vitro*, đặc biệt là mô thực vật một lá mầm (Narayanaswamys , 1994). GA được đưa vào môi trường trong những trường hợp cần thiết để kéo dài các chồi bất định hoặc kích thích tái sinh chồi ở một số loài thực vật (Bhojwani và Razdan, 1983).

ABA là chất ức chế sinh trưởng tự nhiên, tham gia vào điều tiết đóng mở khí khổng duy trì trạng thái ngủ nghỉ của quả, hạt. Nó đẩy nhanh các quá trình lão hoá và gây sự rụng của cơ quan (Wilmar và cộng sự Đoonrbos, 1971). Vì vậy ABA được sử dụng nhằm kìm hãm sinh trưởng của chồi hoặc tham gia vào bảo quản lương thực và quỹ gen *in vitro*. Ở một số ít trường hợp ABA thúc đẩy sự phát triển rễ như trong các mẫu nuôi cấy khoai lang, cà chua, đậu tương. Trong nuôi cấy phôi, thêm ABA vào môi trường là rất cần thiết do ABA giúp phôi chống lại sự khô hoá (Senartua và cộng sự 1990).

– Các nhóm chất bổ sung

Bên cạnh các chất điều hoà sinh trưởng, người ta còn sử dụng nhiều dung dịch hữu cơ phức tạp có thành phần không xác định như : nước dừa, dịch chiết nấm men. Cazein thuỷ phân nhằm tăng cường sự sinh trưởng và phát triển của mô nuôi cấy.

Van OVerbeck (1941) đã xác nhận tác dụng kích thích của nước dừa trong nuôi cấy phôi họ Cà. Năm 1948 Steward cũng thu được kết quả như vậy ở mô cà rốt. Trong nuôi cấy tế bào đơn, cường độ phân chia tế bào được gia tăng khi bổ sung nước dừa vào dịch huyền phù nuôi cấy. Thành phần nước dừa bao gồm đường, axit amin, chất béo, vitamin, các yếu tố đa lượng, vi lượng và các phytohoocmon. Tác dụng kích hoạt của nước dừa có lẽ do các chất điều hoà sinh trưởng như IAA, GA, hoặc hợp chất tương tự như kinetin, zeatin ở trong thành phần của nó (Pierik, 1978). Sự có mặt của nước dừa trong nhiều loại mẫu nuôi cấy, lượng nước dừa phù hợp nhất là từ 15 – 20% theo thể tích.

Trong nuôi cấy có trường hợp người ta sử dụng cả than hoạt tính như một chất phụ gia, bởi vì than hoạt tính có tác dụng hấp thụ các chất tiết ra từ mô cấy, vỏ bao phấn và làm tăng hiệu suất sinh phôi (Fridborg và cộng sự 1978 ; Ammiraton, 1983).

– Chất độn (thạch – agar)

Agar là thành phần quyết định trạng thái vật lí của môi trường. Hàm lượng agar dùng cho nuôi cấy dao động 0,6 – 1,0% theo khối lượng. Nồng độ cao của agar, môi trường trở nên cứng, sự khuyếch tán của các chất dinh dưỡng như hấp thụ của mô gặp khó khăn (Bhojwani và Razdan, 1983). Đa số nuôi cấy phôi được thực hiện trên môi trường có agar nhưng phụ thuộc vào loài cây mà sử dụng cho phù hợp.

– Giá trị pH của môi trường

Độ pH của môi trường dinh dưỡng ảnh hưởng trực tiếp tới quá trình thu nhận các chất dinh dưỡng từ môi trường vào tế bào. Vì vậy đối với mỗi loại môi trường nhất định và đối với từng trường hợp cụ thể của các loài cây phải chỉnh độ pH của môi trường với mức ổn định ban đầu. Giá trị pH của môi trường thích hợp cho sinh trưởng và phát triển ở nhiều loài thực vật biến đổi từ 5,0 – 6.0. Có những loài sinh trưởng tốt ở pH kiềm như cây mận (pH = 8,6). Straus và Larue (1954) nhận thấy với mô sẹo nội nhũ ngô thì pH = 7,0 thuận lợi cho sự tăng sinh khối. Khi pH thấp (môi trường axit) sẽ hoạt hoá các enzim hiđrolaza dẫn tới kìm hãm sinh trưởng đồng thời kích thích sự hoá già của các tế bào trong mô nuôi cấy.

7. Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy

a) Nhiệt độ

Yêu cầu về nhiệt độ cho sinh trưởng và phát triển ở các loài là không như nhau. Thực tế nuôi cấy trong phòng thí nghiệm thì nhiệt độ được duy trì, ít biến đổi, thường là 25 ± 1°C.

Theo tác giả Shigenobu và Sakamoto (1981) thì nhiệt độ cũng như thời gian chiếu sáng ngày đêm phải không đổi trong suốt thời gian nuôi cấy.

Nhiệt độ thấp cũng có ảnh hưởng rõ rệt : nếu xử lí bao phấn lúa ở 4°C thì hiệu suất tạo mô sẹo tăng lên. Ngoài ra, nhiệt độ thấp hoặc rất thấp còn được sử dụng làm chậm hay làm ngừng hẳn sinh trưởng của mẫu nuôi cấy nhằm mục đích bảo quản giống ở điều kiện *in vitro*.

b) Ánh sáng

Ánh sáng có ảnh hưởng mạnh tới quá trình phát sinh hình thái của mô nuôi cấy, bao gồm cường độ, chu kì và thành phần quang phổ ánh sáng (Read, 1990 ; Dooley, 1991).

Cường độ ánh sáng từ 1000 – 2500 lux được dùng phổ biến cho nuôi cấy nhiều loại mô. Với cường độ ánh sáng lớn hơn thì sinh trưởng của chồi chậm lại nhưng sẽ thúc đẩy quá trình tạo rễ (Murashege, 1977).

Theo Ammirato (1986) ánh sáng tham gia vào sự phát sinh phát triển phôi xoma. Cường độ ánh sáng cao gây nên sự sinh trưởng của mô sẹo, ánh sáng ở cường độ trung bình kích thích sự tạo chồi, ngoài ra với cường độ ánh sáng thấp chồi sẽ gia tăng chiều cao và có màu xanh đậm.

Vấn đề quang phổ của ánh sáng đã được nhiều tác giả nghiên cứu như : Pierik (1987), Reutes (1988) nuôi cấy cây quỳ thiên trúc ở ánh sáng đỏ làm tăng chiều cao thân chồi, trong khi ánh sáng xanh lại có biểu hiện ức chế. Đối với cây thuốc lá thì ngược lại, ánh sáng xanh kích thích sự biệt hoá chồi, ánh sáng trắng kìm hãm tạo rễ phụ nhưng hoạt hoá tạo chồi phụ. Sự thu nhận ánh sáng của chồi *in vitro* phụ thuộc vào bước sóng ánh sáng và chất lượng bình nuôi cấy.

8. Nguyên liệu và phương pháp

a) Chọn nguyên liệu

Nguyên liệu dùng cho nuôi cấy mô tế bào thực vật có thể là bất cứ bộ phận nào của cây : Các đoạn của rễ và thân, các phần của lá (cuống lá, phiến lá), các cấu trúc của phôi như lá mầm, trụ trên, trụ dưới lá mầm, hạt phấn, noãn, thậm chí các mẩu thân ngầm hoặc cơ quan dự trữ dưới mặt đất (củ, căn hành) cũng được dùng cho nuôi cấy.

Mục đích của nuôi cấy và đặc tính của loài cây sẽ quyết định việc chọn lựa loại mẫu nào là phù hợp. Chẳng hạn để thu cây đơn bội làm nguồn gen lai tạo giống thì phải dùng bao phấn, hạt phấn cho nuôi cấy. Để tiến hành vi nhân giống thực vật, cây cho mẫu (cây mẹ) phải mang một hoặc nhiều đặc điểm ưu việt mà chúng ta quan tâm : sinh trưởng tốt, cho sản lượng, chất lượng cao của quả, hạt hay cơ quan sinh dưỡng, ít bị nhiễm bệnh, có khả năng chống chịu các điều kiện sống không thuận lợi của môi trường (hạn, lạnh). Các mẫu thường được thu nhận vào đầu mùa sinh trưởng, lúc sáng sớm khi toàn cây vẫn còn ở trạng thái trương nước, (Seabrook và cộng sự, 1976 ; Yang, 1977 ; Anderson, 1980 ; Narayanaswamy S., 1994).

Sự tái sinh của mẫu phụ thuộc vào thành phần của môi trường nuôi cấy, đặc điểm di truyền của loài cây, trạng thái sinh lí của cây cho mẫu và đôi khi chịu ảnh hưởng của các mùa trong năm.

b) Phương pháp vô trùng mẫu cấy

Mẫu được thu hái về có chứa ít hay nhiều vi khuẩn và nấm tuỳ theo sự tiếp xúc của chúng với môi trường. Phôi ở trong hạt, mô trong quả, đòng lúa non ít bị nhiễm vi sinh vật. Ngược lại, lá, thân và đặc biệt các bộ phận nằm dưới đất như rễ, củ, thân ngầm có số lượng vi khuẩn và nấm rất cao. Để loại bỏ hệ vi sinh vật khỏi mô nuôi cấy thì phương pháp thông dụng hiện nay là dùng các hoá chất có hoạt tính diệt khuẩn và nấm.

Khả năng tiêu diệt nấm, vi khuẩn của hoá chất vô trùng phụ thuộc vào nồng độ, thời gian xử lí và mức độ xâm nhập của chúng trên bề mặt mô cấy. Để tăng hiệu quả thì người ta có thể ngâm mẫu vào etanol 70 – 80% trong 30 giây, sau đó mới xử lí với dung dịch diệt khuẩn. Đối với các mẫu mà bề mặt của chúng được bao phủ bởi một lớp sáp thì muốn đạt kết quả tốt cần cho thêm vào dung dịch khử trùng một vài giọt các chất làm giảm sức căng bề mặt như là tween 20, tween 80, tepol vì những chất này giúp làm tăng tính linh động của

hoá chất vô trùng. Với các mẫu quá bẩn thì phải rửa kĩ bằng nước xà phòng và phải để dưới vòi nước chảy từ 20 – 30 phút, sẽ có tác dụng làm giảm đáng kể hệ vi khuẩn khỏi mẫu cấy.

Tác nhân vô trùng ngoài diệt nấm, vi khuẩn còn ảnh hưởng tới mô cấy. Vì vậy chọn loại hoá chất phải căn cứ vào mức độ nhiễm khuẩn và sự mẫn cảm của mẫu. Trong số các hoá chất vô trùng thì Canxihypochlorit và Natrihypochlorit là hay được dùng hơn cả do đặc tính của chúng có độc tính thấp với mô được xử lí, không gây ức chế sinh trưởng và hiệu quả diệt khuẩn tốt. Khi vô trùng mẫu cấy cần ngập hoàn toàn trong dung dịch diệt khuẩn, kích thước của mẫu phải lớn hơn kích thước khi cấy vào môi trường vì sau đó sẽ cắt bớt phần mẫu bị huỷ hoại do hoá chất vô trùng gây ra. Nồng độ sử dụng, thời gian xử lí và hiệu quả của một số hoá chất vô trùng như bảng sau :

Hoá chất vô trùng	**Công thức hoá học**	**Nồng độ sử dụng (%)**	**Thời gian xử lí (phút)**	**Hiệu quả**
Canxihypochlorit	$Ca(ClO)_2$	5 – 15	10 – 30	Rất tốt
Natrihypochlorit	NaClO	0,5 – 2	10 – 30	Rất tốt
Hiđropeoroxit	H_2O_2	10 – 12	5 – 15	Tốt
Thuỷ ngân clorua	$HgCl_2$	0,1 – 1	2 – 10	Trung bình
Nước Brom	HBr + HBrO	1 – 2	10 – 30	Rất tốt

c) Phương pháp nuôi cấy

– Nuôi cấy trên môi trường đặc

Thành phần của môi trường đặc có agar với hàm lượng biến đổi từ 0,6 – 1%. Agar làm cho môi trường đông lại và các mẫu thí nghiệm được cấy lên bề mặt của môi trường. Dùng môi trường đặc để nuôi cấy cơ quan tách rời, vi nhân giống, nuôi cấy mô sẹo, nuôi cấy bao phấn.

Phương pháp nuôi cấy trên môi trường đặc có ưu điểm là thao tác thí nghiệm đơn giản, dễ vận chuyển mẫu đi xa. Nhưng đồng thời có nhược điểm là mẫu chỉ tiếp xúc được một mặt với môi trường dinh dưỡng, đồng thời những sản phẩm do mẫu tạo ra trong quá trình trao đổi chất sẽ tích tụ xung quanh dẫn đến làm chậm sinh trưởng của mẫu.

– Nuôi cấy trên môi trường dịch thể

Có hai phương pháp chính sử dụng môi trường dịch thể trong nuôi cấy :

+ *Nuôi cấy dịch thể động*

Trong phương pháp này mẫu được ngâm một phần hay ngập hoàn toàn trong dung dịch của môi trường. Các bình chứa mẫu được đặt trên máy lắc với tốc độ 100 – 120 vòng/phút tạo thuận lợi cho sự trao đổi khí. Nuôi cấy dịch thể động dùng trong nuôi cấy tế bào đơn, nuôi cấy huyền phù tế bào, nuôi cấy để sản xuất các chất trao đổi thứ cấp.

+ Nuôi cấy dịch thể tĩnh

Bình nuôi cấy được để yên như trong trường hợp nuôi cấy trên môi trường đặc, mẫu có một phần ngâm trong dung dịch của môi trường và phần kia tiếp xúc với không khí.

Ngoài các phương pháp trên, mẫu có thể được nuôi cấy trên môi trường bán lỏng hay bán rắn hoặc phối hợp cả hai loại môi trường. Lựa chọn phương pháp nào là tuỳ theo đối tượng, giai đoạn phát triển của mẫu, mục đích và kĩ thuật nuôi cấy.

9. Các hướng nghiên cứu và ứng dụng

a) Vi nhân giống in vitro

Vi nhân giống *in vitro* là lĩnh vực sử dụng kĩ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật để nhân giống cây trồng trong ống nghiệm. Vi nhân giống có thể thực hiện qua :

– Nuôi cấy mô phân sinh hay nuôi cấy đỉnh sinh trưởng.

– Nuôi cấy mô sẹo hoặc nuôi cấy phôi.

Vi nhân giống có những ưu điểm như :

+ Tạo ra hệ số nhân chồi cao, rút ngắn thời gian đưa ra một giống mới vào sản xuất.

+ Cây con hoàn toàn sạch bệnh, đồng đều về độ tuổi.

+ Loại bỏ được mầm bệnh, ứng dụng phục tráng những giống cây bị nhiễm virus.

+ Dễ dàng vận chuyển được số lượng lớn cây giống đi xa.

b) Tạo cây đơn bội

Cây đơn bội có thể thu nhận được bằng nuôi cấy bao phấn và hạt phấn trên môi trường rắn hoặc lỏng. Hạt phấn trong quá trình nuôi cấy sẽ phân chia thành mô sẹo hoặc phôi và cuối cùng là tái sinh cây.

Cây tái sinh thu được chủ yếu là đơn bội, một số là nhị bội và đa bội. Cây đơn bội phát triển từ hạt phấn được ứng dụng tạo ra các dòng thuần, phục vụ cho công tác lai tạo giống. Từ cây đơn bội người ta sẽ lưỡng bội hoá bằng xử lí coxixin trong thời gian 24 – 28 giờ.

Hiện nay trên thế giới đã có hơn 65 loại cây được đưa vào trồng trọt nhờ phương pháp nuôi cấy túi phấn và hạt phấn. Phương pháp này ra đời đã làm giảm hẳn thời gian và công sức, đồng thời tăng vọt số lượng thể đơn bội thu được cho các nghiên cứu cải tạo giống cây trồng.

c) Nuôi cấy protoplast và lai tế bào xoma

Protoplast được dùng để tạo ra các thể dung hợp nhằm thực hiện những biến đổi di truyền ở thực vật. Cho đến nay có 2 phương pháp dung hợp chính được sử dụng rộng rãi đó là phương pháp dung hợp của Kao và đồng nghiệp (1974) dùng PEG (Polietilenglicol) có khối lượng phân tử cao để gắn các protoplast với nhau. Khi làm loãng PEG thì chỗ tiếp xúc giữa 2 protoplast sẽ bị thủng và quá trình dung hợp sẽ xảy ra. Phương pháp thứ 2 là sử dụng dòng điện. Ngoài ra một số tác giả còn sử dụng phương pháp diệt nhân của một protoplast, sau đó cho dung hợp với một số protoplast khác để chuyển các bào quan (ti thể, lạp thể) từ protoplast thứ nhất sang protoplast thứ 2 (Zeleer và cộng sự, 1978 ; Nguyễn Đức Thành, 1977).

Dung hợp protoplast là phương pháp hiệu quả nhất để tạo cây lai xoma, cho phép thu được tổ hợp lai mong muốn. Phương pháp dung hợp đã khắc phục được những hạn chế cố hữu mà phương pháp lai hữu tính không thực hiện được.

d) Chọn dòng tế bào cho năng suất thứ cấp cao

Chọn dòng tế bào là phương pháp chọn lọc nhân tạo được thực hiện *in vitro*. Vật liệu nghiên cứu hay dùng trong chọn dòng tế bào cho năng suất thứ cấp cao là mô sẹo (Hiraoka, 1986 ; Nozue và cộng sự 1987). Có thể tiến hành chọn lọc hoặc chọn lọc từng bước đối với mẫu nuôi cấy. Trong cách thứ nhất, tác nhân chọn lọc được đưa vào môi trường nuôi cấy ở nồng độ nhất định. Ở cách thứ hai, tác nhân được đưa vào môi trường thay đổi nồng độ từ thấp đến cao, khi mô hoặc tế bào sống sót ở nồng độ nào đó thì được chuyển sang môi trường có nồng độ cao hơn. Mục đích của chọn dòng là tạo ra dòng tế bào có khả năng sản xuất các chất trao đổi thứ cấp với tốc độ cao và đặc tính này phải ổn định qua nhiều thế hệ tế bào.

Việc tạo ra dòng tế bào tổng hợp các chất thứ cấp mong muốn rất có ý nghĩa vì những chất này có rất ít trong cây, gặp khó khăn khi tách chiết. Mặt khác nhiều chất ở dạng hỗn hợp phức tạp, chưa thể tổng hợp bằng phương pháp nhân tạo. Trong khi đó dùng phương pháp nuôi cấy dịch lỏng có thể sản xuất các chất trao đổi thứ cấp hoàn toàn chủ động với quy mô lớn.

e) Chuyển gen ở thực vật bậc cao

Chuyển gen ở thực vật đã phát triển cùng với sự tiến bộ của kĩ thuật nuôi cấy mô – tế bào thực vật. Các thực vật chuyển gen được tạo nên bằng nhiều cách khác nhau như : phương pháp vi tiêm, phương pháp dùng súng bắn gen, phương pháp chuyển gen trực tiếp vào tế bào trần, nhưng đa số được thực hiện bằng phương pháp hệ thống chuyển gen nhờ *Agrobacterium* (Zambryski, 1988 ; Gheysen và cộng sự, 1998).

Chuyển gen là một quá trình phức tạp, đòi hỏi sự phối hợp của nhiều kĩ thuật : Di truyền học phân tử, hoá sinh, nuôi cấy mô – tế bào thực vật. Mỗi kĩ thuật có vai trò riêng nhưng chúng đan xen chặt chẽ với nhau trong suốt cả quá trình chuyển gen. Nuôi cấy mô – tế bào thực vật được coi như một kĩ thuật không thể thiếu được vì nó sử dụng để xử lí mẫu ban đầu (tách protoplast, mô, tế bào) nuôi cấy mẫu với vector mang gen, chọn lọc được thể biến nạp gen và cuối cùng là nhân cây mang gen biến nạp phục vụ nhân giống quy mô lớn.

f) Bảo quản nguồn gen thực vật bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào

Ngày nay do các hiện tượng về thiên tai và ô nhiễm môi trường gia tăng đã dẫn đến việc đe doạ sự lưu giữ tự nhiên nguồn gen thực vật. Nhiều loài thực vật và động vật đã bị tuyệt chủng do con người và các điều kiện tự nhiên, do đó ứng dụng công nghệ tế bào thực vật trong việc lưu giữ các nguồn gen thực vật là việc rất cần thiết.

Bảo quản nguồn gen bằng phương pháp nuôi cấy mô – tế bào có nhiều ưu điểm : Điều kiện bảo quản được ổn định về nhiệt độ, ánh sáng không bị các nguồn gây hại, mặt khác nguồn gen được bảo quản dưới dạng khác nhau như mô, tế bào, phôi protoplast, hạt phấn, ADN.

Có hai phương pháp bảo quản *in vitro* :

– Phương pháp sinh trưởng chậm : Kéo dài vòng đời của tế bào thực vật, dẫn đến làm giảm sinh trưởng của nhiều loài cây được nuôi trong ống nghiệm trong thời gian kéo dài từ 1 – 3 năm.

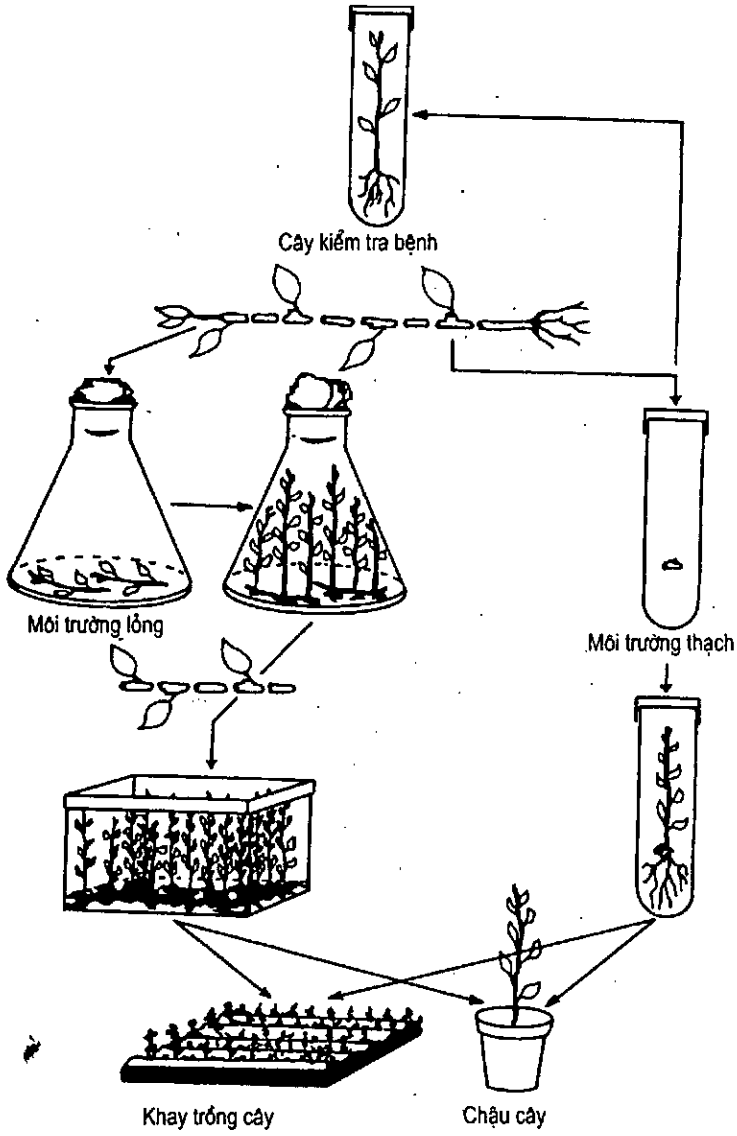
– Phương pháp lạnh sâu : Để bảo quản nguồn gen trong thời gian dài hơn bằng cách sử dụng những tác nhân gây lạnh như nitơ lỏng (–196°C). Ở những điều kiện này sự sinh trưởng và phân chia của tế bào hoàn toàn ngừng lại.

Phương pháp bảo quản nguồn gen *in vitro* có nhiều lợi thế :

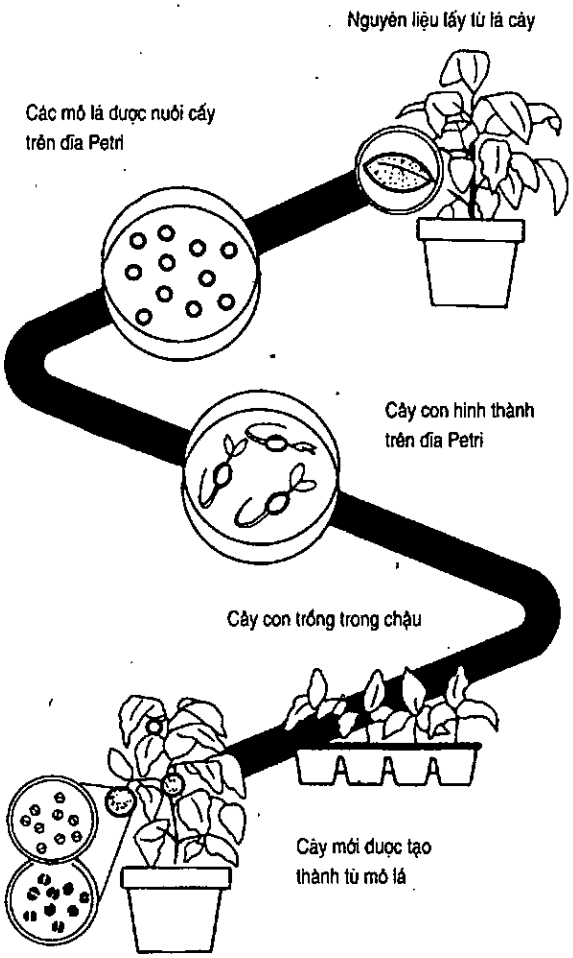
+ An toàn vận chuyển đi xa cũng như việc trao đổi giống cây, nguồn gen giữa các nước.

+ Giống hoàn toàn được sạch bệnh do sinh trưởng trong điều kiện vô trùng.

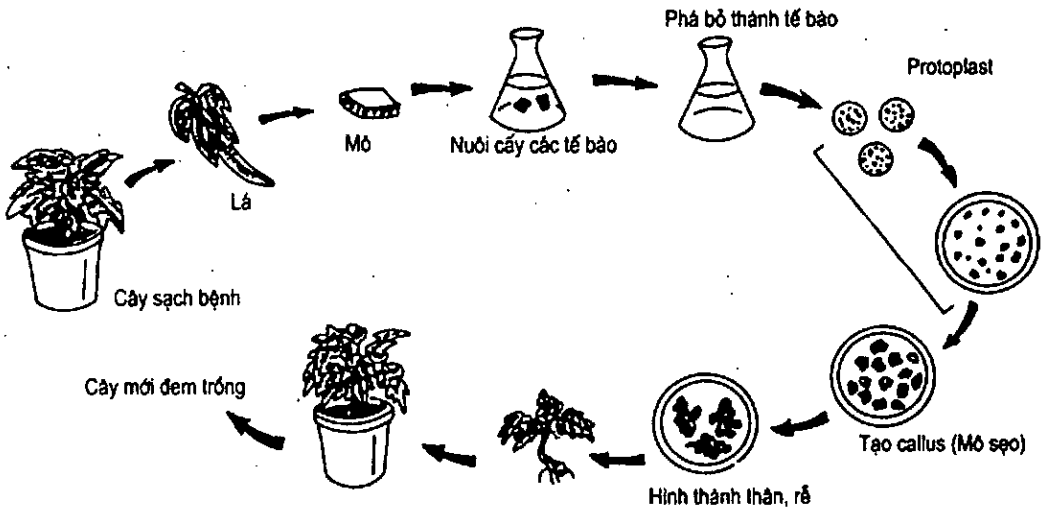
+ Có thể tạo ra ngay số lượng cây trồng lớn khi cần thiết bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào.



Hình 18 – Sơ đồ nhân giống vô tính in vitro



Hình19 – Kĩ thuật nuôi cấy mô



Hình 20 – Quy trình nhân giống vô tính từ nuôi cấy in vitro các tế bào đơn

Chương II

SỰ TRAO ĐỔI NƯỚC Ở THỰC VẬT

I – KHÁI NIỆM CHUNG VÀ VAI TRÒ CỦA NƯỚC TRONG ĐỜI SỐNG THỰC VẬT

Nước là nhân tố quan trọng bậc nhất đối với tất cả các cơ thể sống trên Trái Đất. Thực vật không thể sống thiếu nước. Chỉ cần giảm chút ít hàm lượng nước trong tế bào đã gây ra sự kìm hãm đáng kể những chức năng sinh lí quan trọng như quang hợp, hô hấp và do đó ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của cây.

Việc nghiên cứu sự trao đổi nước ở thực vật bao gồm sự hút nước vào cây qua hệ rễ, sự vận chuyển nước trong cây và sự thoát hơi nước qua lá là một việc làm vừa có ý nghĩa lí luận vừa có ý nghĩa thực tế. Trên cơ sở hiểu biết bản chất sinh lí của quá trình trao đổi nước người ta có thể làm thoả mãn nhu cầu nước của cây, đảm bảo cho nó sinh trưởng, phát triển tốt và cho năng suất cao.

Vai trò quan trọng nhất của nước là tham gia vào quá trình trao đổi chất của thực vật. Vai trò đó thể hiện ở những mặt sau :

– Trước hết, nước là một dung môi. Nước hoà tan được nhiều chất trong tế bào và hầu hết các phản ứng hoá học trong tế bào thực vật đều xảy ra trong môi trường nước.

– Nước là một chất phản ứng. Nước tham gia tích cực vào các phản ứng sinh hoá như là một cơ chất của phản ứng. Chẳng hạn trong quang hợp, nước cung cấp hiđro để khử $NADP^+$ thành $NADPH_2$ qua phản ứng quang phân li nước. Nước cũng hoạt động như một chất cho nhóm hiđroxyl $(OH)^-$ trong một số phản ứng hiđroxyl hoá. Trong hô hấp, nước cho oxi để cùng với oxi của khí trời oxi hoá nguyên liệu.

– Phản ứng sinh hoá chung nhất của nước là phản ứng thuỷ phân, đó là phản ứng quan trọng trong quá trình dị hoá (phân giải chất béo, phân giải polisaccarit, trao đổi protein...).

– Một vai trò quan trọng nữa của nước là vai trò hiđrat hoá. Nước được hấp thụ trên bề mặt các hạt keo (protein, axit nucleic) và trên bề mặt các màng tế bào (màng sinh chất, màng không bào, màng các bào quan) tạo thành lớp nước mỏng bảo vệ cho các cấu trúc sống của tế bào.

– Nước làm cho tế bào có độ thuỷ hoá nhất định, tạo nên áp suất thuỷ tĩnh (áp suất trương), duy trì độ trương cho mô và tế bào, duy trì cấu trúc của các hợp chất cao phân tử, duy trì hình thái của tế bào. Áp suất thuỷ tĩnh đặc biệt cần thiết cho sinh trưởng của tế bào.

Bản thân chất nguyên sinh chứa 80 – 90% là nước. Sự làm khô sinh chất sẽ làm thay đổi lớn tính chất của nó. Ngoài những vai trò quan trọng trên, nước còn là một yếu tố nối liền cây với môi trường bên ngoài, có vai trò trong việc điều hoà nhiệt độ của cây.

II – NĂNG LƯỢNG TỰ DO CỦA NƯỚC

1. Năng lượng tự do

Mỗi phân tử vật chất đều có năng lượng bên trong chung (tổng nội năng) gồm động năng và thế năng. Năng lượng tự do là năng lượng trong điều kiện thích hợp có khả năng sinh ra công. Nước là một dạng vật chất cũng có năng lượng tự do.

Người ta đã đưa ra một nguyên lí cơ bản là nước sẽ chuyển dịch từ nơi có năng lượng tự do cao đến nơi có năng lượng tự do thấp. Nguyên lí này làm cơ sở cho việc giải thích cơ chế vận chuyển nước vào cây bắt đầu từ việc vận chuyển nước từ đất vào rễ, từ rễ lên thân, lá sau đó thoát ra ngoài khí quyển từ bề mặt lá.

Năng lượng tự do được xác định bằng hiệu số giữa nước bị tác động bởi các áp lực (hoá học, điện học, trọng lực hoặc các lực khác) và nước tự do nguyên chất.

$$\mu_w - \mu_w^o = RT\ln e - RT\ln e^o$$

hay

$$\Delta\mu_w = \mu_w - \mu_w^o = RT(\ln e - \ln e^o) = RT\ln\frac{e}{e^o}$$

μ_W : Thế năng hoá học của nước bị liên kết (cần xác định) (J/mol)

μ_W^o : Thế năng hoá học của nước nguyên chất

R : Hằng số khí

T : Nhiệt độ tuyệt đối

e : Áp suất hơi của nước cần xác định

e^o : Áp suất hơi của nước nguyên chất

$\frac{e}{e^o} \times 100$ là biểu thức xác định độ ẩm tương đối

Có hai khả năng có thể xảy ra :

– Nếu $e = e^o$ có nghĩa là nếu nước liên kết (nước cần xác định) cũng là nước nguyên chất khi đó $\ln\frac{e}{e^o} = 0$ và $\Delta\mu_w = 0$.

Thực tế là nước nguyên chất có thế năng hoá học bằng 0, thế năng hoá học của nước nguyên chất là lớn nhất (nước nguyên chất là nước có khả năng sinh công lớn nhất). Nước nguyên chất có năng lượng tự do lớn nhất là bằng 0. Trong tế bào có nhiều chất tan làm giảm năng lượng tự do của nước.

– Nếu $e < e^o$ khi đó $\ln\frac{e}{e^o}$ sẽ là một số âm và $\Delta\mu_W$ cũng sẽ là một số âm. Như vậy thế năng hoá học của nước trong tế bào là một số âm.

(Đơn vị để đo năng lượng tự do của nước là jun/mol)

2. Thế năng nước của tế bào thực vật

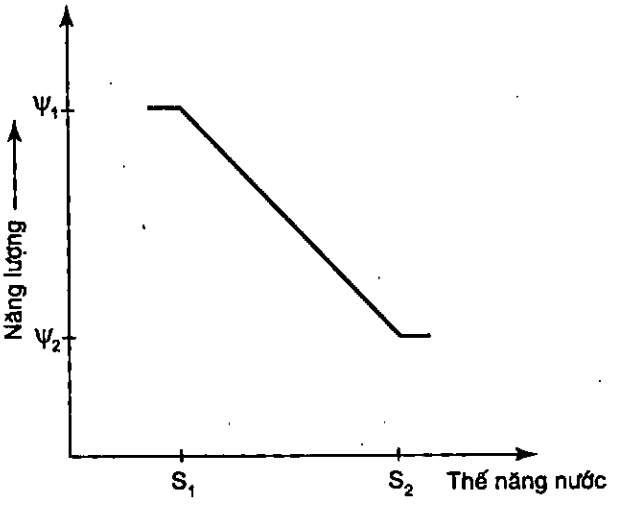
Nếu lấy giá trị của biểu thức năng lượng tự do chia cho thể tích (V) của nước ta sẽ có khái niệm gọi là thế năng nước (kí hiệu là ψ).

$$\psi = \frac{\mu_W - \mu_W^o}{\bar{V}} = \frac{RT\ln\frac{e}{e^o}}{\bar{V}}$$

Ở đây, thay cho đơn vị jun/mol sẽ là jun/cm^3. Jun/cm^3 tương đương với dyn/cm^2 và 10^6 dyn/cm^2 = 1ba (ba là đơn vị đo áp suất). Người ta đã quy định dùng ba làm đơn vị đo thế năng nước (1 atmotphe = 0,987 ba). Một nguyên lí cơ bản là nước bao giờ cũng tự vận chuyển từ nơi có thế năng nước cao tới nơi có thế năng nước thấp. Nếu ta biết được giá trị của thế năng nước (ψ) trong bất kì hai vùng nào đó ta có thể xác định nhanh chóng được chiều hướng vận chuyển nước.

Theo nhiệt động học, một quá trình có thể tự xảy ra được tức là không cần cung cấp năng lượng từ bên ngoài nếu như có sự mất năng lượng tự do khi thực hiện quá trình đó. Vì vậy sự chênh lệch về thế năng nước giữa nguồn (nơi cung cấp nước) và nơi tiêu thụ (nơi nhận nước) sẽ là chỉ số để xác định sự vận chuyển nước. Hay nói cách khác, hiệu thế năng nước (Δψ) là động lực cho sự vận chuyển nước.

Lượng năng lượng tự do của nước ở nơi tiêu thụ sẽ ít hơn lượng năng lượng tự do của nước ở nguồn để cho sự vận chuyển nước có thể tự thực hiện được. Điều này có thể thấy được qua hình 21.



Hình 21 – Sự giảm năng lượng tự do giống như giảm thế năng nước từ ψ_1 tới ψ_2

S_1 : Nguồn với ψ_1

S_2 : Nơi tiêu thụ với ψ_2.

Δψ : Động lực cho sự vận chuyển nước từ S_1 đến S_2.

Có thể xác định Δψ bằng biểu thức sau :

$$\Delta\psi = \psi \text{ nơi tiêu thụ} - \psi \text{ nơi cung cấp}$$

Giá trị $\Delta\psi$ phải là một giá trị âm để cho bản thân sự vận chuyển nước có thể tự xảy ra được.

Tuy nhiên, cần phải lưu ý rằng khái niệm về nhiệt động học ứng dụng cho việc giải thích sự vận chuyển nước nêu trên chỉ cho thông tin về thế năng đối với sự vận chuyển nước chứ không nói lên điều gì về cường độ của sự vận chuyển và liệu vật cản có thể ngăn ngừa sự vận chuyển nước hay không ?

Các thành phần của thế năng nước. Thế năng của nước bao gồm một số lực thành phần khác. Những lực đó có thể là áp suất thẩm thấu, áp lực thuỷ tĩnh, các trọng lực, các lực điện trường, các lực hấp thụ. Thế năng nước có thể là tổng số số học của các thế năng thành phần :

$$\psi = \psi_\pi + \psi_p + \psi_m + \psi...$$

ψ_π : Thế năng thẩm thấu

ψ_p : Thế năng áp suất

ψ_m : Thế năng hấp thụ hay thế năng cơ chất

ψ... : Thế năng bất kì nào đó có thể ảnh hưởng đến ψ

Giá trị ψ... có thể là thế năng trọng lực và thế năng điện. Những giá trị này rất nhỏ nên thường không được tính đến.

Thế năng thẩm thấu ψ_π. Thế năng thẩm thấu được xác định bằng cách lấy giá trị âm của áp suất thẩm thấu. Như vậy thế năng thẩm thấu luôn luôn là một giá trị âm.

Công thức để tính áp suất thẩm thấu là π = CRTi. Vậy công thức để tính thế năng thẩm thấu sẽ là :

$$\psi_\pi = -CRTi$$

C : Nồng độ của chất tan (mol/l)

R : Hằng số khí = $(0{,}08).\left(\frac{1.ba}{mol.độ}\right)$

T : Nhiệt độ tuyệt đối (^oK)

(T : $273^o + t^oC$)

i : Hệ số Van–Hôp

Thế năng thẩm thấu ψ_π và áp suất thẩm thấu π đều được tính bằng ba

Ví dụ 1 : Một dung dịch đường có nồng độ 1M (1 mol) ở 0^oC sẽ có áp suất thẩm thấu (π) là :

$$\pi = (1mol.1^{-1}).\left(0{,}08\frac{1.ba}{mol.độ}\right).(273^o) = 22ba$$ (và thế năng thẩm thấu là : –22ba)

Ví dụ 2 : Một dung dịch đường có nồng độ là 0,1M ở 15°C sẽ có thế năng thẩm thấu là :

$$\psi_\pi = -(0{,}1\text{mol.}l^{-1})\left(0{,}08\frac{\text{l.ba}}{\text{mol.độ}}\right)(15^o + 273^o) = -2{,}3\text{ba}.$$

Người ta đã đưa ra công thức sau để tính thế năng thẩm thấu của bất kì dung dịch nào khi biết nồng độ của nó :

$$\psi_\pi = (-21{,}8).(M).\left(\frac{T}{273}\right)$$

Tuy nhiên cần lưu ý rằng biểu thức trên chỉ áp dụng cho dung dịch lí tưởng. Vì thế năng nước (ψ) là tổng các thế năng thành phần của nó, nên đối với dung dịch chỉ có thế năng thẩm thấu thì thế năng nước của dung dịch sẽ bằng thế năng thẩm thấu của nó, tức là :

$$\psi = \psi_\pi = -2{,}3 \text{ ba (trong ví dụ 2)}$$

Như vậy thế năng nước của dung dịch đường 0,1M ở 15°C sẽ là −2,3 ba trong điều kiện ở ngoài không khí.

Trong tế bào luôn tồn tại các chất tan. Các chất tan làm cho hàm lượng nước tự do trong tế bào giảm, làm giảm năng lượng tự do của nước, do đó làm giảm thế năng nước (tức là lượng chất tan càng cao càng làm giảm thế năng nước của tế bào).

Nói cách khác là thế năng thẩm thấu làm giảm thế năng nước của tế bào. Vì các chất tan làm giảm năng lượng tự do của nước cho nên giá trị của thế năng thẩm thấu sẽ luôn luôn là một giá trị âm (hoặc bằng không trong trường hợp là nước nguyên chất).

Thế năng áp suất ψ_p. Khi nước xâm nhập vào tế bào làm cho tế bào ở trạng thái trương nước, gây ra một áp suất thuỷ tĩnh (áp suất trương). Áp suất thuỷ tĩnh thực này (xuất hiện khi nước vào tế bào) được gọi là thế năng áp suất.

Cần lưu ý rằng áp suất thực xuất hiện bất kì lúc nào trong khi nước xâm nhập vào tế bào là áp suất thuỷ tĩnh hay áp suất trương ; còn áp suất thuỷ tĩnh tại điểm cân bằng tức là khi áp suất của dịch trong tế bào và của nước bằng nhau là áp suất thẩm thấu.

Áp suất thuỷ tĩnh này ép vào vách tế bào nên nó có giá trị dương và vì vậy thế năng áp suất cũng có giá trị dương và làm tăng thế năng nước của tế bào.

Trong điều kiện nhất định nào đó thế năng áp suất có thể là một giá trị âm chẳng hạn khi nước dưới tác động của sức căng.

Nước sẽ vào tế bào từ môi trường nước cho đến khi thế năng của dịch tế bào bằng không tức là tiến tới trạng thái cân bằng với thế năng của nước. Điều này xảy ra khi áp suất thuỷ tĩnh tức thế năng áp suất bằng giá trị của thế năng thẩm thấu nhưng ngược dấu. Tại điểm này ψ sẽ bằng không.

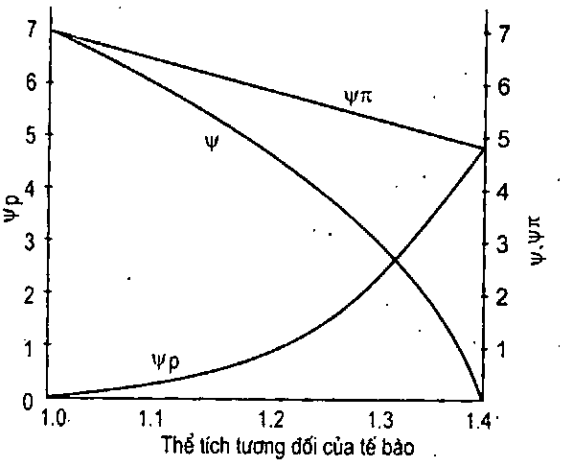
$$\psi = \psi_\pi + \psi_p = -\psi_\pi + \psi_\pi = 0$$

Thế năng áp suất dương sẽ giữ độ trương cho tế bào. Độ trương này sẽ đẩy chất nguyên sinh chống lại màng và thành tế bào làm cho tế bào có hình dạng nhất định. Khi

thế năng áp suất giảm tới không do tế bào mất nước, tế bào đó sẽ co nguyên sinh, chất nguyên sinh tách khỏi thành tế bào.

Hình 22 miêu tả mối quan hệ giữa các giá trị thế năng nước (ψ), thế năng thẩm thấu (ψ_π) và thế năng áp suất (ψ_p) khi nước xâm nhập vào tế bào.

Khi nước vào tế bào, các giá trị ψ, ψ_π , ψ_p đều tăng. ψ tăng vì khi nước vào sẽ làm giảm nồng độ chất tan. Tại điểm thể tích tương đối của tế bào là 1,0 thì tế bào ở trạng thái héo, mềm. Khi thế năng của dịch tế bào tiến tới không thì sự xâm nhập nước vào tế bào sẽ ngừng.



Hình 22 – Sự thay đổi của các giá trị ψ, ψ_p, ψ_π khi nước vào tế bào từ môi trường nước nguyên chất

Thế năng cơ chất ψ_m. Trong tế bào có nhiều cơ chất có khả năng hấp thụ nước tạo ra thế năng cơ chất. Sự hấp thụ nước trên bề mặt cơ chất làm giảm năng lượng tự do của nước và vì vậy thế năng cơ chất có giá trị âm, nó làm giảm thế năng nước của tế bào. Giá trị của thế năng cơ chất rất nhỏ, trong đại bộ phận các trường hợp $\psi_m \approx 0{,}1$ba. Vì vậy về độ lớn, nó không phải là một thành phần quan trọng của thế năng nước như là ψ_π và ψ_p. Trong nhiều trường hợp khi xác định giá trị của ψ_π người ta đã có ý bao hàm luôn cả giá trị của ψ_m rồi.

Vì vậy biểu thức chung để xác định thế năng nước của tế bào là $\psi = \psi_\pi + \psi_p$.

Người ta đã đưa ra các phương pháp để xác định thế năng của nước và các thế năng thành phần của nó.

III – HÀM LƯỢNG NƯỚC VÀ CÁC DẠNG NƯỚC TRONG CÂY

1. Hàm lượng nước và nhu cầu nước của cây

Cơ thể thực vật chứa nhiều nước, khoảng 90 – 95% khối lượng tươi. Trong tế bào 30% tổng số nước dự trữ nằm trong không bào, 70% còn lại nằm trong chất nguyên sinh và thành tế bào.

– Trong chất nguyên sinh nước chiếm tới 80 – 90% khối lượng tươi.

– Trong màng các bào quan giàu lipit (lục lạp, ti thể...) nước chiếm 50%.

Quả chứa lượng nước khá lớn : 85 – 95%. Cơ quan có hàm lượng nước thấp hơn cả là hạt, dưới 10 – 15%. Một số hạt chứa lượng chất béo cao chỉ có 5 – 7% nước.

Hàm lượng nước khác nhau ở các loài cây khác nhau, ở các cơ quan khác nhau trong cơ thể. Các cơ quan dinh dưỡng có hàm lượng nước cao hơn so với các cơ quan sinh sản (bảng 3).

Bảng 3 : Hàm lượng nước của một số bộ phận khác nhau của cây (% khối lượng tươi)

Tên thực vật và cơ quan	Hàm lượng nước (%)
Tảo	96 – 98
Lá cây xà lách, hành, quả cà chua, dưa chuột	94 – 95
Lá cải bắp, củ su hào	92 – 93
Củ cà rốt	87 – 91
Quả táo, lê	83 – 86
Củ khoai tây	74 – 80
Lá cây gỗ, cây bụi	79 – 82
Thân cây gỗ (gỗ tươi vừa xẻ)	40 – 50
Hạt khô không khí (lúa mì, lúa nước, ngô...)	12 – 14

Trong cây, nước ở trong các tế bào sống, các yếu tố xilem chết (các mạch và quản bào) và trong các khoảng gian bào. Trong thành tế bào, chất nguyên sinh và trong dịch bào nước ở trạng thái lỏng. Trong các khoảng gian bào nước ở trạng thái hơi.

Hàm lượng nước còn khác nhau ở các tầng lá : tầng lá càng ở phía dưới càng có hàm lượng nước cao. Ví dụ, trong không bào, các tế bào lá bông hàm lượng nước ở các tầng lá như sau : ở tầng dưới : 33 – 37% ; ở tầng giữa : 26 – 30% ; ở tầng trên : 25 – 27%.

Hàm lượng nước còn phụ thuộc vào điều kiện môi trường và sự phát triển cá thể của thực vật. Các cây thuỷ sinh có hàm lượng nước lớn hơn cây trung sinh, hạn sinh. Các cây non chứa nhiều nước hơn cây già.

Hàm lượng nước trong cây còn thay đổi theo nhịp điệu ngày, hàm lượng nước lúc buổi trưa nắng thấp hơn buổi sáng. Tuy hàm lượng nước thay đổi tuỳ thuộc vào nhiều yếu tố như vậy nhưng ở trong cây nước vẫn được giữ ở trạng thái cân bằng động giữa sự hút nước qua rễ và sự thoát hơi nước qua lá trong điều kiện bình thường.

Khi hàm lượng nước trong tế bào đạt tới mức từ 70 – 90% thì các quá trình sống trong chất nguyên sinh xảy ra mạnh nhất. Thiếu nước các quá trình sinh lí bị vi phạm, các quá trình phân giải tăng lên. Cây phải tăng cường hút nước để bù lại lượng nước đã mất qua quá trình thoát hơi nước. Người ta đã tính toán được số liệu như sau : cứ 1000g nước được hút vào cây thì chỉ 1,5 – 2,0g được sử dụng để tổng hợp các chất hữu cơ, còn lại là để bù vào lượng nước đã mất qua thoát hơi nước để cân bằng lượng nước trong cây. Theo Macximop trong mỗi giờ cây mất đi một lượng nước nhiều hơn số lượng nước có trong cây và sự cân bằng nước trong cây được xác định như sau :

$$\text{Sự cân bằng nước trong cây} = \frac{\text{Lượng nước hút vào}}{\text{Lượng nước thoát ra}}$$

Để đảm bảo sự cân bằng nước trong cây ít thay đổi cây phải có các đặc điểm sau :

– Phải có hệ rễ phát triển để hút nước nhanh và nhiều từ đất.

– Phải có hệ mạch dẫn phát triển tốt để dẫn nước đã hút lên các cơ quan thoát hơi nước.

– Phải có hệ mô bì phát triển để hạn chế sự thoát hơi nước của cây.

Nhu cầu nước của cây rất lớn, ví dụ một cây ngô cần đến 200kg nước hoặc hơn trong đời sống của nó. Nhu cầu nước phụ thuộc vào các đặc điểm sinh thái (cây ở vùng nóng có nhu cầu nước cao hơn cây ở vùng lạnh). Nhu cầu nước còn phụ thuộc vào các loài cây khác nhau, các nhóm cây khác nhau.

Có thể căn cứ vào hệ số thoát hơi nước (số g nước thoát ra để hình thành nên 1g chất khô) để xác định nhu cầu nước của các loại cây.

2. Trạng thái nước và các dạng nước trong cây

a) Trạng thái của nước trong cây. Phân tử nước có tính phân cực (mômen lưỡng cực). Hệ thống gồm hai điện tích bằng nhau về trị số nhưng khác nhau về dấu (+e và –e), nằm cách nhau một khoảng r nào đó, được gọi là lưỡng cực điện. Phân tử nước được định hướng một cách xác định trong điện trường của ion tức là làm thuỷ hoá ion đó.

Trạng thái thuỷ hoá hoá học : Các phân tử chất hữu cơ cũng có mômen lưỡng cực, nó là tổng các mômen lưỡng cực của các nhóm phân cực có trong thành phần của phân tử. Vì vậy xung quanh các phân tử đó tạo ra một điện trường thu hút sự định hướng xác định của các phân tử nước, tức là gây nên sự thuỷ hoá. Đây là sự thuỷ hoá trung hoà điện. Chỉ một số nhóm nhất định như : nhóm cacboxyl (COOH), hiđroxyl (OH), anđehyt (CHO), cacbonyl (CO), imin (NH), amin (NH_2), amit ($CONH_2$) mới gây ra sự định hướng (sự thuỷ hoá) của các phân tử nước lưỡng cực khi ở gần các nhóm đó.

Ngoài ra, các phân tử nước lưỡng cực còn định hướng gần các nhóm ion hoá, ví dụ các phần ion hoá của các axit amin trong phân tử protein (NH_3^+ ; COO^-). Đó là sự thuỷ hoá ion hoá.

Ở gần mỗi nhóm phân cực hay ion hoá có thể có một vài lớp phân tử nước lưỡng cực định hướng tạo nên lớp vỏ thuỷ hoá, trong đó các lớp trong cùng được định hướng trật tự nhất và liên kết chặt, các lớp tiếp theo lỏng lẻo hơn và các lớp càng xa sự tương tác càng kém và không còn sự thuỷ hoá nữa. Sự thuỷ hoá nêu trên là một quá trình hoá học gây nên bởi các lực hoá trị nên gọi là sự thuỷ hoá hoá học. Đó là trạng thái chính của nước trong tế bào. Ngoài trạng thái thuỷ hoá, trong tế bào, nước còn ở trạng thái liên kết cấu trúc (còn gọi là sự bất động hoá và trạng thái hút thẩm thấu). (Sơ đồ sự thuỷ hoá của phân tử nước đã được nêu ở chương I).

Sự bất động hoá nước có thể xảy ra ở bên trong đại phân tử và trong các khoảng hẹp nằm giữa các đại phân tử, cho nên hạn chế sự di chuyển của phân tử nước một cách cơ học.

Trạng thái hút thẩm thấu cũng có thể xảy ra bên trong các đại phân tử cũng như trong các khoảng hẹp giữa chúng. Ở đây nước bị hút bởi các phần phân tử thấp do các hợp chất cao phân tử phân giải ra.

Trong các quan niệm sau này, các phân tử nước trong cơ thể sống tồn tại ở 2 trạng thái :

Một phần nước làm khung (mạng) tạo nên cấu trúc nước (tính xếp thứ tự theo mạng của nước) được hình thành nhờ các liên kết hiđro giữa các phân tử.

Phần thứ 2 lấp đầy các lỗ trống của khung đó.

b) Các dạng nước trong cây

– Trong cây nước tồn tại dưới hai dạng là nước tự do và nước liên kết. Tuy nhiên nước nào được coi là nước tự do và nước nào được coi là nước liên kết thì có nhiều quan điểm khác nhau. Một số cho rằng nước liên kết là nước không bị đông lại ở những nhiệt độ thấp hơn $-10^{o}C$ và không thể dùng làm dung môi ngay cho những chất dễ bị hoà tan như đường (theo Macximop).

Quan niệm thứ hai cho rằng phần lớn nước bị liên kết bằng cách tham gia vào sự thuỷ hoá hoá học cũng như vào sự liên kết cấu trúc. Phần nước còn lại được coi là nước tự do. Đó là nước bị hút trong các mao quản (trong thành tế bào), nước bị hút thẩm thấu, không tham gia vào thành phần của vỏ thuỷ hoá xung quanh các phân tử và ion, trừ nước thuộc lớp khuếch tán của vỏ thuỷ hoá và còn giữ được tính linh động (theo Alecxeiev).

Một số nhà nghiên cứu khác lại cho rằng : trong mọi trường hợp nước trong thực vật đều là nước liên kết và tuỳ theo tác dụng của các lực giữa các phân tử và nội phân tử mà hoạt tính của nước bị biến đổi. Vì vậy các tác giả này đã nghi ngờ sự tồn tại của dạng nước tự do. Họ đã đưa ra sự phân chia thành hai dạng nước liên kết : nước liên kết chặt và nước liên kết yếu trong đó nước liên kết yếu là nước vẫn giữ được tính chất của nước thông thường.

Sở dĩ có những quan điểm khác nhau về các dạng nước trong cây là vì không có ranh giới rõ rệt về hai dạng nước tự do và liên kết (dạng nước này có thể chuyển thành dạng nước kia). Sau này người ta đã đưa ra quan niệm như sau để phân biệt hai dạng nước trên :

Nước tự do hay nước liên kết yếu là nước bị rút ra khỏi thực vật nhờ những lực hút nước xác định và nước đó có những tính chất gần giống với tính chất của nước thường (nghĩa là có thể dùng làm dung môi và đông đặc ở nhiệt độ gần $0^{o}C$).

Nước liên kết hay nước liên kết chặt là phần nước còn lại mà tính chất của chúng đã biến đổi (hầu như không có khả năng làm dung môi và đông đặc ở nhiệt độ thấp hơn $0^{o}C$).

Tiếp theo, người ta lại phân chia cụ thể hơn thành 3 dạng như sau :

+ Nước liên kết chặt : Là nước bị giữ lại do quá trình thuỷ hoá hoá học các ion và các phân tử, các chất trùng hợp thấp và trùng hợp cao.

+ Nước liên kết yếu : Là nước thuộc các lớp khuếch tán của vỏ thuỷ hoá, nước liên kết cấu trúc và nước hút thẩm thấu.

+ Nước tự do : Là nước bị hút trong các mao quản của thành tế bào và phần nước bị hút thẩm thấu của dịch tế bào, không tham gia vào thành phần vỏ thuỷ hoá xung quanh các ion và phân tử.

– Ý nghĩa của các dạng nước

Sự khác nhau về tính chất của nước tự do và nước liên kết đã đưa đến sự khác nhau về ý nghĩa của chúng đối với đời sống của thực vật.

+ Nước tự do chiếm một lượng lớn trong thực vật (70%) lại là dạng nước còn di động được và còn giữ nguyên những đặc tính của nước cho nên đóng vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất của thực vật. Do đó người ta đã xác định rằng lượng nước tự do quy định cường độ các quá trình sinh lí.

+ Nước liên kết chặt và không chặt : Dạng này chiếm 30% lượng nước trong thực vật. Tuỳ theo mức độ khác nhau dạng này mất tính chất ban đầu của nước : khả năng làm dung môi kém, nhiệt dung giảm xuống, độ đàn hồi tăng lên, nhiệt độ đông đặc thấp...

Vai trò của dạng nước này là đảm bảo độ bền vững của hệ thống keo trong chất nguyên sinh vì nó làm cho các phần tử phân tán khó lắng xuống, hiện tượng ngưng kết ít xảy ra.

Trong các cơ thể non hàm lượng nước liên kết thấy lớn hơn trong các cơ thể già. Khi thực vật gặp điều kiện khô hạn hàm lượng nước liên kết tăng lên. Cho nên có thể là hàm lượng nước liên kết liên quan với tính chống chịu của thực vật : chịu hạn, chịu rét, chịu mặn. Người ta đã dùng tỉ số hàm lượng nước liên kết và nước tự do để đánh giá khả năng chống chịu của thực vật và ứng dụng trong việc chọn các giống cây có khả năng chống chịu tốt nhất.

– Sự phân bố của các dạng nước trong cây

+ Trong thành tế bào : Chủ yếu gồm nước liên kết bởi các chất cao phân tử xenluloz, hemixenluloz, các chất pectin, nước liên kết cấu trúc và nước bị hút bằng thẩm thấu trong các mao quản.

+ Trong chất nguyên sinh : Việc xác định các dạng nước trong chất nguyên sinh gặp nhiều khó khăn do tính chất phức tạp và tính không ổn định về thành phần và cấu trúc của nó. Tuy nhiên người ta cũng xác định rằng trong chất nguyên sinh nước bị liên kết bởi sự thuỷ hoá hoá học của protein và các chất cao phân tử khác, nước liên kết cấu trúc, nước liên kết bởi các chất trùng hợp thấp và nước bị hút thẩm thấu (bên trong các đại phân tử).

– Ảnh hưởng của một số điều kiện ngoại cảnh đến các dạng nước của thực vật

+ Ảnh hưởng của điều kiện dinh dưỡng khoáng. Ảnh hưởng của dinh dưỡng khoáng đến tỉ lệ nước tự do và nước liên kết trong cây có thể là do ảnh hưởng trực tiếp của các ion đến sự thuỷ hoá hoá học và do sự biến đổi tiến trình trao đổi chất ảnh hưởng lên tỉ lệ các chất tích nước ít hay nhiều trong tế bào. như

Ảnh hưởng trực tiếp của các ion đến sự thuỷ hoá hoá học là do chúng bị hút bám trên bề mặt các tiểu phần bị thuỷ hoá (các đại phân tử) cho nên chúng có thể tác động lên sự thuỷ hoá hoá học các ion cũng như sự thuỷ hoá hoá học trung hoà điện.

Người ta đã chứng minh rằng các chất điện li tăng lên sẽ làm cho lượng nước liên kết tăng lên. Tuy nhiên đối với các ion K^+, Cs^+, I^- thì ngược lại, tức lượng nước liên kết giảm đi do cấu trúc của nước trong các vỏ thuỷ hoá kém bền vững đi.

Sự hút bám một loại ion này có thể kèm theo sự thải ra các ion khác (sự trao đổi hút bám). Nếu mức độ thuỷ hoá của ion bị hút bám lớn hơn mức độ thuỷ hoá của ion bị thải ra thì lượng nước liên kết với đại phân tử sẽ tăng lên. Trong trường hợp ngược lại, lượng nước liên kết sẽ giảm đi.

Bằng thực nghiệm người ta đã chỉ ra rằng việc tiêm các dung dịch của tất cả các muối gây ra sự giảm lượng nước tự do và làm tăng lượng nước liên kết vì các ion đã ảnh hưởng đến sự thuỷ hoá hoá học các đại phân tử.

Ảnh hưởng của dinh dưỡng khoáng còn thể hiện ở chỗ các ion khoáng ảnh hưởng đến thành phần các chất hữu cơ do cây tổng hợp. Đó là các đại phân tử có chứa các nhóm ưa nước (nhóm phân cực hay ion) mà số lượng và sự phân bố của các nhóm này chi phối mức độ thuỷ hoá của các đại phân tử nên có thể làm biến đổi các liên kết cấu trúc của nước. Các kết quả nghiên cứu đã cho thấy khi thuỷ phân protein có thể xảy ra sự phân giải liên kết peptit để tạo thành các nhóm phân cực mới (NH_2 và COOH) liên kết với các phân tử nước mới.

+ *Ảnh hưởng của nhiệt độ.* Sự thuỷ hoá hoá học là một quá trình ngoại nhiệt. Vì vậy khi hệ hút nhiệt thì phải xảy ra quá trình ngược lại tức sự phản thuỷ hoá do chuyển động nhiệt của các phân tử nước tăng lên, gây tác động ngược lại sự định hướng của các phân tử nước.

Do vậy khi nhiệt độ tăng thì hàm lượng nước liên kết giảm, nhưng hàm lượng nước liên kết cấu trúc và nước hút thẩm thấu lại tăng lên, do sự giảm lực liên kết của các nhóm phân cực làm cho cấu trúc các đại phân tử trở nên xốp, cùng với việc tăng động năng của các ion và các phân tử làm cho lượng nước liên kết cấu trúc và sự hút nước thẩm thấu tăng lên.

Ngoài ảnh hưởng đến sự thuỷ hoá, sự tăng nhiệt độ còn ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất qua việc thúc đẩy quá trình thuỷ phân làm giảm lượng các chất cao phân tử, dẫn đến việc giảm lượng nước liên kết và tăng lượng nước tự do.

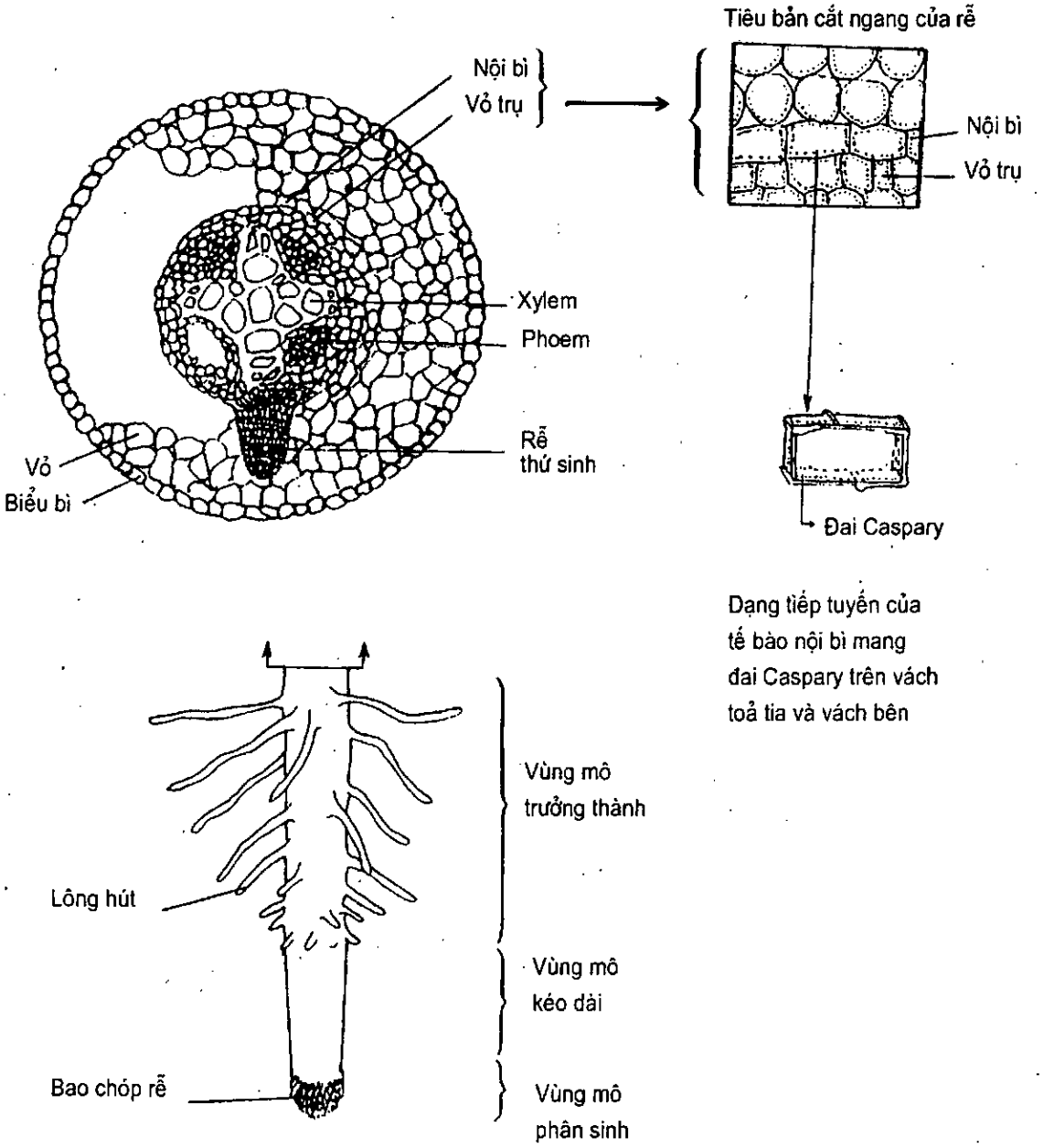
IV – SỰ TRAO ĐỔI NƯỚC Ở THỰC VẬT

1. Quá trình hút nước ở rễ

a) Rễ – cơ quan hút nước của cây. Rễ là cơ quan hút nước của cây. Rễ hút được nước nhờ hệ thống lông hút, sau đó qua các tế bào rễ vào cây thành một dòng liên tục.

Để thực hiện vai trò hút nước, cây có một hệ rễ phát triển, ăn sâu và lan rộng. Các cây họ Lúa có hệ rễ ăn sâu 1 – 2m và lan rất rộng. Các thí nghiệm với lúa mạch mùa đông cho thấy trong điều kiện đặc biệt thuận lợi 1 cây có 143 rễ cấp 1 (rễ chính), 35 nghìn rễ cấp 2, 2 triệu 300 nghìn rễ cấp 3, 11 triệu 500 nghìn rễ cấp 4. Chiều dài tổng cộng của hệ rễ này là 60km, diện tích chung là $225m^2$. Trên hệ rễ này có 15 tỉ lông hút với chiều dài khoảng 10 nghìn km và diện tích là $400m^2$. Một cây lúa mạch với diện tích của hệ rễ như vậy có các bộ phận trên mặt đất với diện tích chung chỉ là $4,5m^2$. Các cây gỗ có hệ rễ ăn sâu và lan rộng hơn nhiều.

Kích thước của hệ rễ phụ thuộc vào loài cây và các điều kiện sinh thái. Ví dụ, độ ẩm của đất ảnh hưởng đến sự phát triển của hệ rễ : đất khô rễ thường ít phân nhánh mà thường ăn sâu xuống lớp đất ở phía dưới. Cây thuỷ sinh hút nước qua toàn bộ bề mặt của cây nên hệ rễ biến dạng và ít phát triển. Ngoài hệ rễ, thân, lá cũng có khả năng hút nước nhưng lượng nước không đáng kể (hình 23).



Hình 23 – Hình thái chung của chóp rễ gồm bao (mũ) chóp rễ, vùng mô phân sinh, vùng mô kéo dài và vùng mô trưởng thành mang lông hút rễ.

b) Đất – nơi cung cấp nước cho cây

– Thế năng nước của đất

Cũng như nước ở trong cây, nước ở trong đất cũng có thế năng. Thế năng nước của đất (ψ đất) cũng gồm các thế năng thành phần : thế năng chất tan ψ_s, thế năng cơ chất ψ_m, thế năng áp suất ψ_p, thế năng trọng lực ψ_g.

+ *Thế năng chất tan :* Phụ thuộc vào nồng độ chất tan trong đất. Nồng độ chất tan càng lớn thế năng chất tan càng nhỏ nên thế năng nước của đất càng thấp. Thế năng chất tan thấp hơn thế năng của nước nguyên chất, làm giảm thế năng nước của dung dịch đất nên ψ_s cũng có giá trị âm.

+ *Thế năng cơ chất :* Là lực giữ nước trong đất, đó là lực hấp phụ và lực mao dẫn và cũng có giá trị âm. ψ_s càng lớn thì thế năng nước của đất càng thấp (càng âm hơn), cây càng khó sử dụng nước của đất. Thế năng cơ chất và thế năng chất tan là hai thành phần quan trọng của thế năng nước của đất.

+ *Thế năng áp suất :* Gồm lực do áp suất không khí và áp suất của nước (áp suất thuỷ lực) tạo ra ở trong đất. Thế năng áp suất làm tăng thế năng nước của đất, có giá trị từ không đến giá trị dương nhỏ.

+ *Thế năng trọng lực :* Do sự khác nhau về độ cao của mức nước trong đất. Vì vậy thế năng trọng lực có khi là dương có khi là âm, phụ thuộc vị trí của điểm cần xác định và điểm lấy làm chuẩn.

Căn cứ vào giá trị của thế năng nước của đất ở các vùng khác nhau có thể xác định được hướng vận động của nước từ vùng này đến vùng kia.

– Các dạng nước trong đất và ý nghĩa

Trong đất nước tồn tại dưới ba trạng thái : rắn, lỏng và hơi, trong đó hai trạng thái lỏng và hơi có ý nghĩa đối với thực vật.

+ *Trạng thái rắn :* Đó là nước kết tinh hay nước đá, cây không dùng được.

+ *Trạng thái hơi :* Là dạng nước chứa đầy trong các lỗ trống của đất, chuyển động chủ động liên tục theo quy luật khuếch tán hoặc bị động theo dòng không khí. Dạng nước này cây sử dụng được và có ý nghĩa trong quá trình hô hấp của rễ.

+ *Trạng thái lỏng :* Là dạng nước chủ yếu trong đất và gồm các dạng sau :

Nước hấp dẫn : Là dạng nước chứa đầy trong các khoảng trống giữa các phần tử đất. Đây là dạng nước tự do di động dễ dàng do lực hấp dẫn của đất yếu, cây hấp thụ dễ dàng. Dạng nước này thường tạo ra các mạch nước ngầm, nhất là sau những trận mưa lớn. Tuy nhiên dạng nước này chỉ cung cấp cho cây trong một thời gian ngắn.

Nước mao dẫn : Là dạng nước chứa trong các ống mao dẫn của đất và bị các phần tử của đất giữ tương đối chặt (0,1 atm). Dạng nước này lắng chậm và là dạng nước hệ rễ hút thường xuyên trong đời sống của cây.

Nước màng : là dạng nước bao bọc xung quanh các phần tử đất, bị các phần tử keo đất giữ bằng một lực lớn nên ít được sử dụng. Cây chỉ sử dụng được các lớp nước nằm xa trung tâm các phần tử keo đất.

Nước ngậm và nước tẩm của keo đất : là dạng nước mà các keo đất giữ với lực rất lớn và phần lớn các phần tử nước bị tẩm vào bên trong các phần tử đất. Dạng nước này bị liên kết chặt bởi phần tử keo đất và cây không sử dụng được.

Như vậy, cũng giống ở trong cây, nước trong đất có thể ở dạng tự do và dạng liên kết và về mặt ý nghĩa sinh học, có thể là dạng cây sử dụng được và dạng cây không sử dụng được.

– Hệ số héo và hạn sinh lí

+ *Ẩm dung của đất.* Khả năng chứa nước của đất được gọi là ẩm dung của đất. Khả năng chứa nước của đất ở trạng thái bão hoà được gọi là ẩm dung toàn phần của đất.

Trạng thái và hàm lượng nước trong đất phần lớn do tính chất của đất quyết định như cấu trúc của đất, thành phần cơ giới của đất. Chẳng hạn đất có cấu trúc viên bé (0,25 – 10mm, tốt nhất là 2 – 3mm) có khả năng giữ nước rất cao, chống được sự bốc hơi nhiều và trôi xuống dưới lớp sâu, đồng thời đảm bảo cho cây hấp thụ một cách dễ dàng. Bằng cách bón phân một cách hợp lí (phân hữu cơ và phân khoáng chứa Ca) và bằng cách làm đất có kĩ thuật, có thể cải tạo được các loại đất khác nhau và tạo ra ẩm dung thích hợp, chế độ nước trong đất tối thích cho cây.

+ *Hệ số héo.* Như trên đã cho thấy, nước ở trong đất với các trạng thái khác nhau. Tuy nhiên thực vật không thể hút được tất cả lượng nước có ở trong đất. Nước từ đất xâm nhập vào rễ cây khó hơn là trong trường hợp rễ được nhúng trực tiếp vào nước. Sở dĩ như vậy là vì bản thân đất cũng có sức giữ nước chống lại việc xâm nhập của nước vào cây. Nước trong đất không phải là nước nguyên chất mà nó ở dạng dung dịch nên cũng có sức hút nước nhất định. Cây hút được nước phải có sức hút nước lớn hơn lực giữ nước của đất.

Lượng nước trong đất mà cây không sử dụng được có thể xác định như sau : trồng cây trong chậu thuỷ tinh (hay chậu bằng kim loại) với một lượng đất nhất định. Khi cây đã sinh trưởng tốt (ví dụ vào pha ra hoa chẳng hạn) thì ngừng tưới và đến khi cây bắt đầu héo (điều đó có nghĩa là đã ngừng sự xâm nhập nước vào rễ) thì xác định hàm lượng nước trong đất bằng cách sấy khô mẫu ở 100°C. Lượng nước xác định như vậy chính là lượng nước mà rễ cây không hấp thụ được và là "dự trữ chết" hay còn gọi là hệ số héo.

Hệ số héo là một chỉ số đặc trưng cho đất chứ không phải là đặc điểm của cây. Đất càng nhẹ thì lượng nước chứa trong nó được cây hấp thụ càng dễ dàng hơn và ẩm dung của loại đất đó càng nhỏ.

Một số tác giả đã đưa ra công thức tính hệ số héo như sau :

$$\text{Hệ số héo} = \frac{\text{Lượng nước ngậm}}{0{,}68 \pm 0{,}012} = \frac{\text{Ẩm dung toàn phần} - 21}{2{,}9 \pm 0{,}06}$$

Bằng công thức trên người ta đã xác định được hệ số héo của một số loại đất :

Loại đất	*Hệ số héo*
Cát thô	0,9
Cát mịn	2,6
Sét pha nhẹ	4,8
Sét pha nặng	9,7
Sét nặng	16,2

Những nghiên cứu sau này cho thấy hệ số héo không những phụ thuộc vào đặc tính của đất mà còn phụ thuộc vào đặc điểm sinh lí của cây, phụ thuộc vào quá trình phát triển cá thể của cây.

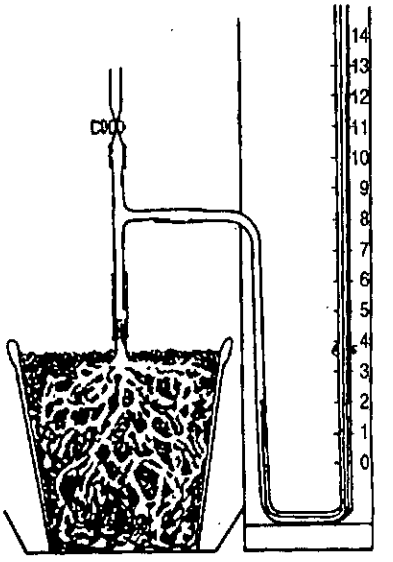
+ *Hạn hán sinh lí :* Như vậy trong nhiều trường hợp mặc dù nước vẫn còn trong đất nhưng cây không sử dụng được, cuối cùng bị héo và chết. Hiện tượng này gọi là hạn hán sinh lí. Nhiều nghiên cứu cho thấy là cây bắt đầu thiếu nước không phải là lúc đạt tới trị số hệ héo mà thực tế sớm hơn nhiều. Hạn hán sinh lí phụ thuộc nhiều vào các điều kiện ngoại cảnh (chẳng hạn nhiệt độ thấp làm cho khả năng hút nước giảm đi). Có thể khắc phục hạn hán sinh lí bằng cách tưới nước thường xuyên và hợp lí cho cây trồng. Thực tiễn cho thấy rằng : với phần lớn các loài cây, độ ẩm tối thích của đất là 60 – 80% của ẩm dung cực đại.

c) Cơ chế của quá trình hút nước

– Các động cơ hút nước

+ *Quá trình hút nước bị động :* Quá trình này do sự thoát hơi nước ở lá tạo ra (về sự thoát hơi nước sẽ nói đến ở phần cuối chương). Trong quá trình này nước ở lá luôn bị mất gây ra tình trạng thiếu nước thường xuyên trong tế bào, do đó làm động lực cho sự hút nước liên tục từ đất vào rễ. Đó là động cơ chủ yếu của sự hút nước vào rễ và được gọi là động cơ trên của sự hút nước.

+ *Quá trình hút nước chủ động :* Trong quá trình hoạt động, trao đổi chất ở rễ đã tạo ra các chất (ví dụ như đường) làm tăng nồng độ dịch bào kéo theo sự tăng áp suất thẩm thấu, do đó tăng sự hút nước. Như vậy hoạt động trao đổi chất ở rễ đã tạo ra động cơ hút nước chủ động của hệ rễ và được gọi là động cơ dưới của sự hút nước.



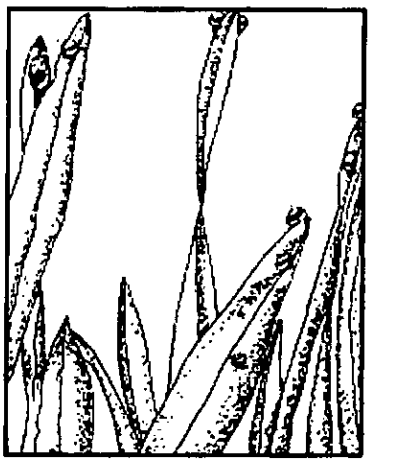
Hình 24 – Dụng cụ để biểu thị áp suất rễ

Người ta đã xác định rằng các lực giữ nước của cây (đặc trưng bằng đại lượng sức hút nước của tế bào) nằm trong khoảng giá trị từ 1 đến 10 atm và chỉ trong trường hợp đặc biệt mới lên

đến 50atm. Trong khi đó lực giữ nước của khí quyển rất lớn ngay cả ở độ ẩm tương đối cao (70 – 80%) và đo được đến 100atm ; còn ở độ ẩm thấp (47%) thì nó đạt tới 1000atm. Như vậy động cơ trên, tức sự thoát hơi nước ở lá, có ý nghĩa cơ bản đối với sự xâm nhập và chuyển nước trong cây.

Có thể nhận biết sự hút nước chủ động của hệ rễ qua những hiện tượng : rỉ nhựa và ứ giọt.

Hiện tượng rỉ nhựa (chảy nhựa). Nếu cắt ngang một thân cây nhỏ gần sát mặt đất rồi nối đoạn cắt với một ống cao su, hứng đầu ống cao su vào 1 cái cốc thì thấy nước trong ống cao su nhỏ ra từng giọt. Hiện tượng này gọi là sự rỉ nhựa và dịch tiết ra gọi là dịch nhựa. Trong dịch này có chứa các chất vô cơ và hữu cơ. Nếu nối vào ống cao su một áp kế thì ta có thể đo được lực đẩy của dòng nước từ rễ lên (hình 25). Lực đẩy đó chính là áp suất rễ. Áp suất này có giá trị trong khoảng 1 – 3atm (≈ 1 – 3ba). Ở các cây gỗ nó có thể có giá trị cao hơn (có khi 3 – 10 atm). Trước đây người ta coi hiện tượng rỉ nhựa là quá trình liên quan tới sự thương tổn của cây. Thực ra sự rỉ nhựa là do hoạt động chủ động của hệ rễ khi hút dung dịch bên ngoài vào cây. Người ta cũng đã quan sát thấy nhịp điệu ngày đêm của sự rỉ nhựa ở thực vật. Hiện tượng rỉ nhựa khá phổ biến ở thực vật và khác nhau theo loài, theo tuổi, trạng thái sinh lí và sự sinh trưởng. Ở cây họ Lúa hiện tượng này ít nhưng ở cây hai lá mầm hiện tượng này nhiều hơn.



Hình 25 – Hiện tượng ứ giọt ở đầu lá đại mạch

Hiện tượng ứ giọt. Sự hút nước chủ động còn thấy được ở những cây không bị thương tổn. Ở một số cây trong điều kiện ẩm ướt thấy xuất hiện những giọt nước đọng ở đầu lá và mép lá. Đó là hiện tượng ứ giọt. Hiện tượng này cũng phổ biến ở các mầm cây họ Lúa và các lá cây trưởng thành như khoai tây, lúa mạch, lúa nước, bầu bí, cải (hình 25).

Hiện tượng ứ giọt thấy rõ khi đặt cây trong chuông bão hoà hơi nước.

Sau một thời gian nhất định ta thấy những giọt nước ứ đọng trên các mép lá, mặt lá. Trong dịch nhựa này cũng chứa các chất vô cơ và hữu cơ.

Nhiều tác giả cho rằng : sự ứ giọt là kết quả của sự hút nước thừa liên quan đến sự hút mạnh các muối khoáng.

Hiện tượng ứ giọt và rỉ nhựa đều do áp suất rễ gây nên và là những bằng chứng để đánh giá hoạt động của hệ rễ. Những hiện tượng này chỉ xảy ra khi rễ hoạt động bình thường.

Dịch nhựa từ hiện tượng rỉ nhựa và ứ giọt chứa các chất vô cơ và hữu cơ khác nhau (các nguyên tố dinh dưỡng và cả các chất kích thích sinh trưởng, các axit amin, các vitamin...).

Trị số áp suất rễ phụ thuộc chủ yếu vào hàm lượng muối trong môi trường dinh dưỡng. Người ta đã quan sát thấy rằng áp suất thẩm thấu của nhựa cây tăng lên khi

chuyển cây từ nước vào dung dịch dinh dưỡng. Ví dụ, cây ngô khi được chuyển từ nước vào dung dịch dinh dưỡng có áp suất thẩm thấu là 8,1atm thì áp suất thẩm thấu của nhựa tăng từ 1,2 đến 10,8atm. Hiệu số giữa áp suất thẩm thấu của dịch nhựa và môi trường dinh dưỡng là động lực hút nước của rễ.

Đa số các nhà nghiên cứu giải thích cơ chế áp suất rễ dựa trên những quan niệm thẩm thấu và cho rằng áp suất thẩm thấu là cơ sở của áp suất rễ. Hay nói cách khác, theo mối liên quan với áp suất rễ thì sự chênh lệch giữa thế năng thẩm thấu của rễ và của dung dịch đất là động lực cho sự hấp thụ nước vào rễ.

Như vậy nước được hấp thụ vào dưới hai hình thức :

Hấp thụ bị động (thụ động) nhờ các lực có nguồn gốc trong khí quyển hoặc trong mô lá (nhờ quá trình thoát hơi nước).

Hấp thụ chủ động (tích cực), động lực là ở rễ. Sự hấp thụ tích cực có thể dưới hai dạng :

+ Hấp thụ trao đổi thông qua một cơ chế bơm trong đó nước được bơm vào mô (đặc biệt trong trường hợp môi trường thiếu nước). Bơm hoạt động nhờ ATP do hô hấp cung cấp.

+ Sự hấp thụ thẩm thấu nhờ áp suất rễ.

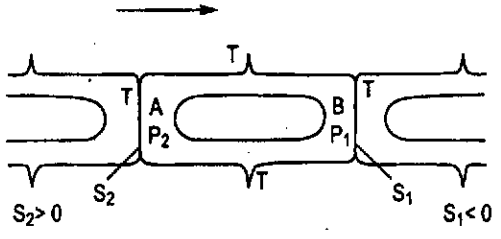
– *Cơ chế của quá trình hút nước :* Nước được rễ hút vào sau đó vận chuyển lên thân rồi lên lá theo một chiều. Có nhiều giả thuyết về cơ chế của dòng nước một chiều này.

Theo quan điểm của Usprung và Blem, nước hút vào do sự chênh lệch của sức hút nước của rễ và môi trường ngoài và của các tế bào cạnh nhau trên đường đi.

Theo Brillant, nước hút vào do sự phân cực của tế bào : Hai đầu tế bào có tính thấm khác nhau nên nước đi từ đầu này đến đầu kia theo một chiều. Tuy nhiên tác giả không giải thích được nguyên nhân gây ra tính thấm phân cực. Một số tác giả lại cho rằng sự hút nước phụ thuộc vào áp suất thẩm thấu. Họ cho rằng các tế bào rễ nằm trên đường đi của nước đã được bão hoà, do đó T = P và vì S = P – T nên S = 0, tức là không có sức hút nước. Trong khi đó những tế bào ống dẫn là những tế bào chết nên T = 0 và S = P, khi đó nước được hút từ tế bào rễ sang ống dẫn và sức hút nước phụ thuộc vào áp suất thẩm thấu. Tuy nhiên thuyết này cũng còn thiếu sót là không nêu được vai trò của tế bào sống trong mạch dẫn.

Quan điểm của Xabinhin : Ông cho rằng sở dĩ nước đi vào cây theo một chiều là do cả hai nguyên nhân : Do tính thấm khác nhau của từng phần chất nguyên sinh trong mỗi tế bào và do sự khác nhau trong quá trình trao đổi chất của tế bào. Ông đã đưa ra sơ đồ để minh hoạ cho quan điểm này (hình 26).

Theo ông có thể hình dung rằng trong tế bào này ở phần nào đó (phần A) của sinh chất liên tục diễn ra các phản ứng tổng hợp và hình thành những chất có khả năng làm tăng áp suất thẩm thấu (P_2), còn ở phần khác của sinh chất (phần B), lại xảy ra sự biến đổi đều đặn các chất có hoạt tính thẩm thấu thành các chất không có hoạt



Hình 26 – Sơ đồ minh hoạ sự vận chuyển nước theo một chiều bởi hệ thống rễ

tính thẩm thấu (ví dụ đường thành tinh bột), kết quả là áp suất thẩm thấu ở đây (P_1) sẽ nhỏ đi. Như vậy hình thành sự khác biệt về nồng độ của các chất có hoạt tính thẩm thấu ở các phần khác nhau của tế bào. Giả sử rằng tế bào được tiếp xúc với nước, khi đó ở những phần tế bào, chứa lượng các chất có hoạt tính thẩm thấu lớn hơn, nước sẽ được hút vào tế bào với lực lớn hơn. Ở phần B của tế bào, nơi hình thành các chất không có hoạt tính thẩm thấu, sức hút nước S_1 sẽ bằng 0, khi đó ở phần A nước liên tục xâm nhập vào tế bào, ở đây $S_2 > 0$. Nước khi xâm nhập vào tế bào nhờ lực thuỷ tĩnh sẽ tác động đồng đều lên thành tế bào nghĩa là giá trị của áp suất trương nước T là như nhau trong các phần của tế bào. Vì P_2 rất lớn, P_1 rất nhỏ và T như nhau trong các phần của tế bào cho nên có thể viết :

$$P_2 > T > P_1$$

Như vậy, ở phần A nước sẽ được hút vào tế bào và ở phần B do áp suất trương lớn hơn áp suất thẩm thấu nên nước sẽ bị rút ra khỏi tế bào, tức là nước sẽ đi từ chiều A sang B để thiết lập sự cân bằng giữa áp suất thẩm thấu và áp suất trương nước.

Những nghiên cứu tiếp theo về quá trình hút nước ở thực vật đã đưa đến hai cơ sở để giải thích sự hấp thụ nước vào cây như sau :

+ Do gradien nồng độ chất tan : khi có sự chênh lệch về nồng độ các chất hoà tan trong tế bào rễ và dung dịch đất thì nước sẽ được hấp thụ vào rễ theo cơ chế khuếch tán thẩm thấu, tức là nước sẽ vận chuyển từ nơi có nồng độ chất tan thấp đến nơi có nồng độ chất tan cao. Trong trường hợp này nước sẽ vào cây một cách thụ động khi mà hàm lượng các chất tan trong rễ cao và trong môi trường đất chứa đầy đủ nước. Còn khi gặp điều kiện thiếu nước thì nước vào rễ cây theo cơ chế bơm đặc biệt tạo điều kiện nâng nồng độ các chất trong rễ cao lên (bơm các chất vào ngược với gradien nồng độ) để tạo ra gradien nồng độ cao trong rễ và do đó nước sẽ được vận chuyển vào rễ một cách tích cực.

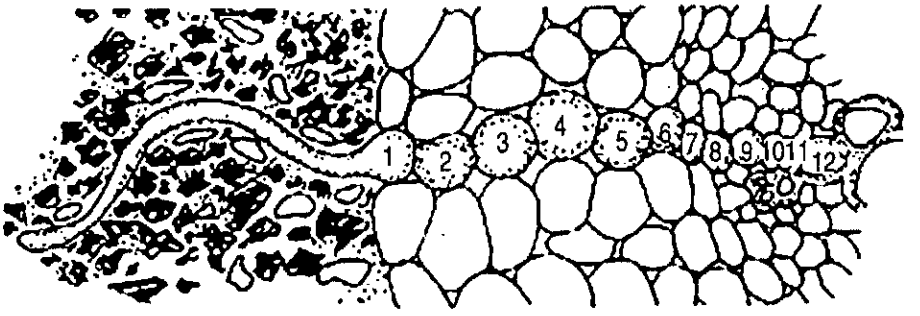
+ Do gradien thế năng nước : Khi có sự chênh lệch về thế năng nước thì nước sẽ vận chuyển từ nơi có thế năng cao (tức có giá trị âm nhỏ hơn) đến nơi có thế năng thấp (tức có giá trị âm lớn hơn). Khi dung dịch đất có thế năng nước lớn hơn thế năng nước của mô rễ thì nước sẽ được vận chuyển vào rễ. Thế năng nước của rễ thường nhỏ hơn thế năng nước của dung dịch đất do từ rễ nước luôn được vận chuyển lên cây sử dụng cho các quá trình trao đổi chất và do quá trình thoát hơi nước ở lá.

Con đường hấp thụ nước ở rễ. Toàn bộ phần sống của thực vật được gọi là symplast còn phần không sống được gọi là apoplast. Phần symplast được nối với nhau từ tế bào này sang tế bào khác suốt cơ thể thực vật nhờ cấu tạo gọi là plasmodesmata (sợi liên bào). Đó là những ống sinh chất nối liền các tế bào cạnh nhau. Nó có ở đại bộ phận các tế bào thực vật bậc cao trừ một số loại tế bào như tế bào đóng trưởng thành của khí khổng,...

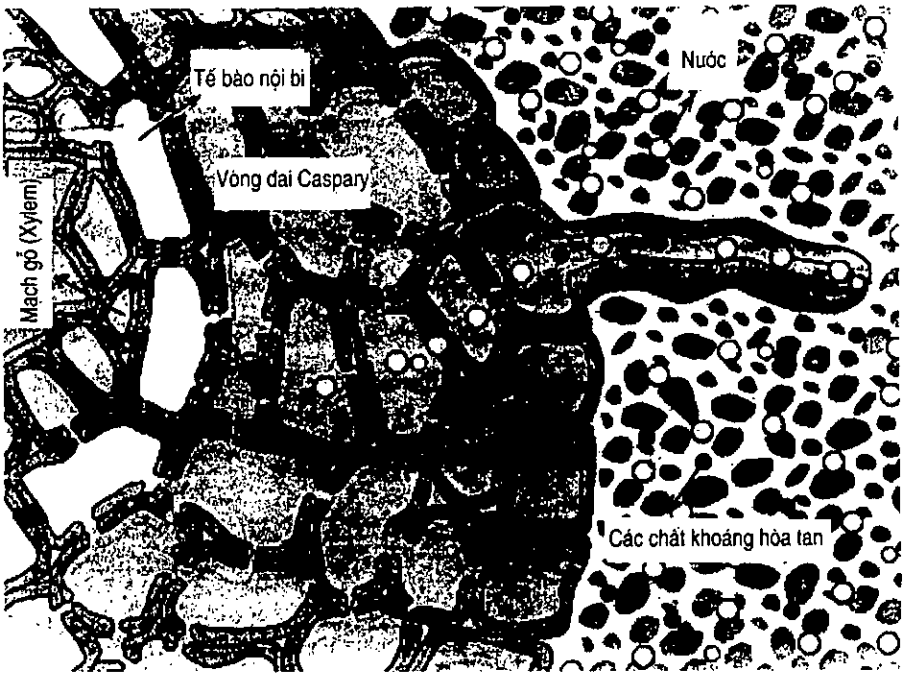
Đường vận chuyển từ tế bào này sang tế bào khác qua phần sống của tế bào nhờ plasmodesmata gọi là đường vận chuyển symplastic, còn đường vận chuyển qua thành tế bào và các khoảng gian bào gọi là đường vận chuyển apoplastic.

Nước từ đất vào, rồi từ vùng vỏ rễ tới mạch dẫn phải qua các tế bào sống của nội bì. Còn khi nước đi qua các thành tế bào và các khoảng gian bào trong suốt phần vỏ để vào tiếp mạch dẫn, khi gặp vòng đai caspary thì đi vào tế bào nội bì.

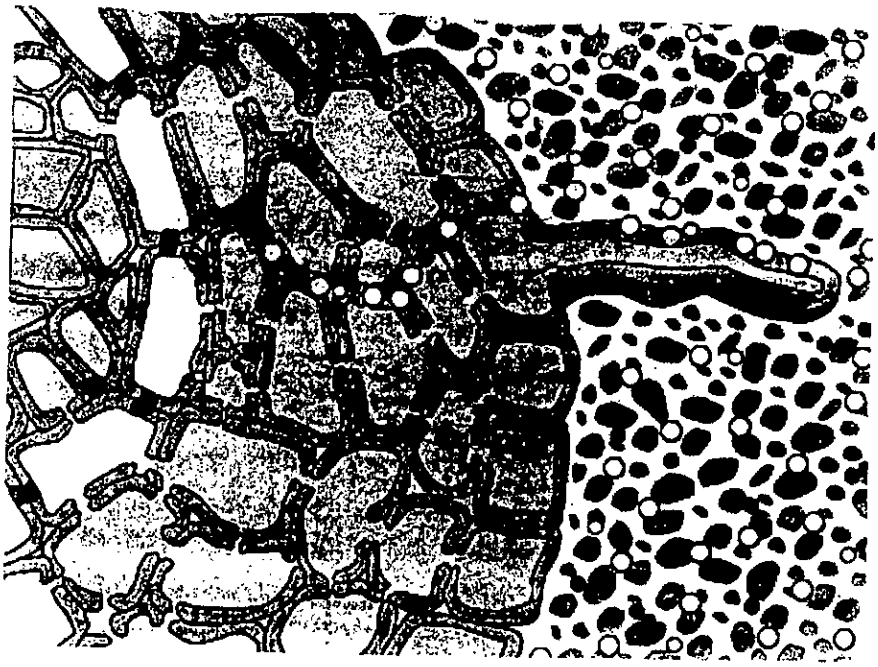
Nhìn chung con đường hấp thụ và vận chuyển nước thông thường từ đất vào mạch dẫn là qua hệ thống lông hút của rễ hoặc trực tiếp vào các tế bào biểu bì hoặc vào các thành tế bào và các khoảng gian bào. Còn ngay ở trong rễ nước có thể qua apoplastic (các thành tế bào và các khoảng gian bào) hoặc từ tế bào này sang tế bào khác qua symplastic. Để vào mạch dẫn từ vùng vỏ rễ nước phải đi qua phần symplast của nội bì (hình 27).



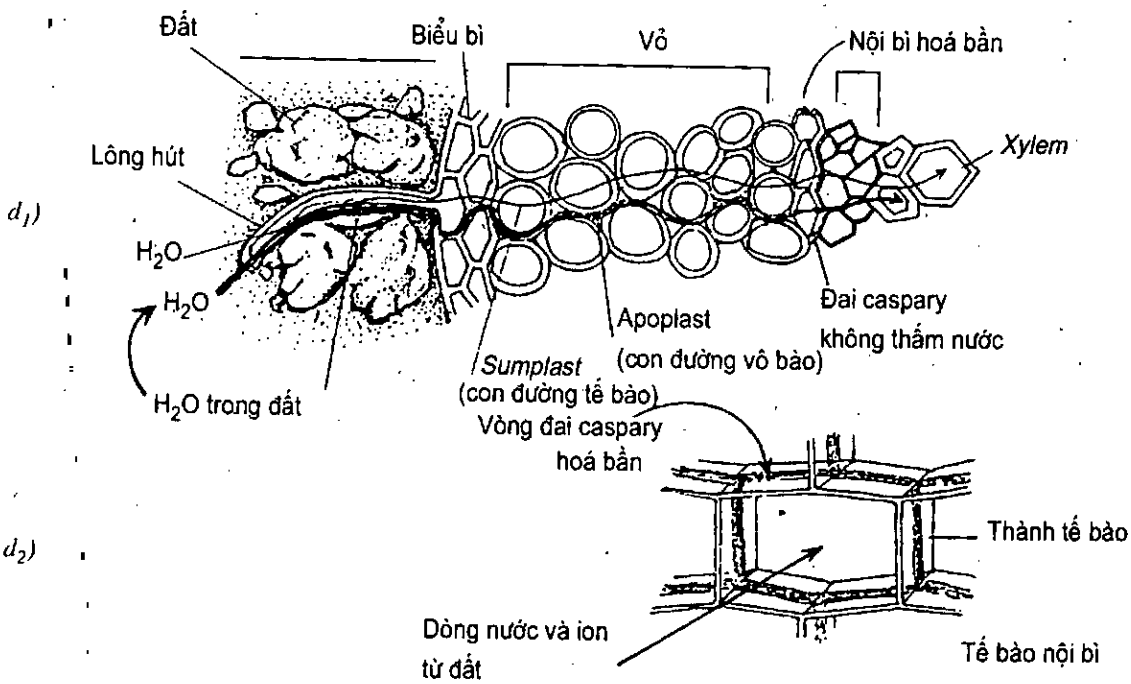
Hình 27a – Con đường đi của nước từ lông rễ (1) tới mạch dẫn của rễ (12), qua nhu mô vỏ (2 – 6), nội bì (7), trung trụ (8), và nhu mô của hệ mạch (9 – 11)



Hình 27b – Con đường tế bào (Symplast)



Hình 27c. Con đường vô bào (Apoplast)



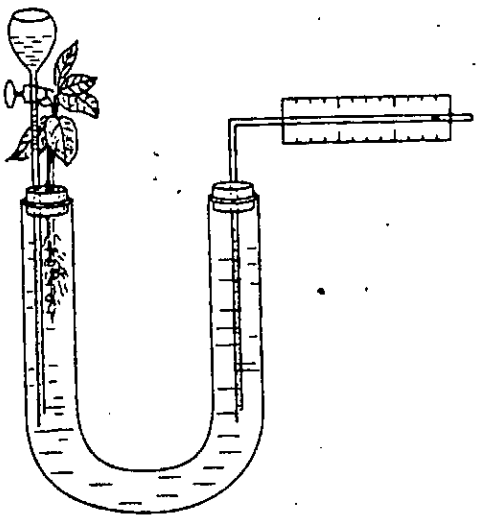
Hình 27d – Sự vận chuyển của nước từ đất vào rễ (d_1)
và vòng đai caspary (d_2) cản trở nước đi trong thành tế bào (apoplast)

d) Ảnh hưởng của điều kiện ngoại cảnh đến sự hút nước của rễ

– Ảnh hưởng của nhiệt độ

Khi nhiệt độ giảm thì sự hút nước của rễ giảm. Có thể làm thí nghiệm để minh hoạ mối liên quan này : dùng một dụng cụ gọi là hấp thuỷ kế gồm một ống thuỷ tinh hình chữ U chứa đầy nước, một đầu của ống đặt một cây sao cho hệ rễ ngập trong nước, đầu kia của ống nối với một ống mao dẫn và gắn vào bảng chia độ. Mực nước trong ống mao dẫn được đánh dấu bằng giọt xanh metilen (hình 28).

Lưu ý hai đầu ống hình chữ U, chỗ đặt cây và chỗ nối với ống mao dẫn phải hoàn toàn kín. Khi lá cây thoát hơi nước và hệ rễ hấp thụ nước thì lượng nước trong ống chữ U giảm đi và giọt xanh metilen chuyển dịch từ phải sang trái. Vận tốc chuyển dịch của giọt xanh metilen phụ thuộc vào tốc độ hút nước của hệ rễ. Bằng thí nghiệm này đã xác định được rằng : khi giảm nhiệt độ (đặt hấp thuỷ kế vào dụng cụ điều nhiệt) trong khoảng 20°C thì sự hút nước của rễ giảm đi 25 – 30%.



Hình 28 – Hấp thuỷ kế

Mối liên quan giữa nhiệt độ và sự hút nước của rễ được giải thích bằng ảnh hưởng của nhiệt độ lên độ nhớt của chất nguyên sinh. Nhiệt độ thay đổi làm thay đổi độ nhớt của chất nguyên sinh. Ở nhiệt độ 20°C, độ nhớt của chất nguyên sinh cao gấp 1,5 lần so với ở 40°C. Khi độ nhớt của chất nguyên sinh tăng sẽ gây khó khăn cho sự chuyển dịch của nước làm cho sự hút nước vào rễ giảm.

Sự tăng độ nhớt của chất nguyên sinh khi giảm nhiệt độ được chứng minh bằng hiện tượng co nguyên sinh : ở 0°C sự co nguyên sinh xảy ra chậm hơn ở nhiệt độ bình thường từ 4 đến 7 lần.

Mối liên quan giữa nhiệt độ và sự hút nước của rễ có một ý nghĩa thực tiễn rất lớn. Về mùa lạnh, khi nhiệt độ thấp, cây bị héo vì rễ không hút được nước. Vì vậy một trong những khả năng bảo vệ của cây trong mùa đông là hiện tượng rụng lá. Do cây hút được ít nước nên phải tiết kiệm nước và cách tiết kiệm nước tốt nhất là giảm bề mặt thoát hơi nước bằng cách làm rụng lá.

– *Ảnh hưởng của oxi.* Khi nồng độ oxi trong đất giảm thì sự hút nước giảm vì sự sinh trưởng của rễ bị ảnh hưởng. Mặt khác khi thiếu oxi trong đất quá trình hô hấp yếm khí sẽ tăng và sinh ra những sản phẩm độc đối với cây.

Những cây sống trong các điều kiện sinh thái khác nhau chịu ảnh hưởng của oxi khác nhau.

– *Ảnh hưởng của độ pH của dung dịch đất.* Độ pH ảnh hưởng đến nồng độ của các chất trong dung dịch đất và khi sự chênh lệch giữa nồng độ dung dịch đất và dịch tế bào rễ thấp thì sự hút nước sẽ yếu.

Tuy vậy có trường hợp nồng độ các muối tan trong đất cao làm tăng sự hút nước vì các chất tan thấm vào tế bào rễ làm nồng độ chất tan trong rễ tăng và do đó làm tăng sự hút nước. Vì vậy việc bón thêm phân cho cây là biện pháp chống hạn tốt để làm tăng khả năng hút nước và giúp cây chống chịu được hạn.

– *Ảnh hưởng của sức giữ nước của đất.* Mỗi phần tử đất có một sức giữ nước nhất định. Cho nên khi sức hút nước của cây không thắng được sức giữ nước của đất thì dù trong đất còn nước cây vẫn không hút được nước.

2. Quá trình vận chuyển nước trong cây

Nước được hút từ đất vào rễ, qua thân, cành lên lá rồi thoát ra khí quyển qua quá trình gọi là thoát hơi nước, tạo thành dòng liên tục từ dưới lên và được gọi là dòng liên tục đất – cây – không khí (SPAC : Soil – Plant – Air – Continue).

Trong mùa sinh trưởng thì khoảng 99% lượng nước cây hút vào bị mất đi qua quá trình thoát hơi nước, khoảng 0,9% được giữ lại trong mô dưới dạng nước tự do, còn 0,1% tham gia vào các phản ứng hoá học như một nguyên liệu trong quá trình trao đổi chất của thực vật.

a) Con đường vận chuyển nước : Con đường vận chuyển nước theo hệ SPAC gồm 3 giai đoạn sau :

1. Từ bề mặt lông hút của rễ đến mạch dẫn. Đoạn này ngắn, khoảng 0,2mm.
2. Qua hệ mạch dẫn của thân : Đoạn này dài gấp nhiều lần giai đoạn 1.
3. Từ gân lá đến tế bào thịt lá, gian bào, khí khổng rồi ra ngoài không khí.

Ở giai đoạn 1 : nước đi qua cả các tế bào sống và không sống (xem phần quá trình hút nước).

Ở giai đoạn 3 : nước qua các tế bào sống và qua các ống mao dẫn của thành tế bào thịt lá rồi ra ngoài qua khí khổng. Còn ở trong thân, nước vận chuyển từ rễ lên lá theo hệ mạch gỗ (xilem). Các chất hoà tan được rễ hút vào cũng vận chuyển lên thân cùng dòng nước theo mạch gỗ. Các sản phẩm hoà tan được tạo thành trong quang hợp và quá trình trao đổi chất được vận chuyển xuống dưới (tức vận chuyển từ nơi sản xuất đến nơi tiêu thụ) theo mạch rây (phloem).

Để đưa ra kết luận ở trên, người ta đã tiến hành thí nghiệm như sau : Chọn một cây gỗ đang trưởng thành, cắt phần gỗ còn để phần vỏ : sau một thời gian ngắn lá bị héo ; còn

nếu cắt phần vỏ để lại phần gỗ, lá không héo mà các chất dinh dưỡng bị tích tụ lại ở phía trên vết cắt làm cho chỗ này phình to ra (hình 29).

Một thí nghiệm khác của Strasburger chứng minh thêm rằng các tế bào nhu mô sống của phần gỗ ở bên trong thân không cần thiết cho sự vận chuyển nước mà nước vận chuyển một cách đơn thuần qua quản bào và các yếu tố mạch dẫn không sống.

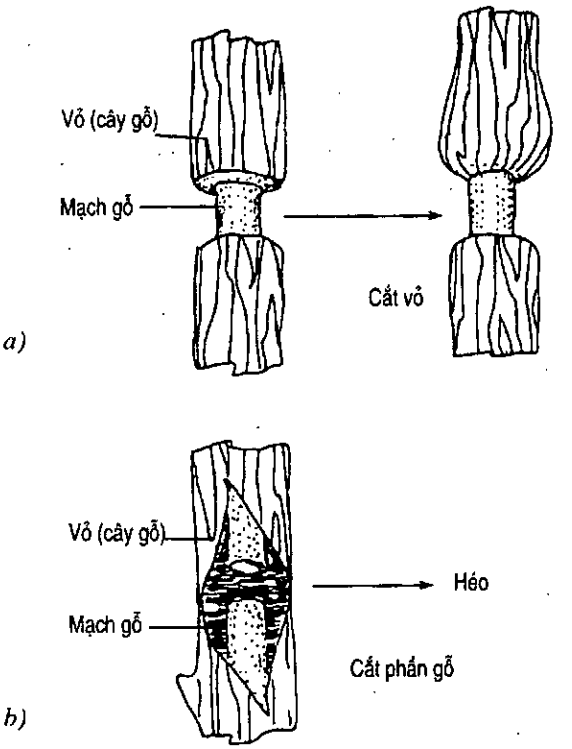
Nước vận chuyển chủ yếu theo hướng từ rễ lên thân, tuy nhiên, từ thân nước còn vận chuyển ngang ra cành và ở trong cành, trong thân.

b) Vận tốc vận chuyển nước : Vận tốc vận chuyển của nước thường là 1 – 5m/h. Tuy nhiên ở những cây khác nhau và dưới ảnh hưởng của các nhân tố khác nhau vận tốc vận chuyển của nước có thể vượt ra ngoài giới hạn đó.

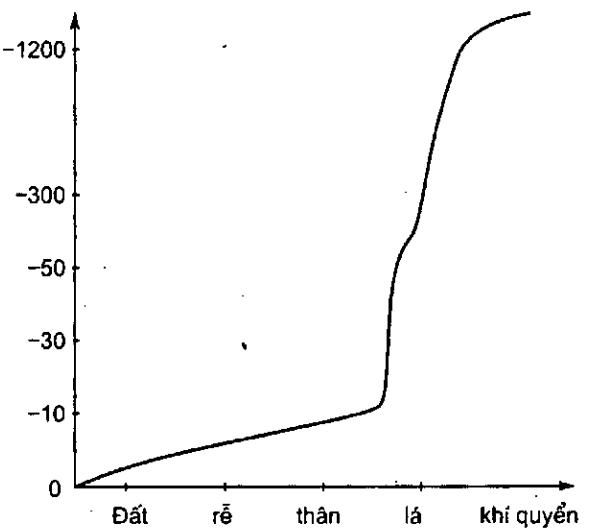
Ở những cây họ Lúa vận tốc vận chuyển nước là 2,7 – 3,3m/h. Ở cây gỗ : 0,02 – 0,15m/h. Có những cây vận tốc vận chuyển nước rất lớn tới 45m/h.

Đã có những thí nghiệm cho thấy : Dưới áp lực 1 atm vận tốc vận chuyển nước qua chất nguyên sinh rất thấp : 10cm/h, trong khi qua thành tế bào lên tới 45m/h.

c) Động lực của quá trình vận chuyển nước : Quá trình vận chuyển nước từ đất vào rễ rồi thoát ra ngoài khí quyển (theo hệ liên tục đất – cây – không khí : SPAC) diễn ra theo gradien thế năng nước. Người ta đã xác nhận rằng có sự giảm thế năng nước từ đất tới không khí và nước sẽ tự vận chuyển vào cây theo gradien thế năng nước.



Hình 29 – Thí nghiệm cắt phần vỏ và phần gỗ để chứng minh sự vận chuyển của nước và chất hữu cơ trong cây
a) Cắt mạch rây (phloem) giữ nguyên mạch gỗ (xylem)
b) Cắt mạch gỗ giữ nguyên mạch rây → cây bị héo



Hình 30 – Sự giảm thế năng nước và sự liên tục SPAC

Như ở trên đã nêu (phần IV.1.b), đất cũng có thế năng nước. Thế năng nước của đất dao động trong khoảng từ –0,3 đến –15 ba, còn đất được tưới nước tốt có thế năng bằng 0. Vùng rễ gắn chặt với đất có thế năng nước không quá –5 ba. Khi đất bị khô và thế năng nước tiến tới điểm héo là –15 ba thì thế năng nước của rễ cũng sẽ giảm xuống.

Hình 30 cho thấy có sự giảm thế năng nước theo hệ liên tục đất – cây – không khí. Ở đây thế năng nước của đất có giá trị bằng 0.

Sự giảm thế năng nước lớn nhất xảy ra ở pha chuyển của dòng liên tục SPAC từ trạng thái lỏng của nước ở mô lá sang trạng thái lỏng của nước ở khí quyển. Trong không khí khô sự giảm đó có thể lên tới 1000 ba.

Có sự giảm thế năng của nước từ rễ lên tới lá chủ yếu là do sự tích luỹ chất tan trong lá nhưng có lẽ cũng do cả sự giảm của thế năng áp suất. Scholander (1965) đã cho thấy có mối quan hệ giữa chiều cao cây và thế năng nước : thế năng nước giảm theo chiều cao của cây.

Về động lực vận chuyển nước trong cây người ta cho rằng có thể do các lực sau :

– Sức đẩy của rễ : tức do áp suất rễ.

– Sức kéo của lá : thông qua quá trình thoát hơi nước.

– Các sức đẩy trung gian trên con đường vận chuyển nước từ rễ lên lá. Lực trung gian này gồm có :

+ Lực nội tụ (sức bám) là sự hút bám lẫn nhau giữa các phân tử nước (có khi tới 300 hay 350 atm) có tính chất quyết định đến tính liên tục của cột nước.

+ Lực dính bám của phân tử nước với thành tế bào của mạch gỗ.

Tuy nhiên các nghiên cứu với những cây gỗ cắt gốc (cây sồi cắt rễ) đã chứng minh rằng áp suất rễ không phải là động cơ chính cho sự vận chuyển nước trong mạch gỗ (nhưng điều đó cũng không có nghĩa là ở những cây bụi cũng như một số cây cao rễ không gây ra sự vận chuyển nước nào).

Điều quan trọng hơn cả là nước vận chuyển lên gây ra bởi quá trình thoát hơi nước ở lá. Đây là động lực cơ bản cho sự vận chuyển nước trong mạch gỗ. Nếu lá vừa bị chết và sự thoát hơi nước ngừng thì dòng vận chuyển nước cũng sẽ bị ngừng ngay tức khắc.

Người ta đã tính ra rằng lực 1 ba là đủ để nâng cột nước lên 10m và 10 ba là đủ để nâng cột nước lên đỉnh các cây cao. Như vậy có nghĩa là có gradien áp lực là 0,1 ba cho 1m.

Người ta cũng đã tính rằng dòng nước qua ống mao dẫn với đường kính 1mm với vận tốc 4,5 m/h để lên một cây cao 30m cần gradien áp lực là 0,1 ba/m ; với đường kính 0,5mm cần gradien áp lực 0,5 ba/m ; với đường kính 0,1mm (kích thước gần với kích thước của mạch gỗ) thì cần gradien áp lực là 1 ba/m.

3. Quá trình thoát hơi nước ở lá

a) Khái niệm chung và ý nghĩa của quá trình thoát hơi nước. Thoát hơi nước là sự mất nước từ bề mặt lá qua hệ thống khí khổng là chủ yếu và một phần từ thân cành. Khi

khí khổng mở, CO_2 sẽ vào lá để cây tiến hành quang hợp, đồng thời mất một lượng nước lớn, lớn gấp 1000 lần so với lượng CO_2 được hút vào. Như trên đã nói, 99% lượng nước hút vào bị thoát ra ngoài thông qua quá trình thoát hơi nước trong suốt mùa sinh trưởng của cây. Chẳng hạn trong suốt thời kì sinh trưởng của cây ngô, trên 1 hecta đất gieo trồng, bay hơi tới 8000 tấn nước tức gần $1m^3$ nước/$1m^2$ đất trồng. Tuy mất lượng nước khá lớn nhưng cây vẫn không thể ngừng thoát hơi nước, vẫn phải mở khí khổng để lấy đủ lượng CO_2 cung cấp cho quá trình quang hợp (sự trao đổi khí xảy ra đồng thời với quá trình thoát hơi nước). Nếu lá bị mất quá nhiều nước thì khí khổng đóng lại để giảm mất nước nhưng khi đó sự hấp thụ CO_2 và cả quá trình quang hợp sẽ giảm. Do tính chất đối lập của quá trình thoát hơi nước (vai trò của nó) và ảnh hưởng của cơ chế điều hoà khí khổng (cho quá trình thoát hơi nước) lên quá trình quang hợp mà các nhà sinh lí đã gọi quá trình thoát hơi nước là "thảm hoạ cần thiết". Quá trình thoát hơi nước có ý nghĩa lớn đối với thực vật :

– Trước hết, thoát hơi nước là động lực trên và là động lực chủ yếu của quá trình hút và vận chuyển nước, tạo dòng nước liên tục từ rễ lên lá. Đồng thời với dòng nước, dòng các chất khoáng cần thiết và các chất khác do rễ tạo ra cũng được vận chuyển lên cây theo dòng nước. Tuy nhiên phần lớn các chất khoáng vận chuyển không phụ thuộc vào thoát hơi nước. Ở các cây gỗ cao, lực hút do quá trình thoát hơi nước tạo ra có thể đạt tới 100 atm.

– Quá trình thoát hơi nước là một phương thức quan trọng nhất để bảo vệ lá cây tránh sự đốt nóng của ánh sáng mặt trời. Sự bay hơi nước từ bề mặt lá làm mất một lượng nhiệt lớn. Người ta đã xác định được rằng 1 gam nước thoát ra làm mất một lượng nhiệt là 2,3kJ, vì vậy trong điều kiện thoát hơi nước liên tục, nhiệt độ của lá được giữ ở mức chỉ cao hơn nhiệt độ của không khí xung quanh một ít. Ngay ở sa mạc nhiệt độ của lá nơi nắng chói chỉ cao hơn trong bóng râm 6 – 7°C.

– Ngoài những ý nghĩa trên một số tác giả còn cho rằng thoát hơi nước còn tạo ra một độ thiếu bão hoà nước nhất định, tạo điều kiện cho các quá trình trao đổi chất diễn ra mạnh mẽ, thúc đẩy sự sinh trưởng và phát triển của cây.

b) Con đường thoát hơi nước. Ở những cây gỗ một phần nước có thể thoát qua các vết sần (bì khổng) trên cành và thân. Tuy nhiên do diện tích các bì khổng không lớn và cường độ thoát hơi nước ở thân và cành thấp hơn ở lá hàng chục lần nên con đường thoát hơi nước này ít có ý nghĩa.

Ở thực vật có hai con đường thoát hơi nước chính là con đường qua khí khổng và con đường qua bề mặt lớp cutin phủ biểu bì lá. Tỉ lệ của hai hình thức thoát hơi nước này phụ thuộc vào loài cây, tuổi cây, đặc điểm giải phẫu và hình thái của bộ lá, các nhóm sinh thái khác nhau của cây :

– Ở những cây còn non, cây trong bóng râm hoặc nơi không khí ẩm, lớp cutin của phiến lá mỏng nên cường độ thoát hơi nước qua cutin gần tương đương với cường độ thoát hơi nước qua khí khổng.

– Ở những cây trưởng thành có khí khổng phát triển thì quá trình thoát hơi nước qua lớp cutin rất yếu, yếu hơn con đường qua khí khổng 10 – 20 lần. Nhìn chung ở nhiều loại cây trung sinh, lượng nước thoát ra qua cutin chiếm 30%, ngược lại ở các cây hạn sinh thuộc vùng sa mạc hầu như nước không thoát ra qua bề mặt biểu bì.

Như vậy thoát hơi nước qua khí khổng là hình thức chủ yếu ở những cây trưởng thành, chiếm tới 90% tổng số nước thoát ra, còn 10% là lượng nước thoát ra qua lớp cutin và các bì khổng (các lỗ nhỏ) nằm trên thân và cành, nhưng lượng nước thoát qua bì khổng rất ít (sự thoát hơi nước.ngoài khí khổng).

Sự thoát hơi nước qua khí khổng diễn ra qua 3 giai đoạn :

+ Giai đoạn 1 : nước bốc hơi từ bề mặt tế bào nhu mô lá vào gian bào.

+ Giai đoạn 2 : hơi nước khuếch tán qua khe khí khổng.

+ Giai đoạn 3 : hơi nước khuếch từ bề mặt lá ra không khí xung quanh.

Giai đoạn 1 và 3 là quá trình có tính chất vật lí rõ rệt, đó là quá trình bay hơi nước.

Giai đoạn 2 là quá trình có tính chất sinh lí phụ thuộc vào số lượng và sự đóng mở khí khổng, có ý nghĩa lớn đối với quá trình thoát hơi nước.

Dưới đây là số lượng khí khổng/cm^2 biểu bì lá ở cây ngô :

Mặt dưới : 7,684

Mặt trên : 9,300

Tổng số : 16,984

Tổng số diện tích lá trung bình / cây : 6100cm^2

Tổng số trung bình khí khổng / cây : 104057830

Kích thước trung bình 1 khí khổng : 25,6 × 3,3μm

Tỉ lệ % diện tích lá do khí khổng chiếm : 0,76%

c) Cơ sở vật lí của quá trình thoát hơi nước. Thoát hơi nước là một quá trình sinh lí nhưng về cơ bản có phần giống như quá trình bốc hơi nước từ bề mặt thoáng diễn ra rất phổ biến trong điều kiện tự nhiên. Giống như các phân tử chất lỏng khác, phân tử nước cũng có động năng nhất định (như ở phần đầu chương đã trình bày) và luôn ở trong trạng thái chuyển động. Một số phân tử nước ở trên bề mặt có năng lượng cao thắng được các lực liên kết nội tại giữa các phân tử và tách được ra khỏi bề mặt chất lỏng và chuyển vào khí quyển dưới dạng hơi.

Quá trình bốc hơi nước diễn ra theo quy luật Dalton :

$$V = K(F - f)\frac{760}{P}S$$

V : Lượng nước bốc hơi từ một đơn vị bề mặt

K : Hệ số khuếch tán (thường là hằng số tìm ra trên cơ sở thực nghiệm)

F : Áp suất hơi nước bão hoà ở nhiệt độ của bề mặt bốc hơi

f : Áp suất hơi nước trong không khí xung quanh lúc thí nghiệm

P : Áp suất khí quyển (mmHg)

S : Diện tích bề mặt bốc hơi

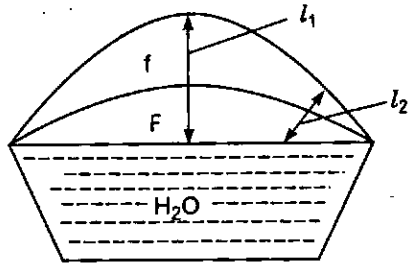
Theo công thức trên thì độ thiếu bão hoà hơi nước của không khí (F – f) (còn gọi là sức hút của không khí) là giá trị chủ yếu quyết định tốc độ bốc hơi nước. Công thức Dalton biểu thị một cách gần đúng sự bốc hơi nước từ mặt nước tự do trong không khí hoàn toàn yên tĩnh. Còn quá trình thoát hơi nước ở cây (một quá trình sinh lí phức tạp) do cây điều tiết và được thực hiện không phải đồng đều qua bề mặt lá mà chủ yếu qua những khí khổng nhỏ bé, lại càng phức tạp hơn nhiều và không tuân theo công thức Dalton một cách chặt chẽ.

Trong trường hợp bốc hơi nước theo công thức Dalton thì tốc độ bốc hơi phụ thuộc vào diện tích bề mặt bốc hơi nhưng ở quá trình thoát hơi nước trong lá không có mối tương quan thuận đó. Chẳng hạn khi tăng bề mặt lá khoai tây lên 10 lần thì tốc độ thoát hơi nước chỉ tăng 2,4 lần.

Sau này Stefen đã đưa ra một công thức khác để giải thích cơ chế quá trình thoát hơi nước ở thực vật. Ông đã chứng minh bằng thực nghiệm rằng : sự bốc hơi nước từ các bề mặt nhỏ bé không tỉ lệ thuận với diện tích bốc hơi mà tỉ lệ thuận với bán kính của bề mặt bốc hơi. Ông cho rằng sự khuếch tán của các phân tử nước từ phần vòng ngoài của các lỗ bé nhanh hơn phần ở giữa rất nhiều (gọi là hiệu quả mép) vì ở đây các phân tử nước khuếch tán tự do hơn, ít va chạm với nhau hơn trên đường đi của chúng. Có thể chứng minh điều này qua sơ đồ sau : Giả sử có một chậu nước, F là áp suất hơi nước trên mặt chậu nước, khi hơi nước vận chuyển được một khoảng cách là l_1 thì áp suất hơi ở đây là f, l_2 là khoảng cách hơi nước vận chuyển ở hai bên mép (hình 31).

Khi đó l_2 sẽ nhỏ hơn l_1 nhiều và độ chênh lệch áp suất ở l_1 sẽ là F – f. Từ thực nghiệm Stefen đã đưa ra công thức sau :

$$V = A\frac{(F - f)}{l}$$



Hình 31 – Sơ đồ miêu tả hiệu ứng của mép (chu vi)

V : Lượng nước bốc hơi

A : Hằng số thực nghiệm

$\frac{F - f}{l}$: Gradien độ thiếu bão hoà nước.

Từ đó ta có :

$$V_1 = A\frac{F - f}{l_1} \text{ và } V_2 = A\frac{F - f}{l_2}$$

mà $l_1 > l_2$ nên $V_2 > V_1$.

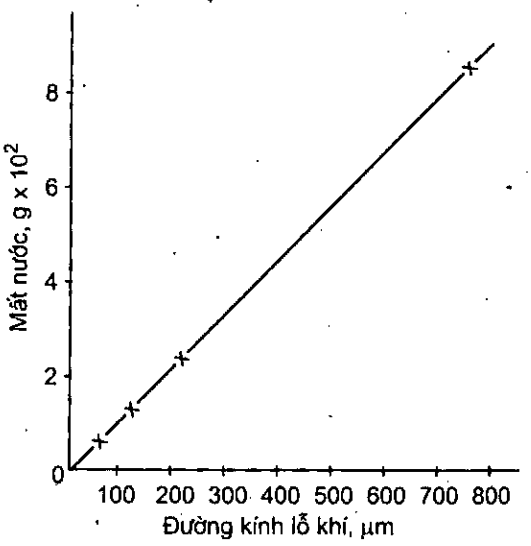
Theo Stefen, bán kính các lỗ khí khổng càng bé thì tổng chu vi các miệng lỗ khí khổng trên bề mặt lá càng lớn và sự khuếch tán của các phân tử nước quanh chu vi ấy càng mạnh. Ông đã đưa ra công thức biểu thị tốc độ thoát hơi nước ở lá như sau :

$$V = 4rK\frac{F - f}{P}$$

(r : bán kính của bề mặt bốc hơi)

Như vậy công thức của Stefen phù hợp với quá trình thoát hơi nước qua những lỗ nhỏ hơn là công thức của Dalton (phù hợp với sự bốc hơi từ bề mặt thoáng lớn). Từ đó có thể hiểu vì sao diện tích của các khí khổng chỉ chiếm một phần rất nhỏ của bề mặt lá (1%) mà sự khuếch tán của nước qua các lỗ khí khổng xảy ra mạnh mẽ và độ thoát hơi nước tương đối của một số cây đạt tới 0,8 – 0,9.

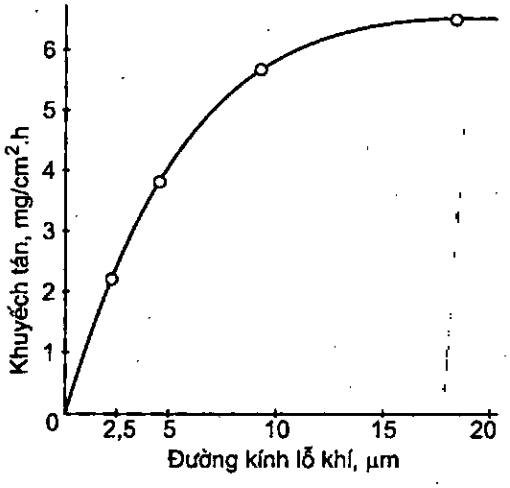
Brown và Esconbe cũng đưa ra định luật gọi là định luật đường kính để giải thích sự bốc hơi nước qua những lỗ nhỏ. Các ông cũng đã đưa ra biểu thức tổng quát về sự khuếch tán qua các lỗ nhỏ. Theo định luật đường kính này sự khuếch tán của hơi nước qua một lỗ nhỏ tỉ lệ tuyến tính với đường kính của lỗ (hình 32).



Hình 32 – Mối liên quan tuyến tính giữa sự khuếch tán của hơi nước qua 1 lỗ nhỏ với đường kính lỗ

Trong trường hợp khuếch tán hơi nước qua nhiều lỗ như biểu bì lá thì đồ thị khuếch tán không phải là đường thẳng mà là đường cong hypepol. Đường cong này phù hợp với những lỗ có đường kính từ 2,5 – 20 µm và với mật độ 2500 lỗ/cm^2. Khi độ mở của lỗ còn nhỏ, khoảng từ 2,5 – 5µm, thì các lỗ cách xa nhau. Chúng sẽ hoạt động gần như độc lập và sự khuếch tán gần như tỉ lệ thuận với đường kính của lỗ. Mối tương quan giữa sự khuếch tán của hơi nước với đường kính lỗ tương tự như trường hợp khuếch tán qua một lỗ.

Khi các lỗ ở gần nhau chúng cản trở nhau và sự khuếch tán cuối cùng trên mỗi lỗ giảm đi. Đến khi đạt độ mở cực đại thì sự khuếch tán đạt giá trị không đổi hoặc một giá trị cực đại. Sở dĩ như vậy là vì các tầng khuếch tán từ các lỗ đã xen kẽ, liên kết với nhau và bề mặt nhiều lỗ hoạt động như một đơn vị bề mặt tự do (hình 33).



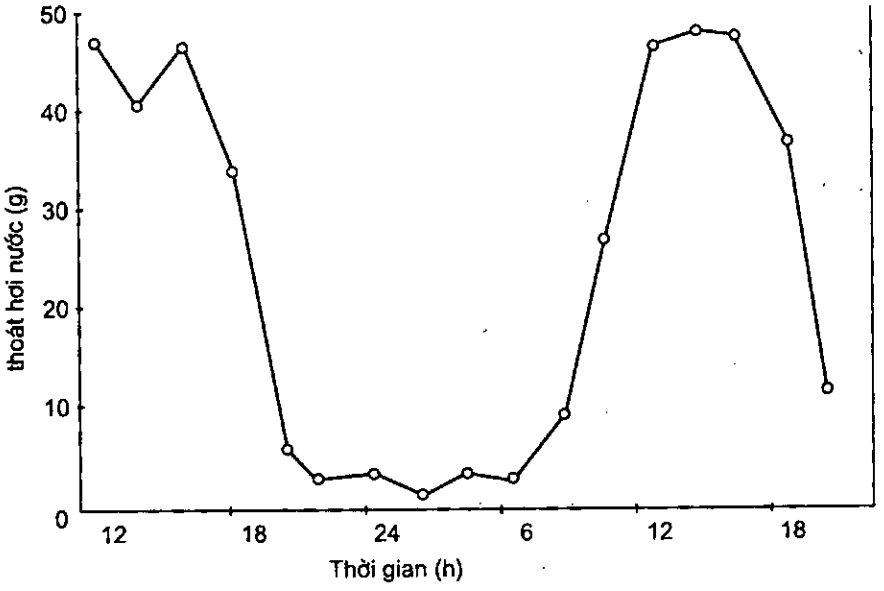
Hình 33 – Sự khuếch tán của hơi nước qua một mô hình bề mặt nhiều lỗ tương tự như lá

d) Các chỉ tiêu của quá trình thoát hơi nước

– *Cường độ thoát hơi nước :* là lượng nước mất đi trong một đơn vị thời gian trên một đơn vị diện tích lá và thường được tính bằng đơn vị g nước/dm^2 lá.h.

Cường độ thoát hơi nước ban ngày dao động trong khoảng 0,1 – 2,5 g/dm^2 lá.h, ban đêm nhỏ hơn 0,1 g/dm^2 lá.h. Đây là lượng nước thoát ra qua khí khổng. Còn lượng nước thoát ra qua cutin rất nhỏ, chỉ đạt giá trị 0,001 – 0,25 g/dm^2 lá.h. Cường độ thoát hơi nước thay đổi theo loài cây, tuổi cây, tầng lá và điều kiện ngoại cảnh.

Cường độ thoát hơi nước mạnh vào gần trưa sang chiều, sau giảm dần, ban đêm thoát hơi nước giảm mạnh vì khí khổng đóng (hình 34).



Hình 34 – Nhịp điệu ngày của quá trình thoát hơi nước ở nước của cây hoa hướng dương

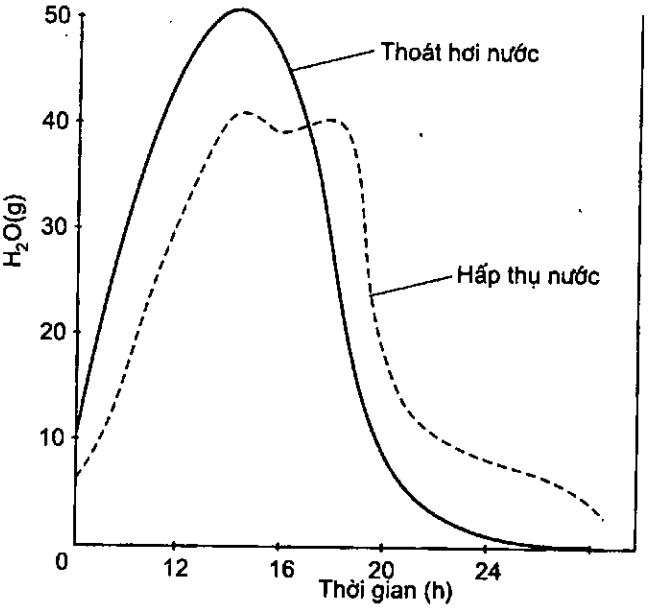
– *Chỉ số thoát hơi nước tương đối :* là tỉ số giữa cường độ thoát hơi nước và cường độ bốc hơi nước từ bề mặt nước tự do có cùng diện tích với bề mặt thoát hơi nước.

– *Hệ số thoát hơi nước :* là lượng nước tính theo gam mà cây đã mất để tích luỹ được một gam chất khô (gam nước/1g chất khô). Chỉ số này không ổn định ngay cả trong cùng một cây.

– *Hiệu suất thoát hơi nước :* chỉ số này ngược với hệ số thoát hơi nước, biểu thị bằng lượng chất khô (gam) được tạo thành khi thoát ra một kilogam nước (gam chất khô/1 kg nước).

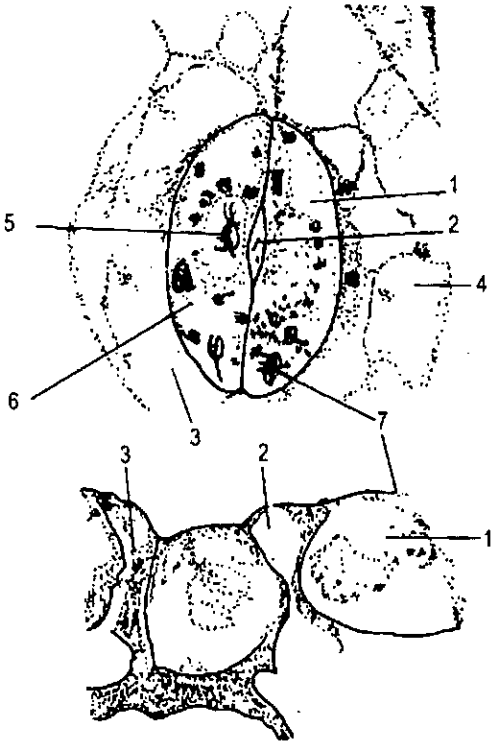
– *Cường độ tiêu thụ nước :* là lượng nước mất đi trong một đơn vị thời gian tính theo phần trăm tổng lượng nước dự trữ trong cây. Ở các lá mỏng trong bóng râm một giờ mất lượng nước bằng 39 – 119 % tổng lượng nước trong lá, còn ở lá dày : 8 – 20 %.

Ở những cây thoát hơi nước mạnh, vào ban ngày sự mất nước thường vượt quá sự hấp thụ nước. Nếu nước bị mất quá nhiều thường xảy ra sự héo tạm thời trong ngày. Còn hiện tượng héo lâu dài sẽ xảy ra khi đất bị khô cạn kiệt. Hình 35 cho thấy sự thoát hơi nước và hấp thu nước ở cây hoa hướng dương : buổi sáng và giữa trưa thoát hơi nước nhiều hơn hấp thụ nước nhưng sang buổi chiều và đến đêm thì sự hấp thu nước lại nhanh hơn sự thoát hơi nước.

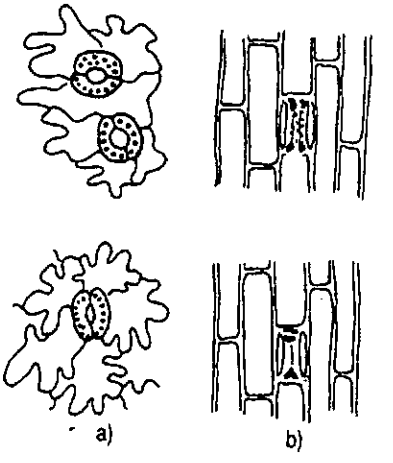


Hình 35 – Nhịp điệu ngày của quá trình hút nước và thoát hơi nước ở cây hoa hướng dương

e) Sự điều hoà quá trình thoát hơi nước



Hình 36 – Ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử bộ máy khí khổng của cây hai lá mầm
1. Tế bào đóng ; 2. Lỗ khí ; 3. Tế bào phụ ; 4. Tế bào biểu bì ; 5. Nhân ; 6. Không bào ; 7. Lạp thể.



Hình 37 – Khí khổng ở trạng thái mở (hình phía trên) và đóng (hình phía dưới)
a) Khí khổng của cây hai lá mầm
b) Khí khổng của cây một lá mầm

Quá trình thoát hơi nước được điều tiết thông qua hệ thống khí khổng và bằng cả phương thức không qua khí khổng (phương thức ngoài khí khổng).

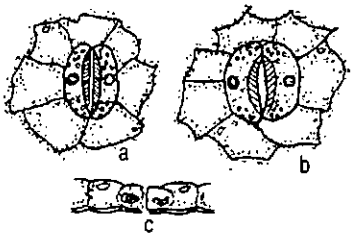
Sự điều hoà thoát hơi nước qua khí khổng, cơ chế đóng mở khí khổng.

Trước khi xét cơ chế đóng mở khí khổng ta hãy xét cấu tạo của khí khổng. Bộ máy khí khổng gồm hai tế bào đóng (còn gọi là tế bào kèm). Hai tế bào này nằm kề với nhau tạo thành lỗ khí. Nằm sát với các tế bào đóng là hai hay nhiều tế bào phụ, tiếp đó là các tế bào biểu bì (hình 36).

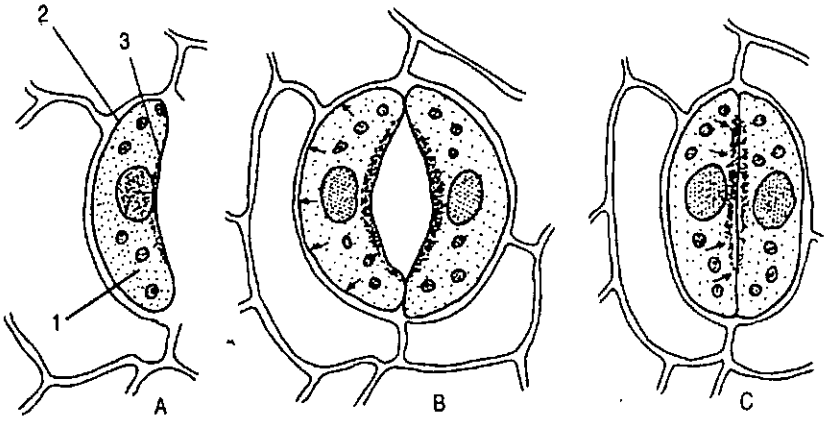
Ở các cây hai lá mầm tế bào đóng có dạng hình hạt đậu còn ở các cây một lá mầm chúng có dạng duỗi thẳng và giống hình quả tạ (hình 37).

Khác với các tế bào biểu bì khác, các tế bào đóng có chứa các hạt lục lạp nhỏ, có nhân, ti thể và các thành phần khác như tế bào thường. Các tế bào phụ không chứa lục lạp và có thành tế bào mỏng, cũng tham gia vào quá trình mở lỗ khí.

Tuy đã hơn một thế kỉ nghiên cứu khí khổng nhưng người ta vẫn chưa biết được một cách chính xác khí khổng đóng mở ra sao. Tuy nhiên có một điều rõ ràng là sự mở khí khổng là một phản ứng đối với sự tăng độ trương nước trong các tế bào đóng so với những tế bào biểu bì lân cận. Ngược lại sự đóng khí khổng lại liên quan với sự giảm độ trương nước ở các tế bào đó. Cùng với độ trương nước, cấu tạo đặc biệt của các tế bào đóng cũng có vai trò điều chỉnh sự đóng mở khí khổng. Điểm đặc biệt của tế bào đóng là độ dày của thành tế bào không đồng đều : thành trong sát lỗ khí dày hơn thành ngoài ; vì vậy khi tế bào đóng trương nước, thành ngoài dãn nhiều hơn thành trong làm tăng độ cong của các tế bào đóng và khi đó khí khổng mở ra. Ngược lại khi tế bào đóng mất nước, thể tích tế bào giảm, thành trong của tế bào đóng duỗi thẳng và khí khổng đóng lại (hình 38 a, b).



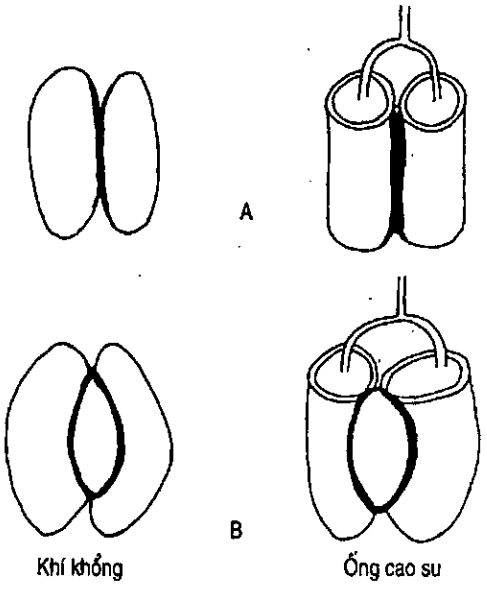
Hình 38a – (a) Khí khổng đóng khi tế bào đóng mất nước
(b) Mở khi tế bào đóng trương nước.
(c) Lát cắt ngang bộ máy khí khổng.



Hình 38b – A : Cấu tạo khí khổng ; B : Khí khổng mở ; C : Khí khổng đóng
1. Tế bào đóng
2. Thành ngoài mỏng
3. Thành trong dày

Ta có thể hình dung cơ chế này qua mô hình làm bằng hai ống cao su có thành trong dày hơn thành ngoài. Nếu nén một chất lỏng vào các ống trên, chúng sẽ tách xa nhau ra do thành ngoài mỏng và ống cong lại (hình 39a).

Như vậy sự thay đổi độ trương nước trong tế bào đóng là nguyên nhân cơ bản gây nên sự mở của khí khổng. Nhưng vấn đề đặt ra là nhân tố nào làm thay đổi độ trương nước ? Người ta cho rằng độ trương nước của tế bào đóng tăng là do thế năng nước giảm, mà sự giảm thế năng nước lại do sự giảm thế năng thẩm thấu ở chính bên trong tế bào đóng gây ra. Mặt khác, thế năng thẩm thấu giảm là do sự tích luỹ các chất hoà tan có hoạt tính thẩm thấu, hoặc bởi sự tổng hợp chúng ở trong các tế bào đóng, hoặc bởi sự vận chuyển chúng từ các tế bào lân cận vào. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy sự biến đổi thuận nghịch tinh bột thành đường trong các tế bào đóng cũng gây nên sự đóng mở khí khổng. Sự biến đổi tinh bột thành đường (là chất có hoạt tính thẩm thấu) làm tăng áp suất thẩm thấu trong tế bào đóng (đang giữ khí khổng ở trạng thái đóng) do đó làm tăng khả năng hút nước của chúng và làm cho khí khổng mở ra. Còn sự tổng hợp đường thành tinh bột sẽ làm giảm khả năng hút nước của các tế bào đóng và do đó làm cho khí khổng đóng lại.



Hình 39a – Sơ đồ cơ chế đóng mở (đóng : A ; mở : B) của khí khổng và ống cao su, khi trương nước (khí khổng) và khi bơm chất lỏng (ống cao su)

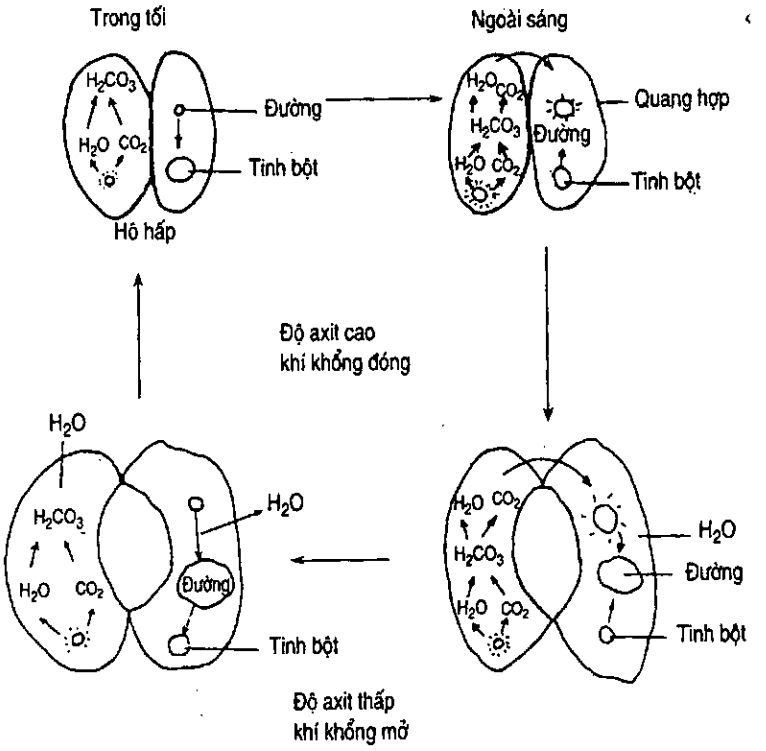
Theo ý kiến của nhiều tác giả, ánh sáng là nguyên nhân gây nên sự biến đổi đó. Ở ngoài sáng quá trình phân giải tinh bột được kích thích, còn trong tối sự tổng hợp tinh bột được tiến hành :

$$\text{Tinh bột} \underset{\text{tối}}{\overset{\text{sáng}}{\rightleftharpoons}} \text{Đường}$$

Ở ngoài sáng, CO_2 được sử dụng cho quá trình quang hợp. Sự giảm hàm lượng CO_2 dẫn đến sự tăng độ pH trong tế bào đóng mà người ta đã công nhận rằng độ pH gần giá trị trung hoà sẽ xúc tác hoạt động của enzim photphorylaza trong phản ứng phân giải tinh bột thành đường. Còn khi pH có giá trị axit ($pH \leq 5$) thì enzim này xúc tác cho phản ứng ngược lại.

Như vậy có nghĩa là giảm độ axit của tế bào đóng sẽ xúc tác cho quá trình phân giải tinh bột thành đường làm giảm thế năng thẩm thấu, tăng sự hút nước vào tế bào và làm

cho khí khổng mở ra. Còn khi tăng độ axit sẽ xúc tác cho phản ứng tổng hợp đường thành tinh bột và do đó gây ra sự đóng của khí khổng (hình 39b).



Hình 39b – Sơ đồ minh hoạ cơ chế đóng mở khí khổng

Tuy nhiên giả thuyết nêu trên cũng chưa thoả đáng ở mấy điểm sau đây :

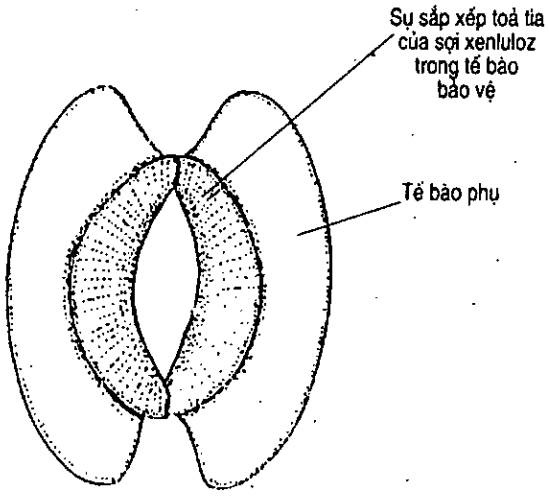
Thứ nhất, sự giảm CO_2 ít không đủ làm thay đổi độ pH một cách đáng kể. Thứ hai, trong các tế bào đóng không có tinh bột và có lẽ không có cả photphorylaza.

Mặc dù cơ chế đóng mở khí khổng chưa được biết một cách chính xác nhưng có điều người ta thấy rõ ràng là hầu hết các khí khổng của cây xanh mở ở ngoài sáng và khi thiếu CO_2, sự tăng độ trương nước của các tế bào đóng so với các tế bào lân cận là cơ chế vật lí cho sự mở khí khổng. Người ta còn nêu lên vai trò của axit abxixic trong phản ứng đóng mở khí khổng. Khi lá thiếu nước, axit abxixic sẽ được tích luỹ trong các tế bào đóng. Axit này ức chế sự tổng hợp enzim amilaza, từ đó làm ngừng sự thuỷ phân tinh bột và do đó làm giảm hàm lượng các chất có hoạt tính thẩm thấu và làm khí khổng đóng lại.

Người ta cũng còn thấy rằng khi giảm lượng nước trong lá và trong điều kiện chiếu sáng làm giảm tương ứng hàm lượng kali trong các tế bào đóng sẽ làm cho khí khổng đóng lại. Khi cung cấp kali cho tế bào, khí khổng lại có thể mở ra.

Gần đây việc giải thích cơ chế đóng khí khổng là dựa vào tính chất biến đổi độ trương và nét đặc trưng về cấu tạo của tế bào bảo vệ.

Tế bào bảo vệ có dạng elip điển hình được minh hoạ trong hình 40, thể hiện cách sắp xếp đặc trưng của sợi xenluloz không đàn hồi toả ra từ vách bụng phía trong dày lên ngay cạnh khí khổng đến vách lưng mỏng sát với tế bào phụ. Tế bào bảo vệ kéo dài lớn nhất (khi trương) xảy ra song song với chiều dài và bị giới hạn suốt theo chiều rộng. Khi độ trương tăng lên, vách lưng mỏng sẽ phồng lên, đẩy vách bụng vào vị trí lõm. Do đó, chính sự gia tăng độ trương của tế bào bảo vệ làm vách bụng khom xuống và khí khổng mở ra (mở khe khí khổng). Điều đó giải thích tại sao khi mở, chiều rộng của khí khổng thay đổi nhưng chiều dài vẫn giữ nguyên không thay đổi.



Hình 40 – Sơ đồ chứng minh cách sắp xếp theo tia của các sợi xenluloz trong tế bào bảo vệ

Vấn đề còn lại là nhân tố nào gây nên biến đổi độ trương tế bào bảo vệ để giải thích cho hiện tượng mở khí khổng ?

Sự tăng độ trương của tế bào bảo vệ là do thế nước bị giảm sút.

Thế thẩm thấu giảm là do quá trình tích luỹ các chất tan có hoạt động thẩm thấu (sự tích luỹ chất tan trong tế bào thực vật là ngược gradien nồng độ, do đó cần năng lượng. Thực chất tích luỹ đồng nghĩa với hấp thụ chủ động).

Tế bào bảo vệ có lục lạp và nhờ đó tổng hợp các chất tan hữu cơ hoặc sự dẫn truyền chất tan từ tế bào lân cận vào tế bào bảo vệ cũng là nhân tố làm giảm thế thẩm thấu.

Dẫn truyền chủ động nước vào tế bào bảo vệ cũng là nhân tố khác làm tăng độ trương.

Quan niệm chung cho rằng quá trình tích luỹ chất tan bên trong tế bào bảo vệ là cơ chế làm tăng độ trương. Sau đây sẽ trình bày các bằng chứng làm cơ sở cho giả thuyết này.

g) Các nhân tố vật lí ảnh hưởng lên sự đóng mở khí khổng

Như đã trình bày trong phần trước, các nhân tố môi trường như ánh sáng, CO_2, ẩm độ và nhiệt độ có ảnh hưởng lên quá trình mở khí khổng.

Khí khổng mở ngoài sáng và đóng trong tối.

Áp suất riêng phần CO_2 thấp, khí khổng mở (ở hoặc gần điểm bù CO_2).

Ẩm độ giảm, khí khổng đóng, do tế bào bảo vệ mất nước làm giảm độ trương.

Nhiệt độ cao làm mất nước hoặc điều chỉnh các phản ứng sinh hoá đặc hiệu trong tế bào bảo vệ làm chúng đóng lại.

h) Oxi và các chất ức chế hô hấp

Điều kiện kị khí sẽ ngăn cản sự mở khí khổng vì oxi là một thành phần cơ bản cho hô hấp oxi hoá.

Nhiều chất ức chế hô hấp ngăn cản sự mở khí khổng và làm khí khổng đóng lại thậm chí ở ngoài sáng. Zelitch (1961) các hợp chất phenol, azit arsenat ức chế mở khí khổng. Azit ngăn cản đóng khí khổng trong tối.

Các chất ức chế quang hợp cũng ức chế mở khí khổng. Do đó có lí để kết luận rằng cả photphoryl hoá, oxi hoá và quang hợp photphoryl hoá (tạo ATP) là cần cho mở khí khổng.

i) Độ axit

Từ lâu đã biết rằng xử lí mảnh biểu bì lá với dung dịch kiềm có khuynh hướng làm khí khổng mở ra.

pH của tế bào bảo vệ tăng lên khi khí khổng mở ra.

Ngoài ánh sáng pH tăng là do tế bào bảo vệ quang hợp dùng hết CO_2 hoặc do việc bài xuất proton làm mất proton (H^+), pH tăng, khí khổng mở ra.

k) Sự hấp thụ kali

Khí khổng mở có khuynh hướng tích luỹ kali từ tế bào biểu bì lân cận. Nếu cho kali vào mảnh biểu bì là khí khổng sẽ mở ra. Như vậy có mối liên quan xác định giữa mức độ tích luỹ kali và mức độ mở khí khổng. Các anion hữu cơ nội sinh như xitrat và malat có thể là ion ngược dấu làm cân bằng điện tích của kali.

l) Giả thuyết về cơ chế đóng mở khí khổng

Vào những năm 1930 Scarth và đồng sự nêu giả thuyết cổ điển về sự mở khí khổng có liên quan với sự tăng pH do nồng độ CO_2 trong tế bào bảo vệ giảm sút ; ánh sáng ảnh hưởng lên quang hợp làm giảm nồng độ CO_2 và sự giảm tinh bột trong tế bào bảo vệ làm tăng lượng chất tan trong quá trình mở khí khổng.

Giả thuyết cổ điển đều khẳng định rằng ánh sáng như là nguồn năng lượng cho quang hợp, làm giảm CO_2 trong tế bào chất của tế bào bảo vệ. CO_2 giảm, kéo theo sự tăng pH mà hoạt hoá enzim photphorylaza. Tinh bột hoạt động mạnh ở pH cao so với pH thấp. Nó xúc tác thuỷ phân tinh bột hoặc các polisaccarit khác thành glucoz-l-photphat, từ đó thuỷ phân tiếp tục thành glucoz và photphat vô cơ, làm giảm thế thẩm thấu (thế thẩm thấu âm hơn do tăng hàm lượng chất tan). Thế thẩm thấu giảm thì làm giảm thế nước tế bào bảo vệ, làm tế bào hấp thụ nước và làm tăng độ trương tế bào bảo vệ ra mở.

Có một số mâu thuẫn trong giả thuyết này. Nếu nồng độ CO_2 giảm đi ít không thể làm thay đổi đáng kể pH tế bào bảo vệ. Hơn nữa tế bào bảo vệ không có tinh bột và có lẽ cũng không chứa enzim photphorylaza.

Giả thuyết không đề cập ảnh hưởng của kali và cũng không giải thích hiện tượng mở khí khổng ban đêm trong cây mọng nước. Sự mở khí khổng ban đêm của cây mọng nước là phản ứng đối với nồng độ CO_2 giảm trong cố định CO_2.

Vấn đề lí giải là ảnh hưởng của kali trong quá trình cây mọng nước mở khí khổng ban đêm mà vẫn tích luỹ kali.

Mặc dù cơ chế chính xác việc mở khí khổng còn chưa sáng tỏ, nhưng đã nhận biết một số sự kiện : Phần lớn khí khổng của cây xanh mở ngoài sáng và khi thiếu CO_2. Độ trương của tế bào bảo vệ tăng lên so với tế bào biểu bì lân cận. Trương là một phản ứng với sự kiện tích luỹ chất tan mà làm giảm thế thẩm thấu. Chất tan gồm các loại đường, axit hữu cơ và kali. Tích luỹ kali là quá trình chủ động ATP do photphoryl hoá tạo ra. Sự tích luỹ chất tan phụ thuộc năng lượng xác lập gradien thế nước và nước thâm nhập bị động vào tế bào bảo vệ. Trạng thái nước của cây có ảnh hưởng lên mức độ mở khí khổng. Nếu cây bị héo, tế bào bảo vệ sẽ mất trương và khí khổng sẽ đóng lại.

Cũng có bằng chứng cho rằng axit abxixic - một hoocmon thực vật tăng lên trong cây khi cây rơi vào trạng thái bất lợi về nước (sự thiếu nước). Khi dùng cho lá, hoocmon này sẽ kích thích đóng khí khổng, đặc biệt ở cây sống trong điều kiện khô hạn. Như vậy vai trò của axit abxixic trong trường hợp này là điều tiết cơ chế đóng mở khí khổng.

Có hai giả thiết về vấn đề này :

– Khi thiếu nước, tế bào lá sản sinh axit abxixic và chất này kích thích bơm K^+, bơm chủ động K^+ ra khỏi tế bào bảo vệ làm giảm áp suất thẩm thấu, do đó nước ra khỏi tế bào bảo vệ làm tế bào mất trương, khí khổng đóng.

– Giả thuyết mới nhất (1985 – 1989) do Hedrichk, Zhang, Gollan, Schurr đề xuất cho rằng khi thiếu nước thì axit abxixic được tổng hợp trong rễ cây và hoạt động như cái cảm biến khô hạn (drought sensor). Sau khi dẫn truyền hướng lên trong dịch xylem, axit abxixic gây nên sự đóng khí khổng theo cơ chế của giả thuyết trên. Đây là bằng chứng về sự tồn tại dòng thông tin từ rễ đến chồi với sự tăng đột ngột hàm lượng (AAB) trong xylem khi đất bị khô.

Các phản ứng đóng mở khí khổng : Nhiều tác giả khi nghiên cứu sự đóng mở khí khổng đã đưa ra ba loại phản ứng :

– Phản ứng mở quang chủ động : Đó là hiện tượng mở khí khổng chủ động lúc sáng sớm sau khi Mặt Trời mọc hoặc khi chuyển cây từ tối ra sáng.

Phản ứng đóng thuỷ chủ động : Là hiện tượng đóng khí khổng chủ động vào những giờ trưa khi cường độ thoát hơi nước cao làm cho tế bào đóng bị mất nước mạnh (quá 15%), khí khổng đóng chủ động để giữ nước, cho nên dù cường độ chiếu sáng mạnh khí khổng vẫn đóng vào lúc trưa nắng.

– *Phản ứng đóng và mở thuỷ bị động :* Khi tế bào hoàn toàn bão hoà nước (ví dụ sau khi mưa) các tế bào biểu bì xung quanh khí khổng tăng thể tích, ép lên các tế bào đóng làm khe khí khổng khép lại một cách bị động. Đó là phản ứng đóng thuỷ bị động. Sau đó, khi tế bào biểu bì lân cận bị mất nước, thể tích các tế bào này giảm, không ép lên các tế bào đóng và khí khổng lại mở ra. Đó là phản ứng mở thuỷ bị động.

Tuy nhiên, khi chịu ảnh hưởng của điều kiện ngoại cảnh như khô hoặc cây bị héo lâu dài thì cơ chế đóng mở khí khổng không theo một quy luật cụ thể nào nữa.

Sự điều hoà thoát hơi nước theo cơ chế ngoài khí khổng

Như trên đã nêu, quá trình thoát hơi nước phụ thuộc vào sự đóng mở khí khổng. Tuy nhiên, cũng có những trường hợp không theo quy luật đó. Chẳng hạn ở cây hướng dương khí khổng mở suốt ngày và chỉ gần chiều tối mới đóng, còn ở cỏ mục túc thì khí khổng đóng ngay từ 11 giờ trưa, nhưng nhịp điệu thoát hơi nước hằng ngày của hai cây này gần như nhau.

Ở cây bông, trong những ngày nắng thường thấy cây ngừng thoát hơi nước trong khi khí khổng vẫn mở. Người ta gọi sự thoát hơi nước này là thoát hơi nước ngoài khí khổng. Đó là sự điều chỉnh quá trình bay hơi nước trong các gian bào của lá. Khi đó sự thiếu nước ở lá hoặc do thoát hơi nước mạnh làm cho các thành tế bào bị mất nước đã giữ phần nước còn lại với lực lớn, hoặc do sự cung cấp nước từ đất không đủ, sẽ là nguyên nhân làm giảm sự bay hơi của nước và sự thoát hơi nước, không phụ thuộc vào hoạt động của khí khổng. Người ta cũng cho rằng khi khí hậu khô nóng, có gió mạnh, thường xảy ra sự bốc hơi nước rất nhanh từ bề mặt các tế bào nhu mô lá bao quanh khoang thở dưới lỗ khí làm cho các tế bào nhu mô lá bị khô và sự bốc hơi nước từ bề mặt các tế bào nhu mô này bị ngừng.

Như vậy thực vật có thể tự điều chỉnh sự thoát hơi nước thông qua hoạt động của khí khổng hoặc theo cơ chế ngoài khí khổng. Tuy nhiên các tác động đó phụ thuộc vào đặc điểm các vùng sinh thái mà cây sống, chẳng hạn ở lúa mì sự điều tiết bằng khí khổng đóng vai trò chủ yếu, trong khi đó ở cây bông sự điều tiết ngoài khí khổng lại có vai trò quan trọng.

m) Ảnh hưởng của điều kiện ngoại cảnh lên quá trình thoát hơi nước

– *Ảnh hưởng của độ thiếu bão hoà hơi nước.* Quá trình thoát hơi nước về bản chất là một quá trình bốc hơi nước cho nên trước hết, theo công thức Dalton, nó phụ thuộc vào độ thiếu bão hoà hơi nước trong không khí (F – f), mà chỉ số này lại liên quan chặt chẽ với các yếu tố ngoại cảnh. Đây là yếu tố chủ yếu ảnh hưởng đến quá trình thoát hơi nước. Khi độ thiếu bão hòa hơi nước trong không khí càng lớn (tức f càng nhỏ) thì tốc độ thoát hơi nước càng lớn.

– *Ảnh hưởng của nhiệt độ.* Khi nhiệt độ tăng thì áp suất hơi nước bão hoà tăng, trong khi đó f ít thay đổi nên (F – f) tăng làm cho tốc độ thoát hơi nước tăng.

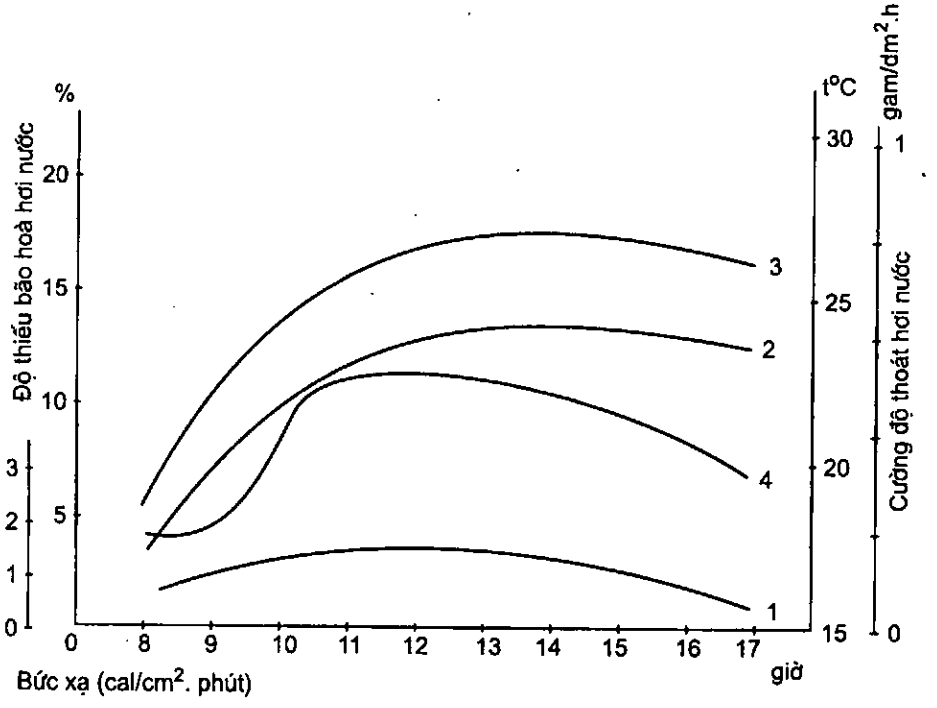
– *Ảnh hưởng của ánh sáng.* Ánh sáng trước hết làm tăng nhiệt độ của lá nên làm tăng (F – f), và vì vậy tăng tốc độ thoát hơi nước. Ngoài ra ánh sáng còn gây ra sự mở quang chủ động của khí khổng do đó làm tăng quá trình thoát hơi nước. Dưới ánh sáng tán xạ cường độ thoát hơi nước có thể tăng lên 30 – 40%, còn dưới ánh sáng trực xạ cường độ thoát hơi nước tăng lên đến vài lần.

– *Ảnh hưởng của gió.* Nhìn chung gió làm tăng quá trình thoát hơi nước vì làm tăng hiệu số (F–f), do gió mang đi từ bề mặt lá không khí ẩm và mang đến không khí khô hơn. Tuy nhiên, cũng có trường hợp gió làm giảm sự thoát hơi nước do làm giảm nhiệt độ lá và làm cho khí khổng đóng lại.

– *Ảnh hưởng của phân bón.* Khi mới bón phân sự thoát hơi nước giảm vì nồng độ các chất trong dung dịch đất tăng, rễ khó hút nước. Sau đó rễ hút các chất do phân bón cung cấp làm tăng áp suất thẩm thấu trong các tế bào rễ, làm tăng sức hút nước của rễ và đồng thời cũng làm tăng sự thoát hơi nước.

– *Ảnh hưởng của chế độ cung cấp nước.* Nếu cung cấp nước cho cây đều đặn đầy đủ thì sự thoát hơi nước diễn ra bình thường và phụ thuộc vào quy luật của các yếu tố khí tượng trong ngày.

Dưới đây là đồ thị biểu diễn sự biến đổi cường độ thoát hơi nước với các chỉ tiêu khí tượng trong ngày (hình 41).



Hình 41 – Sự biến đổi cường độ thoát hơi nước liên quan với các chỉ tiêu khí tượng trong ngày
1. Bức xạ ; 2. Độ thiếu bão hoà hơi nước ; 3. Nhiệt độ ; 4. Cường độ thoát hơi nước

4. Các nhân tố môi trường ảnh hưởng đến sự mở khí khổng

a) Ánh sánh

Như thường lệ, khí khổng mở ra ngoài sáng và đóng trong tối, miễn là cây ở trạng thái cân bằng nước tốt. Cần chú ý phân biệt giữa tốc độ mở khí khổng và độ mở cuối cùng ở trạng thái cân bằng nước.

Cả tốc độ và độ mở cuối cùng đều tăng lên với sự tăng cường độ ánh sáng.

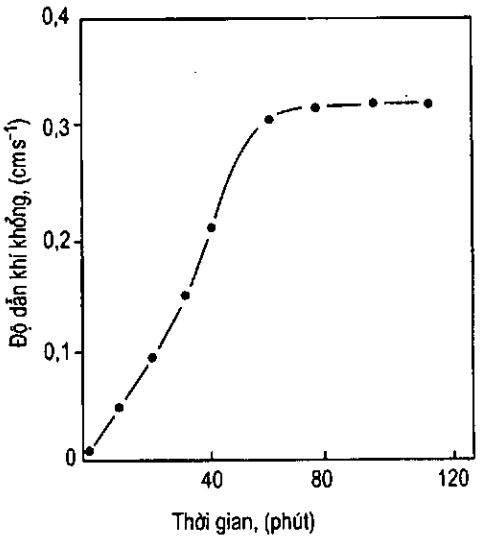
Tốc độ mở khí khổng rất nhanh với độ mở cực đại từ 15 – 60 phút sau khi chiếu sáng với các mức ánh sáng ở ngưỡng trong phạm vi từ 1 – 2 % ánh sánh mặt trời toàn phần.

Tốc độ mở khí khổng và độ mở cực đại phụ thuộc vào loài. Ví dụ một số cây có khí khổng chủ yếu cần mức ánh sáng cao, trong khi đó số cây khác thậm chí có thể mở trong tối.

Phổ hoạt động cho mở khí khổng có phản ứng cực đại với ánh sáng xanh tím và đỏ tương ứng với phổ trong quang hợp.

Phản ứng mở khí khổng với ánh sáng giống với phản ứng quang hợp. Tế bào bảo vệ có lục lạp và tiến hành một số phản ứng quang hợp. Vai trò của quang hợp có thể là tạo ra năng lượng (ATP) cần thiết cho hoạt động của việc bơm cation phụ thuộc năng lượng hoặc để tổng hợp chất tan hữu cơ và trong việc làm giảm áp suất riêng phần của CO_2, sự mở khí khổng kéo theo sự giảm mức CO_2 trong tế bào lá.

Phản ứng đóng mở khí khổng trong tối có thể nhanh hoặc chậm. Trong một số trường hợp, trong tối khí khổng đóng ngay lập tức thậm chí còn nhanh hơn phản ứng mở khí khổng. Nhưng trong trường hợp khác, sự đóng hoàn toàn khí khổng có thể chiếm đến hàng mấy giờ. Hình 42 biểu diễn đồ thị mở khí khổng buổi sáng sớm trên lá cây hạnh. Biểu diễn theo độ dẫn sự mở khí khổng đạt cực đại trong 60 phút sau khi ánh sáng mặt trời trực tiếp chiếu vào lá.



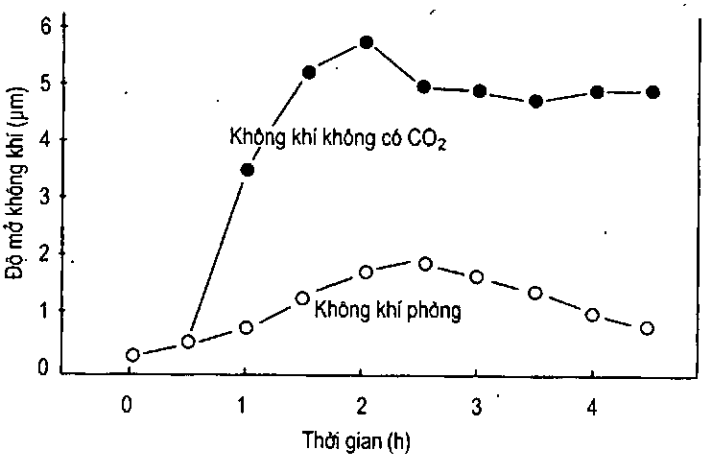
Hình 42 – Đường cong mở khí khổng đầu buổi sáng ở cây hạnh (cây gỗ) được biểu diễn theo độ dẫn của khí khổng (cm/s)

b) Nồng độ CO_2

Theo Linsbauer (1916) : Nồng độ CO_2 giảm xung quanh lá làm cho khí khổng mở, dù cho cây ở ngoài sáng hay trong tối. Đối với nhiều cây, độ mở cực đại đạt được khi áp suất CO_2 khoảng 0,1 mba hoặc gần 33% của môi trường. Nồng độ này là bằng với điểm bù CO_2 (một điểm mà ở đó sự hấp thụ CO_2 quang hợp vừa cân bằng sự mất CO_2 hô hấp). Một số loài như ngô *Zea mays* có điểm bù CO_2 gần bằng không. Trong ngô, độ mở cực

đại của khí khổng xảy ra khi nồng độ CO_2 gần bằng không. Khi mức CO_2 gần điểm bù CO_2 xảy ra phản ứng với nồng độ giảm CO_2 độ mở khí khổng đạt cực đại.

Trong khi mức hấp thụ CO_2 thấp có khuynh hướng làm khí khổng mở ra, CO_2 cao trên mức CO_2 môi trường sẽ có khuynh hướng làm đóng khí khổng. Phản ứng của khí khổng đối với nồng độ CO_2, dẫn đến kết luận cho rằng vai trò của quang hợp trong việc làm mở khí khổng là gây nên sự giảm nồng độ CO_2 ngay cạnh tế bào bảo vệ. Hình 43 chứng minh ảnh hưởng của CO_2 lên độ mở khí khổng.



Hình 43 – Đồ thị chứng minh độ mở khí khổng của Xanthium khi để trong không khí không có CO_2 (ảnh hưởng của CO_2 lên độ mở khí khổng)

c) Nước và độ ẩm

Mở khí khổng là quá trình vật lí phụ thuộc độ trương tế bào bảo vệ, nên bất kì sự biến đổi nào trong lượng nước dùng được trong tế bào đều có thể làm thay đổi sự mở khí khổng.

Hiện tượng đóng khí khổng giữa ngày có thể do tế bào lá mất trương sức căng nước khi lượng nước thoát hơi vượt quá nước hấp thu. Điều đó có nghĩa là khi trạng thái cân bằng nước bị vi phạm nghiêm trọng thì lá cây bị héo và khí khổng sẽ đóng lại. Như vậy sự mở khí khổng phụ thuộc nhiều vào độ trương nước giữa tế bào bảo vệ và tế bào biểu bì lân cận, nên nếu xảy ra sự biến đổi nhỏ về hàm lượng nước của lá thì có thể làm mở khí khổng.

Có bằng chứng cho rằng độ ẩm tương đối của khí khổng có ảnh hưởng lên sự mở khí khổng. Khí khổng có khuynh hướng đóng lại nếu không khí quanh lá có độ ẩm thấp.

d) Nhiệt độ

Thực ra tác động của nhiệt độ thường đi kèm với cường độ ánh sáng. Ánh sáng mạnh làm tăng nhiệt độ không khí và nhiệt độ cao ảnh hưởng lên trạng thái nước của tế bào lá.

Có bằng chứng cho rằng sự mở khí khổng lớn hơn ở nhiệt độ cao so với nhiệt độ thấp và một số cây có ngưỡng nhiệt độ mở khí khổng trong khoảng từ 5 – 10°C.

Sự mở khí khổng và duy trì mở khí khổng là quá trình chủ động phụ thuộc vào quá trình chuyển hoá vật chất tế bào, do đó nhiệt độ đóng vai trò trực tiếp. Nhiệt độ tác động lên các quá trình trên thì sẽ có ảnh hưởng trực tiếp lên tốc độ và mức độ mở khí khổng.

e) Tương tác môi trường

Thực ra khó tách riêng ảnh hưởng của mỗi nhân tố môi trường vì ở một mức độ nhất định tất cả các nhân tố này có liên quan với nhau. Ánh sáng mạnh thường kéo theo nhiệt độ cao và có ảnh hưởng lên trạng thái thoát hơi nước của lá. Hoạt động quang hợp xảy ra ngoài ánh sáng, do đó nồng độ CO_2 sẽ không cao (thấp) gần tế bào bảo vệ. Ngay cả nhiệt độ và trạng thái của tế bào bảo vệ có ảnh hưởng lên quang hợp.

Mở khí khổng là kết quả về trạng thái cân bằng của các quá trình khác nhau phụ thuộc vào môi trường. Những tác động trái ngược nhau của môi trường như ánh sáng, CO_2 và nước giải thích một phần cho tập tính nhịp điệu của khí khổng.

Ánh sáng làm mở khí khổng do áp suất riêng phần CO_2 bị giảm.

Thoát hơi nước gây mất nước làm khí khổng mở ra và trong một số trường hợp gây nên hiện tượng héo. Về sau khí khổng đóng lại gây ra sự thiếu hụt CO_2 nội bào cho quá trình quang hợp và kết quả là khí khổng lại mở. Trong pha đóng khí khổng, một lượng nước được phục hồi. Phương thức chung là sự biến thiên của độ mở khí khổng theo nhịp chu kì. Do đó sự kiểm tra về CO_2 và nước như vậy là một ví dụ tốt về sự kiểm tra bằng quá trình điều hoà mối liên hệ ngược.

V – ĐẶC ĐIỂM CỦA CÁC NHÓM CÂY SINH THÁI KHÁC NHAU VỀ CHẾ ĐỘ NƯỚC VÀ CƠ SỞ SINH LÍ CỦA VIỆC TƯỚI NƯỚC HỢP LÍ

1. Đặc điểm của các nhóm cây khác nhau về chế độ nước

Các nhóm cây sống trong những điều kiện sinh thái khác nhau sẽ có yêu cầu và sự thích nghi khác nhau về chế độ nước, vì vậy dựa vào sự thích nghi của từng nhóm cây với các điều kiện sinh thái người ta chia chúng thành ba nhóm chính như sau :

– *Nhóm cây ưa ẩm (cây ẩm sinh)* : Những cây nhóm này thích hợp với vùng có độ ẩm cao. Đó là những cây thuỷ sinh sống ở ven hồ ao, sông ngòi, suối, rừng tối và ẩm. Sự thoát hơi nước của nhóm cây này chủ yếu qua lớp cutin.

– *Nhóm cây trung sinh (cây trung sinh)* : Những cây nhóm này sống ở những vùng đất có độ ẩm vừa phải. Đại bộ phận các cây họ Lúa và họ Đậu, phần lớn các cây ăn quả và nhiều loại rau thuộc nhóm này.

– *Nhóm cây chịu hạn (cây hạn sinh)* : Những cây nhóm này sống ở các miền sa mạc và bán sa mạc. Chúng có một số điểm đặc biệt sau : ít khí khổng, bề mặt lá nhỏ, đôi khi có dạng gai, bộ rễ dài.

Ngoài ra người ta còn chia ra hai nhóm phụ :

+ Nhóm cây đồng lầy : Sống ở vùng có nước nhưng khó hút nước.

+ Nhóm cây đồng mặn : Sống ở vùng đất mặn và cũng khó hút nước.

Có nhiều tác giả xếp hai nhóm này vào nhóm cây chịu hạn.

2. Cơ sở sinh lí của việc tưới nước hợp lí

Để có một chế độ nước thích hợp cho cây tạo điều kiện cho sinh trưởng tốt và năng suất cao cần phải thực hiện việc tưới tiêu một cách hợp lí. Người ta đã đưa ra những nhận xét sau :

– Trước hết phải nắm được những yêu cầu của cây đối với việc cung cấp nước cho nó :

+ Cung cấp đủ nước và chất dinh dưỡng cho cây để tăng cường các hoạt động sinh lí của chúng.

+ Điều chỉnh chế độ nước (cung cấp nước và rút nước) cho thích hợp nhằm điều hoà sự sinh trưởng của cây theo lợi ích cho năng suất của cây trồng.

+ Tưới nước để cải tạo điều kiện sống của cây : Tăng khả năng giữ nước, điều hoà chế độ nhiệt và khí trong đất, cải tạo đất, tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của hệ rễ, tăng cường khả năng hấp thụ thức ăn của hệ rễ...

– Vấn đề thứ hai cần quan tâm là thời gian cung cấp nước. Trong đời sống của thực vật, ở các thời kì sinh trưởng khác nhau, chúng có nhu cầu về nước khác nhau. Sở dĩ như vậy vì trong các thời kì sinh trưởng và phát triển khác nhau hoạt động sinh lí cũng khác nhau, trong đó có quá trình thoát hơi nước và hút nước dưới ảnh hưởng của các điều kiện ngoại cảnh khác nhau.

Trong suốt đời sống của cây, nước lúc nào cũng cần thiết nhưng người ta thấy rằng có thời kì đặc biệt nếu thiếu nước sẽ ảnh hưởng nghiêm trọng đến đời sống cây. Các nhà nghiên cứu về chế độ nước của cây đã gọi đó là thời kì khủng hoảng nước. Ví dụ ở cây họ Lúa, thời kì khủng hoảng nước là thời kì từ lúc đẻ nhánh tới lúc trổ bông (đối với cây ngũ cốc, thời kì thứ hai là từ ngậm sữa đến chín sữa).

– Vấn đề thứ ba là cơ sở sinh lí cho việc định kì tưới nước. Có những quan điểm khác về vấn đền này : Một số người cho rằng cần dựa vào hàm lượng nước còn lại trong đất ; Một số người khác lại cho rằng nên dựa trên những biểu hiện bên ngoài của cây.

Cả hai quan điểm trên đều không hoàn thiện vì khi đã thấy được những biểu hiện đó thì cây đã bị ảnh hưởng nghiêm trọng rồi.

Sau này các nhà sinh lí thực vật Nga như Macximop, Sacdacop... đã đưa ra quan điểm sau : Dựa vào các chỉ tiêu sinh lí về chế độ nước của cây để định thời kì tưới nước như : Sức hút nước của lá, nồng độ và áp suất thẩm thấu của dịch tế bào, trạng thái của khí khổng, cường độ hô hấp của lá. Theo Dobrunop thì nồng độ dịch tế bào có thể coi là chỉ số thích hợp hơn cả để đánh giá yêu cầu nước của cây.

Người ta đã xác định được mối liên quan giữa cường độ hô hấp của lá và hàm lượng nước trong lá ở cây củ cải đường :

Hàm lượng nước trong lá (%)	*Cường độ hô hấp của lá (%)*
100	100
87,6	121,3
78,4	188,7
72,4	204,2

Người ta cũng đã xác định trị số giới hạn cho việc tưới nước dựa vào giá trị của sức hút nước (S) và áp suất thẩm thấu của dịch tế bào (P) ở lúa mì xuân :

Các thời kì sinh trưởng	**S (atm)**	**P (atm)**
Bắt đầu đẻ nhánh làm đòng	8 – 9	10 – 11
Làm đòng – trỗ bông	9 – 10	11 – 12
Hạt vào chắc	11 – 12	13 – 15
Thời kì sau	14 – 15	16 – 18

Các chỉ tiêu sức hút nước và áp suất thẩm thấu có giới hạn khác nhau ở các loài khác nhau : Chẳng hạn ở cây bông khi S có giá trị 14 – 15 atm là phải tưới nước, còn ở khoai tây, cà chua thì S ở giá trị 8 atm.

– Vấn đề cuối cùng là lượng nước tưới trong các thời kì. Đây là một vấn đề rất phức tạp và phụ thuộc vào nhiều yếu tố như nhu cầu nước của từng loài cây, tính chất vật lí, hoá học của từng loại đất, các điều kiện ngoại cảnh...

Ví dụ, đối với nước thì có thể tưới ngập đất còn với cây trồng cạn thì nói chung cần 80% ẩm dung bão hoà của đất là đủ. Đối với đất cát phải tưới nhiều lần, đối với đất mặn phải tưới nhiều nước hơn nhu cầu nước của cây, vì cây thường khó hút nước ở đất mặn và cần nước nhiều còn để rửa mặn cho đất.

Tóm lại cần phải nắm được các yếu tố chủ quan (của cây) cũng như các tác động khách quan (của môi trường cây sống) mới điều chỉnh được sự tưới nước hợp lí tạo điều kiện cho cây sinh trưởng tốt và cho năng suất cao.

Chương III

QUANG HỢP

I – KHÁI NIỆM CHUNG VỀ QUANG HỢP

1. Định nghĩa quang hợp

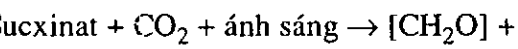
Ta biết rằng mọi cơ thể sống chỉ tồn tại bình thường khi nó được cung cấp liên tục năng lượng từ bên ngoài và dù những sinh vật có khác nhau đến mức nào đi nữa, chúng cũng đều sử dụng một dạng năng lượng chung (năng lượng dưới dạng liên kết hoá học hay còn gọi là năng lượng tự do). Như vậy rõ ràng là năng lượng hoá học hay năng lượng tự do gắn liền với sự sống trên hành tinh chúng ta. Vậy nguồn năng lượng ấy do đâu mà có ? Nguồn năng lượng ấy được khai thác từ hai hướng : năng lượng hoá học của các hợp chất vô cơ (hướng trái đất) và năng lượng ánh sáng (hướng vũ trụ). Trong trường hợp đầu năng lượng tự do được thải ra khi oxi hoá các chất vô cơ (ví dụ $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$) và tích trữ trong quá trình hoá tổng hợp của một số vi khuẩn : vi khuẩn sắt, vi khuẩn lưu huỳnh và một số vi khuẩn khác. Trong trường hợp thứ hai : nguồn năng lượng tự do có ý nghĩa vô cùng lớn lao đối với cuộc sống được tích luỹ bởi thực vật và nhóm vi sinh vật khi quang hợp, tức là quá trình trong đó năng lượng của ánh sáng mặt trời chuyển thành dạng năng lượng hoá học trong các phân tử hữu cơ.

Theo các định luật về nhiệt động học thì các phản ứng hoá học đều xảy ra theo chiều nhiệt động học hay nói một cách khác theo gradien nhiệt động học, đi đôi với sự giảm năng lượng chung của hệ thống phản ứng. Những quá trình như vậy không thể tạo ra năng lượng tự do. Tuy nhiên, nhờ có khả năng biến đổi năng lượng mặt trời thành dạng năng lượng hoá học, cây xanh đã thực hiện một quá trình ngược với gradien nhiệt động học, nghĩa là quá trình đó không những làm giảm năng lượng chung của hệ thống, mà ngược lại năng lượng được tăng lên. Chính quá trình quang hợp của cây xanh và vi khuẩn quang hợp đã thực hiện quá trình biến đổi này.

Vậy quang hợp là gì ? Quang hợp là quá trình biến đổi năng lượng ánh sáng mặt trời thành năng lượng hoá học dưới dạng các hợp chất hữu cơ. Nói một cách khác, quang hợp là quá trình biến đổi các chất vô cơ đơn giản thành các hợp chất hữu cơ phức tạp có hoạt tính cao trong cơ thể thực vật, dưới tác dụng của ánh sáng mặt trời và sự tham gia của hệ sắc tố thực vật.

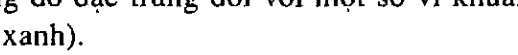
Bản chất của quá trình quang hợp là sự khử khí CO_2 đến cacbon hiđrat với sự tham gia của năng lượng ánh sáng do sắc tố thực vật hấp thụ. Đối với tất cả thực vật và phần

lớn các vi sinh vật quang hợp thì nguồn hiđro khi tổng hợp các phân tử hữu cơ là H_2O. Do đó phản ứng tổng quát của quang hợp được viết như sau :



$$CO_2 + H_2O + \text{ánh sáng} \rightarrow [CH_2O] + O_2 \quad (1)$$

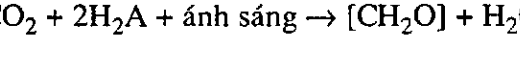
Tất nhiên là để tổng hợp một phân tử glucoz phải cần 6 phân tử CO_2 và H_2O :



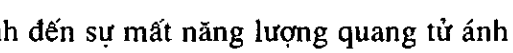
$$6CO_2 + 6H_2O + \text{ánh sáng} \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \quad (2)$$

Oxi thải ra do kết quả của quá trình phân li H_2O là nhân tố căn bản (nếu như không muốn nói là độc nhất) hình thành nên bầu khí quyển trái đất và đảm bảo sự cân bằng O_2 trong khí quyển.

Tuy nhiên không phải quá trình quang hợp nào cũng kèm theo sự giải phóng O_2. Các vi sinh vật khi quang hợp không giải phóng O_2 mà ở chúng chất cho hiđro không phải là H_2O mà là những chất chứa hiđro khác : các este của axit hữu cơ hoặc bản thân các axit hữu cơ, các rượu bậc hai, các hợp chất vô cơ chứa S, hoặc ngay chính hiđro dạng phân tử :



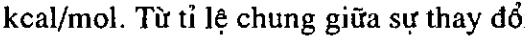
$$\text{Sucxinat} + CO_2 + \text{ánh sáng} \rightarrow [CH_2O] + \text{phumarat} \quad (3)$$



$$2H_2S + CO_2 + \text{ánh sáng} \rightarrow [CH_2O] + H_2O + 2S \quad (4)$$

Phản ứng cuối cùng đó đặc trưng đối với một số vi khuẩn quang hợp (ví dụ như vi khuẩn lưu huỳnh đỏ và xanh).

Bởi vậy dạng chung nhất về phản ứng tổng quát của quang hợp có thể biểu diễn như sau :

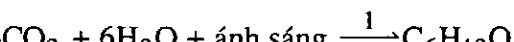


$$CO_2 + 2H_2A + \text{ánh sáng} \rightarrow [CH_2O] + H_2O + 2A \quad (5)$$

2. Nhiệt động học quá trình quang hợp

Nếu như không tính đến sự mất năng lượng quang tử ánh sáng và với quan điểm hoá học đơn thuần "tách biệt" với môi trường ngoài, thì các phản ứng quang hợp là phản ứng nội nhiệt điển hình, dẫn đến việc tăng dự trữ năng lượng tự do. Như đối với phản ứng (2), $\Delta F \approx 115$ và $\Delta H \approx 112$ kcal/mol. Từ tỉ lệ chung giữa sự thay đổi năng lượng bên trong của hệ thống (ΔH), năng lượng tự do (ΔF) và năng lượng liên kết ($T_{\Delta S}$), sẽ thấy rằng quang hợp kèm theo sự giảm mức dự trữ của năng lượng liên kết.

Điều này hoàn toàn có thể được vì dạng phản ứng của phản ứng quang hợp là dạng phản ứng oxi hoá khử đầy đủ đến glucoz :



$$6CO_2 + 6H_2O + \text{ánh sáng} \underset{2}{\overset{1}{\rightleftharpoons}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \quad (6)$$

Ở đây (1) là phản ứng của quá trình quang hợp $\Delta F = +686$ kcal/mol, $\Delta H = +673$ kcal/mol, $\Delta S = -43{,}6$) ; còn (2) là phản ứng của quá trình hô hấp ($\Delta F = -686$ kcal/mol, $\Delta H = -673$ kcal/mol, $\Delta S = +43{,}6$. (ΔS : Sự thay đổi mức độ trật tự của hệ thống).

Như vậy phản ứng quang hợp làm tăng năng lượng tự do (ΔF dương) và giảm mức độ trật tự của hệ thống (ΔS âm). Một cách đặt vấn đề khác, nếu như xem hệ thống quang hợp

như một hệ thống hở khi tính đến "sự mất" quang tử ánh sáng, thì phù hợp với thực tế. Trong trường hợp đó, năng lượng tự do dự trữ của hệ thống hν + CO_2 + H_2O lớn hơn, mức độ trật tự của hệ thống CO_2 + H_2O nhỏ hơn so với hệ thống glucoz + O_2.

Như vậy chỉ khi không tính đến năng lượng ánh sáng, mới có ấn tượng quang hợp là phản ứng xảy ra ngược với thế năng nhiệt động học (định luật 1 và 2 nhiệt động học). Thực tế thì năng lượng ánh sánh được tiêu thụ một mặt cho sự thay thế liên kết chắc chắn hơn (trong CO_2 và H_2O) thành liên kết yếu hơn (trong $C_6H_{12}O_6$ và O_2), mặt khác cho hệ thống điều chỉnh. Về điều này ta có thể tính toán một cách chi tiết hơn năng lượng liên kết tổng số đối với các sản phẩm đầu tiên và cuối cùng của phản ứng quang hợp : Trong sản phẩm đầu tiên CO_2 và H_2O, gồm hai nối đôi C = O (năng lượng liên kết 190 kcal/mol) và hai nối đơn O – H (năng lượng liên kết 110 kcal/mol). Tổng số năng lượng liên kết là : (190 × 2) + (110 × 2) = 600 kcal/mol. Sản phẩm cuối cùng của CH_2O gồm một nối đôi O = O (116 kcal/mol) một nối đôi C = O (190 kcal/mol) và 2 nối đơn C – H (92 kcal/mol). Tổng cộng : 116 + 190 + (92 × 2) = 490 kcal/mol. Từ đây thấy rằng sự thiếu hụt năng lượng của các liên kết hoá trị là : 600 kcal/mol – 490 kcal/mol = 110 kcal/mol). Còn có thể tính số năng lượng mất đi trong các bước của quang hợp bằng cách theo dõi thế năng oxi hoá - khử. Trong phản ứng tổng quát của quang hợp (1) thấy có hai phản ứng tổng hợp oxi hoá - khử : Oxi hoá H_2O và khử CO_2. Phản ứng thứ nhất ($2H_2O \rightarrow 4H^+ + 4e^- \rightarrow O_2$) có thế năng oxi hoá : Eh = +0,8V. Phản ứng thứ hai (CO_2 + $4H^+ + 4e^- \rightarrow CH_2O$) có thế năng khử Eh = –0,4V. Từ đây tính ra thế năng oxi hoá – khử chung là : +0,8V – (– 0,4V) = +1,2V. Để chuyển 4e cần năng lượng E = eV = 4e × 1,2V = 4,8 eV hoặc bằng 112 kcal/mol.

Tóm lại là trong quang hợp, năng lượng của quang tử ánh sáng được sử dụng cho việc làm yếu các liên kết, tức là cho việc nâng các điện tử hoá trị "trung bình" lên mức năng lượng cao hơn. Điện tử được làm giàu năng lượng chuyển từ điện tử "lạnh" sang "nóng". Ta có thể nói một cách hình ảnh là : Quang hợp là cái máy bơm điện tử, làm việc bằng năng lượng ánh sáng.

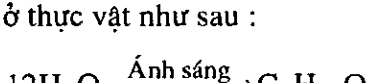
3. Sơ lược lịch sử nghiên cứu quang hợp

Quang hợp được xem như một quá trình trao đổi chất và được nghiên cứu từ thế kỉ XVIII nhưng mãi đến thế kỉ XX và đặc biệt là sau chiến tranh thế giới thứ hai, thì các nghiên cứu trong lĩnh vực quang hợp mới được phát triển mạnh mẽ. Ta có thể nhìn lại vắn tắt quá trình lịch sử nghiên cứu quang hợp bằng một số công trình chính qua các thế kỉ như sau : Ngay từ thế kỉ XVIII người ta đã quan niệm được rằng thực vật sống được là nhờ lá trong không khí (Hales, 1727), rồi quan niệm cây xanh làm lành không khí đã bị làm hỏng bởi hô hấp của động vật (Priestley, 1771 – 1777). Những năm tiếp theo của thế kỉ XVIII, đã phát hiện vai trò của ánh sáng và màu xanh của thực vật đối với quá trình sống của nó (Ingenhousz, 1779), vai trò của CO_2 (Senebier, 1783) và đầu thế kỉ XIX đã phát

hiện ra vai trò của nước trong quá trình đồng hoá ở thực vật (De Saussure, 1804). Ở thế kỉ XIX các nhà sinh lí thực vật đã đặt tên cho chất làm cho cây có màu xanh là clorophin và tách ra khỏi lá, đồng thời nghiên cứu các dạng khác nhau của sắc số thực vật (Pelletier, 1818 ; Berzelius, 1838 ; Stokes, 1854). Những năm cuối của thế kỷ XIX là những năm phát hiện ra bào quan làm nhiệm vụ quang hợp là lục lạp, đồng thời nghiên cứu các sản phẩm đầu tiên (foocmaldehyl) và cuối cùng (tinh bột) của quá trình quang hợp (Sachs, 1864, Bayer, 1870).

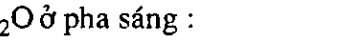
Như vậy là đến cuối thế kỉ XIX, khái niệm về quang hợp đã được hình thành, nhưng thuyết phổ biến lúc bấy giờ là thuyết foocmaldehyt về sản phẩm đầu tiên của quang hợp.

Đến thế kỉ XX, xuất hiện nhiều công trình về cơ chế quang hợp như phản ứng tối của quang hợp và vai trò của các enzim (Warburg, 1919), phản ứng quang phân li H_2O (Hill, 1940), quá trình khử CO_2 và chứng minh rằng O_2 thải ra khi quang hợp là từ H_2O chứ không phải từ CO_2 như trước đây quan niệm (Ruben, Kamen, 1939, 1941). Đến nay, có thể viết phương trình quang hợp ở thực vật như sau :



$$6CO_2 + 12H_2O \xrightarrow[\text{Hệ sắc tố}]{\text{Ánh sáng}} C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 6O_2$$

và phản ứng quang phân li H_2O ở pha sáng :



$$2H_2O \rightarrow 4H^+ + 4e^- + O_2$$

Calvin (1951) là người đầu tiên đưa ra chu trình cố định CO_2 và chu trình này được mang tên ông (chu trình Calvin).

Như vậy là đến đây vai trò và cơ chế của pha tối trong quang hợp đã được xác định. Những năm tiếp theo của thế kỉ XX là những năm tập trung nghiên cứu nhiều về pha sáng của quang hợp. Arnold (1954) là người có công lớn trong những công trình nghiên cứu về cấu trúc hoàn chỉnh của bộ máy quang hợp, con đường chuyển e trong pha sáng của quang hợp cũng như đưa ra sơ đồ của quá trình photphoryl hoá vòng và không vòng.

Ở thế kỉ XX, còn một số công trình đáng chú ý nữa là : công trình nghiên cứu sinh tổng hợp clorophin và đã tổng hợp nhân tạo nó ngoài tế bào (Woodwarh, 1960) ; công trình nghiên cứu của hai nhà bác học Ôxtrâylia (Hatch và Slack, 1966) về cơ chế cố định CO_2 ở nhóm thực vật nhiệt đới được gọi là chu trinh C_4 hay chu trình axit đicacboxilic ; công trình của Bradbeer (1958) về cơ chế cố định CO_2 ở nhóm thực vật mọng nước, gọi tắt là chu trình CAM (Crassulaceae Acid Metabolism).

Hiện nay các công trình nghiên cứu về quang hợp xuất hiện thường xuyên trên các tạp chí sinh lí thực vật, tạp chí quang hợp quốc tế, các tạp chí lí sinh, sinh hoá và các ngành liên quan, cũng như trong các hội thảo và hội nghị quốc tế về quang hợp hàng năm. Những công trình nghiên cứu về quang hợp trong những năm gần đây tập trung vào các lĩnh vực cơ chế quang hợp nhằm bắt chước chức năng quang hợp của cây xanh (quang hợp nhân tạo) với sự giúp đỡ của các phương pháp lí sinh, hoá sinh hiện đại với các trang

thiết bị hiện đại. Mặt khác rất nhiều công trình đang được tập trung vào việc điều khiển chức năng quang hợp trên cá thể và quần thể, tạo ra những cá thể và quần thể lí tưởng về quang hợp, nhằm thu được năng suất thực vật cao nhất về số lượng lẫn chất lượng. Những công trình này thực chất là những công trình phục vụ trực tiếp cho ngành "kinh doanh" năng lượng mặt trời có hiệu quả nhất.

Tóm lại đến nay đã hiểu biết khá đầy đủ về quá trình quang hợp do các nghiên cứu về quang hợp ngày càng nhiều, tập trung và sâu sắc. Người ta đã định được các giai đoạn cơ bản trong dây chuyền các phản ứng tạo thành quá trình quang hợp như sau :

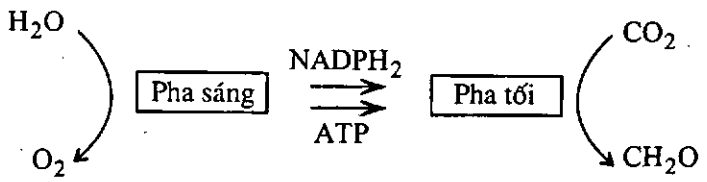
– Sắc tố của lá cây hút quang tử ánh sáng trở thành trạng thái kích thích và tiếp đến sự biến đổi quang vật lí năng lượng ánh sáng trong cấu trúc sắc tố.

– Các quá trình quang hoá đầu tiên, sử dụng năng lượng ánh sáng để hình thành các hợp chất đầu tiên giàu năng lượng, hoạt động và không bền.

– Quá trình sử dụng các hợp chất trên trong chuỗi các quá trình enzim để hình thành nên các hợp chất bền hơn, dự trữ năng lượng và có hoạt tính khử cao.

– Sử dụng các hợp chất trung gian trên để thực hiện quá trình khử CO_2 và hình thành nên các sản phẩm khác nhau trong thực vật.

Trong những tài liệu gần đây, các chuyên gia quang hợp thường tóm tắt quá trình quang hợp bằng sơ đồ đơn giản như sau :



Chúng ta sẽ lần lượt xét các giai đoạn cơ bản nói trên trong chương quang hợp này.

4. Chu trình cacbon trong tự nhiên và vai trò của quang hợp

Khi phân tích thành phần hoá học của cơ thể thực vật, ta thấy 80 – 90% khối lượng cơ thể là H_2O, 10 – 20% khối lượng còn lại là chất khô. Trong chất khô, ta thấy gồm các thành phần :

C : 45% O : 42%

H : 6,5% N : 1,5%

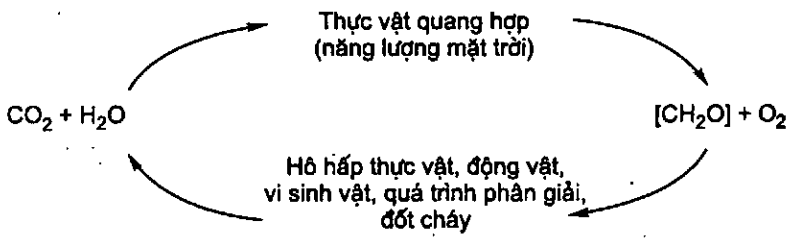
Tro khoáng : 5%

Như vậy C trong thực vật chiếm gần 1/2 khối lượng khô và điều này nói lên vai trò quan trọng của quá trình trao đổi C. Theo tính toán dựa trên phương trình quang hợp, hằng năm thực vật đã cố định một lượng cacbon rất lớn (2.10^{12} tấn CO_2) và hầu hết O_2 trong khí quyển là do cây xanh thải ra trong quá trình quang hợp (13.10^{10} tấn O_2). Trạng thái cân bằng giữa CO_2 và O_2 trong khí quyển là do cây xanh quyết định. Nguồn CO_2 cho

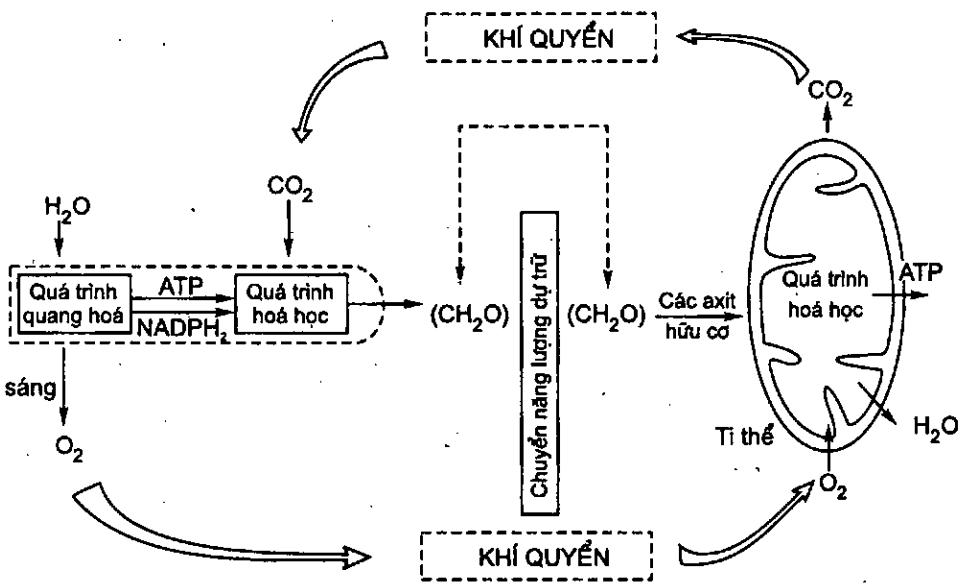
cây xanh được thải ra từ các quá trình hô hấp của động vật, thực vật, vi sinh vật và của các quá trình phân giải chất hữu cơ cũng như sự đốt cháy trong công nghiệp. Quang hợp đã làm giảm nguồn CO_2 này trong khí quyển và làm tăng nguồn O_2 để làm sạch bầu không khí của chúng ta.

Vai trò quan trọng bậc nhất của quang hợp là ở chỗ nhờ có quá trình này mà năng lượng mặt trời đã chuyển thành năng lượng hoá học dự trữ cần thiết cho tất cả các sinh vật trên Trái Đất. Người ta đã tính toán thấy rằng thực vật ở dưới nước và trên cạn của thực bì tự nhiên hằng năm tạo ra gần 110 tỉ tấn chất hữu cơ (trong đó con người khai thác sử dụng được gần 80 triệu tấn) và tổng sản lượng của thực vật trồng trọt hằng năm là 10 tỉ tấn (trong đó ở dạng thức ăn cho con người và động vật là 500 triệu tấn). Với khối lượng thức ăn này, con người đã thoả mãn gần 80% nhu cầu dinh dưỡng của mình.

Ta có thể minh hoạ các vấn đề trên bằng chu trình CO_2 và O_2 trong tự nhiên và trong thực vật như sau (hình 44 a, b).



Hình 44a – Chu trình CO_2 và O_2 trong tự nhiên



Hình 44b – Chu trình CO_2 và O_2 trong thực vật

Với các vai trò nói trên của quang hợp, ta có thể nói rằng quang hợp là một quá trình độc nhất có khả năng biến những chất không ăn được thành chất ăn được, một quá trình mà tất cả các hoạt động sống đều phụ thuộc vào nó. Hay nói một cách khác, nguồn gốc của tất cả nền văn minh hiện nay của loài người đều sản sinh ra từ công thức đơn giản của quang hợp.

Tuy nhiên đó mới chỉ là nói đến vai trò thực tiễn của quang hợp (nói đến việc con người sử dụng sản phẩm quang hợp) mà chưa nói đến vai trò lí luận và việc bắt chước chức năng quang hợp của lá xanh để thực hiện việc sản xuất ra các chất hữu cơ từ chất vô cơ bằng quá trình quang hợp nhân tạo. Rolt Lothern (1973) trong cuốn "Sinh vật học và thế giới quan" của mình đã viết : "Tôi tin rằng trong khoảng 30 năm nữa, con người sẽ tạo được quá trình quang hợp nhân tạo".

Ta thử tưởng tượng xem tương lai của loài người sẽ như thế nào khi ước mơ đó trở thành hiện thực !

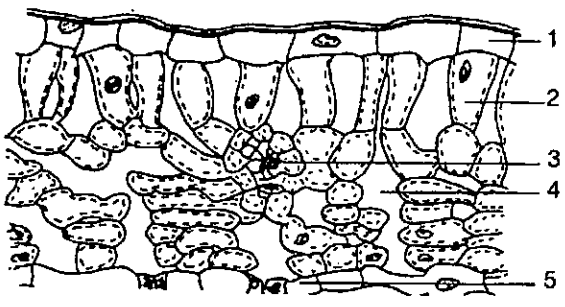
II – BỘ MÁY QUANG HỢP

1. Lá – cơ quan quang hợp

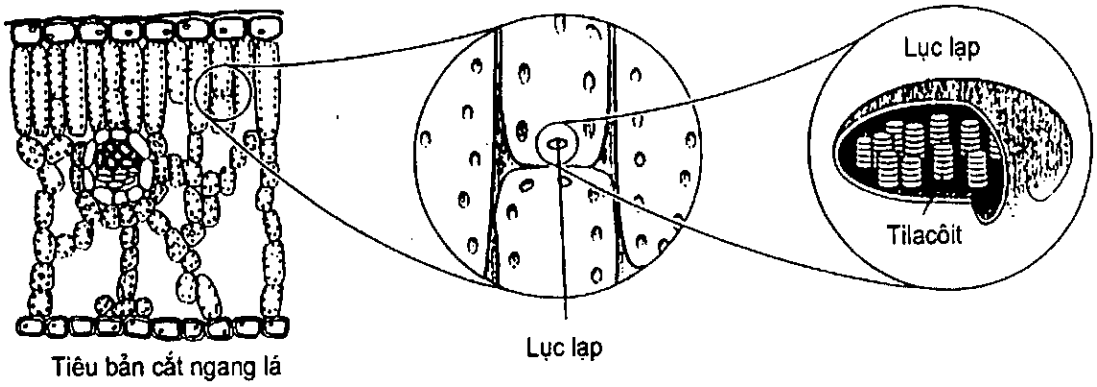
Đến nay, chúng ta biết rằng : cơ quan làm nhiệm vụ quang hợp ở thực vật chủ yếu là lá, sau đó đến các phần xanh khác như bông lúc còn xanh, bẹ lá, ... Chính vì vậy lá có những đặc điểm đặc biệt về hình thái, cũng như cấu tạo giải phẫu thích hợp với chức năng quang hợp.

– Hình thái lá : Lá thường dạng bản và mang đặc tính hướng quang ngang, nên luôn luôn vận động sao cho mặt phẳng của lá vuông góc với tia sáng mặt trời để nhận được nhiều nhất năng lượng ánh sáng.

– Về giải phẫu : Trước hết phải kể đến lớp mô giậu dày chứa nhiều lục lạp nằm sát ngay mặt trên lá dưới lớp biểu bì trên. Các tế bào mô giậu được xếp xít nhau theo từng lớp nhằm hấp thụ được nhiều năng lượng ánh sáng. Đây gọi là lớp mô đồng hoá của lá. Sát với lớp mô đồng hoá là lớp mô xốp có khoảng trống gian bào lớn (nơi chứa CO_2 cung cấp cho quá trình quang hợp). Ngoài ra lá còn có mạng lưới mạch dẫn dày đặc làm nhiệm vụ dẫn nước và muối khoáng cho quá trình quang hợp và dẫn các sản phẩm quang hợp đến các cơ quan khác. Cuối cùng là hệ thống dày đặc các khí khổng ở mặt trên và mặt dưới lá giúp cho CO_2, O_2, H_2O đi vào và đi ra khỏi lá một cách dễ dàng (hình 45 a,b).



Hình 45 a – Tiêu bản cắt ngang lá Faba vulgaris (Độ phóng đại 135)
1. Biểu bì trên ; 2. Tế bào mô giậu chứa lục lạp ; 3. Mạch dẫn ; 4. Khoang trống gian bào ; 5. Biểu bì dưới với khí khổng



Hình 45 b – Cấu trúc bộ máy quang hợp

2. Lục lạp (chloroplast) – bào quan thực hiện chức năng quang hợp

Để đảm bảo chức năng quang hợp, cũng như lá, lục lạp có những đặc điểm về hình thái, giải phẫu thích ứng :

– Hình thái lục lạp : Lục lạp rất đa dạng. Các loài thực vật bậc thấp, vì không bị ánh sáng mặt trời trực tiếp thiêu đốt quá nóng, nên lục lạp của chúng có nhiều hình dạng khác nhau : hình võng, hình cốc, hình sao. Ở các thực vật bậc cao, lục lạp thường có hình bầu dục để thuận tiện cho quá trình tiếp nhận ánh sáng mặt trời. Khi ánh sáng mặt trời quá mạnh, lục lạp có khả năng xoay bề mặt tiếp xúc nhỏ nhất của mình về phía ánh sáng.

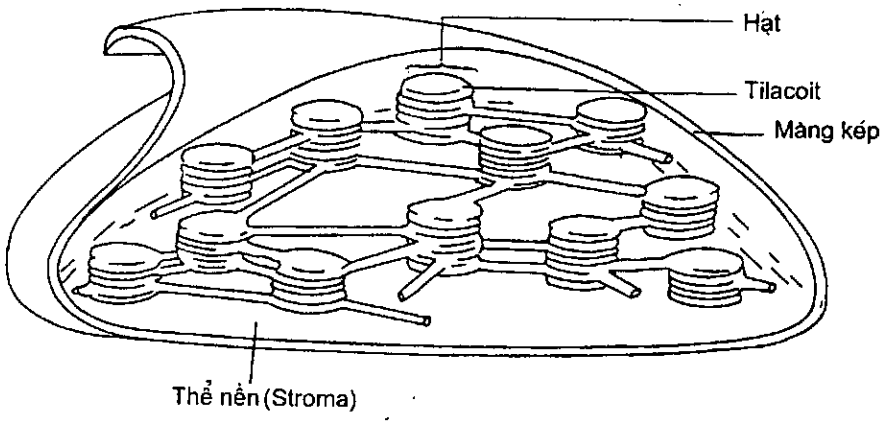
– Số lượng và kích thước lục lạp : Số lượng lục lạp trong tế bào rất khác nhau ở các loài thực vật khác nhau. Đối với tảo, mỗi tế bào có khi chỉ có một lục lạp. Đối với thực vật bậc cao, mỗi tế bào của mô đồng hoá có thể có từ 20 đến 100 lục lạp. Ở lá thầu dầu, $1mm^2$ có từ $3.10^7 - 5.10^7$ lục lạp. Nếu đem cộng diện tích lục lạp lại sẽ có diện tích tổng số lục lạp lớn hơn diện tích lá.

Về kích thước : Đường kính trung bình của lục lạp 4 – 6μm, dày 2 -3μm. Những cây ưa bóng thường có số lượng, kích thước lục lạp và hàm lượng sắc tố trong lục lạp lớn hơn những cây ưa sáng.

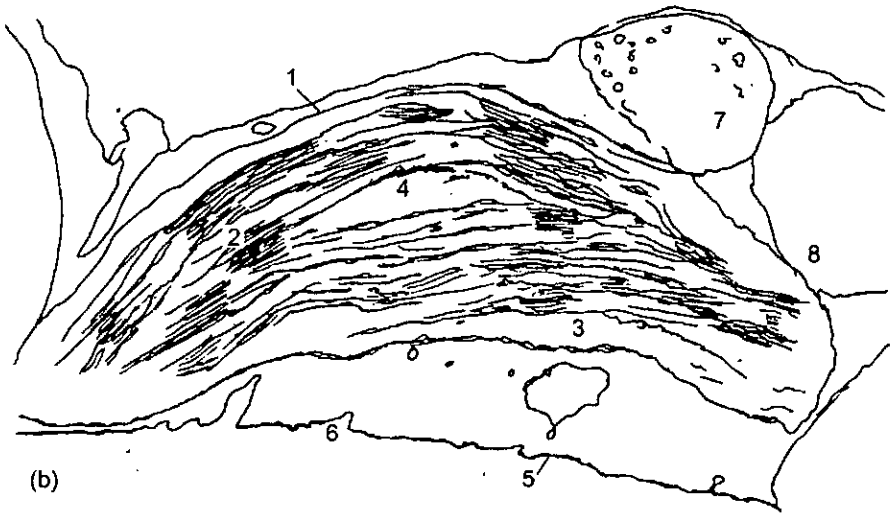
– Nghiên cứu về quá trình hình thành lục lạp, thấy nó trải qua 3 giai đoạn : Giai đoạn tiền lục lạp ; giai đoạn này hình thành nên những chỗ lõm trên màng trong của lạp thể, từ đó các chỗ lõm này kéo dài ra, rồi tự cắt thành các đoạn ngắn như những chiếc bong bóng. Giai đoạn hai là giai đoạn phân hoá ; Ở giai đoạn này các bong bóng hình thành nên các tiền tilacoit (tiền bản). Giai đoạn cuối là giai đoạn hình thành nên các tilacoit (bản mỏng) thực sự và sau đó chúng xếp thành chồng lên nhau thành các hạt (grana).

Nhìn lục lạp dưới kính hiển vi điện tử, chúng ta thấy : ngoài cùng lục lạp là lớp màng kép, mỗi màng được cấu tạo bằng hai lớp protein tách biệt nhau bằng một lớp lipit ở giữa. Trong màng là thể nền (stroma) lỏng nhầy, không màu. Đó là protein hoà tan có chứa nhiều loại enzim tham gia vào quá trình khử CO_2 khi quang hợp. Thể nền bao bọc quanh các hạt. Mỗi lục lạp có từ 40 đến 50 grana với đường kính 4 – 6 μm. Mỗi gana có từ 5

hoặc 6 đến vài chục cái túi tròn gọi là tilacoit, dày chừng 0,13μm có màng riêng bao bọc. Các tilacoit xếp thành chồng. Cấu tạo nên tilacoit là các sắc tố, protein, lipoit, trung tâm phản ứng và các chất truyền điện tử (hình 46 a, b, c).



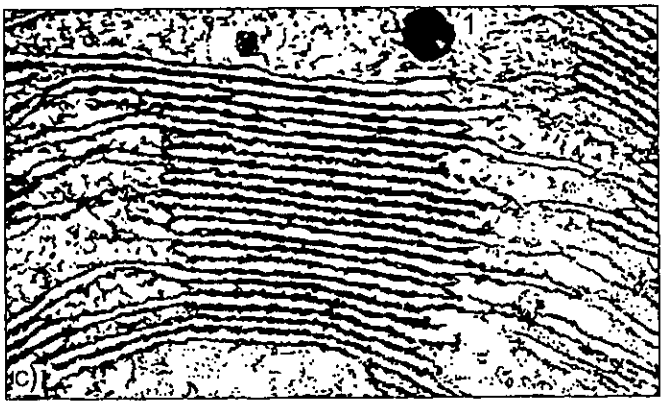
Hình 46a – Sơ đồ cấu tạo của lục lạp



Hình 46b – Tiêu bản của lục lạp trong chất tế bào
1. Màng lục lạp ; 2. Hạt gồm nhiều tilacoit ; 3. Thể nền (stroma) ;
4. Hạt tinh bột trong lục lạp ; 5. Màng chất tế bào ; 6. Thành tế bào ; 7. Ti thể ; 8. Không bào.

Đối với một số thực vật nhiệt đới (thực vật thuộc nhóm C_4), lục lạp có hai loại : lục lạp của tế bào mô giậu có grana phát triển đầy đủ và lục lạp của tế bào bao bó mạch có grana phát triển không đầy đủ và phần lớn ở dạng bản mỏng (tilacoit). Trong hạt lục lạp này có chứa nhiều hạt tinh bột lớn.

Ngày nay trong mỗi tilacoit, người ta đã phát hiện thấy các tiểu phần rất nhỏ hình cầu dẹt, đường kính 160 – 180 Å, dày 100 Å, trong đó protein, lipit và sắc tố. Trong sắc tố có 230 phân tử diệp lục (160 diệp lục a, 70 diệp lục b), 48 phân tử carotenoit. Ngoài ra còn có các thành phần chuyển điện tử như xitocrom, plastoquinon ferredoxin, các nguyên tố kim loại Mn, Cu. Khối lượng phân tử của các tiểu phần này là 2.10^6. Người ta gọi các tiểu phần này là thể lượng tử (quantoxom). Đây là đơn vị chức năng của lục lạp.



Hình 46c – Mô tả chi tiết một hạt đơn ở lục lạp gồm một chồng tilacoit và stroma giữa các chồng hạt (1. Giọt lipit trong stroma).

– Thành phần hoá học của lục lạp : Thành phần hoá học của lục lạp rất phức tạp : nước chiếm 75%, còn lại là chất khô (chủ yếu là chất hữu cơ chiếm 70 – 72% chất khô) và chất khoáng. Protein là thành phần cơ bản trong chất hữu cơ (30 – 45%), lipit (20 – 40%). Các nguyên tố khoáng thường gặp trong lục lạp là Fe (80% Fe trong mô lá nằm ở lục lạp), Zn (65 – 70%), Cu (50%), K, Mg, Mn... Trong lục lạp có chứa nhiều loại vitamin như : A, D, K, E. Lục lạp chứa 30 loại enzim khác nhau. Những enzim này thuộc các nhóm enzim thuỷ phân, enzim của hệ thống oxi hoá khử. Như vậy qua thành phần hoá học trên, thấy rằng ngoài quá trình quang hợp, lục lạp còn là nơi thực hiện quá trình tổng hợp lipit, photpholipit, các axit béo và protein. Do đó có thể khẳng định rằng : Lục lạp là trung tâm hoạt động sinh học và hoá học mà quá trình quang hợp là một trong những quá trình trao đổi chất quan trọng nhất.

3. Các sắc tố quang hợp và tính chất của chúng

Bằng các phương pháp sắc kí và quang phổ hiện đại, đến nay đã phân biệt 4 nhóm sắc tố chính trong lá xanh : clorophin, carotenoit, phycobilin và sắc tố của dịch tế bào (autoxyan).

a) Nhóm sắc tố lục clorophin (diệp lục)

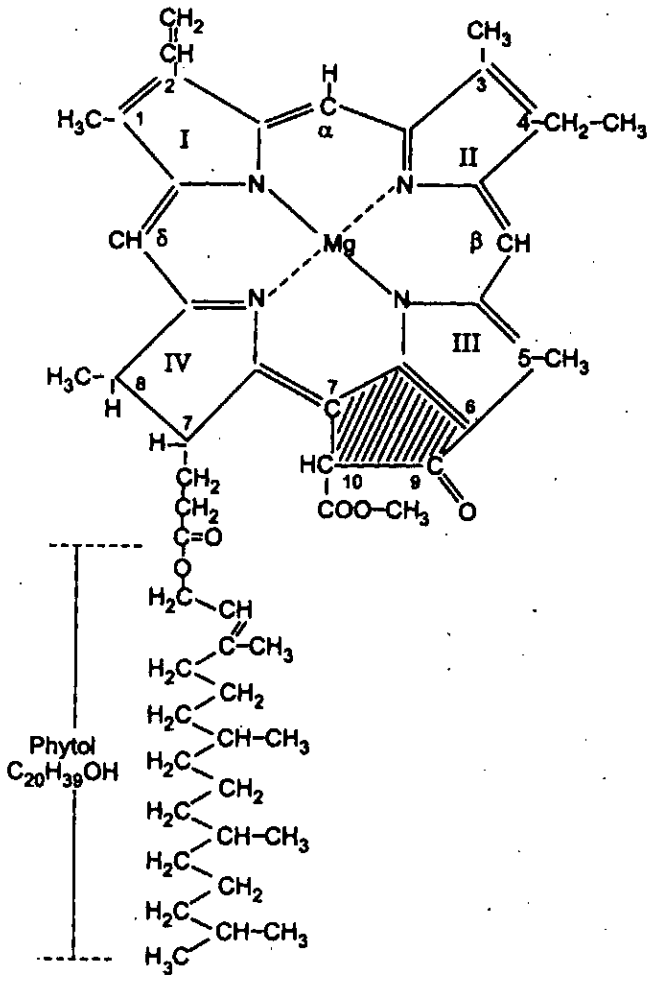
Đây là nhóm sắc tố chiếm vai trò quan trọng nhất đối với quang hợp, vì nó có khả năng hấp thụ năng lượng ánh sáng mặt trời và biến năng lượng hấp thụ ấy thành dạng năng lượng hoá học, trong khi đó các nhóm sắc tố khác không làm được chức năng đầy đủ và trực tiếp như vậy.

Người ta đã phân biệt nhiều loại clorophin bởi sự khác nhau giữa chúng về một số chi tiết cấu tạo và cực đại hấp thụ bức xạ ánh sáng. Về cấu tạo chung clorophin, ta chú ý đến các đặc điểm sau : 4 nhân pyron liên kết với nhau bằng các cầu nối metyl (– CH =) để tạo nên vòng porphyrin với nguyên tử Mg ở giữa ; có liên kết thật và giả với các nguyên tử N của các nhân pyton, hai nguyên tử H ở nhân pyron thứ 4, vòng xiclopentan và gốc rượu phyton. Sau đây là công thức tổng quát và công thức cấu tạo của một số loại clorophin :

Clorophin a : $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$

Clorophin b : $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$

Nhìn vào công thức cấu tạo, ta thấy trong phân tử của clorophin có nhiều nối đôi cách đều. Đó là kiểu nối đôi cộng đồng, kiểu nối đôi thể hiện khả năng hấp thụ mạnh năng lượng ánh sáng (hình 47a).



Hình 47a – Cấu trúc phân tử clorophin a

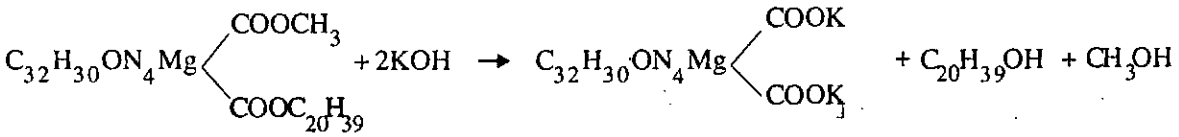
Về một số tính chất hoá học và vật lí của clorophin

– Clorophin không tan trong nước, chỉ tan trong các dung môi hữu cơ, vì vậy khi muốn tách clorophin ra khỏi lá xanh, người ta thường dùng ete, rượu hoặc axeton.

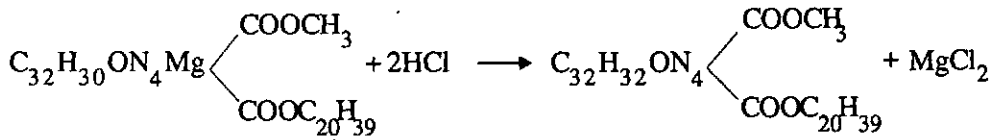
– Clorophin là este của axit đicacboxilic $C_{32}H_{30}ON_4Mg(COOH)_2$ với hai loại rượu là phyton ($C_{20}H_{39}OH$) và metanol (CH_3OH) nên công thức của clorophin có thể viết như sau :

$$C_{32}H_{30}ON_4Mg\begin{cases} COOCH_3 \\ COOC_{20}H_{39} \end{cases}$$

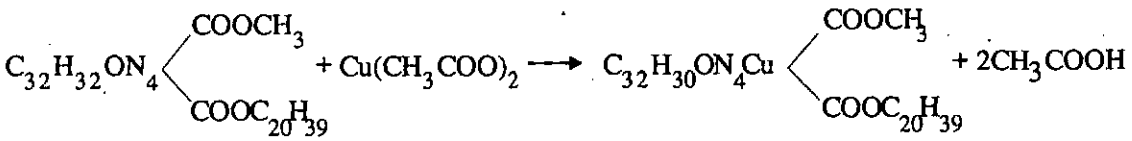
Clorophin khi tác dụng với bazơ xảy ra phản ứng xà phòng hoá, tạo thành muối clorophinat vẫn có màu xanh :



Ngược lại clorophin khi tác dụng với axit thì Mg bị H thay thế và hình thành nên pheophytin kết tủa, có màu nâu :



Nếu cho pheophytin tiếp tục tác dụng với một kim loại khác thì kim loại này lại thay thế vị trí Mg lúc đầu và tạo nên hợp chất có màu xanh rất bền :



– Sự mất màu của clorophin : clorophin ở trong tế bào không bị mất màu vì nằm trong phức hệ với protein và lipoit. Nhưng dung dịch clorophin ngoài ánh sáng và trong môi trường có O_2 thì sự mất màu xảy ra do nó bị oxi hoá dưới tác dụng của ánh sáng :

Chl → hυ → Chl^* (trạng thái kích thích)

$Chl^* + O_2 \rightarrow ChlO_2$

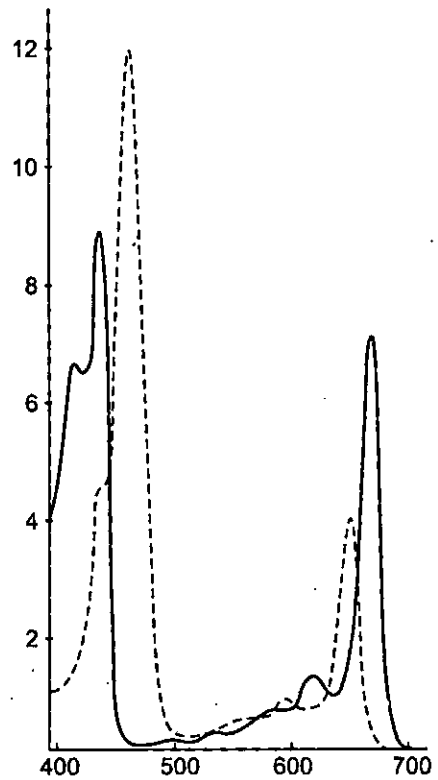
(trạng thái oxi hoá không màu)

(Chl : clorophin)

– Quang phổ hấp thụ của clorophin : Trong bước sóng ánh sáng nhìn thấy (400 – 700 nm) có hai vùng hấp thụ của clorophin : xanh lam (430nm) và đỏ (662 nm). Màu lục đặc trưng của clorophin là do kết quả của sự hấp thụ ở vùng quang phổ xanh lam và đỏ (hình 47b).

Năng lượng của lượng tử ánh sáng được clorophin hấp thụ đã kích thích phân tử clorophin và các dạng của phân tử sắc tố đã truyền năng lượng cho nhau, tạo nên các hiện tượng huỳnh quang và lân quang.

Cuối cùng các năng lượng tích luỹ được bởi các phân tử clorophin đã được chuyển cho các phản ứng quang hoá và được biến thành dạng năng lượng hoá học (chúng ta sẽ xét kĩ hơn sự hấp thụ năng lượng ánh sáng của clorophin ở phần giai đoạn quang lí của quang hợp).



Hình 47b – Quang phổ hấp thụ ánh sáng của clorophin a và b

b) Nhóm sắc tố vàng carotenoit. Đây là nhóm sắc tố vàng đến tím đỏ. Chúng được cấu tạo theo mạch nối đôi thẳng gồm 40 nguyên tử cacbon và 56 nguyên tử hiđro.

Nhóm carotenoit được chia thành hai nhóm nhỏ theo cấu trúc hoá học :

– Caroten ($C_{40}H_{56}$) là một loại cacbuahiđro chưa bão hoà, không tan được trong nước mà chỉ tan trong dung môi hữu cơ. Công thức cấu tạo gồm một mạch cacbon dài gồm 8 gốc izopren và hai đầu là một hoặc hai vòng ionon. Trong thực vật thường có ba loại : α, β, γ caroten. Cắt đôi β-caroten ta được hai phân tử vitamin A. Bước sóng hấp thụ của caroten ở 446 – 476 nm.

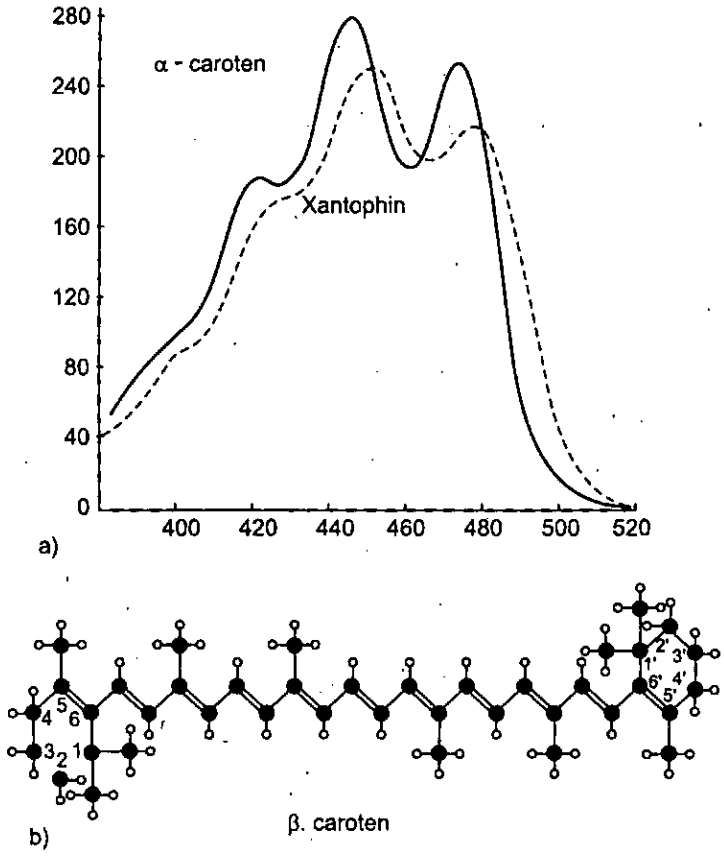
– Xantophin : $C_{40}H_{56}O_n$ (n = 1 – 6) là dẫn xuất của caroten. Vì nguyên tử oxi có thể là 1 đến 6 nên có nhiều loại xantophin : kriptoxathin ($C_{40}H_{56}O$), lutein ($C_{40}H_{56}O_2$), violaxanthin ($C_{40}H_{56}O_4$),... Các nguyên tử oxi liên kết trong các nhóm : hiđroxi, keto, epoxi, cacboxi, axetoxi, hoặc metoxi,...

Quang phổ hấp thụ của xantophin ở bước sóng : 451 – 481 nm (hình 48).

Người ta còn phân chia nhóm carotenoit thành hai nhóm nhỏ theo tính chất sinh học như sau :

– Nhóm carotenoit sơ cấp : làm nhiệm vụ hoạt động quang hợp hoặc bảo vệ.

– Nhóm carotenoit thứ cấp : chứa trong các cơ quan như hoa, quả, các cơ quan hoá già hoặc bị bệnh khi thiếu dinh dưỡng khoáng.



Hình 48 – Phổ hấp thụ của α-caroten và xantophin (a) và cấu trúc của β-caroten (b)

Vai trò của nhóm carotenoit, cho đến nay người ta mới chỉ biết như sau :

+ Lọc ánh sáng, bảo vệ clorophin.

+ Xantophin tham gia vào quá trình phân li H_2O và thải O_2 thông qua sự biến đổi từ violaxanthin ($C_{40}H_{56}O_4$) thành lutein ($C_{40}H_{56}O_2$).

+ Nhóm carotenoit, tham gia quá trình quang hợp bằng cách tiếp nhận năng lượng ánh sáng mặt trời và truyền năng lượng ánh sáng này cho clorophin và nó có mặt trong hệ thống quang hoá II.

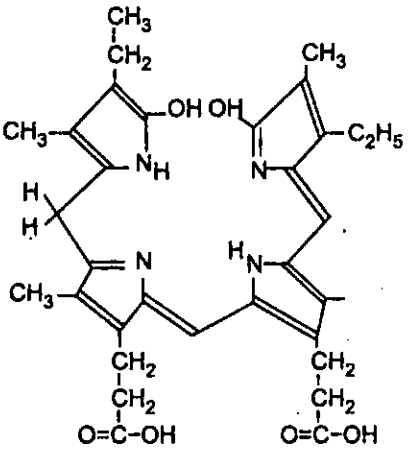
Về sự hình thành nhóm carotenoit, có giả thuyết cho rằng : có sự hình thành nhóm carotenoit từ các sản phẩm phân huỷ của clorophin (ở những cơ quan già hoặc thiếu dinh dưỡng khoáng). Tuy nhiên nhiều tác giả khác đã bác bỏ giả thuyết này.

c) Nhóm sắc tố xanh ở thực vật bậc thấp : phycobilin

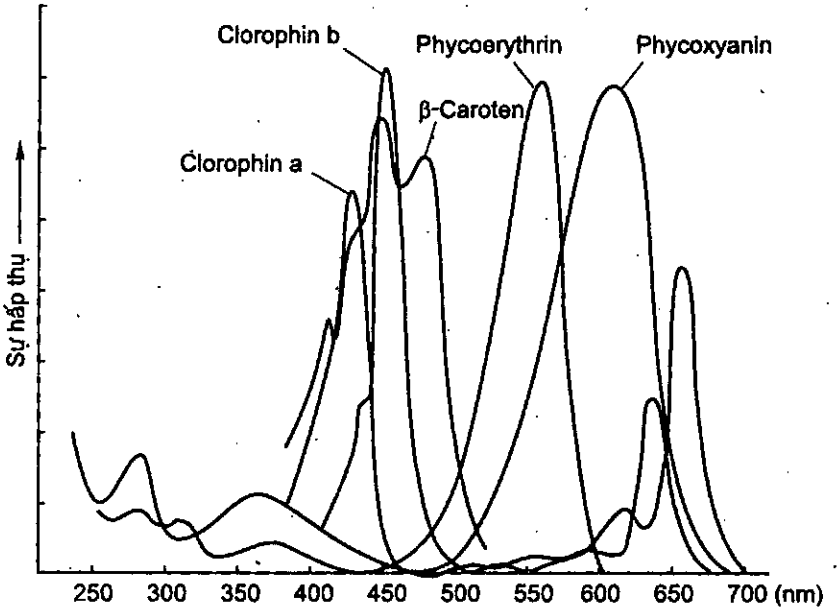
Nhóm sắc tố này rất quan trọng đối với tảo và các nhóm thực vật bậc thấp sống ở nước. Nhóm sắc tố này thích nước, trong tế bào chúng liên kết với protein, nên có tên gọi là biliprotein hay phycobiliprotein, gồm phycoerythrin ($C_{34}H_{47}N_4O_8$) và phycoxyanin ($C_{34}H_{42}N_4O_9$).

Công thức cấu tạo của nhóm sắc tố này gồm 4 vòng pyron xếp thẳng (không khép kín), nối với nhau bằng các cầu nối metyl (= CH –) (hình 49).

Quang phổ hấp thụ của nhóm sắc tố này ở vùng ánh sáng lục và vàng. Quang phổ hấp thụ cực đại trong dung dịch clorofooc của phycoerythrin ở 550 nm và của phycoxyanin ở 612 nm (hình 50).



Hình 49 – Cấu trúc của phycoerythrin



Hình 50 – Quang phổ hấp thụ của các sắc tố

Người ta đã xác nhận rằng : lượng tử ánh sáng do phycobiliprotein hấp thụ sẽ được chuyển đến clorophin để sử dụng cho quá trình quang hợp với hiệu suất cao. Hiện nay chưa biết rõ về các enzim và các sản phẩm trung gian của quá trình sinh tổng hợp phycobiliprotein. Chỉ biết rằng sự có mặt của nhóm sắc tố này trong tảo là một sự thích nghi trong quá trình tiến hoá của thực vật ở nước.

d) Các sắc tố dịch bào – nhóm antoxyan

Ngoài các sắc tố làm nhiệm vụ quang hợp, trong cây xanh còn có các sắc tố trong dịch bào màu đỏ, xanh, tím,... hợp thành nhóm sắc tố antoxyan. Antoxyan là loại glicozit trong đó gốc glucoz hay gamno liên kết với agliucon màu. Nó có cấu tạo giống với flavon và catexin.

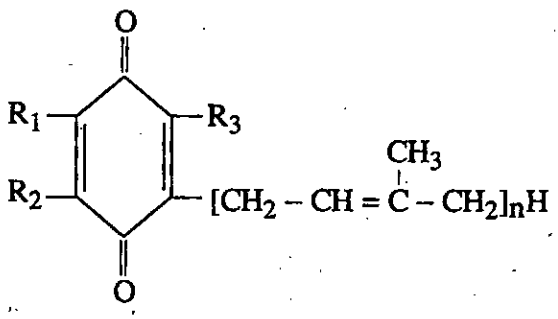
Trong phần lớn trường hợp, quang phổ hấp thụ của antoxyan bổ sung cho quang phổ hấp thụ của clorophin. Khi hấp thụ quang tử ánh sáng, nó biến năng lượng quang tử thành dạng nhiệt năng, sưởi ấm cho cây. Điều này giải thích tại sao những cây vùng lạnh lại có màu sắc sặc sỡ. Hàm lượng antoxyan và clorophin tỉ lệ nghịch với nhau, do đó có tác giả cho rằng antoxyan kìm hãm quang hợp. Tuy nhiên, nhiều công trình nghiên cứu khác lại thấy antoxyan liên quan đến khả năng hoạt động của khí khổng, do đó antoxyan làm tăng quang hợp do tăng hàm lượng CO_2 trong gian bào. Người ta còn thấy antoxyan làm tăng khả năng giữ nước của tế bào khi bị hạn và gió khô.

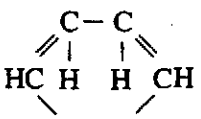
Tuy vậy vai trò quan trọng của nhóm sắc tố này còn biết rất ít, cần phải nghiên cứu tiếp.

4. Các thành phần trong chu trình truyền điện tử của bộ máy quang hợp

a) Các chinon của bộ máy quang hợp

Công thức chung :



Nhóm chinon	R_1	R_2	R_3	n
Ubichinon (coenzim Q)	$-OCH_3$	$-OCH_3$	$-CH_3$	6 – 10
Plastochinon	$-CH_3$	CH_3	H	9
Naftochinon (vitamin K)			CH_3	4 – 9

Tỉ lệ giữa chinon và clorophin trong bộ máy quang hợp khoảng 1/5. Quang phổ hấp thụ ở vùng tử ngoại (260 – 300 nm). Trong quá trình phát triển của lá, hàm lượng chinon tăng dần đến cực đại rồi giảm. Sự tổng hợp chinon phụ thuộc vào độ dài ngày, do đó hàm lượng của nó thay đổi theo mùa.

b) Các xitocrom

Cấu tạo các xitocrom (xit.) gần giống với cấu tạo phân tử clorophin, tức là cũng có vòng porphyrin, nhưng khác clorophin ở chỗ Fe hoá trị 2 thay cho nhân Mg và thiếu vòng xiclopentan.

Các xitocrom quan trọng nhất trong chu trình truyền điện tử của quang hợp là xitocrom dạng b (gồm xitocrom b_6 và b_3) và dạng c (gồm xictocrom f). Thế năng oxi hoá của xitocrom f là + 0,36V, của xitocrom b_6 là +0,06V. Quang phổ hấp thụ của xitocrom trong khoảng 500 – 600 nm. Do đó thường viết xitocrom 553, xitocrom 559. Tỉ lệ giữa xitocrom và clorophin trong bộ máy quang hợp khoảng 1/300 – 1/400.

c) Ferredoxin và ferredoxin -NADP - reductaza

Ferredoxin là dạng protein có thể hoà tan trong nước và dễ dàng thu được dưới dạng tinh thể. Thành phần nhóm này gồm có Fe và nhóm sunfit vô cơ. Từ khi phát hiện ra nhóm này (1952), người ta đã đặt cho nó nhiều tên khác nhau : nhân tố khử methemoglobin, nhân tố khử TPN (triphotphopyridinnucleotit), men quang hợp PNR (phyrodinnucleotitreductaza), nhân tố khử hemoglobin, men đỏ, ferredoxin trong bộ máy quang hợp. Tỉ lệ giữa ferredoxin và clorophin trong bộ máy quang hợp khoảng 1/400.

Ferredoxin – NADP – reductaza là flavoprotein điển hình với quang phổ hấp thụ cực đại 275, 385 và 456 nm. Khối lượng phân tử 40 000 – 45 000. Enzim này rất dễ tách ra từ đậu.

d) Plastoxyanin : là một protein gồm 2 nguyên tử Cu, liên kết chặt chẽ trong cấu trúc của lục lạp. Plastoxyanin khi ở dạng oxi hoá có màu xanh tím, dạng khử không màu. Dạng oxi hoá có quang phổ hấp thụ cực đại ở 597 nm.

Tỉ lệ giữa plastoxyanin và clorophin là 1/400.

5. Cơ sở cấu trúc của bộ máy quang hợp và khái niệm về đơn vị quang hợp

Các sắc tố chỉ có thể thực hiện được các phản ứng quang hợp hoàn chỉnh khi nó ở dạng *in vivo* (trong tế bào), tức là trong sự liên kết chặt chẽ với các phần tử cấu trúc khác của lục lạp. Vì vậy để hiểu cơ chế quang hợp cần thiết phải hiểu biết kĩ lưỡng, chi tiết cấu trúc quang học của lục lạp với các phức hệ hoạt động quang hợp của nó.

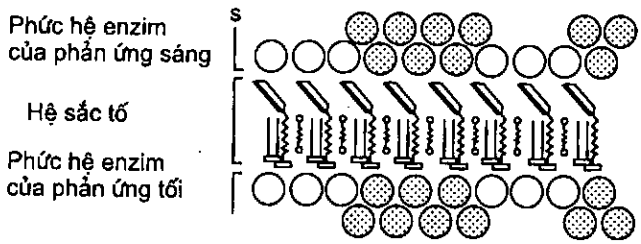
Mục đích của việc nghiên cứu cấu trúc của bộ máy quang hợp là làm rõ mấy vấn đề sau :

– Thành phần phân tử của cấu trúc đơn giản nhất có khả năng thực hiện các phản ứng quang hợp.

– Mức độ tổ chức tối thiểu của các đơn vị cấu trúc nói trên.

Ngay từ năm 1927 Lubimenco đã xác định rằng : clorophin tồn tại *in vivo* dưới nhiều dạng khác nhau và ngày nay người ta đã khẳng định rằng : Trong lục lạp clorophin liên kết chặt chẽ với protein và lipoit tạo thành một phức hệ, một cơ sở cấu trúc của bộ máy quang hợp với sự có mặt của các thành phần khác nữa như các sắc tố phụ, các enzim và các thành phần của hệ thống chuyển điện tử. Ta có thể minh hoạ điều này bằng sơ đồ cấu tạo một đơn vị màng của lục lạp, trong đó có các phức hệ enzim của phản ứng sáng và phản ứng khử CO_2 (hình 51).

Chính vì có sự liên kết với protein và lipoit nên sắc tố *in vivo* có quang phổ hấp thụ và huỳnh quang chuyển về phía có bước sóng dài hơn so với *in vitro* (ngoài tế bào, trong dung dịch).



Hình 51 – Cấu tạo đơn vị màng của lục lạp

Về khái niệm đơn vị quang hợp, ngay từ năm 1932, Emerson và Arnold, trong các thí nghiệm với tảo đơn bào *Chlorella*, đã thấy rằng : Trong các điều kiện tối ưu, để cố định một phân tử CO_2 cần phải có sự tham gia của 2500 phân tử clorophin. Sau đó, các tác giả khác khi nghiên cứu trên các đối tượng khác cũng thấy số phân tử clorophin cần thiết để cố định 1 phân tử CO_2 là 2500 – 4200. Từ đó đưa đến một khái niệm về đơn vị quang hợp, tức là bộ máy quang hợp cơ sở đặc trưng bởi 2500 phân tử clorophin cùng với các sắc tố khác, các enzim và các chất chuyền điện tử. Hiện nay đã nhất trí rằng : Đơn vị quang hợp có thể được hiểu là một đơn vị phức hệ sắc tố thực hiện đồng thời 3 nhiệm vụ :

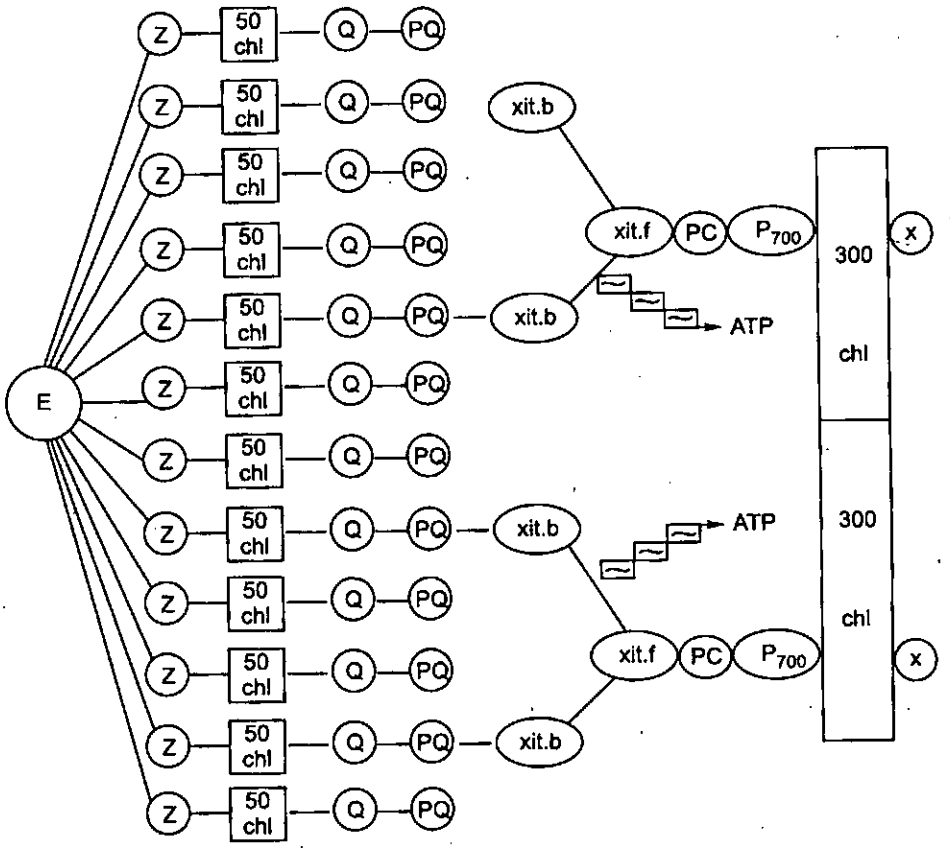
– Nhận một phân tử CO_2 (hay giải phóng một phân tử O_2).

– Chuyển một điện tử.

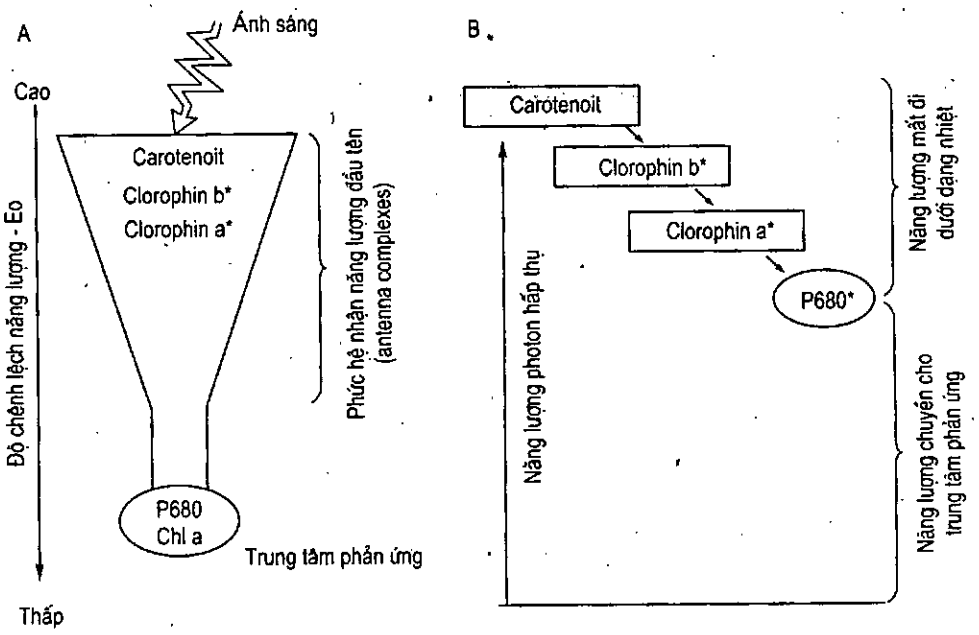
– Biến đổi năng lượng một quang tử thành dạng năng lượng hoá học.

Căn cứ vào độ lớn của đơn vị quang hợp do Emerson và Arnold đưa ra, Avron (1969) đã đề nghị đơn vị quang hợp gồm 2400 phân tử clorophin được sắp xếp theo 4 đơn vị nhỏ, mỗi đơn vị nhỏ gồm 600 phân tử clorophin (trong đó 300 thuộc hệ thống quang hoá I, 300 thuộc hệ thống quang hoá II) và 1 phân tử P_{700} thuộc hệ thống quang hoá I, theo mô hình giả thuyết ở hình 52a).

Một phần của đơn vị quang hợp nêu trên được mô tả như phức hệ ăngten quang hợp (hình 52b).



Hình 52a – Mô hình giả thiết về đơn vị quang hợp
(PQ : Plastoquinon ; PC : Plastoxyanin ; Chl : Clorophin ;
E : Đầu mối của các đơn vị nhỏ ; Z : Hợp chất truyền điện tử trung gian)



Hình 52b – Phức hệ ăngten quang hợp

III – BẢN CHẤT CỦA QUÁ TRÌNH QUANG HỢP

1. Các pha trong quá trình quang hợp

Với hai chữ quang hợp, ta có thể lầm tưởng rằng đây là quá trình phụ thuộc hoàn toàn vào ánh sáng và như vậy quang hợp chỉ gồm có các phản ứng quang hoá. Thực ra không phải như vậy. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy rằng : Ánh sáng không trực tiếp ảnh hưởng đến toàn bộ các phản ứng tham gia trong quá trình quang hợp, mà chỉ có vai trò quyết định ở giai đoạn đầu của quá trình, còn sau đó có một giai đoạn không trực tiếp chịu ảnh hưởng của ánh sáng. Đó là giai đoạn bao gồm các phản ứng enzim, gọi là các phản ứng tối. Những công trình nghiên cứu của Blackman cho thấy : Khi cường độ ánh sáng và nồng độ CO_2 tối ưu cho quang hợp, thì việc tăng cường độ ánh sáng và nồng độ CO_2 lên nữa, cường độ quang hợp cũng không tăng. Lúc này quang hợp chỉ phụ thuộc vào nhiệt độ và $Q_{10} \geq 2$. Như vậy rõ ràng là ngoài các phản ứng quang hoá ($Q_{10} = 1$), còn có các phản ứng tối là các phản ứng enzim ($Q_{10} \geq 2$), tức là các phản ứng phụ thuộc vào nhiệt độ.

Ngày nay, người ta chia quang hợp thành hai giai đoạn : Giai đoạn 1 có sự tham gia của ánh sáng bao gồm các quá trình hấp thụ ánh sáng và kích thích sắc tố, cùng với sự biến đổi năng lượng lượng tử thành các dạng năng lượng hoá học dưới dạng các hợp chất dự trữ năng lượng ATP và hợp chất khử $NADPH_2$. Giai đoạn này gọi là pha sáng của quang hợp. Giai đoạn 2 là giai đoạn không có sự tham gia trực tiếp của ánh sáng gồm có quá trình sử dụng ATP và các sản phẩm khác. Giai đoạn này gọi là pha tối của quang hợp.

Sau đây ta sẽ nghiên cứu chi tiết hơn các pha trong quá trình quang hợp.

2. Bản chất của pha sáng trong quang hợp

Như đã trình bày ở trên, pha sáng bao gồm các phản ứng đầu tiên kể từ lúc sắc tố hấp thụ năng lượng ánh sáng, sau đó dự trữ nó trong cấu trúc phân tử sắc tố dưới dạng năng lượng điện tử kích thích, đến các quá trình di trú năng lượng vào trung tâm phản ứng và cuối cùng từ đây năng lượng được biến đổi thành thế năng hoá học. Pha sáng có thể chia làm hai giai đoạn : Giai đoạn quang vật lí và giai đoạn quang hoá học.

a) Giai đoạn quang vật lí. Giai đoạn quang vật lí của quang hợp bao gồm quá trình hấp thụ năng lượng và sự di trú tạm thời năng lượng trong cấu trúc của phân tử clorophin.

Những nghiên cứu gần đây (Terenhin, Krasnopvxki, Rabinovich, Araen, Chance,...) đã chứng minh tính chất đúng đắn của luận điểm về sự tham gia của clorophin trong quá trình chuyển hoá quang năng thành hoá năng của Timiriazev.

Ta biết rằng ánh sáng là một dạng vật chất vừa có tính chất hạt (những phần năng lượng nhỏ bé gọi là photon hay quang tử, photon là một loại hạt cơ bản giống như proton và electron, nhưng không mang điện và có khối lượng vô cùng nhỏ bé), lại vừa có tính chất sóng (ánh sáng có các màu khác nhau thuộc các miền quang phổ khác nhau, có độ dài sóng và tần số nhất định). Khi ánh sáng chiếu vào vật thể, tức là các photon đập vào

vật thể thì các photon phải được vật thể hấp thụ và vật thể trở thành dạng kích động, lúc đó ánh sáng chiếu xuống mới có hiệu suất quang tử. Theo lí thuyết thì : Tỉ lệ giữa số photon chiếu xuống vật thể và số phân tử của vật thể bị kích động bằng 1, nhưng trong thực tế tỉ lệ này thường lớn hơn nhiều. Năng lượng của lượng tử ánh sáng phụ thuộc vào tần số dao động của bức xạ và được tính theo công thức sau :

$$E = h\nu = \frac{hC}{\lambda}$$

E : Năng lượng photon (tính bằng J)

h : Hằng số planck ($6{,}625.10^{-34}$J.s)

υ : Tần số bức xạ (1/s)

C : Vận tốc ánh sáng (3.10^{17} nm/s)

λ : Độ dài bước sóng (nm)

$1J = 6{,}25.10^{18}eV$

Theo đây ta có thể tính được năng lượng của 1 photon :

$$E = 1242 : \lambda \text{ (eV)}$$

Thông thường E được biểu thị bằng kcalo/mol của chất hấp thụ ánh sáng. Độ lớn năng lượng của photon do một mol của một chất hấp thụ (6.10^{23} khi chiếu sáng có độ dài sóng nhất định, được gọi là Einstein (E). E có ở quang phổ có độ dài sóng khác nhau thì khác nhau. Ví dụ λ = 700 nm thì E = 40,8 kcalo/mol ; λ = 400 nm thì E = 71 kcalo/mol.

Khi hấp thụ quang tử ánh sáng, điện tử của phân tử từ quỹ đạo cơ sở nhảy lên quỹ đạo xa hơn, ở đấy nó có mức năng lượng lớn hơn và lúc đó phân tử ở trạng thái kích động. Mức năng lượng của điện tử (e) lớn hay nhỏ phụ thuộc vào năng lượng của quang tử (lượng tử hay photon) mà nó hấp thụ. Nếu năng lượng của quang tử càng lớn thì e nhảy ra quỹ đạo càng xa, nghĩa là nó có mức năng lượng càng cao. Thời gian tồn tại của e trên mức năng lượng kích thích phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố khác nhau.

Đầu tiên phải lưu ý rằng : Trên cùng một mức năng lượng, không thể có số điện tử lớn hơn 2 (theo nguyên lí Paul) và chỉ có trong trường hợp nó có dấu spin ngược nhau. Vì bình thường tổng số spin của màng điện tử của nguyên tử bằng 0 (spin e là moment từ của sự chuyển động của e được biểu hiện bằng chiều quay của e quanh trục của nó) do khi quay quanh hạt nhân, e còn quay quanh trục của mình. Mỗi điện tử có giá trị spin bằng, +1/2 hoặc −1/2 tuỳ theo hướng quay. Nếu như trong một quỹ đạo nào đấy có 2 e thì spin của e này là +1/2 và e kia là −1/2 và nếu như tất cả các e trong nguyên tử đều cặp đôi thì spin tổng số bằng 0 và nguyên tử ở trạng thái không có biểu hiện moment từ của e (gọi là trạng thái singlet). Năng lượng của e trong trường hợp này không chuyển và phân chia cho các thành phần. Nếu như 2 e trên các quỹ đạo khác nhau của nguyên tử không cặp đôi thì có thể có trường hợp spin của chúng song song với nhau và lúc đó spin tổng số của phân tử bằng +1, 0 hoặc −1. Cả ba khả năng này hình thành nên khái niệm triplet (trạng

thái bền thứ cấp). Sự hình thành các e không cặp đôi là kết quả cơ bản của sự hấp thụ và chuyển năng lượng photon trong các quá trình quang hoá, tức là năng lượng photon trong trường hợp này dễ dàng được chuyển và phân chia cho các thành phần (hướng của spin + hoặc – được kí hiệu là ↑ hoặc ↓, spin 0 : ↑↓ và spin +1 : ↑↑ và spin –1 : ↓↓). Như vậy nếu khi nguyên tử hấp thụ photon, e chuyển lên mức năng lượng cao hơn mà vẫn giữ nguyên dấu spin thì nó có thể nhanh chóng quay về quỹ đạo ban đầu. Thời gian sống của trạng thái e kích thích trong trường hợp này phụ thuộc vào cấu tạo hoá học của phân tử.

Trong các phân tử với các liên kết đơn, bão hoà thì cần phải có những photon mang năng lượng cao (tia tử ngoại, tia Rơnghen) mới làm cho e nhảy từ quỹ đạo cơ sở lên quỹ đạo xa của trạng thái kích thích. Thời gian tồn tại ở trạng thái kích thích của e này rất ngắn (10^{-14}s).

Trong các phân tử chưa bão hoà thường hình thành những liên kết đôi do sự tham gia của các cặp e δ (đênta) để hình thành nên quỹ đạo δ (quỹ đạo này nằm cùng mặt phẳng với 2 nguyên tử tạo nên nó và quay quanh cả hai nhân). Bên cạnh cặp e δ còn có cặp e π (nằm vuông góc với mặt phẳng của 2 nguyên tử tạo nên nó). Quỹ đạo chuyển động của cặp e này lớn nên nằm xa nhân trung tâm, vì thế nó liên kết với nhân trung tâm yếu hơn so với e ở quỹ đạo δ, nên năng lượng để kích thích nó nhỏ hơn và nó dễ dàng nhảy lên quỹ đạo xa hơn so với e ở quỹ đạo δ.

Như vậy trong hệ thống của những liên kết đôi kết hợp có hai nhóm e : nhóm điện tử δ hình thành nên cái khung chắc chắn của những liên kết ổn định và nhóm điện tử π nằm trong hệ thống chuyển động thống nhất, phân bố theo toàn bộ khung liên kết.

Những hợp chất hữu cơ vòng, không bão hoà rất phổ biến và đặc trưng cho kiểu liên kết đôi kết hợp kín theo vòng nói trên, trong đó đặc biệt có những hợp chất hữu cơ vòng, dị nguyên tử (trong chúng có nhiều loại nguyên tử cấu tạo như N, O, H, C,...). Ở những hợp chất dị nguyên tử này có thể có e n. Các e n này chỉ nằm trên một nguyên tử chứ không tham gia vào việc hình thành liên kết giữa các nguyên tử (hoặc nếu có cũng rất yếu). Một trong những điện tử không bão hoà đó có thể chuyển lên mức năng lượng cao hơn chỉ cần nó hấp thụ photon mang năng lượng rất nhỏ. Năng lượng dùng để chuyển e từ quỹ đạo π lên π* rất gần với năng lượng dùng để chuyển e từ quỹ đạo n (quỹ đạo n do các e n hình thành) lên quỹ đạo π*.

Cả hai cách chuyển điện tử này là biểu hiện của trạng thái kích thích điện tử đặc trưng cho phân tử clorophin (một phân tử có hệ thống liên kết đôi kết hợp theo đường vòng và là một hợp chất dị nguyên tử).

Nói như vậy có nghĩa là khi tiếp nhận photon ánh sáng, phân tử clorophin trở thành trạng thái kích thích do kết quả của quá trình nhảy e từ $\pi \rightarrow \pi^*$ và từ $n \rightarrow \pi^*$. Thời gian sống của e trên mức năng lượng cao của những phân tử kiểu clorophin này lâu hơn so với các phân tử bão hoà, vào khoảng 10^{-9} đến 10^{-8} s. Nếu quá trình nhảy e kèm theo có sự đổi dấu spin e thì thời gian sống của e trên mức năng lượng cao có thể đến 10^{-2}s hoặc lâu hơn.

Như trên đã trình bày, thông thường khi e của phân tử bị kích thích có thể xảy ra 2 trường hợp : Trường hợp thứ nhất là trạng thái kích thích của e được coi là singlet (trạng thái không bền), nếu như khi chuyển e lên mức năng lượng cao hơn không kèm theo sự đổi dấu của spin điện tử. Quang phổ hấp thụ trong trường hợp này tương ứng với một vạch và được kí hiệu là S (π, π^*). Trường hợp thứ hai là trạng thái kích thích của e được gọi là triplet (bền ổn định hoặc bền thứ cấp), nếu như khi chuyển e lên mức năng lượng cao hơn có kèm theo sự đổi dấu của spin điện tử. Quang phổ hấp thụ trong trường hợp này tương ứng với 3 vạch và được kí hiệu là T(π, π^*). Có hai trạng thái kích thích singlet cơ bản, đặc trưng cho phân tử clorophin với hai mức năng lượng khác nhau, tuỳ theo mức năng lượng của photon hấp thụ. Một trong chúng được kí hiệu là S_a (π, π^*) có thể bị kích thích nhờ ánh sáng đỏ, có bước sóng λ = 680 nm. Còn trạng thái kia kí hiệu là S_b (π, π^*) có mức năng lượng cao hơn, được kích thích nhờ ánh sáng xanh, có bước sóng λ = 430 nm.

Trạng thái triplet thường có được nhờ sự biến đổi từ singlet khi e từ mức năng lượng kích thích trở về mức năng lượng thấp hơn hoặc về trạng thái cơ sở. Còn từ trạng thái cơ sở chuyển lên trạng thái triplet thì ít xảy ra, vì cần phải có một năng lượng kích thích rất lớn.

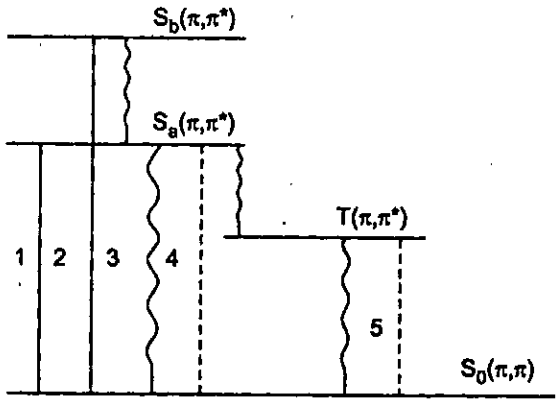
Sự chuyển e từ trạng thái kích thích về các trạng thái khác thể hiện rõ qua các hiện tượng huỳnh quang và lân quang của phân tử clorophin. Hiện tượng huỳnh quang và lân quang là đặc điểm quang học của nhiều chất. Huỳnh quang là sự phát sáng ngắn hạn và tắt đi đồng thời và sự tắt nguồn sáng kích thích. Khác với huỳnh quang, lân quang là sự phát sáng dài hơn và còn tiếp tục phát sáng sau khi nguồn sáng kích thích đã tắt.

Nguyên nhân của hiện tượng huỳnh quang là do năng lượng phát ra dưới dạng sóng điện từ khi chuyển e từ trạng thái kích thích singlet về trạng thái cơ sở. Thời gian huỳnh quang của phần lớn các phân tử hữu cơ là 10^{-9} đến 10^{-6}s. Làm mất hoạt tính của trạng thái kích thích còn xảy ra bằng con đường không phát ra tia sáng, gọi là con đường không bức xạ. Trong trường hợp này, năng lượng của photon được e hấp thụ có thể được biến đổi thành dạng nhiệt. Có thể có sự truyền không bức xạ từ trạng thái singlet này sang trạng thái singlet khác có mức năng lượng nhỏ hơn, hoặc từ trạng thái singlet sang trạng thái triplet. Người ta thấy trạng thái triplet chủ yếu được hình thành bằng con đường này.

Từ trạng thái triplet đến trạng thái cơ sở có thể xảy ra bằng con đường bức xạ hoặc không bức xạ. Chính sự chuyển từ trạng thái triplet đến trạng thái cơ sở bằng con đường bức xạ (con đường phát ra sóng điện từ), tạo ra hiện tượng lân quang. Trong quá trình chuyển này có sự đổi dấu spin e và thời gian sống của e khi lân quang dài từ 10^{-3} đến 10^{-1} s.

Như vậy rõ ràng là huỳnh quang và lân quang đều là những dạng năng lượng do kết quả của quá trình làm mất hoạt tính của phân tử clorophin bằng con đường bức xạ. Dạng năng lượng này chỉ được sử dụng khi nó được các sắc tố khác hấp thụ. Hiện tượng huỳnh quang và lân quang là hiện tượng truyền năng lượng giữa các phân tử sắc tố.

Sau đây là sơ đồ về mức năng lượng của phân tử clorophin trong các trạng thái kích thích khác nhau khi hấp thụ photon ánh sáng theo Terenhin (hình 53).



Hình 53 – Sơ đồ mức năng lượng của phân tử clorophin trong các trạng thái kích thích khác nhau khi hấp thụ photon ánh sáng (theo Terenhin).
1. Vạch hấp thụ ở vùng ánh sáng đỏ : $\lambda = 680$ nm
2. Vạch hấp thụ ở vùng ánh sáng xanh : $\lambda = 430$ nm
3. Truyền không bức xạ – thải nhiệt
4. Huỳnh quang ; 5. Lân quang

Đến đây, theo sơ đồ của Terenhin về các mức năng lượng singlet và triplet của e kích thích khi phân tử clorophin hấp thụ năng lượng ánh sáng, thì ở trạng thái triplet (bền thứ cấp) gắn liền với sự đổi dấu spin e và thời gian sống dài hơn (10^{-5} đến 10^{-1} s) là trạng thái mà phân tử clorophin với năng lượng tích luỹ được có thể tham gia vào các phản ứng quang hoá với khả năng phản ứng cao. Cụ thể là phân tử clorophin có khả năng tham gia trong quá trình vận chuyển hiđro và e của hệ thống trung gian tới CO_2. Quá trình biến đổi trạng thái của sắc tố ở giai đoạn quang vật lí có thể tóm tắt như sau :

Chl	+	hv	$\rightleftharpoons$	Chl*	$\rightleftharpoons$	Chl^{v}
Clorophin ở trạng thái bình thường		*Năng lượng ánh sáng*		*Clorophin ở trạng thái kích thích*		*Clorophin ở trạng thái bền thứ cấp (biraddican)*

Sau khi hoàn thành giai đoạn vật lí, Clorophin tham gia vào giai đoạn quang hoá học.

b) Giai đoạn quang hoá học

Đây là giai đoạn clorophin sử dụng năng lượng photon hấp thụ được vào các phản ứng quang hoá để hình thành nên các hợp chất dự trữ năng lượng và các hợp chất khử. Giai đoạn này gồm có quá trình quang hoá khởi nguyên, quá trình quang phân li H_2O và quá trình photphorin hoá vòng và không vòng. Ta lần lượt xét các quá trình này.

– Quá trình quang hoá khởi nguyên

Đây là quá trình hình thành thuận nghịch clorophin khử bởi các phản ứng sáng 1 và phản ứng sáng 2. Có thể tóm tắt quá trình này như sau :

+ Quang khử clorophin và oxi hoá chất cho e :

$$AH_2 + .Chl^{v} \rightleftharpoons Chl^{-} + .AH_2^{+} \rightleftharpoons .ChlH + AH \rightleftharpoons A + ChlH_2$$

+ Clorophin chuyển e cho chất nhận và trở về trạng thái ban đầu :

$$.Chl^{-} + B \rightleftharpoons .Chl + .B^{-} \text{ (phản ứng nhanh)}$$

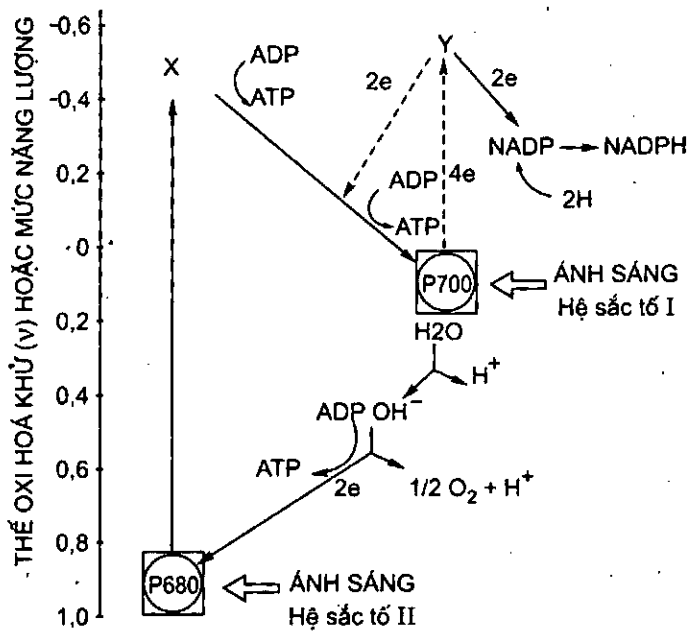
$$.ChlH. + B \rightleftharpoons Chl + .BH \text{ (phản ứng chậm)}$$

và $$ChlH_2 + B \rightleftharpoons Chl + BH_2$$

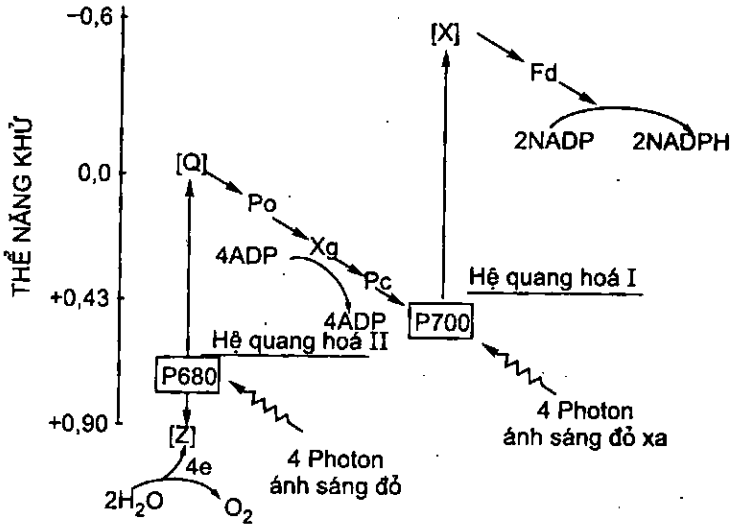
(AH_2 : chất cho điện tử và hiđro ; B : chất nhận e ; Chl : Clorophin ; $.Chl^{-}$: ion gốc tự do)

Sự chuyển e và hiđro được tiến hành cùng với sự tham gia của một hệ thống các chất truyền e phức tạp. Đó là những chất chứa Fe dạng hem như xitocrom f, xitocrom b_6, xitocrom b_3 và dạng không hem như : ferredoxin, plastoxyanin, plastquinon,... chuỗi truyền e này nằm trong hai hệ thống quang hoá : Hệ thống quang hoá I (PSI) và hệ thống quang hoá II (PSII) và quá trình truyền e được thực hiện bởi hai phản ứng sáng : phản ứng sáng 1 và phản ứng sáng 2.

Sau đây là sơ đồ của các con đường truyền điện tử của hai hệ thống quang hoá (hình 54a, b, c, d).

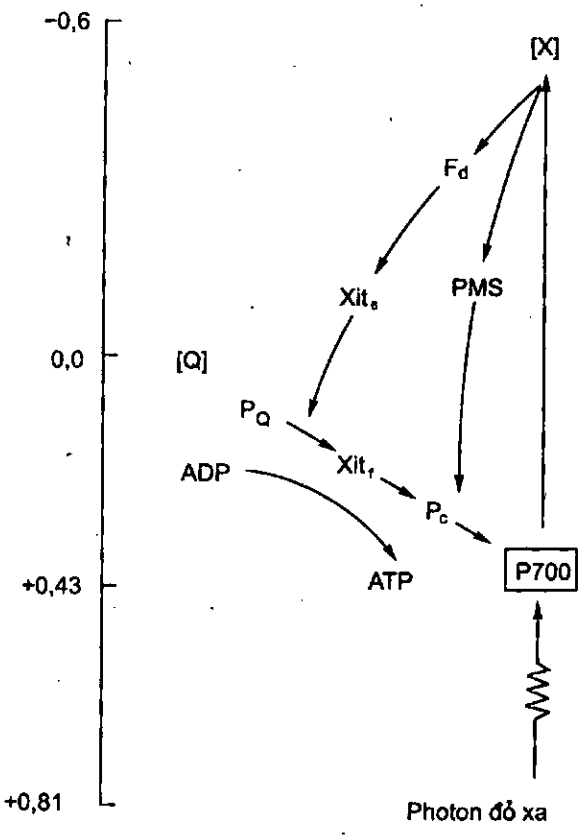


Hình 54a – Sơ đồ Z của quá trình photphorin hoá vòng và không vòng.
X, Y : Các chất nhận điện tử ; X : Plastoquinon ; Y : Ferrepedoxin ; e : Điện tử
——— Quang photphorin hoá vòng hở
– – – Quang photphorin hoá vòng



Hình 54b – Sơ đồ Z của con đường chuyển e trong quang hợp

Theo các sơ đồ này thì sự truyền điện tử có thể thực hiện theo hai con đường : con đường vòng kín được thực hiện bởi hệ sắc tố sóng dài, bao gồm clrophin a có cực đại hấp thụ ở bước sóng $\lambda = 680 - 700$ nm và P_{700} là trung tâm phản ứng của phản ứng sáng 1. Chất nhận e đầu tiên của PSI là P_{430} (một chất cho đến nay còn chưa được xác định chắc chắn). Thành phần của chu trình truyền e ở đây là ferredoxin, xitocrom b_6, xitocrom f. Điện tử từ P_{700} đi ra rồi cuối cùng lại trở về P_{700} để khép kín chu trình. Kết quả của con đường truyền e này là sự hình thành các phân tử ATP. Con đường không vòng (vòng hở hay vòng không khép kín) thực hiện bởi hệ sắc tố sóng ngắn và cả sóng dài, bao gồm clorophin a có cực đại hấp thụ ở bước sóng $\lambda < 680$ nm và các sắc tố phụ khác. P_{680} là trung tâm phản ứng của phản ứng sáng 2. Chất nhận điện tử đầu tiên của PS II là C_{550} (một chất cho đến nay cũng chưa xác định chắc chắn). Thành phần của chu trình truyền điện tử ở đây là : plastoquinon và xitocrom. Điện tử từ P_{680} đến chất nhận C_{550}, qua plastoquinon, xitocrom f rồi đến P_{700} của

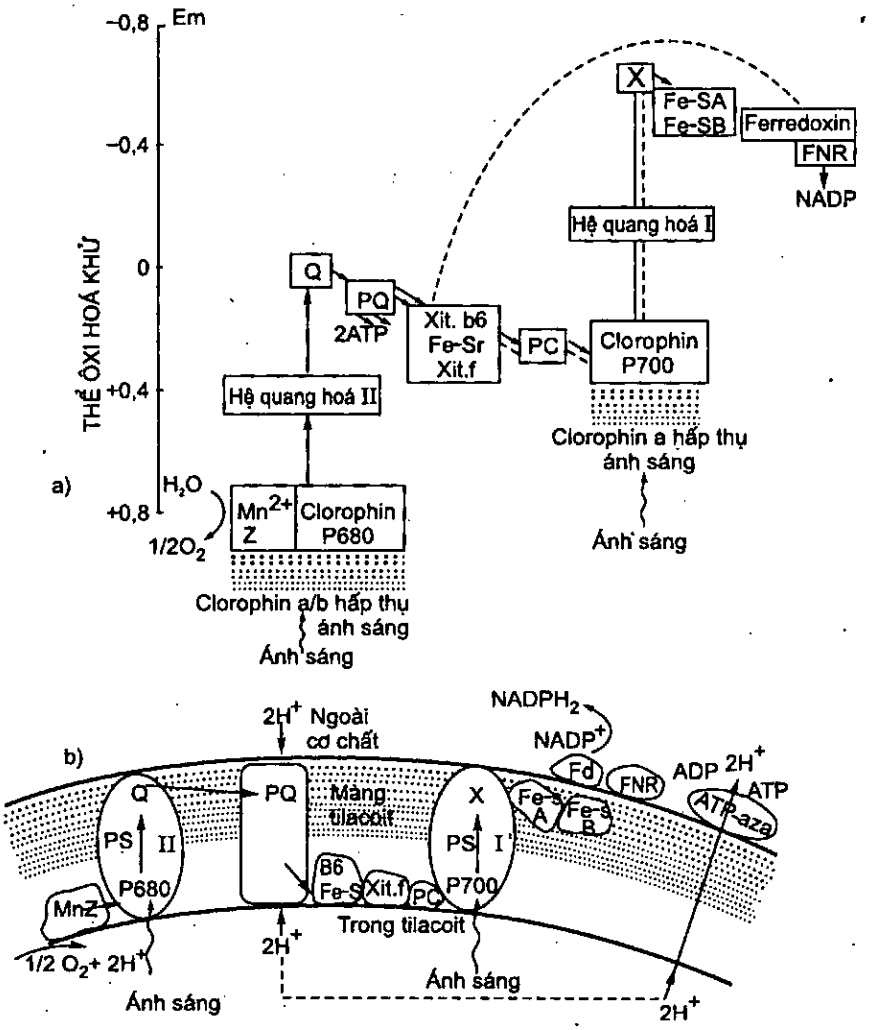


Hình 54c – Hệ nquang hoá.I (PSI)

PSI mà không trở về để khép kín chu trình. Điện tử bù lại cho P_{680} được lấy từ H_2O qua quá trình quang phân li H_2O để giải phóng O_2 và e, cũng như H^+. Vì vậy kết quả của chu trình truyền điện tử không vòng này là sự hình thành không những ATP mà còn giải phóng O_2 và hình thành sản phẩm khử $NADPH_2$.

Các công trình mới nhất hiện nay về cơ chế quang hợp đang tìm cách xác định chính xác các thành phần của hai hệ thống quang hoá (thành phần sắc tố, thành phần truyền điện tử, các chất nhận điện tử đầu tiên, thứ tự các chất trong dây chuyền điện tử, cũng như sự định vị các chu trình truyền điện tử trong màng quang hợp (màng của tilacoit).

– Quá trình quang phân li H_2O



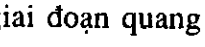
Hình 54d – Sơ đồ truyền điện tử trong lục lạp (a). Các thành phần của chuỗi truyền điện tử (e) qua màng tilacoit (b)

Đường liền (——) là chu trình truyền điện tử không vòng từ H_2O đến $NADPH_2$.
Đường (– – –) là chu trình truyền điện tử vòng của PSI ; Z ; chất cho e đầu tiên PSII ;
Q : chất nhận e đầu tiên của PSII ; PQ : plastoquinon ; Fe –SB : Rieske protein ;
PC : Plastoxyanin ; X : chất nhận e đầu tiên của PSI ; Fe –SA và Fe –SB trung tâm Fe và S ;
FNR : Ferredoxin-NADP-reductaza ; Chl : clorophin

Bằng phương pháp đồng vị phóng xạ (O^{18}), ngày nay người ta đã xác định được rằng O_2 giải phóng ra trong quá trình quang hợp ở cây xanh là O_2 từ H_2O chứ không phải từ CO_2 như trước đây quan niệm. Như vậy là trong giai đoạn quang hoá xảy ra quá trình phân li H_2O gắn liền với hoạt động của PS II và phản ứng sáng 2 như đã nêu ở trên.

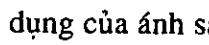
Cơ chế của quá trình quang phân li H_2O nhờ tác dụng của ánh sáng được hấp thụ bởi clorophin được biểu diễn như sau :

Clorophin hấp thụ 4 photon ánh sáng để trở thành trạng thái kích thích :



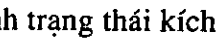
$$4Chl + 4h\nu \rightarrow 4Chl^*$$

– Clorophin ở trạng thái kích thích tham gia vào quá trình phân li H_2O :



$$4Chl^* + 2H_2O \rightarrow 4ChlH^+ + O_2 + 4e$$

Có thể tóm tắt như sau :



$$2H_2O \xrightarrow[Chl]{h\nu} 4H^+ + O_2 + 4e$$

Tuy nhiên quá trình quang phân li H_2O hiện nay còn nhiều vấn đề chưa rõ. Chẳng hạn như trình tự các phản ứng dẫn đến sự thải O_2 tự do ? Ngoài clorophin, còn những chất nào tham gia vào việc phân li H_2O (Carotenoit ? Vitamin K ? Xitocrom f ?). Sự phân li H_2O này có nhất thiết phải thực hiện ở ngoài ánh sáng hay không ?

Một điều chắc chắn là quá trình phân li H_2O là một quá trình rất quan trọng, nhờ đó mà phản ứng sáng 2 có nguồn H^+ cho việc hình thành $NADPH_2$ (một trong hai sản phẩm của pha sáng).

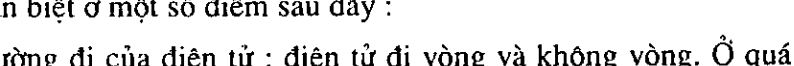
– Quá tình photphorin hoá quang hoá

Ngoài tác nhân khử $NADPH_2$, để tổng hợp đường và các chất hữu cơ khác, cần thiết phải có năng lượng trong các liên kết photphat cao năng ATP được hình thành trong các phản ứng sáng 1 và phản ứng sáng 2, tức là trong các chu trình photphorin hoá vòng và không vòng.

Khi e giàu năng lượng truyền từ sản phẩm trung gian về clorophin qua các xitocrom đã giải phóng ra một phần năng lượng của mình cho ADP (7 kcalo/mol – 10 kcalo/mol) và ADP cùng với photpho vô cơ tạo thành ATP. Trong quá trình photphorin hoá vòng, năng lượng của lượng tử ánh sáng hoàn toàn được tích luỹ trong ATP. Cho đến nay số lượng ATP được hình thành trong quá trình vẫn chưa rõ. Một số công trình nghiên cứu cho rằng : Nói chung cứ một photon hấp thu trong quá trình có khả năng hình thành được từ 1 đến 3 ATP và có thể có 2 điểm tạo ra ATP. Đó là điểm từ ferredoxin đến xitocrom b_6 và điểm từ xitocrom b_6 đến xitocrom f. Vì thấy rằng sự chênh lệch thế năng oxi hoá khử giữa các chất truyền e trung gian này khá lớn (0,4 và 0,39 eV).

Ở thực vật, bên cạnh quá trình photphorin hoá vòng, trong quang hợp còn có quá trình photphorin hoá không vòng và đây mới là cơ chế năng lượng cơ bản của cây xanh. Trong quá trình này, năng lượng e cũng được giải phóng và tích luỹ trong ATP ở điểm

giữa plastoquinon và xitocrom f. Điểm cần chú ý trong quá trình này là năng lượng ánh sáng không chỉ tích luỹ trong ATP mà còn cả trong $NADPH_2$ do phối hợp với quá trình phân li H_2O giải phóng H^+ để khử NADP thành $NADPH_2$. Sơ đồ đơn giản của quá trình photphorin hoá không vòng có thể được viết như sau :



$$2NADP + 3ADP + 2H_2O + 3H_3PO_4 \xrightarrow[Chl]{h\nu} 2NADPH_2 + 3ATP + O_2$$

Một điều chú ý là quá trình photpho hoá quang hoá và quá trình photphorin hoá oxi hoá về mặt cơ chế hình thành ATP từ ADP và P vô cơ là giống nhau, chỉ khác là quá trình photphorin hoá quang hoá thực hiện được nhờ năng lượng photon ánh sáng và xảy ra ở lục lạp, còn quá trình photphorin hoá oxi hoá thực hiện được nhờ năng lượng của quá trình oxi hoá bản thể và xảy ra ở ti thể.

Tóm lại, quá trình biến đổi năng lượng trong quá trình quang hợp ở cây xanh, chủ yếu được tiến hành do hai phản ứng photphorin hoá vòng và không vòng. Hai phản ứng này được phân biệt ở một số điểm sau đây :

+ Con đường đi của điện tử : điện tử đi vòng và không vòng. Ở quá trình clorophin hoá vòng : e của clorophin qua dãy chuyền e rồi lại trở về clorophin để khép kín chu trình ; còn ở quá trình photphorin hoá không vòng : e từ clorophin chuyển đến khử NADP và e trở về clorophin là e của H_2O.

+ Về sản phẩm của quá trình : Quá trình photphorin hoá vòng chỉ tạo thành ATP, trong khi quá trình photphorin hoá không vòng tạo ra ATP, $NADPH_2$ và O_2.

+ Hệ sắc tố tham gia 2 quá trình : Ở quá trình photphorin hoá vòng, hệ sắc tố tham gia vào PSI là hệ sắc tố sóng dài ($\lambda = 680 - 700$ nm).

Ở quá trình photphorin hoá không vòng, hệ sắc tố tham gia vào PS II là hệ sắc tố sóng ngắn và cả sóng dài ($\lambda < 680$ nm).

Tất nhiên để xúc tiến quá trình quang hợp tốt, cần phải có sự phối hợp nhịp nhàng cả hai quá trình này. Nếu giả sử chỉ xảy ra mạnh quá trình photphorin hoá không vòng thì cây xanh sẽ thiếu ATP và quá trình hình thành glucoz bị ảnh hưởng và sản phẩm chủ yếu sẽ là protein, các axit hữu cơ, axit béo. Đây có thể là con đường chủ yếu của những thực vật tích luỹ protein, axit hữu cơ, axit béo. Vì ở những cây này người ta thấy hàm lượng clorophin b – (thành phần của PS II) lớn hơn so với các cây khác.

Cuối cùng cho thấy rằng : quá trình photphorin hoá không vòng tiến hoá hơn quá trình photphorin hoá vòng, vì quá trình này chỉ gặp ở thực vật bậc cao và nó sử dụng cả hai hệ thống quang hoá, cũng như cho các sản phẩm phong phú hơn.

Như vậy, nhờ hấp thụ năng lượng ánh sáng, clorophin đã tạo ra được "lực đồng hoá" (ATP, $NADPH_2$) cho quá trình khử CO_2 ở pha tối.

3. Bản chất của pha tối trong quang hợp – con đường cacbon trong quang hợp

Ngày nay đã biết hai cơ chế chính của việc cố định CO_2 trong quang hợp, tức là quá trình khử CO_2 bởi ATP và $NADPH_2$ để đưa nó vào các hợp chất hữu cơ. Sự khác nhau giữa hai cơ chế này được biểu hiện ở những điểm sau :

– Hợp chất đầu tiên trong đó CO_2 được cố định khác nhau.

– Chất nhận đầu tiên CO_2 khác nhau.

Thông thường người ta gọi tên các cơ chế cố định CO_2 (chu trình cacbon) này theo tên tác giả phát hiện ra nó hoặc theo sản phẩm đầu tiên mà CO_2 được cố định.

a) Chu trình Calvin hay chu trình C_3

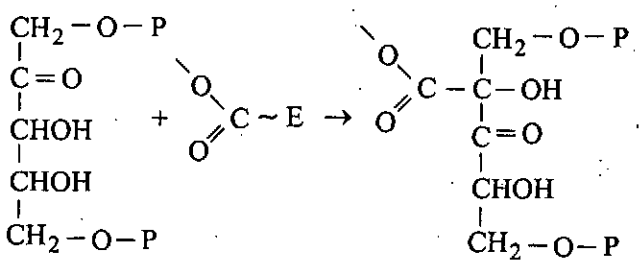
Chu trình cố định CO_2 này do nhà bác học Mĩ Calvin đưa ra từ 1951 và đứng vững cho đến nay. Cơ sở của chu trình là axit photphoglixeric (sản phẩm đồng hoá độc nhất mang C^{14} sau 2 giây đưa $C^{14}O_2$ vào huyền phù tảo *Chlorella*). Sau đó nhờ có ATP hình thành trong quá trình photphorin hoá quang hoá cung cấp năng lượng, axit photphoglixeric biến đổi thành axit diphotphoglixeric, sau đó lại bị khử bởi $NADPH_2$ thành alđehyt photphoglixeric. Chu trình tiếp tục sẽ tạo thành các đường trioz, hexoz, heptoz để cuối cùng phục hồi chất nhận pentoz, nhận CO_2 và khép kín chu trình.

Như vậy chu trình Calvin gồm 3 giai đoạn :

– Giai đoạn 1 : Giai đoạn cacboxi hoá : ở giai đoạn này CO_2 bị khử để hình thành nên sản phẩm đầu tiên của quang hợp là axit photphoglixeric.

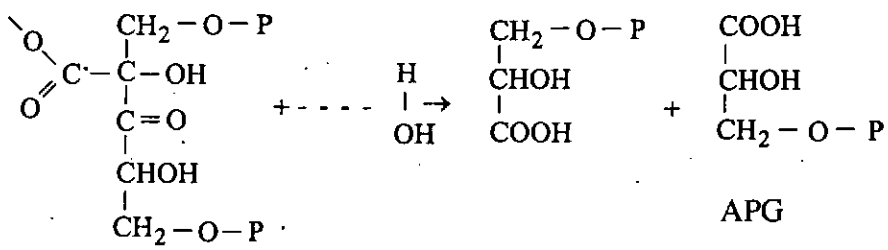
Giai đoạn này gồm các phản ứng sau đây :

1. Ribulozodiphotphat (RiDP) được cacboxi hoá với sự xúc tác của enzim ribubozo 1,5 diphotphat - cacboxilaza để hình thành sản phẩm đầu tiên của quang hợp : axit photphoglixeric (APG) :

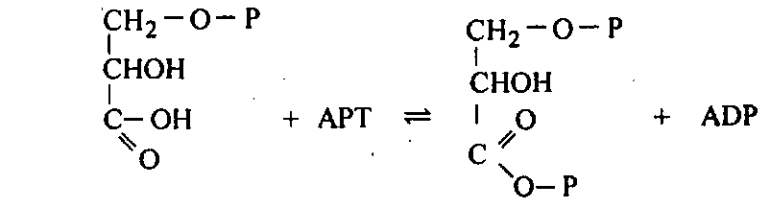


RiDP + CO_2 → cacboxi - ketopeltitol điphotphat

Cacboxi-ketopeltitol diphophat không bền, nên nhanh chóng phân chia thành 2 axit photphoglixeric (APG):

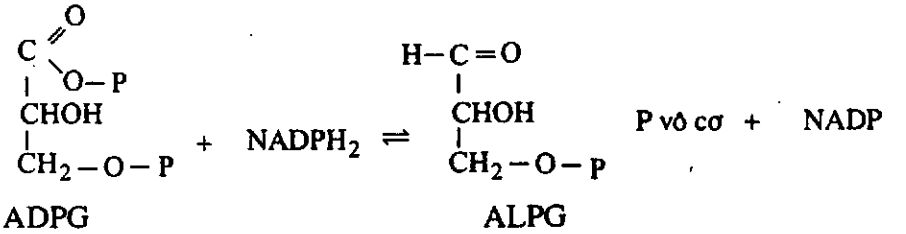


2. Axit photphoglixeric nhờ có enzim photphoglixeratkianaza nên được photphorin hoá thành axit 1,3 diphotphoglixeric :



– Giai đoạn 2 là giai đoạn khử : Giai đoạn này axit diphotphotglixeric (ADPG) bị khử để tạo thành aldehit-photphoglixeric (ALPG) với sự tham gia của $NADPH_2$:

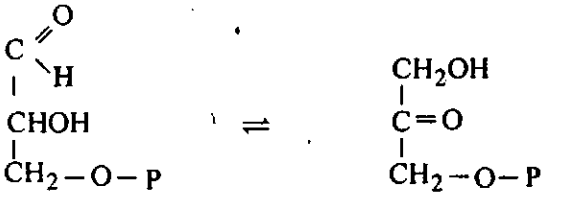
3. Phản ứng xảy ra với sự tham gia của enzim glixeraldehitphotphatdehiđrogenaza :



ADPG ALPG

– Giai đoạn 3 là giai đoạn phục hồi chất nhận ribulozodiphotphat :

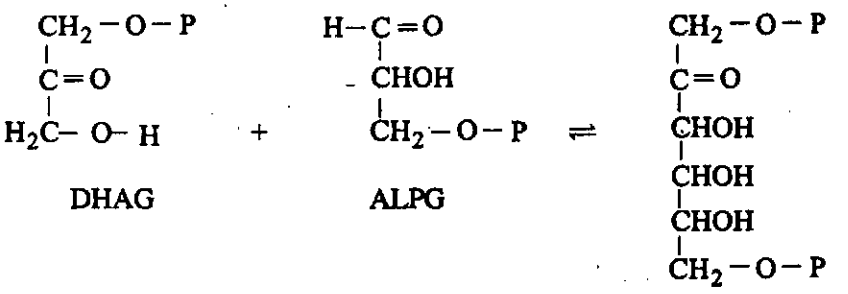
4. ALPG được enzim triozophotphatizomeraza xúc tác, đã đồng phân hoá thành ketotriozophotphat-dihiđroxiaxetonphotphat (DHAP).



DHAP

Triozo P hình thành đã tạo điều kiện cho các phản ứng aldol hoá để tổng hợp nên các monosaccarit với 4 hoặc 7 cacbon.

5. Photphotrioz dưới sự xúc tác của enzim fructoz diphotpho-aldolaza hình thành nên hexoz-fructoz 1,6 DP (FDP) :

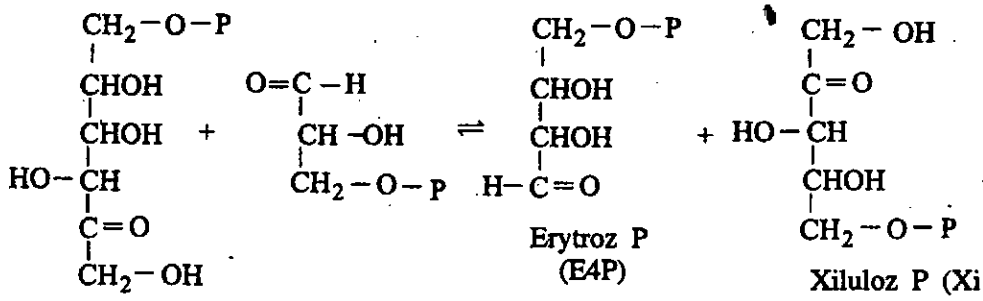


DHAG ALPG FDP

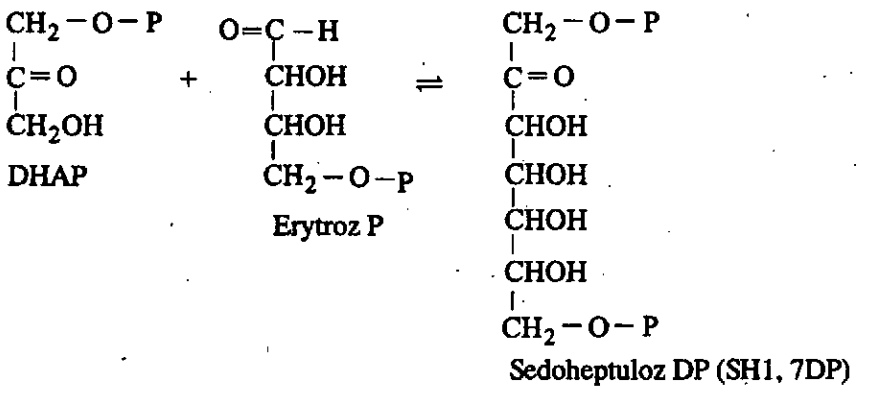
6. FDP dưới tác dụng của enzim fuctoz 1,6 diphotphataza hình thành fructoz P :

$$F - 1,6\ DP + HOH \rightarrow FP + P\ vô\ cơ$$

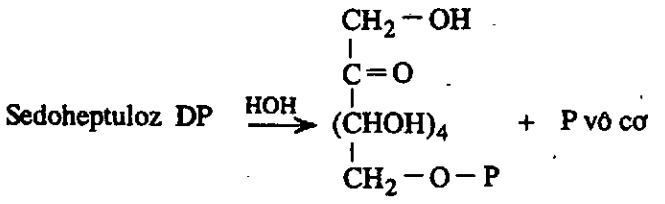
7. Enzim transketolaza chuyển nhóm keto (CH_2OHCO) từ FP đến nhóm aldehyt của ALPG để hình thành nên đường pentoz đầu tiên (xiluloz P) và erytrozo P :



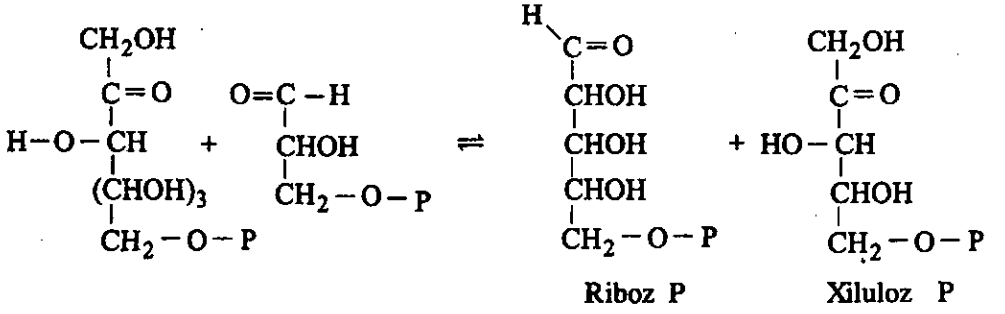
8. Erytroz P dưới dạng của enzim sedoheptuloz diphotphataldolaza đã kết hợp với DHAP thành sedoheptulozo DP (SeDP) :



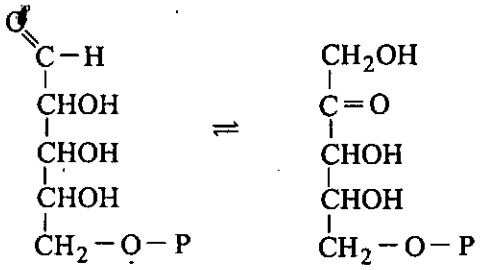
9. SeDP dưới tác dụng của enzim sedoheptuloz diphotphataza đã thuỷ phân thành sedoheptuloz P :



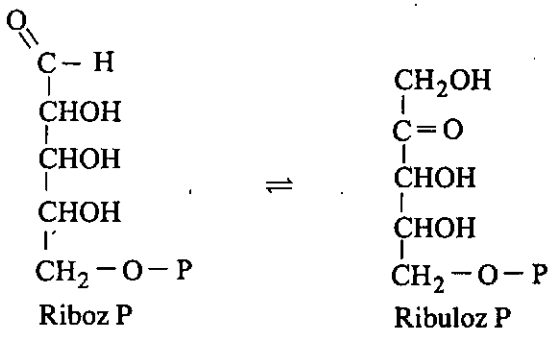
10. Enzim transketolaza lại chuyển nhóm keto của sedoheptuloz P về nhóm aldehyt của ALPG và tạo thành 2 phân tử pentoz :



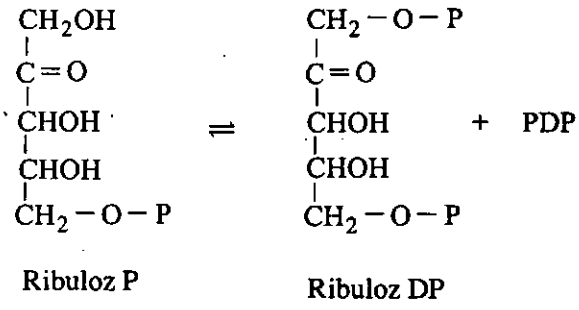
11. Trong các phản ứng 7 và 10 đã hình thành nên các pentoz P. Các pentoz này lại đồng phân hoá thành các ribuloz P. Còn xiluloz P thì dưới tác dụng của enzim ribuloz-P-epimeraza cũng hình thành nên ribuloz P :



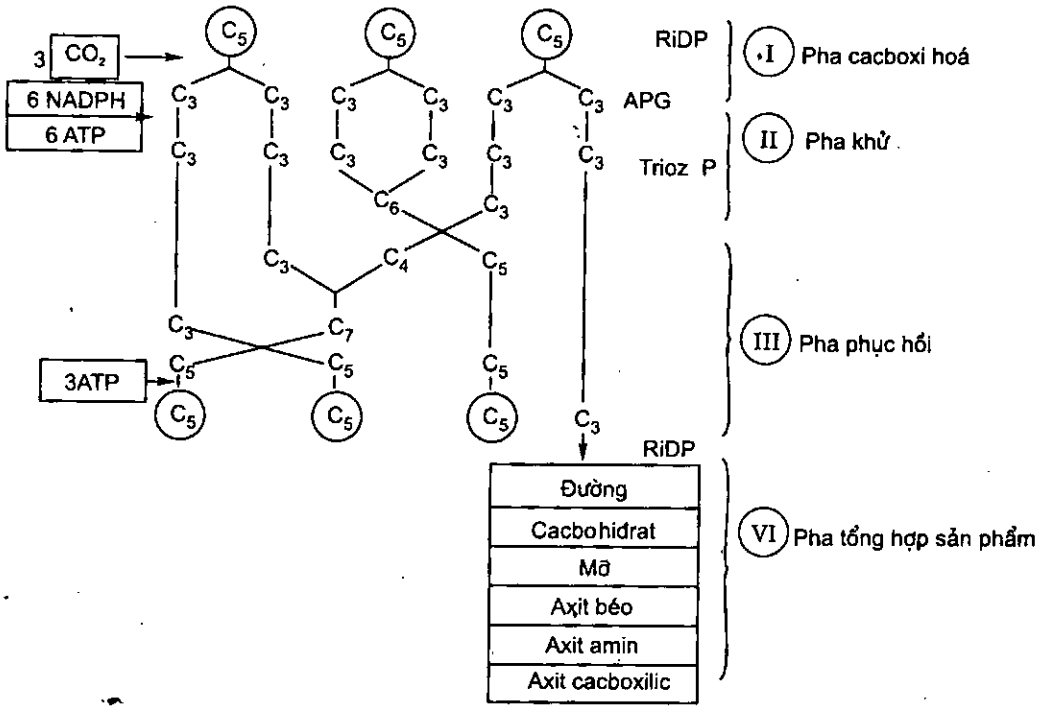
12. Riboz P (ở phản ứng 10) nhờ enzim riboz–photphatizomeraza chuyển thành ribuloz P :



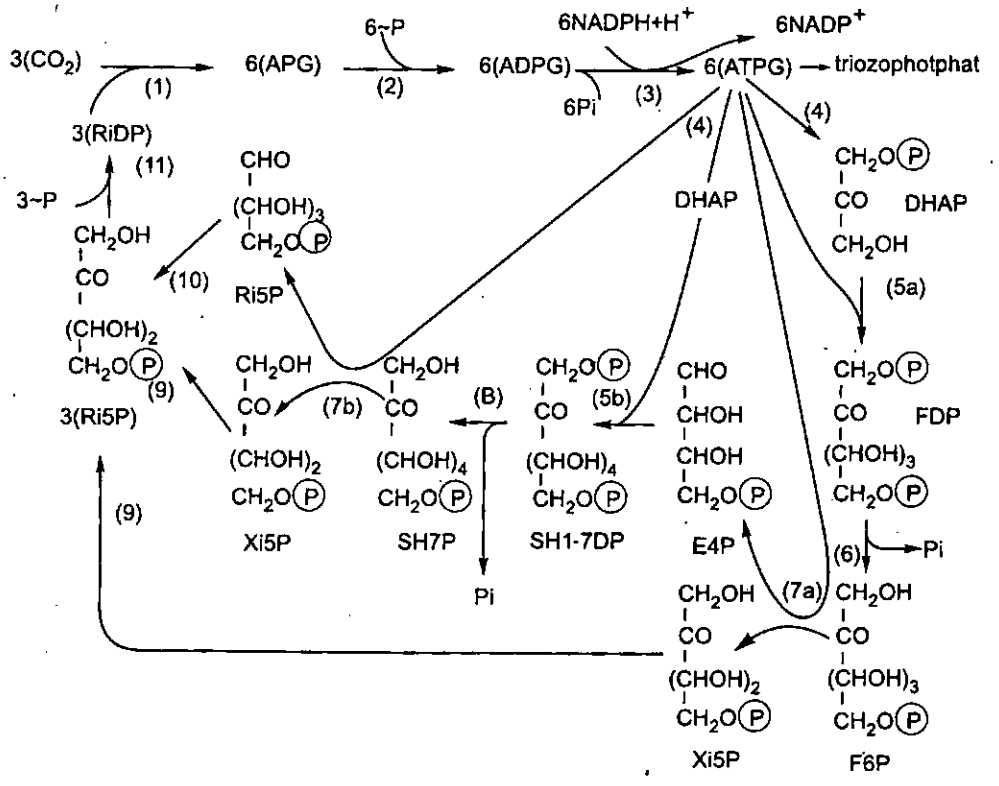
13. Các ribuloz P trong phản ứng cuối cùng đã nhờ enzim ribuloz photphokinaza hình thành các ribuloz DP :



Đến đây RiDP lại được cacboxi hoá (phản ứng 1) và chu trình lặp lại, khép kín. Có thể minh hoạ các phản ứng của 3 giai đoạn trên của chu trình Calvin bằng các sơ đồ sau đây (hình 55 a, b, c).

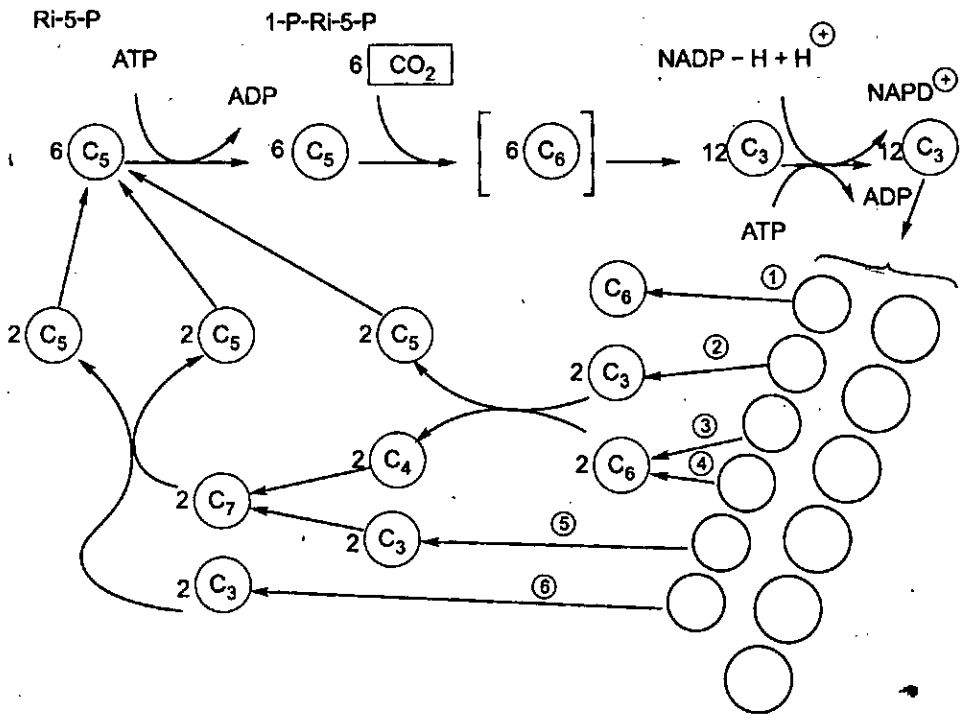


Hình 55a – Sơ đồ tóm tắt các phản ứng của chu trình cố định CO_2 quang hợp theo Calvin



Hình 55b – Chu trình Calvin

(1) Ribulozdiphotphatcacboxilaza ; (2) Photphatglixeralkinaza ; (3) Triozphotphatdehiđrogenaza ; (4) Triozophotphatizomeraza ; (5) Aldolaza ; (6) Fructozodiphotphataza ; (7) Transketolaza ; (8) Sedoheptulozodiphotphataza ; (9) Ribulozophotphatepimeraza ; (10) Ribulozophotphatizomeraza.



Hình 55c – Chu trình Calvin (dạng sơ đồ)

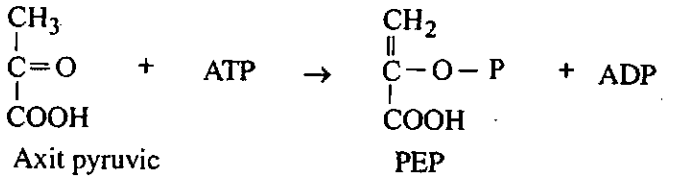
b) Chu trình Hatch và Slack – chu trình C_4 hay chu trình axit dicacboxilic

Từ khi phát hiện ra chu trình Calvin, người ta coi đây là chu trình độc nhất về con đường cacbon trong quang hợp ở thực vật. Đến 1965, Hatch và Slack (hai nhà bác học Ôxtrâylia) thấy là ngoài chu trình Calvin, xảy ra ở phần lớn thực vật bậc cao, bậc thấp và vi khuẩn quang hợp, còn thấy quá trình cố định CO_2 xảy ra theo con đường khác ở một số thực vật nhiệt đới như : mía, ngô, cỏ lồng vực, cỏ gấu, rau dền,... ở những thực vật này, trong lục lạp enzim ribulozodiphotphatcacboxilaza là loại hoạt động rất yếu hoặc không hoạt động. Thay vào đó enzim photphoenolpyruvat cacboxilaza lại hoạt động rất mạnh. Vì vậy sản phẩm đầu tiên của quang hợp ở các thực vật này không phải là axit photphoglixeric, mà là các axit oxaloaxetic, malic, aspartic. Các axit này gồm 4 nguyên tử cacbon trong phân tử, nên còn gọi chu trình này là chu trình C_4 và những thực vật có con đường cacbon theo chu trình này gọi là thực vật C_4, khác với chu trình C_3 và thực vật C_3 (axit photphoglixeric có 3 nguyên tử C trong phân tử). Chu trình C_4 còn gọi là chu trình axit dicacboxilic, vì sản phẩm đầu tiên là những hợp chất có hai nhóm caboxyl.

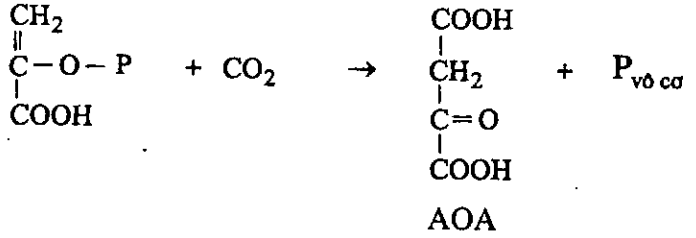
Chu trình C_4, không có quá trình cacboxi hoá RiDP, nhưng có nối tiếp với chu trình Calvin và có quá trình tổng hợp monosacarit như chu trình Calvin. Như vậy chu trình Hatch và Slack có thể chia làm 2 chu trình nhỏ : chu trình 1 (cacboxi hoá axit photphoenolpyruvic và chu trình 2 (tổng hợp monosaccarit).

– Chu trình cacboxi hoá

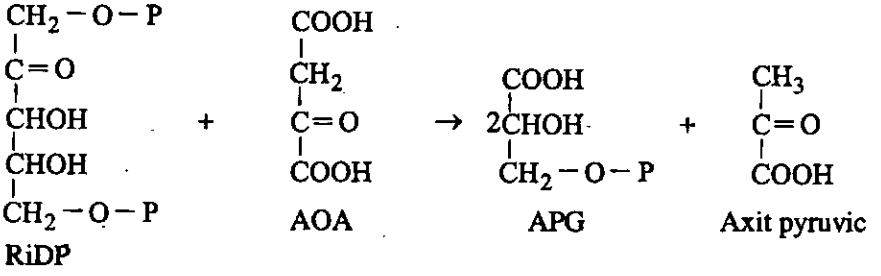
1. Axit pyruvic (AP) dưới tác dụng của enzim pyruvatphotphodikinaza, bị photphorin hoá, hình thành axit photphoenolpyruvic (PEP) :



2. Axit photphoenolpyruvic dưới tác dụng của enzim photphoenolpyruvatcacboxilaza, xảy ra quá trình cacboxi hoá tạo nên axit oxaloaxetic (AOA)

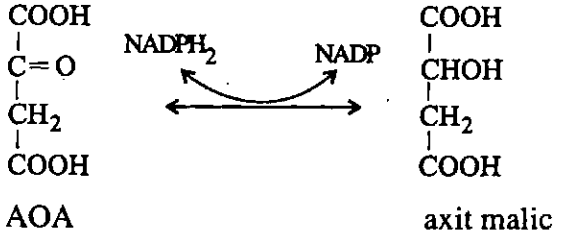


3. RiDP từ chu trình 2 đã chuyển caboxi hoá (lấy nhóm cacboxyl – COO của axit oxaloaxetic) để hình thành nên 2 phân tử axit photphoglixeric. Các axit này đi vào chu trình 2, bị khử tiếp tục để hình thành nên các triozophotphat. Phần còn lại của axit oxaloaxetic là axit pyruvic :

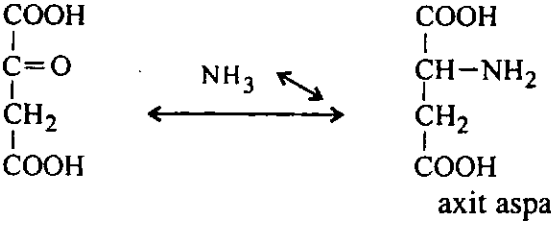


Đến đây axit pyruvic lại tiếp tục chu trình theo phản ứng 1 và 2 để khép kín chu trình 1.

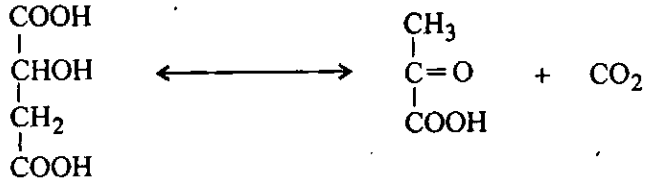
4. AOA có thể bị khử bởi NADP–malatdehiđrogenaza để hình thành axit malic :



5. AOA cũng có thể được amin hoá thành axit aspartic :

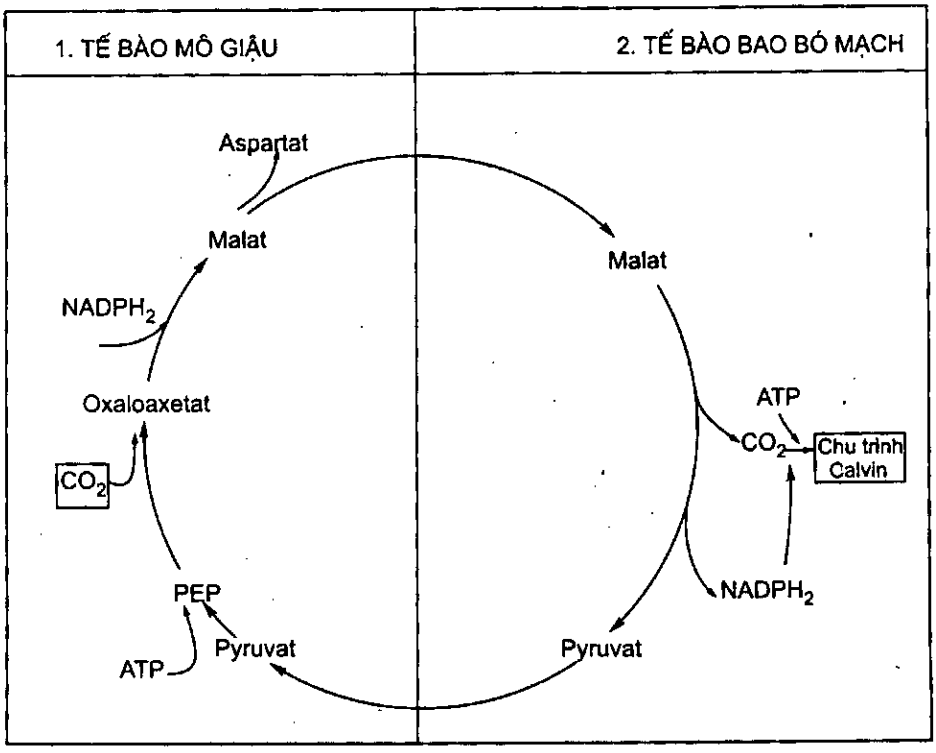


6. Axit malic dưới tác dụng của enzim malatdehiđrogenaza, xảy ra quá trình decacboxi hoá và biến đổi thành axit pyruvic :

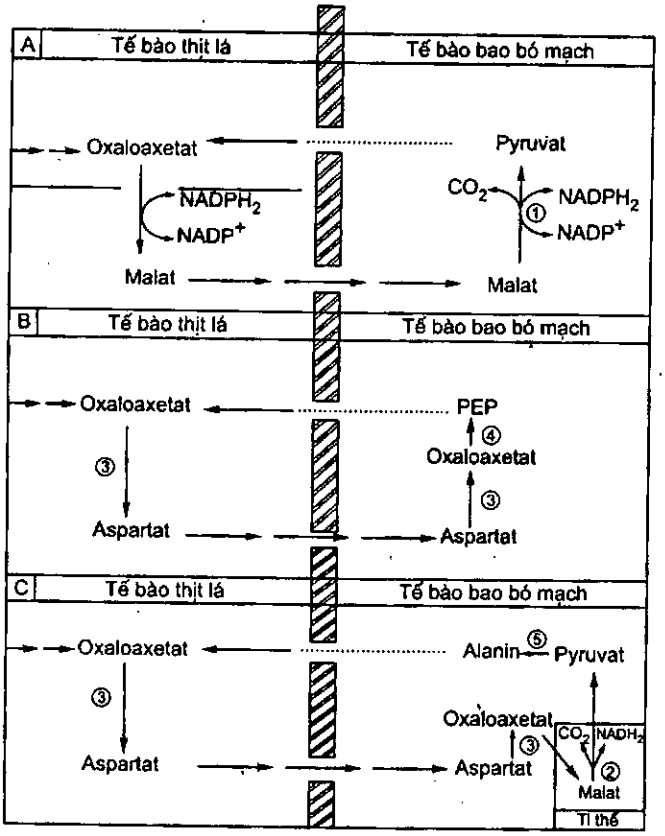


– *Chu trình 2 (chu trình tổng hợp monosaccarit) :* Chu trình này hoàn toàn giống chu trình Calvin – Benson. Một điều đáng lưu ý là ở các thực vật C_4 có hai dạng lục lạp với cấu trúc và chức năng khác nhau : lục lạp của tế bào mô và lục lạp của tế bào bao bó mạch. Hai chu trình 1 và 2 của chu trinh Hatch và Slack được định vị về mặt không gian hai dạng lục lạp này. Chu trình 1 (chu trình cacboxi hoá), xảy ra ở lục lạp của tế bào mô giậu, còn chu trình 2 (chu trình hình thành monosaccarit) xảy ra ở lục lạp tế bào bao bó mạch.

Các sơ đồ sau đây minh hoạ hai chu trình nhỏ của chu trình C_4 cũng như sự định vị về mặt không gian của nó (hình 56 a, b, c).



Hình 56a – Chu trình cố định CO_2 ở thực vật C_4



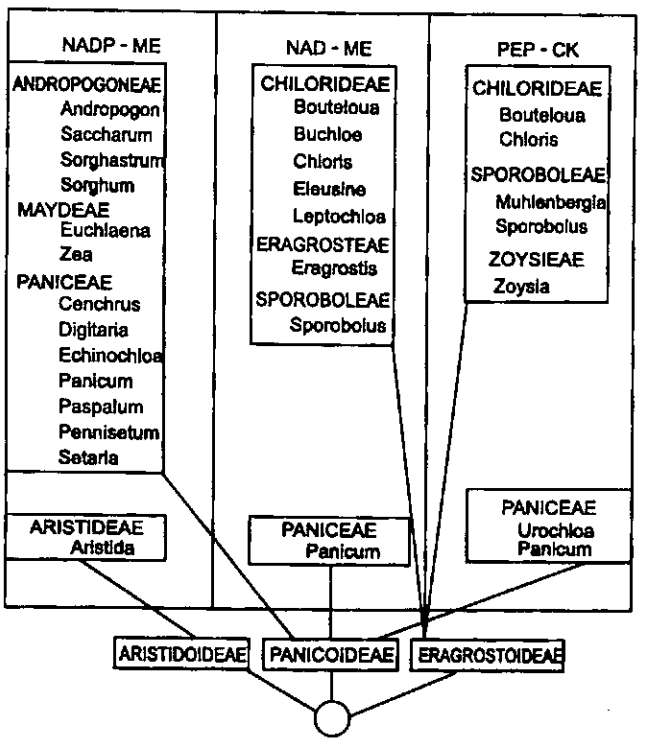
Hình 56b – Sơ đồ con đường C của các nhóm thực vật C_4

A : Các loài C_4 của nhóm NADP – malat enzim (NADP – ME)

B : Các loài C_4 của nhóm PEP – Cacboxikinaza (PEP – CK)

C : Các loài C_4 của nhóm NAD – malat enzim (NAD – ME)

1. NADP – malic enzim ;
2. NAD – malic enzim ;
3. Aspartat aminotransferaza ;
4. PEP – cacboxikinaza ;
5. Alanin aminotransferaza.



Hình 56c – Các nhóm thực vật C_4 theo NADP – ME ; NAD – ME ; PEP – CK

c) Con đường cacbon ở thực vật CAM (Crassulaceae Acid Metabolism – trao đổi axit ở họ Thuốc bỏng)

Bên cạnh các thực vật C_4 (về hình thái, giải phẫu thích nghi với sự thay đổi điều kiện môi trường nóng, ẩm thay đổi liên tục) còn tồn tại một dạng thực vật khác là dạng CAM, thích ứng rất tốt với khí hậu khô nóng kéo dài. Những thực vật này có xu hướng sao cho cơ thể tiếp xúc với môi trường ở một bề mặt nhỏ nhất, vì như vậy sẽ giảm đến mức tối thiểu sự mất nước. Tuy nhiên, đồng thời với sự giảm diện tích tiếp xúc thì cũng giảm cả sự trao đổi khí giữa thực vật và môi trường. Đây là một mâu thuẫn của thực vật CAM và mẫu thuẫn này đã được giải quyết bằng cách thay đổi con đường cố định CO_2 trong quang hợp, như trong trường hợp của thực vật C_4, khi nồng độ CO_2 trong môi trường quá trình thấp.

Như vậy bên cạnh con đường cacbon của thực vật C_3, C_4, còn có con đường cacbon của thực vật CAM (các nhóm cây mọng nước như dứa, xương rồng, các cây vùng sa mạc,...).

Khác với thực vật C_4 nếu như ở thực vật C_4, con đường cố định CO_2 được phân biệt về mặt không gian, thì ở CAM được phân biệt về mặt thời gian. Quá trình cacboxi hoá sơ cấp xảy ra vào ban đêm, khi các khí khổng mở, còn quá trình tổng hợp đường lại xảy ra vào ban ngày. Sau đây là mô hình so sánh về không gian và thời gian của quá trình cố định CO_2 ở thực vật C_4 và CAM :

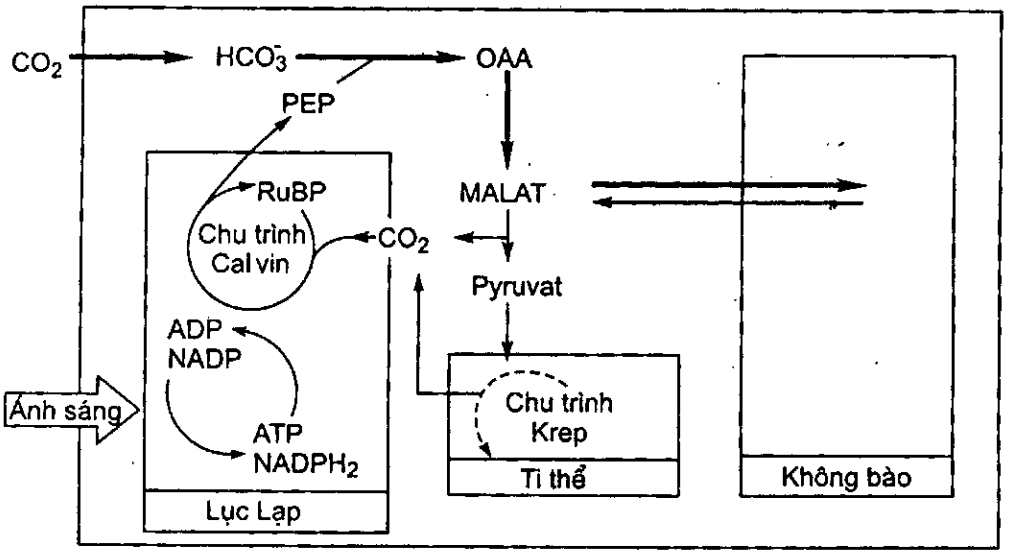
Sự tổng hợp $[CH_2O]$	Cacboxi hoá sơ cấp
Lục lạp tế bào bao bó mạch	Lục lạp tế bào mô giậu
C_4	

Sự tổng hợp $[CH_2O]$	Cacboxi hoá sơ cấp
Ban ngày	Ban đêm
CAM	

Sản phẩm đầu tiên của sự cố định CO_2 ở thực vật CAM là axit malic. Bradbeer thấy rằng : $C^{14}O_2$ trong tối đã đi vào con đường cacboxi hoá để hình thành nên axit malic. Có hai quá trình cacboxi hoá trong tối : quá trình cacboxi hoá RiDP và quá trình cacboxi hoá PEP theo sơ đồ sau :

$$\text{Chu trình pentoz} \rightarrow \text{RiDP} \xrightarrow{CO_2} \text{APG} + \text{APG} \rightarrow \text{PEP} + \text{PEP} \xrightarrow{CO_2} \text{axit malic}$$

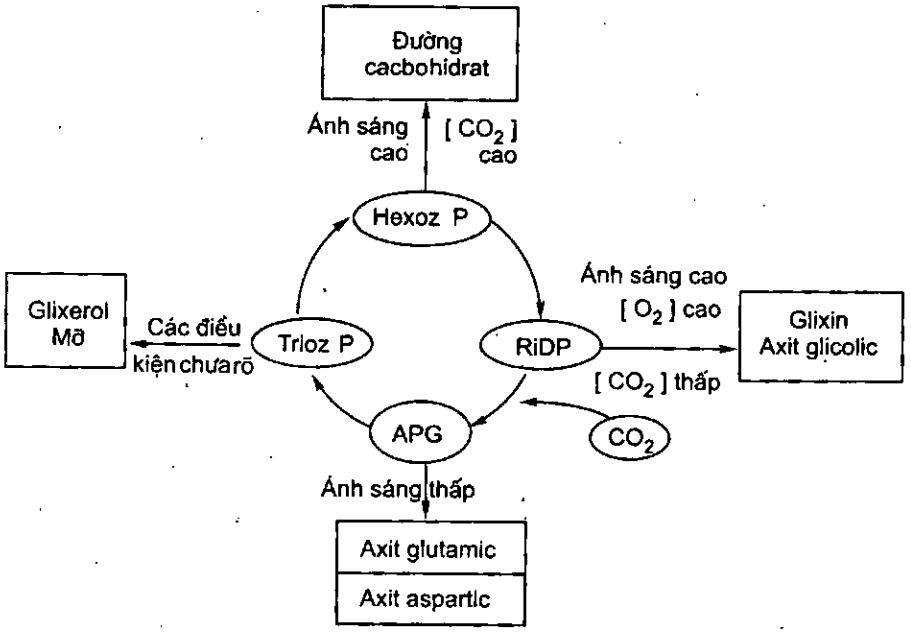
Có thể dẫn ra sơ đồ chi tiết về con đường cố định CO_2 ở CAM trong tối và ngoài sáng bằng sơ đồ sau (hình 57).



Hình 57 – Sơ đồ cố định CO_2 ở thực vật CAM

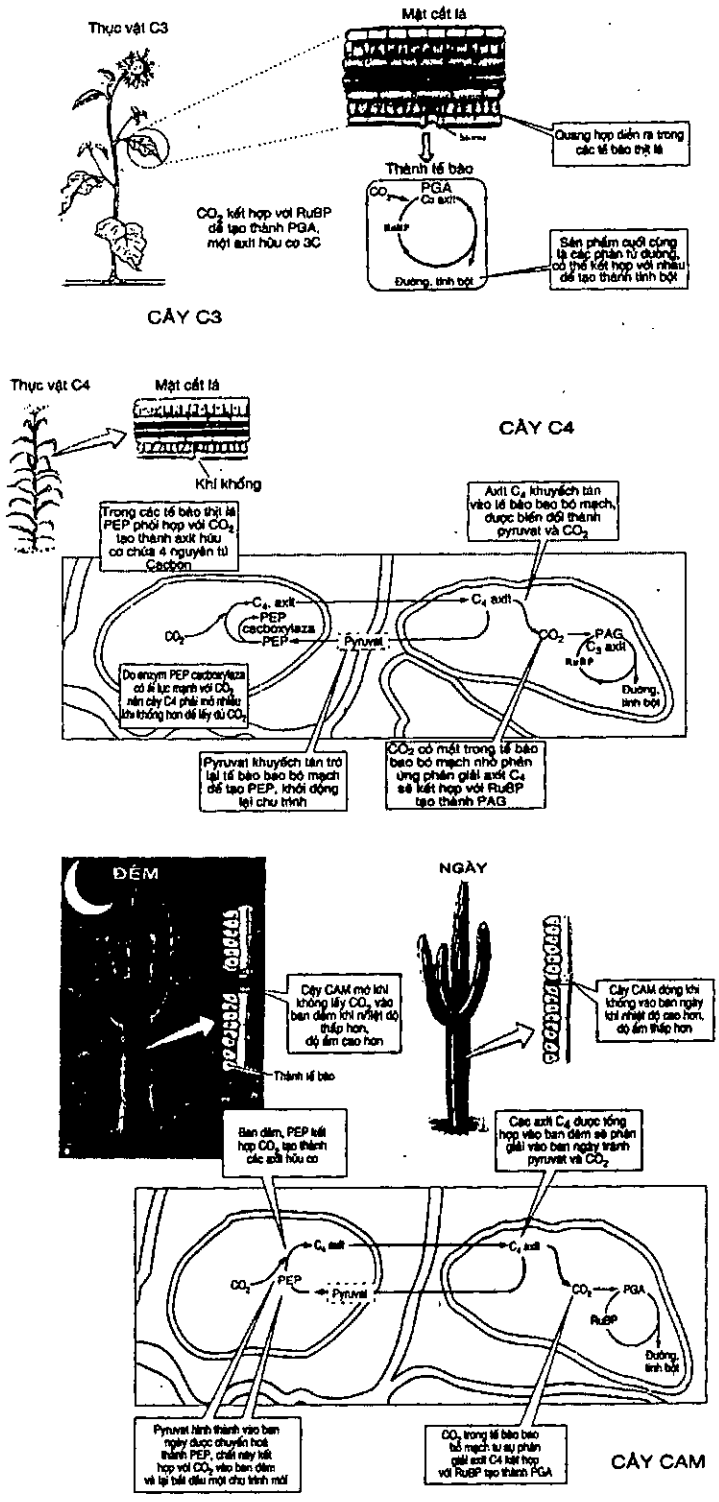
Tóm lại, quá trình đồng hoá CO_2 ở cây xanh là một quá trình phức tạp, bao gồm các hướng khác nhau với những sản phẩm cuối cùng khác nhau. Trong quá trình quang hợp, đã tạo ra nhiều sản phẩm trung gian và các sản phẩm này có quan hệ mật thiết với các quá trình trao đổi chất khác nhau xảy ra ở cây xanh.

Sơ đồ sau đây dẫn ra mối quan hệ giữa con đường cacbon trong quang hợp và các sản phẩm tạo thành (hình 58a).



Hình 58a – Các điều kiện thuận lợi hình thành các sản phẩm thứ cấp trong quang hợp

Có thể tóm tắt con đường cố định CO_2 ở thực vật C_3, C_4 và CAM như hình 58b.



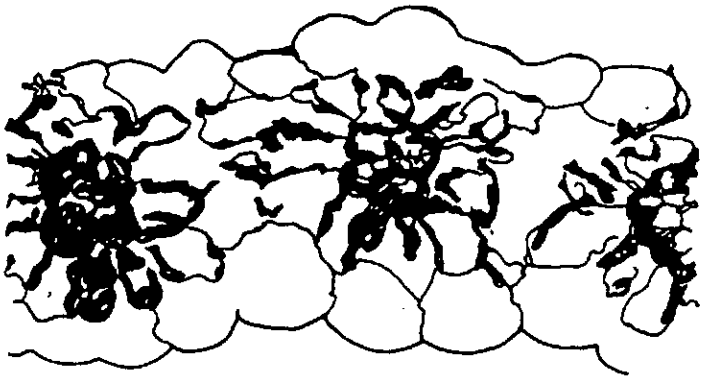
Hình 58b – Các con đường cố định CO_2 ở cây C_3, C_4 và CAM.

Chúng đều có điểm chung là sử dụng chu trình Calvin trong quá trình cố định CO_2, đặc biệt con đường C_4 phân chia theo không gian, còn con đường CAM phân chia theo thời gian.

d) Các tiêu chuẩn xác định hai nhóm thực vật C_3 và C_4

1. Tiêu chuẩn giải phẫu, hình thái lá và lục lạp : Ở các cây C_4 có sự phát triển mạnh các tế bào bao bó mạch. Đó là các tế bào nhu mô sắp xếp hướng tâm, xít nhau. Trong các tế bào này có chứa nhiều lục lạp lớn, cấu trúc hạt kém phát triển và chứa nhiều hạt tinh bột. Trong khi đó cây C_3 chỉ có một dạng lục lạp của tế bào mô giậu, có cấu trúc hạt phát triển, chứa rất ít các hạt tinh bột. Các tế bào bao bó mạch ở cây C_3 rất ít hoặc không phát triển. Điều này thấy rất rõ khi chụp ảnh tiêu bản cắt ngang lá có nhuộm màu. Ở các cây C_4 tiêu bản có màu thẫm ở xung quanh bó mạch do các hạt tinh bột bắt màu trên nền lá sáng hơn, ngược lại ở các cây C_3 các tế bào mô giậu bắt màu thẫm hơn các tế bào bao bó mạch (hình 59a, b).

Hình 59a – Tiêu bản cắt ngang lá Triticum vulgare L. (thực vật C_3) (độ phóng đại 340X)



Hình 59b – Tiêu bản cắt ngang lá Digitaria sanquinalis (L.) Scop (thực vật C_4) (độ phóng đại 270X)

2. Tiêu chuẩn sinh lí

– Nhiệt độ thích hợp đối với quang hợp : Đối với thực vật C_4, nhiệt độ tối ưu đối với quang hợp vào khoảng 30 – 45°C, trong khi đó ở thực vật C_3 chỉ khoảng 10 – 25°C.

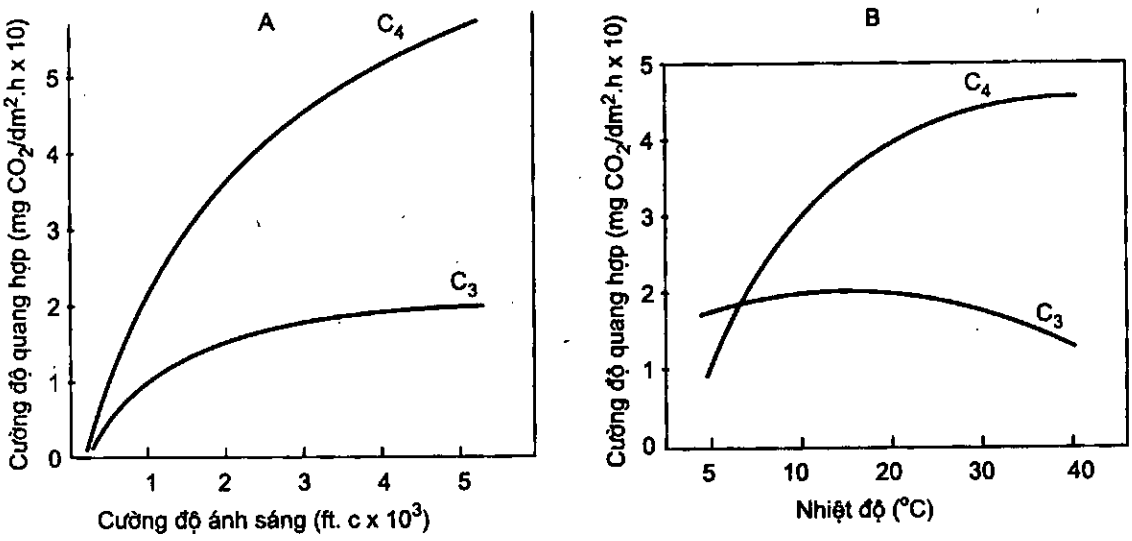
Đồ thị sau đây của giáo sư Murata, đã chứng minh điều này (hình 60).

– Sự phản ứng của quang hợp đối với cường độ ánh sáng

Ở thực vật C_4 khi cường độ ánh sáng tăng thì cường độ quang hợp vẫn tăng và rất khó xác định điểm bão hoà ánh sáng ngay cả khi cường độ chiếu sáng gần với cường độ chiếu

sáng của ánh sáng mặt trời toàn phần. Ngược lại ở thực vật C_3 điểm bão hoà ánh sáng chỉ bằng một phần ba ánh sáng mặt trời toàn phần. Ở cường độ ánh sáng tối ưu, cường độ quang hợp ở thực vật C_4 có thể đạt tới 40 – 60mg $CO_2/dm^2.h$, thậm chí có khi đạt đến 80mg $CO_2/dm^2.h$. Ngược lại ở thực vật C_3 chỉ đạt 10 – 35mg $CO_2/dm^2.h$.

Đồ thị biểu diễn phản ứng của thực vật C_3 và C_4 với cường độ ánh sáng (hình 60).



Hình 60 – Mối liên quan giữa cường độ ánh sáng (A) và nhiệt độ (B) với cường độ quang hợp ở thực vật C_3 và C_4

– Ảnh hưởng của O_2 đến quang hợp – Hiệu ứng Warburg

Ngay từ năm 1920 Warburg đã thấy rằng : Quang hợp ở tảo *Chlorella* bị ức chế khi nồng độ O_2 trong không khí 21%. Sau đó nhiều tác giả khác thấy rằng : O_2 đã ức chế quang hợp ở nhiều thực vật bậc cao khác. Đã tính toán được rằng : Nồng độ O_2 trong không khí (21%) đã ức chế đến 30 – 40% quang hợp ở nhiều cây. Thí nghiệm với cây đậu (*Phaseolus vulgaris*) đã cho thấy khi trồng cây trong điều kiện nồng độ O_2 thấp 2,5% và 5% thì cường độ quang hợp đã tăng lên 2,1 và 1,9 lần so với khi trồng ở nồng độ O_2 bình thường.

Gần đây đã thấy rằng : Tất cả những thực vật mà cường độ quang hợp bị ức chế bởi O_2 đều thuộc nhóm thực vật C_3. Nhóm thực vật C_4, quang hợp không hề bị ảnh hưởng khi nồng độ O_2 thay đổi từ 1% đến 100%.

– Điểm bù CO_2 đối với quang hợp

Nhiều nghiên cứu đã khẳng định rằng : Điểm bù CO_2 đối với quang hợp (nồng độ tối thiểu CO_2 trong gian bào) khác nhau giữa hai nhóm thực vật. Nhóm thực vật C_3 có điểm bù khoảng 30 – 70ppm, trong khi đó nhóm thực vật C_4 có điểm bù khoảng 0 – 10ppm.

– Nhu cầu H_2O ở thực vật C_3 và C_4

Nhu cầu H_2O (số gam nước cần thiết để hình thành 1g chất khô) ở hai nhóm thực vật C_3 và C_4 rất khác nhau. Nói chung nhu cầu H_2O ở thực vật C_4 chỉ bằng 1/2 nhu cầu H_2O ở thực vật C_3 (bảng 4).

Bảng 4 : **Nhu cầu H_2O ở hai nhóm thực vật C_3 và C_4**

C_4		C_3	
Cây	Nhu cầu H_2O	Cây	Nhu cầu H_2O
Sorghum sp.	304	*Hordeum vulgaris L.*	518
Zea mays L.	349	*Oryza sativa L.*	682
Amaranthus retroflexus L.	305	*Helianthus annuus L.*	623
		Phaseolus vulgaris L.	700

3. Tiêu chuẩn hoá sinh

– Con đường cacbon trong quang hợp. Con đường cố định CO_2 trong quang hợp ở hai nhóm thực vật C_3 và C_4 khác nhau.

Con đường cố định CO_2 ở thực vật C_3 theo chu trình Calvin – Benson với các pha :

+ Pha cacboxi hoá :

$$3RiDP + 3CO_2 \xrightarrow[\text{RiDP cacboxilaza}]{} 6APG$$

+ Pha khử :

$$6APG \xrightarrow[\text{kinaza}]{6ATP + 6NADPH_2} 6C_3$$

+ Pha phục hồi :

$$2C_3 \xrightarrow[\text{izomeraza, aldolaza}]{} C_6$$

$$2C_3 + C_6 \xrightarrow[\text{transketolaza, aldolaza}]{} C_5 + C_7$$

$$C_3 + C_7 \xrightarrow[\text{transketolaza}]{} 2C_5$$

$$3C_5 \xrightarrow[\text{Izomera, kinaza}]{3ATP} 3RiDP$$

Con đường cố định CO_2 ở thực vật C_4 theo con đường Hatch và Slack với các phà :

– Tổng hợp PEP

$$AP + ATP \xrightarrow[\text{kinaza}]{} PEP + ADP$$

+ Cacboxi hoá :

$$PEP + CO_2 \xrightarrow[\text{PEP cacboxilaza}]{} AOA + P \text{ vô cơ}$$

+ Biến đổi thuận nghịch giữa AOA, malic, aspartic :

$$\text{Malic} \xleftrightarrow[\text{dehiđrogenaza}]{} AOA \xleftrightarrow[\text{aminotransferaza}]{} \text{Aspartic}$$

+ Phục hồi AP

$$\text{Axit } C_4 + \text{"chất nhận } C_2 \text{ hoặc } C_5\text{"} \xrightarrow[\text{transcacboxilaza}]{} AP + APG$$

Các quá trình hoá sinh của con đường CO_2 ở hai nhóm thực vật C_3 và C_4 khác nhau là do hoạt động của các enzim ở các quá trình khác nhau (bảng 5).

***Bảng 5 :* Hoạt tính của một số enzim (μM bản thể/mgChl/phút) ở hai nhóm thực vật C_3 và C_4**

Enzim	C_4	C_3
Photphoenolpyruvatcacboxilaza	16 – 21	0,30 – 0,35
NADP-malatdehydrogenaza	2,5 – 6,5	0,2 – 0,1
Pyruvat-dikinaza	1,7 – 7,0	0
Ribulozodiphophatcacboxilaza	0,2 – 0,6	4,2 – 4,7
Adeninatkinaza	17 – 45	0,3 – 0,5
Glicolat-oxidaza	9 – 25	70 – 114

– *Hô hấp ánh sáng :* Hô hấp ánh sáng là một trong những tiêu chuẩn quan trọng phân biệt hai nhóm thực vật C_3 và C_4. Vì nhiều tác giả thấy rằng : chỉ có thực vật C_3 mới có hô hấp ánh sáng, còn thực vật C_4 thì không có hoặc rất yếu (xem phần hô hấp ánh sáng chương Hô hấp) (bảng 6).

***Bảng 6 :* Tóm tắt tiêu chuẩn xác định hai nhóm thực vật C_3 và C_4**

Tiêu chuẩn	Nhóm C_4	Nhóm C_3
1. Sự phát triển mạnh các tế bào bao bó mạch với hàm lượng cao lục lạp không hạt nhưng chứa nhiều hạt tinh bột	Có	Không
2. Cường độ quang hợp ($mgCO_2 / dm^2.h$)	40 – 80	15 – 35
3. Cường độ chiếu sáng bão hoà đối với quang hợp	Khó xác định ngay cả khi ánh sáng mặt trời toàn phần	1/3 ánh sáng mặt trời toàn phần

4. Nhiệt độ tối ưu đối với quang hợp (^oC)	30 – 45	10 – 25
5. Điểm bù CO_2 (ppm)	0 – 10	30 – 70
6. Quang hợp và $[O_2]$	Không ảnh hưởng	$[O_2]$ giảm thì quang hợp tăng
7. Con đường cố định CO_2	Hatch – Slack	Calvin
8. Hô hấp ánh sáng	Không	Có
9. Nhu cầu H_2O.	ít, bằng 1/2 so với C_3	Nhiều

Bảng 7 : Một số thực vật C_4 ở Việt Nam

Tên khoa học	Tên Việt Nam
Cyperus rotundus L.	Cỏ gấu
Cynodon dactylon (L.) Pers.	Cỏ gà
Cyperus esculentus L.	Mã thầy
Dactyloctenium aegyptium (L.) Risch	Cỏ chân vịt
Echinochloa colonum L.	Lồng vực cạn
Echinochloa crusgalli (L.) Beauv	Lồng vực nước
Eleusine indica (L.) Gaorth	Cỏ mần trầu
Pennisetum purpureum Schum	Cỏ voi
Saccharum officinarum L.	Mía
Setaria italica (L.) Beanv	Kê
Setaria viridis (L.) Beanv	Cỏ sâu róm
Sorghum sp.	Lúa miến
Zea mays L.	Ngô
Amranthus retroflexus L.	Rau dền
Gomfrena globosa L.	Cúc bách nhật
Kochia scoparia (L.) Roth	Cây chổi sể
Portulaca grandiflera Hook	Hoa 10 giờ
Portulaca oleracea L.	Rau sam

IV – QUANG HỢP VÀ CÁC ĐIỀU KIỆN MÔI TRƯỜNG

Quang hợp là một quá trình cơ bản trong hoạt động sống của cơ thể thực vật và có quan hệ mật thiết với tất cả các quá trình trao đổi chất khác của cơ thể và chịu ảnh hưởng liên tục của điều kiện môi trường.

Như vậy quang hợp phụ thuộc chặt chẽ vào hàng loạt các nhân tố ảnh hưởng lên các phản ứng sáng và tối. Nói một cách khác là ảnh hưởng lên các quá trình liên quan đến bản chất quang hợp. Ta có thể chia các quá trình ấy thành các nhóm như sau :

– Các quá trình khuếch tán liên quan đến sự xâm nhập CO_2 vào nơi xảy ra quang hợp.

– Các quá trình quang hoá liên quan đến sự sử dụng năng lượng ánh sáng cho quang hợp.

– Các quá trình hoá học "tối" liên quan đến sự cố định CO_2.

– Các quá trình liên quan đến sự chuyển sản phẩm quang hợp từ nơi xảy ra quang hợp đến các mô và các cơ quan khác.

Rất nhiều các yếu tố bên trong và bên ngoài ảnh hưởng lên các quá trình trên. Có thể chia các yếu tố đó ra các nhóm như sau :

+ Các yếu tố của môi trường ngoài : gồm có nồng độ CO_2, cường độ bức xạ ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm của đất và không khí, dinh dưỡng khoáng.

+ Các yếu tố bên trong : gồm có cấu trúc của bộ máy quang hợp, tình trạng nước trong cây, phức hệ sắc tố, thành phần của hệ thống quang hoá, kiểu bộ máy enzim quang hợp, tuổi lá và tuổi cây, các giá trị trở kháng khuếch tán.

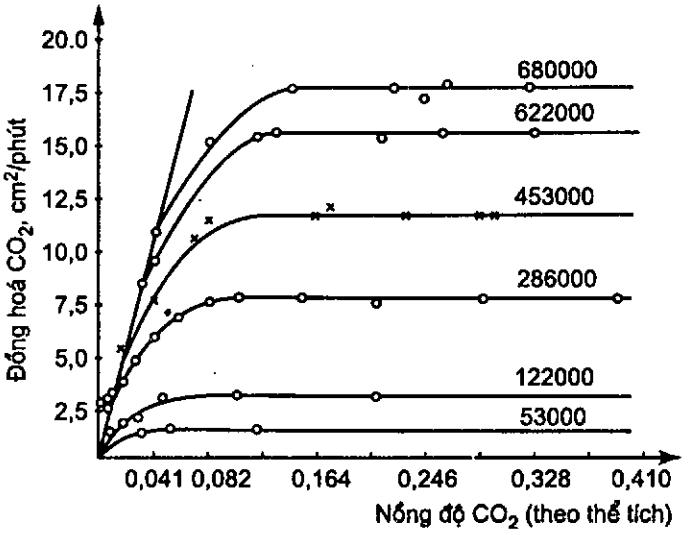
+ Các yếu tố thời gian gồm nhịp điệu ngày, mùa sinh trưởng.

– Các yếu tố quan hệ : cây và quần thể.

Trong khuôn khổ giáo trình cơ sở, chúng ta không thể xem xét hết tất cả các mối quan hệ, mà chỉ hạn chế trong một số mối quan hệ giữa quang hợp và một số yếu tố môi trường.

1. Quang hợp và nồng độ CO_2

CO_2 trong không khí là nguồn cung cấp cacbon cho quang hợp. Nồng độ CO_2 ($[CO_2]$) trong không khí quyết định tốc độ của quá trình quang hợp và sự phụ thuộc giữa hai đại lượng này được biểu thị bằng đường biểu diễn logarit sau đây (hình 61).



Hình 61 – Sự phụ thuộc của quang hợp ở lúa mì và nồng độ CO_2 trong những cường độ ánh sáng khác nhau

(Các số liệu trên đồ thị là cường độ ánh sáng tính theo erg/cm^2.s). Nồng độ CO_2 thấp nhất để cây bắt đầu quang hợp là 0,008 đến 0,01%. Khi tăng $[CO_2]$ thì cường độ quang hợp (kí hiệu là P_n) lúc đầu tăng theo tỉ lệ thuận, sau tăng chậm dần và đạt tới điểm bão hoà CO_2.

$[CO_2]$ tiếp tục tăng thì P_n giảm.

Điểm bão hoà CO_2, trị số tuyệt đối của P_n thay đổi tuỳ theo mức độ chiếu sáng, nhiệt độ và các điều kiện khác.

Điểm bão hoà CO_2 thay đổi trong giới hạn rộng đối với các cây khác nhau (trong điều kiện tối ưu về ánh sáng và nhiệt độ), từ 0,06% đến 0,4%. Như vậy nồng độ CO_2

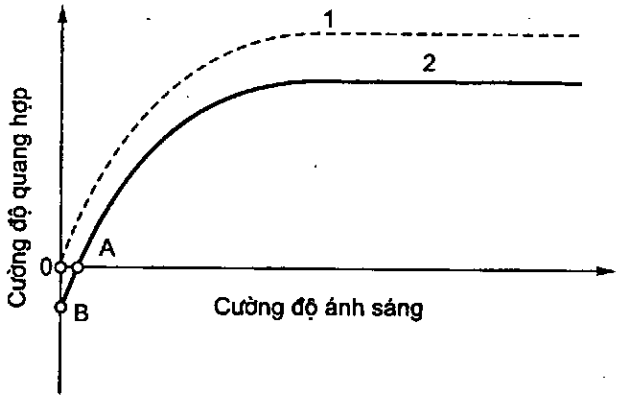
trong khí quyển (0,03%) trong phần lớn trường hợp là thiếu để đạt đến độ bão hoà CO_2 trong quang hợp (nghĩa là để thoả mãn cường độ tiềm tàng của quang hợp).

Trong điều kiện tự nhiên, nồng độ CO_2 trong không khí thay đổi nhiều và phụ thuộc vào nhiều điều kiện. Lớp không khí gần mặt đất giàu CO_2 nhất (có thể tới 0,3 – 0,5%). Trong rừng nhiệt đới ẩm nồng độ CO_2 : 0,1 – 0,2% ; trong quần thể cây nông nghiệp vào thời kì P_n mạnh, nồng độ CO_2 thay đổi xung quanh 0,03%. Trong phạm vi nhỏ, nồng độ CO_2 phụ thuộc vào nhiệt độ, mật độ quần thể, thành phần đất mà đặc biệt là hàm lượng mùn và chế độ phân bón.

Mặc dù nồng độ CO_2 trong không khí thấp, nhưng nhiều thực vật vẫn đạt được P_n cao, có khi tới 40 – 50 mg $CO_2/dm^2.h$ thậm chí còn cao hơn ở các thực vật C_4. Điều đó chứng tỏ thực vật thích nghi với việc sử dụng một lượng CO_2 không lớn trong khí quyển. Tuy vậy khi tăng nồng độ CO_2 lên thì P_n còn tiếp tục tăng từ 1,5 đến 3 lần. Chính khả năng này đã tạo cơ sở cho việc bón phân dạng khí (bón CO_2 hoặc phân giúp cho việc sinh CO_2) cho cây với mục đích tăng P_n và cuối cùng tăng năng suất cây trồng.

2. Quang hợp và cường độ, thành phần quang phổ ánh sáng

Trong các yếu tố bên ngoài liên quan đến quang hợp, ánh sáng là điều kiện cơ bản để tiến hành quang hợp. Bởi vậy cho đến nay, đã có rất nhiều công trình nghiên cứu mối liên quan giữa quang hợp với cường độ, thành phần quang phổ của ánh sáng. Những nghiên cứu về vấn đề này cho phép xác lập quy luật chung về sự phụ thuộc của quang hợp vào cường độ ánh sáng theo đồ thị sau (hình 62).



Hình 62 – Đường cong ánh sáng của cường độ quang hợp (thea A.A-Nhisipôrôvich) 1. Quang hợp thực ; 2. Quang hợp quan sát ; A : điểm bù quang hợp ; OB : cường độ hô hấp

Đã xác định được cường độ ánh sáng tối thiểu, tức là cường độ ánh sáng ở đó cây bắt đầu quang hợp. Cường độ ánh sáng này rất thấp, ngang với ánh sáng của đèn dầu hay ánh sáng trăng, ánh sáng của buổi hoàng hôn.

Khi tăng cường độ ánh sáng, P_n tăng theo, sau đó nếu tiếp tục tăng cường độ ánh sáng, thì P_n giảm dần. Ở cường độ ánh sáng cao, đường cong ánh sáng song song với trục hoành, nghĩa là lúc đó có thể xác định được điểm bão hoà ánh sáng. Sau điểm bão hoà ánh sáng, đường biểu diễn đi xuống, liên quan với sự phá huỷ bộ máy quang hợp, sự mất hoạt tính của hệ thống enzim, do sự thừa năng lượng ánh sáng. Điều này xảy ra có thể là

do tác hại của sự quang oxi hoá. Khi quang hợp bình thường, không xảy ra quá trình quang oxi hoá. Nhưng trong điều kiện thừa ánh sáng, tạo nên tình trạng thừa phân tử clorophin bị kích thích và vì không dùng hết năng lượng vào quá trình đồng hoá CO_2, nên năng lượng thừa được dùng vào phản ứng quang oxi hoá và các phản ứng không đặc trưng khác. Có thể là trong trường hợp này enzim cacboxilaza bị quang oxi hoá làm cho quang hợp giảm và đi đến ngừng hẳn.

Trị số tuyệt đối của điểm bão hoà ánh sáng có thể thay đổi phụ thuộc vào nhiều yếu tố : nhiệt độ, CO_2, tuổi lá, tuổi cây, các nhóm cây sinh thái khác nhau...

Về sự thích nghi của các nhóm cây với cường độ ánh sáng khác nhau đã được nghiên cứu nhiều. Người ta đã thấy rằng : Nhóm cây ưa sáng như cây thông rụng lá, cây keo trắng, P_n tăng cùng với sự tăng cường độ ánh sáng cho đến độ chiếu sáng mặt trời toàn phần. Ngược lại những cây ưa bóng như cây dẻ, cây sam tía thì ngay ở cường độ ánh sáng yếu đã đạt tới cực đại P_n.

Điểm bão hoà ánh sáng của quang hợp đạt được ở cường độ ánh sáng :

$$75 - 100 \,.\, 10^3 \text{ erg/cm}^2\text{.s.}$$

Đối với cây ưa sáng ở cường độ ánh sáng cao hơn nhiều :

$$300 - 350 \,.\, 10^3 \text{ erg/cm}^2\text{.s.}$$

Người ta cũng thấy rằng : Cây ưa sáng và ưa bóng khác nhau về mặt cấu trúc lá, cũng như về đặc tính của bộ máy quang hợp. Ví dụ : lá cây ưa bóng mỏng hơn, lục lạp to hơn và chứa nhiều clorophin hơn. Sự thích nghi với điều kiện chiếu sáng thể hiện không chỉ ở sự tăng hàm lượng clorophin tổng số mà còn ở cả sự thay đổi tỉ lệ các sắc tố trong lục lạp. Lá cây ưa bóng nhận được ánh sáng khuếch tán giàu tia sáng sóng ngắn, nên chứa nhiều clorophin b. Đa số các loài tảo có đặc tính gần giống cây ưa bóng : hàm lượng clorophin cao, tỉ lệ clorophin a/b thấp (1,4). Những thực vật vùng núi cao là những cây ưa sáng, chúng có tỉ lệ clorophin a/b cao (5,5), trong khi tỉ lệ bình thường là 3.

Điểm bù ánh sáng (điểm cường độ ánh sáng ở đó cường độ quang hợp và hô hấp bằng nhau) ở cây ưa bóng thấp hơn ở cây ưa sáng nhiều.

Trong điều kiện tự nhiên, cơ thể thực vật chịu điều kiện chiếu sáng rất khác nhau. Người ta thấy rằng : phần bức xạ sinh lí (bức xạ sử dụng cho quang hợp) trong các điều kiện chiếu sáng khác nhau thì khác nhau rất nhiều. Trong ánh sáng trực xạ, bức xạ sinh lí chiếm 35%, trong khi đó ở ánh sáng khuếch tán, bức xạ sinh lí chiếm 50 – 90%. Do đó clorophin hầu như hấp thụ toàn bộ bức xạ khuếch tán.

Nhiều nghiên cứu còn chỉ ra rằng : Sự hấp thụ ánh sáng của lá cây ở vùng bức xạ sinh lí (400 – 700 nm) tương đối ổn định đối với phần lớn các loài cây và vào khoảng 80%. Có được tính ổn định này chủ yếu do trong lá dư thừa hàm lượng clorophin.

Trong điều kiện tự nhiên, do không điều khiển được chế độ chiếu sáng, nên việc tạo điều kiện cho quang hợp thực hiện tốt chủ yếu nhằm vào việc tạo ra một quần thể tốt có khả năng hấp thụ tốt nhất năng lượng ánh sáng và sử dụng có hiệu quả năng lượng đó vào quang hợp. Còn trong điều kiện nhà kính, trong phòng khí hậu nhân tạo, thì có thể điều

khiển được chế độ chiếu sáng, song lại gặp khó khăn về việc tạo ra thành phần quang phổ ánh sáng giống với tự nhiên.

Từ lâu, các nhà nghiên cứu đã chú ý đến vấn đề ảnh hưởng của các tia sáng có độ dài sóng khác nhau đến quang hợp. Kết quả các nghiên cứu đã thống nhất rằng : quang hợp tiến hành tốt nhất khi chiếu ánh sáng đỏ và xanh (những tia sáng vốn được clorophin hấp thụ tốt nhất). Ngày nay dựa trên quan điểm mới về bản chất của ánh sáng và sự tham gia của các photon trong phản ứng quang hoá, đã hoàn toàn giải thích được quan điểm của Timiriazev về vai trò ưu thế của tia sáng đỏ đối với quang hợp. Nhìn rộng hơn, thấy rằng : Hiệu quả đối với quang hợp của các tia sáng khác nhau tăng theo sự tăng của độ dài sóng ánh sáng.

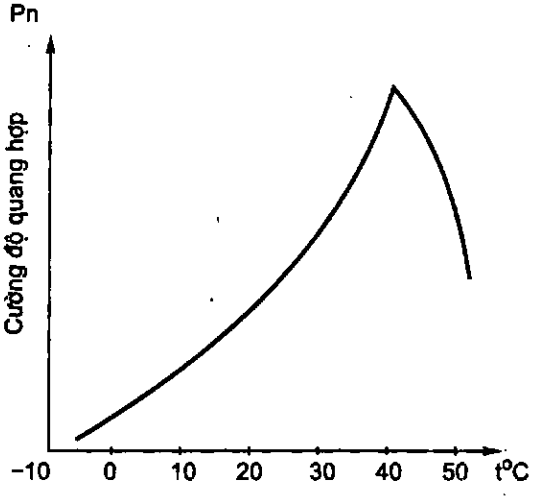
Tuy nhiên vấn đề ảnh hưởng của thành phần quang phổ ánh sáng đối với quang hợp rất phức tạp, vì hệ sắc tố thực vật rất phức tạp : clorophin với các dạng khác nhau (riêng clorophin a cũng có nhiều dạng khác nhau) các sắc tố phụ cũng rất đa dạng và cũng tham gia thực hiện các phản ứng sáng. Cho nên khi nghiên cứu vấn đề này trước hết phải xác định vai trò của mỗi sắc tố, tương quan giữa độ dài sóng ánh sáng với quang hợp ở từng sắc tố riêng biệt.

Tóm lại, chất lượng ánh sáng (thành phần quang phổ ánh sáng) đã ảnh hưởng không những đến cường độ quang hợp mà còn đến chất lượng của quá trình quang hợp nữa. Chiều hướng của quá trình quang hợp thay đổi do tác dụng của các tia sáng có độ dài sóng khác nhau. Ánh sáng sóng ngắn (xanh tím) có khả năng giúp cho việc tạo thành các axit amin, protein, trong quá trình quang hợp còn ánh sáng sóng dài (đỏ) đẩy mạnh sự hình thành gluxit.

3. Quang hợp và nhiệt độ

Tác dụng của nhiệt độ đối với quang hợp có thể tóm tắt như sau : Nhiệt độ ảnh hưởng đến tốc độ các phản ứng quang hợp, tốc độ sinh trưởng của cây, độ lớn của diện tích đồng hoá và sau cùng là ảnh hưởng đến tốc độ vận chuyển các chất đồng hoá từ lục lạp đến các cơ quan khác.

Như ta đã biết quang hợp bao gồm hai pha sáng và tối, cũng như các phản ứng sáng và phản ứng tối. Trị số Q_{10} đối với pha sáng là 1,1 – 1,4 ; đối với pha tối là 2 – 3 và đối với quang hợp nói chung thì Q_{10} là 2 – 3. Điều này nói lên mối liên quan chặt chẽ giữa nhiệt độ và quang hợp. Sự phụ thuộc giữa nhiệt độ và cường độ quang hợp theo chiều hướng như sau : Khi t^oC tăng thì P_n tăng nhanh và thường đạt tới cực đại ở 25 – 30°C, sau đó giảm mạnh đến 0 (hình 63).



Hình 63 – Mối liên quan giữa quang hợp và nhiệt độ

Khi nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến P_n phải chú ý rằng nhiệt độ của lá (của lục lạp) không chỉ phụ thuộc vào nhiệt độ không khí xung quanh, mà còn phụ thuộc vào sự hấp thụ quang năng, sự bay hơi nước và sự truyền nhiệt. Nhiệt độ của lá tỉ lệ thuận với hàm lượng H_2O trong lá và tỉ lệ nghịch với cường độ thoát hơi nước. Khi tăng hàm lượng sắc tố thì sự hấp thụ quang năng tăng và do đó làm tăng nhiệt độ của lá.

Ở những vùng sinh thái khác nhau, giữa các nhóm thực vật khác nhau có sự thích nghi về nhiệt độ đối với quang hợp là khác nhau, biểu hiện ở nhiệt độ tối ưu, cực tiểu và cực đại. Ví dụ : đối với lá thông, nhiệt độ tối thiểu để quang hợp tiến hành là 0,5 – 15°C. Những thực vật vùng cực, núi cao ôn đới, quang hợp chỉ ngừng ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ đóng băng một ít. Ngược lại ở thực vật nhiệt đới, P_n ngừng khi độ thấp hơn nhiệt độ 4°C – 8°C, thực vật á nhiệt đới và thuỷ sinh ở 0°C – 2°C. Nhiệt độ tối ưu của thực vật nhiệt đới đối với quang hợp là 25°C – 30°C, thực vật vùng lạnh là 8°C – 15°C, còn tảo ưa nóng và thực vật sa mạc thì cao hơn 40°C. Nhiệt độ cực đại đối với quang hợp của các cây nhiệt đới (nhiệt độ cực đại đối với quang hợp ngừng nhưng cây vẫn còn sống) là 50°C, cây vùng lạnh 18°C – 20°C, cây vùng sa mạc là 58°C. Ngoài sự thích nghi với nhiệt độ khác nhau do hệ thống phát sinh, còn có sự thích nghi cá thể của bộ máy quang hợp. Người ta đã trồng những cây thuỷ sinh trong 3 tháng ở nhiệt độ 4°C – 8°C và 20°C và thấy rằng : Những cây trồng ở nhiệt độ 4°C – 8°C có khả năng quang hợp ở 8°C tốt hơn ở 18°C, ngược lại những cây trồng ở nhiệt độ 20°C có khả năng quang hợp ở 18°C tốt hơn ở 8°C.

Tóm lại, ảnh hưởng của nhiệt độ đến quang hợp phụ thuộc vào hệ thống phát sinh, vào trạng thái sinh lí của cây, thời gian tác dụng, giới hạn nhiệt độ tác dụng và các điều kiện khác. Ngoài ra cũng như ánh sáng, nhiệt độ không chỉ làm thay đổi tốc độ của quá trình, mà còn gây những biến đổi sâu sắc về trao đổi chất cũng như chiều hướng hình thành các sản phẩm trong quá trình quang hợp.

4. Quang hợp và nước

Vai trò của nước đối với quang hợp có thể tóm tắt trên mấy mặt như sau :

– Hàm lượng nước trong không khí, trong lá ảnh hưởng đến quá trình thoát hơi nước, do đó ảnh hưởng đến độ mở khí khổng, tức là ảnh hưởng đến tốc độ xâm nhập CO_2 vào tế bào.

– Nước ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng của cây, do đó đến kích thước của bộ máy đồng hoá.

– Nước ảnh hưởng đến tốc độ vận chuyển các chất đồng hoá.

– Hàm lượng nước trong tế bào ảnh hưởng đến độ hiđrat hoá của chất nguyên sinh và do đó ảnh hưởng đến điều kiện làm việc của hệ thống enzim.

– Nước là nguyên liệu trực tiếp của phản ứng quang hợp với cương vị là chất cho hiđro và điện tử.

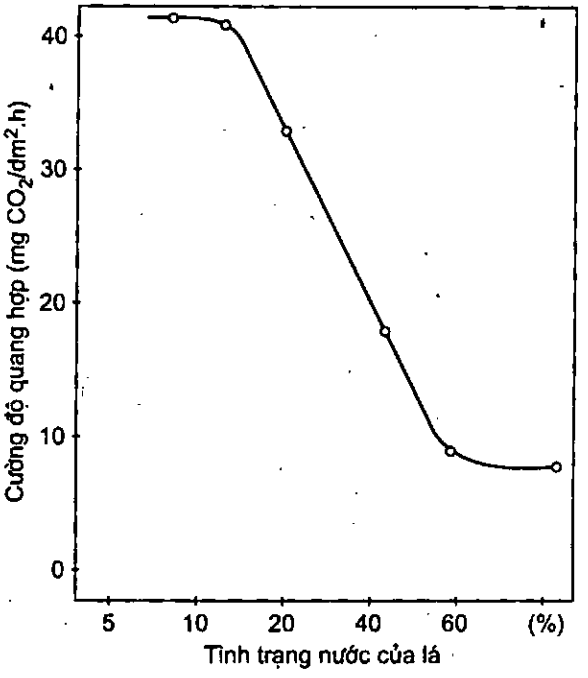
– Quá trình thoát hơi nước đã điều hoà nhiệt độ của lá, do đó ảnh hưởng đến quang hợp.

Trên thực tế, nước cần cho cây chủ yếu là để bù vào sự mất nước do thoát hơi nước và để làm cho mô không bị khô và bị đốt nóng dưới ánh nắng. Các thí nghiệm đều cho thấy rằng : những hiện tượng gây ra do sự thiếu nước như sự đốt nóng lá, giảm sự xâm nhập CO_2, thay đổi trạng thái keo của chất nguyên sinh đều có ảnh hưởng đến tốc độ quang hợp.

Đồ thị về mối quan hệ giữa P_n và độ thiếu nước (hình 64) cho thấy rằng : P_n đạt cực đại khi có sự thiếu 5 – 20% nước so với mức bão hoà nước hoàn toàn. Khi thiếu nước từ 40 – 60%, P_n giảm mạnh và có thể giảm đến 0.

Người ta quan sát thấy sự mất một lượng nước không lớn ở cường độ ánh sáng cao có ảnh hưởng thuận lợi đối với quang hợp. Hiện tượng này được coi là biểu hiện của tính thích nghi của bộ máy quang hợp với điều kiện quang hợp thông thường, vì lá cây trên cạn nói chung đều ở trạng thái thiếu nước.

Sự tồn tại của các nhóm cây chịu hạn, trung sinh và ẩm sinh cho thấy rõ tính thích nghi của cơ quan đồng hoá của thực vật với những điều kiện về chế độ nước khác nhau. Người ta đã thấy rằng khi thiếu nước, cường độ quang hợp phụ thuộc vào lượng nước liên kết trong tế bào và mức độ ngậm nước của keo sinh chất. Chính sự thay đổi trạng thái của chất nguyên sinh trong tế bào khi thiếu nước đã ảnh hưởng mạnh mẽ đến P_n và ảnh hưởng này còn tồn tại khá lâu sau khi cây đã chuyển sang điều kiện đầy đủ nước.



Hình 64 – Quan hệ giữa P_n và độ thiếu nước

Đối với thực tiễn nông nghiệp, vấn đề tính thuận nghịch của sự thay đổi P_n do hạn hán gây ra là vấn đề có ý nghĩa lớn, vì đặc điểm này chi phối tính chịu hạn của thực vật. Tính thuận nghịch này phụ thuộc vào các nhóm cây sinh thái khác nhau và vào giai đoạn phát triển của cây trong thời gian bị hạn. Sự thay đổi chế độ nước của lá khi bị hạn đất và hạn không khí, không chỉ làm giảm P_n mà còn gây ra sự phân phối lại các sản phẩm đã tạo thành trong quá trình quang hợp. Trong thời gian bị hạn, người ta thấy trong cây xuất hiện nhiều sản phẩm có hoạt tính thẩm thấu như đường, các axit amin và giảm mạnh các hợp chất cao phân tử, nhất là protein.

5. Quang hợp và dinh dưỡng khoáng

Dinh dưỡng khoáng và quang hợp là hai mặt của một quá trình thống nhất của dinh dưỡng thực vật.

Những nguyên tố quan trọng nhất của dinh dưỡng khoáng như N, P, K, S, Mg là những nguyên tố cần thiết để xây dựng bộ máy quang hợp. Những nguyên tố khác như Fe, Cl, K, tuy không có trong thành phần lục lạp, nhưng ảnh hưởng mạnh đến sự tích luỹ các sắc tố quang hợp. Nói chung các nguyên tố khoáng ảnh hưởng trực tiếp và gián tiếp đến quang hợp thông qua việc chúng là thành phần của bộ máy quang hợp, thành phần của sản phẩm quang hợp, chúng ảnh hưởng đến hệ thống keo của chất nguyên sinh, đến tính thấm của tế bào, đến hoạt động của hệ thống enzim, đến kích thước của bộ máy quang hợp,...

– Keller (1967) đã thấy rằng : Dinh dưỡng khoáng ảnh hưởng trực tiếp và gián tiếp lên quang hợp và do đó đến năng suất trên các cơ sở sau đây :

+ Một số nguyên tố khoáng là thành phần của sắc tố và enzim.

+ Xúc tác cho quá trình tổng hợp và hoạt động của sắc tố và enzim.

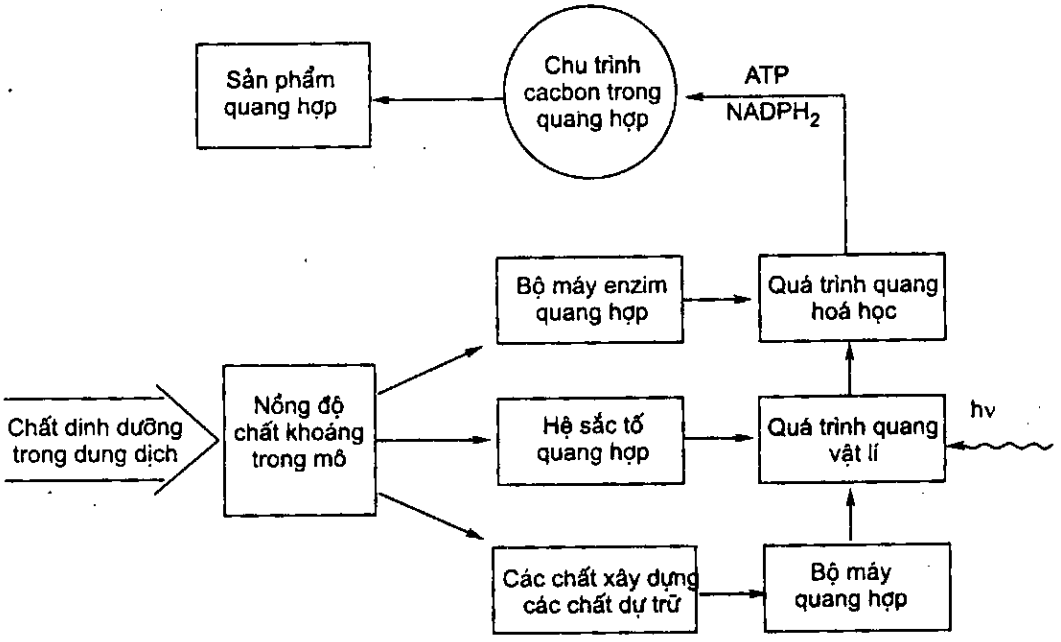
+ Ảnh hưởng đến tính thẩm thấu của màng tế bào.

+ Thay đổi cấu tạo và điều chỉnh hoạt động của khí khổng.

+ Thay đổi độ lớn, số lượng lá, cũng như cấu tạo giải phẫu của nó.

+ Ảnh hưởng đến thời gian sống của cơ quan đồng hoá.

Để có một hình ảnh rõ rệt về mối quan hệ giữa quang hợp và dinh dưỡng khoáng ta có thể dẫn ra sơ đồ của Karpilov, 1970 (hình 65).



Hình 65 – Mối liên hệ giữa dinh dưỡng khoáng và quang hợp

Như đã nói ở trên, hầu hết các nguyên tố dinh dưỡng khoáng đều có ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp đến quang hợp, nhưng đáng chú ý là ảnh hưởng của những nguyên tố đa lượng N, P, K.

Vai trò quan trọng đặc biệt của nitơ (N) đối với quang hợp thể hiện ở chỗ nó có một hàm lượng cao trong lục lạp, cơ quan xảy ra quang hợp. Nitơ trong lục lạp chiếm 75% tổng số N trong tế bào. Nói chung sự trao đổi và đồng hoá N liên quan chặt chẽ với hoạt động quang hợp và ngược lại sự hình thành và hoạt động của bộ máy quang hợp lại liên quan chặt chẽ với mức độ cung cấp N.

– Natr (1973) đã đề nghị tập trung nghiên cứu bốn ảnh hưởng của N lên quang hợp :

+ Ảnh hưởng lên quá trình khuếch tán CO_2.

+ Ảnh hưởng lên cấu trúc và hoạt động của lục lạp.

+ Mối liên quan giữa N trong mô đồng hoá và quang hợp.

+ Ảnh hưởng lên sự hình thành, tích luỹ và vận chuyển các sản phẩm quang hợp.

Hầu hết các nghiên cứu đều kết luận rằng : Hàm lượng N cao trong cơ quan đồng hoá làm tăng cường độ quang hợp. Nitơ ảnh hưởng rõ rệt lên độ lớn và diện tích lá, cũng như hàm lượng sắc tố trong lá và cấu tạo giải phẫu của bộ máy quang hợp. Thiếu N trong một thời gian dài đã làm thay đổi cấu trúc của lục lạp, giảm hoạt tính của phản ứng Hill và các chu trình photphorin hoá quang hợp.

Các nghiên cứu về ảnh hưởng của kali (K) đến quang hợp, thấy rằng : Dinh dưỡng K làm thay đổi cường độ quang hợp. Thiếu K làm giảm P_n. Nếu thêm K vào môi trường nuôi tảo *Chlorella* sẽ làm tăng cường độ quang hợp. K còn ảnh hưởng tốt đến sự tổng hợp clorophin, gluxit và protein. Ngoài ra, K có tác dụng trực tiếp đến trạng thái keo sinh chất, do đó có tác dụng gián tiếp đến quang hợp.

Vấn đề ảnh hưởng của photpho (P) đến quang hợp có ý nghĩa lớn trong đời sống cây trồng. P nằm trong thành phần của nhiều chất photphorin hoá (những chất tham gia vào quá trình khử CO_2) cũng như trong nhiều sản phẩm trung gian của quang hợp. Các hợp chất hữu cơ giàu năng lượng được hình thành trong quá trình quang hợp đều có sự tham gia của P vô cơ.

Vai trò của một số nguyên tố khác và nguyên tố vi lượng đối với quang hợp cũng được nhiều tác giả nghiên cứu :

Ca có vai trò quan trọng đối với trạng thái keo sinh chất, trung hoà tác dụng độc của một số axit hữu cơ. Ca tham gia vào việc điều chỉnh pH và một số quá trình của enzim. Thiếu Ca gây ra thối rễ, lá vàng.

Fe tồn tại trong thực vật với lượng rất nhỏ, nhưng lại có mặt ở tất cả các cơ quan. Hàm lượng Fe lớn nhất trong lá, đặc biệt là lá còn xanh. Fe tham gia vào hệ thống enzim khử trong quang hợp và hô hấp. Fe còn tham gia vào quá trình tổng hợp clorophin như một chất xúc tác sinh học.

B (bo) tạo điều kiện thuận lợi cho dòng đồng hoá đi ra từ lá.

Mn là nguyên tố làm nhiệm vụ xúc tác cho quá trình oxi hoá – khử. Mn rất quan trọng đối với quang hợp và sự hình thành clorphin.

Cu là nguyên tố tham gia vào quá trình chuyển e trong hệ thống oxi hoá – khử.

Tóm lại, mối liên quan giữa dinh dưỡng khoáng với quang hợp là mối liên quan đa dạng, phức tạp, vì các nguyên tố khoáng ảnh hưởng trực tiếp và gián tiếp lên nhiều mặt của quá trình quang hợp.

V – QUANG HỢP VÀ NĂNG SUẤT CÂY TRỒNG

1. Triển vọng của việc sử dụng các nguyên tắc và cơ chế của quang hợp trong những hệ nhân tạo

Ngày nay, người ta đã hình dung 4 giai đoạn chính của sự phát triển năng suất thực vật :

– Giai đoạn 1 là giai đoạn sử dụng các chất hoá học để diệt cỏ, chống sâu, bệnh.

– Giai đoạn 2 là giai đoạn sử dụng các giống mới và các chất có hoạt tính sinh học.

– Giai đoạn 3 là giai đoạn nâng cao hoạt động quang hợp của cây trồng.

– Giai đoạn 4 là giai đoạn sử dụng các hệ thống nhân tạo (một dạng mới của sản xuất nông nghiệp) được mệnh danh là "quang hợp trong ống nghiệm" (Army và Greer, 1967). Rolf Lother (1973) trong cuốn : "Sinh vật học và thế giới quan" đã viết : "Tôi tin rằng trong khoảng 30 năm nữa con người sẽ tạo được quá trình quang hợp nhân tạo". L. Bell (1977) cũng viết : "Tiến bộ của chúng ta trong việc nhận thức được cơ chế quang hợp nhanh tới mức là chẳng còn lâu nữa chúng ta có thể hoàn toàn đưa vấn đề sử dụng quá trình quang hợp vào thực tế nhằm tích trữ năng lượng ánh sáng để đáp ứng nhu cầu kĩ thuật của loài người".

Mục đích của việc nghiên cứu bản chất và cơ chế của quá trình quang hợp là tái lập và sử dụng các nguyên tắc và phản ứng của nó trong các hệ thống công nghiệp và một hướng quan trọng khác (hướng chính) là xây dựng những con đường và phương thức nhằm tăng năng suất quang hợp ở cây trồng.

Dĩ nhiên, theo hướng thứ nhất, chúng ta cũng không thể tái lập một cách dập khuôn quá trình quang hợp trong hệ nhân tạo và nhờ quang hợp nhân tạo chế ra một cách hoàn hảo các sản phẩm dinh dưỡng hay các nguyên liệu kĩ thuật giá trị cao mà nhiều loại thực vật vẫn cung cấp cho chúng ta. Tuy nhiên hoàn toàn có lí khi nghĩ rằng nhờ quang hợp nhân tạo có thể chế ra các chất đơn giản của thực phẩm cũng như các nguyên liệu khác, ví dụ : đường, axit amin, protein, các thành phần của mỡ, các chất có hoạt tính sinh lí, các loại chất trùng hợp...

Quang hợp nhân tạo sẽ dựa theo cơ chế của quang hợp tự nhiên, nhờ các nguyên liệu có ở khắp mọi nơi là : CO_2, H_2O một số muối khoáng và nhờ nguồn năng lượng không bao giờ cạn là bức xạ mặt trời.

Mặc dù vậy, hiệu quả quan trọng nhất của việc nghiên cứu quang hợp vẫn là khả năng điều khiển hoạt động quang hợp của cơ thể thực vật với mục đích nâng cao năng suất thu hoạch.

Với quy mô khai thác thực bì tự nhiên và thực vật trồng trọt hiện nay, con người vẫn chưa thoả mãn được tất cả nhu cầu của mình. Như vậy có nghĩa là nguồn lương thực và thực phẩm vẫn là một trong những vấn đề gay go nhất của loài người hiện nay. Nguyên nhân của vấn đề này có nhiều, có thể là do nguyên nhân xã hội, nguyên nhân kĩ thuật, nhưng cái chính là con người vẫn còn thiếu những biện pháp cải tạo đúng mức và sử dụng hợp lí chức năng quang hợp của cây xanh trên cơ sở của một trình độ hiểu biết cao hơn về bản chất của quá trình quang hợp.

2. Lí thuyết thâm canh tăng năng suất cây trồng trên quan điểm quang hợp

Người ta đã chứng minh được rằng : Quang hợp là quá trình cơ bản quyết định năng suất cây trồng. Tổng số chất khô do quang hợp tạo ra chiếm 90 – 95% tổng số chất khô của thực vật. Timiriazev, nhà sinh lí thực vật (Nga) đã nói : "Bằng cách điều khiển chức năng quang hợp, con người có thể khai thác cây xanh vô hạn". De Witt, nhà sinh lí thực vật Hà Lan cũng đã tính rằng : Nếu chỉ sử dụng 5% năng lượng hấp thụ, cây trồng đã có thể cho năng suất gấp 4 – 5 lần năng suất cao nhất hiện nay (vùng ôn đới khoảng 125 tạ/ha, vùng nhiệt đới khoảng 250 tạ/ha). Như vậy trồng trọt đúng là một hệ thống sử dụng chức năng cơ bản của cây xanh (chức năng quang hợp) và tất cả các biện pháp của hệ thống trồng trọt đều nhằm mục đích làm sao cho mọi hoạt động của bộ máy quang hợp có hiệu quả nhất. Trồng trọt chính là ngành "kinh doanh" năng lượng mặt trời.

Đã có nhiều nghiên cứu làm sáng tỏ mối quan hệ giữa hoạt động của bộ máy quang hợp và năng suất. Nhitriporovich, nhà sinh lí thực vật (Nga) đã biểu diễn mối quan hệ này bằng phương trình sau :

$$N_{KT} = \frac{\left(F_{CO_2}.L.K_f.K_{KT}\right)1,2,...n}{10.000}(T/ha)$$

N_{KT} : năng suất kinh tế (năng suất chất khô tích luỹ trong các "cơ quan kinh tế" của thực vật)

F_{CO_2} : cường độ quang hợp : mg $CO_2/dm^2.h$.

L : diện tích đồng hoá (diện tích làm nhiệm vụ quang hợp).

K_f : hệ số hiệu quả của quang hợp.

K_{KT} : hệ số kinh tế.

n : thời gian hoạt động của diện tích đồng hoá.

10000 : số đổi ra T/ha.

Như vậy rõ ràng là năng suất thu hoạch phụ thuộc vào các yếu tố sau :

– Nhịp điệu sinh trưởng của bộ máy quang hợp (diện tích đồng hoá (L)).

– Thời gian (n) hoạt động của bộ máy quang hợp.

– Cường độ quang hợp $\left(F_{CO_2}\right)$ và hệ số quả quang hợp (Kf).

– Hệ số kinh tế (K_{KT}), tức là phần năng suất chất khô tích luỹ trong các cơ quan kinh tế.

Những yếu tố này phụ thuộc vào thành phần tạo nên hệ quang hợp, nghĩa là những cá thể của hệ hay nói một cách khác phụ thuộc vào giống cây trồng, phụ thuộc cấu trúc của hệ, tức là cấu trúc không gian (sự sắp xếp giữa các cá thể, sự sắp xếp các thành phần của bộ máy quang hợp) của hệ sao cho sử dụng được năng lượng mặt trời với hệ số cao nhất ; phụ thuộc vào hoạt tính của hệ bao gồm các hoạt động trao đổi chất của hệ (quá trình hấp thu các chất, quá trình vận chuyển và tích luỹ, đồng hoá và dị hoá) và hoạt động trao đổi năng lượng của hệ (trao đổi nhiệt, hấp thu năng lượng, trao đổi nước, chuyển hoá nội năng).

Như vậy trên quan điểm quang hợp, muốn tăng năng suất cây trồng ta phải điều khiển hệ quang hợp về cả ba mặt : thành phần tạo nên hệ, cấu trúc của hệ và hoạt tính của hệ sao cho nó hoạt động tốt nhất.

Trong thực tế sản xuất, người ta đã nghiên cứu để tạo ra được những hệ quang hợp cho năng suất rất cao như hệ quang hợp tảo, hệ quang hợp tối ưu của thực vật bậc cao trong điều kiện khí hậu nhân tạo. Việc phát hiện ra các nhóm thực vật với con đường cacbon trong quang hợp khác nhau (C_3, C_4, CAM) đã đẩy mạnh hướng nghiên cứu quang hợp giống cây trồng : gây đột biến, lai tạo, kể cả lai tạo giữa thực vật C_3 và C_4, để tạo được những giống cây trồng có cường độ và hiệu suất quang hợp cao, hoặc nghiên cứu ức chế quá trình hô hấp ánh sáng ở thực vật C_3 để tăng hiệu suất quang hợp của nó.

Cuối cùng, nếu so sánh giữa hệ số sử dụng quang năng lí thuyết (khoảng 30%) với hệ số sử dụng quang năng thực tế (hệ quang hợp tảo 5%, thực vật bậc cao 0,5 – 1,5%) sẽ thấy khả năng nâng cao năng suất cây trồng là vô tận.

Chương IV

DINH DƯỠNG KHOÁNG VÀ NITƠ Ở THỰC VẬT

I – MỘT SỐ KHÁI NIỆM VỀ DINH DƯỠNG KHOÁNG VÀ NITƠ Ở THỰC VẬT

Dinh dưỡng khoáng và nitơ đóng vai trò đặc biệt quan trọng trong đời sống thực vật. Điều kiện dinh dưỡng khoáng và nitơ là một trong những nhân tố chi phối có hiệu quả nhất quá trình sinh trưởng và phát triển của thực vật. Vì vậy các kiến thức đã thu được trong lĩnh vực này của sinh lí học thực vật có ý nghĩa lớn không những về phương diện lí thuyết mà cả về phương diện thực tiễn.

Ngay từ khi khoa học sinh lí thực vật mới phôi thai, các vấn đề dinh dưỡng thực vật như : thực vật dinh dưỡng và xây dựng nên cơ thể bằng những chất gì, vai trò của môi trường đất trong dinh dưỡng khoáng và nitơ ra sao, sự biến đổi các chất khoáng và nitơ trong cơ thể thế nào, vấn đề thực vật hấp thụ các chất từ môi trường ngoài... đã được rất nhiều các nhà sinh lí học thực vật quan tâm giải quyết.

Theo quan điểm siêu hình thì trong cơ thể có những "lực sống" đặc biệt. Thực vật không có khả năng tự chế biến các chất đặc trưng cho cơ thể mình, mà tất cả các chất cây thu được từ đất đều đã ở dạng được chế biến sẵn – "dịch đất". Những quan niệm này đã thống trị một thời gian dài trong thời kì cổ đại. Sau đó thuyết dinh dưỡng nước, mà người mở đầu là nhà thực vật học Hà Lan Van Helmont (1629) đã được thừa nhận rộng rãi. Van Helmont là người đầu tiên sử dụng phương pháp thí nghiệm để tìm hiểu vấn đề cây cần chất gì để sống. Ông đã trồng một cây liễu nặng 2,25 kg vào thùng gỗ chứa 80 kg đất và chỉ tưới nước. Sau 5 năm, cây liễu nặng 66 kg, trong khi đó khối lượng đất chỉ giảm 56 g. Tác giả kết luận là cây chỉ cần nước để sống. Quan niệm nước là chất dinh dưỡng cơ bản và duy nhất của cây, mặc dù là rất sai lầm cũng đã được thừa nhận rộng rãi trong một thời gian dài.

Cuối thế kỉ XVIII và đầu thế kỉ XIX, thuyết chất mùn do Thaer (1783) đề ra đã được nhiều người hưởng ứng. Thuyết này cho rằng cây chỉ hấp thụ từ đất các chất mùn (các chất hữu cơ) và nước và từ các thành phần đó mà xây dựng nên cơ thể của mình. Dựa vào thuyết này, người ta đã nâng cao năng suất cây trồng bằng cách trồng các loại cây họ Đậu và bón các chất hữu cơ cho đất.

Đến giữa thế kỉ XIX, nhà hoá học Liebig (Đức, 1840) đã xây dựng thuyết chất khoáng, nhằm khắc phục tính phiến diện của thuyết chất mùn. Thuyết chất khoáng cho rằng : Cơ sở của độ màu mỡ của đất là các muối khoáng chứa trong đất. Vai trò dinh dưỡng của đất chỉ ở chỗ cung cấp cho cây các yếu tố khoáng. Liebig còn cho rằng : Cây có thể thoả mãn nhu cầu N không phải từ sự hấp thụ trong đất mà từ các hợp chất N

trong không khí. Chất mùn chỉ có vai trò làm giàu CO_2 trong đất và do đó thúc đẩy quá trình tan rã các dạng đá mẹ thành các chất khoáng cung cấp cho cây. Liebig nhấn mạnh tầm quan trọng của việc bón phân hoá học để hoàn lại cho đất các chất khoáng đã bị cây lấy đi sau mỗi lần thu hoạch. Vì vậy nửa sau thế kỉ XIX, ở các nước châu Âu việc sản xuất và sử dụng phân bón hoá học rất rộng rãi và việc này đã giúp cho năng suất lúa mì tăng gấp đôi so với trước.

Sai lầm trong thuyết chất khoáng của Liebig là ở chỗ giải thích không đúng vấn đề dinh dưỡng N của cây và đánh giá thấp vai trò của chất mùn. Tuy nhiên thời kì tiếp theo của thế kỉ XIX và thế kỉ XX, các nhà sinh lí thực vật đã có nhiều đóng góp quan trọng vào việc phát triển thuyết chất khoáng của Liebig và xây dựng, hoàn thiện dần học thuyết về dinh dưỡng khoáng và nitơ ở thực vật. Chẳng hạn đã xây dựng các phương pháp phân tích cây, phân tích đất, phương pháp trồng cây trong chậu và phương pháp thí nghiệm đồng ruộng,... nhằm giải đáp các vấn đề của dinh dưỡng khoáng thực vật như : cây cần gì để sống, vai trò của N và từng nguyên tố khoáng (đa lượng và vi lượng) đối với các quá trình sống của cây, vai trò của đất, của nước trong dinh dưỡng thực vật, vai trò của vi sinh vật đất trong quá trình phân giải biến đổi các hợp chất hữu cơ, trong quá trình cố định N sinh học và cuối cùng đã xây dựng được các biện pháp bón phân hợp lí cho cây trồng nhằm đạt được năng suất thu hoạch cao nhất.

II – CƠ CHẾ QUÁ TRÌNH HÚT CÁC CHẤT KHOÁNG

Theo quan niệm hiện nay, quá trình hút các chất khoáng của cây là một quá trình sinh lí rất phức tạp, tiến hành theo nhiều cơ chế khác nhau vừa có tính chất thụ động (không liên quan đến các quá trình trao đổi chất), vừa có tính chất chủ động (liên quan mật thiết đến các quá trình trao đổi chất trong cơ thể thực vật, tức là các quá trình cung cấp các hợp chất trung gian và cung cấp năng lượng).

Chúng ta xét cơ chế của quá trình hút các chất khoáng bởi rễ hai cơ chế chính : cơ chế thụ động và cơ chế chủ động.

1. Cơ chế thụ động

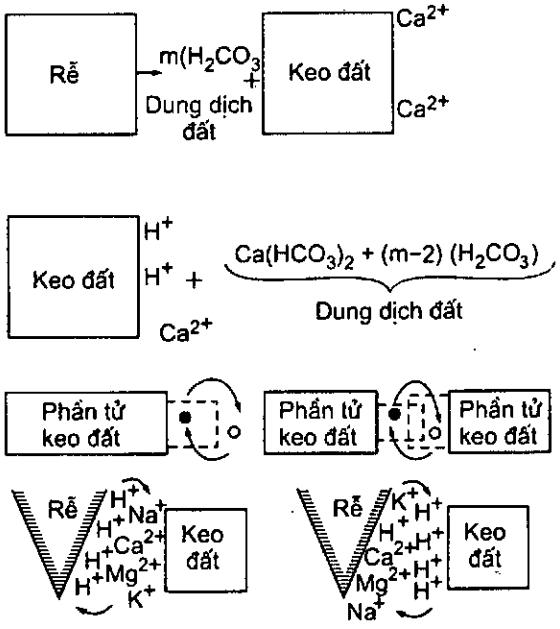
Theo cơ chế này, rễ cây có thể hút các chất khoáng bằng các cơ chế ít nhiều mang tính chất thụ động dựa theo quá trình khuếch tán và thẩm thấu, quá trình hút bám trao đổi, quá trình phân phối theo cân bằng Donnan...

Cơ chế hút khoáng thụ động này không có tính chọn lọc, không phụ thuộc vào hoạt động sinh lí của cây. Trong suốt thời gian dài, người ta quan niệm sự xâm nhập các chất khoáng vào rễ và vận chuyển lên thân, lá là do quy luật khuếch tán và thẩm thấu chi phối. Theo quan niệm này rễ cây chỉ hấp thụ được những chất ở trạng thái hoà tan trong nước và bị lôi cuốn cùng với dòng nước vào cây, và theo quy luật khuếch tán thì các chất khoáng đi vào rễ nhờ sự chênh lệch nồng độ các ion trong rễ và ngoài môi trường.

Tuy nhiên các nhà sinh lí thực vật chưa có ý kiến thống nhất về mức độ tham gia của quá trình khuếch tán trong sự hút chất khoáng của cây. Một số ý kiến cho rằng quá trình khuếch tán có ý nghĩa đáng kể trong sự hút chất khoáng ở môi trường đất mặn, hoặc khi cây già, khi rễ cây bị thương tổn... Một số ý kiến khác lại cho rằng một phần đáng kể của bộ rễ gồm thành tế bào, gian bào, và một phần chất nguyên sinh được các ion khuếch tán qua lại tự do.

– *Cơ chế hút bám trao đổi* : Dựa trên nguyên tắc các ion mang điện trái dấu trao đổi với nhau khi hút bám trên bề mặt rễ hoặc nằm trong các khoảng không gian tự do của thành tế bào rễ. Cơ chế hút bám trao đổi này biểu hiện rõ rệt ở giai đoạn đầu tiên của quá trình hút khoáng. Các ion đi vào rễ nhờ hút bám trên các gốc mang điện trái dấu... trên thành xenluloz, màng chất nguyên sinh và nhờ việc đẩy ra ngoài một lượng tương đương các ion cùng dấu đã bám trên đó (hình 66).

– *Quá trình phân phối theo cân bằng Donnan* : Các ion được phân phối cân bằng giữa môi trường trong và ngoài tế bào rễ qua một màng ngăn cách. Tất nhiên màng này chỉ cho một số ion đi qua, mà không cho một số ion khác đi qua. Cân bằng Donnan giải thích hiện tượng nồng độ chất khoáng trong dịch tế bào cao hơn nhiều so với môi trường ngoài như sau : các ion xâm nhập vào dịch tế bào được liên kết với các chất khác trong tế bào, nhờ vậy gradien nồng độ ion vẫn giữ được cân bằng trong suốt thời gian hút khoáng.



Hình 66 – Sơ đồ trao đổi ion giữa rễ và dung dịch đất, keo đất

Tuy nhiên, ngày nay bằng thực nghiệm chính xác, các nhà sinh lí thực vật đã chỉ ra nhiều thiếu sót của các cơ chế hút khoáng theo tính chất thụ động, như đã chứng minh rằng : giữa sự hút nước và hấp thu các chất khoáng không có mối quan hệ chặt chẽ, hoặc giữa các ion cùng dấu không có quan hệ cạnh tranh nhau trong quá trình hấp thu, hoặc cân bằng Donnan chỉ có thể áp dụng trong trường hợp di chuyển của ion từ một dung dịch này tới một dung dịch khác qua một màng lọc thụ động, mà ta không thể xem thành tế bào là một màng lọc thụ động được.

2. Cơ chế chủ động

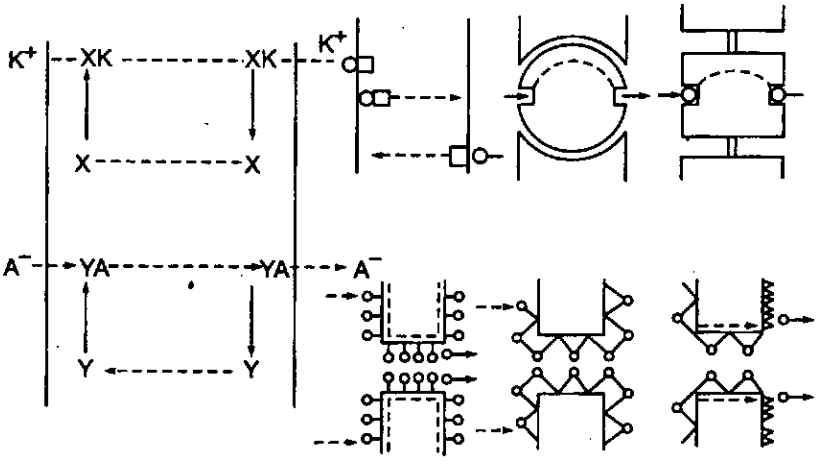
Sự hút chủ động các nguyên tố khoáng bởi hệ rễ liên quan đến quá trình trao đổi chất của tế bào. Hiện nay có thể dẫn ra một số tài liệu đủ để chứng minh cho cơ chế chủ động trong việc hút các chất khoáng và giải thích bản chất của nó.

– *Mối liên quan tương hỗ giữa quá trình hút khoáng và hô hấp* : Nhiều nghiên cứu đã xác định rằng khi hút ion nitrat có kèm theo sự thải CO_2 và các sản phẩm cuối của hô hấp (các ion H^+, HCO_3^-) đã bảo đảm sự trao đổi liên tục một lượng tương đương các anion và cation của môi trường ngoài. Những nghiên cứu khác đều cho thấy có mối liên quan chặt chẽ giữa cường độ hô hấp và quá trình hút khoáng và đi đến kết luận : hô hấp là điều kiện cần thiết cho sự hút chất dinh dưỡng bởi hệ rễ.

Về cơ chế của mối liên quan giữa hô hấp và sự hút khoáng, một số nhà sinh lí thực vật đã chỉ ra rằng : hô hấp cung cấp nguồn năng lượng để tập trung các chất hoà tan trong

chất nguyên sinh và hoạt hoá các phân tử trong chất nguyên sinh đồng thời duy trì một gradien nồng độ trong chúng. Một số tác giả khác cho rằng trên bề mặt hoạt động của thành tế bào tồn tại một gradien thế oxi hoá – khử (do phân tử xitocrom nằm trên bề mặt của màng bị oxi hoá, còn xitocrom nằm ở phía trong thì bị khử). Các anion được liên kết khi xitocrom bị oxi hoá và được giải phóng khi xitocrom bị khử. Còn các cation thì được vận chuyển thụ động dọc theo đường đi của anion dưới ảnh hưởng của gradien điện tích do sự xâm nhập anion tạo nên. Người ta đã chứng minh mối liên quan bắt buộc của bất kì sự tổng hợp nào trong tế bào sống với hô hấp (một quá trình cung cấp năng lượng và nguyên liệu cho các hoạt động sống). Do đó hô hấp quy định sự tồn tại về mặt hoạt động của chất nguyên sinh, vận tốc đổi mới của nó, độ no các chất nhận các nguyên tố khoáng và khả năng tương tác với chúng.

– *Thuyết chất mang* : giải thích cơ chế hút chủ động các nguyên tố khoáng có liên quan trực tiếp đến sự trao đổi chất của tế bào hút. Thời gian gần đây đã đưa ra nhiều giả thuyết. Thuyết chất mang (carrier concept) là thuyết được thừa nhận rộng rãi nhất. Các nhà sinh lí thực vật đã dùng thuyết này để giải thích cơ chế hút và vận chuyển không chỉ các cation, anion, mà cả các chất hữu cơ nữa. Thuyết chất mang dựa trên quan niệm về sự có mặt trên bề mặt chất nguyên sinh, một màng không thấm đối với các ion tự do và không cho các ion đã xâm nhập vào tế bào tự khuếch tán ra ngoài. Trên bề mặt của màng chất nguyên sinh trong quá trình trao đổi chất hình thành nên những chất không chỉ có khả năng tương tác với các nguyên tố khoáng của môi trường ngoài mà còn vận chuyển chúng qua màng như phức hệ ion – chất mang, sau khi xâm nhập qua màng, phức hệ ấy được phân giải. Ion giải phóng tham gia tương tác với các phân tử của chất nguyên sinh, còn chất mang lại quay trở lại bề mặt màng và lại thực hiện tiếp tục vận chuyển các nguyên tố khoáng (hình 67a).



Hình 67a – Sơ đồ minh hoạ thuyết chất mang

Theo quan niệm này, chất mang là phương tiện vận chuyển, nhờ nó mà ion chui qua được màng ngăn cách giữa môi trường trong và ngoài, còn các ion tự do thì không vượt qua được.

Về bản chất và cơ chế vận chuyển phức hệ ion – chất mang hiện còn những quan điểm khác nhau. Theo ý kiến nhiều tác giả, ion và chất mang tạo nên một phức chất tan trong nước và có thể khuếch tán qua màng lipoprotein theo gradien nồng độ (chất mang

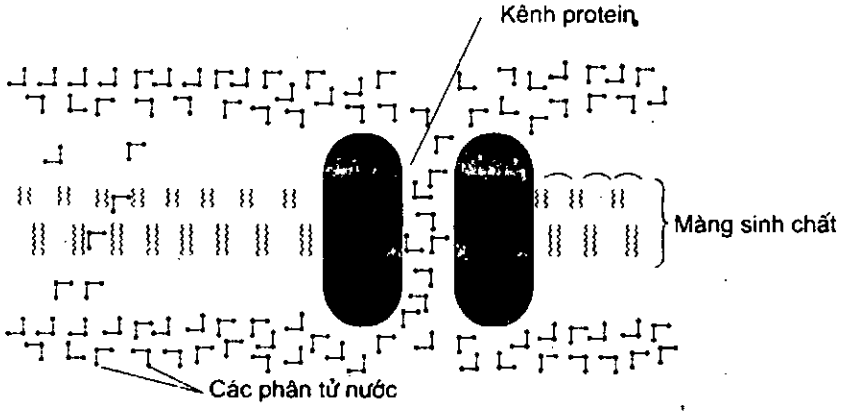
khuếch tán). Chất mang có thể quay trên màng và chuyển ion từ mặt này sáng mặt kia của màng (chất mang quay). Chất mang có thể vận chuyển ion vào trong tế bào bằng cách trượt dọc thành các lỗ đầy nước của màng (chất mang trượt). Cuối cùng chính các protein co duỗi giữ vai trò chất mang. Sự vận chuyển ion được thực hiện bởi sự co và duỗi theo nhịp điệu của mạch peptit (chất mang co duỗi). Theo giả thuyết chất mang, năng lượng giải phóng trong quá trình hô hấp được sử dụng đầu tiên vào việc tổng hợp phân tử chất mang ; hình thành phức hệ ion – chất mang ; vận chuyển phức hệ ion – chất mang và cuối cùng là sự giải phóng chất mang.

Về bản chất hoá học của chất mang, nhiều tác giả cho rằng : có chất mang chuyên hoá (chỉ chuyên mang một ion nào đó) và có chất mang chung (mang bất kì ion nào). Các chất mang ấy có thể là các axit amin và protein lưỡng tính, có thể là sản phẩm trung gian của quá trình trao đổi gluxit như : glucozamin và galactozamin, ATP–aza, các photphatit, sản phẩm trao đổi nitơ và protein, các enzim oxi hoá – khử. Những năm gần đây, nhiều tác giả cho rằng chất mang có thể là các nucleoproteit.

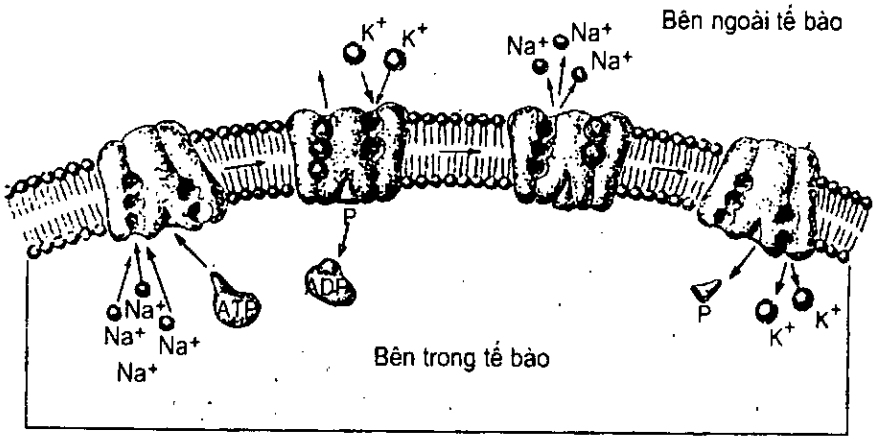
Tóm lại, theo cách trình bày ở trên, sự xâm nhập các chất vào tế bào theo hai cơ chế : thụ động và chủ động, hay nói một cách khác sự xâm nhập các chất vào tế bào theo hai hình thức : một hình thức có liên quan đến trao đổi chất và một hình thức không liên quan đến trao đổi chất. Tuy nhiên nhiều tác giả phủ nhận tính thụ động của cơ chế hút khoáng và cho rằng : Tất cả các chất khoáng và chất hữu cơ của môi trường bên ngoài đều bị tế bào chiếm lấy một cách chủ động. Các tác giả này chỉ công nhận cơ chế trao đổi chất (sự hút khoáng liên quan đến trao đổi chất) còn cơ chế không trao đổi chất phải thông qua hiện tượng pinoxitoz và fagoxitoz (đó là sự vận động liên tục của màng sinh chất, sự biến dạng bề mặt của nó, các ion, các phân tử cùng với màng nước của chúng, hay các giọt dung dịch bị màng bề mặt chiếm lấy, hút vào lớp trong của chất nguyên sinh, rồi sau đó được sử dụng hoặc xâm nhập tiếp vào mạch dẫn dưới dạng không biến đổi).

Hiện nay trên cơ sở hiểu biết về cấu trúc khảm động của màng sinh chất, người ta tìm hiểu các cơ chế hấp thụ khoáng qua màng này.

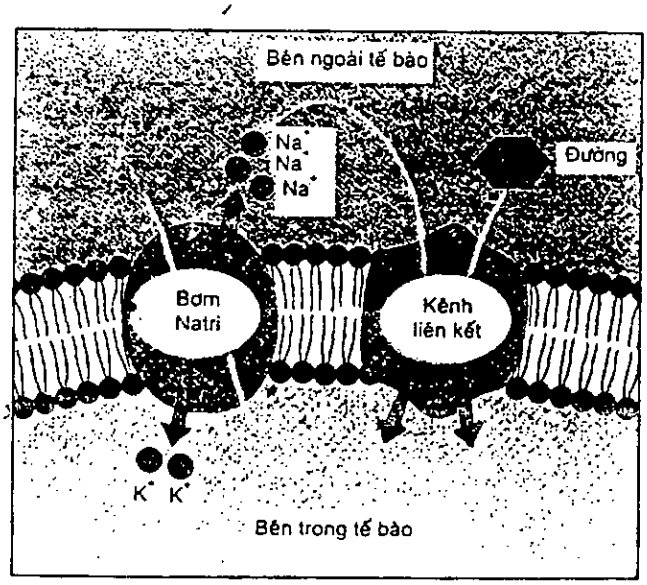
Một số cơ chế hấp thụ khoáng được minh hoạ ở một số hình 67b, c, d, e, f



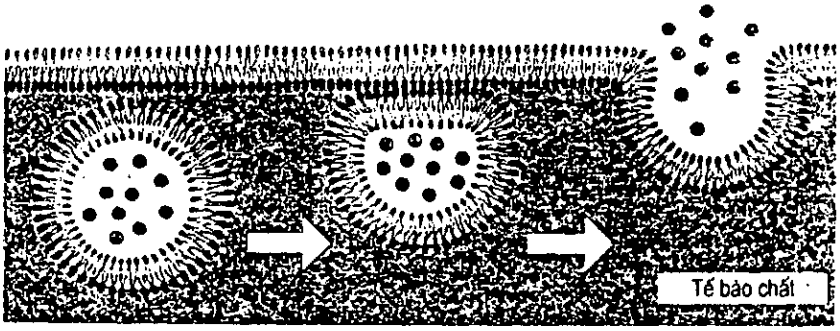
Hình 67b – Sơ đồ biểu diễn các phân tử nước đi qua màng sinh chất



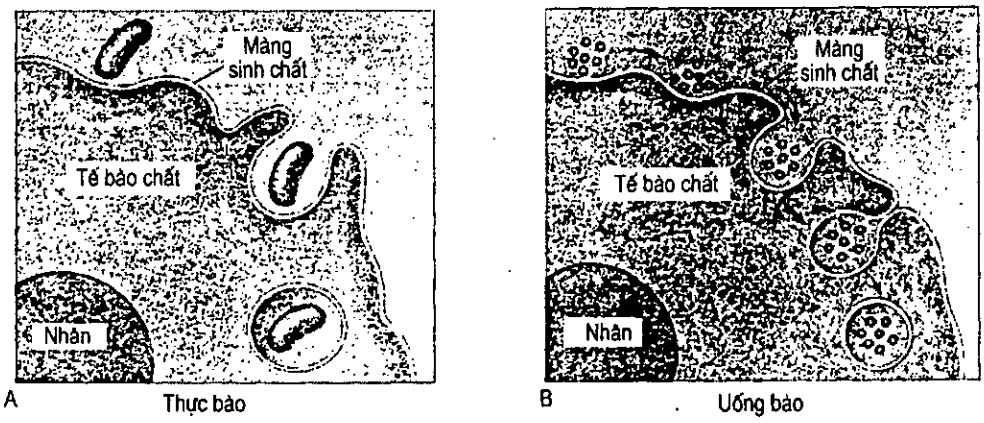
Hình 67 c – Bơm natri-kali



Hình 67d – Kênh liên kết



Hình 67e – Quá trình ngoại thẩm bào



Hình 67f – Quá trình nội thấm bào

III – ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN BÊN NGOÀI ĐẾN SỰ HÚT CÁC CHẤT DINH DƯỠNG Ở RỄ

1. Ảnh hưởng của nồng độ và tỉ lệ các nguyên tố khoáng ở môi trường ngoài đến sự hút khoáng

Một số nghiên cứu cho rằng : tốc độ hút các chất khoáng như nhau ở các dung dịch có nồng độ cao và thấp, nhất là đối với những chất quan trọng chứa các gốc PO_4^{3-} và NO_3^-. Tuy nhiên đối với nhiều ion khác người ta có tìm thấy mối tương quan thuận giữa cường độ hút khoáng với nồng độ (nhất là lúc nồng độ thấp). Về tỉ lệ giữa các ion trong môi trường và mối liên quan giữa chúng với cường độ hút khoáng, nhiều tác giả cho thấy : có ba hình thức tương quan giữa các ion là : đối kháng, hỗ trợ và không ảnh hưởng lẫn nhau. Hiện tượng đối kháng ion là hình thức tương quan phổ biến đối với các cation, đặc biệt là các cation kiềm và kiềm thổ. Chẳng hạn lúc tăng nồng độ K^+, sự hấp thụ Ca^{2+} bị giảm sút một cách tương ứng. Quan hệ đối kháng biểu hiện rõ ở các cặp ion sau : Mg^{2+} và K^+, Na^+, Ca^{2+}, Mn^{2+}, NH_4^+ ; giữa K^+ và NH_4^+, Sr^{2+}, Mn^{2+}, Pb^{2+}, Cs^+ ; giữa Sr^{2+} và Li^+ ; giữa Sn^{2+} và Rb^+, giữa Ca^{2+} và Li^+, Na^+, NH_4^+, Fe^{2+}, Mg^{2+} ; giữa Mn^{2+} và Fe^{2+}, Na^+,... Hiện tượng đối kháng giữa các anion thuộc nhóm halogen cũng được chỉ ra và khả năng cạnh tranh của chúng được sắp xếp theo thứ tự sau : $Cl^- > I^- > F^- > Br^-$. Một số cặp đối kháng của anion đã được xách định : Cl^- ; NO_3^- và PO_4^{2-}.

Mối quan hệ hỗ trợ (thúc đẩy) lẫn nhau giữa các ion trong quá trình xâm nhập đã được nhiều tác giả nghiên cứu. Chẳng hạn, thấy rằng : có sự kích thích sự hấp thụ K^+ và Ba^{2+}, Mg^{2+},... của các cation hoá trị 2 và 3 như Ca^{2+}, Mg^{2+}, Al^{3+} và một số nguyên tố vi lượng : Mo, B,...

Cuối cùng là hình thức tương quan không ảnh hưởng lẫn nhau như đối với một số anion : PO_4^{3-}, NO_3^-, SO_4^{2-},...

2. Ảnh hưởng của độ thoáng khí đến sự hút chất dinh dưỡng

– Ảnh hưởng của nồng độ O_2. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng : sự hút các chất khoáng đạt mức cao nhất ở môi trường có nồng độ O_2 từ 2 đến 3%. Nồng độ O_2 dưới 2%, tốc độ hút khoáng giảm hẳn. Nhưng nếu tăng nồng độ O_2 từ 3 đến 100% thì tốc độ hút khoáng cũng thay đổi.

– Ảnh hưởng của nồng độ CO_2, N_2, H_2S và pH môi trường. Sự tích luỹ CO_2, N_2, H_2S và các khí khác trong đất úng ngập có tác động ức chế hoạt động hút khoáng của hệ rễ. Độ pH của môi trường có ảnh hưởng nhiều đến sự xâm nhập ưu thế anion hay cation. Chẳng hạn, trong môi trường kiềm việc hút cation mạnh hơn anion, còn trong môi trường axit thì ngược lại. Độ pH còn ảnh hưởng đến trạng thái các chất dinh dưỡng trong đất như sự hoá kiềm làm giảm độ linh động của các nguyên tố vi lượng và P, ngược lại trong môi trường quá axit thì độ linh động của Ca, Na, P bị giảm sút, trong khi đó độ linh động của Al, Mn,... lại tăng lên đến mức gây độc cho cây.

3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hút khoáng

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về vấn đề này, nhưng đến nay vẫn chưa được giải quyết thoả đáng. Bởi trong cơ thể sống, tất cả mọi quá trình đều có sự phụ thuộc vào nhiệt độ, vì vậy sẽ vô cùng khó khăn khi muốn tách riêng tác dụng của nhiệt độ lên quá trình hút các chất khoáng ở hệ rễ. Tuy nhiên một số nghiên cứu đã thống nhất rằng : khi tăng nhiệt độ ở một giới hạn hẹp đã làm tăng sự hút các chất dinh dưỡng. Chẳng hạn, rễ cây đại mạch non ở 16°C đã tích luỹ K^+, NO_3^- và Cl^- nhiều hơn từ 5 đến 10 lần so với ở 6°C. Nói chung hệ số Q_{10} đối với sự hút khoáng thường lớn hơn 2 ($Q_{10} > 2$).

Về cơ chế ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự hút khoáng, nhiều tác giả cho rằng : Nhiệt độ đã ảnh hưởng chủ yếu lên quá trình trao đổi chất, lên quá trình liên kết giữa các phần tử trong chất nguyên sinh với các nguyên tố khoáng.

4. Ảnh hưởng của ánh sáng đến sự hút khoáng

Ánh sáng có ảnh hưởng rất mạnh mẽ đến sự hút khoáng.

Nếu để cây ngô trong tối 4 ngày thì nó sẽ không còn khả năng hấp thụ P và khả năng này được phục hồi dần dần khi đưa cây ngô ra ngoài ánh sáng. Ánh sáng có ảnh hưởng mạnh đến sự hấp thụ NH_4^+ hơn là với NO_3^-. Đối với cây lúa khi tăng cường độ ánh sáng, thấy sự hấp thụ NH_4^+, SO_2^{2-} tăng mạnh, trong khi đó sự hấp thụ Ca, Mg ít thay đổi. Đã có nhiều nghiên cứu về ảnh hưởng của mức độ chiếu sáng đến sự hấp thụ K^+, NH_4^+, NO_3^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-} các anion halogen và các nguyên tố vi lượng Co, Cs... ở nhiều cây trồng.

Nói chung tác động của ánh sáng đến quá trình hút khoáng có ảnh hưởng tới quá trình quang hợp, trao đổi nước và tính thẩm thấu của chất nguyên sinh.

IV – VAI TRÒ SINH LÍ CỦA CÁC NGUYÊN TỐ KHOÁNG

1. Hàm lượng của các nguyên tố khoáng trong cây

Có thể nói trong cây có mặt hầu hết các nguyên tố đã tìm thấy trên vỏ Trái Đất. Bằng phương pháp phân tích hoá học, ngày nay người ta đã tìm thấy trong cây có 74 nguyên tố hoá học. Tính trung bình trong chất khô của cây : C, O, H, N chiếm đến 95% (C : 45% ; O : 42% ; H : 6,5% ; N : 1,5%). Bốn nguyên tố này là thành phần chủ yếu tạo nên chất hữu cơ trong cây. Chúng xâm nhập vào cây dưới dạng H_2O, khí CO_2, O_2, NH_3, NO_3^- và thoát ra ở thể khí khi đốt cháy. Những nguyên tố còn lại chứa trong tro thực vật (lượng còn lại sau khi đốt cháy thực vật). Hàm lượng của chúng khác nhau rất lớn phụ thuộc vào loài cây, vào các bộ phận khác nhau của cây.

Căn cứ vào hàm lượng chứa trong cây, người ta đã chia các nguyên tố trong cây ra làm ba nhóm :

– Nhóm các nguyên tố chiếm một lượng lớn, từ 10^{-1} đến 10^{-4}% chất khô, gọi là các nguyên tố đa lượng, gồm : C, H, O, N, S, P, K, Mg, Ca, Fe, Si, Na, Al. Các nguyên tố này chiếm 99,95% khối lượng khô của cây.

– Nhóm các nguyên tố chiếm một lượng nhỏ, từ 10^{-5} đến 10^{-7}% chất khô, gọi là các nguyên tố vi lượng. Đó là các nguyên tố Mn, B, Sr, Cu, Ti, Zn, Ba, Li, Br, F, Rb, Sn, Mo, Co.

– Nhóm các nguyên tố chiếm một lượng rất nhỏ, < 10^{-8}% chất khô, gọi là các nguyên tố siêu vi lượng. Đó là các nguyên tố : As, I, Cs, Ge, Se, Cd, Pb, Hg, Ag, Au, Ra.

Các nguyên tố được cây hấp thụ vào có thể có những vai trò khác nhau. Các á kim (P, N, S...) là thành phần kiến trúc nên những chất hữu cơ phức tạp của chất tế bào và nhân. Những chất này xâm nhập vào cây chủ yếu dưới dạng anion và ít khi ở trạng thái tự do.

Các kim loại xâm nhập vào cây dưới dạng cation có tác dụng bảo toàn kiến trúc của chất nguyên sinh. Chúng duy trì trạng thái điện ở bề mặt của các phần tử keo trong sự phối hợp với các anion. Một số lớn các cation như K^+ thường ở trạng thái tự do và rất linh động, Na^+ ở trạng thái tự do hoặc bị các phần tử keo hấp thụ tạo nên các liên kết hoá học.

Nhiều nguyên tố khoáng còn tham gia vào các hệ thống enzim điều chỉnh các quá trình trao đổi chất trong cơ thể thực vật.

Sau đây chúng ta xét vai trò sinh lí của một số nguyên tố quan trọng.

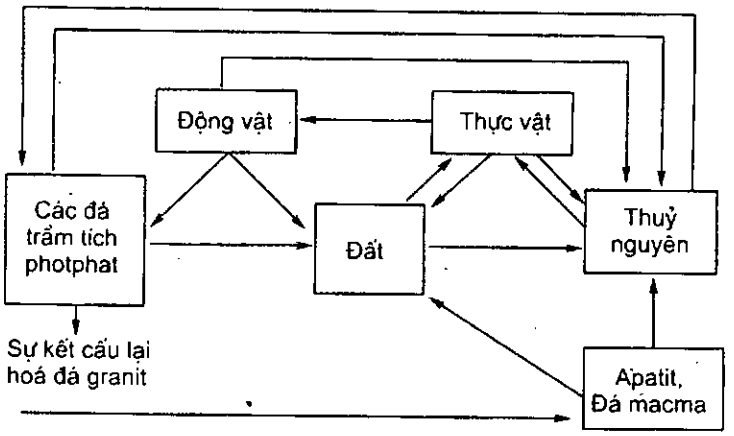
2. Vai trò sinh lí của các nguyên tố đa lượng

a) Vai trò của photpho (P)

Photpho là nguyên tố hoá học thuộc nhóm V trong bảng tuần hoàn các nguyên tố hoá học Mendeleev, có số thứ tự 15. Khối lượng nguyên tử bằng 30,97. Trong các đồng vị của P đồng vị P^{32} là quan trọng nhất, được dùng làm nguyên tử đánh dấu trong các nghiên cứu khoa học khác nhau. Chu kì bán huỷ của P^{32} là 14,5 ngày.

Hàm lượng P trong vỏ Trái Đất là 0,8% tính theo khối lượng. P dễ bị oxi hoá, nên không ở trạng thái tự do. Trong đất, P chiếm 0,02 – 0,2% tuỳ theo loại đất.

Sau đây là chu trình P trong tự nhiên (hình 68).



Hình 68 – Sơ đồ chu trình photpho trong tự nhiên

Người ta chú ý nhiều đến việc làm sáng tỏ vai trò sinh lí của P trong cơ thể thực vật. Tuy nhiên đến nay bức tranh về những biến đổi các hợp chất P trong cơ thể vẫn chưa sáng tỏ hoàn toàn.

Cơ thể thực vật sử dụng P dưới dạng muối của axit photphoric. Bản chất của sự biến đổi các hợp chất P trong cơ thể là các gốc axit tham gia vào thành phần một chất hữu cơ nhất định bằng quá trình photphorin hoá và sau đó truyền cho các chất khác (bằng cách chuyển photphorin hoá). Bằng con đường đó cơ thể đã tạo thành tất cả các chất chứa P cần thiết cho sự sống. Các hợp chất P gặp trong cơ thể thực vật khác nhau về bản chất hoá học, cũng như về chức năng sinh lí. Có thể chia làm 5 nhóm các hợp chất P như sau :

– *Nhóm nucleotit* (bao gồm AMP, ADP, ATP). Các nucleotit này đóng vai trò rất quan trọng trong các quá trình cố định, dự trữ và chuyển hoá năng lượng, đồng thời chúng tham gia vào tất cả các quá trình biến đổi và sinh tổng hợp các cacbohidrat, lipit, protein, cũng như quá trình trao đổi axit nucleic trong cơ thể thực vật.

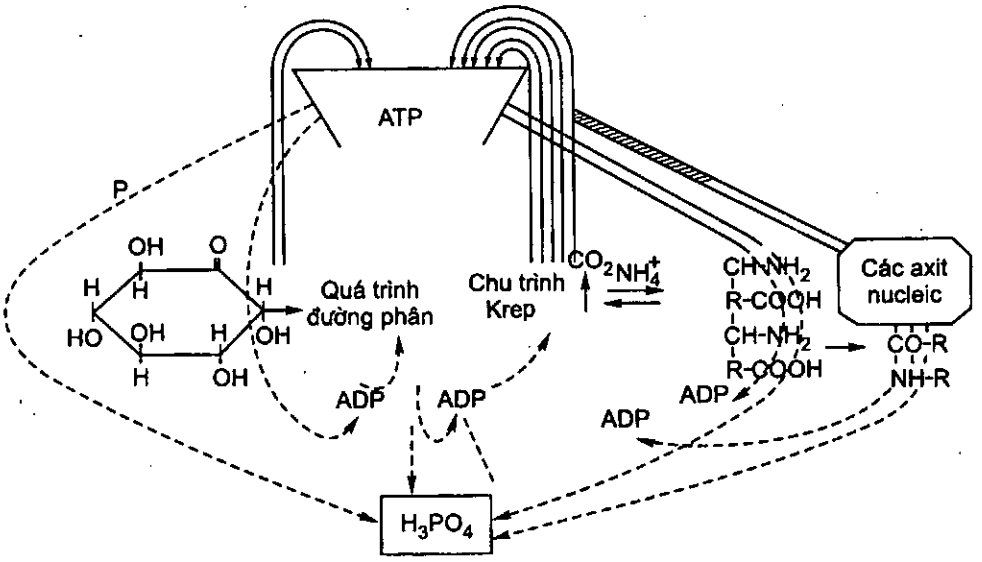
– *Hệ thống coenzim.* Hệ thống này đóng vai trò to lớn trong việc tạo thành các hợp chất và năng lượng trong các quá trình hô hấp và quang hợp. Liên quan với chúng có CoI (NAD), CoII (NADP).

– *Các axit nucleic và các nucleoprotein.* Nhóm này liên quan với quá trình sinh tổng hợp protein, các quá trình sinh trưởng và phát triển của thực vật.

– *Các poliphotphat.* Chúng có thể photphorin hoá ARN và có thể coi chúng là các hợp chất cao năng giống như ATP. Thực vật cần các poliphotphat này để hoạt hoá ARN trong quá trình sinh tổng hợp protein và axit nucleic.

– *Các estephotphat của các loại đường* (như hexozo – P). Chúng đóng vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi cacbohidrat.

Như vậy, P sau khi xâm nhập vào thực vật dưới dạng các hợp chất vô cơ theo con đường đồng hoá sơ cấp P bởi hệ rễ, đã tham gia vào nhiều hợp chất hữu cơ quan trọng và tham gia vào hầu hết các quá trình trao đổi chất của cây. Do vậy có thể nói rằng P đóng vai trò quyết định sự biến đổi vật chất và năng lượng, mà mối liên quan tương hỗ của các biến đổi đó quy định chiều hướng, cường độ các quá trình sinh trưởng phát triển của cơ thể thực vật và cuối cùng là năng suất của chúng (hình 69).



Hình 69 – Sơ đồ sự đồng hoá sơ cấp P ở rễ

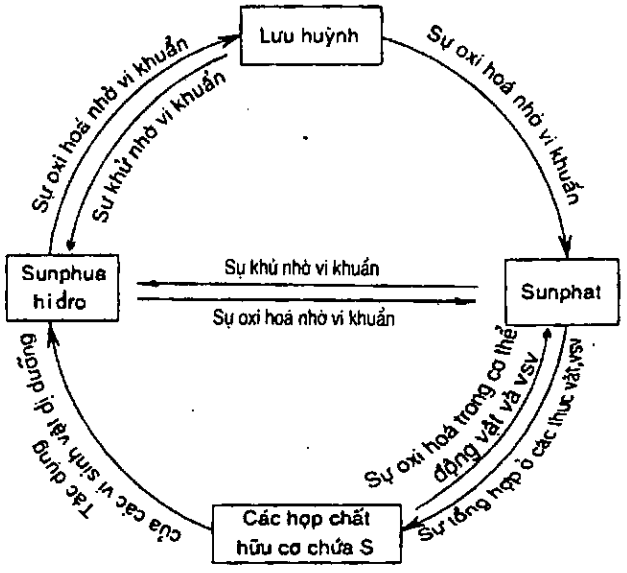
Vì vai trò của P quan trọng như vậy, nên khi thiếu P cây có những biểu hiện rõ rệt về hình thái bề ngoài, cũng như về năng suất thu hoạch. Đối với những cây họ Lúa, thiếu P lá mềm yếu, sự sinh trưởng của rễ và toàn cây, sự đẻ nhánh, phân cành kém. Lá cây có màu xanh đậm. do sự thay đổi tỉ lệ clorophin a và b. Ở những lá già thì đầu nút của lá có màu đỏ, thân cũng có màu đỏ. Hàm lượng protein trong cây giảm, trong khi đó hàm lượng N hoà tan lại tăng. Đối với cây ăn quả, khi thiếu P thì tỉ lệ đậu quả kém, quả chín chậm và trong quả có hàm lượng axit cao.

b) Vai trò của lưu huỳnh (S)

Lưu huỳnh là nguyên tố hoá học thuộc nhóm VI trong bảng hệ thống tuần hoàn các nguyên tố hoá học Mendeleev. S mang số thứ tự 16, khối lượng nguyên tử bằng 32. Hàm lượng S trong vỏ Trái Đất là 0,5%. Trong thiên nhiên có gặp S ở dạng tự do, nhưng phần lớn S ở dạng hợp chất. S nằm ở khắp nơi trong cơ thể thực vật và tham gia vào nhiều hợp chất hữu cơ quan trọng.

Vai trò cơ bản của hợp chất S là tham gia vào các quá trình năng lượng của cơ thể và là thành phần của nhiều chất có hoạt tính sinh học.

Sau đây là chu trình của S trong tự nhiên (hình 70).



Hình 70 – Sơ đồ chu trình S trong tự nhiên

Hiện nay không còn nghi ngờ gì nữa về vai trò quan trọng bậc nhất đối với các cơ thể sinh vật trong cuộc sống là thuộc về các hợp chất hữu cơ chứa S như các axit amin (xystein, xystin, metionin), axit lipoic, coezim A, các vitamin (biotin và tiamin). Các hợp chất penixilin cũng thuộc các hợp chất chứa S do nhiều nòi nấm *Penicillium* và nấm *Aspergillus* tạo nên. Trong quá trình sinh trưởng và phát triển của thực vật hàm lượng các hợp chất S biến đổi theo hướng tăng các hợp chất S-sunphat và giảm các hợp chất S-protein. Vì trong quá trình hoá già của thực vật, quá trình tổng hợp protein bị kìm hãm và sự phân giải các hợp chất protein được tăng cường. Các S-sunphat được thải ra ngoài dần dần theo chu trình biến đổi S. Tóm lại, vai trò quan trọng nhất của S là mối liên quan giữa nó với quá trình trao đổi chất nói chung và trước hết là sự trao đổi cacbohidrat và sự tích luỹ, biến đổi, dự trữ năng lượng. Chính vì vậy khi cây thiếu S lá có màu lục nhạt, cây chậm lớn, năng suất và phẩm chất thu hoạch đều giảm rõ rệt.

c) Vai trò của kali (K)

Kali là nguyên tố hoá học ở nhóm I trong bảng hệ thống tuần hoàn các nguyên tố hoá học Mendeleev, có số thứ tự 19, khối lượng nguyên tử bằng 39. K là một kim loại kiềm, có tính khử mạnh, dễ dàng mất điện tử và trở thành cation hoá trị 1 (K^+).

Trong đất K tồn tại dưới dạng các muối tan trong nước, K trao đổi, không trao đổi và trong các xilicat. K trao đổi rất quan trọng và thích hợp đối với thực vật. So với các nguyên tố khác, K có một hàm lượng lớn trong đất (65 – 75 T/ha trong lớp đất cày). K có nhiều trong đất đen, xám, nâu và có ít trong đất đỏ, than bùn. Trong cơ thể thực vật, tồn

tại dưới dạng các muối như KCl, $KHCO_3$, K_2HPO_4, KH_2PO_4 hoặc các dạng muối của các axit pyruvic, xitric, oxalic...

Vai trò sinh lí của K chưa được biết một cách đầy đủ và rõ ràng. Đến nay người ta biết chắc chắn rằng : K rất dễ xâm nhập vào tế bào, làm tăng tính thấm của thành tế bào đối với các chất khác. Do đó K ảnh hưởng nhiều đến quá trình trao đổi chất theo các chiều hướng khác nhau. Có thể tóm tắt vai trò sinh lí của K như sau :

– K ảnh hưởng đến quá trình trao đổi cacbohidrat, thể hiện ở việc K làm tăng cường độ quang hợp, tăng quá trình vận chuyển các hợp chất cacbohidrat trong cây.

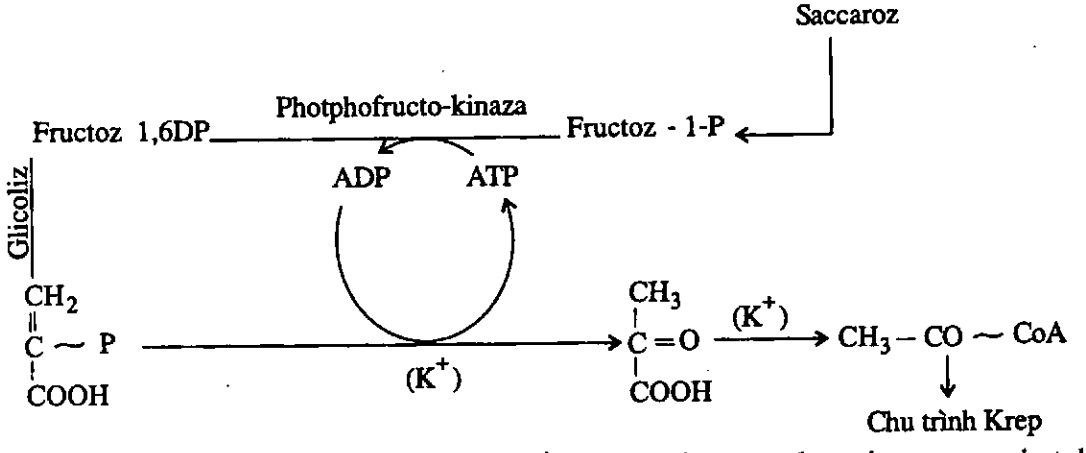
– K ảnh hưởng sâu sắc đến đặc tính lí hoá của hệ thống keo trong chất nguyên sinh như tăng quá trình thuỷ hoá, giảm độ nhớt, tăng hàm lượng H_2O liên kết.

– K ảnh hưởng theo hướng tích cực đến quá trình sinh tổng hợp các sắc tố trong lá.

– K ảnh hưởng tốt đến quá trình đẻ nhánh, hình thành bông và chất lượng hạt ở các cây ngũ cốc.

– K giúp cho việc tăng tính chống chịu của cây với nhiệt độ thấp, khô hạn và bệnh.

– K ảnh hưởng mạnh đến hô hấp (ảnh hưởng tốt hay xấu nhiều ý kiến mâu thuẫn nhau). Phần lớn các tác giả cho rằng K làm tăng quá trình hô hấp. Vấn đề này được minh hoạ bằng sơ đồ về sự tham gia của K vào các phản ứng của quá trình đường phân và chu trình Krep :



– K tham gia vào quá trình hoạt hoá nhiều enzim như : amylaza, invectaza, photpho-trans-axetylaza, axetyl-CoA-xysteaza, pyruvat-photpho-kinaza, ATP-aza...

– K liên quan đến trao đổi chất protein và axit amin. Nhiều thực nghiệm cho thấy K làm tăng quá trình sinh tổng hợp protein và axit amin. Khi thiếu K thì sự tích tụ amoniac tăng đến mức độc đối với cây.

3. Vai trò sinh lí của các nguyên tố vi lượng

a) Dạng các nguyên tố vi lượng tìm thấy trong thực vật

Trong 74 nguyên tố hoá học tìm thấy trong cơ thể thực vật có 11 nguyên tố đa lượng (chiếm 99,95%), còn hơn 60 nguyên tố còn lại là các nguyên tố vi lượng và siêu vi lượng

(chiếm 0,05%). Mặc dù vậy các nguyên tố vi lượng vẫn đóng một vai trò quan trọng trong đời sống cây trồng. Nhiều kim loại, trong đó có các nguyên tố vi lượng cần cho cây như : B, Mn, Zn, Cu, Fe, Mo, Co... đã được tìm thấy dưới dạng các phức hữu cơ – khoáng. Các phức hữu cơ – khoáng này có những tính chất cơ bản về mặt hoá học như sau. Tính chất của các phức chất khác biệt với tính chất của các thành phần cấu tạo nên nó. Phức chất có thể tham gia vào các phản ứng mà các thành phần của nó không thể tham gia được. Hiện nay người ta đã nghiên cứu chi tiết về các phức chất của các nguyên tố vi lượng như B, Cu, Fe, Mo,...

Ví dụ, axit boric tạo nên các phức chất với hàng loạt các chất là thành phần cấu tạo nên tế bào như : fructoz, galactoz, glucoz, arabinoz, mannoz, riboz,... B tạo nên phức chất với ATP. Phức chất này dưới tác dụng của ánh sáng, tách gốc axit photphoric dễ dàng hơn khi có một mình ATP. Hình như B làm tăng vai trò cảm quang của ATP.

Nhiều nghiên cứu cho rằng : Khi kết hợp với các hợp chất hữu cơ, hoạt tính của các nguyên tố vi lượng tăng gấp hàng trăm, hàng nghìn, thậm chí hàng triệu lần so với trạng thái ion của nó. Ví dụ : trong phức chất, Fe không những liên kết với 4 vòng pyron mà còn cả với protein đặc thù, nên hoạt tính của nó tăng lên hàng chục triệu lần. Oparin đã chỉ rõ rằng : 1 mg Fe liên kết trong phức chất tương đương với tác động xúc tác của 10 tấn Fe vô cơ. Cũng như vậy, Co trong cobalamin (vitamin B_{12}) có khả năng phản ứng mạnh gấp hàng nghìn lần Co vô cơ. Phức chất hữu cơ – Cu có khả năng phân giải H_2O_2 nhanh hơn hàng triệu lần so với $CuSO_4$ hay $CuCl_2$.

Vấn đề các phức hữu cơ – khoáng, cụ thể là các phức hữu cơ – kim loại đã có ý nghĩa đặc biệt do việc khám phá ra khả năng sử dụng các hợp chất nội phức (các chelat) vào việc chống bệnh vàng lá do thiếu Fe, cũng như các bệnh thiếu các nguyên tố vi lượng khác. Người ta đã sử dụng chelat – Fe (Fe-EDTA: Fe -etilen-diamin-tetra-axetic) để chống bệnh vàng lá rất nguy hiểm ở thực vật do thiếu Fe gây ra. Sau đó là các dạng chelat khác như : Cu-EDTA, Zn-EDTA, Mn-EDTA, Mo-EDTA,... là những loại phân vi lượng đặc biệt bón qua lá. Gần đây người ta đã phát hiện thấy : các hợp chất EDTA có tác động giống như các chất điều hoà sinh trưởng. Ví dụ trong thí nghiệm với mầm lúa mì, dùng EDTA với liều lượng 10^{-5}M sau 19 giờ có tác dụng như 10^{-5}M axit β indol-axetic (AIA).

b) Các nguyên tố vi lượng và enzim

Có thể khẳng định rằng : các nguyên tố vi lượng là cơ sở của sự sống, vì hầu hết các quá trình tổng hợp và chuyển hoá các chất được thực hiện nhờ các enzim, mà trong thành phần của các enzim đó đều có các nguyên tố vi lượng. Hiện nay đã biết khoảng 1000 hệ enzim và khoảng 1/3 số hệ enzim này được hoạt hoá bằng các kim loại. Học thuyết enzim – kim loại (metalloenzim) đã trở thành một trong những vấn đề trung tâm của hoá sinh học và sinh lí học hiện đại. Kim loại tạo thành phức chất với protein đã có được những tính chất mới. Chẳng hạn sự oxi hoá axit ascocbic được xúc tiến nhanh gấp 1000 lần nhờ enzim ascocbin-oxidaza chứa Cu. Protein của các hệ enzim có thể tạo nên các phức hữu cơ – khoáng với các nguyên tố vi lượng, bởi vì nhiều axit amin có thể tạo thành các phức hợp với kim loại (chelat) thông qua các nhóm cacboxyl hoặc nhóm amin.

Các nhà nghiên cứu học thuyết enzim - kim loại đã xem xét sự tác động của kim loại như là một chất xúc tác trong việc liên kết với protein hoặc nhóm hoạt động của enzim ở ba khía cạnh :

– Ảnh hưởng của protein đến tính chất của kim loại

– Ảnh hưởng của kim loại đến tính chất của enzim

– Ảnh hưởng phối hợp của kim loại và enzim

Tuy nhiên cần chú ý rằng : nhiều kim loại không những không có tác dụng hoạt hoá enzim, mà ngược lại có tác động ức chế enzim. Tác động ức chế này thường thấy ở các kim loại có khả năng gây biến tính protein của enzim.

Sau đây là một số minh hoạ cụ thể về vấn đề trên : Một số các metalloezim chỉ chứa một kim loại nhất định trong thành phần của nhóm hoạt động (apoenzim). Ví dụ Fe là thành phần bắt buộc trong hàng loạt enzim oxi hoá khử có nhóm apoenzim là vòng pocphirin như các hệ xitocrom (a, b, c, f) – xitocrom oxidaza, peroxidaza. Cu trong poliphenoloxidaza, ascocbin oxidaza,... Một số metalloenzim có nhóm hoạt động là flavin (các flavoprotein) lại thường chứa 2 hay 3 kim loại trong đó 1 kim loại có vai trò chủ yếu. Điển hình cho các enzim này là nitritreductaza chứa Mo, Cu, Mn, hiponitrit reductaza chứa Fe, Cu, nitrogenaza chứa Mo, Fe, nitratreductaza chứa Mo, Cu, hidroxylaminreductaza chứa Mn, Mo. Ngoài các metalloenzim thực sự, còn gặp nhiều kim loại (Na, Mg, Al, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Rb, Cd, Cs...) là tác nhân hoạt hoá không đặc thù của hàng loạt enzim. Ví dụ : Hoạt tính xúc tác của cacboxilaza được gia tăng khi có mặt Mg hoặc Mn, Co, Fe, Zn, Cd. Các kim loại hoá trị 2 (Mg, Mn, Zn) có thể thay thế nhau trong quá trình hoạt hoá một số enzim. Trong các trường hợp như vậy, các kim loại thường tạo nên các liên kết không bền, gọi là liên kết kiểu càng cua với các mạch bên của protein – enzim (như gốc NH_4^+, COO^- imidazol, phenol, SH^-...).

c) Nguyên tố vi lượng và các chất điều hoà sinh trưởng, các vitamin

Người ta đã biết vai trò của Zn trong quá trình sinh tổng hợp các hợp chất dạng auxin, vì Zn có liên quan đến hàm lượng triptophan (axit amin tiền thân của quá trình sinh tổng hợp axit – indol – axetic (AIA). Khi thiếu Zn thì cường độ tổng hợp triptophan từ indol và xerin bị kìm hãm. Zn còn có tác dụng phối hợp với nhóm giberellin.

Mn có tác động trợ lực cho hoạt động của nhóm auxin. Mn có tác động đặc hiệu đến hoạt tính của auxin oxidaza. B cũng có tác động tích cực đến quá trình sinh tổng hợp auxin. B còn có tác dụng thúc đẩy việc vận chuyển các chất điều hoà sinh trưởng.

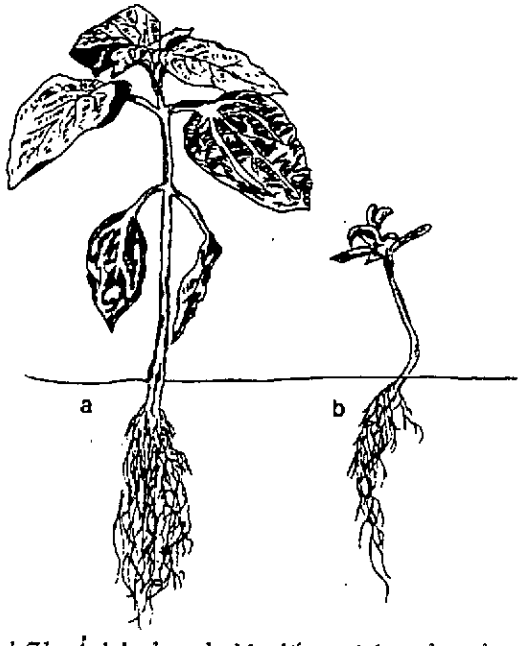
Về mối liên quan giữa các nguyên tố vi lượng với các vitamin cũng đã được nghiên cứu. Người ta thấy rằng : Mn, Cu, Zn và nhiều nguyên tố vi lượng khác tập trung trong các cơ quan chứa nhiều vitamin. Co trong vitamin B_{12}. B có liên quan đến sinh tổng hợp vitamin C ; Mn, B, Zn, Mo, Cu có liên quan đến sinh tổng hợp vitamin nhóm B (B_1, B_2, B_6, B_{12}).

d) Nguyên tố vi lượng và các quá trình trao đổi chất

Các nguyên tố vi lượng có tác dụng sâu sắc và nhiều mặt đối với quá trình quang hợp. Sinh tổng hợp clorophin không những cần có Fe, Mg, mà còn cần tập trung trong lục lạp cả Mn, Cu. Các nguyên tố Co, Cu, Zn, Mo có ảnh hưởng tốt đến độ bền vững của clorophin. Các nguyên tố Zn, Co có tác dụng tốt đến sự tổng hợp carotenoit. Nói chung các nguyên tố vi lượng có ảnh hưởng tích cực đến hàm lượng và trạng thái các nhóm sắc tố của cây, đến số lượng và kích thước của lục lạp. Các nguyên tố vi lượng là thành phần cấu trúc hoặc tác nhân hoạt hoá các enzim tham gia trực tiếp trong pha sáng cũng như pha tối của quang hợp, do đó tác động rõ rệt đến cường độ quang hợp và thành phần của sản phẩm quang hợp. Hiện nay đã biết rất rõ vai trò của các enzim và các protein chứa Fe (các xitocrom, feredoxin) và chứa Cu (plastoxiamin) trong các dây truyền điện tử của hai phản ứng quang hoá trong quang hợp, cũng như vai trò của Mn trong quá trình quang phân li H_2O, giải phóng O_2. Các nhà nghiên cứu còn xác nhận vai trò của B, Mn, Zn, Cu, Co, Mo trong việc thúc đẩy sự vận chuyển các sản phẩm quang hợp từ lá xuống các cơ quan dự trữ. Các nguyên tố vi lượng còn có tác dụng hạn chế việc giảm cường độ quang hợp khi cây gặp hạn, ảnh hưởng của nhiệt độ cao, hoặc trong quá trình hoá già.

Đối với quá trình hô hấp, các nguyên tố vi lượng có những tác động trực tiếp. Nhiều nguyên tố, đặc biệt là Mg, Mn là tác nhân hoạt hoá mạnh mẽ các enzim xúc tác cho quá trình phân giải yếm khí (chu trình đường phân) cũng như hiếu khí (chu trình Krep) các nguyên liệu hữu cơ trong quá trình hô hấp. Các nguyên tố vi lượng là thành phần cấu trúc bắt buộc của các hệ enzim oxi hoá – khử trực tiếp tham gia vào các phản ứng quan trọng nhất của hô hấp (các hệ xitocrom chứa Fe, poliphenoloxidaza, ascocbinoxidaza chứa Cu). Nhiều nguyên tố vi lượng ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình photphorin hoá oxi hoá (tạo thành ATP), nghĩa là đến hiệu quả năng lượng có ích của hô hấp.

Các nguyên tố vi lượng cũng có ảnh hưởng mạnh mẽ đến quá trình hấp thụ nước, thoát hơi nước và vận chuyển nước trong cây. B, Al, Co, Mn, Zn, Cu, Mo có tác dụng làm tăng khả năng giữ nước, độ ngậm nước của mô, do làm tăng quá trình sinh tổng hợp các cao phân tử ưa nước như protein, axit nucleic. Nhiều nghiên cứu cho thấy các nguyên tố vi lượng có tác dụng hạn chế cường độ thoát hơi nước vào các giờ ban trưa, khi cây gặp nóng và hạn. Tóm lại, các nguyên tố vi lượng đã ảnh hưởng tích cực đến quá trình sinh trưởng và phát triển của cây, đến tính chống chịu của cây trước các điều kiện bất lợi của môi trường ngoài, do các nguyên tố vi lượng đã tác động trực tiếp hoặc gián tiếp đến toàn bộ quá trình trao đổi chất của cơ thể thực vật (hình 71).



Hình 71 – Ảnh hưởng của Mn đến sự sinh trưởng của cây hướng dương. Dinh dưỡng đủ Mn (a), thiếu Mn (b)

Vai trò các nguyên tố đa lượng, vi lượng được minh hoạ ở bảng 8,9 :

***Bảng 8 :* Vai trò của các nguyên tố đa lượng, vi lượng**

Nguyên tố	Dạng hấp thụ từ đất	Vai trò
P	PO_4^{3-}, $H_2PO_4^-$	Thành phần của axit nucleic, ATP, cần cho sự nở hoa, đậu quả, phát triển hệ rễ
K	K^+	Hoạt hoá enzim, cân bằng nước, cân bằng ion
S	SO_4^{2-}	Thành phần của một số protein, coenzim
Ca	Ca^{2+}	Thành phần cấu trúc màng, hoạt hoá enzim
Fe	Fe^{3+}	Hoạt hoá enzim khử, tham gia vận chuyển e^-, xúc tác tổng hợp clorophin
Cl	Cl^-	Xúc tác quang phân li nước, cân bằng ion
Zn	Zn^{2+}	Hoạt hoá enzim, xúc tác tổng hợp auxin
Cu	Cu^{2+}	Hoạt hoá enzim khử, tham gia vận chuyển e^-
Mo	MoO_4^{3-}	Xúc tác cố định Nitơ, chuyển NO_3^-.
Mg	Mg^{2+}	Thành phần clorophin, hoạt hoá ezim

***Bảng 9 :* Mối liên quan giữa các nguyên tố vi lượng với sự trao đổi các nhóm chất hữu cơ trong cơ thể thực vật**

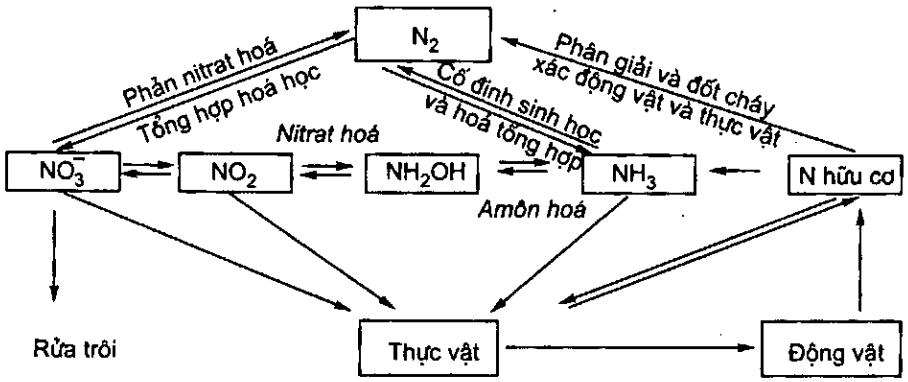
Các chất hữu cơ	Các nguyên tố vi lượng	Các chất hữu cơ	Các nguyên tố vi lượng
Các dạng đường	B, Zn, Co	Clorophin	B, Mn, Cu, Mo
Tinh bột	B, Mn, Cu, Zn	Caroten	B, Mn
Pectin	B, Mo	Antoxyan	Mo, Cu
Axit amin	Mn, Mo	Vitamin A	B
Amit	B	Vitamin C	B, Mn, Zn, Cu
Protein	Cu, Mn, B	Auxin	Zn, B
Dầu	B, Cu	Phenol	Zn, Mo
Photpholipit	Zn	Sterol	Zn, Mo
Axit hữu cơ	B, Zn	Tanin	Zn, Mo
		Photpho hữu cơ	B

V – SỰ ĐỒNG HOÁ VÀ BIẾN ĐỔI NITƠ Ở THỰC VẬT

1. Các nguồn nitơ ở thực vật – Chu trình nitơ trong tự nhiên

Hàm lượng N trong chất khô của cây không lớn, thường biến đổi từ 1 – 3%. Tuy nhiên, vì có trong thành phần các protein và axit nucleic, nên N có ý nghĩa quan trọng bậc nhất đối với đời sống thực vật cũng như đối với toàn bộ thế giới hữu cơ.

Trong môi trường bao quanh thực vật, nitơ tồn tại dưới hai dạng : dạng khí nitơ tự do trong khí quyển (N_2) và dạng các hợp chất nitơ hữu cơ, vô cơ khác nhau, phần lớn tập trung trong đất. Ở đây, nitơ liên kết chủ yếu ở ba dạng hợp chất : các muối amon $\left(NH_4^+\right)$, muối nitrat $\left(NO_3^-\right)$ và nitơ hữu cơ của các protein (xác thực vật, động vật chưa phân giải hoàn toàn) các sản phẩm phân giải protein (các axit amin, các peptit...). Các dạng nitơ nói trên luôn biến đổi nhờ các vi sinh vật đất, tạo thành chu trình nitơ trong tự nhiên (hình 72).



Hình 72 – Sơ đồ chu trình nitơ trong tự nhiên

Như vậy, các dạng nitơ cung cấp cho thực vật, thông qua đất, được bổ sung thường xuyên từ 5 nguồn sau đây :

– Quá trình tổng hợp hoá học : chủ yếu là do sự phóng điện trong các cơn giông, qua các giai đoạn sau :

$$N_2 + O_2 = 2NO$$

$$2NO + O_2 = 2NO_2$$

$$4NO_2 + 2H_2O + O_2 = 4HNO_3$$

Nguồn nitơ này ít quan trọng vì chỉ cung cấp một lượng nhỏ nitơ : 3 – 5kg/ha.

– Quá trình cố định nitơ của các vi khuẩn, vi khuẩn lam sống tự do. Nguồn này có thể cung cấp cho cây một lượng nitơ khá hơn : 10 – 15kg/ha.

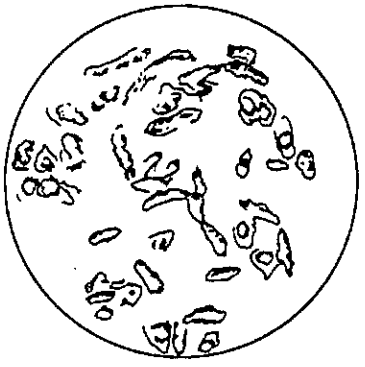
– Quá trình cố định nitơ của các vi khuẩn, tảo cộng sinh (chủ yếu là các cây họ Đậu và bèo hoa dâu). Nguồn này rất quan trọng, vì nó cung cấp cho cây một lượng nitơ lớn : 150 – 200kg/ha, cá biệt có thể đến 400kg/ha.

– Nguồn nitơ hữu cơ từ xác động vật, thực vật và vi sinh vật được phân giải.

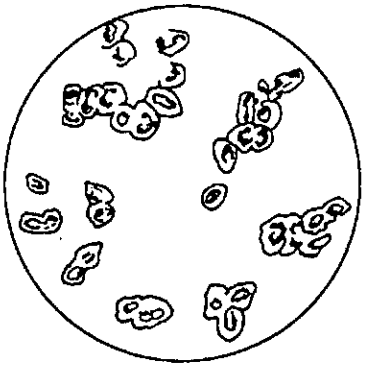
– Nguồn nitơ do con người trả lại cho đất sau thu hoạch (do đã lấy đi của đất một lượng nitơ khá lớn) thông qua các dạng phân bón hữu cơ và vô cơ có chứa nitơ. Ví dụ : khi thu hoạch 250 – 300tạ/ha khoai tây, con người đã lấy đi khoảng 100kg nitơ. Vì vậy để có thể trồng tiếp vụ sau, con người phải trả lại cho đất một lượng nitơ tương ứng.

2. Quá trình cố định nitơ khí quyển

Ta biết rằng nitơ trong khí quyển là dạng nitơ phân tử (N_2), thực vật không thể sử dụng trực tiếp được. Vì vậy, trước hết phải có sự biến đổi nitơ phân tử này thành dạng nitơ mà thực vật có thể sử dụng được trong đời sống của mình. Dạng nitơ đó gọi là dạng nitơ "sinh học". Nitơ "sinh học" được tích luỹ trong đất nhờ các vi sinh vật cố định N, có một ý nghĩa rất to lớn trong trồng trọt. Ngày nay đã biết rất rõ rằng : Hai nhóm vi sinh vật tự do chính có khả năng cố định nitơ khí quyển là : *Clostridium* và *Azotobacter*. Ngoài ra còn thấy các vi khuẩn lam sống tự do và một số vi sinh vật khác cũng có khả năng cố định nitơ khí quyển (hình 73, 74).

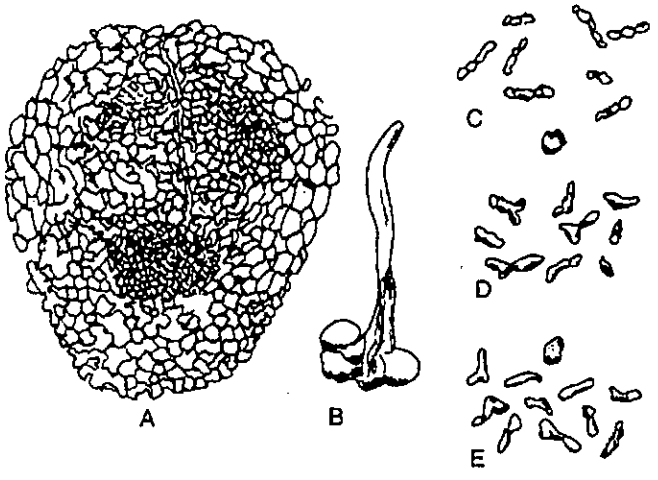


Hình 73 – Ảnh hiển vi vi khuẩn Clostridium Pasteurrianum



Hình 74 – Ảnh hiển vi vi khuẩn Azotobacter chroococcum

Tuy nhiên vai trò cố định nitơ quan trọng hơn thuộc về nhóm vi sinh vật cộng sinh. Đó là các vi khuẩn nốt sần thuộc các cây họ Đậu, và các vi khuẩn lam (Ana'baena azolleae) sống cộng sinh trong khoang lá cây một loài Dương xỉ (Bèo hoa dâu Azolla) (hình 75a,b).



Hình 75a – Các vi khuẩn nốt sần

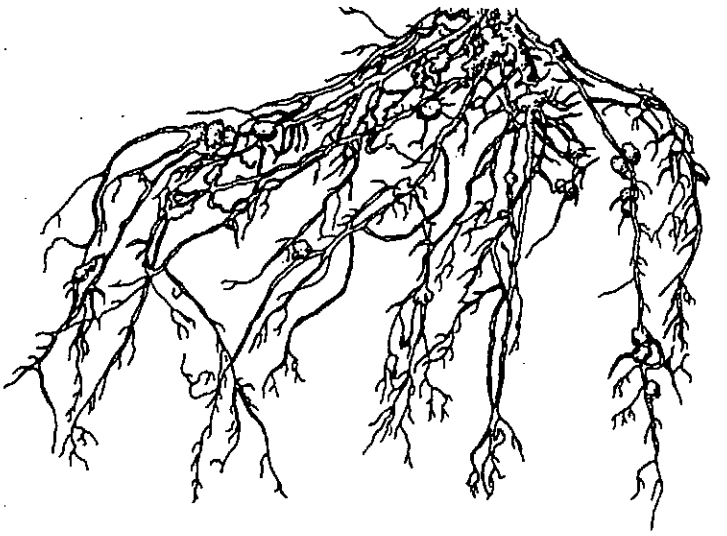
A : Lát cắt ngang nốt sần non của đậu tằm, ta thấy dải vi khuẩn gây ra sự phát triển các tế bào nhu mô.

B : Lông hút rễ có vi khuẩn từ đất xâm nhập vào, tạo nên một dải đậm.

C : Các Bacteroit nốt sần rễ cỏ linh lăng.

D : Các Bacteroit nốt sần rễ đậu Hà Lan.

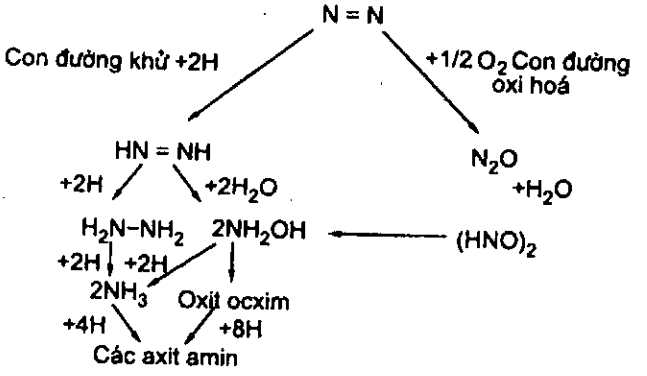
E : Các Bacteroit nốt sần rễ cỏ.



Hình 75b – Các nốt sần ở cây họ Đậu

Hiện nay người ta đã biết khoảng 190 loài cây thuộc các họ khác nhau trong giới thực vật có nốt sần ở rễ và thân trong đó có vi khuẩn cộng sinh, có khả năng cố định được nitơ khí quyển. Riêng các cây họ Đậu đã cung cấp cho đất một lượng N sinh học khá lớn : 80 – 300kg/ha.

Về cơ chế hoá sinh của quá trình cố định nitơ khí quyển cho đến nay còn nhiều điểm chưa sáng tỏ. Có thể nêu ra giả thuyết về các giai đoạn đầu của sự số định nitơ do các vi khuẩn tự do tiến hành (hình 76a).



Hình 76a – Những con đường giả thiết về các giai đoạn đầu của sự cố định N_2 bởi các vi sinh vật cố định nitơ

Sự cố định nitơ do các vi khuẩn nốt sần tiến hành có lẽ xảy ra theo một sơ đồ phức tạp hơn nhiều, vì trong nốt sần tồn tại một chất có bản chất hemin màu hồng rất giống hemoglobin của máu.

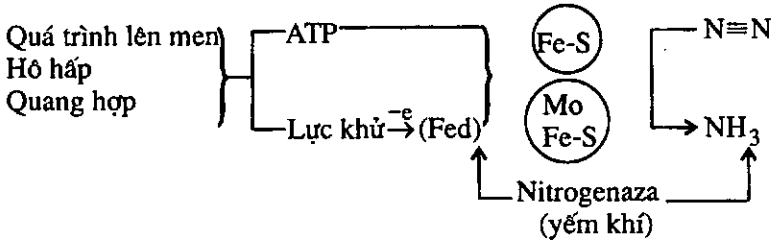
Những nghiên cứu gần đây nhất về quá trình cố định nitơ khí quyển cho thấy quá trình này đòi hỏi bốn yêu cầu :

– Có lực khử mạnh với thế năng khử cao (Feredoxin, Plavodoxin, NAD hoặc NADP).

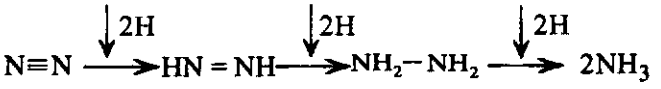
– Có năng lượng đủ (ATP) và có sự tham gia của nguyên tố vi lượng (Mg).

– Có sự tham gia của enzim nitrogenaza.

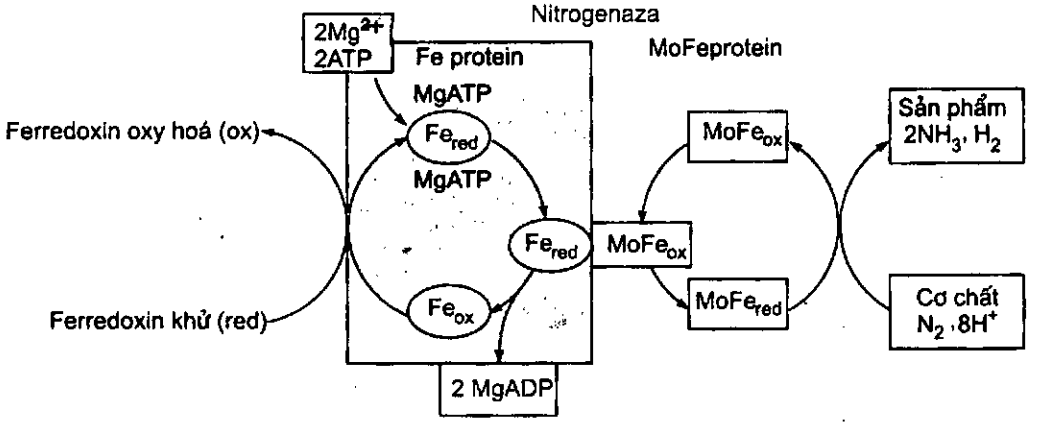
– Phải tiến hành trong điều kiện yếm khí (nồng độ $O_2 = 0$ hoặc gần bằng 0). Sau đây là sơ đồ của quá trình cố định N_2 khí quyển (hình 76b) :



Hiện nay quan niệm mới thấy chỉ có con đường khử theo sơ đồ sau (hình 76 b, c) :



Hình. 76b – Các bước khử nitơ phân tử thành dạng nitơ amôn



Hình 76 c – Sơ đồ cố định nitơ khí quyển

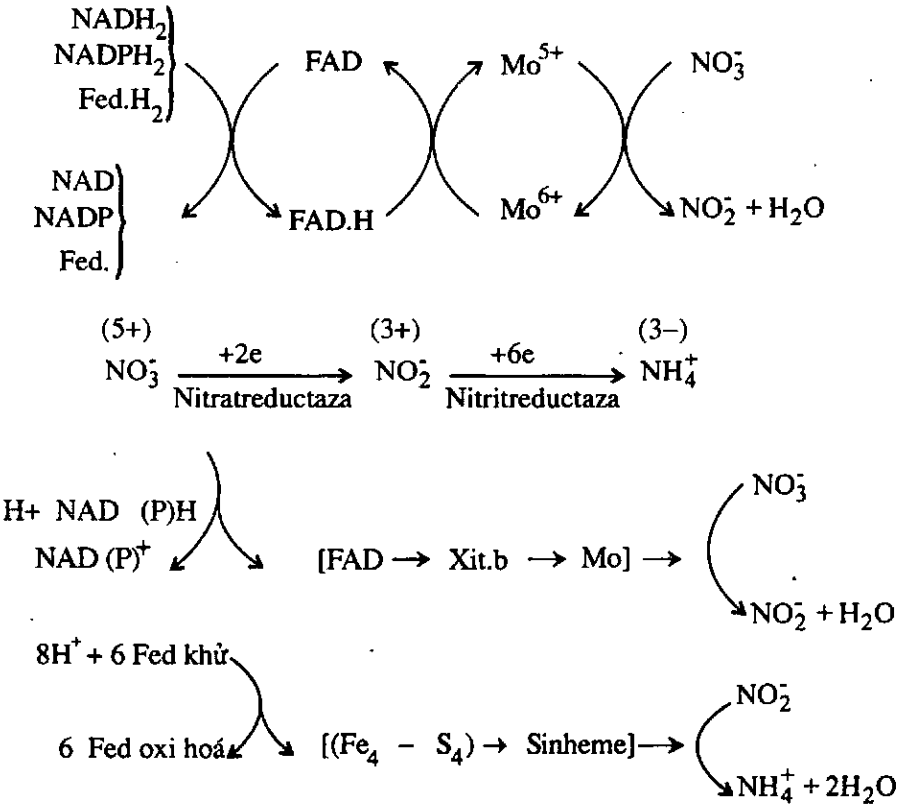
3. Sự biến đổi các dạng nitơ trong thực vật

a) Quá trình amôn hoá : $NO_3^- \rightarrow NH_4^+$.

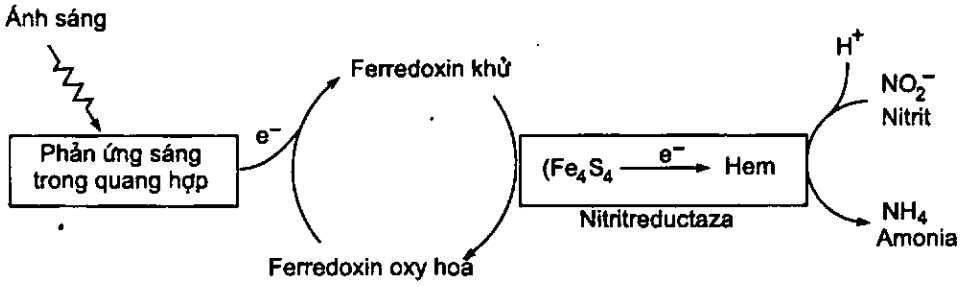
Nitơ dạng nitrat $\left(NO_3^-\right)$ có nhiều trong đất và thực vật hấp thụ dễ dàng. Tuy nhiên trong thực vật nitơ tồn tại chủ yếu trong các đơn vị cơ sở là các axit amin và dưới dạng khử $\left(NH_4^+\right)$. Do vậy khi nhận NO_3^- , việc trước tiên đối với thực vật là phải biến đổi từ dạng nitơ oxi hoá sang dạng nitơ khử. Đó là quá trình khử NO_3^- hay gọi là quá trình amôn hoá trước đây đã nghiên cứu theo sơ đồ sau :

$$\underset{\text{Dạng nitrat}}{HNO_3} \longrightarrow \underset{\text{nitrit}}{HNO_2} \longrightarrow \underset{\text{hiponitrit}}{(HNO)_2} \longrightarrow \underset{\text{hidroxylamin}}{NH_2OH} \longrightarrow \underset{\text{amoniac}}{NH_3}$$

Quá trình khử nitrat này thực hiện nhờ một hệ thống enzim : nitratreductaza, nitritreductaza, hiponitritreductaza và hidroxylaminreductaza. Các enzim này thuộc các flavoprotein, nghĩa là các enzim có các cofecmen là FAD và có các kim loại hoạt hoá như Mo, Cu, Mn, Mg. Ngoài ra quá trình khử này còn có sự tham gia của các chất cho e như $NADPH_2$, $NADH_2$, $Fed.H_2$. Có thể dẫn ra một vài sơ đồ khử NO_3^- theo 3 giai đoạn : $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NH_4^+$ sau đây (hình 76d) :



(Fed. : Ferredoxin ; Xit. : Xitocrom ; $Fe_4 - S_4$: enzim – protein trung tâm Fe và S)



Hình 76 d – Sơ đồ khử nitrit (NO_2^-)

b) Quá trình đồng hoá nitơ amon trong thực vật

Chúng ta hãy xem bằng cách nào amoniac (NH_3) có thể tham gia vào quá trình trao đổi chất và những hợp chất hữu cơ đầu tiên của sự đồng hoá amoniac có bản chất ra sao ?

– Trước hết phải kể đến axit glutamic và phản ứng khử amin hoá axit xetoglutaric bởi NH_3 :

$$HOOC - CH_2 - CH_2 - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - COOH + NH_3 + 2H^+$$

$$\rightleftharpoons HOOC - CH_2 - CH_2 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH + H_2O$$

– Phản ứng khử amin hoá axit pyruvic đến alanin :

$$CH_3 - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - COOH + NH_3 + 2H^+ \rightleftharpoons CH_3 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH + H_2O$$

– Con đường thứ ba đồng hoá amoniac trong thực vật là phản ứng hình thành axit aspartic từ axit fumaric :

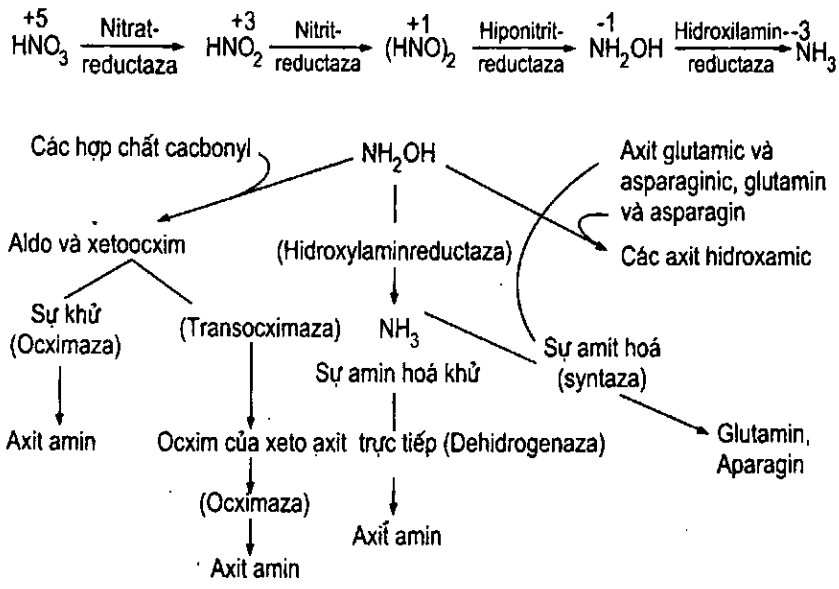
$$HOOC - CH = CH - COOH + NH_3 \rightleftharpoons HOOC - CH_2 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH$$

– Sự hình thành axit aspartic bằng phản ứng khử amin hoá axit oxaloaxetic bởi amoniac là con đường thứ tư đồng hoá amoniac trong thực vật :

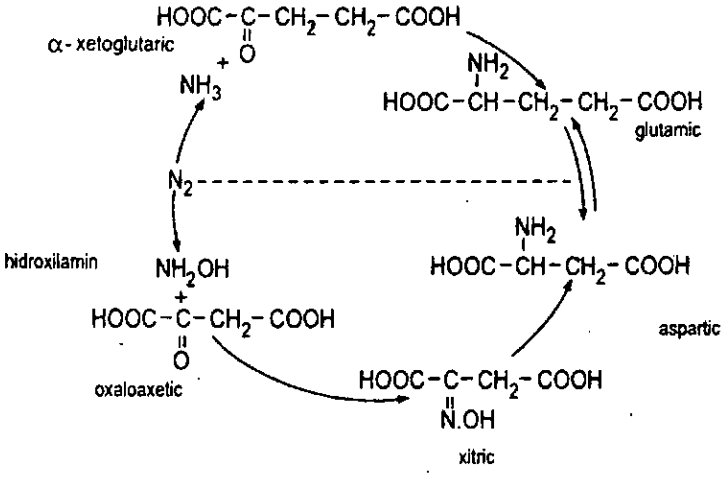
$$HOOC - CH_2 - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - COOH + NH_3 + 2H^+ \rightleftharpoons HOOC - CH_2 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH + H_2O$$

Ngoài ra còn thấy một số con đường khác. Song tất cả các con đường này đều nhằm đồng hoá các dạng nitơ vô cơ đưa chúng vào các hợp chất nitơ hữu cơ. Đó là biện pháp tích luỹ "vốn ban đầu". Từ vốn này, qua các phản ứng chuyển amin hoá và các phản ứng sinh tổng hợp, mà cơ thể tổng hợp được rất nhiều các hợp chất nitơ hữu cơ khác nhau (hình 77a, b ; 78).

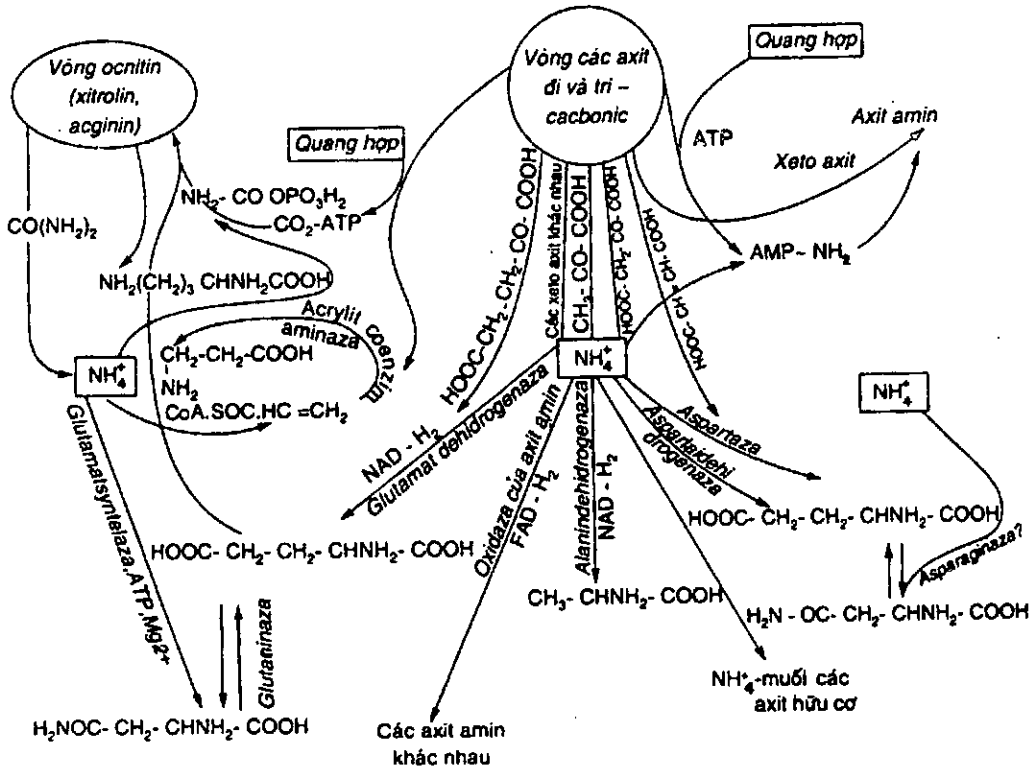
Chúng ta biết rằng các hợp chất nitơ có vai trò hàng đầu trong quá trình trao đổi chất (trao đổi protein, cacbohidrat, lipit, sinh tố và muối khoáng). Hoá sinh học và sinh lí học hiện đại đã tích luỹ được một số lớn tài liệu làm cơ sở cho các biện pháp kĩ thuật canh tác nhằm biến đổi quá trình trao đổi chất của cây trồng và tạo cho chúng những đặc điểm kinh tế mong muốn. Trong các biện pháp kĩ thuật canh tác đó biện pháp cung cấp nước, phân bón, đặc biệt là phân nitơ hợp lí, có một ý nghĩa rất to lớn.



Hình 77a – Sơ đồ những biến đổi hidroxylamin bởi enzim



Hình 77b – Sơ đồ quá trình amin hoá



Hình 78 – Sơ đồ các con đường đồng hoá tự dưỡng các muối amon

VI – SINH LÍ DINH DƯỠNG VÀ VẤN ĐỀ BÓN PHÂN HỢP LÍ CHO CÂY TRỒNG

Liebig (nhà hoá học Đức 1840) tác giả thuyết chất khoáng đã viết : "Chế độ canh tác hợp lí phải được xây dựng trên sự tìm hiểu sâu sắc về các phương pháp dinh dưỡng, ảnh hưởng của các thành phần trong đất và tác dụng của phân bón đến cây".

Vì vậy hiểu biết về sinh lí dinh dưỡng của cây trồng sẽ giúp cho việc bón phân hợp lí để đạt được năng suất và chất lượng cao nhất. Ngày nay, qua nhiều nghiên cứu đã thấy rằng : Trong điều kiện trồng trọt hiện tại, chính phân bón nitơ và các nguyên tố khoáng là nhân tố ảnh hưởng đến năng suất, chứ không phải là ánh sáng và khí CO_2. Theo các nhà sinh lí thực vật thì phân bón đã góp phần tăng năng suất đến 50%.

Vậy muốn bón phân hợp lí thì phải dựa trên 3 cơ sở sau :

– Nhu cầu dinh dưỡng của cây trồng nói chung và trong các thời kì dinh dưỡng nói riêng.

– Khả năng cung cấp các chất dinh dưỡng của đất.

– Sự biến đổi của phân bón trong đất và hệ số sử dụng phân bón.

Sinh lí thực vật chỉ nghiên cứu vấn đề thứ nhất, còn vấn đề thứ hai và ba thuộc phạm vi của một ngành khoa học khác (ngành nông hoá học).

1. Nhu cầu dinh dưỡng của thực vật

Nhu cầu dinh dưỡng là lượng chất dinh dưỡng mà cây cần để tạo thành một đơn vị năng suất. Nhu cầu dinh dưỡng có hai mặt :

+ Lượng : Số lượng chất dinh dưỡng cây cần để tạo thành một đơn vị năng suất.

+ Chất : Các nguyên tố dinh dưỡng khác nhau mà cây cần thiết nhất trong các thời kì sinh trưởng nhất định để hình thành năng suất cao nhất.

Để xác định nhu cầu dinh dưỡng, người ta đã dùng nhiều phương pháp khác nhau :

– Phương pháp lấy lượng chất dinh dưỡng mà cây hút làm nhu cầu dinh dưỡng. Có hai cách xác định lượng này : phân tích định kì hàm lượng các chất dinh dưỡng trong thân, lá, rễ, hoa, quả và toàn cây, hoặc trồng cây trong dung dịch và phân tích lượng chất dinh dưỡng còn lại sau thời gian trồng cây. Một số dung dịch dinh dưỡng sau đây hay được dùng để trồng cây trong chậu :

Dung dịch Knop :	$Ca(NO_3)_2$	0,572 g/l
	KNO_3	0,143 –
	KCl	0,071 –
	KH_2PO_4	0,143 –
	$MgSO_4$	0,143 –
	$FeCl_3 . 6H_2O$	5% dung dịch giọt/l

Dung dịch thích hợp với lúa mì, lúa mạch, đậu, cà chua, thuốc lá, khoai tây.

Dung dịch Prianisnhicop :	NH_4NO_3	0,24 g/l
	KCl	0,16 –
	$CaHPO_4 . 2H_2O$	0,172 –
	$CaSO_4 . 2H_2O$	0,344 –
	$MgSO_4$	0,060 –
	$FeCl_3 . 6H_2O$	0,025 –

Dung dịch thích hợp với lúa nước, lúa mì, lúa mạch, ngô.

Dung dịch Richter :	$Ca(NO_3)_2$	0,50 g/l
	KNO_3	0,20 –
	KH_2PO_4	0,20 –
	$MgSO_4 . 7H_2O$	0,25 –
	Fe dạng chelat	1ml/l

(0,5g $FeCl_3$ + 1,56g chelaton III, cho 1lit)

Dung dịch thích hợp với lúa mì, lúa mạch, đậu, ngô, đay gai, lúa nước, khoai tây, lanh, thuốc lá.

Phương pháp loại trừ hẳn hay loại trừ một phần chất dinh dưỡng cần nghiên cứu khỏi môi trường trong thời kì sinh trưởng nhất định và theo dõi quá trình sinh trưởng của cây trồng.

– Phương pháp này tốt, nhưng không tính được lượng chất dinh dưỡng mà cây cần.

– Phương pháp phổ biến nhất là phương pháp bón thêm chất dinh dưỡng vào các thời kì sinh trưởng khác nhau và xem năng suất tăng ở thời kì nào nhiều nhất. Kimura và Chiba (1963) đưa ra một khái niệm gọi là "hiệu suất từng phần" đối với lượng chất dinh dưỡng đã hút và tính theo công thức sau :

$$X = \frac{X_n - X_{n-1}}{V_n - V_{n-1}}$$

X : năng suất hạt trên một đơn vị dinh dưỡng

X_{n-1} : năng suất trước khi bón thêm chất dinh dưỡng

X_n : năng suất sau khi bón thêm chất dinh dưỡng

V_{n-1} : lượng chất dinh dưỡng trước khi bón

V_n : lượng chất dinh dưỡng bón thêm

Ở nước ta, Đào Thế Tuấn (1969) đã xác định nhu cầu dinh dưỡng của một số cây trồng đối với các nguyên tố đa lượng như bảng 10.

Bảng 10 : **Lượng chất dinh dưỡng (kg) để tạo thành 1 tạ thu hoạch kinh tế**

Cây trồng	N	P_2O_5	K_2O
Lúa chiêm	1,4	0,6	4,1
Lúa mùa	1,6	1,1	3,1
Ngô	3,0	0,6	3,0
Đậu tương	3,0	0,7	2,2
Lạc	4,2	0,7	2,5
Bông	15,6	3,6	11,5
Khoai lang	0,4	0,1	0,7
Mía	0,4	0,2	0,7
Đay	1,2	0,5	1,5
Thuốc lá	5,3	1,3	7,5

Từ nhu cầu dinh dưỡng này, biết hệ số sử dụng phân bón, biết hàm lượng các chất dinh dưỡng có sẵn trong đất, ta có thể tính ra nhu cầu phân bón (tức là số lượng phân bón cần thiết cho một đơn vị năng suất).

Như vậy là dựa trên cơ sở lí thuyết, có thể tính được lượng phân bón cần thiết cho một thu hoạch định trước. Ví dụ : Theo Đào Thế Tuấn (1969) muốn có một tạ thóc lúa chiêm cần 1,4kg N, lúa mùa cần 1,6kg N. Lượng chất dinh dưỡng trong đất có thể cung

cấp cho cây phụ thuộc vào từng loại đất và hiện tại chưa có phương pháp phân tích nhanh chóng và chính xác, nên trong cách tính này có thể tạm thời bỏ qua. Hệ số sử dụng phân nitơ hoá học là 60%. Vậy lượng nitơ cần thiết phải bón để đạt 50 tạ thóc/ha một vụ như sau :

Lúa chiêm : $\frac{1,4 \times 50 \times 100}{60} = 116,7 kg N$

Lúa mùa : $\frac{1,6 \times 50 \times 100}{60} = 133,3 kg N$

(Nếu tính đến lượng N trong đất có thể cung cấp cho cây, thì lượng N bón sẽ thấp hơn lượng N tính toán trên một ít). Như vậy nếu chỉ tính riêng nhu cầu nitơ nguyên chất, thì để đạt năng suất 50 tạ/ha một vụ, cần thiết phải bón một lượng nhất định các loại phân có nguồn nitơ sau đây :

10 tấn phân chuồng, tương đương với	30 kgN
10 tấn bèo hoa dâu, tương đương với	25kgN (hoặc 5 tấn điền thanh)
225kg $(NH_4)_2SO_4$ tương đương với	45kgN
Cộng :	100kgN

Dựa vào cách tính này có thể tính được số lượng phân bón N, P, K cho các mức năng suất khác nhau của các cây trồng khác nhau.

2. Vấn đề chẩn đoán nhu cầu dinh dưỡng của cây trồng

Bên cạnh việc dựa vào nhu cầu dinh dưỡng, hàm lượng các chất dinh dưỡng trong đất, hệ số sử dụng phân bón để định ra lượng phân bón cho từng loại cây trồng, cho từng vùng đất đai, khí hậu khác nhau, còn cần phải có phương pháp chẩn đoán nhu cầu dinh dưỡng nhanh chóng và dễ làm để giúp cho sản xuất không những biết được cần phải bón phân gì, bón bao nhiêu, mà còn biết bón vào lúc nào trên những diện tích cụ thể, cây trồng cụ thể. Vấn đề này đã được nghiên cứu nhiều và có nhiều phương pháp chẩn đoán khác nhau với những ưu, nhược điểm khác nhau :

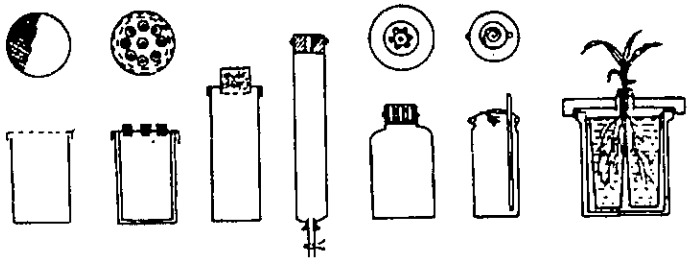
– Phương pháp chẩn đoán bằng các đặc điểm bên ngoài như kích thước, hình dạng, màu sắc của lá, của các bộ phận khác của cây để xem cây thiếu chất gì. Phương pháp này đơn giản, nhưng chậm. Vì khi cây đã thay đổi kích thước, hình dạng, màu sắc do thiếu dinh dưỡng, thì sự thiếu đó đã ảnh hưởng lớn đến các quá trình sinh lí của cây.

– Phương pháp phân tích lá : tiến hành phân tích các nguyên tố dinh dưỡng trong lá định kì và xem chúng thiếu nguyên tố nào. Phương pháp này tốt, chính xác, nhanh chóng nhưng đòi hỏi trang thiết bị, hoá chất phức tạp, đắt tiền.

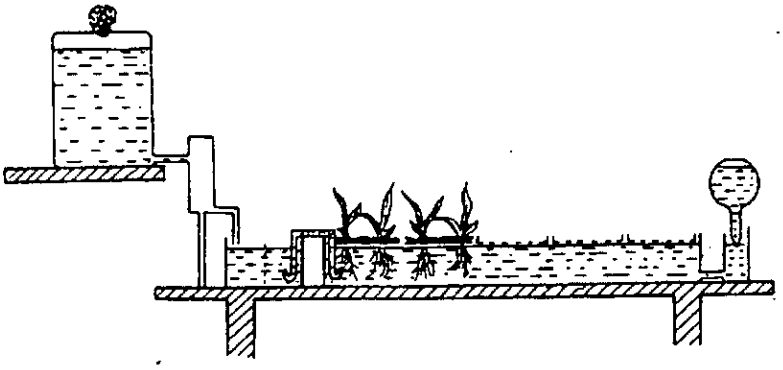
– Phương pháp phân tích mô : dựa vào các phản ứng hoá học giữa một số hoá chất đặc trưng với dịch của mô và căn cứ vào màu sắc sau phản ứng để xác định số lượng của các chất dinh dưỡng hoà tan trong cây. Phương pháp này đơn giản, thuận tiện và nhanh chóng, nhưng không được chính xác như mong muốn.

Tóm lại, những hiểu biết về dinh dưỡng khoáng và nitơ ở thực vật là cơ sở cho việc bón phân hợp lí cho cây trồng để đạt được mức thu hoạch với chất lượng và năng suất cao nhất. Hiện nay trên thế giới, nhiều nước đã nghiên cứu, áp dụng các phương pháp dinh

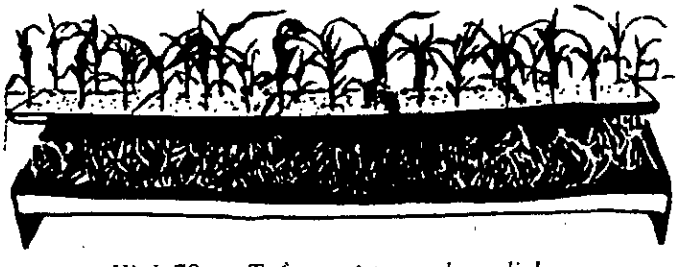
dưỡng thực vật và bón phân hợp lí đã đạt được những thành tựu đáng kể. Một thành tựu lớn về phương pháp dinh dưỡng khoáng thực vật trong những năm gần đây là việc trồng cây không cần đất. Đó là phương pháp dựa trên cơ sở lí luận dinh dưỡng khoáng thực vật, nghĩa là để cây sống sinh trưởng và phát triển bình thường có thể không cần trồng cây trong đất mà cốt sao cung cấp cho hệ rễ đầy đủ các nguyên tố dinh dưỡng trong suốt vòng đời của chúng. Dựa trên nguyên tắc này, người ta đã đưa vào sản xuất phương pháp trồng cây trong dung dịch. Đó là phương pháp trồng cây trong các bể xi măng lớn có chứa sỏi, cát, đá nhỏ để làm chỗ dựa cho rễ và bên dưới bể là hệ thống cung cấp dung dịch dinh dưỡng tối ưu cho cây. Với phương pháp này, trong nhà kính, nhà lưới có chế độ chiếu sáng và nhiệt độ tối ưu, người ta có thể thu hoạch các loại rau quanh năm với sản lượng gấp 20 lần trồng trong đất, và có thể thu 6 vụ cà chua, 5 vụ lúa mì trong một năm. Những năm gần đây, còn áp dụng phương pháp trồng cây bằng sương mù. Cây được treo lơ lửng trong không khí và các máy bơm thức ăn dưới dạng sương mù hoạt động 10 lần/ngày để cung cấp nước, các nguyên tố khoáng cho rễ và lá. Phương pháp gieo mạ không cần đất (gieo trên kính, trên sân, trong dung dịch) ở nước ta cũng dựa trên phương pháp trồng cây không cần đất nêu trên (hình 79a, b, c, d).



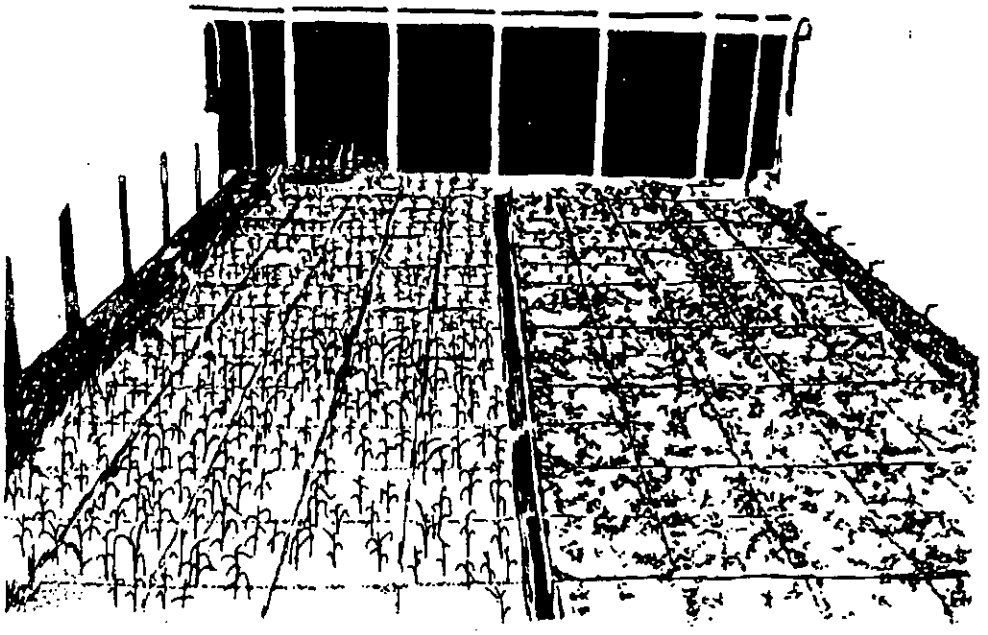
Hình 79a – Dụng cụ trồng cây trong dung dịch



Hình 79b – Phương pháp trồng cây trong dung dịch



Hình 79 c – Trồng ngô trong dung dịch



Hình 79d – Hệ thống nhà kính, nhà lưới trồng cây trong dung dịch

Cùng với các phương pháp trên, sản xuất nông nghiệp trở thành một ngành công nghiệp, nhất là trong lĩnh vực nuôi trồng các loại tảo, các loại rau, quả. Hiện nay các nhà khoa học đang áp dụng phương pháp trồng cây không cần đất trong ngành du hành vũ trụ dựa trên lời tiên đoán của Xioncopxki (ông tổ của ngành du hành vũ trụ) : "Mỗi một mét vuông nhà kính hướng về phía Mặt Trời, trong điều kiện vũ trụ mỗi ngày có thể sản xuất được 1kg thức ăn, nuôi sống một người".

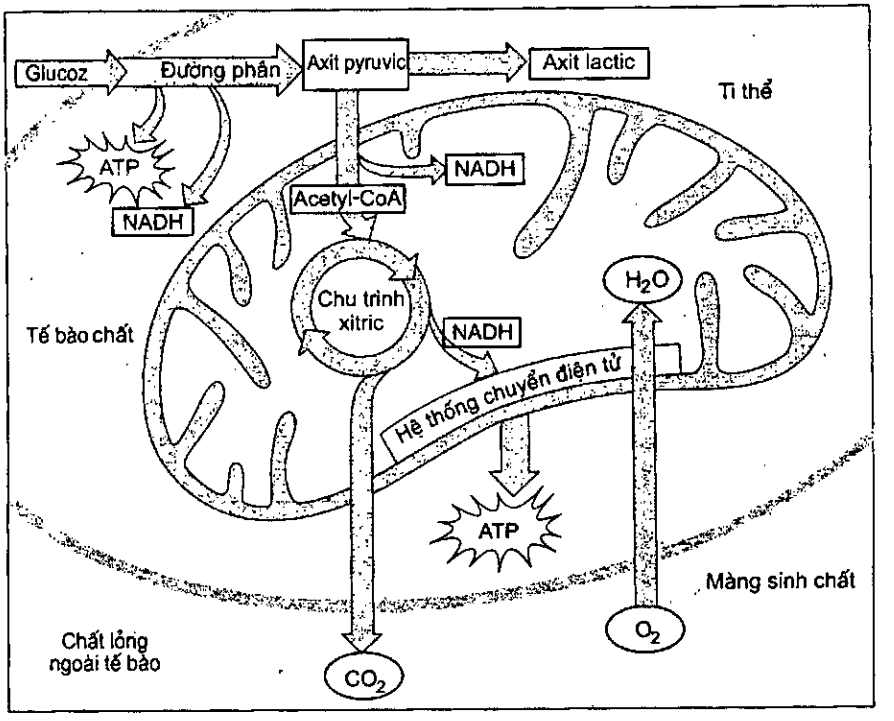
Chương V

HÔ HẤP THỰC VẬT

I – KHÁI NIỆM CHUNG VỀ HÔ HẤP THỰC VẬT. LỊCH SỬ NGHIÊN CỨU HÔ HẤP

Nếu như quang hợp là quá trình tổng hợp các chất hữu cơ từ các chất vô cơ nhờ năng lượng của ánh sáng mặt trời, thì hô hấp lại là quá trình phân giải hoàn toàn nguyên liệu hữu cơ thành các sản phẩm vô cơ cuối cùng nghèo năng lượng là CO_2 và nước, đồng thời giải phóng ra một lượng năng lượng lớn.

Quá trình hô hấp được biểu thị bằng phương trình tổng quát như sau :



$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 = 6CO_2 + 6H_2O + Q \text{ (năng lượng)}$$

Qua phương trình đơn giản trên không thể thấy được tính chất phức tạp của quá trình hô hấp (hình 80).

Hình 80 – Bức tranh chung về hô hấp

Về thực chất, hô hấp là một hệ thống oxi hoá – khử phức tạp, trong đó diễn ra các phản ứng oxi hoá – khử tách điện tử và hidro từ nguyên liệu hô hấp chuyển tới oxi không khí và tạo thành nước. Năng lượng giải phóng ra trong các phản ứng oxi hoá – khử đó được cố định lại trong các liên kết giàu năng lượng.

Trong quá trình quang hợp, các chất hữu cơ được tạo thành, những chất này là nguồn vật chất và năng lượng cơ bản cho sự sống của tất cả thế giới hữu cơ. Tuy nhiên nguồn nguyên liệu và năng lượng đó chỉ là nguồn dự trữ và không đặc trưng, tế bào không thể sử dụng trực tiếp năng lượng này cho hoạt động sống ; chỉ thông qua quá trình hô hấp các chất hữu cơ được tạo thành trong quang hợp mới được phân giải đến tận cùng và năng lượng chứa đựng trong chúng mới được biến đổi thành dạng năng lượng hoạt hoá, dễ huy động, được tế bào sử dụng cho tất cả các quá trình trao đổi chất.

Như vậy có thể nói rằng chức năng cơ bản của hô hấp là giải phóng năng lượng của nguyên liệu hô hấp và chuyển nó thành dạng dễ sử dụng cho cơ thể, thể hiện ở sự tổng hợp ATP (chất cho năng lượng vạn năng nhất).

Tuy nhiên, ý nghĩa sinh học của hô hấp không chỉ bó hẹp ở mặt năng lượng. Những nghiên cứu chi tiết về bản chất sinh hoá và những cơ chế enzim học liên quan với quá trình hô hấp đã khẳng định vai trò to lớn của những sản phẩm trung gian xuất hiện trên con đường chuyển hoá của phân tử chất hữu cơ tới các sản phẩm oxi hoá cuối cùng là CO_2 và H_2O.

Những chất này lại là những chất tiền thân, những chất trao đổi trong nhiều khâu của quá trình trao đổi chất chung của tế bào.

Hô hấp liên quan với hai hiện tượng : hiện tượng lí học, đó là sự trao đổi khí, hấp thụ O_2, thải CO_2 và hiện tượng hoá học là sự oxi hoá hoàn toàn chất hữu cơ.

Học thuyết hô hấp thực vật bắt đầu phát triển từ cuối thế kỉ XVIII sau những nghiên cứu của Pritslay, Lavoisier và các nhà nghiên cứu khác về thành phần khí của không khí.

Năm 1779 – 1780, của Ingenhousz đã chỉ ra rằng cây xanh tuỳ theo điều kiện chiếu sáng không chỉ có khả năng hấp thụ khí cacbonic, thải oxi, mà ngược lại, còn có khả năng thải khí cacbonic trong khi hấp thụ oxi.

Hai mươi năm sau đó hàng loạt công trình nghiên cứu của De Sausure đã chứng minh sự tồn tại trong cây xanh hai quá trình trao đổi khí đối lập nhau. Ông đã chỉ ra rằng sự thải CO_2 và hấp thụ O_2 diễn ra ở các phần xanh của cây chỉ ở trong tối, còn ở những phần không xanh sự trao đổi khí đó diễn ra ở trong tối cũng như ngoài sáng.

Tuy nhiên, vào thời kì đó người ta vẫn không công nhận rằng cây xanh có khả năng hô hấp bởi vì chúng không có các cơ quan hô hấp chuyên hoá như ở động vật. Ngay cả Liebig, một nhà bác học Đức nổi tiếng (1842) cũng đã phủ nhận sự tồn tại của quá trình

hô hấp trong cây xanh. Ông cho rằng CO_2 do cây thải ra chính là một phần CO_2 do lá hấp thụ đã không được dùng hết trong quang hợp.

Vào cuối thế kỉ XIX đầu thế kỉ XX, người ta đã thu được dẫn liệu thực nghiệm có giá trị hướng tới việc giải thích bản chất của tất cả những nhân tố tạo cho tế bào sống khả năng thực hiện sự oxi hoá chất hữu cơ trong điều kiện sinh học không nhận năng lượng từ bề ngoài.

Từ thế kỉ XX trở đi càng có nhiều công trình tìm hiểu về bản chất hoá học và cơ chế enzim học của hô hấp.

Những quy luật về hô hấp ở cơ thể động vật được ứng dụng cho thực vật. Ngoài ra, ở cơ thể thực vật hệ thống xúc tác cho hô hấp còn phức tạp hơn.

Theo những quan niệm hiện đại thì hô hấp hiếu khí xuất hiện chỉ sau khi oxi tự do xuất hiện trên khí quyển của Trái Đất. Trước khi xuất hiện cây xanh và những cơ thể sống trên hành tinh của chúng ta, trao đổi năng lượng được thực hiện bằng con đường yếm khí tức không có sự tham gia của oxi tự do. Tuy có sự xuất hiện của chức năng mới (quá trình hiếu khí) nhưng chức năng cũ (quá trình yếm khí) vẫn không bị mất đi mà ngược lại, nó còn là một bộ phận cần thiết của sự hô hấp hiếu khí. Việc chuyển từ hô hấp yếm khí sang hô hấp có oxi giúp cho các cơ thể sử dụng một cách đầy đủ và có hiệu quả năng lượng tích luỹ trong phân tử của nguyên liệu hô hấp. Sự chuyển dạng hô hấp như vậy liên quan với việc xuất hiện những hệ enzim mới trong quá trình tiến hoá, giúp cho tế bào thực hiện được sự biến đổi một cách từ từ, có tính chất bậc thang của những chất có dự trữ năng lượng nhỏ (các sản phẩm cuối cùng của hô hấp là CO_2 và H_2O). Sự phân nhánh và tính chất phức tạp của các hệ xúc tác cũng như tỉ lệ giữa các nhóm chất xúc tác luôn thay đổi và phụ thuộc vào vị trí phân loại của loài, điều kiện phát triển của cơ thể, tuổi của nó, những đặc trưng của các mô, các cơ quan riêng biệt và nhiều yếu tố khác liên quan với sự thích nghi với các điều kiện ngoại cảnh.

II – BỘ MÁY HÔ HẤP

Bộ máy hô hấp bao gồm cơ quan thực hiện quá trình hô hấp, nguyên liệu hô hấp và hệ thống enzim xúc tác quá trình hô hấp.

1. Nguyên liệu hô hấp và hệ số hô hấp

a) Nguyên liệu

Một trong những điều kiện để cho quá trình hô hấp có thể xảy ra được là sự có mặt trong mô thực vật những hợp chất hữu cơ cần cho quá trình đó.

Bản chất của những chất có thể làm nguyên liệu hô hấp là gì ? Câu hỏi đó đã lôi cuốn sự chú ý của nhiều nhà nghiên cứu. Borodin lần đầu tiên đã nghiên cứu thực

nghiệm vấn đề này. Ông đã xác nhận ảnh hưởng của nồng độ đường trong lá lên hoạt tính hô hấp. Đồng thời ông cũng khẳng định vai trò của các protein sinh chất đối với quá trình hô hấp của những cành non không có cacbohidrat dự trữ. Paladin và một số nhà nghiên cứu khác cũng có những quan điểm tương tự. Tuy nhiên lúc đó đại bộ phận các nhà sinh lí trong đó có Kostutrep đã công nhận rằng chỉ có cacbohidrat hoặc những hợp chất là dẫn xuất của chúng có khả năng biến đổi ngược lại thành cacbohidrat làm nguyên liệu duy nhất cho các quá trình oxi hoá. Người ta cho rằng sự hô hấp "protein" là một hiện tượng bệnh lí, thậm chí người ta còn gọi sự hô hấp đó bằng một thuật ngữ riêng là "hô hấp đói".

Vấn đề bản chất của những chất được dùng làm nguyên liệu hô hấp chỉ được giải quyết khi dựa trên những cơ sở sau đây :

– Tế bào thực vật có những cơ chế xúc tác giúp cho nó có thể sử dụng phần lớn những hợp chất hữu cơ có bản chất hoá học khác nhau làm nguyên liệu hô hấp.

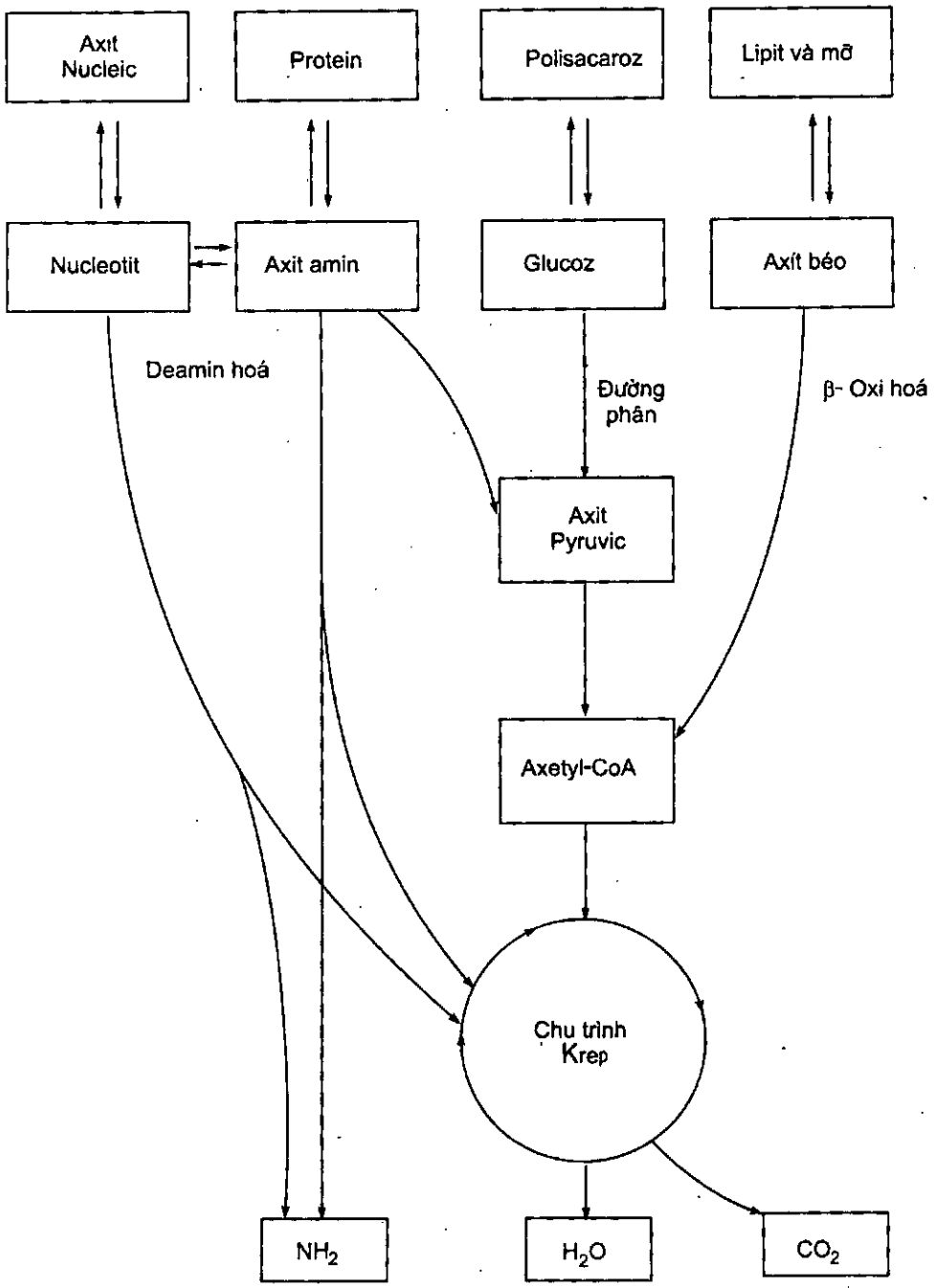
– Các biến đổi oxi hoá khử của cùng một hợp chất có thể thực hiện trong tế bào sống không phải bằng một mà bằng hai hay một số con đường khác nhau về mặt cơ chế hoá học cũng như enzim học. Điều đó giúp cho những hợp chất không có khả năng oxi hoá trực tiếp có thể tham gia vào quá trình oxi hoá sau khi đã được biến đổi sơ bộ thành những hợp chất có thể sử dụng những hệ enzim thích hợp có sẵn trong tế bào, ví dụ như hexoz và những este photphat của nó.

– Sự oxi hoá của cùng một hợp chất trong tế bào có thể được thực hiện bằng con đường trực tiếp nhờ những enzim đặc hiệu, cũng như bằng con đường gián tiếp.

Từ những cơ sở trên người ta đã khẳng định rằng cacbohidrat là nguyên liệu hô hấp cơ bản của mô cây xanh. Đó là những monosacarit và các polisacarit bậc I, một số polisacarit bậc II (tinh bột, insulin, hemixelluloz). Tuy nhiên cũng cần lưu ý rằng những polisacarit chỉ được sử dụng làm nguyên liệu hô hấp sau khi đã được phân giải sơ bộ bằng con đường thuỷ phân hoặc photphorin hoá. Ví dụ như khi photphorin hoá tinh bột sẽ tạo ra este phophat của glucoz (glucoz-1-photphat) là một hợp chất có thể tham gia vào con đường đường phân. Ngoài cacbohidrat thì những dẫn xuất của chúng như glucozit, các chất pectin cũng có thể làm nguyên liệu hô hấp của các tế bào thực vật sau khi đã được thuỷ phân. Các chất béo cũng được cây xanh sử dụng làm nguyên liệu hô hấp. Trước tiên chất béo phải được thuỷ phân thành các cấu phần là axit béo và glixerin, những cấu phần này sẽ được dùng làm nguyên liệu hô hấp.

Sau nghiên cứu của Borodin, Butkevich, Sulse, người ta đã khẳng định rằng các chất protein cũng có thể được dùng làm nguyên liệu hô hấp thông qua sự oxi hoá của các axit amin.

Về sự oxi hoá của protein và các chất béo được tóm tắt bằng sơ đồ sau :



Hình 81a – Sơ đồ hô hấp các đại phân tử trong tế bào

b) Hệ số hô hấp

Hệ số hô hấp (RQ) là tỉ số giữa lượng CO_2 thải ra và các lượng O_2 hút vào trong hô hấp.

Như ta đã nêu ở trên ngoài cabohidrat thì lipit và protein đều có thể biến đổi oxi hoá không cần qua sự biến đổi trước thành phần cacbohidrat. Việc chọn nguyên liệu hô hấp được giải quyết bởi tính đặc hiệu về loài, bởi những đặc điểm về tuổi cũng như những điều kiện sinh tồn.

Phụ thuộc vào nguyên liệu của hô hấp, hệ số hô hấp cũng khác nhau. Người ta xác định hệ số hô hấp căn cứ vào các phản ứng đốt cháy các nguyên liệu hô hấp khác nhau. Đối với cabohidrat, nguyên liệu chủ yếu của hô hấp như saccaroz hoặc tinh bột hệ số hô hấp là 1. Chẳng hạn nếu glucoz là nguyên liệu của hô hấp thì từ phương trình chung của hô hấp ta có : $CO_2 / O_2 = 6/6 = 1$, nên hệ số bằng 1.

Số phân tử CO_2 thải ra bằng số nguyên tử cacbon trong phân tử của nguyên liệu, còn số nguyên tử oxi được sử dụng với 1 nguyên tử cacbon của nguyên liệu thì tăng theo sự tăng của lượng nguyên tử hidro và giảm theo sự tăng của lượng nguyên tử oxi trong phân tử nguyên liệu. Bởi vậy nếu nguyên liệu của hô hấp là những chất giàu hidro và nghèo oxi so với cacbohidrat như chất béo và protein thì hệ số hô hấp nhỏ hơn 1 (đối với chất béo RQ trung bình gần bằng 0,7, còn với protein thì RQ gần bằng 0,8).

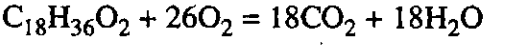
Nếu nguyên liệu hô hấp là những axit di-tricacboxilic bậc thấp giàu oxi như axit malic, axit xitric, axit oxalic thì RQ thường lớn hơn 1.

Dưới đây ta xét một số phương trình cụ thể đối với từng loại nguyên liệu để tính RQ của chúng.

Với chất béo (glixerit) : Glixerit được phân giải thành glixerin và axit béo :

$$2C_3H_8O_3 + 7O_2 = 6CO_2 + 8H_2O$$

(glixerin) RQ = 0,96

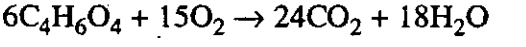


$$C_{18}H_{36}O_2 + 26O_2 = 18CO_2 + 18H_2O$$

(axit stearic) RQ = 0,69

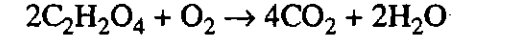
Với protein được dùng chỉ khi cabohidrat tiêu thụ hết. Protein khi đốt cháy cho CO_2, NH_3, H_2O và có RQ nhỏ hơn 1 (thường là bằng 0,8).

Với các axit hữu cơ chứa lượng oxi nhiều thì RQ > 1.



$$6C_4H_6O_4 + 15O_2 \rightarrow 24CO_2 + 18H_2O$$

Axit tatric RQ = 1,6



$$2C_2H_2O_4 + O_2 \rightarrow 4CO_2 + 2H_2O$$

Axit oxalic RQ = 4

$$C_4H_6O_5 + 3O_2 \rightarrow 4CO_2 + 3H_2O$$

Axit malic RQ = 1,33

Thông qua hệ số hô hấp ta có thể xác định được chất đã được oxi hoá.

Giá trị của hệ số hô hấp không chỉ thay đổi tuỳ theo nguyên liệu (hàm lượng oxi, hidro, cacbon) mà còn bị ảnh hưởng bởi những quá trình trao đổi chất không có quan hệ với hô hấp. Ví dụ như trong hạt nảy mầm của cây có dầu, các axit béo biến đổi thành cabohidrat. Quá trình này là một quá trình oxi hoá nhưng với lượng CO_2 thải ra ít cho nên RQ giảm tới 0,5. Ngược lại, nếu như gluxit bị khử tới axit béo (ví dụ trong các chồi hạt đang chín của những cây trên) thì hệ số hô hấp lại vượt quá 1.

Hệ số hô hấp sẽ bằng 1 trong trường hợp nguyên liệu hô hấp có tính khử tương đương với mức khử của phân tử đường. Tế bào được cung cấp đầy đủ oxi và quá trình oxi hoá xảy ra hoàn toàn cho tới khi tạo ra các sản phẩm cuối cùng là CO_2 và nước như trong quá trình phân giải đường. Nếu thiếu một trong các điều kiện trên hệ số hô hấp sẽ thiên về phía lớn hơn hoặc nhỏ hơn 1 (về bản chất của nguyên liệu hô hấp đã nêu ở trên) còn nếu nguyên liệu hô hấp không được oxi hoá hoàn toàn thì hệ số hô hấp sẽ giảm .Việc cung cấp oxi cho mô cũng ảnh hưởng lớn đến hệ số hô hấp.

Hệ số hô hấp cũng biến đổi trong các pha sinh trưởng. Trong quá trình nảy mầm của hạt lúa mà chất dự trữ chủ yếu là đường thì hệ số hô hấp gần bằng 1, còn ở những hạt giàu chất béo như hướng dương, thầu dầu thì sự biến đổi của hệ số hô hấp phức tạp hơn : ở giai đoạn đầu nảy mầm hệ số hô hấp xấp xỉ bằng 1 do hạt sử dụng lượng nhỏ đường trong chúng làm nguyên liệu hô hấp. Sau đó hệ số hô hấp giảm xuống tới 0,3 – 0,4 do oxi hấp thụ vào được dùng để biến đổi chất béo thành đường, sau đó hệ số hô hấp tăng lên 0,7 – 0,8 hoặc gần bằng 1 do đường bắt đầu được tích luỹ trong mô.

Hệ số hô hấp khác nhau ở những loài khác nhau, ở những cơ quan khác nhau ở các mô khác nhau của một cây. Bảng dưới đây chỉ rõ hệ số hô hấp của một số đối tượng thực vật (bảng 11).

Bảng 11 : Hệ số hô hấp của một số đối tượng thực vật (Rubin)

Đối tượng nghiên cứu	Hệ số hô hấp
Các lá khác nhau có chứa nhiều đường	1,0
Hạt lúa mì nảy mầm	1,0
Hạt cây gai nảy mầm	0,65
Hạt cây gai chín	1,22
Quả táo chín	1,0
Quả chanh - Toàn bộ	1,03
Quả chanh - Thịt quả	2,09
Quả chanh - Vỏ quả	0,09

2. Các enzim hô hấp

Sự oxi hoá của các hợp chất hữu cơ trong mô sống xảy ra với sự tham gia của những enzim phức tạp. Sự oxi hoá của các nguyên liệu hô hấp thường bắt đầu bởi sự khử hidro hoá của nó. Hidro (hoặc điện tử) được tách ra khỏi nguyên liệu hô hấp nhờ hệ enzim dehidrogenaza tương ứng sẽ được chuyển đến oxi không khí nhờ các enzim trung gian. Tuy nhiên, trong tế bào sống hidro này không thể tác động trực tiếp với oxi của không khí. Phản ứng chỉ có thể xảy ra khi hidro và cả oxi đều được hoạt hoá. Vì vậy có thể chia hệ enzim xúc tác cho quá trình hô hấp thành những nhóm sau : Nhóm enzim hoạt hoá

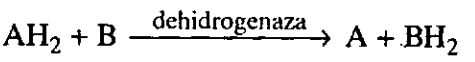
hidro ; nhóm enzim hoạt hoá oxi và nhóm enzim đóng vai trò là các chất chuyển trung gian ; nhóm enzim hỗ trợ.

a) Nhóm enzim hoạt hoá hidro và các enzim chuyển hidro (điện tử) trung gian (các dehidrogenaza)

Những enzim tách hidro khỏi các hợp chất hữu cơ khác nhau được gọi là dehidrogenaza hay dehidraza. Dựa vào đặc điểm tác động, những enzim này lại chia thành hai nhóm : các dehidrogenaza kị khí và các dehidrogenaza hiếu khí.

– *Các dehidrogenaza kị khí.* Đó là những enzim không có khả năng chuyển hidro (điện tử) của nguyên liệu trực tiếp cho oxi phân tử. Các dehidrogenaza này chuyển hidro cho các enzim tương ứng nối tiếp với chúng trong mạch hô hấp.

Sơ đồ chung thể hiện tác động của các dehidrogenaza như sau :

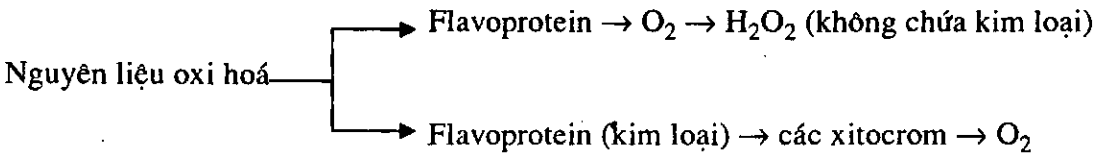


$$AH_2 + B \xrightarrow{\text{dehidrogenaza}} A + BH_2$$

Hidro của nguyên liệu hô hấp AH_2 được dehidrogenaza chuyển đến chất nhận B. Tất cả các dehidrogenaza đều là các enzim hai thành phần trong đó nhóm ngoại hoạt động có bản chất piridin P : nicotinamit adenin dinucleotit (NAD) và nicotinamit adenin dinucleotitphotphat (NADP) và có bản chất flavin : flavin adenin – dinucleotit (FAD).

– *Các loại dehidrogenaza hiếu khí*

Đó là những enzim có khả năng chuyển hidro trực tiếp cho oxi của không khí. Các enzim này có bản chất flavin. Có hai con đường mà các enzim flavin oxi hoá nguyên liệu hô hấp là : oxi hoá nguyên liệu hô hấp sau đó chuyển giao trực tiếp hidro cho oxi của không khí và oxi hoá nguyên liệu hô hấp thông qua sự chuyển điện tử :



Những flavoprotein này thuộc nhóm chất chuyển hidro và điện tử trung gian.

b) Nhóm enzim hoạt hoá oxi (các oxidaza)

Đây là những enzim có khả năng chuyển hidro (điện tử) cho oxi của không khí. Những enzim này ở cuối mạch chuyển hidro nên chúng còn được gọi là oxidaza tận cùng.

Những oxidaza cơ bản trong cây là : hệ xitocrom, poliphenol oxidaza, ascocbinoxidaza, peroxidazam lipoxidaza...

c) Các enzim hỗ trợ

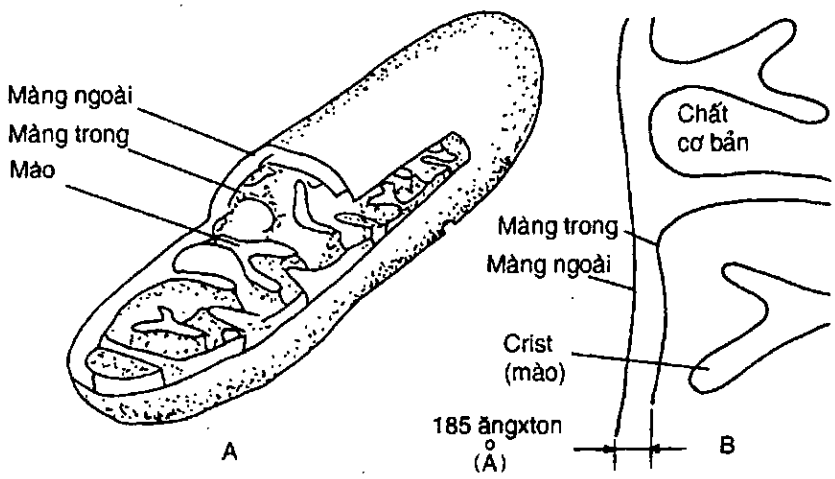
Là những enzim hỗ trợ cho hệ enzim oxi hoá – khử chính, xúc tác mạnh quá trình oxi hoá. Đó là các enzim : cacbonxilaza aldolaza, nhóm enzim kinaza,transferaza (transldolaza và transxetolaza).

3. Bào quan làm nhiệm vụ hô hấp – ti thể (mitochondri)

a) Cấu trúc của ti thể

Ti thể là một trung tâm sản sinh ra năng lượng của tế bào. Ti thể có dạng hình cầu, dạng que hay sợi dài ; đường kính 0,5 – 1 μm (tối đa là 2μm), chiều dài 1 – 5 μm (tối đa là 7 μm).

Ti thể được bao bọc bởi một cái vỏ gồm : màng ngoài (lớp ngoài) và màng trong (lớp trong). màng trong có diện tích lớn hơn màng ngoài vì từ màng trong tạo ra những gờ (những vách ngăn) hướng vào phía trong của ti thể và thường vuông góc với trục chính của ti thể (hình 81b).



Hình 81b – Sơ đồ cấu tạo của ti thể
A : Ti thể ; B : Màng của ti thể.

Màng trong và màng ngoài có cấu trúc của một màng cơ bản gồm các lớp protein và lipit xen kẽ nhau, cho nên chúng được gọi là màng trong và màng ngoài. Trên các vách ngăn ở màng trong hình thành nên những mấu lồi có dạng hình nấm, người ta gọi chúng là oxixơm. Oxixom chứa nhiều enzim của mạch chuyển điện tử. Qua mạch này điện tử được chuyển từ bản thể oxi hoá tới oxi của không khí để tạo thành nước. Khoảng trống giữa các màng trong ti thể chứa đầy đủ chất cơ bản.

Ti thể gồm những hạt lipoprotein, hàm lượng protein đạt 60 – 70% chất khô còn lipit chiếm 25 – 30 % chất khô. Ti thể có thể tự tổng hợp được protein nhờ có ADN và ARN riêng.

b) Chức năng của ti thể

Chức năng cơ bản của ti thể là liên kết sự oxi hoá hiếu khí một số chất trao đổi với sự tổng hợp ATP và vận chuyển điện tử tới oxi của không khí (sự oxi hoá) được thực hiện ở màng trong. Còn ở trong lớp chất cơ bản của ti thể thì diễn ra những phản ứng biến đổi hoá học của nguyên liệu hô hấp không liên quan trực tiếp với sự giải phóng năng lượng. Trong ti thể chứa tất cả những enzim xúc tác cho quá trình chuyển hoá của các axit trong chu trình Krep. Trong ti thể còn có toàn bộ hệ thống vận chuyển các ion hidro và điện tử từ các enzim oxi hoá nguyên liệu trong chu trình Krep đến oxi của không khí.

Sự vận chuyển hidro và điện tử từ $NADH_2$ đến oxi có thể xảy ra trong ti thể bằng hai con đường phân biệt về mặt không gian : con đường photphorin hoá oxi hoá xảy ra ở trong ti thể và con đường oxi hoá tự do không kèm theo photphorin hoá xảy ra trên bề mặt ti thể. Như vậy trong quá trình trao đổi chất của tế bào, ti thể giữ vị trí trung tâm. Ở đây, do sự oxi hoá sẽ giải phóng ra năng lượng. Năng lượng này được chuyển thành dạng năng lượng trong các mối liên kết cao năng thông qua quá trình photphorin hoá oxi hoá. Năng lượng đó sẽ được sử dụng cho những phản ứng thu nhiệt khác nhau trong tế bào. Tuy nhiên quá trình photphorin hoá oxi hoá chỉ xảy ra trong những ti thể còn nguyên vẹn.

Trong mỗi tế bào có hàng trăm ti thể. Tuổi thọ của ti thể chỉ kéo dài được vài ngày.

Trong mỗi tế bào luôn diễn ra sự hình thành cũng như sự phân huỷ ti thể. Ti thể được hình thành từ những ti thể bằng con đường sinh chồi hoặc phân chia.

III – HOÁ THỨC CỦA QUÁ TRÌNH HÔ HẤP

Trước khi xét các con đường biến đổi của nguyên liệu hô hấp ta hãy xét qua các học thuyết về sự oxi hoá sinh học.

1. Thuyết oxi hoá sinh học của Bac và Paladin

Hô hấp thực chất là một quá trình oxi hoá – khử trong đó hidro được tách ra từ nguyên liệu hô hấp và được chuyển tới oxi của không khí qua một loạt các enzim trung gian. Tuy nhiên, trong tế bào sống hidro của nguyên liệu không thể tự kết hợp được với oxi không khí. Mặt khác, bản thân oxi phân tử có hoạt tính phản ứng không cao và thực tế không có khả năng oxi hoá nguyên liệu của hô hấp trong điều kiện sinh học.

Vì vậy, để phản ứng có thể xảy ra được cần phải hoạt hoá những chất tham gia phản ứng (một mặt hoạt hoá oxi của không khí, mặt khác hoạt hoá hidro của nguyên liệu hô hấp). Trong cả hai trường hợp sự hoạt hoá được thực hiện với sự tham gia của các hệ enzim.

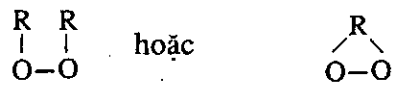
Bac và Paladin đã đưa ra những học thuyết về sự oxi hoá sinh học, về sự hoạt hoá của oxi và hidro.

a) Thuyết peroxit của Bac

Theo Bac, oxi phân tử có khả năng là một chất oxi hoá chỉ trong trường hợp nếu như trong phân tử có một trong các mối liên hệ giữa hai nguyên tử bị phá vỡ. Sự phá vỡ có thể xảy ra khi kết hợp oxi với một hợp chất không bão hoà nào đó, oxi trở thành dạng hoạt hoá :

O = O	– O – O –
oxi phân tử	oxi hoạt hoá

Oxi đã được hoạt hoá khi kết hợp với chất dễ bị oxi hoá sẽ tạo nên peroxit có dạng :



nhờ peroxit này lại có thể oxi hoá các chất khác.

Như vậy, theo Bac, sự hoạt hoá oxi trong hô hấp được thực hiện nhờ sự hình thành các peroxit do kết hợp oxi với phân tử chất oxi hoá.

b) Thuyết hô hấp của Paladin

Paladin lần đầu tiên (1914) đã nêu lên ý kiến về sự khử và tách hidro như là giai đoạn đầu của sự oxi hoá chất hữu cơ trong quá trình hô hấp. Theo quan điểm của ông, hô hấp được thực hiện nhờ những chất trung gian đặc hiệu có khả năng biến đổi oxi hoá – khử thuận nghịch. Những chất này Paladin gọi là chất màu hô hấp, đó là những hợp chất poliphenol có trong cây. Khi oxi hoá, các poliphenol này biến đổi thành quinon mà ông gọi là các sắc tố hô hấp

Các sắc tố này có khả năng tách hidro từ nguyên liệu của hô hấp và bằng cách đó hoạt hoá nó. Dưới tác dụng của những enzim thích hợp các sắc tố chuyển hidro cho oxi của không khí. Như vậy lượng không lớn poliphenol có thể thực hiện sự oxi hoá – khử thay thế nhiều lần và làm cầu nối giữa hidro của nguyên liệu hô hấp và oxi không khí. Như vậy, trong tế bào sống, sắc tố đóng vai trò là chất nhận hidro, còn chất màu hô hấp đóng vai trò chất nhận oxi. Paladin còn đưa ra quan niệm về vai trò của nước trong hô hấp. Ông cho rằng nước là một chất tham gia bắt buộc trong hô hấp của tế bào sống. Nó đóng vai trò là chất cho hidro để khử sắc tố thành chất màu hô hấp.

1. $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 12R \rightarrow 6CO_2 + 12RH_2$

2. $12RH_2 + 6O_2 \rightarrow 12R + 12H_2O$

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$

R – sắc tố hô hấp.

RH_2 - chất màu hô hấp tức là sắc tố ở dạng khử.

Tuy nhiên, trong quá trình khử sắc tố có sự tham gia của cả hidro của nguyên liệu hô hấp. Đồng thời, nước cũng là chất cho oxi để oxi hoá cacbon của nguyên liệu, CO_2 được hình thành bằng con đường yếm khí. Vai trò của oxi phân tử theo Paladin, là oxi hoá chất màu hô hấp và biến đổi chúng thành các sắc tố hô hấp, có nghĩa rằng oxi phân tử được dùng để tái sinh chất nhận hidro.

Paladin đã nêu rõ vai trò hoạt hoá hidro của nguyên liệu hô hấp và chuyển nó tới oxi của không khí nhờ các hệ oxi hoá khử trung gian.

Ngoài ra, ông cũng nêu rõ vai trò của sự hoạt hoá oxi phân tử mà thuyết của Bac đã nêu ra.

Học thuyết Bac và Paladin là cơ sở cho những quan niệm hiện đại về cơ chế của sự oxi hoá sinh học. Theo thuyết này, bản chất của quá trình hô hấp là sự oxi hoá của hidro được trách ra từ nguyên liệu của hô hấp và được hoạt hoá trước nhờ oxi đã được hoạt hoá của không khí.

Sự chuyển hidro tới oxi không khí thông qua một hệ thống phức tạp và nhiều bậc được gọi là mạch chuyển điện tử.

Những biến đổi của nguyên liệu hô hấp (cacbohidrat) thông qua các quy trình mà ta sẽ xét dưới đây, sẽ phản ánh được bản chất của học thuyết Bac – Paladin nêu ra ở trên.

2. Hô hấp yếm khí và hô hấp hiếu khí của cây xanh

Ở phần trên đã nêu lên phương trình tổng quát của quá trình hô hấp. Với sự tham gia bắt buộc của oxi không khí, nguyên liệu hô hấp được oxi hoá tới sản phẩm cuối cùng là khí cabonic và nước. Sự tham gia bắt buộc của oxi vào quá trình hô hấp một mặt chứng tỏ rằng hô hấp xuất hiện chỉ sau khi có sự xuất hiện của oxi tự do trong khí quyển của Trái Đất, mặt khác cũng không loại trừ khả năng hô hấp xảy ra trong điều kiện không có oxi. Dạng hô hấp như vậy được gọi là hô hấp yếm khí hay là hô hấp nội phân tử. Thông thường người ta gọi nó một cách đơn giản là quá trình lên men. Về mặt tiến hoá thì khả năng hô hấp yếm khí cổ xưa hơn, tuy nhiên nó cũng không bị mất trong quá trình phát triển của cơ thể sống. Trong đại bộ phận các cơ thể tồn tại hiện nay đều có khả năng hô hấp hiếu khí cũng như yếm khí. Ở thực vật, gluxit (cacbohidrat) là chất cơ bản có khả năng phân giải oxi hoá. Trong các gluxit thì những loại đường có 6 nguyên tử cacbon kiểu như glucoz và fructoz là những chất có khả năng phản ứng tốt nhất. Do đó trong tất cả các sơ đồ của quá trình hô hấp, glucoz được coi là nguyên liệu hô hấp. Tất nhiên không loại trừ khả năng tham gia vào hô hấp của những hợp chất hữu cơ khác như protein và lipit.

Với sự có mặt của oxi, các nguyên liệu hô hấp (hexoz) sẽ được oxi hoá hoàn toàn thông qua quá trình hô hấp để tạo nên sản phẩm cuối cùng là CO_2 và nước.

Nếu không có oxi, các nguyên liệu hô hấp chỉ có thể phân giải thành những hợp chất khử còn chứa một lượng năng lượng khá lớn thông qua quá trình lên men. Đó là rượu, axit lactic hoặc axit butiric và những sản phẩm khác. Về mối liên quan giữa hô hấp và lên men có những quan điểm khác nhau. Một số tác giả mà đại diện là hai nhà sinh lí học nổi tiếng Pfeffer và Phluge (cuối thế kỉ XIX và đầu thế kỉ XX) cho rằng hô hấp là sự kế tục trực tiếp của quá trình lên men và xảy ra như sau :

1. $$C_6H_{12}O_6 = 2CO_2 + 2C_2H_5OH$$

(lên men)

2. $$2C_2H_5OH + 6O_2 = 4CO_2 + 6H_2O$$

(hô hấp)

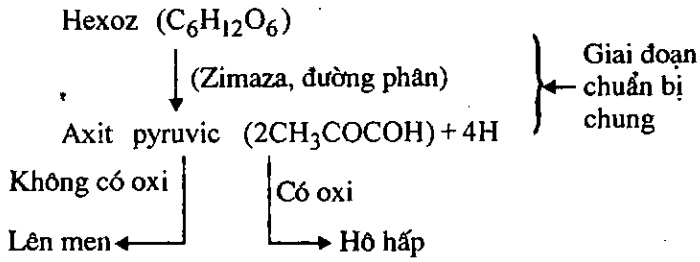
Theo quan điểm này thì những sản phẩm tạo thành trong quá trình lên men rượu, khi thay đổi điều kiện yếm khí bằng điều kiện hiếu khí sẽ tiếp tục oxi hoá tận cùng thành nước và cacbonic.

Tuy nhiên, những thành tựu nghiên cứu sau đó đã bác bỏ quan niệm trên và xác nhận rằng rượu không có vai trò gì trong con đường biến đổi chủ yếu của hô hấp. Kostưsep là người tiêu biểu cho quan niệm này. Ông đã đưa ra học thuyết về mối liên quan có tính chất di truyền giữa quá trình hô hấp và sự lên men. Theo thuyết của ông, những giai đoạn đầu tiên của quá trình phân giải đường là chung cho cả quá trình hô hấp cũng như lên men. Sự khác biệt giữa hai quá trình này chỉ xuất hiện ở những giai đoạn cuối cùng sau khi tạo thành axit pyruvic.

Sự biến đổi tiếp theo của axit pyruvic phụ thuộc vào điều kiện cung cấp oxi : khi có sự tham gia của oxi thì axit pyruvic được oxi hoá đến những sản phẩm cuối cùng là CO_2

và H_2O. Khi không có oxi, axit pyruvic sẽ biến đổi thành những sản phẩm của sự lên men (rượu, axit lactic).

Dưới đây là sơ đồ biểu thị học thuyết về mối liên quan giữa hô hấp và sự lên men :



Qua sơ đồ trên ta có thể hình dung rằng hô hấp hiếu khí bao gồm 2 pha (2 giai đoạn) cơ bản : pha yếm khí và pha hiếu khí.

Như vậy, phân tử đường có thể được oxi hoá bằng con đường hiếu khí (thông qua giai đoạn yếm khí và hiếu khí) và cũng có thể được oxi hoá thông qua con đường hoàn toàn yếm khí (lên men).

Dưới đây ta sẽ xét chi tiết các pha của quá trình hô hấp cũng như quá trình lên men.

a) Pha yếm khí của hô hấp – con đường đường phân (glicoliz)

Những giai đoạn đầu tiên của sự phân giải đường, như học thuyết của Kostưsep đã được khẳng định bằng thực nghiệm mà ta đã nêu ở trên, là chung cho cả quá trình lên men và hô hấp.

Đây là pha yếm khí của hô hấp. Trong pha này, nguyên liệu hô hấp (glucoz) sẽ được phân giải tới sản phẩm đơn giản nhất chứa 3 nguyên tử cacbon là axit pyruvic.

Trong giai đoạn này hình thành nên hàng loạt những este photphat của đường (hexoz). Với việc chứng minh bằng thực nghiệm sự hình thành các este photphat của đường, các nhà sinh hoá Ivanvôp và Lebedep (Nga) đã khẳng định vai trò của axit photphoric trong giai đoạn hô hấp yếm khí này. Giai đoạn này được gọi là quá trình đường phân hay là con đường Embden – Meyerhop – Panas (EMP), mang tên những tác giả đã đưa ra sơ đồ của con đường biến đổi này đối với các mô cơ.

Điểm đặc biệt của quá trình đường phân là không phải phân tử đường tự do mà là phân tử đường đã được hoạt hoá thông qua quá trình photphorin hoá thành dạng este photphat chịu những biến đổi. Ở dạng este photphat phân tử trở nên dễ hoạt động và không bền, dễ tham gia và các phản ứng tiếp theo.

Như vậy phân tử glucoz để được biến đổi theo con đường phân trước hết nó phải được photphorin hoá. Những tế bào chứa glucoz ở dạng không liên kết có thể sử dụng ATP làm nguồn năng lượng để thực hiện quá trình photphorin hoá cần thiết. Enzim xúc tác cho phản ứng này là glucokinaza, thường gọi là hexokinaza. Sản phẩm được tạo thành là glucozo-6-photphat và ADP. Glucozo-6-photphat cũng có thể được hình thành từ glucozo-1-photphat bằng cách chuyển photphat từ nguyên tử cacbon thứ 1 xuống nguyên tử

cacbon thứ 6. Mặt khác, bản thân glucoz-1-photphat lại được hình thành từ tinh bột nhờ hoạt động của enzim photphorinaza. Việc thêm photpho vô cơ (Pi) vào glucoz tự do là một quá trình xảy ra khó hơn nhiều so với sự thêm Pi vào glucoz tự do là một quá trình xảy ra khó hơn nhiều so với sự thêm Pi vào glulcoz có trong tinh bột. Cho nên glucoz-1 – photphat có thể hình thành từ tinh bột.

Các diphotphat đường không được thải ra khỏi lục lạp là nơi chúng được tổng hợp trước tiên trong lá, cho nên có thể chỉ có những monophotphat của saccaroz, axit photphoglixeric và hexoz được coi là những nguyên liệu khởi đầu của hô hấp.

Con đường đường phân chia thành các bước sau :

Bước đầu tiên là hoạt hoá phân tử đường bằng cách tạo thành các este photphat. Như trên đã nêu, từ glucoz dưới tác dụng của ATP tạo thành glucoz-6-photphat. Chất này dưới tác dụng của enzim photphohexoizomeraza được biến đổi tiếp tục thành fructoz-6-photphat. Mặt khác, nếu trong tế bào xuất hiện fructozo tự do (được phân giải từ saccaroz dưới tác dụng của enzim invertaza hoặc với sự có mặt của UDP hoặc ADP) thì nó cũng được biến đổi thành fructoz-6-photphat dưới dạng tác dụng của enzim fructokinaza không phụ thuộc vào nguồn gốc sinh ra từ chất nào (glucoz, saccaroz hay tinh bột), các fructozo-6-photphat có thể được biến đổi tiếp thành fructozo-1,6-diphotphat khi nhận thêm một gốc axit photphoric. Nguồn năng lượng để tạo nên este này cũng là ATP với sự xúc tác của enzim kinaza (photphohexokinaza), được hoạt hoá bởi ion magiê.

Bước thứ hai là phân cắt phân tử fructoz-1, 6-diphotphat thành hai đường trioz (dưới tác dụng của enzim aldolaza) là aldehyl-3-photphoglixeric và photphodioxiaxeton. Photphodioxiaxeton một mặt có thể bị khử thành α – glixerophotphat là nguồn gốc quan trọng của glixerol trong chất béo. Mặt khác nó có thể biến đổi hoàn toàn thành aldehyl-3-photphoglixeric dưới tác dụng của enzim photphotriozoizomeraza. Nhờ có enzim này mà trong quá tình biến đổi phân tử glucoz không bị mất đi một nửa qua chặng cắt đôi này.

Bước tiếp theo của con đường đường phân là sự oxi hoá của aldehyt-3-photphoglixeric dưới tác dụng của enzim đặc hiệu là aldehyt-photpho glixeric. Các nguyên tử hidro được chuyển cho chất nhận là NAD hoặc có thể là cả NADP tạo thành NADH (hoặc NADPH) và axit 1,3-diphotphoglixeric.

Hai gốc photphat của axit diphotphoglixeric này rất khác nhau về năng lượng cũng như thế năng vận chuyển. Gốc photphat liên kết với nguyên tử cacbon thứ nhất thuộc loại anhidrit và có thế năng vận chuyển cao hơn so với gốc phophat liên kết với nguyên tử cacbon thứ ba. Vì lẽ đó cho nên nó dễ chuyển cho ADP để tạo thành ATP và axit 3-photphoglixeric. Enzim xúc tác là photphoglixerokinaza. Bước này rất quan trọng vì đã hình thành nên phân tử ATP đầu tiên của quá trình hô hấp. Tiếp theo gốc photphat dưới tác dụng của enzim photphoglixeromutaza lại được chuyển từ vị trí cacbon thứ 3 sang vị trí thứ hai tạo nên axit 2 - photphoglixeric.

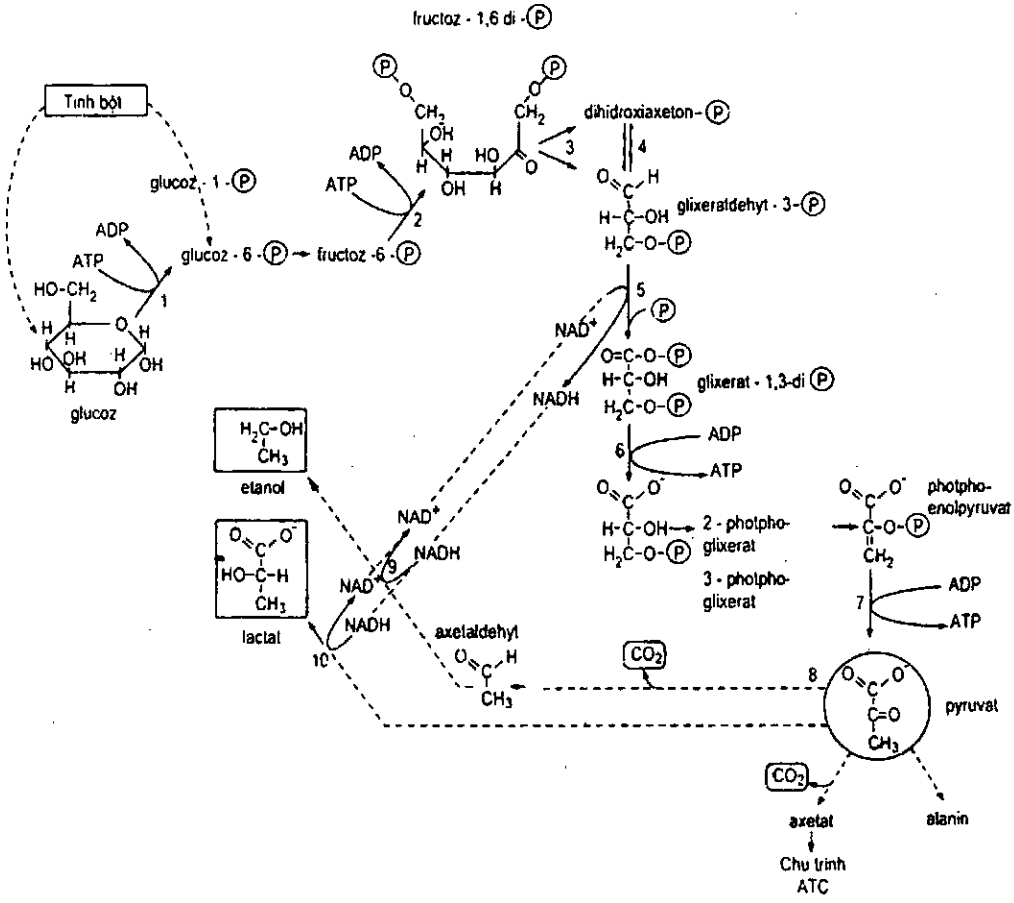
Bước cuối cùng là sự biến đổi của axit 2-photphoglixeric thành axit pyruvic. Trước tiên, dưới tác dụng của enzim enolaza, axit 2-photphoglixeric bị mất nước và tạo nên axit photphoenolpyruvic.

Tiếp theo axit photphoenlpyruvic lại chuyển gốc photphat cho ADP để tạo thành phân tử ATP thứ hai và axit enolpyruvic dưới tác dụng của enzim pyruvatkinaza. Axit enolpyruvic ở dạng enol không bền nên dễ biến đổi thành dạng xeto bền hơn là axit pyruvic và kết thúc các phản ứng của quá trình đường phân.

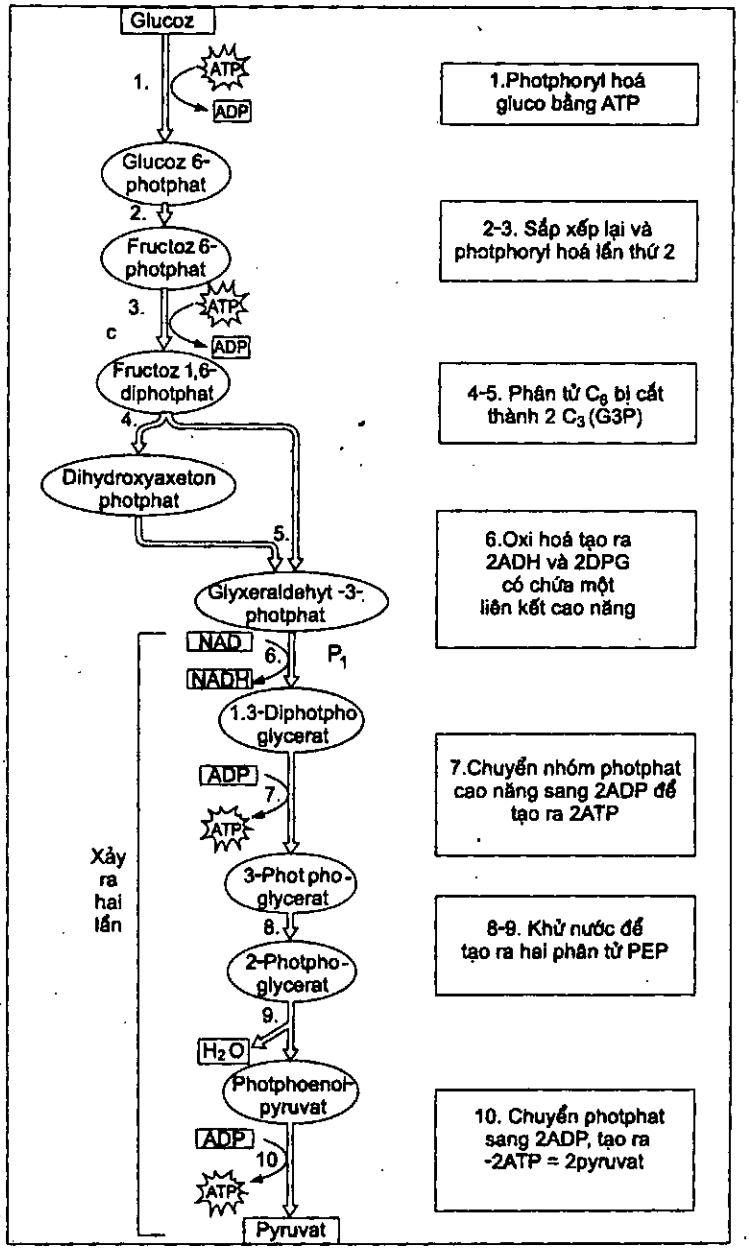
Như vậy, trong toàn bộ quá trình đường phân một phân tử glucoz đã tạo nên được 2 phân tử ATP trong các phản ứng biến đổi của bản thể hô hấp (thực ra là tạo nên được 4 phân tử ATP nhưng đã sử dụng 2 phân tử ATP để hoạt hoá phân tử đường ban đầu) 2 phân tử NADH (hoặc NADPH) và 2 phân tử axit piruvic (CH_3COCOH). Các enzim của con đường đường phân được chiết từ tế bào một cách dễ dàng, cho nên người ta đã công nhận rằng chúng định vị ở vùng hoà tan của chất tế bào, do đó quá trình đường phân xảy ra trong chất tế bào. Phương trình tổng quát của quá trình đường phân như sau :

$$C_6H_{12}O_6 + 2NAD^+ + 2ADP + 2H_3PO_4 \rightarrow 2CH_3COCOOH + 2ATP + 2NADH$$

Dưới đây là sơ đồ các phản ứng của con đường đường phân (glicoliz) với sản phẩm cuối cùng là pyruvat (hình 82,83). Trong sơ đồ này cũng chỉ rõ số phận tiếp theo của pyruvat tuỳ thuộc vào điều kiện môi trường : có oxi (theo chu trình axit tricacboxilic) hay không có oxi (theo con đường lên men – lên men rượu, lên men lactic).



Hình 82 – Con đường đường phân (glicoliz)



Hình 83 – Sơ đồ đường phân

b) Pha hiếu khí của hô hấp

– Chu trình Krep

Như trên đã nói, con đường đường phân là giai đoạn chuẩn bị chung cho cả quá trình lên men và hô hấp. Sản phẩm cuối cùng của con đường đường phân là axit pyruvic sẽ chịu những số phận tiếp theo khác nhau tuỳ thuộc vào điều kiện cung cấp oxi. Trong điều kiện có oxi nó sẽ được phân giải hiếu khí hoàn toàn thành CO_2 và H_2O. Con đường biến đổi này do nhà sinh hoá học Krep (Anh) tìm ra khi nghiên cứu mô cơ ngực của chim bồ câu vào năm 1937. Chu trình này còn được gọi là chu trình axit xitric vì axit này là một chất trung gian quan trọng. Nó còn có tên gọi nữa là chu trình axit tricaboxilic, vì trong chu trình tạo nên một số axit hữu cơ có 3 nhóm cacboxyl.

Kết quả phân giải axit pyruvic hoàn toàn sẽ cho 3 phân tử CO_2 và 2 phân tử H_2O

$$CH_3COCOOH + \frac{5}{2}O_2 = 3CO_2 + 2H_2O$$

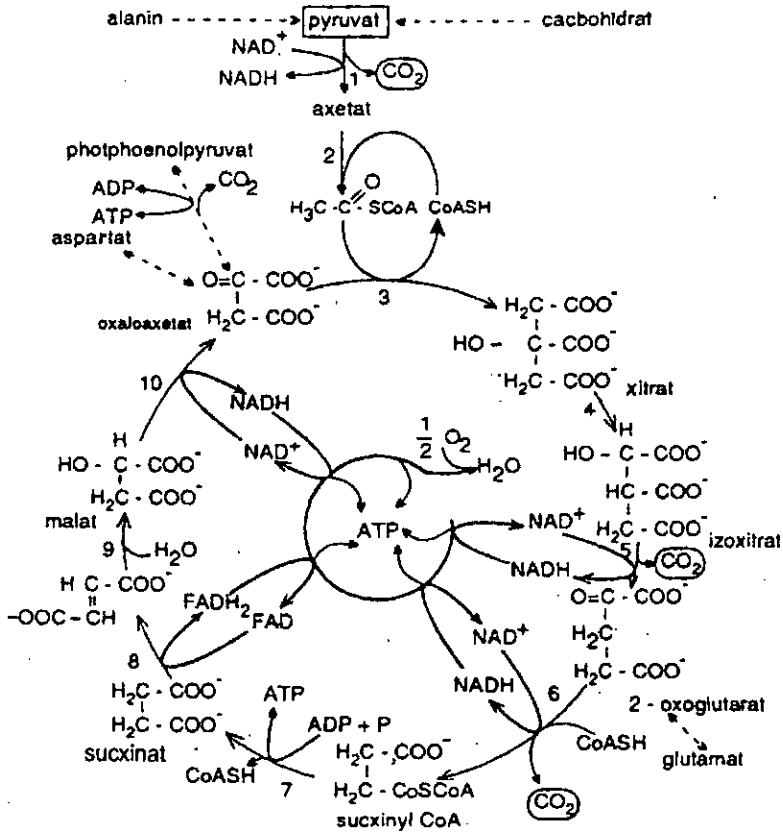
Bản chất của những biến đổi trong chu trình Krep là các phản ứng lần lượt decacboxyl hoá và đehidro hoá (khử cacboxyl và khử hidro của axit pyruvat. Phù hợp với thuyết của Bac – Paladin, nước đóng vai trò quan trọng trong các phản ứng của chu trình này. Oxi của nước được dùng để oxi hoá cacbon của axit pyruvic. Còn hidro của nước cùng với hidro của axit pyruvic được giải phóng ra nhờ các enzim dehidrogenaza sẽ được chuyển tới oxi của không khí đã được hoạt hoá bởi các oxidaza.

Chu trình axit tricacboxilic do Krep tìm ra trong mô cơ chim bồ câu hoàn toàn phù hợp cho các mô thực vật. Người ta đã có những dẫn liệu thực nghiệm xác minh điều đó.

Các phản ứng diễn ra như sau :

Trước tiên là phản ứng khử cacboxyl hoá oxi hoá của axit pyruvic với sự tham gia của coenzim A (CoA) và NAD (nhóm hoạt động của dehidrogenaza của axit pyruvic). Kết quả của phản ứng này là tạo nên axetyl-CoA, NADH và giải phóng nhân tử CO_2 đầu tiên. Axetyl-CoA sẽ tham gia vào chu trình Krep.

Axetyl-CoA là một hợp chất rắn hoạt động và khi nó kết hợp với axit 4C (axit oxaloaxetic) và nước thì tạo nên axit 6C (axit xitric). Đồng thời 2 điện tử cùng hidro được chuyển tới oxi không khí và tái tạo CoA (hình 84).



Hình 84 – Chu kình Krep (chu trình axit tricacboxilic – ATC)

Tiếp theo, axit xitric lần lượt bị mất nước với sự tạo thành axit cis-aconitic và kết hợp với nước tạo thành axit izoxitric.

Chính axit izoxitric này mới tham gia vào những phản ứng oxi hoá tiếp của chu trình. Trước tiên axit izoxitric bị oxi hoá tạo thành axit oxalosucxinic với sự tham gia của emzim izoxitricdehidrogenaza. Cặp hidro và điện tử được NAD chuyển tới oxi của không khí. Sau đó axit oxalosucxinic bị khử cacboxyl hoá tạo thành axit α-xetoglutaric và giải phóng phân tử CO_2 thứ hai. Enzim xúc tác cho phản ứng này là decacboxylaza. Phân tử CO_2 thứ ba và là cuối cùng được giải phóng ra trong phản ứng khử cacboxyl hoá oxi hoá của axit α-xetoglutaric với sự hình thành axit sucxinic. Chất nhận hidro cũng là NAD. Đây là phản ứng thải nguyên tử cacbon cuối cùng của axit pyruvic. Phản ứng này là phản ứng giữa hai giai đoạn : Trước hết là phản ứng khử cacboxyl hoá oxi hoá của axit α-xetoglutaric với sự tham gia của coenzim A tạo thành sản phẩm trung gian là sucxinil-CoA. Chất này sau đó dưới tác dụng enzim thiokinaza biến đổi thành axit sucxinic. Năng lượng oxi hoá được cố định trong các liên kết cao năng của ATP. Đây là một phản ứng quan trọng vì nó là phản ứng photphorin hoá oxi hoá duy nhất trong chu trình Krep.

Tiếp theo, axit sucxinic bị oxi hoá với sự tham gia của dehidrogenaza đặc hiệu thành axit fumaric. Khác với những phản ứng oxi hoá đã nêu ở trên, điện tử và hidro của phản ứng oxi hoá này được FAD chuyển tới oxi của không khí.

Axit fumaric được hidrat hoá với sự tham gia của enzim fumaraza thành axit malic. Axit này lại bị oxi hoá thành axit oxaloaxetic, kết thúc toàn bộ chu trình Krep. Điện tử và hidro được NAD chuyển tới oxi không khí. Axit oxaloaxetic lại tiếp tục tham gia vào chu trình qua phản ứng ngưng kết với axetyl – CoA như đã nêu ở trên.

Như vậy trong toàn bộ pha hiếu khí gồm giai đoạn biến đổi pyruvat thành axetyl coenzim A và chu trình Krep đã giải phóng ra 3 phân tử CO_2, 5 cặp hidro (điện tử). Trong 5 cặp hidro này chỉ có 2 cặp của phân tử axit pyruvic còn 3 cặp là từ phân tử nước đã dùng cho một số phản ứng trong chu trình. Hidro được chuyển tới oxi của không khí để tạo thành nước, còn năng lượng của điện tử được dùng để tổng hợp ATP.

Tất cả những axit trong chu trình có trong mô của hầu hết các loại thực vật. Tất cả các loại enzim của chu trình đều tập trung ở thể nền của ti thể (chu trình Krep diễn ra trong ti thể).

Phương trình của các phản ứng diễn ra trong pha hiếu khí (từ piruvat $C_3H_4O_3$) như sau :

$$2C_3H_4O_3 + 6H_2O + 5O_2 = 6CO_2 + 10H_2O$$

Trong quá trình hô hấp CO_2 được tách ra từ nguyên liệu hô hấp (các xeto axit trong chu trình) dưới tác động của enzim cacboxylaza. Đó là điều khác biệt đặc trưng giữa hô hấp và sự đốt cháy mà CO_2 là kết quả của sự oxi hoá cacbon của nguyên liệu bởi oxi của không khí. Vì vậy các phản ứng tách CO_2 trong hô hấp là những phản ứng mang tính chất yếm khí và sự giải phóng CO_2 không phụ thuộc vào sự hấp thụ oxi.

Trong quá trình đường phân 2 cặp H_2 đã được dehidraza yếm khí tách ra và chuyển đến 1 phân tử oxi của không khí tạo thành 2 phân tử nước, cho nên tổng hợp lại toàn bộ quá trình hô hấp được biểu thị bằng phương trình tổng quát sau :

$$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 12H_2O$$

hay : $$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 = 6CO_2 + 6H_2O$$

Chu trình Krep có ý nghĩa rất lớn đối với đời sống của thực vật. Ý nghĩa cơ bản của nó là ở chỗ nó chuẩn bị nguyên liệu cho các quá trình tổng hợp xảy ra trong thời kì sinh trưởng của các tế bào non (ví dụ như axit α–xetoglutaric, axit fumaric). Những hợp chất này có thể là những chất tiền thân cho rất nhiều phản ứng tổng hợp và trao đổi chất của các axit amin, cho các phản ứng tổng hợp các nucleotit, cho các phản ứng hình thành những hợp chất vòng khác nhau, các chất béo và những chất khác.

– Chu trình axit glioxilic

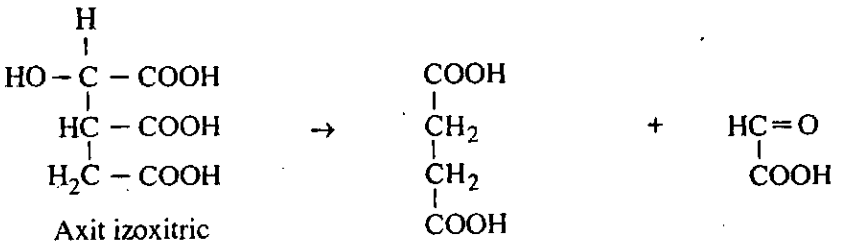
Năm 1957 Cobec và Krep đã tìm ra một chu trình hô hấp khác nữa gọi là chu trình axit glioxilic. Đây là một biến thể của chu trình Krep.

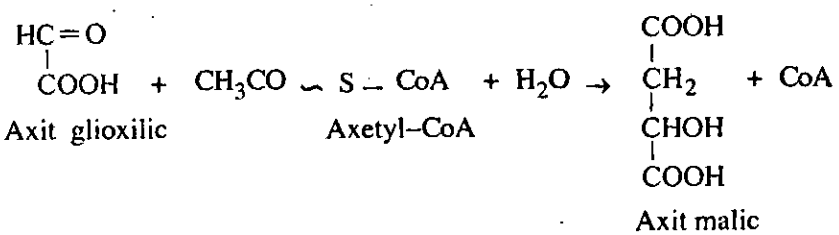
Trong chu trình này có sự tham gia của axit glioxilic và các hợp chất 2C, ví dụ như axetat CH_3COOH được sử dụng làm nguồn cacbon.

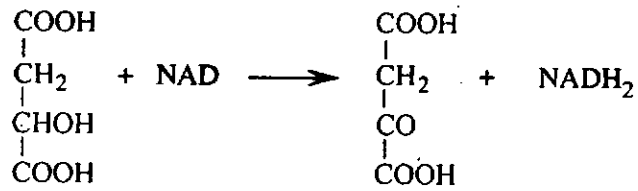
Cơ sở của các phản ứng của chu trình này là sự biến đổi chất béo thành cacbohidrat. Chu trình này được phát hiện ở vi khuẩn, nấm mốc và một số thực vật, đặc biệt là những cây có nhiều dầu. Trong quá trình nảy mầm của những hạt cây có dầu do kết quả của sự phân giải các axit béo sẽ tạo nên lượng lớn axit axetic. Axit này sẽ tham gia vào chu trình axit glioxilic. Các enzim của chu trình này ở những thực vật bậc cao nằm trong vi thể của tế bào là glioxixom. Các enzim của chu trình này như izoxitraza, syntetaza của axit malic đóng vai trò quan trọng trong sự trao đổi chất béo (ở cây hướng dương, thầu dầu).

Khác với chu trình Krep, trong chu trình axit glioxilic, axit izoxitric dưới tác dụng của enzim izoxitraza phân giải axit sucxinic và axit glioxilic. Axit glioxilic dưới tác dụng của enzim malatsyntetaza ngưng kết với axetat tạo thành axit malic. Axit này lại oxi hoá thành axit oxaloaxetic. Axit oxaloaetic có thể biến đổi tiếp thành axit photphoenolpyruvic và sau thành cabohidrat.

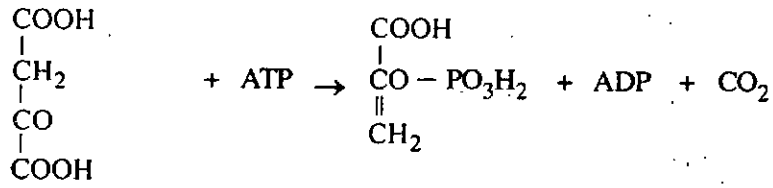
Các phản ứng xảy ra theo chặng trên như sau (từ axit izoxitric) :



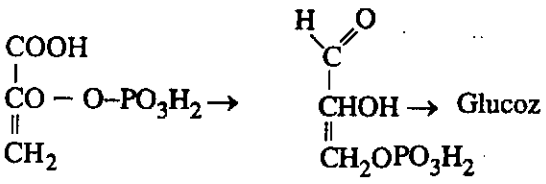




Axit malic — Axit oxaloaxetic



Axit oxaloaxetic — Axit 2–photphoenolpyruvic

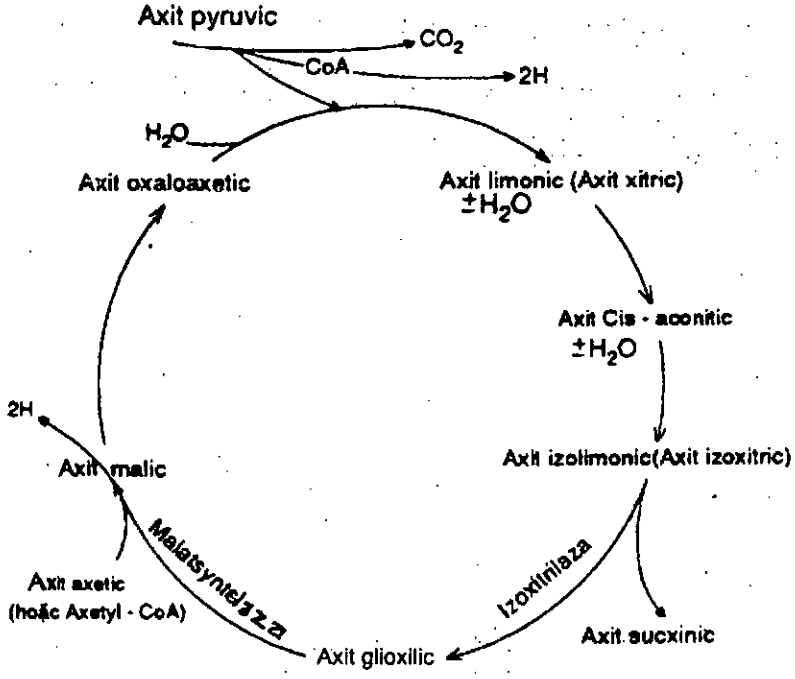


Axit 3 – photphoglixeric

Như vậy, các phân tử axetat được hình thành trong quá trình phân giải của các axit béo sẽ biến đổi thành cacbohidrat từ 4 phân tử axetat sẽ tạo nên được một phân tử glucoz. Chính ở đây đã thể hiện vai trò sinh lí của chu trình axit glioxilic (một quá trình hiếu khí).

Chu trình axit glioxilic có một ý nghĩa lớn trong hô hấp của lá xanh ngoài ánh sáng. Axit glioxilic là chất tiền thân cho sự hình thành axit amin glicin.

Dưới đây là sơ đồ của chu trình axit glioxilic (hình 85)



Hình 85 – Chu trình axit glioxilic

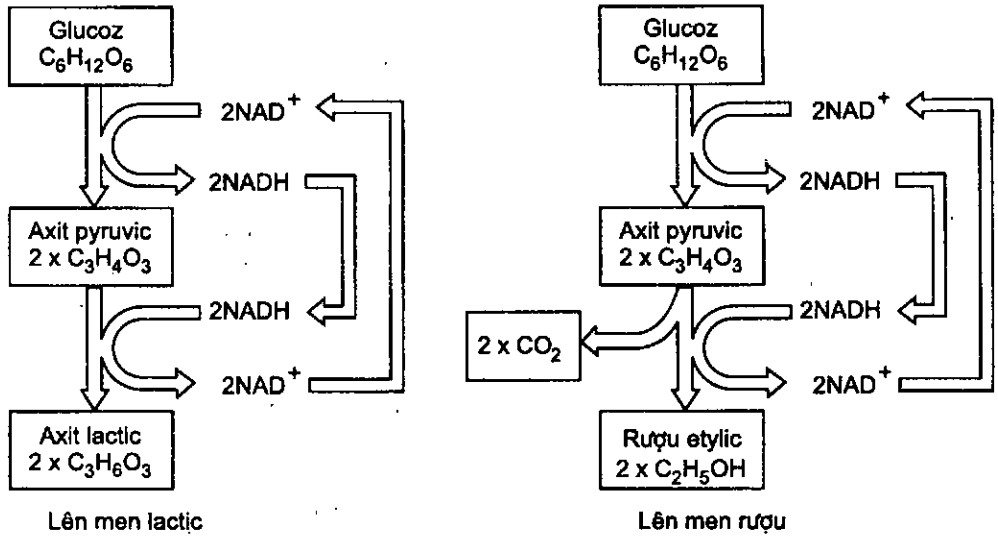
Như vậy thông qua chu trình Krep và chu trình axit glioxilic sản phẩm cuối cùng của pha yếm khí đã được phân giải tiếp trong pha hiếu khí. Trong pha này xảy ra hai loại phản ứng : loại thứ nhất là những phản ứng oxi hoá và khử cacboxyl hoá liên tiếp xảy ra theo chu trình như đã xét ở trên, đồng thời giải phóng ra hidro, điện tử và khí cacbonic. Loại phản ứng thứ hai là phản ứng chuyển điện tử và hidro từ các nucleotit khử (phản ứng oxi hoá khử) theo mạch chuyển điện tử (mà ta sẽ nói đến ở dưới) tới oxi của không khí để tạo thành nước, sản phẩm cuối cùng thứ hai của hô hấp. Năng lượng giải phóng ra trong những phản ứng oxi hoá này sẽ được cố định lại trong các mối liên kết cao năng của ATP.

c) Quá trình lên men. Sự hô hấp yếm khí ở thực vật

Trong điều kiện không có oxi, phân tử hexoz chỉ phân giải thành những hợp chất đơn giản hơn còn chứa lượng năng lượng lớn chưa được huy động thông qua quá trình lên men. Đó cũng là nguyên nhân hiệu quả năng lượng thấp của những quá trình xảy ra trong điều kiện yếm khí. Quá trình lên men không chỉ đặc trưng cho các vi sinh vật. Một số loài thực vật cũng có khả năng lên men : lên men rượu (ở mầm đậu Hà lan, lúa, đại mạch vào những ngày đầu sau khi nảy mầm, ở rễ cà rốt trong giai đoạn đầu của sự yếm khí) ; lên men lactic (khoai tây giữ ở khí quyển nitơ). Những dạng lên men này diễn ra theo phương thức như lên men ở vi sinh vật. Sự hô hấp yếm khí của cây xanh thông qua quá trình lên men rượu và lên men lactic xảy ra theo phản ứng sau :

$$\text{Glucoz} + 2\text{ADP} + 2\text{Pi} \begin{cases} \nearrow 2\ \text{etanol} + 2\ CO_2 + 2\text{ATP} \\ \searrow 2\ \text{lactat} + 2\text{ATP} \end{cases}$$

Quá trình lên men rượu cũng có thể tồn tại ở các mô thực vật được cung cấp oxi một cách bình thường (được gọi là lên men hiếu khí). Ví dụ trong những mô mọng nước của những quả táo, cam, quýt, thấy xuất hiện các sản phẩm của sự lên men rượu (hình 86).



Hình 86 – Sơ đồ quá trình lên men

Hiệu quả năng lượng của sự lên men thường thấp. Chẳng hạn như sản phẩm của sự lên men rượu *etilic* còn chứa năng lượng dự trữ lớn chưa được sử dụng trong hô hấp nội phân tử. Người ta đã xác nhận rằng để thu được cùng một lượng năng lượng trong điều kiện yếm khí mô thực vật bậc cao cần phải dùng lượng nguyên liệu gấp 30 – 50 lần so với trường hợp hô hấp hiếu khí. Kết quả của quá trình hô hấp yếm khí là mô cây bị đói, mô bị mất các chất trung gian khác nhau đã chưa được hình thành trong hô hấp hiếu khí.

Tuy nhiên, nên hiểu sự oxi hoá yếm khí không phải là một bệnh lí mà tuỳ thuộc vào điều kiện bên trong cũng như bên ngoài, nó luôn xảy ra và cùng với hô hấp hiếu khí nó là một trong những quá trình không đổi của sự trao đổi khí oxi hoá trong mô thực vật bậc cao.

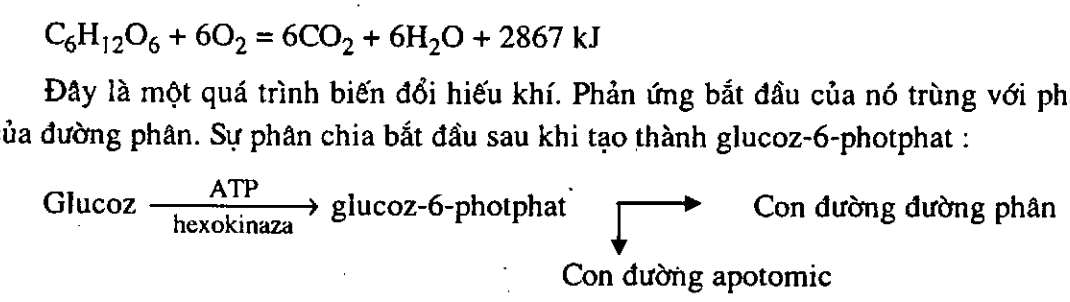
3. Những con đường biến đổi khác của glucoz

a) Con đường pentozophotphat

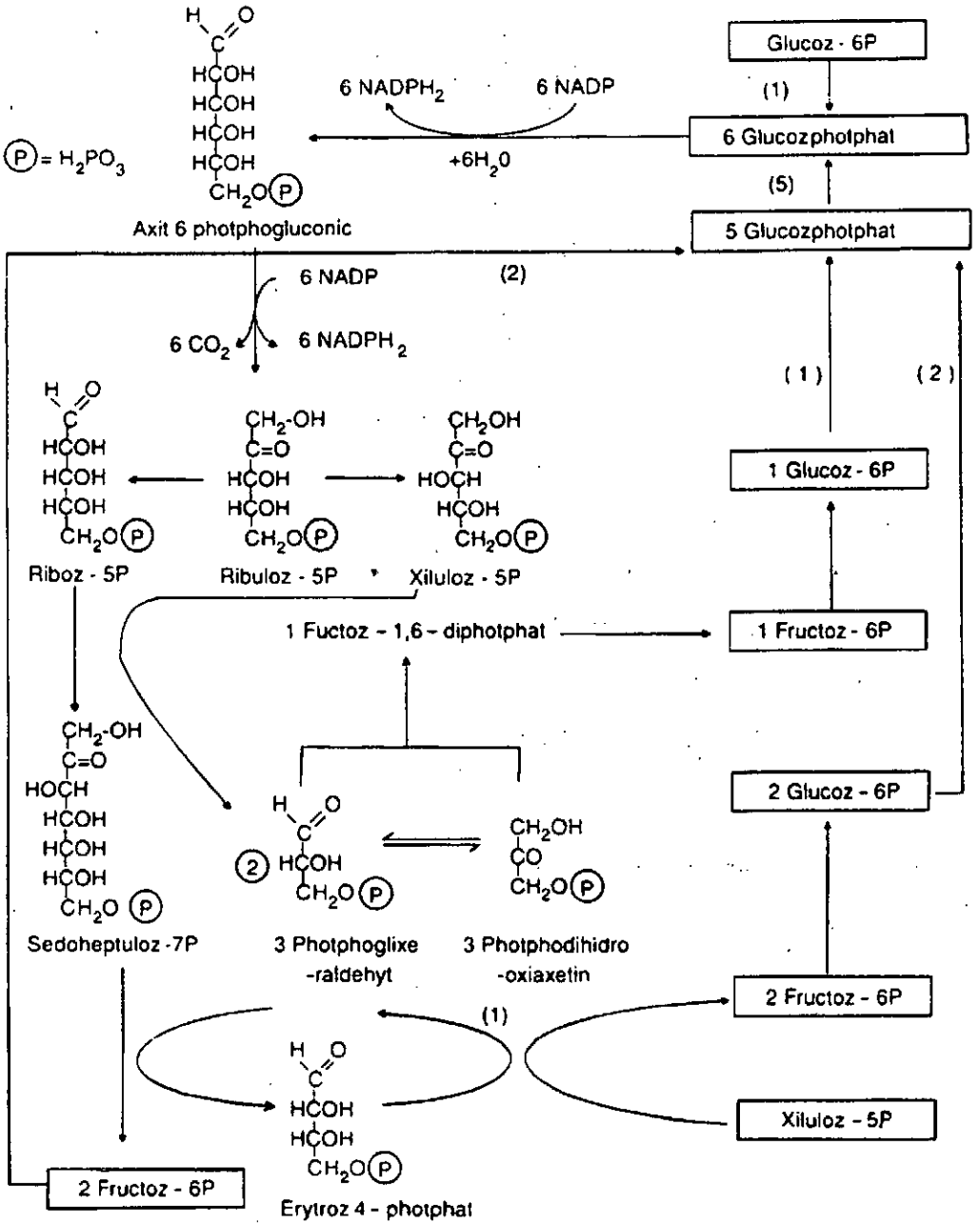
Con đường đường phân không phải là con đường phân giải glucoz duy nhất mà còn có những con đường khác, trước tiên ta phải kể đến con đường pentozophotphat. Sở dĩ gọi như vậy vì trong quá trình này sản phẩm trung gian gồm những đường 5 cacbon. Con đường pentozophotphat được phát hiện đầu tiên ở nấm men, các mô động vật và sau này ở các mô thực vật vào những năm 30 và 50 của thế kỉ XX của hàng loạt các nhà sinh lí (Warburg, Cristian, 1930 ; Grise, 1935 ; Diken 1936...).

Khác với con đường đường phân mà ở đó mạch cacbon của phân tử glucoz bị phân giải thành hai trioz, trong con đường pentozophotphat nguyên tử cacbon thứ nhất của mạch glucoz bị cắt đi, do đó con đường này còn có tên gọi là sự oxi hoá apotomic (cắt ngắn đi) để phân biệt với con đường đường phân được gọi là dikhotomic (lưỡng phân). Con đường này còn được gọi là con đường hexozomonophotphat (do sự oxi hoá của este monophotphat của glucoz) hoặc con đường oxi hoá trực tiếp và con đường Warburg – Diken.

Điểm đặc trưng của con đường pentozophotphat (hình 87) là từ 6 phân tử hexoz tham gia vào chuỗi các phản ứng của chu trình thì 5 phân tử được tái sinh, chỉ có một phân tử được oxi hoá theo phương trình thông thường của hô hấp :



Đây là một quá trình biến đổi hiếu khí. Phản ứng bắt đầu của nó trùng với phản ứng của đường phân. Sự phân chia bắt đầu sau khi tạo thành glucoz-6-photphat :

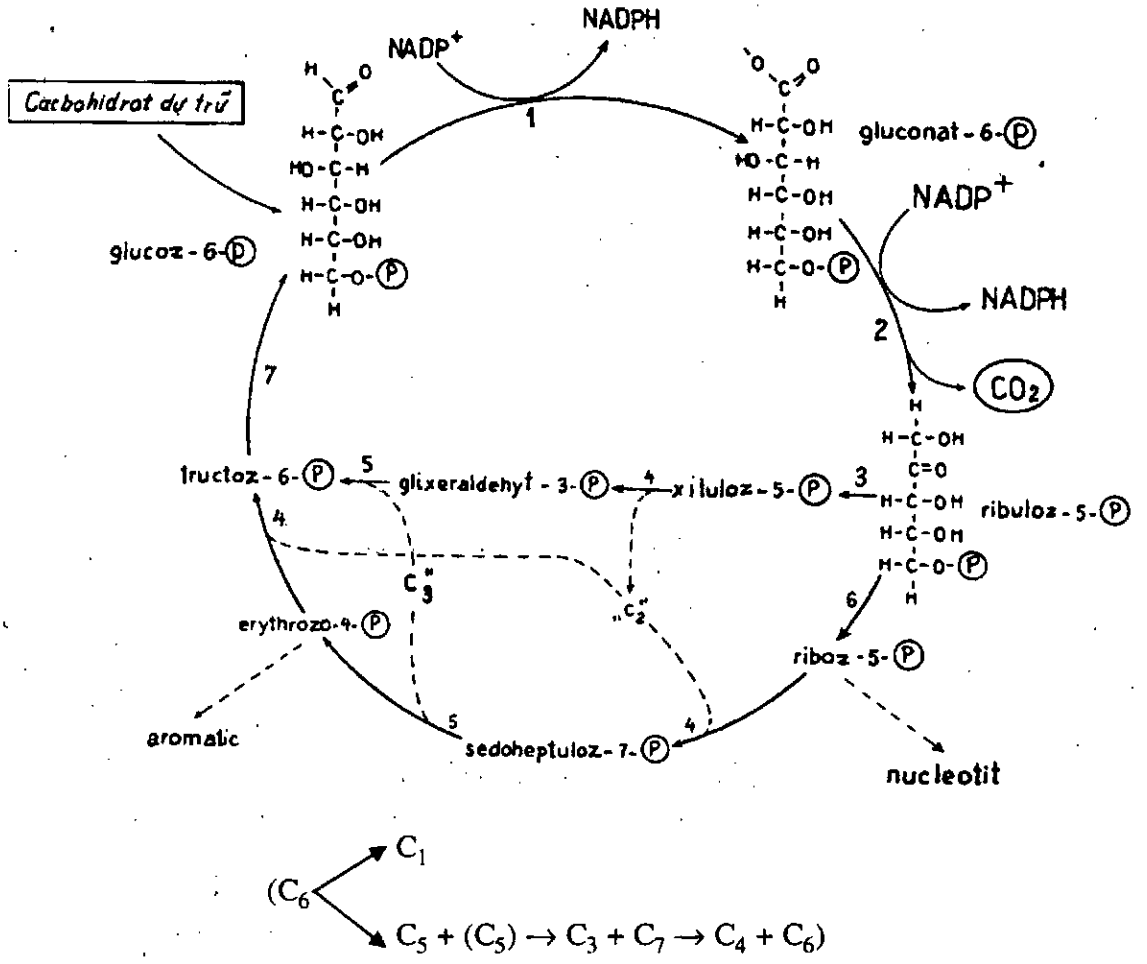


Hình 87 – Con đường pentozophotphat
(Từ 6 phân tử glucozophotphat chỉ một phân tử oxi hoá còn 5 phân tử để tái sinh)

Glucoz-6-photphat có thể từ sự phân giải tinh bột và kế đến từ các phản ứng đầu tiên của quá trình đường phân hoặc cũng có thể trực tiếp từ các phản ứng quang hợp.

Hai phản ứng đầu tiên của chu trình là những phản ứng oxi hoá đặc hiệu nghiêm ngặt với nicotinamit adenin dinucleotitphotphat (NADP).

Các phản ứng kế tiếp xảy ra theo sơ đồ (hình 88) :



Hình 88 – Chu trình pentozphotphat

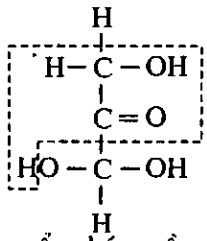
Phản ứng đầu tiên của chu trình là oxi hoá glucoz-6-photphat nhờ enzim đặc hiệu với nhóm hoạt động NADP tạo thành axit 6-photphatgluconat. Axit này sau bị khử cacboxyl hoá oxi hoá tạo phân tử đường 5 C là ribuloz 5-photphat và giải phóng ra CO_2.

Ribuloz lại có thể biến đổi đồng phân như sau : cứ từ 3 phân tử ribuloz tạo thành thì 2 phân tử biến đổi thành xiluloz- 5-photphat còn một phân tử biến thành riboz-5- photphat.

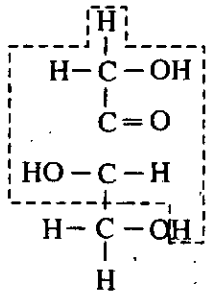
Dưới tác dụng của enzim transxetolaza từ các đường 5C là xilutoz (5- photphat và riboz-5-photphat sẽ tạo ra đường 7C là sedoheptuloz-7-photphat và đường 3C là aldehyt-3- photphoglixeric. Hai sản phẩm này lại kết hợp với nhau dưới tác dụng của enzim transaldolaza tạo thành phân tử đường 6 C đầu tiên fructoz-6-photphat và đường 4C là erytroz-4-photphat lại phản ứng với phân tử đường pentoz-4-photphat. Erytroz-4-photphat lại phản ứng với phân tử đường pentoz thứ ba là xiluloz-5- photphat dưới tác dụng của enzim transxetolaza tạo ra phân tử fructoz-6-photphat thứ hai và phân đường 3C là aldehyl-3-photphoglixeric.

Hai enzim transxetolaza và transaldolaza là những enzim chuyển chuỗi nguyên vẹn các nguyên tử cacbon.

Transxetolaza chuyển nhóm gồm 2 nguyên tử cacbon gọi là nhóm "glicoaldehyt hoạt động" có dạng sau :



Còn transaldolaza thì chuyển nhóm gồm 3 nguyên tử cacbon gọi là nhóm "dihidrooxiaxeton" :



Hai triozophotphat trên ngưng kết với nhau nhờ enzim aldolaza tạo phân tử fructozophotphat thứ ba.

Đến đây kết thúc toàn bộ con đường pentozophotphat. Phương trình tổng quát của con đường pentozophotphat như sau :

$$6 \text{ glucoz-6-photphat} + 6H_2 + 12NADP \rightarrow$$

$$\rightarrow 5 \text{ glucoz-6-photphat} + 6CO_2 + 12NADPH_2 + H_2PO_3.$$

Từ phương trình chung này ta thấy khi oxi hoá hoàn toàn một phân tử glucoz-6- photphat sẽ tạo ra 12 phân tử $NADPH_2$. Khi oxi hoá một phân tử $NADPH_2$ trong quá trình photphorin hoá oxi sẽ tổng hợp được 3 phân tử ATP. Như vậy khi oxi hoá một phân tử glucoz-6-photphat sẽ tạo nên 36 phân tử ATP nghĩa là bằng lượng ATP tổng hợp được khi oxi hoá cacbohidrat qua chu trình Krep (thực ra hiệu quả nguyên là 35 ATP vì 1 ATP đã phải dùng để photphorin hoá glucoz thành glucoz-6-photphat).

Con đường pentozophotphat xảy ra trong chất tế bào. Nó được phát hiện trong lá nhiều loại cây (lúa mì, củ cải đỏ, đậu, chè...), trong rễ nhiều loại cây, trong mầm lúa mì.

Con đường pentozophotphat có một ý nghĩa lớn : Nó là nguồn cơ bản tạo nên các pentoz cần cho sự tổng hợp axit nucleic trong tế bào và là nguồn tạo ra ribuloz từ đó hình thành ribuloz diphotphat là chất nhận CO_2 trong quang hợp. Chu trình này còn tạo rất nhiều chất có số nguyên tử cacbon khác nhau cần cho những quá trình sinh tổng hợp khác nhau.

b) Con đường oxi hoá glucoz tự do

Trong một số cơ thể nấm men, nấm mốc và một số mô động vật, đã phát hiện được con đường oxi hoá phân tử đường tự do không qua sự photphorin hoá. Vấn đề con đường này có tồn tại trong mô thực vật hay không còn chưa được sáng tỏ. Sự oxi hoá glucoz tự do được thực hiện nhờ hai enzim :

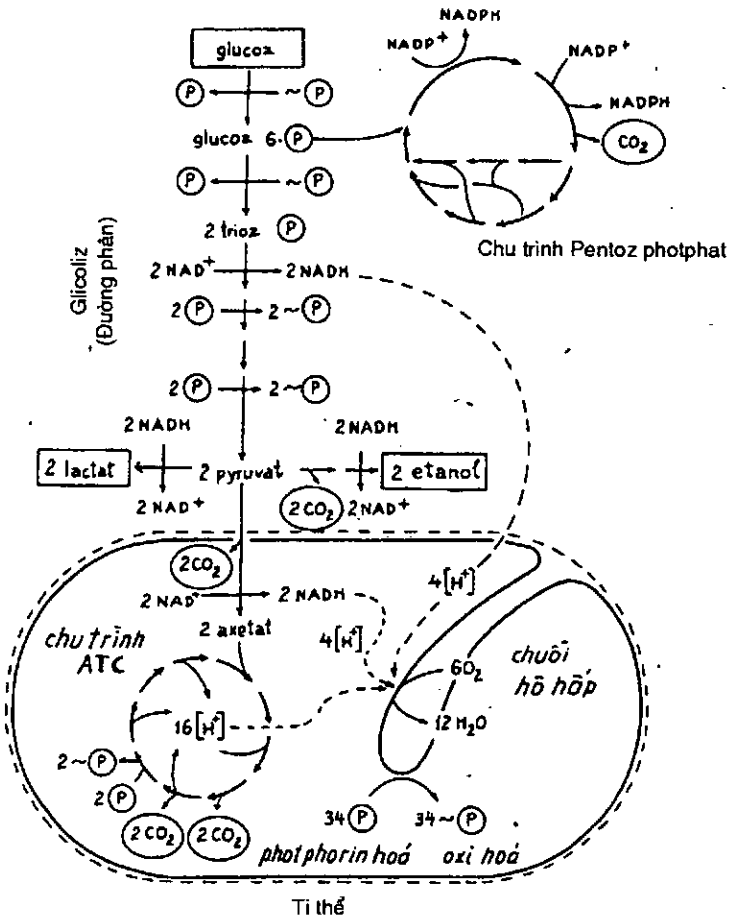
1. Glucozdehidrogenaza với nhóm hoạt động là NAD, hidro của $NADH_2$ sau được chuyển cho mạch các chất xúc tác trung gian rồi đến oxi không khí.

2. Glucozoxidaza với nhóm hoạt động là FAD ; enzim flavoproteit chuyển hidro trực tiếp cho oxi của không khí.

Sơ đồ của hai phản ứng trên như sau :

$$\text{glucoz} + H_2O + NAD \xrightarrow{\text{Glucozdehidrogenaza}} \text{axit gluconic} + NADH_2$$

$$\text{glucoz} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{Glucozoxidaza}} \text{axit gluconic} + H_2O_2$$



Hình 89 – Mối liên quan giữa các đường oxi hoá cacbohidrat

Axit gluconic nhận thêm gốc photphat nhờ xúc tác của enzim photphopheraza và biến thành axit 6-photphogluconic. Hợp chất này qua một số quá trình trung gian rồi cũng biến đổi thành các hợp chất 3 hoặc 5C. Vai trò sinh học của sự oxi hoá này chưa rõ.

Ở trên ta đã xét ba con đường phân giải oxi hoá của hexoz. Tuy nhiên, khó có thể hình dung được rằng trong cơ thể các dạng oxi hoá này xảy ra một cách độc lập với nhau.

Thực ra, sự trao đổi chất là một hệ phức tạp và liên quan mật thiết với nhau. Nhiều sản phẩm trung gian của quá trình này lại có thể là chất khởi đầu của các quá trình khác.

Cũng như vậy, hệ oxi hoá trong tế bào thực vật là một mạch phức tạp, phân nhánh nhưng không kém phần thống nhất của các quá trình.

IV – SỰ CHUYỂN HOÁ NĂNG LƯỢNG CỦA QUÁ TRÌNH HÔ HẤP

1. Sử dụng năng lượng ở thực vật

Hô hấp là nguồn cung cấp năng lượng cơ bản cần thiết cho cơ thể. Thông qua quá trình hô hấp năng lượng được chuyển từ dạng tiềm tàng khó sử dụng sang dạng hoạt hoá dễ sử dụng cho cơ thể. Năng lượng được giải phóng ra từ các hợp chất hữu cơ sẽ được tế bào cố định, tích luỹ lại trong những hợp chất hoá học đặc trưng, coi như những acquy năng lượng. Ý nghĩa quan trọng của những hợp chất này thể hiện ở chỗ năng lượng tích luỹ trong chúng được giữ trong những mối liên kết giàu năng lượng đặc biệt được coi là các liên kết cao năng. Năng lượng của các mối liên kết này dễ huy động cho các quá trình cần năng lượng trong tế bào.

a) Đặc điểm trao đổi năng lượng của cơ thể sống

Trong quá trình hô hấp, sự oxi hoá một phân tử gam glucoz giải phóng ra 688,5 kcal, còn khi đốt cháy nó cũng tạo ra một lượng năng lượng tương đương. Tuy nhiên, sự oxi hoá của glucoz (nguyên liệu hô hấp) trong cơ thể sống có những điểm khác biệt cơ bản với sự đốt cháy nó ở bên ngoài đặc biệt là ở cách thức giải phóng và biến đổi năng lượng.

Trước hết là trong quá tình hô hấp chỉ một phần năng lượng của các liên kết hoá học bị mất đi do biến thành nhiệt còn một phần tích luỹ trong mô dưới dạng các hợp chất đặc biệt và phần năng lượng riêng có thể được sử dụng trực tiếp không cần qua trạng thái biến đổi trung gian là nhiệt năng. Điểm khác biệt thứ hai của quá trình hô hấp với đốt cháy là năng lượng của hô hấp không thoát ra một cách tức thời ồ ạt một lúc mà được giải phóng thành từng đợt nhỏ trên con đường biến đổi theo từng bậc thang của các hợp chất hữu cơ. Điều đó giúp cho cơ thể sống có thể kịp thời tích luỹ lại năng lượng của quá trình oxi hoá.

Điểm khác biệt thứ ba là trong cơ thể sống ngoài những hệ enzim phân phối rất nhịp nhàng trong quá trình chuyển hoá năng lượng điện tử còn có những hệ enzim thực hiện cơ chế dự trữ, tích luỹ năng lượng của quá trình oxi hoá. Hệ enzim này hoạt động tạo thành một mạch vận chuyển điện tử từ nguyên liệu oxi hoá tới oxi của không khí. Năng lượng của quá trình hô hấp chủ yếu được tích luỹ nhờ hoạt động của mạch này.

b) Sử dụng năng lượng hô hấp

Năng lượng hoá học giải phóng ra trong quá trình hô hấp được tích luỹ dưới dạng ATP sẽ được cơ thể sử dụng theo nhiều hướng khác nhau.

Quá trình thứ nhất dùng năng lượng của hô hấp là quá trình sinh tổng hợp các chất phức tạp từ những chất đơn giản. Dưới tác dụng của enzim kinaza, năng lượng được tích luỹ trong ATP có thể chuyển cho các hợp chất khác cùng với gốc PO_4^{3-} làm hoạt hoá các chất

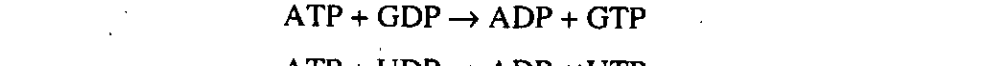
này. Chẳng hạn với năng lượng của ATP sẽ tạo nên các este phophat của glucoz, fructoz, ribuloz và của các cabohidrat khác trong chu trình Calvin và con đường đường phân.

Năng lượng của ATP còn được dùng trong quá trình tổng hợp protein thông qua sự hoạt hoá các axit amin. Trong quá trình tổng hợp các chất béo, năng lượng của ATP có thể dùng để hình thành các liên kết cao năng giữa phân tử CoA và các nhóm axetyl tạo nên hợp chất axetyl-CoA có khả năng phản ứng cao và đóng vai trò quan trọng trong quá trình này :

$$CoA - SH + CH_3COO^- + ATP \rightarrow CoA - S \sim COCH_3 + AMP + H_3PO_4$$

Ngoài ATP, các nucleotit khác như UTP, XTP, GTP, ITP (uridin, xitidin, guanodin, inodin - triphotphat) cũng tham gia tích cực vào quá trình chuyển hoá các nguyên liệu hữu cơ. Những hợp chất này được hình thành từ các dạng diphotphat tương ứng nhờ tác dụng chuyển năng lượng của ATP :

$$ATP + GDP \rightarrow ADP + GTP$$



$$ATP + UDP \rightarrow ADP + UTP$$

UTP là nguồn năng lượng của các quá trình sinh tổng hợp các disacarit va polisacarit.

XTP có vai trò quan trọng trong trao đổi lipit.

Năng lượng của quá trình hô hấp còn được dùng vào các quá trình sinh lí khác xảy ra trong cơ thể như quá trình xâm nhập, hấp thụ, tích luỹ và vận chuyển các chất vào tế bào.

Năng lượng của quá trình hô hấp được dùng để thực hiện quá trình vận động, cảm ứng, quá trình phát quang sinh học, quá trình phân bào, trong sự hình thành và duy trì các cấu trúc của chất nguyên sinh.

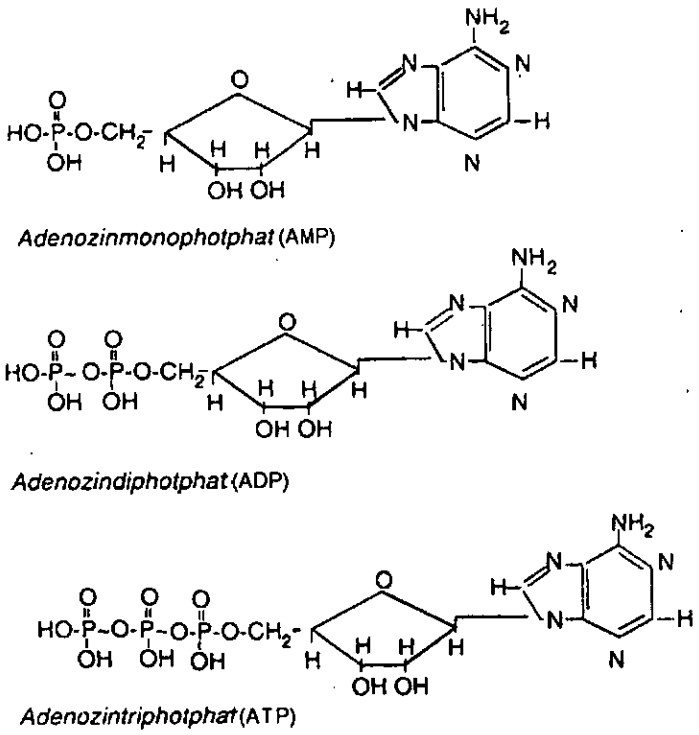
Vì vậy, có thể nói sự chuyển hoá năng lượng trong hô hấp là một trong những biểu hiện vai trò sinh học của quá trình này.

2. Sự tích luỹ năng lượng trong quá trình hô hấp

a) Vai trò của photpho trong sự trao đổi năng lượng sinh học – Adenozintriphotphat

Những hợp chất nào có thể đảm nhận vai trò là một acquy năng lượng ? Những nghiên cứu của các nhà bác học Nga trước hết là Ivanôp (1905) đã khẳng định vai trò của axit photphoric trong sự trao đổi năng lượng của tế bào sống. Hàng loạt nghiên cứu sau này của Engelhart, Belixer, Braunstein cũng chỉ ra rằng trong tế bào sống xảy ra đồng thời hai quá trình đối lập nhau ; một mặt là sự thuỷ phân các hợp chất chứa photpho, mặt khác là sự liên kết axit photphoric trong quá trình hô hấp. Như vậy hàm lượng không đổi của axit photphoric trong tế bào sống thực tế là kết quả của một sự cân bằng động giữa sự phân giải và sự tái tổng hợp nó, chứ không mang tính chất tĩnh như trước đây người ta lầm tưởng. Các nghiên cứu trên cũng chỉ ra rằng sự hấp thụ oxi trong hô hấp xẩy ra đồng thời với sự hấp thụ photpho vô cơ tương ứng và hai quá trình này ở trong một mối tương quan hoàn toàn xác định. Photpho vô cơ được hấp thụ trong tế bào sống sẽ được liên kết dưới dạng adenozintriphotphat (ATP).

Như vậy sự tổng hợp các hợp chất giàu năng lượng có chứa axit photphoric chính là một trong những phương thức cố định năng lượng của hô hấp.



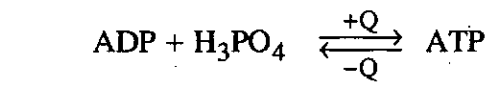
Hình 90 – Công thức của AMP, ADP, ATP

Adenozintriphotphat tập trung trong nó một lượng năng lượng khá lớn của sự phân giải hiếu khí và yếm khí. Năng lượng được tập trung trong các mối liên kết photphat – các mối liên kết cao năng. Năng lượng của các liên kết cao năng trong phân tử ATP đạt tới 7 kcal (trong khi đó các liên kết photphat của glucozophotphat và fructoz – photphat chỉ có 2 – 4 kcal). Vì vậy ATP được xem như là một acquy năng lượng.

Phân tử ATP có cấu tạo phức tạp. Nó gồm có purin adenin (6 aminopurin), đường riboz và ba gốc axit photphoric (dấu ~ kí hiệu các liên kết phophat cao năng trong ATP).

ATP có thể cho các chất nhận axit photphoric khác nhau một hai gốc phothphat để biến đổi thành adenozin diphotphat (ADP) và adenozinmonphotphat (AMP) hay axit adenilic tương ứng. Ngược lại, axit adenilic là một monophotphat, lại có khả năng kết hợp một hoặc hai gốc axit photphoric và biến đổi thành adenozindiphotphat và adenozintriphotphat.

Trong cơ thể, adenozidiphotphat là chất tiền thân trực tiếp của adenozintriphotphat. Khi được thu nhận thêm photpho giàu năng lượng, hợp chất này sẽ biến đổi thành ATP :



$$ADP + H_3PO_4 \underset{-Q}{\overset{+Q}{\rightleftarrows}} ATP$$

Trong phân tử ATP có hai mối liên kết giàu năng lượng ; trong phân tử ADP có một mối liên kết giàu năng lượng ; còn trong phân tử AMP không có mối liên kết giàu năng lượng nào.

Ngoài ATP, trong cơ thể còn có những hợp chất khác chứa các mối liên kết cao năng như : uridinphotphat, guaninphotphat, axetylphotphat, axetylcoenzim A. Đặc biệt trong axetyl CoA mối liên kết cao năng là mối liên kết tio (giữa lưu huỳnh là oxi).

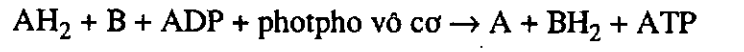
Những phản ứng oxi hoá khác nhau của các nguyên liệu trong tế bào đều dẫn đến sự tổng hợp của cùng một loạt chất mang năng lượng tiêu chuẩn chung cho thế giới sống là ATP. Năng lượng của ATP có thể biến đổi thành các dạng năng lượng khác như cơ học, điện học, năng lượng thẩm thấu, năng lượng ánh sáng và được sử dụng cho các quá trình sinh tổng hợp khác trong cơ thể sống.

b) Quá trình photphorin hoá oxi hoá

Như trên đã nói, ATP là một hợp chất rất quan trọng vì nó là nơi tích luỹ năng lượng giải phóng ra trong quá trình oxi hoá.

Trong mô, đồng thời với quá trình oxi hoá có sự hấp thụ photpho vô cơ. Năng lượng giải phóng ra trong quá trình oxi hoá được cố định lại trong mối liên kết giữa photpho vô cơ và sản phẩm oxi hoá ; sau đó các nhóm photpho giàu năng lượng được chuyển đến ADP để tạo thành ATP. Như vậy sự oxi hoá dường như là liên kết với quá trình photphorin hoá của ADP. Do đó quá trình này được gọi *là quá trình photphorin hoá oxi hoá.*

Quá trình photphorin hoá oxi hoá được biểu thị bằng phương trình tổng quát sau :



$$AH_2 + B + ADP + \text{photpho vô cơ} \rightarrow A + BH_2 + ATP$$

(trong đó AH_2 là chất cho và B là chất nhận điện tử).

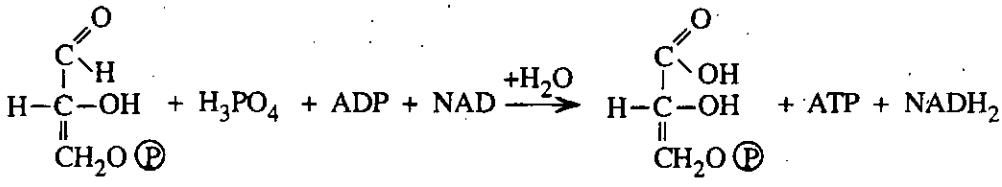
Phản ứng chuyển điện tử từ AH_2 đến B là nguồn năng lượng để tạo thành mối liên kết cao năng thứ hai trong phân tử ATP.

Có hai dạng photphorin hoá oxi hoá đó là photphorin hoá trên mức độ nguyên liệu (cơ chất) và trên mức độ enzim.

– Photphorin hoá trên mức độ nguyên liệu

Trên toàn bộ con đường biến đổi oxi hoá của phân tử đường bao gồm quá trình đường phân và tiếp theo là chu trình Krep có hai phản ứng oxi hoá liên kết với photphorin hoá trên mức độ nguyên liệu.

Phản ứng thứ nhất là sự oxi hoá aldehyt-3-photpho glixeric thành axit-3- photphoglixeric trong quá trình đường phân. Phản ứng này diễn ra theo phương trình sau :



Aldehyt-3-(p)-glixeric Axit 3-(p)-gilixeric

Photpho vô cơ được kết hợp vào nguyên tử cacbon thứ nhất của trioz và sự oxi hoá cũng diễn ra ở vị trí này. Năng lượng oxi hoá được tập trung giữa photpho và trioz, kết quả là liên kết trở thành liên kết giàu năng lượng.

Sau đó mối liên kết giàu năng lượng này cùng với photpho được chuyển đến ADP và chất này biến đổi thành ATP.

Phản ứng thứ hai là phản ứng khử cacboxyl (decacboxyl hoá) oxi hoá của axit α – xetoglutaric thành axit sucxinic trong chu trình Krep. Cũng như phản ứng trên, ở đây năng lượng oxi hoá cũng được cố định lại trong mối liên kết cao năng của ATP. Sơ đồ của phản ứng này như sau :

$$\text{Axit } \alpha\text{–xetoglutaric} + NAD + ADP + H_3PO_4 \xrightarrow{CoA} \text{axit sucxinic} + CO_2 + ATP + NADH_2$$

Trong cả hai trường hợp trên sự photphorin hoá oxi hoá được thực hiện nhờ sự oxi hoá trực tiếp chất hữu cơ, là nguyên liệu của hô hấp. Vì vậy quá trình này được gọi là quá trình photphorin hoá trên mức độ nguyên liệu. Quá trình photphorin hoá này tích luỹ không quá 10% toàn bộ năng lượng của tế bào sống.

Khoảng 90% năng lượng còn lại được tích luỹ trong quá trình gọi là photphorin hoá trên mức độ enzim.

– *Photphorin hoá trên mức độ enzim.* Đó là quá trình photphorin hoá xảy ra trong mạch chuyển điện tử piridinucleotit khử hoặc flavoprotein đến oxi không khí.

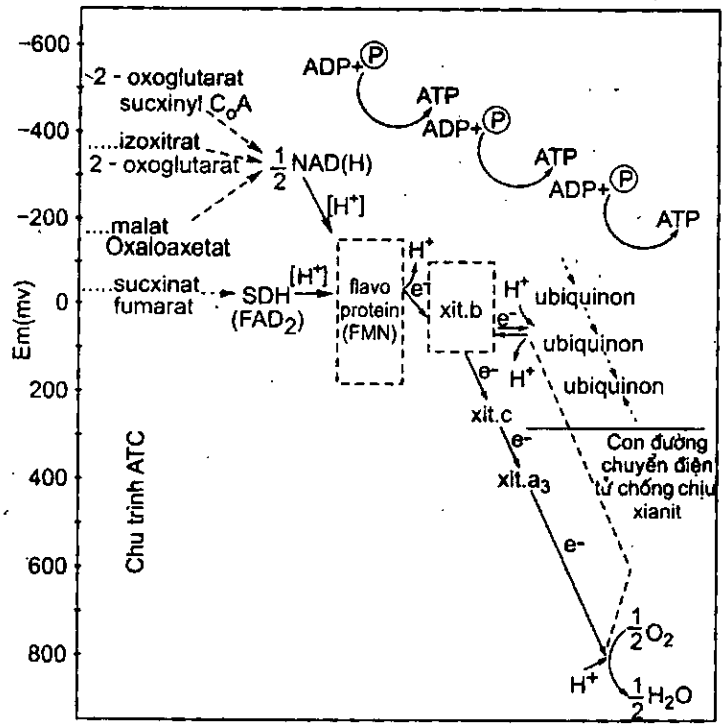
Belixer và Xubacova là những người đầu tiên nghiên cứu sự hình thành các liên kết cao năng trong những giai đoạn trung gian trên con đường chuyển điện tử tới oxi. Các tác giả đã khẳng định rằng khi oxi hoá NAD khử qua mạch chuyển điện tử tạo thành ba đến bốn liên kết cao năng của ATP, còn khi oxi hoá axit sucxinic qua enzim flavoprotein sucxinindehidrogenaza tạo được hai liên kết cao năng.

Mạch chuyển điện tử trong ti thể. Mạch chuyển điện tử trong ti thể còn gọi là chuỗi hô hấp của ti thể. Mạch này nằm ở màng trong của ti thể. Thành viên đầu tiên của mạch là những dehidrogenaza đó là những enzim thu nhận điện tử từ các phản ứng oxi hoá của phức hệ pyruvat dehidrogenaza khử cacboxyl hoá oxi hoá pyruvat thành axetyl coenzim A của chu trình Krep, của con đường oxi hoá và các bước oxi hoá của sự trao đổi chất của axit amin. Những dehidrogenaza này dùng các piridin nucleotit (NAD hoặc NADP) hoặc các flavin nucleotit (FMN hoặc FAD) làm chất nhận điện tử. Phản ứng chuyển hidro và điện tử của các enzim này diễn ra như sau :

$$\text{Cơ chất khử} + NAD^+ \rightleftharpoons \text{Cơ chất oxi hoá} + NADH + H^+$$

Các thành viên khác của chuỗi hô hấp là hệ xitocrom (a, b, c) còn gọi là coenzim Q. Trong chuỗi hô hấp của thực vật, có thể hầu hết ubiquinon không nằm ở mạch chính, ngoài ra một số protein chứa đồng, sắt cũng có thể tham gia vào quá trình chuyển điện tử.

- Cơ sở của sự tham gia vào quá trình chuyển điện tử (oxi hoá) trên mạch chuyển điện tử của hệ xitocrom là sự biến đổi hoá trị của nguyên tố sắt chứa trong nó ($Fe^{+2} \rightleftharpoons Fe^{+3}$). Mỗi thành viên của chuỗi hô hấp có một thế năng oxi hoá khử nhất định (E_m). Các thành viên sắp xếp trên mạch theo thứ tự thế năng oxi hoá khử tăng dần từ NADH ($FADH_2$) tới xitocrom a_3 (hình 91a).



Hình 91a – Sơ đồ miêu tả mạch chuyển điện tử hô hấp ở màng trong của ti thể có kèm theo giá trị thế năng oxi hoá khử của các thành viên và những vị trí tổng hợp ATP trên mạch.

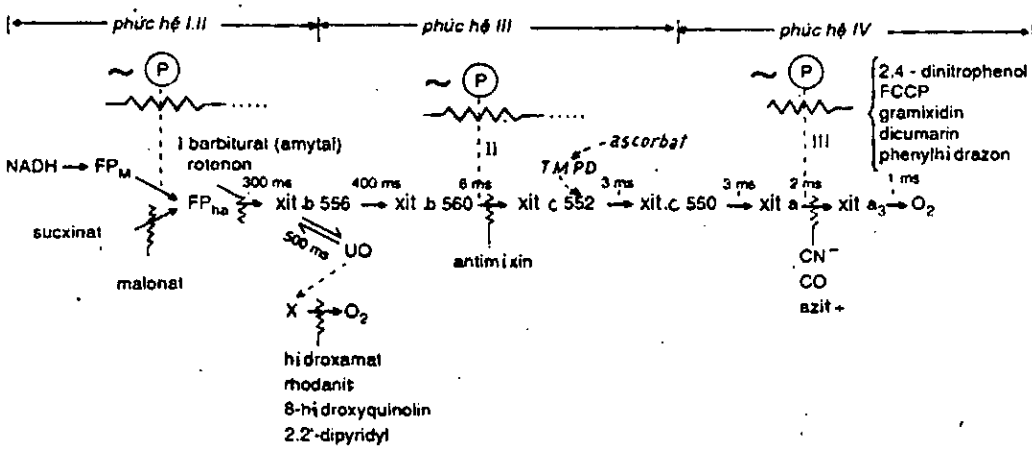
Các thành viên của mạch chuyển điện tử còn được sắp xếp thành 4 phức hệ kí hiệu I, II, III, IV.

Phức hệ I : từ NADH tới xitocrom b (hoặc ubiquinon) còn gọi là phức hệ NADH dehidrogenaza.

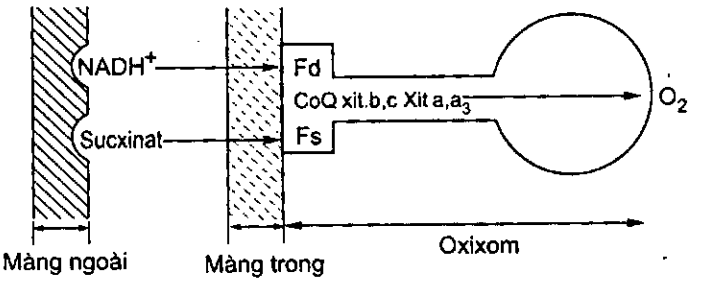
Phức hệ II : từ sucxinat tới xitocrom b (hoặc ubiquinon) còn gọi là sucxinat dehidrogenaza.

Phức hệ III : từ xitocrom b tới xitocrom c còn gọi là phức hệ xitocrom bc.

Phức hệ IV : giai đoạn khử O_2, còn gọi là xitocrom oxidaza (hình 91b).



Hình 91b – Mạch chuyển điện tử hô hấp với sự phân chia thành 4 phức hệ, vị trí của các chất kìm hãm quá trình vận chuyển điện tử (amitanrotenon, antimixin, CN^-, CO, azit (+) và 3 vị trí photphorin hoá I, II, III (~P)



Hình 92 – Sơ đồ mô tả sự sắp xếp mạch chuyển điện tử trên oxixom

Mạch chuyển điện tử được định vị trên một cấu trúc gọi là oxixom nằm ở trong ti thể (hình 92).

Sự vận chuyển điện tử trong mạch diễn ra như sau : Điện tử được tách ra từ bản thể của chu trình Krep (từ các axit hữu cơ) đi vào mạch theo hai nhánh : một nhánh từ sucxinat qua enzim đặc hiệu cho axit này (SDH) có bản chất flavin (FAD_2) tới chất nhận proton là những flavoprotein (FMN) ; chất này chuyển điện tử tới các xitocrom b, c, a và cuối cùng là tới oxi không khí. Ở nhánh thứ hai, điện tử từ các axit : xetoglutarat (α - xetoglutarat), izoxitrat, malat của chu trình Krep được NADH chuyển tới flavoprotein và sau đến hệ xitocrom rồi đến oxi không khí như ở nhánh 1.

Cùng với điện tử, hidro (proton) cũng được chuyển tới oxi để tạo ra sản phẩm cuối cùng của quá trình hô hấp là nước.

Trong quá trình vận chuyển điện tử những chất có thể kìm hãm sự chuyển điện tử ở những vị trí khác nhau là amitanrotenon, antimixin, CO, xiamit, azit ... (hình 91b).

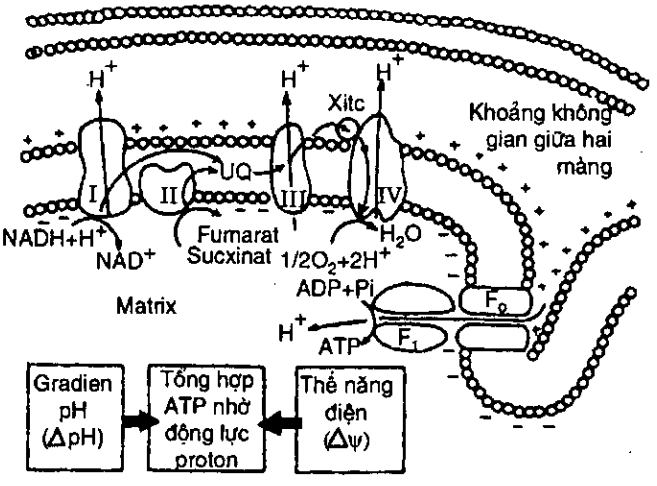
Xianit (CN^-) là một chất kìm hãm rất mạnh đối với xitocrom oxidaza (xitocrom a và a_3). Tuy nhiên, ở thực vật có con đường vật chuyển điện tử phụ (nhánh bên) không bị kìm hãm bởi xianit, được gọi là con đường chuyển điện tử chống chịu xianit. Nhánh bên này được tách ra khỏi con đường chính ở trước vị trí tác động của antimixin, có thể là ở vùng flavoprotein. Ubiquinon cũng có thể được khử bởi nhánh bên này (hình 91b).

Quá trình hô hấp với sự tham của con đường chuyển điện tử chịu xianit như vậy được gọi là hô hấp chịu xianit. Trên toàn bộ con đường vận chuyển điện tử trong mạch có 3 vị trí tổng hợp ATP (photphorin hoá). Quá trình photphorin hoá cũng có thể bị tách rời khỏi quá trình oxi hoá bởi các "chất tách rời" : 2,4 – dinitrophenol (DNP) hoặc gramixidin, dicumarin, (hình 91b) và những điều kiện bất lợi của môi trường (nóng, lạnh, khô hạn ...). Quá trình photphorin hoá được đánh giá theo mối tương quan giữa sự hình thành ATP và sự hấp thụ O_2 tức hệ số P/O, còn gọi là hệ số photphorin hoá. Hệ số này chỉ ra bao nhiêu phân tử ATP được hình thành cho 2e ($1/2O_2$). Ví dụ, theo lí thuyết giá trị này là 2 đối với sucxinat và la 3 đối với những cơ chất được khử bởi hệ NAD^+ /NADH. Đối với quá trình hô hấp chịu xianit P/O = 1 (với cơ chất là malat) và bằng 0 (với cơ chất là sucxinat).

– *Cơ chế quá trình photphorin hoá – Thuyết hoá thẩm của Mitsen.* Như đã nêu ở trên, trong quá trình oxi hoá của cơ chất năng lượng oxi hoá giải phóng ra được dùng để tổng hợp ATP (được cố định trong phân tử ATP). Điều đó có nghĩa là sự liên kết giữa quá trình vận chuyển điện tử từ cơ chất hô hấp tới oxi không khí (quá trình oxi hoá) và quá trình photphorin hoá ADP.

Về cơ chế của quá trình photphorin hoá oxi hoá đã được nhiều tác giả nghiên cứu trong thời gian dài nhưng thuyết tiêu biểu và được quan tâm nhiều hơn cả là thuyết của Mitsen (nhà sinh hoá Anh, 1961) gọi là thuyết hoá thẩm. Bằng thuyết này người ta đã giải thích cơ chế tổng hợp ATP ở cả trong lục lạp (quá trình quang photphorin hoá) và ti thể (quá trình photphorin hoá oxi hoá). Theo thuyết của Mitsen, cơ sở cho sự liên kết dòng điện tử với sự photphorin hoá ở cả lục lạp và ti thể là sự chênh lệnh về điện tích và proton (ion hidro) giữa hai mặt màng của các bào quan trên do sự vận chuyển điện tử và proton qua màng. Kết quả là hình thành nên thế năng điện hoá của proton còn gọi là "động lực proton" (proton motive force - Pmf). Động lực proton này cung cấp năng lượng cho sự tổng hợp ATP.

Sự hình thành động lực proton diễn ra như sau : Trong quá trình hô hấp, điện tử tách ra từ các cơ chất hô hấp được chuyển theo mạch chuyển điện tử vào mặt trong của màng trong của ti thể (matrix) làm cho mặt trong của màng tích điện âm ; còn proton cũng được chuyển qua mạch chuyển điện tử ra mặt ngoài của màng làm cho mặt ngoài trở nên axit. Kết quả của sự vận chuyển đồng thời đó gây ra sự chênh lệnh về điện tích đã hình thành nên "gradien điện tích" $\Delta\psi$ (còn gọi là ΔE_M : " thế năng màng") và sự chênh lệnh về nồng độ ion hidro đã hình thành nên "gradien proton" $\Delta_p H$. Các gradien này tạo nên "động lực proton" $\Delta\mu_{H^+}$ (còn gọi là "thế năng proton") hình 93.



Hình 93 – Sự liên kết giữa dòng điện tử và vận chuyển proton hình thành nên gradien điện tích và gradien proton (động lực proton) là động lực cho quá trình tổng hợp ATP nhờ ATP - syntaza

Người ta đã xác định được giá trị của động lực proton theo biểu thức sau :

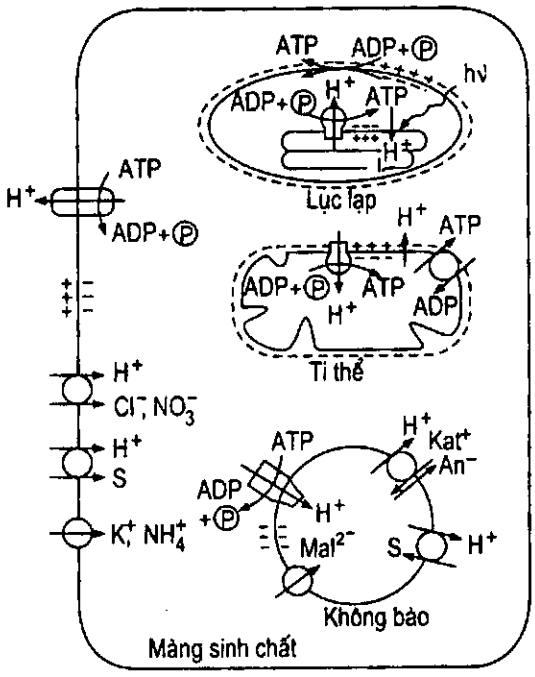
$$\Delta\mu_{H^+} = F(\Delta E_M - 0{,}059\Delta_P H)$$

F : Số Farađây = 96.490 culông

ΔE_M : Thế năng màng (von)

$\Delta\mu_H$: Thế năng proton (kj/mol H^+). Giá trị của thế năng proton này được coi như năng lượng tự do của proton và bằng ít nhất là 30 kj/mol, đủ để điều khiển sự tổng hợp ATP, bởi vì sự photphorin hoá ADP tạo thành ATP trong điều kiện tiêu chuẩn cần 30 kj/mol.

Ví dụ, màng tilacoit với pH = 5 và thế năng màng $\Delta E_M = -150_m V$ được đặt vào môi trường có pH = 8 khi đó $\Delta_P H = 3$ và theo biểu thức trên có thể tính được thế năng proton $\Delta\mu_{H^+} = 32$/kj/mol H^+. ATP được hình thành ở phía matrix của các bào quan (ti thể và lục lạp) trong khi diễn ra dòng vận chuyển ngược lại của H^+ (với ti thể là từ phía ngoài vào trong tức từ khoảng không gian giữa hai màng vào matrix, còn với lục lạp thì ngược lại, từ màng trong ra màng ngoài của tilacoit nhờ một chất hoạt động có định hướng là ATP – syntaza (hình 94).



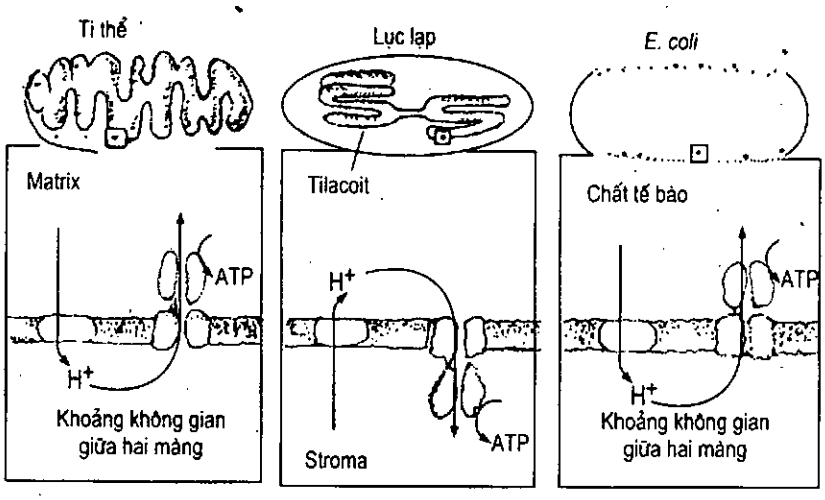
Hình 94 – Sự liên kết giữa quá trình tổng hợp và thuỷ phân ATP với các quá trình vận chuyển proton, bơm proton nhờ ATP - syntaza ở ti thể và lục lạp.

ATP-syntaza hoạt động như một cái bơm proton, bơm proton từ ngoài vào trong màng ti thể sau khi proton được vận chuyển từ trong ra nhờ mạch chuyển điện tử. Sự hoạt động liên tục của "vòng" (chu trình) proton đó tạo ra gradien proton, một thành phần của động lực proton.

ATP-syntaza là phức hệ enzim tổng hợp ATP gồm hai thành phần (hai yếu tố) được kí hiệu là F_o và F_1 (trong ti thể) và CF_o, CF_1 (trong lục lạp) ; đó là các "nhân tố liên kết".

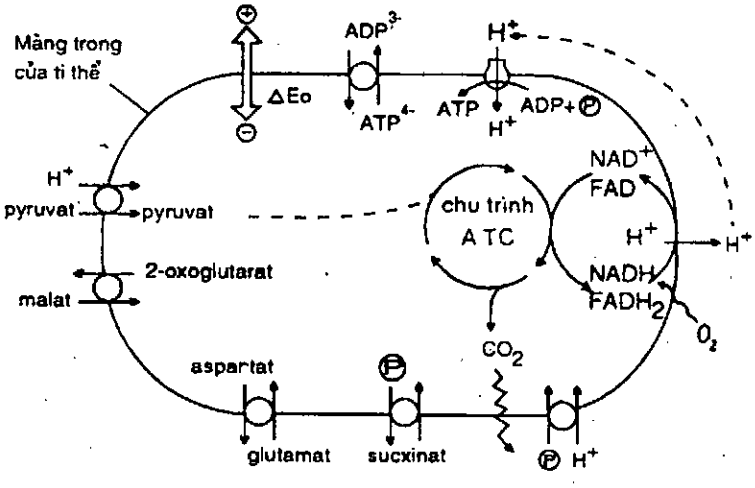
F_o và CF_o được coi như một cái kênh (cửa ngõ) ra vào của proton ở lục lạp và ti thể. Cả hai thành phần của ATP - syntaza đều là các protein. Nếu mất F_1 và còn các chất chuyển điện tử thì điện tử vẫn được chuyển đến oxi nhưng không diễn ra quá trình photphorin hoá ADP. Tuy nhiên nếu hồi phục F_1 thì dòng vận chuyển điện tử lại liên kết với sự tổng hợp ATP.

Phức hệ ATP - syntaza của ti thể nằm ở bề mặt trong (matrix) của màng trong ti thể ; còn phức hệ ATP - syntaza của lục lạp nằm ở bề mặt ngoài của màng tilacoit (hình 95).



Hình 95 – So sánh sự vận chuyển của proton và sự định hướngcủa ATP - syntaza ở trên màng ti thể, lục lạp và vi khuẩn E. coli

ATP được tổng hợp trong ti thể sẽ vận chuyển ra ngoài nhờ một hệ thống vận chuyển tích cực (các chất mang) nằm ở màng trong của ti thể. Màng trong của ti thể khác với màng ngoài của nó và màng ngoài của lục lạp là không thấm với hầu hết các phân tử nhỏ và ion bao gồm cả ion hidro (H^+). H^+ được bơm vào màng nhờ ATP - syntaza, còn các chất khác nhờ hệ chất mang nằm trên màng trong của ti thể (hình 96).



Hình 96 – Sự vận chuyển của các ion và các chất nhờ hệ thống chất mang hoạt động trên màng trong của ti thể

Như vậy, sự tổng hợp ATP trong ti thể và lục lạp về cơ chế là hoàn toàn như nhau, chỉ khác nhau ở nguồn năng lượng cho ATP và chiều hướng vận chuyển điện tử và proton qua màng ở hai bào quan đó.

3. Hiệu quả của sự tích luỹ năng lượng trong hô hấp

Theo công thức tính năng lượng được giải phóng ra trong quá trình oxi hoá :

$$\Delta f = -nF\,(E_1 - E_2) = -nF\Delta E$$

Ta thấy rằng muốn tạo được một liên kết cao năng lúc vận chuyển 2 điện tử thì hiệu các thế năng của các hệ thống tham gia phản ứng oxi hoá phải là :

$$\Delta E = \frac{\Delta f}{nF} = \frac{10.000 \times 4,18}{2 \times 96.500} = 0,22 \text{ von}$$

Δf : Năng lượng giải phóng = 10.000 jun (tối đa)

n : Số điện tử tham gia phản ứng =2

F : Số Farađây (96.500 culông)

4,18 : Hệ số chuyển Jun thành calo.

Trị số trên cho biết muốn giải phóng được 10.000 Jun để tạo nên một liên kết cao năng thì thế năng hệ oxi hoá khử phản ứng với nhau phải khác nhau là 0,22 von. Do đó với thế hiệu giữa hidro và oxi là 1,23 von, khi chuyển một cặp điện tử trên con đường từ hidro tới oxi có thể tạo được 5 liên kết cao năng $\left(\frac{1,23}{0,22} > 5\right)$.

Tuy nhiên hiện tại trong thực nghiệm mới chỉ thu được 3 hoặc 4 liên kết cao năng (trường hợp từ sucxinat mới thu được 2 liên kết cao năng).

Quá trình hô hấp bao gồm giai đoạn yếm khí (con đường đường phân) và giai đoạn hiếu khí (chu trình Krep) để tách hidro từ nguyên liệu hô hấp, kế theo là sự chuyển điện tử và hidro tới oxi không khí theo mạch chuyển điện tử để tạo thành nước. Trên con đường tách và vận chuyển hidro và điện tử như vậy năng lượng giải phóng ra được tích luỹ trong phân tử ATP.

a) Hiệu quả năng lượng của pha yếm khí

– Photphorin hoá ở mức độ nguyên liệu tạo 2 phân tử ATP.

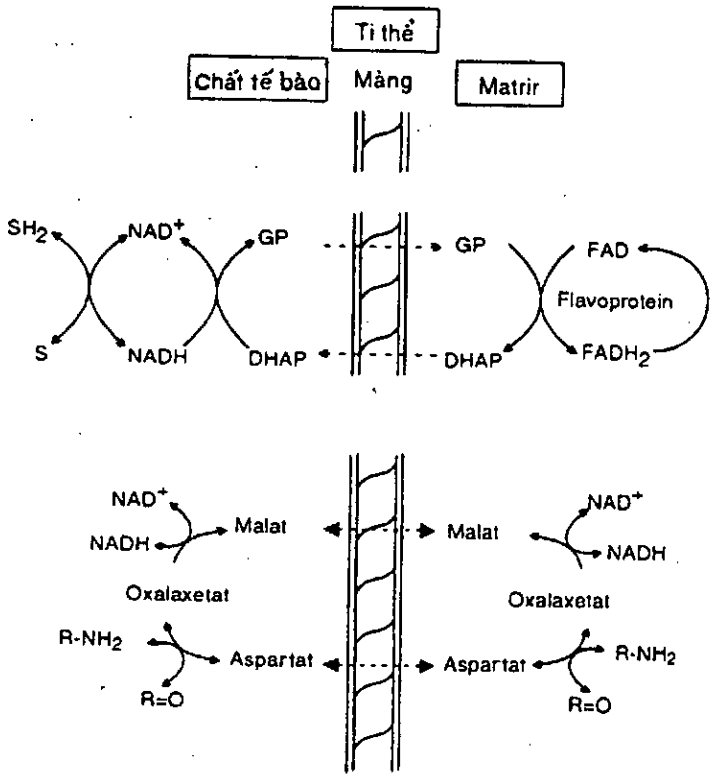
– Photphorin hoá ở mức độ coenzim tạo 4 hoặc 6 ATP.

Thông thường thì một phân tử NADH khi oxi hoá trên mạch chuyển điện tử tạo ra 3 ATP. Nhưng đối với NADH vấn đề có khác là các ti thể nguyên vẹn không thấm đối với NADH và NAD^+. Vì vậy, các điện tử từ NADH (được hình thành trong quá trình đường phân ở chất tế bào) được mang vào ti thể nhờ chất mang. Quá trình diễn ra như sau : điện tử từ NADH được chuyển cho dihidrooxiaxeton photphat (DHAP), chất này biến đổi thành glixerol -3- photphat (GP). GP bây giờ đóng vai trò là chất mang, mang điện tử vào ti thể. Trong ti thể GP được oxi hoá trở lại thành DHAP nhờ FAD nằm trên màng trong của ti thể. FAD khử này sẽ chuyển điện tử tới mạch hô hấp tại vị trí xitocrom b hoặc coenzim Q. Kết quả là 2ATP được hình thành khi oxi hoá một phân tử NADH từ chất tế bào. Ngoài glixerolphtphat trong một số đối tượng còn có malat đóng vai trò chất mang,

mang điện tử của NADH chất tế bào vào ti thể. Theo hệ chất mang này từ 1 NADH của chất tế bào tạo 3 ATP (hình 97a,b).

Như vậy toàn bộ quá trình đường phân tạo 6 hoặc 8 ATP phụ thuộc vào bản chất của chất mang điện tử từ ngoài vào ti thể (con thoi chất mang).

b) Hiệu quả năng lượng của pha hiếu khí



Hình 97a – Hai thuyết vận chuyển NADH từ chất tế bào vào ti thể (xem giải thích ở trên)

– *Photphorin hoá ở mức độ nguyên liệu.* Trong chu trình Krep xảy ra 5 phản ứng oxi hoá các axit của chu trình này, trong đó chỉ có một phản ứng oxi hoá của axit α-xetoglutaric thành axit sucxinic thông qua việc hình thành sucxinyl-CoA là liên kết với quá trình photphorin hoá tạo ra một phân tử ATP (photphorin hoá ở mức nguyên liệu).

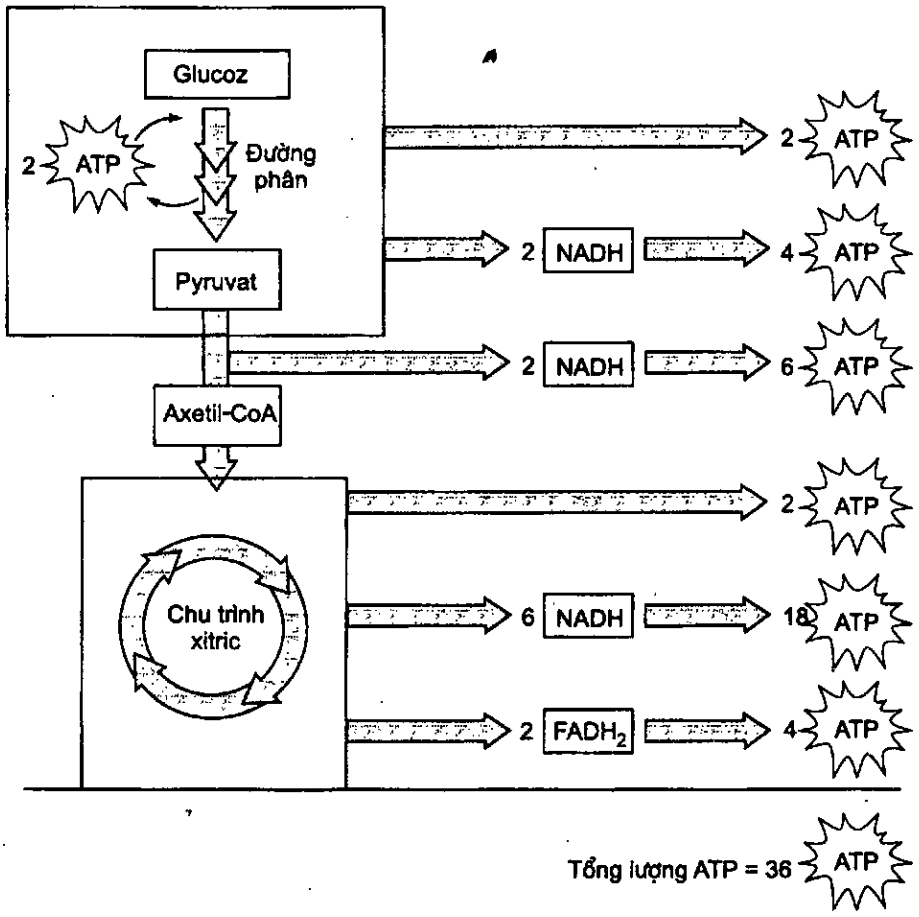
– *Photphorin hoá ở mức độ coenzim.* Các cặp hidro và điện tử được tách ra từ các axit của chu trình Krep thông qua quá trình oxi hoá được chuyển đến mạch chuyển điện tử và được oxi hoá đến tận cùng tạo thành nước. Các điện tử chuyển từ 4 phân tử $NADH_2$, trong mạch chuyển điện tử, tạo được 12 phân tử ATP (3 ATP × 4 = 12 ATP).

Còn các điện tử từ 1 phân tử $FADH_2$ trong phản ứng oxi hoá của axit α xetoglutaric tạo được 2 phân tử ATP.

Như vậy, tổng cộng trong chu trình Krep tạo được 15 phân tử ATP. Nếu tính oxi hoá toàn bộ phân tử đường qua việc tạo 2 phân tử axit pyruvic (trong đường phân) sẽ hình thành 30 phân tử ATP. Như vậy, so với giai đoạn phân giải yếm khí, giai đoạn hiếu khí có hiệu quả năng lượng cao hơn nhiều.

Tổng cộng toàn bộ quá trình hô hấp tạo được 36 hoặc 38 ATP (hình 97b).

Phần năng lượng còn lại được tế bào thải ra ngoài dưới dạng nhiệt, làm tăng nhiệt độ ở bên trong những cơ quan hô hấp mạnh do đó lại làm tăng tốc độ các phản ứng sinh hoá.



Hình 97b – Hiệu suất năng lượng (ATP) chiết rút được khi oxi hoá một phân tử glucoz

So với các quá trình lên men thì hô hấp hiếu khí có hiệu quả hơn nhiều, nhất là về mặt năng lượng. Một phân tử glucoz qua con đường phân giải hiếu khí giải phóng ra 688 kcal trong khi đó qua con đường lên men năng lượng giải phóng ra ít hơn nhiều : trong lên men rượu năng lượng giải phóng ra là 28,2 kcal ; lên men lactic 18,5 và lên men axit béo là 15 kcal và lượng ATP cố định được trong lên men chỉ là 2. Chính vì hiệu quả tích luỹ năng lượng cao nên hiệu suất sử dụng của nguyên liệu trong hô hấp hiếu khí cũng cao hơn, do đó tiết kiệm được nguyên liệu rất nhiều so với hô hấp kị khí.

V – CÁC NHÂN TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH HÔ HẤP CỦA THỰC VẬT

Trước khi nói đến ảnh hưởng của các nhân tố lên quá trình hô hấp của thực vật ta hãy xét sơ qua vài nét về cường độ hô hấp bởi vì nó là một chỉ tiêu quan trọng biểu thị khả năng hô hấp của thực vật, đồng thời nó rất nhảy cảm với tác động của các điều kiện ngoại cảnh.

1. Cường độ hô hấp

Từ phương trình tổng quát của hô hấp đã nêu ở trên, người ta đã đưa ra khái niệm về cường độ hô hấp. Đó là lượng khí oxi do mô hấp thụ hoặc lượng khí cacbonic do mô thải ra trên một đơn vị khối lượng trong một đơn vị thời gian.

Đối với những mô chứa diệp lục cần phải đo hô hấp ở trong tối để tránh ảnh hưởng của sự trao đổi CO_2 trong quá trình quang hợp.

Kết quả nghiên cứu với nhiều đối tượng khác nhau đã chỉ ra rằng cường độ hô hấp không phải là một trị số bất biến. Nó thay đổi không chỉ tuỳ thuộc vào đặc điểm của loài mà thay đổi ngay cả trong giới hạn của một cây tuỳ theo đặc điểm của từng mô và cơ quan.

Các thực vật thuộc nhóm phân loại khác nhau hô hấp khác nhau nhiều. Các vi khuẩn, thực vật bậc thấp có cường độ hô hấp cao, đặc biệt nấm mốc sử dụng chất khô cho hô hấp bằng 5% khối lượng của chúng trong một ngày đêm. Thực vật ở các vùng sinh thái khác nhau hô hấp khác nhau. Những cây chịu bóng hô hấp kém hơn những cây ưa sáng. Những cây mọng nước mà các mô xốp của chúng được bao bọc bởi lớp cutin dày không thấm khí và nói chung cả những cây thủy sinh có hoạt tính hô hấp thấp. Những cây ở miền Bắc hô hấp mạnh hơn những cây ở miền Nam trong điều kiện nhiệt độ thấp. Những cây ở vùng núi cao đặc trưng bởi sự tăng mạnh cường độ hô hấp và hoạt tính của các enzim oxi hoá tạo cho những cây này tính thích nghi với áp suất oxi thấp của các vùng núi cao. Trong giới hạn một cây, các cơ quan khác nhau cũng có cường độ hô hấp khác nhau. Những cơ quan sinh sản hô hấp mạnh hơn những cơ quan sinh dưỡng (nhị và nhuỵ hoa hô hấp mạnh gấp 2 lần lá).

Những mô và cơ quan có mức độ hoạt động sống thấp thì cũng có hoạt tính hô hấp yếu. Đó là những cơ quan dự trữ, những cơ quan dinh dưỡng và sinh sản đang ở trong thời kì nghỉ. Đặc biệt là hạt khô có cường độ hô hấp yếu hơn lá tới hàng vạn lần. Những hạt nảy mầm có cường độ hô hấp gấp hàng trăm lần so với hạt khô, liên quan tới sự hình thành các tế bào phân sinh mới.

Trong từng cơ quan, các mô đang hoàn thành chức năng sinh lí, các mô phân sinh đang phân chia mạnh, tầng phát sinh mạch... hô hấp mạnh. Các mô bên ngoài và ngoại biên có hoạt tính hô hấp cao liên quan với sự cung cấp oxi tốt hơn.

Theo Borodin và Paladin thì cường độ hô hấp của mô thực vật, ở một mức đáng kể được xác định bởi hàm lượng của sinh chất có hoạt động sống tích cực chứa trong mô đó.

Cường độ hô hấp của thực vật thay đổi nhiều trong quá trình phát triển cá thể của nó. Các mô và cơ quan còn non, các cây đang sinh trưởng mạnh có cường độ hô hấp lớn (những lá non của ngô, bầu bí, ... hô hấp mạnh gấp 2 – 10 lần lá già, trong một số trường hợp đạt tới 20 mg $CO_2/dm^2.h$. Cùng với sự kết thúc thời kì sinh trưởng mạnh của cơ quan khi mà số tế bào trong các mô của cơ quan không tăng nữa, cường độ hô hấp sẽ giảm dần, liên quan với quá trình gọi là "sự hoá già" của sinh chất.

Các giai đoạn và các pha sinh trưởng của cây cũng ảnh hưởng lên cường độ hô hấp của nó. Ví dụ, thời kì chuyển giai đoạn sinh trưởng như đẻ nhánh, làm đòng ở các cây họ Lúa, thời kì ra hoa, thời kì gần chín quả cường độ hô hấp tăng rõ rệt. Trong quá trình phát triển cá thể, cùng với cường độ hô hấp thì hoạt tính của các enzim, chiều hướng của các con đường phân giải nguyên liệu hô hấp cũng thay đổi. Chẳng hạn trong quá trình hoá già của lá táo hoạt tính của enzim peroxidaza giảm đi nhưng đồng thời lại tăng hoạt tính của poliphenoloxidaza. Ở các cây họ Lúa trong 5 – 7 ngày đầu của quá trình sinh trưởng

enzim xitocromoxidaza hoạt động mạnh nhưng sau đó vai trò oxidaza lại do các enzim flavoprotein hay ascorbat oxidaza đảm nhận.

Bảng 12 dưới đây cho thấy cường độ hô hấp của một số loài thực vật

Bảng 12 : Cường độ hô hấp của một số loài thực vật ở 15 – 20°C

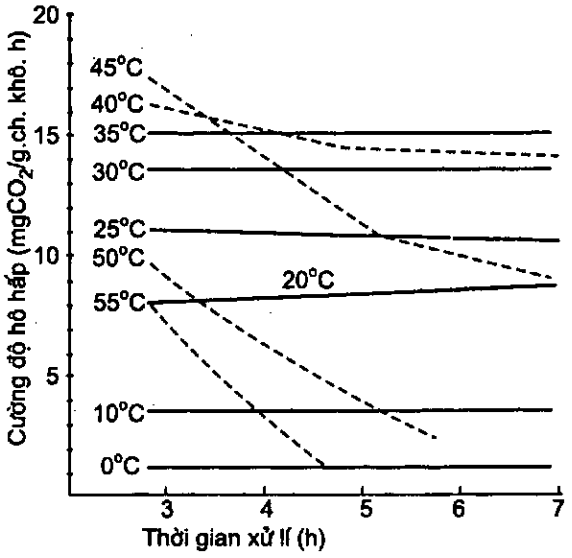
(mg CO_2/1g chất khô trong 24 giờ)

Đối tượng	Cường độ hô hấp
Lá lúa mì	138,70
Củ khoai tây	2,45
Rễ củ cải đường	6,70
Quả chanh	12,40
Hạt hướng dương nảy mầm	43,70
Sợi nấm *Aspergillus niger*	
2 ngày tuổi	343,20
4 ngày tuổi	54,10

Ngoài những đặc điểm của chính cơ thể thực vật, cường độ hô hấp còn phụ thuộc rất nhiều vào tác động của điều kiện ngoại cảnh. Dưới đây là ảnh hưởng của một số nhân tố chính lên quá trình hô hấp của thực vật.

2. Hô hấp và ánh sáng

Cơ chế tác động của ánh sáng chưa rõ ngoài ảnh hưởng gián tiếp thông qua ảnh hưởng lên quang hợp. Ngoài ra một số tác giả còn cho rằng ánh sáng làm tăng sự hình thành axit glicolic mà sự oxi hoá nhanh của chất này sẽ làm tăng sự thải CO_2 và hấp thụ O_2. Các nghiên cứu cho thấy những tia có bước sóng ngắn (300 -500 nm) hoạt hoá hô hấp mạnh hơn cả. Ánh sáng không chỉ ảnh hưởng đến cường độ mà còn ảnh hưởng đến hệ số hô hấp : ngoài sáng RQ thấp hơn trong tối.



Hình 98 – Ảnh hưởng của nhiệt độ lên cường độ hô hấp của mầm đậu Hà lan được 3 giờ ở 25°C

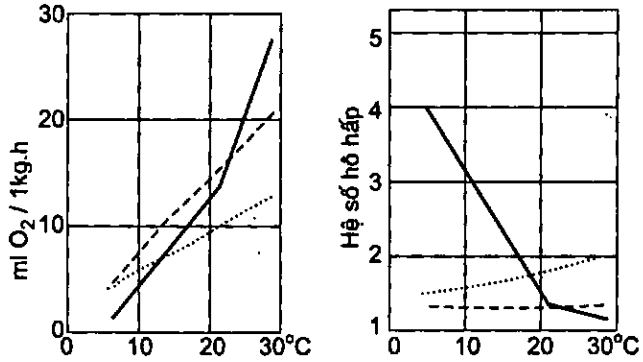
3. Hô hấp và nhiệt độ

Cường độ hô hấp tăng khi nhiệt độ tăng trong giới hạn giữa việc làm tổn thương sinh chất và hoạt động sống bình thường của tế bào.

Nhiệt độ tối ưu cho hô hấp là khoảng 35°C. Nhiệt độ tối thiểu phụ thuộc vào loài và vùng sinh thái : ở vùng nhiệt đới không dưới 10°C ; ở vùng hàn đới khoảng 0°C, một số thực vật còn có khả năng hô hấp ở –25°C (thông lá nhọn). Giới hạn trên của nhiệt độ mà ở đó hô hấp còn diễn ra được (nhiệt độ cực đại) khoảng 45°C – 50°C (hình 98 và 99).

Sự phụ thuộc của nhiệt độ tuân theo quy luật Van–Hôp – $Q_{10} = 2 - 3$ nhưng sự diễn biến của Q_{10} khá phức tạp.

Sự thích nghi của hô hấp đạt được do sự biến đổi về mặt định tính của hệ men hô hấp.

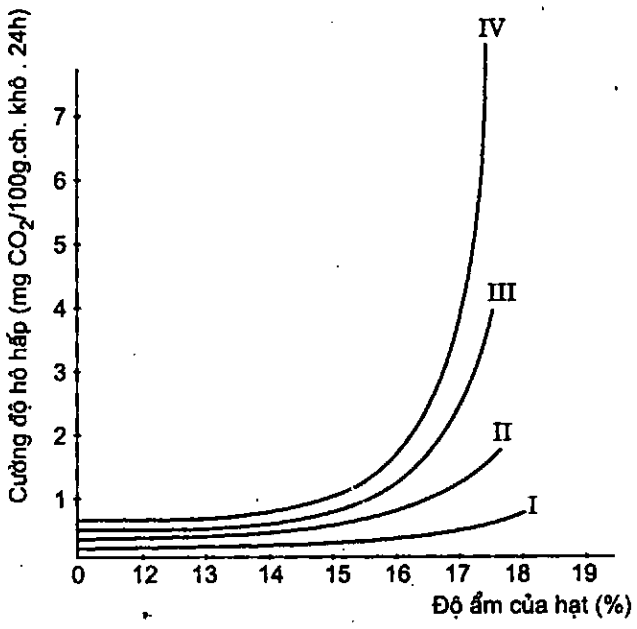


Hình 99 – Ảnh hưởng của nhiệt độ lên cường độ hô hấp (hình bên trái) và hệ số hô hấp (hình bên phải) của quả quýt có độ chín khác nhau.
——— quả xanh
– – – quả đang chín (nửa vàng)
..... quả chín.

4. Hô hấp và độ ẩm của mô

Ảnh hưởng của hàm lượng nước trong mô lên hô hấp phụ thuộc vào đặc điểm sinh thái của mô. Đối với đại bộ phận cây, hoạt tính hô hấp giảm khi thiếu nước. Riêng đối với những mô mọng nước hô hấp lại tăng khi cây héo.

Ảnh hưởng của độ ẩm lên hô hấp thể hiện rõ hơn cả là ở hạt. Hạt khô không khí có cường độ hô hấp rất thấp. Chẳng hạn ở hạt lúa mì, hạt ở độ ẩm 12% có cường độ hô hấp là 1,5 mg CO_2kg hạt. Khi độ ẩm hạt tăng đến 14 – 15% thì cường độ hô hấp tăng 4 – 5 lần và khi độ ẩm hạt tăng đến 30 – 35% thì cường độ hô hấp tăng đến hàng nghìn lần.



Hình 100 – Cường độ hô hấp của hạt lúa mì có độ ẩm khác nhau phụ thuộc vào nhiệt độ
(I : ở 0^oC ; II : ở 10^oC ; III : ở 18^oC ; IV : từ 18 - 25^oC)

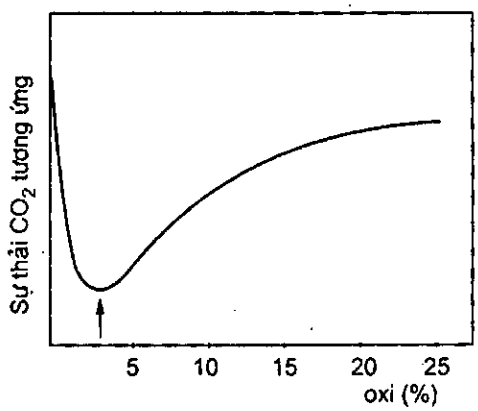
Độ ẩm mà ở đó xuất hiện nước tự do và hô hấp tăng mạnh gọi là độ ẩm tới hạn. Đối với đại bộ phận các cây họ Lúa (ngũ cốc) độ ẩm tới hạn là 14,5 – 15,5% còn đối với cây có dầu từ 8 – 9%.

Ảnh hưởng của độ ẩm liên quan chặt chẽ với ảnh hưởng của nhiệt độ (hình 100).

5. Hô hấp và thành phần khí

Khi hàm lượng oxi giảm, hô hấp giảm. Thường thì hàm lượng oxi thấp hơn 5% hô hấp hướng về yếm khí và con đường đường phân chiếm ưu thế. Hàm lượng oxi tối ưu là khoảng 20% (hình 101). Theo quy luật chung khi tăng hàm lượng CO_2, hô hấp giảm. Có điều đáng lưu ý là thành phần khí trong mô khác thành phần khí quyển, ở trong mô hàm lượng oxi thấp (7–18%) còn hàm lượng CO_2 cao (0,9 – 7,5%).

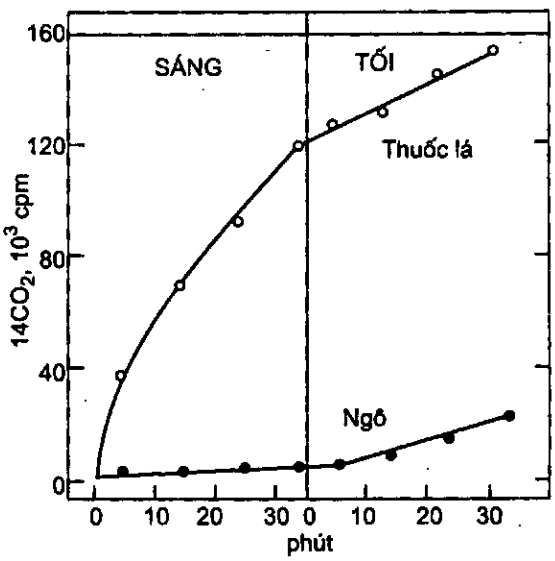
Ngoài các yếu tố trên thì chế độ dinh dưỡng khoáng, các yếu tố vật lí, hoá học, các chất có hoạt tính sinh lí cũng ảnh hưởng đến quá trình hô hấp.



Hình 101 – Ảnh hưởng của nồng độ oxi không khí lên sự thải CO_2 trong mô thực vật (bên phải mũi tên : sự cung cấp oxi tăng làm tăng hô hấp. Bên trái mũi tên : hàm lượng oxi thấp đủ làm giảm nhanh lượng đường thành rượu và CO_2)

VI – HÔ HẤP ÁNH SÁNG Ở THỰC VẬT

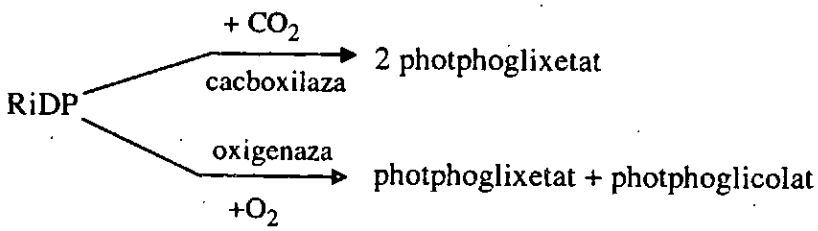
Vào những năm thứ 60 của thế kỉ XX, trong nhiều nghiên cứu với những loại cây khác nhau, người ta đã phát hiện ra hiện tượng thải CO_2 sau thời gian chiếu ánh sáng ở một số loài cây. Như vậy có nghĩa là ở ngoài ánh sáng, trong một số cây, các sản phẩm sơ cấp của quá trình quang hợp đã bị biến đổi thành CO_2. Sự hấp thụ oxi xảy ra cùng với sự thải CO_2 phụ thuộc vào ánh sáng như vậy được gọi là sự hô hấp sáng (quang hô hấp). Như thế, trong thực tế có nhiều loài cây có khả năng hô hấp ở ngoài sáng và quá trình hô hấp này xảy ra song song với quá trình quang hợp. Quá trình hô hấp sáng với điểm bù CO_2 cao được xác định ở phần lớn các loài cây bậc cao như hướng dương, thuốc lá, lúa mì và các cây họ Đậu (Cây C_3). Còn ở những cây có điểm bù CO_2 thấp như ở củ cải đường, mía, ngô và những cây có nguồn gốc nhiệt đới khác (Cây C_4) không phát hiện thấy hiện tượng hô hấp sáng (hình 102).



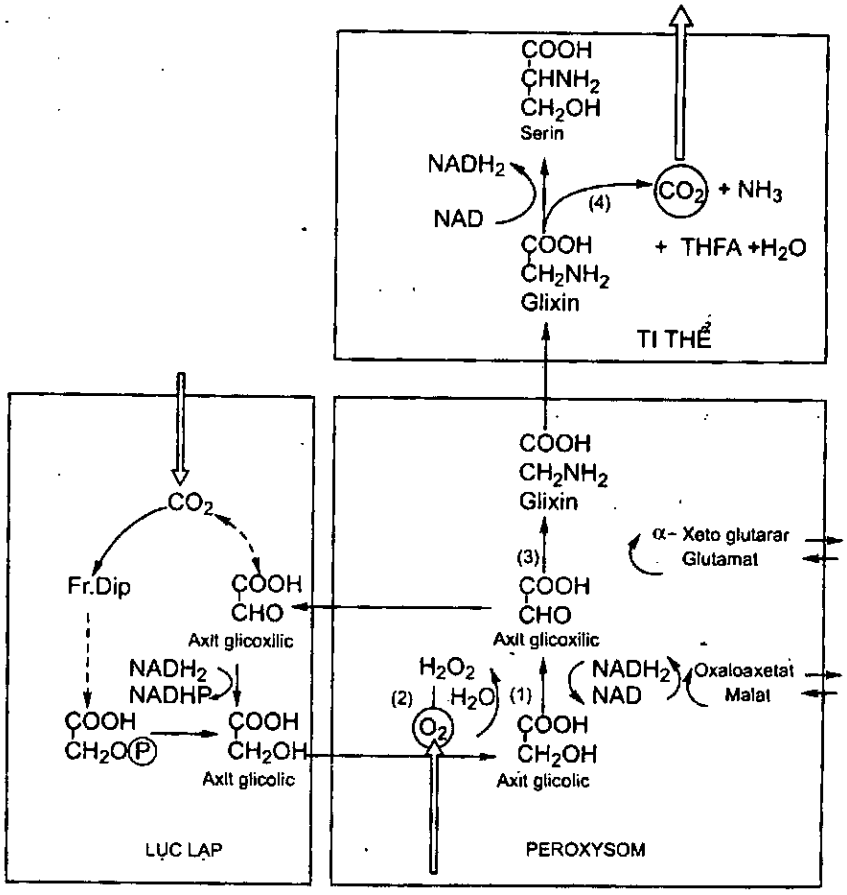
Hình 102 – Sự thải CO_2 ngoài sáng ở thuốc lá và ngô như một số đo về hô hấp sáng

1. Nguyên liệu của hô hấp sáng và sự chuyển hoá của nó

Nguyên liệu của hô hấp sáng là axit glicolic. Về sự hình thành của axit này có nhiều quan điểm khác nhau : hình thành từ một trong số các đường xeto, từ axit glicolic sau sự cacboxyl hoá sơ cấp ... Một quan điểm được công nhận hơn cả là glicolat được hình thành do sự oxi hoá của ribulozodiphotphat. Theo quan điểm này (Chollet và Ogren, 1975) thì enzim ribulozodiphotphat cacboxilaza có hai chức năng : chức năng như một cacboxilaza và chức năng như một oxigenaza. Với chức năng thứ hai này nó được gọi là ribulozodiphotphat oxigenaza, sẽ oxi hoá ribulozodiphotphat để tạo thành photphoglicolat và photphoglixerat.



Photphoglicolat sau được thuỷ phân thành glicolat nhờ enzim đặc hiệu của lục lạp là photphataza.



Hình 103 – Sự chuyển hoá của axit glicolic
1. Glicolat oxydaza ; 2. catatlaza ; 3. Glutamat –Glixin –Aminotranspheraza ;
4. Serinhydroxy metyl transpheraza, Glixindecacboxylaza THFA axit tetrahidrofolic

Bản thể của hô hấp sáng là axit glicolic (glicolat) được hình thành trong lục lạp sau được chuyển vào peroxixom. Trong peroxixom dưới tác dụng của oxidaza đặc hiệu (glicolatoxidaza) axit glicolic được oxi hoá thành axit glioxilic và H_2O_2. Axit glioxilic lại bị amin hoá bởi glutamat dưới tác dụng của enzim glutamat glioxilat amino transpheraza thành glixin. Tiếp theo glixin bị khử cacboxyl hoá và biến thành xerin đồng thời giải phóng CO_2 với sự tham gia của axit tetrahidrofolat (ATHF). Quá trình này gồm một số giai đoạn và diễn ra trong ti thể. Một phần glixin hình thành trong peroxixom không

chuyển vào ti thể mà lại chuyển ngược trở lại lạp thể và bị khử thành axit glicolic. Serin được tạo thành trong ti thể có thể được chuyển lại peroxixom ở đó nó được chuyển hoá thành glixerat. Glixerat sau đó được biến đổi theo chu trình quang hợp ở lục lạp. Sự chuyển hoá của axit glicolic trong 3 bào quan được biểu thị trong hình 103 trong đó oxi được hấp thụ ở hai giai đoạn trong hai bào quan khác nhau.

Hô hấp sáng khác hô hấp tối ở chỗ hô hấp sáng là một quá trình phụ thuộc nhiều vào oxi và ánh sáng. Ngoài ra hô hấp sáng còn có cường độ lớn hơn hô hấp tối, làm giảm sút cường độ quang hợp, không nhạy cảm với các chất kìm hãm hô hấp tối (ví dụ azitnatri).

Người ta cho rằng nguyên nhân làm cho quá trình hô hấp ánh sáng ở các loài thực vật C_4 yếu hoặc không có là do hoạt tính của oxigenaza ở loài này giảm nhờ tỉ số CO_2/O_2 trong tế bào bao bó mạch cao, điều đó giúp cho hoạt tính cacboxyl hoá thắng thế hoạt tính oxi hoá. Mặt khác, bất kì sự thải CO_2 nào từ tế bào bao bó mạch (có thể là do sự thay đổi glicolat) đều được đồng hoá lại bởi PEP - cacboxilaza của tế bào thịt lá, vì vậy làm giảm hô hấp sáng (tức không phát hiện được sự thải CO_2 ở ngoài sáng, hoặc sự thải đó rất yếu).

2. Vai trò của hô hấp ánh sáng

Quá trình hô hấp sáng đã dùng 20 - 50% sản phẩm của quang hợp nên làm giảm sự tích lũy chất khô và do đó làm giảm năng suất. Vì vậy, người ta đã tìm ra nhiều biện pháp để ngăn ngừa tác động của nó bằng cách làm ức chế hô hấp sáng thông qua việc làm giảm lượng oxi trong khí quyển xuống tới 5%. Người ta còn chọn những thực vật không có chức năng ribulozodiphotphat oxigenaza hoặc những thực vật có khả năng cao trong việc đồng hoá lại lượng CO_2 do hô hấp sáng sinh ra. Thông thường người ta thường chọn những cây có cường độ hấp thụ CO_2 cao và cường độ hô hấp sáng thấp theo những phương thức chọn lọc cổ điển.

Tuy rằng hô hấp sáng có những ảnh hưởng bất lợi đến năng suất của cây và trong quá trình này không có sự tích luỹ năng lượng (sự tổng hợp ATP) nhưng nó cũng có một ý nghĩa nhất định ở chỗ thông qua quá trình này đã hình thành một số axit amin cho cây (glixin, serin).

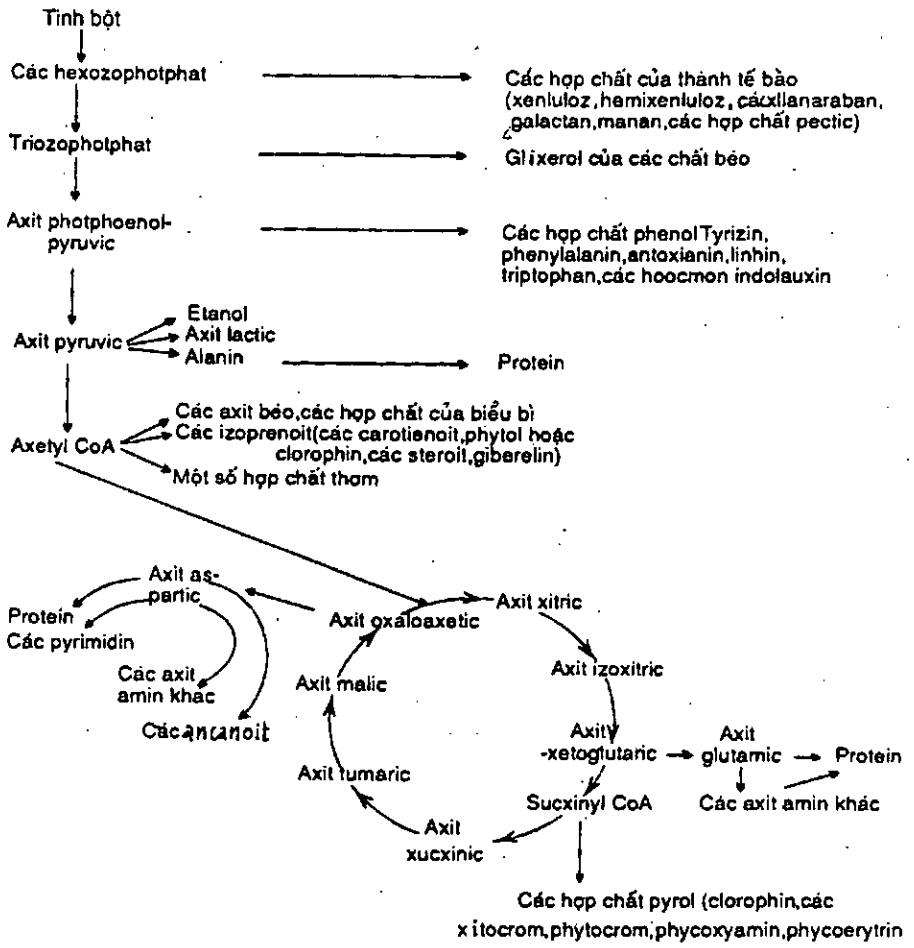
VII – VAI TRÒ CỦA HÔ HẤP TRONG ĐỜI SỐNG CỦA THỰC VẬT VÀ TRONG ỨNG DỤNG THỰC TIỄN

1. Hô hấp là khâu trung tâm của quá trình trao đổi chất trong tế bào thực vật

Hô hấp là trung tâm liên kết sự trao đổi chất gluxit, protein và chất béo.

Trong quá trình oxi hoá nguyên liệu của hô hấp sẽ tạo nên những sản phẩm trung gian. Chính những hợp chất này là sợi dây liên kết các mặt khác nhau của quá trình trao đổi chất thống nhất trong cơ thể. Nhiều sản phẩm trung gian của quá trình hô hấp lại là

những chất tiền thân cho những quá trình sinh tổng hợp, là những chất bị cuốn hút vào các vòng trao đổi chất khác của tế bào (hình 104).



Hình 104 – Mối liên quan giữa giai đoạn yếm khí và hiếu khí của quá trình hô hấp với việc sinh tổng hợp các hợp chất cần thiết cho quá trình sinh trưởng ở thực vật

Hô hấp đóng vai trò quan trọng trong việc liên kết các quá trình trao đổi gluxit và các chất nitơ. Về mặt này thì các xeto axit được hình thành trong giai đoạn đường phân và chu trình Krep chiếm một vị trí đặc biệt. Các xeto axit này (axit pyruvic, axit xetoglutaric, axit oxaloaxetic) khi được amin hoá sẽ biến đổi thành những axit amin tương ứng (alanin, axit glutamic, axit asparaginic) đóng vai trò trung tâm trong quá trình tổng hợp cũng như trao đổi các axit amin và các chất protein.

Trong quá trình oxi hoá đã tạo nên những chất tiền thân cho việc sinh tổng hợp vòng thơm. Chẳng hạn như axit photphoenolpyruvic được tạo nên trong quá trình đường phân và eritrozo - 4- photphat được tạo nên trong con đường pentozo photphat là những chất tiền thân đó. Các chất này khi bị ngưng kết sẽ tạo nên axit sikimic. Từ axit này sẽ hình thành hàng loạt các chất thơm khác nhau, ví dụ như các axit amin phenylalanin, tirozin, triptophan và vòng của phenol, antoxian.

Hô hấp còn là khâu liên kết sự trao đổi gluxit và các chất béo. Trong quá trình đường phân tạo ra aldehyt-3-photphoglixeric là chất cần cho tổng hợp glixerin tham gia vào thành phần của chất béo. Axit pyruvic, sản phẩm cuối cùng của con đường đường phân, qua quá trình decacboxyl hoá oxi hoá sẽ tạo ra axetyl - CoA là nguyên liệu xây dựng cơ bản trong tổng hợp các axit béo và sterol.

Thông qua con đường oxi hoá pentozophotphat sẽ tạo nên các pentoz cần cho tổng hợp các axit nucleic các enzim flavin cũng như các cấu phần của hệ adenin. Ngoài ra, con đường pentozophotphat còn tạo ra đường ribuloz trở thành chất nhận CO_2 trong quá trình quang hợp (ribulozodiphotphat). Con đường pentozophotphat và chu trình Calvin trong quang hợp giống nhau không những ở các sản phẩm trung gian mà còn ở hệ enzim xúc tác chúng.

Như vậy hô hấp không thể coi như chỉ đơn thuần là một quá trình dị hoá. Trong một mức độ nào đó hô hấp là một quá trình đồng hoá, một quá trình đã tạo nên những sản phẩm khác nhau cần thiết cho việc sinh tổng hợp những thành phần quan trọng nhất của sinh chất.

2. Nguồn năng lượng cho cây

Trước hết, hô hấp cung cấp năng lượng cho các quá trình sinh tổng hợp.

Ở các cơ thể dị dưỡng (hấp thụ các chất hữu cơ đã có sẵn) năng lượng giải phóng ra trong hô hấp được dùng cho nhiều mục đích khác trong cơ thể trong đó có các quá trình sinh tổng hợp. Tuy nhiên, không phải là chúng có thể tổng hợp được tất cả các chất cần thiết (ví dụ, động vật có vú không có khả năng tổng hợp một số axit amin được gọi là axit amin "không thay thế", các vitamin và hàng loạt các hợp chất khác). Còn các cơ thể tự dưỡng trong đó có thực vật có khả năng sinh tổng hợp tốt hơn nhiều. Thực vật có khả năng tổng hợp chất hữu cơ từ các chất vô cơ là CO_2 và H_2O, amoniac và các nitrat. Để thực hiện quá trình tổng hợp loại này đòi hỏi nhiều năng lượng gấp bội so với quá trình sinh tổng hợp ở động vật.

Quang hợp chính là nguồn cung cấp năng lượng cho sự tổng hợp đó. Như vậy trong cây xanh không chỉ hô hấp mà cả quang hợp là nguồn cung cấp năng lượng cho tế bào sống. Năng lượng được giải phóng ra trong các quá trình photphorin hoá oxi hoá và photphorin hoá quang hoá sẽ được cố định lại trong các liên kết cao năng trong phân tử ATP.

Như vậy ATP là nguồn năng lượng cơ bản trong cơ thể, là chất dự trữ năng lượng vạn năng của cơ thể.

Ngoài ATP, một số nucleotit khác cũng có năng lượng dự trữ khá lớn. Tuy nhiên, nguồn năng lượng để hình thành các hợp chất này cũng lại vẫn là ATP. Ngoài việc cung cấp năng lượng cho các quá trình sinh tổng hợp là chủ yếu, hô hấp còn cung cấp năng lượng cho hàng loạt quá trình khác như sự phân chia tế bào, sự hút các chất khoáng qua hệ rễ, sự xâm nhập của các chất từ ngoài vào tế bào ngược với gradien nồng độ, sự chuyển vận của các chất trong cây, sự vận động của cây...

3. Ý nghĩa của hô hấp đối với bảo quản các đối tượng thực vật

Hô hấp có một ý nghĩa lớn đối với việc bảo quản các đối tượng thực vật. Hiểu được mối liên quan giữa hô hấp và các điều kiện ngoại cảnh, có thể điều khiển các đối tượng bảo quản giữ được chất lượng theo mục đích của mình. Trước đây trong một thời gian dài người ta quan niệm hô hấp chỉ đơn thuần là một quá trình phân giải các chất dinh dưỡng nên có hại cho bảo quản và càng hạ thấp cường độ hô hấp càng có lợi cho việc bảo quản. Người ta đã quên rằng hô hấp chính là một điều kiện cần thiết cho cơ thể sống, sự vi phạm quá trình này sẽ làm cho tế bào sống bị chết và gây hư hại cho đối tượng bảo quản. Với quan điểm hiện nay người ta đã nhận ra rằng, trong quá trình bảo quản các đối tượng thực vật sống, cần phải tạo ra những điều kiện đảm bảo cho hô hấp vẫn xảy ra bình thường với cường độ thấp nhưng vẫn đảm bảo cho các quá trình trao đổi chất diễn ra bình thường.

Có một số biện pháp để điều chỉnh hô hấp của đối tượng khi bảo quản, trong đó đáng lưu ý là chế độ nhiệt và độ ẩm. Sự điều hoà nhiệt độ và độ ẩm phải tuỳ theo đặc điểm của các đối tượng khi bảo quản.

Hạ thấp nhiệt độ sẽ làm giảm cường độ hô hấp và sự mất mát chất dinh dưỡng. Nhiệt độ thấp còn có tác dụng ngăn ngừa sự phát triển của vi sinh vật gây bệnh, làm giảm sự thoát hơi nước (một điểm đặc biệt có ý nghĩa khi bảo quản những đối tượng mọng nước).

Nhiệt độ tối ưu đối với các đối tượng bảo quản khác nhau thường khác nhau rất nhiều. Ví dụ độ bảo quản tối ưu đối với bắp cải là 1^oC, đối với khai tây : trên 4^oC, đối với các loại quả cam quýt trên 6^oC, đối với hạt nhiệt độ tối ưu cao hơn.

Độ ẩm của đối tượng bảo quản ảnh hưởng rất lớn đến hô hấp, vấn đề này đặc biệt có ý nghĩa khi bảo quản hạt. Đối với những hạt ngũ cốc độ ẩm tối ưu khoảng 11- 12%, độ ẩm tới hạn là khoảng 14 - 15%.

Thành phần của không khí nơi bảo quản cũng có ý nghĩa rất lớn đối với việc bảo quản. Việc giảm nồng độ oxi và tăng nồng độ CO_2 sẽ làm giảm cường độ hô hấp, đồng thời ngăn ngừa sự phát triển của vi sinh vật gây bệnh. Tuy nhiên nồng độ oxi và CO_2 cho phép biến thiên rất nhiều ở các đối tượng bảo quản. Người ta có thể dùng phương pháp nhân tạo để tạo ra thành phần khí thích hợp ở kho bảo quản.

Những đối tượng thường được bảo quản là rau, quả, củ và hạt.

Bảo quản rau quả : Trong việc bảo quản các loại rau, quả, củ, nhân tố chủ yếu là nhiệt độ chứ không phải độ ẩm như đối với hạt vì độ ẩm ở những đối tượng này vốn đã cao. Nhiệt độ tốt nhất cho bảo quản rau, quả là khoảng gần 0^oC. Thường thì người ta bảo quản chúng trong nhà lạnh ở nhiệt độ không quá $3 - 7^oC$.

Ngoài nhiệt độ, trong bảo quản rau, quả người ta còn điều chỉnh chế độ khí bằng cách tạo môi trường khí giàu CO_2. Tuy nhiên biện pháp này cũng tuỳ thuộc vào các đối tượng cụ thể, chẳng hạn biện pháp này tốt đối với việc bảo quản táo, lê, cà rốt nhưng lại không có lợi cho bảo quản cam, quýt, cải bắp, hành, khoai tây, khoai lang...

Người ta còn dùng cả biện pháp hoá học trong bảo quản quả (ngâm quả trong axit sunfuric). Trạng thái chín của quả cũng ảnh hưởng đến việc bảo quản. Những quả chưa chín khi hô hấp sẽ tích luỹ các sản phẩm của hô hấp yếm khí là rượu etilic và axetaldehyt. Những quả này khó bảo quản và chất lượng bị giảm trong quá trình bảo quản.

Bảo quản hạt : Trong khi bảo quản hạt đã diễn ra cả hai dạng của quá trình hô hấp là hô hấp hiếu khí và hô hấp yếm khí (lên men rượu).

Sự hô hấp của hạt khi bảo quản sẽ đưa đến những hậu quả sau :

– Làm hao hụt lượng chất khô.

– Làm tăng độ ẩm của khối hạt.

– Làm thay đổi thành phần của không khí trong khoảng trống bao quanh khối hạt.

– Tạo ra nhiệt trong khối hạt. Sự tăng độ ẩm và tăng nhiệt độ lại làm tăng quá trình hô hấp của khối hạt.

Trong bảo quản hạt cường độ hô hấp có ý nghĩa lớn. Cường độ hô hấp lại phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó độ ẩm của khối hạt là nhân tố chủ yếu. Hạt càng ẩm hô hấp càng mạnh. Vì vậy trước khi cho vào kho bảo quản người ta phải phơi khô hạt đảm bảo cho hạt có độ ẩm dưới độ ẩm tới hạn (độ ẩm tới hạn của hạt các cây họ Lúa là 14 - 15%, của các cây có dầu thấp hơn từ 8 - 9%).

Ngoài độ ẩm thì chế độ nhiệt, độ thoáng khí của khối hạt cũng có ý nghĩa lớn trong quá trình bảo quản. Người ta cũng có thể bơm nitơ vào kho bảo quản nhằm làm giảm lượng oxi và do đó hạn chế hô hấp.

Trong quá trình bảo quản của quả (đặc biệt là ngay sau khi thu hoạch) nhiều loại quả, ví dụ : táo, chuối, lê, cà chua... có sự tăng đột ngột của hô hấp (thải CO_2 và hấp thụ O_2), gọi là hô hấp khủng hoảng hay hô hấp trội đỉnh (climateric). Hiện tượng này thường liên quan với sự phân giải của một số chất như pectin ở trong thành tế bào hoặc sự thuỷ phân tinh bột thành đường.

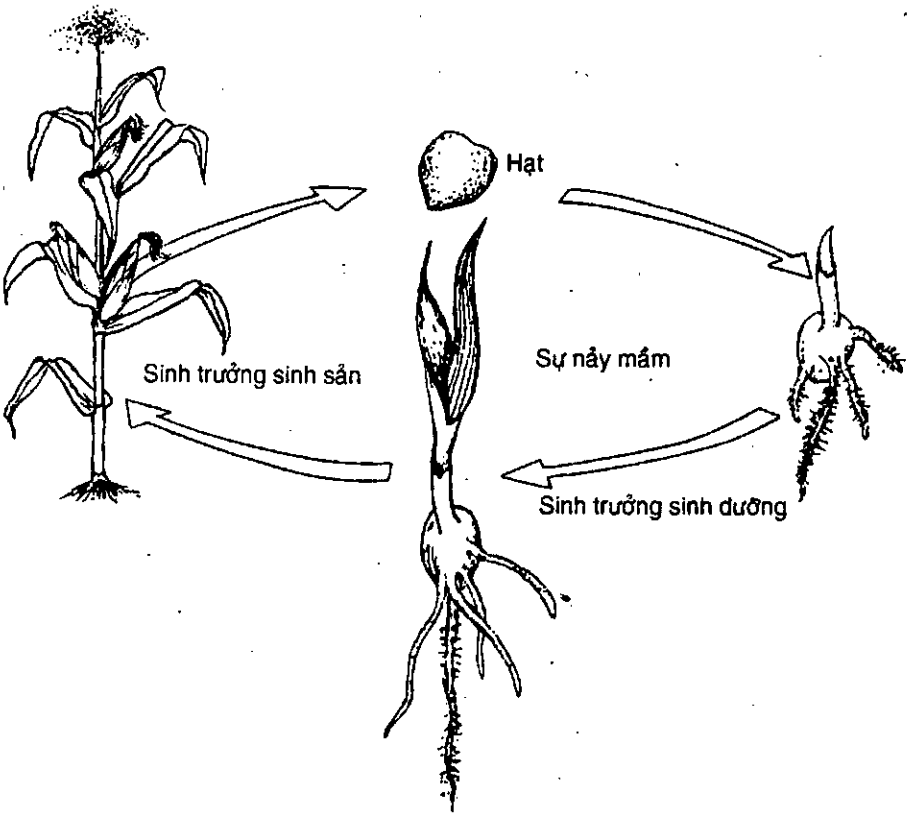
Chương VI

SINH LÍ SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN THỰC VẬT

I – KHÁI NIỆM CHUNG VỀ SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN THỰC VẬT

1. Định nghĩa sinh trưởng và phát triển thực vật

– Sinh trưởng và phát triển của cây có hoa là một hiện tượng phức tạp. Có thể xem chu trình sống của một cây có hoa hằng năm bắt đầu bằng quá trình nảy mầm, tiếp đó là một loạt các phản ứng hình thái và sinh lí được gọi là sinh trưởng và phát triển để cuối cùng tạo nên một cây hoàn chỉnh. Hình 105 minh hoạ chu trình sống của một cây có hoa từ hạt ngủ nghỉ thông qua nảy mầm, sinh trưởng sinh dưỡng, sinh trưởng sinh sản dẫn đến ra hoa hình thành quả và kết hạt.



Hình 105 – Sơ đồ về chu trình sống của cây có hoa từ trạng thái hạt nghỉ thông qua nảy mầm, sinh trưởng sinh dưỡng và ra hoa

+ Trong trường hợp cây một năm, phần sinh dưỡng (rễ, thân, lá) sẽ chết đi chỉ còn hạt tiếp tục cho mùa sinh trưởng tiếp theo.

+ Đối với cây lâu năm, phần sinh trưởng không chết mà thường đi vào trạng thái ngủ nghỉ trước khi bắt đầu lại sinh trưởng sinh dưỡng.

–Trong suốt chu trình sống, có nhiều sự kiện có tác dụng điều chỉnh sinh trưởng và phát triển của cây.

+ Một mặt cây chịu hậu quả tác động của thành phần di truyền và mặt khác đó là hậu quả của môi trường trong đó cây sinh trưởng và phát triển.

+ Ở một chừng mực nhất định, hệ gen được lập sẵn, nhưng chương trình đó bị biến đổi đáng kể do các nhân tố môi trường.

+ Mặt khác, các chất sinh trưởng bên trong gọi là hoocmon và các nhân tố môi trường có vai trò điều chỉnh sự phát triển của cây. Rõ ràng, các hoocmon có tác dụng điều chỉnh bên trong sự phát triển của cây và nhân tố môi trường làm biến đổi toàn bộ chuỗi các sự kiện xảy ra trong cây.

– Sinh trưởng và phát triển được định nghĩa như thế nào ?

+ Sinh trưởng, theo định nghĩa đơn giản nhất bao gồm sự tăng về số lượng và thành phần tế bào.

+ Phát triển là sự kết hợp cả về sinh trưởng và phân hoá tế bào. Như vậy, sinh trưởng biểu hiện khía cạnh về lượng, cụ thể, đó là sự tăng về số lượng và kích thước của tế bào. Phân hoá là khía cạnh về chất của sự phát triển. Những biến đổi về chất trong tế bào và thành phần tế bào dẫn đến việc hình thành nhiều cấu trúc chuyên hoá, đặc biệt là các cơ quan sinh sản – thước đo của sự phân hoá.

– Có thể chia sinh trưởng thành hai pha : Phân chia tế bào và sự tăng trưởng tế bào.

+ Sự phân chia tế bào (không trình bày chi tiết ở đây) tạo nên hai tế bào con từ một tế bào mẹ, làm tăng số lượng tế bào trong một cá thể. Nó kết thúc khi tế bào đạt được kích thước của tế bào mẹ ban đầu.

+ Sự tăng trưởng tế bào hay kéo dài tế bào làm tăng kích thước của các tế bào vừa được hình thành vượt xa kích thước của tế bào mẹ.

– Phân hoá – khía cạnh về chất của sự phát triển là sự hình thành nên dạng hay cấu trúc chuyên hoá và sinh ra các chất chuyên hoá trong tế bào. Thí dụ, trong quá trình phân hoá về mặt hình thái, đó là sự tạo nên các cấu trúc dưới tế bào như bào quan (lục lạp, ti thể, nhân) hình thành các tế bào chuyên hoá như tế bào dẫn truyền, bảo vệ hay tế bào dự trữ. Ở mức độ cơ quan, đó là sự tạo ra lá, hoa và các cấu trúc phức tạp khác. Đồng thời trong quá trình này, tế bào cũng tích luỹ nhiều sản phẩm chuyên hoá như alcaloit, tecpen, nhựa mủ, cutin, xenluloz hay các loại sắc tố.

2. Phát triển liên tục – nét đặc trưng của thực vật

– Thực vật luôn phải trải qua sự phát triển. Giống như các sinh vật khác, thực vật phát triển theo thiết kế di truyền đã định sẵn, nhưng sự biểu hiện của bản thiết kế riêng biệt này chịu nhiều tác động của các nhân tố bên ngoài.

– Ở động vật, sự phát triển dẫn đến sự kết thúc – cá thể trưởng thành, trong khi đó, ở thực vật, một số tế bào trải qua sự phát triển liên tục (tế bào mô phân sinh đỉnh thân,

rễ...). Do đó, có thể coi thực vật như một hệ sinh trưởng hở hay sinh trưởng vô hạn, điển hình ở cây gỗ lâu năm.

– Mặt khác tiến trình phát triển cá thể ở cây chịu nhiều ảnh hưởng do các tín hiệu nhận được từ môi trường ngoài với sự điều hoà của các hoocmon. Hơn nữa, sự biểu hiện riêng của các hoocmon không chỉ được điều tiết nhờ các gen mà còn do các nhân tố môi trường ngoài.

– Ở động vật, ảnh hưởng bên ngoài gây tác động yếu hơn nhiều lên hệ thống.

– Thực vật không thể vận động, do đó chúng phải tiếp tục tồn tại trong môi trường riêng biệt. Phần lớn các hoạt động sinh lí – hoá sinh mà cây tiến hành như quang hợp, nở hoa, phát tán hạt, sinh trưởng đều mẫn cảm với tính chất chính xác của điều kiện tại chỗ. Do đó, bắt buộc cây phải thích nghi cao với điều kiện mà trong đó chúng sẽ tiếp tục sinh trưởng, phát triển và cây có kiểu phát triển dễ uốn nắn hơn so với động vật.

II – ĐỘNG HỌC SINH TRƯỞNG

Sinh trưởng và phát triển của cây xảy ra theo một loạt các sự kiện phối hợp phức tạp để cuối cùng tạo nên cây.

Vấn đề ở đây là phát triển các khái niệm về sinh trưởng thực của cây – nó xảy ra như thế nào, được điều tiết và kiểm soát ra sao do các nhân tố bên trong và bên ngoài.

Cần xem xét hai vấn đề :

– Một là động học thực của sinh trưởng, nghĩa là giải thích quá trình sinh trưởng và phát triển xảy ra như thế nào dưới một hàm số của thời gian với công thức toán học đơn giản.

– Hai là các phản ứng vận động sinh trưởng như hướng kích thích, tính hướng, ứng động và vận động trương không sinh trưởng.

1. Động học sinh trưởng

Động học của sinh trưởng rất phức tạp phụ thuộc vào nhân tố cả bên trong lẫn bên ngoài. Tuy nhiên, với cây sinh trưởng ở điều kiện ổn định, ta có thể thu được đường cong sinh trưởng thích hợp để mô tả quá trình sinh trưởng.

Để nhận đường cong sinh trưởng cho một bộ phận của cây (lá, quả,...) một cây non hay một cây trưởng thành nguyên vẹn, điều trước tiên là cần xác định chỉ số nào của sinh trưởng sẽ được dùng như là phép đo và về sau xác định sự biến đổi trong chỉ số dưới dạng hàm số của thời gian.

Sau đây sẽ trình bày các biện pháp đo sinh trưởng và phân tích đường cong sinh trưởng :

Phép đo sinh trưởng

Thường có thể đo sinh trưởng bằng thước kẻ và cân, nhưng theo định nghĩa thì sinh trưởng là sự tăng không thuận nghịch (sự tăng là một chiều) về thể tích và độ lớn của tế bào. Do đó, các xác định về sinh trưởng là chỉ số về sự tăng không thuận nghịch, chứ không phải dựa vào những biến đổi độ trương đơn thuần mà do thay đổi hàm lượng nước của tế bào gây nên. Ngoài ra, còn phải căn cứ vào phép đo độ dài, diện tích hoặc khối lượng của mô. Phép đo phụ thuộc chủ yếu vào loại phân tích sinh trưởng đã dẫn ra.

– Có thể đo thể tích thực của mô theo các chỉ số về các chiều hay theo sự chiếm chỗ của mô trong nước.

– Đo khối lượng tươi hay bộ phận của cây theo phương pháp cân bằng cân thường hay cân phân tích.

– Dùng phép đo tuyến tính để đánh giá sinh trưởng của tế bào cá thể với mẫu tươi.

Cần xác định sự tương quan giữa phép đo về thể tích hoặc khối lượng và phép đo tuyến tính cho phép dự đoán thể tích hoặc khối lượng từ các phép đo tuyến tính tiếp theo. Hàm số sau sẽ thoả mãn cho phần lớn các yêu cầu thực nghiệm :

$$\text{Log}y = K\log x + \log b$$

Trong đó :

y : Thể tích hoặc khối lượng

x : Phép đo tuyến tính

k : Hệ số tương quan

b : Hằng số

Tuy nhiên, loại thí nghiệm phân tích sinh trưởng thì diện tích lá là một chỉ số có giá trị. Có thể xác định diện tích lá nhờ các thiết bị chuyên dụng. Ví dụ, dùng máy sao chụp để chụp ảnh lá bằng giấy nhạy ánh sáng và thu ảnh của lá, từ đó có thể xác định diện tích của ảnh rồi suy ra diện tích lá. Cũng cần xác định mối tương quan giữa diện tích lá với chiều rộng và chiều dài của lá.

– Hàm số thoả mãn cho các dữ kiện thực nghiệm là :

$$A = K.L.W$$

Trong đó :

A : Diện tích lá

L : Chiều dài lá

W : Chiều rộng lá

K : Hệ số tương quan

– Theo chương trình sinh học quốc tế, việc xác định tổng lượng tăng về chất khô (năng suất thực) có ý nghĩa trong việc xác định năng suất sơ cấp theo công thức sau :

$$P_n = \Delta_B + L$$

Trong đó :

P_n : Năng suất chất khô thực trong thời gian đã định giữa hai lần đo.

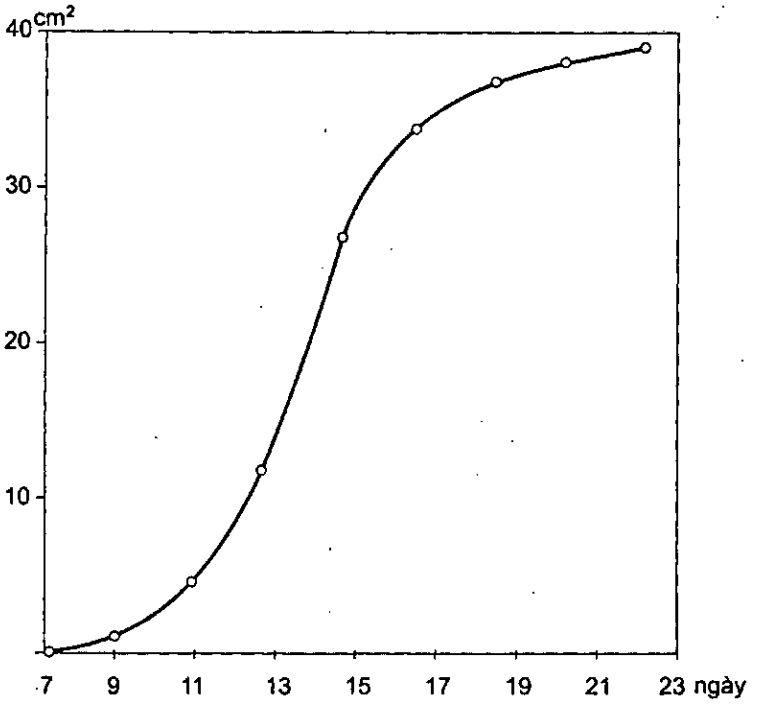
Δ_B : Tổng lượng tăng chất khô trong thời gian giữa hai lần đo.

L : Lượng chất khô mất mát trong thời gian giữa hai lần đo do cây chết hay do động vật ăn cỏ tiêu thụ.

Năng suất chất khô thực (P_n) không bao hàm lượng vật chất đã mất do hô hấp. Nếu gồm cả lượng mất do hô hấp thì số đo là tổng năng suất (P_g). Năng suất thực là một chỉ số có giá trị của sinh trưởng trong các nghiên cứu về sinh lí. Từ các chỉ số về sinh trưởng có thể xây dựng đường cong sinh trưởng.

2. Đường cong sinh trưởng

– Hình 106 là đường cong sinh trưởng dạng xichma điển hình (dạng S) của sự tăng trưởng lá đậu pinto sinh trưởng trong phòng sinh trưởng.



Hình 106 – Đường cong sinh trưởng dạng xích ma (dạng S)

+ Đặc trưng cho cả quá trình sinh trưởng là một pha chậm (lag phase) lúc đầu, trong đó sự sinh trưởng theo thời gian là khá chậm nhưng vẫn xảy ra với sự tăng tốc độ sinh trưởng.

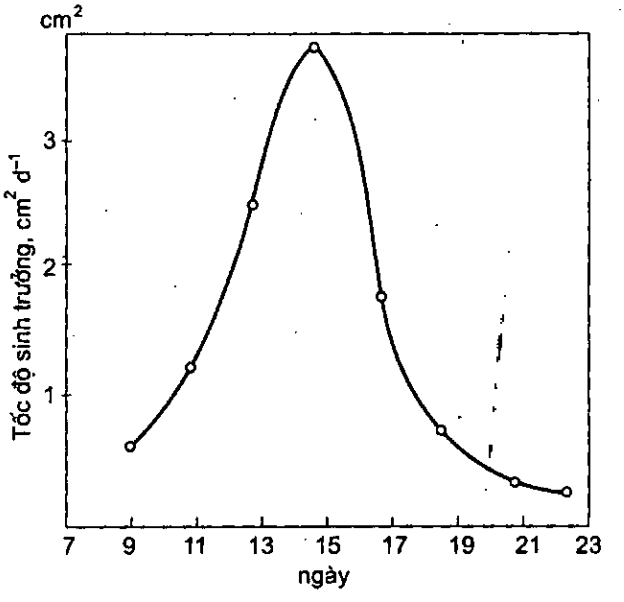
+ Tiếp sau pha chậm là pha loga, trọng đó tốc độ sinh trưởng tỉ lệ với thời gian.

+ Sau pha loga thì xảy ra pha sinh trưởng gảm.

+ Cuối cùng xảy ra pha dừng (pha không thay đổi), trong đó không còn bất kì sự tăng nào về kích thước theo thời gian nữa.

+ Đường cong sinh trưởng dạng xichma (dạng S) là nét đặc trưng cho hầu như toàn bộ quá trình sinh trưởng trong các cơ thể sống.

+ Do sinh trưởng là sự kết hợp của quá trình phân chia và tăng trưởng tế



Hình 107 – Đường cong tốc độ sinh trưởng

bào nên nếu cây đậu được sinh trưởng ở điều kiện tự nhiên với sự biến thiên trong các nhân tố môi trường xảy ra hằng ngày thì đường cong có thể không đối xứng như vậy.

+ Hình 107 là đồ thị của đường cong tốc độ sinh trưởng theo số liệu trong hình 106.

Biểu diễn tốc độ sinh trưởng dưới dạng hàm số của tuổi ở lá đậu. Đỉnh đồ thị phản ánh tốc độ sinh trưởng cực đại trong quá trình tăng trưởng lá.

Có thể tạo nên các đường cong sinh trưởng tương tự theo thí nghiệm về sinh trưởng theo sự kéo dài các tế bào đơn, rễ và thân hay sự tăng về kích thước quả. Ngoài ra, các quần thể hay nhóm tế bào, cơ thể đơn bào hay cây nguyên vẹn cũng phát triển theo đường cong sinh trưởng dạng S. Mỗi dạng đường cong sinh trưởng ở mỗi đối tượng thí nghiệm có sai khác chút ít. Ví dụ, một số đường cong sinh trưởng có thời kì chậm thu hẹp, song số khác lại có thời kì chậm mở rộng, nhưng tất cả đều chịu sự tác động của di truyền và môi trường.

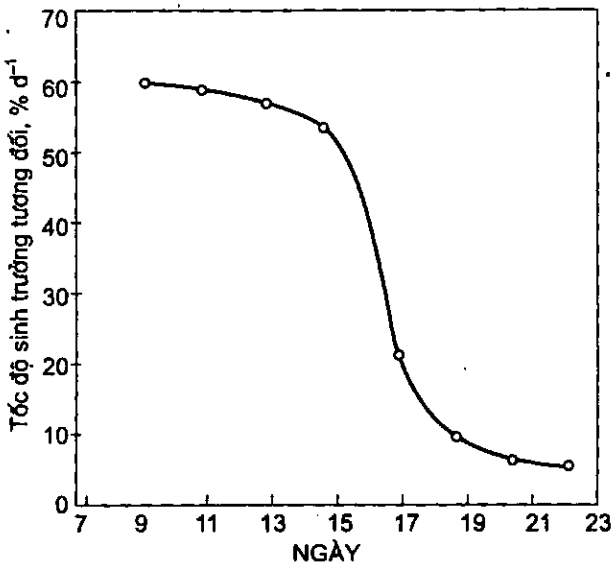
– Trong phân tích sinh trưởng cũng thường gặp thuật ngữ "tốc độ sinh trưởng tương đối".

+ Tốc độ sinh trưởng tương đối là lượng sinh trưởng theo thời gian biểu diễn dưới dạng hàm số của lượng mô đang tồn tại (%). Ví dụ, một số cây có tốc độ sinh trưởng tương đối 10% mỗi ngày, có nghĩa là sự tăng về kích thước ở tốc độ 10% của tổng khối lượng mỗi ngày. Do sinh trưởng chung của cây hay bộ phận cây thường tuân theo đường cong dạng xichma, nên rõ ràng tốc độ sinh trưởng tương đối sẽ biến đổi trong các pha chậm, pha loga và pha dừng của sinh trưởng.

+ Hình 108 biểu diễn đường cong tốc độ sinh trưởng tương đối cho sự tăng trưởng lá đậu. Tốc độ sinh trưởng tương đối hầu như không đổi trong pha loga của sinh trưởng nhưng về sau giảm nhanh khi tốc độ sinh trưởng chậm lại.

+ Trường hợp đơn giản nhất cho phân tích sinh trưởng là sự sinh trưởng kéo theo sự tăng trưởng về số lượng tế bào do phân chia tế bào. Từ hình 108 cho thấy rằng pha chậm là thời kì trong đó quá trình phân chia tế bào bị chậm lại, tế bào tăng trưởng ít hay không tăng trưởng. Vào cuối pha chậm và trong pha loga, tế bào đều phân chia với tốc độ ổn định và có sự tăng theo cấp số nhân số lượng của tế bào. Sự sinh trưởng trong toàn bộ giai đoạn này (pha chậm và pha loga) là theo hàm số mũ. Khi phân chia tế bào giảm, tốc độ sinh trưởng giảm cho đến khi không xảy ra phân chia và tế bào đạt trạng thái ổn định.

– Từ hình 108 có thể dùng biểu thức toán học đơn giản để biểu thị đường cong sinh trưởng. Ở giai đoạn sinh trưởng đầu tiên (pha chậm và pha loga), tốc độ sinh trưởng (dN/dt) do phân chia tế bào tỉ lệ với số lượng tế bào có mặt ở bất kì thời gian nào. Từ đó, một biểu thức tốc độ bậc nhất cho hàm đồng biến là :



Hình 108 – Đường cong tốc độ sinh trưởng tương đối

$$\frac{dN}{dt} = KN$$

Trong đó : N : Số lượng tế bào

T : Thời gian

K : Là hằng số

Lấy tích phân theo thời gian có phương trình :

$$\ln N = Kt + \ln No$$

Ở đây No là số tế bào ở thời điểm bằng không.

Có thể nhận được biểu thức này dưới dạng một hàm mũ :

$$N = N_o l_n^{Kt}$$

+ Nếu giả định rằng có giới hạn trên cho số lượng tế bào trong bất kì một quần thể dạng phân chia nào (Nmax) ta có thể trình bày biểu thức tốc độ sinh trưởng dưới dạng :

$$\frac{dN}{dt} K(Nmax - N)$$

Ở đây, tốc độ sinh trưởng dN/dt sẽ gần bằng 0 khi N tiến gần cực đại Nmax.

Kết hợp hai biểu thức sẽ cho một biểu thức mới thích hợp giải thích toàn bộ đường cong sinh trưởng ở dạng xichma :

$$\frac{dN}{dt} = KN(Nmax - N)$$

+ Nếu giả định rằng No bé, lấy tích phân cho ta một phương trình có dạng :

$$\ln \frac{N}{N_{max} - N} = Kt$$

+ Sự sinh trưởng của phần lớn thực vật đều thể hiện đường cong sinh trưởng đối xứng dạng xichma đã lí giải ở trên. Đồ thị của $\ln[N/N_{max} - N)]$ theo thời gian sẽ là một dạng đường thẳng với độ dốc bằng với hằng số K của tốc độ sinh trưởng.

+ Tốc độ sinh trưởng cực đại là điểm uốn trung tâm trong đó :

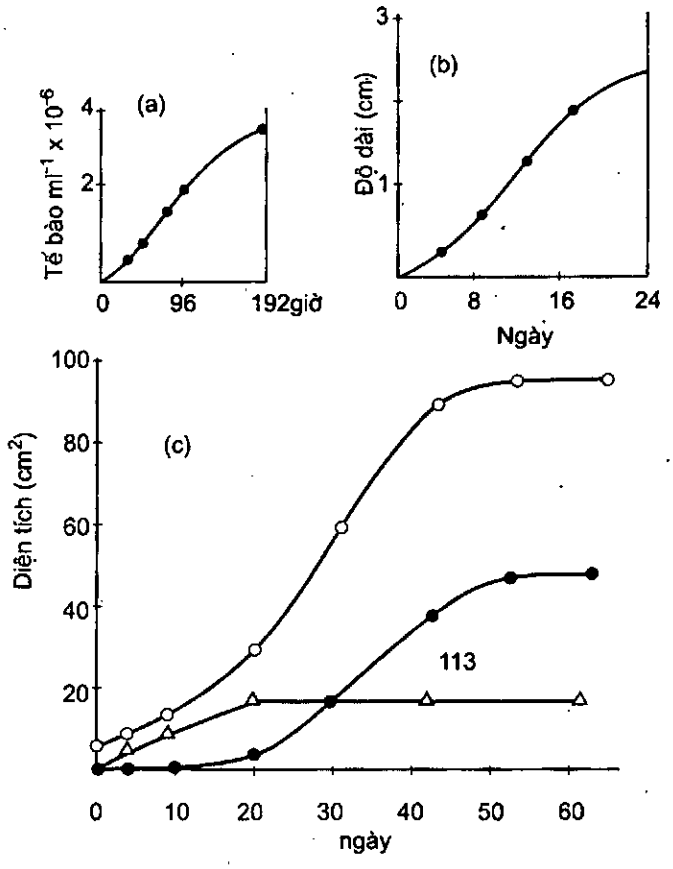
$$N = \frac{N_{max}}{2}$$

Hằng số N_{max} (biểu thị số tế bào cực đại) và K (hằng số của tốc độ sinh trưởng) là hàm số về nhân tố môi trường tương tác và thành phần di truyền của cây. Thực ra đây là vấn đề rất phức tạp khó phân tích một cách toàn diện bằng biểu thức toán học. Đối với sinh trưởng của thực vật bậc cao, ta có thể giả định rằng sự tăng trưởng về khối lượng (W) ở bất kì thời gian nào sẽ tỉ lệ với khối lượng ở thời gian đó. Do đó, có thể sử dụng biểu thức thể hiện số tế bào tăng theo thời gian để miêu tả quá trình sinh trưởng cho phần lớn cây hay bộ phận cây, nếu biểu thị sinh trưởng như là sự tăng về khối lượng hoặc thể tích :

$$\frac{dW}{dt} = KW(W_{max} - W)$$

Ví dụ về đường cong sinh trưởng dạng xichma gần đối xứng được thể hiện trong hình 109. Hình 109a – sinh trưởng thực vật của quần thể đơn bào (*Euglena)* dưới dạng hàm số của thời gian ; Đồ thị sinh trưởng trong hình biểu thị sự kéo dài của sợi bông khi sinh trưởng *in vitro* trong môi trường sinh trưởng nhân tạo. Và đường cong sinh trưởng của thân xương rồng (*Opuntia basilaris).*

– Đường cong sinh trưởng trong hình chứng minh rằng sự sinh trưởng của cây và bộ phận cây tuân theo đường cong xichma mà có một pha chậm, pha loga và đạt đến cực đại với pha dừng. Các bộ phận khác nhau của bất kì cây nào đều có thể sinh trưởng ở tốc độ khác nhau. Thân sẽ sinh trưởng ở tốc độ khác với rễ và cả hai sẽ khác với lá. Lá khác nhau trên bất kì cây nào có thể sinh trưởng ở tốc độ khác nhau. Sự sinh trưởng của hai đoạn thân xương rồng trên hình 109c chứng minh điều đó.



Hình 109 – Một số đường cong sinh trưởng tiêu biểu

(a) Sinh trưởng luỹ tiến của quần thể tế bào tảo Euglena.
(b) : Đường cong sinh trưởng kéo dài của sợi bông.
(c) : Sinh trưởng của thân cây Opuntia basilaris.

3. Sinh trưởng của cây nguyên vẹn (sinh trưởng toàn cây)

– Đánh giá sinh trưởng của toàn cây là một công việc khá phức tạp cần phải đo sinh trưởng các phần trên và dưới mặt đất. Trong mùa sinh trưởng mạnh mẽ, hàm sinh trưởng gần đúng với đường cong sinh trưởng dạng xichma. Song người ta không đoán trước được rằng sinh trưởng của rễ nhất thiết phải song song với sinh trưởng của chồi hoặc lá. Sự phân chia sản phẩm quang hợp cho các bộ phận đang sinh trưởng khác nhau có tác dụng điều chỉnh sinh trưởng các bộ phận cây và tất nhiên tất cả các hoạt động sống đó chịu tác động của nhân tố môi trường.

Rễ và chồi không sinh trưởng cùng tốc độ và không nhất thiết sinh trưởng cùng thời gian. Ví dụ, phổ biến là rễ bắt đầu sinh trưởng và phát triển trước khi phát triển chồi lá. Đối với cây gỗ lâu năm trong vùng ôn đới thì chồi và rễ có thời kì sinh trưởng gián đoạn.

– Trong một số loài cây gỗ như cây tần bì, sồi và nhiều loại cây tùng bách ở vùng ôn đới có thời kì sinh trưởng riêng sau chu kì, ngủ nghỉ mới bắt đầu mùa sinh trưởng. Ở các cây gỗ khác bao gồm nhiều loại cây tùng bách có thời kì sinh trưởng định kì suốt mùa sinh trưởng. Kiểu sinh trưởng gián đoạn cũng rất phổ biến trong vùng nhiệt đới và á nhiệt đới.

– Sinh trưởng theo ngày đêm cũng là kiểu sinh trưởng phổ biến của thực vật. Phần nhiều sinh trưởng xảy ra ban đêm khi nhiệt độ thích hợp hơn và cân bằng nước tốt hơn.

Rễ cũng như chồi cây thể hiện tính chu kì về kiểu sinh trưởng. Ví dụ, rễ có thể sinh trưởng ở thời gian khác so với chồi nhưng chúng cũng có thời kì sinh trưởng gián đoạn giống như chồi. Có bằng chứng cho rằng không phải tất cả đỉnh rễ của bất kì cây nào cũng nhất thiết sinh trưởng cùng thời gian.

Ngoài các phương pháp trên, khi nghiên cứu sinh trưởng toàn cây hay quần thể cây, người ta còn dùng các chỉ số khác như đánh giá tốc độ đồng hoá thuần hay năng suất sơ cấp (P_n). Ví dụ, có thể đánh giá sinh trưởng từ các phép đo về khối lượng khô của bộ phận trên mặt đất có liên quan với lượng vật chất mất đi do hô hấp và dẫn truyền đến bộ phận dưới đất.

III – SỰ SINH TRƯỞNG VÀ PHÂN HOÁ TẾ BÀO THỰC VẬT

Sự sinh trưởng và phát triển của cơ thể thực vật cũng như của các mô, cơ quan gắn liền với sự sinh trưởng và phát triển của mỗi tế bào.

Tế bào thực vật được sinh ra bằng con đường phân chia trong các mô chuyên hoá là mô phân sinh. Sau đó các tế bào tăng kích thước và thể tích nhanh chóng trong các vùng giãn và cuối cùng chúng được phân hoá thành các mô chức năng, đảm nhiệm các chức năng sinh lí riêng biệt gắn liền với sự thay đổi về cấu trúc đặc trưng cho các mô. Rõ ràng, mỗi tế bào thực vật cũng được sinh ra, lớn lên, hoá già và cuối cùng cũng chết, phù hợp với chu kì phát triển các cá thể của cây.

Theo quan niệm hiện nay thì sự sinh trưởng của tế bào thực vật trải qua hai giai đoạn : Giai đoạn phân chia và giai đoạn giãn, trong đó có sự tăng không thuận nghịch các yếu tố

cấu trúc gắn liền với sự tăng kích thước thể tích tế bào. Giai đoạn tiếp theo là giai đoạn phân hoá tế bào, trong đó có sự biến đổi về cấu trúc và chức năng của các tế bào và vì vậy sự phân hoá tế bào thuộc phạm trù phát triển của tế bào.

1. Giai đoạn phân chia tế bào

Sự sinh trưởng của tế bào bắt đầu bằng sự phân chia tế bào trong các mô chuyên hoá hình thành nên các mô phân sinh

Có ba loại mô phân sinh chính trong cây : Mô phân sinh đỉnh, mô phân sinh lóng và mô phân sinh tầng phát sinh mạch. Mô phân sinh đỉnh nằm ở tận cùng của chồi và ngọn, chồi bên, đầu rễ. Chúng có kích thước rất bé, xấp xỉ 0,5 mm. Sự phân chia các tế bào trong mô phân sinh đỉnh sẽ làm tăng số lượng tế bào ; tiếp theo bằng sự giãn của tế bào sẽ làm tăng chiều cao, chiều dài của thân cành và rễ. Đó là sự sinh trưởng sơ cấp.

Mô phân sinh lóng nằm ở gốc của đốt cây họ Lúa, Cau... Sự phân chia tế bào của mô phân sinh lóng tiếp theo là sự giãn tế bào làm cho đốt dài ra, cây vươn cao, lá dài ra.

Mô phân sinh tầng phát sinh mạch nằm ở giữa libe và gỗ trong bó mạch. Sự phân chia tế bào của chúng cho ra phía ngoài các tế bào libe và bên trong là gỗ. Vì vậy mà hoạt động của mô phân sinh này sẽ làm cho cây tăng trưởng về đường kính của thân, cành, rễ. Sự tăng trưởng này có tính chất thứ cấp.

Sự phân chia tế bào xảy ra qua hai bước kế tiếp : Sự phân chia nhân (mitoz) : trong đó một nhân phân thành hai nhân và sự phân bào (xytokinez) : trong đó có sự phân chia tế bào hai nhân thành hai tế bào một nhân.

Trước khi xảy ra phân chia nhân, đòi hỏi phải nhân đôi lượng ADN của tế bào mẹ, tức là nhân đôi tất cả những thông tin di truyền mà tế bào mẹ vốn có. Chính vì vậy mà sự tổng hợp ADN xảy ra rất mạnh mẽ trong tế bào phôi sinh. Sau đó nhân được phân chia thành hai nhân.

Giai đoạn tiếp theo là sự phân bào : Một màng mỏng bằng vật liệu polisacarit xuất hiện giữa hai tế bào. Nguồn gốc của lớp màng tế bào này là từ bộ máy Golgi và lưới nội chất. Lớp màng này nhanh chóng tăng trưởng để đạt đến thành tế bào, chia đôi tế bào mẹ hai nhân thanh hai tế bào con một nhân. Nhìn chung thì trong pha giãn tiếp theo của tế bào không có sự nhân đôi ADN nữa. Nhưng trong nhiều trường hợp sự nhân đôi ADN vẫn tiếp tục nhưng không xảy ra phân chia nhân dẫn đến các tế bào đa bội thể.

Trong quá trình sinh trưởng phôi sinh, mỗi tế bào con sau mỗi chu kì phân chia tế bào sẽ có được một thành phần sinh hoá và các bào quan hoàn chỉnh như tế bào mẹ mà từ đó nó sinh ra. Bởi vậy có một sự nhân đôi lại hoàn chỉnh tất cả các thành phần sinh hoá và bào quan bằng sinh tổng hợp chúng trong mỗi chu kì phân chia đó.

Đặc trưng chung của tế bào trong giai đoạn phôi sinh là : Tế bào bé, đồng nhất, có kích thước như nhau, thành tế bào mỏng, toàn bộ thể tích tế bào chứa chất nguyên sinh và nhân to, chưa xuất hiện không bào. Số lượng tế bào được tăng lên nhanh chóng, nhưng kích thước tế bào chỉ tăng gấp đôi vì kích thước tế bào đạt như tế bào mẹ thì sự phân chia tế bào xảy ra...

Để cho giai đoạn phân chia tế bào xảy ra thuận lợi thì trước hết phải có phytohoocmon hoạt hoá sự phân chia tế bào, đó là xytokinin. Ngoài xytokinin, auxin và giberelin cũng có vai trò kích thích nhất định sự phân chia tế bào. Mặt khác điều kiện ngoại cảnh (nước và nhiệt độ) cũng ảnh hưởng tới phân chia tế bào. Hàm lượng nước bão hoà trong mô phân sinh là điều kiện tối ưu cho sự phân chia tế bào ; nếu gặp hạn, độ thiếu hụt bão hoà nước tăng lên và ức chế sự phân chia tế bào. Nhiệt độ thấp quá hoặc cao quá cũng ức chế sự phân chia tế bào. Nhiệt độ thích hợp cho giai đoạn này khoảng 25 – 30°C.

2. Giai đoạn giãn của tế bào

Các tế bào phía dưới mô phân sinh mà ở đó chúng sẽ tăng kích thước, thể tích rất nhanh chóng bằng giai đoạn giãn của tế bào. Vùng sinh trưởng đó được gọi là vùng giãn.

Giai đoạn giãn của tế bào cũng được thấy rất rõ rệt bằng những biểu hiện sinh trưởng mạnh mẽ của cây như sự đâm chồi, nảy lộc, sự vươn cao lóng của cây họ Lúa, sự tăng trưởng chiều cao nhanh chóng của cây...

Đặc trưng chung của tế bào trong giai đoạn này là :

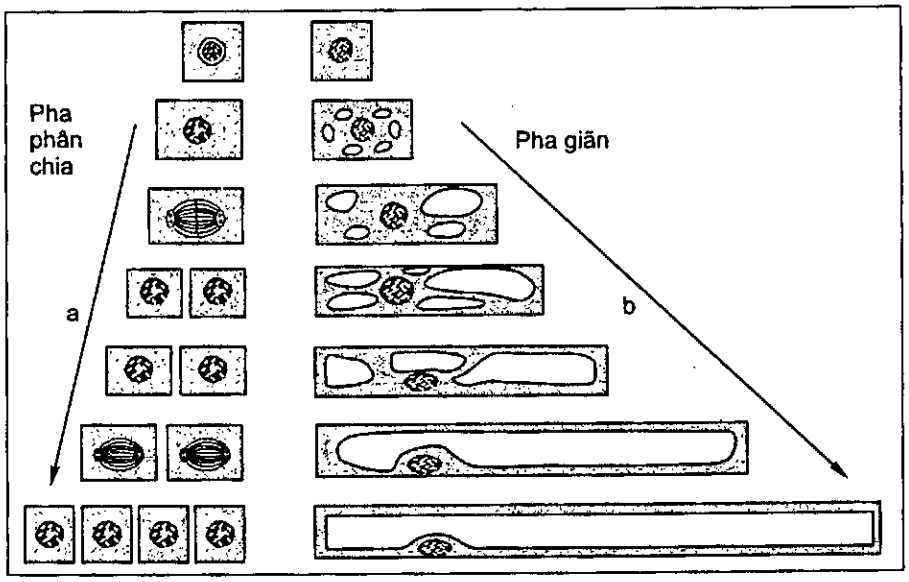
– Tế bào bắt đầu xuất hiện không bào. Ban đầu, không bào có kích thước nhỏ và số lượng nhiều. Càng ngày nhiều không bào nhỏ liên kết với nhau thành không bào to hơn và sau đó nhiều không bào to tập hợp lại thành một không bào trung tâm duy nhất. Không bào trung tâm càng ngày càng lớn, chiếm hầu hết thể tích bào (90% thể tích tế bào), đẩy chất nguyên sinh và nhân sát thành tế bào. Không bào chứa dịch bào, gồm nhiều chất tan là sản phẩm của quá trình trao đổi chất của tế bào. Dịch bào tạo nên áp suất thẩm thấu cao, giúp cho quá trình xâm nhập nước và chất tan từ đất vào cây bằng con đường thẩm thấu. Sự xâm nhập nước vào không bào gây nên sức trương lớn giúp cho sự giãn của tế bào càng nhanh chóng.

– Kích thước tế bào tăng rất nhanh chóng. Trong chu kì 6 giờ, có tế bào đã tăng kích thước 10 lần so với tế bào phôi sinh và thậm chí đạt kích thước tế bào trưởng thành : Sự giãn nhanh chóng tế bào là kết quả của hai hiệu ứng : Sự giãn thành tế bào và sự tăng thể tích không bào và chất nguyên sinh gắn liền với quá trình sinh tổng hợp các vật liệu cần thiết cho sự xây dựng thành tế bào và chất nguyên sinh. Chẳng hạn, có sự tăng cường tổng hợp xenluloz, hemixenluloz, pectin... để tạo nên các lớp vỏ tế bào mới và kéo dài thành tế bào cũ ; tăng cường sinh tổng hợp protein để tăng khối lượng chất nguyên sinh và các bào quan... Ngoài ra, sự hấp thụ nước thẩm thấu của không bào có ý nghĩa quan trọng tạo nên lực đẩy lên thành tế bào làm cho các vi sợi xenluloz vốn bị cắt đứt các lực liên kết có điều kiện trượt lên nhau mà giãn ra.

– Điều kiện quan trọng nhất cho tế bào giãn được là sự có mặt của các phytohoocmon kích thích sự giãn của tế bào. Chất quan trọng nhất là auxin và giberelin. Sự sinh trưởng của tế bào có thể tăng lên 6 – 8 lần khi có mặt của auxin. Vai trò của auxin là hoạt hoá bơm H^+ ở màng ngoài, bơm H^+ vào thành tế bào. Sự giảm pH thành tế bào (pH = 4 – 5) sẽ hoạt hoá các enzim phân huỷ các cầu nối ngang giữa các bó vi sợi xenluloz và làm cho chúng tách rời nhau. Dưới tác động của sức trương do hấp thụ nước thẩm thấu vào không bào mà các vi sợi xenluloz đó có thể vận động trượt theo các hướng khác nhau và kết quả thành tế bào giãn ra. Song song với quá trình giãn này thì các quá trình sinh tổng hợp mới các vật

liệu mới xây dựng thành tế bào ở vị trí đã giãn (xenluloz, hemixenluloz, protopectin...). Giberelin với sự giãn của tế bào, ngoài cơ chế hoạt hoá bơm proton như auxin nó còn kích thích các enzim thuỷ phân liên quan đến cơ chế hấp thụ nước thẩm thấu của tế bào và tăng cường hàm lượng auxin nhờ tăng hàm lượng tryptophan.

– Điều kiện ngoại cảnh cực kì quan trọng cho sự giãn của tế bào là nước. Vì sự hấp thụ nước thẩm thấu vào không bào có ý nghĩa quyết định sự giãn của tế bào. Trong trường hợp thiếu nước thì giai đoạn sinh trưởng giãn của tế bào bị ức chế. Vì vậy trong trường hợp cần ức chế sự giãn không cần thiết của cây thì chỉ cần tạo điều kiện khô hạn trong giai đoạn mà các tế bào đang tập trung giãn. Chẳng hạn, sự sinh trưởng mạnh của lúa có nguy cơ lốp đổ sẽ được hạn chế nếu ta rút nước phơi ruộng vào giai đoạn đứng cái của lúa, tức là giai đoạn vươn lóng của chúng. Để ức chế pha giãn của tế bào, người ta có thể sử dụng các chất ức chế thuộc nhóm retardant, chẳng hạn người ta thường sử dụng CCC cho cây họ Lúa để chống lốp đổ.



Hình 110 – Sơ đồ minh hoạ các giai đoạn sinh trưởng của tế bào
a) Giai đoạn phân chia tế bào biểu hiện sự tăng về số lượng tế bào còn kích thước thì ổn định.
b) Giai đoạn giãn của tế bào biểu hiện sự tăng về thể tích của tế bào, còn số lượng tế bào thì ổn định.

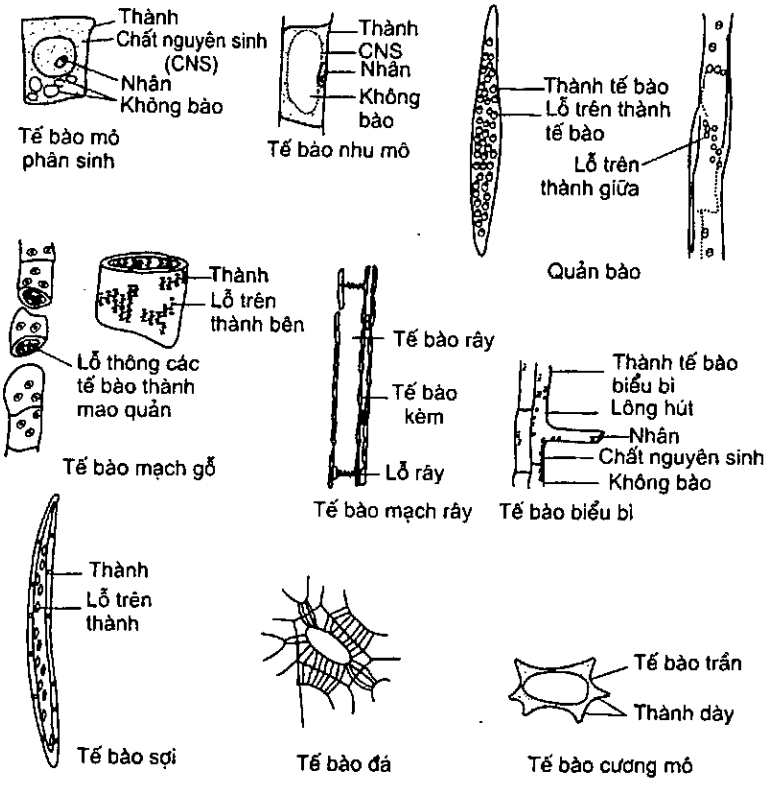
Các nguyên tố dinh dưỡng có ý nghĩa quan trọng lên sự co giãn tế bào như nitơ, photpho, chẳng những chúng kích thích sự phân chia tế bào mà còn tăng cường sự sinh trưởng giãn của chúng, vì chúng đi vào thành phần của protein, photphatit là những thành phần quan trọng cấu trúc nên chất nguyên sinh, tăng sinh khối. Canxi và các nguyên tố có hoá trị cao làm cho sự giãn tế bào kết thúc sớm hơn, cây cứng hơn vì pectat canxi sẽ gắn các tế bào với nhau chặt chẽ hơn.

Trong đời sống của cây, có những giai đoạn sự phân chia tế bào rất mạnh mẽ và ưu thế như giai đoạn đẻ nhánh của lúa, nhưng cũng có giai đoạn sự phân chia tế bào rất yếu và sự giãn tế bào mạnh mẽ và ưu thế như giai đoạn vươn lóng của cây họ Lúa. Nắm được quy luật sinh trưởng của cây qua các giai đoạn sinh trưởng của tế bào và các yếu tố ảnh hưởng đến chúng, con người có thể can thiệp vào việc điều khiển sự sinh trưởng của cây theo ý muốn.

3. Sự phân hoá – phản phân hoá và tính toàn năng của tế bào

Tế bào trứng sau khi thụ tinh xong có khả năng phân chia mạnh mẽ và bằng các con đường phân hoá khác nhau mà tạo nên được nhiều loại tế bào khác nhau trong cơ thể...

Sự chuyển hoá các tế bào phôi sinh thành các tế bào của các mô chuyên hoá gọi là sự phân hoá tế bào thực vật. Các tế bào mô phân sinh phân chia liên tục cho ra các tế bào mới. Các tế bào mới này trải qua giai đoạn sinh trưởng giãn và sau đó bằng các con đường khác nhau mà chúng phân hoá thành các tế bào của các mô có chức năng đảm nhiệm các chức phận sinh lí đặc trưng. Vậy thì các tế bào sau khi đã trải qua các giai đoạn sinh trưởng của chúng thì mới phân hoá được. Các tế bào ở trong giai đoạn sinh trưởng phôi sinh và giãn thì hầu như không phân biệt rõ ràng những đặc trưng về cấu trúc và chức năng, tất cả các tế bào gần như giống nhau. Nhưng khi chuyển sang con đường phân hoá, các tế bào đó có những đặc trưng khác nhau về cấu trúc. Chẳng hạn, một số tế bào mất hết chất nguyên sinh và hoá gỗ như các tế bào của mô dẫn ; một số tế bào theo hướng giảm nhân và ti thể (tế bào rây) ; một số tế bào theo hướng hình thành lục lạp (mô giậu) hoặc hoá cutin, hoá suberin (mô bì)... Sự thay đổi về cấu trúc đó gắn liền với chức năng sinh lí khác nhau của các mô như : mô giậu đảm nhận chức năng quang hợp, mô dẫn đảm nhận chức năng dẫn nước và chất hữu cơ, mô biểu bì đảm nhận chức năng che chở, bảo vệ ; nhu mô có vai trò dự trữ... Trong cây có khoảng 15 loại tế bào chuyên hoá của các mô chức năng, nhưng suy cho cùng thì chúng đều được phân hoá từ một tế bào khởi nguyên là hợp tử (hình 111).



Hình 111 – Một số loại tế bào đã chuyên hoá trong cây

Sở dĩ có sự phân hoá theo các đường hướng khác nhau để hình thành nên nhiều loại tế bào hoàn toàn khác nhau là do sự hoạt hoá phân hoá các gen vốn có trong loại tế bào, tức là quá trình mà một số gen trước đây không hoạt động nay được hoạt hoá và đồng thời một số gen đang hoạt động thì bị ức chế và ngừng hoạt động : một số gen cần cho sự tổng hợp nên các enzim cần cho sự phát triển của giai đoạn nào đó được hoạt hoá, còn các gen khác phụ trách các enzim nhất định khác không cần thiết nữa lập tức bị ngừng và tất nhiên những gen phụ trách các enzim liên quan quá trình trao đổi chất thường xuyên vẫn tiếp tục hoạt động bình thường. Do đó sự phân hoá tế bào chỉ là sự hoạt hoá phân hoá gen mà không làm tế bào có thêm hoặc mất đi vốn gen của chúng. Điều này liên quan đến một số đặc tính quan trọng của tế bào : tính toàn năng của tế bào.

Haberland (1920), lần đầu tiên đã đưa ra quan niệm rằng mỗi tế bào bất kì của một số cơ thể sinh vật đa bào đều có khả năng tiềm tàng để phát triển thành một cá thể hoàn chỉnh. Theo quan niệm của sinh học hiện đại thì mỗi tế bào riêng rẽ đã được phân hoá đều chứa toàn bộ lượng thông tin di truyền (ADN) cần thiết của cả cơ thể thực vật đó và nếu gặp điều kiện thích hợp thì mỗi tế bào đó đều có thể phát triển thành một cá thể hoàn chỉnh gọi là tính toàn năng của tế bào thực vật.

Ngày nay kĩ thuật nuôi cấy mô tế bào để tái sinh cây hoàn chỉnh từ một tế bào nuôi cấy đã chứng minh cho luận điểm về tính toàn năng của tế bào là đúng đắn.

Tính toàn năng của tế bào được chứng minh qua các khả năng phản phân hoá tế bào. Các tế bào đã phân hoá không hoàn toàn mất khả năng phân chia của mình, tức là tế bào đã phân hoá trong điều kiện nhất định có thể quay trở lại như một tế bào phôi sinh có khả năng phân chia để cho ra các tế bào mới. Hiện tượng đó gọi là sự phản phân hoá tế bào. Điều đó có nghĩa là tế bào trong mô nằm trong trường ức chế và tạo điều kiện cần thiết (hoocmon và chất dinh dưỡng...) thì một số gen vốn bị ức chế nay được hoạt hoá trở lại và do đó tế bào phân chia được. Ví dụ, việc hình thành callus ở viết thương, ở cành chiết, cành giâm, ở mô nuôi cấy là sự phản phân hoá của các tế bào nhu mô ở viết cắt khiến chúng có thể đóng vai trò như tế bào phôi sinh, phân chia mãnh liệt. Sau đó bằng con đường phân hoá mà hình thành rễ và chồi.

Sự phân hoá, phản phân hoá tế bào cùng với đặc tính vốn có của nó là tính toàn năng, là cơ sở lí luận vững chắc để xây dựng kĩ thuật nuôi cấy mô – tế bào, nhằm tái sinh cây hoàn chỉnh từ các tế bào tách rời.

Trong một nửa thế kỉ qua, kĩ thuật nuôi cấy *in vitro* phát triển rất mạnh mẽ và trở nên một phương pháp có ý nghĩa về lí luận và thực tiễn lớn trong việc nghiên cứu về Tế bào học, về lĩnh vực di truyền chọn giống, về sinh lí, sinh hoá, về việc làm sạch virus và có những ứng dụng khá rộng rãi trong việc nhân giống vô tính cây trồng, trong việc cải lương giống, trong việc thu sinh khối và hoạt chất quý. Ngày nay kĩ thuật nuôi cấy *in vitro* đã và đang trở thành một công cụ có hiệu quả của Công nghệ Sinh học.

IV– SỰ TƯƠNG QUAN SINH TRƯỞNG GIỮA CÁC BỘ PHẬN TRONG CÂY

Cơ thể thực vật như là một chỉnh thể thống nhất, hài hoà tạo ra tính toàn vẹn của nó. Tính toàn vẹn đó được biểu hiện bằng sự tương quan sinh trưởng các bộ phận trong cây. Sự tương quan sinh trưởng là mối quan hệ, là sự tương tác lẫn nhau giữa các cơ quan, bộ phận, giữa các mô và tế bào đang sinh trưởng. Mối tương quan đó được đảm bảo bằng các

tác nhân kích thích và cả các tác nhân ức chế. Các tác nhân kích thích bắt nguồn trước tiên là từ hệ thống rễ, các lá non, chồi non, các lá mầm có màu xanh có khả năng quang hợp. Còn các tác nhân ức chế bắt nguồn từ các cơ quan đang hoá già như lá già, các cơ quan sinh sản và cơ quan dự trữ... Người ta thường đề cập đến khái niệm tương quan kích thích và tương quan ức chế.

Tương quan kích thích xảy ra khi một bộ phận, cơ quan này sinh trưởng sẽ kích thích bộ phận khác, cơ quan khác sinh trưởng. Ví dụ, như hệ thống rễ sinh trưởng tốt sẽ kích thích thân lá sinh trưởng tốt và ngược lại ; hoặc lá non sẽ kích thích mầm nách...

Ngược lại, tương quan ức chế xảy ra khi một bộ phận trong cây sinh trưởng sẽ ức chế sinh trưởng của bộ phận khác. Ví dụ, như chồi ngọn ức chế chồi bên, rễ chính ức chế rễ bên, cơ quan sinh sản ức chế cơ quan sinh dưỡng...

Có hai nguyên nhân của các mối tương quan trên : Nguyên nhân thứ nhất thuộc về dinh dưỡng. Trong trường hợp tương quan kích thích thì có sự hỗ trợ về mặt dinh dưỡng giữa các cơ quan cùng sinh trưởng ; Nguyên nhân thứ hai là nguyên nhân hoocmon. Trong trường hợp tương quan kích thích chúng hỗ trợ nhau về các hoocmon nhóm kích thích sinh trưởng (xytokinin, giberelin, auxin). Còn trong trường hợp tương quan ức chế các cơ quan gây ảnh hưởng ức chế lên nhau bằng các chất ức chế sinh trưởng vốn được sản xuất và tích luỹ trong chúng.

Để làm sáng tỏ thêm quan điểm trên, chúng ta nêu một số ví dụ cụ thể về các mối tương quan trong cơ thể thực vật :

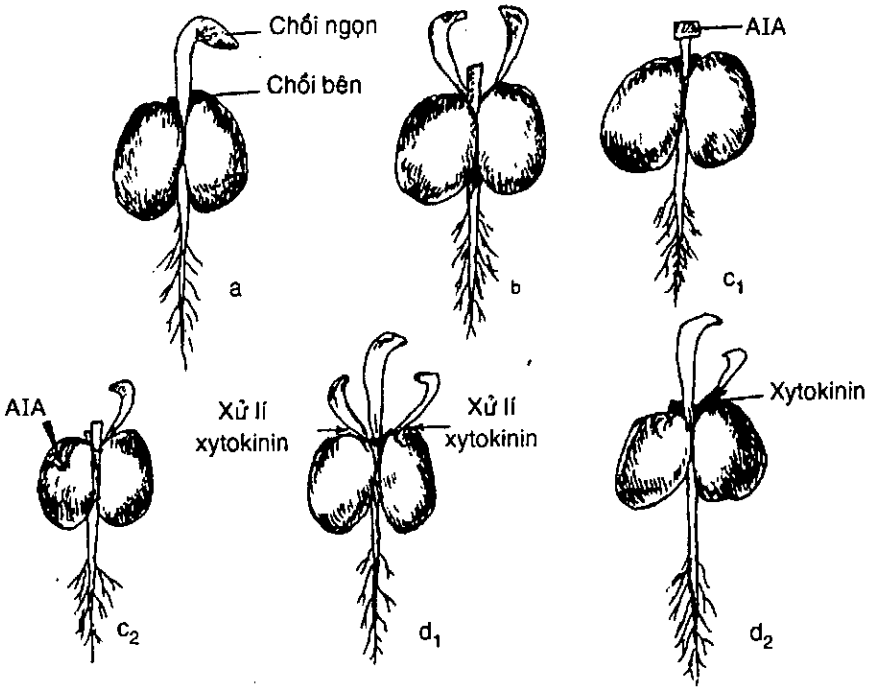
1. Hiện tượng ưu thế ngọn

Ưu thế ngọn là hiện tượng phổ biến đối với giới Thực vật. Đó là sự ức chế của chồi ngọn lên sự sinh trưởng của chồi bên, rễ chính lên rễ phụ. Nếu cắt bỏ chồi ngọn, tức là loại bỏ ưu thế ngọn thì các chồi bên được giải phóng khỏi trạng thái ức chế tương quan của chồi ngọn và lập tức sinh trưởng. Điều này rất có ý nghĩa trong sản xuất. Có nhiều trường hợp cần loại bỏ ưu thế ngọn để tăng phân cành, phân nhánh như với các cây ăn quả, cây cảnh, cây công nghiệp, kĩ thuật tạo hình, tạo tán có ý nghĩa quyết định đến năng suất và phẩm chất thu hoạch. Việc cắt bớt rễ chính cho mạ trước khi cấy cũng nhằm mục đích kích thích các rễ phụ phát triển. Tuy nhiên cũng có trường hợp cần tăng cường ưu thế vì sự phân cành không cần thiết và có hại cho sản suất như với thuốc lá, bông, dâu tây...

Nguyên nhân gây nên hiện tượng ưu thế ngọn cũng đã được nhiều người quan tâm nghiên cứu đến. Quan niệm đầu tiên dựa trên sự cạnh tranh dinh dưỡng của chồi ngọn lên chồi bên : mô phân sinh chồi ngọn là trung tâm lôi cuốn dòng chất dinh dưỡng ưu tiên, nên chồi bên nghèo chất dinh dưỡng, không sinh trưởng được.

Khi phát minh ra auxin, Thimann (1943) đã bắt chước hiện tượng ưu thế ngọn bằng cách xử lí AIA ngoại sinh lên mặt cắt qua chồi ngọn và các chồi bên cũng không sinh trưởng được như trường hợp có chồi ngọn nguyên vẹn. Giả thiết "ức chế trực tiếp" cho rằng chồi ngọn là nơi sản xuất auxin AIA với hàm lượng cao và khi vận chuyển xuống dưới đã ức chế trực tiếp sự sinh trưởng của chồi bên. Tuy nhiên nhiều bằng chứng cho thấy rằng, nồng độ auxin cho chồi bên chưa đến mức ức chế sinh trưởng, vì vậy giả thuyết

"ức chế gián tiếp" cho rằng dưới tác động của auxin, trong chồi bên tổng hợp nên chất ức chế (etilen) và chính chất ức chế sinh trưởng này gây nên hiện tượng ức chế chồi bên (hình 112).



Hình 112 – Hiện tượng ưu thế ngọn ở cây đậu Hà lan nảy mầm
a) Ưu thế ngọn trên cây nguyên vẹn ; b) Cắt chồi ngọn, chồi bên sinh trưởng.
c_1 - c_2) Xử lí AIA ngoại sinh tương tự như chồi ngọn nguyên vẹn. AIA ngoại sinh ức chế chồi nách
d_1 - d_2) Xytokinin giải phóng chồi bên, làm yếu ưu thế ngọn

Như vậy rõ ràng auxin có vai trò quan trọng trong hiện tượng ưu thế ngọn. Tuy nhiên các phytohoocmon khác cũng có vai trò quan trọng điều chỉnh hiện tượng này, đặc biệt là xytokinin. Xytokinin hoàn toàn đối kháng với auxin trong trường hợp này : xytokinin được sản xuất ở rễ rồi được vận chuyển lên ngọn và sẽ có tác dụng giải phóng chồi bên tức là làm yếu ưu thế ngọn. Vì vậy, hiện tượng ưu thế ngọn được điều chỉnh chính trong cây bằng tỉ lệ auxin / xytokinin. Tỉ lệ đó càng cao thì ưu thế ngọn càng mạnh mẽ, còn tỉ lệ đó càng thấp thì sự phân cành càng chiếm ưu thế. Khi đi từ ngọn xuống gốc thì tỉ lệ đó càng giảm và ưu thế ngọn cũng giảm dần.

Mức độ ưu thế ngọn cũng khác nhau ở loài thực vật khác nhau và trong cùng một cây thì khác ở vị trí khác nhau này có lẽ quyết định chủ yếu tỉ lệ auxin / xytokinin.

2. Tương quan giữa hệ thống rễ và thân, lá

Nhìn chung mối quan hệ giữa rễ, thân và lá là mối tương quan kích thích : Rễ sinh trưởng tốt sẽ kích thích các bộ phận trên mặt đất sinh trưởng và ngược lại.

Trên quan điểm dinh dưỡng, mối quan hệ hữu cơ này có thể được giải thích như sau :

Rễ sẽ cung cấp nước và chất khoáng cho các bộ phận trên mặt đất, ngược lại các bộ phận trên mặt đất sẽ cung cấp cho hệ thống rễ các sản phẩm của quang hợp để sinh trưởng. Hơn nữa rễ là cơ quan tổng hợp xytokinin và sẽ cung cấp cho các cơ quan trên mặt đất kích thích sự phân chia tế bào và sinh trưởng chồi ; ngược lại chồi ngọn, lá non là cơ quan tổng hợp auxin và một số các hoocmon khác, chúng vận chuyển xuống rễ và kích thích sự phân hoá rễ.

Mối quan hệ hữu cơ này biểu hiện hết sức chặt chẽ trong giai đoạn cây còn non, càng già thì mối quan hệ này càng xấu đi, cây càng hoá già và cuối cùng sẽ chết. Vì vậy, các biện pháp kĩ thuật như bón phân, tưới nước, kích thích sự sinh trưởng, phát triển mạnh của bộ rễ đều có ý nghĩa tăng cường sự sinh trưởng, phát triển của thân lá. Nếu chúng ta hạn chế sinh trưởng của rễ bằng cách làm thiếu dinh dưỡng và nước hoặc cắt rễ, đảo cây... sẽ làm giảm cung cấp xytokinin cho sinh trưởng của chồi, làm cân bằng hoocmon lệch về phía phân hoá mầm hoa và cây có thể ra hoa được.

3. Sự tương quan giữa cơ quan sinh dưỡng và cơ quan sinh sản

Mối tương quan này có ý nghĩa thực tiễn lớn. Chúng có thể điều khiển mối quan hệ này để tăng năng suất thu hoạch. Sự tương quan giữa cơ quan sinh dưỡng và cơ quan sinh sản là sự tương quan ức chế. Thân, lá sinh trưởng mạnh mẽ làm chậm sự hình thành hoa và ngược lại sự hình thành hoa, quả sẽ làm chậm và ngừng sự sinh trưởng của cơ quan sinh dưỡng. Mối quan hệ này được xem xét chủ yếu trên quan điểm hoocmon. Sự sinh trưởng và ra hoa, kết quả được quy định với sự cân bằng giữa hai nhóm chất có tác dụng đối kháng sinh lí : Chất kích thích sinh trưởng và chất ức chế sinh trưởng. Nếu các chất kích thích sinh trưởng chiếm ưu thế thì cơ quan sinh dưỡng được kích thích sinh trưởng và cây trồng không ra hoa. Các chất kích thích sinh trưởng được tổng hợp ở cơ quan sinh dưỡng còn non đang sinh trưởng. Vì vậy khi rễ, thân, lá phát triển mạnh mẽ là lúc các chất kích thích sinh trưởng chiếm ưu thế. Nhưng khi các cơ quan đã hoá già thì chúng tổng hợp và tích luỹ các chất ức chế sinh trưởng và đặc biệt lúc ra hoa, kết quả thì cơ quan sinh sản và cơ quan dự trữ là trung tâm sản xuất các ức chế sinh trưởng. Nếu tỉ lệ nghiêng về chất ức chế sinh trưởng thì cây sẽ ra hoa, quả, hình thành củ và căn hành, đồng thời ức chế sự sinh trưởng của cơ quan sinh dưỡng.

Hiểu biết trên có ý nghĩa lớn về lí luận và thực tiễn. Nếu bằng cách nào đấy chúng ta làm cho cây không ra hoa hoặc ngắt bỏ hoa thì có thể làm cho cây đó sinh trưởng liên tục. Ngược lại, muốn cây ra hoa kết quả thì phải ức chế sự hình thành cơ quan sinh dưỡng. Để làm cây ra hoa nhanh hơn, chúng ta có thể hạn chế dinh dưỡng bằng cách ngắt lá, cắt rễ, đảo cây, hạn chế bón phân, tưới nước... hoặc sử dụng các chất ức chế sinh trưởng thân, lá và tăng cường hình thành củ. Sử dụng MH sẽ kích thích sự hình thành củ hành, tỏi.

Vì vậy, tuỳ theo trường hợp cụ thể mà chúng ta có thể điều chỉnh mối quan hệ giữa cơ quan sinh dưỡng và cơ quan sinh sản theo hướng có lợi cho con người.

Mối quan hệ giữa lá và chồi nách của cây thay đổi theo tuổi của lá. Lá non, sự tương quan giữa chúng là tương quan kích thích, còn các lá già ảnh hưởng ức chế lên sự sinh trưởng của chồi nách.

Tất cả các mối tương quan ở trên đều được xem xét trên quan điểm cân bằng phytohoocmon trong cây. Ở trong cây có sự phân chia các ảnh hưởng điều chỉnh. Ảnh hưởng điều chỉnh khác nhau trong các cơ quan, bộ phận của cây và cả trong các phần khác nhau của cơ quan. Chẳng hạn, trong một cây nếu đi từ ngọn đến gốc thì hàm lượng auxin giảm dần, còn hàm lượng xytokinin và cả giberelin thì lại tăng lên. Các chất ức chế sinh trưởng được tổng hợp và tích luỹ nhiều nhất trong các cơ quan già, cơ quan dự trữ và cơ quan sinh sản gây ảnh hưởng ức chế lên các cơ quan khác.

Trong sự phát triển cá thể của cây, ở giai đoạn còn non, các ảnh hưởng kích thích phát sinh trong các cơ quan non đang sinh trưởng gây ảnh hưởng điều chỉnh lên toàn cây. Nhưng càng ngày ảnh hưởng gây kích thích càng giảm và ảnh hưởng ức chế phát sinh trong cơ quan già càng tăng cao. Lúc hình thành cơ quan sinh sản là trung tâm phát sinh các tác nhân ức chế, cây hoá già nhanh chóng và cuối cùng sẽ chết.

V – SỰ TÁI SINH VÀ TÍNH PHÂN CỰC

1. Sự tái sinh

Khi tách rời một bộ phận nào đấy khỏi cây mẹ, tức là tính nguyên vẹn của cây bị vi phạm, đặc tính vốn có của cây là khả năng khôi phục lại tính nguyên vẹn đó bằng sự tái sinh.

Khác với động vật, thực vật có khả năng tái sinh mạnh mẽ hơn nhiều : Từ một bộ phận tách rời khỏi cây, trong điều kiện nhất định nó có thể tái sinh để cho cây hoàn chỉnh. Khả năng tái sinh mạnh mẽ của thực vật đã gợi ra những ứng dụng hiệu quả cho con người trong việc nhân giống vô tính từ các cơ quan sinh dưỡng khác nhau (chiết, ghép, giâm cành và nuôi cấy mô tế bào...).

Sự tái sinh của thực vật có thể chia ra sự tái sinh sinh lí và sự tái sinh bệnh lí :

Sự tái sinh sinh lí, chúng ta hiểu như là sự thay thế những bộ phận đã mất đi và cần thiết cho chúng trong đời sống. Đây là biểu hiện về mặt sinh lí cần thiết cho cây, chẳng hạn như cây rụng lá vào mùa thu, mùa đông, sang xuân chúng lại tái sinh ra lá mới để đảm nhận chức năng quang hợp tốt hơn.

Sự tái sinh bệnh lí là tái sinh do thương tổn gây ra, chẳng hạn như sự tái sinh làm lành vết thương hoặc phục hồi các phần đã mất đi hay tái sinh cơ quan mới để khôi phục tính nguyên vẹn của cây. Sự tái sinh bệnh lí này rất có ý nghĩa đối với thực vật và con người.

Sự tái sinh làm lành vết thương là hình thức tái sinh bệnh lí đơn giản nhất. Củ khoai tây khi thu hoạch có thể bị mất lớp vỏ ngoài, sau vài ngày chúng có thể tái sinh ra lớp vỏ mới thay thế lớp vỏ đã mất đi và làm lành vết thương. Khi có vết cắt, cây có khả năng làm lành vết thương bằng cách hình thành callus (mô sẹo) từ tầng phát sinh. Sự tái sinh này

được kích thích bởi auxin và xytokinin, do đó việc áp dụng ngoại sinh auxin và xytokinin đã làm nhanh sự hình thành callus ở vết thương.

Sự tái sinh phục hồi là sự tái sinh trực tiếp trên vết thương nhằm khôi phục lại phần đã mất đi. Chẳng hạn, nếu cắt đỉnh rễ (1/2 – 3/4 mm) của cây dâu thì tế bào gần vết thương phân chia và tạo nên đỉnh sinh trưởng mới phục hồi lại phần đã mất và tạo nên chóp rễ. Nếu cắt đỉnh rễ 1 mm thì sẽ tạo nên hai đỉnh rễ mới...

Sự tái sinh ngoài vết thương : Hai hình thức tái sinh ở trên là sự tái sinh ngay trên vết thương, tuy nhiên có hình thức tái sinh khác ngoài vết thương bằng việc sinh trưởng của mầm mới hoặc bằng sự sinh trưởng của các mầm có sẵn từ trước nhưng bị ức chế tương quan. Chẳng hạn, khi loại trừ ưu thế ngọn thì lập tức tái sinh chồi bên ; lá cây *Bryophyllum* tách rời có thể mọc rễ và chồi trên kẽ lá hoặc lá cây thu hải đường (*Begonia*) tách rời có thể tạo rễ và chồi trên callus hay trên biểu bì...

Khả năng tái sinh của thực vật khác nhau phụ thuộc vào đặc tính của loài, giống, các giai đoạn sinh trưởng, phát triển, mùa vụ và các điều kiện sinh thái.

Các phytohoocmon có ý nghĩa rất quan trọng trong quá trình tái sinh của cây. Auxin và xytokinin sẽ làm nhanh sự hàn gắn vết thương ; auxin kích thích sự tái sinh rễ, còn xytokinin và giberelin kích thích sự tái sinh chồi. Trên đoạn thân có lá và chồi khả năng tái sinh dễ dàng hơn nhiều và lá, chồi là cơ quan sản sinh các phytohoocmon nội sinh cần thiết cho sự tái sinh đó.

Việc tái sinh có ý nghĩa lớn trong việc nhân giống vô tính các loại cây ăn quả, cây cảnh, cây thuốc, cây công nghiệp bằng các phương pháp giâm cành, chiết cành, ghép mắt và nuôi cấy mô, tế bào *in vitro*, trong đó việc tái sinh rễ bất định có ý nghĩa thực tiễn lớn.

Sự tái sinh rễ phụ : Rễ phụ xuất hiện do sự tái phân chia của mô phân sinh bên (tầng trước phát sinh, vỏ trụ). Rễ phụ có thể xuất hiện trên cây nguyên vẹn (đa, si, ngô). Khả năng tái phân chia (từ mô sâu bên trong) hoặc là ngoại sinh (ở lớp biểu bì của lá) có thể từ mô phân sinh sơ cấp và cũng có thể từ mô phân sinh thứ cấp. Rễ xuất hiện từ mô phân sinh sơ cấp và cũng có thể từ mô phân sinh thứ cấp. Rễ xuất hiện từ mô phân sinh sơ cấp như lá cây thuốc bỏng (*Broyphyllum*), rễ và chồi xuất hiện ở kẽ răng cưa của lá...

Rễ xuất hiện trên mô phân sinh thứ cấp, tức là từ tầng phát sinh hoặc các tế bào có thành mỏng giữa các bó mạch. Các cây gỗ lâu năm, rễ bắt nguồn từ trung trụ của mô dẫn. Ở một số thực vật rễ phụ được hình thành sớm ở trên cây nguyên vẹn, tạo nên các mầm rễ sẵn và bị ức chế tương quan. Khi cắt bỏ khỏi cơ thể mẹ trong giâm cành, chúng được hoạt hoá và sinh trưởng thành rễ bất định (liễu, bạch dương, một số loài chanh).

Sự hình thành rễ bất định phụ thuộc vào khả năng hình thành các phytohoocmon của thực vật, nếu phytohoocmon đặc trưng hình thành thuận lợi thì sự hình thành rễ dễ dàng. Việc xử lí các chất auxin ngoại sinh (AIA, AIB, α – ANA, 2,4-D...) đã kích thích quá trình tái sinh rễ thuận lợi ở hầu hết các đối tượng thực vật.

Sự hình thành rễ phụ có thể chia làm 3 giai đoạn :

Sự phân chia của mô phân sinh (vỏ trụ) tức là sự phản phân hoá các tế bào ở vùng xuất hiện rễ mạnh mẽ.

Sự tạo nên các mầm rễ phụ.

Sự sinh trưởng kéo dài của mầm rễ thành rễ phụ, xuyên qua vỏ và ra ngoài.

Các giai đoạn này khác nhau rất nhiều về nhu cầu auxin. Giai đoạn thứ nhất đòi hỏi hàm lượng auxin cao cho sự phản phân hoá ban đầu của tế bào (10^{-4} - 10^{-5} g/cm^3) ; giai đoạn hai nhu cầu auxin thấp hơn cho sự xuất hiện mầm rễ (10^{-7} g/cm^3), còn sự sinh trưởng của mầm rễ thành rễ bất định đòi hỏi hàm lượng auxin rất thấp (10^{-11} - 10^{-13} g/cm^3).

Nếu quan hệ giữa auxin và sự hình thành rễ phụ là dương tính thì ngược lại xytokinin và giberelin với quá trình đó thường là âm tính. Trong nuôi cấy mô, auxin kích thích sự hình thành rễ còn xytokinin lại ức chế quá trình này.

Ngoài ra, điều kiện ngoại cảnh có ảnh hưởng lớn đến sự tái sinh rễ phụ : Độ ẩm bão hoà, ánh sáng tán xạ, nhiệt độ ôn hoà... là điều kiện thuận lợi kích thích sự ra rễ nhanh. Nghiên cứu sự tái sinh rễ phụ có ý nghĩa quan trọng trong việc nhân giống vô tính cho các đối tượng cây trồng khác : cây ăn quả, cây công nghiệp, cây cảnh, cây thuốc. Việc xử lí auxin ngoại sinh (AIB, ANA, AIA) đã kích thích sự xuất hiện rễ bất định ở cành giâm. Số lá để lại và tuổi của lá liên quan đến hàm lượng phytohoocmon nội sinh có ý nghĩa rất quyết định đối tượng cành giâm. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng : sự tái sinh rễ phụ là một quá trình sinh lí phức tạp liên quan chặt chẽ đến các biểu hiện nội tại của cành giâm và điều kiện ngoại cảnh. Phương pháp xử lí nồng độ đặc, nhúng nhanh (nồng độ 4000) là có hiệu quả cao hơn cả. Ánh sáng tán xạ, độ ẩm không khí bão hoà... là điều kiện tối ưu cho sự ra rễ của cành giâm.

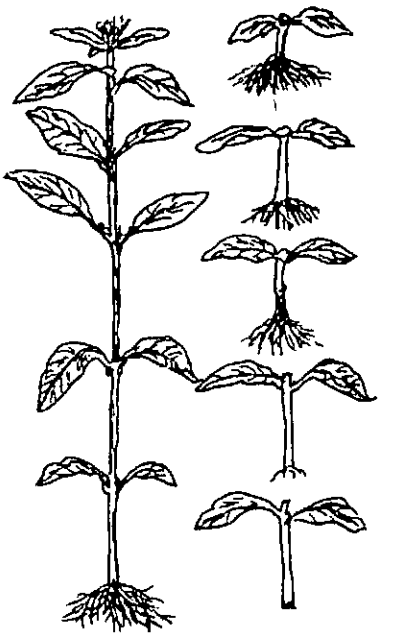
2. Tính phân cực của cây

Phân cực là một đặc tính vốn có của thực vật. Ngay cả tế bào trứng thụ tinh của tế bào thực vật bậc cao cũng phân chia thành hai tế bào con không như nhau : tế bào ở đỉnh thì nhỏ, tế bào gốc lớn. Tế bào ở đỉnh phân chia và phát triển thành phôi còn tế bào gốc phát triển thành mầm rễ. Như vậy phôi rất nhỏ bé cũng biểu hiện tính phân cực : cực rễ và cực thân. Việc hình thành rễ và chồi phụ ở cành giâm, cành chiết cũng liên quan đến tính phân cực của chúng. Một đoạn thân cây bao giờ cũng có hai cực : một đầu hướng đến ngọn và một đầu hướng về gốc. Chồi bao giờ cũng tái sinh ở cực ngọn và rễ thì tái sinh ở cực gốc. Ở một đoạn rễ thì chồi tái sinh bình thường ở đầu gốc và rễ tái sinh ở đầu ngọn. Ở lá, về nguyên tắc thì rễ và chồi xuất hiện nhiều ở gốc lá. Tuy nhiên, ở *Bryphyllum* thì chồi và rễ xuất hiện nhiều nhất ở đầu phiến lá.

Sự phân cực có thể biểu hiện về phương diện các thành phần sinh hoá và hoocmon trong chúng. Hàm lượng chất khô, clorophin cũng như hoạt tính enzim cũng tăng từ gốc đến ngọn. Ảnh hưởng điều chỉnh của phytohoocmon cũng có tính chất phân cực rõ rệt. Việc phân tích hàm lượng phytohoocmon nội sinh trong thân cây lanh đã chỉ ra hàm lượng auxin giảm dần từ ngọn đến gốc và ngược lại, hàm lượng xytokinin tăng dần từ gốc đến ngọn. Trong rễ thì cực ngọn giàu auxin hơn và do đó kích thích sự hình thành rễ, còn cực đối diện nghèo auxin thì kích thích sự xuất hiện chồi. Do ảnh hưởng khác nhau của

sự phân cực đó mà các đoạn cành giâm lấy từ các vị trí khác nhau trên một đoạn thân có khả năng tái sinh khác nhau (hình 113). Nhìn chung khả năng tái sinh rễ trên cành giâm tăng dần từ gốc đến ngọn của cây.

Sự phân cực có ý nghĩa quan trọng trong kĩ thuật ghép, giâm cành. Các cành giâm bao giờ cũng phải cắm phần gốc vào giá thể và trong ghép cây nếu ghép vào gốc không phù hợp về cực tính thì không thể tái sinh và không thành cây được.



Hình 113 – Khả năng tái sinh rễ bất định trên cành giâm ở các vị trí khác nhau.

VI – SỰ NẢY MẦM CỦA HẠT

Sự nảy mầm của thực vật bao gồm sự nảy mầm của hạt, củ, căn hành và chồi ngủ. Nhưng quan trọng nhất là sự nảy mầm của hạt.

Hạt khô có hàm lượng nước 12 – 14% thì hầu như ở trạng thái nghỉ, không sinh trưởng. Thời gian có thể duy trì hạt ở trạng thái nghỉ rất khác nhau tuỳ theo loài thực vật. Có những loại hạt thu hoạch xong có thể nảy mầm ngay nếu đủ điều kiện cần thiết, nhưng có những loại hạt kéo dài thời gian ngủ nghỉ đến hàng trăm, hàng chục năm và thậm chí đến hàng trăm năm sau mới nảy mầm. Sự nảy mầm bắt đầu bằng sự hấp thụ nước nhờ cơ chế hút trương của hạt. Sau khi kết thúc sự ngủ nghỉ, trong hạt bắt đầu tăng tính thuỷ hoá của keo nguyên sinh chất, giảm tính ưa mỡ và độ nhớt của keo, dẫn đến những biến đổi sâu sắc và đột ngột trong quá trình trao đổi chất trong hạt liên quan đến sự nảy mầm. Đặc trưng nhất là tăng mạnh mẽ hoạt tính của enzim thuỷ phân phân giải polisacarit, protein và các chất phức tạp khác thành các chất đơn giản, dẫn đến thay đổi hoạt động thẩm thấu. Các sản phẩm thuỷ phân này dùng làm nguyên liệu cho quá trình hô hấp tăng lên mạnh mẽ của phôi hạt, vừa làm tăng áp suất thẩm thấu trong hạt giúp cho quá trình hút nước vào hạt nhanh chóng.

Sự tăng hoạt tính enzim dẫn đến sự biến đổi các chất dự trữ và mức độ hoạt hoá các enzim riêng biệt phụ thuộc vào tính chất đặc trưng về thành phần hoá học của hạt. Các hạt có chất dự trữ chủ yếu là tinh bột thì enzim α-amilaza là chủ yếu và hoạt tính của nó tăng lên mạnh mẽ khi hạt bắt đầu nảy mầm (ví dụ : 8 ngày sau khi nảy mầm thì ở hạt lúa mì hoạt tính α - amilaza tăng 22 lần, còn ở hạt hướng dương thành phần dự trữ tinh bột là thứ yếu thì chỉ tăng 4 lần) (bảng 13). Còn các hạt có chất dự trữ chủ yếu là protein (đậu) thì hoạt tính enzim proteaza tăng lên mạnh mẽ hơn các enzim khác. Kết quả protein thứ cấp cấu trúc nên chất nguyên sinh của phôi hạt sinh trưởng cây non và cũng có thể kết hợp với NH_3 để tạo nên các amit, đặc biệt là sự nảy mầm của hạt trong tối (asparagin, glutanin).

Sự tăng hoạt tính enzim có lẽ là do quá trình tổng hợp mới các enzim ở trong lớp alơron hơn là quá trình hoạt hoá các enzim cũ vốn có trong hạt.

Bảng 13 : Sự biến đổi hoạt tính của enzim α-amilaza khi nảy mầm hạt lúa mì và hạt hướng dương

Thời gian nảy mầm (*ngày*)	Hoạt tính của α - amilaza (%)	
	Lúa mì (*Triticum aestivum*)	Hướng dương (*Helianthus annuus*)
0	100	100
2	139	102
3	230	141
6	1850	300
8	2390	346
11	2190	416

Trong hạt đang ngủ nghỉ thì hàm lượng ADN là tối thiểu và hàm lượng ARN là rất nghèo. Nhưng khi bắt đầu nảy mầm và trong quá trình nảy mầm của hạt, xảy ra sự tổng hợp rất mạnh mẽ axit nucleic...

Rõ ràng, những biến đổi về sinh hoá xảy ra cực kì mãnh liệt ngay khi phôi phát động sinh trưởng. Còn hoạt động sinh lí trong quá trình nảy mầm, đặc trưng nhất là những biến đổi về hô hấp. Ngay sau khi hạt hút nước, lập tức hoạt tính các enzim hô hấp tăng lên mạnh mẽ và kết quả là cường độ hô hấp cũng tăng lên tương ứng : chẳng hạn 1 kg hạt lúa khô giải phóng 0,3 – 0,4 mgCO_2/ ngày nhưng khi hút nước đến 30% thì cường độ hô hấp có thể tăng lên 3000 mgCO_2/ngày. Việc tăng cường độ hô hấp giúp cho phôi hạt có đủ năng lượng và nguyên liệu cần thiết.

Nhiệt độ : Giới hạn nhiệt độ cho sự nảy mầm là rất khác nhau, phụ thuộc vào loại thực vật (bảng 14).

Bảng 14 : Giới hạn nhiệt độ cho sự nảy mầm của hạt một số cây trồng

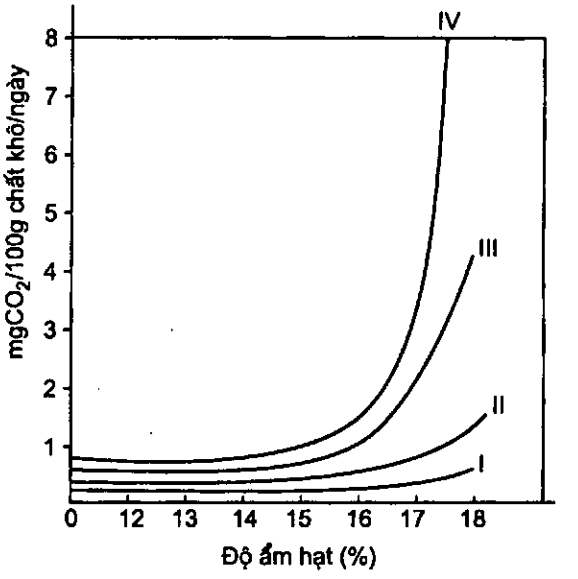
Loại thực vật	Nhiệt độ (^oC)		
	Cực tiểu (minimum)	Tối thích (optimum)	Cực đại (maximum)
Mạch (*Hordeum vulgaris*)	3 – 4	26	28 – 30
Mì (*Triticum aestivum*)	3 – 4	25	32
Ngô (*Zea mays*)	8 – 10	35	45
Lúa (*Oryza sativa*)	10 – 12	35 – 37	44 – 50
Đậu Hà Lan (*Pium sativum*)	1 – 2	30	35
Củ cải đường (*Brassia napus*)	1 – 2	20	40
Hướng dương (*Helianthus annuus*)	8 – 9	28	35
Dưa hấu (*Citrullus vulgaris*)	12 – 14	35	40
Thuốc lá (*Nicotana tabacum*)	13 – 14	28	32 – 35
Bông (*Gossypium*)	12 – 26	37 – 44	44 – 50

Nhiệt độ tối thích cho sự nảy mầm với đa số thực vật là từ 25 – 28^oC, với cây nhiệt đới khoảng 30 – 35^oC. Nhiệt độ tối thích này thường thấp hơn nhiệt độ tối thích cho sự sinh trưởng. Nhiệt độ tối cao cho sự nảy mầm của thực vật ôn đới là 35 – 37^oC, còn thực vật nhiệt đới là 37 – 40^oC.

Trong nhiều trường hợp, việc xử lí nhiệt độ thấp (xử lí xuân hoá) thuận lợi cho sự nảy mầm, có thể phá sự ngủ nghỉ và cây sinh trưởng, phát triển nhanh hơn. Đây cũng là biện pháp sử dụng có kết quả trong sản xuất. Nhiệt độ xúc tiến các biến đổi sinh hoá tăng quá trình hô hấp và kích thích sự nảy mầm. Chính vì vậy trong sản xuất người ta thường tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình ngâm ủ hạt giống.

Ánh sáng : Phản ứng ánh sáng đối với sự nảy mầm là rất khác nhau tuỳ theo từng đối tượng thực vật. Ở một số loài thực vật, hạt chỉ nảy mầm ngoài ánh sáng. Một số thực vật khác thì ánh sáng kích thích nhanh sự nảy mầm, còn bóng tối có tác dụng ức chế nảy mầm (hạt thuốc lá, xà lách, hạt cà rốt...). Ngược lại, sự nảy mầm một số hạt (*Amaranthus rehoflexus*...) bị ức chế bởi ánh sáng.

Nước : Nước là điều kiện quan trọng cho sự nảy mầm. Hạt khô không khí có hàm lượng nước 10 – 14% thì không nảy mầm. Nhờ lực hút trương của keo mà hạt giống hút nước và khi hàm lượng nước 50 – 70% thì các hoạt động sống tăng cường lên mạnh mẽ và phôi phát động sinh trưởng hay nảy mầm. Khi độ ẩm tăng, cường độ hô hấp tăng lên mạnh mẽ nhất tạo điều kiện cho sự nảy mầm nhanh chóng. Tuy nhiên, ảnh hưởng của nước thường trong mối quan hệ với ảnh hưởng của nhiệt độ đối với sự nảy mầm (hình 114). Vì vậy trong sản xuất, nước và nhiệt độ là hai yếu tố quan trọng nhất mà người ta dùng để điều chỉnh sự nảy mầm của hạt bằng kĩ thuật ngâm ủ hạt giống.



Hình 114 – Mối quan hệ giữa độ ẩm, nhiệt độ và cường độ hô hấp của lúa mì lúc nảy mầm (I : 0°C ; II : 10°C ; III : 18°C ; IV : 25°C)

O_2 và CO_2 : Oxi rất cần cho quá trình hô hấp của phôi hạt, mầm non lúc nảy mầm. Tuy vậy, mức độ mẫn cảm với oxi cho sự nảy mầm của các loại hạt là khác nhau. Một số hạt nảy mầm trong không khí, trong nước, như mầm lúa sinh trưởng tốt nhất khi hàm lượng oxi trong môi trường nước đạt 0,2 %. Nếu thiếu oxi thì hệ số hô hấp sẽ tăng lên trong quá trình nảy mầm. Chẳng hạn nếu hạt lúa mạch đặt trong nước thì RQ tăng từ 1 đến 7,5. Trong quá trình hô hấp của hạt sản sinh ra CO_2, nếu tích luỹ lại thì sẽ ức chế sự nảy mầm. Khi hàm lượng CO_2 tăng lên 35% thì hạt sẽ bị chết. Vì vậy trong quá trình ngâm ủ hạt giống, ngoài việc xử lí nước ấm thì cần thiết phải đảo khối hạt giống để cung cấp O_2 và tránh tích tụ nhiều CO_2 gây nên hô hấp yếm khí, giải phóng rượu gây độc cho hạt. Khi gieo hạt nếu gặp mưa thì cần xới, phá váng để cung cấp O_2 cho hạt nảy mầm.

Ngoài ra, nồng độ muối tan trong đất có ảnh hưởng đến sự nảy mầm của hạt vì nếu áp suất thẩm thấu của đất cao, hạt không hút được nước và không thể nảy mầm được. Vì vậy việc bón phân lúc gieo hạt cũng cần được chú ý đến.

VII – CÁC HÌNH THỨC VẬN ĐỘNG SINH TRƯỞNG

Thực vật không có hình thức vận động như động vật, nhưng chúng có nhiều kiểu vận động kết hợp với sinh trưởng và với bộ phận cây theo chu kì ngày đêm. Có thể chia vận động của cây thành hai loại chính :

– Vận động hướng động (hướng ánh sáng, hướng đất, hướng nước, hướng hoá).

– Vận động cảm ứng (vận động xoắn ốc, vận động trương nước, vận động ngủ, vận động nở hoa).

1. Các hình thức vận động sinh trưởng (hướng động)

Vận động hướng động là vận động sinh trưởng cơ bản khi phản ứng với tác nhân kích thích định hướng (vận động có hướng). Chúng xảy ra do sinh trưởng không đồng đều và gây ra sự uốn cong hướng đến hướng kích thích (dương) hay quay đi khỏi hướng kích thích (âm). Rõ ràng sự sinh trưởng không đồng đều một phần do sự phân bố của auxin (hay hoocmon khác) do kết quả tiếp nhận kích thích.

a) Tính hướng sáng

Phản ứng hướng sáng dễ dàng nhận thấy khi đưa bao lá mầm vào ánh sáng chiếu một bên, bao lá mầm sẽ uốn cong hướng về phía ánh sáng do tế bào kéo dài mạnh mẽ hơn bên phía bị che tối (không được chiếu sáng).

Phản ứng hướng sáng phổ biến khác là sự định hướng của lá về phía ánh sáng. Tán lá thường trải bề mặt cực đại với ánh sáng tới để nhận photon hiệu quả nhất. Kiểu sinh trưởng khảm ở lá cây thường xuân là một ví dụ.

Thực vật thuộc giống *Lactuca* và *Silphium* có bề mặt lá định hướng theo góc vuông với sánh sáng mặt trời (phiến lá hướng về phía đông và phía tây).

Ở đối tượng khác, phản ứng hướng sáng thực sự là sự vận động trương trong đó lá hoặc hoa hướng theo góc của Mặt Trời suốt ngày. Ví dụ rõ ràng nhất là hoa hướng dương mà đầu hoa luôn hướng theo con đường của ánh sáng mặt trời. Thực ra, dạng vận động này là thuận nghịch thuộc tính hướng kích thích.

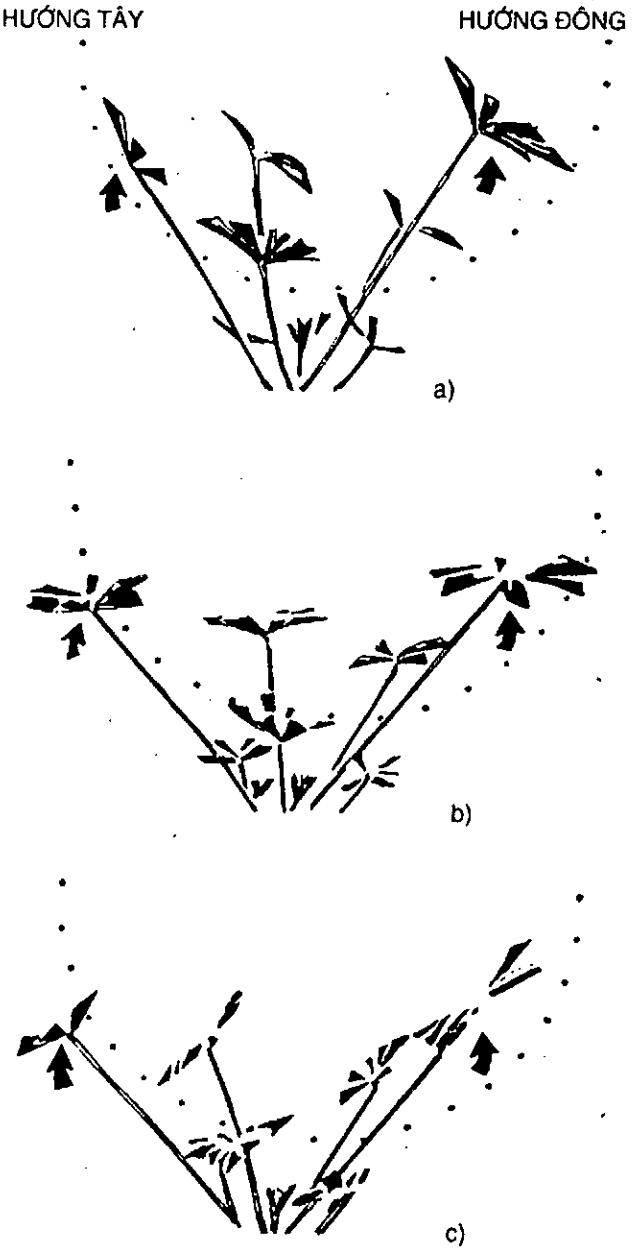
Tìm Mặt Trời ở cỏ *Lupin* sa mạc là một kiểu phản ứng trực tiếp với ánh sáng (hình 115). Nó diễn ra thường xuyên ở điều kiện tự nhiên và rõ ràng không thuộc nhịp sinh học vì không xảy ra trong tối. Trong điều kiện ánh sáng chiếu một bên liên tục, lá hướng đến nguồn sáng. Buổi sáng lá hướng về phía đông theo Mặt Trời (hình 115a). Khi Mặt Trời chuyển từ đông sang tây (hình 115a, b) lá cũng hướng theo.

Ở điều kiện ánh sáng mặt trời toàn phần, nhiều cây thân thảo có phản ứng quang hướng âm còn trong tối có phản ứng quang hướng dương. Một số loài cỏ khi ở ngoài ánh sáng mặt trời thì bò lan trên mặt đất nhưng khi trong tối chúng sinh trưởng thẳng đứng và được kéo dài ra. Nếu ở ngoài sáng một số rễ có phản ứng quang hướng âm và sinh trưởng theo hướng ngược chiều sáng.

Phản ứng quang hướng nhạy cảm cực đại với ánh sáng xanh, (hình 115) không giống phản ứng quang phát sinh hình thái, nhạy cảm với ánh sáng đỏ (phản ứng phytocrom - xem phần XI ở mục 2).

Quang hướng không phải là một phản ứng quang phát sinh hình thái (quang tạo hình)vì nó không phụ thuộc vào sự chiếu sáng có hướng.

Ở mức năng lượng thấp (khoảng 0,1 j/m^2) có phản ứng dương đối với ánh sáng. Trên mức này, phản ứng quang hướng thuận nghịch cho đến khi năng lượng ánh sáng tăng lên và có một phản ứng thứ hai. Phản ứng thứ nhất là phản ứng cường độ thấp thể hiện tính thuận nghịch (cường độ, thời gian là một hằng số), nhưng phản ứng cường độ cao không thuận nghịch. Vì lí do đó, ta có thể nhận được một phổ hoạt động thích hợp cho phản ứng cường độ cao.



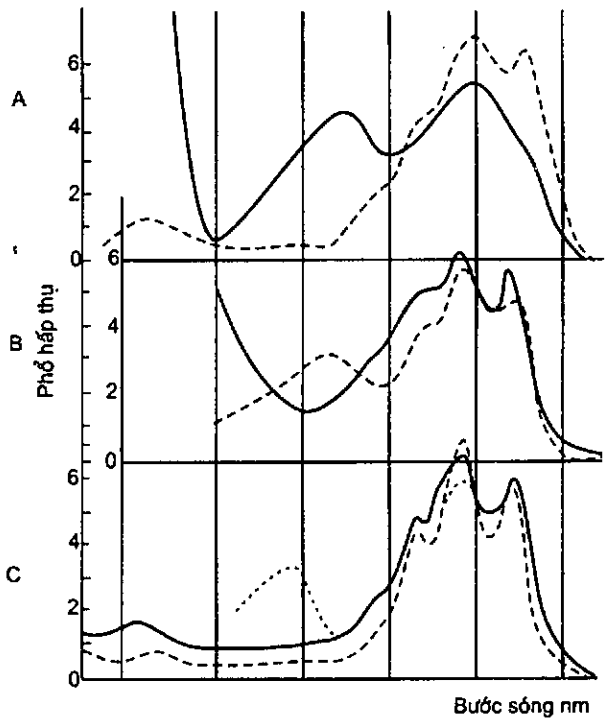
Hình 115 – Lá cỏ Lupin sa mạc hướng về Mặt trời trong ngày. Buổi sáng (ảnh a) lá hướng về Mặt Trời ở phía đông. Khi Mặt Trời chuyển từ đông sang tây (ảnh b và c) thì lá hướng theo.

Phản ứng cường độ mẫn cảm với ánh sáng xanh dưới 500 nm, có một đỉnh cực đại khoảng 450 nm (hình 116). Do carotenoit và flavin cũng có phổ hoạt động và phổ hấp thụ tương tự nhau nên không thể xác định rõ sắc tố nào hấp thụ năng lượng ánh sáng. Tuy nhiên, có một số bằng chứng cho rằng sắc tố hấp thụ năng lượng ánh sáng là một phức hệ gồm một phân tử flavin và một phân tử xytocrom.

Vậy giải thích như thế nào về phản ứng quang hướng ? Phần sau sẽ trình bày đầy đủ hơn khi đề cập đến cơ chế tác động của auxin, ở đây chỉ nêu những nét cơ bản.

Chóp của bao lá mầm nhận ánh sáng và có phản ứng hướng. Ánh sáng kích thích sự dẫn truyền auxin từ phía ánh sáng đến phía bị che tối làm tế bào sinh trưởng không đều và uốn cong về phía ánh sáng. Đó là giả thuyết của Cholodny và Went đồng thời xuất hiện và những năm 1920.

Giả thuyết thứ hai cho rằng ánh sáng gây quang phân huỷ auxin. Ánh sáng xanh hoạt hoá riboflavin và violaxanthin và phân huỷ auxin. Song trong thí nghiệm kiểm tra, ánh sáng đủ để gây tác dụng uốn cong và không làm giảm tổng hàm lượng auxin của chóp cây. Điều này mâu thuẫn với giả thuyết trên.



Hình 116 – Phổ hấp thụ
- Đường liền(——) : riboflavin ; - Đường gián đoạn (- - - - -) : β - caroten. (A)
- Đường liền : dịch chiết hexan từ bao lá mầm ;
- Đường gián đoạn (- - - -)- : phổ hoạt động từ đường cong trên (B).
- Đường liền (——) : α - caroten,- Đường gián đoạn (- - - - -) : lutein (một dạng carotenoit) ; Đường chấm chấm (. . . . .) : 9,9' - mono-cis-caroten. (C)

Giả thuyết thứ ba : Ánh sáng làm giảm tốc độ tổng hợp auxin trên phía bị chiếu sáng. Nhiều thí nghiệm cho rằng ở ngoài ánh sáng và trong tối chóp bao lá mầm tạo ra lượng auxin như nhau và như vậy mâu thuẫn với giả thuyết phân huỷ và thuyết ức chế tổng hợp auxin.

Song trong các thuyết cổ điển đã nêu thì giả thuyết dẫn truyền bên trong của auxin do Went và Cholodony đề xuất là hợp lí hơn cả.

Tuy nhiên, trong những năm 70 và 80 của thế kỉ này có nhiều dẫn liệu để hình thành một giả thuyết mới giải thích tính quang hướng của cây (Bruinsma và cộng sự, 1975 ; Thomsons và Bruinsma, 1977 ; Fransse và Bruinsma, 1981 ; Macleod và cộng sự, 1984 ; Hagegawa và cộng sự, 1986) làm chỗ dựa cho thuyết của Blaauw (1915) : Phản ứng quang hướng là do sự tích luỹ tại chỗ chất ức chế sinh trưởng cao hơn ở phái bị chiếu sáng so phía bị che tối, do đó ức chế sinh trưởng tế bào phía bị chiếu sáng (làm tế bào bị sinh trưởng chậm), còn tế bào trên phía kia sinh trưởng nhanh hơn, nên chồi cây uốn cong về phía ánh sáng. Mặt khác, các tác giả trên cho rằng không có sự phân bố theo cực hay bất đối xứng của auxin trên phía chiếu sáng và che tối vì cả hai phía có hàm lượng AIA như nhau. Đồng thời họ còn phát hiện, tách và định chế được ba chất ức chế sinh trưởng lấy tên là cis và trans-raphanusanin và raphanusamit dưới dạng tinh thể của cây củ cải non (Raphanus). Các tác giả đã dùng ba chất ức chế cho vào trụ dưới lá mầm củ cải, với

nồng độ 1,5 MM cis và trans-raphanusanin, còn raphanusanmit với nồng độ khoảng 20 MM thì gây phản ứng ức chế sinh trưởng.

Tóm lại, thuyết này thừa nhận sự uốn cong quang hướng (phototropic curvanture) ở trụ dưới lá mầm củ cải là do sự tổng hợp cảm ứng ánh sáng của cis và trans- raphanusanin và raphanusamit và ức chế sinh trưởng ở vị trí chiếu sáng, do đó phản ứng uốn cong quang hướng không phải do sự tích luỹ bất đối xứng của auxin như thuyết Cholodny và Went đã nêu.

b) Tính hướng địa (tính hướng đất, tính hướng trọng lực Geotropism)

Thường thì rễ cây sinh trưởng hướng xuống, còn chồi sinh trưởng hướng lên. Sự sinh trưởng như vậy là một phản ứng bình thường với trọng lực.

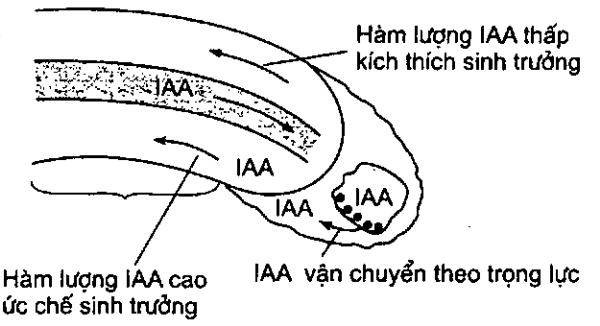
Sinh trưởng của chồi cây hướng lên ngược với trung tâm của quả đất gọi là địa hướng âm, còn sinh trưởng của rễ hướng đến trung tâm là địa hướng dương.

Phần lớn các bộ phận trên cây biểu hiện một số phản ứng hướng địa dương.

Sinh trưởng của thân, như thân rễ (căn hành) và thân bò (thân bò) tạo góc vuông với trường trọng lực gọi là sinh trưởng hướng đất ngang (diageotropic growth).

Các cành bên thường tạo góc khoảng 90°, phản ứng với trọng lực gọi là tính hướng đất nghiêng (plagiogeotropism).

Một vài cơ quan thực vật thực sự không có tính hướng đất – không phản ứng với trọng lực (ageotropism) hay tính không hướng trọng lực.



Hình 117 – Sơ đồ giải thích tính hướng trọng lực của rễ

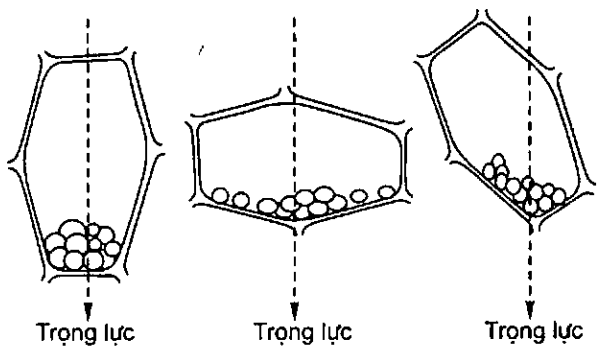
Vậy các tác nhân nào gây nên tính địa hướng hay tính hướng trọng lực của cây ?

Quan niệm đầu tiên cho rằng auxin có thể đóng vai trò điều chỉnh do sự phân bố bất đối xứng ở hai phía trên và dưới của rễ hay chồi, dẫn đến sinh trưởng không đều, gây phản ứng địa hướng (tương tự vai trò của auxin với quang hướng).

Thí nghiệm với bao rễ cho thấy ức chế sinh trưởng có vai trò quan trọng hơn trong việc gây ra tính định hướng. Nếu loại bỏ rễ, sự kéo dài tế bào vẫn xảy ra, những tính định hướng mất đi. Nếu cắt bỏ một nửa bên của bao rễ, xảy ra sinh trưởng rễ hướng đến phía có nửa còn lại. Như vậy bao rễ, tạo ra một chất ức chế sinh trưởng (giả định là axit absxixic) và dẫn đến sinh trưởng bất đối xứng mà phản ứng với trọng lực. Mô cây mẫn cảm với môi trường hấp dẫn như thế nào ?

Ở rễ có mặt các bào quan nhạy cảm với trọng lực gọi là sỏi thăng bằng (statolith). Đó có thể là các hạt tinh bột nằm bên trong tế bào rễ chuyên hoá gọi là tế bào thăng bằng (statocyte-tế bào có chứa sỏi thăng bằng).

Lực hấp dẫn làm lắng sỏi thăng bằng của hạt tinh bột lớn hướng xuống ngược với lưới nội chất được định hướng riêng biệt (hình 118). Điều này phù hợp với khái niệm về sỏi thăng bằng. Có thể thấy hạt tinh bột lớn trong tế bào thăng bằng ở tế bào rễ và rõ ràng chúng sẽ định hướng khi phản ứng với thay đổi trường hấp dẫn. Rõ ràng, một số rễ có bộ phận mẫn cảm với trọng lực. Giả thiết cho rằng thời gian cần để làm lắng các sỏi thăng bằng của hạt tinh bột là xấp xỉ thời gian cần để lực hấp dẫn gây nên phản ứng địa hướng.



Hình 118 – Sơ đồ chứng minh tế bào thăng bằng mẫn cảm với trọng lực. Sự kích thích theo địa hướng làm lắng các hạt tinh bột gây nên phản ứng địa hướng.

Tuy nhiên nhiều cơ quan thực vật có phản ứng địa hướng nhưng không chứa hạt tinh bột, do đó xuất hiện các giả thuyết khác. Một trong các giả giả thiết đó cho rằng các cơ quan nằm ngang mẫn cảm với thế điện đất. Bằng thực nghiệm đo được hiệu điện thế rất lớn đến 20 mv qua cơ quan nằm ngang. Với hiệu điện thế đó có thể phân bố lại ion và có lẽ có tác dụng định hướng lại chiều hướng sinh trưởng của cây.

c) Tính hướng tiếp xúc (Thigmotropism)

Nhiều cây có kiểu vận động sinh trưởng khi phản ứng với kích thích cơ học (va chạm). Ví dụ điển hình là sự leo cuốn của tua cuốn cây đậu và cây nho leo. Chỉ một vài phút sau khi va chạm phải kích thích cơ học, tua cuốn co lại ở bề mặt dưới và kéo dài bề mặt trên, như vậy tua cuốn sẽ cuốn xung quanh một vật nhỏ như cọc chẳng hạn.

Còn ít biết về cơ chế phản ứng này ngoại trừ khi xử lí auxin sẽ dẫn đến phản ứng và mức ATP bên trong tế bào giảm, chứng tỏ phản ứng cần năng lượng.

Có quan niệm cho rằng sự sinh trưởng dẫn đến sự leo cuốn trong phản ứng hướng tiếp xúc là do sự dẫn truyền của auxin tương tự với phản ứng xảy ra trong các phản ứng quang hướng.

d) Tính hướng nước (hidrotropism)

Tính hướng nước là sự vận động của rễ hướng đến nước. Ở đây nước đóng vai trò như tác nhân kích thích của môi trường dẫn đến phản ứng hướng nước.

Rễ thường sinh trưởng theo phản ứng hướng địa và có ít hay không có khuynh hướng sinh trưởng hướng đến nước.

Nghiên cứu của Lomis và cộng sự (1936) : Chỉ một vài loài cây họ Đậu và họ Bầu bí thực sự có khuynh hướng uốn cong hướng đến đất ẩm và rời xa vùng đất khô.

Rễ thường sinh trưởng hướng xuống (theo nguyên lí địa hướng). Khi thâm nhập vào đất khô, sinh trưởng của rễ thường dừng lại. Trong suốt quá trình phát triển rễ, chúng có khả năng phát triển rễ bên nhưng hiếm khi xảy ra, trừ khi rễ trong đất ẩm ở trên điểm héo vĩnh cửu (mức độ ẩm của đất làm cây héo).

Theo quan niệm chung, có thể xảy ra phản ứng sinh trưởng hướng nước của rễ theo gradien nước từ đất ẩm đến đất khô, nhưng còn thiếu bằng chứng cho kiểu sinh trưởng đó,

trừ nghiên cứu của Lomis đã nêu trên đối với cây họ Đậu và họ Bầu bí. Phần lớn cây được nghiên cứu không thể hiện phản ứng hướng nước.

Nếu trong cây xảy ra vận động sinh trưởng hướng nước thì phải thừa nhận quan niệm rằng dẫn truyền auxin và sinh trưởng khác nhau gây nên sự uốn cong rễ hướng nước.

e) Các tính hướng khác

Có nhiều loại vận động hướng kích thích khác của cây khi phản ứng với các tác nhân kích thích môi trường.

Khi phản ứng với các loại hoá chất gọi là tính hướng hoá với điện trường tính hướng điện và nhiệt độ cho tính hướng nhiệt.

Tất cả các tính hướng này đều có thể xảy ra nhưng thực sự còn ít biết về chúng.

2. Các hình thức vận động sinh trưởng cảm ứng

a) Vận động xoắn ốc

Là hình thức vận động sinh trưởng do sinh trưởng không đều và rõ ràng không phụ thuộc vào môi trường (không phản ứng với các tác nhân kích thích môi trường).

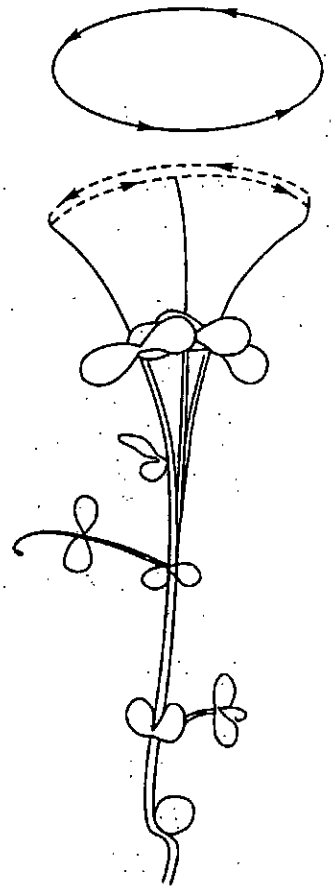
Thân cây sinh trưởng hướng lên (địa hướng âm) không đi theo một đường thẳng nhưng kéo dài hình elíp mở rộng.

Ví dụ rõ ràng nhất là vận động sinh trưởng vòng quấn của thân leo (Circumnutationa growth). Thân sinh trưởng theo hình gần giống như một đường xoắn ốc mở rộng ở cây nho leo. Khi thân quấn quanh một vật nào đấy thì tế bào kéo dài nhiều hơn phần ngoài phía dưới của thân so bề mặt trong ở phía trên và dẫn đến sinh trưởng quấn (twining growth).

Có thể giải thích phản ứng này như là kết quả của việc tích luỹ auxin trên bề mặt dưới của thân, làm tế bào kéo dài mạnh hơn so bề mặt trên, do đó thân sinh trưởng không đều rồi vặn vẹo và quấn quanh vật. Tuy nhiên chưa có bằng chứng trực tiếp.

Có bằng chứng cho rằng khi nồng độ hoocmon sinh trưởng giberelin thấp trong tế bào, thì phản ứng xoắn ốc sinh trưởng giảm xuống hay mất đi.

Các nghiên cứu về sinh trưởng xoắn ốc của tua cuốn cây họ Đậu cho thấy rằng vận tốc trung bình của vận động xoắn ốc của chóp tua cuốn cây đậu là 1,57 mm/phút. Mỗi vận động xoắn ốc chiếm khoảng 80 phút (hình 119).



Hình 119 – Sơ đồ về sinh trưởng xoắn ốc tua cuốn cây đậu.

b) Vận động ngủ, vận động nở hoa

Chúng xảy ra do sinh trưởng không đều ở hai phía bề mặt của các cơ quan sinh trưởng. Ví dụ điển hình là vận động sinh trưởng cong (epinasti). Đó là phản ứng mở của mầm hoa do cuốn cong trở lại của lá bắc và các bộ phận của bao hoa.

Giải thích : Tốc độ kéo dài ở bề mặt trên lớn hơn so với bề mặt dưới làm cơ quan uốn cong lại.

Khi cơ thể phản ứng với ánh sáng gọi là quang ứng động (photonasty : Ứng động ánh sáng), với nhiệt độ : Nhiệt ứng động (thermonasty) hoặc với các nhân tố môi trường khác.

Phản ứng ứng động hay vận động cảm ứng trong đó cơ quan cuốn cong hướng xuống gọi là vận động sinh trưởng cong (epinasty), thường xảy ra ở lá. Ví dụ, cuống lá uốn cong hướng xuống và lá hướng về đất chứ không hướng lên.

Trong nhiều cây, etilen gây nên phản ứng sinh trưởng cong.

Ngược lại với vận động sinh trưởng cong (epinasty) là hyponasty hay vận động ứng động yếu trong đó các bộ phận cây uốn cong hướng lên. Như vậy, thực chất của phản ứng epinasty là uốn cong hướng xuống còn hyponasty là uốn cong hướng lên của các cơ quan hay bộ phận cây.

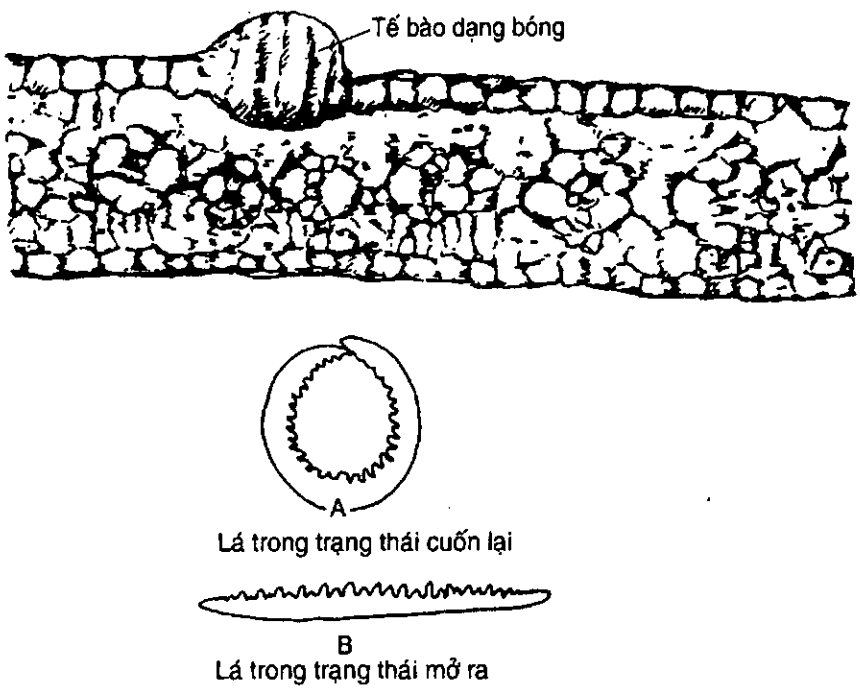
Bản chất sinh lí của vận động sinh trưởng cảm ứng còn chưa rõ ràng, nhưng nhiều giả thiết cho rằng sự dẫn truyền auxin và trạng thái cân bằng hoocmon là nhân tố quan trọng dẫn đến các vận động này.

c) Vận động không sinh trưởng (vận động trương nước)

Nhiều dạng vận động của cây không phải là vận động sinh trưởng thực.

Chúng thuận nghịch, xảy ra do biến đổi độ trương trong tế bào hay vùng chuyên hoá của cơ quan. Ví dụ điển hình là của cây bắt mồi *Venus* khép lại rất nhanh chóng khi côn trùng đụng phải. Ví dụ hai của phản ứng trương là sự mở và đóng khí khổng do tế bào bảo vệ điều chỉnh.

Lá của các loài cỏ uốn cong theo chu kì ngày đêm là một dạng vận động trương do sự mất nước từ tế bào chuyên hoá ở bề mặt trên gọi là tế bào dạng bóng (bulliformcell) (hình 120).



Hình 120 – Tế bào dạng bóng lớn ở bề mặt trên của lá ngô

Khi tế bào dạng bóng trương hoàn toàn, lá mở ra.

Khi tế bào dạng bóng mất nước (nước vào mô lân cận) lá uốn cong lại, hiện tượng nhịp điệu xảy ra hằng ngày nhưng cũng xuất hiện khi cây héo.

Một ví dụ điển hình khác về vận động trương trong cây là hiện tượng đi tìm Mặt Trời của hoa, lá hướng dương trong suốt cả ngày.

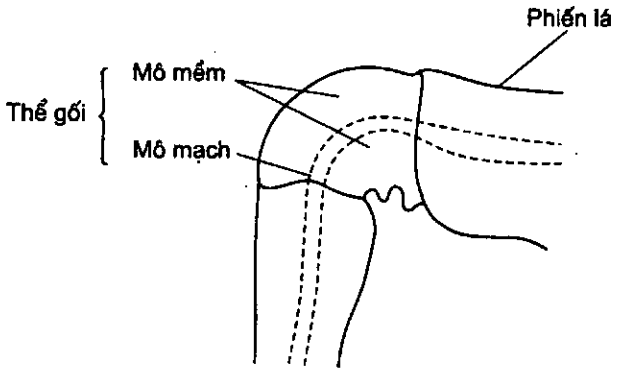
Nhiều cây họ Đậu và một số cây khác biểu hiện vận động trương khép (xẹp) là đặc trưng mang tính nhịp điệu, như vận động ngủ hoặc kết quả của kích thích cơ học, hoá học, nhiệt. Cây xấu hổ *Mimosa padisa* phản ứng với va chạm bằng cách gấp (xếp) lá nhanh.

Phản ứng bắt đầu ngắn hơn 0,1 giây và hoàn thành trong khoảng 1 giây. Sau khi kích thích sự phục hồi cần từ 10 đến 20 phút hoặc lâu hơn. Ngoài lá nhận kích thích, các lá khác sẽ phản ứng nhưng chậm hơn nhiều.

Mimosa sẽ phản ứng với kích thích cơ học như sự va chạm và với hoá chất, sốc điện và sẽ dẫn đến sự héo lá.

Ở gốc cuống lá và đôi khi ở gốc của cuống lá chét có cơ quan chuyển hoá gọi là thể gối (pulvinus).

Một thể gối bao gồm các tế bào mô mềm có vách mỏng bao quanh mô mạch dẫn và có thể coi như một gốc của cuống lá hoặc cuống lá chét trương lên (hình 121).



Hình 121 – Sơ đồ về thể gối - cấu trúc chuyên hoá gần mô mềm bao quanh mô mạch dẫn

Khi tế bào của thể gối trương hoàn toàn thì cuống lá hoặc cuống lá chét đứng thẳng, lá và lá chét xoè hoàn toàn.

Nếu nước được dẫn truyền từ tế bào mô mềm vào mô mạch dẫn hoặc mô lân cận, tế bào thể gối mất sức trương nước ở bề mặt dưới so với độ trương của tế bào thể gối ở bề mặt trên, do đó cuống lá xếp gập lại, làm cho lá khép lại với nhau. Như vậy, độ trương của tế bào thể gối ở bề mặt dưới lá và bề mặt trên là khác nhau và có tính thuận nghịch.

Có bằng chứng cho rằng cơ chế biến đổi độ trương nước trong tế bào thể gối có thể sánh được với những biến đổi trương nước trong tế bào bảo vệ thuộc khí khổng. Sự biến đổi nồng độ kali và malat kết hợp với biến đổi thế thẩm thấu làm nước di chuyển khỏi tế bào gối, do đó độ trương biến đổi theo.

Phản ứng vận động ngủ ở lá cũng có tính nhịp điệu. Ngoài các hình thức vận động phổ biến vừa kể trên còn tồn tại các dạng vận động khác nhưng ít phổ biến - vận động hydrat hoá.

Sự mở (nứt, nẻ) quả khô ở cây họ Đậu do quá trình hydrat hoá tế bào khô, tạo nên áp suất nhất định làm nứt nẻ vỏ quả đậu để phát tán hạt.

Sự mở nhanh chóng túi bào tử dương xỉ tạo nên lực phóng mạnh các bào tử ra ngoài.

Sự vận động hydrat hoá thường kết hợp với mô không sống.

VIII – CÁC CHẤT ĐIỀU HOÀ SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN THỰC VẬT

Thực vật không những cần cho quá trình sinh trưởng, phát triển của mình các chất hữu cơ (protein, gluxit, lipit, axit nucleic...) để cấu trúc nên tế bào, mô và cung cấp năng lượng cho các hoạt động sống của mình, chúng còn rất cần các chất có hoạt tính sinh lí như vitamin, enzim và các hoocmon mà trong đó các hoocmon có một vai trò rất quan trọng trong việc điều chỉnh các quá trình sinh trưởng, phát triển và các hoạt động sinh lí của cơ thể.

Các chất điều hoà sinh trưởng, phát triển của thực vật là những chất có bản chất hoá học rất khác nhau nhưng đều có tác dụng điều tiết quá trình sinh trưởng, phát triển của cây từ lúc tế bào trứng thụ tinh phát triển thành phôi cho đến khi cây ra hoa, kết quả, hình thành cơ quan sinh sản, dự trữ và kết thúc chu kì sống của mình.

Các chất điều hoà sinh trưởng của thực vật bao gồm các phytohoocmon và các chất điều hoà sinh trưởng tổng hợp nhân tạo.

Phytohoocmon là các chất hữu cơ có bản chất hoá học rất khác nhau được tổng hợp với một lượng rất nhỏ ở các cơ quan, bộ phận nhất định của cây và từ đấy vận chuyển đến tất cả các cơ quan, các bộ phận khác để điều tiết các hoạt động sinh lí, các quá trình sinh trưởng, phát triển của cây và để đảm bảo mối quan hệ hài hoà giữa các cơ quan, bộ phận trong cơ thể.

Song song với các phytohoocmon được tổng hợp trong cơ thể thực vật, ngày nay bằng con đường hoá học con người đã tổng hợp nên hàng loạt các chất khác nhau có hoạt tính sinh lí tương tự. Các chất điều hoà sinh trưởng tổng hợp nhân tạo rất phong phú và đã có những ứng dụng rất rộng rãi trong nông nghiệp.

Về đại cương thì các chất điều hoà sinh trưởng, phát triển của thực vật được chia làm hai nhóm có tác dụng đối kháng về sinh lí : cát chất kích thích sinh trưởng (stimulator) và các chất ức chế sinh trưởng (inhibitor). Các chất điều hoà sinh trưởng ở nồng độ thích hợp có ảnh hưởng kích thích đến quá trình sinh trưởng của cây được gọi là các chất kích thích sinh trưởng. Còn các chất điều hoà sinh trưởng nhìn chung có ảnh hưởng ức chế lên quá trình sinh trưởng của cây được gọi là các chất ức chế sinh trưởng. Thuộc các chất kích thích sinh trưởng có các nhóm chất : auxin, giberelin, xytokinin. Các chất ức chế sinh trưởng gồm : axit absxixic, etilen, các chất phenol, các chất làm chậm sinh trưởng (retardant), các chất diệt cỏ (herbixit).

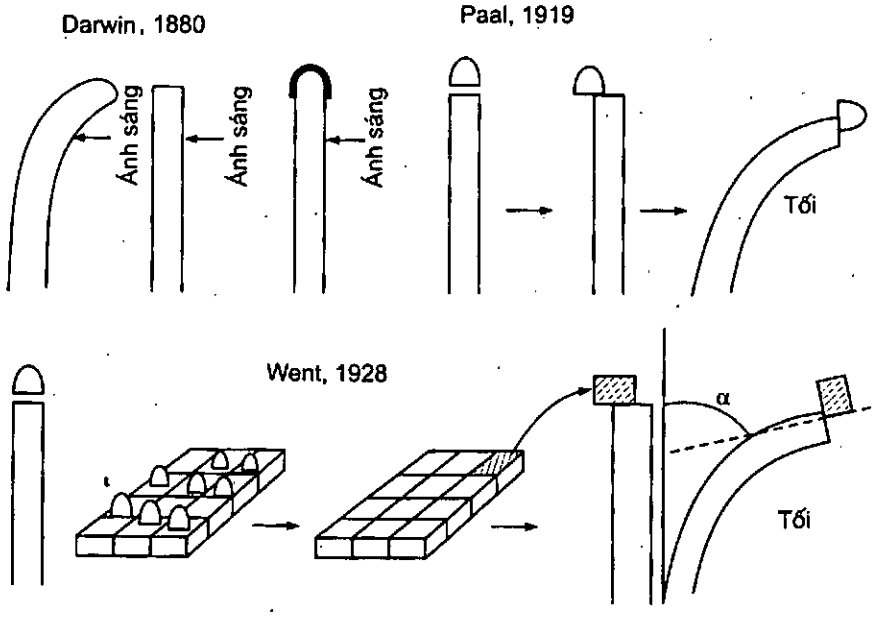
1. Auxin

a) Lịch sử phát hiện ra auxin

Năm 1880 Darwin đã phát hiện ra rằng bao lá mầm (coleoptit) của cây họ Lúa rất nhạy cảm với ánh sáng. Nếu chiếu sáng một phía thì gây ra quang hướng động, nhưng nếu che tối hoặc bỏ đỉnh ngọn thì hiện tượng trên không xảy ra. Ông cho rằng : đỉnh ngọn bao lá mầm là nơi tiếp nhận kích thích ánh sáng, đã sinh ra một chất nào đấy liên quan đến hiện tượng trên.

Sau đó Paal (1919) đã cắt đỉnh bao lá mầm và đặt trở lại trên chỗ cắt nhưng lệch sang một bên (hình 122) và để trong tối. Hiện tượng uốn cong (hướng động) xảy ra như trường hợp chiếu sáng một phía. Ông kết luận rằng đỉnh ngọn đã hình thành một chất sinh trưởng nào đấy, còn ánh sáng xác định sự phân bố của chất đó về hai phía của bao lá mầm.

Went (1928) đã đặt đỉnh ngọn tách rời của bao lá mầm đó lên các bản thạch agar để cho các chất sinh trưởng nào đấy khuyếch tán xuống agar. Sau đấy Ông đặt các bản thạch agar đó lên mặt cắt của bao lá mầm thì cũng gây nên hiện tượng sinh trưởng uốn cong như thí nghiệm của Paal với đỉnh sinh trưởng cắt rời. Rõ ràng một chất sinh trưởng nào đấy được tổng hợp trong đỉnh bao lá mầm đã khuyếch tán xuống thạch agar và gây nên sự sinh trưởng hướng động đó. Went gọi chất đó là chất sinh trưởng và hiện nay chính là auxin. Ông cho rằng ánh sáng một phía đã gây nên sự vận chuyển và phân bố của chất sinh trưởng ở hai phía của bao lá mầm.



Hình 122 – Lịch sử phát hiện ra auxin

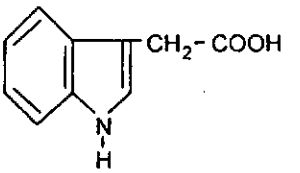
Đến năm 1934 giáo sư hoá học Kogl người Hà Lan và các cộng sự đã tách ra một chất từ dịch chiết nấm men có hoạt tính tương tự chất sinh trưởng và 1935 Thimann cũng tách được chất này từ nấm *Rhyzopus*. Người ta xác định bản chất hoá học của nó, đó là β – axit indol axetic (AIA). Sau đó người ta lần lượt chiết tách được AIA từ các thực vật bậc cao khác nhau (Hagen Smith, 1941, 1942, 1946...) và đã khẳng định rằng AIA là dạng auxin chủ yếu, quan trọng nhất của tất cả các thực vật, kể cả thực vật bậc thấp và thực vật bậc cao.

Wightman (1977) đã phát hiện ra một hợp chất auxin khác có hoạt tính kém hơn nhiều so với AIA là axit phenyl axetic (APA). Ở một số thực vật thì hoạt tính auxin là của chất β – indol axeto nitril (IAN)...

Bằng con đường tổng hợp hoá học người ta đã tổng hợp nhiều hợp chất khác nhau có hoạt tính sinh lí của auxin như : AIB, α – ANA, 2,4-D...

b) Sự trao đổi chất của auxin

Sự trao đổi chất thường xuyên ở trong cây bao gồm sự tổng hợp mới, sự phân giải làm mất hoạt tính và sự chuyển hoá thuận nghịch giữa dạng auxin tự do và dạng auxin liên kết.

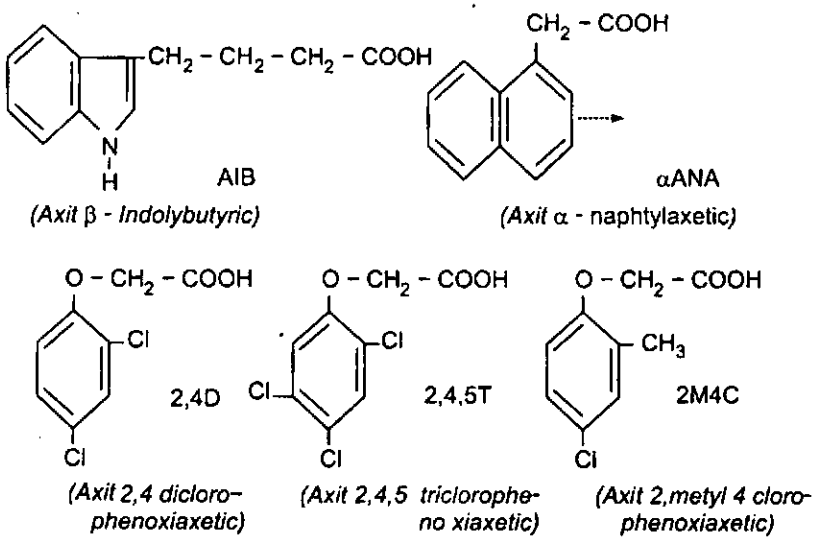


Axit β - Indolyaxetic (AIA)

Hình 123 – Công thức của AIA

– *Sự tổng hợp AIA* : AIA được tổng hợp ở tất cả các thực vật bậc cao, tảo, nấm và cả vi khuẩn. Ở thực vật bậc cao, AIA được tổng hợp chủ yếu ở đỉnh chồi ngọn và từ đó được vận chuyển xuống dưới. Sự vận chuyển auxin trong cây có tính chất phân cực rất nghiêm ngặt, tức là chỉ vận chuyển theo hướng gốc. Chính vì vậy mà càng xa đỉnh ngọn, hàm lượng auxin càng giảm dần tạo nên một gadien nồng độ giảm dần của auxin từ đỉnh ngọn xuống gốc của cây. Ngoài đỉnh ngọn ra, cũng có tính chất như vậy là các cơ quan còn non khác như lá non, quả non, phôi hạt đang sinh trưởng và cả tầng phát sinh.

Sự tổng hợp auxin diễn ra thường xuyên và mạnh mẽ trong cây. Quá trình này được xúc tác bởi hàng loạt các enzim đặc hiệu. Chất tiền thân là axit amin tryptophan và tổng hợp AIA diễn ra theo đường hướng chung cho hầu hết thực vật.



Hình 124 – Một số đại diện của các chất auxin tổng hợp

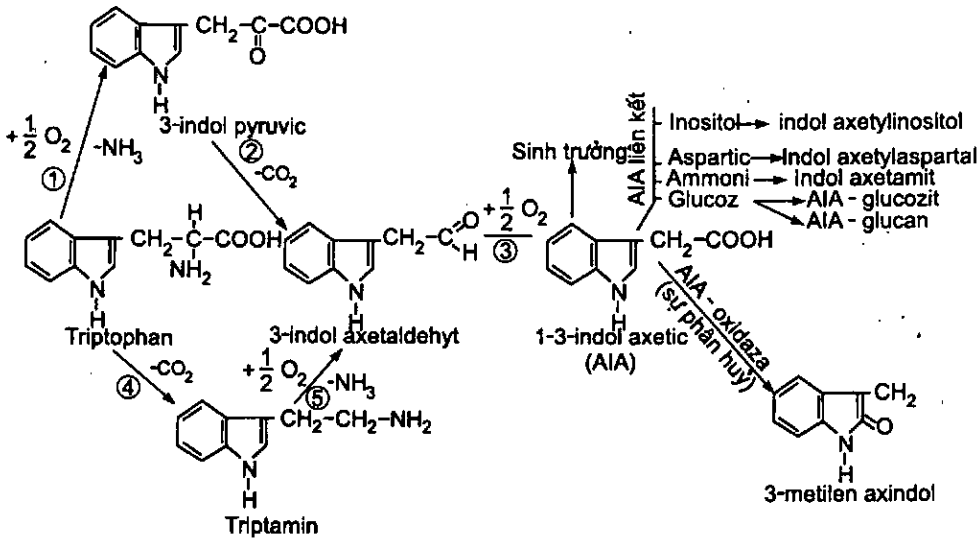
– *Sự phân huỷ auxin* : Sự phân huỷ auxin cũng là một quá trình quan trọng điều chỉnh hàm lượng auxin trong cây.

Auxin sau khi tác dụng có thể bị phân huỷ làm mất hoạt tính hoặc trong trường hợp hàm lượng cao và dư thừa auxin có thể bị phân huỷ để làm giảm hàm lượng. Sự phân huỷ của AIA trong cây chủ yếu xảy ra bằng con đường enzim (AIA-oxidaza). AIA – oxidaza hoạt động rất mạnh trong cây, đặc biệt rất mạnh trong hệ thống rễ. Dưới tác dụng xúc tác của AIA-oxidaza, AIA bị oxi hoá và chuyển thành hệ thống dạng mất hoạt tính là metilen oxindol.

Ngoài ra auxin có thể bị quang oxi hoá làm mất hoạt tính nhưng quá trình này kém ý nghĩa ở trong cây so với quá trình enzim.

Sự biến đổi thuận nghịch dạng tự do và dạng liên kết : Đây là một quá trình rất quan trọng ở trong cây. AIA có thể tồn tại dưới 2 dạng : dạng tự do và dạng liên kết. AIA tự do là dạng gây ra hoạt tính sinh lí trong cây. Tuy nhiên, trong tế bào, dạng AIA tự do chiếm một hàm lượng rất thấp so với dạng AIA liên kết. Nhiều tài liệu dẫn ra hàm lượng AIA tự do chiếm không quá 5% so với AIA tổng số trong cây.

AIA liên kết trong cây là dạng chủ yếu, nhưng chúng không có hoạt tính sinh lí hoặc có hoạt tính sinh lí rất thấp. AIA liên kết chủ yếu với gluxit tạo nên dạng indolxetil, inoxitol và liên kết với axit amin (AIA-aspartat, AIA-glixin, AIA-alanin). Dạng liên kết của AIA có ý nghĩa rất lớn trong việc dự trữ AIA, làm giảm hàm lượng AIA, tránh tác dụng của AIA-oxidaza và cũng là dạng vận chuyển auxin trong cây (hình 125).

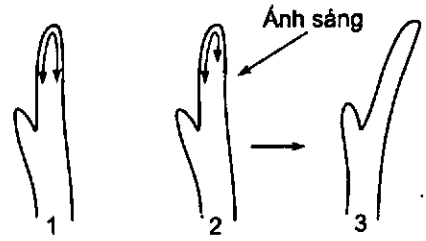


Hình 125 – Sơ đồ quá trình trao đổi chất của auxin trong cây
(Sự tổng hợp, sự phân huỷ và sự chuyển hoá thuận nghịch giữa auxin tự do và liên kết)

Nhờ ba quá trình trao đổi chất tiến hành đồng thời của auxin ở trong cây mà hàm lượng auxin trong cây tương đối ổn định, bảo đảm sự sinh trưởng phát triển của cơ quan và của cây hài hoà, không bị rối loạn.

c) Tác dụng sinh lí của auxin

Auxin có tác dụng tốt đến các quá trình sinh trưởng của tế bào, hoạt động của tầng phát sinh, sự hình thành rễ, hiện tượng ưu thế ngọn, tính hướng của thực vật, sự sinh trưởng của quả và tạo ra quả không hạt...



Hình 126 – Auxin và quang hướng động
1 : Coleoptyl sinh trưởng trong tối hay trong ánh sáng đồng đều mọi phía, AIA phân bố đồng đều mọi phía.
2 ; 3 : Khi chiếu sáng một chiều, AIA phân bố nhiều về phía khuất ánh sáng và gây nên quang hướng động do sinh trưởng không đều ở hai phía.

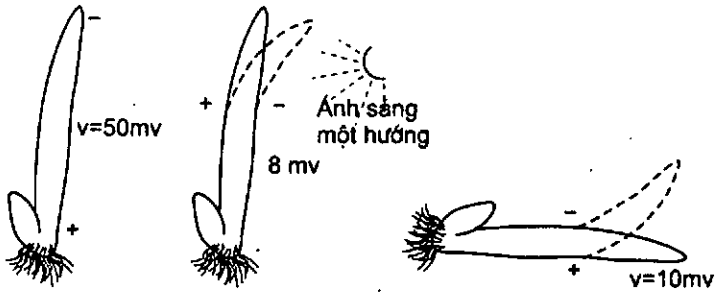
Auxin kích thích sự sinh trưởng giãn của tế bào, đặc biệt theo chiều ngang làm tế bào phình ra. Hiệu quả đặc trưng của auxin là tác động lên sự giãn của thành tế bào : AIA gây ra sự giảm pH trong thành tế bào, hoạt hoá enzim phân huỷ các polisacarit liên kết giữa các sợi xenluloz làm cho chúng lỏng lẻo và tạo điều kiện cho thành tế bào giãn ra dưới tác dụng của áp suất thẩm thấu của không bào trung tâm. Ngoài ra auxin cũng kích thích lên thành tế bào đặc biệt là các xenluloz, pectin, hemixenluloz...

Bên cạnh đó auxin còn ảnh hưởng đến sự phân chia của tế bào. Tuy nhiên các ảnh hưởng của auxin lên sự giãn và phân chia tế bào trong mối tác động tương hỗ với các phytohoocmon khác (giberelin, xytokinin).

Auxin gây ra tính hướng động của cây (hướng sáng và hướng đất hình 126).

Bằng việc sử dụng nguyên tử đánh dấu, người ta nhận thấy AIA phóng xạ được phân bố nhiều hơn ở phần khuất ánh sáng cũng như phần dưới của bộ phận nằm ngang và gây nên sự sinh trưởng không đều ở hai phía của cơ quan.

Có hai nguyên nhân : Nguyên nhân thứ nhất là khi bị kích thích thì sự vận chuyển phân cực của auxin bị ức chế ; nguyên nhân thứ hai là có sự tồn tại một điện thế trong các cơ quan đó và có thể đo được điện thế đó bằng dụng cụ đặc biệt.



Hình 127 – Điện thế của đoạn bao lá mầm ở các điều kiện và vị trí khác nhau

Auxin trong cây thường bị ion hoá (AIA^-) và do đó phân bố về phía điện dương nhiều hơn (hình 127).

Auxin gây ra hiện tượng ưu thế ngọn : Hiện tượng ưu thế ngọn là một hiện tượng phổ biến trong cây. Khi chồi ngọn hoặc rễ chính sinh trưởng sẽ ức chế sinh trưởng của chồi bên và rễ. Đây là một sự ức chế tương quan vì khi loại trừ ưu thế ngọn bằng cắt chồi ngọn và rễ chính thì chồi bên, rễ bên được giải phóng khỏi ức chế và lập tức sinh trưởng. Hiện tượng này được giải thích rằng AIA được hình thành trong đỉnh ngọn với hàm lượng cao hơn và được vận chuyển xuống dưới. Trên con đường đi xuống dưới nó đã ức chế sự sinh trưởng của chồi bên. Nếu cắt đỉnh ngọn thì làm giảm lượng auxin nội sinh và sẽ kích thích chồi bên sinh trưởng. Nếu auxin làm tăng ưu thế ngọn thì ngược lại xytokinin lại làm yếu ưu thế ngọn, kích thích các chồi bên sinh trưởng. Mức độ ưu thế ngọn phụ thuộc vào tỉ lệ giữa auxin/xytokinin. Càng gần chồi ngọn thì tỉ lệ này càng lớn và hiện tượng ưu thế ngọn càng mạnh mẽ.

Auxin kích thích sự hình thành rễ : Trong sự hình thành rễ đặc biệt là rễ phụ, hiệu quả của auxin là rất đặc trưng. Sự hình thành rễ phụ (cành giâm, cành chiết) có thể chia làm ba giai đoạn : giai đoạn đầu là phản phân hoá tế bào trước tầng phát sinh : tiếp theo là xuất hiện mầm rễ và cuối cùng mầm rễ sinh trưởng thành rễ phụ chọc thủng vỏ và ra ngoài. Để khởi xướng sự phản phân hoá tế bào mạnh mẽ thì cần hàm lượng auxin khá cao. Các giai đoạn sinh trưởng của rễ rất cần ít auxin hơn và có khi còn gây ức chế. Nguồn auxin này có thể là nội sinh, có thể xử lí ngoại sinh. Vai trò của auxin cho sự phân hoá rễ thể hiện rất rõ trong nuôi cấy mô. Trong kĩ thuật nhân giống vô tính thì việc sử dụng auxin để kích thích sự ra rễ là cực kì quan trọng và bắt buộc.

Auxin kích thích sự hình thành, sự sinh trưởng của quả và tạo quả không hạt : Tế bào trứng sau khi thụ tinh đã tạo nên hợp tử và sau phát triển thành phôi. Phôi hạt là nguồn tổng hợp auxin nội sinh quan trọng, khuếch tán vào bầu và kích thích sự lớn lên của bầu thành quả. Vì vậy, quả chỉ được hình thành khi có sự thụ tinh. Nếu không có quá trình thụ tinh thì không hình thành phôi và hoa sẽ bị rụng. Việc xử lí auxin ngoại sinh cho hoa sẽ thay thế được nguồn auxin nội sinh vốn được hình thành trong phôi và do đó không cần quá trình thụ phấn, thụ tinh nhưng bầu vẫn lớn thành quả được nhờ auxin ngoại sinh. Trong trường hợp này quả không qua thụ tinh và do đó không có hạt.

Auxin kìm hãm sự rụng lá, hoa, quả vì nó ức chế sự hình thành tầng rời ở cuống lá, hoa quả vốn được cảm ứng bởi các chất ức chế sinh trưởng. Vì vậy phun auxin ngoại sinh có thể làm giảm sự rụng lá, tăng sự đậu quả và phòng rụng nụ, quả non, làm tăng năng suất.

Auxin ảnh hưởng lên sự vận động của chất nguyên sinh, tăng tốc độ lưu động của chất nguyên sinh, ảnh hưởng lên các quá trình trao đổi chất : kích thích sự tổng hợp các polime và ức chế phân huỷ chúng, ảnh hưởng đến các hoạt động sinh lí như quang hợp, hô hấp, sự vận chuyển vật chất trong cây.

d) Cơ chế tác dụng của auxin lên sự sinh trưởng của cây

Ở phần trên, chúng ta thấy auxin kích thích mạnh mẽ lên rất nhiều các quá trình sinh trưởng của cây, thông qua sự sinh trưởng giãn của tế bào. Chính vì vậy khi đề cập đến cơ chế tác động của auxin lên sự sinh trưởng của cây, người ta quan tâm đến việc giải thích sự giãn của tế bào dưới tác động kích thích của auxin.

Sự giãn của tế bào thực vật xảy ra do hai hiệu ứng : sự giãn của thành tế bào và sự tăng thể tích, khối lượng chất nguyên sinh.

Tế bào thực vật khác với tế bào động vật là chúng được bao bọc bởi vỏ bằng xenluloz rất bền vững. Để tế bào giãn được mà không thể vứt cái vỏ bọc đó như một số động vật lột xác, thì chỉ có cách làm thay đổi trạng thái cấu tạo của thành tế bào.

Đã từ lâu người ta phát hiện ra hiện tượng "sinh trưởng axit" tức là trong điều kiện pH thấp (pH = 5) thì sự sinh trưởng của tế bào và mô được kích thích.

Người ta giải thích rằng chính ion H^+ đã hoạt hoá enzim phân giải các cầu nối ngang polisacarit giữa các sợi xenluloz với nhau làm cho các sợi xenluloz tách rời nhau và rất dễ trượt lên nhau. Dưới ảnh hưởng của sức trương tế bào do không bào hút nước vào mà các sợi xenluloz đã mất liên kết, lỏng lẻo rất dễ trượt lên nhau làm cho thành tế bào giãn ra. Vai trò của auxin ở đây là gây nên sự thay đổi pH cho thành tế bào, bằng cách hoạt hoá bơm proton (H^+) nằm trên màng sinh chất (plasmalem). Khi có mặt của AIA thì bơm proton hoạt động và bơm H^+ vào thành tế bào (làm độ pH từ 6 – 7 giảm xuống 4 và hoạt hoá enzim xúc tác cho phản ứng cắt đứt các cầu nối ngang polisacarit).

Enzim tham gia quá trình này, pectinmetilesteraza khi hoạt động sẽ metil hoá các nhóm cacboxil và ngăn chặn sự hình thành cầu nối ion giữa nhóm cacboxil với canxi tạo nên pectat canxi, do đó mà các sợi xenluloz tách rời nhau (hình 128).

Liên kết ion thông qua nhóm cacboxil của pectin

$$\vdash\!\!-COO^- \qquad Ca^{2+} \qquad {}^-OOC-\!\!\dashv$$

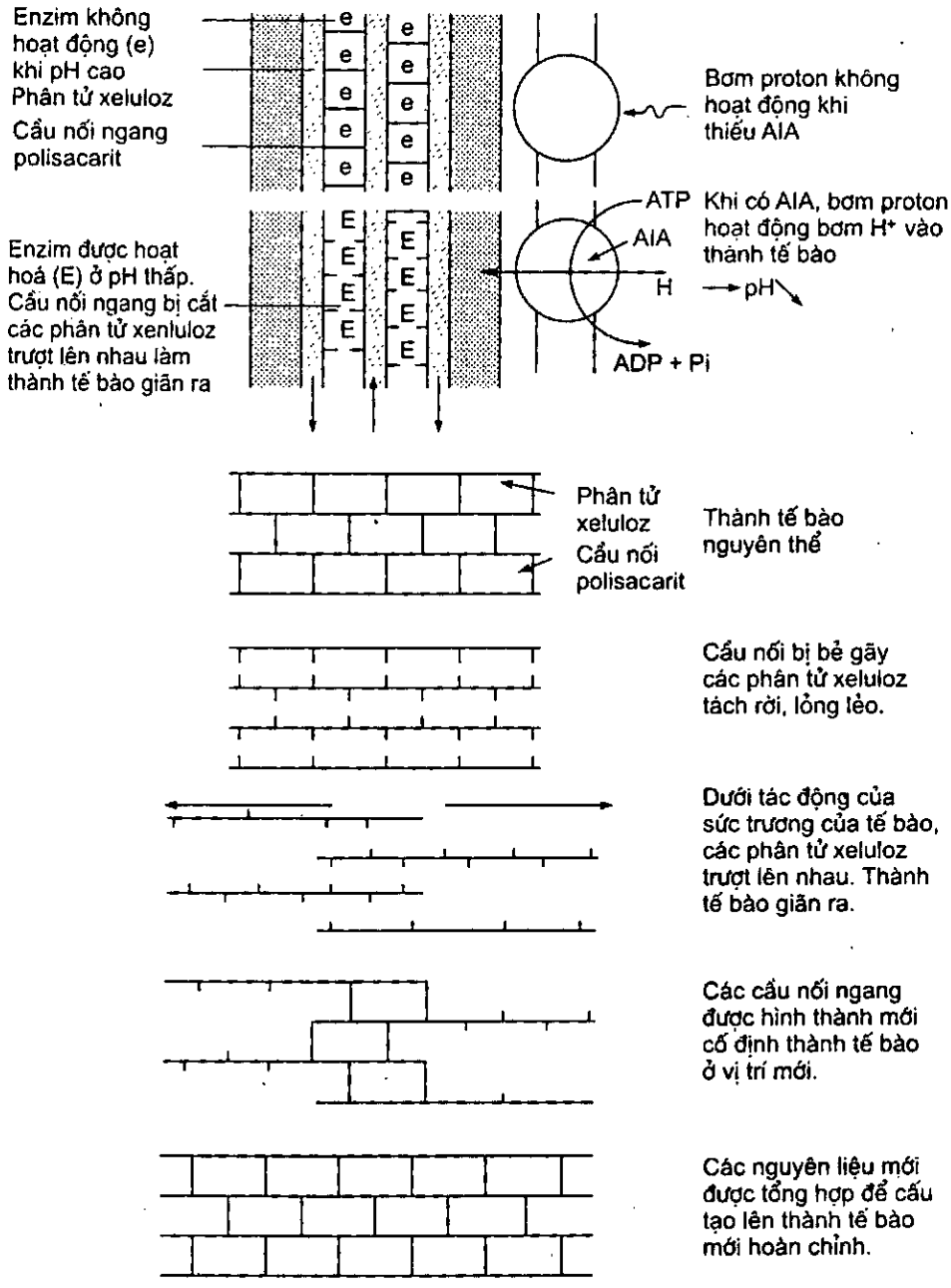
Enzim metilesteraza sẽ metil hoá nhóm cacboxil, cản trở sự hình thành cầu nối ion với canxi :

$$\vdash\!\!- COOCH_3 \qquad\qquad CH_3OOC-\!\!\dashv$$

Hình 128 – Giả thuyết pectin metilesteraza giải thích sự giãn của thành tế bào

Để tế bào sinh trưởng được thì song song với sự giãn thành tế bào, xảy ra sự tổng hợp mới các chất cấu trúc thành tế bào và cả chất nguyên sinh nữa (xenluloz, pectin, hemixenluloz, protein...). Với hiệu ứng này auxin đóng vai trò hoạt hoá gen để tổng hợp nên các enzim cần thiết cho sự tổng hợp các chất đó.

Cũng có quan điểm cho rằng AIA đã giải phóng khỏi màng các nhân tố trung gian, các nhân tố này sẽ xâm nhập vào nhân và làm tăng hoạt tính của ARN-polimeraza liên quan đến sự tổng hợp nên các enzim cần thiết (hình 129).



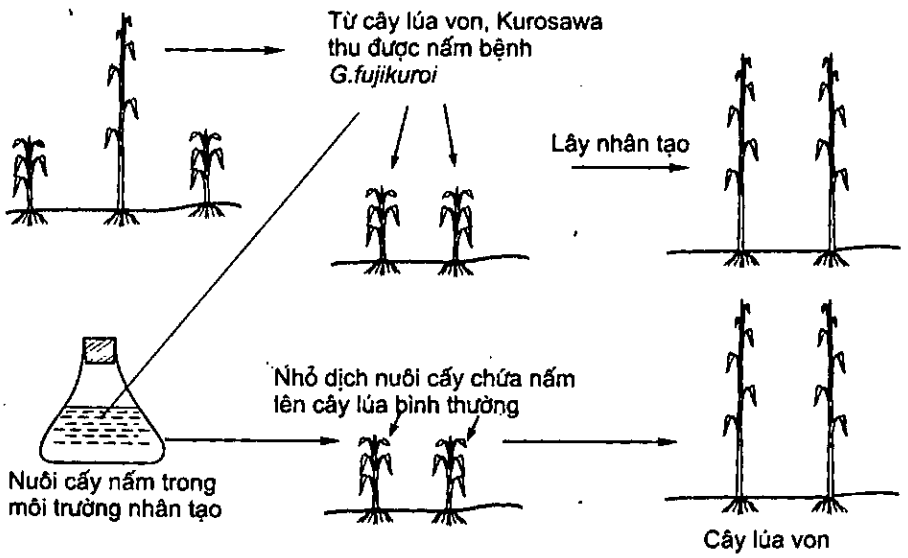
Hình 129 – Lí thuyết bơm prôton giải thích hoạt động của AIA trong việc cảm ứng sự giãn của thành tế bào

2. Giberelin

a) Lịch sử phát hiện

Giberelin (GA) là nhóm phytohoocmon thứ hai được phát hiện sau auxin. Từ việc nghiên cứu bệnh lí "bệnh lúa von" một triệu chứng bệnh rất phổ biến trong trồng lúa của các nước phương đông thời bấy giờ, dẫn đến nghiên cứu cơ chế gây bệnh và cuối cùng tách

được hàng loạt các chất là sản phẩm tự nhiên của nấm bệnh cũng như từ thực vật bậc cao gọi là giberelin. Từ lâu người ta xác định nấm gây bệnh lúa von là *Giberelin fujikuroi* (thực ra giai đoạn không hoàn chỉnh hay giai đoạn dinh dưỡng gây bệnh của nấm đó gọi là *Fusarium heterosporum* hay *F. moniliforme*).Năm 1926, nhà nghiên cứu bệnh lí thực vật Kurosawa (Nhật Bản) đã thành công trong thí nghiệm gây "bệnh von" nhân tạo cho lúa và ngô (hình 130).



Hình 130 – Thí nghiệm của Kurosawa

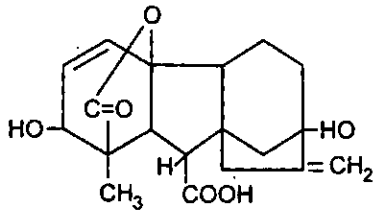
Yabuta (1934 – 1938) đã tách được hai chất dưới dạng tinh thể từ nấm lúa von gọi là giberelin A và B, nhưng chưa xác định được bản chất hoá học của chúng. Sau đó chiến tranh thế giới thứ hai bùng nổ, làm ngắt quãng việc nghiên cứu của các nhà nghiên cứu Nhật Bản này. Đến 1950 câu chuyện về giberelin vẫn chưa được biết ở thế giới phương tây. Mãi đến 1955 hai nhóm nghiên cứu Anh và Mĩ đã phát hiện ra những bài báo cũ của người Nhật về giberelin và cũng chính năm 1955 họ đã phát hiện ra axit giberelic ở cây lúa von và xác định công thức hoá học của nó ($C_{19}H_{22}O_6$). Năm 1956 West, Phiney đã tách được giberelin từ các thực vật bậc cao và xác định rằng đây là phytohoocmon tồn tại ở trong các bộ phận của cây. Hiện nay người ta đã phát hiện ra trên 50 giberelin và kí hiệu A_1, A_2,... A_{52} hoặc GA_1... G_{52}... trong đó A_3 (axit giberelic) có hoạt tính mạnh nhất.

Tất cả các giberelin đều có một vòng gibban cơ bản, còn điểm khác nhau nhỏ giữa chúng chủ yếu là vị trí của nhóm –OH trong phân tử.

GA được tổng hợp trong phôi đang phát triển, trong các cơ quan đang sinh trưởng khác như lá non, rễ non, quả non. GA được vận chuyển không phân cực, có thể hướng ngọn hoặc hướng gốc tuỳ nơi sử dụng. GA được vận chuyển trong hệ thống dẫn (xylem và floem) với vận tốc 5 – 25 mm trong 12 giờ. Trong tế bào thì bào quan tổng hợp GA mạnh nhất là lục lạp.

GA được tổng hợp từ mevalonat qua hàng loạt các phản ứng dẫn đến hợp chất trung gian quan trọng là kauren, cơ sở của tất cả các GA trong cây. Quá trình này được xúc tác bởi hàng loạt các enzim đặc hiệu, cần có ATP và NADPH. Các hợp chất này đều sẵn có trong lục lạp.

GA trong cây cũng có thể ở dạng tự do và dạng liên kết với glucoz và protein. Khác với auxin, GA khá bền vững trong cây và khả năng phân huỷ chúng là ít.



Hình 131 – Công thức của GA_3 (axit giberelic)

b) Vai trò sinh lí của giberelin

Hiệu quả sinh lí rõ rệt nhất của GA là kích thích mạnh mẽ sự sinh trưởng kéo dài của thân, sự vươn dài lóng cây họ Lúa. Hiệu quả này có được là do ảnh hưởng kích thích đặc trưng của GA lên pha giãn của tế bào theo chiều dọc. Vì vậy khi xử lí GA cho cây đã làm tăng nhanh sự sinh trưởng dinh dưỡng và tăng sinh khối của chúng.

GA ảnh hưởng rất rõ rệt lên sự sinh trưởng của các đột biến lùn. Nhiều nghiên cứu về trao đổi chất di truyền của GA đã khẳng định rằng các đột biến lùn của một số thực vật như ngô, đậu Hà lan (chiều cao cây cũng chỉ bằng khoảng 20% chiều cao cây bình thường) là các đột biến gen đơn giản, dẫn đến sự thiếu hụt những gen nào đấy chịu trách nhiệm tổng hợp enzim của những phản ứng nào đấy trên con đường tổng hợp GA mà cây không thể hình thành được GA, dù là một lượng rất nhỏ. Với những đột biến này thì việc bổ sung GA ngoại sinh sẽ làm cho cây sinh trưởng bình thường. Vì phản ứng của các đột biến lùn rất nhạy với GA nên người ta sử dụng các đột biến này để thử xác định hàm lượng GA bằng phương pháp biotest (thử sinh học).

GA kích thích sự nảy mầm của hạt và củ, do đó nó có tác dụng đặc trưng trong việc phá bỏ trạng thái ngủ nghỉ của chúng. Trong trường hợp này GA kích thích sự tổng hợp enzim amilaza và các enzim thuỷ phân khác như proteaza, photphataza và làm tăng hoạt tính của các enzim này ; chính vì vậy mà xúc tiến quá trình phân huỷ tinh bột thành đường cũng như các polime thành monome khác, tạo điều kiện về nguyên liệu và năng lượng cho quá trình nảy mầm. Trên cơ sở đó, nếu xử lí GA ngoại sinh thì có thể phá bỏ trạng thái ngủ nghỉ của hạt, củ, căn hành, kể cả trạng thái nghỉ sâu.

Trong nhiều trường hợp GA kích thích sự ra hoa rõ rệt. Ảnh hưởng đặc trưng của GA lên sự ra hoa là kích thích sự sinh trưởng kéo dài và nhanh chóng của cụm hoa. Vì vậy trong học thuyết hoocmon ra hoa (florigen) của Trailachyan thì GA được xem như là một thành viên của tổ hợp florigen. Xử lí GA cho cây ngày dài thì chúng có thể ra hoa trong điều kiện ngày ngắn và làm tăng hiệu quả của xuân hoá, có thể biến cây hai năm thành cây một năm.

Trong sự phát triển và phân hoá của cơ quan sinh sản thì GA ảnh hưởng đến sự phân hoá giới tính : ức chế phát triển hoa cái và kích thích sự phát triển hoa đực.

Trong sự sinh trưởng của quả và tạo quả không hạt thì GA có vai trò gần giống auxin vì nó làm tăng kích thước của quả và tạo nên quả không hạt trong một số trường hợp. Hiệu quả này càng rõ rệt khi phối hợp tác dụng với auxin.

Vì GA ảnh hưởng rõ rệt lên các quá trình trao đổi chất, các hoạt động sinh lí, đến quá trình sinh trưởng và phát triển của cây nên GA là một trong những chất điều tiết sinh trưởng được ứng dụng có hiệu quả trong sản xuất nông nghiệp.

c) Cơ chế tác động của GA

Một trong những quá trình có liên quan đến cơ chế tác động của GA được nghiên cứu khá kĩ là hoạt động của enzim thuỷ phân trong các hạt họ Lúa nảy mầm.

Trong hạt lúa mì thì phôi hạt là nơi tổng hợp GA nội sinh. Badley (1967) đã chỉ ra rằng GA được tổng hợp vào ngày thứ hai của sự nảy mầm ở trong phôi hạt. GA được giải phóng khỏi phôi và khuếch tán qua nội nhũ đến lớp tế bào alơron để kích thích sự hình thành và giải phóng các enzim thuỷ phân alơron. Sau đó các enzim này được khuếch tán vào nội nhũ để thuỷ phân các polime thành các monome phục vụ cho sự nảy mầm của chúng. Các tế bào alơron là những tế bào sống không phân chia có chức năng đặc trưng là hình thành và giải phóng các enzim phân giải khối nội nhũ của hạt.

Ở đây GA đã cảm ứng với sự tổng hợp α - amilaza mới và các enzim thuỷ phân khác. GA gây nên sự giải ức chế gen (depression) chịu trách nhiệm tổng hợp các enzim này, mà trong hạt đang ngủ nghỉ chúng hoàn toàn bị trấn áp bằng các protein histon. GA đóng vai trò như là chất cảm ứng mở gen để hệ thống tổng hợp protein enzim thuỷ phân hoạt động.

Ngoài vai trò cảm ứng hình thành enzim thì GA còn có vai trò kích thích sự giải phóng các enzim này vào nội nhũ.

Liệu cơ chế tác động của GA trong alơron của hạt họ Lúa có thể là cơ chế chung cho tác động của GA trong cây được không ? Có thể cho rằng GA ảnh hưởng đến sự phân chia tế bào, sự giãn tế bào, sự phân hoá hoa... được thực hiện qua cơ chế mở gen nhất định, phụ thuộc vào bản chất tế bào, giai đoạn và các quá trình mà nó tác động. Chương trình phát triển cá thể đã được mã hoá trong cấu trúc của phân tử ADN nhưng các gen ở trong trạng thái ức chế, không hoạt động. GA là một trong tác nhân cảm ứng cho sự mở gen để cho chương trình đó được thực hiện.

Cơ chế kích thích sự giãn của tế bào bởi GA có lẽ cũng có liên quan đến cơ chế hoạt hoá bơm proton như auxin. Tuy nhiên các tế bào nhạy cảm với auxin và giberelin có những đặc trưng khác nhau. Điều đó liên quan đến sự có mặt của các nhân tố tiếp nhận hoocmon khác nhau trong các kiểu tế bào khác nhau.

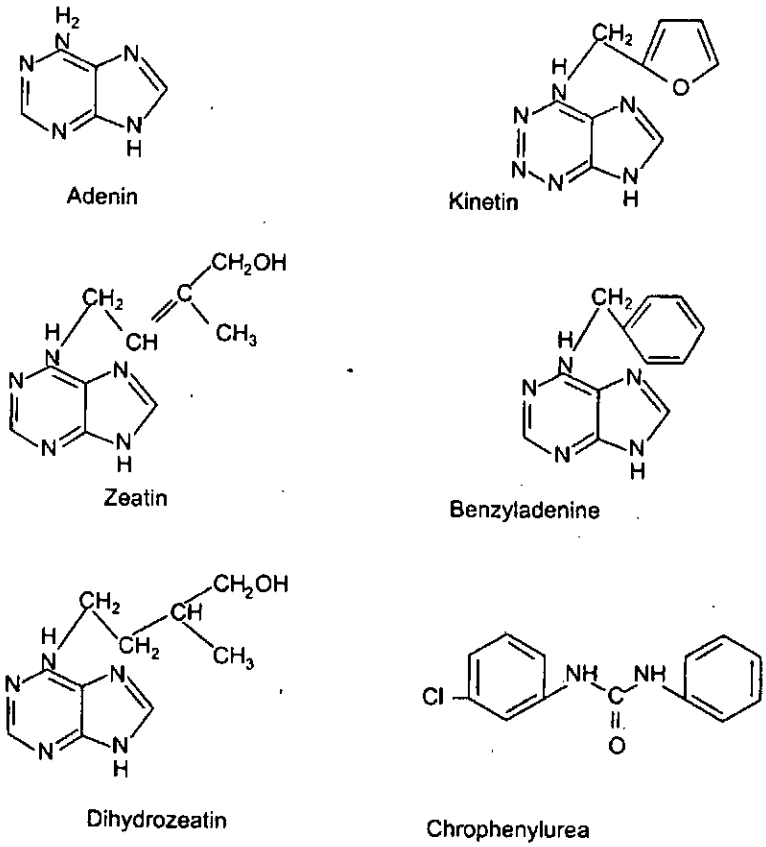
3. Xytokinin.

a) Lịch sử xuất hiện

Xytokinin là nhóm phytohoocmon thứ ba được phát hiện sau auxin và giberelin.

Sự phát hiện có tính chất quyết định của xytokinin là vào năm 1955 khi Miller, Skoog và các cộng sự đã tách được một chất từ việc hấp mẫu ADN của tinh dịch cá thu có khả năng kích thích sự phân chia tế bào mạnh mẽ trong nuôi cấy mô, gọi là kinetin (6-furfuryl aminopurin – $C_{10}H_9N_5O$).

Xytokinin tự nhiên trong cây được tách lần đầu tiên năm 1963 bởi Letham và Miller ở dạng kết tinh từ hạt ngô gọi là zeatin có hoạt tính mạnh hơn kinetin 10 – 100 lần. Các ribozit và các ribonucleotit của zeatin cũng có hoạt tính tương tự xytokinin, tức là hoạt hoá sự phân chia tế bào. Sau đó người ta đã phát hiện ra xytokinin ở trong tất cả các thực vật khác nhau và là một nhóm chất kích thích sinh trưởng quan trọng ở trong cây. Trước đó người ta cũng phát hiện ra nguồn xytokinin có nhiều trong nước dừa, đó là 1,3-diphenyl ure.



CHẤT TỰ NHIÊN CHẤT TỔNG HỢP

Hình 132 – Cấu trúc của một số chất tự nhiên và tổng hợp có hoạt tính xytokinin

Các xytokinin tổng hợp, được sử dụng trong kĩ thuật nuôi cấy mô, ngoài kinetin còn có benzyladenin (BA) (hình 132).

Nhiều nghiên cứu khẳng định rằng xytokinin được hình thành chủ yếu trong hệ thống rễ của thực vật. Ngoài ra một số cơ quan còn non đang sinh trưởng mạnh cũng có khả năng tổng hợp xytokinin như chồi, lá non, quả non, tầng phát sinh. Xytokinin được vận chuyển trong cây không phân cực như auxin, có thể hướng ngọn và hướng gốc. Xytokinin trong cây có thể ở dạng liên kết và dạng tự do cũng tương tự như các phytohoocmon khác. Ở trong cây chúng bị phân giải bằng các enzim, tạo nên sản phẩm cuối cùng là ure.

b) Vai trò sinh lí

Hiệu quả sinh lí đặc trưng nhất của xytokinin đối với thực vật là kích thích sự phân chia tế bào mạnh mẽ. Vì vậy mà người ta xem chúng như là các chất hoạt hoá sự phân chia tế bào. Có được hiệu quả này là do xytokinin hoạt hoá mãnh mẽ sự tổng hợp axit nucleic và protein. Xytokinin có mặt trong các ARN vận chuyển.

Xytokinin ảnh hưởng rõ rệt và rất đặc trưng lên sự phân hoá cơ quan của thực vật, đặc biệt là sự phân hoá chồi. Từ lâu người ta đã chứng minh rằng sự cân bằng tỉ lệ giữa auxin (phân hoá rễ) và xytokinin (phân hoá chồi) có ý nghĩa rất quyết định trong quá trình phát sinh hình thái của mô nuôi cấy *in vitro* cũng như trên cây nguyên vẹn. Nếu tỉ lệ auxin cao hơn xytokinin thì kích thích sự ra rễ, còn tỉ lệ xytokinin cao hơn auxin sẽ kích thích sự xuất hiện và phát triển của chồi. Để tăng hệ số nhân giống, người ta tăng nồng độ xytokinin trong môi trường nuôi cấy ở giai đoạn tạo chồi *in vitro*.

Xytokinin có khả năng kìm hãm sự hoá già của cơ quan và của cây nguyên vẹn. Chẳng hạn khi một lá bị ngắt khỏi cây thì chúng biểu hiện đặc trưng bằng sự giảm hàm lượng Clorophin và sẽ hoá vàng, làm giảm hàm lượng của protein và axit nucleic. Nếu như lá tách rời được xử lí xytokinin thì duy trì được hàm lượng protein và Clorophin trong thời gian lâu hơn và duy trì được màu xanh lâu hơn. Hiệu quả kìm hãm sự hoá già, kéo dài tuổi thọ của cơ quan có thể chứng minh là của cành giâm ra rễ, thì rễ tổng hợp xytokinin nội sinh và kéo dài thời gian sống của lá lâu hơn.

Trên cây nguyên vẹn thì khi hệ thống rễ phát triển mạnh sẽ là lúc cây trẻ và sinh trưởng mạnh. Nếu hệ thống rễ bị thương tổn thì cơ quan trên mặt đất chóng già.

Xytokinin trong một số trường hợp ảnh hưởng lên sự nảy mầm của hạt và củ. Vì vậy nếu xử lí xitokinin cũng có thể phá bỏ trạng thái ngủ nghỉ của hạt, củ, chồi.

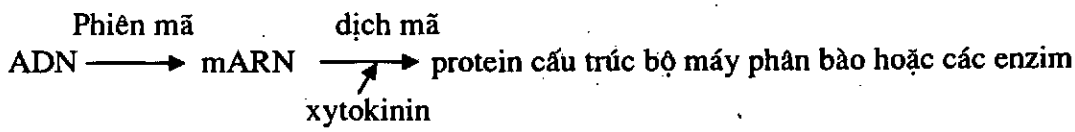
Ngoài ra trong mối tương tác với auxin, xytokinin có ảnh hưởng tới ưu thế ngọn của cây. Xytokinin làm yếu hiện tượng ưu thế ngọn, làm phân cành nhiều. Chính vì vậy mà từ rễ (cơ quan tổng hợp xytokinin) lên chồi ngọn (cơ quan tổng hợp auxin) thì hiện tượng ưu thế ngọn càng tăng dần tương ứng với sự tăng hàm lượng auxin và giảm hàm lượng xytokinin.

Xytokinin còn ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất như quá trình sinh tổng hợp axit nucleic, protein, clorophin và do đó ảnh hưởng đến các hoạt động sinh lí của cây.

c) Cơ chế tác dụng

Xytokinin tác động đến quá trình phân hoá tế bào, đến các quá trình phát sinh cơ quan, kìm hãm sự hoá già, có lẽ ở mức độ phân tử. Nhưng cơ chế tác động của nó chưa sáng tỏ một cách hoàn toàn. Những kiến thức hiện nay về cơ chế tác động của xytokinin lên quá trình sinh trưởng của cây có thể tóm tắt như sau :

Khi thiếu xytokinin thì tế bào không phân chia được mặc dầu ADN có thể tiếp tục được tổng hợp nhưng quá trình tổng hợp protein không xảy ra. Vì vậy xytokinin kiểm tra sự tổng hợp protein ở giai đoạn từ mARN (dịch mã) :



Xytokinin có mặt trong axit nucleic do đó mà ảnh hưởng đến sự tổng hợp protein. Xytokinin xâm nhập nhanh chóng vào các ARN và giữ một chức năng điều chỉnh nào đấy cho tARN trong quá trình tổng hợp protein. Chức năng điều chỉnh của xytokinin trong tARN được thực hiện có lẽ bằng cơ chế ngăn chặn sự nhận mặt sai của các codon trên anticodon trong quá trình sinh tổng hợp protein.

Hoạt tính của xytokinin tự do trong cây không liên quan đến xytokinin trong tARN vì ngay cả khi mô chứa xytokinin tiềm tàng trong tARN vẫn phải rất cần đến xytokinin tự do cho quá trình sinh trưởng của mình.

Hiệu quả của xytokinin trong việc ngăn chặn sự hoá già có liên quan nhiều đến khả năng ngăn chặn sự phân huỷ protein, axit nucleic và clorophin hơn là khả năng kích thích tổng hợp chúng. Có lẽ xytokinin ngăn chặn sự tổng hợp mARN điều khiển sự tổng hợp nên các enzim thuỷ phân.

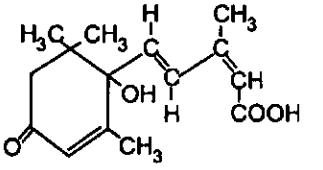
4. Các chất ức chế sinh trưởng

Sự sinh trưởng phát triển của cây được bảo đảm bởi hai tác nhân có tác dụng sinh lí đối lập nhau : tác nhân kích thích và tác nhân ức chế. Sự cân bằng giữa các chất kích thích sinh trưởng và các chất ức chế sinh trưởng có một ý nghĩa quyết định trong việc điều chỉnh sự sinh trưởng, phát triển của cây.

Thuộc các chất ức chế sinh trưởng bao gồm axit absxixic (AAB), etilen, các chất có bản chất phenol, các chất ức chế tổng hợp như retardant, các chất diệt cỏ...

a) Axit absxixic (AAB)

– Lịch sử phát hiện ra AAB gắn liền với tập thể nhiều nhà khoa học. Năm 1961, Liu và Carn (Mĩ) đã tách riêng được một chất dưới dạng tinh thể từ quả bông già và khi xử lí cho cuống là bông non đã gây nên hiện tượng rụng và gọi đó là chất absxixin I.



Hình 133 – Công thức hoá học của axit absxixic (AAB)

Năm 1963 Chkuma và Eddicott đã tách riêng một chất khác cũng gây sự rụng lá gọi là absxixin II. Cùng lúc đó Wareing và cộng sự, bằng phương pháp sắc kí đã tách riêng một chất ức chế từ cây Betula và khi xử lí nó đã gây nên hiện tượng ngủ nghỉ chồi. Họ gọi chất đó là chất "domin". Năm 1966, nhờ phương pháp quang phổ phân cực rất nhạy, đã xác định được bản chất hoá học của chất đến năm 1967 đã đề nghị danh pháp khoa học là axit absxixic (AAB) (hình 133).

AAB được tổng hợp ở hầu hết các bộ phận của cây như rễ, lá, hoa, quả, hạt, củ và tích luỹ nhiều ở các cơ quan già, các cơ quan đang ngủ nghỉ, cơ quan sắp rụng. Nó được vận chuyển trong cây không phân cực theo phloem hoặc xilem.

Người ta khẳng định rằng AAB được tổng hợp từ mevelonat như GA. Điều thú vị là AAB và GA là hai phytohoocmon hoàn toàn đối kháng với nhau nhưng chúng đều được tổng hợp từ một chất chung (mevelonat), cùng một con đường (izoprenoit) và có thể cùng được tổng hợp trong một bào quan (lục lạp). Có lẽ tồn tại một cơ chế điều chỉnh enzim để xác định sự tổng hợp GA hay AAB từ sản phẩm trung gian chung.

Có một điều đáng quan tâm là sự tăng lên rất nhanh chóng hàm lượng AAB trong cây và lá khi chúng chịu bất kì một "stress" nào : hạn, úng, đói dinh dưỡng, bị thương tổn, bị bệnh. Sự tăng nhanh chóng hàm lượng này liên quan đến sự tổng hợp mới AAB nhiều hơn là sự chuyển từ dạng liên kết sang dạng tự do.

– Vai trò sinh lí

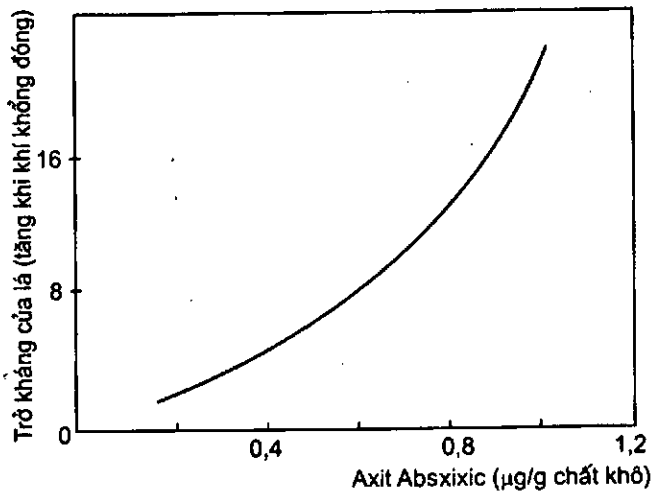
Axit absxixic là một chất ức chế sinh trưởng rất mạnh nhưng nó không gây hiệu quả độc khi ở nồng độ cao.

Kiểm tra sự rụng : Vai trò của AAB trong việc điều chỉnh sự rụng đã được phát hiện đầu tiên cùng với sự phát hiện ra AAB và coi nó như là một chất điều chỉnh tự nhiên sự rụng của các cơ quan trong cơ thể. AAB đã kích thích sự xuất hiện và nhanh chóng hình thành tầng rời ở cuống. Tuy nhiên chức năng điều chỉnh sự rụng còn gắn liền với các hoocmon khác như etilen.

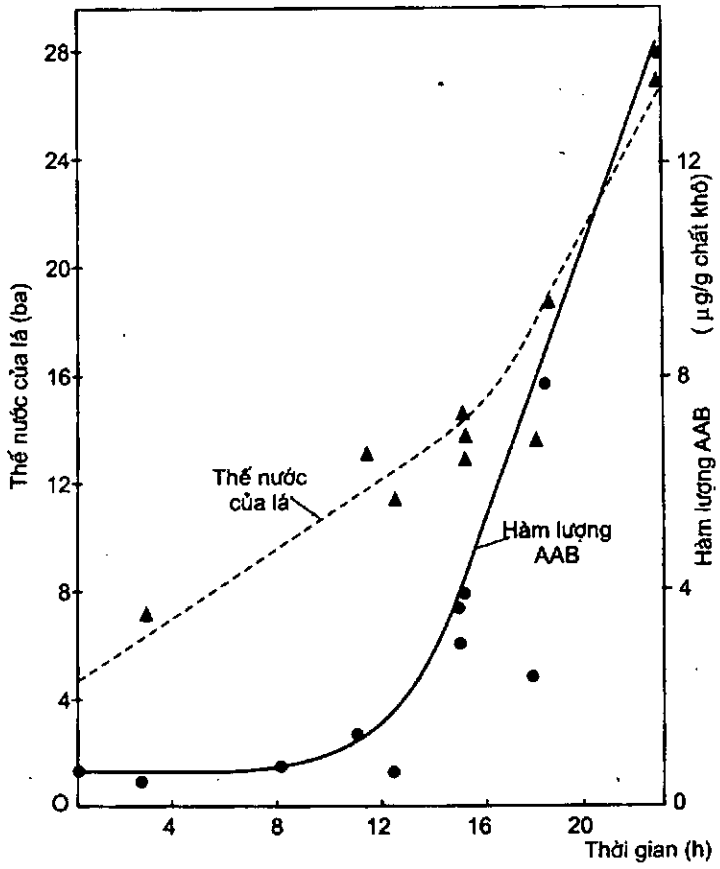
Điều chỉnh sự ngủ nghỉ : Trong cơ quan đang ngủ nghỉ hàm lượng AAB tăng gấp 10 lần thời kì dinh dưỡng. Sự ngủ nghỉ kéo dài cho đến khi nào hàm lượng AAB trong chúng

giảm đến mức độ tối thiểu. Khi xử lí lạnh để phá bỏ sự ngủ nghỉ thì hàm lượng AAB giảm 37% ở quả và 70% ở hạt, đồng thời hàm lượng GA tăng lên tương ứng. Do vậy từ trạng thái ngủ nghỉ chuyển sang trạng thái nảy mầm có sự biến đổi tỉ lệ AAB/GA trong chúng.

Điều chỉnh sự đóng mở khí khổng : Trong những năm gần đây người ta đã phát hiện ra rằng AAB có vai trò quan trọng trong sự đóng mở khí khổng. Khi xử lí AAB ngoại sinh cho lá làm khí khổng đóng lại nhanh chóng và do đó mà giảm thoát hơi nước qua khí khổng. Chức năng điều chỉnh sự đóng mở khí khổng của AAB chắc có liên quan đến sự vận động nhanh chóng của ion K^+. AAB gây cho tế bào bảo vệ "lỗ thủng" K^+ và bị mất K^+, mất sức trương và khí khổng đóng lại (hình134).



Hình 134 – Mối quan hệ giữa sự đóng mở khí khổng và hàm lượng AAB trong lá Helianthus decapetalus (Sự đóng khí khổng được đo bằng sự kháng việc xâm nhập của khí qua khí khổng)



Hình 135 – Sự tương quan giữa biến đổi thế nước trong lá và hàm lượng AAB khi cây mất nước trong không khí

AAB được xem như là một hoocmon của "stress" vì nó được hình thành mạnh để phản ứng với các "stress" hoặc điều kiện bất thuận của môi trường và làm cho cây biến đổi để thích ứng với điều kiện của môi trường. Một số ví dụ điển hình là sự tổng hợp AAB nhanh chóng để phản ứng với stress nước : Khi cây bị thiếu nước (hạn) thì hàm lượng AAB tăng nhanh trong lá, làm khí khổng nhanh chóng đóng lại và làm giảm ngay sự thoát hơi nước. Vì vậy mà AAB có vai trò điều chỉnh trong sự trao đổi nước của cây, hạn chế sự mất nước và làm cây thích nghi với điều kiện khô hạn (hình 135).

Những điều kiện bất thuận khác của môi trường như mặn, lạnh, úng, sâu bệnh đều gây ra sự tăng hàm lượng AAB trong lá và có thể đấy là một phản ứng tự vệ, thích nghi của cây.

Ngoài ra, AAB được xem như một hoocmon của sự hoá già. Mức độ hoá già của cơ quan và của cây gắn liền với sự tăng hàm lượng AAB trong chúng. Khi hình thành cơ quan sinh sản và khi dự trữ cũng là giai đoạn tổng hợp và tích luỹ nhiều nhất AAB và tốc độ hoá già cũng nhanh nhất.

– Cơ chế tác dụng

Dorothy Tuan và James Bonner (1964) đã đưa ra giả thuyết rằng trong các tế bào đang ngủ nghỉ thì các vật liệu di truyền (ADN) hầu như hoàn toàn bị trấn áp. Vì vậy mà sự sinh tổng hợp axit nucleic, protein cấu trúc và enzim không xảy ra, quá trình sinh trưởng bị ngừng. Khi xử lí chất đối kháng với AAB là GA hoặc xử lí lạnh đã làm tăng lượng GA nội sinh và làm giảm tác dụng ức chế của AAB lên hệ thống đó và quá trình sinh trưởng phát triển có thể xảy ra được. Vậy cơ chế tác động của AAB lên quá trình sinh trưởng và hoạt động sinh lí như thế nào ? Có hai hiệu quả sinh hoá chính của hoocmon AAB đã được chứng minh :

Làm biến đổi điện hoá qua màng và do đó mà điều tiết sự tiết ion K^+ qua màng. Điều này liên quan đến cơ chế đóng mở khí khổng của AAB và K^+.

Ức chế sự tổng hợp ARN phụ thuộc vào ADN, vì vậy mà protein không tổng hợp được. Hiệu quả này đối lập với hiệu quả mở gen của GA và các hoocmon khác.

$$\text{ADN} \xrightarrow[\text{AAB}]{\text{Phiên mã}} \text{mARN} \longrightarrow \underset{\text{enzim}}{\text{protein}} \longrightarrow \text{hiệu quả sinh trưởng}$$

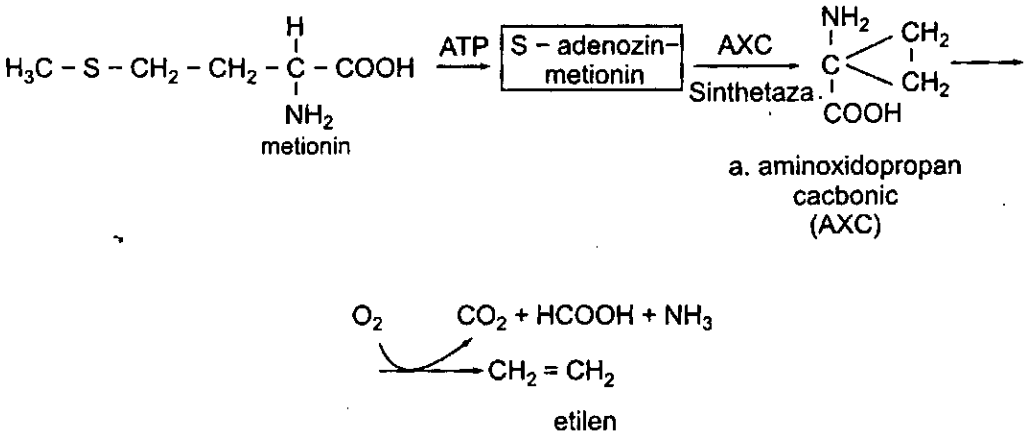
Có lẽ AAB tác động lên khâu đầu tiên trong chuỗi trên dẫn đến sự tổng hợp protein (giai đoạn phiên mã).

b) Etilen

– Lịch sử phát hiện

Etilen là một chất khí đơn giản ($CH_2 = CH_2$). Đã từ lâu (1917) người ta đã phát hiện ra etilen có ảnh hưởng kích thích sự chín của quả. Từ 1933 – 1937 nhiều nghiên cứu khẳng định nó được sản xuất trong một số nguyên liệu thực vật, đặc biệt là trong thịt quả. Crocker (1935) và cộng sự (Mĩ) chứng minh etilen như là một hoocmon của sự chín. Sau đó bằng các phương pháp phân tích cực nhạy, người ta đã phát hiện ra etilen ở trong tất cả các mô cây. Nó là một sản phẩm tự nhiên của quá trình trao đổi chất của cây. Tuy nhiên ngày nay người ta đều thừa nhận etilen là một phytohoocmon của thực vật vì nó được hình thành với một lượng nhỏ ở trong cây, nó có thể vận chuyển trong các tế bào.

Etilen là một sản phẩm tự nhiên của quá trình trao đổi chất trong cây. Nó được hình thành trong các mô khác nhau, mô khoẻ, mô bị bệnh và các mô đang hoá già. Etilen được tổng hợp từ metionin qua S–adenozin–metionin (SAM). Sau đó sản phẩm này phân huỷ cho ra etilen, axit foocmic và CO_2 (hình 136).



Hình 136 – Sự hình thành etilen trong cây

Etilen có vai trò kiểm tra và điều chỉnh nhiều quá trình sinh lí, sinh trưởng phát triển trong cây.

Etilen và sự chín của quả : Khi phát hiện ra etilen như là một phytohoomon thì người ta đã khẳng định etilen là hoocmon của sự chín. Sự chín của quả bởi etilen đã được chứng minh trong hơn 50 năm qua. Tuy nhiên cũng có một số ý kiến cho rằng etilen là sản phẩm của sự chín chứ không phải nó gây nên sự chín của quả. Nhiều nghiên cứu xác minh etilen gây nên hai hiệu quả sinh hoá trong quá trình chín của quả : gây nên sự biến đổi tính thấm của màng dẫn đến sự giải phóng các enzim liên quan đến quá trình chín như enzim hô hấp, biến đổi độ chua, độ mềm của quả..., gây hiệu quả quan trọng hơn là kích thích sự tổng hợp các protein enzim gây nên các biến đổi sinh hoá trong quá trình chín như enzim của quả. Quá trình này liên quan đến sự tổng hợp mới các enzim hơn là hoạt hoá các enzim cũ.

Etilen và sự rụng của lá, quả... : Etilen được xem như là hoocmon chín gây nên sự rụng. Nó hoạt hoá sự hình thành tầng rời ở cuống, lá, hoa, quả, qua việc kích thích sự tổng hợp nên các enzim phân huỷ thành tế bào (xenlulaza) và kiểm tra sự giải phóng các xenluloz của thành tế bào. Etilen chỉ có tác dụng đặc trưng lên nhóm tế bào của tầng rời mà thôi. Về hiệu quả này thì etilen có tác dụng đối kháng với auxin. Vì vậy sự rụng của cơ quan phụ thuộc vào tỉ lệ auxin/etilen. Nếu tỉ lệ này cao hơn thì ngăn ngừa sự rụng và ngược lại thì hoạt hoá. Việc sử dụng ngoại sinh các chất auxin phun cho hoa, quả, lá, có thể ngăn ngừa được sự rụng của chúng và tăng năng suất.

Etilen kích thích sự ra hoa của một số thực vật, chẳng hạn xử lí etilen hoặc các chất có bản chất tương tự etilen (axetilen) đã kích thích dứa, xoài ra hoa trái vụ, thêm được một vụ thu hoạch. Vì vậy, trong nghề trồng dứa, việc sử dụng ethrel (chất sản sinh ra etilen) hoặc axetilen để tăng thêm một vụ dứa là kĩ thuật quan trọng.

Trong nhiều trường hợp etilen kích thích sự xuất hiện rễ phụ ở cành giâm. Xử lí etilen kết hợp với auxin cho hiệu quả cao hơn việc xử lí auxin riêng rẽ.

Tác dụng tương hỗ giữa auxin và etilen : Auxin đã kích thích sự hình thành etilen trong các bộ phận của cây. Thực tế auxin ở nồng độ thấp thì có ảnh hưởng kích thích sự sinh trưởng, còn ở nồng độ cao thì lại ức chế. Nhiều tác giả cho rằng, auxin bản thân nó không gây nên hiệu quả ức chế trực tiếp mà gây ra sự tổng hợp mạnh etilen trong mô và đến lượt mình etilen gây hiệu quả ức chế sinh trưởng.

Ngoài ra etilen gây hiệu quả sinh lí lên rất nhiều các quá trình khác nhau như gây nên tính hướng động, ức chế sự phát triển của chồi bên, can thiệp vào sự vận chuyển phân cực của auxin, tăng tính thấm của màng.

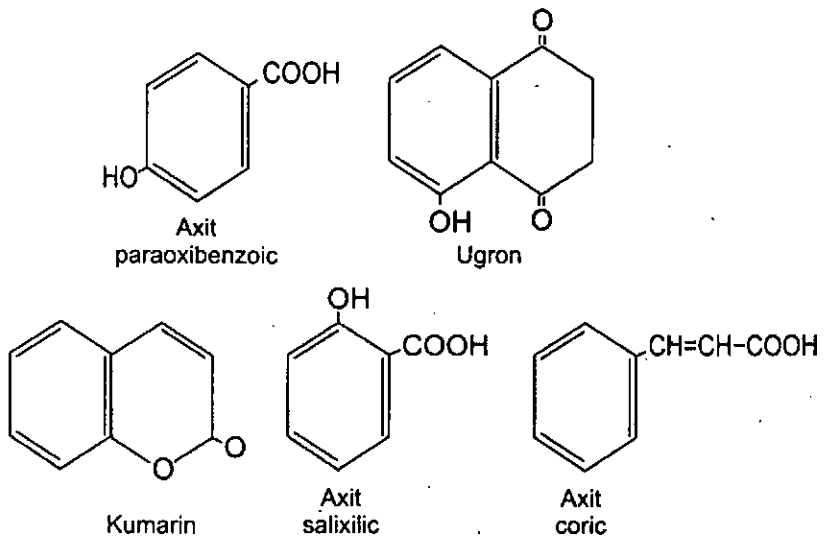
– Cơ chế tác động của etilen

Etilen kích thích sự chín, có lẽ trước hết etilen làm tăng tính thấm của màng trong các tế bào thịt quả. Điều đó dẫn đến sự giải phóng các enzim vốn tách rời khỏi cơ chất do màng ngăn cách, có điều kiện tiếp xúc dễ dàng và gây nên những phản ứng có liên quan đến sự chín. Mặt khác etilen có ảnh hưởng hoạt hoá lên sự tổng hợp mới các enzim, gây những biến đổi trong quá trình chín : enzim hô hấp, enzim thay đổi hàm lượng axit hữu cơ, tanin, biến đổi các sản phẩm, gây mùi vị...

Trong trường hợp etilen kích thích sự rụng, có thể là do nó kích thích sự tổng hợp enzim xenlulaza phân huỷ thành tế bào trong các tầng rời.

c) Các hợp chất phenol

Các hợp chất có bản chất phenol là sản phẩm tự nhiên của các quá trình trao đổi chất trong cây. Chúng có hiệu quả ức chế sự sinh trưởng và các hoạt động sinh lí của cây. Các hợp chất này trong cơ thể chủ yếu ở dạng liên kết như liên kết với gluxit tạo nên glicozit làm mất tác dụng độc của chúng với enzim.



Hình 137 – Một số chất phenol trong cây

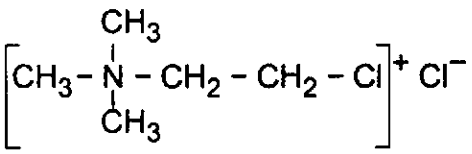
Nhóm phenol bao gồm rất nhiều các chất khác nhau (2000 hợp chất). Một số đại diện của nhóm này được nêu ra trên hình 137.

Vai trò sinh lí chủ yếu của các hợp chất phenol là : Hoạt hoá enzim AIA–oxidaza phân huỷ auxin trong cây, do đó nó kìm hãm sự giãn của tế bào ; tham gia vào hình thành linhin làm thành tế bào hoá gỗ nhanh. Cùng với AAB, các chất phenol gây ảnh hưởng lên trạng thái ngủ nghỉ của cây.

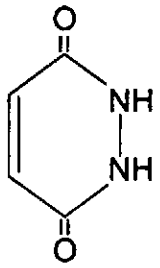
d) Các chất làm chậm sinh trưởng

Các chất làm chậm sinh trưởng là một nhóm các chất tổng hợp nhân tạo có bản chất hoá học khác nhau, được ứng dụng rộng rãi và hiệu quả trong nông nghiệp. Chúng có những hoạt tính sinh lí tương tự như ức chế sự sinh trưởng giãn làm cây thấp, mở rộng phiến lá, xúc tiến sự ra hoa, ảnh hưởng đến sinh trưởng của rễ nhưng không làm dị hình và biến đổi đặc trưng sinh sản. Vì vậy mà chúng được sử dụng với mục đích làm thấp cây, cứng cây chống lốp đổ.

– CCC (clo colin clorit) (hình 138)



Hình 138 – Công thức CCC



Hình 139 – Công thức MH

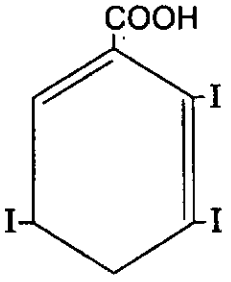
CCC được xem là chất kháng giberelin vì nó kìm hãm sự tổng hợp GA. Vì vậy CCC ức chế sự giãn của tế bào, ức chế sự sinh trưởng chiều cao cây, làm lóng cây họ Lúa ngắn lại, do đó có tác dụng chống lốp đổ cho chúng. CCC được sử dụng rộng rãi trong việc sản xuất lúa mì.

CCC làm tăng sự hình thành clorophin, xúc tiến sự ra hoa kết quả sớm và không gây độc.

Sử dụng CCC có thể phun lên cây hoặc bón vào đất, tốc độ thấm nhanh, chúng tồn tại trong cây một vài tuần rồi bị phân huỷ mất hoạt tính.

MH là chất kháng auxin vì nó kích thích hoạt tính của AIA–oxidaza (hình 139).

MH là một chất ức chế sinh trưởng mạnh. Nó kìm hãm sự nảy mầm và kéo dài thời gian ngủ nghỉ trong kho bảo quản nên được sử dụng rộng rãi cho việc bảo quản khoai tây. MH ức chế sự sinh trưởng không cần thiết của một số cây trồng, làm thui hoa, ức chế chồi bên mới nên được sử dụng rất hiệu quả trong ngành sản xuất thuốc lá và tránh việc ngắt hoa bằng tay. MH xúc tiến sự hoá già nhanh làm khô và rụng lá nên có thể sử dụng để thu hoạch cơ giới, chẳng hạn cho bông.



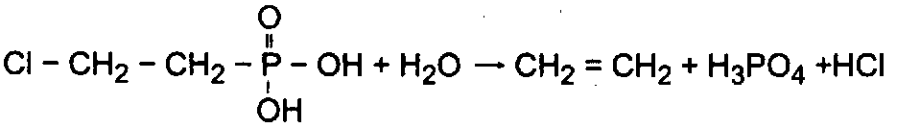
Hình 140 – Công thức của ATIB

Cơ chế tác dụng của MH : MH là chất kháng trao đổi của uraxin trong quá trình tổng hợp axit nucleic vì công thức của MH và uraxin rất giống nhau. MH có thể chiếm chỗ của uraxin và phá huỷ sự tổng hợp ADN, ARN và kìm hãm sự phân chia tế bào.

– ATIB (Axit 2,3,5 – Triiot Benzoic) (hình 140).

ATIB là một chất ức chế sinh trưởng có tác dụng kháng auxin, do có tác dụng làm kìm hãm sự vận chuyển auxin trong cây ; ATIB làm giảm ưu thế ngọn và xúc tiến sự phân cành. Nó còn xúc tiến sự ra hoa và sự hình thành củ.

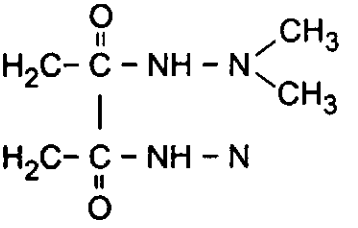
– ACEP (Axit Clo Etil Photphoric) (hình 141).



Hình 141 – Công thức của ATIB

Thương phẩm của ACEP có tên là ethrel hay ethephon. Ethrel được sử dụng hết sức rộng rãi để làm nhanh sự chín của quả, chín đồng loạt tạo điều kiện cho sự thu hoạch cơ giới. ACEP ức chế sinh trưởng chiều cao của cây và tăng sự phân cành. Nó còn tăng tốc độ chín của thuốc lá, màu sắc đẹp mà phẩm chất thuốc lá tăng. Ethrel còn tăng sự tiết nhựa mủ cao su, tăng tỉ lệ hoa cái ở bầu bí.

Ethrel ở dạng dung dịch, khi phun lên cây dùng ở pH hơi axit ; khi xâm nhập vào tế bào và chất nguyên sinh ở pH trung tính thì nó bị thuỷ phân, giải phóng khí $CH_2=CH_2$.



Hình 142 – ADHS (Axit Dimetyl Hidrazit Sucxinic)

– ALAR (ADHS : Axit Dimetyl Hidrazit Sucxinic) (hình 142).

ADHS có hiệu quả rõ rệt lên sự ra hoa kết quả của cây ; ức chế sinh trưởng làm tăng tính chống chịu với điều kiện bất lợi, tăng khả năng chống lốp đổ.

IX – SỰ CÂN BẰNG HOOCMON TRONG CÂY

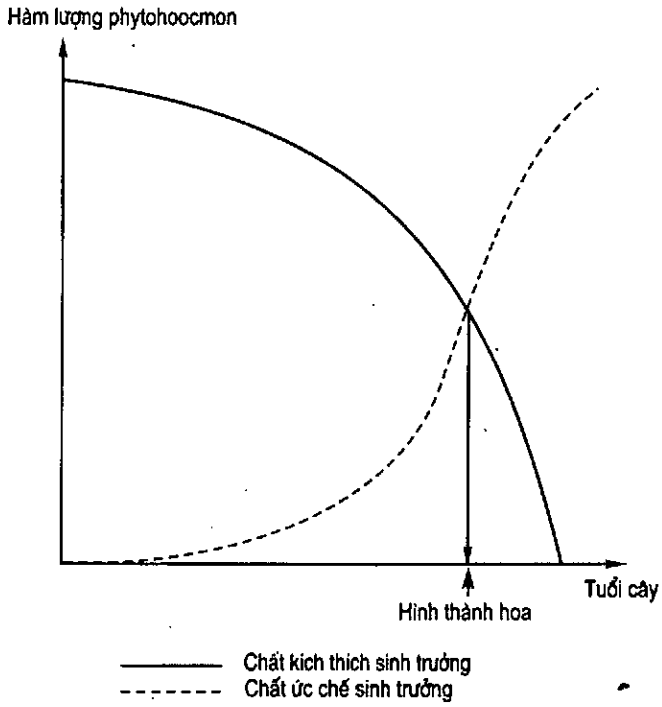
Khác với động vật và người, ở thực vật, bất cứ hoạt động sinh trưởng và phát triển nào, đặc biệt là các quá trình hình thành cơ quan (rễ, thân, lá, hoa, quả...) cũng như sự chuyển qua các giai đoạn sinh trưởng, phát triển của cây đều được điều chỉnh đồng thời bởi nhiều loại hoocmon ở trong chúng quyết định. Chính vì vậy mà sự cân bằng giữa các hoocmon có một ý nghĩa quyết định.

Nhìn chung có thể phân thành hai loại cân bằng là : sự cân bằng chung và sự cân bằng riêng giữa các hoocmon.

1. Sự cân bằng chung

Sự cân bằng chung được thiết lập trên cơ sở hai nhóm phytohoocmon có hoạt tính sinh lí trái ngược nhau : Nhóm chất kích thích sinh trưởng và nhóm chất ức chế sinh trưởng. Sự cân bằng này được xác định trong suốt quá trình sinh trưởng và phát triển của

cây từ lúc bắt đầu nảy mầm cho đến khi cây chết. Các chất kích thích sinh trưởng được sản xuất chủ yếu trong các cơ quan còn non như chồi non, lá non, rễ non, quả non, phôi đang sinh trưởng... và chi phối sự hình thành các cơ quan sinh dưỡng. Các tác nhân kích thích chiếm ưu thế trong giai đoạn sinh trưởng, phát triển dinh dưỡng. Trong lúc đó các chất ức chế sinh trưởng được hình thành và tích luỹ chủ yếu trong các cơ quan già, cơ quan sinh sản và cơ quan dự trữ. Chúng gây ảnh hưởng ức chế lên toàn cây và chuyển cây vào giai đoạn hình thành cơ quan sinh sản, cơ quan dự trữ, gây nên sự già hoá và sự chết.



Hình 143 – Sự cân bằng hoocmon giữa chất kích thích sinh trưởng và chất ức chế sinh trưởng trong quá trình phát triển cá thể

Trong quá trình phát triển cá thể từ khi sinh ra cho đến khi cây chết (chẳng hạn cây ra hoa quả một lần) thì sự cân bằng trong chúng diễn ra theo quy luật là các ảnh hưởng kích thích giảm dần và các ảnh hưởng ức chế thì lại tăng dần (hình 143). Sự cân bằng như nhau giữa hai tác nhân đó là thời điểm chuyển cây sang giai đoạn sinh sản mà biểu hiện là sự phân hoá mầm hoa. Từ thời điểm đó trở về trước ưu thế biểu hiện là các cơ quan sinh dưỡng sinh trưởng mạnh. Nhưng từ sau thời điểm đó thì các tác nhân ức chế chiếm ưu thế nên sự sinh trưởng của cây bị ngừng lại, cây ra hoa kết quả, già hoá và chết.

2. Sự cân bằng riêng

Trong cây có nhiều quá trình phát sinh hình thái và hình thành cơ quan khác nhau như sự hình thành rễ, thân, lá, hoa, quả, sự nảy mầm, sự chín, sự rụng, sự ngủ nghỉ đều được điều chỉnh bằng hai hay một vài hoocmon đặc hiệu.

Sự tái sinh rễ hoặc chồi được điều chỉnh bằng tỉ lệ giữa auxin và xytokinin trong mô. Nếu tỉ lệ này nghiêng về auxin thì rễ được hình thành mạnh hơn và ngược lại thì chồi được hình thành. Đây là cơ sở cho việc tạo cây hoàn chỉnh trong nuôi cấy mô.

Sự ngủ nghỉ và nảy mầm được điều chỉnh bằng tỉ lệ giữa AAB/GA. Tỉ lệ này nghiêng về AAB thì hạt, củ ở tình trạng ngủ nghỉ. Sự nảy mầm chỉ xảy ra khi nào trong cơ quan đó có hàm lượng GA cao hơn và ưu thế hơn AAB. Đây cũng là cơ sở để xử lí phá ngủ cho hạt, củ...

Hoa quả từ xanh chuyển sang chín được điều chỉnh bằng tỉ lệ giữa auxin/etilen. Trong quả xanh, auxin chiếm ưu thế, còn trong quả chín thì etilen được hình thành rất mạnh mẽ.

Hiện tượng ưu thế ngọn được điều chỉnh bằng tỉ lệ auxin/xytokinin. Auxin làm tăng ưu thế ngọn còn xytokinin thì lại làm giảm ưu thế ngọn.

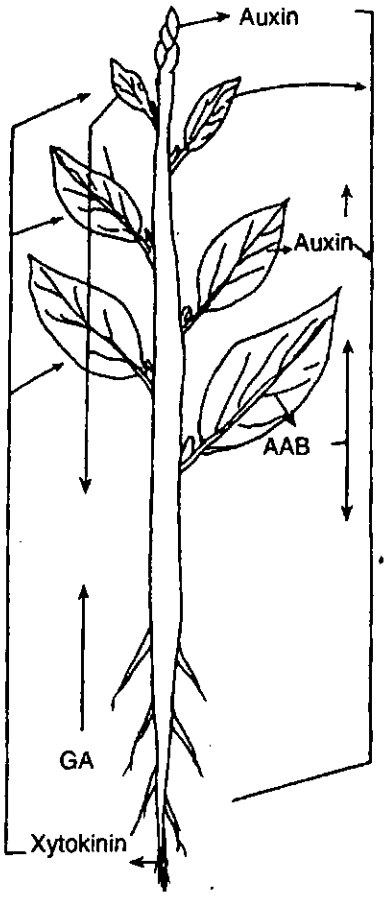
Sự trẻ hoá và già hoá trong cây có liên quan đến tỉ lệ xytokinin/AAB. AAB là tác nhân gây già hoá còn xytokinin là tác nhân gây trẻ hoá trong cây.

Tại bất cứ một thời điểm nào trong các quá trình đó cũng đều xác định được một sự cân bằng đặc hiệu giữa các hoocmon đó. Con người cũng có thể điều chỉnh các quan hệ cân bằng đó theo hướng có lợi cho mình.

3. Vị trí hình thành và phương hướng vận chuyển của các phytohoocmon trong cây

Mỗi loại phytohoocmon được hình thành trong các cơ quan, bộ phận nhất định và từ đấy được vận chuyển đi khắp cơ thể, đến mọi tế bào để điều chỉnh quá trình sinh trưởng, phát triển của cây. Chúng có thể được vận chuyển trong xylem và phloem tuỳ từng trường hợp cụ thể. Hơn nữa, tùy theo giai đoạn phát triển của cơ quan và của cây, tuỳ theo nhu cầu của cây đối với chúng mà chất nào được hình thành chủ yếu.

Điều cơ bản là chúng đều có mặt ở trong mọi tế bào để tham gia vào sự cân bằng giữa các phytohoocmon và nhờ đấy mà điều chỉnh mọi quá trình sinh trưởng, phát triển của cây (hình 144).



Hình 144 -Vị trí hình thành và phương hướng vận chuyển phytohoocmon trong cây

X – NGUYÊN TẮC SỬ DỤNG CHẤT ĐIỀU HOÀ SINH TRƯỞNG VÀ NHỮNG ỨNG DỤNG CỦA CHÚNG TRONG TRỒNG TRỌT

1. Nguyên tắc sử dụng

Khi sử dụng các chất điều hoà sinh trưởng trong trồng trọt chúng ta cần lưu ý đến những nguyên tắc sau đây :

Nguyên tắc thứ nhất : Là nồng độ. Hiệu quả của chất điều hoà sinh trưởng đối với thực vật phụ thuộc vào nồng độ tác dụng. Thông thường, nếu nồng độ quá thấp thì hiệu quả sinh lí kém hay không có gì ; nồng độ sử dụng ở mức thấp sẽ gây hiệu quả kích thích sinh trưởng ; nếu nồng độ sử dụng cao sẽ gây ảnh hưởng ức chế và nếu nồng độ quá cao sẽ gây ảnh hưởng phá huỷ, dẫn tới huỷ diệt. Vì vậy tuỳ theo mục đích đặt ra mà ta chọn nồng độ sử dụng khác nhau. Chẳng hạn, muốn kích thích sinh trưởng, tăng sinh khối thì sử dụng với nồng độ thấp (vài ppm đến vài chục ppm) ; nếu muốn ức chế sinh trưởng, kéo dài ngủ nghỉ thì sử dụng nồng độ cao (vài nghìn ppm) và nếu muốn huỷ diệt (diệt cỏ dại, rụng lá, khô lá) thì sử dụng nồng độ rất cao, thường dưới dạng bột (vài kg/ha).

Nguyên tắc thứ hai : Là nguyên tắc phối hợp. Chất điều hoà sinh trưởng không phải là các chất dinh dưỡng, mà chúng chỉ có thể hoạt hoá quá trình trao đổi chất. Vì vậy muốn có hiệu quả kinh tế (tăng năng suất và phẩm chất) thì nhất thiết phải phối hợp giữa việc xử lí chất điều hoà sinh trưởng với việc thoả mãn nhu cầu về nước và dinh dưỡng cho cây. Chẳng hạn, xử lí auxin cho cà chua, sẽ làm tăng sự đậu quả rất nhiều, nhưng nếu thiếu nước và dinh dưỡng thì các quả sau khi đậu sẽ bị rụng.

Nguyên tắc thứ ba : Là nguyên tắc đối kháng sinh lí giữa các chất xử lí ngoại sinh và các chất nội sinh. Sự đối kháng sinh lí này sẽ triệt tiêu tác dụng của nhau. Chẳng hạn, sự đối kháng sinh lí giữa auxin xử lí và etilen nội sinh trong việc phòng ngừa sự rụng hoa, quả, lá ; sự đối kháng giữa GA ngoại sinh và AAB nội sinh trong sự phá ngủ nghỉ ; sự đối kháng giữa auxin và xytokinin trong sự phân hoá rễ và chồi.

Nguyên tắc thứ tư : Là nguyên tắc chọn lọc. Nguyên tắc này thường áp dụng với các herbixit (thuốc trừ cỏ). Khi sử dụng các herbixit phải lưu ý đến khả năng độc chọn lọc đối với các loại cỏ dại khác nhau và đối với các loại cây trồng khác nhau. Khả năng độc chọn lọc này có thể phụ thuộc phân huỷ nhanh trong cây nhờ có các enzim đặc hiệu. Do đó phải chọn loại thuốc diệt cỏ dại mà không độc cho cây, đồng thời phối hợp một số thuốc khác nhau để diệt được hết các đối tượng cỏ dại vốn mẫn cảm nhiều với thuốc.

2. Ứng dụng

Chất điều hoà sinh trưởng của thực vật ngày nay đã và đang sử dụng rất rộng rãi trong trồng trọt như là một phương tiện điều chỉnh hoá học quan trọng đối với sự sinh trưởng, phát triển của cây nhằm thu được năng suất cao và phẩm chất tốt. Sau đây là một số lĩnh vực được ứng dụng phổ biến và hiệu quả.

Kích thích nhanh sự sinh trưởng của cây, tăng chiều cao, tăng sinh khối, tăng thu hoạch.

Với các cây rau việc tăng sinh khối có ý nghĩa rất quan trọng. Để đạt được điều đó người ta thường sử dụng các chất kích thích sinh trưởng đặc biệt là sử dụng giberelin. Việc phun dung dịch GA cho các loại rau và cỏ đều làm tăng năng suất rất nhiều so với

đối chứng. Với một số cây trồng cần chiều cao như cây lấy sợi, cây mía thì sử dụng GA đều có thể đạt được mục đích đó. Người ta phun dung dịch GA nồng độ 20 – 50ppm cho cây đay có thể làm tăng chiều cao gấp đôi, phun cho mía có thể làm tăng chiều dài lóng lên nhiều lần.

Một trong những ứng dụng quan trọng là theo hướng tăng kích thước và tăng năng suất của quả khi xử lí chất điều hoà sinh trưởng. Việc xử lí nho với GA_3 (5 – 40ppm tuỳ theo giống) là biện pháp phổ biến và quan trọng làm tăng năng suất nho lên gấp bội và cải thiện được phẩm chất hoặc sử dụng ADHS (2,2 – axit dimetil hidrazit sucxinic) cho nho, táo (nồng độ 500 – 2000ppm) cũng mang hiệu quả tăng năng suất đáng kể.

Kích thích sự ra rễ phụ của cành giâm, cành chiết ứng dụng vào việc nhân giống vô tính cây trồng. Nhiều nhà khoa học đã tập trung nghiên cứu cơ sở sinh lí của sự tái sinh rễ phụ và ứng dụng vào việc nhân giống vô tính nhiều đối tượng cây trồng : cây ăn quả, cây công nghiệp, cây cảnh, cây thuốc. Hoá chất có hiệu quả cao nhất kích thích ra rễ là AIB và α-ANA. Nồng độ sử dụng tuỳ thuộc vào phương pháp ứng dụng, vào đối tượng sử dụng và mùa vụ. Có 3 phương pháp chủ yếu sử dụng chất điều hoà sinh trưởng cho cành giâm : phương pháp nhúng nhanh trong dung dịch kích thích ra rễ có nồng độ đặc (1000 – 120000ppm) trong 3 – 5 giây rồi cắm vào giá thể ; phương pháp ngâm lâu trong dung dịch loãng (vài chục – vài trăm ppm) trong 12 – 24 giờ và phương pháp phun lên lá thay cho xử lí gốc. Phương pháp xử lí nồng độ hiệu quả 50 – 100ppm. Chế phẩm, chiết cành của Bộ môn Sinh lí hoá thực vật trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội xây dựng trên cơ sở phối hợp tối ưu giữa α-ANA và AIB và một số chất phụ gia khác.

Điều chỉnh sự phát triển hình thái trong nuôi cấy mô : Trong nuôi cấy mô, người ta sử dụng auxin để điều khiển sự phát sinh callus và rễ, còn dùng xytokinin để điều khiển sự phát sinh chồi. Tỉ lệ auxin/xytokinin có ý nghĩa quan trọng trong nuôi cấy mô, đặc biệt trong việc nhân giống vô tính bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro*. Tỉ lệ cân đối giữa auxin/xytokinin sẽ cho phép tạo cây hoàn chỉnh (rễ, thân, lá). Tỉ lệ này thay đổi tuỳ theo đối tượng thực vật nuôi cấy và loại mô nuôi cấy.

Điều khiển sự ngủ nghỉ của hạt, củ, căn hành : Chất điều hoà sinh trưởng vốn có khả năng can thiệp vào trạng thái ngủ nghỉ của thực vật hoặc phá vỡ hoặc kéo dài thời kì ngủ nghỉ của chúng. Điều đó rất có ý nghĩa trong sản xuất.

Để phá bỏ trạng thái ngủ nghỉ, người ta sử dụng chủ yếu GA_3. GA khi xâm nhập vào cơ quan đang ngủ nghỉ sẽ làm lệch cân bằng hoocmon thuận lợi cho sự nảy mầm. Những năm gần đây Bộ môn Sinh lí sinh hoá thực vật trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội đã nghiên cứu biện pháp phá ngủ nghỉ cho khoai tây thu hoạch vụ đông để trồng vụ xuân và đã xây dựng được quy trình tối ưu cho việc phá ngủ nghỉ khoai tây vừa thu hoạch đạt tỉ lệ nảy mầm trên 90% trong 5 – 7 ngày. Việc phun dung dịch GA 2ppm cho khoai tây vừa thu hoạch, kết hợp với xông hơi hỗn hợp rindit hoặc CS_2 trong hầm đất kín là biện pháp dễ triển khai và có hiệu quả kinh tế hơn cả. Biện pháp phá ngủ tổng hợp này đã được ứng dụng rộng rãi trong sản xuất khoai tây xuân hiện nay. Ngoài ra nếu kết hợp xử lí GA với nhiệt độ thấp (4 – 10°C) thì có khả năng phá ngủ cho bất kì đối tượng ngủ nghỉ nào.

Trong kho bảo quản, nhiều trường hợp cần thiết phải kéo dài thời gian ngủ nghỉ. Để kéo dài thời gian ngủ nghỉ của khoai tây trong kho bảo quản người ta thường xử lí IPCC

(izo propyl cloro cacbaminat) với dung dịch 0,5% trong nước hoặc sử dụng MH và MENA (metileste của ANA) cũng có hiệu quả ức chế đáng kể. Để bảo quản hành tỏi, chống tóp và chống nảy mầm người ta xử lí với MH với nồng độ 500 – 2500ppm.

Điều chỉnh sự ra hoa của cây : Việc sử dụng các chất tiết sinh trưởng để kích thích sự ra hoa sớm cũng là những ứng dụng phổ biến và có hiệu quả trong trồng trọt.

Để cho dứa ra hoa trái vụ, tăng một vụ thu hoạch dứa, người ta sử dụng các chất α- ANA nồng độ 25ppm, 2,4D nồng độ 5 – 10ppm, ethrel (sản sinh ra etilen) và β- hidroxi etilhidrazin có hiệu quả cao hơn cả (100% ra hoa so với đối chứng là 0%). Phương pháp đơn giản ở ta hay sử dụng là bỏ 1g đất đèn vào trong nõn dứa, khi gặp mưa, đất đèn sẽ tác dụng với nước giải phóng axetilen kích thích dứa ra hoa.

Với táo, trên thế giới người ta sử dụng phổ biến ADHS để ức chế sinh trưởng dinh dưỡng và làm cho chúng ra hoa sớm. Nồng độ ADHS thay đổi tuỳ thời gian sử dụng và giống táo ; thường người ta sử dụng nồng độ 500 – 5000ppm ; ở nồng độ cao ADHS không gây độc cho cây. ADHS cũng có hiệu quả kích thích ra hoa đối với hồng, lê, chanh.

Với đu đủ, chất hiệu quả nhất là axit benzotiazon axetic. Ở nồng độ 30 – 50ppm axit benzotiazon axetic làm bật hoa ở những mắt dưới và tăng sản lượng quả 50 – 70%.

Người ta sử dụng GA kích thích sự ra hoa ở cây xà lách để lấy hạt, cảm ứng ra hoa của cây ngày dài hằng năm trồng trong điều kiện ngày ngắn và có thể làm cho cây hai năm ra hoa trong năm đầu (xử lí cho bắp cải, su hào, xà lách có thể ra hoa được).

Ngoài ra còn sử dụng chất điều hoà sinh trưởng để tăng số lượng hoa, rút ngắn thời gian ra hoa ở một số cây cảnh (cúc, lay ơn, hoa kèn). Bộ môn Sinh lí thực vật trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội cũng đã xử lí GA phối hợp với nhiệt độ thấp làm cho loa kèn ra hoa sớm 1 – 2 tháng, làm tăng hiệu quả kinh tế lên rất nhiều lần.

Điều chỉnh giới tính của hoa : Nhiều nghiên cứu khẳng định rằng việc sử dụng auxin sẽ làm cho sự biểu hiện giới tính đực và cái của một số hoa cân bằng ; nếu áp dụng giberelin sẽ kích thích sự hình thành hoa đực, sự phát triển của bao phấn và hạt phấn ; còn áp dụng xytokinin và ethrel sẽ kích thích sự hình thành hoa cái. Ở các cây họ Bầu bí và các cây đơn tính khác : Sử dụng ethrel 50 – 250ppm thì sẽ tạo nên 100% hoa cái, nên đã làm tăng năng suất rất nhiều của các cây họ Bầu bí trên đồng ruộng. Trong sản xuất hạt lai F_1 của bầu bí, người ta phun GA để tạo nên cây mang toàn hoa đực. Hạt của cây bí chỉ mang hoa cái ở cạnh cây hoa đực đó là hạt lai...

Tăng sự đậu quả và tạo quả không hạt : Quả được hình thành sau khi xảy ra quá trình thụ phấn, thụ tinh. Hợp tử phát triển thành phôi. Phôi sinh trưởng sẽ là trung tâm sản sinh ra các chất kích thích sinh trưởng có bản chất auxin và giberelin. Các chất này khuếch tán vào bầu và kích thích sự lớn lên của bầu thành quả. Vì vậy nếu không có quá trình thụ phấn, thụ tinh thì hầu hết hoa sẽ rụng. Nếu chúng ta sử dụng auxin và giberelin ngoại sinh cho hoa trước khi thụ phấn, thụ tinh thì chúng ta có thể thay thế được nguồn phytohoocmon nội sinh từ phôi và quả sẽ được hình thành, nhưng không thông qua thụ tinh và sẽ không có hạt. Hai nhóm chất có thể gây được hiệu quả trên là auxin và giberelin. Việc sử dụng các chất điều tiết sinh trưởng tăng sự đậu quả và tạo quả không hạt được sử dụng rất rộng rãi và có hiệu quả cao trong sản xuất với các đối tượng như nho, bầu bí, cà chua, táo... Chẳng hạn với cà chua, có thể sử dụng auxin : 4–CPA (4–clorophenoxiaxetic axit) nồng

độ 15ppm, 2,4–D (5 – 10ppm), ANA (920 – 30ppm)... Với nho có thể sử dụng GA_3 (5 – 20ppm) hoặc 4–CPA (2 – 10ppm)... Với táo có thể dùng GA nồng độ 400ppm hoặc phối hợp giữa GA (250ppm) với auxin (10ppm).

Điều chỉnh sự chín của quả : Hiệu quả đầu tiên của etilen là kích thích sự chín của quả. Trong thực tiễn sản xuất, việc làm nhanh sự chín đặc biệt là chín đồng loạt để thu hoạch cơ giới có ý nghĩa quan trọng. Người ta sử dụng ethrel để phun cho quả trước khi thu hoạch hai tuần với nồng độ 500 – 5000ppm. Sử dụng ADHS (5000ppm) cũng có hiệu quả rõ rệt lên sự chín. Để kích thích sự chín của nho người ta sử dụng ethrel với nồng độ 500 – 1000ppm... Nói chung với các loại quả trước và sau thu hoạch muốn nhanh chín đều có thể phun dung dịch ethrel. Ở nước ta thường ủ quả chín bằng đất đèn (axetilen) cũng có hiệu quả kích thích đáng kể...

Để kéo dài thời gian tồn tại của quả trên cây người ta cũng có thể sử dụng chất điều hoà sinh trưởng. Ví dụ, người ta phun 2,4–D (5 – 10ppm) cho quả các cây họ *Rutaceae*, dùng α - ANA (10 – 20ppm) với đậu *Phaza olus* có thể kéo dài tồn tại của chúng trên cây.

Ngăn chặn sự rụng lá, nụ và quả : Sự rụng là một phản ứng tự nhiên của cây, do sự xuất hiện tầng rời ở cuống lá, hoa, quả. Sự hình thành tầng rời được cảm ứng bởi etilen, AAB và các chất ức chế sinh trưởng nhưng lại bị ức chế bởi các nhóm chất kích thích sinh trưởng, đặc biệt là auxin. Vì vậy, người ta thường phun auxin để làm thay đổi sự cân bằng hoocmon trong cơ quan không thuận lợi cho sự xuất hiện tầng rời. Để ngăn chặn giai đoạn rụng quả non người ta phun lên nụ hoa hoặc lên quả non dung dịch GA (1 – 20ppm cho nho) hoặc dung dịch auxin (ANA ; 2,4–D ; 2,4,5–T cho các loại cây trồng) đều có thể ngăn ngừa sự rụng. Sự rụng quả trước khi thu hoạch cũng có thể kìm hãm bởi sử dụng các dung dịch chất điều hoà sinh trưởng. Nhóm chất được sử dụng nhiều nhất là auxin. Chẳng hạn với cam chanh có thể phun 2,4–D nồng độ 8 – 16ppm, với lê sử dụng α - ANA 10ppm, với táo sử dụng α - ANA 20ppm hoặc hiệu quả hơn là ADHS (500 – 2000ppm)...

Làm thui hoa thuốc lá, ức chế mầm nách thay thế cho ngắt hoa, tỉa mầm bằng tay : Sự ra hoa của thuốc lá là một khó khăn cho ngành trồng thuốc lá. Người ta có thể sử dụng biện pháp ngắt bằng tay nhưng tốn quá nhiều công lao động. Nhiều nước trồng thuốc lá đã áp dụng biện pháp sử dụng MH để ngăn chặn sự sinh trưởng của mầm hoa thành hoa. Nồng độ sử dụng là dung dịch MH 1 – 2,5% trong nước. Người ta phun vào giai đoạn bắt đầu có nụ hoa đầu tiên (90% số cây). Đây là biện pháp có hiệu quả kinh tế cao và là biện pháp bắt buộc đối với ngành thuốc lá tiên tiến.

Tăng tính chống chịu của cây với điều kiện bất thuận : Việc sử dụng CCC để tăng tính chống đổ, làm lùn cây là một biện pháp phổ biến đối với lúa mì ở nhiều nước. Sử dụng 10kg CCC/ha có thể làm tăng 30% năng suất hạt của lúa mì. Với lúa, các thí nghiệm trên đồng ruộng tiến hành ở Ôxtraylia đã khẳng định rằng CCC làm tăng tính chống đổ cho lúa, không ảnh hưởng đến chất lượng của hạt mà làm tăng năng suất hạt. Việc ứng dụng phối hợp giữa CCC và phân nitơ đã làm tăng hiệu quả phân bón rất nhiều. Tuy nhiên phản ứng của các giống lúa khác nhau với CCC là rất khác nhau.

Tăng tính chịu hạn cho một số cây trồng (lúa mì, lúa mạch, nho, đậu, táo, hướng dương) : ở lúa mì, mạch người ta sử dụng CCC (500 – 2000ppm), ADHS (1000 – 4000ppm) ; ở nho thường sử dụng ADHS (500 – 6000ppm) ; ở các cây trồng khác người

ta cũng sử dụng chủ yếu CCC và ADHS để tăng tính chống chịu hạn dựa trên cơ sở ức chế sinh trưởng.

Với việc sử dụng CCC để ức chế sinh trưởng cũng có thể làm tăng tính chống chịu mặn cho cây trồng.

Sử dụng CCC và ADHS có thể làm tăng tính chống chịu nhiệt độ thấp cho cà chua, táo, lê, lúa mì... với chanh sử dụng MH (1000ppm) đã làm tăng tính chống chịu lạnh lên rất nhiều.

Với việc sử dụng CCC và ADHS cũng đã làm tăng tính chống chịu với sâu bệnh cho nhiều đối tượng cây trồng. Kích thích hoạt tính của enzim trong kĩ nghệ sản xuất malt bia (nha bia). GA có khả năng kích thích nảy mầm của hạt lúa mì, lúa, ngô... làm tăng hàm lượng và hoạt tính của enzim thuỷ phân tinh bột. Vì vậy đã từ lâu người ta đã sử dụng GA để sản xuất malt bia từ đại mạch. Việc cộng thêm 1 – 3mg GA cho 1kg đại mạch vào giai đoạn đầu của sự nảy mầm sẽ làm nhanh quá trình malt hoá nguyên liệu lên 1,5 ngày.

Làm tăng năng suất và sản lượng đường của mía. Có một số biện pháp kĩ thuật trồng trọt được sử dụng để làm tăng hàm lượng đường mía như cắt ngọn lúc chuẩn bị thu hoạch, hạn chế bón nitơ vào lúc trưởng thành và không tưới nước lúc chín. Bên cạnh đó hàng loạt các chất hoá học được thử nghiệm ở nhiều vùng trồng mía như đảo Hawai, Ôxtraylia, nhưng giberelin là chất có hiệu quả cao nhất. Với nồng độ thích hợp (10 – 100ppm) đã kích thích sự kéo dài của lóng, làm tăng năng suất ; đồng thời do tỉ lệ lóng trên mắt cao nên tăng suất đường cũng tăng lên, nếu phun 3 lần, mỗi lần cách nhau 2 – 4 tuần thì sản lượng đường tăng lên 25% so với đối chứng.

Kích thích sự tiết nhựa của các cây có nhựa mủ ; ứng dụng quan trọng nhất trong lĩnh vực này là làm tăng sản lượng mủ của cao su *(Hevea brasiliensis)*. Trước đây người ta sử dụng 2,4,5-T, ngày nay người ta sử dụng chất có hiệu quả hơn là ethrel ở nồng độ 10% trong dầu dừa được bôi lên trên khoanh vỏ bị bóc. Năng suất nhựa khô có thể tăng 200% so với đối chứng.

Sử dụng để trừ cỏ dại hại cây trồng : Có rất nhiều loại thuốc trừ cỏ (herbixit) khác nhau nhưng các thuốc trừ cỏ sử dụng rất thành công trong một số cây trồng lấy hạt như là lúa mì, kiều mạch, lúa..., hoặc bông, sorghum, đậu tương, củ cải đường, cà chua. Nguyên tắc cơ bản lúc sử dụng herbixit là tính chọn lọc dựa trên độ độc chọn lọc, khả năng và tốc độ khử độc trong cây. Người ta phải chọn loại thuốc diệt hết cỏ dại mà không có hại đối với cây trồng.

Các thuốc trừ cỏ được chia thành : Các thuốc trừ cỏ clorophenoxi bao gồm 2,4-D ; 2,4,5-T ; ACMP... có ảnh hưởng nghiêm trọng lên quá trình trao đổi chất trong cây và ức chế hoạt tính của các enzim làm cho quá trình phân chia tế bào trong mô phân sinh và sinh trưởng giãn bị ngừng... ; các thuốc trừ cỏ của axit clorobenzoic gồm 2,3,6-ATB ; 2,3,5,6-TBA bản chất là chất gây độc cũng như 2,4-D : một số thuốc trừ cỏ khác chứa N, quan trọng là picloram và ANP...

XI – QUÁ TRÌNH PHÁT TRIỂN

Sự hình thành hoa là dấu hiệu của việc chuyển cây từ giai đoạn sinh trưởng, phát triển sinh dưỡng sang giai đoạn sinh trưởng phát triển sinh sản bằng việc chuyển hướng từ

hình thành mầm lá sang hình thành mầm hoa. Nó biểu hiện về phản ứng di truyền và trạng thái sinh lí nhất định khi gặp điều kiện ngoại cảnh thích hợp. Các điều kiện ngoại cảnh đó trước hết là nhiệt độ và ánh sáng. Vì vậy nhân tố ngoại cảnh đóng vai trò là các nhân tố cảm ứng sự ra hoa. Sau khi cảm ứng sự ra hoa thì hoa được hình thành và phân hoá. Có thể chia quá trình hình thành hoa thành các giai đoạn như sau :

– Cảm ứng hình thành hoa : trong đó có sự cảm ứng nhiệt độ (gọi là sự xuân hoá) và cảm ứng với ánh sáng (quang chu kì).

– Sự hình thành mầm hoa.

– Sự sinh trưởng của hoa và sự phân hoá hoa, phân hoá giới tính.

1. Sự cảm ứng hình thành hoa bởi nhiệt độ (sự xuân hoá)

Có rất nhiều thực vật mà nhiệt độ có ảnh hưởng rất sâu sắc đến sự khởi đầu và phát triển của các cấu trúc sinh sản. Với những cây lâu năm thì thường ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự ra hoa là thứ yếu sau ảnh hưởng của quang chu kì. Nhưng với cây hai năm thì ngược lại : trong năm đầu chúng duy trì ở trạng thái dinh dưỡng, năm thứ hai sau khi trải qua một thời gian lạnh dài thì chúng ra hoa. Nếu những thực vật này không được tác động bởi lạnh thì phần lớn chúng được giữ lại ở trạng thái sinh trưởng, phát triển sinh dưỡng không xác định. Người ta đã chứng minh rằng phần lớn những cây hai năm việc xử lí lạnh nhân tạo và kèm theo quang chu kì thích hợp thì chúng có thể ra hoa ngay trong mùa sinh trưởng đầu tiên, tức là có thể biến cây hai năm thành cây một năm bằng biện pháp xử lí lạnh.

Năm 1857, Klipart đã thành công trong việc bảo quản lúa mì mùa đông thành lúa mì mùa xuân chỉ cần cho nảy mầm nhẹ và bảo quản chúng trong điều kiện nhiệt độ thấp cho đến khi đem gieo vào mùa xuân. Như vậy có thể gieo hạt lúa mì vào tháng 4 thay cho gieo vào tháng 9 năm trước. Chính vì vậy mà thuật ngữ "xuân hoá" xuất hiện và coi như một sự thúc đẩy ra hoa của cây bởi xử lí nhiệt độ thấp. Như vậy, nhiệt độ có vai trò như là một yếu tố cảm ứng sự ra hoa và yêu cầu về nhiệt độ thấp của cây có thể có hai đặc trưng như sau :

Ảnh hưởng của nhiệt độ thấp là bắt buộc và có tính chất cảm ứng rõ rệt. Những thực vật này chỉ ra hoa khi có một giai đoạn phát triển trong điều kiện nhiệt độ thấp thích hợp (gọi là nhiệt độ xuân hoá). Nếu nhiệt độ cao hơn nhiệt độ xuân hoá thì cây chỉ sinh trưởng mà không ra hoa (ví dụ như củ cải đường, rau cần tây, bắp cải, su hào...). Với những thực vật này việc xử lí lạnh cho hạt là không có ý nghĩa đáng kể.

Ảnh hưởng của nhiệt độ thấp là không bắt buộc. Nếu nhiệt độ cao hơn nhiệt độ xuân hoá thì cây vẫn ra hoa nhưng muộn hơn. Với những thực vật này thì hạt và quả của chúng cảm ứng mạnh mẽ với nhiệt độ thấp, chẳng hạn như lúa mì mùa đông, đậu Hà lan, xà lách, lúa mạch đen, củ cải đỏ...

Tuy nhiên, phản ứng nhiệt độ của cây thường đi kèm theo với phản ứng ánh sáng của chúng. Hai tác nhân này có tác dụng bổ sung cho nhau. Chẳng hạn cây *Hyocyamus niger* là cây ngày dài điển hình chỉ ra hoa khi có hai điều kiện cùng tác động là nhiệt độ thấp và ngày dài.

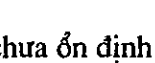
Từ lâu người ta đã chứng minh rằng cơ quan tiếp nhận (cảm thụ) phản ứng nhiệt độ là đỉnh sinh trưởng của thân. Chỉ cần đỉnh sinh trưởng chịu tác động của nhiệt độ thấp cũng có thể gây nên sự phân hoá mầm hoa. Như vậy đối với sự cảm nhận quá trình xuân hoá cần có các tế bào đang phân chia của đỉnh sinh trưởng.

Giới hạn tác động của nhiệt độ và thời gian tiếp xúc có hiệu quả thay đổi tuỳ theo từng loại thực vật tức là tuỳ theo mức độ mẫn cảm của cây với nhiệt độ cảm ứng. Nói chung với đa số thực vật nhiệt độ từ 0 – 15°C là có hiệu quả xuân hoá. Nhiệt độ xuân hoá càng thấp thì thời gian tiếp xúc càng ngắn và ngược lại. Chẳng hạn với lúa mạch mùa đông nhiệt độ xuân hoá dao động từ – 4°C đến 14°C nhưng từ 1 đến 7°C là có hiệu quả nhất : nếu tăng nhiệt độ lên 7 – 15°C thì cường độ xuân hoá sẽ giảm nhanh. Nhiệt độ xuân hoá của củ cải đường là – 0,5°C – 15°C (thích hợp là 1 – 7°C) ; ở hành tỏi từ 8 – 17°C...

Độ tuổi mẫn cảm với xuân hoá cũng thay đổi theo từng loại thực vật. Ở ngũ cốc thì giai đoạn hiệu quả nhất là lúc nảy mầm, thậm chí ở giai đoạn bảo quản hạt giống. Ở các thực vật khác thì giai đoạn mẫn cảm nhiệt độ ở một thời kì sinh trưởng của cây : giai đoạn cây con, giai đoạn trải lá bàng (bắp cải). Chính vì vậy mà những cây hai năm thì cần một mùa đông cây sinh trưởng trong nhiệt độ thấp.

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng khi nào quá trình xuân hoá chưa kết thúc thì tác dụng của nhiệt độ thấp có thể bị phá bỏ bởi các tác nhân không thuận lợi khác, đặc biệt là nhiệt độ cao, gọi là sự phản xuân hoá. Chẳng hạn lúa mạch đen mùa đông bị phản xuân hoá ở nhiệt độ cao hơn 15°C ; củ cải đường ở 23 – 24°C... Nhiệt độ càng cao, thời gian tác động dài, hiệu quả phản xuân hoá càng mạnh. Ở trong tối hiệu quả phản xuân hoá mạnh hơn ở ngoài sáng.

Purvice (1957) đã nghiên cứu động học của sự xuân hoá và sự phản xuân hoá đưa ra sơ đồ sau :



$$A \rightleftharpoons A' \rightarrow B$$

A là chất tiền thân của sự xuân hoá ; A' là sản phẩm chưa ổn định còn B là sản phẩm ổn định của sự xuân hoá. Phần $A \rightleftharpoons A'$ chỉ sự xuân hoá xảy ra ở nhiệt độ thấp và phản phân hoá xảy ra ở nhiệt độ cao chừng nào quá trình xuân hoá chưa kết thúc. Còn khi quá trình xuân hoá đã kết thúc (hình thành sản phẩm B ổn định) thì hiệu quả phản xuân hoá không đáng kể...

Về bản chất của sự xuân hoá cho đến nay vẫn chưa hoàn toàn sáng tỏ. Người ta cho rằng dưới tác động của nhiệt độ thấp, trong đỉnh sinh trưởng xuất hiện một "tác nhân xuân hoá" nào đấy (vernalin). Chất đó được vận chuyển dễ dàng trong cây và đến các đỉnh sinh trưởng của cành để quyết định sự phân hoá mầm hoa. Những thí nghiệm ghép cây đã được tiến hành và thấy rằng : nếu một cành đã xuân hoá thì các cành của chúng đều ra hoa. Tuy nhiên vernalin đến nay vẫn chưa xác định được. Việc xử lí giberelin trong nhiều trường hợp có thể thay thế được nhiệt độ thấp (ví dụ như ở cà rốt, cần tây, củ cải đường, bắp cải...). Tuy nhiên GA không thể quyết định sự ra hoa được. Auxin trong sự xuân hoá không có ảnh hưởng đáng kể. Các phytohoocmon khác cũng gây nên hiệu quả đáng kể đến sự xuân hoá.

Nhiều thí nghiệm phân tích sự biến đổi của ARN dưới ảnh hưởng của nhiệt độ thấp và nhận thấy rằng khi tác động xuân hoá, trong cây có sự tăng hàm lượng ARN và giảm hàm lượng histon. Điều này có liên quan đến cơ chế hoạt hoá gen...

Vì vậy, có thể quan niệm rằng nhiệt độ thấp sẽ khởi động trong đỉnh sinh trưởng tạo nên một chất nào đấy (vernalin), chất đó sẽ được vận chuyển đến các bộ phận cần thiết và gây nên sự hoạt hoá phân hoá gen cần thiết cho sự phân hoá mầm hoa ở trong đỉnh sinh trưởng của thân. Ở đây yếu tố nhiệt độ chỉ là yếu tố cảm ứng mà thôi.

Việc hiểu biết ảnh hưởng của nhiệt độ thấp đến sự phát triển của cây có ý nghĩa trong sản xuất. Bằng biện pháp xử lí nhiệt độ thấp thích hợp, người ta có thể biến lúa mì mùa đông thành lúa mì mùa xuân, biến cây hai năm thành cây một năm.

Với hầu hết các loại giống cây trồng, việc xử lí nhiệt độ thấp hoặc bảo quản nhiệt độ thấp cho hạt giống, củ giống hoặc căn hành đều có khả năng rút ngắn thời gian sinh trưởng, xúc tiến sự ra hoa nhanh và làm tăng năng suất, phẩm chất thu hoạch. Phòng thí nghiệm Sinh lí thực vật Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội đã nghiên cứu biện pháp xử lí hoá chất kết hợp với nhiệt độ thấp đã làm rút ngắn đáng kể thời gian sinh trưởng của các cây họ Hành tỏi *(liliaceae)*, như rút ngắn thời gian sinh trưởng của tỏi, hành, làm hoa loa kèn ra hoa trái vụ tăng hiệu quả kinh tế của việc xuất khẩu hoa...

2. Sự cảm ứng ra hoa bởi ánh sáng (quang chu kì)

Quan niệm đầu tiên về quang chu kì tức là sự thích nghi của cây với độ dài khác nhau của ngày và đêm đã được Garner và Alard (1920) đề cập đến khi nghiên cứu sự ra hoa của một đột biến thuốc lá có tên là *Mariland mamooth*. Đột biến đó không ra hoa trong khi các cây thuốc lá khác ra hoa. Họ đưa nó vào nhà kính để tránh băng giá thì mãi đến dịp Noen mới ra hoa. Hạt của nó đem gieo, năm sau cây thuốc lá này cũng có phản ứng tương tự. Họ đã phát hiện ra rằng vào dịp Noen là thời gian có độ chiếu sáng ngắn nhất, chứng tỏ rằng cây thuốc lá này rất mẫn cảm với ngày ngắn khi trồng chúng trong điều kiện chiếu sáng ngày ngắn nhân tạo thì chúng ra hoa bình thường. Họ cũng lần lượt phát hiện ra nhiều cây khác mà sự ra hoa phản ứng với ánh sáng ngày ngắn (đậu tương, thuốc lá, cúc...) và cũng có những cây khác lại có phản ứng với ánh sáng ngày dài (lúa mì, bắp cải...). Từ đó, học thuyết về quang chu kì đã được xây dựng. Ảnh hưởng của quang chu kì không chỉ biểu hiệu ở sự ra hoa của cây mà còn ở các quá trình phát sinh hình thái khác : của khoai tây được hình thành trong ánh sáng ngày ngắn, còn căn hành thì trong ánh sáng ngày dài...

Độ dài chiếu sáng tới hạn trong ngày có tác dụng điều tiết sự sinh trưởng phát triển của cây, có thể kích thích hoặc ức chế các quá trình khác nhau và phụ thuộc vào các loài khác nhau gọi là hiện tượng quang chu kì.

Trên quan điểm đó, người ta phân thực vật thành các nhóm cây có sự mẫn cảm khác nhau với độ dài chiếu sáng trong ngày (chu kì ngày đêm 24 giờ) :

Nhóm cây ngày ngắn : Là những cây ra hoa được khi có thời gian chiếu sáng trong ngày nhỏ hơn thời gian chiếu sáng tới hạn. Nếu thời gian chiếu sáng quá thời gian chiếu sáng tới hạn thì cây ở lại trạng thái dinh dưỡng, ví dụ : thuốc lá, lúa, kê, đay, đậu tương.

Nhóm cây ngày dài : Gồm những thực vật ra hoa khi có thời gian chiếu sáng dài hơn thời gian chiếu sáng tới hạn. Nếu thời gian chiếu sáng ngắn hơn thì cây sinh trưởng bất thường và không ra hoa, ví dụ : lúa mì mùa đông, củ cải.

Nhóm cây trung tính : Ra hoa không phụ thuộc vào thời gian chiếu sáng mà chỉ cần đạt được một mức độ sinh trưởng, phát triển nhất định, chẳng hạn như đạt được số lá nhất định, ví dụ : cà chua, đậu Hà Lan...

Ngoài ra, có thể còn có những cây ngày ngắn – dài (cần một số quang chu kì ngày ngắn rồi đến một số quang chu kì ngày dài) hay ngược lại là cây ngày dài – ngắn.

Sự phân loại trên đây là chính xác hơn trước đây và mỗi một loài, giống cây đều có một độ dài ngày tới hạn xác định, tại đây cây bắt đầu ra hoa hoặc hình thành củ và căn hành. Ví dụ : cây ngày ngắn điển hình *xanthium* nếu ngắt quãng thời gian tối bằng một thời gian chiếu sáng thì cây không ra hoa, nhưng nếu ngắt quãng thời gian chiếu sáng bằng thời gian tối ngắn thì không ảnh hưởng đến sự ra hoa. Điều đó chứng tỏ với cây này thời gian tối là cực kì quan trọng (hình 145).

Rất nhiều thí nghiệm đã tiến hành theo hướng trên và cho ra những kết quả rõ ràng :

Với cây ngày ngắn : 10 giờ chiếu sáng và 14 giờ để trong tối – ra hoa

10 giờ chiếu sáng và 10 giờ để trong tối – không ra hoa.

14 giờ chiếu sáng và 14 giờ để trong tối – ra hoa.

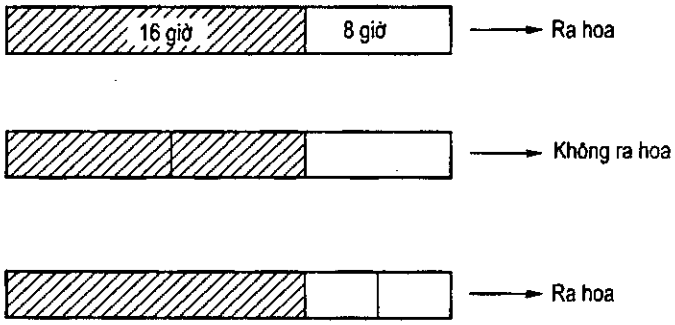
Như vậy thực chất cây ngày ngắn chính là cây đêm dài.

Với cây ngày dài : 15 giờ chiếu sáng và 9 giờ để trong tối – ra hoa.

15 giờ chiếu sáng và 15 giờ để trong tối – không ra hoa.

9 giờ chiếu sáng và 9 giờ để trong tối – ra hoa.

Cây ngày dài thực chất là cây đêm ngắn.



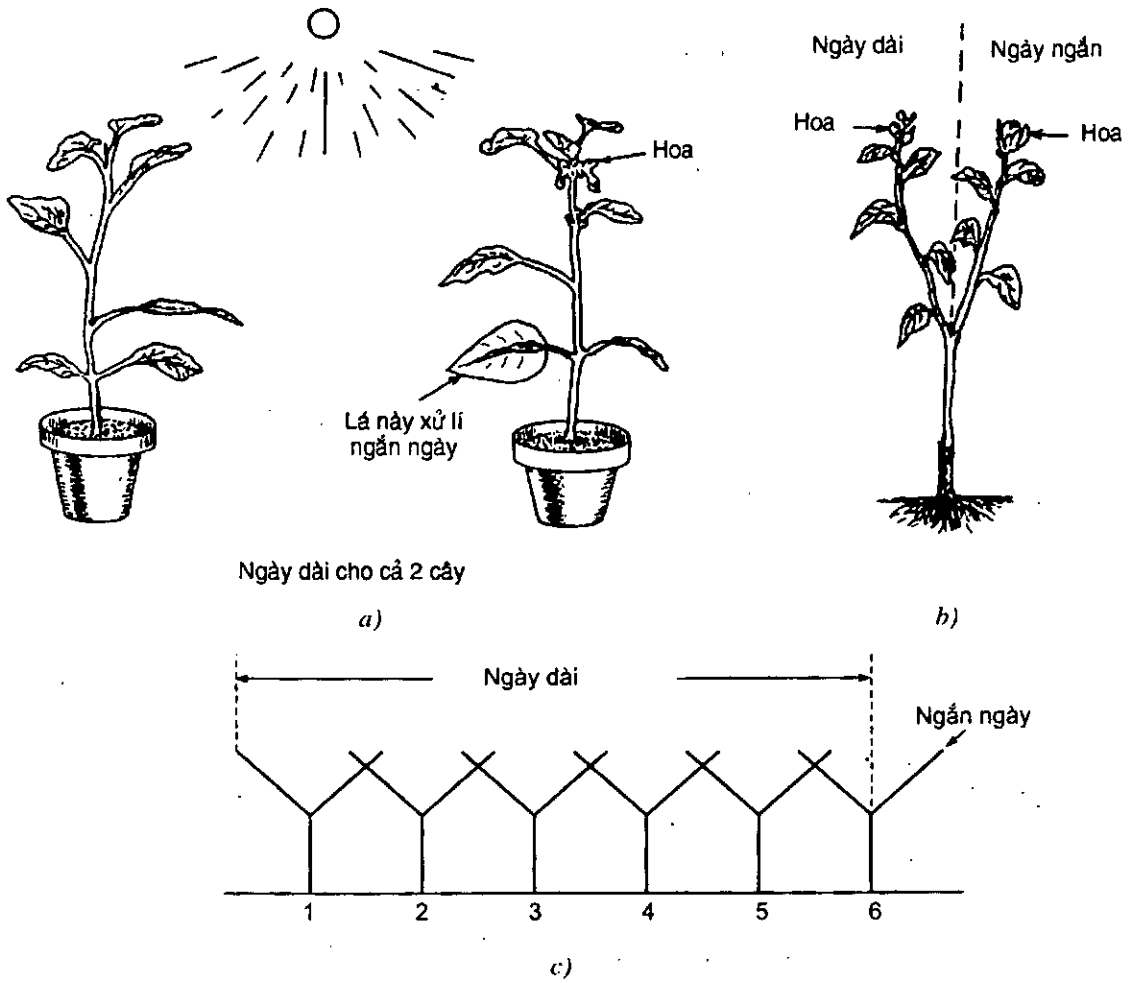
Hình 145 – Hiệu ứng quang gián đoạn ở cây ngày ngắn

Những thí nghiệm trên đã chứng minh vai trò của độ dài tối là quyết định cho sự ra hoa chứ không phải là thời gian chiếu sáng. Bóng tối là yếu tố cảm ứng sự ra hoa, còn thời gian sáng không ảnh hưởng đến sự xuất hiện mầm hoa (không có ý nghĩa cảm ứng) nhưng lại có ý nghĩa về mặt định lượng tức là tăng số lượng nụ hoa.

Quang chu kì cảm ứng cho sự ra hoa không cần thiết phải kéo dài suốt thời gian sinh trưởng, phát triển mà chỉ cần tác động một số quang chu kì cảm ứng nhất định vào giai đoạn nhất định cũng đủ cho sự phân hoá hoa gọi là hiệu ứng quang chu kì. Hiệu ứng quang chu kì rất khác nhau với các loài khác nhau.

Nếu chúng ta ngắt quãng thời gian tối bằng một thời gian chiếu sáng ngắn thì có thể phá bỏ đi hiệu ứng của quang chu kì và cây sẽ không ra hoa được. Hiện tượng đó gọi là quang gián đoạn. Ví dụ, để ngăn ngừa sự ra hoa của mía người ta bắn pháo sáng ban đêm, còn ngăn ngừa sự hình thành củ khoai tây để cây mẹ trẻ phục vụ cho nhân giống bằng cành thì người ta chiếu sáng ngắn vào ban đêm.

Nếu như cơ quan tiếp nhận phản ứng với nhiệt độ là đỉnh sinh trưởng của thân thì người ta chứng minh được cơ quan cảm thụ quang chu kì là lá. Khi lá nhận được quang chu kì cảm ứng thì trong lá hình thành nên một chất nào đó được vận chuyển đến mô phân sinh đỉnh để gây sự phân hoá mầm hoa. Bằng nhiều thí nghiệm ghép cây đã chứng minh sự tồn tại các tác nhân cảm ứng quang chu kì và sự vận động của nó trong cây (hình 146)



Hình 146 – Các thí nghiệm chứng minh hoocmon ra hoa được hình thành trong lá và được vận chuyển đến tất cả các cành để phân hoá mầm hoa
a) Cây Xanthium chỉ cần để một lá trong quang chu kì ngày ngắn
b) Cây Nicotiana tabacum cả cành tác động ngày ngắn và cành ngày dài đều ra hoa
c) Ghép 6 cây Xanthium liên tiếp, một cành trong ngày ngắn còn 5 cành trong ngày dài, tất cả đều ra hoa.

Như vậy rõ ràng khi có quang chu kì cảm ứng trong lá xuất hiện tác nhân kích thích ra hoa (có thể có bản chất hoocmon), chúng được vận chuyển dễ dàng đến các bộ phận của cây để kích thích sự hình thành hoa. Tác nhân này không có tính chất đặc trưng cho loài, có thể giống nhau cho cây ngày dài hoặc cho cây ngày ngắn. Đó là cơ sở cho học thuyết hoocmon ra hoa của Trailachyan, về bản chất quang chu kì của sự ra hoa được đứng vững. Theo ông thì cây muốn ra hoa được phải có tác nhân kích thích sự ra hoa gọi là hoocmon ra hoa (florigen). Hoocmon ra hoa gồm hai thành phần : giberelin kích thích sự sinh trưởng và phát triển của thân hoa (trụ dưới hoa), còn antesin (hoocmon giả thiết) kích thích sự phát triển của hoa. Theo giả thiết đó thì đối với cây ngày ngắn, giberelin được tạo nên cả trong ngày dài và ngày ngắn, còn antesin chỉ tạo nên trong ngày ngắn, vì vậy trong điều kiện chiếu sáng ngày ngắn thì phức hệ hoocmon ra hoa được hình thành hoàn chỉnh và cây sẽ ra hoa ; nhưng khi chiếu sáng ngày dài cây thiếu antesin nên không hình thành hoa mà chỉ sinh trưởng vươn cao của thân. Ngược lại, với cây ngày dài thì antesin được hình thành cả trong ngày dài và ngày ngắn, còn giberelin chỉ được hình thành trong điều kiện ngày dài, nên cây ngày dài trong điều kiện ngày ngắn thì thiếu giberelin nên không thể hình thành hoa hoàn chỉnh. Với cây ngày dài khi được trồng trong điều kiện ngày ngắn nếu chúng ta xử lí bổ sung giberelin cho chúng thì chúng hoàn toàn có thể ra hoa được. Chẳng hạn một số cây hai năm trồng trong điều kiện ngày ngắn ta có thể xử lí giberelin vẫn ra hoa bình thường (bắp cải, su hào).

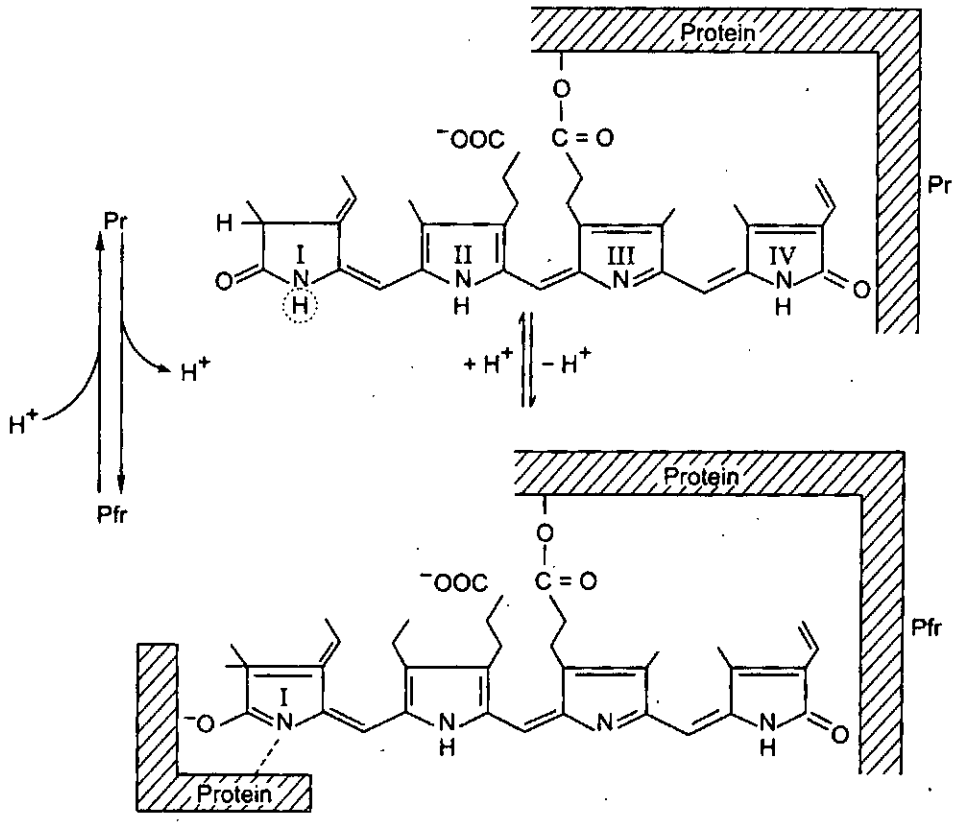
Trên cơ sở đó Trailachyan đã đưa ra giả thiết hai pha cho sự ra hoa. Pha thứ nhất đặc trưng cho sự tạo nên thân hoa, còn pha thứ hai là tạo nên mầm hoa và hoa như sau :

Loại cây	Pha 1 : Tạo thân hoa	Pha 2 : Tạo mầm hoa
Trung tính	Ngày dài + ngày ngắn	Ngày dài + ngày ngắn
Ngày dài	Ngày dài	Ngày dài + ngày ngắn
Ngày ngắn	Ngày dài + ngày ngắn	Ngày dài

Học thuyết hoocmon ra hoa phần nào có thể giải thích được bản chất của phản ứng quang chu kì và sự ra hoa của cây, đặc biệt người ta có thể xử lí giberelin để điều chỉnh sự ra hoa của cây ngày dài khi trồng trong điều kiện ngày ngắn. Tuy nhiên, antesin vẫn là chất giả thiết mà chưa thể biết được bản chất thực của nó, mặc dầu người ta đang cố gắng để chiết xuất và chứng minh sự tồn tại của nó.

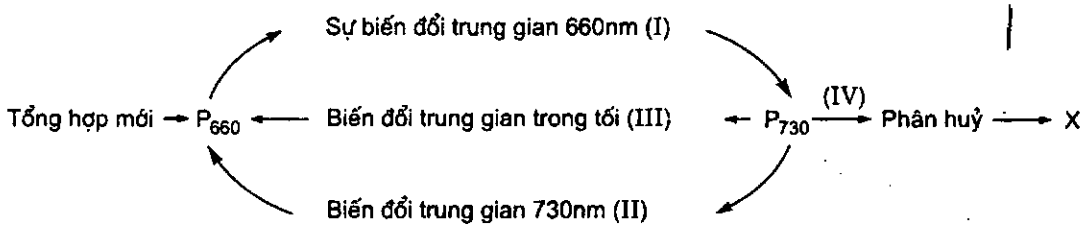
Trong khoảng 30 năm trở lại đây, nhờ các thành tựu rực rỡ của Sinh học hiện đại mà người ta đã tiếp cận gần đến đích làm sáng tỏ bản chất tác động của phản ứng quang chu kì của cây. Đó là việc phát hiện ra phytohoocmon, một trong những thành tựu rực rỡ nhất của Sinh lí học thực vật trong nửa thế kỉ qua. Hendrick và Borhtwick đã nghiên cứu phổ tác động của sự ra hoa của cây ngày ngắn (đậu tương) và cây ngày dài (lúa mì) và đi đến kết luận rằng : Ánh sáng đỏ có bước sóng 660nm thì kích thích sự ra hoa của cây ngày ngắn và lại kìm hãm sự ra hoa của cây ngày dài ; ngược lại, ánh sáng đỏ xa có bước sóng 730nm thì kích thích sự ra hoa của cây ngày dài nhưng lại kìm hãm sự ra hoa của cây ngày ngắn. Hiện tượng đó cũng xảy ra tương tự đối với sự nảy mầm của một số hạt cần ánh sáng hoặc hiện tượng khử vống của cây. Điều đó chứng tỏ rằng tồn tại trong cây một sắc tố nào đấy có cực hấp thụ ánh sáng 660nm và 730nm kiểm tra sự ra hoa của cây ngày ngắn, ngày dài và các hiện tượng quang cảm ứng khác. Sắc tố đó chính là phytocrom (P) tồn tại dưới hai dạng quang biến đổi thuận nghịch : một dạng có cực đại hấp thụ là 660nm

và dạng khác là 730nm (P_{660} và P_{730}). Họ đã chiết xuất được phytocrom từ thực vật mặc dù công việc này cực kì khó khăn vì nồng độ của chúng trong mô rất thấp (10^{-8} – 10^{-7}M). Hai dạng này rất dễ dàng biến đổi lẫn nhau và cơ chế biến đổi tương tự như biến đổi giữa protoclorophin thành clorophin. Họ cũng phát hiện ra được bản chất hoá học của chúng, đó là cromoprotein (protein + cromopho). Cromopho là chuỗi tetrapyrol hở. Sự sai khác giữa hai dạng là ở vòng mang màu, sự liên kết với protein khác nhau và gây nên hiệu quả sinh lí khác nhau (hình 147).



Hình 147 – Sự biến đổi cấu trúc hoá học của phytocrom giữa phytocrom 660 (Pr) và phytocrom 720 Pfr khi hấp thụ ánh ánh đỏ và đỏ xa

Có 4 phản ứng biến đổi lẫn nhau giữa hai dạng phytocrom trong cây (hình 148).



Hình 148 – Các phản ứng biến đổi của phytocrom trong cây

Phản ứng I và II coi như là phản ứng quang hoá, trong đó phản ứng I biến đổi nhanh và hiệu quả lượng tử cao hơn phản ứng II, sớm đạt cực đại. Phản ứng III xảy ra chậm ở trong tối và chỉ mới phát hiện được ở các thực vật hai lá mầm. Phản ứng IV là sự phân huỷ P_{730} phổ biến trong cây, có lẽ do phân huỷ protein. Ánh sáng mặt trời tuy có tỉ lệ giữa ánh sáng đỏ và đỏ xa như nhau, nhưng về hiệu suất lượng tử của phản ứng I cao gấp hai lần phản ứng II và III nên có tác dụng như ánh sáng đỏ. Dạng P_{730} là dạng phytocrom hoạt động sinh lí.

Với cây ngày ngắn để ra hoa được cần giảm đến mức tối thiểu P_{730} thành P_{660}. Ngược lại cây ngày dài cần tích luỹ đủ một lượng nhất định P_{730} nên cần thời gian sáng dài và tối ngắn để biến P_{660} thành P_{730} và P_{730} thành P_{660} ít và chậm hơn.

Về bản chất tác động của phytocrom trong các phản ứng quang phát sinh hình thái đã được đề cập đến. Phytocrom đóng vai trò là chất tiếp nhận ánh sáng trong cây và gây ra những biến đổi sâu sắc trong chất nguyên sinh dẫn đến phản ứng trả lời của cây. Chẳng hạn phytocrom (P_{730}) làm tăng tính thấm của màng, làm thay đổi thế điện hoá qua màng, giải phóng các enzim vốn liên kết với màng như ATP–aza, do đó làm tăng tốc độ biến đổi của các quá trình sinh hoá, sinh lí trong cây. Mặt khác, phytocrom tác động như một chất hoạt hoá các gen cần thiết cho những biến đổi có liên quan đến quá trình phát sinh hình thái, như quá trình xuất hiện mầm hoa. Ngoài ra, phytocrom có mối tác động tương hỗ với phytohoocmon đặc biệt là tăng cường tổng hợp và giải phóng giberelin khỏi màng lục lạp.

3. Sự sinh trưởng của hoa và sự phân hoá giới tính

Sau giai đoạn cảm ứng hình thành hoa thì mầm hoa xuất hiện, hoa bắt đầu sinh trưởng và kèm theo có sự phân hoá các bộ phận của hoa và phân hoá giới tính (tính đực và tính cái).

Sự sinh trưởng của hoa xảy ra dưới ảnh hưởng của các chất có bản chất hoocmon mà chủ yếu là auxin nội sinh trong mầm hoa. Sự sinh trưởng của hoa ban đầu thường nhanh nhưng khi bắt đầu nở hoa thì sự sinh trưởng có chậm lại. Sau khi thụ phấn, thụ tinh hình thành quả thì sự sinh trưởng của quả lại tăng lên. Phôi và hạt như là một nguồn auxin nội sinh đã kích thích sự sinh trưởng của hoa.

Sự phân hoá giới tính của hoa là vấn đề rất phức tạp có quan hệ đến các cơ quan, bộ phận trong cơ thể, đặc biệt liên quan đến hàm lượng phytohoocmon trong cây và các điều kiện ngoại cảnh.

Mối quan hệ của các cơ quan trong quá trình hình thành giới tính đã được xác định qua nhiều thực nghiệm với cây đơn tính. Nếu nuôi cây đơn tính từ cây con có lá nhưng thiếu rễ thì sẽ tạo nên 80 – 90% là cây đực. Ngược lại, nếu xuất hiện rễ phụ thì đa phần là cây cái. Như vậy thì lá có khả năng biểu hiện tính đực còn rễ biểu hiện tính cái. Điều

đó được giải thích là lá có khả năng tổng hợp mạnh giberelin và rễ có khả năng tổng hợp mạnh xytokinin. Do vậy vai trò của lá trong việc biểu hiện tính đực có quan hệ tới việc tổng hợp giberelin, còn rễ với tính cái có quan hệ với xytokinin trong chúng. Trong điều kiện thực nghiệm khi thiếu rễ thì lá tổng hợp nên giberelin rồi vận chuyển đến chồi ngọn và tạo nên những biến đổi theo hướng biểu hiện tính đực. Khi thiếu lá thì trong rễ tạo nên xytokinin và được vận chuyển lên trên chồi ngọn và gây ra những biến đổi theo hướng hình thành hoa cái. Trong điều kiện tự nhiên, vừa có rễ, vừa có lá thì tạo nên một sự cân bằng hoocmon xác định và sự biểu hiện giới tính ở trạng thái cân bằng tức hoa đực và hoa cái xuất hiện với tỉ lệ như nhau. Ví dụ : ở cây dưa hấu số lượng hoa đực ở trên cây tăng lên khi tồn tại lá và xử lí giberelin, còn số lượng hoa cái tăng khi tồn tại rễ và xử lí xytokinin.

Nhiều thí nghiệm xác định hoạt tính của giberelin và xytokinin trong lá và rễ đã xác nhận rằng hoạt tính xytokinin trong cây cái cao hơn cây đực và ngược lại hoạt tính của giberelin trong cây đực cao hơn cây cái. Đó chính là nguyên nhân sâu xa chuyển cây theo hướng biểu hiện tính cái hay đực. Để chứng minh cho quan điểm đó, người ta tiến hành nuôi cấy phôi tách riêng *in vitro*. Nếu môi trường chỉ có giberelin thì có đến 92,6 – 97% là hoa cái ; còn đối chứng không cho GA và xytokinin thì tỉ lệ hoa đực và hoa cái xấp xỉ nhau.

Ngoài giberelin và xytokinin các chất điều tiết sinh trưởng khác cũng ảnh hưởng lên sự phân hoá giới tính : auxin gây nên sự cân bằng trong sự biểu hiện giới tính, etilen (ethrel) tạo nên 100% hoa cái trên các cây họ Bầu bí.

Các yếu tố ngoại cảnh cũng ảnh hưởng quan trọng đến sự biểu hiện giới tính của cây. Trong điều kiện ngày ngắn, ánh sáng xanh, nhiệt độ thấp, hàm lượng CO_2 cao, ẩm độ cao, nhiều nitơ thì liên quan đến hình thành giới tính cái. Ngược lại, ngày dài, ánh sáng đỏ, nhiệt độ cao, hàm lượng CO_2 thấp, độ ẩm thấp, nhiều kali liên quan đến tính đực.

Các yếu tố môi trường ảnh hưởng lên sự biểu hiện giới tính của cây qua sự biến đổi hàm lượng phytohoocmon nội sinh xuất hiện ở trong lá hoặc trong rễ và được vận chuyển đến đỉnh sinh trưởng ngọn để gây nên những biến đổi theo hướng hình thành hoa đực hay hoa cái. Như vậy, có một chuỗi các phản ứng kế tiếp nhau trong việc xuất hiện giới tính của cây :

Nhân tố môi trường → Phytohoomon → Bộ máy di truyền (gen – ADN) → Biểu hiện giới tính (♂ hay ♀).

XII – SỰ HÌNH THÀNH QUẢ VÀ SỰ CHÍN CỦA QUẢ

Sự hình thành quả xảy ra sau khi có quá trình thụ phấn và thụ tinh.

1. Sinh lí quá trình thụ phấn và thụ tinh

Sự thụ phấn là quá trình hạt phấn rơi lên trên núm nhuỵ. Sau khi rơi lên núm nhuỵ, hạt phấn nảy mầm và hình thành nên ống phấn. Ống phấn sinh trưởng nhanh, xuyên vào

vòi nhuỵ, đến túi phôi, đưa tinh tử vào thụ tinh cho tế bào trứng. Toàn bộ quá trình đó là thụ tinh. Đó là quá trình kết hợp giữa giao tử đực và giao tử cái để tạo nên hợp tử. Vì là thụ tinh kép, nên ngoài hợp tử ra, một tinh tử thứ hai sẽ kết hợp với nhân trung tâm (2n) để hình thành nên nội nhũ (3n).

Sự nảy mầm của hạt phấn và sự sinh trưởng của ống phấn là nhờ có các chất dự trữ ở trong hạt phấn, các chất dinh dưỡng từ núm nhuỵ tiết ra cũng như của vòi nhuỵ mà ống phấn đi qua.

Điều quan trọng là hạt phấn nảy mầm và ống phấn sinh trưởng dưới tác dụng kích thích của các phytohoocmon có bản chất auxin và giberelin. Nhiều nghiên cứu xác nhận rằng : hạt phấn là nguồn giàu auxin. Người ta lấy dịch chiết hạt phấn xử lí trên núm nhuỵ của một số loài cũng có thể gây ra sự sinh trưởng của bầu thành quả. Bằng phương pháp phân tích, người ta xác định rằng các chất tương tự auxin có mặt trong hạt phấn. Tuy nhiên hàm lượng auxin trong hạt phấn không nhiều để có thể kích thích bầu lớn lên thành quả mà chỉ góp phần vào việc nảy mầm và sinh trưởng của ống phấn mà thôi.

Ngoài hạt phấn, núm nhuỵ tiết ra các chất có bản chất hoocmon cũng kích thích sự nảy mầm và sinh trưởng của ống phấn. Phức hệ hoocmon này rất phức tạp và chưa rõ ràng. Chính vì vậy mà hạt phấn nảy mầm tốt trên môi trường agar có bổ sung thêm dịch chiết từ núm nhuỵ. Ngoài ra núm nhuỵ cũng tiết ra một số chất có bản chất ức chế có tác dụng kìm hãm sự nảy mầm của hạt phấn khác loài rơi trên nó, gây nên sự không phù hợp và sự tuyệt giao giữa hạt phấn và núm nhuỵ cây khác loài hoặc nếu có nảy mầm thì ống phấn sinh trưởng kém không vươn tới bầu được và đấy cũng là trở ngại cho sự lai xa.

Sự thụ phấn và thụ tinh chịu ảnh hưởng trực tiếp của các điều kiện ngoại cảnh. Trong các điều kiện ngoại cảnh thì nhiệt độ, ẩm độ không khí và gió là quan trọng nhất.

Nhiệt độ quá thấp hạt phấn nảy mầm kém và ống phấn không sinh trưởng, tức là ức chế quá trình thụ tinh, kết quả là phôi không hình thành, hạt bị lép. Chính vì vậy cây nở hoa, tung phấn mà gặp rét sẽ giảm năng suất rõ rệt, tăng tỉ lệ lép nhiều.

Tuy nhiên nếu nhiệt độ quá cao thì sự nảy mầm và sự sinh trưởng của ống phấn bất bình thường và sự thụ tinh cũng bị kém.

Độ ẩm không khí ảnh hưởng trực tiếp đến sự nảy mầm của hạt phấn. Độ ẩm quá thấp hạt phấn không có khả năng nảy mầm. Chính vì vậy mà cây nở hoa, tung phấn gặp gió Tây – Nam có độ ẩm không khí quá thấp sẽ làm giảm năng suất nghiêm trọng. Nhưng nếu gặp mưa nhiều thì có thể gây trở ngại cho sự thụ phấn vì hạt phấn sẽ bị trôi, bao phấn không tung phấn được. Bên cạnh đó gió cũng là yếu tố ảnh hưởng đến sự thụ phấn. Gió vừa phải tạo điều kiện cho sự giao phấn thuận lợi, nhưng gió to cũng sẽ cuốn bay hạt phấn, gây khó khăn cho chúng rơi trên núm nhuỵ.

Ở nước ta, thời tiết mùa đông nhiệt độ thấp, kết hợp với những đợt gió đông – bắc là trở ngại lớn cho sự thụ phấn, thụ tinh. Ở vùng khu IV cũ gió tây – nam, vừa có độ ẩm không khí thấp, vừa gió mạnh là điều kiện bất thuận cho sự thụ phấn, thụ tinh. Vì vậy, khi

bố trí thời vụ cho một cây trồng nào đấy thì phải quan tâm đến vấn đề này nhằm tránh thời gian nở hoa, tung phấn, phun râu vào những lúc thời tiết không thuận lợi cho sự thụ phấn, thụ tinh.

2. Sự hình thành quả và quả không hạt

Sau khi thụ tinh xong thì phôi phát triển thành hạt và bầu lớn lên thành quả. Thực ra quả là sự phát triển của một bầu với một số bộ phận có liên quan. Trong đa số thực vật, nếu hoa không được thụ phấn, thụ tinh thì sau đó hoa sẽ rụng. Còn những hoa được thụ phấn, thụ tinh thì cánh hoa, nhị hoa và cả vòi nhuỵ khô và rụng đi chỉ còn bầu phát triển. Một số hoa khác thì các bộ phận của hoa tồn tại và phát triển đồng thời với bầu thành quả.

Ở một số quả thịt, bầu có thể sinh trưởng trước khi hoa thụ tinh do tác dụng của ống phấn khi chui vào vòi nhuỵ. Tuy nhiên nếu không được thụ tinh thì bầu ngừng sinh trưởng và sẽ rụng.

Sự sinh trưởng của bầu thành quả và sự lớn lên của quả là kết quả của sự phân chia tế bào và sự giãn của tế bào. Ngoài ra, trong một vài trường hợp sự sinh trưởng của quả còn do sự tăng trưởng của các khoảng gian bào đặc biệt là các giai đoạn sau. Nhìn chung trong những giai đoạn đầu của sự hình thành quả, sự phân chia tế bào sẽ ưu thế, nhưng các giai đoạn sau thì sự giãn của tế bào lại chiếm ưu thế.

Sự tăng về thể tích, khối lượng tươi, khô và đường kính của quả xảy ra nhanh sau khi thụ phấn.

Có thể chia thành 3 giai đoạn sinh trưởng của quả : giai đoạn đầu là giai đoạn phân chia tế bào trong đó bầu sinh trưởng nhanh ; giai đoạn hai đặc trưng bằng sự sinh trưởng nhanh của phôi và nội nhũ ; giai đoạn ba là sự sinh trưởng nhanh của quả và tiếp theo là sự chín.

Quá trình sinh trưởng của quả được điều chỉnh bằng các hoocmon nội sinh. Người ta nhận thấy rằng sự sinh trưởng của bầu mạnh mẽ nếu có số lượng hạt phấn rơi trên núm nhuỵ càng nhiều, vì hạt phấn là nguồn giàu auxin. Tuy nhiên auxin của hạt phấn không đủ để kích thích sự hình thành và lớn lên nhanh chóng của quả mà quá trình này được điều chỉnh bằng một phức hệ hoocmon, trong đó có auxin, giberelin và cả xytokinin. Các chất này được hình thành trong phôi và khuyếch tán vào bầu, kích thích sự phân chia và sự giãn của tế bào. Vì vậy, số lượng hạt và sự phát triển của hạt có liên quan chặt chẽ với hình dạng và kích thước cuối cùng của quả. Nếu loại trừ sớm hạt khỏi quả thì sự sinh trưởng của quả bị ngừng. Nhưng nếu sử dụng auxin ngoại sinh thì có thể thay thế được hạt và quả vẫn lớn bình thường.

Chính vì lí do đó mà chỉ có các hoa được thụ phấn, thụ tinh phát triển thành phôi và hạt thì bầu mới phát triển thành quả được. Nếu chúng ta thay thế nguồn phytohoocmon của phôi hạt bằng các chất điều hoà sinh trưởng ngoại sinh thì cũng có khả năng kích thích sự sinh trưởng của bầu thành quả và tất nhiên quả hình thành không qua thụ tinh sẽ không có hạt. Đó chính là cơ sở của việc sử dụng các chất auxin và giberelin ngoại sinh

để tạo ra quả không hạt cho nhiều loại cây trồng hiện nay như cà chua, bầu bí, cam, chanh, nho, lê, táo, dâu tây.

Quả không hạt cũng có thể được tạo nên trong tự nhiên. Có hai kiểu không hạt trong tự nhiên :

– Quả được tạo nên không qua thụ tinh. Có thể sự tạo quả này không cần sự thụ phấn như dứa, chuối. Một số loại quả không hạt xảy ra nhờ sự kích thích của các hạt phấn rơi trên núm nhuỵ, nhưng sau đó không có quá trình thụ tinh xảy ra, chẳng hạn như ở nho.

– Quả không hạt được tạo nên qua thụ tinh nhưng sau đó phôi không phát triển mà bị thui đi như ở nho, đào, anh đào và có thể xảy ra ở nhiệt độ thấp.

Sự tạo quả không hạt có thể hoàn toàn hoặc không hoàn toàn tức có thể hoàn toàn không có hạt hay số lượng hạt giảm đi nhiều.

Nguyên nhân của việc tạo quả không hạt trong tự nhiên là do hàm lượng auxin nội sinh cao ở trong bầu của chúng, cho phép bầu phát triển thành quả mà không cần có nguồn auxin nội sinh trong hạt giải phóng ra. Người ta đã phân tích hàm lượng auxin ở trong bầu của các loài có hạt bao giờ cũng thấp hơn nhiều so với các loài không hạt.

Bằng việc xử lí auxin ngoại sinh có thể thay thế được nguồn auxin của phôi, hạt và tạo được quả không hạt trong nhiều trường hợp như cà chua, ớt, thuốc lá, sung, vả, dưa hấu, dưa chuột, bầu, dâu đất. Tuy nhiên, có đến 80% cây ăn quả khi xử lí auxin không gây hiệu quả.

Ngoài ra, một số ít trường hợp quả không hạt được tạo nên do xử lí xytokinin (một số giống nho) hoặc bằng các chất ức chế sinh trưởng như CCC, ADHS (một số giống táo).

Tuy nhiên quả không hạt thường có hình thái thay đổi ít nhiều, chứng tỏ hoocmon đi ra từ hạt có bản chất auxin, hoặc giberelin, nhưng không hoàn toàn giống như các chất ngoại sinh.

3. Sự chín của quả

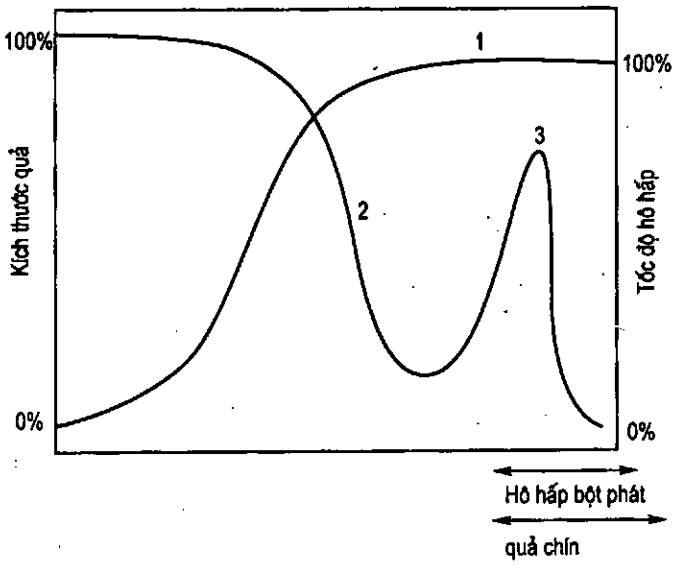
Sự chín của quả từ khi bắt đầu ngừng sinh trưởng và đạt kích thước cực đại. Ở thịt quả, khi quả chín đã xảy ra hàng loạt các biến đổi sinh hoá, sinh lí một cách sâu sắc và nhanh chóng. Những biến đổi sinh hoá đặc trưng là sự thuỷ phân mạnh mẽ hàng loạt các chất và xuất hiện nhiều chất mới, gắn liền với những biến đổi về màu sắc, hương vị, độ mềm, độ ngọt. Đặc trưng nhất của biến đổi sinh lí trong quá trình chín là sự tăng cường hô hấp nhanh và có sự thay đổi nhanh cân bằng phytohoocmon trong quả.

Sự biến đổi màu sắc của quả. Quả còn xanh chứa nhiều sắc tố clorophin và cả carotenoit. Khi bắt đầu chín, có sự biến đổi hàm lượng các sắc tố đó gây ra sự biến đổi màu sắc quả. Sự biến đổi này theo hướng biến đổi nhanh chóng clorophin mà không phân huỷ carotenoit, trái lại trong nhiều quả carotenoit lại được tổng hợp trong quá trình chín. Quá trình biến đổi sắc tố này xảy ra khác nhau ở mỗi loại quả nên màu sắc của chúng cũng khác nhau. Chẳng hạn ở chuối, hàm lượng clorophin giảm rất nhanh nhưng hàm lượng carotenoit không giảm nên quả hoá vàng nhanh chóng.

Ở táo, giảm hàm lượng clorophin nhưng lại tăng hàm lượng xantophin, ở cam quýt, giảm nhanh hàm lượng carotenoit. Ở quả dâu đất, có sự tăng hàm lượng antoxian và flavon, quá trình xảy ra mạnh mẽ dưới tác dụng của ánh sáng vì có sự tham gia của phytocrom.

Sự biến đổi độ mềm : Khi quả chín, pectacanxi gắn chặt các tế bào với nhau lập tức bị phân huỷ dưới tác dụng của enzim pectinaza, kết quả là các tế bào rời rạc và quả chín mềm ra. Quá trình này xảy ra càng nhanh khi hàm lượng etilen tăng lên.

Sự biến đổi mùi vị : Khi quả chín thì xuất hiện các mùi đặc trưng cho từng loại quả. Sự chín đã hoạt hoá các quá trình tổng hợp các hợp chất gây mùi thơm đặc trưng có bản chất este, aldehyt hoặc axeton. Đây là quá trình xảy ra có liên quan đến hoạt động của các enzim đặc trưng cho từng loại quả.



Hình 149 – Mối quan hệ giữa sinh trưởng của quả và hô hấp của quả
1. Đường cong biểu thị sự tăng trưởng của quả
2. Đường cong biểu thị hô hấp của quả
3. Đỉnh hô hấp bột phát

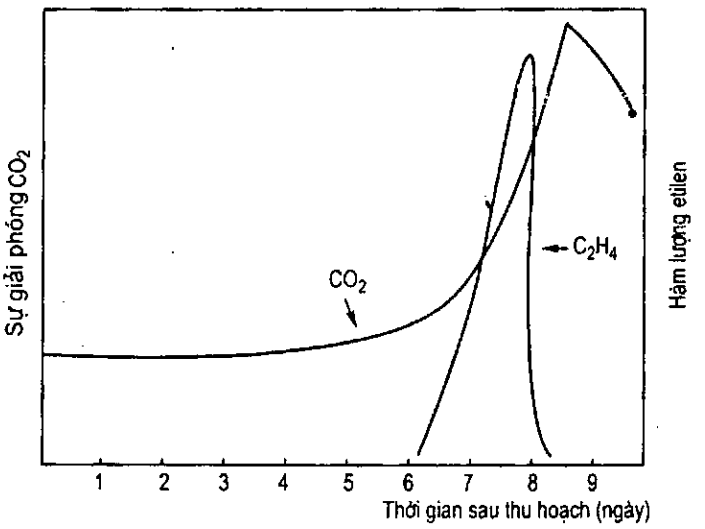
Đồng thời với biến đổi mùi thì vị chua chát giảm đi và biến mất, còn vị ngọt tăng lên. Các hợp chất như tanin, axit hữu cơ, alcaloit bị phân huỷ nhanh chóng, đồng thời các đường đơn xuất hiện (glucoz, fructoz) nên vị ngọt tăng lên.

Trong quá trình chín của quả thịt, có sự biến đổi rất rõ rệt về cường độ hô hấp của quả mà đặc trưng là tăng nhanh cường độ hô hấp và sau đó lại giảm nhanh tạo nên một đỉnh hô hấp gọi là sự hô hấp bột phát (hình 149. Hô hấp bột phát thay đổi tuỳ theo loại quả. Chẳng hạn hô hấp bột phát mạnh nhất ở chuối, sau đó là lê và đến táo. Sự biến đổi hô hấp trước khi quả chín có thể có đặc trưng yếm khí vì biểu hiện sự chín từ giữa ra ngoài vỏ. Trong quá trình chín của quả sự cân bằng hoocmon giữa etilen và auxin biến đổi theo hướng tăng hàm lượng etilen rất nhanh và giảm hàm lượng auxin trong mô quả.

Như vậy có sự tổng hợp mạnh mẽ etilen trong mô quả, ví dụ : với lê trước khi hô hấp bột phát hàm lượng etilen tăng lên 6 lần, còn với táo thì tăng 10 lần. Etilen sẽ kích thích sự hô hấp nhanh đạt đến đỉnh bột phát (hình 149). Về cơ chế thì có lẽ etilen làm tăng tính thấm của màng tế bào, giải phóng các enzim và cơ chất để xúc tiến cho các phản ứng hô hấp và các biến đổi khác. Vì vậy, nếu ức chế hô hấp thì sẽ làm chậm sự chín của quả. Chẳng hạn như bảo quản trong túi polietilen sẽ làm tăng nồng độ CO_2

trong túi, nếu hàm lượng CO_2 tăng đến 10% thì sẽ ức chế sự chín vì ức chế sự tạo etilen và hô hấp bột phát (hình 150).

Tuy nhiên các loại quả khác nhau phản ứng với etilen và hô hấp bột phát rất khác nhau. Chẳng hạn một số quả như mận, đào, ít phản ứng với etilen ngoại sinh, còn cam, chanh mặc dù đỉnh hô hấp bột phát không rõ vẫn phản ứng mạnh với etilen ngoại sinh.



Hình 150 – Mối quan hệ giữa hô hấp (giải phóng CO_2) và hàm lượng etilen nội sinh trong quả đang chín

Hô hấp bột phát và sự chín chịu ảnh hưởng của việc thu hái, khi quả được thu hái thì hô hấp bột phát tăng lên và tốc độ chín nhanh hơn. Ngoài ra nhiệt độ ảnh hưởng rõ rệt đến quá trình này. Nhiệt độ thấp thì ức chế, còn nhiệt độ cao thì có tác dụng kích thích sự chín của quả.

Trong thực tế, để kích thích sự chín của quả nhanh hơn và đồng loạt, người ta xử lí các chất có khả năng sản sinh ra khí etilen hoặc có thể xử lí đất đèn để sản sinh ra khí axetilen. Việc xử lí này có thể thực hiện trước khi thu hoạch hoặc sau khi thu hoạch. Để ức chế sự chín, người ta xử lí các chất auxin hoặc bảo quản ở điều kiện nhiệt độ thấp.

XIII – SỰ HÌNH THÀNH CỦ VÀ CĂN HÀNH

Củ và căn hành là những cơ quan chứa nhiều chất dự trữ gluxit và lipit ở phần thân phình ra dưới mặt đất (củ khoai tây), hoặc rễ (củ cải, củ cà rốt) hoặc phần gốc cuống lá (củ hành, tỏi).

Sự sinh trưởng của củ khoai tây, khoai lang bằng sự phân chia và sự giãn của tế bào, đồng thời có sự phân chia gluxit như tinh bột. Trong khi đó căn hành được tạo nên do kết quả của việc tập trung gluxit ở phần gốc của cuống lá non, đồng thời sự phân chia mô phân sinh ngọn ngừng và sự sinh trưởng căn hành bằng sự giãn của tế bào ở gốc cuống lá.

Sự hình thành củ và căn hành cũng là những quá trình có tính chất tương quan sinh trưởng. Những ảnh hưởng kích thích có tác dụng ức chế còn các ảnh hưởng ức chế có tác dụng kích thích hình thành củ và căn hành. Vì vậy, hệ thống rễ phát triển nhờ ảnh hưởng trao đổi chất kích thích của mình đã có ảnh hưởng ức chế sự hình thành củ, trong khi đó các lá trưởng thành, nơi sản sinh nhiều tác nhân ức chế, lại kích thích sự hình thành củ.

Vì vậy, củ và căn hành bắt đầu hình thành vào cuối giai đoạn sinh trưởng, phát triển dinh dưỡng. Sau đó sự phình to của củ và căn hành xảy ra vào giai đoạn sinh trưởng phát triển sinh sản khi các cơ quan sinh dưỡng ngừng hẳn sinh trưởng, các cơ quan sinh sản và

dự trữ hình thành mạnh mẽ. Do đó, nếu ức chế sự sinh trưởng của các cơ quan sinh dưỡng (rễ, lá) thì sẽ xúc tiến quá trình hình thành củ và căn hành.

Các cây có củ và căn hành thường phản ứng rõ với tác nhân nhiệt độ và ánh sáng. Sự hình thành củ khoai tây thuận lợi khi nhiệt độ dưới 22°C và thời gian chiếu sáng ngày ngắn. Vì vậy nếu trồng khoai tây xuân thời vụ muộn (sau 15 tháng 1) thì khi hình thành củ sẽ gặp nhiệt độ cao và thời gian chiếu sáng dài sẽ ức chế sự hình thành, phát triển của củ, các tia củ dưới mặt đất. Vì không phình to thành củ được nên sinh trưởng tiếp tục thành chồi đâm lên mặt đất (gọi là sự sinh trưởng lần thứ hai). Do đó với khoai tây xuân, yếu tố thời vụ rất nghiêm ngặt.

Auxin kích thích sự hình thành rễ. Chúng được sản sinh ra ở chồi ngọn và lá non, vận chuyển hướng gốc và kích thích sự hình thành rễ nhưng ức chế sự hình thành củ và căn hành.

Giberelin được tổng hợp trong lá cây và vận chuyển không phân cực. Nó kích thích sự sinh trưởng của tia củ nhưng ức chế sự hình thành củ và căn hành.

Axit absxixic là chất ức chế sinh trưởng của rễ và chồi. Nó được hình thành trong lá, ức chế sự sinh trưởng của tia củ và kích thích sự phình to của củ.

Xytokinin là chất cảm ứng sự hình thành chồi. Chúng được hình thành trong rễ, kích thích sự hình thành tia củ và sự phình to của củ.

Trên cơ sở đó, Trailachyan (1984) đã xây dựng giả thuyết về sự điều chỉnh hoocmon trong quá trình hình thành củ. Các tia củ dưới mặt đất đã hình thành do tác động của hai phức hệ hoocmon : GA + AAB được hình thành trong lá và trực tiếp ảnh hưởng đến sự hình thành củ ; auxin + xytokinin cũng tác động trực tiếp đến sự hình thành củ. Trong điều kiện ngày dài, nhiệt độ cao sự cân bằng GA/AAB nghiêng về phía GA và ức chế sự hình thành củ, còn dưới điều kiện ngày ngắn và nhiệt độ thấp thì cân bằng nghiêng về phía AAB và kích thích sự hình thành củ. Cũng tương tự như vậy, sự cân bằng giữa auxin/xytokinin diễn ra theo quy luật với sự cân bằng của GA/AAB.

Giả thuyết trên khẳng định rằng, sự hình thành củ và căn hành được điều chỉnh bằng sự cân bằng hoocmon trong cây. Sự cân bằng quan trọng nhất là sự cân bằng giữa giberelin và axit absxixic trong cây. Như vậy thì cũng có những tín hiệu quang chu kì và xuân hoá cho sự hình thành hoa và cả cho sự hình thành củ và căn hành.

Củ và căn hành sau khi thu hoạch bước vào một thời kì ngủ nghỉ sinh lí. Thời gian ngủ nghỉ này là đặc tính của từng giống. Trong thời gian ngủ nghỉ, con người có thể phá ngủ nghỉ buộc chúng nảy mầm ngay bằng xử lí giberelin và một số chất hoá học khác cũng như xử lí nhiệt độ thấp.

XIV – SINH LÍ SỰ HOÁ GIÀ, SỰ NGỦ NGHỈ CỦA THỰC VẬT

1. Sự hoá già của thực vật

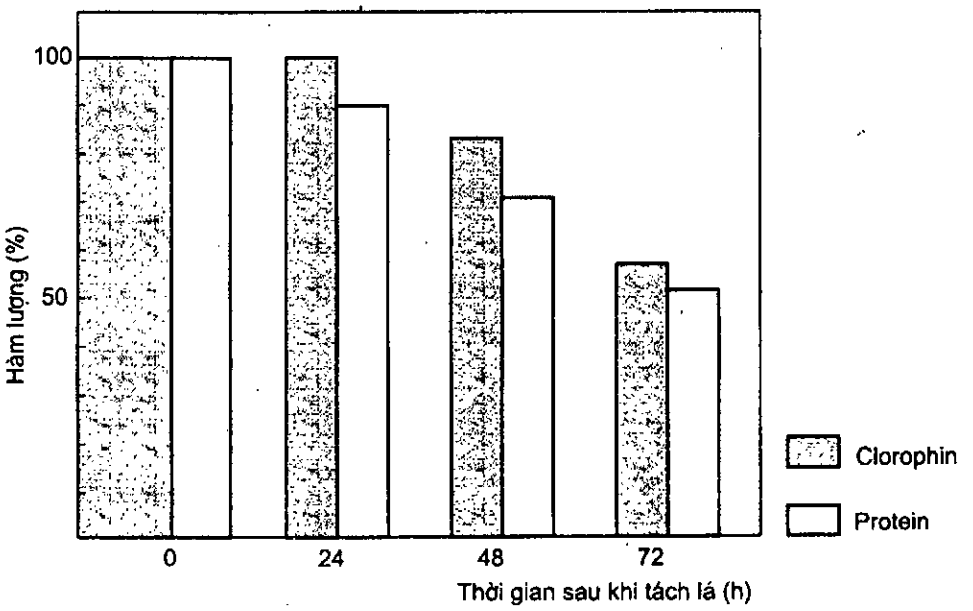
Sự phát triển cá thể của cây bắt đầu bằng sự hình thành các cơ quan sinh dưỡng sau đó là các cơ quan sinh sản và cơ quan dự trữ, cuối cùng kết thúc bằng sự chết. Sự chết tự nhiên của cây là đỉnh cao của quá trình hoá già.

Osborne (1967) đã định nghĩa sự hoá già của cây như là quá trình suy thoái ngày càng tăng lên của nhiều phản ứng tổng hợp, dẫn đến sự chết của tế bào. Quá trình hoá già dẫn đến sự chết cũng được đặc trưng bằng sự tích luỹ các sản phẩm trao đổi chất và làm giảm sút khối lượng khô đặc biệt của lá và quả.

Sự hoá già của các cơ quan như lá, quả, hoa thường là những biểu hiện rõ rệt nhất so với hoá già của toàn cây.

a) Sự hoá già của cơ quan

Sự hoá già của các cơ quan được quan sát tốt nhất ở lá. Các dấu hiệu của sự hoá già của lá là giảm lượng clorophin, hàm lượng protein, hàm lượng ARN do tăng cường độ quá trình phân giải các hợp chất đó và ngừng quá trình tổng hợp chúng. Song song với những biến đổi đó, cường độ quang hợp và cường độ hô hấp giảm sút nhanh chóng. Đặc biệt sự cân bằng phytohoocmon trong lá thay đổi nhanh theo hướng tăng hàm lượng axit absxixic (AAB), etilen và giảm hàm lượng các chất kích thích sinh trưởng đặc biệt là xytokinin. AAB được xem như là nhân tố hoá già. Cùng với etilen, AAB được hình thành nhanh chóng trong lá khi có những điều kiện cảm ứng sự hoá già và sự rụng như thiếu nước, thiếu chất dinh dưỡng, quang chu kì không thuận lợi, nhiệt độ thấp. Chính AAB và etilen đã kích thích quá trình phân giải mạnh mẽ trong lá làm cho tốc độ hoá già càng nhanh.



Hình 151 – Sự biến đổi hàm lượng clorophin và protein trong lá tách rời

Đối kháng với AAB và etilen trong sự hoá già của lá là xytokinin. Xytokinin lại kích thích quá trình tổng hợp clorophin, axit nucleic và protein, kích thích quá trình phân chia tế bào, kéo dài tuổi thọ của lá. Vì vậy có thể xem xytokinin là nhân tố hoá trẻ trong cây. Auxin và giberelin cũng có tác dụng kìm hãm sự hoá già. Trong một số trường hợp chúng được sử dụng để kìm hãm sự hoá già của quả cam, chanh.

Những lá tách rời khỏi cơ thể mẹ thì hoá già nhanh hơn. Chúng hoá vàng nhanh và chết do hậu quả sự phân giải nhanh chóng clorophin và protein, tích luỹ nhiều axit amin

trong phiến lá. Mặt khác trong chúng giảm nhanh hàm lượng xytokinin, đồng thời tăng hàm lượng axit absxixic và etilen. Vì vậy sự hoá già của lá tách rời được kìm hãm bằng xử lí xytokinin. Vì xytokinin ngăn chặn sự phân giải xảy ra trong lá, ngoài xytokinin một số chất thuộc nhóm retardant cũng có tác dụng kìm hãm sự hoá già của lá như CCC, ADHS có lẽ chúng kích thích sự tổng hợp clorophin trong lá. Auxin (2,4–D) thường có tác dụng kìm hãm sự hoá già của lá cây gỗ.

b) Sự hoá già của toàn cây

Người ta đã chứng minh rằng các tế bào mô phân sinh không có quá trình hoá già vì trong chúng bao giờ cũng diễn ra mạnh mẽ các quá trình sinh tổng hợp, quá trình phân chia tế bào. Thực nghiệm cho thấy rằng khi nhân giống vô tính bằng cành giâm có thể duy trì mô phân sinh ở trạng thái sống lâu không giới hạn nếu chúng ta luôn tách và nhân liên tục để luôn tạo cây mới. Điều này được chứng minh rõ trong kĩ thuật cành giâm *in vitro*. Như vậy, về nguyên tắc thì cây có thể tồn tại mãi nhờ các mô phân sinh không hoá già. Nhưng trên cây nguyên vẹn thì điều ấy không xảy ra được vì các mô phân sinh chịu sự ức chế của các ảnh hưởng tương quan của các mô đã phân hoá.

Vậy thì nhân tố gì đã gây nên sự hoá già trên toàn cây một cách nhanh chóng ?

Chúng ta quan sát cả cánh đồng lúa đang sinh trưởng mạnh, xanh tươi đầy sức sống, nhưng một lúc nào đó toàn bộ cánh đồng hoá vàng, cùng với sự hình thành và chín của hạt ; những rừng tre nứa có thể sống hàng chục năm, nhưng bỗng dưng bị "khuỵ" và chết cùng với sự hình thành hoa và quả. Như vậy, sự hoá già là một quá trình liên tục, nhưng cơ quan sinh sản và cơ quan dự trữ là những trung tâm gây nên sự hoá già nhanh chóng. Các cây 1 và 2 năm có thể trở thành cây nhiều năm, nếu chúng ta làm cho chúng mất khả năng hình thành hoa, chẳng hạn cây gặp quang chu kì và nhiệt độ xuân hoá không phù hợp thì không ra hoa và tồn tại ở trạng thái dinh dưỡng không xác định. Ví dụ như cây thùa *(agave)* sống 8 – 10 năm thì ra hoa và chết, nhưng nếu duy trì ở trạng thái dinh dưỡng thì có thể tồn tại đến 100 năm. Như vậy rõ ràng mối quan hệ giữa cơ quan sinh sản và cơ quan sinh dưỡng trong cây có ý nghĩa quyết định cho sự hoá già của toàn cây. Về nguyên nhân của vấn đề này, có hai quan điểm giải thích :

Quan điểm thứ nhất là cạnh tranh dinh dưỡng, cho rằng quả, hạt là những cơ quan dự trữ chất dinh dưỡng, chúng sẽ thu hút nguồn dinh dưỡng và sẽ cạnh tranh với các cơ quan sinh dưỡng. Do cạn kiệt dinh dưỡng mà các cơ quan này sẽ hoá già nhanh và sẽ chết. Tuy nhiên quan điểm này ít được thừa nhận vì trong thực tế một số cây rất ít quả, hạt nhỏ nhưng tốc độ hoá già vẫn nhanh chóng.

Quan điểm thứ hai dựa trên sự cân bằng phytohoocmon trong cây. Để hình thành cơ quan sinh sản và cơ quan dự trữ thì cây phải biến đổi cân bằng hoocmon theo hướng tăng các chất ức chế và giảm các chất kích thích sinh trưởng.

Cơ quan sinh sản và cơ quan dự trữ là trung tâm sản sinh và tích luỹ nhiều axit absxixic và etilen. Vì vậy mà xúc tiến quá trình phân giải, ức chế quá trình tổng hợp, dẫn đến những dấu hiệu của sự hoá già toàn cây. Có thể xem cơ quan sinh sản là trung tâm sự hoá già của cây.

Bên cạnh mối quan hệ giữa cơ quan sinh sản và cơ quan sinh dưỡng, thì mối quan hệ giữa các bộ phận trên mặt đất và dưới đất cũng có vai trò nhất định trong sự hoá già của

toàn cây. Theo mức độ tăng về tuổi thì mối quan hệ này ngày càng xấu đi : lá không cung cấp đủ cho hệ thống rễ các chất đồng hoá, vitamin, và các hoocmon (auxin), ngược lại rễ không cung cấp cho các cơ quan trên mặt đất đủ nước, chất khoáng và xytokinin. Mức độ rời rạc và suy thoái ngày càng tăng và cuối cùng cây sẽ chết.

Như vậy, sự phát triển cá thể của cây bắt đầu từ lúc cây nảy mầm, đã chịu đựng hàng loạt các biến đổi mà các biến đổi đó gắn liền với sự hoá già của tế bào, của mô, của toàn cây và được kiểm tra bằng bộ máy di truyền. Sự kiểm tra này được thực hiện theo cơ chế hoạt hoá phân hoá gen tức là sự cảm ứng và sự ức chế những gen đặc biệt, chịu trách nhiệm cho những biến đổi của sự hoá già. Quá trình hoá già không làm mất đi vật liệu di truyền mà có thể chỉ là sự thay đổi của các gen dẫn đến sự suy thoái việc tổng hợp các ARN để duy trì các chức năng cơ bản, bình thường của tế bào và của toàn cây, đồng thời cho phép tổng hợp nhiều các enzim phân giải như nucleaza, proteaza. Trong sự hoá già cũng xảy ra sự biến đổi tính thấm của màng làm yếu đi khả năng chọn lọc của màng. Chẳng hạn màng trong yếu đi và một số chất độc từ không bào được giải phóng vào chất nguyên sinh đã kích thích sự hoá già, sự chết của tế bào.

Trong thực tế, việc kìm hãm sự hoá già của cây bằng áp dụng chất điều hoà sinh trưởng cũng là một trong những mục đích của nông nghiệp hiện đại. Người ta đã ứng dụng chất điều hoà sinh trưởng để kìm hãm sự hoá già của các cây rau, tăng thu hoạch rau như đối với các loại rau thuộc họ Rau cải *(Brassicaceae)* : bắp cải, su hào, xúp lơ, các loại rau cải, xà lách. Ngoài BA (benzyl adenin) ra người ta còn sử dụng cả CCC, ADHS và 2,4–D. Việc kìm hãm sự hoá già của quả, kéo dài thời gian sống, làm chậm thu hoạch cũng rất có ý nghĩa và người ta sử dụng giberelin cho các loại cam, nho, chanh đã làm tăng năng suất và phẩm chất quả, kéo dài thời gian thu hái quả. Người ta sử dụng ADHS và CCC (100ppm) để kéo dài thời gian sống của nấm. Việc sử dụng chất điều hoà sinh trưởng để kéo dài thời gian sử dụng của hoa cũng là một mục đích quan trọng. Thường CCC, ADHS và BA được sử dụng vào mục đích này.

2. Sự rụng của các cơ quan

Sự rụng là sự phân tách một phần của cây như lá, hoa, quả, cành khỏi cơ thể mẹ (chẳng hạn như sự rụng của lá về mùa thu đông, sự rụng của quả non).

Sự rụng lá là một trong những quá trình sinh lí phức tạp ở trong cây gắn liền với tuổi cây và sự hoá già của lá. Sự rụng lá của một số cây gỗ thường xảy ra vào mùa thu, trước khi vào đông và sang xuân, hè lại thay bộ lá mới có hoạt động sinh lí ở mức độ cao hơn. Một số cây xanh nhiều năm thì sự rụng lá là quanh năm. Nói chúng sự rụng lá là sự thích ứng cần thiết của cây vì lá là cơ quan quang hợp và thoát hơi nước. Nó có nhiệm vụ quan trọng là tổng hợp, tích luỹ các chất hữu cơ để nuôi sống cây và dự trữ cho thế hệ sau. Khi đã hoá già thì sẽ làm giảm các hoạt động sinh lí, giảm khả năng làm việc của nó, vì vậy nó phải thay thế những lá mới có khả năng sống cao hơn. Còn sự rụng của quả cũng thường xảy ra và làm giảm năng suất. Sự rụng của quả cũng là sự thích ứng của cây khi thiếu chất dinh dưỡng, nước và hoocmon cho sinh trưởng của chúng, buộc chúng phải rụng đi một số lượng nhất định các quả non, để tập trung chất dinh dưỡng và hoocmon cho những quả khác. Sự rụng của quả thường mạnh mẽ vào lúc phôi sinh trưởng nhanh và lúc phình to của quả. Về mặt giải phẫu, sự rụng của lá và quả là do sự hình thành tầng rời ở gốc cuống lá và quả.

Tầng rời là một vài lớp tế bào mô mềm (nhu mô) đặc biệt có đặc trưng giải phẫu là : Tế bào bé hơn, tròn, chất nguyên sinh đặc hơn, gian bào bé, không hoá suberin và linhin. Ngoài ra yếu tố mạch dẫn thường ngắn và vùng này thường thiếu yếu tố sợi trong hệ thống dẫn. Tất cả cấu trúc đó làm cho vùng tế bào này yếu hơn các vùng khác. Khi có những yếu tố cảm ứng rụng thì tầng rời xuất hiện nhanh chóng. Trong lớp tế bào này xảy ra những biến đổi mạnh mẽ như trao đổi chất theo hướng phân giải các hợp chất pectin gắn các tế bào với nhau nhờ các enzim pectinaza. Kết quả là các tế bào rời rạc, không còn dính nhau và lá chỉ còn được giữ lại bằng bó mạch mỏng manh. Dưới tác dụng của khối lượng lá, quả và các tác động cơ học khác như gió thì lá và quả có thể bị rụng dễ dàng.

Việc điều chỉnh hoocmon của sự rụng : Sự rụng của các cơ quan được điều chỉnh bằng sự cân bằng hoocmon trong chúng. Sự cân bằng này chủ yếu xảy ra giữa auxin và axit absxixic, etilen. Auxin là hoocmon cơ bản điều chỉnh sự rụng của lá và quả. Trong lá xanh, auxin được tổng hợp mới trong phiến lá và vận chuyển qua cuống lá, ngăn cản quá trình tạo tầng rời. Nhưng khi lá già thì sự tổng hợp, vận chuyển auxin giảm sút và sẽ tạo điều kiện cho tầng rời xuất hiện. Trong quả, auxin được tạo nên trong phôi và hạt. Có sự tương quan chặt chẽ giữa lượng auxin trong hạt và sự rụng của quả. Nếu loại trừ hạt khỏi quả thì quả chóng rụng. Khi hàm lượng auxin trong quả thấp, hạt sản xuất không đủ vì một lí do nào đó thì tầng rời được cảm ứng hình thành.

Etilen và AAB có tác dụng đối kháng tuyệt đối với auxin trong sự rụng của lá, quả. Khi có một tác nhân cảm ứng sự rụng (nước, nhiệt độ, ánh sáng) thì lập tức trong lá tăng cường tổng hợp và tích luỹ etilen và AAB. Đấy là những yếu tố hoá già và đồng thời cũng là nhân tố của sự rụng. Hàm lượng của etilen và AAB tăng lên sẽ cảm ứng sự hình thành tầng rời vì nó ức chế sự tổng hợp auxin trong lá, đồng thời cảm ứng sự tổng hợp các enzim xenluloaza và pectinaza gây ra sự phân huỷ thành tế bào.

Nói chung sự hoá già của các cơ quan dẫn đến sự rụng được điều chỉnh bằng tỉ lệ auxin/xytokinin + AAB trong chúng. Các nhân tố kìm hãm sự hoá già (xytokinin, auxin) đều kìm hãm sự rụng và ngược lại các nhân tố tăng sự hoá già của cơ quan đều xúc tiến sự rụng.

Sự rụng được kiểm tra bằng các nhân tố ngoại cảnh như : độ dài ngày, nhiệt độ thấp quá hoặc cao quá, hạn hoặc úng, thiếu chất dinh dưỡng. Các nhân tố ngoại cảnh này là những nhân tố cảm ứng, các tín hiệu bên ngoài gây nên những biến đổi sâu sắc bên trong cơ quan và tầng rời dẫn đến sự rụng. Chẳng hạn những "stress" của các điều kiện ngoại cảnh đều làm tăng hàm lượng AAB và etilen trong cơ quan. Vì vậy, trong sản xuất để hạn chế sự rụng người ta đảm bảo điều kiện thuận lợi cho cây như nước và chất dinh dưỡng.

Hiểu biết được bản chất của sự rụng chúng ta có thể điều chỉnh sự rụng của cơ quan có lợi cho sản xuất. Muốn kìm hãm sự rụng người ta thường phun các hợp chất auxin cho lá hoặc hoa, quả, đồng thời kết hợp cung cấp đủ nước và chất dinh dưỡng. Hiện nay có nhiều chế phẩm làm đậu quả và chống rụng của các cơ sở khoa học khác nhau. Các chế phẩm đó bao gồm auxin (ANA, 2,4–D) một số nguyên tố đa lượng (N, P, K) và một số nguyên tố vi lượng. Các chế phẩm này sử dụng phun cho hoa hoặc quả non.

Bên cạnh đó, trong sản xuất nhiều trường hợp cần xúc tiến nhanh sự rụng, chẳng hạn làm rụng lá để thu hoạch cơ giới. Các chất làm rụng lá gọi là "defoliant" như natri clorat, amoni xitrat được sử dụng rộng rãi trong ngành sản xuất bông để thu hoạch bông bằng máy. Đôi khi người ta sử dụng ethrel để làm rụng lá cho một số cây trồng khác.

3. Sự ngủ nghỉ của thực vật

Hoạt động sinh trưởng của thực vật bậc cao thường chịu đựng những biến đổi theo mùa rõ rệt. Những cây lâu năm thì có mùa sinh trưởng nhanh, có mùa sinh trưởng chậm và thậm chí có những thời gian cây ngừng sinh trưởng và bước vào thời kì ngủ nghỉ. Còn những cây sống hằng năm thì chu kì sống kết thúc bằng sự chết, trừ hạt, củ, căn hành còn sống nhưng cũng ngừng sinh trưởng và ngủ nghỉ. Trong thời kì ngủ nghỉ đó có sự giảm sút một cách đáng kể cường độ các quá trình trao đổi chất, các hoạt động sinh lí, sinh hoá trong cơ thể dẫn đến cây ngừng sinh trưởng. Trừ một số cây nhiệt đới thì hầu hết thực vật đều có một thời kì ngủ nghỉ. Sự ngủ nghỉ được xem như là một phản ứng thích nghi của cây và có thể trở thành một đặc tính của loài.

Có hai trạng thái ngủ nghỉ bởi các nguyên nhân khác nhau : nghỉ bắt buộc và nghỉ sâu.

Ngủ nghỉ bắt buộc xảy ra khi gặp các điều kiện ngoại cảnh bất thuận cho sự sinh trưởng như thiếu nước, nhiệt độ thấp, quang chu kì không thích hợp. Trong trường hợp đó buộc cơ thể phải ngừng sinh trưởng và chuyển vào trạng thái ngủ nghỉ. Nhưng khi gặp các điều kiện thuận lợi thì chúng lập tức sinh trưởng ngay. Chẳng hạn các hạt phơi khô có hàm lượng nước từ 10 – 14% thì chúng nghỉ bắt buộc nhưng khi ngâm nước thì chúng sẽ nảy mầm ngay. Một số cây trước khi vào đông, do điều kiện nhiệt độ thấp không thuận lợi cho sinh trưởng nên chúng rụng lá và nghỉ đông ; nhưng sang xuân khi nhiệt độ tăng, các điều kiện thuận lợi cho sinh trưởng thì chúng nảy lộc đâm chồi rất nhanh.

Trạng thái nghỉ bắt buộc là phản ứng thích nghi của cây chống lại các điều kiện ngoại cảnh để sống sót ; chẳng hạn hạt yến mạch khi nghỉ có thể chống chịu được nhiệt độ -33^oC mà bình thường chỉ chịu được nhiệt độ -13^oC ; các cây lá kim có thể chịu được nhiệt độ -50^oC đến -60^oC lúc nghỉ đông, nhưng mùa hè chúng chết rét ở nhiệt độ -2^oC đến -3^oC.

Trạng thái nghỉ sâu (hoặc nghỉ say) xảy ra không phải do điều kiện ngoại cảnh không thuận lợi cho sinh trưởng mà do nguyên nhân bên trong của chúng, được kiểm tra bằng các tác nhân nội tại. Chính vì vậy trong thời kì ngủ nghỉ, dù điều kiện bên ngoài thuận lợi nhất cho sự sinh trưởng thì cũng không thể nào làm chúng sinh trưởng được. Ví dụ củ khoai tây sau khi thu hoạch, không nảy mầm ngay mà phải có một thời gian nghỉ từ 2 – 4 tháng mới nảy mầm ; các hạt có vỏ cứng hoặc nhiều hạt giống khi thu hoạch xong gieo ngay không nảy mầm được mà phải có thời gian nhất định mới nảy mầm hoặc phải dùng biện pháp xử lí. Sự nghỉ sâu cũng là một phản ứng thích nghi của cây có tính chất lịch sử và trở thành một đặc tính của giống.

Nguyên nhân của sự ngủ nghỉ : Sự ngủ nghỉ, đặc biệt là nghỉ sâu gây ra bởi nhiều nguyên nhân. Trước hết là do chúng tích luỹ một số lượng lớn các chất ức chế sinh trưởng như axit absxixic và các chất phenol, trong khi đó giảm hàm lượng các chất kích thích sinh trưởng như auxin, giberelin và xytokinin làm cho sự cân bằng hoocmon (chủ yếu là sự cân bằng AAB/GA) lệch về phía tích luỹ nhiều AAB. Chính sự có mặt một hàm lượng của AAB đã ức chế toàn bộ hệ thống tổng hợp các enzim thuỷ phân cần cho sự nẩy mầm. Do đó mà cần có một thời gian nhất định để giảm hàm lượng AAB xuống mức độ tối thiểu.

Nguyên nhân thứ hai là do cấu tạo vỏ hạt, vỏ củ, màng hạt rất bền vững, không thấm nước và thấm khí được nên phôi không thể nảy mầm được. Sau một thời gian nhất định thì tính thấm của vỏ tăng lên và sự nảy mầm mới xảy ra. Chẳng hạn hạt có vỏ cứng do suberin như hạt táo, đào, mận hoặc vỏ củ khoai tây.

Ngoài ra khi phôi hạt chưa chín xong về mặt sinh lí cũng là nguyên nhân gây nên sự ngủ nghỉ. Sự chín hình thái (chín của vỏ quả) và chín sinh lí (chín của phôi) không kết thúc cùng một lúc, thường chín sinh lí kết thúc muộn hơn chín hình thái. Vì vậy cần có một thời gian để phôi tiếp tục những biến đổi cần thiết chuẩn bị cho một cơ thể mới ra đời tức là phôi phải phát triển hoàn chỉnh.

Theo Amen (1968) thì sự ngủ nghỉ của hạt có thể chia thành 4 pha phát triển tách biệt nhau : pha cảm ứng, pha duy trì, pha chuyển tiếp và pha nảy mầm.

Pha cảm ứng được đặc trưng bằng sự cân bằng hoocmon trong hạt, trong đó giảm nhanh chóng hàm lượng các chất kích thích sinh trưởng và tăng nhanh chóng hàm lượng các chất ức chế sinh trưởng, chủ yếu là AAB. Trong pha duy trì, sự trao đổi chất của hạt rất thấp vì sự cân bằng hoocmon nghiêng về các chất ức chế sinh trưởng, nên các chất ức chế sinh trưởng này đã bao vây hoàn toàn quá trình trao đổi chất, hạt nghỉ một cách thực sự. Ở pha chuyển tiếp, hạt rất nhạy cảm với các nhân tố bên ngoài như ánh sáng và nhiệt độ. Sự cân bằng hoocmon thay đổi theo hướng ngược lại tức giảm hàm lượng các chất ức chế sinh trưởng và tăng hàm lượng các chất kích thích sinh trưởng. Một số hạt nảy mầm nhờ ánh sáng hoặc bị ức chế bởi ánh sáng có liên quan đến cơ chế điều chỉnh phytocrom trong chúng :

Ánh sáng đỏ		Ánh sáng đỏ xa
P_{660}	$\rightleftharpoons$	P_{730}
Nảy mầm		Ức chế nảy mầm

Ánh sáng cảm ứng sự hình thành các enzim đặc hiệu liên quan đến sự nảy mầm. Một số hạt lại rất cần tác động của nhiệt độ thấp (0 – 10°C) và ẩm độ cho sự kết thúc ngủ nghỉ. Xử lí nhiệt độ thấp cho hạt là biện pháp phá ngủ nghỉ và liên quan đến việc giảm hàm lượng chất ức chế sinh trưởng và tăng hàm lượng các chất kích thích sinh trong hạt.

Cuối cùng là pha nảy mầm tức là sự ngủ nghỉ đã kết thúc và hạt hoàn toàn có khả năng nẩy mầm nếu điều kiện môi trường thuận lợi. Trong thời kì này, do sự tăng hoạt tính các enzim thuỷ phân và tăng hoạt động hô hấp. Giberelin được tổng hợp mạnh và có vai trò quan trọng, quyết định sự nảy mầm của hạt.

Từ việc hiểu biết nguyên nhân gây nên sự ngủ nghỉ của thực vật, con người có thể can thiệp, điều chỉnh sự ngủ nghỉ của chúng có lợi cho sản xuất. Sự điều chỉnh này có thể xảy ra theo hai hướng : phá bỏ sự ngủ nghỉ để cho chúng nảy mầm ngay gọi là sự phá ngủ nghỉ hoặc kéo dài thời gian ngủ nghỉ của chúng, đặc biệt là trong kho bảo quản nông phẩm.

Để phá ngủ, có hàng loạt các biện pháp được áp dụng khác nhau tuỳ theo bản chất gây nên sự ngủ nghỉ cũng như phụ thuộc vào các đối tượng khác nhau. Có thể có mấy loại biện pháp phá ngủ sau :

Các biện pháp cơ giới với các loại hạt có vỏ cứng : Vỏ cứng, dày đã ngăn cản sự thấm nước và khí, làm hạt không nảy mầm được. Người ta chà xát cho mỏng lớp vỏ, đập vỡ vỏ cứng (không gây thương tổn phôi hạt) hoặc dùng axit (như axit nitric) để ngâm cho mỏng lớp vỏ ngoài, với khoai tây có thể làm xây xát lớp vỏ suberin khó thấm khí và nước bao quanh củ khoai tây. Tuy nhiên biện pháp này rất dễ gây thương tổn phôi và rất dễ gây nhiễm bệnh, lây bệnh.

Các biện pháp tăng tính thấm của vỏ hạt như biện pháp xếp lớp : Xếp một lớp hạt, một lớp cát ẩm, sau một thời gian tính thấm của vỏ hạt với nước tăng lên và hạt có thể nảy mầm. Biện pháp này thường sử dụng với các vỏ hạt cứng ở các nước ôn đới như hạt đào, hạt mận. Để tăng cường tính thấm của vỏ hạt, vỏ củ người ta có thể dùng một số hoá chất như sử dụng axit nitric để phá ngủ cho lúa, sử dụng một số hoá chất khí xông hơi cho củ khoai tây như H_2S, etilenclohidrin, CCl_4.

Biện pháp có hiệu quả nhất là dùng các chất kích thích sinh trưởng can thiệp vào sự cân bằng hoocmon trong hạt và củ. Chẳng hạn người ta dùng giberelin để tăng tỉ lệ GA / AAB kích thích sự nảy mầm. Đối tượng được sử dụng phá ngủ có hiệu quả nhất bằng phương pháp này là củ giống khoai tây. Củ khoai tây sau khi thu hoạch thường có một số thời kì ngủ nghỉ bắt buộc từ 2 – 4 tháng tuỳ thuộc vào giống. Để có khoai trồng ngay vụ xuân, bắt buộc phải sử dụng biện pháp phá ngủ khoai tây mới thu hoạch. Biện pháp thông thường là cắt củ khoai tây và ngâm vào dung dịch GA_3 với nồng độ khoảng 2 ppm trong thời gian vài giờ, sau đó vớt ra, ủ ẩm thì chúng sẽ lần lượt nảy mầm trong vài tuần.

Do yêu cầu của sản xuất, trong những năm gần đây, Bộ môn Sinh lí – Sinh hoá thực vật Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội đã nghiên cứu biện pháp tổng hợp phá ngủ khoai tây một cách hiệu quả nhất đảm bảo không phải cắt củ khoai tây, không phải ngâm, nảy mầm đồng loạt (90 – 100%) trong 4 – 7 ngày và có thể đưa trồng ngay được. Biện pháp này bao gồm công đoạn phun GA_3 và sau đó xông hơi bằng CS_2 hoặc Rindite trong 3 ngày dưới hầm đất. Với biện pháp ngủ hữu hiệu này, có thể chủ động giống khoai tây trồng vụ xuân mà không phải nhập nội giống.

Biện pháp xử lí nhiệt độ thấp cũng có tác dụng kích thích sự nảy mầm, phá bỏ sự ngủ nghỉ, chẳng hạn xử lí nhiệt độ thấp cho củ hành tỏi, loa kèn, lay ơn có thể trồng ngay được và rút ngắn thời gian sinh trưởng của chúng. Nhiệt độ thấp có tác dụng điều chỉnh sự cân bằng hoocmon trong chúng theo hướng tăng GA và giảm AAB.

Trên đây là một số biện pháp sử dụng để phá ngủ cho củ, căn hành và hạt trong sản xuất. Tuy nhiên trong thực tế có nhiều trường hợp phải xử lí để kéo dài thêm sự ngủ nghỉ của chúng, chẳng hạn trong việc bảo quản nông sản thương phẩm, việc nảy mầm sớm là không cần thiết và có tác hại lớn, giảm khối lượng và đặc biệt là giảm phẩm chất thương phẩm.

Người ta thường sử dụng các chất điều hoà sinh trưởng để ức chế sự nảy mầm của củ khoai tây, hành tỏi, khoai lang. Có thể sử dụng các hợp chất auxin như AIA ; ANA ; 2,4,5–T nhưng hiệu quả cao nhất là MEAN (metileste của ANA) và MH (malein hirazit). Việc xử lí này có thể làm sau khi thu hoặc ở trong kho bảo quản và cũng có thể phun cho cây trong thời kì hình thành củ và căn hành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Garvilenco, V. và cộng sự, 1966. Những chương chọn lọc sinh lí thực vật (bản tiếng Nga). Đại học Tổng hợp Matxcơva
2. Libert, E., 1976. Sinh lí học thực vật. (Bản dịch từ tiếng Đức sang tiếng Nga).
3. Mohr, H.; Schopfer. P., 1995. Plant Physiology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg-New York
4. Narayanaswamy, S. 1994. Plant Cell and Tissue Culture. Tata Mc Graw - hill Publishing Company Limited New Delhi.
5. Ting, I.P., 1982. Plant Physiology. University of California.
6. Campbell and Reece. Biology. (5th and 6th Edition, 2000, 2002).
7. Taiz, L.and Zeiger, E. 2002. Plant physiology. (third Edition) - online, Published by sinauer Associates.

MỤC LỤC

	Trang
Lời nói đầu	3
Bài mở đầu	4
CHƯƠNG I – SINH LÍ TẾ BÀO THỰC VẬT	10
I – Khái niệm chung	10
II – Tổ chức cấu trúc và đặc điểm lí hoá của tế bào	13
III – Sự hút nước vào tế bào	24
IV – Sự hút các chất hoà tan vào tế bào	28
V – Sự tích luỹ protein, axit nucleic và các hợp chất chứa nitơ ở các giai đoạn sinh trưởng khác nhau của tế bào	31
VI – Nuôi cấy mô – tế bào thực vật	32
CHƯƠNG II – SỰ TRAO ĐỔI NƯỚC Ở THỰC VẬT	52
I – Khái niệm chung và vai trò của nước trong đời sống thực vật	52
II – Năng lượng tự do của nước	53
III – Hàm lượng nước và các dạng nước trong cây	57
IV – Sự trao đổi nước ở thực vật	62
V – Đặc điểm của các nhóm cây sinh thái khác nhau về chế độ nước và cơ sở sinh lí của việc tưới nước hợp lí	92
CHƯƠNG III – QUANG HỢP	95
I – Khái niệm chung về quang hợp	95
II – Bộ máy quang hợp	101
III – Bản chất của quá trình quang hợp	113
IV – Quang hợp và các điều kiện môi trường	139
V – Quang hợp và năng suất cây trồng	147

CHƯƠNG IV – DINH DƯỠNG KHOÁNG VÀ NITƠ Ở THỰC VẬT 150
I – Một số khái niệm về dinh dưỡng khoáng và nitơ ở thực vật 150
II – Cơ chế quá trình hút các chất khoáng 151
III – Ảnh hưởng của điều kiện bên ngoài đến sự hút các chất dinh dưỡng ở rễ 156
IV – Vai trò sinh lí của các nguyên tố khoáng 158
V – Sự đồng hoá và biến đổi nitơ ở thực vật 166
VI – Sinh lí dinh dưỡng và vấn đề bón phân hợp lí cho cây tổng 174

CHƯƠNG V – HÔ HẤP THỰC VẬT 180
I – Khái niệm chung về hô hấp thực vật. Lịch sử nghiên cứu hô hấp 180
II – Bộ máy hô hấp 182
III – Hoá thức của quá trình hô hấp 189
IV – Sự chuyển hoá năng lượng của quá trình hô hấp 206
V – Các nhân tố ảnh hưởng đến quá tình hô hấp của thực vật 218
VI – Hô hấp ánh sáng ở thực vật 222
VII – Vai trò hô hấp trong đời sống của thực vật và trong ứng dụng thực tiễn 224

CHƯƠNG VI – SINH LÍ SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN THỰC VẬT 229
I – Khái niệm chung về sinh trưởng và phát triển thực vật 229
II – Động học sinh trưởng 231
III – Sự sinh trưởng và phân hoá tế bào thực vật 237
IV – Sự tương quan sinh trưởng giữa các bộ phận trong cây 242
V – Sự tái sinh và tính phân cực 246
VI – Sự nảy mầm của hạt 249
VII – Các hình thức vận động sinh trưởng 252
VIII – Các chất điều hoà sinh trưởng và phát triển thực vật 260
IX – Sự cân bằng hoomon trong cây 279
X – Nguyên tắc sử dụng chất điều hoà sinh trưởng và những ứng dụng của chúng trong trồng trọt 282
XI – Quá trình phát triển 287
XII – Sự hình thành quả và sự chín của quả 296
XIII – Sự hình thành củ và căn hành 300
XIV – Sinh lí sự hoá già, sự ngủ nghỉ của thực vật 301

Chịu trách nhiệm xuất bản :
Chủ tịch HĐQT kiêm Tổng Giám đốc NGÔ TRẦN ÁI
Phó Tổng Giám đốc kiêm Tổng biên tập NGUYỄN QUÝ THAO

Biên tập nội dung lần đầu :
TRẦN THỊ PHƯƠNG

Biên tập tái bản :
NGUYỄN THỊ HỒNG
TRẦN NGỌC OANH

Biên tập kĩ thuật :
NGUYỄN THỊ TUYẾT MAI

Biên tập mĩ thuật :
CAO HOÀ BÌNH

Trình bày bìa :
ĐOÀN HỒNG

Sửa bản in :
NGUYỄN THỊ HỒNG
VŨ THỊ DUNG

Chế bản :
PHÒNG CHẾ BẢN (NXB GIÁO DỤC TẠI HÀ NỘI)

SINH LÝ HỌC THỰC VẬT

Mã số: 7K171h9 - DAI

In 1.500 bản (QĐ:63) khổ 19 x 27 cm. In tại Công ty cổ phần in Phúc Yên.
Địa chỉ : Đường Trần Phú, thị xã Phúc Yên, Vĩnh Phúc.
Số ĐKKH xuất bản : 04 - 2009/CXB/299 - 2117/GD.
In xong và nộp lưu chiểu tháng 10 năm 2009.