

VŨ VĂN VỤ

**SINH LÝ THỰC VẬT
ỨNG DỤNG**

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC - 1999

LỜI NÓI ĐẦU

Sinh lý học thực vật – một môn học về các quá trình sống xảy ra trong cơ thể và quần thể thực vật, từ lâu đã là một môn học liên quan chặt chẽ với các môn học cơ sở của Sinh học như : Di truyền học, Hóa sinh học, Lý sinh học, Sinh thái học và có vai trò rất quan trọng trong việc cung cấp các kiến thức cơ sở cho các ngành Trồng trọt, Lâm học, Dược học,...

Trong những năm gần đây, nhất là khi phát triển các ngành mới như công nghệ sinh học, công nghệ môi trường, sinh học môi trường, ... thì Sinh lý học thực vật, đặc biệt là những cơ sở lý luận và thực tiễn của nó đã được ứng dụng rộng rãi và rất có hiệu quả trong những ngành mới xuất hiện này. Chẳng hạn : các kiến thức về sinh lý tế bào đã được ứng dụng thành công trong công nghệ nuôi cấy mô – tế bào thực vật ; các kiến thức về dinh dưỡng khoáng và trao đổi nitơ đã được ứng dụng trong công nghệ trồng cây không cần đất, trong công nghệ thủy canh, khí canh, góp phần tạo nên một nền nông nghiệp sạch và bền vững, các kiến thức về quang hợp đã đưa đến các biện pháp kỹ thuật điều khiển hệ quang hợp cây trồng nhằm mục đích "kinh doanh" năng lượng Mặt Trời sao cho hiệu quả nhất, song song với việc nghiên cứu một công nghệ quang hợp nhân tạo ; các kiến thức về sinh trưởng và phát triển thực vật, về các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đã được ứng dụng rộng rãi và mang lại lợi ích nhiều mặt cho nền nông nghiệp các nước, và quan trọng hơn nữa các kiến thức sinh lý thực vật còn được ứng dụng trong việc nghiên cứu, xây dựng, điều khiển và khai thác các hệ sinh thái tối ưu trong mối liên quan với việc bảo vệ môi trường bền vững. Đó chính là nội dung của

cuốn sách : "Sinh lý thực vật ứng dụng" và mục đích ra đời của nó là góp phần cung cấp các kiến thức nêu trên cho người đọc.

Vì thời gian có hạn, cuốn sách chưa đề cập đến các phần ứng dụng của chế độ nước thực vật, hô hấp thực vật, cũng như chưa đưa vào cuốn sách những phương pháp chủ yếu trong quang hợp ứng dụng và chắc chắn cuốn sách còn nhiều thiếu sót. Tác giả xin cảm ơn những ý kiến đóng góp để cuốn sách được hoàn thiện dần, đáp ứng yêu cầu người đọc.

Tác giả

Chương I

NUÔI CÂY MÔ - TẾ BÀO THỰC VẬT

Trong mấy thập kỷ qua nuôi cấy mô - tế bào thực vật đã phát triển mạnh mẽ ở nhiều quốc gia trên thế giới. Đây 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 kỹ 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 các tính trạng di truyền của cơ thể mẹ và làm rút ngắn được thời gian đưa một giống mới vào sản xuất quy mô lớn. Hơn nữa, dựa vào kỹ thuật nuôi cấy để duy trì và bảo quản được nhiều giống cây trồng quý hiếm, hoặc có thể tiến hành loại bỏ các mầm bệnh (phục tráng giống) - phương pháp này đặc biệt có hiệu quả đối với những loài thực vật sinh sản sinh dưỡng.

Mặt khác, sử dụng các kỹ thuật nuôi cấy và dung hợp protoplast (tế bào trần), để tạo ra những con lai xa về mặt di truyền mà phương pháp lai giống cổ điển không 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 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 lý và di truyền thực vật như : cơ chế sinh tổng hợp các chất, sinh lý phân tử, di truyền - đột biến, sinh lý dinh dưỡng ở tế bào thực vật và nhiều vấn đề sinh học khác...

1. Cơ sở lý luận và thực nghiệm của nuôi cấy mô tế bào thực vật in-vitro

Nuôi cấy mô – tế bào thực vật in-vitro đã hình thành từ vài thập kỷ trước mà cơ sở của nó là giả thuyết của nhà thực vật học người Đức Haberland G. (1902). Ông cho rằng tất cả các tế bào của cây đều có tính toàn năng (totipotency), nghĩa là mỗi tế bào đều mang toàn bộ lượng thông tin di truyền của cơ thể. Theo Haberland 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 Haberland đã không thành công.

Năm 1924 Kotte và Robbins lặp lại các thí nghiệm của Haberland và nuôi được đỉnh sinh trưởng tách từ đầu rễ một cây hòa thảo, tạo ra hệ rễ nhỏ có cả rễ phụ.

Mười năm sau (1934) White đã nuôi cấy thành công đầu rễ cà chua (*Lycopersicum esculentum*) trên môi trường lỏng có chứa đường, muối khoáng và dịch chiết nấm men. Các thí nghiệm tiếp theo White thay thế dịch chiết nấm men bằng hỗn hợp ba vitamin nhóm B : thiamin (vitamin B1), piridoxin (vitamin B6) và axit nicotinic (vitamin B3). Sau đó ít lâu Went và Thimann tìm ra chất kích thích sinh trưởng đầu tiên là IAA (indol axetic axit).

Nghiên cứu về hướng khác, Gautheret và Nobecourt (1937) đã tạo ra và duy trì được sự sinh trưởng của mô sẹo cà rốt (*Daucus carota*) trong một thời gian dài. Ở thời kỳ này, các nhà khoa học nghiên cứu và tổng hợp thành công nhiều chất kích thích sinh trưởng như : NAA (α -naphthyl axetic axit), 2,4D (2,4 diolorophenoxy axetic axit). Nhờ đó các thí nghiệm tạo mô sẹo đã thu được kết quả ở nhiều đối tượng thực vật trước đây rất khó nuôi cấy.

Năm 1955, Skoog và Miller tìm ra kinetin trong dịch thủy phân của tinh dịch cá bẹ (Lerringperm). Cùng với kinetin thì các xytokinin khác như BAP (6-benzyl amino purin), Zip, zeatin... cũng lần lượt được phát hiện.

Những thành công trên là cơ sở bùng nổ ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô – tế bào thực vật trong sản xuất với việc tạo được cây hoàn chỉnh từ mô tách rời như đỉnh sinh trưởng... Hai tác giả Morel và Martin đã phát triển kỹ thuật nuôi cấy đỉnh sinh trưởng để tạo ra các giống sạch bệnh ở khoai tây (*Solanum tuberosum*) và hoa lan (Orchid). Chính hai nhà khoa học này đã mở đầu cho một hướng mới của nuôi cấy mô – tế bào thực vật đó là vi nhân giống (micropropagation).

Nuôi cấy tế bào tách rời (tế bào đơn và tế bào trần) được bắt đầu năm 1960 với các thí nghiệm tiên phong của Cooking và từ đó trở đi nuôi cấy tế bào tách rời đã có những bước phát triển đáng khích lệ. Nhờ hoàn thiện các kỹ thuật nuôi cấy protoplast, người ta có thể tiến hành dùng hợp tế bào tạo ra tế bào lai hoặc nghiên cứu chuyển gen có lợi vào cây trồng nhằm cải tạo giống.

2. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nuôi cấy

2.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy

Thành công của nuôi cấy mô – tế bào thực vật phụ thuộc rất nhiều vào sự chọn lựa môi trường dinh dưỡng, bao gồm cả số lượng và chất lượng hóa chất sử dụng. Nhu cầu dinh dưỡng cho sinh trưởng tối ưu của các loài là không giống nhau, ngay cả giữa các bộ phận trong cùng một cơ thể cũng ít nhiều có sự khác nhau (Murashige and Skoog, 1962).

Cho đến nay đã có nhiều loại môi trường dinh dưỡng được tìm ra : Môi trường Murashige và Skoog (1962), môi trường Linsmainer và Skoog (1963), môi trường Gamborg (1968), môi trường Knop (1974)... Đây là những môi trường cơ bản và sẽ được cải biến ra nhiều loại môi trường khác nhau cho phù hợp với mỗi đối tượng nghiên cứu và mục đích thí nghiệm. Trong số đó môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962) được đánh giá là phù hợp nhất cho đa số các loài thực vật và chính Murashige (1974) đã dùng môi trường này để nuôi cấy nhiều loại cây trồng.

Nét đặc trưng của môi trường MS là giàu về thành phần muối khoáng. Vì vậy đối với một số loài thì thành phần dinh dưỡng của môi trường MS tỏ ra quá cao và có trường hợp gây độc cho mô nuôi cấy. Chối cắm chướng (*Dianthus spp.*), hương nhu (*Ocimum gratissimum*) chỉ sinh trưởng được khi hàm lượng khoáng MS giảm đi một nửa. Tương tự như thế chối cây *Feijoa sellowiana* sinh sôi nảy nở tốt hơn trên môi trường Knop-môi trường nghèo chất dinh dưỡng (Bhojwani and Razdan, 1983).

Ở một số ít loài, môi trường MS giàu chất dinh dưỡng còn gây ra hiện tượng mọng nước hay thủy tinh thể (vitrification) như ở cắm chướng, hoa cúc... (Han et al, 1991). Thủy tinh thể là một trở ngại cho quá trình chuyển cây từ ống nghiệm ra vườn ươm hay đồng ruộng. Như vậy có thể kết luận chung rằng : thành phần chất khoáng trong môi trường ảnh hưởng lên sự phát sinh hình thái thực vật in-vitro là tương đối phức tạp. Cho nên với mỗi đối tượng, ở các giai đoạn sinh trưởng khác nhau cần phải tìm ra môi trường thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của chúng.

Các hợp chất vô cơ chứa nitơ được bổ sung vào môi trường dưới hai dạng : nitrat (NO_3^-) và amon (NH_4^+) làm nguồn nitơ. Lượng nitrat trong hầu hết các môi trường là nhiều hơn amon và thường dùng ở nồng độ 25mM nitrat với 2-20 mM amon (Narayanaswamy S., 1994). Khi nitrat là nguồn nitơ duy nhất sẽ gây kiềm hóa môi trường, do đó cần phối hợp với một lượng nhỏ amonium (Bhojwani and Razdan, 1983). Lượng nitơ trong môi trường còn được gia tăng bằng nguồn nitơ hữu cơ (axit amin) và hay dùng hơn cả là L-glutamin, L-asparagin (Narayanaswamy S., 1994). Sự có mặt đồng thời của nguồn nitơ vô cơ và hữu cơ ở hàm lượng thích hợp sẽ thúc đẩy mẫu sinh trưởng mạnh hơn và đảm bảo chống lại bất cứ sự thiếu hụt nitơ nào có thể xảy ra.

~~Đường được sử dụng làm nguồn các bon cung cấp năng lượng chủ yếu trong nuôi cấy nhiều loài thực vật (Hu et al, 1979). Đồng thời~~

đường còn đóng vai trò là chất thẩm thấu chính của môi trường. Loại đường hay sử dụng là sacaroz với nồng độ từ 2 – 8% (Bhojwani and Razdan, 1983). Ngoài ra các dạng đường khác như : manitol, mantoz, glucoz... cũng được dùng cho nuôi cấy trong một số trường hợp như ở cây dâu tằm (Mulberry) sự sinh trưởng của chồi tốt hơn khi thay thế sacaroz bằng mantoz hoặc glucoz

Trong nuôi cấy nhiều loài thực vật, để tăng cường sự sinh trưởng của mẫu thì môi trường nuôi cấy phải được bổ sung thêm các vitamin, axit amin, các loại dịch chiết và các chất điều hòa sinh trưởng thực vật.

Hầu hết các mô nuôi cấy đều có khả năng tổng hợp tất cả các loại vitamin cần thiết nhưng không đầy đủ về số lượng (Czosnowski, 1952 ; Paris, 1958). Vitamin có vai trò xúc tác các quá trình trao đổi chất diễn ra trong tế bào, cho nên muốn đạt được sự sinh trưởng tối ưu của mô nuôi cấy thì các nhà nghiên cứu thường đưa thêm vào môi trường một số vitamin như : thiamin (vitamin B1), axit nicotinic (vitamin B3), vitamin B5, piridoxin (vitamin B6). Trong số đó B1 được coi là vitamin thiết yếu đối với sự sinh trưởng của tế bào thực vật (Weaver R. J., 1972 ; Bhojwani and Razdan, 1983). Một số trường hợp phải bổ sung thêm vitamin C ở nồng độ cao, vì vitamin C giúp chống lại các hiện tượng oxy hóa. Số lượng và nồng độ các vitamin cần sử dụng biến đổi theo loài thực vật. Riêng đối với nuôi cấy protoplast thì việc thêm cả một hỗn hợp vitamin là cần thiết (Kao, 1977 ; Gamborg et al, 1981).

Các chất điều hòa sinh trưởng thực vật (phytohormon) 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-vitro các auxin gây ra một loạt những biến đổi sinh trưởng như : tính trệ 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 hoạt hóa 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 hóa của rễ, chồi... (Bhojwani and 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 lý ở nồng độ thấp, phạm vi sử dụng từ 0,1 – 1,0mg/l tùy 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 hoạt sự phân hóa rễ, ngược lại ở hàm lượng cao auxin sẽ phát động sự tạo mô sẹo (callus).

Những chất thuộc nhóm auxin hay dùng là IBA (indol butyric axit), NAA, IAA, và 2,4D. IAA do kém bền nhiệt nên ít dùng, 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 phytohormon dẫn xuất của adenin, có vai trò sinh lý 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 hóa của các cơ quan làm giảm hiện tượng ưu thế ngọn, kích thích sự phân hóa 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 giai đoạn sau phôi phải được nuôi cấy trên môi trường có xytokinin để biệt hóa chồi. Các xytokinin thường dùng trong nuôi cấy là kinetin, 2ip, 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. Với các hàm lượng xytokinin cao sẽ hoạt hóa hình

thành chồi bất định (Mc Comb, 1978 ; Zimmerman and Broome, 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 GA₃ (gibberellic axit) vào môi trường. Ngoài ra nồng độ cao của xytokinin còn kìm hãm sự hình thành và phát triển của rễ (Narayanaswamy S., 1994). Trong nuôi cấy phôi, Rajasekaran và cộng sự (1987) nhận thấy tỷ lệ phát sinh phôi thấp khi thêm nồng độ xytokinin cao vào môi trường nuôi cấy cây *Dactylis glomerata* và *Pennisetum purpureum*.

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 hai hay nhiều loại xytokinin cho kết quả tốt hơn khi sử dụng một 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 hóa cơ quan thực vật in-vitro là kết quả tác động qua lại giữa hai nhóm auxin và xytokinin. Tỷ lệ cao auxin xytokinin kích thích sự tạo rễ, trái lại sẽ đẩy mạnh biệt hóa chồi, còn ở tỷ lệ trung gian 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 (gibberellic axit), ABA (abscisic axit), etylen... Đặc điểm cơ bản của các 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 hóa các quá trình tổng hợp enzym thủy 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 thực vật in-vitro, đặc biệt là với mô thực vật một lá mầm (Narayanaswamy S., 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 ít loài thực vật (Bhojwani and 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 hóa và gây ra sự rụng của cơ quan... (Wilmar and Doombos, 1971). Vì vậy ABA được sử dụng nhằm kìm hãm sinh trưởng của chồi hoặc tham gia vào bảo quản lương thực và quý gen invitro. Ở một số ít trường hợp ABA thúc đẩy sự phát triển rễ như trong các mẫu nuôi cấy khoai lang (Ammirato, 1986), cà chua, đậu tương (Street, 1979). Trong nuôi cấy phôi, thêm ABA vào môi trường là rất cần thiết do ABA giúp phôi chống lại sự khô hóa (Senaratu et al, 1989). Ngoài ra ABA còn kích thích sự hình thành nơi dự trữ lipit, protein và cacbon hydrat cần thiết cho phôi nảy mầm (Robetts et al, 1990).

Bên cạnh các chất điều hòa 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, casein thủy 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 của nước dừa theo Nguyễn Thới Nhâm (1988) 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 hòa sinh trưởng như IAA, GA hoặc các hợp chất tương tự kinetin, zeatin ở trong thành phần của nó (Pierik, 1987). Sự có mặt của nước dừa trong nuôi cấy phôi đã giúp phôi non phát triển đến trạng thái trưởng thành. Đối với 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 (Activated charcoal) như một chất phụ gia bởi vì than hoạt tính có tác dụng hấp phụ các chất tiết ra từ mô cấy, vỏ bao phẩn... và làm tăng hiệu suất sinh phôi (Fridborg et al, 1978 ; Ammirato, 1983). Với những mẫu dễ bị hóa nâu thì than hoạt tính đặc biệt có hiệu quả, nó giúp làm giảm sự ảnh hưởng của các độc tố đến mô nuôi cấy.

Agar (thạch) là thành phần quyết định trạng thái vật lý của môi trường. Hàm lượng agar dùng cho nuôi cấy dao động từ 0,6 – 1,0% theo khối lượng. Nồng độ cao của agar, môi trường trở nên cứng, sự khuếch tán của các chất dinh dưỡng cũng như hấp thụ của mô gặp khó khăn (Bhojwani and 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. Pennce và đồng nghiệp (1980) phát hiện thấy phôi cây *Thebroma* nuôi cấy trên môi trường lỏng có kích thước gấp đôi trên môi trường đặc. Tuy vậy môi trường lỏng dễ gây ra hiện tượng mọng nước ở mẫu nuôi cấy.

Giá trị pH của môi trường thích hợp cho sinh trưởng và phát triển ở nhiều loài thực vật biến đổi từ 5,0 đến 6,0. Có những loài sinh trưởng tốt ở pH kiềm như cây mận (*Prunus domestica*) (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 hóa các enzym hydrolaza dẫn tới kìm hãm sinh trưởng đồng thời kích thích sự hóa già của tế bào trong mô nuôi cấy (Nguyễn Như Khanh, 1996).

2.2. Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy

2.2.1. Nhiệt độ

Yêu cầu về nhiệt độ cho sinh trưởng và phát triển tốt ở các loài là không như nhau. Thực tế nuôi cấy trong phòng thì nhiệt độ được duy trì ít biến đổi, thường là $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Ở loài hoa thủy tiên nhiều chồi được hình thành khi nuôi cấy tại 25° (Seabrook and Cumming, 1982).

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

2.2.2. Ánh sáng

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

Cường độ ánh sáng từ 1000 - 2500 lux (illuminance 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 (Murashige, 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 *Pelargonium* ở ánh sáng đỏ làm tăng chiều cao thân chồi, trong khi ánh sáng xanh lại có biểu hiện ức chế (Appelgen, 1991). Đối với cây thuốc lá thì ngược lại, ánh sáng xanh kích thích sự biệt hóa chồi, ánh sáng trắng (đa sắc) kìm hãm tạo rễ phụ nhưng hoạt hóa tạo chồi phụ (Pierik, 1987). Sự thu nhận ánh sáng của chồi in-vitro phụ thuộc vào bước sóng ánh sáng và chất liệu bình nuôi cấy.

3. Nguyên liệu và phương pháp

3.1. 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 mẫu thân ngầm hoặc cơ quan dự trữ dưới mặt đất (củ, căn hành...) cũng được dùng cho nuôi cấy.

Phương pháp tiến hành : 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. Sử dụng đỉnh chồi, cây con từ hạt... để tiến hành vi nhân giống thực vật... Cây cho mẫu (cây mẹ) phải mang một hay 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 không thuận 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 căng trương (Seabrook et al, 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 lý của cây cho mẫu và đôi khi chịu ảnh hưởng của các mùa trong năm. Ở loài loa kèn *Lilium speciosum*, chỉ những mẫu thu thập vào mùa xuân và mùa thu mới có khả năng tái sinh, còn thu ở những mùa khác không thể đạt được kết quả như vậy (Narayanaswamy S., 1994).

3.2. Phương pháp vô trùng mẫu cấy

Mẫu được thu hái về có chứa ít hay nhiều vi khuẩn và nấm tùy 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 cấy thì phương pháp thông dụng nhất hiện nay là dùng các hóa chất có hoạt tính diệt khuẩn và nấm.

Khả năng tiêu diệt nấm khuẩn của hóa chất vô trùng phụ thuộc vào nồng độ, thời gian xử lý và mức độ xâm nhập của chúng vào ngõ ngách 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 lý với dung dịch diệt khuẩn. Đối với các mẫu mà bề mặt 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 tween 20, tween 80, teepol... vì những chất này giúp làm tăng tính linh động của hóa chất vô trùng. Với các mẫu quá bẩn thì phải rửa kỹ bằng nước xà phòng và để dưới vòi nước chảy từ 20 - 30 phút sẽ có tác dụng làm giảm đáng kể hệ vi khuẩn khỏi mẫu cấy (De Fossard, 1976 ; Narayanaswamy S., 1994).

Tác nhân vô trùng ngoài diệt nấm khuẩn còn ảnh hưởng đến mô cấy. Vì vậy chọn lựa loại hóa chất phải căn cứ vào mức độ nhiễm khuẩn và sự miễn cảm của mẫu. Trong số các hóa chất vô trùng thì canxi hypoclorit và natri Sodium hypoclorit là hay được dùng hơn cả do đặc tính của chúng : có độ độc thấp với mô được xử lý, không gây ức chế sinh trưởng và hiệu quả diệt khuẩn tốt. .. Khi vô trùng mẫu cấy cần cho mẫu 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 cất bớt phần mẫu bị hủy hoại do hóa chất vô trùng gây ra. Nồng độ sử dụng, thời gian xử lý và hiệu quả của một số hóa chất vô trùng như bảng sau :

Hóa chất vô trùng	Công thức hóa học	Nồng độ sử dụng (%)	Thời gian xử lý (phút)	Hiệu quả
Canxi hypoclorit	Ca(ClO) ₂	5 - 15	10 - 30	Rất tốt
Natri hypoclorit	NaClO	0,5 - 2	10 - 15	Rất tốt
Hydro peroxit	H ₂ O ₂	10 - 12	5 - 15	Tốt
Thủy ngân clorua	HgCl ₂	0,1 - 1	2 - 10	T/bình
Nước brom	Br ₂	1 - 2	10 - 30	Rất tốt

3.3. Phương pháp nuôi cấy

3.3.1. Nuôi cấy trên môi trường đặc

Thành phần của môi trường đặc có agar với hàm lượng biến đổi từ 0,6 đến 1,0%. 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 và hạt 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 có nhược điểm là mẫu chỉ tiếp xúc được một mặt với nguồn 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 sự sinh trưởng của mẫu.

3.3.2. Nuôi cấy trên môi trường lỏng

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

3.3.2.1. Nuôi cấy lỏng khuấy (Agitated liquid media)

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 lỏng khuấy dùng trong nuôi cấy tế bào đơn, nuôi cấy huyền phù tế bào, nuôi cấy để sản xuất các chất trao đổi thứ cấp...

3.3.2.2. Nuôi cấy lỏng tĩnh (Stationary liquid media)

Bình nuôi cấy được để yên như trường hợp nuôi cấy trên môi trường đặc, mẫu có một phần ngấm trong dung dịch của môi trường và phần kia tiếp xúc với không khí. Trên cơ sở của nuôi cấy lỏng tĩnh, người ta đã phát triển một phương pháp khác đó là phương pháp sử dụng cầu giấy thấm lọc. Cầu được tạo ra từ giấy lọc gấp lại nhiều lần, một đầu nhúng vào dung dịch nuôi cấy để thấm chất dinh dưỡng, đầu phía trên được uốn cong làm nơi đặt mẫu. Sử dụng cầu giấy trong nuôi cấy phôi, nuôi cấy tế bào đơn...

Ngoài các phương pháp trên, mẫu có thể được nuôi cấy trên môi trường bán rắn hay bán lỏng hoặc phối hợp cả hai loại môi trường như trong trường hợp phủ một lớp dung dịch của môi trường lỏng lên bề mặt của môi trường đặc để nuôi cấy. Lựa chọn phương pháp nào là tùy theo đối tượng, giai đoạn phát triển của mẫu, mục đích và kỹ thuật nuôi cấy. Đối với những nghiên cứu về dinh dưỡng và trao đổi chất thì môi trường lỏng tỏ ra thích hợp hơn (Nrayanaswamy S., 1994).

4. Các kỹ thuật nuôi cấy mô - tế bào thực vật

4.1. 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 *Aparagus officinalis*, sau đó những tác giả này đã nuôi cấy cả những bộ phận khác của cây : lá, hoa, thân...

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, lá mầm, phần trên lá mầm, chồi bên của lá thứ nhất hay lá thứ hai... chúng chứa nhiều tế bào mô phân sinh (Thorpe et al, 1991).

Nhu cầu dinh dưỡng của nuôi cấy mô hoặc nuôi cấy cơ quan tách rời đều có điểm chung : nguồn cacbon (đường), các nguyên tố đa lượng (nitơ, photpho, kali, canxi), 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 chứa nitơ (axit amin), và đặc biệt là chất điều hòa sinh trưởng phải đầy đủ vì mô tách rời không có khả năng tổng hợp những chất này (Nguyễn Đức Thành, 1997).

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...

4.2. Nuôi cấy mô phân sinh (meristem)

Mô phân sinh bao gồm mô đỉnh chồi, đỉnh cành, đỉnh rễ... có kích thước tương đối nhỏ thường 0,1mm - 0,5cm. Chúng được tách ra từ các mầm non, cành non hoặc chồi mới tạo thành của cây. Thí nghiệm nuôi cấy mô phân sinh được bắt đầu từ thập kỷ 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 phytohormon.

Do kích thước của mô phân sinh khá nhỏ, cho nên trong một vài trường hợp để thu nhận và để nuôi mô phân sinh hơn người ta thường tách cả phần đỉnh chồi chứa mô phân sinh (đỉnh sinh trưởng) để nuôi cấy (nuôi cấy đỉnh sinh trưởng).

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 tráng giống).
- Nhân giống in-vitro.
- Tạo cây đa bội thông qua xử lý conixin.
- Nghiên cứu quá trình hình thành cơ quan.

4.3. 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 nuôi cấy trên các môi trường MS, Gamborg... và cần thiết phải thêm các chất thuộc nhóm auxin. Loại và nồng độ auxin sử dụng phụ thuộc vào loại mô nuôi cấy (Ycoman and Macleod, 1977). Trong quá trình nuôi cấy tạo mô sẹo, mẫu thường phải để trong tối. Tạo mô sẹo có thể coi là quá trình giải biệt hóa, đưa những mẫu đã biệt hóa 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 (Trần Văn Minh, 1994).

Từ các khối mô sẹo có thể đưa vào môi trường nhân sinh khối để thu lượng lớn mô sẹo. Tuy nhiên khả năng tái sinh là đặc tính quan trọng nhất của mô sẹo. Khả năng này sẽ sớm mất đi ở mô sẹo xốp nhưng vẫn duy trì lâu hơn ở mô sẹo cứng. Nguyên nhân có thể do các tế bào của mô sẹo sẽ mất khả năng tổng hợp một số chất thiết

yếu cho sự tái sinh của nó khi số lần cấy truyền tăng lên (Gautheret, 1966).

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 chịu mặn...

+ Nghiên cứu quá trình hình thành cơ quan...

4.4. Nuôi cấy phôi

Năm 1904 Hanning nuôi cấy phôi cây *Raphans spp* và *Chochlearia damica* một cách có hệ thống trong điều kiện vô trùng và đã nhận được cây hoàn chỉnh. Laibach (1925) có nhiều đóng góp trong nuôi cấy phôi đặc biệt nuôi 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, 1958 ; Steward, 1958), mở ra hướng mới trong nuôi cấy phôi vô tính (Somatic embryos). Phôi vô tính có khả năng nảy mầm tạo cây như phôi hữu tính (Zygotic embryos) đây là đặc điểm quan trọng và đáng chú ý nhất của chúng.

Tế bào phôi vô tính có thể hình thành qua hai con đường : phát sinh phôi trực tiếp và phát sinh phôi gián tiếp (Sharp et al, 1980). Phụ thuộc vào loại mẫu, loại môi trường nuôi cấy... mà sự phát sinh phôi xảy ra theo con đường nào.

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 hòa sinh trưởng

và một số chất khác. Trong nuôi cấy phôi hay dùng đường sacaroz, đường có vai trò rất quan trọng không chỉ cung cấp năng lượng mà còn tạo ra áp suất thẩm thấu của môi trường. Mỗi loại cây trồng và ở từng giai đoạn phát triển phôi khác nhau thì nhu cầu về đường sacaroz và áp suất thẩm thấu cũng không giống nhau. Các auxin cần thiết cho quá trình phát sinh phôi nhưng nuôi cấy kéo dài trên môi trường có auxin thường thúc đẩy nhanh quá trình phân chia tế bào phôi và tạo ra các tế bào xốp (friable cells), làm giảm khả năng tái sinh cây (Evan et al, 1981).

Nuôi cấy phôi vô tính hiện nay được xem như một kỹ thuật mang lại nhiều hiệu quả hơn trong nhân giống cây trồng mà nhân giống vô tính theo phương pháp cổ điển có 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 vỏ alginat.

4.5. Nuôi cấy bao phấn và hạt phấn

Các thí nghiệm nuôi cấy bao phấn đầu tiên được Guha và Mahiswari (1966) tiến hành ở cây cà độc dược (*Datura innoxia*) và đã thu được cây đơn bội. Năm 1967 Bourgin và Nitsh 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.

Nguyên liệu dùng cho nuôi cấy là bao phấn hoặc hạt phấn tách rời. Nuôi cấy bao phấn có ưu điểm là đơn giản về thao tác kỹ 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 tùy từng loài thực vật mà sử dụng các môi trường như : môi trường MS, môi trường LS (Linsmainer and Skoog, 1965), môi trường Gamborg (1975), môi trường N6... có bổ sung thêm các loại dịch chiết, chất điều hòa sinh trưởng... Đối với nuôi cấy hạt phấn thì môi trường phải giàu dinh dưỡng hơn. Nhiều tác giả nhận xét rằng 2,4 D 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 hóa rễ sẽ khó có thể tái sinh chồi.

Kết quả nuôi cấy bao phấn và hạt phấn sẽ cho cây đơn bội, tỷ lệ tạo cây đơn bội phụ thuộc nhiều yếu tố như :

+ Tuổi của hạt phấn : hạt phấn ở giai đoạn nguyên phân (mitose) đầu tiên cho tỷ lệ tạo cây đơn bội cao nhất. Một số loài khác là giai đoạn đơn nhân muộn như ở lúa (Niizeki and Oono, 1968).

+ Tuổi của mô sẹo : mô sẹo càng non thì càng dễ tái sinh cây và tỷ lệ cây đơn bội thu được càng cao.

+ Xử lý bao phấn bởi nhiệt độ lạnh như : ở thuốc lá giữ bao phấn ở 4°C từ 2 - 4 ngày trong điều kiện ẩm sẽ gia tăng số lượng cây đơn bội được tái sinh (Nitsh, 1971).

Để tạo cây nhị bội (đơn bội kép) từ mô và cây đơn bội thì có thể xử lý mô hoặc cây đơn bội với conixin (0,5%) trong 24 - 48h.

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.

4.6. Nuôi cấy tế bào đơn và tế bào trần

Melcher Và Berman (1959) là những 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 lý enzym. 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 (Trần Văn Minh, 1994).

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 chọn lựa môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy phù hợp là nghiên cứu đầu tiên trong nuôi cấy tế bào đơn (King and Street, 1977).

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

- Nghiên cứu sự sinh trưởng, phát triển và phân hóa 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 enzym.

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 lý enzym 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 lý tưởng cho các nghiên cứu :

- Tạo con lai xoma nhờ phương pháp dung hợp protoplast

~~- Chuyển các bào quan (ty thể, lục thể) hoặc cả nhân vào tế bào~~

- Quá trình sinh tổng hợp màng tế bào.

5. Các hướng nghiên cứu và ứng dụng

5.1. Vi nhân giống thực vật in-vitro

Vi nhân giống in-vitro là lĩnh vực sử dụng các 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.

Trong các phương pháp trên, vấn đề chọn nguyên liệu ban đầu có tầm quan trọng đặc biệt, nó ảnh hưởng đến kết quả của toàn bộ quá trình nhân giống (Nguyễn Đức Thành), 1997. Nuôi cấy mô phân sinh có thể dùng đỉnh chồi, đỉnh cành... hoặc dùng phôi hợp tử chưa trưởng thành cho nuôi cấy phôi. Sử dụng đỉnh sinh trưởng, lá và thân còn non, hoa... trong nuôi cấy mô sẹo. Áp dụng phương pháp nào để đạt hiệu quả cao là hoàn toàn phụ thuộc vào loại cây và điều kiện nuôi cấy. Các đỉnh sinh trưởng chứa nhiều tế bào mô phân sinh, có khả năng phân chia rất mạnh, mặt khác nó ổn định về di truyền và những tế bào của mô phân sinh hoàn toàn không bị lây nhiễm virus.

Từ đỉnh sinh trưởng đem khử trùng rồi đưa vào môi trường nuôi cấy thích hợp. Chồi phát sinh từ mẫu nuôi cấy được tách ra và chuyển sang môi trường nhân chồi. Quá trình này lặp lại nhiều lần cho đến khi đạt được số lượng chồi đủ lớn theo yêu cầu. Trong quá trình nuôi cấy, rễ có thể được hình thành ngay trên môi trường nhân chồi, các trường hợp khác phải bổ sung thêm auxin vào môi trường để thúc đẩy sự tạo rễ... Những cây con thu được qua nuôi cấy mô phân sinh hoàn toàn giữ các đặc điểm di truyền của cây mẫu ban đầu.

Trong nuôi cấy mô sẹo hoặc nuôi cấy phôi số lượng chồi tái sinh thu được sẽ lớn gấp nhiều lần phương pháp nuôi cấy đỉnh sinh trưởng, nhưng thường kéo theo những biến dị xoma do đó cần phải kiểm tra kĩ trước khi nhân giống đại trà.

Vi nhân giống có những ưu điểm như :

+ Tạo ra hệ số nhân chồi cao, rút ngắn thời gian đưa 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 bị nhiễm virus.

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

5.2. Tạo cây đơn bội

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

Để quá trình tạo mô sẹo đạt kết quả tốt, cần lưu ý đến trạng thái sinh lí của cây cho bao phấn và tuổi của hạt phấn. Thông thường hạt phấn ở giai đoạn nguyên phân đầu tiên tạo mô sẹo tốt hơn (Trần Văn Minh, 1994 ; Nguyễn Đức Thành, 1997). Ngoài ra xử lí bao phấn ở nhệt độ lạnh sẽ giúp tăng hiệu quả quá trình tạo mô sẹo từ hạt phấn.

Điều kiện cho nuôi cấy tạo mô sẹo gồm : môi trường có hàm lượng đường cao, đặc biệt ở các loài ngũ cốc có thể cần từ 6 - 12%. Sử dụng auxin cho nuôi cấy mô sẹo và nhìn chung quá trình nuôi cấy diễn ra không có mặt của ánh sáng. Khi đã có mô sẹo có thể tiến hành nhân sinh khối và sau đó chuyển mô sẹo vào môi trường tái sinh. Thành phần của môi trường này về cơ bản giống môi trường tạo mô sẹo, chỉ khác ở chỗ giảm hàm lượng đường và auxin, tăng nồng độ xytokinin. Để thu được nhiều chồi tái sinh thì một số tác giả có sử dụng thêm các loại dịch chiết như : casein thủy phân và nước dừa vì nhiều trường hợp nước dừa làm gia tăng tỉ lệ tái sinh cây nhất là ở các cây ngũ cốc.

Trong phương pháp tạo cây thông qua nuôi cấy mô sẹo người ta chú ý đến tỉ lệ cây bị bạch tạng, tỉ lệ này khá cao ở cây ngũ cốc, có

khi tới 50% (Chu Chih Ching, 1975 ; Nguyễn Đức Thành, 1977).
Nguyên nhân có thể do :

- Tăng nhiệt độ và nồng độ 2,4D dùng cho nuôi cấy.
- Mô sẹo quá già hoặc do cấy truyền nhiều lần...

Cây tái sinh thu được chủ yếu là đơn bội, một số là nhị bội (đơn bội kép) và đa bội. Những cây nhị bội và đa bội hình thành từ mô xôma của thành bao phấn hoặc từ đa bội hóa...

Cây đơn bội nhận được từ hạt phấn được ứng dụng tạo các dòng thuần, phục vụ cho công tác lai tạo giống. Từ cây đơn bội người ta sẽ lượng bội hóa bằng xử lí conixim trong thời gian từ 24 - 48 h.

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 (Trần Văn Minh, 1994).

5.3. Nuôi cấy protoplast và lai tế bào xôma

Các protoplast thực vật được tách ra bằng phương pháp cơ học hay bằng phương pháp enzym, phương pháp cơ học là nghiên mẫu, loại bỏ bã và xử lý enzym phân hủy thành tế bào. Phương pháp enzym, thường xử lý enzym trực tiếp lên mẫu để tách Protoplast.

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 (polyetylen glycol) có khối lượng phân tử cao để gắn các protoplast với nhau. Khi làm loãng PEG thì chỗ tiếp xúc giữa hai protoplast sẽ bị thủng và quá trình dung hợp xảy ra. Phương pháp thứ hai là sử dụng dòng điện, phương pháp này đạt được tần số dung hợp rất cao 60 - 80% nhưng lại gặp khó khăn trong việc tái sinh thể lai (Nguyễn Đức Thành, 1997).

Nếu hai protoplast giống nhau, sẽ thu được sản phẩm là đồng hợp gen, có kiểu hình giống bố mẹ nhưng là dạng đa bội thể. Trường hợp ngược lại là dị hợp gen và một trong hai nhân thoái hóa hoặc đều phân li trong quá trình phân bào. Khi chỉ còn một nhân tham gia dung hợp protoplast ta có thể lai chất tế bào.

Một số tác giả sử dụng phương pháp diệt nhân của một protoplast. Sau đó cho dung hợp với protoplast khác để chuyển các bào quan (ty thể, lục thể...) từ protoplast thứ nhất sang protoplast thứ hai (Zelcer et al, 1978 ; Nguyễn Đức Thành, 1997). Trong phương pháp dung hợp protoplast thì vấn đề quan tâm là phải phân biệt và tách được thể lai xoma. Có thể dùng môi trường chọn lọc, gen đánh dấu, nhuộm bằng chất phát huỳnh quang... hoặc phối hợp nhiều đặc điểm để chọn lựa.

Dung hợp protoplast là phương pháp hiệu quả nhất để tạo cây lai xoma, cho phép thu được những 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.

Hiện nay trên thế giới đã có gần 100 tổ hợp lai xoma giữa các cây cùng loài, khác loài và thậm chí khác chi (Nguyễn Đức Thành, 1997). Đó là những kết quả rất quý báu, đạt được trong lĩnh vực lai xoma nhờ phương pháp dung hợp tế bào trần.

5.4. Chọn dòng tế bào cho năng suất thứ cấp cao

Các chất thứ cấp không có vai trò thiết yếu trong đời sống của cây, chúng chỉ được tích lũy với liều lượng ít, đôi khi ở các tế bào chuyên hóa (Nguyễn Ngọc Hải, 1989) [2]. Đây là những chất mang ý nghĩa tiến hóa và đấu tranh sinh tồn vì là những chất độc với động vật hoặc quấy rối côn trùng...

Chọn dòng tế bào là phương pháp chọn lọc nhân tạo được thực hiện trong điều kiện 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 et al, 1987). Có thể tiến hành chọn lọc trực tiếp 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 thay đổi nồng độ từ thấp đến cao, khi mô hoặc tế bào sống sót ở nồng độ nào đó thì sẽ được chuyển sang môi trường có nồng độ cao hơn, hoặc phối hợp cả hai cách chọn lọc. 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 nhanh và đặc tính này phải ổn định qua nhiều thế hệ tế bào.

Trong sản xuất các chất thứ cấp in-vitro thì kỹ thuật nuôi cấy dịch lỏng là phù hợp hơn cả. Những chất thứ cấp được sản xuất có thể tích trữ nội bào hoặc bài tiết ra môi trường nuôi cấy. Hàm lượng của những chất này phụ thuộc đặc tính của dòng tế bào và môi trường nuôi cấy, vì thế sử dụng thành phần của môi trường để điều khiển quá trình tổng hợp và tích lũy chất thứ cấp. Tuy nhiên chất thứ cấp thường được sinh ra vào giai đoạn cuối chu kỳ sinh trưởng của tế bào, do đó tốc độ sản xuất chất thứ cấp sẽ tỷ lệ nghịch với tốc độ phân chia của 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 là những hỗn hợp phức tạp, chưa thể tổng hợp được bằng phương pháp nhân tạo. Trong khi đó dùng phương pháp nuôi cấy dịch lỏng có thể sản xuất các chất thứ cấp hoàn toàn chủ động với quy mô lớn.

Ở Nhật Bản đã sản xuất được chất diệt khuẩn Shikonin từ tế bào nuôi cấy. Chất Sangninarin dùng trong thành phần kem đánh răng cũng đã được tổng hợp theo công nghệ nói trên.

Bên cạnh đó còn có hai hướng chọn dòng tế bào khác :

+ Chọn dòng tế bào kháng bệnh.

+ Chọn dòng tế bào chống chịu các điều kiện bất lợi của môi trường (chịu mặn, chịu hạn, chịu lạnh...).

5.5. Chuyển gen ở thực vật bậc cao

Chuyển gen ở thực vật đã phát triển cùng với sự tiến bộ của kỹ 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 hệ thống chuyển gen nhờ *Agrobacterium* (Zambryski, 1988 ; Gheysen et al, 1989).

Agrobacterium tumefaciens là loại vi khuẩn hình que, có nhiều trong đất, thuộc họ *Rhizobiaceae*. Nó chứa một ADN plasmit có khả năng xâm nhiễm vào tế bào thực vật. Các mẫu để chuyển gen có thể là protoplast mô hoặc các cá thể nuôi cấy khác... được nuôi chung với *Agrobacterium*. Sau đó đưa mẫu sang nuôi cấy trên môi trường tái sinh, môi trường chọn lọc...

Việc chuyển gen được xác định là thành công nhờ hệ thống gen đánh dấu gắn kèm như gen kháng với kháng sinh, gen mã hóa cho một enzym phản ứng màu khi biểu hiện gen... tất cả giúp cho việc nhận biết xem cây đã được chuyển gen hay chưa.

Chuyển gen là một quá trình rất phức tạp, đòi hỏi sự phối hợp của nhiều kỹ thuật : di truyền học phân tử, hóa sinh, nuôi cấy mô-tế bào thực vật... mỗi kỹ 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 kỹ thuật không thể thiếu được vì nó sử dụng để : xử lý mẫu ban đầu (tách protoplast, mô, tế bào...), nuôi cấy mẫu với vectơ 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.

Hiện nay chuyển gen qua *Agrobacterium* đã thành công ở nhiều loại cây : thuốc lá, đậu tương (Baltes et al, 1985), các cây họ Đậu nhiệt đới (Vlachovra et al, 1985), bông cải (Chantal et al, 1987), khoai tây (Dresen and dobigny, 1992)...

5.6. 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 dọa 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 làm 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 bệnh gây hại. Mặt khác nguồn gen được bảo quản dưới nhiều dạng khác như mô thực vật, tế bào, phôi, pro-toplast, hạt phấn, ADN...

Nguồn gen được thu thập, việc trước tiên là phải khử sạch mầm bệnh (Withers, 1989). Sau đó đưa vào ống nghiệm để nhân giống cho đủ số lượng tối thiểu để bảo quản in-vitro.

- Có hai phương pháp bảo quản in-vitro :

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

+ Phương pháp làm lạnh sâu : để bảo quản nguồn gen trong thời gian dài hơn bằng cách sử dụng những tác nhân gây lạnh như nitơ lỏng ($- 196^{\circ}\text{C}$)... Ở điều kiện này sự sinh trưởng và phân chia của tế bào hoàn toàn ngừng lại.

- Tuy nhiên để bảo quản tốt nguồn gen in-vitro thì :

+ Phải có sự ổn định về di truyền : Sử dụng chồi, phôi hoặc cây con, ít dùng nuôi cấy mô sẹo để bảo quản vì dễ gây đột biến.

+ Phải loại bỏ hoàn toàn mầm bệnh cũng như các tác nhân có thể gây ra các biến dị, cần lưu ý đến cả những nhân tố làm chậm sinh trưởng.

- Theo loại mẫu được bảo quản có thể chia ra :

+ Bảo quản nguồn gen : gồm chồi đỉnh và đỉnh sinh trưởng

Đối với chồi đỉnh và đỉnh sinh trưởng thì hiện nay được bảo quản bằng phương pháp sinh trưởng chậm, các mô thực vật dùng cho phương pháp này phải qua ba giai đoạn :

Giai đoạn phát triển chậm (Lag phase)

Giai đoạn phát triển nhanh (Exponential phase) : mô và tế bào tăng nhanh về số lượng.

Giai đoạn ổn định (Stationary phase)

Tùy thuộc loài cây trồng và số lượng mẫu có mà thời gian từ pha một đến pha ba là 1 - 6 tuần. Cho thêm vào môi trường những tác nhân làm chậm sinh trưởng giúp kéo dài khoảng thời gian giữa hai lần cấy truyền.

+ Bảo quản nguồn gen : phôi và phôi vô tính

+ Bảo quản nguồn gen : mô sẹo, protoplast, dịch huyền phù tế bào.

Dịch huyền phù tế bào được bảo quản bằng phương pháp lạnh sâu. Mô sẹo, protoplast được bảo quản theo phương pháp lạnh dần dần...

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

+ An toàn khi 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.

6. Sự phát triển của nuôi cấy mô tế bào thực vật ở Việt Nam

Sau ngày đất nước hoàn toàn được giải phóng, chính phủ ta đã đầu tư về tiền của và con người nhằm phát triển các ngành khoa học nói chung và ngành sinh học nói riêng, trong đó có nuôi cấy mô-tế bào thực vật.

Nhiều phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tế bào thực vật được xây dựng tại Viện công nghệ sinh học (Viện khoa học Việt Nam), Viện sinh học nhiệt đới thành phố Hồ Chí Minh, Viện nghiên cứu Đà Lạt, Viện khoa học nông nghiệp, Viện di truyền nông nghiệp, Đại học nông nghiệp I, Viện lâm nghiệp... Ở một số tỉnh, thành phố cũng bắt đầu xây dựng phòng thí nghiệm nuôi cấy mô - tế bào thực vật.

Nhiệm vụ của các phòng thí nghiệm này là xây dựng và phát triển các phương pháp nghiên cứu, đồng thời tổ chức những hướng nghiên cứu ứng dụng phù hợp với điều kiện trang thiết bị ở Việt Nam và đã thu được những kết quả quan trọng như : vi nhân giống dứa, khoai tây, hoa hồng, cúc, cẩm chướng... ở Viện công nghệ sinh học. Nhân giống chuối, hoa lan... tại Viện nghiên cứu Đà Lạt, Đại học nông nghiệp I... Nhân giống bạch đàn ở Viện lâm nghiệp... Đặc biệt là các kết quả nuôi cấy bao phấn lúa và thuốc lá, nuôi cấy tế bào trần của thuốc lá và khoai tây ở Viện công nghệ sinh học và Viện sinh học nhiệt đới thành phố Hồ Chí Minh.

Một số kết quả khác bước đầu được ghi nhận :

- Chọn dòng tế bào kháng bệnh
- Chọn dòng tế bào chịu muối
- Bảo tồn nguồn gen...

Chương II

PHƯƠNG PHÁP TRỒNG CÂY TRONG DUNG DỊCH

1. Sơ lược về lịch sử của phương pháp

Sự tiến bộ của mỗi một chuyên ngành khoa học ở một mức độ nhất định phụ thuộc vào sự phát minh và phát triển của những phương pháp mới. Mối quan hệ này chúng ta có thể thấy rất rõ giữa sự hình thành phương pháp trồng cây trong dung dịch và sự phát triển của chuyên ngành sinh lý thực vật trong nửa đầu thế kỷ XIX.

Van Helmont (1577 – 1644) là người đầu tiên tiến hành một thí nghiệm về dinh dưỡng thực vật. Bắt đầu thí nghiệm ông đã cân cành liễu và đất dùng để trồng cành liễu đó. Trong quá trình trồng, ông tưới nước thường xuyên cho đến khi cành liễu lớn thành cây liễu. Khi kết thúc thí nghiệm, ông lại cân lại cây liễu và đất trồng. Kết quả là trọng lượng đất trồng liễu hầu như không thay đổi và ông đã kết luận là : thực vật lớn lên chỉ nhờ nước. Năm 1699 Woodward đã tiến hành thí nghiệm thứ hai, nhưng ở thí nghiệm này ông đã trồng cây trong các chậu thủy tinh có nước và cho vào các chậu nước ấy những lượng đất khác nhau. Căn cứ vào kết quả thu được, ông đã kết luận là : các chất tạo nên cơ thể thực vật chủ yếu là từ đất chứ không phải từ nước. Sau đó năm 1857 Sachs đã tiến hành một thí nghiệm khác. Ông đã trồng cây trong một dung dịch có thành phần các chất dinh dưỡng nhất định và sau đó đã tính được các nguyên tố khoáng mà cây cần cho đời sống của mình.

Dung dịch này có thành phần hóa học nhất định và từ đó được gọi là dung dịch dinh dưỡng. Cũng từ đó phương pháp trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng được sử dụng rộng rãi, có cải tiến dần dần và là phương pháp cơ bản trong nghiên cứu về dinh dưỡng khoáng thực vật. Bằng phương pháp này chúng ta có thể biết được chính xác các nguyên tố, cũng như số lượng của chúng cần thiết cho đời sống thực

vật. Chẳng hạn những thí nghiệm tiếp sau đó của các nhà sinh lý thực vật với phương pháp trồng cây trong dung dịch đã thu được những kết quả đáng kể và rất có ý nghĩa. Có thể tóm tắt những kết luận suy ra từ các kết quả thí nghiệm ấy :

1. Thực vật có thể sống trong nước có chứa các muối khoáng trong suốt đời mình.

2. Đất và các vi sinh vật trong đất không phải là yếu tố bắt buộc cho sự sinh trưởng và phát triển của thực vật.

3. Các nguyên tố khoáng cần thiết cho tất cả thực vật và tất nhiên là với số lượng khác nhau cho từng loài.

4. Silic (Si) và nhôm (Al) là hai nguyên tố không thật cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển của cây.

Tuy nhiên việc nghiên cứu nhu cầu của các nguyên tố riêng biệt đối với sự sinh trưởng và phát triển của thực vật đòi hỏi phải cải tiến dần toàn bộ phương pháp. Dung môi hòa tan ở đây không phải là nước bình thường mà là nước cất, hóa chất ở đây cũng phải tinh khiết và ở dạng tinh thể. Dung dịch dinh dưỡng như vậy sẽ tạo điều kiện cho việc tìm hiểu các vấn đề cơ bản về dinh dưỡng khoáng thực vật. Một vấn đề nữa đặt ra ở đây là nồng độ dung dịch dinh dưỡng khoáng trong quá trình thí nghiệm sẽ thay đổi và cùng với nó nồng độ ion hydro (H^+) cũng thay đổi, tức là độ pH của môi trường thay đổi. Khi đó ta sẽ không có được những nhận xét chính xác về kết quả thí nghiệm, đặc biệt là về ảnh hưởng chuyên hóa của một nguyên tố khoáng nào đấy lên sinh trưởng và trao đổi chất của thực vật trong các điều kiện nhất định.

Để khắc phục các khó khăn này, nhiều nhà sinh lý thực vật sau đó đã tìm ra các phương pháp trồng cây trong dung dịch tốt hơn. Đó là phương pháp dòng chảy của Nobbe (1865). Điểm nổi bật của phương pháp này là dung dịch dinh dưỡng luôn luôn chảy qua các chậu trồng cây với số lượng nhất định, nghĩa là dung dịch dinh dưỡng trong chậu luôn luôn đổi mới. Phương pháp trồng cây trong dung dịch

dinh dưỡng mới này được nhiều nhà nghiên cứu khác xác nhận và cải tiến dần dần (Pilz 1911, Pringsheim 1924, Schropp 1951, Hewitt 1952, Bergmann 1958). Cho đến nay phương pháp này vẫn rất có ý nghĩa đối với việc nghiên cứu dinh dưỡng khoáng thực vật.

Tuy vậy trong mười năm gần đây, phương pháp trồng cây trong dung dịch đã đạt được một sự tiến bộ đáng kể. Đó là việc sử dụng các chất dẻo nhân tạo trong việc xây dựng toàn bộ thiết bị của hệ thống, sử dụng các thiết bị kiểm tra tự động, sử dụng cột trao đổi ion khi nghiên cứu ảnh hưởng của từng nguyên tố khoáng nhất định và đặc biệt là việc sử dụng các nguyên tố đồng vị phóng xạ khi nghiên cứu về sự hấp thụ, sự chuyển vận và tích lũy các ion trong hệ thống rễ (Asher và những người khác, 1965)

2. Các loại dung dịch dinh dưỡng

Trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng có nghĩa là cây được trồng trong nước hoặc trong dung dịch muối khoáng hoặc trong dung dịch các chất hữu cơ. Dựa theo thành phần của dung dịch dinh dưỡng, Schropp (1951) đã chia dung dịch dinh dưỡng ra làm 4 loại :

- Dung dịch dinh dưỡng chỉ gồm có nước máy, nước mưa, nước cất, nước biển hoặc nước sông... loại này không cần thiết phải đưa thêm vào bất cứ một nguyên tố khoáng nào.

- Dung dịch dinh dưỡng chỉ gồm có một hoặc một số nguyên tố khoáng nhất định.

- Dung dịch dinh dưỡng gồm có tất cả các nguyên tố đại lượng cùng với một nguyên tố đặc biệt nào đang cần theo dõi.

- Dung dịch dinh dưỡng đầy đủ các nguyên tố cần thiết cho sự sinh trưởng bình thường của thực vật.

Dựa trên quan điểm kỹ thuật thí nghiệm và phương pháp đưa thêm các nguyên tố dinh dưỡng vào dung dịch, Schropp lại chia dung dịch dinh dưỡng ra 5 loại :

- Dung dịch dinh dưỡng "tĩnh", nghĩa là hoàn toàn không thay đổi trong quá trình thí nghiệm hoặc chỉ thay đổi theo khoảng thời gian nhất định.

- Dung dịch dòng chảy, nghĩa là luôn luôn có sự thay đổi dung dịch dinh dưỡng

- Dung dịch dinh dưỡng vô trùng.

- Trồng cây trong không khí có phun vào rễ theo chu kỳ nhất định dung dịch dinh dưỡng.

- Trồng cây trong cát có tưới dung dịch dinh dưỡng.

Yếu tố quan trọng của phương pháp trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng là sự thay đổi dung dịch và sự thông khí. Vì vậy các dung dịch dinh dưỡng kể trên có thể xếp làm hai loại : loại "tĩnh", không thông khí và loại động có thông khí. Nhưng theo các tiêu chuẩn chính để phân loại dung dịch dinh dưỡng chúng ta tôn trọng cách phân loại thứ hai của schropp.

- Tùy theo nhiệm vụ của thí nghiệm, phương pháp trồng cây trong dung dịch phải giải quyết các vấn đề sau :

+ Cung cấp một lượng các nguyên tố khoáng nhất định với hàm lượng cố định của các ion,

+ Tạo được các điều kiện kiểm tra, điều chỉnh nhất định trong suốt quá trình thí nghiệm,

+ Có điều kiện so sánh nồng độ của các ion khác nhau,

+ Theo dõi và nhận định thường xuyên về hệ thống rễ của thực vật (Kopetz và Steineck, 1962).

- Theo các vấn đề này, chúng ta có thể chia phương pháp trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng ra các loại sau :

+ Trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng có các nguyên tố dinh dưỡng khoáng cố định.

+ Trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng có sự thay đổi theo chu kỳ các nguyên tố dinh dưỡng khoáng,

+ Trồng cây trong dung dịch có sự thay đổi thường xuyên dung dịch dinh dưỡng.

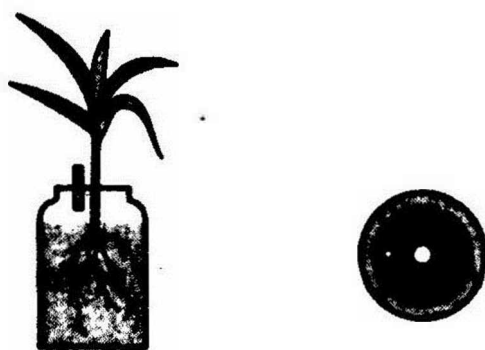
+ Trồng cây với việc phun dung dịch dinh dưỡng lên rễ hoặc nhúng rễ theo chu kỳ vào dung dịch dinh dưỡng.

+ Trồng cây trong các môi trường trơ cứng (cát, sỏi,...) có tưới dung dịch dinh dưỡng.

Sau đây chúng ta đi chi tiết hơn vào các loại phương pháp trồng cây trong dịch dinh dưỡng này.

2.1. Trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng cố định

Phương pháp trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng có thiết bị tương đối đơn giản (hình II.1). Nhưng việc sử dụng phương pháp này có mặt hạn chế về thời gian thí nghiệm, về số lượng cây trồng và thể tích dung dịch dinh dưỡng. Dung dịch dinh dưỡng chỉ đưa vào một lần khi bắt đầu thí nghiệm và tính toán sao cho lượng các chất dinh dưỡng cung cấp đầy đủ cho cây trong quá trình thí nghiệm. Vì vậy hoặc là phải tăng nồng độ các chất dinh dưỡng và sử dụng những chậu có thể tích lớn hơn, hoặc là phải giảm thời gian thí nghiệm và số lượng cây trồng.



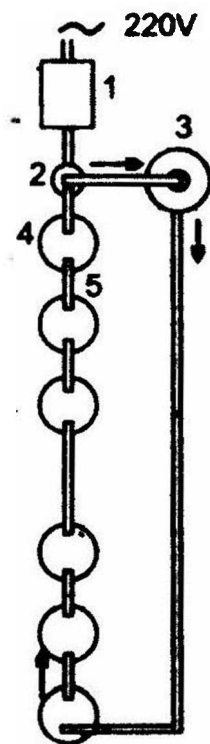
Hình II.1 – Chậu trồng cây với dung dịch dinh dưỡng cố định (a), nắp chậu có lỗ thông khí (b)

Những thí nghiệm của Minar, Lastuvka và Navratila (1965) cho thấy : trồng 123 cây lúa mạch đen trong 8,5 lít dung dịch dinh dưỡng Richter, sau 19 ngày, cây đã hút toàn bộ lượng photpho (P) trong dung dịch. Trong giai đoạn nảy mầm, tức là khoảng 4 – 8 ngày khi mầm xuất hiện, nhu cầu dinh dưỡng khoáng của cây còn rất nhỏ, nhưng sau thời gian đó, nhu cầu dinh dưỡng tăng lên rất nhanh và sự thiếu các nguyên tố dinh dưỡng trong dung dịch là nhân tố hạn chế sinh trưởng của thực vật. Bên cạnh sự thay đổi về nồng độ và thành phần các nguyên tố dinh dưỡng khoáng, còn có sự thay đổi nồng độ ion hydro (pH). Sự thay đổi này càng lớn khi thể tích chậu cây càng nhỏ và số lượng cây trồng càng lớn.

Vì vậy phương pháp trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng cố định này không thích hợp đối với các thí nghiệm đòi hỏi độ chính xác cao.

2.2. Phương pháp trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng có sự thay đổi theo chu kỳ các nguyên tố dinh dưỡng khoáng

Phương pháp này chỉ khác phương pháp thứ nhất ở chỗ các chậu trồng cây được nối với nhau bằng các ống thủy tinh nhỏ để dung dịch dinh dưỡng có thể chảy vòng qua các chậu. Có thể dẫn ra đây sơ đồ của Börner (1958) (hình II.2). Một tập hợp các chậu bằng chất dẻo nhân tạo được nối với nhau bằng các ống thủy tinh ngắn. Ngoài ra hệ thống còn gồm một bơm khí nhỏ, một bộ phận giúp cho sự thông khí và tuần hoàn dung dịch, một chậu chứa dung dịch dinh dưỡng.



Hình II.2 – Sơ đồ phương pháp trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng có thay đổi theo chu kỳ.

- 1 : Bơm khí ; 2 : Bộ phận điều chỉnh tốc độ dung dịch ;
- 3 : Bộ phận chứa dung dịch ;
- 4 : chậu trồng cây ; 5 : ống nối giữa các chậu.

Yếu tố quyết định của phương pháp này là khoảng cách về thời gian giữa các lần thay đổi dung dịch dinh dưỡng. Vấn đề này không thể xác định cụ thể vì nó phụ thuộc vào thể tích chậu cây, số lượng cây và loài cây. Thí dụ Brenchley (1916) thay đổi dung dịch dinh dưỡng sau 4 ngày trồng và sau đó cứ 4 ngày tiếp theo lại thay đổi một lần, Livingston (1919) cứ 3,5 ngày, Loo Tsung-Leé (1929) thay đổi hàng ngày, Olsen (1923, 1930) cách 14 ngày thay đổi dung dịch một lần, Schropp (1951) : 14 đến 30 ngày, Martin và Rademacher (1960) : 8 ngày... Tuy nhiên có thể thấy rằng khoảng cách giữa hai lần thay đổi dung dịch càng ngắn thì càng đạt được một sự đồng đều tốt hơn về nồng độ các chất trong dung dịch dinh dưỡng.

Có thể dẫn ra đây kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của sự thay đổi dung dịch dinh dưỡng lên khối lượng khô ở lúa mì (bảng 1) theo Trelease và Free (1917).

Bảng II.1 : Ảnh hưởng của sự thay đổi dung dịch dinh dưỡng lên năng suất chất khô ở lúa mì.

Điều kiện thay đổi dung dịch	Chất khô
Thay đổi hàng ngày	1,243
Thay đổi sau 3 ngày một lần	1,012
Sau 1 tuần và sau đó cứ sau 3 ngày 1 lần	0,995
Cứ sau 2 tuần 1 lần	0,780
Sau 2 tuần, sau đó sau 3 ngày	1,131
Sau 1 tháng	0,654
Không thay đổi dung dịch	0,621
Thay đổi liên tục	1,678

Năng suất chất khô : g/chậu,

Thể tích chậu : 250ml

Dung dịch dinh dưỡng : dung dịch Shive

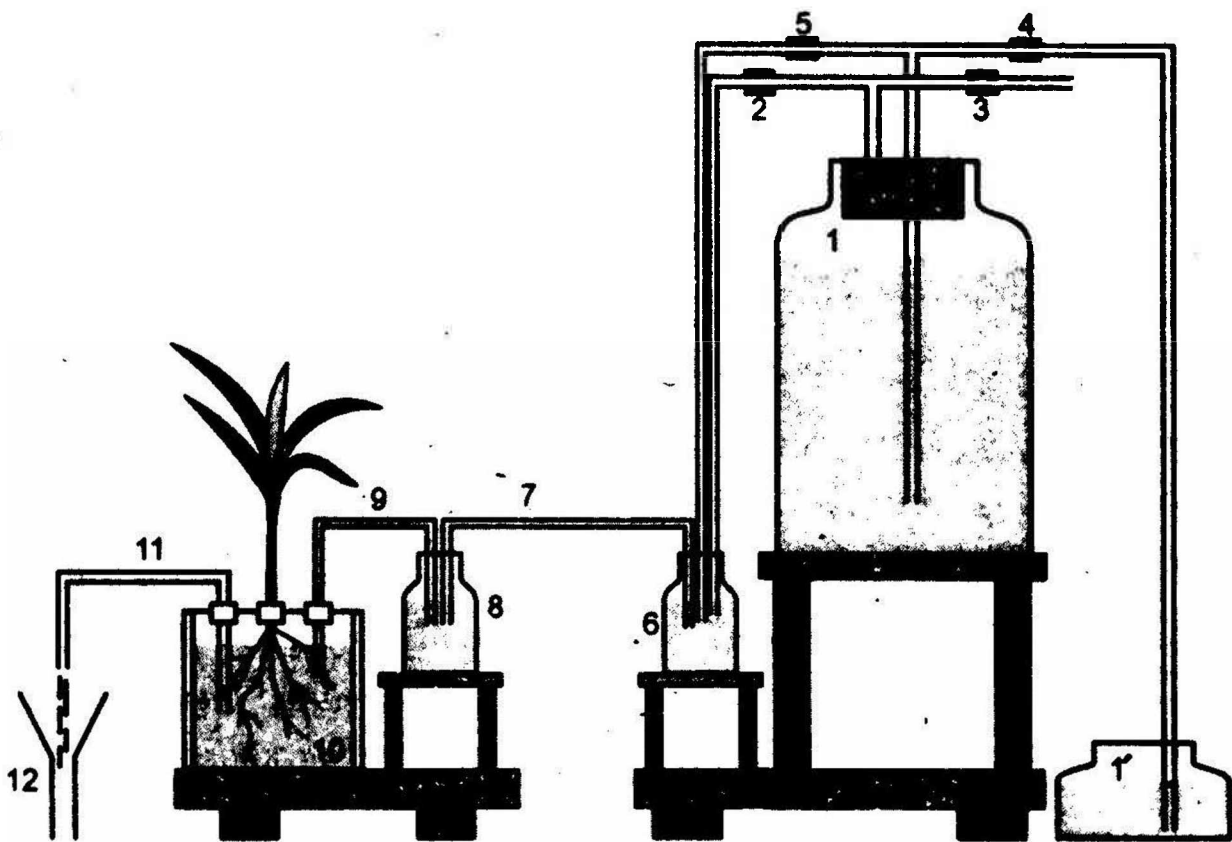
Thời gian trồng : 41 ngày

Tốc độ dòng chảy khi thay đổi dung dịch liên tục : 1lít/24h (Trelease và Free, 1917)

Tóm lại phương pháp này có nhiều thuận lợi hơn phương pháp thứ nhất, nếu như chúng ta xác định được chu kỳ thay đổi dung dịch dinh dưỡng thích hợp, thì nồng độ các chất dinh dưỡng trong dung dịch sẽ đảm bảo việc cung cấp đầy đủ cho nhu cầu dinh dưỡng của cây và phương pháp này sẽ phục vụ tốt cho các thí nghiệm phức tạp.

2.3. Phương pháp trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng thay đổi liên tục.

Đây là phương pháp tốt nhất so với các phương pháp khác. Tuy nhiên về mặt dụng cụ thí nghiệm, kỹ thuật thực hiện phương pháp thì lại phức tạp hơn nhiều so với các phương pháp khác (hình II.3).



Hình II.3 – Các bộ phận của phương pháp trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng thay đổi liên tục (Theo Johnston, 1927). Dung dịch từ bình chứa (1') lên bình chứa (1) qua các khóa điều chỉnh (2 → 5), sau đó chảy vào bình (6) để định mức, rồi qua ống nối (7) vào bình (8), qua ống nối (9) vào chậu trồng cây (10), dung dịch được thay chạy qua ống (11) và phễu (12) ra ngoài.

Người đề nghị sử dụng phương pháp này là Nobbe (1865), nhưng mãi đến đầu thế kỷ XX mới được hàng loạt các nhà sinh lý thực vật sử dụng nó trong các nghiên cứu của mình (Trelease và Livingston 1922, Olsen 1923, 1930, Allison và Shive 1923, Shive và Stahl 1927, Johnston 1927, Pirschle 1929, 1931, Andrew và Pieters 1962, Asher và những người khác 1965...)

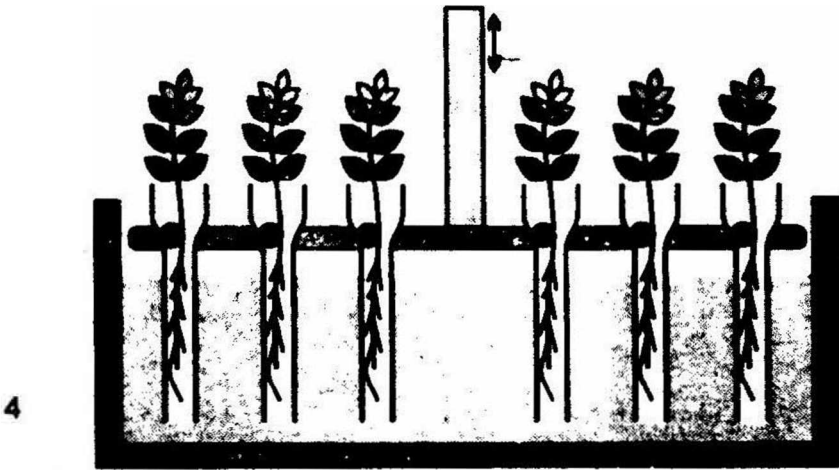
Như đã chỉ ra trong hình 3, dung dịch dinh dưỡng trong phương pháp này được chảy liên tục qua các chậu và đồng thời được thông khí. Do đó dung dịch dinh dưỡng cung cấp cho rễ cây luôn luôn đổi mới, có pH cố định và nồng độ các chất dinh dưỡng không đổi. Tuy nhiên vấn đề đặt ra ở đây là tốc độ dòng chảy của dung dịch sao cho thích hợp. Các tác giả khác nhau đã chỉ ra các số liệu khác nhau tùy theo điều kiện thí nghiệm của mình. Ví dụ : Allison và Shive (1923) đã dùng tốc độ $1000\text{ml}\cdot 24^{-1}\text{h.}$, Arrhenius (1930) : 5000 đến 10000 $\text{ml}\cdot 24^{-1}\text{h.}$, Johnston và Hoagland (1929) : 4320 $\text{ml} \cdot 24^{-1}\text{h.}$... Trong thời gian gần đây phương pháp này đã được hoàn thiện về nhiều mặt và đã được sử dụng rộng rãi trong các thí nghiệm với thực vật bậc cao.

2.4. Phương pháp phun dung dịch dinh dưỡng vào rễ hoặc nhúng rễ theo chu kỳ vào dung dịch dinh dưỡng

Với phương pháp này, cây trồng chỉ nhận được dung dịch dinh dưỡng trong một khoảng thời gian nhất định bằng cách phun dung dịch dinh dưỡng vào rễ hoặc nhúng rễ vào dung dịch. Ngoài những thời gian đó ra, rễ cây sinh trưởng trong môi trường không khí ẩm.

Người thực hiện đầu tiên phương pháp này là Arcichovsky (1911). Ông đã trồng cây trong các chậu riêng biệt và có thể dễ dàng phun dung dịch dinh dưỡng vào rễ.

~~Buehnieok (1940) đã thực hiện lần thứ hai phương pháp này với hệ thống nhúng rễ theo chu kỳ vào dung dịch dinh dưỡng (hình II.4)~~



Hình 11.4 – Sơ đồ cát ngang một chậu trồng cây với bộ phận giữ cây, có thể đưa cây ra khỏi dung dịch hoặc ngâm rễ vào trong dung dịch theo ý muốn

2.5. Phương pháp trồng cây trong môi trường trơ cứng (cát, sỏi) có tưới dung dịch dinh dưỡng

Cho đến nay, khi sử dụng phương pháp, phần lớn trường hợp đã dùng cát có độ lớn của hạt từ 0,1 đến 2,0mm. Cát được rửa sạch bằng dung dịch đậm đặc HCl (100 kg cát cần khoảng 30 kg dung dịch HCl đậm đặc), sau đó sấy khô ở nhiệt độ 400°C.

Tưới dung dịch vào cát có thể theo 2 cách : tưới trực tiếp dung dịch vào cát với số lượng nhất định, hoặc cho dung dịch chảy liên tục qua cát.

Qua nhiều nghiên cứu, đã thấy rằng phương pháp này không tạo được những điều kiện tốt và xác định như các phương pháp kể trên. Có thể chứng minh nhận định này bằng kết quả thí nghiệm của Zinzadze (1927) (bảng II.2) và của Jurbicki (1964) (bảng II.3).

Bảng II.2 : Khối lượng tươi của 1 số cây sau khi trở bông hoặc ra hoa trồng trong cát hoặc trong nước với các dung dịch dinh dưỡng khác nhau.

Các số liệu tính theo %. Số liệu đo được ở các cây trồng trong dung dịch HCl - riegel là 100% (Zinzadze, 1927)

Cây	Điều kiện trồng	dung dịch		
		Crone	Tririkov (Cirikov)	Zinzadrze
mạch trắng	dung dịch cát	133,90	144,23	179,34
		42,79	109,34	120,11
mạch đen	dung dịch cát	86,27	108,32	161,89
		48,16	110,45	118,24
đại mạch	dung dịch cát	75,80	142,33	202,02
		40,66	105,08	130,76
kiểu mạch	dung dịch cát	135,38	139,54	174,33
		35,93	97,43	54,09
đậu Hà Lan (trước khi ra hoa)	dung dịch cát	146,08	232,17	233,40
		84,27	110,09	126,15

Bảng II.3 : Hàm lượng NPK trong dưa chuột (mg trong một cây) khi trồng trong dung dịch dinh dưỡng và trong cát với nồng độ khác nhau của dung dịch dinh dưỡng (Giuocbixki, 1964)

Điều kiện trồng cây	Nồng độ dung dịch (milimol/lit)	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
cát	3,3	6,9	1,7	4,1
dung dịch	3,4	84,0	25,1	61,2
cát	7,7	22,4	5,4	12,6
dung dịch	6,9	114,2	31,0	115,1
cát	15,3	59,7	15,5	43,5
dung dịch	14,9	117,1	31,6	126,3

Tóm lại mỗi một phương pháp trồng cây trong dung dịch nêu trên đều có những ưu điểm và nhược điểm của nó. Việc so sánh giữa các phương pháp sẽ khó khăn nếu như không căn cứ vào những điều kiện cụ thể.

Tuy nhiên tất cả các phương pháp đều đã được sử dụng với những mục đích nghiên cứu nhất định và càng ngày càng được cải tiến để tiến tới mức độ hoàn chỉnh.

3. Các loại chậu trồng cây

Chậu trồng cây là yếu tố rất quan trọng trong phương pháp trồng cây trong dung dịch. Các chậu trồng cây không những có nhiệm vụ cung cấp một khối lượng nhất định dung dịch dinh dưỡng, mà còn có nhiệm vụ giữ cây trồng trong chậu và bảo đảm sự sinh trưởng bình thường của hệ thống rễ. Vì vậy chậu trồng cây phải thỏa mãn hàng loạt các điều kiện như : được làm từ nguyên liệu có tính trơ về mặt hóa học, có màu tối hoặc được sơn bằng lớp sơn màu tối, có một thể tích nhất định và những dạng nhất định,...

Những nguyên liệu đáp ứng được các yêu cầu như vậy khi dùng làm chậu trồng cây không có nhiều trong điều kiện hiện nay.

3.1. Nguyên liệu làm chậu

3.1.1. Thủy tinh

Thủy tinh là nguyên liệu cổ điển dùng làm chậu trồng cây. Đối với các thí nghiệm không theo dõi ảnh hưởng của các nguyên tố vi lượng và các ion Na^+ , K^+ , có thể sử dụng các loại chậu từ thủy tinh thường. Đối với các thí nghiệm về nguyên tố vi lượng, phải sử dụng các chậu từ nguyên liệu khác, hoặc từ thủy tinh nhưng phải sơn một lớp mỏng chất trơ hóa học và nắp chậu phải bằng một loại nguyên liệu khác. Molisch (1895) đã sơn chậu bằng parafin, nhưng ngày nay ta có thể dùng các loại sơn nhân tạo chế từ nhựa epoxy chẳng hạn. Nhiều nhà sinh lý thực vật đã đề ra phương pháp rửa chậu bằng các axit clohydric, axit sunphuric, ... đậm đặc. Bằng cách này có thể hạn chế sự thâm nhập của ion Na^+ , K^+ vào dung dịch (Richter 1926, Graff 1914, Hiltner và Kronberger 1924, ...).

Thủy tinh dẫn nhiệt kém, do đó thuận lợi cho các thí nghiệm, nhưng có bất lợi là rất dễ vỡ.

3.1.2. Chất dẻo nhân tạo

Trong thời gian gần đây, chất dẻo nhân tạo được dùng nhiều để làm chậu trồng cây. Cũng như thủy tinh, chất dẻo nhân tạo có nhiều thuận lợi khi dùng làm chậu trồng cây như : độ dẫn nhiệt tương đối kém, rất dễ uốn nắn theo các dạng khác nhau và rất dễ rửa sạch trước và sau khi thí nghiệm. Ngoài ra chất dẻo nhân tạo còn có nhiều ưu điểm khác như không bị ăn mòn khi chứa nước và muối khoáng trong chậu, có độ đàn hồi cao và một vài chất có thể dễ dàng dính hoặc hàn gắn bằng nhựa dẻo.

Các loại chất dẻo nhân tạo được sử dụng làm chậu hiện nay là polyvinylclorit - (PVC), polystyren, polyetylen, polymetyl metakrylat... Schropp và Arenz (1940) đã sử dụng chậu làm từ polystyren khi nghiên cứu ảnh hưởng của bo lên sự sinh trưởng của đại mạch và đã đạt được kết quả tốt. Borner (1958), Martin và Rademacher (1960) đã tiến hành thí nghiệm với các chậu làm từ PVC, chậu có hai lớp : lớp ngoài trắng, lớp trong đen. Kick (1956) đã sử dụng các chậu làm bằng polyetylen. Bussler (1956) đã sử dụng các chậu làm bằng polystyren. Các tác giả này đều đạt được kết quả tốt trong các thí nghiệm của mình.

Chỉ có một điều cần chú ý khi sử dụng các chậu bằng chất dẻo nhân tạo là các chậu này có thể hấp phụ trên bề mặt của mình một số nguyên tố khoáng và trong các thí nghiệm tiếp sau đó các nguyên tố này sẽ được giải phóng. Vì vậy khi kết thúc thí nghiệm, cần thiết phải rửa sạch các chậu bằng nước.

3.1.3. Kim loại

Ở một số thí nghiệm, nhất là các thí nghiệm sử dụng phương pháp trồng cây trên cát, một số tác giả đã sử dụng các chậu làm bằng tôn có một lớp sơn. Các chậu này cũng có nhiều thuận lợi, nhưng có bất lợi là rất dễ tróc sơn khi bị va chạm. Cũng có một số tác giả khác đã dùng chậu làm bằng thép trong các thí nghiệm của mình (Hragland 1919, Williams 1961).

3.2. Hình dạng và độ lớn các chậu trồng cây

Phần lớn các chậu trồng cây có dạng hình trụ. Ngoài ra còn có các dạng khác như dạng chậu vuông, chữ nhật hoặc một ống có 4 mặt dài (hình II.5)



Hình II.5 - Một số kiểu chậu trồng cây

Vấn đề độ lớn thích hợp của các chậu, cũng chính là khối lượng thích hợp dung dịch dinh dưỡng cung cấp cho cây trong các thí nghiệm, từ xưa tới nay đã được bàn bạc, thảo luận nhiều. Tất nhiên là độ lớn của chậu liên quan chặt với số lượng cây thí nghiệm và thời gian thí nghiệm và chỉ có ý nghĩa trong các phương pháp trồng cây trong dung dịch dinh dưỡng cố định hoặc thay đổi theo chu kỳ.

Cần phải thấy rằng với cùng một số cây trồng và cùng một thời gian thí nghiệm, thì ở các chậu nhỏ (0,5 lít đến 1 lít) sự thay đổi nồng độ dung dịch dinh dưỡng sẽ lớn hơn ở các chậu lớn (5 lít đến 10 lít).

Tuy-nhiên việc xác định độ lớn nhất định cho các chậu rất khó khăn, vì độ lớn thích hợp của các chậu cuối cùng phụ thuộc vào mục đích từng thí nghiệm, điều kiện và phương pháp thí nghiệm.

3.3. Sự che phủ các chậu trồng cây

Các chậu trồng cây – nhất là đối với phương pháp trồng cây trong dung dịch – cần thiết phải được bảo vệ mặt ngoài trước tác động của nhiệt và ánh sáng. Nhiệt độ của dung dịch dinh dưỡng là một nhân tố rất quan trọng đối với sự sinh trưởng và phát triển của thực vật. Sự thay đổi nhiệt độ trong dung dịch ảnh hưởng đến sự sinh trưởng mạnh hơn sự thay đổi nhiệt độ không khí (Jurbecki 1964). Mỗi một loài thực vật có một ngưỡng nhiệt độ tối thiểu, tối đa và tối thích cho sự sinh trưởng của mình. Phần lớn thực vật có nhiệt độ tối thích cho sự sinh trưởng bình thường của mình trong khoảng 20°C – 30°C . Sự hấp thụ các nguyên tố dinh dưỡng khoáng thay đổi rất lớn khi thay đổi nhiệt độ dung dịch. Mevius (1927) đã thấy rằng khi tăng nhiệt độ lên trên 16°C , đã tăng ảnh hưởng bảo vệ của Ca và ở nhiệt độ 30°C , sự sinh trưởng của rễ sẽ ngừng nếu như thiếu Ca. Skeen (1929) cũng chỉ ra rằng khi tăng nhiệt độ đã tăng ảnh hưởng độc hại của Fe và Al.

Ánh sáng ảnh hưởng không trực tiếp đến sự sinh trưởng của rễ và tạo điều kiện cho sự sinh trưởng các loại tảo trong chậu trồng cây.

Để loại trừ cả hai ảnh hưởng của ánh sáng và nhiệt độ đến chậu trồng cây, cần thiết phải phủ lên chậu hai lớp sơn màu : trong màu đen để ánh sáng không lọt vào chậu, ngoài màu trắng để tránh hấp thụ ánh sáng làm nóng dung dịch.

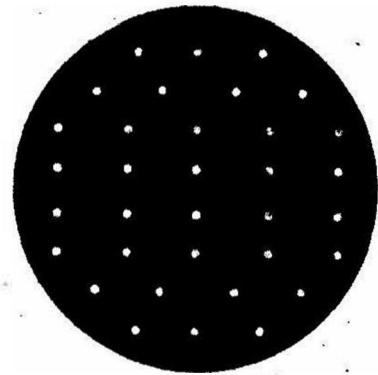
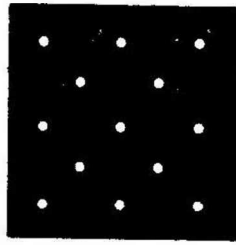
3.4. Các biện pháp giữ cây trong các chậu trồng

Một phần quan trọng trong chậu trồng cây là bộ phận dùng để đặt hạt nảy mầm và giữ cây đứng thẳng trên chậu. Nguyên liệu dùng làm phần này cũng giống như nguyên liệu dùng làm chậu. Phần này phải thỏa mãn hai yêu cầu : vừa giữ được phần thân, lá trên chậu, vừa tạo điều kiện cho rễ xuyên qua và dễ dàng tiếp xúc với dung dịch dinh dưỡng. Phần quan trọng này thường gọi là nắp chậu và nguyên liệu thường dùng nhất để làm nắp chậu là chất dẻo nhân tạo. Sau đây là một ví dụ cụ thể về một loại nắp chậu đơn giản dùng cho các chậu trồng cây loại nhỏ (hình II.6). Nắp chậu được làm từ nhựa PVC có

đường kính 11cm và chiều cao 5cm. Ở chiều cao 1cm đặt một đĩa tròn cũng làm từ chất dẻo PVC có đục 25 lỗ để trồng cây.

Để giữ cho cây khi lớn lên không đổ, có thể dùng một lớp dây các hòn bi nhỏ thủy

tinh hoặc chất dẻo nhân tạo có đường kính 1,5 đến 2,5mm đặt trong nắp chậu.



Hình 11.6 - Một số kiểu nắp chậu với các lỗ đặt hạt đã nảy mầm

4. Dung dịch dinh dưỡng

Khái niệm dung dịch dinh dưỡng có thể hiểu là hỗn hợp các muối khoáng và các chất hữu cơ hòa tan trong nước. Đối với việc trồng các cây tự dưỡng (các cây xanh có khả năng quang hợp) thì dung dịch dinh dưỡng cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển bình thường của cây chỉ cần gồm các nguyên tố dinh dưỡng khoáng - các nguyên tố khoáng đa lượng và vi lượng.

Dung dịch dinh dưỡng gồm tất cả các nguyên tố đa lượng và vi lượng gọi là dung dịch dinh dưỡng đầy đủ. Dung dịch dinh dưỡng thiếu một số nguyên tố nào đó gọi là dung dịch dinh dưỡng không đầy đủ.

Một điều cần chú ý ở đây là khi pha dung dịch dinh dưỡng phải hết sức thận trọng. Cần chú ý đến sự tinh khiết của các hóa chất, của nước cất và sự chính xác cao khi cân các hóa chất với những lượng rất nhỏ.

4.1. Chuẩn bị dung dịch

Sự chuẩn bị các dung dịch dinh dưỡng nói chung rất đơn giản. Phần lớn các trường hợp cần thiết phải hòa tan các muối khoáng theo

thứ tự nhất định. Sau đó đổ dần vào một bình lớn, khuấy đều, rồi đổ nước cất đến mức nhất định để đạt được nồng độ dung dịch dinh dưỡng nhất định.

Hiện nay trong các thí nghiệm, người ta đã dùng hàng loạt dung dịch dinh dưỡng. Trong đó có nhiều dung dịch chỉ dùng trong các thí nghiệm chuyên hóa và cho các một vài loài cây nào đấy. Trong tất cả các trường hợp, các muối khoáng đều được chọn lựa sao cho có một tỷ lệ thích hợp giữa các nguyên tố trong dung dịch và tránh được hiện tượng đối kháng ion. Tất cả các dung dịch đều có một nồng độ nhất định biểu hiện hoặc theo ‰ hoặc theo mol hoặc theo đơn vị thẩm thấu và có độ pH nhất định.

Việc chọn dung dịch dinh dưỡng thích hợp cho một thí nghiệm nào đấy sẽ phụ thuộc vào loài thực vật thí nghiệm, vào mục đích thí nghiệm và vào phương pháp trồng cây trong dung dịch.

4.2. Các dung dịch với tất cả các nguyên tố đại lượng

Sau đây là một số dung dịch dinh dưỡng đầy đủ. Mỗi dung dịch đều mang tên tác giả, số lượng các muối tính theo gam (g) trong một lít (l) nước, nồng độ tính theo ‰, độ pH, các đặc trưng của dung dịch và cuối cùng là những thực vật thích hợp với dung dịch.

- Dung dịch do Alten và những người cộng tác (1939) chuẩn bị và thí nghiệm :

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ không ngậm nước	0,492
K_2SO_4	0,523
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ không ngậm nước	0,117
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,861
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,123
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,139
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	0,120

Dung dịch có nồng độ 1,339‰. Thực vật thí nghiệm là ngô.

Sau đó (1940), Alten và Orth đã sử dụng một dung dịch tương tự với sự thay đổi như sau : N với số lượng 100 đến 800mg, P₂O₅ : 100mg, MgO : 20mg và Fe : 5mg trong 1 lít nước. Ca dưới dạng CaSO₄.2H₂O được đưa thêm vào với số lượng 0,5g. Fe dưới dạng clorit và sau đó dưới dạng amonniunxitrat với số lượng 2mg Fe trong một tuần.

Dung dịch này đã được thí nghiệm với khoai tây.

– *Aschoff (1890)* :

Ca(NO ₃) ₂ không ngậm nước	0,2674
KCl	0,1215
K ₂ HPO ₄	0,1019
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,1002
FeCl ₃ .6H ₂ O 5% dung dịch	1 giọt
Nồng độ :	0,540‰
pH :	6,46 – 7,03

Cây thí nghiệm : *Phaseolus multiflorus*, lúa mỳ (*Ph.vulgaris*), ngô (*Zea mays*)

– *Crone (1904)* :

KNO ₃	1,00
Ca ₃ (PO ₄) ₂	0,25
CaSO ₄ .2H ₂ O	0,50
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,50
Fe ₃ (PO ₄) ₂	0,25
Nồng độ :	1,539‰
pH :	6,20 – 6,37

Cây thí nghiệm : ngô, lúa mỳ, đại mạch, yến mạch, cải đường, thuốc lá, đậu, lúa nước,...

- *Tririkov (1913)* :

KNO_3	1,00
$Ca_3(PO_4)_2$	0,464
$CaSO_4.2H_2O$	0,50
$MgSO_4$ không ngậm nước	0,50
$Fe_2(SO_4)_3$	0,31

Nồng độ 2,205‰

pH : 5,55

Cây thí nghiệm : ngô, lúa mỳ, các loại mạch, đậu, lanh.

- *Detmer (1895)* : dung dịch a :

$Ca(NO_3)_2$ không ngậm nước	1,0
KCl	0,25
KH_2PO_4	0,25
$MgSO_4.7H_2O$	0,25
$FeCl_3.6H_2O$ 5% dung dịch	1 giọt

Nồng độ 1,622‰

pH 4,76 - 5,40

Cây thí nghiệm : ngô, đậu, liểu

- *Detmer (1895)* : dung dịch b :

KNO_3	1,00
$Ca_3(PO_4)_2$	0,50
$CaSO_4.2H_2O$	0,11
$MgSO_4.7H_2O$	0,50

NaCl	0,50
FeCl ₃ .6H ₂ O 5% dung dịch	1 giọt
FePO ₄ .4H ₂ O	0,11
Nồng độ :	1,827‰
pH :	5,35 – 6,35

Cây thí nghiệm : đậu nành

– *Van Der Elst (1924)* :

KNO ₃	1,40
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,46
Ca(H ₂ PO ₄) không ngậm nước	0,70
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,70
FeCl ₃ .6H ₂ O 5% dung dịch	2 – 3 giọt
Nồng độ :	2,901‰
pH :	4,8

Cây thí nghiệm : lúa nước

– *Gile a Carrero (1916)* :

KNO ₃	0,5355
NaNO ₃	1,0715
H ₂ SO ₄	0,01225
KH ₂ PO ₄	0,357
CaCl ₂ .6H ₂ O	0,10
MgCl ₂	0,10
Na ₂ SO ₄	1,1575
Nồng độ :	3,283‰
pH :	axit

Cây thí nghiệm : lúa nước

- *Hampe và Truffaut (1938)* :

KNO ₃	0,568
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0,710
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0,142
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,284
Fe ₂ (SO ₄) ₃ .9H ₂ O	0,116

Nồng độ : 1,424 ‰

pH : 6,4

Cây thí nghiệm : Cà chua

- *Knop (1861)* :

Ca(NO ₃) ₂ không ngâm nước	0,572
KNO ₃	0,143
KCl	0,071
KH ₂ PO ₄	0,143
MgSO ₄ không ngâm nước	0,143
FeCl ₃ .6H ₂ O 5% dung dịch	1 giọt

Nồng độ : 1,072‰

pH : 5,73

Cây thí nghiệm : lúa mì, đại mạch, đậu, cà chua, thuốc lá, khoai tây,...

- *Prjanisnikov (1927)* :

NH ₄ NO ₃	0,24
KCl	0,16
CaHPO ₄ .2H ₂ O	0,172
CaSO ₄ .2H ₂ O	0,344

MgSO₄ không ngậm nước 0,060

FeCl₃.6H₂O 0,025

Nồng độ : 0,747‰

pH : 6,35 - 6,50

Cây thí nghiệm : lúa nước, lúa mỳ, đại mạch, ngô,...

- Richter (1926) :

Ca(NO₃)₂ không ngậm nước 0,50

KNO₃ 0,20

KH₂PO₄ 0,20

MgSO₄.7H₂O 0,25

Fe đưa vào dưới dạng chelat : 100ml H₂O cho vào 0,5g FeCl₃ và 1,56g Chelaton III (lấy 10ml dung dịch Fe Chelat này cho vào 10 lít dung dịch dinh dưỡng).

Nồng độ : 1,051‰

pH: 4,8 - 5,2

Cây thí nghiệm : Các loại lúa mỳ, lúa mạch, đậu, ngô, đay, gai, lúa nước, lanh, thuốc lá, khoai tây,...

- Wrangell (1930)(mg/lít nước cất) :

NH₄NO₃ 8,5

K₂SO₄ 8,5

Na₂HPO₄ 0,1 ; 0,6 ; 3,6

CaSO₄.2H₂O 70,0

MgSO₄.7H₂O 20,0

CaCl₂.6H₂O 30,0

NaCl 20,0

Nồng độ : 0,148‰

pH : 5,8 - 6,8

Dung dịch dùng cho phương pháp trồng cây có thay đổi dung dịch dinh dưỡng liên tục.

Cây thí nghiệm : ngô.

4.3. Các dung dịch thiếu một nguyên tố đại lượng (dung dịch không đầy đủ)

Dung dịch dinh dưỡng không đầy đủ có nhiều. Sau đây là một vài ví dụ cụ thể. Cũng như ở phần trên, mỗi dung dịch đều mang tên tác giả, số lượng các muối tính theo gam (g) trong một lít (l) nước, nồng độ tính theo ‰, độ pH, các đặc trưng của dung dịch và cuối cùng là những thực vật thích hợp với dung dịch. Các nguyên tố có trong dung dịch được viết cả số lượng, còn các nguyên tố thiếu sẽ được gạch một gạch

Hoagland (1939), Hoagland và Arnon (1939)

	đầy đủ	thiếu Ca	thiếu N	thiếu P	thiếu K	thiếu Mg	thiếu S
Ca(NO ₃) ₂	0,821	-	-	1,231	1,231	0,821	0,821
KNO ₃	0,506	1,518	-	-	-	0,506	0,506
K ₂ SO ₄	-	-	0,871	0,861	-	0,436	-
KH ₂ PO ₄	0,136	0,136	-	-	-	0,136	0,136
Ca(H ₂ PO ₄) ₂	-	-	0,117	-	0,117	-	-
CaSO ₄ .2H ₂ O	-	-	0,344	-	-	-	-
MgSO ₄	0,120	0,241	0,060	0,241	0,241	-	-
Mg(NO ₃) ₂	-	-	-	-	-	-	0,296
Nồng độ	1,583	1,895	1,320	2,343	1,589	1,899	1,759
pH	4,57	5,3	5,2	7,4	5,2	5,3	5,2

Fe được đưa vào với nồng độ 0,5% (5ml hàng tuần)

Cây thí nghiệm : ngô

Merkenschlager (1927) :

	đầy đủ	thiếu Ca	thiếu N ₁ *	thiếu N ₂ **	thiếu P	thiếu K+Na	thiếu KNa*	thiếu Mg*	thiếu S*	thiếu Fe*
NH ₄ NO ₃	-	-	-	-	-	-	1,00	-	-	-
KNO ₃	1,00	1,00	-	-	1,00	-	-	1,00	1,00	1,00
NaNO ₃	-	-	-	-	-	1,00	-	-	-	-
K ₂ SO ₄	-	0,40	0,50	-	-	-	-	-	-	-
KCl	-	-	-	1,00	-	-	-	-	-	-
K ₂ HPO ₄	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
Ca ₃ (PO ₄) ₂	0,25	-	0,25	0,25	-	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
CaSO ₄ .2H ₂ O	0,50	-	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,78	=	0,50
CaCl ₂ .6H ₂ O	-	-	-	-	0,25	-	-	-	0,80	-
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,50	0,70	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	-	-	0,50
Mg(NO ₃) ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	0,52	-
Fe ₃ (PO ₄) ₂	0,50	0,50	0,50	0,25	-	0,50	0,25	0,50	0,50	-
FeSO ₄ .7H ₂ O	-	-	-	-	0,04	-	-	-	-	-
Nồng độ :	1,64	1,99	1,14	1,63	1,78	1,64	1,64	1,62	1,72	1,89
pH :	6,73	7,13	6,82	6,44	6,02	6,16	5,84	6,33	6,38	6,81

Dung dịch này do Schropp (1951)* và Zattler (1934)** chuẩn bị và sử dụng lần đầu tiên.

Cây thí nghiệm : ngô, mạch đen, lúa nước, đại mạch, các loại đậu, lanh, cải đường, thuốc lá, khoai tây, ...

4.4. Các nguyên tố vi lượng

Khi nghiên cứu sự hấp thụ nguyên tố dinh dưỡng khoáng ở thực vật đã thấy rằng, sau một thời gian nhất định sự sinh trưởng của thực vật ngừng lại và có biểu hiện những dấu hiệu bệnh lý, mặc dù trong dung dịch dinh dưỡng có đầy đủ các nguyên tố đại lượng. Trong nhiều công trình nghiên cứu tiếp tục đã chỉ ra rằng, thực vật trồng trong

một thời gian dài, đòi hỏi cho sự sinh trưởng và phát triển bình thường của mình nhiều nguyên tố khác, nhưng chỉ với một số lượng rất nhỏ. Các nguyên tố này gọi là các nguyên tố vi lượng. Đối với các giống thực vật người ta đã xác định không những các nguyên tố vi lượng cần thiết, mà còn cần cả số lượng cụ thể.

Bảng II.4 chỉ ra nhu cầu dinh dưỡng các nguyên tố vi lượng của một số cây trồng (Lasstuvka và Minár 1967).

Bảng II.4 : Số lượng các nguyên tố vi lượng (mg trong một lít dung dịch) đưa vào dung dịch dinh dưỡng thay đổi tùy theo cây

Cây	Si	Cl	B	Mn	Cu	Zn
mạch trắng	60	20 - 250	0,05 - 0,08	0,5 - 1,0	0,002 - 0,4	
mạch đen	60	5 - 500	0,01 - 0,1	1,0	0,002 - 0,4	
đại mạch	35 - 60	5 - 500	0,1 - 0,17	0,5 - 25,0	0,002 - 0,4	0,1
yến mạch	35 - 60	5 - 500	0,085	1,0 - 2,5	0,002 - 0,4	
ngô.	4 - 60	120 - 500	0,1 - 1,0	0,1 - 50,0	0,1	0,05 - 0,5
kê	60		0,5			0,005 - 0,4
lúa	35 - 55		0,017	0,7		
đậu Hà lan	60	20 - 500	0,5	0,5 - 1,0	0,014 - 0,02	0,005 - 0,2
đậu tằm	60	500	0,085	0,7	0,014	0,005 - 0,2
đậu nành		120	0,17 - 1,0	0,7	0,014	0,001 - 0,3
thuốc lá	60	20 - 120	0,34	0,5		
cà đường	10 - 20		0,12 - 0,17	1,0		
cà chua	35 - 55		0,55	1,0	0,06	0,5
huống dương		150	0,5	1,5	0,01 - 0,12	0,01 - 0,1
khoai tây		20	0,08 - 0,55	0,37	0,02	0,115
gai			0,5	1,0	0,014	0,012

Sau đây là một số dung dịch các nguyên tố vi lượng (tính theo gam (g) trên một số lượng nước nhất định) :

- Hoagland (1939) :

Dung dịch a		Dung dịch b	
H ₂ O	18000ml	H ₂ O	18000ml
Al ₂ (SO ₄) ₃	1,0	BaCl ₂	0,5
KI	0,5	CaCl ₂	0,1
KBr	0,5	Bi(NO ₃) ₃ .5H ₂ O	0,1
TiO ₂	1,0	Rb ₂ SO ₄	0,1
SnCl ₂ .2H ₂ O	0,5	K ₂ CrO ₄	0,5
LiCl	0,5	KF	0,1
MnCl ₂ . 4H ₂ O	7,0	PbCl ₂	0,1
H ₃ BO ₃	11,0	HgCl ₂	0,1
ZnSO ₄	1,0	MoO ₃	0,5
CuSO ₄ . 5H ₂ O	1,0	H ₂ SeO ₄	0,1
NiSO ₄ .6H ₂ O	1,0	SrSO ₄	0,5
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	1,0	H ₂ WO ₄	0,1
As ₂ O ₃	0,1	VCl ₂	0,1

Cứ 1 lít dung dịch dinh dưỡng cho vào 0,5ml dung dịch a và 0,5 ml dung dịch b. Williams và Vlamis (1956 - 1957, 1957) đã thấy rằng, hàm lượng Mn và B trong dung dịch này độc với đại mạch, nhưng vẫn thích hợp đối với cà chua.

- Scharrer và Schropp (1936) :

H ₂ O	1000ml
H ₃ BO ₃	1,1430
KF	0,3060
KI	0,1308
MnCl ₂ .4H ₂ O	2,1620
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,8800
Al ₂ (SO ₄) ₃ .18H ₂ O	2,4710
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,1965

Cứ 1 lít dung dịch các nguyên tố đại lượng, cho vào 10ml dung dịch vi lượng này.

- *Schropp (1951)* :

ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,01
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,01
Na ₂ SiO ₃	0,01
Al ₂ (SO ₄) ₃ .18H ₂ O	0,01
Na ₂ B ₄ O ₇	0,005
NaF	0,002
KI	0,002

Số lượng các nguyên tố vi lượng này cho vào 1 lít dung dịch các nguyên tố đại lượng.

- *Van Schreven (1939)* :

H ₃ BO ₃	0,0008
MnSO ₄ .4H ₂ O	0,0015
Al ₂ (SO ₄) ₃ .16H ₂ O	0,0005
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,0005
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,000125
KI	0,00025
KF	0,00025

Cho vào 1 lít dung dịch các nguyên tố đại lượng.

4.5. Số lượng Fe trong các dung dịch dinh dưỡng

Sự hấp thụ Fe ở rễ phụ thuộc không những vào pH dung dịch mà còn vào dạng Fe đưa vào dung dịch. Vì vậy đôi khi số lượng Fe trong dung dịch đầy đủ với pH thích hợp mà cây vẫn bị bệnh thiếu Fe. Vấn

đề này được giải quyết khi người ta sử dụng một phức hệ Fe có tên là EDTA (etylen-diamin-tetraoctan). Ion Fe giải phóng từ hợp chất này trong dung dịch, được cây nhận rất tốt trong suốt quá trình trồng ở độ pH tương đối rộng (Steward và Leonard 1952). Ngoài chelat EDTA, người ta còn sử dụng N-hydroxy-etyl-etylen-diamin-tri-axetat (HEEDTA), dietyletylen-tri-amin-penta-axetat (DTPA), N-etylen-bis - 2 - (o - hydroxypenyl) glyxin (EHPG), ... Thường thường các chelat này chứa Fe, nhưng cũng chứa cả Zn, Mn, Mg, Cu và một số nguyên tố khác.

Thực vật nhạy cảm khác nhau đối với Fe. Thông thường người ta cho vào dung dịch khoảng 10mg Fe/lít dưới dạng Fe EDTA. Ở lượng cao hơn sẽ độc đối với cây không những do hàm lượng Fe mà còn do hàm lượng chelat. Jacobson (1951) đã sử dụng một dung dịch Fe EDTA và dung dịch này đã được coi là dung dịch tốt nhất : hòa tan 26,1g EDTA trong 288ml KOH 1,0N, sau đó cho thêm 24,9g FeSO₄.7H₂O rồi đổi nước đến 1 lít.

5. Những thực vật thí nghiệm

Tất cả những thiết bị kỹ thuật, những dung dịch dinh dưỡng mô tả ở trên chỉ nhằm phục vụ một mục đích là trồng các cây thí nghiệm. Tất cả các khâu chuẩn bị của chúng ta sẽ có hiệu quả kém, nếu như chúng ta không chọn được các cây thí nghiệm tốt. Vì vậy vấn đề ứ mầm, chọn cây và trồng cây trong dung dịch đã được các nhà nghiên cứu chú ý nhiều .

5.1. Chọn các cây thí nghiệm

Nhờ có phương pháp trồng cây trong dung dịch, ta có thể nghiên cứu được nhiều vấn đề khác nhau như các vấn đề dinh dưỡng, sinh trưởng và phát triển thực vật, ... cho nên vấn đề đặt ra là phải chọn

cây thí nghiệm như thế nào để phù hợp với mục đích nghiên cứu của một thí nghiệm cụ thể, trong một điều kiện cụ thể. Chẳng hạn nếu muốn nghiên cứu ảnh hưởng của Fe lên sinh trưởng và phát triển của cây, chúng ta sẽ không chọn các cây có nhu cầu tối thiểu về Fe và có lượng Fe dự trữ lớn trong phôi và lá mầm. Nhưng thí nghiệm này sẽ đạt kết quả tốt, nếu như chúng ta chọn cây ngô là cây có lượng Fe dự trữ rất ít và rất nhạy cảm khi thiếu Fe.

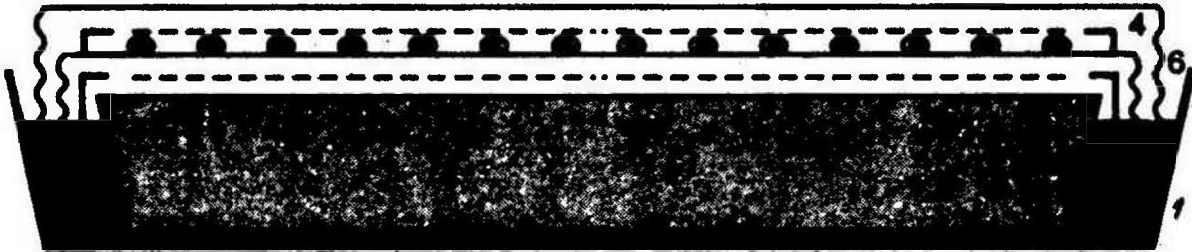
Các đối tượng cây trồng chọn làm thí nghiệm không bị hạn chế, vì trong dung dịch dinh dưỡng ta có thể trồng các cây nảy mầm từ hạt, từ quả, từ củ, từ rễ hoặc cành, hoặc các cây được tạo ra từ các phương pháp sinh sản vô tính khác.

Nói chung với tất cả các cây có lượng các chất dự trữ lớn trong phôi, lá mầm, củ,... không nên đưa trồng ngay vào dung dịch dinh dưỡng, mà cứ để chúng sống bằng các chất dự trữ có sẵn của mình trong thời gian đầu (Mc Alister và Krober 1951). Prjanisnikov đã chọn hai cách : để cho mẫu cây "đói" trước khi đưa vào dung dịch dinh dưỡng ; loại các mô dự trữ bằng dao.

Muốn chọn cây tốt trước hết phải chọn hạt (hoặc củ, cành, rễ, ...) tốt. Thông thường người ta chọn các hạt tốt, sạch từ cùng một cây mẹ và có cùng một khối lượng. Nhiều công trình nghiên cứu đã chỉ ra rằng : độ lớn các hạt ảnh hưởng nhiều đến quá trình sinh trưởng sau này của cây (Brenchley 1923, Trelease 1924,...).

5.2. Công việc ủ mầm

Để bảo đảm chọn được mầm tốt, người ta chọn số lượng hạt cho nảy mầm gấp 10 lần (đôi khi gấp 50 lần, 100 lần) số lượng cây cần thí nghiệm. Hạt được chọn đem ngâm nước (có thể ngâm với formalin, alcohol hoặc một số dung dịch khác). Sau 24 giờ đặt các hạt vào hộp nảy mầm (hình II.7).



Hình 11.7 - Sơ đồ cắt ngang hộp nảy mầm

1 : Hộp ngoài với nước (3) ; 2 : Hộp trong với dung dịch, phía trên là hạt đặt trên lưới (5) ; 4 : Hộp được phủ bằng lưới và giấy lọc thấm nước (6).

Hộp nảy mầm thường là các hộp bằng tôn, gỗ, có nắp, hình hộp chữ nhật. Trong hộp có phân đặt hạt được lót bằng lớp giấy thấm nước, để bảo đảm độ ẩm cho hạt. Hộp nảy mầm đặt trong phòng thí nghiệm có nhiệt độ khoảng từ 20°C đến 30°C . Các hạt đặt trong hộp nảy mầm phải có trật tự, không đè lên nhau và với một khoảng cách nhất định để rễ và mầm có điều kiện sinh trưởng bình thường.

Khi mầm hạt dài 3 - 4 cm, chọn các mầm tốt, đều nhau, trồng trong chậu với nước cất hoặc với dung dịch dinh dưỡng pha loãng (0,1%). Khi cây cao 6 đến 9cm, thay nước cất hoặc dung dịch dinh dưỡng pha loãng bằng dung dịch dinh dưỡng đã chọn cho thí nghiệm và phân chia các chậu theo mục đích thí nghiệm.

5.3. Số lượng cây trồng trong một chậu

Để tăng độ chính xác của các số liệu thu được, cần thiết phải có số lần lặp lại lớn và do đó cần phải có nhiều cây trồng. Nhưng số lượng cây trồng trong chậu như thế nào cho thích hợp là một vấn đề quan trọng, vì nó liên quan đến các điều kiện khác. Trong các thí nghiệm mà dung dịch dinh dưỡng không thay đổi trong suốt quá trình thí nghiệm thì thường chỉ trồng từ 2 đến 5 cây. Vì nếu trồng nhiều cây, sau một thời gian ngắn, sẽ dẫn đến sự thay đổi lớn về nồng độ dung dịch và độ pH của dung dịch. Mặt khác, khi so sánh các chậu cây có mật độ cây trồng khác nhau. Schropp (1951) còn thấy một

nhân tố khác ảnh hưởng đến sinh trưởng là sự cung cấp năng lượng mặt trời.

Bảng II.5 chỉ ra mối quan hệ giữa số lượng cây trồng trong chậu với khối lượng khô và chiều dài của cây. Bảng này còn chỉ ra rằng, với điều kiện của thí nghiệm, số lượng tối thích của cây trồng trong chậu là 2 đến 4 cây.

Bảng II.5 : Khối lượng khô của đại mạch thay đổi theo sự tăng số lượng cây trong một chậu : thể tích chậu 3.500 ml, dung dịch dinh dưỡng Crone, thay đổi dung dịch hàng tuần, số liệu trung bình của 3 lần lặp lại (Schropp, 1951).

Số lượng cây/chậu	chất khô (g)		thân lá/rễ	chiều dài rễ (cm)		chất khô 1 cây (g)
	thân, lá	rễ		29.5	14.7	
2	10,09 ± 0,10	1,29 ± 0,04	8,93	10	28	5,69
4	19,17 ± 0,06	2,71 ± 0,05	7,07	11	42	5,94
6	22,20 ± 0,44	2,68 ± 0,04	8,28	11	44	4,15
8	29,42 ± 0,29	3,92 ± 0,10	7,51	11	52	4,17
10	31,57 ± 0,32	4,51 ± 0,07	7,00	11	52	3,61
12	31,53 ± 0,44	4,45 ± 0,27	7,09	11	50	3,00
14	33,52 ± 0,49	4,57 ± 0,22	7,33	10	52	2,72
16	34,68 ± 0,19	5,03 ± 0,32	6,89	10	54	2,48
18	32,15 ± 0,03	4,28 ± 0,09	7,51	10	55	2,02
20	33,74 ± 0,26	4,12 ± 0,05	8,19	11	55	1,89
22	34,98 ± 0,14	4,96 ± 0,38	7,05	11	54	1,82
24	32,97 ± 1,40	4,47 ± 0,21	6,87	12	50	1,57

Tóm lại khi tính toán số lượng cây trồng thích hợp trong chậu phải chú ý đến nhiều mặt : phương pháp trồng cây trong dung dịch (dung dịch cố định, dung dịch thay đổi theo chu kỳ, dung dịch thay đổi liên tục,...) số lượng dung dịch trong chậu, các tính chất đặc trưng của cây thí nghiệm (khả năng hấp thụ các chất dinh dưỡng, tốc độ hình thành thân, lá, cành, độ lớn của lá,...) và cuối cùng là điều kiện cụ thể của thí nghiệm. (nhà kính, ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm, nồng độ CO₂,...).

Chương III

NHỮNG CON ĐƯỜNG ĐIỀU KHIỂN HOẠT ĐỘNG QUANG HỢP CỦA THỰC VẬT NHẪM NÂNG CAO NĂNG SUẤT CỦA CHÚNG

1. Triển vọng sử dụng các nguyên tắc và cơ chế của quang hợp trong những hệ nhân tạo

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 công nghiệp nhân tạo, và điều chỉnh nhất là xây dựng những con đường và phương thức tăng năng suất quang hợp của thực vật.

Dĩ nhiên, không thể nhằm vào việc 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 nguyên liệu kỹ thuật giá trị cao và nhiều loại mà thực vật cung cấp cho chúng ta. Quang hợp nhân tạo không thể đảm bảo cho con người các thức ăn hoàn hảo và nhiều loại như con người nhận được của thực vật và động vật. Tuy nhiên hoàn toàn có lý khi nói rằng : nhờ quang hợp nhân tạo để chế ra các chất đơn loại về thực phẩm cũng như các loại tư liệu khác. Ví dụ : axit amin, protein, các thành phần của mỡ, chất có hoạt tính sinh lý, các loại chất trùng hợp kỹ thuật, v.v...

Sự tổng hợp ấy sẽ được thực hiện dựa theo hình mẫu của quang hợp tự nhiên nhờ các nguyên liệu có ở khắp mọi nơi là khí CO₂, đạm không khí, nước, một số muối khoáng và nhờ nguồn năng lượng khổng lồ không bao giờ cạn – bức xạ Mặt Trời.

Những đặc điểm và nguyên tắc nào của quá trình quang hợp đặc biệt đáng chú ý để sử dụng trong các hệ nhân tạo tương lai ?

Một trong những đặc điểm và nguyên tắc ấy là khả năng thu nhận các chất không có hoạt tính quang học vào một chuỗi các phản ứng quang hóa. Trong quang hợp tự nhiên, các hợp chất như : khí CO₂, nước, nitrit, nitrat, sunfat, v.v... chịu các chuyển hóa nhờ năng lượng bức xạ Mặt Trời. Thực hiện điều đó nhờ tác dụng liên hợp của các chất cảm ứng có hoạt tính quang học (diệp lục và các chất khác) hút trước tiên năng lượng bức xạ Mặt Trời, và của các chất xúc tác khác nhau – đặc biệt là các enzym được sử dụng vào các chuyển hóa hóa học đa dạng có dự trữ vững chắc năng lượng trong liên kết hóa học của các chất hữu cơ tạo thành. Nếu như sau này tìm ra cơ chế của hệ thống ấy, thì nhờ việc lựa chọn các chất có hoạt tính quang học và các chất xúc tác các loại sẽ có thể tiến hành bất cứ phản ứng hóa học nào và tổng hợp nên bất kì chất nào nhờ năng lượng bức xạ Mặt Trời.

Đặc điểm đáng chú ý khác của quang hợp để sau này có thể tái lập trong các hệ nhân tạo là tổ chức không gian và cấu trúc của bộ máy quang hợp, nhờ nó mới có khả năng hoàn thành các phản ứng dẫn tới dự trữ ổn định năng lượng tiềm tàng. Trong đó hệ số tác dụng có ích của quang hợp (tỷ số giữa năng lượng hút và dự trữ) rất cao, có thể đạt 30%. Một trong những điều kiện để đạt hiệu quả cao ấy là : quang năng được hút bằng quang tử và hướng một cách chọn lọc vào sự chuyển hóa một số hạn chế những chất nhất định thu nhận vào quang hợp, chứ không tiêu hao thêm vào các chất của toàn môi trường, đúng như thường xảy ra trong các tổng hợp hóa học.

Rõ ràng nắm được các nguyên tắc tương tự về chuyển hóa hóa học của quang hợp tự nhiên sẽ làm cho công nghiệp hóa học có những khả năng bổ sung to lớn. Tuy nhiên hiệu quả quan trọng nhất của nghiên cứu quang hợp sẽ là khả năng điều khiển hoạt động quang hợp của cơ thể thực vật về quy mô, chúng rất khổng lồ nhưng về hình thức thì còn lâu mới thỏa mãn hoàn toàn được nhu cầu của con người.

Quang hợp của thực vật xanh – nguyên bản duy nhất của thức ăn của con người. Toàn bộ thực vật của địa cầu hàng năm tạo gần 120 tỷ tấn chất hữu cơ. Đối với dinh dưỡng bình thường của loài người hiện nay, cần gần một tỷ tấn chất khô sản phẩm dinh dưỡng. Tuy là với tỷ lệ như vậy, vấn đề nguồn thực phẩm vẫn là một trong những vấn đề gay go nhất của loài người hiện nay. Điều đó là do nguyên nhân xã hội cũng như kỹ thuật nhưng cái chính là do con người hãy còn thiếu cải tạo đúng mức và sử dụng hợp lý chức năng quang hợp của thực vật xanh.

2. Quang hợp của thực vật và con người

Qua hàng tỷ năm kể từ khi xuất hiện trên Trái Đất, cây xanh sống trong nước và trên mặt đất đã mang lại những thay đổi căn bản cho bộ mặt của hành tinh chúng ta.

Trong thời kỳ đầu phổ biến thực vật quang hợp, quá trình hình thành chất mới chiếm ưu thế trong cân bằng chất hữu cơ. Kết quả là, khí quyển nghèo dần CO₂ và giàu oxy tự do. Trên mặt Trái Đất số lượng chất hữu cơ tăng càng ngày càng nhiều, trong khoảng thời gian dài chúng biến thành than đá, dầu hỏa, hơi đốt, than bùn, mùn đất, bùn v.v... cùng với sự tích lũy khối chất hữu cơ trên mặt đất, sinh vật dị dưỡng bắt đầu phát triển mạnh, chúng chỉ nhờ chất hữu cơ có sẵn.

Con người xuất hiện trên Trái Đất ở trong số những đại diện muộn nhất của sinh vật dị dưỡng và đời sống của con người cũng như đời sống của mọi sinh vật dị dưỡng khác hoàn toàn phụ thuộc vào quang hợp của thực vật : con người chỉ lấy thức ăn từ thực vật hoặc trực tiếp hoặc thông qua động vật (ở dạng thịt, trứng, sữa). Tiến bộ trong sự phát triển của con người được thực hiện chỉ dựa vào sự can thiệp to lớn về mặt quy mô của con người vào hoạt động quang hợp của thực vật trên Trái Đất.

Thực vật dưới nước và trên cạn của thực bì tự nhiên hàng năm tạo thành gần 120 tỷ tấn chất hữu cơ. Nhưng chúng được sử dụng làm nguồn thức ăn một cách ít hiệu quả, trong dinh dưỡng của con người hàng năm chỉ sử dụng gần 80 triệu tấn. Con người đã phát hiện, cải tạo và trồng trọt những cây đặc biệt làm thức ăn cho người và gia súc trên diện tích gần 2,5 tỷ ha (gần 17% diện lục địa, chưa kể châu Nam Cực). Tổng sản lượng sinh khối của thực vật ấy chừng 10 tỷ tấn. Nhưng con người nhận được của chúng ở dạng thức ăn động vật hay thực vật gần 500 triệu tấn, nghĩa là chỉ thỏa mãn gần 80% nhu cầu của mình.

Nếu như con người đã không can thiệp một cách rộng lớn về quy mô vào hoạt động quang hợp của thực vật, không làm thay đổi thành phần và chất lượng của thực vật, mà chỉ dựa vào sản lượng của thực bì hoang dại thì họ đã không thể đạt được trình độ tiến bộ hiện nay và trình độ phát triển của họ đã không vượt quá trình độ của thời kỳ đồ đá. Tuy nhiên hoạt động của con người theo hướng ấy trên một quy mô rộng lớn, họ vẫn chưa thỏa mãn được tất cả nhu cầu hiện nay : một nửa dân số Trái Đất chưa ăn đủ chất dinh dưỡng, còn một phần ba hãy còn bị đói.

Từ đây, thấy rõ rằng con người phải tăng năng suất thực vật bằng con đường cải tạo thế giới thực vật và điều khiển tốt nhất hoạt động quang hợp của thực vật với trình độ hiểu biết cao hơn về bản chất của quá trình quang hợp.

Từ những điều trình bày trên đây, rõ ràng là phải hướng nỗ lực vào việc mở rộng diện tích trồng trọt cũng như vào việc tăng năng suất thực vật. Con đường thứ nhất đã sáng tỏ hơn về ý nghĩa của nó, con đường thứ hai phức tạp hơn và đặc thù hơn. Dưới đây sẽ trình bày con đường thứ hai.

2.1. Quang hợp là quá trình dinh dưỡng cơ bản của cây xanh

Về hình thức dinh dưỡng, cây xanh thuộc sinh vật tự dưỡng nghĩa là tự mình tạo nên trong quá trình quang hợp các chất hữu cơ cần

cho đời sống từ các hợp chất đã khoáng hóa hoàn toàn của cacbon, đạm, lưu huỳnh và các nguyên tố khác. Đó là đặc điểm đặc trưng và quan trọng nhất của chúng.

Trong quá trình quang hợp thực vật đồng hóa từ môi trường bên ngoài toàn bộ cacbon, chiếm gần 42 – 45% khối lượng chất khô của cây, tạo nên tất cả các chất hữu cơ chiếm 90 – 95% khối lượng khô của mùa màng. Trong quá trình quang hợp, thực vật đồng hóa từ dòng bức xạ Mặt Trời và dự trữ lại trong các chất hữu cơ mới hình thành toàn bộ năng lượng, nguồn năng lượng này về sau là động lực của mọi quá trình sống không chỉ ở thực vật xanh mà nói chung ở tất cả các đại diện của thế giới sống (trừ một nhóm nhỏ các sinh vật tự dưỡng hóa tổng hợp).

Có thể dùng những tài liệu sau để nói lên ý nghĩa chính của quang hợp trong quá trình hình thành năng suất : vào thời kỳ sinh trưởng mạnh nhất, năng suất hằng ngày của chất khô trên 1 hecta ruộng trung bình 80 – 150 kg ; trong trường hợp tốt đạt tới 300 và cả 500 kg. Trong khi đó, trong 1 ngày đêm cây đồng hóa qua rễ ở dạng ion chừng 1 – 2 kg N, 0,25 – 0,50 kg lân, 2 – 4 kg kali và 2 – 4 kg các nguyên tố khác, tổng số là 5 – 10,5 kg chất khoáng. Đồng thời cây đồng hóa trong một ngày đêm từ không khí qua lá 150 – 300 và có khi tới 1000 kg khí cacbonic, nghĩa là số lượng tương ứng với hàm lượng CO₂ trên một hecta trong lớp không khí cao 30 – 200 m.

Vai trò chính của quang hợp trong việc hình thành năng suất thể hiện không kém phần rõ ràng khi đánh giá kết quả cuối cùng của năng suất. Ví dụ như, năng suất trung bình của củ cải đường là 250 – 300 tạ/ha tương ứng với năng suất chất khô chừng 80 – 100 tạ nghĩa là 8 – 10 tấn.

Để tạo nên năng suất ấy, trong suốt thời gian sinh trưởng cây phải đồng hóa gần 100 – 150 kg đạm, 25 – 30 kg lân, 110 – 160 kg kali và gần 4200 kg cacbon. Đạt được con số sau là nhờ trong suốt thời gian sinh trưởng, trong quá trình quang hợp, cây đồng hóa gần 20 tấn

khí cacbonic (tương ứng với hàm lượng CO₂ trong lớp không khí cao 4 km trên một hecta). Trong năng suất có tích lại nhờ quang hợp gần 40 triệu kilocalo năng lượng.

Tuy nhiên, vai trò quyết định của quang hợp trong việc hình thành năng suất không làm giảm ý nghĩa của các dạng dinh dưỡng khác của thực vật : dinh dưỡng đạm, lân, kali v.v...

Thực vật là một cơ thể thống nhất, việc thực hiện một chức năng dinh dưỡng của nó không thể thay thế với bất cứ mức độ nào và không loại trừ chức năng khác.

Nhưng trong đa số trường hợp, chính điều kiện dinh dưỡng rễ hay cung cấp nước lại là tối thiểu : thay đổi nó bằng cách làm đất, tưới nước, bón phân là biện pháp có hiệu quả nhất để thực hiện nhất nhằm tác động đến việc hình thành năng suất (do đó đến số lượng và chất lượng).

Tuy nhiên hiệu quả của tất cả các kiểu dinh dưỡng còn lại chỉ có giá trị và phát huy tác dụng trong mức độ mà ở đó chúng duy trì được chức năng cơ bản của thực vật – quang hợp và thúc đẩy sự thực hiện chức năng ấy.

Các nguyên tố dinh dưỡng khoáng không thể được sử dụng nếu như thực vật đã không tạo thành trong quá trình quang hợp các chất hữu cơ và không tích lũy năng lượng trong chúng.

Do đó, có thể xác định rõ quan niệm về thực chất, mục đích và nhiệm vụ của trồng trọt như sau : trồng trọt là một hệ thống sử dụng chức năng cơ bản của cây xanh : chức năng quang hợp.

Tất cả các biện pháp của hệ thống trồng trọt đều nhằm mục đích : làm sao cho hoạt động tổng số của bộ máy quang hợp thực vật có hiệu quả nhất.

2.2. Năng suất là kết quả hoạt động của bộ máy quang hợp thực vật

Đã có nhiều nghiên cứu làm sáng tỏ mối liên quan giữa hoạt động của bộ máy quang hợp và năng suất. Đầu tiên, cố gắng của các nhà

nghiên cứu nhằm thiết lập mối liên quan tích cực dự đoán trước giữa mức năng suất và cường độ quang hợp của thực vật - nghĩa là số lượng CO₂ đồng hóa trên đơn vị diện tích lá (thường là 1 dm²) trong đơn vị thời gian. Hóa ra là liên hệ phụ thuộc giữa quang hợp của thực vật và năng suất còn phức tạp hơn nhiều.

Trong các công trình về sau của các nhà nghiên cứu (Boysen – Jensen, 1932 ; Jvanov, 1941 ; Nitsiporovits, 1955, 1956 ; nhóm các nhà nghiên cứu ở trại Rtamxtet ở Anh : Blackman, Rutter, 1948 ; Blackman, Wilson, 1951 ; Watson, 1952) người ta đã chú ý về các nhân tố quan trọng khác và điều kiện của hoạt động quang hợp thực vật, quy mô của bộ máy quang hợp (diện tích lá), cường độ và thời gian hoạt động của nó, tỷ lệ giữa quá trình hình thành và tiêu dùng chất hữu cơ v.v...

Ý nghĩa của các yếu tố và điều kiện ấy sẽ được trình bày dưới đây dựa trên nghiên cứu của tác giả viết chương này (Nitsiporovits, 1955, 1956 ; Nitsiporovits, Strôgônôva, Smôra, Vlaxôva, 1961).

Năng suất kinh tế (N_{kt}) là một phần của năng suất sinh học (N_{sh} = khối lượng toàn bộ sinh khối khô).

Trong điều kiện bình thường, năng suất kinh tế liên quan khăng khít và phụ thuộc vào năng suất sinh học. Năng suất sinh học là tổng năng suất chất khô hàng ngày (C) trong một hecta ruộng trong suốt thời gian sinh trưởng n ngày :

$$N_{sh} = (C \sum_{1,2,3...n}) \quad (1)$$

Chúng ta hãy lấy ví dụ quá trình hình thành năng suất cây ngô theo kết quả do M. P. Vlaxôva thu được để minh họa cho điều trên đây.

Sự tăng năng suất sinh học trong thời gian sinh trưởng được trình bày ở hình III.1. Hiệu số giữa khối lượng của 2 ngày liền nhau gọi là sự tăng khối hàng ngày C trên một ha. Nhịp điệu thay đổi theo mùa của chỉ tiêu ấy cũng được nêu ở hình III.1. Cộng các tăng khối hàng ngày (đường biểu diễn 2) ta có N_{sh}. Bằng phương pháp đồ thị,

có thể tiến hành tính tổng số ấy như sau : tính diện tích phần giữa trục hoành và đường 2 (P_c) theo cm^2 , nhân trị số đó với tỷ lệ của đồ thị (số ngày theo cm trên trục hoành và số kilôgam trên trục tung). Trong trường hợp này (hình III.1) trị số đó sẽ là 20×50 ; $P_c = 17cm^2$ và $N_{sh} = 70 \text{ tạ/ha}$.

Thông thường, mức tăng khối hàng ngày của chất khô năng suất thay đổi từ số không (ở đầu và cuối thời gian sinh trưởng cũng như khi gặp điều kiện bất lợi) đến 150 – 300 và có khi 500 kg/ha (vào thời kỳ phát triển lá mạnh nhất và vào những ngày thuận lợi nhất cho quang hợp).

Vì 90 – 95% năng suất chất khô tạo thành trong quá trình quang hợp, cho nên mức tăng khối hàng ngày của năng suất phải phụ thuộc vào diện tích lá và hiệu suất quang hợp của nó.

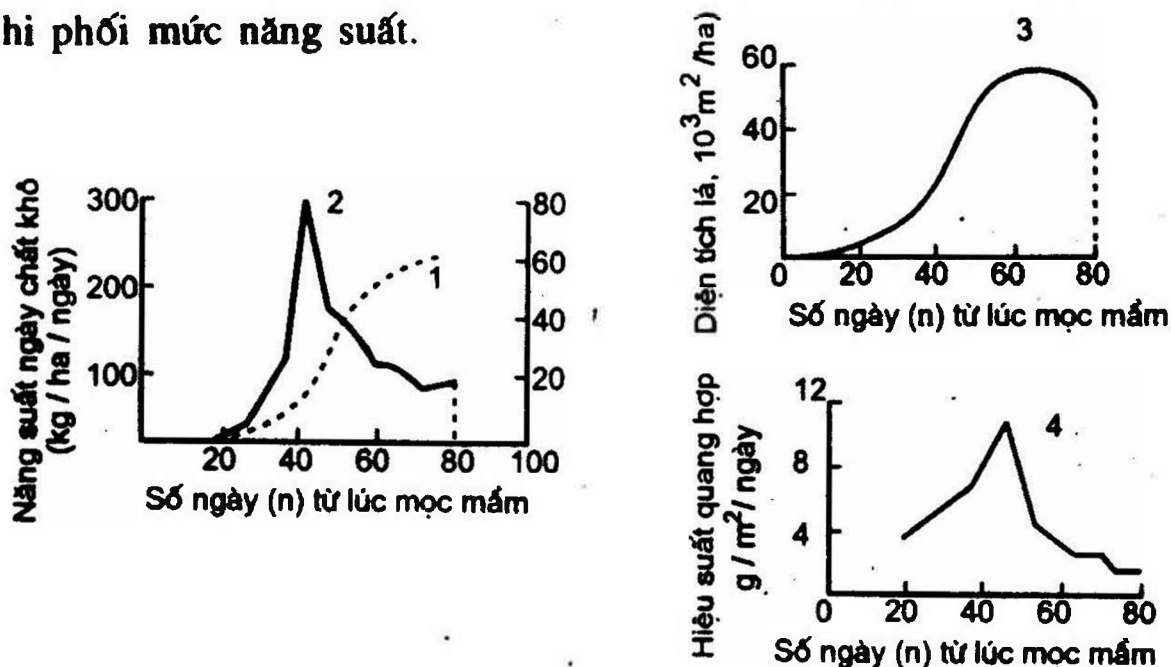
Trong các ruộng ở các điều kiện khác nhau, diện tích lá có thể tăng với tốc độ khác nhau và đạt tới cực đại khác nhau. Ngoài ra, do thời gian sinh trưởng khác nhau nên ở các loại cây, thời kỳ hoạt động của lá có thể khác nhau (thời gian sinh trưởng của các cây trồng là từ 75 đến 150 ngày).

Dĩ nhiên, ruộng trồng những cây khác nhau sẽ có khả năng không giống nhau về tích lũy năng suất chất khô. Về mặt ấy có thể tính gần đúng rằng, có thể đặc trưng một cách có điều kiện sự khác nhau của các ruộng bằng khái niệm "thể quang hợp của ruộng" (m^2 lá – ngày). Có thể lấy được chỉ tiêu này bằng cách cộng các diện tích là (m^2/ha) của mỗi ngày trong suốt thời gian sinh trưởng (xem hình III.1).

Chỉ tiêu m^2 lá ngày tương tự như chỉ tiêu "ngày công" và nó cho biết tổng số các đơn vị công ước lệ tiêu tốn để hoàn thành một quá trình nào đó (trong trường hợp này là dinh dưỡng cacbon), mà chưa đánh giá về mặt số lượng của bản thân đơn vị công. Bằng phương pháp đồ thị, có thể thu được chỉ tiêu m^2 lá – ngày bằng cách xác định diện tích (cm^2) nằm giữa đường biểu diễn diện tích lá và trục hoành, rồi nhân trị số ấy với tỷ lệ quy ước trên trục. Số lượng tổng

cộng các đơn vị công ước lệ của bộ máy quang hợp trong thời gian sinh trưởng ở trường hợp chúng ta đang xét, bằng 2 triệu m^2 - ngày. Chỉ tiêu ấy thay đổi tùy theo những cây khác nhau trồng ở ôn đới, trong giới hạn từ 0,5 đến 5 triệu m^2 - ngày.

Từ những điều trình bày trên, có thể xây dựng quan niệm sau đây, mức thế quang hợp của ruộng là một trong những yếu tố quyết định chi phối mức năng suất.



Hình III.1 - Động thái của các quá trình quyết định nhịp điệu tích lũy chất khô của năng suất cây ngô trong suốt mùa dinh dưỡng

1. Tích lũy năng suất chất khô tổng ($NS_{sh} = 70 t/ha$)
2. Năng suất ngày (C kg/ha).
3. Sự sinh trưởng của lá (L), thế năng diện tích lá của ruộng ($2 \cdot 10^6 m^2$. ngày).
4. Hiệu suất quang hợp tính theo g chất khô trên $1m^2$ lá trong một ngày đêm trong mùa dinh dưỡng

Tuy nhiên, đó không phải là chỉ tiêu duy nhất chi phối mức năng suất. Năng suất hoạt động quang hợp của mỗi m^2 diện tích lá cũng có ý nghĩa quan trọng. Trong ruộng, chỉ tiêu này cũng có thể thay đổi rất mạnh. Ví dụ như, trong điều kiện tốt $1m^2$ lá cây trong ruộng có thể đồng hóa đến 4g (có khi đến 6g) CO_2 trong 1 giờ, trong điều kiện xấu - chỉ vài phần gam và có khi tiêu hao hết chất hữu cơ vào hô hấp mạnh.

Thường, cường độ hoạt động quang hợp của lá cây trong ruộng được đặc trưng ở chỉ tiêu hiệu suất quang hợp, nghĩa là số lượng sinh khối chất khô chung do cây tạo thành trong một ngày đêm tính trên 1m^2 lá hoạt động trong ngày ấy.

Có thể tính hiệu suất trung bình của hoạt động của lá trong suốt thời gian sinh trưởng bằng cách lấy khối lượng năng suất sinh học chung tính theo gam (ví dụ, trên hình III.1 nó là 70 tạ hay 7.000.000g) chia cho thể quang hợp của ruộng biểu thị bằng m^2 - ngày (trong trường hợp này là 2 triệu m^2 - ngày).

Do đó, trong ruộng ngô nói trên hiệu suất quang hợp trung bình của lá là 3,5g chất khô trên 1m^2 trong 1 ngày đêm.

Chỉ tiêu này cũng là chỉ tiêu quan trọng về sự hình thành năng suất và có thể thay đổi trong suốt thời gian sinh trưởng từ số không (có khi âm) đến 15 - 18 g/m^2 lá/ngày.

Tính các chỉ tiêu hiệu suất quang hợp (H) trong từng khoảng thời gian bằng cách chia mức tăng khối lượng chất khô ($B_2 - B_1$) trong thời gian T (thường 5 - 10 ngày) cho diện tích lá trung bình $\frac{L_1 + L_2}{2}$.

Do đó
$$H = \frac{B_2 - B_1}{1/2(L_1 + L_2) \cdot T} \quad (2)$$

Tất nhiên, hiệu suất quang hợp (g/m^2) hàng ngày trước hết phải phụ thuộc vào số lượng CO_2 đồng hóa trong quá trình quang hợp của ngày đó (g/m^2). Biểu thị chỉ tiêu đó bằng FCO_2 . Nó được suy từ tiến trình hàng ngày của cường độ quang hợp.

Lấy tổng số đồng hóa CO_2 hàng ngày bằng cách tính diện tích được hạn định giữa đường biểu diễn hàng ngày về cường độ quang hợp và trục hoành, rồi nhân số đó với tỷ lệ quy ước trên đồ thị, ta có chỉ số FCO_2 .

Tuy nhiên, giữa các chỉ tiêu F_{CO_2} và H (hiệu suất quang hợp) không có tỷ lệ nhất định và không thay đổi. Nếu như sản phẩm trực tiếp của quang hợp là glucit và ở cây không có sự tiêu hao vào hô hấp, thì khi đồng hóa trong quá trình quang hợp, mỗi gam hay kilôgam CO_2 , khối lượng sinh khối khô tăng 0,62 – 0,68 (trung bình 0,64) gam hay kilôgam, suy được điều đó từ phương trình thông thường của quang hợp :



$$\text{Tỷ lệ khối lượng : } 1 + 0,41 \rightarrow 0,68 + 0,73$$

Tuy nhiên trong quá trình quang hợp không những chỉ tạo thành glucit, mà còn có các sản phẩm khác. Ngoài ra, một số lượng lớn chất hữu cơ tạo thành trong quá trình quang hợp được cây tiêu dùng ngay vào hô hấp ban ngày cũng như ban đêm, cũng như trong quá trình ngoại thẩm qua rễ, v.v...

Gặp khi nóng, sự tiêu dùng vật chất vào hô hấp có thể rất lớn, còn khi vừa có nhiệt độ cao vừa bị hạn thì hô hấp có thể vượt quang hợp. Trong trường hợp đó, ngay cả khi có tiến hành quang hợp, sự tăng khối lượng chung của sinh khối chất khô vẫn âm. Do đó, tỷ số giữa sự đồng hóa hàng ngày CO_2 và độ tăng khối lượng hàng ngày của sinh khối ở thực vật có thể rất khác nhau. Chúng ta gọi tỷ số ấy là hệ số hiệu quả của quang hợp (K_f). Ý nghĩa vật lý của hệ số ấy là ở chỗ nó cho biết : số lượng sinh khối khô được tạo thành trong một ngày đêm khi đồng hóa 1 kg CO_2 trong ngày ấy.

Trong điều kiện tốt, K_f có thể gần bằng 0,5, vào thời gian không thuận lợi nó giảm tới số không hay số âm thường hay gặp nó bằng 0,3 – 0,5.

Như vậy là, chúng ta có thể biểu thị độ tăng hàng ngày của năng suất trên 1 ha thành tích số của đồng hóa CO_2 hàng ngày (F_{CO_2}), hệ số hiệu quả của quang hợp (K_f) và chỉ số diện tích lá (L) :

$$C = \frac{F_{CO_2} \cdot K_f \cdot L}{1000} = \text{kg/ha/ngày đêm} \quad (3)$$

và mức năng suất sinh học của cây có thời gian sinh trưởng là n ngày – như là tổng của các chỉ tiêu tương ứng :

$$N_{sh} = \frac{(F_{CO_2} \cdot K_f \cdot L)_{1, 2 \dots n}}{100.000} \text{ tạ/ha} \quad (4)$$

Đó là quan hệ phụ thuộc định lượng của năng suất sinh học trong ruộng vào quy mô và hoạt động của bộ máy quang hợp. Chúng ta chỉ xác định mặt định lượng của sự tham gia của quang hợp vào quá trình hình thành năng suất. Nhưng sự hình thành năng suất là quá trình không chỉ về số lượng mà cả về chất lượng. Trong đó thường xuyên xảy ra những thay đổi về dinh dưỡng, tỉ lệ giữa các kiểu dinh dưỡng khác nhau, sử dụng các chất được tạo thành trong quá trình dinh dưỡng tùy theo sinh trưởng. Lúc đầu chủ yếu là sinh trưởng và hình thành cơ quan dinh dưỡng, rồi sau đó – cơ quan sinh sản và dự trữ – những cơ quan này, trong đa số trường hợp, tạo thành phần có giá trị kinh tế của năng suất. Tỷ lệ trong quá trình hình thành các cơ quan thực vật có thể thay đổi nhiều. Khi sinh trưởng chung rất mạnh và khối lượng năng suất sinh học lớn, có thể có năng suất kinh tế rất cao và thấp, có khi rất thấp. Bởi thế, điều quan trọng là làm sao ở mỗi thời kỳ sinh trưởng thích ứng, quá trình phân phối các chất dinh dưỡng và sản phẩm đồng hóa mới tạo thành và quá trình tích lũy được thuận lợi nhất không những chỉ cho việc hình thành năng suất sinh học chung mà cả năng suất kinh tế nữa.

Tỷ số giữa khối lượng các chất được sử dụng để tạo thành phần kinh tế của năng suất với khối lượng năng suất sinh học N_{sh} được ký hiệu là K_{kt} và gọi là hệ số hiệu quả kinh tế của quang hợp.

Cuối cùng, biểu thị chung mối quan hệ phụ thuộc giữa mức năng suất kinh tế với hoạt động quang hợp của thực vật bằng phương trình :

$$N_{sh} = \frac{(F_{CO_2} \cdot L \cdot K_{kt})_{1, 2 \dots n}}{100.000} \text{ tạ/ha} \quad (5)$$

Như vậy, chúng ta đã được một phương trình năng suất, trong đó thấy rõ năng suất cao nhất có thể thu được khi có những điều kiện cực thuận sau đây :

Nhịp điệu sinh trưởng tốt nhất về quy mô của bộ máy quang hợp - diện tích lá (L).

Thời gian lớn nhất (n) về hoạt động mạnh của bộ máy quang hợp trong suốt một ngày đêm và trong suốt thời gian sinh trưởng - nghĩa là chỉ tiêu thể quang hợp của ruộng (m^2 - ngày) có trị số cao nhất.

Trị số cao nhất về cường độ quang hợp (F) và tổng số đồng hóa hàng ngày F_{CO_2} , cũng như hệ số hiệu quả quang hợp cao nhất (K_f).

Và như là kết quả của các nhân tố trên, có hiệu suất quang hợp cao nhất (H) và năng suất chất khô hàng ngày cao nhất (C).

Hệ số hiệu quả kinh tế của quang hợp (K_{kt}) cao nhất.

Tất cả các biện pháp kỹ thuật trồng trọt bao gồm bón phân, tưới nước v. v... phải nhằm thiết lập nên nhịp điệu cực thuận của các quá trình nói trên và làm cho các chỉ tiêu K_f và K_{kt} có trị số cao nhất.

3. Bức xạ Mặt Trời là yếu tố quang hợp

Để tăng hiệu suất quang hợp của thực vật cần biết năng suất tiềm tàng của quá trình quang hợp và hệ số sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời có thể có về mặt lý thuyết. So sánh chúng với các chỉ tiêu thu được trong thực tiễn, có thể suy ra mức độ công tác trong việc tăng năng suất vào một thời gian nhất định, về triển vọng và con đường tăng năng suất. Muốn giải quyết những vấn đề ấy, trước hết cần đánh giá yếu tố cơ bản của năng suất thực vật - năng lượng bức xạ Mặt Trời, động lực của quá trình quang hợp. Tình hình của các yếu tố khác chi phối hiệu suất quang hợp : dinh dưỡng khoáng, chế độ nước, và cả điều kiện cung cấp khí cacbonic, đều có thể thay đổi và điều chỉnh.

Trong việc tăng hoạt tính quang hợp và đặc tính của cây trồng có thể thấy những tiến bộ lớn nhờ tạo được những giống năng suất cao. Và nếu như đánh giá triển vọng của việc tăng hiệu suất quang hợp của thực vật dựa theo những chỉ tiêu ấy thì chúng ta không có cơ sở để đặt ra cho nó những giới hạn bất kỳ nào.

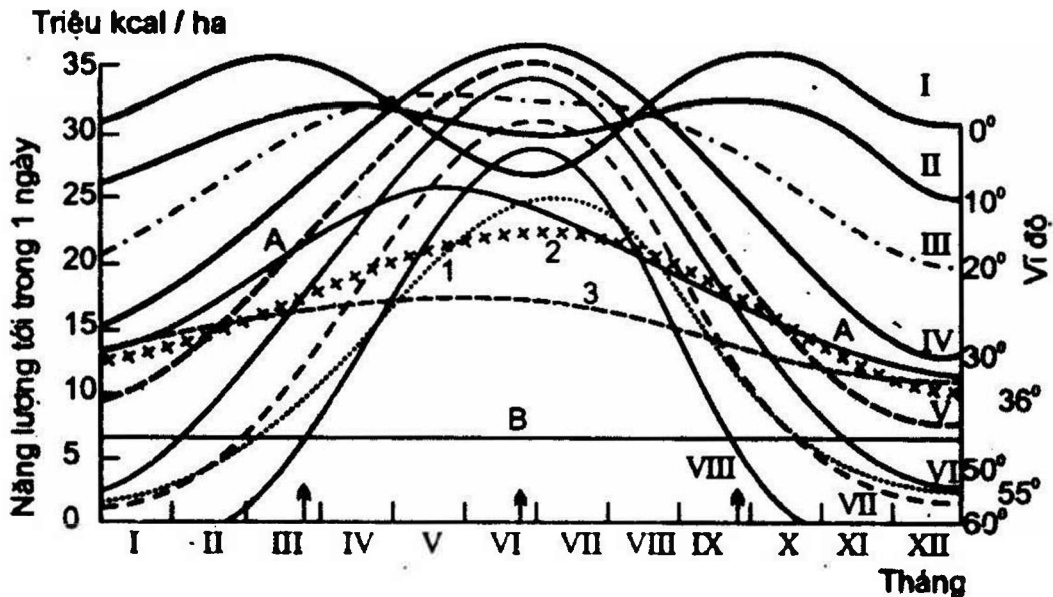
Vấn đề khác là yếu tố ánh sáng. Có thể nói, nếu như có thể đạt một năng suất thực vật nào đó tương ứng với hệ số có thể có về mặt lý thuyết của việc sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời vào quang hợp, thì việc tiếp tục tăng năng suất thực vật dựa trên cơ sở sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời đã thành không thể thực hiện được nữa.

Tuy nhiên các chỉ tiêu hiện nay về năng suất thực vật hãy còn thấp hơn mức ấy, và chưa có cơ sở để nói rằng : trong tương lai sẽ đạt tới giới hạn của khả năng tăng ấy. Ngay nếu như đạt tới giới hạn ấy, thì đã bước vào thời đại mà con người sẽ sử dụng được các dạng năng lượng khác, đặc biệt năng lượng nội nguyên tử, có lẽ là con người có thể dùng nó vào việc tổng hợp nhân tạo một số lượng bổ sung chất dinh dưỡng.

Trên hình III.2 có nêu những số liệu về số lượng hàng ngày của bức xạ Mặt Trời có hoạt tính quang hợp rơi xuống diện tích một ha trong vòng một năm ở các vĩ độ địa lí khác nhau^(*).

Chỉ tính phần năng lượng của bức xạ có hoạt tính quang hợp từ độ dài sóng trong giới hạn 380 đến 720nm. Tuy nhiên không phải tất cả bức xạ nêu trên đó thì đều có thể coi là thuận lợi để đảm bảo quang hợp thực vật tạo thành năng suất. Ví dụ như, miền đồ thị nằm dưới đường B ứng với thời gian ở những vĩ độ tương ứng, mà ở đó thiếu năng lượng hàng ngày của bức xạ Mặt Trời để bảo đảm dinh dưỡng và sinh trưởng của thực vật. Miền đồ thị nằm dưới đường A ứng với thời gian khi ấy ánh sáng Mặt Trời mặc dù đủ nhưng do nhiệt độ thấp không đủ khả năng để cây sinh trưởng mạnh. Do đó, phần năng lượng ấy không có giá trị đối với quang hợp do chế độ nhiệt không thuận.

* Cần nói rằng : đo trực tiếp bức xạ quang hợp hãy còn rất ít. Vì thế, xây dựng các đường biểu diễn I-VIII dựa trên số liệu tính toán về tổng số bức xạ tới hàng ngày đối với ngày nắng khi độ trong của không khí bằng 0,8. Nhân những chỉ tiêu ấy với hệ số 0,5 (tỉ lệ trung bình của năng lượng của những tia có hoạt tính quang hợp $\lambda = 380 - 729$ nm trong dòng bức xạ Mặt Trời tổng số) ; xem A.I. Voelikov (1948), K.I.A Kondratiev (1954) ; X.I. Koxtin và T.V Pokrovskaja (1953).



Hình III.2 - Nhịp điệu năm có thể về số lượng ngày của bức xạ quang hợp Mặt Trời trên các vĩ độ địa lí khác nhau

I-VIII : Đối với khí quyển có độ trong là 0,8,1,2 - đối với khí quyển thực (Maxcova và Tokyo). Số lượng bức xạ trên các đồ thị I-VIII dưới đường B là thiếu đối với quang hợp và sinh trưởng bình thường của thực vật. Số lượng bức xạ ngày trên các đồ thị I-VIII dưới đường A kết hợp với nhiệt độ thấp - vì vậy làm cho số bức xạ ấy cũng không hoạt tính đối với quang hợp bình thường. Đồ thị 3 đối với các đồ thị 1 và 2 cũng tương tự như đồ thị A đối với các đồ thị I-VIII

Trong nhiều trường hợp, một phần năng lượng bức xạ Mặt Trời biểu thị ở miền của đồ thị nằm trên đường A, cũng không thể xem là có giá trị đầy đủ để quang hợp một cách có hiệu quả và bảo đảm cho cây có năng suất cao, vì rằng : một phần năng lượng ấy rơi vào miền đất không được cung cấp đầy đủ nước hoặc hoàn toàn thiếu nước (sa mạc, nửa sa mạc, thảo nguyên).

Tuy nhiên, có thể vượt qua cản trở ấy ở một mức độ nhất định, và khi tính toán, chúng ta thừa nhận năng lượng ấy có thể sử dụng

trong quang hợp. Trong bảng III.1 có nêu những số lượng đặc trưng cho bức xạ quang hợp tới ở các vĩ độ khác nhau.

Đối với miền nhiệt đới, số lượng năng lượng trong thời gian có thể quang hợp là chừng 10 - 7 tỷ kcal/ha, đối với miền á nhiệt đới 7 - 5 tỷ và đối với miền ôn đới 4,0 - 1,0 tỷ kcal/ha.

Chúng ta hãy đánh giá hiệu quả năng lượng có thể có cho quang hợp của thực vật trong trường hợp đạt năng suất cao nhất đã đạt được của các loài cây hay các quần thể cây khác nhau ở các miền địa lý khác nhau. Có ý kiến cho rằng độ tăng khối lượng sinh khối hằng năm của rừng nhiệt đới ẩm là 60 tấn/ha. Năng suất sinh học của cây mía trồng trong miền á nhiệt đới và nhiệt đới đạt tới 40 tấn/ha với thời gian sinh trưởng 210 - 240 ngày. Năng suất sinh khối của cây ngô cũng như của cây củ cải đường trong miền á nhiệt đới và vùng nam miền ôn đới, đạt tới 20 - 30 tấn/ha ; năng suất cao của khoai tây vùng trung bộ miền ôn đới là 15 tấn/ha. Nếu thừa nhận nhiệt lượng của sinh khối do cây tích lũy bằng 4000 kcal/ha thì với những năng suất ấy, hệ số sử dụng bức xạ Mặt Trời tới quả đất tại các vĩ độ khác nhau trong thời gian sinh trưởng có thể tương ứng với trị số 2,0 - 3,0% (bảng III.2).

Bảng III.1 : Tổng số bức xạ tới có hoạt động quang hợp trong thời gian có thể trồng trọt (FAR)

Vĩ độ địa lý (độ)	FAR (tỷ kcal/ha/mùa)
70	2,0 - 1,0
60	3,5 - 2,0
50	5,0 - 3,5
40	6,0 - 4,5
30	9,0 - 6,0
20	} 10,0 - 9,0
10	
0	

Bảng III.2. Hệ số sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời trong trường hợp năng suất cao đã đạt được

Quần thể hay ruộng	Năng lượng tới trung bình trong thời gian sinh trưởng (tỉ kcal/ha)	Sự tích lũy trong mùa		Hệ số sử dụng (%)
		sinh khối (tấn/ha)	năng lượng (triệu kcal/ha)	
- Rừng nhiệt đới (0 - 20°)	10	60	240	2,5
- Cây mía (10 - 25°)	8	40	150	1,9
- Cây ngô, củ cải đường (40 - 50°)	4	20 - 25	84	2,0
- Khoai tây (50 - 55°)	3	15	60	2,0

Tuy nhiên các hệ số nêu ở trong bảng 12 đặc trưng cho năng suất cao. Trong đa số trường hợp, hệ số sử dụng quang năng vào năng suất chỉ là 0,5 - 1,0%. Điều đó là do nhiều nguyên nhân : ruộng thiếu nước, thiếu dinh dưỡng khoáng, vì vậy thời gian sinh trưởng thực trong nhiều trường hợp ngắn hơn thời gian sinh trưởng tiềm tàng có thể có, và cuối cùng còn có thiếu sót về kỹ thuật và chưa nắm được quy luật xây dựng những ruộng có khả năng sử dụng năng lượng Mặt Trời vào quang hợp với hệ số tác dụng có ích có thể có về mặt lý thuyết.

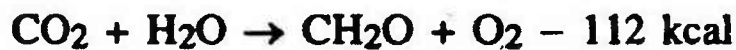
Thế thì hệ số tác dụng có ích có thể có về mặt lý thuyết ấy là bao nhiêu ?

Có thể có một khái niệm về điều đó, nếu như biết được số lượng năng lượng của bức xạ Mặt Trời có thể hút thu trong thời gian sinh trưởng của ruộng hoàn thiện nhất về cấu trúc và nhịp điệu phát triển, ruộng ấy có thể sử dụng năng lượng hút thu vào quang hợp với hệ

số tác dụng có ích là bao nhiêu ? nghĩa là biến đổi nó thành năng lượng của các liên kết hóa học trong chất hữu cơ mới tạo thành.

Về hệ số sử dụng năng lượng hút thu trong quang hợp, chúng ta có thể xuất phát từ chỗ cho rằng : trong trường hợp cực thuận quang hợp có thể tiến hành khi tiêu hao 8 quang tử (Robinowits, 1961). Trong đó chỉ số Einstein của bức xạ có hoạt động quang hợp, trung bình đối với phổ Mặt Trời có thể cho là bằng 50 kcal/phân tử gam CO₂. Do đó khi tiêu hao 8 quang tử trong quang hợp để đồng hóa một phân tử gam CO₂ (44g) phải hút 400 ngàn kcal năng lượng bức xạ Mặt Trời.

Theo phương trình quang hợp :



Khi đồng hóa một phân tử gam CO₂, trong sản phẩm quang hợp tích lũy được 112 kcal, con số này gần bằng 36% của 400 ngàn (năng lượng hút thu). Đó là hệ số có thể, có về mặt lí thuyết về việc sử dụng năng lượng bức xạ hút thu trong quang hợp, hệ số ấy có thể gặp ở những thí nghiệm trong thời gian ngắn và ở cường độ ánh sáng không cao. Trong suốt ngày đêm cây tiêu dùng một phần năng lượng ấy vào hô hấp và hệ số thực tế sử dụng năng lượng hút thu trong quang hợp thấp hơn hệ số trên rất nhiều.

Như trên đã nói, ruộng lý tưởng có thể hút gần 50% năng lượng bức xạ Mặt Trời tới trong thời gian sinh trưởng có thể có. Trong đó, hệ số sử dụng có thể có về mặt lí thuyết của năng lượng bức xạ tới có thể bằng 10%. Đó là hệ số, dựa trên cơ sở thừa nhận rằng sự tiêu dùng quang tử của quang hợp bằng 8 ở tất cả mọi cường độ ánh sáng. Tuy nhiên, sự tiêu dùng quang tử ở cường độ ánh sáng cao tăng đến 20 - 40 và cao hơn nữa. Điều đó sẽ được trình bày sau này ; đối với điều kiện tốt, sự tiêu dùng quang tử có thể bằng 16 - 20. Hệ số sử dụng có thể có về mặt lí thuyết đối với năng lượng FAR không phải bằng 10% mà chỉ chừng 5%.

Trong bảng III.3 có nêu các số liệu có thể có về mặt lý thuyết đối với năng suất sinh học trong điều kiện ấy, cây có thể cho chúng ta năng suất này ở ruộng lý tưởng tại các miền địa lý khác nhau – năng suất ấy thường là 3 – 5 tấn/ha và trong trường hợp tốt đến 8 – 10 tấn/ha.

Bảng III.3 : *Mức năng suất sinh học của thực vật có thể có về mặt lý thuyết ở các miền địa lý khác nhau khi sử dụng được 5% năng lượng tới*

Vĩ độ địa lý (độ)	Năng lượng tới của bức xạ Mặt Trời (tỷ kcal/ha)	Năng suất sinh học lý thuyết (tấn/ha)
60 – 70	2,0 – 1,0	25 – 12
50 – 60	3,5 – 2,0	40 – 25
40 – 50	5,0 – 3,5	70 – 40
30 – 40	6,0 – 4,5	75 – 55
20 – 30	9,0 – 6,1	110 – 75
0 – 20	10,0 – 9,0	125 – 110

4. Tăng diện tích lá trong ruộng là một yếu tố của năng suất

Như trên đã nói, một trong những điều kiện quan trọng nhất của năng suất cao của ruộng là làm thế nào để nó hút được một số lượng lớn có thể có của năng lượng bức xạ Mặt Trời. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh : điều đó liên quan nhiều với quy mô diện tích lá trong ruộng.

Ruộng của những loại cây khác nhau có chỉ tiêu rất giống nhau về hệ số hút thu bức xạ quang hợp phụ thuộc vào diện tích lá. Điều chủ yếu là, tăng diện tích lá đến 30 – 40.000 m²/ha có liên quan với sự tăng mạnh hệ số hút thu, còn tiếp tục tăng diện tích lá lên nữa thì lại có ít hiệu quả. Số liệu tương tự, cũng như số liệu so sánh mức năng suất với diện tích lá cực đại – diện tích lá này đã được nghiên cứu ở các ruộng tương ứng – cho ta cơ sở để nói rằng : diện tích lá

gần 30 – 40.000 m²/ha là đủ để thu được năng suất sinh khối hàng ngày cao trên 1 ha ruộng tương ứng với năng suất cao (Nitsiporovits, 1956).

Tuy nhiên, đó chỉ là tính gần đúng bước đầu để giải quyết vấn đề ảnh hưởng của nhịp điệu hình thành, quy mô và hoạt động của bộ máy quang hợp đến năng suất. Trong vấn đề này, có nhiều chi tiết và đặc điểm đặc thù và quan trọng. Trong việc đánh giá chúng, dưới đây chúng ta chỉ xuất phát từ chỗ cho rằng : nhịp điệu hình thành bộ máy quang hợp của thực vật trong ruộng – ở đó diện tích lá đạt tới 40.000 m²/ha là gần cực thuận và có thể bảo đảm năng suất cao với hệ số khá cao về sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời.

Xuất phát từ tình hình đó, chúng ta hãy phân tích ý nghĩa của thời gian sinh trưởng của ruộng hoàn thiện về cấu trúc coi đây là điều kiện quyết định năng suất.

Thời gian sinh trưởng của mỗi cây một khác, ngay trong giới hạn của miền ôn đới, thời gian đó cũng thay đổi từ 75 – 80 ngày (thí dụ ở lúa mì xuân) đến 120 – 180 ngày (ở các giống ngô chín muộn, củ cải đường, lúa, bông).

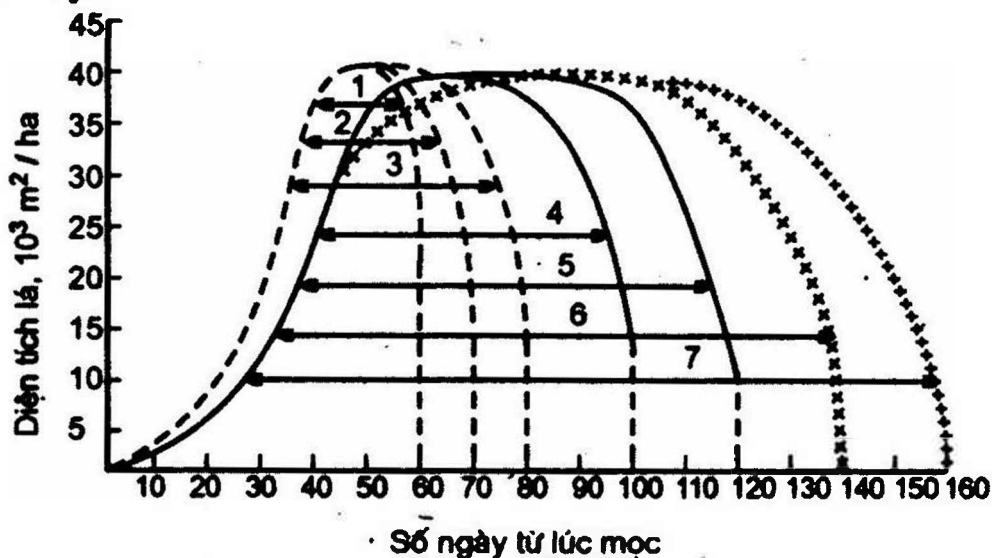
Trên hình III.3 có vẽ các đồ thị tăng diện tích lá đối với những cây có thời gian sinh trưởng khác nhau nhưng có chỉ tiêu cực đại về diện tích lá như nhau – 40.000 m²/ha. Dựa trên tính toán bằng đồ thị đã xác định được chỉ tiêu có thể về thể quang hợp của những ruộng ấy, chỉ tiêu đó có thể thay đổi trong giới hạn từ 1, 2 triệu đến 4,5 triệu m² – ngày.

Nếu thừa nhận chỉ tiêu trung bình về hiệu suất quang hợp thuận của những ruộng ấy là 5 g/m²/ngày (như thường thấy) thì trong những điều kiện ấy có thể cho rằng : những loại ruộng tương tự có thể cho năng suất sinh học từ 6 đến 22 – 25 tấn/ha – có thể xem mức năng suất này là rất cao.

Thu được mức năng suất thấp hơn thường do diện tích lá của ruộng vào thời kỳ phát triển cực đại bé hơn nhiều so với trị số 40.000 – 50.000 m²/ha ; nó thường là 15.000, 20.000, trong nhiều trường hợp chỉ là 8000 – 10.000 m²/ha. Số liệu tương ứng về thể quang hợp nhiều khi chỉ bằng 0,5 – 1,0 triệu m² – ngày.

Ngoài ra, thường chỉ tiêu trung bình về hiệu suất quang hợp thuần chỉ bằng 2 – 4 g/m²/ngày. Do đó, chỉ nhận được năng suất sinh học thấp là 2 – 4 tấn/ha.

Cho nên, trong công tác tăng năng suất thực vật cần lưu ý trước hết đến việc làm thế nào để ruộng đạt được chỉ tiêu cao hơn có thể có về thể quang hợp. Đối với những cây chín sớm, chính phải bằng ít ra là 1,5 – 2,0 triệu m² – ngày, đối với cây chín trung bình 2,5 – 3,0 triệu m² – ngày, đối với cây chín muộn 3,0 – 5,0 triệu m² – ngày. Tuy nhiên chưa nên khẳng định rằng không thể tăng hơn nữa những chỉ tiêu này.



Hình III.3 – Biểu đồ cực thuận về sinh trưởng của diện tích lá đối với ruộng cây có độ dài mùa dinh dưỡng khác nhau.

Đối với mỗi trường hợp có dẫn ra chỉ số thể năng diện tích lá (m²/ngày) = 1.1,22.10⁶ ; 2.1,58.10⁶ ; 3.1,90.10⁶ ; 4.2,31.10⁶ ; 5.3,00.10⁶ ; 6.3,71.10⁶ ; 7.4,40.10⁶

Xét vấn đề về mặt nguyên tắc, có thể thấy rằng trong giới hạn của một loài cây chín sớm, có thể đạt được điều trên bằng hai cách :

thứ nhất, bằng cách làm nhanh nhịp độ sinh trưởng đầu của diện tích lá và làm nó tăng nhanh nhất đến mức cực đại ; thứ hai, bằng cách tăng mức cực thuận, ví dụ tăng đến 50.000 – 60.000 m²/ha, và còn có thể tăng hơn nữa.

Ta hãy xét trước vấn đề ý nghĩa của tốc độ tăng diện tích lá trong ruộng. Hóa ra là, trong sự hình thành ruộng cực thuận về mặt cấu trúc, có thể nhằm hướng làm thế nào cho diện tích lá của ruộng, sau khi nảy mầm, tăng nhanh hơn nữa. Tuy nhiên, nguyên tắc ấy có nhiều giới hạn đặc thù.

Vấn đề là ở chỗ : tùy theo mức tăng diện tích lá và độ khép tán cây của ruộng, chế độ bức xạ thay đổi, vì trước hết có sự che chắn lẫn nhau của lá và giảm độ chiếu sáng ở những lá tầng giữa và tầng dưới. Đồng thời cây có nhu cầu đặc trưng về điều kiện chiếu sáng trong các thời kỳ sinh trưởng khác nhau, sự thay đổi của độ chiếu sáng trong thảm cây phải không mâu thuẫn với nhu cầu ấy của thực vật. Một số cây có nhu cầu rất đặc biệt về điều kiện chiếu sáng trong thời kì làm đòng và hình thành cơ quan sinh sản. Vì thế, sự tăng quá nhanh diện tích lá trong ruộng và sự khép kín lá quá nhanh là thuận lợi đối với việc tăng năng suất chung về sinh học có thể trở thành yếu tố tiêu cực đối với năng suất của các cơ quan sinh sản – những cơ quan chúng ta cần thu hoạch đối với nhiều loại cây. Điển hình về ảnh hưởng tiêu cực của sự tăng nhanh diện tích lá trong ruộng đối với năng suất hạt ngô được trình bày ở hình III.4.

Mật độ gieo và trồng là một trong những yếu tố mạnh nhất chi phối nhịp điệu đầu và cuối của sự hình thành diện tích lá trong ruộng.

Vì mục đích của công tác tăng tổng năng suất thực vật là làm thế nào cho ruộng cây hút được nhiều nhất năng lượng bức xạ Mặt Trời và sử dụng tốt nhất năng lượng đó vào quang hợp, cho nên cần làm thế nào để nhịp điệu hình thành bộ máy quang hợp trong ruộng phù hợp nhất với nhịp điệu thay đổi theo mùa vụ của chế độ bức xạ.

Ở cây ngô vào thời kỳ chiếu sáng tốt nhất, diện tích lá trong ruộng không nhiều và tỷ lệ hút thu năng lượng bức xạ Mặt Trời của ruộng rất thấp. Vào thời kỳ mà diện tích lá ngô đạt tới trị số cực thuận thì điều kiện của chế độ bức xạ lại xấu rõ rệt, nhất là trong ruộng đã khép kín, do đó hoạt động quang hợp của lá ruộng giảm nhiều và chỉ tiêu hiệu suất quang hợp thuần cũng giảm. Bởi thế cần chú ý rằng đa số cây trồng trong miền ôn đới là những cây có nguồn gốc ở các miền khác nhau (miền núi, miền khô hạn, miền á nhiệt đới và nhiệt đới) với các điều kiện sinh thái khác nhau. Vòng phát triển của những cây trồng ấy rất thích nghi với điều kiện sống tự nhiên của chúng. Tại đây vòng phát triển ấy là thuận lợi về mặt sinh học nhưng trong miền mới cây trồng có nhiều thiếu sót.

Chuyên môn hóa cao độ các cây trồng và các giống có vòng phát triển thích nghi nhất với chu kỳ khí hậu của miền là một trong những biện pháp quan trọng nhằm tăng hệ số sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời trong việc hình thành năng suất quang hợp của thực vật. Tại những nơi mà điều kiện cho phép có thể dùng những biện pháp sau đây để đạt mục đích trên : gieo dầy hỗn hợp các loại cây khác nhau, gieo gối và gieo ngay sau khi thu hoạch để thu hoạch được 2 vụ trong một năm. Điều này đặc biệt quan trọng đối với những miền có thời gian sinh trưởng dài và đủ nước.

Trong những miền có thời gian sinh trưởng ngắn, việc gieo trồng những cây trồng có thể gieo (trồng) sớm nhất (có thể gieo ngay trong mùa đông hay vào cuối mùa đông) có thể có ý nghĩa quan trọng.

Tất cả những biện pháp ấy có thể là biện pháp có hiệu quả nhằm tăng hệ số sử dụng yếu tố quan trọng nhất của sự hình thành năng suất – bức xạ Mặt Trời.

Thực tế, giải quyết chủ yếu nhiệm vụ tăng năng suất thực vật, trong rất nhiều trường hợp theo con đường tăng diện tích lá.

Nhưng trong trường hợp cần tiếp tục tăng năng suất tại những nơi có trình độ kỹ thuật cao hơn và diện tích lá trong ruộng đạt trên 30.000

m^2/ha , thì cần giải quyết một nhiệm vụ khó khăn hơn : cần kết hợp việc tăng diện tích lá trong ruộng không chỉ với việc giữ mức ban đầu mà với sự tăng cả cường độ và hiệu suất quang hợp, hệ số kinh tế (K_{kt}) của nó.

Do đó, trong những công trình nghiên cứu nhằm tăng năng suất thực vật cần tăng chỉ tiêu hiệu suất quang hợp thuần của thực vật và đặc biệt là tính ổn định của chỉ tiêu này khi tăng diện tích lá. Điều đó tạo khả năng tăng một cách có hiệu quả mức phát triển của bộ máy quang hợp trong ruộng – diện tích lá và chỉ tiêu thế quang hợp của thực vật.

5. Cấu trúc của ruộng là một hệ quang học

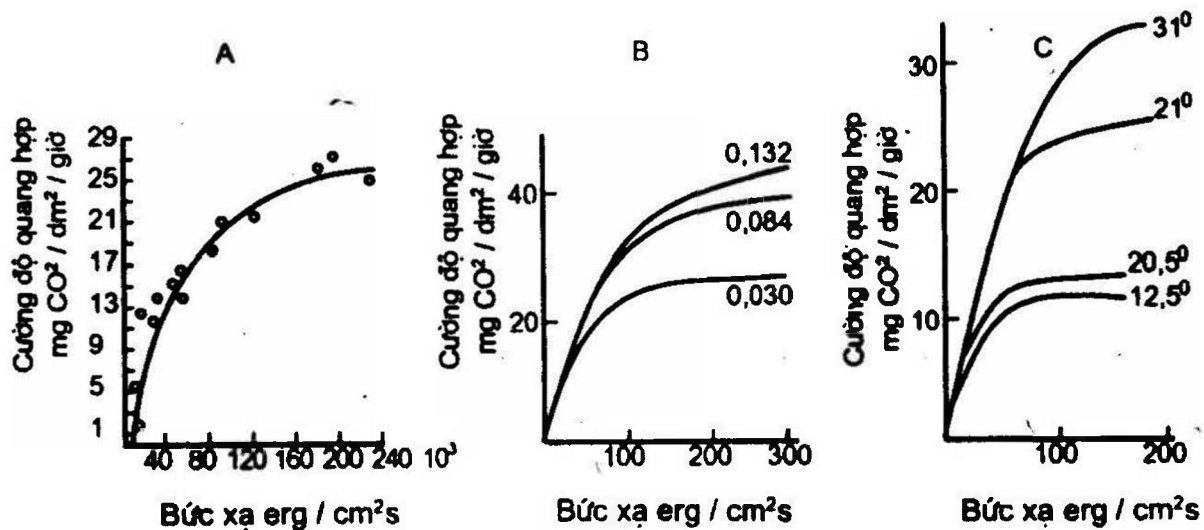
Vấn đề mối tương quan giữa diện tích lá và cường độ và hiệu suất quang hợp có ý nghĩa rất quan trọng. Những nghiên cứu chuyên đề làm trong phòng thí nghiệm của Nisiporovits và Sen-in, 1959 cho thấy rằng, sự đồng hóa các nguyên tố khoáng của thực vật có liên quan chặt chẽ với quang hợp : nó chỉ xảy ra mạnh khi có quang hợp.

Tùy theo mức tăng diện tích lá trong ruộng, sự giảm độ chiếu sáng và giảm quang hợp có thể làm xấu khả năng đồng hóa các nguyên tố dinh dưỡng khoáng. Ví dụ một loài cây giả thuyết nào đó có lá nằm ngang phân bố trên cùng một tầng, tầng này đến một lúc nào đó tạo thành trong ruộng một lớp ngang liên tục với diện tích tổng cộng là $10.000m^2/ha$. Lớp lá này hút nhiều (đến 85 – 90%) bức xạ quang hợp rơi lên nó, nhưng do quy mô hạn chế nó không thể thực hiện được một công quang hợp tổng cộng lớn.

Điều đó hãy còn do : vào những giờ giữa trưa nắng^(*) bản lá được chiếu sáng thừa ứng với đoạn nằm ngang của đường biểu diễn ánh

(*) Cường độ ánh sáng lúa giữa trưa vào ngày không có mây mù tính trung bình có thể bằng $0,6 \text{ cal/cm}^2/\text{phút}$ hay $420.000 \text{ ec/cm}^2\text{s}$.

sáng quang hợp (hình III.5) còn vào giờ buổi sáng hiệu quả tác dụng của ánh sáng Mặt Trời đối với quang hợp thấp và bị giảm do : tia nắng rơi lên bản lá theo một góc lớn và độ chiếu sáng của mặt phẳng ngang của chúng bị giảm tỷ lệ với cosin góc tới của tia sáng. Loại



Hình III.4. – Đồ thị ánh sáng của quang hợp ở những cây nông nghiệp khác nhau. A - Khoai tây trong điều kiện đồng ruộng (theo Strogonova) ; B - Củ cải đường (ở các nồng độ CO₂ khác nhau). C - Cà chua (ở các nhiệt độ khác nhau) (Gaastra, 1959).

ruộng tương tự còn có một thiếu sót nữa là : trong đó không thể tạo nên một lớp lá thứ hai, vì "lớp đơn" liên tục không chừa lại năng lượng Mặt Trời với số lượng đủ cho hoạt động sống bình thường của lớp tiếp liền dưới đó.

Có thể so sánh loại ruộng nói trên với loại ruộng trong đó lá cây phân bố thực thẳng đứng. Trong loại ruộng này, nhất là khi cây khá cao, có thể bao gồm nhiều tầng lá – tổng cộng lại chúng có thể có diện tích lớn gấp 8 – 10 lần bề mặt của "lớp đơn" lá trong ruộng giả thuyết nêu trên. Trong đó, ánh sáng xuyên xuống sâu khá tốt vào khối tán dày và chiếu sáng lên lá tuy có yếu đi ít nhiều nhưng cũng đủ để quang hợp. Bởi thế, quang hợp của lá trong ruộng này yếu hơn

2 – 5 lần. Nhưng nhờ có diện tích lá lớn gấp 8 – 10 lần loại ruộng thứ nhất nên công quang hợp tổng số vẫn lớn hơn nhiều. Thực ra, loại ruộng này vẫn có thiếu sót : do vị trí đứng thực thẳng của lá. nó hút ánh sáng tới chưa hoàn hảo.

Do đó, có thể hình dung loại ruộng lý tưởng có đặc tính trung gian trong đó lá tầng trên phải thẳng đứng hoặc gần như thế và cho ánh sáng xuyên qua khá tốt đi vào khối tán lá – tại đây nó phải được những lá có hướng không gian gần nằm ngang hút thu.

Nitsporovits đã chứng minh rằng : trong ruộng cây có diện tích lá gần bằng $40.000 \text{ m}^2/\text{ha}$, chừng 50% diện tích phiến lá xếp theo hướng tạo với mặt phẳng ngang một góc $90 - 60^\circ$, 37% - góc $30 - 60^\circ$ và 30% - góc $30 - 0^\circ$.

Với sự định hướng không gian như vậy, các hình chiếu của phiến lá có thể phân bố trên mặt cầu ghi trong khối tán. Điều đó có nghĩa rằng : các phiến lá trong ruộng chiếm tất cả các vị trí có thể có đối với bầu trời, tuy nhiên những lá đứng thẳng chiếm ưu thế. Đó là một trong những kiểu cấu trúc ruộng thuận lợi.

Chúng ta cũng gặp những ruộng và vườn cây có lá nằm ngang chiếm ưu thế (bí ngô, hướng dương...) hoặc là đứng thẳng (các loại huệ, hành tỏi). Ngoài ra, có ruộng và quần thể có cây cao và thấp. Trong đó một số cây có khả năng tạo nên quần thể năng suất cao, hoàn thiện ít nhiều về cấu trúc, một số khác không có khả năng ấy

Các nhà nghiên cứu Nhật Bản đã thử đánh giá năng suất có thể đạt được của quần thể của một số cây, dựa vào việc đánh giá cấu trúc và đặc tính quang học của ruộng (Monsi, Saeki, 1953 ; Saeki, Kuroiwa, 1959 ; Saeki, 1960).

Để làm việc đó, họ dùng phương pháp xác định theo tầng (cứ 10cm theo chiều thẳng đứng là một tầng) sự xuyên thấu của ánh sáng vào ruộng ; ngoài ra họ tính khối lượng sinh khối và diện tích lá trong mỗi tầng bằng phương pháp cắt, theo tầng, các cơ quan thực vật.

Trong những ruộng mà phần lớn lá tập trung ở tầng trên và lá chủ yếu hướng nằm ngang thì hệ số tắt của ruộng phải cao và sự giảm cường độ ánh sáng, do đó cả quang hợp sẽ rất mạnh. Trong loại ruộng như vậy diện tích lá cực đại có thể (hay cực thuận) sẽ không lớn (hình III.5).

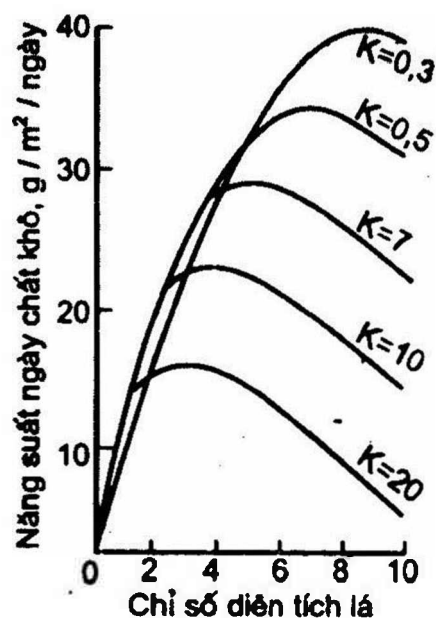
Khi phân bố diện tích lá đồng đều hơn trong không gian của ruộng và ánh sáng trong tán lá thì hệ số tắt sẽ bé hơn (K), diện tích lá cực đại hay cực thuận sẽ cao hơn, do đó năng suất hàng ngày của sinh khối sẽ cao hơn.

Vấn đề coi ruộng là một hệ quang học hoàn chỉnh, vấn đề cấu trúc cực thuận của chúng là những vấn đề mới, vì còn chưa được phổ cập rộng. Tuy nhiên vấn đề này rất quan trọng. Cần phải làm cho các nhà nghiên cứu chú ý nghiên cứu nó kỹ hơn và tìm các biện pháp làm hoàn thiện và cải tiến cấu trúc của ruộng cây. Một trong các biện pháp ấy là chọn lọc định hướng một cách tự giác những giống cây có khả năng tạo thành quần thể hoàn thiện nhất.

Các nhà nghiên cứu Anh (Walson, Witt, 1959) đã xác định rằng, tùy theo mức độ cải lương giống củ cải đường bằng con đường chọn giống và tăng năng suất, cụm lá trước đó nằm bò trên mặt đất đã thay đổi thành dạng hình phễu và giống củ cải trở nên có khả năng tạo thành những quần thể hoàn thiện hơn.

6. Hệ số thực tế có thể có của việc sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời vào quang hợp và hình thành năng suất

Để soi sáng vấn đề ý nghĩa của cấu trúc ruộng như một hệ quang học hoàn chỉnh, chúng ta có thể quay trở lại đánh giá hệ số có thể

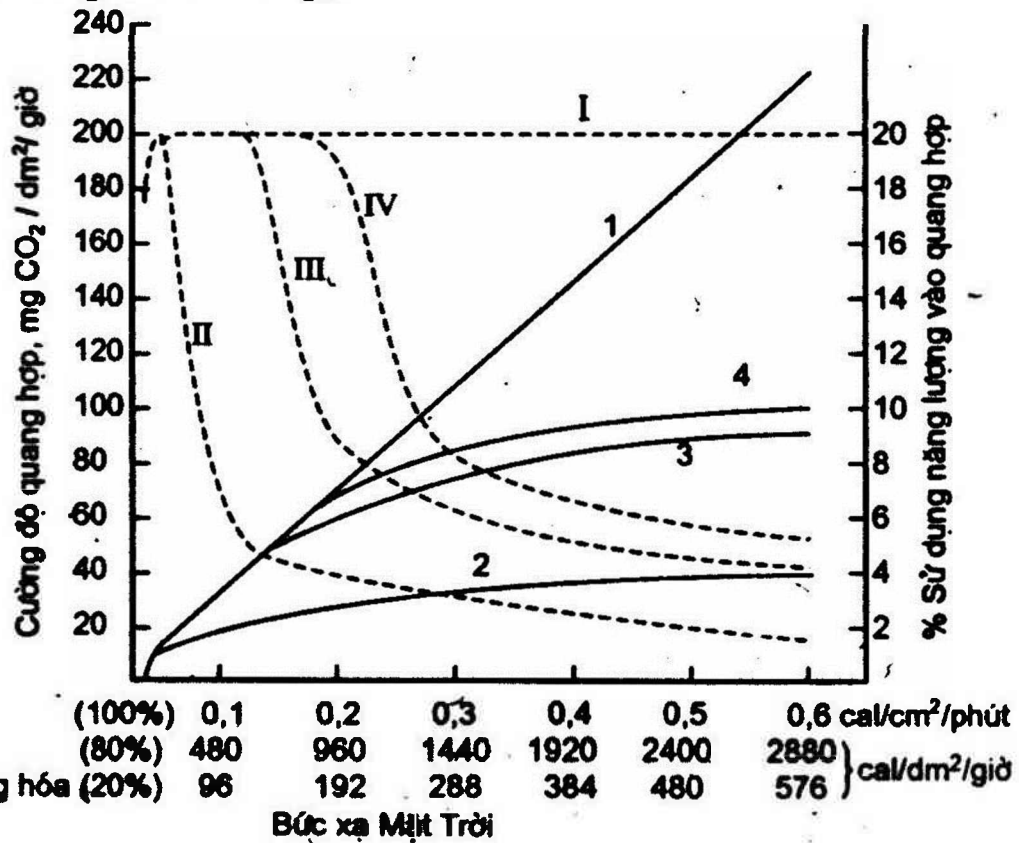


Hình III.5. – Năng suất chất khô ngày tính ra ở các mức diện tích lá khác nhau trong quần thể có hệ số tắt (K) khác nhau (Saeki, 1960)

có vẻ sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời trong quang hợp và hình thành năng suất.

Về hệ số hút thu năng lượng ánh sáng tới ruộng, chúng ta đã nói ở phần trên ; ruộng có cấu trúc hoàn thiện, diện tích lá đạt trên $40.000\text{m}^2/\text{ha}$, có thể hút trung bình 50% quang năng tới.

Nếu nói về sự sử dụng năng lượng hút thu vào quang hợp thì về mặt lý thuyết, có thể quang hợp tiêu dùng 8 quang tử, do đó sự sử dụng năng lượng ánh sáng, về mặt số lượng, gần bằng 20% (đã trừ phần tiêu dùng vào hô hấp).



Hình III.6 - Đồ thị ánh sáng của quang hợp

1. Khi hiệu suất 8 quang tử của quang hợp đối với tất cả mọi cường độ ánh sáng.
 2. Đồ thị ánh sáng thường quan sát thấy của những cây trồng hiện nay.
 - 3, 4. Đồ thị ánh sáng có thể của các giống tương lai khi trồng chúng trong điều kiện tốt.
- I - IV - đồ thị của hệ số sử dụng quang năng vào quang hợp khi quang hợp tương ứng với các đồ thị 1-4.

So sánh đường biểu diễn sáng lý thuyết của quang hợp với đường biểu diễn quan sát thấy trong thực tế (hình III.6) chúng ta thấy : ít

tin được là việc sử dụng năng lượng ánh sáng của lớp đơn lá chỉ tiêu dùng 8 quang tử ở cường độ ánh sáng cao, vì điều đó đòi hỏi phải có những chỉ tiêu quang hợp khác xa với chỉ tiêu quan sát được trong thực tế.

Tuy nhiên, cũng ánh sáng có thể rơi trên ruộng có lớp đơn lá giả thiết lại rơi trên ruộng có cấu trúc hoàn thiện, có diện tích lá bằng $40.000 - 50.000\text{m}^2/\text{ha}$ và có khả năng còn lớn hơn, thì ruộng này có thể hút năng lượng ánh sáng không ít hơn "lớp đơn" giả thiết. Năng lượng Mặt Trời xuyên sâu vào khối dày của ruộng, chiếu sáng một diện tích lá lớn gấp 4 - 5 lần diện tích "lớp đơn".

Ta cho rằng, độ chiếu sáng trung bình lên phiến lá bị giảm tương ứng 3 - 5 lần. Và mỗi mét vuông lá quang hợp với cường độ thấp hơn 2 - 3 lần, nhưng ở đây $4 - 5\text{m}^2$ phiến lá trên 1m^2 ruộng sẽ đồng hóa nhiều CO_2 hơn so với 1m^2 lá của "lớp đơn". Điều đó có nghĩa là : năng lượng bức xạ Mặt Trời rơi xuống ruộng được sử dụng với hệ số tác dụng có ích cao hơn.

Đó là do : quang hợp tiến hành ở cường độ ánh sáng thấp sẽ có hệ số sử dụng quang năng cao hơn so với quang hợp ở cường độ ánh sáng cao (hình III. 6).

Từ những số liệu trên hình III.6, chúng ta thấy rằng, nếu như giống cây trồng có đường biểu diễn ánh sáng của quang hợp gần giống đường 4 và độ chiếu sáng lên lá trong tán thay đổi trong giới hạn không quá $0,30\text{ cal/cm}^2/\text{phút}$ hay 50% bức xạ Mặt Trời giữa trưa thì hệ số sử dụng ánh sáng vào quang hợp thay đổi trong giới hạn 10 - 20% và ruộng xét toàn bộ, sẽ hoạt động với hệ số tác dụng có ích gần bằng hệ số có thể có về mặt lý thuyết.

Tuy nhiên có thể thu được những chỉ tiêu cao về hệ số tác dụng có ích của quang hợp của ruộng trong những ruộng hoàn thiện, có cấu trúc tốt và phân bố ánh sáng tốt trong khối dày của ruộng. Nhưng tình huống ấy của ruộng là hiện tượng nhất thời.

Trước lúc ấy, trong ruộng thường có diện tích lá thấp. Lá trung bình được ánh sáng mạnh hơn chiếu sáng, bởi vậy hệ số sử dụng ánh sáng hút thu ở chúng có thể thấp hơn. Những tính toán thực tế đã xác nhận điều đó, tính toán ấy cho thấy hệ số sử dụng ánh sáng hút thu trong quang hợp cao nhất vào thời kỳ khép kín tán lá (theo tài liệu của S.N. Smor). Chính trong thời kỳ ấy có thể đạt hệ số gần bằng hệ số lý thuyết có thể. Tính trung bình cho toàn thời gian sinh trưởng, có thể là chúng có trị số bé hơn (8 – 10%), do đó có thể thu được hệ số sử dụng năng lượng tới trong toàn thời gian sinh trưởng là 5%. Nhưng trong trường hợp ấy năng suất sẽ lớn gấp nhiều lần năng suất trung bình và cả năng suất cao hiện nay, chúng sử dụng năng lượng Mặt Trời với hệ số 0,25 – 1% và chỉ trong trường hợp tốt 2 – 3%.

Tuy nhiên chưa nên xem những năng suất ấy là năng suất giới hạn. Nếu như trong tương lai, trong trồng trọt sẽ dùng các giống cây có khả năng thực hiện quang hợp trong những điều kiện kỹ thuật tốt – có thể trong những điều kiện đặc biệt, tương ứng với đường 4 trên hình III.6, thì hệ số sử dụng năng lượng ánh sáng thu hút có thể tăng, đối với những ruộng có cấu trúc tốt tới 16 – 18%, và hệ số tổng cộng của toàn thời gian sinh dưỡng, hầu như tới 8 – 9%.

Để làm điều đó cần phải đưa vào trồng trọt những loại hình và giống cây có khả năng tạo được những ruộng hoàn thiện hơn về cấu trúc, có hoạt tính quang hợp cao và đường biểu diễn quang hợp dựa theo khả năng làm mất phân nằm ngang của đường biểu diễn.

7. Những mức cung cấp cần thiết cho ruộng về dinh dưỡng khoáng và nước

Dựa vào các kết quả dẫn ở trên, chúng ta có thể xác định một khái niệm về các điều kiện cần thiết để tạo nên năng suất có thể sử

dụng 5% năng lượng bức xạ Mặt Trời. Những mức năng suất ấy trước hết thay đổi theo số năng lượng tới của bức xạ mặt Trời. Hoàn toàn rõ ràng là, muốn thu được những mức năng suất khác nhau cần cung cấp cho ruộng những mức khác nhau về dinh dưỡng khoáng và nước.

Chúng ta biết rằng, không thể thu được năng suất sinh học 15 tấn sinh khối khô nếu không bảo đảm cho cây đồng hóa được ít nhất là 225 kgN và 775 kg tổng số các nguyên tố tro (vì hàm lượng đạm trong chất khô là 1,5%, còn hàm lượng các nguyên tố khác của dinh dưỡng khoáng là 5%). Nếu như ruộng không được cung cấp các nguyên tố dinh dưỡng khoáng tương ứng thì không thể sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời với hệ số đặt ra là 5%.

Đồng thời, đồng hóa một số lượng lớn như trên các nguyên tố dinh dưỡng khoáng đòi hỏi những điều kiện rất tốt về quang hợp và trước hết là ruộng phải có cấu trúc hoàn thiện, cây phải có hoạt tính quang hợp tự nhiên cao.

Do đó, khi đặt nhiệm vụ tăng hiệu suất quang hợp thực vật và hệ số sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời trong quang hợp, trước hết phải bảo đảm cho ruộng những điều kiện tương ứng với nhịp điệu về năng lượng tới của bức xạ Mặt Trời và với năng suất đặt ra theo những hệ số sử dụng quang năng cần thiết. Đó là những điều kiện về dinh dưỡng khoáng và chế độ cung cấp nước. Ở những ruộng cực thuận về nhịp điệu phát triển và cấu trúc, năng lượng bức xạ không được sử dụng trực tiếp vào quang hợp phải được thoát đi hầu như hoàn toàn khỏi các cơ quan của cây thông qua sự thoát nước và ở mức độ ít hơn, bằng trao đổi nhiệt với môi trường xung quanh. Cách sau thường thể hiện ở mức căng thẳng của chế độ nước và sự giảm có thể có của các quá trình sinh trưởng.

Bảng III.4 : Số lượng nước cần cho sự bay hơi của ruộng hoàn thiện trong các miền địa lý khác nhau

Miền địa lý (độ)	Số lượng nước cần cho bay hơi (mm)
70 - 60	190
60 - 50	280
50 - 40	500
40 - 30	800
30 - 20	1000
20 - 0	1600

Xuất phát từ tiền đề ấy, có thể tính gần đúng số lượng nước cần cho sự thoát nước của ruộng hoàn thiện trong các miền địa lý khác nhau có chế độ bức xạ khác nhau (bảng III.4).

Nghiên cứu thêm nhằm tìm các biện pháp tác động đặc biệt lên hoạt động của bộ máy quang hợp, nhằm đưa vào trồng các giống cây có hoạt tính cao và có khả năng tạo nên những ruộng hoàn thiện về cấu trúc, thì có thể sẽ tăng được hệ số sử dụng năng lượng tới của bức xạ Mặt Trời lên tới 8 - 9%.

8. Những phương pháp đặc biệt để sử dụng chức năng quang hợp của thực vật

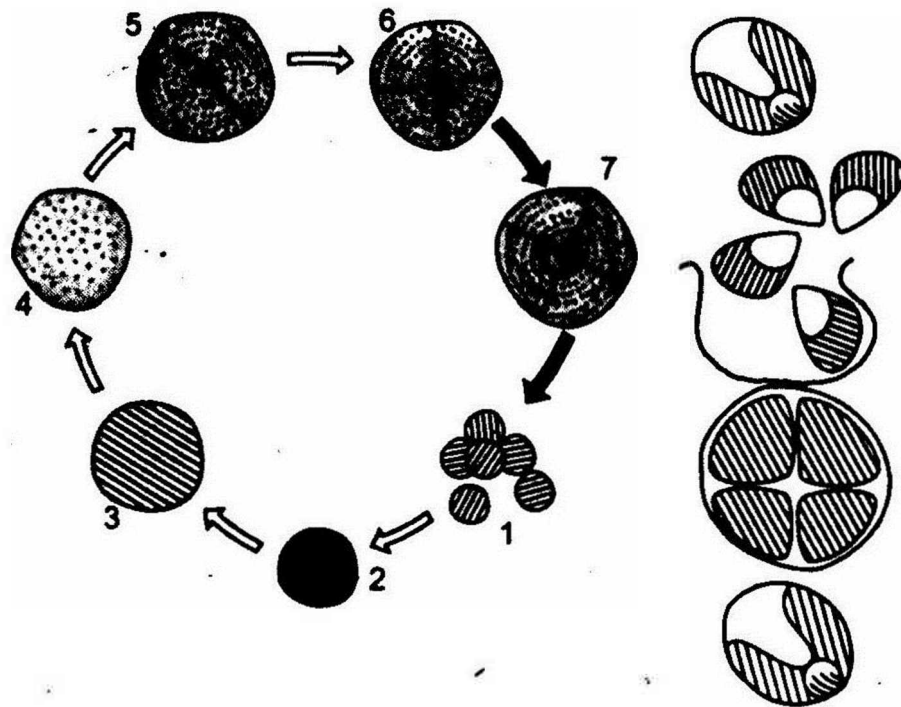
Trồng những cây nông nghiệp năng suất cao đã, đang và vẫn sẽ là phương pháp chính để sử dụng quang hợp nhằm thỏa mãn nhu cầu của con người, nhất là về nguồn thực phẩm. Tuy nhiên trong những nghiên cứu nhằm tăng năng suất quang hợp thực vật cần chú ý đến nhiều đặc điểm sinh lý của chúng.

Đặc điểm ấy là tính chu kỳ của sinh trưởng và phát triển ; trong đó, vào thời kỳ mọc mầm và sinh trưởng đầu, diện tích lá không lớn và ruộng hút rất ít bức xạ Mặt Trời, một số lượng lớn bức xạ ấy bị tiêu phí không có hiệu quả đối với quang hợp. Có thể nói, trong thời kỳ chín của cây cũng gặp tình trạng trên - lúc này hoạt động quang hợp giảm mạnh. Trong rất nhiều trường hợp, do mùa nóng ngắn hay

do cung cấp nước bị hạn chế, thời gian sinh trưởng thực tế của cây ngắn hơn nhiều so với chế độ ánh sáng cho phép.

Cuối cùng, thực vật bậc cao trên cạn có tổ chức phức tạp vì trong hoạt động sống của mình, chúng liên kết chặt chẽ với môi trường không khí và đất. Trong đó quá trình cơ bản – quá trình dinh dưỡng – được thực hiện theo đường đôi : nhờ rễ và lá. Điều đó tạo nên sự vận chuyển phức tạp chất dinh dưỡng từ cơ quan này đến cơ quan khác, sự sử dụng phức tạp chất dinh dưỡng vào các mục đích khác nhau và tiêu phí nhiều chất tổng hợp được và năng lượng liên kết ban đầu. Chính vì vậy nhiệm vụ khó khăn là thu được hệ số lý thuyết có thể có về sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời vào việc hình thành năng suất nhờ quang hợp của thực vật bậc cao. Mặt khác có một số khả năng tổ chức những hệ đặc biệt, trong đó có thể tránh được các khó khăn kể trên.

Một trong những khả năng như vậy là : trồng trên quy mô công nghiệp tảo đơn bào, đặc biệt là các tảo *Chlorella*, *Scenedesmus*... Mỗi cá thể tảo này là một tế bào hiển vi sống trong môi trường nước và thực hiện quá trình dinh dưỡng CO_2 cũng như các muối khoáng qua toàn bộ bề mặt tế bào. Trong tế bào ấy, có xảy ra sự hình thành chất dinh dưỡng mới cũng như sự sử dụng ngay những chất ấy cho sinh trưởng và sinh sản. Sinh sản tiến hành theo đường tạo thành trong tế bào lớn những bào tử (hình III.7). Trong điều kiện dinh dưỡng tốt (trong huyền phù mật độ cao, khi các tế bào không cạnh tranh nhau về ánh sáng và thức ăn) mỗi tế bào có thể cho từ 4 đến 16 bào tử, đôi khi nhiều hơn nữa. Những bào tử này sau khi phá rách màng tế bào mẹ thoát ra môi trường dinh dưỡng trở thành những tế bào con có khả năng dinh dưỡng mạnh, quang hợp và sinh trưởng. Ở dạng tảo có hoạt tính cao, những tế bào con mới hình thành sẽ hoàn thành vòng phát triển sau 6 – 8 giờ. Do đó, về mặt lý thuyết, một tế bào ban đầu sau một ngày đêm nuôi trong huyền phù rất loãng có thể cho 64 – 4096 tế bào con.



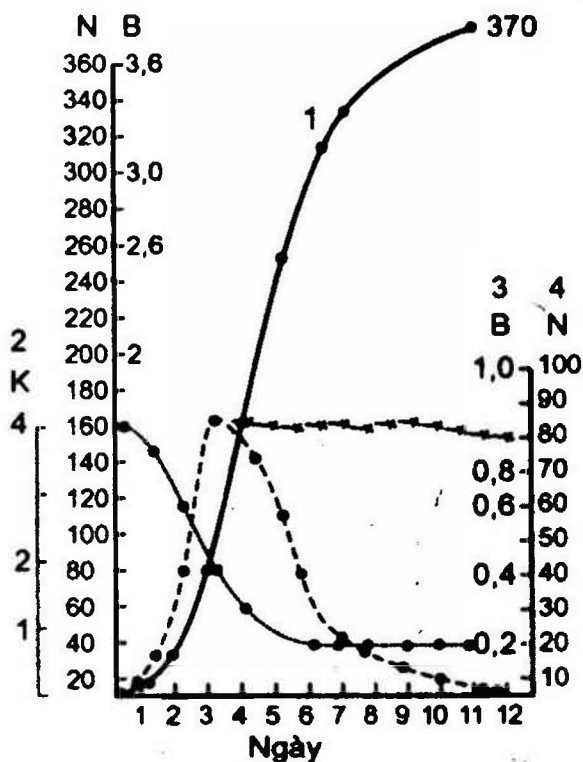
Hình III.7 - Vòng đời toàn phần của *Chlorella*
 bên trái : 1 - 3 : tế bào non và đang lớn - quang hợp mạnh.
 4 - 7 : tế bào trưởng thành và chuẩn bị tạo thành bào tử.
 bên phải : tế bào trong các giai đoạn 3, 6, 7 - 1,3 (kể từ dưới lên).

Trong điều kiện thuận lợi về ánh sáng và cung cấp CO₂ (khi thổi không khí chứa CO₂ vào môi trường nuôi), khi trong môi trường nuôi có một lượng khá nhiều muối khoáng, thì tế bào *Chlorella* sống trong môi trường nuôi với số lượng 1 - 2 triệu tế bào trong một mililit chất lỏng, bắt đầu sinh trưởng nhanh, sau vài ngày mật độ huyền phù đạt tới 50 - 500 triệu (trong điều kiện tốt, còn cao hơn nữa) tế bào trong một mililit huyền phù. Huyền phù đặc dần thì hệ số sinh sản hàng ngày của tế bào sẽ giảm. Độ đặc tiếp tục tăng cho đến khi đạt tới trị số ổn định, tại đó do các tế bào cạnh tranh nhau về ánh sáng, chất dinh dưỡng, ánh sáng chiếu trong huyền phù kém sút làm quang hợp giảm mạnh, cân bằng với quá trình hô hấp. Tùy thuộc vào điều kiện chiếu sáng và dinh dưỡng, cũng như vào hoạt tính của giống gốc mà tốc độ sinh trưởng, độ đặc của huyền phù và mật độ giới hạn có thể rất khác nhau, trong điều kiện tốt có thể rất cao. Trên đoạn dốc nhất của đường biểu diễn tăng mật độ, mức tăng khối lượng hàng ngày của sinh khối, do đó sản lượng quang hợp sẽ cao nhất (hình III.8)

Vào thời kỳ ấy, hằng ngày có thể vớt từ bể nuôi ra một số lượng huyền phù trong đó chứa một sinh khối tương ứng với mức tăng khối lượng hằng ngày. Sinh khối ấy có thể rút ra khỏi huyền phù bằng cách quay ly tâm (làm lắng). Dịch lỏng dinh dưỡng có thể đổ trở lại bể nuôi, ngoài ra còn đổ thêm vào bể dung dịch dinh dưỡng mới pha, tính thế nào để giữ mật độ huyền phù ở mức cực thuận. Sang ngày hôm sau, lại có thể tiếp tục vớt ra khỏi bể sinh khối mới tăng nhờ quang hợp, v.v...

Môi trường nước nuôi tảo không bị thay đổi đột ngột về chế độ nhiệt như môi trường không khí, nơi thực vật bậc cao sinh sống. Ngoài ra, trong trường hợp cần thiết có thể sưởi nóng huyền phù vào mùa lạnh, nhất là ở những nơi có nhiệt thải của nhà máy.

Ở tảo tính mùa vụ của hoạt động không thể hiện rõ rệt như ở thực vật bậc cao. Ở nơi nuôi tảo, mật độ huyền phù có thể giữ trong suốt thời gian nuôi ở mức cực thuận, và lớp huyền phù có thể sâu (thường 5 – 10cm) đến mức nó thực tế hút được toàn bộ năng lượng của bức xạ Mặt Trời tới đó (loại trừ ánh sáng bị phản chiếu). Thực ra, huyền phù *Chlorella* còn có những thiếu sót, nhất là diện tiếp xúc với pha



Hình III.8 – Nhịp điệu tăng độ đông đặc của huyền phù *Chlorella* (triệu tế bào trong 1 mililit huyền phù) với thời gian (1), biến thiên của hệ số sinh sản (tỷ lệ N_1/N_2) nghĩa là chỉ số độ đặc của huyền phù vào cuối và đầu của mỗi ngày (2), tăng trọng ngày (g/l) sinh khối (3), hiệu suất ngày của sinh khối khi cho tự động giữ độ đặc của huyền phù ở mức độ cực thuận (4).

khí tương đối bé cho nên khó cung cấp CO₂ cho tế bào. Bởi vậy, ruộng hoàn thiện của thực vật bậc cao với diện tích lá 40.000 – 50.000 m²/ha có ưu điểm lớn, vào thời kỳ ấy những ruộng tốt có thể cho năng suất sinh khối hằng ngày là 250 – 550kg/ha ; trong khi đó ngay cả ở nơi nuôi cấy dòng *Chlorella* ở Nhật Bản vào tháng hè cũng chỉ có năng suất sinh khối hằng ngày là 200kg/ha, còn vào vụ thu – đông, nhất là những tháng mùa đông, năng suất thấp hơn nhiều. Tuy nhiên do việc nuôi cấy tảo đơn bào có thể lâu hơn và ổn định hơn về thời gian, nhất là khi luân phiên giống trung sinh và giống ưa nóng nên năng suất sinh khối hằng năm có thể đạt, trong miền á nhiệt đới, 20 – 30 tấn/ha, còn hệ số trung bình về sử dụng năng lượng Mặt Trời có thể đạt 5 – 6%.

Tuy nhiên, do nhiều nguyên nhân hiện nay hãy còn chưa rõ triển vọng sử dụng kinh tế việc nuôi tảo.

Đối với thực vật bậc cao, có thể kéo dài thời gian trồng những cây bậc cao bằng cách trồng hoàn toàn hay một phần trong ánh sáng nhân tạo vào thời gian thiếu ánh sáng thiên nhiên (Kletsnin, 1954 ; Protaxova, 1959 ; Moscov, 1959 ; Artemiev 1959 Tageeva... 1959).

Do đã nghiên cứu trong 40 năm gần đây về nhiều nguồn sáng thích hợp cho việc trồng cây ở đất có che, đã đưa ra được nhiều biện pháp thực tiễn để trồng cây trong ánh sáng nhân tạo và hiện nay đã phổ biến rộng được những biện pháp ấy. Ví dụ như ở những nông trường miền giữa người ta đã dùng rộng rãi việc ươm cấy (vào tháng giêng, hai) những cây giống dưa chuột, cà chua rồi sau đấy đem cấy ra ruộng ở ánh sáng tự nhiên. Nhờ dùng ánh sáng nhân tạo mà trồng được cà chua, dưa chuột, cải củ, súp lơ. Đã dùng rộng rãi cách trồng cây trong ánh sáng nhân tạo trong việc nghiên cứu giống nhằm trồng được vài vụ trong một năm và nhằm đánh giá chúng trong điều kiện so sánh và đối chứng. Trong nghề trồng hoa, biện pháp trồng cây trong ánh sáng nhân tạo đã được dùng một cách có hiệu quả nhằm làm cho hoa nở vào đúng thời gian mong đợi.

Trong những năm gần đây B. S. Moscov (1959) đã đề xuất phương pháp có hiệu quả để trồng cà chua trong ánh sáng nhân tạo, kết hợp việc chiếu ánh sáng mạnh (16 đến 300 watt cháy sáng với màng lọc bằng nước trên diện tích 1m^2) với việc chọn những giống chín sớm và với chế độ chuyển dung dịch dinh dưỡng khoáng hợp lý. Biện pháp ấy cho ông khả năng thu được trong 60 ngày trồng 18 – 19kg quả cà chua chín trên 1m^2 chiếu sáng. Tuy đã có nhiều kết luận thực tiễn quan trọng, nhưng hiện nay hãy còn chưa có đủ tài liệu để xây dựng một lý thuyết rộng lớn và hoàn chỉnh về việc trồng cây trong ánh sáng nhân tạo. Tuy nhiên toàn bộ những tài liệu trước đây đã cho một quan niệm chung về tính phức tạp nhiều mặt của tác dụng của ánh sáng đối với cơ thể thực vật.

Trong các nghiên cứu trong thời gian gần đây người ta có đưa ra ý kiến cho rằng, quá trình quang hợp được thực hiện nhờ không phải một mà là hai, có thể còn nhiều hơn, phản ứng quang hóa phụ thuộc vào tác dụng của những hệ quang hoạt động khác nhau. Đã rõ là, không phải chỉ CO_2 mà cả nitrat, sunfat và các hợp chất oxy hóa khác đã được lôi cuốn vào các chuyển hóa quang hóa liên quan với hoạt động của bộ máy quang hợp, trong đó phổ tác dụng đồng hóa của những chất trên không như nhau.

Điều đó cho biết các hệ quang hoạt động có nhiệm vụ chủ yếu khác nhau. Hiệu quả hoạt động của bộ máy quang hợp phụ thuộc nhiều vào sự kết hợp hoạt động của các hệ quang hoạt động khác nhau. Nhất là, nghiên cứu của nhiều người thấy : phối hợp các tia có độ dài sóng khác nhau trong nhiều trường hợp thấy quang hợp cao hơn so với số lượng tương đương của ánh sáng đơn sắc. A. N. Danilov (1935, 1936) là người đầu tiên đã thấy những hiện tượng tương tự.

Gần đây các nhà nghiên cứu chú ý nhiều đến "hiệu ứng Emerson", bản chất của hiệu ứng ấy là : quang hợp bị giảm nhanh trong ánh sáng đơn sắc của miền phổ có độ dài sóng từ 680 đến 700nm, sẽ lại tăng nhiều khi tác dụng phối hợp tia ấy với tia với cực đại là 650nm (Emerson, 1958 ; Emerson, Rabinowits, 1960 ; Rabinowits, 1960).

Những nghiên cứu gần đây cho thấy (Nitsiporovits, 1953, 1955, 1961 ; Nitsiporovits, Andreaieva, Voskrexenkaia, Nezgovorova, Novitxky, 1958 ; Doman và Vaklinova, 1958...) trong quá trình quang hợp tiến hành ở các điều kiện khác nhau tạo thành các sản phẩm với tỷ lệ số lượng khác nhau – nhất là sự thay đổi tỷ lệ số lượng axit amin, điều đó có thể ảnh hưởng khác nhau đến sự tổng hợp protein và nhịp điệu của các quá trình hoạt động sống của thực vật.

Ngoài ra, trong những năm gần đây đã xác nhận là trong cây có các hệ quang hoạt động không liên quan với dự trữ năng lượng mà lại ảnh hưởng đến nhịp điệu của quá trình sinh trưởng, phát triển của thực vật, phụ thuộc vào điều kiện chiếu sáng. Hiện tượng đó gọi là hiệu ứng "red – far red" và hiệu ứng "blue far-red" (Borthwick, Nakajama, Hendricks, 1960 ; Mohr, 1957, 1961 ; xem thêm "Photoperiodism and related phenomena in plants and animals" R.B. Withrow, chủ biên, D.C. Washington, 1959). Trong những hiệu ứng ấy, tia xanh hay đỏ (max 660 nm) làm chuyển hóa một sắc tố đặc biệt thành men hoạt tính hút thu trong miền 700 – 800nm (max 735 nm). Những chuyển hóa ấy đặt cơ sở cho nhiều phản ứng đặc trưng của thực vật đối với tác dụng của ánh sáng như sự nảy mầm của hạt, sinh trưởng theo chiều dài của cơ quan trục, phản ứng quang chu kỳ... Tác dụng của những tia gần đỏ làm mất hoạt tính của men nói trên, làm nó chuyển hóa thuận nghịch làm mất tác dụng tích cực của tia đỏ.

Cường độ ánh sáng thay đổi, tính chu kỳ của ánh sáng cũng đều có tác dụng không kém phần phức tạp đến cây. Toàn bộ những tác dụng trên đây dẫn đến những phản ứng rất đa dạng, ngay cả khi ánh sáng cho cùng một lượng. Tất cả các dữ kiện kể trên nói lên rằng : trong việc giải quyết vấn đề tăng mức sử dụng ánh sáng của cây, chúng ta phải chú ý đến không chỉ mặt số lượng mà cả mặt chất lượng của mối quan hệ phụ thuộc giữa quang hợp và các quá trình sinh lý khác với ánh sáng. Muốn hiểu biết đầy đủ tất cả các đặc điểm về mối tương quan ấy, cần phải nghiên cứu sâu sắc và rộng lớn hơn nữa.

(*) "Quang chu kỳ và những hiện tượng liên quan ở cây và động vật".

Chương IV

ỨNG DỤNG CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG TRONG TRỒNG TRỌT

Phần này sẽ giới thiệu những ứng dụng chính của các chất điều hòa sinh trưởng trong trồng trọt. Tuy nhiên để hiểu biết sâu sắc hơn những cơ sở khoa học của những ứng dụng đó, cần phải nêu lên vai trò và cơ chế tác động của các phytohormon trong các quá trình phát sinh hình thái, hình thành các cơ quan của cây và những nguyên tắc sử dụng chất điều hòa sinh trưởng trong nông nghiệp.

Khi sử dụng chất điều hòa sinh trưởng cần quan tâm trước hết đến nồng độ sử dụng. Vì rằng hiệu quả của chúng đến cây trồng hoàn toàn phụ thuộc vào nồng độ sử dụng. Thông thường, nồng độ sử dụng quá thấp thì sẽ ít có hiệu quả. Nồng độ thấp (khoảng vài ppm đến vài chục ppm (1ppm = 1mg/1 lít) sẽ gây hiệu quả kích thích sinh trưởng ; còn nếu như nồng độ sử dụng ở mức cao (hàng nghìn ppm) sẽ gây nên ức chế sinh trưởng. Và nồng độ rất cao (trên chục nghìn ppm) sẽ gây nên sự hủy diệt bộ phận hoặc toàn cây. Chính vì vậy mà tùy theo mục đích của con người mà chọn nồng độ sử dụng cho thích hợp. Ví dụ như muốn kích thích sinh trưởng về chiều cao, tăng sinh khối... thì chọn nồng độ thấp, muốn ức chế sinh trưởng, kéo dài ngủ nghỉ... thì sử dụng nồng độ cao ; còn muốn làm rụng lá, hoặc diệt cỏ dại thì phải sử dụng nồng độ rất cao, có thể dưới dạng bột.

Chất điều hòa sinh trưởng không phải là các chất dinh dưỡng mà chúng chỉ có tác dụng hoạt hóa quá trình trao đổi chất. Vì vậy, muốn đạt hiệu quả kinh tế cao thì nhất thiết phải phối hợp giữa việc xử lý chung và việc thỏa mãn cho cây trồng nhu cầu về dinh dưỡng và

nước. Ví dụ khi phun auxin để tăng đậu quả cho cây, nhưng sau đó nếu thiếu nước và dinh dưỡng thì quả sẽ rụng hàng loạt.

Đối với thuốc trừ cỏ phải dựa trên nguyên tắc chọn lọc của thuốc với các loại cỏ khác nhau và cây trồng để làm sao diệt cỏ được mà không có hại cho cây trồng.

Trong nền nông nghiệp thâm canh cao, thì vai trò của các yếu tố hiếm như nguyên tố vi lượng và chất điều hòa sinh trưởng có tác dụng càng tích cực hơn trong việc điều chỉnh quá trình sinh trưởng phát triển của cây một cách hợp lý nhất làm tăng năng suất và phẩm chất thu hoạch. Trong nhiều nước có nền nông nghiệp tiên tiến, việc sử dụng các chế phẩm chất điều hòa sinh trưởng cho cây trồng như là biện pháp sử dụng phân hóa học cho cây trồng.

Tuy nhiên, chúng tôi muốn gắn liền các ứng dụng chất điều hòa sinh trưởng với hiệu quả và bản chất riêng biệt của chúng đối với các quá trình phát sinh cơ quan và thay đổi hình thái của cây trồng. Đây cũng chính là cơ sở khoa học của việc ứng dụng chất điều hòa sinh trưởng cho cây trồng.

1. Hoocmon thực vật với sự sinh trưởng, sự phân hóa tế bào và cơ quan

Chúng ta bắt đầu bằng sự sinh trưởng của tế bào, vì rằng sự sinh trưởng của tế bào là tiền đề cho sự sinh trưởng của cơ quan và toàn cây. Hai giai đoạn đặc trưng cho sự sinh trưởng của tế bào là giai đoạn phân chia tế bào và giai đoạn dãn của tế bào.

1.1. Sự phân chia tế bào

Sự phân chia tế bào chỉ xảy ra trong mô phân sinh. Có 3 loại mô phân sinh chính là mô phân sinh đỉnh ở đầu cành, mô phân sinh lóng ở giữa các đốt cây họ Lúa và mô phân sinh tăng phát sinh ở giữa libe và gỗ.

Sự phân chia tế bào liên tục trong các mô phân sinh sẽ dẫn đến làm tăng số lượng của tế bào rất nhanh trong cây, vì trong mỗi cây số lượng mô phân sinh rất nhiều (đầu cành, đầu rễ, giữa các đốt, tầng phát sinh ...)

Mỗi một tế bào mẹ khi đạt kích thước nhất định sẽ phân chia ra hai tế bào con bằng sự phân chia nhân (mitoz) và phân chia tế bào (xytokinez). Sau đó mỗi tế bào con lớn lên bằng kích thước tế bào mẹ thì bắt đầu phân chia. Cứ thế mà số lượng tế bào được tăng lên rất nhanh chóng.

Điều quan trọng nhất cho giai đoạn này tiến hành được là nhất thiết phải có mặt của xytokinin. Xytokinin sẽ hoạt hóa sự phân chia tế bào bằng cách kích thích sự tổng hợp mạnh mẽ axit nucleic, protein và các chất cần thiết cho quá trình phân chia tế bào. Trong nuôi cấy mô tế bào, người ta phải bổ sung kinetin hoặc benzyladenin vào môi trường hoặc nước dừa cũng có nguồn xytokinin tự nhiên phong phú. Trên cây nguyên vẹn thì sự phát triển mạnh mẽ của bộ rễ sẽ quyết định sự đâm chồi nảy lộc.

1.2. Sự dẫn của tế bào

Sự phân chia tế bào chỉ mới tăng về mặt số lượng tế bào, còn sự lớn lên của cơ quan và của toàn cây lại phụ thuộc vào sự tăng kích thước của tế bào nhờ giai đoạn dẫn của tế bào tiếp sau sự phân chia của chúng.

Kích thước tế bào trong giai đoạn này tăng rất nhanh cả về chiều ngang lẫn chiều dọc. Không bào xuất hiện và lớn dần chiếm hầu hết thể tích tế bào tạo điều kiện cho tế bào dẫn nhanh chóng.

Điều kiện tối cần thiết cho sự dẫn tế bào là sự kích thích của các phytohormon. Hai hormon có vai trò quan trọng trong giai đoạn này là auxin và gibberellin (GA). Cả hai đều kích thích sự dẫn nở của thành tế bào và tăng thể tích tế bào. Tuy nhiên, auxin kích thích

sự dân nở tế bào chủ yếu theo chiều ngang, còn gibberellin thì có xu hướng kích thích sự dân nở tế bào theo chiều dọc. Sự có mặt và cân bằng giữa hai hoocmon đó là điều kiện cần thiết cho sự dân nở tế bào cân đối và cây sinh trưởng bình thường. Nếu cân bằng lệch về phía GA thì cây sẽ sinh trưởng chiều cao mạnh hơn.

Ngoài ra những điều kiện ngoại cảnh như nước, nhiệt độ, dinh dưỡng ... là tối cần thiết cho việc dân nở của tế bào.

1.3. Sự phân hóa tế bào và cơ quan

Sau khi qua giai đoạn dân, tế bào bắt đầu phân hóa thành các mô chức năng riêng biệt, đảm nhiệm các chức phận sinh lý khác nhau của cây như mô dậu làm nhiệm vụ quang hợp, mô dẫn làm nhiệm vụ dẫn truyền, mô bì làm nhiệm vụ che chở, nhu mô có chức năng dự trữ ... Các con đường phân hóa khác nhau dẫn đến sự hình thành các cơ quan khác nhau của cây như sự hình thành rễ, hình thành chồi, hoa ...

Trong quá trình phân hóa tế bào và cơ quan, vai trò điều chỉnh của các phytohocmon là rất quan trọng. Auxin quyết định sự phân hóa rễ và có khi người ta xem auxin như là hoocmon hình thành rễ. Còn sự phân hóa chồi lại quyết định bởi xytokinin. Hàm lượng xytokinin càng nhiều thì sự phát sinh chồi càng mạnh mẽ. Do đó trong chừng mực nhất định, nhìn sự sinh trưởng của cây có thể dự đoán được cây thừa hay thiếu xytokinin. Sự cân bằng giữa auxin và xytokinin trong cây cũng quyết định sự sinh trưởng cân đối của cây ở mức nào giữa cơ quan trên mặt đất và dưới mặt đất.

1.4. Ứng dụng chất điều hòa sinh trưởng để điều chỉnh sự sinh trưởng của tế bào và sự phân hóa các cơ quan.

1.4.1. Sử dụng GA để tăng chiều cao

Một số cây trồng lấy sợi như đay, cũng như mía thì chiều cao của cây có ý nghĩa quyết định đến năng suất của chúng. Để kích thích sự tăng trưởng về chiều cao người ta phun GA cho cây. Ví dụ : với

đây, người ta phun GA với nồng độ 20 – 50 ppm vài lần cho ruộng đây thì có thể làm chiều cao cây đây cao gấp đôi (từ 2m có thể cao đến 4 - 5 m) mà chất lượng sợi đây không kém hơn. Khi cây cao được 50 cm thì bắt đầu phun, phun 3 lần, mỗi lần cách nhau 10 – 15 ngày. Đối với mía, khi xử lý GA với nồng độ từ 10 – 100 ppm đã kích thích sự kéo dài của các đốt làm tăng chiều cao và tăng năng suất của ruộng mía. Điều đáng quan tâm là khi xử lý GA thì tỷ lệ đường cũng tăng lên rõ rệt. Chẳng hạn nếu phun 3 lần cách nhau 2 – 4 tuần thì sản lượng đường tăng lên 25% so với đối chứng.

1.4.2. Sử dụng GA để tăng sinh khối, tăng năng suất cho rau quả ...

Với các cây rau việc tăng sinh khối có ý nghĩa quan trọng. Để đạt được điều đó, người ta thường phun chất kích thích sinh trưởng đặc biệt là phun GA, vì GA kích thích sự dẫn của tế bào rất mạnh và hoàn toàn không gây độc vì nó là sản phẩm tự nhiên (phytohormon). Nồng độ sử dụng của GA trong trường hợp này dao động trong khoảng 20 – 100 ppm. Chẳng hạn người ta có thể phun GA cho rau bắp cải, cà rốt, rau cải ... có thể tăng năng suất rất cao.

Rau cải :

– Với cải trắng khi cây bén rễ sau cấy có thể phun GA ở nồng độ 20 ppm. Phun 3 lần mỗi lần cách 2 ngày. Một tháng sau lại tiếp tục phun 3 lần tương tự, sẽ làm tăng sinh khối rau rất rõ rệt.

– Đối với một số loại rau cải xanh có thể phun trước thu hoạch 2 tuần ở nồng độ 50 – 199 ppm (phun 2 lần). Tăng năng suất rõ rệt. Cũng có thể phun khi cây mới có 5 – 6 lá, phun 2, 3 lần với nồng độ 20 – 30 ppm.

Giá đậu :

– Để làm nảy mầm đều, tăng năng suất giá đậu, có thể ngâm hạt một đêm trong dung dịch GA 10 ppm.

Nho :

Một trong những hướng quan trọng là làm tăng kích thước của các loại quả, tăng năng suất thu hoạch bằng sử dụng các chất kích thích sinh trưởng. Đối tượng được sử dụng nhiều nhất là nho. Việc phun GA là biện pháp phổ biến và rất có hiệu quả đã làm tăng năng suất nho lên gấp bội, và cải thiện được phẩm chất.

* Vào cuối thời kỳ hoa rộ, khi quả non hình thành được 7 – 10 ngày, dùng máy phun điểm dung dịch 50 – 100 ppm GA vào chùm quả làm quả lớn nhanh, tăng sản gấp đôi nâng cao hàm lượng đường glucoz, tăng phẩm chất quả xuất khẩu.

* Cũng có thể phun vào lúc sau hoa rộ 7 – 10 ngày, phun GA ở nồng độ 100 – 200 ppm vào chùm hoa có thể làm cho 60 – 90% quả không hạt, mỏng vỏ, chín sớm hơn 7 – 15 ngày.

Trong nhiều trường hợp người ta sử dụng cả alar (500 – 2.000 ppm) cho nho, táo, lê ... cũng mang lại hiệu quả tương tự.

1.4.3. Sử dụng auxin và xytokinin để điều khiển sự phát sinh cơ quan (rễ, chồi) trong nuôi cấy mô

Trong kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thì việc ứng dụng các chất điều hòa sinh trưởng là hết sức quan trọng. Hai nhóm chất được sử dụng nhiều nhất là auxin (quyết định hình thành rễ) và xytokinin (quyết định hình thành chồi).

Để nhân nhanh invitro, trong giai đoạn đầu cần phải điều khiển mô nuôi cấy phát sinh thật nhiều chồi để tăng hệ số nhân. Vì vậy người ta tăng nồng độ xytokinin trong môi trường nuôi cấy.

Để tạo cây hoàn chỉnh đưa ra đất người ta tách chồi và cấy vào môi trường ra rễ trong đó hàm lượng auxin được tăng lên. Như vậy, sự cân bằng auxin / xytokinin trong môi trường nuôi cấy quy định sự phát sinh rễ hay chồi.

Auxin được sử dụng là IAA, 2,4D, α -NAA. Còn xytokinin có thể là kinetin, BA hoặc nước dừa ... Nồng độ và tỷ lệ của chúng phụ thuộc vào các loài khác nhau, các giai đoạn nuôi cấy khác nhau ...

1.4.4. Ứng dụng CCC và các Retardant để ức chế sự sinh trưởng chiều cao của cây, chống lốp đổ.

Trong một số trường hợp, sự sinh trưởng chiều cao thân lá sẽ không có ích và nguy cơ dẫn đến lốp đổ nhất là trên nền thâm canh cao. Trong những trường hợp như vậy, nếu hạn chế sự sinh trưởng của các cơ quan trên mặt đất, làm thấp cây, cứng cây sẽ điều chỉnh được mối quan hệ tốt đẹp giữa cơ quan trên và dưới mặt đất có thể làm tăng năng suất và phẩm chất.

CCC là một chất kháng gibberellin, nên khi sử dụng sẽ ức chế sự sinh trưởng chiều cao của cây. Đối với các cây họ Lúa việc chống lốp đổ cho chúng sẽ rất có ý nghĩa. Việc sử dụng CCC tăng tính chống đổ, làm lùn và cứng cây, là một biện pháp khá phổ biến với các nước trồng lúa mỹ, lúa mạch. Nếu sử dụng 10 kg CCC cho 1 ha có thể làm tăng 30% năng suất hạt của lúa mỹ. Với lúa, các thí nghiệm đồng ruộng tiến hành ở Ôxtrâyliá khẳng định rằng CCC đã làm tăng tính chống đổ cho lúa, tăng năng suất hạt mà không ảnh hưởng đến chất lượng hạt. Sử dụng phối hợp giữa CCC và phân nitơ (đạm) đã tăng hiệu quả sử dụng phân đạm lên nhiều.

Ở Việt Nam, lĩnh vực này chưa được nghiên cứu mặc dù ý nghĩa thực tiễn của nó rất lớn.

2. Sự nảy mầm của hạt, củ

2.1. Sự ngủ nghỉ của hạt, củ và vai trò của phytohormon

Trong đời sống của cây, có lúc cây sinh trưởng nhanh, có lúc cây sinh trưởng chậm thậm chí có lúc cây gần như ngừng sinh trưởng và bước vào giai đoạn ngủ nghỉ.

Sự ngủ nghỉ thường xảy ra với các loại hạt sau khi chín, các loại củ, cần hành cũng như các chồi ngủ ...

Người ta phân thành hai loại ngủ nghỉ dựa theo nguyên nhân gây nên ngủ nghỉ. Trạng thái ngủ nghỉ bắt buộc do điều kiện ngoại cảnh gây nên. Khi gặp điều kiện ngoại cảnh không thuận lợi cho sinh trưởng thì chúng bước vào trạng thái ngủ, nghỉ và khi nào gặp điều kiện thuận lợi chúng lại nảy mầm ngay. Ví dụ hạt lúa sau khi gặt phơi khô (chỉ còn 12 - 14% độ ẩm) thì hạt thóc sẽ ngủ nghỉ. Nhưng nếu ngâm vào nước thì chúng nảy mầm ngay được.

Trạng thái ngủ nghỉ thứ hai có ý nghĩa hơn là sự ngủ nghỉ sâu. Sự ngủ nghỉ này không phải do nguyên nhân ngoại cảnh mà chủ yếu là các nhân tố nội tại và trải qua quá trình lâu đời đã trở nên đặc tính di truyền. Ví dụ các loại hạt có vỏ cứng phải ngủ nghỉ rất lâu mới nảy mầm được, củ khoai tây sau khi thu hoạch phải mất 3 - 5 tháng mới nảy mầm được ; củ hành, tỏi khi thu hoạch xong trồng không thể nảy mầm được ...

Nguyên nhân quan trọng nhất quyết định sự ngủ nghỉ này là thuộc về các phytohormon mà trong đó vai trò của các chất ức chế sinh trưởng là rất quan trọng. Trong hạt và củ đang ngủ nghỉ, chúng tích lũy một hàm lượng rất cao chất ức chế sinh trưởng mà chủ yếu là axit abxixic (ABA), và đồng thời hàm lượng các chất kích thích sinh trưởng chủ yếu là GA giảm đến mức tối thiểu, khiến cho phôi hạt không thể sinh trưởng được. Như vậy, sự cân bằng giữa ABA / GA lệch hẳn sang ABA. Hạt, củ này sẽ còn ngủ nghỉ đến chừng nào hàm lượng ABA trong chúng giảm xuống mức độ tối thiểu cho phép chúng sinh trưởng được thì mới nảy mầm. Do vậy mà cần có thời gian để giảm hàm lượng ABA và tăng hàm lượng GA. Thời gian này dài ngắn tùy theo loài và trạng thái của cơ quan.

~~Ngoài ra, vỏ hạt cứng, vỏ củ hóa bản, kém thấm nước thấm khi cũng là nguyên nhân gây nên sự ngủ nghỉ của chúng.~~

Có thể chia sự ngủ nghỉ của hạt và củ ra ba pha : pha cảm ứng được đặc trưng bằng sự biến đổi cân bằng hoocmon theo hướng giảm nhanh hàm lượng chất kích thích sinh trưởng (chủ yếu là GA) và tăng nhanh hàm lượng chất ức chế sinh trưởng (chủ yếu ABA). Trong pha duy trì, sự cân bằng hoocmon lệch hẳn sang ABA và sự trao đổi chất trong chúng là không đáng kể. Trong pha kết thúc có sự biến đổi cân bằng hoocmon theo hướng ngược với pha cảm ứng tức là giảm hàm lượng ABA và tăng hàm lượng GA trong chúng đến mức chúng có thể nảy mầm được.

2.2. Sự nảy mầm của hạt, vai trò của hoocmon

Sự nảy mầm của hạt là giai đoạn bắt đầu của một chu kỳ sống mới. Sự nảy mầm của hạt là một quá trình biến đổi hết sức sâu sắc về sinh hóa và sinh lý trong chúng.

Khi trong hạt hàm lượng ABA giảm xuống mức tối thiểu và quá trình tổng hợp GA mạnh lên thì phôi hạt bắt đầu sinh trưởng.

Quá trình biến đổi dẫn đến nảy mầm của hạt cây họ Lúa được mô tả như sau : Khi hạt hút ẩm thì trong phôi hạt xảy ra mạnh mẽ quá trình tổng hợp GA làm hàm lượng GA tăng nhanh trong phôi hạt. GA sẽ khuếch tán vào lớp aleuron của hạt, tại đây GA hoạt hóa sự tổng hợp nên các enzym thủy phân, đặc biệt là α - amilaza. Enzim thủy phân sẽ vào nội nhũ, nó xúc tác các phản ứng thủy phân. Ví dụ α - amilaza xúc tác cho tinh bột biến thành đường đơn làm nguyên liệu cho quá trình nảy mầm của hạt.

Vì vậy muốn xúc tiến quá trình nảy mầm của hạt, củ thì tìm cách làm tăng hàm lượng GA trong chúng.

2.3. Ứng dụng GA để phá ngủ, kích thích nảy mầm của hạt, củ

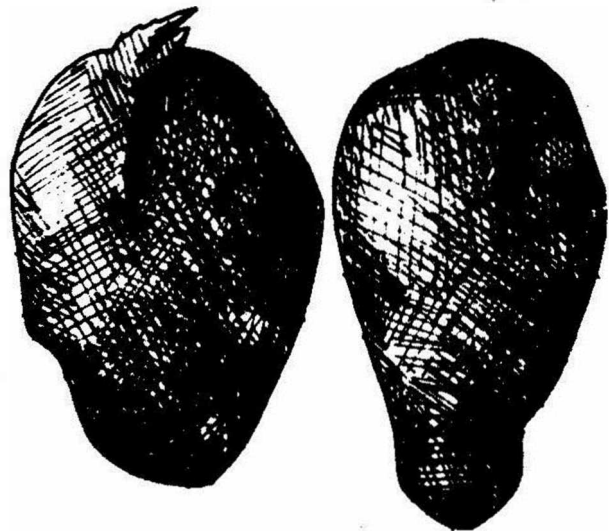
Để phá bỏ sự ngủ nghỉ của hạt, củ, cần hành thì về nguyên tắc phải làm thay đổi sự cân bằng của ABA / BA theo hướng giảm ABA xuống tối thiểu hoặc tăng GA lên. Còn muốn kéo dài thời kỳ ngủ

ngiht trong bảo quản thì làm thay đổi cân bằng trên theo hướng ngược lại mà chủ yếu là bổ sung chất ức chế sinh trưởng:

Để phá ngủ, người ta thường xử lý GA. GA xâm nhập vào hạt, củ sẽ làm thay đổi sự cân bằng hormone thuận lợi cho sự nảy mầm. Chúng ta ngâm hạt, củ (hoặc phun) bằng dung dịch GA với nồng độ 2 – 5 ppm trong thời gian nhất định, sau đó ủ ẩm và ẩm thì có thể làm cho hạt, củ nảy mầm được. Ngoài GA người ta còn sử dụng rất nhiều hợp chất hóa học khác nhau để phá ngủ nghỉ kể cả các chất vô cơ như axit nitric, sunphuric.

Những năm gần đây Bộ môn Sinh lý - Hóa sinh thực vật Trường đại học Nông nghiệp I đã nghiên cứu thành công quy trình phá ngủ tổng hợp cho khoai tây vừa mới thu hoạch vụ đông để tạo củ giống trồng vụ xuân. Quy trình này gồm hai công đoạn : Công đoạn đầu, khoai tây vừa thu hoạch được phun dung dịch GA và thiourê vài lần, cho GA và thiourê thấm vào củ.

Công đoạn thứ hai tiếp theo khoai tây được đưa xuống hầm đất kín để xử lý khí CS₂ hoặc khí rindit trong 3 – 4 ngày. Sau đó ủ ẩm và ẩm thì có thể làm cho khoai tây vừa thu hoạch nảy mầm trên 90% trong 7 – 10 ngày, có thể trồng kịp thời vụ. Quy trình này đã áp dụng thành công nhiều năm trên quy mô sản xuất. Đây là một quy trình phá ngủ có hiệu quả nhất và dễ triển khai trong sản xuất, được sản xuất chấp nhận. Việc trồng thêm vụ khoai tây xuân nhờ kỹ thuật phá



Hình IV.1 - Củ khoai tây đã xử lý chất kìm hãm (bên phải) và không xử lý chất kìm hãm (bên trái) trong quá trình bảo quản

ngủ khoai tây đã làm tăng hệ số nhân giống khoai tây và làm trẻ hóa củ giống, vì thời gian bảo quản ngắn, cải thiện được chất lượng củ giống ; chống sự thoái hóa giống khoai tây do thời gian bảo quản khá dài trong điều kiện nhiệt độ cao của mùa hè.

Trong kho bảo quản, nhiều trường hợp cần thiết phải kéo dài thời kỳ ngủ nghỉ. Để kéo dài kỳ ngủ nghỉ của khoai tây người ta thường sử dụng chất ức chế sự nảy mầm như MH (malein hydrazit) hoặc MENA (methyl este của $\alpha = \text{NAA}$). Phun MH với liều lượng 2,5 kg/ha cho khoai tây trước thu hoạch 12 – 15 ngày sẽ làm giảm sự hao hụt trong bảo quản (8 tháng). Lượng hao hụt chỉ bằng 1/2 so với đối chứng không xử lý. Trong bảo quản hành tỏi, chống tộp, chống nảy mầm người ta có thể xử lý MH với nồng độ 500 – 2500 ppm.

2.4. Sử dụng GA để tăng chất lượng của malt bia trong việc sản xuất bia.

GA kích thích sự nảy mầm của hạt mỳ, mạch, lúa, ngô... làm tăng hàm lượng và hoạt tính của men thủy 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 – 3 mg GA cho 1 kg đại mạch vào giai đoạn đầu của sự nảy mầm sẽ làm nhanh quá trình malt hóa nguyên liệu lên 1,5 lần.

3. Hiện tượng ưu thế ngọn và vai trò của hoocmon

3.1. Hiện tượng ưu thế ngọn ở thực vật

Trong mối tương quan giữa các cơ quan trong cơ thể thì có những mối tương quan kích thích, nhưng cũng có những tương quan ức chế lẫn nhau. Ưu thế ngọn là sự tương quan ức chế mà trong đó chồi ngọn hoặc rễ chính sinh trưởng sẽ ức chế sự sinh trưởng của chồi bên hoặc rễ phụ. Nếu loại bỏ chồi ngọn thì chồi bên sẽ thoát khỏi sự ức chế và lại sinh trưởng bình thường.

Nguyên nhân chính gây nên hiện tượng ưu thế ngọn là do hoocmon sinh trưởng quyết định. Hai phytohormon điều chỉnh hiện tượng ưu thế ngọn là auxin làm tăng ưu thế ngọn, còn xytokinin lại làm yếu ưu thế ngọn. Auxin được sản sinh ở đỉnh sinh trưởng ngọn với hàm lượng khá cao và khi vận chuyển xuống dưới đã gây ảnh hưởng ức chế lên chồi bên. Do đó càng xa đỉnh ngọn hàm lượng auxin càng giảm và hiện tượng ưu thế ngọn cũng yếu dần và các cành bên được sinh trưởng. Ngược lại xytokinin được sản sinh trong hệ thống rễ và lại được vận chuyển lên các cơ quan trên mặt đất để giải phóng các chồi bên khỏi sự ức chế của chồi ngọn. Sự cân bằng giữa hai loại hoocmon sinh trưởng auxin/xytokinin quyết định hiện tượng ưu thế ngọn trong cây.

3.2. Ứng dụng ưu thế ngọn trong trồng trọt và nghề làm vườn

Đối với nhiều loại cây trồng như cây công nghiệp, cây ăn quả, cây cảnh, cây hoa... thì việc tạo hình, tạo tán cho chúng là cực kỳ quan trọng, có ý nghĩa quyết định.

Việc tạo hình, tạo tán đều dựa trên nguyên tắc loại bỏ hoặc làm yếu ưu thế ngọn, tạo điều kiện cho sự phân cành.

Với nhiều loại cây trồng, người ta sử dụng kỹ thuật đốn (như với chè, dâu, táo...) để cải tạo lại chúng, làm tăng sức sống, tăng năng suất thu hoạch. Việc đốn cây, tức loại bỏ chồi chính sẽ tạo điều kiện cho các chồi bên mọc ra. Có hai phương pháp đốn cây là phương pháp đốn đầu được tiến hành sát gốc, còn phương pháp đốn phớt được tiến hành ở phần ngọn. Sự đốn đầu sẽ cho các cành sát gốc, gần với nguồn xytokinin nên sẽ ở trạng thái non, khỏe, lâu thu hoạch nhưng thu hoạch kéo dài. Việc đốn phớt thì sẽ phát sinh các chồi nhanh và già hơn, chóng thu hoạch nhưng chóng tàn. Vì vậy người ta thường

tính toán việc xen kẽ giữa hai hình thức đốn để vừa có thu hoạch thường xuyên, vừa đảm bảo cải tạo được quần thể.

Với cây cảnh, cây thế... thì việc tạo tán, tạo hình phải tiến hành bấm ngọn, tỉa cành một cách thường xuyên để tạo được thế cây, dáng cây theo đúng yêu cầu của mình...

3.3. Sử dụng chất ức chế sinh trưởng để ức chế chồi bên, ức chế mầm hoa

Trong nghề trồng thuốc lá, sau khi xuất hiện hoa thì đồng thời ưu thế ngọn cũng bị loại trừ vì chồi hoa không còn sản sinh ra auxin nữa, do đó các chồi bên được giải phóng và mọc rất nhanh. Việc ra hoa và mọc các chồi bên là một khó khăn lớn cho ngành thuốc lá vì phẩm chất thuốc lá bị giảm sút. Vì vậy trong sản xuất, người ta thường mất nhiều công sức cho việc ngắt hoa và tỉa chồi nách thường xuyên rất tốn kém. Để làm giảm công lao động trong việc bấm tỉa hoa và chồi nách, người ta sử dụng chất ức chế chồi. Chất được sử dụng có hiệu quả nhất hiện nay là MH (malein hydrazit). Người ta có thể phun MH nồng độ 1 – 2,5% lúc bắt đầu ra hoa (có 90% cây xuất hiện nụ đầu tiên) hoặc phun MH nồng độ 0,1 – 0,5% cho thuốc lá sau khi đã ngắt chồi hoa. Nồng độ MH sử dụng phụ thuộc vào đặc tính giống và điều kiện thời tiết. Bằng cách đó có thể hoàn toàn ngăn chặn được sự mọc của chồi bên, làm tăng năng suất và có thể cải thiện được phẩm chất của thuốc lá.

Ở Mỹ có tới 90% diện tích trồng thuốc lá đã sử dụng MH vào mục tiêu này.

Ở Mondan khi phun MH nồng độ 2,5% cho thuốc lá vào giai đoạn bắt đầu ra hoa đã làm đình chỉ sự mọc tiếp của chồi hoa, ức chế chồi bên, thúc đẩy lá chín nhanh, tăng năng suất 2 – 4 tạ/ha, tăng chất lượng thuốc lá, thu hiệu quả kinh tế cao.

4. Sự hình thành rễ của cành chiết, cành giâm và việc nhân giống vô tính cây trồng

4.1. Cơ sở của hình thành rễ bất định của cành chiết, cành giâm

Rễ bất định là những rễ được hình thành về sau này từ các cơ quan dinh dưỡng như cành, thân lá... Rễ bất định có thể được hình thành ngay trên cây nguyên vẹn (cây đa, cây si...), nhưng khi cắt cành khỏi cơ thể mẹ là điều kiện kích thích sự hình thành rễ và người ta lợi dụng để nhân giống vô tính.

Rễ bất định của hầu hết thực vật được hình thành sau khi cắt cành khỏi cây mẹ, nhưng cũng có một số loài rễ bất định có thể được hình thành từ trước dưới dạng các mầm rễ ở trong phân vỏ và chúng nằm yên đến khi cắt cành là lập tức đâm ra khỏi vỏ. Với các đối tượng như vậy thì cành giâm, cành chiết ra rễ một cách dễ dàng. Nhưng đa số trường hợp rễ bất định được hình thành trong quá trình con người có tác động đến nó nhằm mục đích nhân giống.

Nghiên cứu nguồn gốc và quá trình xuất hiện của rễ bất định ở cành chiết, cành giâm có ý nghĩa quan trọng trong việc điều khiển sự hình thành rễ bất định trong việc nhân giống vô tính cây trồng. Có thể chia làm ba giai đoạn của quá trình hình thành rễ bất định ở các cành chiết, cành giâm.

- Giai đoạn đầu là sự tái phân chia của mô phân sinh bên (tầng phát sinh) tức là một số tế bào xảy ra sự phân phân hóa mạnh ở vùng xuất hiện rễ tạo nên một đám tế bào lộn xộn, đó là mầm mống của rễ.

- Giai đoạn tiếp theo là giai đoạn xuất hiện mầm rễ.

- Giai đoạn cuối cùng là sự sinh trưởng và kéo dài của rễ, rễ chui qua vỏ để ra bên ngoài cành tạo nên rễ bất định.

Các giai đoạn này khác nhau về yêu cầu đối với auxin. Giai đoạn đầu đòi hỏi một hàm lượng auxin rất cao để khởi xướng sự phân phân hóa tế bào mạnh mẽ. Nồng độ kích thích của của auxin là $10^{-4} - 10^{-5}$ g/cm³. Giai đoạn thứ hai cần hàm lượng auxin thấp hơn cho sự xuất hiện rễ (10^{-7} g/cm³), còn sự sinh trưởng của mầm rễ thành rễ thì đòi hỏi hàm lượng auxin rất thấp ($10^{-11} - 10^{-13}$ g/cm³) và thậm chí sự có mặt của auxin trong giai đoạn này còn gây hậu quả ức chế sự sinh trưởng của rễ.

Nếu như quan hệ giữa auxin và hình thành rễ bất định là dương tính thì ngược lại xytokinin và gibberellin lại gây ức chế sự hình thành rễ bất định của cành chiết, cành giâm. Ngoài ra điều kiện ngoại cảnh có ảnh hưởng rất quan trọng đến sự hình thành rễ bất định. Điều kiện cần thiết là : độ ẩm bão hòa, ánh sáng tán xạ, nhiệt độ 20 – 30°C...

Nghiên cứu cơ sở sinh lý của sự hình thành rễ bất định có ý nghĩa quan trọng trong việc nhân giống vô tính cây trồng.

4.2. Sử dụng chất điều tiết sinh trưởng xúc tiến hình thành rễ bất định của cành chiết, cành giâm trong việc nhân giống vô tính

Trong nhiều năm qua, phòng thí nghiệm Sinh lý thực vật trường Đại học Nông nghiệp I đã tập trung nghiên cứu cơ sở sinh lý của sự tái sinh rễ ở cành giâm để xây dựng một quy trình nhân giống vô tính bằng phương pháp giâm cành cho nhiều đối tượng cây trồng : Cây ăn quả, cây công nghiệp, cây cảnh, cây thuốc... Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng sự tái sinh rễ bất định ở cành chiết, cành giâm là một quá trình sinh lý phức tạp liên quan chặt chẽ với điều kiện nội tại và điều kiện ngoại cảnh mà trong đó tác dụng kích thích của auxin là rất quan trọng. Vì hàm lượng auxin nội sinh trong cành chiết, cành

giâm không đủ cho sự hình thành rễ nhanh chóng, nên con người phải xử lý auxin ngoại sinh cho cành giâm, cành chiết để xúc tiến sự xuất hiện rễ.

Hiện nay, có hai phương pháp chính để xử lý auxin cho cành chiết, cành giâm.

- Phương pháp xử lý nồng độ đặc hay phương pháp xử lý nhanh. Nồng độ auxin dao động từ 1.000 – 10.000 ppm. Với cành giâm thì nhúng phần gốc vào dung dịch trong 3 – 5 giây, rồi cắm vào giá thể. Với cành chiết thì sau khi khoanh vỏ, chúng ta tẩm bông bằng dung dịch auxin đặc rồi bôi lên trên chỗ khoanh vỏ, nơi xuất hiện rễ bất định. Sau đó bó bầu bằng đất ẩm. Phương pháp này có ưu điểm là hiệu quả cao vì gây nên "cái sốc sinh lý" cần cho giai đoạn đầu của sự xuất hiện rễ. Ngoài ra, phương pháp này không đòi hỏi các thiết bị để ngâm cành giâm và hóa chất tiêu tốn ít hơn.

- Phương pháp nồng độ loãng – xử lý chậm. Nồng độ auxin sử dụng từ 20 – 200 ppm tùy thuộc vào loài và mức độ khó ra rễ của cành giâm. Đối với cành giâm, ngâm phần gốc vào dung dịch auxin 10 – 24 giờ, sau đó cắm vào giá thể. Với cành chiết thì trộn dung dịch vào đất bó bầu để bó bầu cho cành chiết.

Các chất auxin được sử dụng là : IBA, α – NAA và 2,4D (IBA > NAA > 2,4D).

Trong nhiều năm, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu các vấn đề :

- + Hiệu quả của hai phương pháp xử lý.
- + Đặc điểm cành giâm, tuổi cành, vị trí cành giâm, số lá để lại, cây mẹ...
- + Các điều kiện ngoại cảnh : Ánh sáng, nhiệt độ, giá thể...

~~Kết quả những nghiên cứu đã cho phép chúng tôi tạo nên được một chế phẩm giâm chiết cành có hiệu quả tốt cho sự ra rễ của cành~~

chiết, cành giâm và đã được sử dụng rộng rãi, được đánh giá cao trong sản xuất.

Chế phẩm giâm chiết cành của chúng tôi bao gồm hỗn hợp của auxin (IBA, α - NAA) phối chế với một số chất khác như axit nicotinic và vitamin.

Quy trình giâm cành cây ăn quả, cây cảnh, cây công nghiệp

- 1) Chọn cành giâm : Cành bánh tẻ, lá không bị bệnh.
- 2) Cắt các đoạn cành giâm (10 – 15 cm) có ít nhất 1 lá. Nếu cành giâm có nhiều lá thì cắt bớt lá.
- 3) Nhúng phần gốc vào dung dịch giâm chiết cành với thời gian 3 – 5 giây.
- 4) Cắm cành giâm vào giá thể – Giá thể phải ẩm, thoáng, tốt nhất là cát sạch.
- 5) Nhà giâm cành phải che ánh sáng trực xạ, chỉ sử dụng ánh sáng tán xạ.
- 6) Phun ẩm thường xuyên bằng máy phun sương hoặc bình phun thuốc trừ sâu. Trong thời gian đầu phải bảo đảm thường xuyên lá không bị héo, lá luôn ướt.
- 7) Khi xuất hiện rễ thì giâm phun nước và có thể cho vào bầu đất nilông. Giá thể tốt nhất là 1/2 phân chuồng mục và 1/2 đất màu. Khi thấy rễ đâm ra sát túi nilông thì có thể trồng ra vườn ươm hoặc trực tiếp ra vườn.

Thời vụ giâm chiết cành tốt nhất là vào mùa xuân sang hè (tháng 3, 4, 5) và thời vụ thu (tháng 9 và 10). Nếu giâm chiết cành vào những tháng nóng nực của mùa hè, và những tháng lạnh lẽo của mùa đông thì rất khó thành công.

5. Sự hình thành hoa và vai trò của chất điều hòa sinh trưởng

5.1. Sự ra hoa và các nhân tố ảnh hưởng

Sự ra hoa là một bước ngoặt trong đời sống của thực vật tức là sự chuyển hướng từ giai đoạn sinh trưởng dinh dưỡng sang giai đoạn sinh trưởng sinh sản. Sự chuyển hướng này thực chất là sự thay đổi đột ngột trong đỉnh sinh trưởng của thân, cần để có thể chuyển từ sự phân hóa mầm lá sang phân hóa mầm hoa.

Đối với sự ra hoa của cây thì giai đoạn khởi xương, cảm ứng sự ra hoa là quan trọng nhất. Đây là quá trình phức tạp chịu ảnh hưởng của nhân tố nội tại (quan trọng là phytohormon và phytochrom) và các nhân tố ngoại cảnh (chủ yếu là ánh sáng và nhiệt độ). Ảnh hưởng của nhiệt độ đặc biệt là nhiệt độ thấp đến sự ra hoa người ta gọi là sự xuân hóa. Còn ảnh hưởng của độ dài ngày đến sự ra hoa người ta gọi là hiện tượng quang chu kỳ.

Dưới tác dụng của nhiệt độ thích hợp và quang chu kỳ cảm ứng, trong lá cây xuất hiện các chất đặc hiệu gây nên sự ra hoa gọi là hormon ra hoa.

Hormon ra hoa này sẽ được vận chuyển đến các mô phân sinh đầu cành để quy định sự hình thành các mầm hoa.

Vậy các hormon thực vật liên quan đến sự ra hoa như thế nào ?

- *Gibberellin*

GA là nhóm phytohormon quan trọng nhất ảnh hưởng rõ rệt đến sự ra hoa của nhiều loài thực vật. Nhà sinh lý thực vật học Nga - Chailakhyan đã đề xướng học thuyết hormon ra hoa đã tồn tại mấy chục năm nay. Theo quan điểm này thì sự ra hoa của thực vật được điều chỉnh bằng các hormon ra hoa. Hormon ra hoa bao gồm hai thành phần : Gibberellin và antesin. GA kích thích sự sinh trưởng và

phát triển của ngồng hoa (trụ dưới hoa) còn antesin thì cần cho sự phát triển của hoa. Nếu thiếu một trong hai chất đó thì hoa không được hình thành. Xử lý GA có thể điều chỉnh sự ra hoa của các cây ngày dài và các cây cần xử lý lạnh như su hào, bắp cải, cà rốt... Việc xử lý GA cho cây ngày dài có thể làm cho chúng ra hoa trong điều kiện ngày ngắn.

- *Auxin*

Vai trò của auxin với sự hình thành hoa không rõ. Auxin có thể kích thích sự ra hoa của một số cây, nhưng lại ức chế sự ra hoa của các cây khác. Hiệu quả của chúng lên sự ra hoa là không đặc trưng.

- *Chất ức chế*

Nguyên tắc chung là sự kích thích sinh trưởng của chồi ngọn thường kìm hãm sự ra hoa, nhưng nếu ức chế sự sinh trưởng của chồi ngọn thường kích thích sự ra hoa của cây.

Các retardant như CCC, alar (SADH)... khi sử dụng với nhiều loại cây trồng đã kích thích sự ra hoa của chúng.

Như vậy có thể hình dung rằng sự ra hoa của cây được điều chỉnh bằng một sự cân bằng hoocmon nào đấy trong cây. Một trong những cân bằng quan trọng là cân bằng giữa GA/ABA. Trong thời kỳ sinh trưởng dinh dưỡng thì GA chiếm ưu thế và ABA ít được hình thành. Tuy nhiên khi chuyển sang giai đoạn ra hoa, ABA hình thành mạnh và lúc hình thành hoa thì ABA được tổng hợp mạnh trong hoa và quyết định giai đoạn sinh trưởng sinh sản – sự ra hoa và phát triển của các cấu trúc sinh sản.

5.2. Điều chỉnh ra hoa trái vụ của dứa

Dứa là cây trồng mà con người đã sử dụng hóa chất để kích thích sự ra hoa kết quả thêm một vụ, tăng thu hoạch. Đây là một biện pháp kỹ thuật rất kinh tế của các nước và các vùng trồng dứa.

Từ 1932, ở Puerto Rico người ta phát hiện ra rằng, trong khóm có chứa các khí chưa bão hòa hóa trị như etylen và cả axetylen đã kích thích sự ra hoa của dứa. Năm 1935 ở Hawai người ta đã biết ứng dụng axetylen như là một sản phẩm thương mại để làm dứa ra hoa trái vụ. Sau đó người ta phát hiện ra một số auxin cũng có ảnh hưởng tương tự.

Nhiều chất hóa học, trong đó phần lớn là các chất điều hòa sinh trưởng được sử dụng để kích thích dứa ra hoa trái vụ. Đơn giản nhất là người ta sử dụng đất đèn. Chỉ cần cho một hạt nhỏ (1 g) đất đèn vào nón dứa và khi gặp ẩm, đất đèn sản sinh ra khí axetylen gây hiệu quả. Etylen được sử dụng dưới dạng ethrel. Khi phun lên cây, chúng thấm vào cây và phân giải cho ra etylen gây hiệu quả sinh lý. Ethrel là chế phẩm có hiệu quả nhất được sử dụng rộng rãi ở nhiều nước trồng dứa hiện nay. Liều lượng ethrel xử lý cho dứa dao động từ 1,1 - 4,5 kg/ha. Hiệu quả của nó có thể đạt 100% số cây ra hoa quả, chín sớm hơn 2 - 3 tuần. Các chất auxin tổng hợp như α - NAA ; 2,4D cũng được sử dụng ở một số vùng trồng dứa. Ở Hawai nhiều cánh đồng dứa được phun dung dịch muối natri của NAA ở nồng độ 25 ppm. Ở Puerto Rico người ta phun 2,4D với nồng độ 5 - 10 ppm.

Việc xử lý bằng các chất điều hòa sinh trưởng cho dứa đã làm dứa ra hoa đồng loạt và thu hoạch đồng loạt, có thể xác định thời gian thu hoạch bằng thời gian xử lý hóa chất. Biện pháp này đã làm tăng sản lượng dứa đáng kể và có thể xem đây là một vụ dứa chính.

Nhiều tài liệu còn cho rằng ethrel kích thích sự ra hoa kết quả của xoài và một số cây cảnh vốn khó ra hoa kết quả.

5.3. Điều khiển sự ra hoa của các cây trồng

Có rất nhiều những ứng dụng thành công chất điều hòa sinh trưởng để điều chỉnh sự ra hoa của các cây ăn quả, cây rau, cây cảnh...

~~--- Nhân --- vãi : Ở Hawai người ta phun α - NAA cho nhân, vãi để kích thích sự ra hoa rất có hiệu quả.~~

– *Đào quít* : Ở Mỹ, xử lý dung dịch SADH (Alar) nồng độ 2.000 ppm đã làm ngừng sinh trưởng của chồi ngọn và tăng cường hình thành hoa.

– *Táo tây* : Với táo người ta sử dụng phổ biến các chất ức chế sinh trưởng. Ở Bắc Mỹ người ta sử dụng SADH nồng độ 500 – 2.000 ppm đã tăng số lượng hoa rất nhiều. Ở Canada sử dụng SADH với 500 – 2.000 ppm cũng làm tăng sự ra hoa của táo từ 50 – 85% tùy theo giống.

– *Lê* : Ở Mỹ đã sử dụng phổ biến SADH để kích thích sự ra hoa của lê. Nồng độ SADH là 1.000 – 3.000 ppm phun 2 lần, đã làm tăng số lượng hoa 2 – 3 lần so với không phun.

– *Chanh* : Ở Ixraen, chanh *Eurica* được phun CCC nồng độ 1000 ppm và SADH nồng độ 2.500 ppm đã làm tăng số lượng hoa và năng suất quả gấp bội.

– *Đu đủ* : Hợp chất có hiệu quả nhất cho sự ra hoa của đu đủ được sử dụng ở nhiều nơi trồng đu đủ, như ở Hawaii đã làm tăng số lượng hoa và quả đu đủ lên gấp bội là BOA (Benzothiazole – 2 – oxi axetic axit).

Phun BOA cho đu đủ với nồng độ 30 – 50 ppm đã làm tăng sản lượng đu đủ lên 2 – 3 lần.

– *Cây xà lách* : Để sản xuất hạt xà lách người ta phun GA nồng độ 3 – 10 ppm ở thời kỳ cây 4 – 8 lá để làm tăng sản lượng hạt và thu hoạch sớm hơn 2 tuần so với không xử lý.

– *Hoa trà* : Sử dụng CCC cho cây trà thì chỉ cần một năm sau khi giâm cành, là có thể ra hoa. Cây được xử lý thì ra hoa, còn cây không xử lý thì vẫn duy trì ở trạng thái dinh dưỡng.

– *Cây Phong lữ (Geranium)* : Xử lý CCC nồng độ 5.000 ppm vào 30 ngày sau khi gieo làm chiều cao thấp hơn 8 – 10 cm, phân cành

tốt và ra hoa nhiều. Phun lên lá dung dịch SADH nồng độ 5.000 ppm cũng làm tăng số lượng hoa và ức chế sinh trưởng chiều cao như xử lý CCC.

- *Layon* : Layon là một trong rất ít cây mà chiều cao của cây được kích thích khi sử dụng CCC. Phun CCC nồng độ 8.000 ppm 3 lần : Lần thứ nhất xử lý ngay sau khi mọc, lần thứ hai cách 4 tuần muộn hơn, lần thứ 3 cách 3 tuần sau lần thứ 2, tức khoảng 25 ngày trước khi ra hoa. Kết quả là hoa tự được kéo dài, số lượng hoa trên một ngồng hoa nhiều hơn.

- *Cúc Nhật* : Cúc Nhật thường mẫn cảm với quang chu kỳ và nhiệt độ thấp, nên ở Nhật người ta thường xử lý GA nồng độ 5 – 10 ppm vào đỉnh sinh trưởng để làm cho chóng ra hoa.

- *Cắm chướng* : Phun CCC ở nồng độ 0,25% sẽ chóng được hiện tượng cắm chướng mọc vống, ra nụ quá nhiều phải ngắt bỏ bằng tay tốn nhiều công lao động ; chất lượng hoa tăng rõ rệt.

5.4. Điều khiển ra hoa của hoa loa kèn

Hoa loa kèn là một trong những loại hoa rất được ưa chuộng và là loại hoa xuất khẩu chính trong các năm trước đây. Củ loa kèn thường được trồng vào tháng 9 tháng 10 nhưng mãi đến tháng 4 năm sau mới thu hoạch. Thời gian chiếm đất khá dài. Hơn nữa đến tháng tư nhiệt độ tăng, hoa nở ô ạt do đó làm giá trị của hoa bị giảm nhiều. Chính vì vậy, trong những năm qua, Bộ môn Sinh lý – Hóa sinh thực vật Trường ĐHNHI đã nghiên cứu thành công việc điều khiển hoa loa kèn ra hoa trái vụ theo ý muốn. Hiện nay trên thị trường Hà Nội đã có hoa loa kèn trong dịp lễ, tết dương lịch, nhất là từ tết âm lịch đến 8/3. Giá trị của bông hoa trái vụ này có thể tăng lên gấp nhiều lần so với hoa chính vụ. Để làm hoa xuất khẩu thì biện pháp xử lý hoa loa kèn trái vụ lại càng có giá trị hơn.

Việc rút ngắn thời gian sinh trưởng của cây loa kèn là một quá trình phức tạp phải có tác động của hàng loạt biện pháp được tính toán rất hợp lý. Trong các tổ hợp biện pháp đó thì GA có ý nghĩa rất quan trọng. Việc ngâm củ loa kèn hoặc phun đẫm bằng dung dịch GA nồng độ 10 ppm sau khi đã xử lý các biện pháp khác đã kích thích sự nảy mầm nhanh của củ loa kèn trong đất, rút ngắn thời kỳ ngủ nghỉ và làm chúng sinh trưởng nhanh ra hoa sớm.

Biện pháp này đã mang lại hiệu quả kinh tế cho nhiều gia đình trồng hoa loa kèn.

5.5. Điều khiển số lượng hoa đực, hoa cái theo ý muốn

Trong sự phân hóa giới tính (tính đực, tính cái) vai trò điều chỉnh của các phytohormon là rất quan trọng. Trong các cây đơn tính như các cây họ Bầu bí (Cucurbitaceae) chất điều tiết sinh trưởng sẽ điều hòa tỷ lệ hoa đực và hoa cái. Còn các cây lưỡng tính thì sự phát triển của bao phấn, hạt phấn và tế bào trứng cũng chịu ảnh hưởng điều chỉnh của các phytohormon.

Mối quan hệ của các cơ quan trong quá trình hình thành giới tính đã được xác nhận qua nhiều thực nghiệm với cây đơn tính. Nếu nuôi cây đơn tính từ cây con mà chỉ để lại lá, loại trừ rễ thì cây sẽ tạo nên 85 – 90% là cây đực. Còn ngược lại nếu rễ phát triển và loại bỏ lá thì đa phần là cây cái. Như vậy thì lá có khả năng biểu hiện tính đực, còn rễ cây biểu hiện tính cái. Điều đó được giải thích là lá sinh ra gibberellin còn rễ thì tổng hợp xytokinin. Trong điều kiện vừa có rễ vừa có lá tức là có sự cân bằng về giới tính. Nếu người ta tách phôi rồi nuôi cấy trong môi trường nhân tạo và trong môi trường chỉ bổ sung GA thì có 95 – 100% là hoa đực. Còn nếu chỉ có xytokinin thì 95 – 100% là hoa cái ; Cùng với xytokinin, etylen cũng biểu thị tính cái và auxin thể hiện đặc tính trung gian.

Với các cây họ Bầu bí như bí ngô, bí đao, mướp, dưa lê, dưa chuột, dưa hấu. .. thì trên cây vừa tồn tại hoa đực và hoa cái. Để điều chỉnh tỷ lệ giữa hoa đực và hoa cái, người ta thường dùng hai chất : GA để tăng tỷ lệ hoa đực, và ethrel (sản sinh etylen) sẽ kích thích ra hoa cái.

Nồng độ GA là từ 5 – 50 ppm, còn nồng độ của ethrel từ 50 – 250 ppm. Giai đoạn xử lý hóa chất để điều chỉnh giới tính là giai đoạn cây con có từ 1 – 10 lá thật. Phun ethrel ở liều lượng 240 mg/l vào lúc cây có 1 – 5 lá làm tăng năng suất dưa chuột lên ba lần.

Các dẫn xuất của axit flatic có tác dụng rất đặc hiệu đến quá trình hình thành hoa cái của dưa chuột. Khi phun lên cây dung dịch muối dikali của axit flatic (ftalat kali) ở nồng độ 0,5% đã làm tăng số lượng hoa cái lên 3 – 4 lần.

Phản ứng này của ethrel lên nhiều giống bầu bí cũng tương tự như dưa chuột.

Trong việc sản xuất hạt lai F_1 của các cây họ Bầu bí, người ta thường dùng GA hoặc ethrel để điều chỉnh giới tính. Người ta trồng xen kẽ từng hàng giữa các cây mang hoa đực và các cây mang hoa cái (các cây xử lý GA và các cây xử lý ethrel). Hạt giống thu được đo sự thụ phấn thụ tinh của các cây đực cây cái khác nhau là hạt lai F_1 .

5.6. Khắc phục sự ra hoa quả cách năm

Trong nghề trồng cây ăn quả, thường gặp hiện tượng ra quả cách năm, tức là xen kẽ năm được mùa và năm thất thu. Nguyên nhân chính là ở những năm thuận lợi, hoa ra quá nhiều làm kiệt cây dẫn đến sự giảm hoa hoặc không ra hoa năm sau. Đã có nhiều biện pháp kỹ thuật nông học được đề xuất để ngăn ngừa hiện tượng này, ví dụ như loại bớt hoa hoặc quả non bằng tay khi hoa quá dư thừa. Tuy nhiên mất rất nhiều công sức và khó thực hiện ở sản xuất lớn. Dùng các chất điều tiết sinh trưởng phù hợp có thể điều hòa quá trình này,

như phun muối của axit α - naphthyl axetic hoặc α - naphthyl axetamid ở nồng độ 0,001 - 0,005% vào lúc hoa nở rộ hoặc sau đấy 1 - 2 tuần để làm rụng bớt hoa. Cơ chế tác dụng của các chất này là tăng cường sự tổng hợp etylen, chất đóng vai trò quan trọng trong sự rụng của quả. Người ta có thể dùng ethrel ở nồng độ 0,2 - 2 g/l phun lúc ra hoa hay 1 - 2 tuần sau khi rụng cánh hoa sẽ làm rụng bớt hoa thừa, làm quả to hơn. Bằng biện pháp này táo ở năm sau có thể cho 37kg quả/cây, trong khi đó cây không xử lý chỉ cho 2 kg. Ở Ôxtrâylia khi phun cho cam Valenxia dung dịch gibberellin nồng độ 25 mg/l vào lúc hoa nở rộ chỉ làm giảm ít số lượng quả năm đó nhưng tăng mạnh sản lượng năm sau vốn là năm rất ít được thu hoạch. Sự chênh lệch năng suất giữa hai năm giảm từ 10 xuống 2 lần. Tổng sản lượng của hai năm vẫn tăng trên 10% so với không xử lý.

Để thúc đẩy cây sớm cho quả, đặc biệt ở cây thân gỗ, người ta thường phun các chất kìm hãm sự sinh trưởng như alar hoặc CCC. Các chất này làm cây sớm chấm dứt thời kỳ "non trẻ", bước vào giai đoạn ra hoa. Ở các vườn táo, ngay từ năm đầu đã phun dung dịch alar với nồng độ 0,15 - 0,25% thì năm sau sẽ cho hoa rất rộ.

Nếu phun dung dịch alar hoặc CCC sau khi đã tắt hoa với nồng độ 0,2 - 0,5% thì sẽ kìm hãm sự vươn dài của chồi đọt và kích thích sự tiếp tục phân hóa mầm hoa, năm tới cây tiếp tục ra hoa mạnh hơn.

6. Sự hình thành quả và tạo quả không hạt

6.1. Sự thụ phấn, thụ tinh

Sự thụ phấn và thụ tinh là tiền đề của sự hình thành quả và hạt.

Sự thụ phấn là quá trình hạt phấn rơi lên núm nhụy. Hạt phấn nảy mầm trên núm nhụy. Sự nảy mầm của hạt phấn là do sự kích thích của các phytohormon của chính hạt phấn. Hạt phấn là nguồn giàu có chất kích thích, đặc biệt là auxin. Ngoài ra dịch của núm nhụy

tiết ra cũng chứa các chất kích thích sinh trưởng và các chất dinh dưỡng, góp phần kích thích sự nảy mầm của hạt phấn. Tuy nhiên, hạt phấn chỉ nảy mầm trên núm nhụy của cây cùng loài, còn khi rơi lên nhụy khác loài thì hạt phấn không nảy mầm. Sở dĩ như vậy là tồn tại một cơ chế ức chế sự nảy mầm của hạt phấn lạ mà có lẽ đó là các chất ức chế đặc biệt sản sinh ra ở núm nhụy và có nhiệm vụ ức chế sự nảy mầm của hạt phấn khác loài gây nên hiện tượng bất thụ.

Sau khi hạt phấn nảy mầm thì ống phấn được hình thành và sinh trưởng ngày càng dài ra cho đến tận noãn. Sự sinh trưởng của ống phấn được kích thích bởi auxin trong hạt phấn và các chất kích thích và dinh dưỡng từ núm nhụy. Khi ống phấn kéo dài đến tế bào noãn thì xảy ra quá trình thụ tinh kép : Một tinh tử kết hợp với tế bào trứng tạo nên hợp tử lưỡng bội, một tinh tử khác kết hợp với tế bào nội nhũ $2n$ để tạo ra nội nhũ $3n$. Hợp tử sẽ phát triển thành phôi, còn nội nhũ cùng với phôi sẽ cấu thành hạt.

Sự thụ phấn và thụ tinh chịu ảnh hưởng lớn bởi nhiệt độ và độ ẩm không khí. Nếu gặp nhiệt độ không thích hợp, độ ẩm quá thấp thì hạt phấn không nảy mầm, và ống phấn không được hình thành. Chính vì vậy thời vụ trồng cây là cực kỳ quan trọng quyết định sự thụ phấn, thụ tinh và tạo hạt, quả sau này. Sự nở hoa, tung phấn nhất thiết phải rơi vào thời kỳ thuận lợi nhất có nhiệt độ và độ ẩm thích hợp.

6.2. Sự hình thành quả và quả không hạt

Sau quá trình thụ phấn, thụ tinh thì quả bắt đầu được hình thành và sinh trưởng nhanh chóng. Sự lớn lên của quả là do sự phân chia tế bào và đặc biệt là do sự giãn nhanh của tế bào trong bầu. Sự tăng kích thước, thể tích của quả một cách nhanh chóng là đặc trưng sự sinh trưởng của quả. Ví dụ một quả táo tây có thể tăng thể tích 6.000 lần trong 20 tuần lễ sinh trưởng. Sự sinh trưởng nhanh chóng như vậy là do được điều chỉnh bằng phytohormon xuất hiện trong phôi hạt.

- Auxin và sự sinh trưởng của quả

Sự tăng kích thước của quả gây ra do sự dẫn của các tế bào mà trong đó auxin đóng vai trò điều chỉnh. Nguồn auxin này sản sinh trong hạt.

Người ta xác định có một mối tương quan chặt chẽ giữa sự phát triển của hạt và sự sinh trưởng của quả. Kích thước và hình dáng của quả phụ thuộc chặt chẽ với số lượng hạt và sự phân bố của hạt trong quả. Nếu hàm lượng auxin sản sinh ra từ hạt nhiều thì quả sinh trưởng nhanh và kích thước lớn và ngược lại. Sự vận chuyển của hoocmon này đến các vùng khác nhau của quả cũng quyết định đến hình dạng của quả. Nếu sự vận chuyển và phân bố đều ở mọi hướng thì quả lớn bình thường, mẫu hình quả đặc trưng cho giống, nhưng nếu sự phân bố đó không đều thì sẽ gây ra sự sinh trưởng nhanh chậm khác nhau của các vùng làm cho quả có hình dạng thay đổi.

- Gibberellin và sự sinh trưởng của quả

Gibberellin cũng được sản sinh ra trong hạt và góp phần điều chỉnh sự sinh trưởng của quả, kích thước và hình dáng của quả như auxin.

Vì vậy việc sử dụng GA có thể làm tăng kích thước của quả như sử dụng auxin.

- Xytokinin và sự sinh trưởng của quả

Trong quả non mới hình thành có chứa nhiều xytokinin. Xytokinin kích thích sự phân chia tế bào. Vì vậy trong giai đoạn sinh trưởng đầu của quả xytokinin có vai trò rất quan trọng. Việc sử dụng xytokinin cũng có thể làm tăng kích thước của quả như auxin và GA.

- Etylen và sinh trưởng của quả

Etylen cũng được sản sinh nhiều trong quả vào giai đoạn quả trưởng thành và chín. Tác dụng của etylen đối kháng với auxin và các chất kích thích sinh trưởng, nó kìm hãm sự sinh trưởng của quả và xúc tiến sự chín của quả.

Như vậy rõ ràng kích thước và hình dáng của quả được quyết định bởi nguồn phytohormon nội sinh được sản sinh trong phôi hạt. Hạt có được là do quá trình thụ phấn thụ tinh xảy ra.

Nếu chúng ta thay thế nguồn phytohormon nội sinh từ phôi bằng nguồn bổ sung từ ngoài thì quả vẫn được hình thành, vẫn sinh trưởng bình thường mà không cần thụ tinh. Trong trường hợp này quả sẽ không có hạt.

Các chất auxin thường có hiệu quả cao trong việc tạo quả không hạt đối với các loại quả có nhiều noãn như dâu tây, cà chua, thuốc lá, bầu bí v.v..., và không có hiệu quả với các loại quả hạch như lê, táo, đào, mận... Có khoảng 20% cây ăn quả có phản ứng với auxin.

Có nhiều loại quả vừa phản ứng với auxin lại vừa phản ứng với gibberellin. Tuy nhiên GA có hiệu quả khi tạo quả không hạt với các cây mà auxin không gây hiệu quả. Ví dụ với táo, chanh, cam, nho ...

Người ta phun các hợp chất auxin như α - NAA, 2, 4 D, ..., và gibberellin cho hoa nở thì có thể loại bỏ được sự thụ tinh mà quả vẫn lớn được. Nồng độ sử dụng tùy thuộc vào các chất khác nhau và các loài khác nhau. Chẳng hạn, với 2,4 D nồng độ sử dụng 5 - 10 ppm, với α - NAA nồng độ 10 - 20 ppm và với GA nồng độ sử dụng 10 - 100 pm...

Việc xử lý tạo quả không hạt có ý nghĩa quan trọng trong việc làm tăng phẩm chất của quả đặc biệt là các loại thịt quả.

Các biến đổi trên xảy ra nhanh hay chậm tùy thuộc vào loại quả và điều kiện chín.

Biến đổi sinh lý đặc trưng nhất trong quá trình chín là sự tăng hô hấp của quả nhanh chóng có tính chất bột phát. Sự hô hấp bột phát càng mạnh thì quả chín càng nhanh.

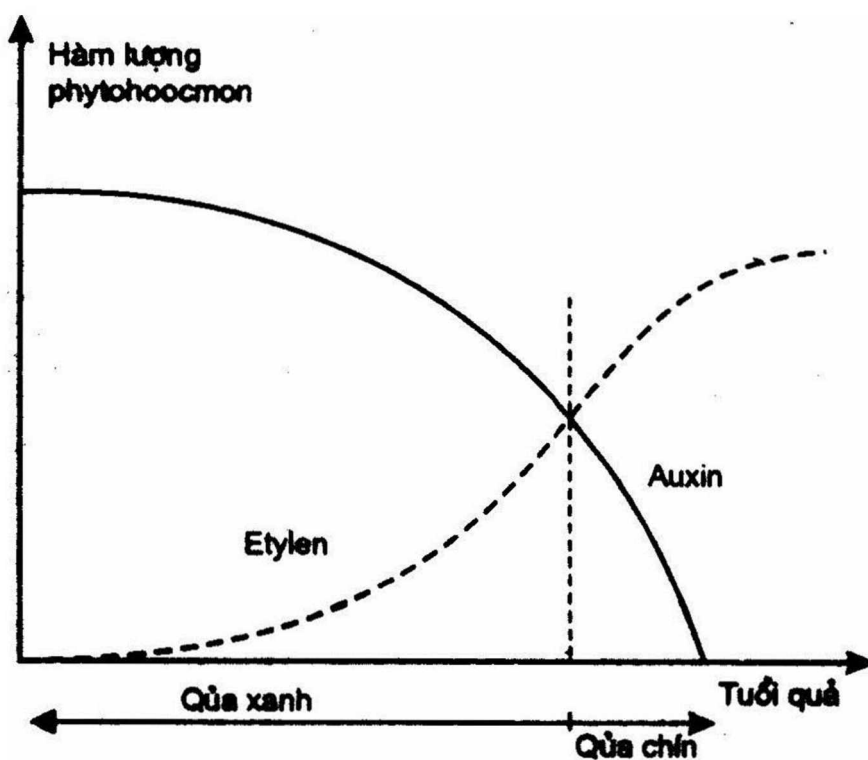
Sự chín của quả được điều chỉnh bởi sự cân bằng của phytohormon auxin/eylen. Hàm lượng auxin cao thì quả chưa chín ; còn

khi hàm lượng etylen cao trong quả thì sự chín được kích thích. Etylen là hooomon của sự chín. Nó cảm ứng hình thành và giải phóng các enzym cần thiết cho những biến đổi sinh hóa đặc trưng cho sự chín.

Trong quá trình chín của quả, sự tổng hợp etylen tăng lên rất mạnh mẽ. Mức độ tổng hợp etylen phụ thuộc vào tính chất của từng loại quả, liên quan đến tốc độ chín của chúng. Với các loại quả chín nhanh như chuối, xoài, mít... thì hàm lượng etylen trong chúng cao hơn nhiều so với các loại quả có tốc độ chín chậm hơn cam, chanh, bưởi, mận...

Sự cân bằng giữa auxin/etylen điều chỉnh sự chín của quả thể hiện trên hình IV.2.

Hàm lượng auxin giảm dần và giảm nhanh vào giai đoạn cuối, ngược lại hàm lượng etylen lại tăng rất nhanh ở giai đoạn cuối của quá trình tồn tại của quả trên cây. Thời điểm tương ứng với giao điểm của hai đường cong là lúc quả bắt đầu ngừng sinh trưởng, đạt được kích thước tối đa và bắt đầu vào quá trình chín của chúng.



Hình IV.2 - Sự cân bằng giữa auxin/etylen trong quá trình sinh trưởng và chín của quả

6.3. Kích thích sự chín của quả

Việc thu hái quả chiếm tới 60% chi phí lao động trong nghề trồng quả. Ở nhiều nước khâu này được cơ giới hóa nhưng đòi hỏi phải có biện pháp điều khiển quả chín đồng loạt và dễ rụng. Mặt khác, nhiều loại quả (chuối, cà chua, lê...) phải thu hoạch lúc còn xanh để giữ được lâu và dễ vận chuyển, vì thế việc điều khiển quả chín đồng loạt có mã đẹp là điều rất cần thiết. Chất được sử dụng phổ biến hiện nay trên thế giới để điều chỉnh sự chín của quả là ethrel (etherphon). Chất này dưới dạng dung dịch và khi xâm nhập vào quả, nó bị thủy phân giải phóng ra etylen. Trong thực tế, khi dấm quả người ta thường sử dụng đất đèn, hương thắp hoặc một số lá cây. Các nguyên liệu này sẽ sản sinh cho các chất khí có bản chất gắn với etylen và hoạt tính tương tự etylen như axetylen chẳng hạn.

- Kích thích sự chín của nho

Nhiều nước trồng nho ở vùng Địa Trung Hải, Mỹ, Ôxtrâylia... đã sử dụng ethrel để kích thích sự chín của nho. Nồng độ sử dụng 500 ppm phun cho quả khi bắt đầu chín có thể làm chín đồng loạt sớm hơn 6 ngày. Ethrel còn tăng cường tổng hợp antoxyanin làm mã quả đẹp hơn và tăng hàm lượng đường.

- Kích thích sự chín của cà chua

Để xúc tiến sự chín nhanh và đồng loạt, thuận lợi cho thu hoạch cơ giới hóa, nhiều nước trồng cà chua đã sử dụng hóa chất phun trước khi chín.

Người ta sử dụng ethrel nồng độ 500 đến 5.000 ppm phun cho ruộng cà chua hai tuần trước khi thu hoạch làm quả chín, thu hoạch sớm mà không ảnh hưởng đến chất lượng quả.

Có thể sử dụng SADH nồng độ 2.500 – 5.000 ppm cũng làm quả chín đồng loạt, thu hoạch sớm hơn. Quả thu hoạch về muốn điều khiển chín đồng loạt và đẹp mã có thể phun hay nhúng quả vào dung dịch ethrel trong thời gian 0,5 + 3 phút. Với chuối thường dùng dung

dịch có nồng độ 0,5 ÷ 2 g/l, lê 0,25 ÷ 1 g/l, cà chua 1 ÷ 4 g/l. Có thể nhúng cam quýt mới thu hoạch về vào dung dịch ethrel nồng độ 1 g/l từ 3 đến 10 phút, sau 7 – 10 ngày để nơi ấm trên 25°C quả sẽ chín vàng, màu sắc rất đẹp.

– *Kích thích sự chín của quả hồ tiêu*

Để xúc tiến sự chín nhanh của quả hồ tiêu, người ta phun ethrel vào giai đoạn quả bắt đầu chín. Nồng độ sử dụng là từ 100 – 500 ppm. Trong vòng 8 ngày từ khi phun quả sẽ chuyển thành màu đỏ.

– *Kích thích sự chín của quả cà phê*

Ở Kenya, người ta phun dung dịch ethrel với nồng độ 700 – 1.400 ppm cho quả xanh làm chín sớm hơn 2 đến 4 tuần so với không xử lý.

– *Kích thích sự chín của quả đào, anh đào*

Với hai loại quả này, người ta thường sử dụng SADH với nồng độ từ 1.000 – 5.000 ppm đều xúc tiến nhanh sự chín của chúng.

7. Sự già hóa của cây

7.1. Sự già hóa và sự điều chỉnh hoocmon

Mỗi một cơ quan có quá trình già hóa riêng và dẫn đến sự chết của cơ quan. Còn đỉnh cao của sự già hóa toàn cây là cái chết tự nhiên của cây.

Sự già hóa của lá được đặc trưng bằng sự giảm sút hàm lượng diệp lục, protein, axit nucleic do tăng cường độ các quá trình phân giải và ngừng các quá trình tổng hợp. Cường độ quang hợp và hô hấp cũng giảm sút nhanh chóng.

Trên cây nguyên vẹn quá trình già hóa cũng xảy ra liên tục mặc dù chúng mang trên mình các mô phân sinh vốn không có quá trình già hóa. Nhân tố gì đã gây nên sự già hóa của toàn cây dẫn đến cái chết ?

Chúng ta quan sát một cánh đồng lúa đang xanh tươi đầy sức sống, nhưng chỉ trong thời gian ngắn toàn cánh đồng hóa vàng và chết cùng với sự hình thành và sự chín của hạt. Rừng tre xanh tươi hàng chục năm bỗng dưng cả rừng bị chết khô sau khi hình thành hoa và quả. Vậy phải chăng sự hình thành cơ quan sinh sản, cơ quan dự trữ là nguyên nhân gây nên sự già hóa ?

Thực ra sự già hóa là một quá trình liên tục, những cơ quan sinh sản và dự trữ là trung tâm của sự già hóa, chúng phát sinh các ảnh hưởng già hóa lên cơ quan và toàn cây. Bằng chứng là các cây 1 năm, 2 năm có thể biến thành nhiều năm nếu làm cho chúng mất khả năng hình thành hoa. Chẳng hạn khi các cây đó gặp quang chu kỳ không thuận lợi thì không ra hoa và tồn tại ở trạng thái dinh dưỡng như vậy nhiều năm.

Chính phytohormon đã điều chỉnh sự già hóa của cây.

- *Xytokinin* là hormon thực vật quan trọng điều chỉnh quá trình già hóa. Nó tăng cường sự hình thành chồi, kéo dài tuổi thọ của cơ quan và của cây vì nó kích thích sự tổng hợp diệp lục, axit nucleic và protein. Khi xử lý xytokinin cho cơ quan và toàn cây sẽ kéo dài thời gian sinh trưởng của chúng, làm chậm sự ra hoa. Hệ rễ là cơ quan tổng hợp xytokinin. Nếu hệ rễ của cây phát triển mạnh thì cây sinh trưởng tốt, tốc độ già hóa chậm lại.

- *Axit Abscissic* : được xem là hormon già hóa. Nó được sản sinh nhiều trong cơ quan sinh sản và cơ quan dự trữ và từ đây gây ảnh hưởng ức chế lên cây. Vì vậy có thể xem cơ quan sinh sản và cơ quan dự trữ là trung tâm sự già hóa của cây. Ngoài ra, ethrel cũng góp phần xúc tiến sự già hóa của cây.

Như vậy thì sự già hóa của cơ quan và của toàn cây được kiểm tra bằng sự cân bằng giữa xytokinin/axit abscissic.

7.2. Điều khiển sự già hóa bằng kỹ thuật trồng trọt

Phân bón và nước là hai yếu tố quan trọng quyết định tốc độ già hóa của cơ quan và của cây. Phân đạm và nước sẽ làm cây sinh trưởng mạnh, đâm chồi nảy lộc nhiều và kéo dài thời gian sinh trưởng, ra hoa kết quả chậm lại. Hạn và bón vôi sẽ làm cây chóng già, ra hoa kết quả sớm vì rút ngắn thời gian sinh trưởng.

Để điều khiển sự ra hoa của cây hoa, cây cảnh người ta thường tác động đến bộ rễ vì rễ là cơ quan tổng hợp xytokinin - hoocmôn hóa trẻ. Kỹ thuật đảo quất rất quen thuộc đối với các nhà làm vườn trồng quất cảnh. Muốn ra hoa kết quả đồng loạt và đúng vào dịp Tết Nguyên Đán, người ta tiến hành đảo chúng, quật lên khỏi mặt đất nhằm mục đích là hạn chế sinh trưởng của rễ – tức là hạn chế nguồn dinh dưỡng từ đất và đặc biệt là hạn chế nguồn xytokinin được tổng hợp trong rễ. Thiếu xytokinin, các chồi ngừng sinh trưởng và chuyển sang phân hóa hoa.

Để cho cây chóng ra hoa, người ta thường xiên vào rễ hoặc cắt bớt rễ cũng nhằm mục đích như vậy.

7.3. Làm chậm sự hóa già của rau

Các loại rau xanh sau khi thu hoạch rất nhanh bị hỏng, giảm phẩm chất. Hàm lượng diệp lục và protein bị giảm nhanh. Xytokinin và các retardant sinh trưởng sẽ kìm hãm sự già hóa của rau trong khi bảo quản.

– *Bắp cải* : Người ta phun benzyl adenin (BA) nồng độ 20 – 40 ppm ngay sau khi thu hoạch thì có thể giữ được màu xanh (hàm lượng diệp lục) lâu hơn bắp cải không xử lý. Thời gian bảo quản này có thể kéo dài vài ngày, thậm chí 2 – 3 tuần.

– *Xà lách* : Lá xà lách bị úa vàng rất nhanh sau khi thu hoạch. Phun BA nồng độ 2,5 – 10ppm có thể giữ lá xà lách tươi và xanh trong 3 – 5 ngày.

Có thể sử dụng CCC và SADH ở nồng độ 10 – 50 ppm cũng có hiệu quả kéo dài thời gian bảo quản xà lách 5 – 10 ngày.

- *Xúp lơ* : Với xúp lơ sau khi thu hoạch việc hóa vàng và rụng các lá làm giảm phẩm chất. Ở Mỹ người ta sử dụng phối hợp dung dịch 10 ppm BA và 50 ppm 2,4 D và bảo quản ở 9°C thì sau 28 ngày xúp lơ còn giữ nguyên màu xanh.

- *Cần tây* : Người ta cũng phun BA nồng độ 10 ppm có thể bảo quản được 22 ngày. Còn nếu xử lý BA và bảo quản ở 4°C thì thời gian kéo dài tới 40 ngày.

7.4. Kìm hãm sự già hóa của quả

Sự chín của quả cũng biểu hiện quá trình hóa già của quả. Việc kéo dài thời kỳ chín của quả tức kìm hãm sự già hóa của chúng có ý nghĩa quan trọng trong bảo quản quả tươi cũng như thuận lợi cho thời vụ thu hoạch quả. Chất điều hòa sinh trưởng là phương tiện kéo dài sự chín của quả.

- *Cam Navel* : Khi cam Navel chín thì vỏ quả từ màu xanh chuyển thành màu vàng sau đó vỏ quả mềm và nhũn ra. Để kìm hãm sự chín, kéo dài thời kỳ quả xanh, ở Califocnia người ta phun GA nồng độ 10 ppm lên lá và quả trên cây – như ở Califonia cam được thu hoạch giữa tháng 3 thì người ta phun GA vào tháng 10, tháng 11.

- *Chanh* : Phun GA nồng độ 40 ppm cho quả trên cây có thể kéo dài thời gian tồn tại của quả trên cây 1 tháng so đối chứng. Với cam, chanh, ngoài xử lý GA người ta có thể nhúng ướt quả bằng dung dịch nước hay sáp có 2,4 D nồng độ 0,02% là biện pháp bảo quản rất tốt.

- *Hồng quật* : Đặc trưng của hồng quật là chín rất nhanh, vì vậy việc kìm hãm tốc độ chín của hồng quật có ý nghĩa lớn. Để làm được việc đó người ta phun dung dịch GA nồng độ 50 – 200ppm lên quả trên cây khi quả bắt đầu chín thì có thể kéo dài thời gian chín của quả 3 – 4 tuần sau khi phun so với đối chứng không phun.

7.5. Kéo dài đời sống của hoa cắt

Hoa sau khi cắt khỏi cây sẽ rất chóng tàn. Tốc độ hóa già tùy thuộc từng loại hoa cắt. Việc ngăn chặn sự hóa già, kéo dài thời gian tồn tại của hoa cắt là một yêu cầu thực tiễn quan trọng

- Với hoa mớm chó người ta sử dụng MH và các dẫn xuất của nó là có hiệu quả nhất. Chẳng hạn cupferron là dẫn xuất của MH ở nồng độ 200 ppm có thể kéo dài thời gian cắm hoa này lên 10 ngày so với đối chứng không xử lý là 4, 7 ngày.

Có thể sử dụng SADH 10 – 50 ppm kết hợp với 1,5% đường xaccaroz đã kéo dài thời gian hoa cắm lọ lên 2 – 3 lần, chất lượng hoa được cải thiện.

- Nhiều hóa chất được thử nghiệm với hoa cắm chường với mục đích kéo dài đời sống của hoa sau khi cắt. Công thức tối ưu là phối hợp giữa SADH 500 ppm, QC (Hydroxyquinolin xitrat) 300 – 500ppm kết hợp với dung dịch 3 – 5% đường xaccaroz. Cắm hoa trong dung dịch này đường kính hoa tăng 2,5 lần, thời gian hoa tồn tại trong lọ là 16,8 ngày so với đối chứng (trong nước) là 6,8 ngày. Vai trò của các thành phần trong hỗn hợp đó có thể QC chống sự tắc mạch dẫn, SADH ngăn chặn hô hấp bột phát và làm thông dòng nước lên hoa, đường cung cấp dinh dưỡng.

Để giữ lâu hoa cắt còn có thể sử dụng dung dịch : "nora" có thành phần : 0,07% SADH (alar), 0,04% oxysunfatquinolin và đường xaccaroz 5%. Cắm hoa vừa cắt trước hết vào nước 2 – 3 tiếng sau đó vào dung dịch "nora". Tuổi thọ của hoa có thể kéo dài tới 40 ngày (hoa cắm chường, hoa cúc...).

8 – Sự rụng lá – quả

8.1. Sự rụng lá – quả và sự điều chỉnh hoocmon

Sự rụng là sự phân tách một bộ phận của cây như lá, hoa, quả, cành... khỏi cơ thể mẹ. Ví dụ sự rụng của lá về mùa thu đông, sự rụng quả, quả non...

- *Sự rụng của lá* là một quá trình sinh lý phức tạp gắn liền với sự hóa già của lá. Sự rụng lá của cây gỗ thường xảy ra vào mùa thu trước khi vào mùa đông nhưng sang xuân hè thì bộ lá mới được tạo nên có sức sống và hoạt động sinh lý mạnh mẽ hơn. Một số cây xanh hàng năm thì sự rụng lá thường xuyên xảy ra quanh năm, khi mà lá đã già không đảm nhận được chức năng quan trọng của nó, cần phải thay thế lá mới. Lá là cơ quan quan trọng, đảm nhận chức năng quang hợp và thoát hơi nước. Khi đã già thì giảm sức sống, giảm khả năng hoạt động quang hợp và tích lũy ; cần phải thay thế lá mới. Vì vậy sự rụng của lá là một phản ứng thích nghi của cây.

- *Sự rụng của quả* cũng thường xảy ra và làm giảm năng suất. Khi cây thiếu dinh dưỡng, nước và hoocmon sinh trưởng thì buộc phải bỏ đi một lượng quả nhất định để tập trung dinh dưỡng và các yếu tố cần thiết cho lượng quả còn lại trên cây. Sự rụng của quả thường xảy ra mạnh mẽ nhất lúc phôi hạt sinh trưởng nhanh và lúc quả phình to.

- *Sự rụng lá và quả* được thực hiện nhờ sự hình thành tầng rời ở gốc cuống lá và quả. Tầng rời gồm một số tế bào nhu mô đặc biệt có đặc trưng là tế bào bé hơn, tròn, chất nguyên sinh đặc hơn, gian bào bé, không hóa suberin và lignin và hệ thống dẫn qua vùng này rất mỏng manh. Các cấu trúc trên làm cho vùng tế bào này yếu hơn vùng tế bào khác. Khi có những điều kiện cảm ứng sự rụng thì tầng rời xuất hiện nhanh chóng. Các biến đổi xảy ra trong vùng tế bào này cũng rất mạnh đặc biệt là hoạt động của enzym pectinaza phân hủy thành tế bào làm cho các tế bào bị rời rạc, không dính nhau và lá chỉ còn giữ lại được bằng bó mạch mỏng manh. Dưới tác dụng của khối lượng lá, quả, tác động cơ giới làm lá, quả bị rụng dễ dàng.

- *Sự điều chỉnh hoocmon, sự rụng*

Auxin : Auxin là phytohoocmon quan trọng điều chỉnh sự rụng mà vai trò của nó là kìm hãm sự rụng. Trong quả auxin được tổng hợp trong hạt còn trong lá thì auxin được vận chuyển từ chồi và lá non

đến. Có một sự tương quan rất chặt chẽ giữa hàm lượng của auxin trong quả và lá với sự rụng của chúng. Khi hàm lượng auxin trong lá hoặc trong quả giảm xuống thì tầng rời xuất hiện. Các lá già và các quả trưởng thành, khả năng tổng hợp auxin càng giảm sút và do đó tầng rời càng dễ hình thành. Trong trường hợp các quả non, nếu số lượng quả quá nhiều, lượng auxin trong chúng không đủ để duy trì sự sinh trưởng bình thường của quả và do đó nếu gặp điều kiện bất thuận như thiếu nước, thiếu dinh dưỡng... thì tầng rời cũng dễ xuất hiện. Tuy nhiên, sự hình thành tầng rời còn được điều chỉnh bằng sự cân bằng giữa auxin và chất đối kháng với nó ở trong cây là axit abxixic và etylen.

Axit abxixic và etylen : Hai hoocmon này có tác dụng đối kháng với auxin trong sự rụng của lá và quả. Trong các điều kiện bất lợi như nhiệt độ quá cao, quá thấp, hạn hán, thiếu dinh dưỡng, sâu bệnh thì hàm lượng ABA và etylen tăng lên nhanh chóng, do đó sự rụng của chúng được xảy ra. ABA và etylen kích thích sự tạo nên các enzym phân hủy thành tế bào của tầng rời, làm tầng rời nhanh chóng xuất hiện. Trong quả già và lá già tích lũy khá nhiều ABA và etylen.

Như vậy sự rụng là do cân bằng của auxin và ABA và etylen. Trong quả non, lá non sự cân bằng này nghiêng về phía auxin và kìm hãm sự hình thành tầng rời. Còn trong các quả già, lá già thì cân bằng này nghiêng về ABA và etylen và tầng rời được cảm ứng.

Các quả non, lá non nếu gặp điều kiện bất thuận như hạn, thiếu dinh dưỡng, sâu bệnh... thì ABA và etylen được tổng hợp rất mạnh và do đó tầng rời cũng được hình thành. Chính vì vậy, muốn kìm hãm hoặc xúc tiến sự rụng của lá, quả thì cần được điều chỉnh sự cân bằng giữa auxin / ABA và etylen.

8.2. Ngăn chặn sự rụng quả trước thu hoạch

Sự rụng quả thường hay xảy ra với tất cả các loại cây thu hoạch quả và đã góp phần làm giảm năng suất đáng kể (có thể làm giảm năng suất 30 – 70%). Nguyên nhân của sự rụng này là khi quả sinh

trưởng nhanh thì hàm lượng auxin nội sinh từ hạt không đủ. Nếu gặp một số điều kiện bất thuận thì sự tổng hợp ABA và etylen tăng nhanh chóng làm cho sự cân bằng hoocmon thuận lợi cho sự rụng, tăng rời xuất hiện nhanh chóng.

Để ngăn chặn sự hình thành tăng rời thì phải bổ sung thêm auxin ngoại sinh. Người ta thường sử dụng 2,4D ; α - NAA ; cả SADH với mục đích ngăn chặn sự rụng của quả trước thu hoạch.

- *Táo tây* : Trong các chất có bản chất auxin thì α - NAA là an toàn nhất. Nó được sử dụng với nồng độ 20 ppm vào lúc quả có biểu hiện bắt đầu rụng thì kéo dài quả trên cây thêm một số ngày nữa.

Hợp chất thứ hai cũng được sử dụng rộng rãi để ngăn chặn sự rụng quả táo là SADH. SADH là chất chống rụng rất hữu hiệu, có tác dụng cả trên cây thân gỗ lẫn thân bụi. SADH là chất không độc với cây, có tác dụng tốt đến sự sinh trưởng phát triển. Có thể phun SADH ở nồng độ 1,5 - 3 g/l vào lúc sau hoa rộ 2 - 4 tuần, làm quả giữ chặt trên cây. Nhiều khi quả quá bền trên cây trước khi thu hoạch 5 - 7 ngày lại phải phun chất gây rụng. Phun SADH với nồng độ 500 - 2.000 ppm trước khi thu vài ngày làm giảm tỷ lệ quả rụng và kéo dài thời gian tồn tại của quả trên cây.

- *Lê* : Phun α - NAA với nồng độ 10 ppm hoặc phun SADH 1.000 ppm đều có hiệu quả tốt trong việc ngăn chặn sự rụng của lê trước và lúc thu hoạch.

- *Mận* : Ở Mỹ người ta ngăn chặn sự rụng trước khi thu hoạch của mận bằng phun dung dịch 2,4D ở nồng độ 15 - 20ppm.

- *Với các cây ăn quả họ Cam chanh (Citrustaceae)* thì chất có hiệu quả nhất được sử dụng nhiều ở Mỹ và các nước trồng cam chanh là 2,4D.

Cam Navel Wasington được phun dung dịch 2,4D nồng độ 8 - 16 ppm.

Cam Valencia cũng được phun 2,4D với nồng độ 8 ppm.

Ngoài ra có thể phun GA cho cam, quýt cũng có tác dụng chống rụng.

Với chanh người ta phun 2,4D với nồng độ 4 – 8 ppm.

– Nho : Vào mùa hè, để chống rụng quả nho người ta phun 2,4D nồng độ 50ppm, còn với mùa đông thì nồng độ 15 – 20 ppm.

8.3. Xúc tiến sự rụng lá ở một số cây trồng

Sự rụng lá trước khi thu hoạch của một số cây trồng tạo điều kiện cho thu hoạch cơ giới hóa. Ở Mỹ có đến 75% diện tích trồng bông (khoảng 3 triệu ha) đã được sử dụng các chất làm rụng lá (defoliant) để thu hoạch bằng máy. Người ta phun dung dịch các chất làm rụng lá, cho bông trước khi thu hoạch 7 – 14 ngày (thường phun ethrel cho bông với liều lượng 6 – 10kg/ha) thì lá hoàn toàn bị rụng mà quả bông không bị rụng. Người ta còn sử dụng các chất làm khô cây. Các chất này làm lá mất nước, các lá, cành bị khô và chết nhanh chóng trong vài ngày mà tầng rời chưa kịp hình thành nên lá không rụng mà chỉ bị khô trên cây.

Có hàng trăm các chất làm rụng lá và khô cây được sử dụng trong sản xuất. Ở các nước tiên tiến người ta còn dùng phương tiện máy bay để phun các chất này cho cánh đồng bông.

Các chất defoliant được sử dụng có hiệu quả cho bông là : natri chlorat, nitrat amon, tributyl phosphotrithioit...

Với các loại đậu người ta có thể sử dụng ethrel 1.000 ppm cũng có thể gây hiệu quả rụng lá trước khi thu hoạch.

Với các cây gỗ, để làm rụng lá người ta thường sử dụng chất kali iodua nồng độ 0,15 – 0,5%.

8.4. Các chất điều hòa sinh trưởng sử dụng với mục đích diệt cỏ dại (herbicide)

Các chất điều hòa sinh trưởng khi sử dụng với nồng độ rất cao cũng có thể gây nên sự hủy diệt. Các chất như 2,4D ; 2,4,5T ; MH...

cũng được sử dụng khá phổ biến vào mục đích diệt cỏ. Điều quan trọng trong việc sử dụng thuốc trừ cỏ là phải quan tâm đến tính chọn lọc của thuốc tức là chỉ diệt cỏ dại các loại mà không ảnh hưởng xấu đến cây trồng. Chẳng hạn, 2,4D diệt tất cả các loại cỏ có lá rộng mà không ảnh hưởng đến cây ngũ cốc nên có thể sử dụng tốt trong ruộng lúa, ngô...

Độ độc của thuốc trừ cỏ kiểu hoocmon sinh trưởng có quan hệ chặt chẽ với hoạt động sinh trưởng của cây. Thời kỳ hiệu quả cao nhất lúc cây cỏ sinh trưởng nhanh nhất. Vì vậy cần xác định giai đoạn phát triển của chúng để sử dụng cho có hiệu quả cao.

Tuy nhiên việc sử dụng thuốc trừ cỏ là một lĩnh vực riêng cần được trình bày trong một chuyên đề khác.

Trong một số trường hợp việc duy trì tuổi thọ và hình dạng của cỏ lại rất có ý nghĩa. Ví dụ trong lĩnh vực trồng cỏ trang trí. Để duy trì các thảm cỏ trang trí ở công viên người ta thường phun các dung dịch chất kìm hãm sinh trưởng. Đặc biệt hay dùng là malein hydrazit (MH). Phun malein-hydrazit ở lượng 3 – 6 kg/ha làm kìm hãm sinh trưởng của cỏ, duy trì thảm cỏ bền lâu, đỡ công tỉa xén mà lại nâng cao chất lượng trang trí. Cũng tương tự như vậy, việc phun MH cho các hàng rào tự nhiên bằng các cây bụi sống, cũng rất có hiệu quả. Các hàng rào ô rô, thanh thảo... được phun dung dịch MH ở nồng độ 0,25 – 1,5% tỏ ra rất bền, định hình lâu, đỡ công chăm sóc, tỉa xén.

9. Sự vận chuyển và phân bố các sản phẩm đồng hóa trong cây, vai trò của các phytohocmon trong quá trình này

Sự vận chuyển vật chất trong cây đảm bảo mối liên hệ mật thiết giữa các cơ quan, bộ phận trong cơ thể. Quá trình này chính là khâu lưu thông, phân phối vật chất trong cây và được xem như quá trình tuần hoàn máu ở động vật. Sự vận chuyển và phân bố vật chất trong cây có ý nghĩa quyết định trong việc tạo nên năng suất kinh tế, đặc

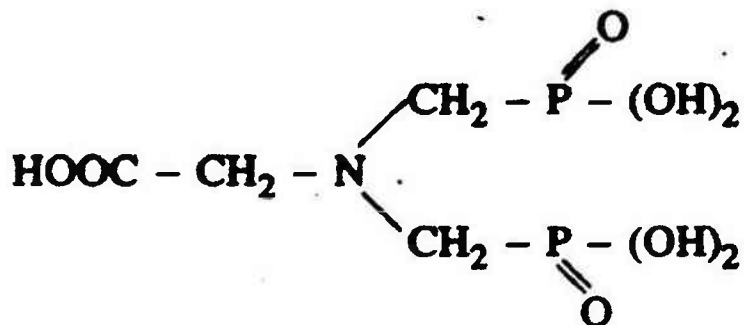
biệt là trong giai đoạn hình thành các cơ quan dự trữ : Muốn nâng cao năng suất kinh tế, ngoài việc nâng cao hoạt động của bộ máy quang hợp còn cần phải huy động tối đa các sản phẩm đồng hóa về tích lũy ở các cơ quan thu hoạch.

Sự vận chuyển các chất hữu cơ ở khoảng cách xa được thực hiện trong các mô chuyên hóa (mạch libe - phloem) và được kiểm tra bởi các phytohormon. Thực nghiệm chứng minh các cơ quan giàu phytohormon (chồi, lá non, quả non) là những trung tâm hấp dẫn chất đồng hóa. Ví dụ chồi ngọn chứa nhiều auxin (IAA) đã lôi cuốn các chất dinh dưỡng về mình, các chồi bên bị nghèo dinh dưỡng hơn nên không sinh trưởng được. Auxin và xytokinin có ảnh hưởng kích thích mạnh sự vận chuyển và phân bố các chất về phía mình. Chính vì thế các chất hữu cơ được tạo nên trong lá được vận chuyển mạnh theo hai hướng : Lên ngọn (nơi tập trung IAA) và xuống rễ (nơi tổng hợp xytokinin). Như vậy có thể sử dụng chất điều tiết sinh trưởng để điều khiển quá trình vận chuyển các sản phẩm đồng hóa theo hướng có lợi nhất cho con người.

Hoạt hóa dòng vận chuyển gluxit và nhựa nguyên : Khi thu hoạch mía hay củ cải đường, trên các cây này vẫn còn tồn tại một số lớn lá xanh có chứa nhiều gluxit còn tồn dư có thể nâng cao hàm lượng đường trong thân hoặc củ lên thêm 5 - 10%.

Người ta đã tìm được một số chất huy động dòng gluxit này về cơ quan thu hoạch để tăng hàm lượng đường của sản phẩm. Glyphoxin là chất có khả năng hoạt hóa dòng vận chuyển gluxit ở mía.

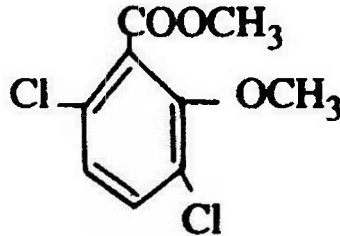
Glyphoxin có cấu tạo như sau :



Phun glyphoxin trước khi thu hoạch mía ở liều lượng 2,0 – 6,4 kg/ha làm tăng hàm lượng đường trong thân mía tới 10%.

Với củ cải đường người ta thường dùng chất racusa :

Cấu tạo racusa :



Cả hai chất trên được ứng dụng rộng rãi trong nông nghiệp Mỹ.

Bộ môn Sinh lý – Hóa sinh thực vật trường Đại học Nông nghiệp I đã nghiên cứu thành công chế phẩm tăng sản lúa, hiện đang được ứng dụng khá rộng rãi trong sản xuất. Chế phẩm này bao gồm auxin (NAA) kết hợp với một số nguyên tố đa và vi lượng. Phun cho lúa vào lúc làm đồng sẽ thúc đẩy trở đều, hạt mẩy, giảm tỷ lệ lép, khả năng tăng năng suất 10 – 15%, tăng giá trị thương phẩm của thóc. Tác dụng thực chất của chế phẩm là duy trì tuổi thọ của lá đồng, tăng cường độ quang hợp, thúc đẩy dòng vận chuyển sản phẩm đồng hóa về bông.

Ở các nước trồng cao su đặc biệt ở Đông Nam Á thường xử lý ethrel cho cây để làm tăng quá trình tiết mủ. Etylen sẽ ngăn cản quá trình làm lạnh vết cắt, khiến mủ tiết liên tục, kể từ ngày thứ mười sau xử lý. Biện pháp này đã làm tăng lượng mủ từ 50 – 100%. Hiệu quả xử lý tồn rất lâu, có thể kéo dài trên 10 tháng. Tuy nhiên, nếu xử lý liên tục không tính toán thì cây cao su sẽ bị kiệt sức, giảm sản lượng trong những năm sau.

Tài liệu tham khảo

1. A.I. Oparin, 1977. Cơ sở Sinh lý học thực vật. NXB Khoa học và Kỹ thuật (tập I, tập II. Bản dịch tiếng Việt)
2. Hoàng Minh Tấn, Nguyễn Quang Thạch, 1993. Chất điều hòa sinh trưởng đối với cây trồng. NXB Nông nghiệp.
3. Z. Lastuvka, J. Minar, 1967. Metoda vodnich Kultur vyssich rostlin. UJEP – Brno
4. H. Mohr, P. Schopfer, 1995. Plant Physiology. Springer – Verlag Berlin Heidelberg – New York.
5. S. Narayanaswamy, 1994. Plant Cell and Tissue Culture. Tata Mc. Graw – Hill Publishing Company limited New Delhi.

MỤC LỤC

Trang

Chương I : NUÔI CẤY MÔ - TẾ BÀO THỰC VẬT

1. Cơ sở lý luận và thực nghiệm của nuôi cấy mô tế bào thực vật in-vitro 6
2. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nuôi cấy 7
3. Nguyên liệu và phương pháp 15
4. Kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật 18
5. Các hướng nghiên cứu và ứng dụng 25
6. Sự phát triển của nuôi cấy mô tế bào thực vật ở Việt Nam 33

Chương II : PHƯƠNG PHÁP TRỒNG CÂY TRONG DUNG DỊCH

1. Sơ lược về lịch sử của phương pháp 34
2. Các loại dung dịch dinh dưỡng 36
3. Các loại chậu trồng cây 45
4. Dung dịch dinh dưỡng 49
5. Những thực vật thí nghiệm 61

Chương III : NHỮNG CON ĐƯỜNG ĐIỀU KHIỂN HOẠT ĐỘNG QUANG HỢP CỦA THỰC VẬT NHẪM NÂNG CAO NĂNG SUẤT CỦA CHÚNG

1. Triển vọng sử dụng các nguyên tắc và cơ chế của quang hợp trong những hệ nhân tạo 65
2. Quang hợp của thực vật và con người 67
3. Bức xạ Mặt Trời là yếu tố quang hợp 77

4. Tầng diện tích lá trong ruộng là một yếu tố của năng suất	83
5. Cấu trúc của ruộng là một hệ quang học	88
6. Hệ số thực tế có thể có của việc sử dụng năng lượng bức xạ Mặt Trời vào quang hợp và hình thành năng suất	91
7. Những mức cung cấp cần thiết cho ruộng về dinh dưỡng khoáng và nước	94
8. Những phương pháp đặc biệt để sử dụng chức năng quang hợp của thực vật	96

Chương IV : ỨNG DỤNG CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG TRONG TRỒNG TRỌT

1. Hoocmon thực vật với sự sinh trưởng, sự phân hóa tế bào và cơ quan	104
2. Sự nảy mầm của hạt, củ	109
3. Hiện tượng ưu thế ngọn và vai trò của hoocmon	113
4. Sự hình thành rễ của cành chiết, cành giâm và việc nhân giống vô tính cây trồng	116
5. Sự hình thành hoa và vai trò của chất điều hòa sinh trưởng	120
6. Sự hình thành quả và tạo quả không hạt	127

Tài liệu tham khảo

Chịu trách nhiệm xuất bản :

**NGÔ TRẦN ÁI
VŨ DƯƠNG THỤY**

Biên tập nội dung :
TRẦN THỊ PHƯƠNG

Sửa bản in :
VƯƠNG TRÌNH

Chế bản tại :
PHÒNG CHẾ BẢN (NXB GIÁO DỤC)

SINH LÝ THỰC VẬT ỨNG DỤNG

**In 3.500 bản, khổ 14,5 x 20,5 tại Nhà máy in Diên Hồng. Số in : 344.
Giấy phép xuất bản số 67 của Cục xuất bản kí ngày 25 tháng 1 năm 1999.
In xong và nộp lưu chiểu tháng 11 năm 1999.**