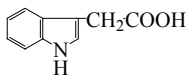
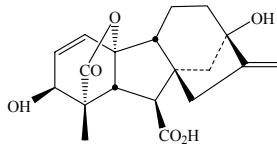




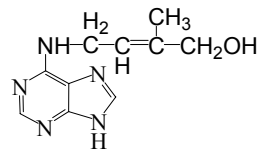
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ  
KHOA NÔNG NGHIỆP



Indol-3-acetic acid

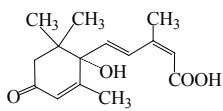


Gibberellic acid

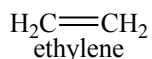


Zeatin

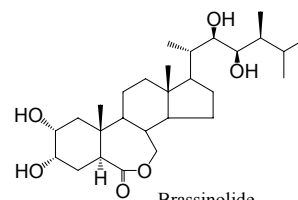
GIÁO TRÌNH  
CHẤT ĐIỀU HÒA SINH  
TRƯỞNG THỰC VẬT



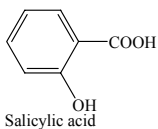
Abscisic acid



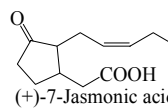
ethylene



Brassinolide



Salicylic acid



(+)-7-Jasmonic acid

*Biên soạn: TS. Nguyễn Minh Chơn*

# MỤC LỤC

<i>Nội dung</i>	<i>Trang</i>
<b>Lời mở đầu</b> .....	i
<b>Mục lục</b> .....	ii
<b>Chương 1. Lược sử nghiên cứu và các khái niệm về chất điều hòa sinh trưởng thực vật</b> .....	1
1.1. Lược sử nghiên cứu .....	1
1.1.1. Auxin .....	1
1.1.2. Gibberellin (GA) .....	4
1.1.3. Cytokinin .....	5
1.1.4. Abscisic acid (ABA) .....	6
1.1.5. Ethylene .....	6
1.1.6. Brassinosteroid (BR) .....	7
1.1.7. Salicylate (JA) .....	7
1.1.8. Jasmonate (SA) .....	8
1.2. Các khái niệm cơ bản và thuật ngữ .....	8
1.2.1. Yêu cầu đối với một chất điều hòa sinh trưởng .....	8
1.2.2. Các khái niệm và thuật ngữ .....	9
1.2.2.1. Hormone thực vật (Plant hormone, phytohormone) .....	9
1.2.2.2. Chất sinh trưởng thực vật (Plant growth substance) .....	9
1.2.2.3. Chất điều hòa sinh trưởng thực vật (Plant growth regulator, PGR) ..	10
1.2.2.4. Chất ức chế và chất làm chậm sinh trưởng (Inhibitor và retardant) ..	10
<b>Chương 2. Phương pháp trích, thanh lọc và xác định chất sinh trưởng thực vật</b> .....	11
2.1. Phương pháp ly trích .....	11
2.1.1. Phương pháp khuếch tán .....	11
2.1.2. Ly trích bằng dung môi .....	12
2.1.2.1. Chuẩn bị mẫu .....	12
2.1.2.2. Ly trích .....	12
2.2. Tinh lọc dịch trích .....	13
2.3. Định lượng chất sinh trưởng thực vật .....	14
2.3.1. Sinh trắc nghiệm (Bioassay) .....	14
2.3.1.1. Sinh trắc nghiệm auxin .....	15
2.3.1.2. Sinh trắc nghiệm gibberellin .....	15
2.3.1.3. Sinh trắc nghiệm cytokinin .....	16
2.3.1.4. Sinh trắc nghiệm abscisic acid .....	16
2.3.1.5. Sinh trắc nghiệm ethylene .....	17
2.3.1.6. Sinh trắc nghiệm brassinosteroid .....	18
2.3.2. Hóa lý trắc nghiệm .....	18
2.3.2.1. Phát hiện chất sinh trưởng thực vật bằng sắc ký khối phổ .....	18
2.3.2.2. Định lượng ethylene .....	18
2.3.2.3. Phát hiện chất điều hòa sinh trưởng thực vật bằng HPLC .....	18
2.3.2.4. Sinh trắc nghiệm miễn dịch học .....	19
2.3.3. Xác định cuối cùng .....	19

2.4. Kết luận .....	19
<b>Chương 3. Cấu trúc hóa học, sinh tổng hợp và ảnh hưởng sinh lý của các nhóm chất điều hòa sinh trưởng thực vật .....</b>	<b>21</b>
3.1. Auxin .....	21
3.1.1. Sinh tổng hợp auxin .....	21
3.1.2. Các auxin phổ biến .....	23
3.1.3. Những ảnh hưởng sinh lý .....	25
3.1.4. Sự phân hủy auxin .....	27
3.2. Gibberellin (GA) .....	28
3.2.1. Sinh tổng hợp gibberellin .....	29
3.2.2. Những ảnh hưởng sinh lý của gibberellin .....	34
3.3. Cytokinin .....	35
3.3.1. Sinh tổng hợp cytokinin .....	36
3.3.2. Những ảnh hưởng sinh lý của cytokinin .....	36
3.4. Abscisic acid .....	38
3.4.1. Sinh tổng hợp abscisic acid .....	38
3.4.2. Sự bất hoạt của abscisic acid .....	39
3.4.3. Những ảnh hưởng sinh lý của abscisic acid .....	39
3.5. Ethylene .....	40
3.5.1. Sinh tổng hợp ethylene .....	41
3.5.2. Sự kích thích tổng hợp ethylene của Auxin .....	42
3.5.3. Sự sản sinh ethylene do stress .....	43
3.5.4. Những ảnh hưởng sinh lý của ethylene .....	43
3.6. Brassinosteroid (BR) .....	46
3.6.1. Phân loại và cấu trúc hóa học .....	46
3.6.2. Sinh tổng hợp brassinosteroid .....	47
3.6.3. Những ảnh hưởng sinh lý của brassinosteroid .....	51
3.6.3.1. Ảnh hưởng của BR lên sự sinh trưởng nghiêng .....	51
3.6.3.2. Ảnh hưởng của BR lên sự vươn dài .....	52
3.6.3.3. BR cần thiết cho sự phát triển bình thường của thực vật .....	52
3.6.3.4. Sự chống chịu với điều kiện khắc nghiệt của môi trường, tính kháng sâu bệnh và tính chống chịu với thuốc cỏ .....	53
3.6.3.5. Kích thích sự sinh tổng hợp ethylene .....	54
3.6.3.6. Khả năng ứng dụng của brassinosteroid .....	55
3.7. Salicylate (SA) .....	56
3.7.1. Sinh tổng hợp salicylic acid .....	56
3.7.2. Ảnh hưởng sinh lý .....	57
3.8. Jasmonate (JA) .....	58
3.8.1. Sinh tổng hợp, chuyển hoá và vận chuyển jasmonate .....	58
3.8.2. Những ảnh hưởng sinh lý của jasmonate .....	59
3.9. Các chất điều hòa sinh trưởng khác .....	60
<b>Chương 4. Vai trò của chất điều hòa sinh trưởng trong sinh trưởng và phát triển của thực vật .....</b>	<b>61</b>
4.1. Điều khiển sự nảy mầm của hạt và sự phát triển của cây con .....	61
4.1.1. Ảnh hưởng của gibberellin và abscisic acid .....	62
4.1.2. Ảnh hưởng của cytokinin .....	62

4.1.3. Ảnh hưởng của ethylene .....	62
4.1.4. Ảnh hưởng của những chất khác .....	63
4.2. Sự thành lập rễ bất định từ cành giâm .....	65
4.3. Miên trạng .....	66
4.4. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên quá trình lão hoá .....	66
<b>Chương 5. Vai trò của chất điều hòa sinh trưởng lên các quá trình sinh sản của thực vật .....</b>	<b>68</b>
5.1. Trổ hoa .....	68
5.1.1. Ảnh hưởng của những yếu tố môi trường lên sự phát triển sinh sản ...	68
5.1.1.1. Quang kỳ (photoperiodism) .....	68
5.1.1.2. Sự thụ hàn (Vernalization) .....	69
5.1.2. Sự tượng mầm hoa .....	69
5.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên sự tượng mầm hoa, kích thích và ức chế trổ hoa .....	70
5.3. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên sự phát triển của chùy hoa hoặc thân trong những cây có hoa và sự thể hiện giới tính .....	70
5.3.1. Gibberellin và sự phát triển chùy hoa hoặc thân .....	70
5.3.2. Chất điều hòa sinh trưởng và sự thể hiện giới tính .....	71
5.4. Sự rụng .....	71
5.4.1. Giải phẫu học của sự rụng .....	72
5.4.2. Sinh lý của sự rụng .....	72
5.4.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ, oxygen và những yếu tố dinh dưỡng .....	72
5.4.2.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên sự rụng .....	73
5.5. Sinh lý của sự đậu trái, sinh trưởng, phát triển, chín và rụng trái .....	74
5.5.1. Sinh lý của sự đậu trái .....	74
5.5.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên sinh trưởng và phát triển của hạt và trái .....	74
5.5.3. Tia thừa hoa và trái bằng hóa chất .....	75
5.5.4. Sự chín của trái .....	75
5.5.5. Ngăn sự rụng trái .....	76
5.5.6. Gây ra sự rụng trái .....	76
<b>Chương 6. Vai trò của chất điều hòa sinh trưởng lên quá trình quang hợp của thực vật .....</b>	<b>77</b>
6.1. Chất cản sinh trưởng .....	77
6.1.1. Những chất ức chế sinh tổng hợp gibberellin .....	77
6.1.1.1. Những hợp chất onium .....	77
6.1.1.2. Pyrimidine .....	77
6.1.1.3. Triazole .....	78
6.1.1.4. Những chất khác .....	79
6.1.2. Những chất cản sinh trưởng không ức chế sinh tổng hợp gibberellin ..	80
6.1.2.1. Morphactin .....	80
6.1.2.2. Dikegulac .....	81
6.1.2.3. Hợp chất phóng thích ethylene .....	81
6.1.2.4. Maleic hydrazide .....	81
6.1.2.5. Dẫn xuất của acetamide .....	82
6.1.2.6. Dẫn xuất của acid béo .....	82

6.2. Ứng dụng của chất cản sinh trưởng .....	82
6.3. Mối liên quan giữa chất sinh trưởng cây trồng trong quá trình quang ... hợp và sự phân chia của chất đồng hóa .....	83
6.4. Các vấn đề về phòng trừ cỏ dại .....	84
6.4.1. Phương pháp phòng trừ cỏ .....	84
6.4.1.1. Ngăn ngừa, phòng trừ và nhổ cỏ .....	84
6.4.1.2. Quản lý cỏ dại .....	84
6.4.2. Giới thiệu về phòng trừ cỏ bằng hóa chất .....	84
6.4.2.1. Thuốc cỏ có tác dụng giống như IAA .....	85
6.4.2.2. Những chất ức chế tổng hợp gibberellin .....	85
6.4.3. Sự ức chế quá trình sinh tổng hợp, quang hợp và hô hấp .....	85
6.4.3.1. Những chất ức chế hô hấp (MAA, dinoseb, bromoxynil) .....	85
6.4.3.2. Chất ức chế quang hợp .....	85
6.4.3.3. Những chất ức chế quá trình sinh tổng hợp .....	86
6.4.4. Công nghệ di truyền và tính kháng thuốc cỏ ở thực vật bậc cao .....	86
<b>Tài liệu tham khảo .....</b>	<b>88</b>

## **Lời Mở Đầu**

*Giáo trình “Chất Điều Hoà Sinh Trưởng Thực Vật” là môn học giới thiệu về lịch sử nghiên cứu, phương pháp ly trích, cấu tạo hoá học, sinh tổng hợp, vai trò sinh học và cơ chế tác dụng của chất điều hoà sinh trưởng thực vật. Môn học này cũng giới thiệu về khả năng ứng dụng của các chất điều hoà sinh trưởng trong sản xuất nông nghiệp. Nó cũng là môn học cung cấp những kiến thức cần thiết cho những ngành sinh lý thực vật, khoa học cây trồng và sinh học phân tử.*

*Giáo trình này được viết để phục vụ cho nhu cầu đào tạo cử nhân ngành công nghệ sinh học, tuy nhiên tất cả những người nghiên cứu về thực vật đều có thể tham khảo được. Nội dung chương trình này giúp bổ sung những kiến thức cần thiết cho sinh viên học xong năm thứ hai các ngành nông học, trồng trọt và sinh học. Sinh viên cao học thuộc ngành nông học và sinh học đều có thể tham khảo giáo trình này.*

*Đây là lần biên soạn đầu tiên vì vậy không thể tránh khỏi thiếu sót. Tác giả xin chân thành nhận những đóng góp của độc giả để lần tái bản sau được bổ sung hoàn thiện hơn. Xin chân thành cảm ơn phó giáo sư tiến sĩ Lê Văn Hoà, tiến sĩ Huỳnh Thu Hoà, tiến sĩ Nguyễn Bảo Toàn, thạc sĩ Lâm Ngọc Phương và thạc sĩ Lê Văn Bé đã có nhiều ý kiến đóng góp quý báu trong việc biên soạn và chỉnh sửa giáo trình này.*

*Cần thơ, ngày 25 tháng 12 năm 2004*

***Nguyễn Minh Chơn***

*Chương 1*  
**LƯỢC SỬ NGHIÊN CỨU VÀ CÁC KHÁI NIỆM VỀ  
CHẤT ĐIỀU HOÀ SINH TRƯỞNG THỰC VẬT**

Chất điều hoà sinh trưởng với những nồng độ cực thấp đã có khả năng điều hoà nhiều lĩnh vực sinh trưởng và phát triển của thực vật từ nảy mầm đến lão hoá và chết. Auxin là nhóm chất điều hoà sinh trưởng đầu tiên đã được phát hiện. Ngày nay, sáu nhóm chất điều hoà sinh trưởng thực vật đã được công nhận. Bên cạnh auxin còn có gibberellin, cytokinin, abscisic acid, ethylene và brassinosteroid. Gần đây, salicylate và jasmonate cũng đang được xem như những nhóm mới của chất điều hoà sinh trưởng và những nghiên cứu cơ bản về sinh hoá, sinh lý và sinh học phân tử cũng đạt được nhiều thành tựu. Mối liên hệ của chất điều hoà sinh trưởng với sự nảy mầm, sự phát triển của cây con, sự tạo rễ, miền trạng, sự phát dục, sự chín, sự lão hoá, sự trổ hoa, sự rụng, sự đậu trái, sự phát triển của trái, sự rụng trái non, sự chín, sự kích thích rụng trái, sự tạo củ, quang hợp và phòng trừ cỏ dại đã được biết. Các ứng dụng chất điều hoà sinh trưởng trong nông nghiệp và việc thương mại hóa chúng cũng đã trở thành hiện thực.

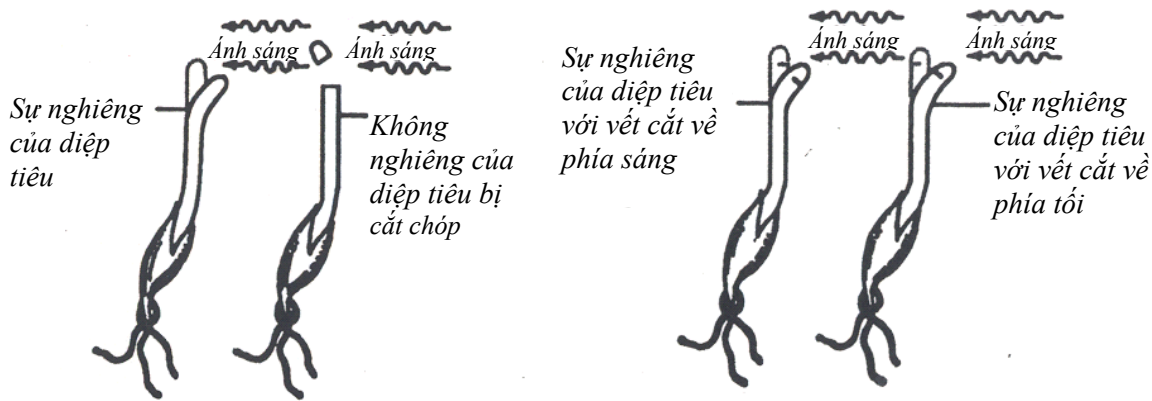
## **1.1. Lược sử nghiên cứu**

### **1.1.1. Auxin**

Việc phát hiện ra auxin đã được Darwin (1880) khảo sát trên hiện tượng quang hướng động. Ông thấy ngọn diệp tiêu hướng về phía có ánh sáng và cho rằng ánh sáng đã kích thích ngọn diệp tiêu hướng về phía đó. Bằng nhiều thí nghiệm đơn giản dùng một nắp che chóp diệp tiêu hay cắt nó đi thì diệp tiêu không còn hướng về ánh sáng nữa.

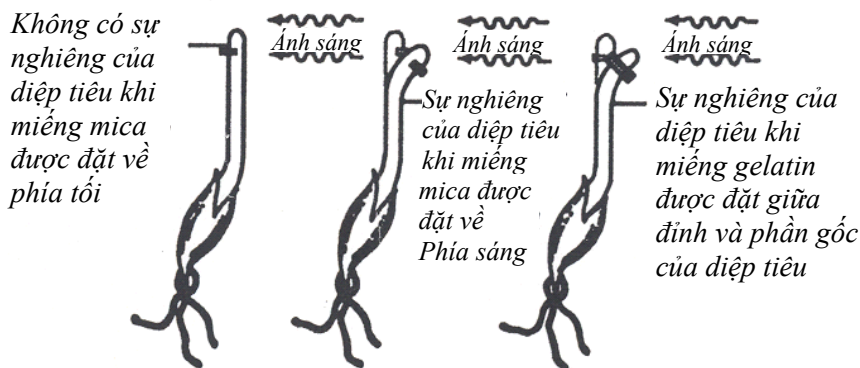
Salkowski (1885) đã phát hiện indole-3-acetic acid trong môi trường lên men. Mãi đến nhiều năm về sau chất này cũng đã được tìm thấy trong mô thực vật. Ngày nay, chất này được biết như là chất điều hoà sinh trưởng quan trọng thuộc nhóm auxin, nó cũng có liên quan đến nhiều quá trình sinh lý trong cây. Rothert (1884) đã khẳng định lại và tiếp tục các thí nghiệm của Darwin cho thấy rằng tín hiệu quang hướng động gây ra sự nghiêng được kiểm soát trong tế bào nhu mô của diệp tiêu.

Fitting (1907) đã ước lượng ảnh hưởng của vết cắt một phía lên diệp tiêu của yến mạch (*Avena*) trong môi trường bão hoà độ ẩm để những vết cắt bề mặt không bị khô. Kết quả cho thấy không có ảnh hưởng của những vết cắt bên lên tốc độ phát triển và sự đáp ứng của tác động ánh sáng bất chấp đến những vị trí cắt so với hướng của ánh sáng. Fitting cho rằng chất kích thích được vận chuyển qua chất sống và di chuyển quanh vết cắt. Ông cũng suy đoán rằng sự đáp ứng tác động ánh sáng dương tính đã xảy ra bởi vì ánh sáng đã sắp xếp chiều phân cực trong những tế bào của chóp diệp tiêu và chất kích thích được di chuyển từ những tế bào của chóp diệp tiêu được chiếu sáng một phía đến những tế bào ở phần trong tối phía dưới. Thật không may mắn, những quan sát của ông đã không chính xác bởi vì một vách ngăn sự vận chuyển đã không bao giờ được hình thành.

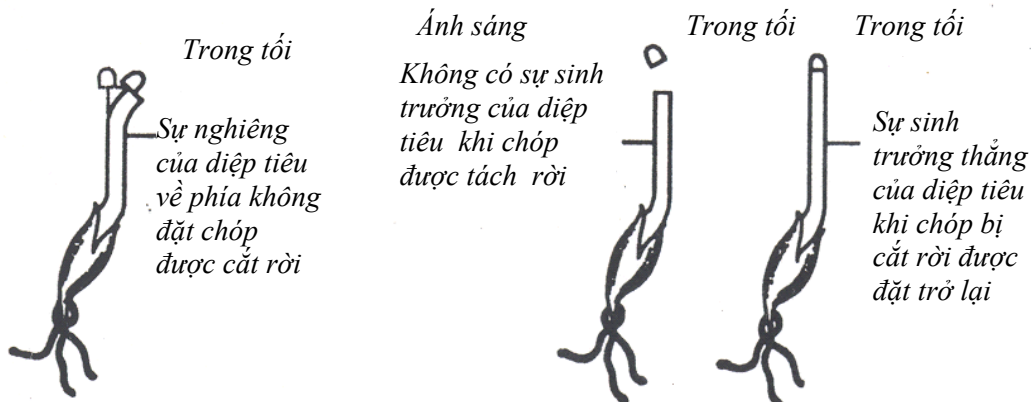


**Darwin (1880)**

**Fitting (1907)**



**Boysen-Jensen (1913)**



**Paal (1918)**

**Soding (1925)**

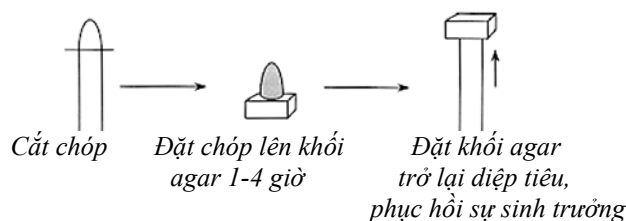
**Hình 1.1. Lược sử nghiên cứu về auxin trên diệp tiêu bị cắt chóp**



Boysen-Jensen (1913) cho rằng chất kích thích gây ra bởi ánh sáng có thể được di chuyển xuyên qua vật thể không có sự sống. Ông đã chứng minh điều này bằng cách cắt chóp diệp tiêu *Avena* và chêm một miếng gelatin giữa chóp và phần gốc. Khi phần chóp được chiếu sáng, phần dưới lớp gelatin đã cong đi. Không như thí nghiệm của Fitting, ông cũng cắt những vết ở những mặt khác nhau của diệp tiêu và chêm một miếng mica vào để tạo vách ngăn. Khi vách ngăn được đặt phía không được chiếu sáng của diệp tiêu thì không có hiện tượng cong. Tuy nhiên khi nó được đặt về phía sáng của diệp tiêu sự cong xảy ra. Kết quả cho thấy rằng tín hiệu đã được truyền xuống qua phía trong tối của diệp tiêu và đã kích thích sự sinh trưởng cong.

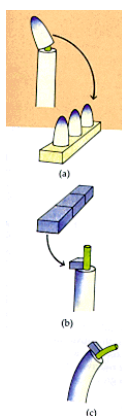
Paal (1918) đã khẳng định lại những phát hiện của Boysen-Jensen và cho rằng có một chất có khả năng hòa tan đã sản sinh ra trong diệp tiêu và điều khiển sự phát triển của diệp tiêu *Avena*. Nếu cắt chóp diệp tiêu và để chóp ấy nghiêng một bên của bề mặt cắt trong tối thì diệp tiêu sẽ cong về phía không có chóp.

Soding (1925) đã triển khai công trình của Paal bằng cách dùng thí nghiệm sinh trưởng thẳng dựa trên sự vươn dài của diệp tiêu *Avena* trong tối. Nếu diệp tiêu bị cắt rời, thì sự vươn dài sẽ bị giảm. Khi đặt đỉnh diệp tiêu trở lại thì sự sinh trưởng thẳng như ban đầu được phục hồi.



Hình 1.2. Thí nghiệm của Went (1926) cho thấy có một chất hoá học từ chóp diệp tiêu bị cắt kích thích sự phát triển trở lại của diệp tiêu bị cắt mất chóp trong tối

Went (1926) đã thu được một chất hoá học hoạt động từ chóp diệp tiêu *Avena* bằng cách đặt những chóp diệp tiêu này trên khối agar. Sau một thời gian, bỏ những chóp diệp tiêu, và cắt agar ra từng khối nhỏ. Ông đã thấy rằng khối agar này chứa đựng chất hòa tan từ đỉnh chóp được cắt đã kích thích sự phát triển trở lại của diệp tiêu khi đã được đặt trên những thân cụt đầu.



Hình 1.3. Sinh trắc nghiệm diệp tiêu *Avena* của Went (1928)

Went (1928) cũng đã phát triển một phương pháp để định lượng chất điều hòa sinh trưởng hiện diện trong mẫu. Ông thấy rằng có sự liên quan giữa sự cong của diệp tiêu với lượng của chất sinh trưởng thực vật hoạt động. Những phát hiện của Went đã kích thích mạnh mẽ việc nghiên cứu chất sinh trưởng thực vật. Từ thí nghiệm sự cong của *Avena*, indole Acetic Acid (IAA) đã được phát hiện. Đây là một phát hiện rất quan trọng đánh dấu sự khởi đầu của ngành khoa học về chất điều hòa sinh trưởng thực vật.

Kögl và Haagen-Smith (1931) đã bắt đầu với 33 gallon nước tiểu của người. Trải qua một loạt bước thanh lọc, với việc thử hoạt tính sinh học sau mỗi bước bằng cách dùng thử nghiệm về sự nghiêng của *Avena*. Bước thanh lọc cuối cùng của họ đã thu được 40 mg hợp chất được gọi là auxin B (auxenoleic acid). Trong dịch trích này có chứa *heteroauxin* và ngày nay được gọi là indole-3-acetic acid. Đây chính là chất được Salkowski phát hiện vào năm 1885.

Năm 1934, Kögl và Haagen-Smith đã phân lập IAA từ men bia và Thimann cũng đã phân lập IAA từ việc nuôi cấy *Rhizopus suinus* vào năm 1935. Mãi đến năm 1946, Haagen-Smith và nhiều người khác cũng đã phân lập được IAA tinh khiết từ nội phôi nhũ của hạt bắp. Điều này cho thấy rằng IAA đã được tìm thấy ở thực vật bậc cao. Vliegenthart (1966) đưa ra bằng chứng rằng Auxin A và B không phải là sản phẩm của thực vật tự nhiên. Tuy nhiên, IAA đã được phân lập trên một số lượng lớn loài thực vật và xuất hiện mọi nơi trong thực vật bậc cao. Auxin của Went có thể là IAA, tuy nhiên những chất kích thích khác có thể có trong những nghiên cứu sự khuếch tán khởi đầu trên sự đáp ứng về tác động của ánh sáng, có thể là dẫn xuất của IAA. Thuật ngữ auxin có nguồn gốc từ tiếng Hy Lạp. *Auxein* có nghĩa là “grow” (mọc, sinh trưởng). Kögl, Haagen-Smith và Went đã đề nghị sử dụng thuật ngữ này để đánh dấu sự phát hiện một chất đặc biệt có khả năng kích thích sự sinh trưởng cong của diệp tiêu yếm mạch *Avena*.

### 1.1.2. Gibberellin (GA)

Từ lâu người nông dân Nhật Bản đã thấy hiện tượng cây lúa cao sớm hơn bình thường. Họ nghĩ rằng đó là sự sinh trưởng tốt và sẽ có một mùa bội thu. Tuy nhiên, khi vụ mùa đến thì những cây này trở nên lỏng thong, bất thụ, hạt lép. Thay vì một mùa bội thu, 40% năng suất đã bị mất đi hàng năm do triệu chứng này. Bệnh này đã được người nông dân Nhật Bản gọi nhiều tên dựa theo triệu chứng quan sát được, vài tên thông dụng là bakanae (mạ ngu), ahonae (mạ khùng), yrei (ma), somennae (mạ mì ồm)... Thuật ngữ quen thuộc được dùng là mạ bakanae. Ở Việt Nam, triệu chứng này cũng rất dễ thấy ở lúa mùa.

Vào năm 1898, Hori là người đầu tiên cho rằng bệnh Bakanae gây ra bởi sự xâm nhiễm của một loài nấm thuộc chi *Fusarium* (Hori, 1898). Sawada (1912) cho rằng sự vươn dài của lóng là do chất kích thích từ sợi nấm. Kurosawa (1926) chứng minh rằng chính chất được tiết ra bởi nấm Bakanae gây ra sự vươn dài. Có một loạt tranh luận về việc định danh nấm Bakanae vì người ta có thể thấy nó ở những dạng khác nhau. Vấn đề này đã được giải tỏa vào năm 1931 khi Wollenweber đặt tên giai đoạn bất toàn (vô tính) *Fusarium moniliforme* (Sheldon), và giai đoạn hoàn toàn (hữu tính) *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Wr. Tuy nhiên sự thanh lọc chất sinh ra do nấm Bakanae bị trở ngại

bởi sự hiện diện của một chất ức chế sinh trưởng là fusaric acid (5-n-butylpicolinic acid). Vào năm 1935, Yabuta đã phân lập một chất dạng tinh thể có hoạt tính từ dịch lọc môi trường thanh trùng nấm *Gibberella fujikuroi*. Chất này đã kích thích sự sinh trưởng khi được áp dụng vào rễ mạ lúa và được gọi là gibberellin A. Đây là lần đầu tiên thuật ngữ gibberellin được dùng trong danh pháp khoa học. Yabuta và Sumiki (1938) đã thành công trong việc tinh thể hoá gibberellin A và gibberellin B. Tuy nhiên do chiến tranh, nghiên cứu về gibberellin đã bị xếp lại. Vào thập niên 1950, các nhà khoa học Anh, Mỹ và Nhật Bản đã có những nghiên cứu sâu hơn về đặc tính điều hòa sinh trưởng của gibberellic acid. Các gibberellic trong những dịch trích nấm đã được định danh và chúng cũng đã được phát hiện ở thực vật bậc cao. Vào năm 1954, những nhà nghiên cứu người Anh (Brian và cộng tác viên, 1954) đã nhận thấy những đặc tính điều hòa sinh trưởng của gibberellic acid từ dịch trích nấm *Gibberella fujikuroi*. Vào năm 1955, những nhà khoa học Mỹ đã nhận diện được chất mà họ gọi là gibberellin A và gibberellin X từ dịch trích môi trường thanh trùng nấm *Gibberella fujikuroi*. Cũng vào năm 1955, những nhà khoa học Nhật Bản đã thấy rằng gibberellin A chứa ba hợp chất phân biệt được gọi là GA<sub>1</sub>, GA<sub>2</sub>, GA<sub>3</sub>. Ngày nay, gibberellic X, gibberellic acid và GA<sub>3</sub> được biết là cùng hợp chất. Radley (1956) đã phát hiện ra những hợp chất tương tự với gibberellic acid trong thực vật bậc cao. Ngày nay, gibberellin đã được tìm thấy trong nhiều thực vật bậc cao. Takahashi và cộng tác viên (1951), đã phát hiện GA<sub>4</sub> từ nấm *Gibberella fujikuroi*. MacMillan và Takahashi (1968) đã đề nghị cách gọi tên gibberellin A<sub>1</sub>-A<sub>x</sub> bất chấp nguồn gốc của chúng. Cách này vẫn còn dùng đến ngày nay cho khoảng 136 gibberellin đã được phát hiện.

### 1.1.3. Cytokinin

Haberlandt (1913) thấy rằng chất khuếch tán của mô libe có khả năng kích thích tế bào tăng sinh trong mô củ khoai tây. Gần hơn 30 năm sau Van Overbeek và cộng tác viên (1941) đã thấy rằng sản phẩm tự nhiên tìm thấy trong nước dừa (nội nhũ lỏng) có khả năng kích thích sự tăng sinh tế bào trong phôi non của cà độc dược *Datura*. Van Overbeek và cộng tác viên (1944) cũng phát hiện trong dịch trích thô của phôi cà độc dược *Datura*, nấm men, mầm lúa mì và bột hạch hạnh (*Almondmeal*) kích thích sự phân chia tế bào trong nuôi cấy phôi cà độc dược *Datura*. Điều này cho thấy những chất này đã phân bố rộng trong nhiều loài. Kế thừa công trình của Haberlandt, vào năm 1945, Jablonski và Skoog đã phát hiện rằng những tế bào mô mạch chứa những chất kích thích sự phân chia tế bào cây thuốc lá. Miller và cộng tác viên (1955) đã công bố về sự thành lập và định danh kinetin (6-furfurylaminopurin) thu được từ DNA của tinh trùng cá trích trưởng thành hay từ DNA của tinh trùng cá trích được hấp thanh trùng. Họ đã đặt tên hợp chất này là Kinetin bởi vì nó có khả năng kích thích sự phân chia tế bào (*Cytokinesis*) trong mô lõi thuốc lá. Hall và cộng tác viên (1955) nhận thấy kinetin có thể được sản sinh bằng cách thanh trùng một hỗn hợp của adenine và furfuryl alcohol. Điều này cho thấy rằng kinetin có thể được tạo thành từ những sản phẩm phân rã DNA. Miller (1961) đã xác định được sản phẩm giống như kinetin tự nhiên trong bắp, sản phẩm này sau đó được gọi là zeatin. Sự phát hiện ra chất này cũng phải kể đến vai trò của Letham và Miller (1963). Kể từ khi phát hiện ra zeatin, một số lượng lớn cytokinin khác cũng đã được phát hiện và cho thấy nó phân bố rộng trong thực vật bậc cao.

#### 1.1.4. Abscisic acid (ABA)

Liu và Carns (1961) đã phân lập một chất từ quả bông chín và thấy rằng nó kích thích sự rụng cuống lá bông. Cấu trúc của hợp chất này được gọi là abscisin I đã không được xác định. Năm 1963, nhóm của Addicott ở Mỹ đã phân lập một chất từ quả bông non và thấy rằng nó cũng gây ra sự rụng cuống lá bông. Họ đã đặc tính hoá nhóm này thành từng phần, cho thấy rằng nó là một hợp chất chứa 15-carbon và đã gọi là abscisin II. Hầu như đồng thời với báo cáo về abscisin II, nhóm của Wareing ở Anh cũng đã phân lập được một chất ức chế từ lá của cây huê (birch) trong điều kiện ngày ngắn. Khi hợp chất này được áp dụng lên cây huê non, nó đã ức chế sự sinh trưởng của chồi ngọn. Điều này đã dẫn đến kết luận rằng: Hợp chất này là tác nhân gây ra miên trạng và hợp chất chưa rõ đặc tính này được gọi là dormin. Vào năm 1965, những nhà nghiên cứu của phòng thí nghiệm Addicott đã đề xuất cấu trúc hoá học của abscisin II. Một lần nữa hầu như đồng thời, kết quả của Wareing cộng tác với những nhà nghiên cứu của công ty Shell ở Anh đã cho thấy rằng dormin và abscisin II là cùng một hợp chất. Để đơn giản hóa vấn đề về danh pháp, những nhà thực vật học hàng đầu trong lĩnh vực nghiên cứu này đã đồng ý đặt tên abscisic acid và báo cáo ý kiến kết luận của họ ở hội nghị quốc tế lần thứ sáu về chất điều hoà sinh trưởng ở Ottawa vào năm 1967. Ngày nay, thuật ngữ abscisin I, abscisin II và dormin đã đi vào quên lãng. Từ khi phát hiện, ABA đã cho thấy tính phân bố rộng trong thực vật bậc cao và có những ảnh hưởng rộng lớn, thêm vào đó là ảnh hưởng lên tính miên trạng và sự rụng.

#### 1.1.5. Ethylene

Những ứng dụng thực tiễn của ethylene đã bắt đầu từ xưa bởi những người cổ Ai Cập, họ đã vạch những vết thương lên trái để kích thích sự chín. Những người Trung Hoa đã đốt hương trầm trong buồng kín để gia tăng sự chín của lê. Người Việt Nam cũng đã dùng khói than hay khói nhang để làm chín trái cây. Girardin (1864) nhận thấy rằng hơi thoát ra từ ánh sáng đèn đường đốt từ than đã gây ra sự rụng sớm của lá gần nguồn sáng. Người ta cũng thấy hơi từ ánh sáng đèn cũng đã gây ra sự cằn cỗi, vụn vẹo và sự sinh trưởng ngang bất thường của chồi. Năm 1901, nhà khoa học Nga Neljubow cho rằng ethylene là thành phần hoạt tính của hơi ánh sáng đèn. Khí ethylene đã gây ra một đáp ứng bộ ba như trên với những cây đậu Hà Lan úa vàng. Kết quả này đã được dùng để phát triển sinh trắc nghiệm đầu tiên về ethylene dựa trên hiện tượng làm giảm sự vươn dài thân của nó, gia tăng sự phát triển bên, và kích thích sự nghiêng hoặc sinh trưởng ngang trong sự đáp ứng với trọng lực. Doubt (1917) đã phát hiện ra rằng Ethylene kích thích sự rụng. Năm 1923, Denny đã giành được bằng sáng chế bằng phương pháp dùng sản phẩm đốt cháy để kích thích sự chín của cam và quýt. Năm 1924, Denny chứng minh rằng Ethylene chính là thành phần hoạt tính trong những sản phẩm đốt cháy gây ra sự chín. Năm 1910, Couins cho rằng trái cũng phóng thích ra hơi kích thích sự chín. Trong báo cáo hằng niên với Bộ Nông Nghiệp Jamaica, Couins đã công bố rằng trái cam đã chín sớm hơn bình thường khi được trữ chung với chuối. Mãi đến 20 năm sau, khí này mới được Gane (1934) chứng minh là khí ethylene. Ethylene được thực vật tổng hợp và có liên quan tới tốc độ của quá trình chín. Một thời gian ngắn sau, Crocker và cộng tác viên (1935) ở viện Boyce Thompson đã chứng minh rằng ethylene là hormone gây ra sự chín, ethylene cũng hoạt động như chất điều hoà sinh trưởng trong những cơ quan thực vật. Giả thuyết này đã được nhiều

nhà nghiên cứu ủng hộ. Biale và cộng tác viên (1954) đã dùng những phương pháp trắc nghiệm thích hợp nhưng không nhạy cảm với ethylene và đã tìm thấy rằng trái cây đã không sản xuất đủ lượng ethylene trước khi chín để tạo nên sự chín. Công trình này cũng đặt giả thuyết rằng ethylene ảnh hưởng lên sự chín của trái. Vào năm 1959, sự phát hiện ethylene bằng phương pháp sắc ký khí trong thực vật được phát triển đã giúp xác định ethylene với mức độ nhỏ hơn gần một triệu lần so với những phương pháp khác đang tồn tại. Với kỹ thuật thích hợp này, những công trình nghiên cứu về ethylene đã ngày một nhiều và ethylene đã được công nhận là chất điều hoà sinh trưởng thực vật có nhiều ảnh hưởng lên thực vật từ sự nảy mầm của hạt đến sự lão hóa và chết của cây.

#### 1.1.6. Brassinosteroid (BR)

Công bố đầu tiên về khả năng có mặt của một nhóm chất điều hoà sinh trưởng thực vật mới đã xuất bản vào năm 1968 ở Nhật Bản. Từ 430 kg lá tươi của cây isunoki (*Distilium racemosum* Sieb. Et Zucc.), 3 nhóm có hoạt tính là *Distilium factor* A1 (751 µg), A2 (50 µg) và B (236 µg) đã được phân lập. Ba nhóm này đều cho hoạt tính mạnh hơn IAA trong sinh trắc nghiệm về sự nghiêng của lá lúa (rice lamina inclination test, lamina joint test (LJT)). Tuy nhiên, vì giới hạn của số lượng trích được đã không cho phép định danh được từng hợp chất vào thời điểm này. Vào năm 1970, “Brassins” đã được các nhà khoa học Mỹ trích được từ phần hoa cây cải dầu (*Brassica napus* L.) cũng cho hoạt tính sinh học rất mạnh. Brassins gây sự vuron dài của lóng thứ hai của cây đậu lên đến 155 mm ở liều lượng 10 µg/ cây, trái lại ở đối chứng chỉ có 12 mm. Việc phân lập và định danh nó gặp rất nhiều khó khăn. Trước hết người ta nghĩ rằng nó là β-glycoside của chất béo. Năm 1974, một chương trình đặc biệt của Bộ Nông Nghiệp Mỹ đã khởi động. 227 kg phần hoa cải dầu thu được từ các tổ ong đã được sử dụng cho tiến trình. Bằng phương pháp phân tích tinh thể học với tia X đã cho thấy rằng hợp chất mới này là một lactone steroid với cấu trúc được đặt tên là brassinolide (BL) (Grove & cộng tác viên, 1979). Dựa trên khám phá này các nhà khoa học Nhật Bản đã định danh trở lại *Distilium factor* A1 là hỗn hợp của castasterone và 28-norcastasterone, B là hỗn hợp của brassinolide và 28-norbrassinolide, A2 vẫn chưa định danh được và được đề nghị là 2-deoxy-type brassinolide.

Kể từ khi BL được phát hiện, các nhà khoa học Nhật Bản và các nhà khoa học khác đã phát hiện thêm nhiều chất thuộc nhóm này, việc tổng hợp cũng đã thành công. Từ đó những nghiên cứu về BL và những chất có liên quan đã phát triển rất nhanh. Nhóm chất điều hoà sinh trưởng này đã được xem như là nhóm thứ sáu kể từ khi vai trò sinh lý của auxin, gibberellin, cytokinin, abscisic acid và ethylene được phát hiện. BR đã được tìm thấy trong nhiều loài thực vật bao gồm cây song tử diệp, đơn tử diệp, khóa tử và táo. BR cũng được tìm thấy trong nhiều bộ phận khác nhau của thực vật như túi phấn, lá, hoa, hạt, chồi, mụn lá và thân. Ngày nay đã có hơn 40 chất được phát hiện thuộc nhóm này. Trong số đó BL và castasterone được xem là quan trọng nhất vì tính phân bố rộng và hoạt tính sinh học mạnh.

#### 1.1.7. Salicylate (SA)

Những người Hy Lạp cổ và thổ dân Hoa Kỳ đã phát hiện rằng lá và vỏ cây liễu trị được bệnh đau nhức cục bộ và những bệnh sốt. Vào năm 1828, Johann Buchner làm

việc ở Munich, Đức lần đầu tiên phân lập những vệt của salicin là glucoside của salicyl alcohol và salicylate trong vỏ cây liễu (Weissmann 1991). Raffaele Piria (1838) đã đặt tên cho thành phần hoạt tính trong vỏ cây liễu là salicylic acid (SA) từ chữ latin “salix”, có nghĩa là cây liễu. Vào năm 1874, sản phẩm thương mại đầu tiên của SA đã được bán ở Đức. Vào năm 1898, aspirin tên thương mại của acetylsalicylic acid đã được công ty Bayer giới thiệu. Có nhiều tài liệu tham khảo, trong đó những nhà thực vật học đã dùng aspirin và salicylic acid thay thế cho nhau trong thí nghiệm. Tuy nhiên, nên chú ý rằng aspirin không được xem là một sản phẩm tự nhiên. Nó có thể có hiệu quả bởi vì acetylsalicylic acid sẵn sàng được chuyển thành salicylic acid trong hệ thống dung dịch nước. Ngày nay salicylic acid được biết trên nhiều loài cây và được xem như là một chất điều hoà sinh trưởng thực vật quan trọng.

### **1.1.8. Jasmonate (JA)**

Demole và cộng tác viên (1962) lần đầu tiên đã phân lập (-) jasmonic acid methylester từ dầu thiết yếu của *Jasminum grandiflorum* (họ lài). Ngày nay, Jasmonic acid (JA) và đồng phân lập thể của nó (+) 7-iso-JA là những đại diện chính của nhóm jasmonate mặc dù một số lượng lớn của acid béo cyclopentane có quan hệ cấu trúc khác đã được xác định. Khởi đầu, jasmonic acid đã được nhận ra do hoạt động ức chế sinh trưởng của nó. Ngày nay nó đã cho thấy sự phân bố rộng trong thực vật bậc cao và điều lý thú là khả năng của nó trong việc gia tăng sự thể hiện của những gene thực vật đặc biệt, trong số đó có những đáp ứng với sự tổn thương.

## **1.2. Các khái niệm cơ bản và thuật ngữ**

### **1.2.1. Yêu cầu đối với một chất điều hoà sinh trưởng**

Năm 1959, Jacobs đã đưa ra cách đánh giá về ảnh hưởng của các hóa chất lên sinh vật và chủ yếu được áp dụng đối với auxin và tính quang hướng động (phototropism). Các phương pháp này vẫn còn dùng đến ngày nay để đánh giá ảnh hưởng của một chất tăng trưởng thực vật lên các quá trình sinh trưởng và phát triển. PESIGS (Presence/ parallel variation, Excision, Substitution, Isolation, Generality và Specificity) là 6 chữ cái được dùng để đặt tên cho phương pháp này tương đương với 6 qui luật sau:

(1). Sự tồn tại và biến đổi tương đồng: Chất khảo sát phải hiện diện trong sinh vật và có sự biến đổi tương đồng về số lượng của nó với hoạt động có liên quan. Sự biến đổi này phải thỏa hai yêu cầu sau:

a. Hàm lượng chất tăng trưởng thực vật phải được đo chính xác trong mô, tế bào hoặc ngay cả ở dưới mức tế bào, nơi có các phản ứng xảy ra.

b. Chất đó phải được tìm thấy trong nhiều loài sinh vật.

(2). Sự cắt rời: Là sự tách rời của một cơ quan, mô, hoặc một cơ quan tử có khả năng sản sinh ra một loại hoá chất nào đó. Khi cắt rời bộ phận này thì các quá trình có liên quan sẽ bị ngưng trệ.

(3). Sự thay thế: Một loại hóa chất tinh khiết có thể được thay thế cho một bộ phận bình thường đã bị cắt đi và nó có thể phục hồi lại các quá trình sinh trưởng và phát triển.

(4). Sự cô lập: Thực hiện một quá trình cô lập với các hệ thống phản ứng khác đến mức có thể chấp nhận được và xác định được ảnh hưởng của hóa chất tương tự như trong hệ thống ít được cô lập.

(5). Tính tổng quát: Cho thấy rằng việc áp dụng hóa chất này trong nhiều trường hợp là tương tự nhau.

(6). Tính chuyên biệt: Hóa chất này phải đặc trưng.

## 1.2.2. Các khái niệm và thuật ngữ

### 1.2.2.1. Hormone thực vật (Plant hormone, phytohormone)

*Hormone thực vật là một sản phẩm sinh hóa của một tế bào hoặc một mô đặc biệt gây ra một sự thay đổi hoặc một tác động trong một tế bào hoặc mô nào đó trong một cơ quan. Hormone thường di chuyển bên trong thực vật từ nơi sản xuất đến nơi hoạt động.*

### 1.2.2.2. Chất sinh trưởng thực vật (Plant growth substance)

Thuật ngữ hormone thực vật đã được dùng nhiều năm, nhưng ngày nay người ta có khuynh hướng thay thế bằng thuật ngữ chất sinh trưởng thực vật (plant growth substance) hay chất điều hoà sinh trưởng thực vật (plant growth regulator). Tổ chức quốc tế nghiên cứu về những chất này được gọi là Hiệp Hội Chất Sinh Trưởng Thực Vật Quốc Tế (International Plant Growth Substances Association). Tổ chức này nhóm họp 3 năm một lần.

*Ngày nay, chất sinh trưởng thực vật được định nghĩa như sau:*

*- Nó phải là một hợp chất hóa học được sinh tổng hợp trong thực vật và phân bố rộng ở thực vật bậc cao.*

*- Nó phải có hoạt tính sinh học đặc biệt ở nồng độ cực thấp.*

*- Nó phải đóng vai trò căn bản trong việc điều hoà các hiện tượng sinh lý trong cơ thể sống với một liều lượng nhất định hoặc gây ra những thay đổi rất nhạy cảm của mô trong suốt quá trình phát triển.*

Định nghĩa này bao gồm toàn bộ những chất sinh trưởng thực vật đã được chấp nhận như auxin, gibberellin, cytokinin, abscisic acid, ethylene, brassinosteroid, salicylate, jasmonate và những hợp chất khác bằng cách loại bỏ yêu cầu về vận chuyển. Yêu cầu phải có sự vận chuyển đã được loại bỏ vì khái niệm cho rằng các chất tăng trưởng thực vật tác động ở xa nơi chúng được tổng hợp không còn hoàn toàn đúng. Ví dụ: Cytokinin có thể được sinh ra trong rễ và di chuyển đến các chồi và làm chậm sự hoá già ở đây. Trái lại, ethylene có thể được di chuyển hay kích thích những thay đổi ngay nơi nó được tổng hợp. Định nghĩa mới này còn nói lên sự tương tác của tất cả những chất đã biết với những chất khác chưa được phát hiện. Cũng nên lưu ý rằng, hormone động vật nói chung là những hợp chất như protein có trọng lượng lớn. Trái lại, chất sinh trưởng thực vật có trọng lượng phân tử nhỏ. Nó chỉ cung cấp một tính hiệu tắt hoặc mở bằng cách kích thích một vài sự kiện trong tế bào dẫn đến một đáp ứng nào đó.

### 1.2.2.3. Chất điều hoà sinh trưởng thực vật (Plant growth regulator, PGR)

Thuật ngữ chất điều hoà sinh trưởng thực vật (Plant growth regulator, PGR) đã được dùng rất nhiều bởi các công ty nông dược để chỉ các chất điều hoà sinh trưởng tổng hợp. Định nghĩa của Van Overbreek và cộng tác viên (1954) vẫn còn được dùng đến ngày nay.

*Chất điều hoà sinh trưởng thực vật là những hợp chất hữu cơ khác với những chất dinh dưỡng, với một hàm lượng nhỏ kích thích, ức chế, hoặc bổ sung bất kỳ một quá trình sinh lý nào trong thực vật.*

Để tiện lợi và dễ hiểu trong cách dùng từ tiếng Việt, thuật ngữ *chất điều hoà sinh trưởng thực vật* được dùng trong giáo trình này bao gồm cả những chất tổng hợp và những chất sinh trưởng thực vật có nguồn gốc tự nhiên được sản sinh từ thực vật.

### 1.2.2.4. Chất ức chế và chất làm chậm sinh trưởng (Inhibitor và retardant)

Thuật ngữ chất ức chế (*Inhibitor*) và chất làm chậm sinh trưởng (*retardant*) hiện nay chưa được phân biệt rõ. Abscisic acid và những chất ức chế khác đã ức chế hoặc làm chậm hay trì hoãn những quá trình sinh lý hoặc sinh hóa, tuy nhiên, việc ứng dụng chúng để làm chậm quá trình sinh trưởng thì chưa được áp dụng hoàn toàn vào thực tiễn vì nhiều lý do, trong đó giá cả cũng là một vấn đề. Ngày nay có nhiều hợp chất hữu cơ tổng hợp được dùng trong nông nghiệp để làm chậm sự sinh trưởng của thực vật. Chất làm chậm sinh trưởng của thực vật (plant growth retardant) là một hợp chất hữu cơ làm chậm sự phân chia tế bào và sự vươn dài tế bào trong mô chồi và như vậy nó điều hoà chiều cao cây mà không gây ra sự biến dạng của lá và thân. Cây được xử lý với một chất làm chậm sinh trưởng có lá màu xanh đen điển hình và sự trở hoa bị ảnh hưởng trực tiếp. Sự phát triển của những cây này thì không hoàn toàn bị ngăn cản nhưng xuống dốc hơi đột ngột và cho ra một dạng cây cằn cỗi hơn.

Một vài ví dụ về những chất làm chậm sinh trưởng thực vật là:

- Cycocel: 2-chloroethyl trimethyl-ammonium chloride.
- Paclobutrazol: 1-(4-chlorophenyl) -4,4 dimethyl -2- (1H-1,2,4- triazol-1-yl) pentan-3-ol.
- Bonzi: (2 RS, 3RS)-1-(4-chlorophenyl)-4-dimethyl-2- (1,2,4-triazol-1-yl) penten-3-ol.
- Prohexadione-calcium: Calcium 3-oxido-5-oxo-4-propionylcyclohexa-3-enecarboxylate.

Nhiều chất làm chậm sinh trưởng thực vật có tác dụng chống lại ảnh hưởng của gibberellin còn được gọi là antigibberellin.

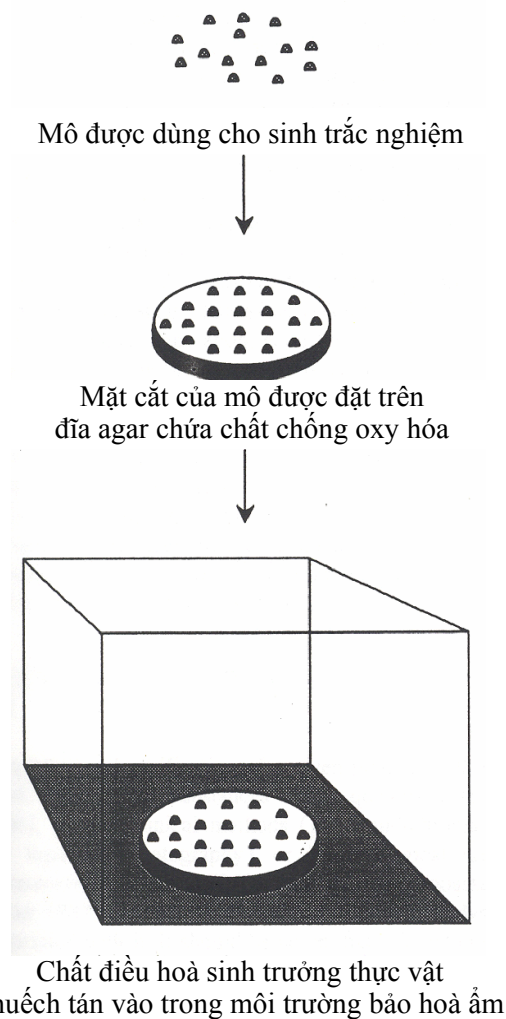


*Chương 2*  
**PHƯƠNG PHÁP TRÍCH, TINH LỌC VÀ XÁC ĐỊNH  
CHẤT SINH TRƯỞNG THỰC VẬT**

Chất điều hòa sinh trưởng thực vật liên quan đến hầu hết các chu trình sống của thực vật. Thực tế cho thấy việc áp dụng ngoại sinh cũng có những ảnh hưởng lên thực vật rõ nét. Tuy nhiên, không dễ phát hiện chất điều hoà sinh trưởng trong thực vật với nhiều lý do khác nhau trong đó kỹ thuật phân tích chúng vẫn còn phức tạp. Có nhiều phương pháp để trích, thanh lọc và định lượng chất điều hoà sinh trưởng thực vật tùy theo nhóm được khảo sát. Trong chương này sẽ giới thiệu khái quát những phương pháp cơ bản từ chuẩn bị mô đến định tính và định lượng chất điều hoà sinh trưởng.

## 2.1. Phương pháp ly trích

### 2.1.1. Phương pháp khuếch tán



*Hình 2.1. Trích chất điều hoà sinh trưởng thực vật bằng phương pháp khuếch tán*

Phương pháp này chỉ có thể áp dụng cho những mô nguyên còn tươi hoặc những phần của cây. Mô trước hết được nhúng vào dung dịch gelatin 30<sup>0</sup>C để giữ ẩm. Để ngăn sự bất hoạt của những chất điều hoà sinh trưởng trên bề mặt vết cắt, butylate hydroxytoluen (BHT) (1-2%) được trộn đều vào trong agar và có tác dụng như một chất chống oxy hoá khi mô được nhúng vào trong agar. Mô được đặt lên khối agar và được giữ trong buồng ẩm từ vài phút đến vài giờ tùy thuộc vào loại mô sử dụng.

Sau một thời gian, khối agar có thể được dùng cho nhu cầu sinh trắc nghiệm. Đây là một phương pháp rất tốt để ước lượng mối quan hệ về mức độ của chất điều hoà sinh trưởng trong những phần khác nhau của cây. Cần chú ý rằng quá trình này chỉ cho thấy mối quan hệ của những chất hiện diện bởi vì những chất kích thích hay ức chế ở bề mặt vết cắt có thể gây trở ngại đến sinh trắc nghiệm đang áp dụng. Đây là một phương pháp đơn giản và không thể áp dụng cho việc định tính hay định lượng một cách hoàn hảo vì chất điều hoà sinh trưởng thu được với một lượng cực nhỏ.

## **2.1.2. Ly trích bằng dung môi**

### **2.1.2.1. Chuẩn bị mẫu**

Việc đóng gói mô cẩn thận sau khi thu mẫu thì rất quan trọng để tối thiểu hoá khối mẫu và hạn chế được sự thất thoát chất điều hoà sinh trưởng trong quá trình trích. Cần lưu ý rằng, những hợp chất này có trong thực vật với hàm lượng rất nhỏ, do đó, bất kỳ một sự thất thoát nào do phân huỷ thuộc về enzyme hoặc sự chuyển đổi qua lại giữa các chất đều có thể dẫn đến những kết quả không chính xác. Cách hiệu quả nhất để giữ mẫu sau khi thu là ngay lập tức đông mẫu trong nitrogen lỏng, ướp lạnh và làm khô rồi trữ ở -80<sup>0</sup>C hoặc thấp hơn dưới những điều kiện khan, điều này sẽ hạn chế tối đa các vấn đề bất trắc xảy ra.

### **2.1.2.2. Ly trích**

Có nhiều phương pháp dùng để trích chất điều hoà sinh trưởng thực vật, cần chọn phương pháp thích hợp cho điều kiện nghiên cứu của mình. Có nhiều loại dung môi có thể được dùng để trích chất điều hoà sinh trưởng thực vật như methanol hoặc ethanol có thể được dùng để trích IAA, ABA, GA, BR, cytokinin, SA và JA; acetone có thể được dùng để trích IAA, ABA và GA; isopropanol hoặc cloroform có thể được dùng để trích BR; hỗn hợp Bielecki gồm methanol/ chloroform/ 90% formic acid/ nước (12:5:1:2 v/v) hoặc perchloric acid có thể được dùng để trích cytokinin.

Phần lớn dung dịch trích được dùng thông thường cho tất cả các chất điều hoà sinh trưởng thực vật là 80% methanol cộng thêm một chất chống oxy hoá như BHT. Mẫu được nghiền trong một lượng dư dung môi lạnh rồi có thể được pha thêm với rượu nồng độ cao theo một lượng tiêu chuẩn để hiệu chỉnh sự thất thoát thành phần trong quá trình trích và những bước làm sạch tiếp theo. Mẫu sau đó được lọc và mô được sử dụng để trích trở lại để thu được sản phẩm nhiều nhất. Nhìn chung, số lần trích tùy thuộc vào mô và những yếu tố khác, mục đích nhằm thu được sản phẩm tối đa, thông thường quá trình trích có thể lặp lại 3-4 lần. Dịch trích được nên trộn lẫn với nhau và cô đặc bằng cách cho bốc hơi trong chân không hoặc làm khô hoặc pha trong dung dịch để phân đoạn hoặc lọc xen kẽ với các quá trình làm khô. Sau khi loại bỏ dung môi hữu cơ từ dịch trích, một lượng đáng kể của những mảnh vụn rắn thường gặp trong pha nước và trong sự phân đoạn mang tính acid tiếp theo. Những chất rắn này sẽ hoà tan trong pha hữu cơ, do đó sẽ làm nhiễm mẫu với những hợp chất khác. Bằng cách lọc hoặc ly tâm để loại bỏ các mảnh vụn rắn này, trọng lượng khô của mẫu có thể giảm đi được đến 80%. Nên chú ý rằng sau quá trình trích, mẫu còn rất thô và chứa những chất kích thích cũng như chất ức chế và những chất khác. Trong nhiều trường hợp, dịch trích được có thể không có hoạt tính trong sinh trắc nghiệm vì hoạt động của chất điều hoà sinh trưởng có thể bị che phủ hoàn toàn bởi những hợp chất có liên quan.

## 2.2. Tinh lọc dịch trích

Bước thanh lọc đầu tiên sau quá trình trích mô thực vật thường tiến hành là phân đoạn bằng dung môi. Sự phân đoạn bằng dung môi gồm sự phân đoạn giữa một pha nước và một dung môi hữu cơ không trộn lẫn (dung môi đặc biệt được dùng sẽ được xác định bởi chất điều hoà sinh trưởng thực vật đang được trích, mô được sử dụng và những yếu tố khác). Có nhiều sự khác biệt về dung môi cho những quá trình phân đoạn, một ví dụ về chất điều hoà sinh trưởng thực vật có tính acid sẽ được giới thiệu ở đây. Đối với những chất điều hoà sinh trưởng có tính acid thì pH của pha chứa nước từ dịch trích thô nên được điều chỉnh đến khoảng 2,5 và dung dịch được cho vào trong bình chiết với một lượng tương đương của diethyl ether rồi lắc cẩn thận. Bình chiết sau đó được để yên vài phút để các pha tách nhau. Nếu nhũ tương tạo thành do lắc quá mạnh, bình chiết nên đặt vào máy ướp lạnh cho đến khi phân biệt thành hai pha riêng biệt hoặc dùng  $\text{CaCl}_2$  hay  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  để loại nhũ tương. Một phần của những chất điều hoà sinh trưởng thực vật sẽ đi từ pha chứa nước đến pha chứa diethyl ether. Quá trình này có thể lặp lại từ 3 đến 4 lần hoặc hơn nữa để lấy hết chất điều hoà sinh trưởng thực vật có tính acid ra khỏi pha chứa nước. Cần ước lượng số lần thực hiện để thu được tối đa lượng chất điều hoà sinh trưởng. Pha chứa nước sau đó sẽ được bỏ đi và pha chứa diethyl ether sẽ được làm khô trong chân không. Mặc dù phân đoạn bằng dung môi là cách thường được sử dụng từ

trước đến nay, đôi khi nó cũng không hoàn hảo cho mọi trường hợp. Ngày nay, nó đang được thay thế bằng phương pháp trích ly lỏng-rắn. Việc sử dụng một pha rắn nhồi vào trong một cột nhỏ và sử dụng một lần đã làm cho việc chuẩn bị mẫu nhanh hơn, hiệu suất thu hồi cao hơn và thể tích dung môi sử dụng lại ít hơn. Việc sử dụng những cột nhỏ đã được dùng để trích cho hầu hết các chất điều hoà sinh trưởng và đã cung cấp một sự thay đổi độc đáo đến sự phân đoạn bằng dung môi. Việc thanh lọc chất điều hoà sinh trưởng cũng đã có nhiều thành công trong việc sử dụng sắc ký giấy, sắc ký lớp mỏng, sắc ký cột, sắc ký khí và sắc ký lỏng cao áp. Một phương pháp sắc ký có thể cung cấp đủ cho quá trình lọc để định lượng, tuy nhiên phần lớn phải kết hợp nhiều phương pháp cho quá trình lọc.

### **2.3. Định lượng chất sinh trưởng thực vật**

Theo sau quá trình trích và lọc của chất điều hoà sinh trưởng là việc định lượng. Chất điều hoà sinh trưởng thực vật có thể được định lượng bằng sinh trắc nghiệm, những phương pháp hoá lý học (sắc ký khí hoặc sắc ký lỏng cao áp), hoặc phương pháp miễn dịch học.

#### **2.3.1. Sinh trắc nghiệm (Bioassay)**

*Sinh trắc nghiệm là một hệ thống sinh học được dùng để thử nghiệm hoạt tính của một chất với một đáp ứng sinh lý.*

Để có một sinh trắc nghiệm hữu dụng, cần lưu ý những tiêu chuẩn sau:

1. Nó chỉ đặc biệt cho hợp chất đang thử nghiệm.
2. Nó phải rất nhạy cảm để có thể phát hiện một lượng nhỏ chất điều hoà sinh trưởng.
3. Nó phải nhanh và dễ để thu được một lượng lớn mô thực vật đồng nhất. Sự đáp ứng của mô đối với một chất điều hoà sinh trưởng thực vật đặc biệt cũng phải nhanh và dễ thực hiện.
4. Chất đang được sinh trắc nghiệm hoặc những chất có liên quan phải hiện diện ở mức độ thấp hoặc không có trong cây.

Có rất nhiều hệ thống sinh trắc nghiệm cho mỗi nhóm chất điều hoà sinh trưởng thực vật đã biết. Điều quan trọng là chọn phương pháp sinh trắc nghiệm phù hợp với những tình huống riêng biệt. Có thể chia sinh trắc nghiệm thành 5 nhóm sau:

- (1). Sinh trắc nghiệm chẩn đoán: Sinh trắc nghiệm đặc biệt dùng để phát hiện một chất điều hoà sinh trưởng đặc thù.
- (2). Sinh trắc nghiệm dùng để xác định những quan hệ về hoạt tính và cấu trúc: Sinh trắc nghiệm diễn tả sự khác biệt về tính nhạy cảm đáp ứng với cấu trúc

của những chất khác nhau trong cùng một nhóm chất điều hoà sinh trưởng.

- (3). Sinh trắc nghiệm kiểm tra thử và phát hiện: Sinh trắc nghiệm có tính nhạy cảm mạnh và đáp ứng nhanh cùng với tính chuyên biệt đầy đủ, cho phép có thể sử dụng trong việc phát hiện chất điều hoà sinh trưởng ở nồng độ rất thấp trong từng phân đoạn sắc ký khác nhau.

- (4). Sinh trắc nghiệm tổng hoạt tính sinh học của nhóm: Sinh trắc nghiệm đủ hoặc gần đủ nhạy cảm để những chất có cấu trúc đa dạng thuộc một nhóm chất điều hoà sinh trưởng cho phép xác định được hoạt tính tổng số của một nhóm đặc biệt trong dịch trích.

- (5). Sinh trắc nghiệm có yêu cầu đơn giản: Những sinh trắc nghiệm có yêu cầu về thiết bị chuyên biệt và không gian thấp, giá thành rẻ và dễ thu được mẫu.

### **2.3.1.1. Sinh trắc nghiệm auxin**

2.3.1.1.1. Sinh trắc nghiệm sự cong diệp tiêu yến mạch (*Avena*): Dựa trên khả năng kích thích sự sinh trưởng cong của auxin và sự vươn dài.

2.3.1.1.2. Sinh trắc nghiệm sự thể hiện gene thuốc lá (*Nicotiana*): Dựa trên sự thể hiện của gene thể khảm (chimeric) trong nguyên bào thịt lá cây thuốc lá được chuyển gene đáp ứng với cả auxin và cytokinin. Sự định lượng của mỗi chất điều hoà sinh trưởng dựa trên phản ứng màu tác động bởi ánh sáng.

2.3.1.1.3. Sinh trắc nghiệm về sự sinh trưởng thẳng đoạn diệp tiêu yến mạch (*Avena*): Dựa trên khả năng kích thích sự vươn dài của auxin. Nó không chuyên biệt như sinh trắc nghiệm sự nghiêng của *Avena*.

2.3.1.1.4. Sinh trắc nghiệm lóng đậu cove (*Phaseolus*): Dựa trên khả năng kích thích sự sinh trưởng cong của auxin. Nó không nhạy cảm với nhiệt độ và có thể thực hiện trong điều kiện sáng.

2.3.1.1.5. Sinh trắc nghiệm sự tạo rễ bất định trên đậu xanh (*vigna*): Dựa trên khả năng kích thích sự tạo rễ bất định của auxin trên đoạn thân.

### **2.3.1.2. Sinh trắc nghiệm gibberellin**

2.3.1.2.1. Sinh trắc nghiệm về sự tạo đường khử nội sinh trong lúa mạch (*Hordeum*): Dựa trên khả năng của gibberellin kích thích hoạt động của enzyme  $\alpha$ -amylase để tạo đường khử.

2.3.1.2.2. Sinh trắc nghiệm cây chút chích lá rộng (*Rumen*): Dựa trên khả năng làm giảm lão hoá (màu vàng) của gibberellin trong cây chút chích lá rộng.

2.3.1.2.3. Sinh trắc nghiệm trực hạ diệp rau diếp (*Lactuca*): Dựa trên khả năng kích thích sự vươn dài của gibberellin lên trực hạ diệp rau diếp.

2.3.1.2.4. Sinh trắc nghiệm những cây lùn như đậu Hà Lan (*Pisum*), lúa (*Oryza*) và bắp (*Maize*): Sinh trắc nghiệm này sử dụng những biến dị lùn đơn gene và dựa trên khả năng kích thích sự vươn dài của gibberellin.

### **2.3.1.3. Sinh trắc nghiệm cytokinin**

2.3.1.3.1. Sinh trắc nghiệm mô sẹo lõi thân thuốc lá (*Nicotiana*): Khi không được xử lý cytokinin thì mô sẹo thuốc lá sẽ không tạo được callus hoặc rất ít callus được tạo ra. Tuy nhiên khi cytokinin được thêm vào thì callus sẽ phát triển rất nhanh cùng với sự gia tăng trọng lượng tươi.

2.3.1.3.2. Sinh trắc nghiệm sự thể hiện gene thuốc lá (*Nicotiana*): Dựa trên sự thể hiện của gene thể khảm trong nguyên bào thịt lá cây thuốc lá được chuyển gene đáp ứng với cả auxin và cytokinin. Sự định lượng của mỗi chất điều hoà sinh trưởng dựa trên phản ứng màu tác động bởi ánh sáng.

2.3.1.3.3. Sinh trắc nghiệm sự nở rộng của tử diệp củ cải (*Raphanus*): Sinh trắc nghiệm này dựa trên khả năng của cytokinin kích thích sự nở rộng của tử diệp củ cải.

2.3.1.3.4. Sinh trắc nghiệm trên sự vươn dài trực hạ diệp đậu nành (*Glycine*): Sinh trắc nghiệm này dựa trên khả năng của cytokinin kích thích sự vươn dài trực hạ diệp đậu nành.

2.3.1.3.5. Sinh trắc nghiệm kích thích sự tạo betacyanin của cỏ dền trầm (*Amaranthus*) trong tối: Sự sản sinh sắc tố đỏ betacyanin thường yêu cầu có ánh sáng. Sự sinh trắc nghiệm này dựa trên khả năng kích thích sự sản sinh betacyanin của cytokinin trong tối.

### **2.3.1.4. Sinh trắc nghiệm abscisic acid**

2.3.1.4.1. Sinh trắc nghiệm về sự ức chế nảy mầm hạt rau diếp (*Lactuca*). Sinh trắc nghiệm dựa trên khả năng của ABA ức chế sự nảy mầm của hạt rau diếp bởi sự khống chế trực hạ diệp và sự phát triển của rễ bất định.

2.3.1.4.2. Sinh trắc nghiệm sự rụng cuống lá bông (*Gossypium*): Sinh trắc nghiệm này dựa trên khả năng của ABA kích thích sự rụng ở bông. Mức độ xử lý ABA

càng nhiều thì sự rụng sẽ càng gia tăng.

2.3.1.4.3. Sinh trắc nghiệm về sự ức chế sinh trưởng mạ lúa (*Oryza*): Dựa trên sự ức chế sinh trưởng bẹ lá lúa của ABA. Sự giảm chiều dài bẹ lá lúa liên quan đến sự gia tăng nồng độ ABA được xử lý.

2.3.1.4.4. Sinh trắc nghiệm sự đóng khí khổng cây thài lài (*Commelina*): Số lượng và mức độ đóng của khí khổng được quan sát để ước lượng hàm lượng của ABA hiện diện trong mẫu.

### **2.3.1.5. Sinh trắc nghiệm ethylene**

2.3.1.5.1. Sinh trắc nghiệm đáp ứng bộ ba dựa trên tính sinh trưởng ngang, sự phòng lên và sự ức chế thân đậu Hà Lan (*Pisum*): Sinh trắc nghiệm này dựa trên khả năng của ethylene ức chế sự vươn dài, ức chế sự mở mấu trúc thượng diệp và kích thích sự sinh trưởng ngang. Một trong ba tính chất này đều có thể được dùng để ước lượng hàm lượng ethylene trong mẫu.

2.3.1.5.2. Sinh trắc nghiệm gây ra sự sinh trưởng nghiêng của thân và lá cà chua (*Lycopersicon*): Sự sinh trưởng nghiêng ở đây là sự gập xuống của cuống lá. Độ nghiêng của cuống lá tỉ lệ với hàm lượng ethylene chứa trong mẫu.

2.3.1.5.3. Sinh trắc nghiệm kích thích sự chín của trái (cà chua, chuối, chanh...): Nguyên lý của sinh trắc nghiệm này là dựa trên sự chín của trái. Thời gian chín của các loại trái như cà chua, chuối, chanh... tỉ lệ với hàm lượng ethylene có trong mẫu.

2.3.1.5.4. Sinh trắc nghiệm sự rụng tử diệp bông (*Gossypium*): Sinh trắc nghiệm này giống như sinh trắc nghiệm của ABA kích thích sự rụng ở bông. Ethylene cũng kích thích sự rụng. Mức độ rụng gây ra do ethylene tỉ lệ với lượng ethylene có trong mẫu.

### **2.3.1.6. Sinh trắc nghiệm brassinosteroid**

2.3.1.6.1. Sinh trắc nghiệm lóng thứ nhất đậu cove (*Phaseolus*): Khi auxin được áp dụng về một phía của lóng thì lóng cong đi và theo sau là một chu kỳ chậm. BR làm giảm chu kỳ chậm khi được áp dụng một giờ trước khi xử lý auxin. Khi BR được xử lý nhiều hơn, IAA gây ra sự sinh trưởng cong sẽ nhanh hơn.

2.3.1.6.2. Sinh trắc nghiệm sự sinh trưởng nghiêng của phiến lá lúa: Sinh trắc nghiệm này dựa trên khả năng của BR kích thích sự nghiêng của phiến lá lúa. Độ nghiêng của phiến lá lúa tỉ lệ với hàm lượng của BR có trong mẫu.

2.3.1.6.3. Sinh trắc nghiệm về sự ức chế: Ở những nồng độ tối hảo, BR gây ra sự vươn dài và cong. Tuy nhiên, khi nồng độ tăng cao, BR ức chế sinh trưởng và làm tét mô. Mức độ giảm vươn dài dưới giá trị đối chứng tỉ lệ với hàm lượng BR có trong mẫu.

### **2.3.2. Hoá lý trắc nghiệm**

Hai phương pháp hoá lý trắc nghiệm được dùng phổ biến ngày nay để xác định chất điều hoà sinh trưởng thực vật là sắc ký lỏng cao áp (HPLC: High performance liquid chromatography) và sắc ký khí cột mao quản (GC: Gas chromatography). Ngày nay HPLC chỉ được dùng với những đầu dò (detector) có độ nhạy cao hoặc với những mẫu lọc rất sạch.

#### **2.3.2.1. Phát hiện chất sinh trưởng thực vật bằng sắc ký khối phổ**

Sắc ký khối phổ (GC-MS: Gas chromatography - Mass spectrometry) được xem là phương pháp tốt nhất để phân tích chất điều hoà sinh trưởng vì nó đơn giản và chính xác. Phương pháp này đã được dùng để phân tích IAA và những hợp chất có liên quan, ABA và các chất biến dưỡng của nó, gibberellin, cytokinin, brassinosteroid và jasmonate. Không giống như đầu dò dùng cho phương pháp HPLC, đầu dò cho GC thường phá huỷ mẫu và không dễ dàng khôi phục lại chất chuẩn được đánh dấu phóng xạ. Sự phát triển của phương pháp khối phổ cho phép đo được chất đồng vị và được dùng phổ biến để xác định và định lượng tất cả các nhóm chất điều hoà sinh trưởng trừ ethylene vì chất này dễ dàng được xác định bằng GC.

#### **2.3.2.2. Định lượng ethylene**

Ethylene là một chất khí nên quá trình trích nó cũng đơn giản, không phải qua các dung môi trích và thanh lọc một cách phức tạp như các nhóm khác. Việc nhốt khí ethylene trong bình hoặc ống nghiệm kín cũng ít bị nhiễm tạp chất như trích các chất khác. Với sắc ký khí và đầu dò ion hoá ngọn lửa FID (flame ionization detector) dễ dàng định lượng được ethylene với một lượng rất nhỏ đến nano mole.

#### **2.3.2.3. Phát hiện chất điều hoà sinh trưởng thực vật bằng HPLC**

Mặc dù HPLC không phải là phương pháp tốt nhất để phát hiện và định lượng chất điều hoà sinh trưởng, vẫn có những phương pháp với đầu dò đặc biệt được dùng. Việc phát hiện huỳnh quang đã được dùng để định lượng trực tiếp IAA, trái lại ABA và jasmonic acid phải được chuyển hoá thành hyrazone huỳnh quang và brassinosteroid thành bisboronate huỳnh quang trước khi phát hiện bằng phương



đo huỳnh quang. Phương pháp này rất nhạy và đặc trưng, tuy nhiên yêu cầu mẫu phải được lọc thật sạch trước khi phân tích. Sắc ký lỏng có thể kết hợp với khối phổ thành sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS: Liquid chromatography – mass spectrometry) để xác định những liên hợp không dẫn xuất của gibberellin và IAA. Mặc dù có nhiều ưu việt nhưng độ nhạy của LC-MS vẫn không bằng GC-MS, chính vì vậy GC-MS ngày càng được sử dụng nhiều.

#### **2.3.2.4. Sinh trắc nghiệm miễn dịch học**

Sinh trắc nghiệm miễn dịch học hiện rất phổ biến và có nhiều giá trị trong khoa học thực vật. Phương pháp này yêu cầu sự tinh lọc mẫu tối thiểu, do đó việc phân tích số mẫu lớn thì rất nhanh và không đắt tiền, tuy nhiên giá thành không thật sự quan trọng. Trong nhiều trường hợp, HPLC vẫn cần thiết để thu được mẫu sạch và kết quả thu được có thể dùng để so sánh với các phương pháp sinh trắc nghiệm hoá lý. Những trở ngại trong sinh trắc nghiệm miễn dịch học là có thể dẫn đến sự ước lượng vượt quá về mức độ kháng nguyên và những vấn đề khác. Do đó, việc chọn một kế hoạch làm sạch mẫu rất cần thiết để làm cho sinh trắc nghiệm phù hợp với kỹ thuật phân tích khác như GC-MS.

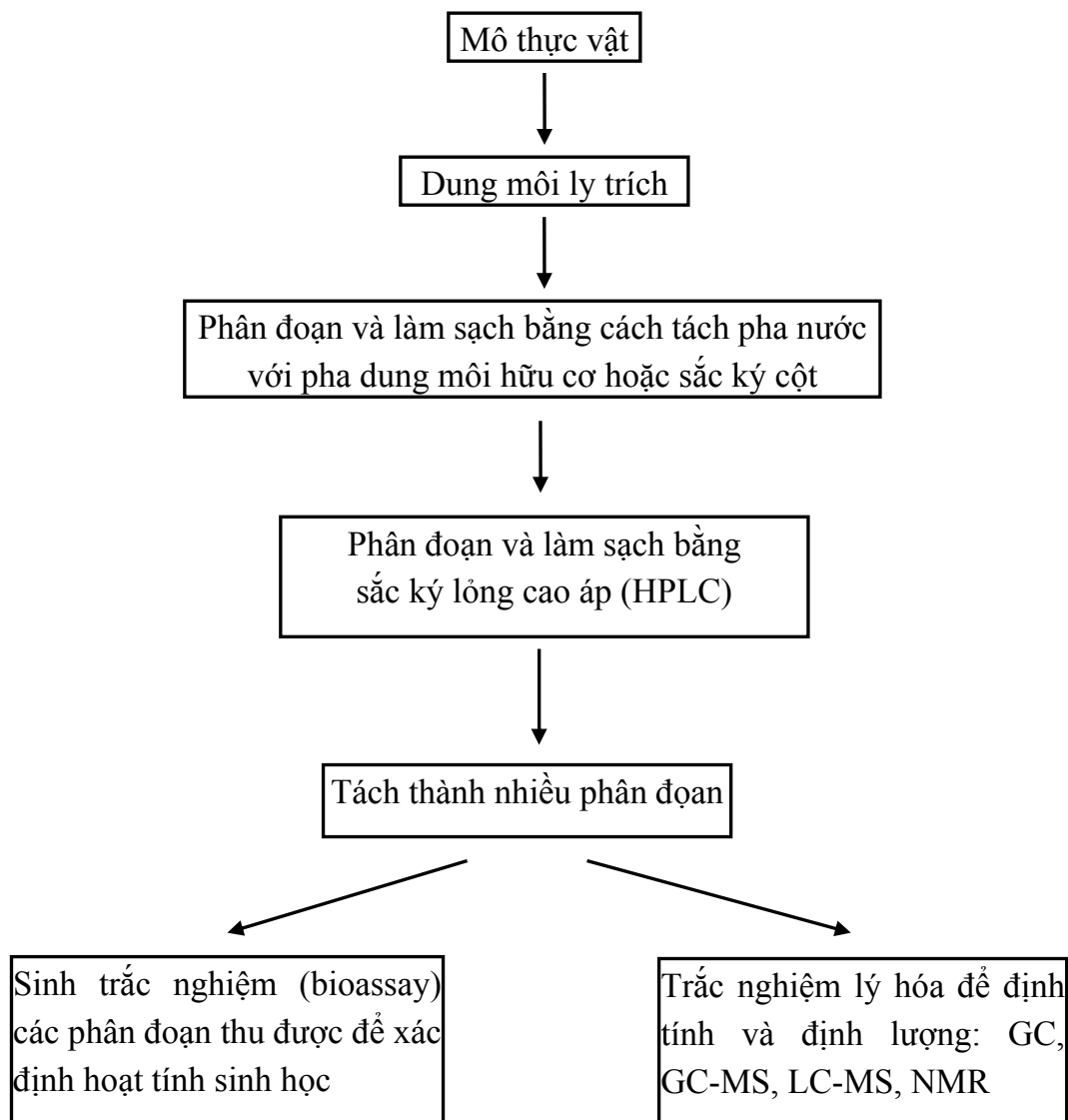
#### **2.3.3. Xác định cuối cùng**

Để xác định rạch ròi về một chất điều hoà sinh trưởng thực vật đã được sinh trắc nghiệm cần có một xác định cuối cùng về hợp chất này bằng phương pháp sắc ký. Khi dùng những phương pháp sinh trắc nghiệm thì việc xác định cuối cùng không cần thiết vì những hợp chất giống như chất điều hoà sinh trưởng đã được đo lường. Sự xác định cuối cùng này thường được thực hiện với sắc ký khối phổ hay kết hợp với sắc ký khí hoặc sắc ký lỏng. Phương pháp này cho một kết luận chắc chắn về chất được khảo sát.

### **2.4. Kết luận**

Có nhiều bước để ly trích, làm sạch và sinh trắc nghiệm chất điều hoà sinh trưởng thực vật. Các bước đó có thể được tóm tắt như trong hình 2.2. Những cách để xác định chất điều hoà sinh trưởng cũng rất đa dạng, tùy theo mục đích của nhà nghiên cứu mà phương pháp nào được áp dụng. Dù cho có dùng phương pháp phân tích nào đi chăng nữa thì việc chuẩn bị mô thích hợp trước khi phân tích là rất quan trọng để ly trích được hoàn chỉnh, để làm sạch mẫu mà không bị trở ngại bởi phương pháp đang dùng, để trích và làm sạch mẫu được tối đa và để cung cấp đủ lượng mẫu đạt chất lượng đủ cho việc xác định cuối cùng khi sinh trắc nghiệm. Hiện tại có nhiều kỹ thuật phân tích hiện đại được dùng trong nghiên cứu chất điều hoà sinh trưởng thực vật hay phân tích hoá học nói chung. Các thiết bị cần thiết để thực hiện các bước phân tích hoàn chỉnh là sắc ký lỏng cao áp, sắc ký khí, sắc ký

khí - khối phổ và cộng hưởng từ hạt tâm (Nuclear magnetic resonance: NMR). Các thiết bị này cho phép thay đổi đầu dò hoặc phương pháp phân tích để nhà nghiên cứu đạt được mục đích cụ thể.

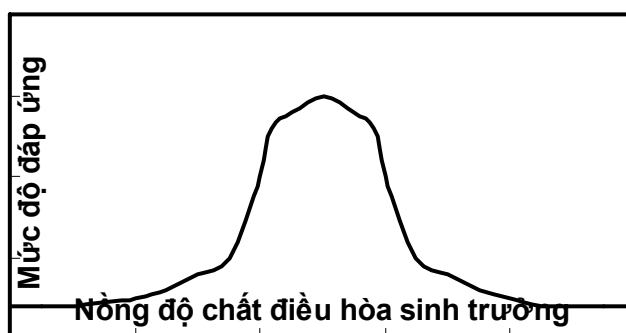


Hình 2.2. Sơ đồ ly trích và xác định chất điều hoà sinh trưởng thực vật

### Chương 3

## CẤU TRÚC HÓA HỌC, SINH TỔNG HỢP VÀ ẢNH HƯỞNG SINH LÝ CỦA CÁC NHÓM CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG THỰC VẬT

Trong chương này chủ yếu đề cập đến cấu trúc hóa học, sinh tổng hợp và ảnh hưởng sinh lý của tám nhóm chất điều hòa sinh trưởng thực vật chính là auxin, gibberellin, cytokinin, abscisic acid, ethylene, brassinosteroid, salysilate và jasmonate. Các chất thuộc nhóm polyamine và các chất khác sẽ được đề cập ở các chương sau tùy thuộc vào vai trò sinh lý của nó. Nhìn chung đường cong đáp ứng liều lượng cho tất cả những chất điều hòa sinh trưởng thực vật đã biết có dạng hình chuông (hình 3.1). Chất điều hòa sinh trưởng có tác dụng kích thích sẽ thể hiện tác động kích thích ở nồng độ thấp và tăng dần đến ảnh hưởng tối đa. Khi nồng độ vượt qua mức kích thích tối đa sẽ gây ảnh hưởng ức chế.



Hình 3.1. Đường cong diễn tả mức độ đáp ứng điển hình đối với nồng độ chất điều hòa sinh trưởng

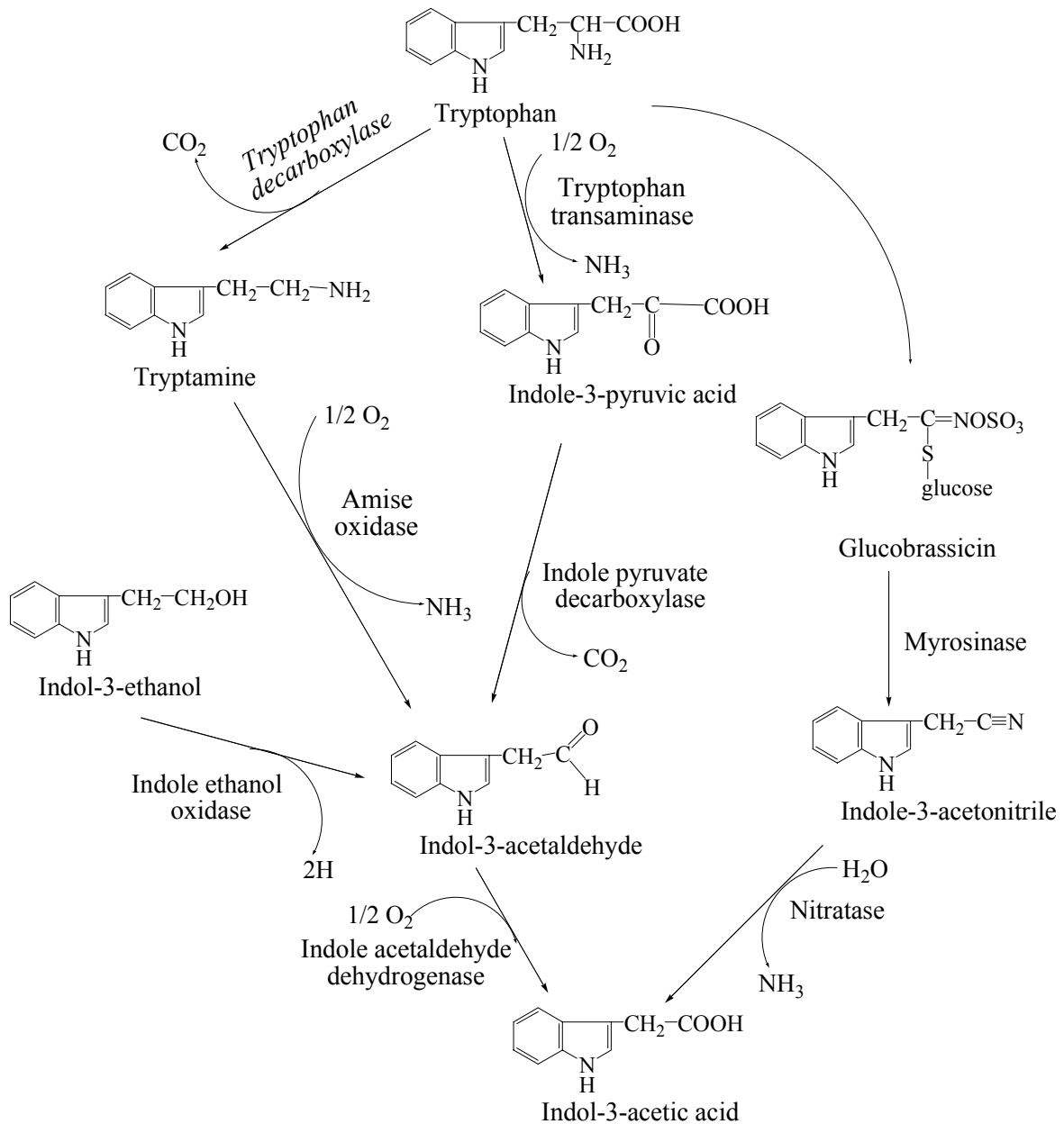
### 3.1. Auxin

Auxin là thuật ngữ chung đại diện cho lớp của những hợp chất được đặc tính hóa bởi khả năng gây ra sự vươn dài trong tế bào chồi trong vùng gần đỉnh và giống như indole-3-acetic acid (IAA) trong hoạt động sinh lý. Auxin cũng có những ảnh hưởng khác bên cạnh sự vươn dài, nhưng sự vươn dài được xem là then chốt nhất. Auxin nói chung mang tính acid với một nhân không bão hòa hoặc những dẫn xuất của chúng.

#### 3.1.1. Sinh tổng hợp auxin

Sau khi phát hiện ra IAA, nhiều hợp chất gốc indole cũng đã được phát hiện. Tuy nhiên hoạt tính của những chất này được xem như là sự chuyển hóa của nó thành IAA. Nói chung người ta chấp nhận rằng IAA được tổng hợp từ tryptophan, một amino acid, trong hạt phấn và những mô sinh trưởng hoạt động như

mô phân sinh chồi, khối sơ khởi của lá, lá non đang lớn, hạt đang phát triển và trái qua con đường khử amin, khử carboxy và oxy hóa.



Hình 3.2. Sơ đồ sinh tổng hợp auxin

Có một hệ thống các enzyme tham gia vào quá trình sinh tổng hợp auxin như các enzyme tryptophan decarboxylase, tryptophan transaminase, amine oxidase, indole pyruvate decarboxylase, myrosinase, indole ethanol oxidase, indole acetaldehyde dehydrogenase và nitrilase. Trong quá trình tổng hợp auxin đều có sự tham gia của kẽm. Có hai con đường chính để biến đổi tryptophan thành IAA tùy theo loài thực vật (Hình 3.2). Con đường thứ nhất biến đổi tryptophan thành indole-3-pyruvic acid bởi enzyme tryptophan transaminase, kế đó được decarboxyl hóa bởi indole pyruvate decarboxylase thành indole-3-acetaldehyde (IAAld), rồi

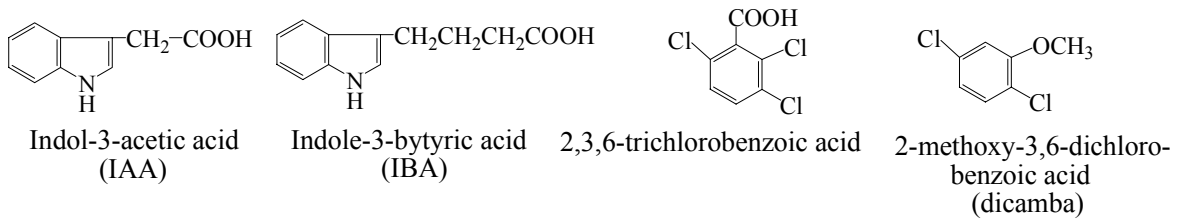
được biến đổi thành IAA qua con đường indole acetaldehyde dehydrogenase. Con đường thứ hai liên quan đến sự decarboxyl hóa của tryptophan thành tryptamin bởi tryptophan decarboxylase, kế đó được biến đổi thành IAAlđ bởi amine oxidase và cuối cùng thành IAA bởi IAAlđ dehydrogenase. Trong một vài loài thực vật, IAA có thể được tổng hợp từ những tiền chất khác không phải là tryptophan. Ở dưa leo, indole-3-ethanol đã được tìm thấy và khi xử lý ngoại sinh có thể dẫn tới sự tạo ra IAAlđ do enzyme indole ethanole oxidase. Nhiều loài thuộc họ *Cruciferae* hoặc *Brassicaceae* chứa glucobrassicin được biến đổi thành indole-3-acetonitrile bởi enzyme myrosinase và cuối cùng thành IAA bởi enzyme nitralase. Mặc dù có nhiều hệ thống khác nhau tồn tại trong cây, tuy nhiên phần lớn ghi nhận được là sự tổng hợp IAA từ tiền chất là tryptophan.

Trung tâm tổng hợp của các auxin là ở các mô phân sinh, lá non, mầm hoa, hạt đang phát triển, một lượng rất ít auxin được di chuyển đến các cơ quan. Sự vận chuyển này theo nhu mô, trọng tầng và có tính cách phân cực với vận tốc 5 - 15 mm/ h. Rất ít thấy auxin vận chuyển theo chiều từ dưới lên và theo chiều ngang.

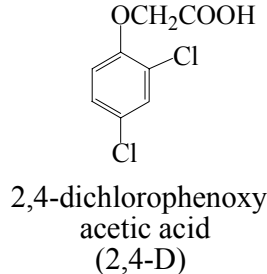
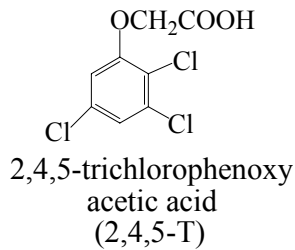
### 3.1.2. Các auxin phổ biến

Từ các nghiên cứu của Darwin (1880) về hiện tượng quang hướng động đến các khám phá của Went (1926) về một chất có hoạt tính sinh học trong diệp tiêu yến mạch *Avena* đã dẫn đến sự phát hiện ra IAA trong nước tiểu của người do công của Kögl và Haagen-Smit (1931). IAA sau đó đã được phân lập từ men bia, trong nhiều loài thực vật bậc thấp và thực vật bậc cao khác. Như vậy IAA đã được xem như là auxin được phát hiện sớm nhất. Ngày nay, bên cạnh IAA nội sinh còn có nhiều auxin được tổng hợp với nhiều mục đích khác nhau. Auxin tổng hợp là những hợp chất có hoạt tính tương tự như IAA, nhưng không hoàn toàn tương tự về cấu trúc. Auxins có thể được chia thành 6 nhóm sau (hình 3.3):

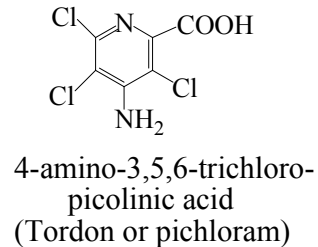
- Những dẫn xuất indole: Indole-3-acetic (IAA) và Indole-3-butyric acid (IBA).
- Những benzoic acid: 2,3,6-trichlorobenzoic acid và 2-methoxy-3-6-dichlorobenzoic acid (Dicamba).
- Những chlorophenoxyacetic acid: 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) và 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D).
- Picolinic acid: 4-amino-3,5,6-trichloropicnic acid (Tordon hay Pichloram).
- Những naphthalene acid:  $\alpha$  và  $\beta$ -naphthaleneacetic acid ( $\alpha$  và  $\beta$ -NAA).
- Những naphthoxyacetic acid:  $\alpha$  và  $\beta$ -naphthoxyacetic acid ( $\alpha$  và  $\beta$ -NOA).



***Dẫn xuất indole***

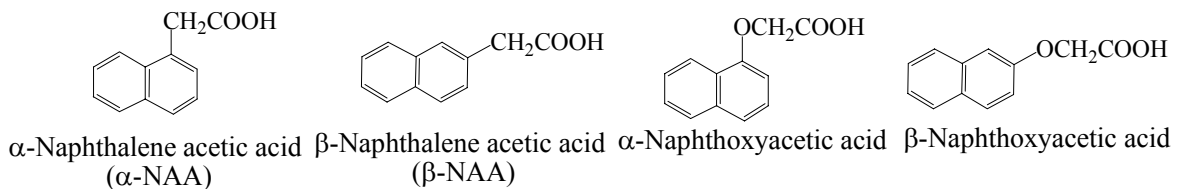


***Benzoic acid***



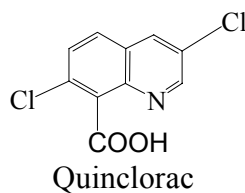
***Chlorophenoxyacetic acid***

***Picolinic acid***



***Naphthalene acid***

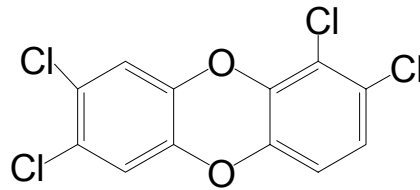
***Naphthoxyacetic acid***



Hình 3.3. Cấu trúc của một số auxin phổ biến

Chlorophenoxyacetic acid, picolinic acid và naphthalene acid là những thuốc trừ cỏ thường dùng trong nông nghiệp hiện nay. IAA, naphthaleneacetic acid (NAA), indole-3-butyric acid (IBA) được dùng cho sự tượng rễ và sự đậu trái. Sự thay thế những nhóm khác nhau trên mạch vòng hoặc mạch nhánh đã có những ảnh hưởng mạnh lên hoạt tính của auxin đối với nhóm phenoxy acid. Do tính chọn lọc của chúng, những phenoxyacetic acid đặc biệt như 2,4-D và 2,4,5-T đã được dùng rất phổ biến để làm thuốc trừ cỏ lá rộng trong nhiều năm qua mặc dù hiện nay đã hạn chế và không sử dụng. Những chất này cũng đã được dùng rất nhiều trong chiến tranh hóa học. Quinclorac là thuốc cỏ chọn lọc do công ty BASF của Đức sản xuất và được dùng làm thuốc trừ cỏ lồng vực trên ruộng lúa. Những hợp chất phenoxyacetic acid thường rất bền. Thật ra, phần lớn cỏ lá rộng hai lá mầm không thể phân hủy những hợp chất này vì vậy thường được dùng với nồng độ thấp. Chất độc màu da cam đã được dùng để làm rụng lá cây trong chiến tranh Việt Nam là

một hỗn hợp của 2,4-D tự do và n-butyl ester của 2,4,5-T. Trong quá trình tổng hợp của 2,4,5-T và những phenol gốc chlor đã sinh ra nhiều sản phẩm phụ khác như những chlorodioxin rất nguy hiểm cho người điển hình là 2,3,8,9-tetrachlorodibenzo-para-dioxin (hình 3.4).



Hình 3.4. Cấu tạo của dioxin (2,3,8,9- tetrachlorodibenzo-para-dioxin)

Auxin hiện diện trong các tế bào thực vật dưới nhiều hình thức khác nhau: auxin tự do, tiền auxin và auxin liên kết. Các phương pháp ly trích thông thường sẽ thu được auxin tổng số (cả ba loại trên). Các hình thức trích auxin theo kiểu khuếch tán thường thu được auxin tự do và auxin liên kết thường kết chặt với protein.

### 3.1.3. Những ảnh hưởng sinh lý

Auxin liên quan đến nhiều quá trình sinh lý trong cây. Vài ảnh hưởng quan trọng của auxin điều hòa các quá trình sinh lý của thực vật có thể kể đến như sau:

(1). Vươn dài tế bào: Các bước ảnh hưởng lên sự vươn dài do auxin tác động có thể tóm tắt như sau:

- Giảm tính chống chịu của vách tế bào đối với sức căng. Điều này gây ra do sự bẻ gãy những liên kết không cộng hóa trị giữa xyloglucans và cellulose trong vách tế bào.
- Có một sự thay đổi về những chế độ nước với tế bào. Ngay cả khi áp suất thẩm thấu trong tế bào không thay đổi, thế năng nước trong tế bào được xử lý với auxin trở nên yếu hơn do sự giảm thế năng áp suất.
- Sự giảm thế năng nước cho phép nước di chuyển vào bên trong tế bào và tạo ra một áp suất về phía vách tế bào có tính dẻo tạo ra sự vươn dài.
- Khi sự vươn dài hoàn tất, những liên kết không cộng hóa trị giữa cellulose và những polysaccharide tái lập trở lại. Quá trình này không thuận nghịch.

(2). Quang hướng động: Quang hướng động là sự phát triển của một mô thực vật hướng về phía sáng do sự đáp ứng với thông lượng trực tiếp hoặc gradient. Theo giả thuyết Cholodny-Went thì ánh sáng chiếu từ một phía sẽ gây ra sự di chuyển của auxin về phía tối, do đó nồng độ auxin về phía tối cao hơn phía được chiếu sáng. Sự phân phối auxin không đều được xem là nguyên nhân gây ra sự nghiêng.

(3). Địa hướng động: Là sự hướng động của một cơ quan thực vật đáp ứng với trọng lực. Nếu một cây được đặt nằm ngang, chồi của nó sẽ nghiêng lên phía trên ngược chiều với trọng lực (địa hướng động âm), trái lại rễ sẽ nghiêng xuống theo chiều của trọng lực (địa hướng động dương). Theo thuyết Cholodny-Went về địa hướng động thì thân và rễ đáp ứng với trọng lực tích lũy IAA về phía thấp hơn. Trong thân IAA kích thích sự sinh trưởng trên mặt đáy của thân và làm cho thân nghiêng về phía trên. Khi cắt chóp rễ đi thì khả năng đáp ứng của rễ đối với trọng lực bị mất đi và khi đặt chóp rễ trở lại thì tính địa hướng động được phục hồi.

(4). Ưu thế chồi ngọn: Chồi ngọn được biết là nguyên nhân khống chế sự phát triển của chồi bên. Khi cắt chồi ngọn, chồi bên sẽ phát triển. Tuy nhiên theo thời gian, chồi bên phát triển trội lên và ức chế sự phát triển của những chồi bên mọc sau. Sau khi auxin được phát hiện, hàm lượng cao của nó trong đỉnh chồi cũng đã được ghi nhận. Ưu thế chồi ngọn đã được ghi nhận ở nhiều loài thực vật và được điều khiển bởi chất điều hòa sinh trưởng.

(5). Sự tượng rễ: Julius Von Sachs (1880) cho rằng trong lá non và những chồi hoạt động có chứa một chất điều hòa sinh trưởng có khả năng dẫn truyền và kích thích sự tượng rễ. IAA cũng đã được biết là chất có khả năng kích thích sự tượng rễ của cành giâm và cũng đã cho thấy khả năng ứng dụng trong thực tiễn. Những auxin tổng hợp thường được dùng thay vì IAA tự nhiên vì chúng không bị phân hủy bởi enzyme IAA oxidase hay những enzyme khác và sẽ tồn tại trong mô trong một thời gian dài. Áp dụng auxin ngoại sinh có thể kích thích sự tượng rễ và sự phát triển sớm của rễ, trái lại sự vươn dài của rễ nói chung bị ức chế trừ khi áp dụng với nồng độ đủ nhỏ. Sự ức chế sinh trưởng của auxin thường có liên quan đến sự kích thích sinh tổng hợp ethylene.

(6). Sự sản sinh ethylene: Sự kích thích sản sinh ethylene gây ra do auxin được ghi nhận đầu tiên trên cà chua bởi Zimmerman và Wilcoxon (1935). Ngày nay, auxin đã được biết là chất điều hòa sinh trưởng kích thích sự sinh tổng hợp ethylene trên nhiều loài thực vật như đậu xanh, lúa, cỏ lông vục...

(7). Sự phát triển trái: Sự gia tăng kích thước trái chủ yếu do sự nở rộng của tế bào gây ra. Auxin có liên quan đến sự nở rộng của tế bào và đóng vai trò cơ bản trong việc quyết định sự phát triển của trái. Vai trò mạnh mẽ của auxin trong sự phát triển của trái gồm hai yếu tố. Thứ nhất là mối quan hệ giữa sự phát triển hột với kích thước cuối cùng và hình dạng trái. Thứ hai là việc áp dụng auxin lên trái nào đó ở những giai đoạn đặc thù của sự phát triển sẽ gây ra sự đáp ứng. Ví dụ ở dâu tây, nội phôi nhủ và phôi trong bẻ quả sản xuất auxin, nó di chuyển ra ngoài và kích



thích sự sinh trưởng. Vị trí của bé quả trên trái có một ảnh hưởng lớn đến hình dạng trái. Bé quả dâu tây nằm bên ngoài để hoa thịt quả và dễ dàng tác động. Khi tách tất cả bé quả thì trái không phát triển. Tuy nhiên, nếu tách tất cả bé quả và áp dụng auxin lên để hoa thì trái phát triển bình thường.

(8). Trình quả sinh: Là sự phát triển của trái không qua quá trình thụ tinh. Ảnh hưởng của auxin lên trình quả sinh thì không nổi bật bằng ảnh hưởng của gibberellin lên quá trình này.

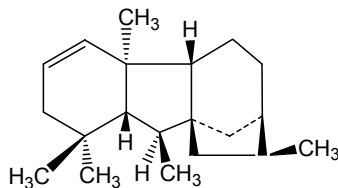
(9). Sự rụng: Nếu cắt bỏ phiến lá non thì lá sẽ dễ rụng. Tuy nhiên cuống lá sẽ không rụng nếu được xử lý auxin như IAA. Sự rụng lá là do sự thành lập tầng rời và hiện tượng này bị chi phối bởi auxin. Sự rụng sẽ gia tăng khi lượng auxin nội biên bằng hoặc lớn hơn auxin ngoại biên. Xử lý auxin về phía lá của tầng rụng làm giảm sự lão hóa, về phía thân của tầng rụng kích thích sự lão hóa và gây ra sự rụng. Sự giảm auxin nội sinh trong lá hoặc các cơ quan khác của cây sẽ gây ra sự rụng. Việc xử lý NAA hay 2,4 D cũng làm giảm sự rụng trái.

(10). Sự thể hiện giới tính: Việc xử lý auxin có thể làm thay đổi giới tính của hoa trên một số loài cây và sự thay đổi giới tính này được ghi nhận có liên quan đến sự kích thích sinh tổng hợp ethylene. Khi xử lý auxin ngoại sinh đã làm tăng số lượng hoa cái trên họ bầu bí. Các nghiên cứu của Khoa Nông Nghiệp, Trường Đại Học Cần Thơ cũng ghi nhận được rằng auxin ngoại sinh làm tăng số lượng hoa đực trên chôm chôm.

#### **3.1.4. Sự phân hủy auxin**

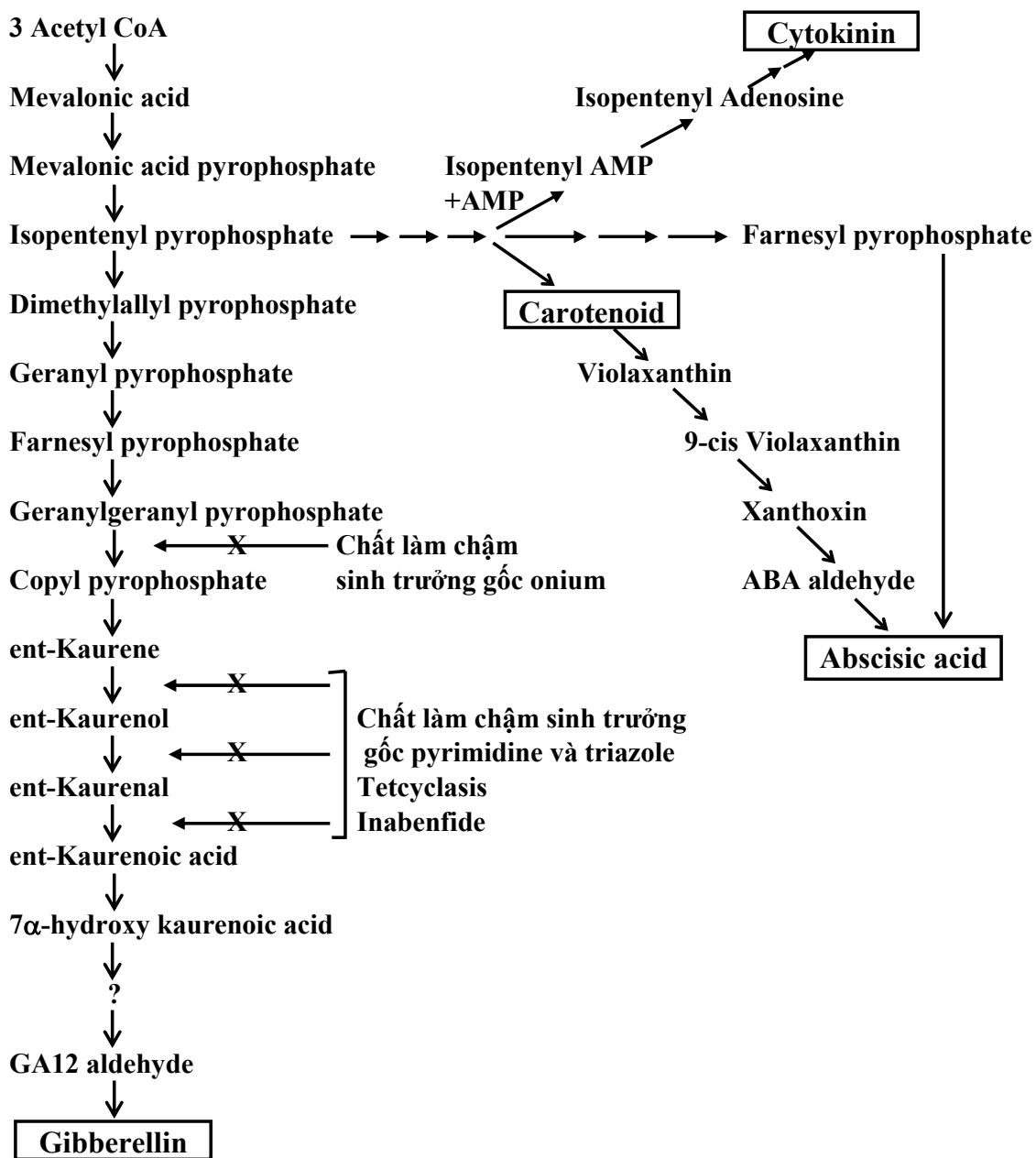
Sự hiện diện hay có mặt của auxin có một ảnh hưởng sâu sắc lên sự sinh trưởng và phát triển của thực vật. Các dạng liên kết thuận nghịch và bất thuận nghịch của auxin, enzyme oxy hóa và quang oxy hóa là những yếu tố phân hủy hoặc làm bất hoạt auxin. Enzyme IAA oxidase đã được tìm thấy trên nhiều loài thực vật có khả năng phân hủy IAA. Sản phẩm chính tạo thành trong chu trình decarboxyl hóa oxy hóa là 3-methylene-oxindole. Ngoài ra còn có các chất khác như 3-hydroxymethyl oxindole, indole-3-methanol, indole-3-aldehyde và indole-3-carboxylic acid. Trong chu trình oxy hóa decarboxy hóa không hoàn toàn đối với IAA thì thu được sản phẩm chính là oxindole-3-acetic acid. Nhiều loài cây có enzyme IAA oxidase có thể phân hủy được IAA. Các hợp chất phenoxy acetic acid thường rất bền và không bị enzyme IAA oxidase phân hủy. Phần lớn cây lá rộng song tử diệp không thể phân hủy 2,4-D và 2,4,5-T. Phần lớn 2,4-D và 2,4,5-T được dùng thông thường là những acid tự do, muối và muối amine. Cần chú ý rằng những acid tự do rất dễ bay hơi và phân tán.

### 3.2. Gibberellin (GA)



Hình 3.5. Cấu trúc của ent-gibberellane là sườn cơ bản của các gibberellin

Gibberellin là một nhóm chất điều hòa sinh trưởng thực vật có sườn ent-gibberellane (hình 3.5) và kích thích sự phân chia tế bào hoặc sự vươn dài tế bào. Ngoài ra chúng còn có những chức năng điều hòa khác tương tự như gibberellic acid (GA<sub>3</sub>).



Hình 3.6. Sinh tổng hợp gibberellin, cytokinin và Abscisic acid từ mevalonic acid

GA<sub>3</sub> là gibberellin được thương mại hóa đầu tiên và đã được dùng cho một hệ thống sinh trắc nghiệm chuẩn. Chính vì vậy nó được xem như là chất đại diện cho 136 gibberellin đã được phát hiện. Gibberellin được phân lập đầu tiên từ nấm *Gibberella fujikuroi*. Từ khi được phát hiện, nó đã được tìm thấy trên nhiều loài thực vật như thực vật hạt kín, thực vật hạt trần, dương xỉ, tảo nâu, tảo lục, nấm và vi khuẩn.

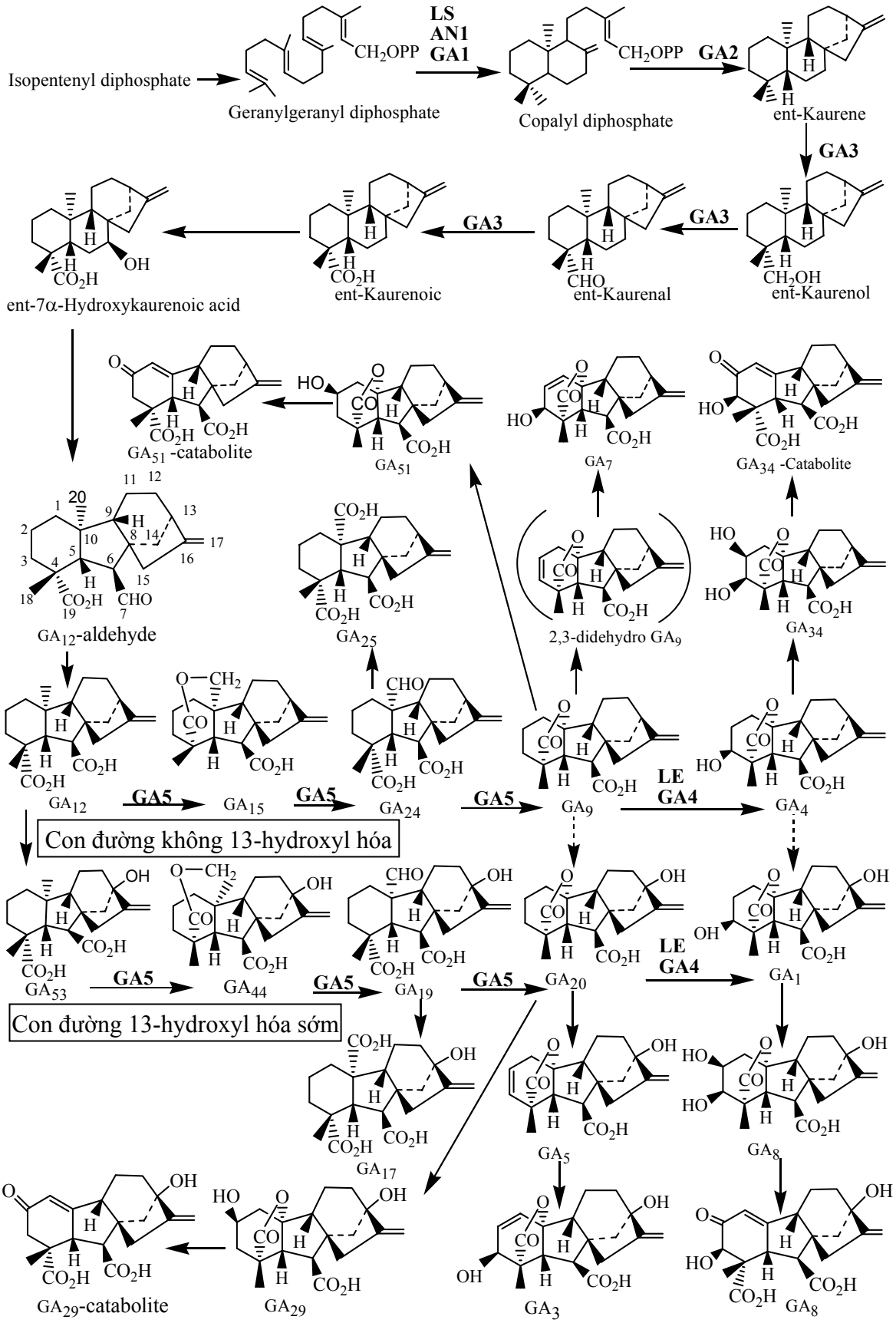
### 3.2.1. Sinh tổng hợp gibberellin

Nói chung người ta chấp nhận rằng gibberellin được tổng hợp từ mevalonic acid trong những chồi non đang sinh trưởng tích cực và hạt đang phát triển. Chu trình mevalonic acid không chỉ có liên quan đến sinh tổng hợp gibberellin mà còn liên quan đến sinh tổng hợp cytokinin, abscisic acid và brassinosteroid (hình 3.6). Sau khi mevalonic acid biến đổi thành mevalonic acid pyrophosphate rồi thành isopentenyl pyrophosphate sẽ tách ra theo hướng tổng hợp cytokinin, abscisic acid và con đường khác theo các bước tiếp theo để tạo thành ent-kaurene sẽ dẫn đến sự thành lập các phân tử gibberellin. Quá trình tổng hợp gibberellin có thể bị ức chế bởi các chất làm chậm sinh trưởng trong bước chuyển hóa từ geranylgeranyl pyrophosphate thành copyl pyrophosphate. Các chất làm chậm sinh trưởng gốc pyrimidine, triazole, tetcyclacis và inabenfide cũng ức chế sự biến đổi từ ent-kaurene thành ent-kaurenol, từ ent-kaurenol thành ent-kaurenal, từ ent-kaurenal thành ent-kaurenoic acid.

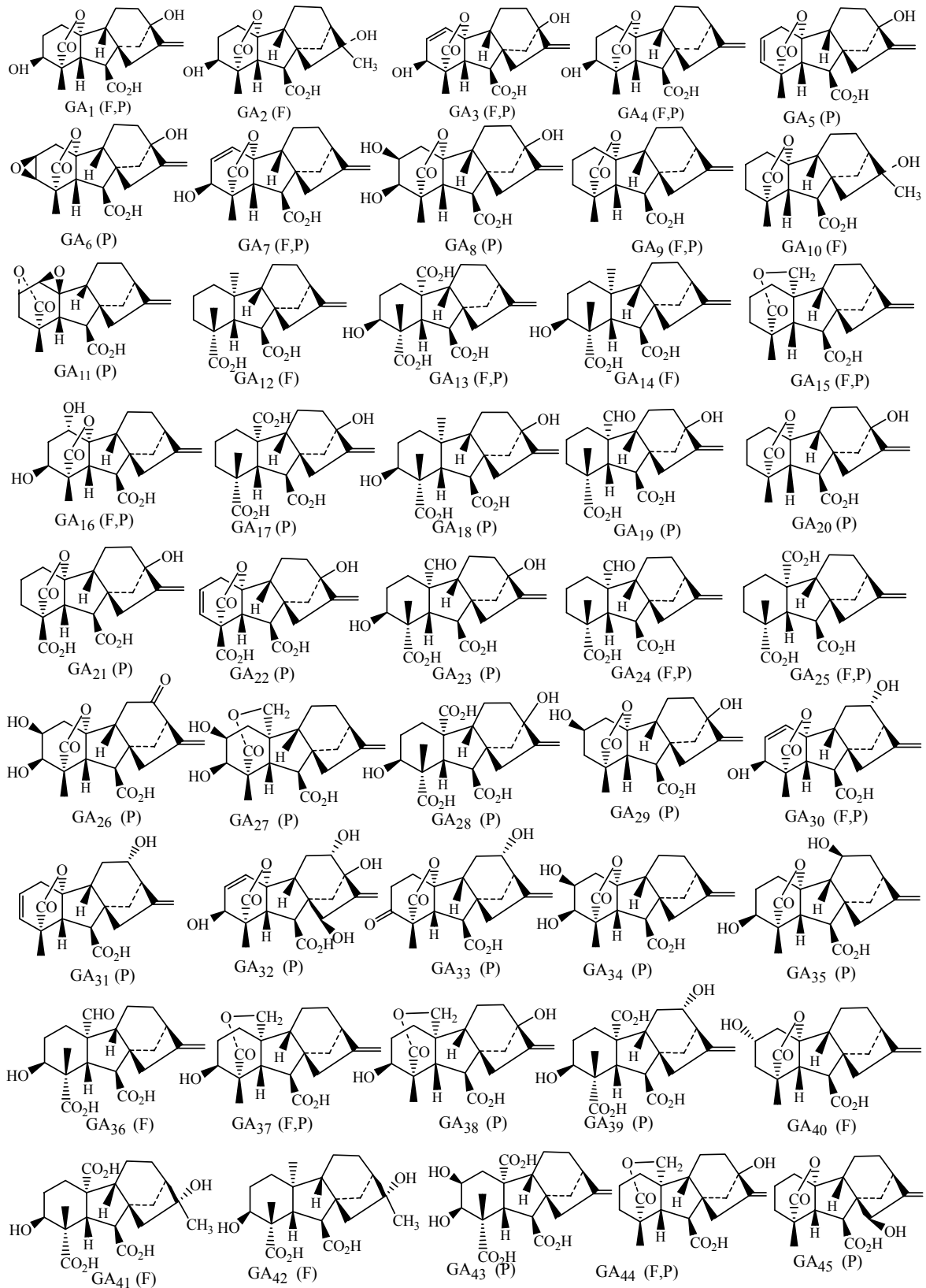
Quá trình sinh tổng hợp gibberellin của nấm *G. fujikuroi* và thực vật bậc cao có thể chia thành 3 giai đoạn chính:

- Chuyển hóa mevalonic acid thành ent-kaurene.
- Chuyển hóa ent-kaurene thành gibberellin prototype, GA<sub>12</sub>-aldehyde.
- Chuyển hóa GA<sub>12</sub>-aldehyde thành C<sub>20</sub>-, rồi thành C<sub>19</sub>-GA với con đường không 13-hydroxyl hóa và con đường 13-hydroxyl hóa sớm ở các vị trí khác nhau và sau cùng thành các dạng GA khác nhau.

Sự chuyển hóa từ isopentenyl diphosphate (pyrophosphate) đến các dạng gibberellin được diễn tả chi tiết như trong hình 3.7.

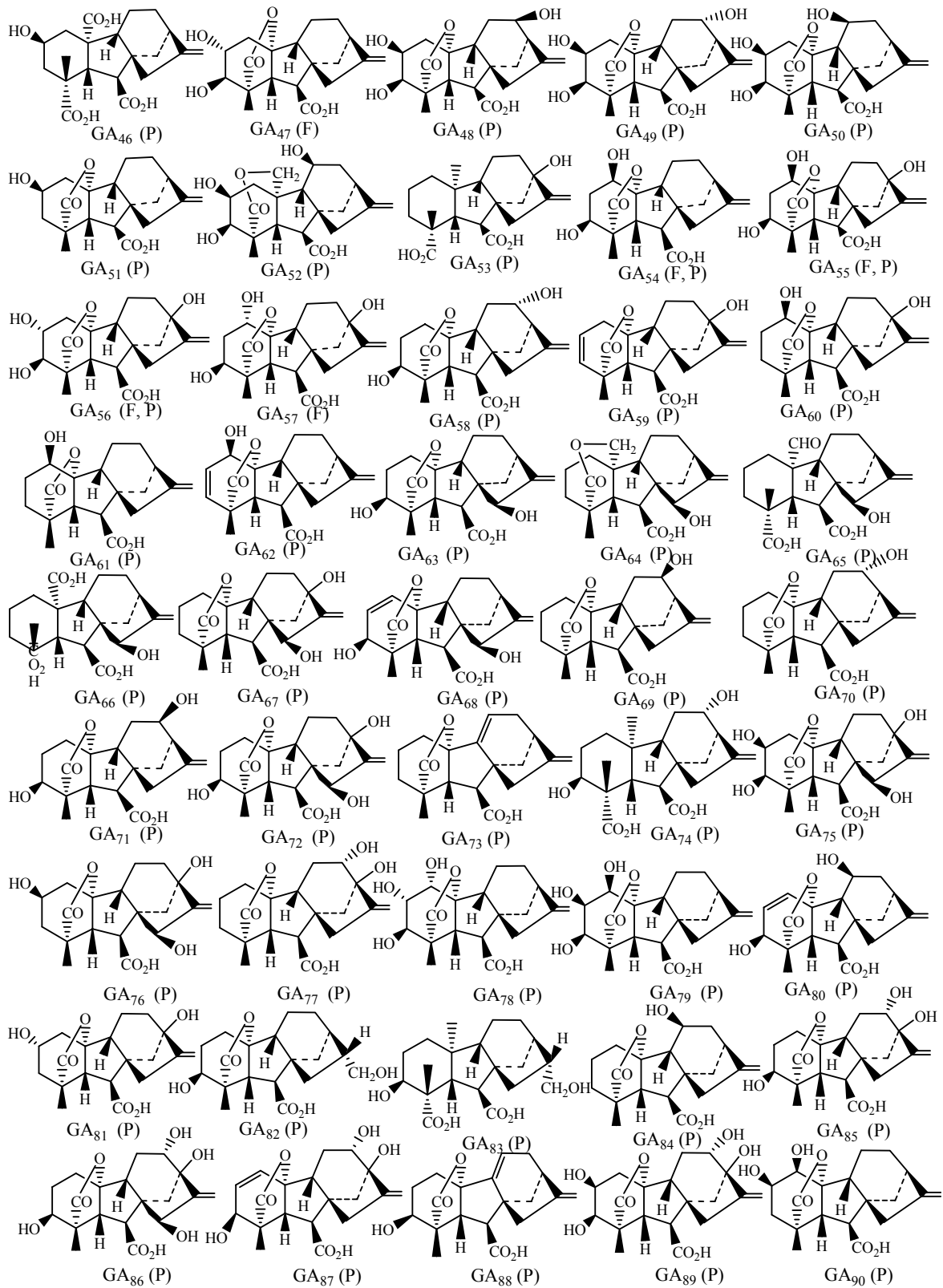


Hình 3.7. Sơ đồ sinh tổng hợp Gibberellin



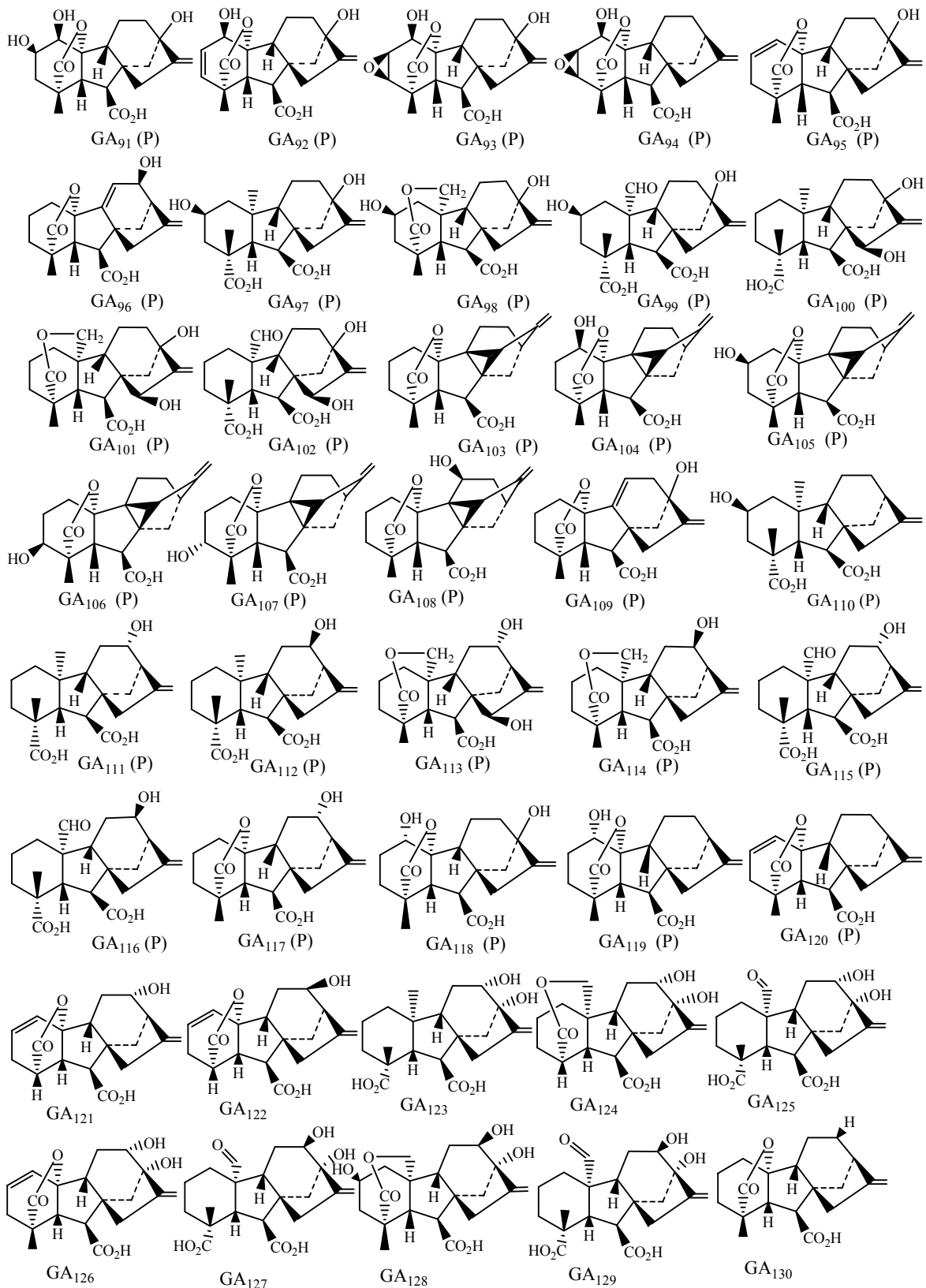
- (F): Chỉ các gibberellin có nguồn gốc từ nấm
- (P): Chỉ các gibberellin có nguồn gốc từ cây xanh

Hình 3.8a. Các Gibberellin từ GA<sub>1</sub> đến GA<sub>45</sub>



- (F): Chỉ các gibberellin có nguồn gốc từ nấm
- (P): Chỉ các gibberellin có nguồn gốc từ cây xanh

Hình 3.8b. Các Gibberellin từ GA<sub>46</sub> đến GA<sub>90</sub>



- (F): Chỉ các gibberellin có nguồn gốc từ nấm
- (P): Chỉ các gibberellin có nguồn gốc từ cây xanh

Hình 3.8c. Các Gibberellin từ GA<sub>91</sub> đến GA<sub>130</sub>

### 3.2.2. Những ảnh hưởng sinh lý của gibberellin

Gibberellin có liên quan đến nhiều quá trình sinh lý trong cây. Tuy nhiên ở những chi, loài với những yếu tố khác nhau sẽ quyết định gibberellin đặc hiệu hiệu quả nhất. Gibberellin ảnh hưởng đến nhiều quá trình sinh trưởng và phát triển của thực vật như sự phát triển thân, sự nảy mầm của hạt, miên trạng, trở hoa, phân hóa giới tính, trình quả sinh, đậu trái và lão hóa.

- **Ảnh hưởng trên sự phát triển của thực vật sống:** Các gibberellin đã biết đều có khả năng kích thích sự vươn dài của thân hay sự phân chia tế bào. Sự kích thích vươn dài của GA thể hiện rất rõ trên những cây non hoặc bộ phận non, ở cây đã trưởng thành hay cơ quan đã già thì ảnh hưởng sẽ kém đi. Nhìn chung, GA kích thích sự sinh trưởng của nhiều loài cây đặc biệt là những cây lùn. Khác với auxin, ảnh hưởng vươn dài của GA lên thực vật sống thì rõ hơn trên các đoạn mẫu được cắt. Thực vật đáp ứng với các loại gibberellin khác nhau cũng khác nhau. Đối với trực hạ diệp rau diếp, ảnh hưởng kích thích sự vươn dài của GA<sub>8</sub> không rõ nét, ảnh hưởng kích thích sự vươn dài của GA<sub>4</sub>, GA<sub>1</sub> và GA<sub>3</sub> mạnh dần và GA<sub>9</sub> lại có ảnh hưởng mạnh hơn cả. Trong một vài trường hợp thì ảnh hưởng kích thích sự vươn dài trực hạ diệp dưa leo của gibberellin cũng kém hiệu quả.

- **Ảnh hưởng lên tính trạng lùn:** Có nhiều biến dị thiếu sinh tổng hợp GA đã được phát hiện. Đây là tính trạng đơn gene, kích thước của cây biến dị có thể chỉ bằng một phần năm cây bình thường và sự lùn chủ yếu là do lóng bị ngắn lại. Các dạng đột biến lùn như đột biến bắp lùn (*Zea mays* L.) *d1* và *d5* và lúa lùn (*Oryza sativa* L.) Tan-ginbozu và Waito-C. GA nội sinh kiểm soát hoạt động của bắp và lúa là GA<sub>1</sub>. Việc xử lý GA ngoại sinh làm cho các cây này cao trở lại bình thường. Cũng có những dạng đột biến lùn không đáp ứng với việc áp dụng gibberellin ngoại sinh và cây vẫn lùn sau khi xử lý.

- **Ảnh hưởng lên sự nảy mầm của hạt và miên trạng:** Hiện nay GA được biết là những chất có khả năng kích thích nảy mầm và phá vỡ miên trạng trên nhiều loại cây trồng. GA có thể kích thích hoạt động của các enzyme thủy phân hydrolase trong hạt ngũ cốc. GA ngoại sinh tác động lên lớp aleurone của hạt ngũ cốc và kích thích sự sản sinh enzyme  $\alpha$ -amylase để tác động lên sự phân hủy tinh bột thành đường đơn. Tác động này có tác dụng kích thích nảy mầm và phá vỡ miên trạng. Khoai tây có thể nảy mầm sớm khi xử lý với GA<sub>3</sub>. GA cũng có thể kích thích sự nảy mầm của hạt rau diếp mà không cần xử lý ánh sáng đỏ. GA cũng có thể thay thế điều kiện nhiệt độ thấp hoặc ngày dài để phá vỡ miên trạng.

- **Ảnh hưởng lên sự trở hoa:** Gibberellin có khả năng thúc đẩy quá trình trở



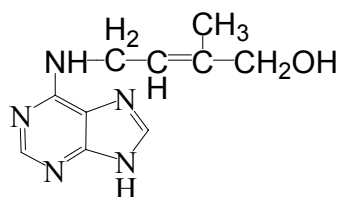
hoa trong nhiều loài thực vật. Đối với những cây cần yêu cầu ngày dài hay trải qua điều kiện lạnh trước trổ hoa thì khi xử lý GA trong những điều kiện không cảm ứng chúng sẽ trổ hoa và trở hoa. Ảnh hưởng này có liên quan đến sự kích thích quá trình phân chia tế bào và vươn dài tế bào.

**- Ảnh hưởng lên sự phân hóa giới tính, trình quả sinh, đậu trái và lão hóa:** GA có thể làm thay đổi giới tính của hoa tương tự như auxin, cytokinin và ethylene. Tuy nhiên, GA có hiệu quả ngược với auxin và ethylene. GA làm tăng số hoa đực trên dưa leo. GA cũng gây nên hiện tượng trình quả sinh và tạo nên trái không hạt. GA cũng giúp cho trái to và trì hoãn sự lão hóa. Các loại trái nho không hạt ở Nhật, Úc, Mỹ và châu Âu thường có xử lý GA<sub>3</sub>. Bằng cách giảm lão hóa, GA giữ cho vỏ trái cam quýt tươi lâu hơn, chậm mềm khi chín và kéo dài thời gian bảo quản hơn. GA cũng làm cho vỏ táo đẹp hơn, cây kiểng trổ hoa sớm và tập trung. GA<sub>3</sub> cũng có thể giúp quá trình sản xuất malt trong công nghiệp sản xuất bia hiệu quả hơn và ngắn hơn 2-3 ngày.

### 3.3. Cytokinin

Cytokinin là những hợp chất adenin được thay thế, nó kích thích sự phân chia tế bào và những chức năng điều hòa sinh trưởng khác giống như kinetin (6-furfurylaminopurine).

Cytokinin đầu tiên được phân lập từ DNA tinh trùng cá trích được thanh trùng và được gọi là kinetin bởi vì nó có khả năng kích thích sự phân chia tế bào hay sự phân bào (cytokinesis) trong mô lõi thuốc lá. Cytokinin có nguồn gốc tự nhiên được phân lập đầu tiên từ hạt bắp non và được gọi là zeatin (6-(4-hydroxy-3-methyl-trans-2-butenyl-amino)purine). Ngày nay, hầu hết cytokinin được tìm thấy trong cây là zeatin (hình 3.9).

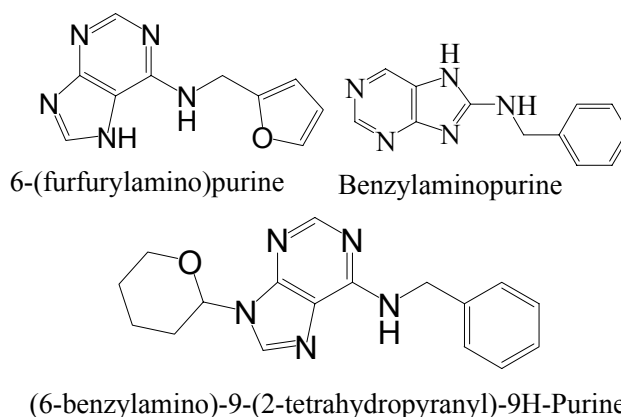


Hình 3.9. Cấu trúc của Zeatin

Hiện nay, có nhiều cytokinin tổng hợp được biết. Có 3 chất thông dụng là kinetin (6-furfurylaminopurine), BA (6-benzylaminopurine), và BPA (6-benzylamino)-9-(2-tetrahydropyranyl)-9H-purine) (hình 3.10).

Cytokinin đã được tìm thấy ở hầu hết thực vật bậc cao, rêu, nấm ký sinh và

không ký sinh, vi khuẩn, và cũng có trong phần lớn tRNA của vi sinh vật và tế bào động vật. Hiện tại có hơn 200 cytokinin tự nhiên và tổng hợp đã được phát hiện.



Hình 3.10. Cấu trúc của 6-(furfurylamino)purine (Kinetin), benzylaminopurine và BPA (6-benzylamino)-9-(2-tetrahydropyranyl)-9H-purine)

### 3.3.1. Sinh tổng hợp cytokinin

Cytokinin có nhiều nhất trong miền phân sinh và vùng phát triển có hiệu quả liên tục bao gồm rễ, lá non, trái đang phát triển và hạt. Chúng được xem là được tổng hợp ở rễ và vận chuyển đến chồi bởi vì có nhiều báo cáo cho thấy rằng cytokinin được tìm thấy ở nhựa gỗ. Tuy nhiên, cytokinin đã được tìm thấy nhiều trong mô của trái và hạt cho thấy rằng chúng có thể được tổng hợp ở đó. Sự sinh tổng hợp cytokinin liên quan đến các bước khởi đầu của chu trình mevalonic acid đến isopentenyl phosphate (hình 3.6). Bước tiếp theo, isopentenyl sẽ kết hợp với AMP để tạo thành isopentenyl AMP. Chất này sau đó được biến đổi thành isopentenyl adenosine theo sau bởi một loạt phản ứng khác để tạo thành cytokinin.

### 3.3.2. Những ảnh hưởng sinh lý của cytokinin

Có nhiều cytokinin được tìm thấy trong cây, tuy nhiên, chi, loài và những yếu tố khác sẽ quyết định cytokinin nào là hiệu quả nhất. Sau đây là những ảnh hưởng sinh lý của cytokinin:

**- Phân chia tế bào và tạo thành cơ quan:** Vai trò chính của cytokinin trong cây là kích thích sự phân chia tế bào. Callus có thể được tạo thành ban đầu chỉ cần auxin hoặc cytokinin riêng lẻ. Tuy nhiên để duy trì sự phát triển của callus, sự kết hợp của auxin và cytokinin tỏ ra cần thiết. Tỷ lệ auxin/ cytokinin sẽ ảnh hưởng lên sự tạo callus, rễ hay chồi. Khả năng tái sinh cây từ callus là một công cụ kỹ thuật sinh học thông thường dùng để chọn lọc những cây kháng với điều kiện khô hạn, stress do mặn, bệnh, thuốc cỏ hay những yếu tố khác.

- **Sự nảy mầm, sự mở rộng của tế bào và cơ quan:** Kinetin có thể giúp hạt rau diếp nảy mầm vượt qua ảnh hưởng ức chế của ánh sáng đỏ xa. Cytokinin được biết là chất kích thích sự phân chia tế bào, tuy nhiên vẫn có những trường hợp thấy được ảnh hưởng của cytokinin lên sự mở rộng của tế bào. Cytokinin kích thích sự mở rộng tế bào trực hạ diệp được cắt từ cây củ cải, bí rợ, cây lanh và nhiều cây song tử diệp khác. Sự mở rộng của tế bào là do sự hấp thu nước gây ra do sự giảm thế năng thẩm thấu của tế bào được kích thích bởi sự biến đổi trở lại của lipid dự trữ trong trực hạ diệp thành đường khử (glucose và fructose).

- **Sự tượng rễ và sự phát triển rễ:** Cytokinin có thể kích thích hoặc ức chế sự khởi đầu và phát triển của rễ tùy theo nồng độ và thời gian xử lý. Kinetin có thể kích thích sự gia tăng trọng lượng khô và sự vươn dài của rễ cây đậu lupin con, trái lại hai yếu tố trên bị ức chế ở nồng độ kinetin cao. Khi kinetin được xử lý lên rễ ở nồng độ thấp, nó kích thích quang hợp và sinh trưởng. Tuy nhiên nếu rễ tiếp xúc với 0,47  $\mu\text{M}$  kinetin hơn hai ngày thì sinh trưởng của rễ và toàn cây sẽ bị giảm rõ rệt.

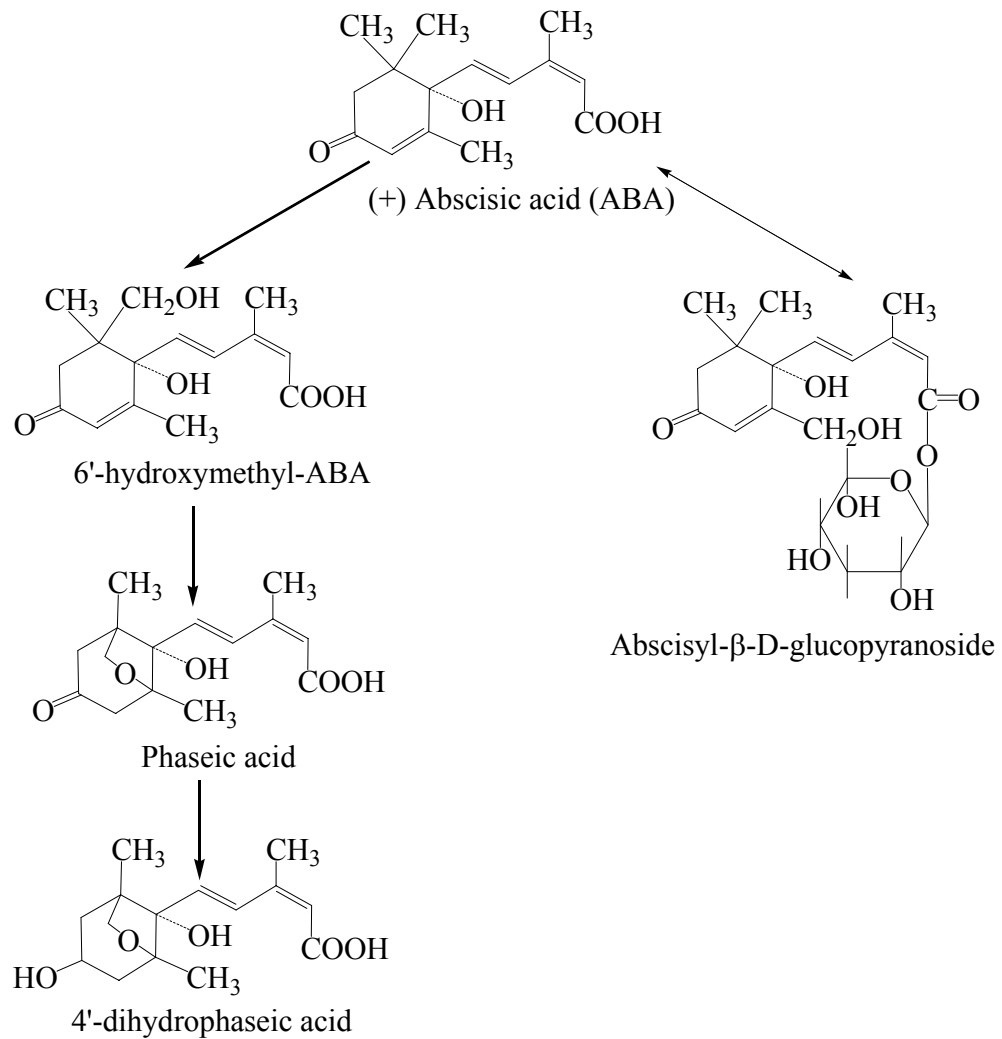
- **Sự phát triển nụ và chồi:** Cytokinin có khả năng kích thích chồi bên và đặc biệt là vượt qua ảnh hưởng ưu thế chồi ngọn. Bằng công nghệ di truyền người ta đã làm gia tăng được sự sinh tổng hợp cytokinin trong cây thuốc lá và *Arabidopsis*. Một gene của vi khuẩn giải mã enzyme isopentenyl AMP synthase, một enzyme đáp ứng với quá trình sản sinh cytokinin, cùng với kích thích gây sốc nóng đã đưa được gene này vào cây thuốc lá và *Arabidopsis*. Gene mới này được hoạt hóa bằng cách cho cây chuyển gene vào điều kiện nhiệt độ 40-45<sup>0</sup>C trong một thời gian ngắn và kết quả là làm gia tăng hàm lượng zeatin riboside monophosphate, zeatin riboside và zeatin lần lượt là 23, 46 và 80 lần. Một ví dụ khác là việc đưa một gene giải mã enzyme biến đổi IAA tự do thành một amino acid liên hợp bất hoạt. Dưới ảnh hưởng của gene này, IAA tự do bị giảm, do đó kích thích chồi bên phát triển. Ưu thế chồi ngọn được điều khiển bởi sự cân bằng giữa mức độ cytokinin và auxin nội sinh. Có hai giả thiết về mối quan hệ của cytokinin lên ưu thế chồi ngọn. Giả thiết thứ nhất cho rằng cytokinin có thể ức chế enzyme IAA oxidase trong chồi bên và do đó cho phép tích lũy auxin và gây ra sự vươn dài của chồi bên. Giả thiết thứ hai là cytokinin có thể khởi đầu cơ chế liên quan đến sức chứa ở chồi bên bằng cách kích thích sự vận chuyển dinh dưỡng, vitamin, khoáng và những chất sinh trưởng khác để tác động lên sự sinh trưởng.

- **Trì hoãn sự lão hóa và kích thích sự vận chuyển chất dinh dưỡng và những hợp chất hữu cơ:** Cytokinin có thể giúp làm giảm quá trình lão hóa khi tách lá ra khỏi thân cây và hoạt động như là chất thay thế cho sự cần thiết của rế để giảm lão hóa. Cytokinin cũng có khả năng thay thế ảnh hưởng của ánh sáng và làm giảm

sự lão hóa bằng cách duy trì nguyên vẹn màng tonoplast (màng bán thấm bao quanh không bào). Khi cytokinin được xử lý lên lá cây úa vàng hoặc tử diệp vài giờ trước khi đưa ra ánh sáng, tiền lập thể sẽ được chuyển hóa thành lục lạp và kết quả là có sự gia tăng sự sản sinh diệp lục tố. Cytokinin cũng làm giảm sự lão hóa của hoa cắt cành và rau tươi. Kinetin có khả năng kích thích sự vận chuyển của những hợp chất hữu cơ trong lá đã cắt và giữ trong tối. Khả năng của cytokinin kích thích sự vận chuyển dinh dưỡng và tạo ra sức chứa đã được biết trên nhiều loài.

### 3.4. Absciscic acid

#### 3.4.1. Sinh tổng hợp absciscic acid



Hình 3.11. Sự chuyển hóa của absciscic acid

Absciscic acid (ABA) là một sesquiterpenoid 15 carbon của 3 đơn vị isoprene (hình 3.11) được sản sinh cục bộ trong lục lạp và những bào quan khác theo con đường chu trình mevalonic acid. Có hai con đường để tạo thành ABA sau khi mevalonic tạo thành isopentenyl pyrophosphate như trong hình 3.6. Con đường thứ nhất là sự biến đổi của isopentenyl pyrophosphate qua nhiều bước để tạo thành

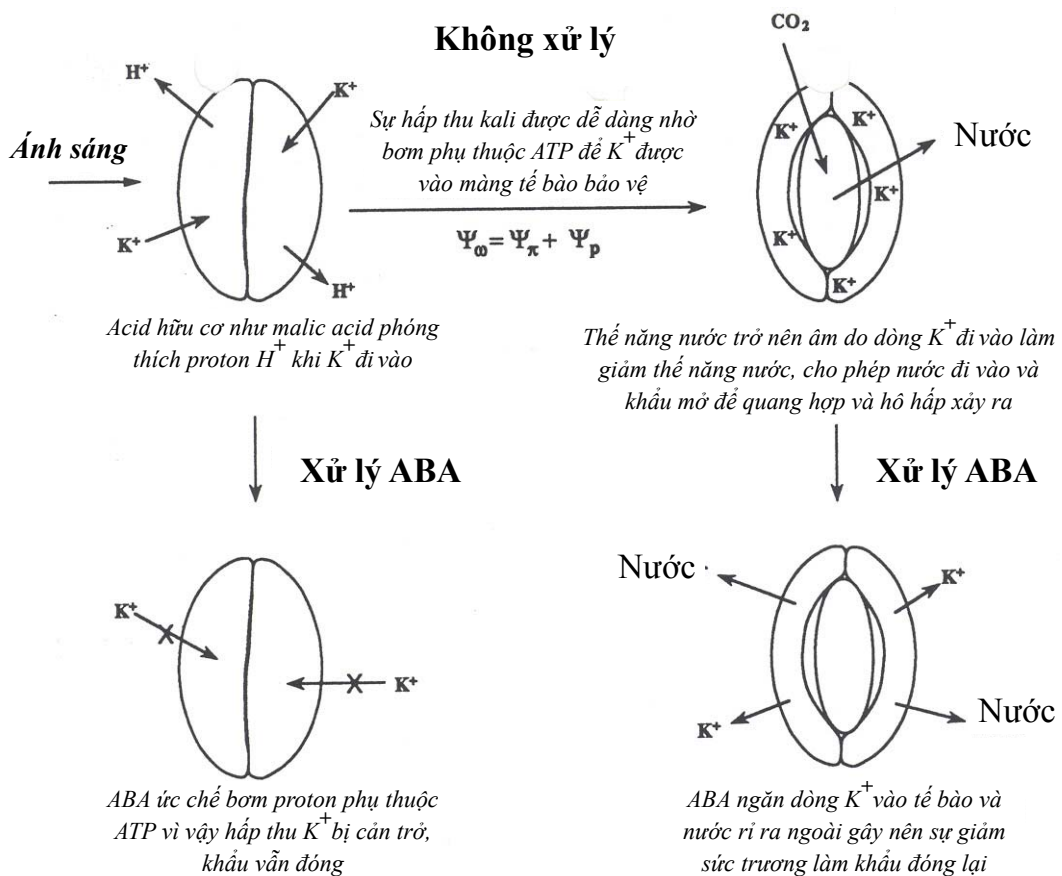
farnesyl pyrophosphate mới sinh ra ABA. Con đường thứ hai là từ isopentenyl pyrophosphate tạo thành carotenoid rồi qua một loạt biến đổi để sinh ra ABA.

### 3.4.2. Sự bất hoạt của abscisic acid

ABA có thể được chuyển hóa theo hai con đường khác nhau: Nó có thể được biến đổi thành abscisyl-β-D-glucosepyranoside của một phản ứng thuận nghịch hoặc nó có thể biến đổi không thuận nghịch thành 6'-hydroxymethyl ABA, phaseic acid hoặc 4'-dihydrophaseic acid (hình 3.11) ABA cũng có thể bất hoạt bởi sự kết hợp của glucose với nhóm carboxyl của ABA để tạo thành một ABA-glucose ester.

### 3.4.3. Những ảnh hưởng sinh lý của abscisic acid

ABA phân phối rộng trong giới thực vật như thực vật bậc cao, rêu, tảo lục, nấm, mới đây cũng thấy trong nảo chuột. Tuy nhiên nó chưa được tìm thấy trong vi khuẩn. Abscisic acid là một sản phẩm tự nhiên liên quan đến nhiều lĩnh vực sinh trưởng và phát triển của thực vật như ức chế sinh trưởng, kích thích sự phát triển phôi bình thường, tích lũy proteins trong hạt và sự đáp ứng nổi bật với stress. ABA hoạt động như một tính hiệu cho biết cây trong tình trạng stress, tuy nhiên, nó cũng liên quan với những quá trình sinh lý thông thường trong cây. Sau đây là những ảnh hưởng sinh lý của ABA:



Hình 3.12. Ảnh hưởng của abscisic acid lên sự đóng mở khâu

- **Đóng mở khí khổng:** Vai trò quan trọng của ABA như là một chất cảm ứng với stress đã được biết trong nhiều năm qua. Xử lý ABA ngoại sinh gây đóng khí khổng trong điều kiện sáng và duy trì cho đến khi ABA bị chuyển hóa. Trong điều kiện stress do thiếu nước ABA có thể gia tăng lên 20 lần. Sự stress do thiếu nước ở rễ cũng sản sinh ra ABA rồi di chuyển đến lá và toàn cây để làm cho khí khổng đóng lại. Khi cây nhận ánh sáng trong điều kiện không bị stress, có một dòng di chuyển của potassium vào những tế bào bảo vệ nhờ vào bơm ATP-phụ thuộc với  $K^+$  nằm trong màng plasma của tế bào bảo vệ trong khi  $H^+$  và các acid hữu cơ như malic acid được vận chuyển ra ngoài. Khi điều này xảy ra, thế năng thẩm thấu trở nên âm và tế bào giảm thế năng nước, nước đi vào tế bào và làm cho khí khổng mở (hình 3.12). Khi cây bị stress sẽ làm cho  $K^+$  đi ra khỏi tế bào bảo vệ trong khi  $H^+$  và các acid hữu cơ đi vào làm cho khí khổng đóng lại. ABA ngăn cản sự mở khí khổng trong điều kiện sáng bằng cách cản trở quá trình trên cho đến khi bị chuyển hóa hoàn toàn.

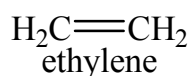
- **Bảo vệ chống lại stress do mặn và nhiệt độ:** Hàm lượng ABA gia tăng khi cây bị stress do mặn, lạnh và nóng. Những sự biến đổi này là nguyên nhân của sự thiếu nước. Việc xử lý ABA ngoại sinh có thể làm cho một số loài cây chống lại điều kiện lạnh và mặn.

- **Miên trạng:** Trong điều kiện ngày ngắn, hàm lượng ABA gia tăng trong lá và mầm chồi đã dẫn đến sự miên trạng. Tuy nhiên cũng có trường hợp trong điều kiện ngày ngắn gây ra sự miên trạng trong vài loài lại không có sự gia tăng ABA nội sinh. Việc xử lý ABA ngoại sinh lên mầm chồi và lên hạt đã kích thích miên trạng của chúng.

- **Sự rụng, sự nảy mầm của hạt và sự sinh trưởng:** Từ khi mới được phát hiện, ABA được xem là chất gây nên sự rụng lá, trái và hoa. Thật ra điều đó không hoàn toàn đúng và ABA không trực tiếp ảnh hưởng lên sự rụng. ABA có thể tác động gián tiếp lên quá trình lão hóa trước trưởng thành và làm gia tăng sự sản sinh ethylene và ethylene đánh thức một số gene liên quan đến sự rụng.

Ngày nay người ta biết rằng ABA có nhiều ảnh hưởng về mặt sinh lý, sinh hóa và phân tử trong hạt cũng như có mặt phổ biến trong lúc hạt phát triển. Tuy nhiên vai trò trực tiếp của ABA đối với các quá trình này vẫn còn chưa rõ.

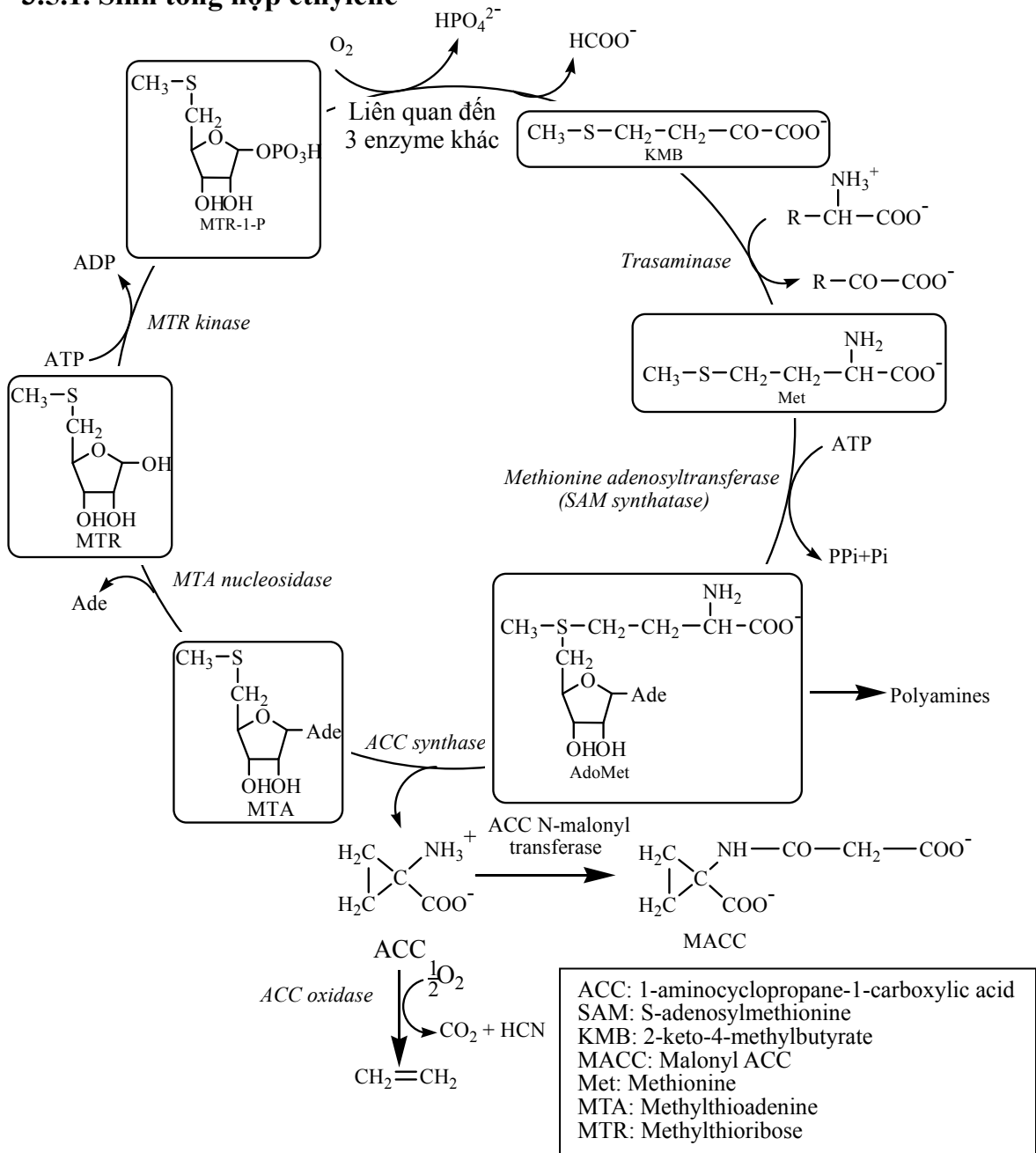
### 3.5. Ethylene



Hình 3.13. Cấu trúc của ethylene

Ethylene là một hydrocarbon không no đơn giản, nó kích thích sự chín của trái và gây ra một đáp ứng bộ ba trong những cây đậu Hà Lan úa vàng bao gồm sự ức chế vươn dài, gia tăng sự nghiêng và sinh trưởng ngang của thân đáp ứng với trọng lực. Ethylene có cấu trúc đơn giản nhất so với những chất điều hòa sinh trưởng thực vật đã biết (hình 3.13).

### 3.5.1. Sinh tổng hợp ethylene



Hình 3.14. Sơ đồ sự sinh tổng hợp ethylene

Ethylene là chất điều hòa sinh trưởng thực vật ở dạng khí, nó có liên quan nhiều tới các quá trình sinh trưởng và phát triển của thực vật từ sự nảy mầm của hạt

đến lão hóa và chết. Sự sinh tổng hợp ethylene là một chu trình được thể hiện tốt nhất so với bất kỳ chất điều hòa sinh trưởng thực vật đã biết. Ethylene được tổng hợp từ Methionine như minh họa trong hình 3.14. Methionine được biến đổi thành S-adenosylmethionine (SAM) theo con đường của enzyme SAM synthetase. Một phần của SAM được lặp lại chu trình trong chuỗi sau: Methyl thioadenosine thành Methyl thioribose, thành Methyl thioribose-1-phosphate, thành 2-keto-4- methyl butyrate và trở lại Methionine. SAM cũng đi theo hai con đường khác, con đường thứ nhất là biến đổi thành S-adenosylmethyl thio propylamin bởi enzyme SAM decarboxylate và đi vào sự sinh tổng hợp polyamine. Con đường khác là thành 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) theo con đường của enzyme ACC synthase và biến đổi theo hai hướng, nó có thể được biến đổi thành ethylene do ACC oxidase hoặc thành malonyl-ACC (một sản phẩm cuối bất hoạt) theo con đường của enzyme ACC N-malonyl-transferase. HCN được phóng thích ra trong sự biến đổi ACC thành ethylene có thể kết hợp với cystein để tạo thành cyanoalanine và H<sub>2</sub>S theo con đường của enzyme β-cyanoalanine synthase. Qua những thí nghiệm được đánh dấu cho thấy rằng methionine được sử dụng theo hai cách: C-5 nối với sulphur được lặp lại chu trình, C-3, 4 được dùng cho ethylene, C-2 trong HCN, và C-1 được dùng để thành lập CO<sub>2</sub>.

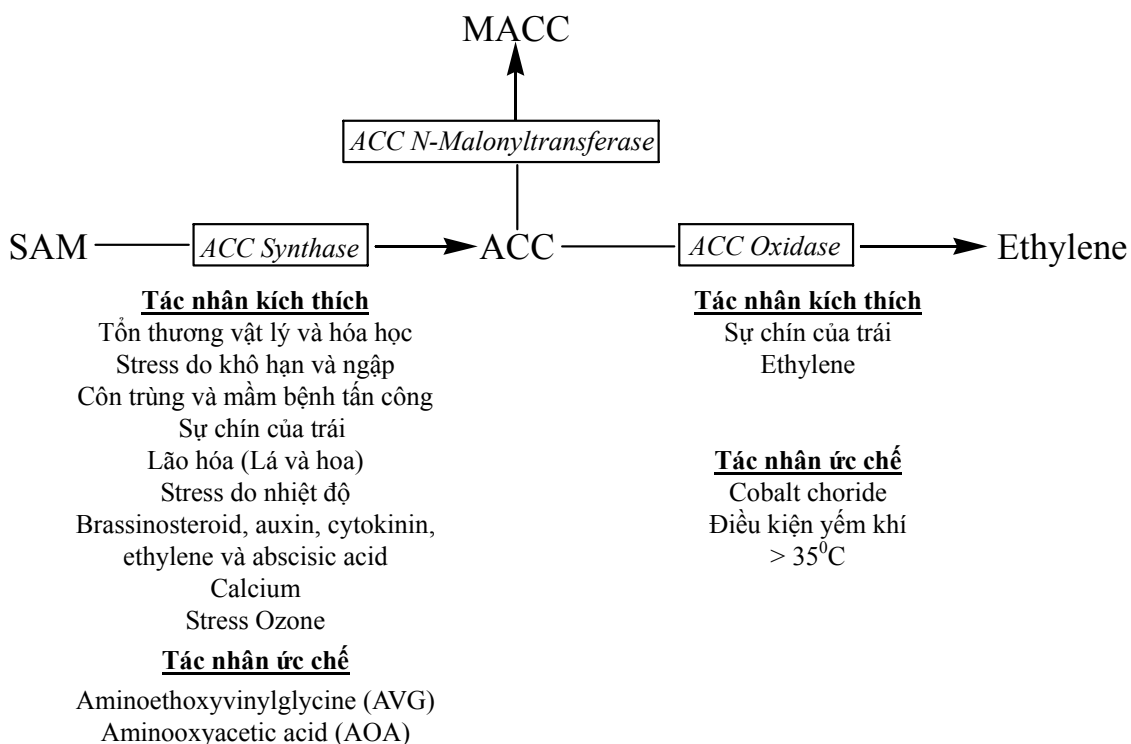
Có nhiều nghiên cứu về sinh tổng hợp ethylene tập trung ở bước giữa SAM và ethylene. Có nhiều yếu tố có thể kích thích sự sinh tổng hợp ethylene, một trong những yếu tố đó chính là ethylene. Quá trình này được gọi là quá trình tự xúc tác sản xuất ethylene. Ethylene trước tiên kích thích ACC oxidase theo sau bởi sự gia tăng đáng kể hoạt tính của ACC synthase. Ngày nay, protein của ACC synthase và ACC oxidase đã được thanh lọc và gene của nó cũng đã được tách rông trong nhiều mô, ACC N-malonyltransferase cũng đã được thanh lọc và đặc tính hóa. Từ khi những gene về ACC synthase và ACC oxidase được thanh lọc, chúng đã được sử dụng để bổ sung cho sự chín của trái. Những khả năng của nó về điều hòa những quá trình sinh lý cây trồng cũng đã được phát hiện.

### **3.5.2. Sự kích thích tổng hợp ethylene của Auxin**

Auxins điều hòa sự sản xuất ethylene đã được nghiên cứu bởi Zimmerman và Wilcoxon (1935). Họ đã thấy rằng khi áp dụng heteroauxin (IAA) lên chồi cây đã kích thích sự sinh trưởng nghiêng của những cây được xử lý và không xử lý khác được đặt cùng trong một thùng kín. Sự quan sát này cùng với khả năng của auxin và ethylene gây ra một số ảnh hưởng tương tự đã cho thấy rằng những đáp ứng này là thuộc tính của auxin có thể được gây ra do ethylene. Ý tưởng này đã không được lưu ý cho mãi đến 29 năm sau khi Morgan và Hall (1964) trình bày một quan hệ song phương giải thích những đáp ứng của auxin và ethylene. Cả hai tác giả đã độc



lập phát hiện khả năng của auxin kích thích sinh tổng hợp ethylene. Ngày nay, nói chung người ta chấp nhận rằng auxin kích thích sự sản sinh ethylene được điều hòa bởi mức độ nội sinh của auxin (hình 3.15).



Hình 3.15. Tóm tắt sơ đồ sự sinh tổng hợp ethylene liên quan đến tác nhân kích thích và ức chế

### 3.5.3. Sự sản sinh ethylene do stress

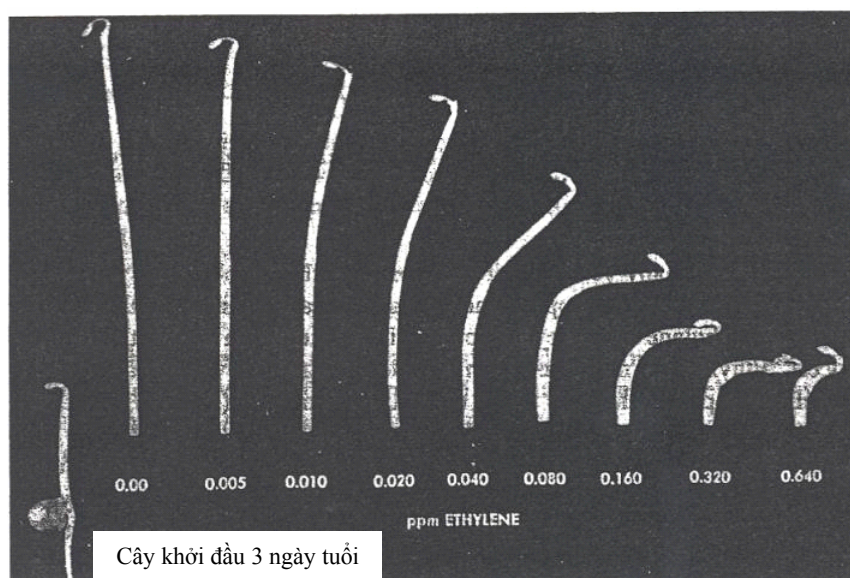
Khuynh hướng của stress để kích thích sản xuất ethylene đã được thay bằng thuật ngữ “Stress ethylene”. Một số lượng lớn của stress như hóa chất, khô hạn, ngập lụt, phóng xạ, thiệt hại do côn trùng, bệnh, thương tổn cơ khí, và những loại khác đã cho thấy kích thích sản xuất ethylene (hình 3.15). Stress ethylene có bản dưỡng căn bản và được sản xuất bởi tế bào sống. Khi tế bào chết không có sự sản sinh ethylene.

### 3.5.4. Những ảnh hưởng sinh lý của ethylene

- **Sự chín của trái:** Những người Ai Cập cổ đại đã không biết rằng sự sản sinh ethylene gia tăng là kết quả của việc gây vết thương bằng cách cắt những trái và để kích thích sự chín. Ngày nay sự chín của trái đã được biết là do ethylene điều hòa. Ethylene cũng đóng một vai trò thiết yếu trong sự chín của trái đã già. Thuật ngữ “climacteric” (già mãn dục) để ám chỉ những trái sẽ chín trong sự đáp ứng với ethylene và “nonclimacteric” (chưa già, chưa mãn dục) ám chỉ những trái sẽ không đáp ứng với ethylene. Ethylene từ nồng độ không thể phát hiện cho đến 0,1 đến 1 µL/L kích thích sự chín của trái bộc lộ một sự tăng tính mãn dục trong hô hấp (ví dụ

táo và lê), trái lại những trái không mẫn dục tổng hợp rất ít ethylene và không được kích thích đến chín (ví dụ nho và cherry). Thuật ngữ climacteric (mẫn dục) được dùng lần đầu tiên để chỉ sự gia tăng trong hô hấp của trái, tuy nhiên ngày nay nó bao hàm sự gia tăng trong sản sinh ethylene. Sự tổng hợp ethylene đã giảm đáng kể trong những cây cà chua chuyển gene bởi sự thể hiện của những cấu trúc gene không nhạy cảm với ACC oxidase, ACC synthase, bởi sự thể hiện của cấu trúc gene nhạy cảm với ACC deaminase và trong tất cả các trường hợp trì hoãn một cách có ý nghĩa sự chín của trái. Ngày nay, với những cây chuyển gene đã cho thấy mức độ giảm ethylene có liên quan đến sự trì hoãn sự chín. ACC N-MTase là một enzyme có khả năng đáp ứng với sự chuyển đổi của ACC thành MACC bất hoạt. Sự phát hiện này cho phép những nhà nghiên cứu phân lập gene ACC N-MTase và dùng gene này để những cây chuyển gene kéo dài sự chín của trái giống như với gene deaminase. Tuy nhiên ở đây một gene của cây được dùng thay vì một gene của vi khuẩn để bất hoạt ACC.

- **Sự phát triển của cây con:** Năm 1901, Neljubow đã minh họa đáp ứng bộ ba cho thấy rằng ethylene ức chế sự vươn dài, kích thích sự nở rộng theo chiều ngang và sự phát triển theo chiều ngang. Ngày nay người ta biết rằng ethylene có thể ức chế hoặc kích thích sự vươn dài của thân, rễ hoặc những cơ quan khác. Sự ức chế sự vươn dài đã có biểu hiện nhanh và có thể đảo ngược. Ethylene cũng có biểu hiện kích thích sự vươn dài ở thân và rễ. Tuy nhiên, điều này xảy ra ở tốc độ chậm hơn là sự ức chế. Thời gian giữa hai sự kiện kéo dài đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu dẫn đến giả thuyết rằng sự kích thích sinh trưởng của ethylene có thể là một ảnh hưởng gián tiếp.



Hình 3.16. Ethylene kích thích sự đáp ứng bộ ba của cây đậu Hà Lan

Đáp ứng bộ ba kích thích bởi ethylene có thể hoạt động như một cơ chế tồn tại trong cây con. Đáp ứng bộ ba dựa trên tính sinh trưởng ngang, sự phòng lên và sự ức chế chiều cao thân (hình 3.16). Ví dụ: Khi một cây đậu Hà Lan gặp phải một thanh cản như bề mặt cứng của đất, đá, hoặc vật nào đó giới hạn sự nhô lên của nó, nó sẽ đáp ứng với sự sinh trưởng bộ ba, cho phép nó đâm thủng hoặc đi chung quanh chướng ngại, do đó cho phép nó vươn tới bề mặt đất và phát triển. Khi sự sản sinh ethylene trong vùng móc của cây con lên rất cao giúp nó duy trì hình móc của chấu chẻ (đậu Hà Lan hoặc đậu) cho phép nó vượt qua áp lực vật lý khi va chạm với đất mà không bị tổn thương. Khi cây con nhận được ánh sáng đỏ, sự sản sinh ethylene sẽ giảm. Kết quả là móc mở. Điều này hoạt động như một cơ chế an toàn, ngăn cản sự mở trước của móc và thương tổn đến cây con trước khi nhô ra.

- **Sự rụng:** Sự rụng có thể được định nghĩa như sự tách ra của một cơ quan hoặc một phần cây từ cây cha mẹ. Quá trình rụng rất quan trọng trong nông nghiệp bởi vì sự rụng hoặc không rụng của hoa, trái và lá ảnh hưởng đến năng suất và hiệu quả của quá trình thu hoạch. Ethylene được xem là có vai trò tự nhiên trong việc điều hòa tốc độ rụng. Ba yếu tố làm bằng chứng về vai trò của ethylene trong sự rụng đã được đề nghị bởi Reid (1985). Trước nhất sự sản sinh ethylene gia tăng trước khi rụng trong nhiều cơ quan của cây đang rụng. Thứ hai, xử lý ethylene trên nhiều loài hoặc những hợp chất phóng thích ethylene kích thích sự rụng. Thứ ba, những chất ức chế sự sinh tổng hợp ethylene hoặc ức chế hoạt động của ethylene sẽ ức chế sự rụng.

- **Sự trở hoa:** Nhiều năm qua người ta đã quan sát rằng khói từ gỗ thúc đẩy trở hoa trong cây khóm và xoài. Ngày nay người ta biết rằng ethylene là thành phần cơ bản trong khói gia tăng quá trình trở hoa. Ethylene trong phần lớn trường hợp ức chế trở hoa; tuy nhiên nó có ảnh hưởng kích thích trong cây khóm (dứa), xoài và vải. Cây có thể được xử lý với ethylene trực tiếp hoặc thông qua việc sử dụng những chất phóng thích ethylene như ethrel (2-chloroethyl phosphoric acid) là một dạng tổng hợp của ethylene khi ở thể lỏng với pH thích hợp thì không sản xuất ethylene. Tuy nhiên, khi pH được nâng lên nó phân hủy để tạo thành ethylene hoặc gián tiếp với auxin nó kích thích sản sinh ethylene một cách tự nhiên.

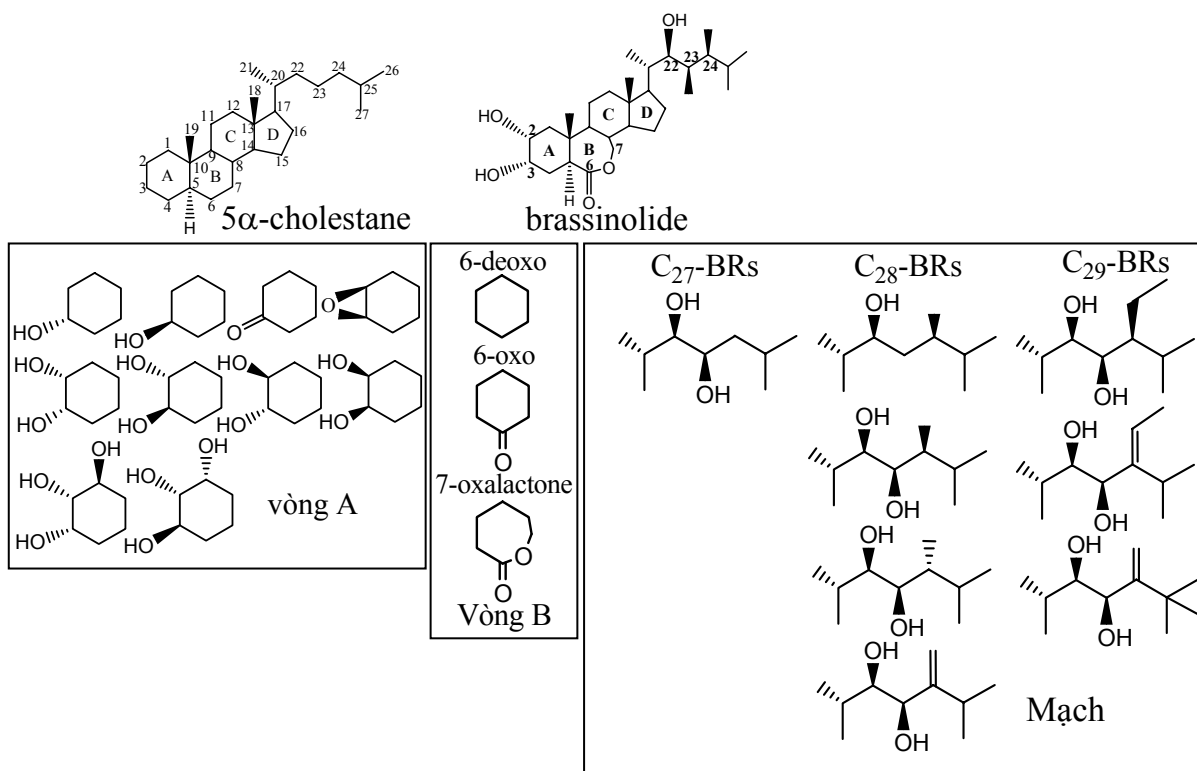
- **Sự lão hóa:** Lão hóa có thể được định nghĩa như một thất bại chung của nhiều phản ứng tổng hợp trước khi tế bào chết và là một pha của sự sinh trưởng cây trồng kéo dài từ giai đoạn chín hoàn toàn đến chết và được đặc tính hóa bởi sự phân rã diệp lục tố, protein, hoặc RNA cũng như những yếu tố khác. Cả lá và hoa được xử lý với ethylene ngoại sinh kích thích quá trình lão hóa và gia tăng sự sản sinh ethylene. Cần chú ý rằng có những trường hợp ngoại lệ, ethylene không đơn lẻ liên

quan đến quá trình lão hóa. Bleecker và ctv (1988) cho thấy rằng trên lá của cây *Arapidopsis* biến dị không nhạy cảm với ethylene (*etr*) già đi với tốc độ chậm hơn dạng hoang dại; tuy nhiên chúng vẫn già đi, điều này cho thấy rằng ethylene không phải là yếu tố duy nhất có liên quan đến lão hóa. Thêm vào đó có nhiều cây tỏ ra không gia tăng sản sinh ethylene trước khi lão hóa. Những trường hợp này có thể là do sự gia tăng tính nhạy cảm của cây với ethylene hơn là sự gia tăng hàm lượng ethylene.

- **Những ảnh hưởng sinh lý khác:** Ethylene cũng có liên quan đến quang hợp, hô hấp, vận chuyển, miên trạng, sự nảy mầm của hạt, nhú chồi, ưu thế chồi ngọn, sinh trưởng tế bào, nuôi cấy mô, thành lập phôi, sự nghiêng, sự khởi sinh rễ, những cơ quan dự trữ, sự thành lập gỗ, sự ức chế mầm hoa, sự phát triển giới tính, địa hướng động, sự rỉ nhựa và sự thành lập nhựa mủ của cây.

### 3.6. Brassinosteroid (BR)

#### 3.6.1. Phân loại và cấu trúc hóa học



Hình 3.17. Những sự khác biệt về cấu trúc trong vòng A, vòng B và mạch nhánh của các brassinosteroid tự nhiên

Các hợp chất BR tự nhiên có cấu trúc cơ bản từ mạch khung 5 $\alpha$ -cholestane (hình 3.17). Sự thay đổi cấu trúc cơ bản của mạch khung sẽ hình thành những hợp chất với những chức năng khác nhau.

- **Vòng A:** Sự biến đổi của vòng A bị chi phối chủ yếu bởi số lượng và vị trí của nhóm hydroxyl (hình 3.17). Nhìn chung những BR có nhóm diol hydroxyl kế cận (ở vị trí C-2 $\alpha$  và C-3 $\alpha$ ) thường có hoạt tính sinh học mạnh như BL và CS. Một vài BR chỉ có một nhóm hydroxyl ở vòng A (ở vị trí C-3 $\alpha$  hoặc C-3 $\beta$ ) như typhasterol (TY) và teasterone (TE). Ngoài ra còn có hai BR có nhóm 3-keto như 3-dehydroteasterone (3DT) và 3-dehydro-6-deoxoteasterone (6-deoxo3DT), một BR có một nhóm 2 $\beta$ , 3 $\beta$ -epoxy như secasterone (SE), và hai BR có 3 nhóm hydroxyl ở vòng A (hình 3.18).

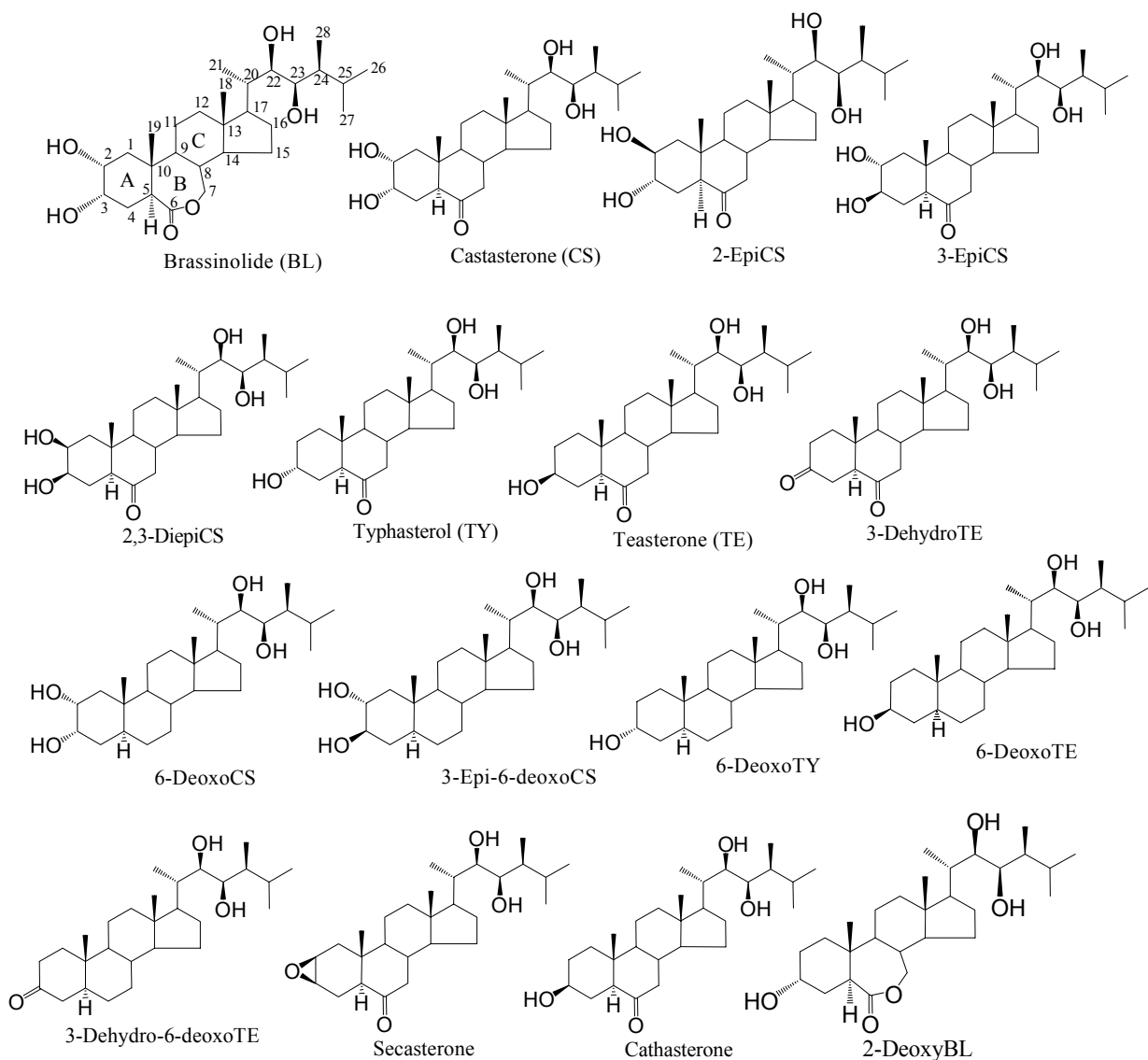
- **Vòng B:** Với ba dạng được biết là 7-oxalactone (7-oxa-6-one), 6-oxo (6-ketone) và 6-deoxo (hình 3.17). Nhìn chung, loại 7-oxalactone có hoạt tính sinh học mạnh hơn loại 6-oxo, và loại 6-deoxo có hoạt tính sinh học yếu nhất.

- **Mạch nhánh:** Có tám nhóm mạch nhánh đối với những BR có nguồn gốc tự nhiên như mô tả trong hình 3.17 với tổng số carbon là 27, 28 và 29.

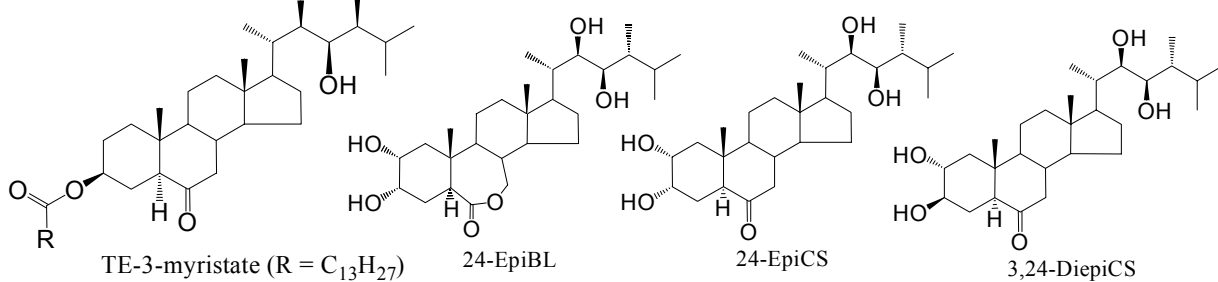
### 3.6.2. Sinh tổng hợp brassinosteroid

Brassinosteroid trong tự nhiên thường là những steroid có 27, 28 và 29 carbon. Khung carbon của mạch nhánh này cũng phổ biến trong sterol thực vật. BL là một steroid có 28 carbon với cấu trúc sườn carbon tương tự như campesterol, một hợp chất có nguồn gốc được tổng hợp từ mevalonic acid. Các BR có 28 carbon như castasterone, typhasterol và teasterone được xem như tiền chất sinh tổng hợp BL từ campesterol (hình 3.19). Bắt đầu từ campesterol đến teasterone rồi chuyển đổi thành typhasterol. Typhasterol sẽ được hydroxyl hóa ở vị trí carbon thứ hai để tạo thành castasterone. Sự oxy hóa Baeyer-Villiger ở vị trí C6 của castasterone sẽ tạo thành brassinolide. Từ năm 1991 đến năm 1997, Sakurai và cộng tác viên đã dùng hệ thống nuôi cấy mô túi phấn hoặc hạt chưa trưởng thành của cây dứa cạn (*Catharanthus roseus*) để xác định chu trình sinh tổng hợp brassinolide từ campesterol (Sakurai và ctv, 1991; Sakurai và Fujioka, 1997; Fujioka và Sakurai, 1997). Hai con đường song song diễn tả sự biến đổi từ campesterol đến brassinolide đã được đề nghị đó là *con đường oxy hóa C6 sớm* và *con đường oxy hóa C6 muộn*. Trong con đường oxy hóa C6 sớm có những chất biến dưỡng bị oxy hóa tạo thành từ campesterol là 6 $\alpha$ -hydroxycampestanol và 6-oxocampestanol. Trong con đường oxy hóa C6 muộn, một hợp chất không có chức năng ketone ở C6 là 6-deoxocastasterone đã được tạo thành và bị oxy hóa để biến đổi thành castasterone.

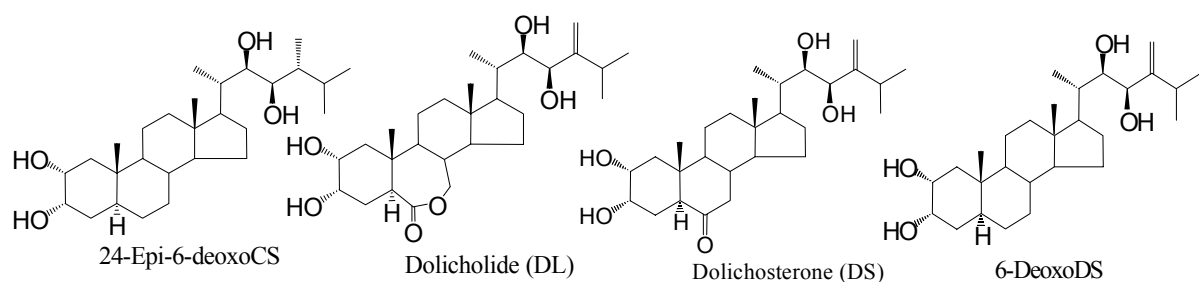
### C<sub>28</sub> BRs (24 $\alpha$ -methyl)



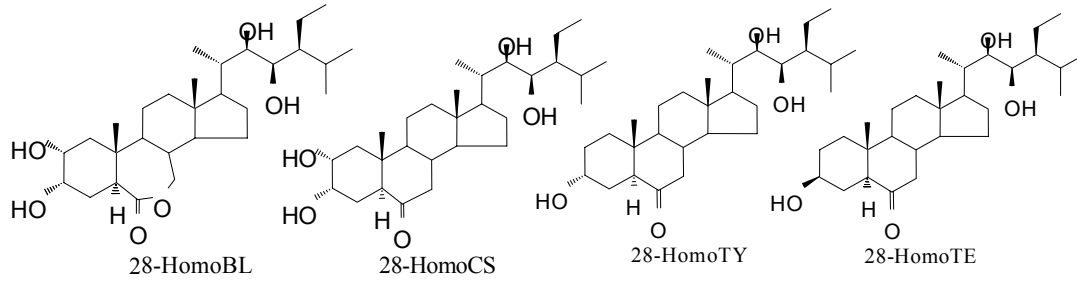
### C<sub>28</sub> BRs (24 $\beta$ -methyl)



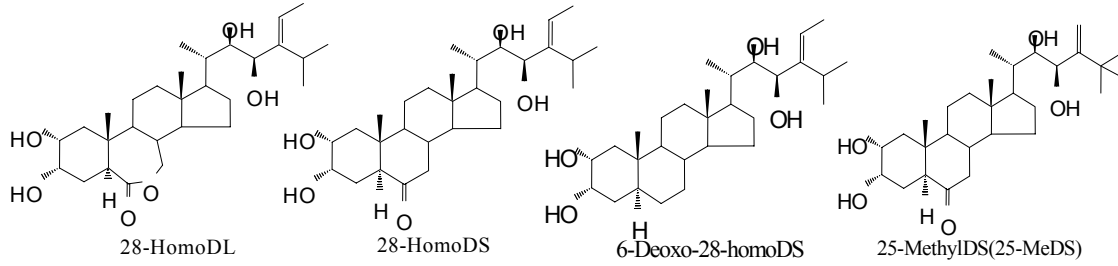
### C<sub>28</sub> BRs (24-methylene)



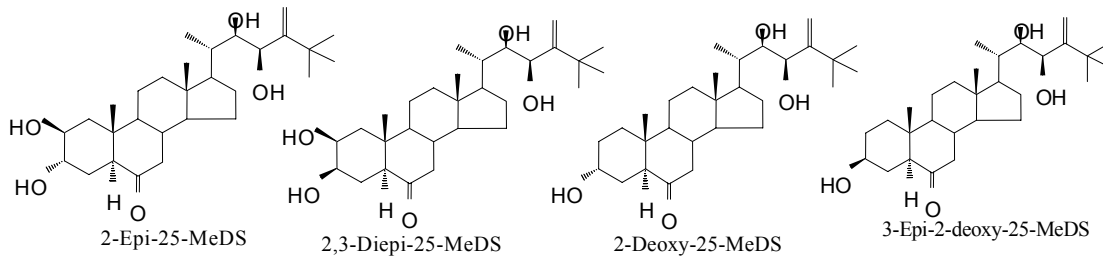
**C<sub>29</sub> BRs (24 $\alpha$ -ethyl)**



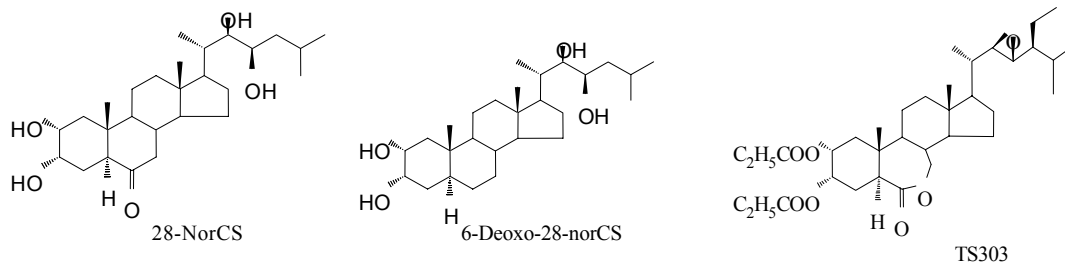
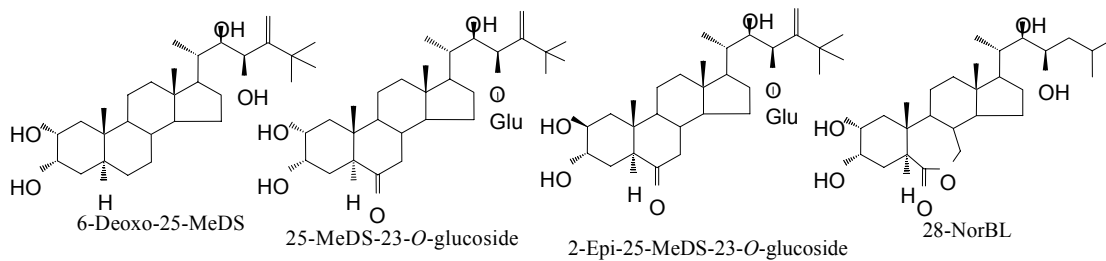
**C<sub>29</sub> BRs (24-ethylidene)**



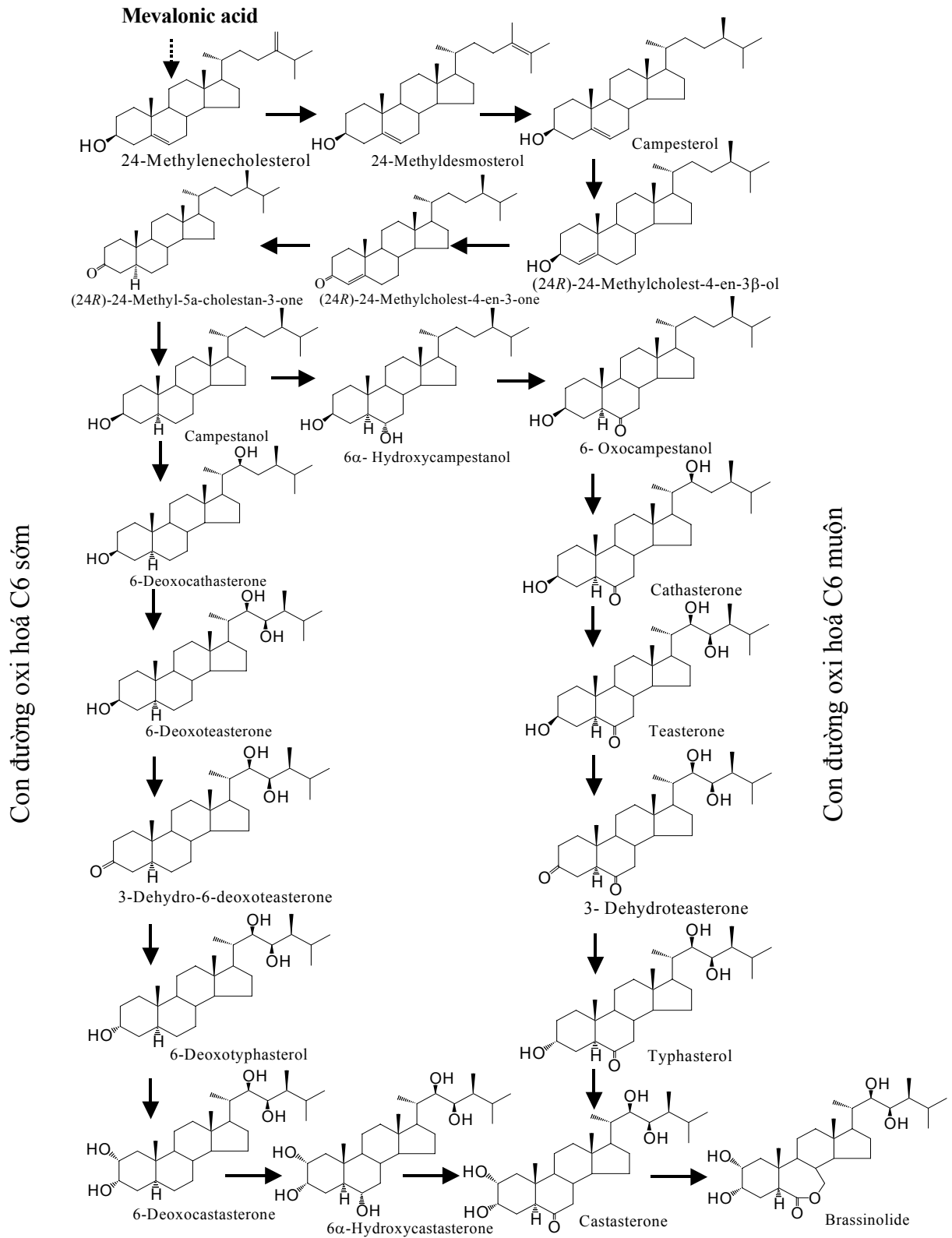
**C<sub>29</sub> BRs (24-methylene và extra 25-methyl)**



**C<sub>27</sub> BRs (no 24-substituent)**



Hình 3.18. Công thức cấu tạo của các brassinosteroid



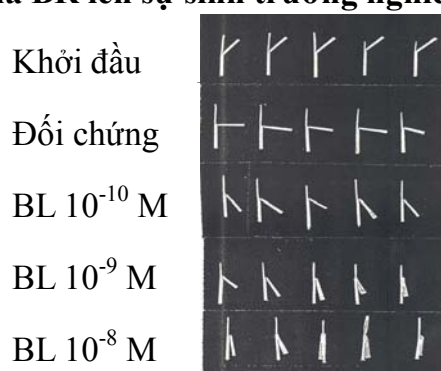
*Hình 3.19. Sơ đồ sự sinh tổng hợp brassinolide*



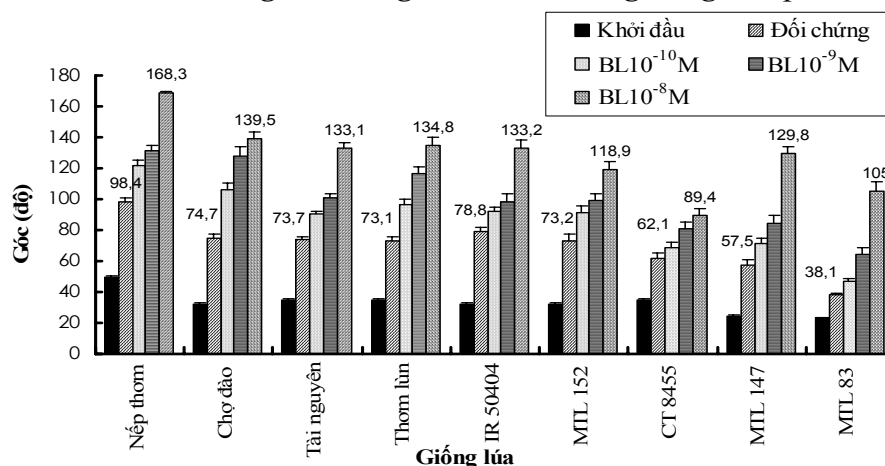
### 3.6.3. Những ảnh hưởng sinh lý của brassinosteroids

BR có ảnh hưởng trên nhiều đặc tính sinh lý của thực vật với nồng độ rất thấp như ảnh hưởng lên sự sinh trưởng nghiêng, kích thích sự vươn dài. BR rất cần thiết cho sự phát triển bình thường của thực vật, nếu cây thiếu BR sẽ dẫn đến những biến dị bất thường. Trong nông nghiệp, BR được thử nghiệm gia tăng sự chín và gia tăng năng suất tươi của rau màu, tăng tính đậu trái cũng như gia tăng năng suất hạt của ngũ cốc và cây lấy củ (Abe, 1989). BR không chỉ gia tăng năng suất mà còn giúp cây chống chịu lại stress do môi trường như kháng bệnh, ức chế sự lột xác của côn trùng, giảm độc tố do thuốc cỏ, chống chịu mặn, chịu lạnh. BR còn có ảnh hưởng lên sự gia tăng tổng hợp protein, DNA và RNA.

#### 3.6.3.1. Ảnh hưởng của BR lên sự sinh trưởng nghiêng



Hình 3.20. Ảnh hưởng của nồng độ BL lên sự nghiêng của phiến lá lúa

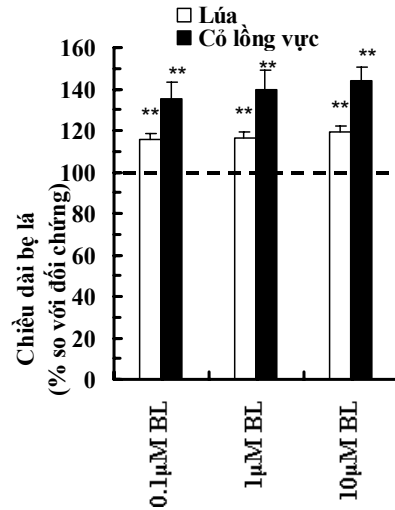


Hình 3.21. Sự nhạy cảm của các giống lúa với BL lên sự nghiêng của phiến lá

Sự sinh trưởng nghiêng của phiến lá lúa đã được dùng như phương pháp phổ biến nhất cho sinh trắc nghiệm BR với tên gọi thường dùng là *rice-lamina joint test* (LJT) hay *rice-lamina inclination test* (hình 3.20). Tất cả các BR đều có ảnh hưởng lên sự sinh trưởng nghiêng của phiến lá lúa và phiến lá lúa cũng tỏ ra rất nhạy cảm với BR. BL và homobrassinolide (homoBL) có tác động lên sự sinh trắc nghiệm này mạnh hơn IAA 10000 lần (Abe và Marumo, 1991). Các giống lúa được

trồng ở Việt Nam như Nếp Thơm, Nàng Thơm Chợ Đào, Tài Nguyên, Thơm Lùn, IR50404 và MTL 147 cũng tỏ ra rất nhạy cảm với BL (hình 3.21).

### 3.6.3.2. Ảnh hưởng của BR lên sự vươn dài

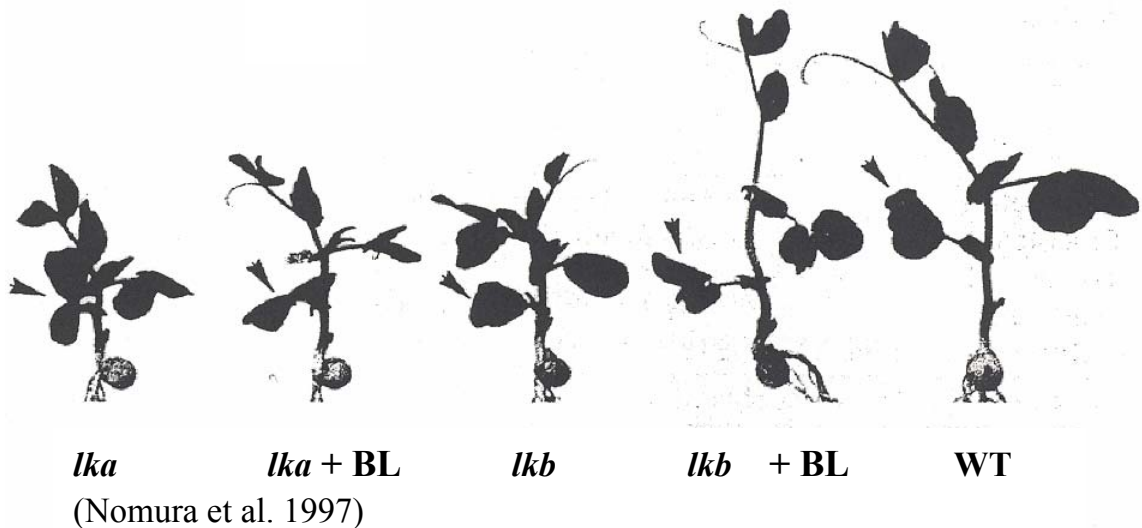


Hình 3.22. Ảnh hưởng của BL lên sự vươn dài của bẹ lá lúa và cỏ lồng vực (\*\*) Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 1% trong phép thử T

BR kích thích sự vươn dài trên nhiều loài thực vật với nồng độ rất thấp. Sự vươn dài của lông thứ hai trên đầu cô ve được kích thích rất mạnh bởi epiBL. Kết quả thí nghiệm này cũng được phát triển thành phép sinh trắc nghiệm với lông thứ hai trên đầu cô ve (Kohout và ctv, 1991). Việc xử lý epiBL đã kích thích sự vươn dài của trục thượng diệp dưa leo đồng thời kích thích sự tích lũy đường trong trục thượng diệp (Nakajima và Toyama, 1995). Xử lý BL với nồng độ từ 0,1-10 μM kích thích mạnh mẽ sự vươn dài của diệp tiêu, trụ trung diệp trong tối. BL 1 - 10 μM kích thích sự vươn dài của bẹ lá lúa (hình 3.22), gia tăng số lá, nhưng lại ức chế chiều cao cây lúa. Ảnh hưởng này cũng được quan sát trên cỏ lồng vực với một sự nhạy cảm mạnh hơn ở lúa. Nhìn chung BR không có ảnh hưởng rõ lên sự vươn dài của rễ, nồng độ BR hơi cao dễ gây ức chế sự vươn dài của rễ (Chon, N.M và ctv, 1998, 2000, 2001).

### 3.6.3.3. BR cần thiết cho sự phát triển bình thường của thực vật

Sự thiếu hụt BR dẫn đến biến dị cây lùn đã được phát hiện ở cây *Arabidopsis* biến dị *dwf1* (Choe và ctv, 1999), *det2* (Li và ctv, 1996; Li và Chory, 1997), *dwf4* (Choe và ctv, 1998), biến dị *lkb* (hình 3.23) trên đậu Hà Lan (Nomura và ctv, 1997), và biến dị *dpy* trên cà chua đã được phát hiện (Koka và ctv, 2000). Việc xử lý BL đã giúp những cây biến dị lùn này phát triển bình thường trở lại. Điều này chứng tỏ BR có một vai trò sinh lý rất quan trọng trong việc phát triển bình thường của cây.



Hình 3.23. Biến dị thiếu brassinosteroid *lkb* được phục hồi bằng BL ngoại sinh

### 3.6.3.4. Sự chống chịu với điều kiện khắc nghiệt của môi trường, tính kháng sâu bệnh và tính chống chịu với thuốc cỏ

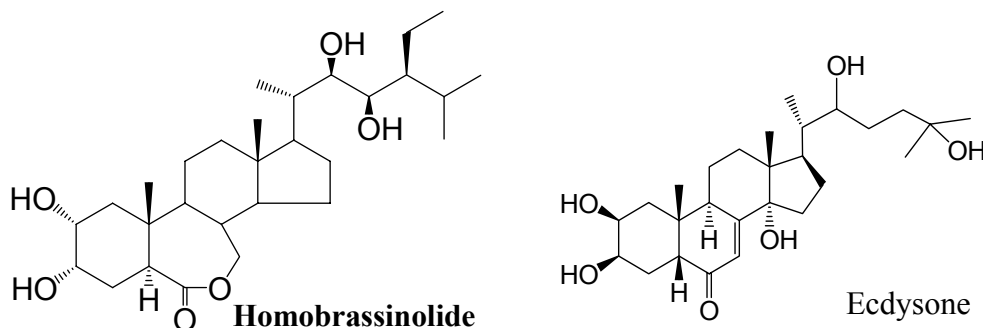
#### - Đáp ứng với điều kiện lạnh và tính chịu nhiệt

Nhúng hạt lúa và mạ lúa non khi có hai lá vào dung dịch BL có nồng độ từ  $10^{-3}$  đến  $10^{-4}$  ppm giúp mạ chịu lạnh tốt hơn. Phun hoặc nhúng cây dưa leo con và cây cà phôi với BL ở giai đoạn trở hoa cũng giúp chúng gia tăng tính chịu lạnh. BL có thể làm gia tăng hàm lượng diệp lục tố trong lá bắp khi được xử lý ở nhiệt độ  $18^{\circ}\text{C}$ . Sự phục hồi của cây bắp sau khi xử lý lạnh cũng được quan sát (He và ctv, 1991). Cây cải dầu và cà chua được xử lý với epiBL cũng chống chịu được với nhiệt độ cao rất tốt. Liên quan đến cơ chế chống chịu nhiệt này có sự hình thành *hsp* protein (heat shock protein) khi cây được xử lý với epiBL (Dhaubhadel và ctv, 1999). BL ( $10^{-5}$  –  $10^{-6}$  ppm) cũng giúp tăng sự phục hồi của cây lúa trồng trong dung dịch muối 500-2000 ppm (Abe, 1989). Cây lê hay cây benjamin được xử lý với hợp chất có chứa BR và propyl dihydrojasmonate cũng gia tăng được tính chống chịu hạn (Kamuro và Takatsuto, 1999).

#### - Tính Kháng sâu bệnh và tính chống chịu với thuốc cỏ

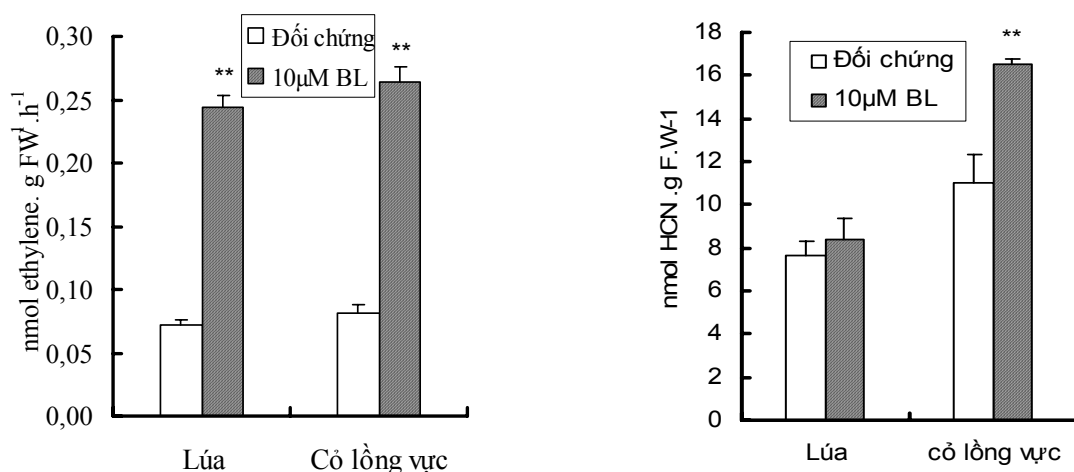
BL cũng giúp cây chống chịu lại với bệnh đốm vằn trên lúa, héo muện trên cà chua, thối nhũn bắp cải, và mốc xám dưa leo khi phun với nồng độ từ  $10^{-3}$  đến  $10^{-4}$  ppm. BL cũng giúp tăng cường hiệu quả của Validamycin đối với bệnh đốm vằn trên lúa (Abe, 1989). BR có cấu trúc rất giống ecdysteroid, nhóm hormone lột xác của nhiều loài côn trùng và động vật ngành chân khớp. Chính cấu trúc tương tự này đã giúp cho BR ngăn cản sự lột xác của một số côn trùng, và BR được xem như là một antiecdysteroid. HomoBL có cấu trúc gần giống với ecdysone (hình 3.24), nó đã làm

kéo dài sự lột xác của con gián giai đoạn nhộng trần kỳ cuối thêm 11 ngày (Khripach và ctv, 1999). BR còn làm giảm tổn thương do thuốc cỏ ở lúa do simetrin, butachlor và pretilachlor hay ở lúa mì do simazine. Tuy nhiên, BR không làm giảm tổn thương cho cây trồng đối với thuốc cỏ gốc auxin như 2,4 D và MCP mà còn gia tăng hiệu lực của các thuốc cỏ gốc auxin này (Abe, 1989).



Hình 3.24. Cấu trúc của brassinolide và ecdysone

### 3.6.3.5. Kích thích sự sinh tổng hợp ethylene



Hình 3.25. Ảnh hưởng của BL lên sự hình thành ethylene ở lúa và cỏ lồng vực

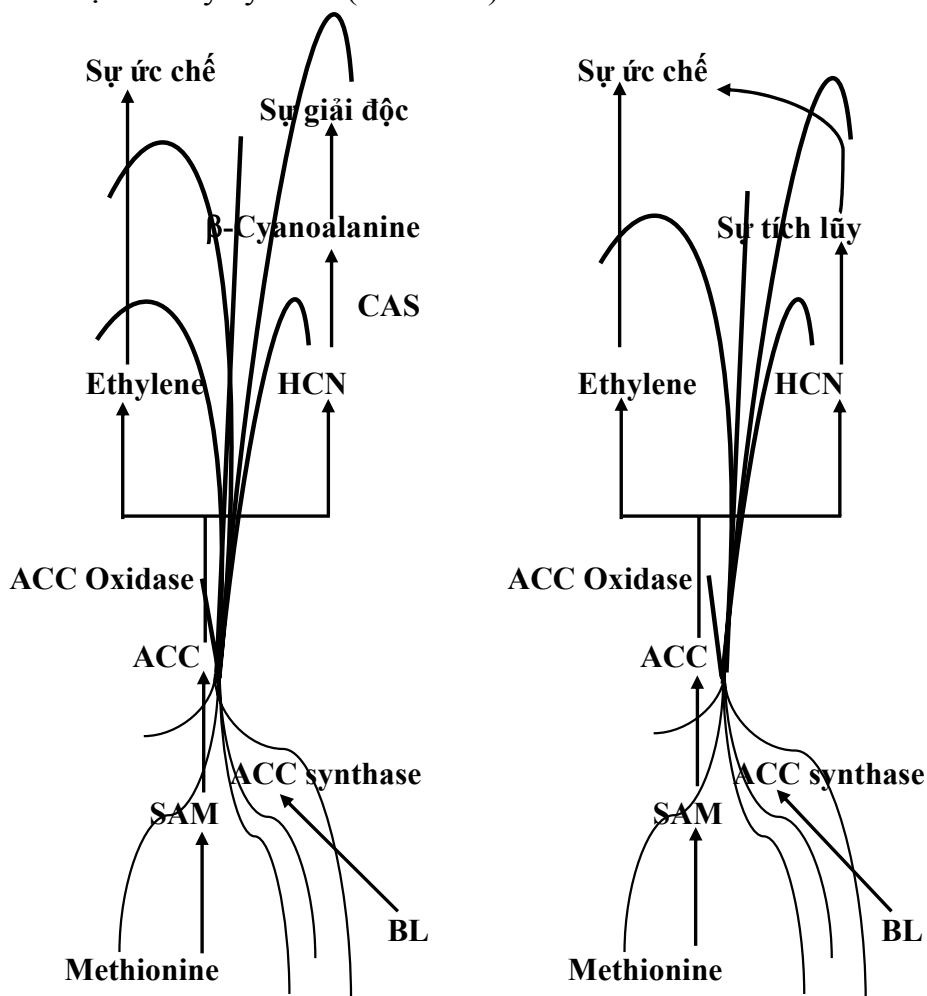
Hình 3.26. Ảnh hưởng của BL lên sự hình thành tích lũy HCN ở lúa và cỏ lồng vực

(\*\*) Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 1% trong phép thử T

(\*\*) Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 1% trong phép thử T

BL làm gia tăng sự sinh tổng hợp ethylene ở trực hạ diệp đậu xanh bằng cách kích thích sự hoạt động của enzyme ACC synthase (Arteca và ctv, 1988). BL kích thích sự sinh ethylene từ chồi lúa trong điều kiện nhà lưới cũng đã được báo cáo (Fujii, 1991). Sự kích thích sinh tổng hợp ethylene của BR đã được biết là do gene điều khiển. EpiBL làm gia tăng sự sản sinh ethylene ở trực hạ diệp đậu xanh đồng thời với sự thể hiện của ACC synthase cDNA là VR-ACS7. Trong khi IAA ảnh hưởng lên sự thể hiện của 3 ACC synthase cDNA là pVR-ACS1, pVR-ACS6 và pVR-ACS7 (Yi

và ctv, 1999). Khi xử lý BR với nồng độ cao, sự sinh tổng hợp ethylene gia tăng rất rõ ở lúa và cỏ lồng vực (Chon và ctv, 2001) (hình 3.25 và 3.26). Sau khi xử lý BL với nồng độ từ 0,1 đến 10 $\mu$ , hàm lượng ethylene sinh ra từ lúa tăng lên rất rõ. Ở cỏ lồng vực, không chỉ hàm lượng ethylene tăng lên rõ rệt mà còn có sự tích lũy cyanide (HCN). Sự tích lũy cyanide ở cỏ cao hơn ở lúa là do hoạt động của enzyme  $\beta$ -cyanoalanin synthase, enzyme phân hủy cyanide, yếu hơn ở lúa. Ảnh hưởng ức chế của BL nồng độ cao lên sự sinh trưởng lúa được giả định là do sự sản sinh ethylene. Trong khi đó ảnh hưởng này trên cỏ lồng vực được xem là ảnh hưởng của sự sản xuất ethylene và sự tích lũy cyanide (hình 3.27).



Hình 3.27. Giả thuyết về cơ chế tác động của BL ở lúa và cỏ lồng vực

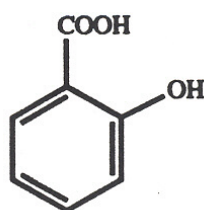
### 3.6.3.6. Khả năng ứng dụng của brassinosteroid

Ngày nay, có rất nhiều nghiên cứu tìm hiểu về sự ly trích, sinh tổng hợp, cơ chế tác dụng, sự biến dưỡng, tổng hợp nhân tạo, vai trò sinh lý và những ảnh hưởng của BR lên sự thể hiện gene và biến đổi protein. Các nghiên cứu ứng dụng brassinosteroids vào thực tiễn sản xuất cũng được rất nhiều nhà khoa học và nhà sản xuất quan tâm.

Nhiều công ty nông dược đã có những thí nghiệm thực tiễn để khảo sát hiệu quả của brassinolide, 24-epibrassinolide và 28-homobrassinolide lên cây trồng. Kết quả cho thấy 24-epibrassinolide làm gia tăng tỉ lệ nảy mầm khi xử lý lên hạt. Ở Nga và Belarus nó được đăng ký chính thức để xử lý hạt cho nhiều loại cây trồng, cỏ và cây ký sinh (Kamuro và Takatsuto, 1999).

BR còn được sử dụng để làm gia tăng số lá, diện tích lá, trọng lượng tươi và trọng lượng khô của lá và rễ, tuổi lá, số lượng của chồi hay cành hữu hiệu. Người ta còn dùng nó để làm gia tăng số gié trên bông của họ hòa thảo, số trái trên hoa màu, cây ăn quả và củ để làm gia tăng năng suất. Krishnan và cộng tác viên (1999) cũng đã làm gia tăng được số lượng hạt chắc, kích thước hạt và trọng lượng hạt lúa IR50 bằng việc xử lý kết hợp giữa BR và benzylaminopurine. Các sản phẩm nông dược của BR thường là những sản phẩm có chứa BL, castasterone, epibrassinolide hay gần đây có chứa thêm TS 303.

### 3.7. Salicylate (SA)

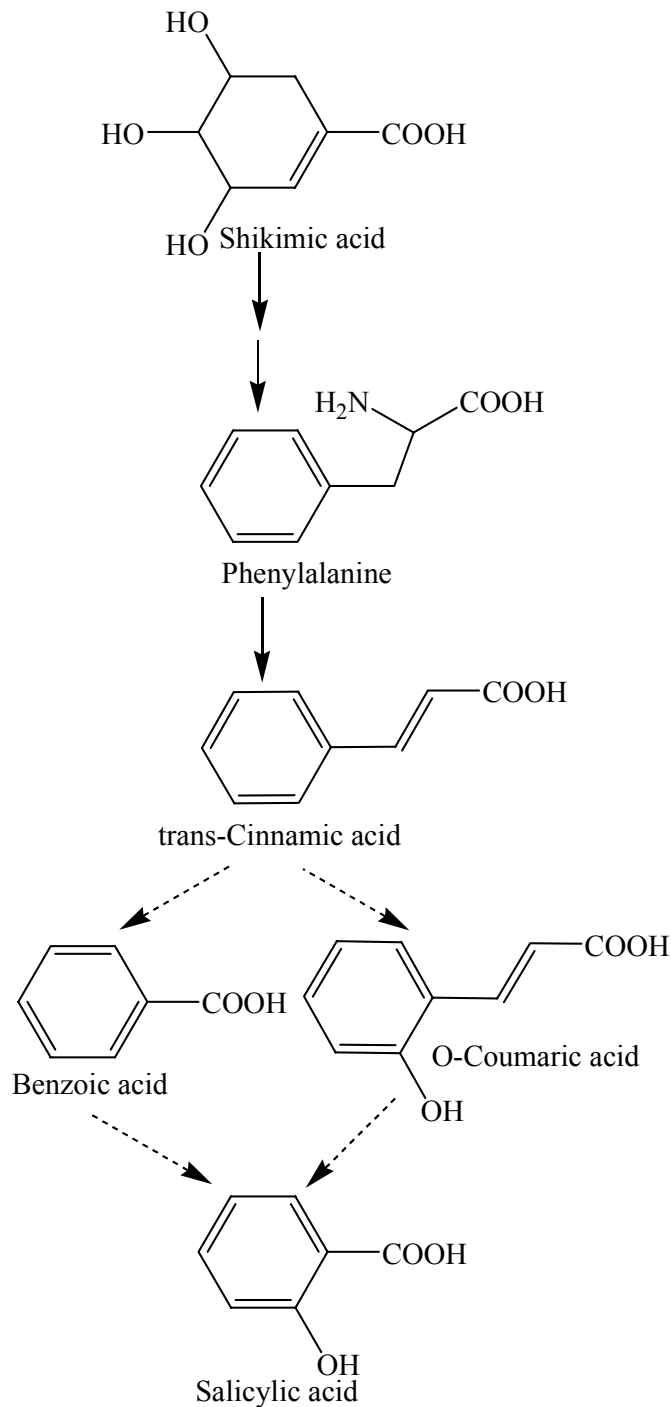


Hình 3.28. Cấu trúc của salicylic

Salicylate là một nhóm hợp chất có hoạt tính tương tự như salicylic acid (ortho-hydroxybenzoic acid) (hình 3.28) là một phenolic thực vật. Những phenolic được định nghĩa như những chất có vòng hydrocarbon thơm mang một nhóm hydroxyl hoặc dẫn xuất của nó. Salicylic acid đã được tìm thấy phân bố rộng ở thực vật bậc cao, cho đến nay nó đã được nhận diện trong hơn 34 loài thực vật. Salicylic acid đã được tìm thấy ở lá và những bộ phận sinh sản của thực vật, với mức độ cao trong những cụm hoa của cây sinh nhiệt và những cây bị nhiễm do mầm bệnh gây hoại tử.

#### 3.7.1. Sinh tổng hợp salicylic acid

Chu trình shikimic acid sinh ra cinnamic acid rồi sau đó biến đổi theo hai cách để tạo thành salicylic acid. Cách thứ nhất theo con đường của sự tạo thành benzoic acid, cách thứ hai theo con đường của sự tạo thành O-coumaric acid (hình 3.29).



Hình 3.29. Chu trình sinh tổng hợp salicylic acid ở thực vật

### 3.7.2. Ảnh hưởng sinh lý

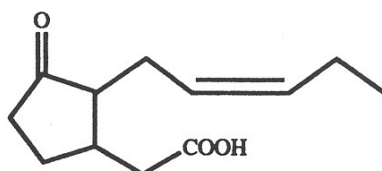
Salicylic acid đã cho thấy có ảnh hưởng trên nhiều quá trình của thực vật. Sự trổ hoa, sự phát sinh nhiệt trong những cây sinh nhiệt, và kích thích tính kháng bệnh là những quá trình mà salicylic acid có những ảnh hưởng chính. Aspirin (acetylsalicylic acid) hoạt động giống như salicylic acid vì nó được chuyển thành salicylic acid trong dung dịch của nước trong thực vật cũng như trong hệ thống động vật.

- **Ảnh hưởng lên sự trổ hoa** : Salicylic acid có thể kích thích sự trổ hoa. Có thông tin cho rằng SA được xử lý kết hợp với kinetin và IAA thúc đẩy sự tạo mầm hoa cây thuốc lá trong nuôi cấy mô. Tuy nhiên cũng có những kết quả trái ngược về vấn đề này và cho rằng có nhiều hợp chất ảnh hưởng lên sự tạo mầm hoa này không riêng gì SA.

- **Mối quan hệ giữa salicylic acid và sự phát sinh nhiệt trong cây** : Sự phát sinh nhiệt trong cây hoa loa kèn được xác định là do SA tác động. SA gây ra sự phát nhiệt để làm bay hơi những hợp chất amin và indole có mùi để hấp dẫn côn trùng đến giúp cho sự thụ phấn. Nhiệt độ xung quanh hoa có thể tăng lên 14<sup>0</sup>C.

- **Mối quan hệ giữa salicylic acid và tính kháng bệnh trong cây** : Một vài loài cây kháng bệnh giới hạn sự phát triển của vết bệnh thành một vùng nhỏ quanh nơi xâm nhiễm của mầm bệnh lúc đầu với một vết hoại tử xuất hiện. Tế bào tự chết để bảo vệ được gọi là phản ứng quá nhạy cảm. Hiện tượng này thường đi kèm với sự sản xuất ra một loại protein có trọng lượng phân tử nhỏ. Tính kháng bệnh và sự sản sinh ra protein này có thể được tạo ra do SA hoặc acetylsalicylic acid ngay cả khi không có mầm bệnh xâm nhiễm. Trong quá trình phát triển của những cây siêu nhạy cảm đáp ứng với mầm bệnh, một số lượng lớn SA đã được sinh ra từ cinnamic acid trong vùng phụ cận của vết bệnh hoại tử.

### 3.8. Jasmonate (JA)



Hình 3.30. Cấu trúc của jasmonate

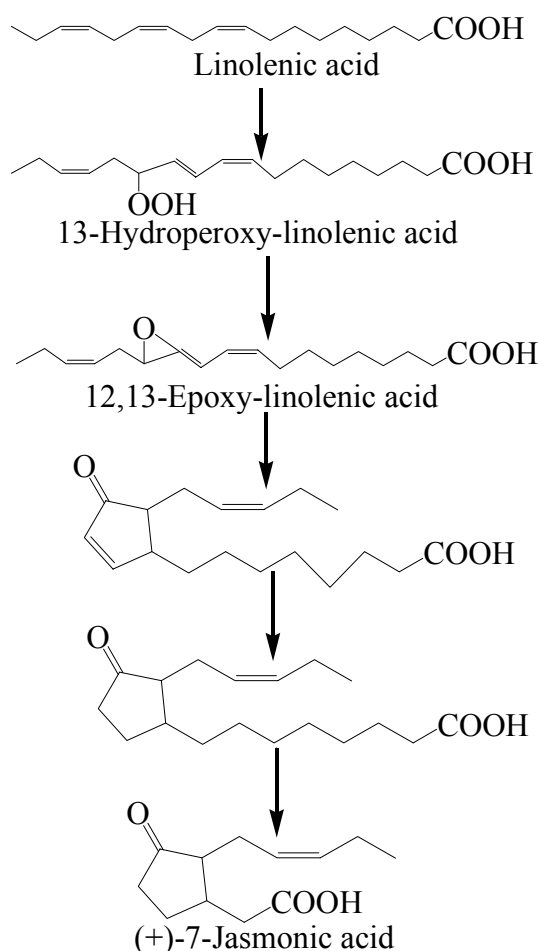
Jasmonate là một nhóm đặc biệt của những hợp chất cyclopentanone với hoạt tính tương tự như (-) jasmonic acid (hình 3.30) và methyl ester của nó. Jasmonate đã được phát hiện trong 206 loài thực vật đại diện cho 150 họ gồm dương xỉ, rêu và nấm cho thấy rằng chúng phân phối rộng trong giới thực vật.

#### 3.8.1. Sinh tổng hợp, chuyển hoá và vận chuyển jasmonate

Mặc dù có ít hiểu biết về việc sinh tổng hợp jasmonate, chứng cứ đã cho thấy trong đỉnh thân, lá non, trái chưa chín và chóp rễ chứa một hàm lượng cao JA. Jasmonate được sinh tổng hợp từ linolenic acid bởi một loạt phản ứng trong hình 3.31. Sự vận chuyển, sự định vị trong nội bào, và sự điều hòa quá trình sinh tổng hợp



jasmonic acid thì chưa được biết nhiều. Hiện tại chưa có những minh chứng trực tiếp về sự vận chuyển của JA từ nơi tổng hợp đến nơi tác động.



Hình 3.31. Sơ đồ sinh tổng hợp jasmonate từ linolenic acid

### 3.8.2. Những ảnh hưởng sinh lý của jasmonate

Jasmonate cho thấy có một ảnh hưởng rộng rãi trong cây. Nó thể hiện cả ảnh hưởng ức chế và kích thích về hình thái và sinh lý của cây. Vài tác động của nó giống như ABA và ethylene. Việc xử lý JA ngoại sinh có ảnh hưởng ức chế sự sinh trưởng theo chiều dọc của cây con, sự sinh trưởng chiều dài rễ, sự sinh trưởng năm rễ, sự sinh trưởng mô đang nuôi cấy, sự phát sinh phôi, sự nảy mầm của hạt, sự nảy mầm của hạt phấn, sự hình thành nụ hoa, sinh tổng hợp carotenoid, tạo thành diệp lục tố, tổng hợp rubisco và những hoạt động quang hợp. Bên cạnh ảnh hưởng ức chế, JA cũng có ảnh hưởng kích thích hay gây cảm ứng trên sự vươn dài của hom mía, sự phân hoá trong mô nuôi cấy, sự tạo thành rễ bất định, phá vỡ miên trạng của hạt, sự nảy mầm của hạt phấn, sự nảy mầm chồi mùa đông, sự chín của trái, sự lão hoá của vỏ quả và lá, sự rụng lá, sự tạo củ, sự cuộn tua xoắn, sự đóng khẩu, phá vỡ thoi vô sắc, phân rã diệp lục tố, hô hấp, sinh tổng hợp ethylene và protein.

Jasmonic acid có ảnh hưởng trên sự thể hiện gene trong nhiều loài. Protein sinh ra bởi jasmonic acid là protein dự trữ trong đậu nành, chất ức chế proteinase gây ra do vết thương của cà chua và khoai tây (Farmer và Ryan 1992), protein dự trữ trong hạt và protein màng thể dầu (oleosins).

Mức độ jasmonic acid nội sinh cũng gia tăng đáp ứng với những kích thích từ bên ngoài như bị thương, lực cơ giới, tác nhân gây ra do mầm bệnh tấn công và stress do thâm thấu.

### **3.9. Các chất điều hòa sinh trưởng khác**

Ngoài tám nhóm chính đã được đề cập ở trên, các chất thuộc nhóm polyamine, các chất ức chế sinh trưởng hay làm chậm sinh trưởng của thực vật cũng là những chất chi phối quan trọng đến sự sinh trưởng và phát triển. Những chất này sẽ được đề cập ở những chương sau với những tính chất thực tiễn của nó lên sự sinh trưởng và phát triển của thực vật cũng như những ứng dụng của chúng trong nông nghiệp.

*Chương 4*  
**VAI TRÒ CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG  
TRONG SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA THỰC VẬT**

**4.1. Điều khiển sự nảy mầm của hạt và sự phát triển của cây con**

Để hiểu rõ những yếu tố điều hòa sự nảy mầm và quá trình sinh trưởng sau đó của cây con, trước nhất chúng ta cần hiểu rõ những quá trình liên quan trong suốt giai đoạn này. Nhân giống bằng hạt là phương pháp chính của quá trình sinh sản trong tự nhiên và là phương pháp được áp dụng trên diện rộng trong nông nghiệp do tính hiệu quả cao của nó. Hạt là một noãn đã chín, khi rụng khỏi cây mẹ nó chứa phôi và chất dự trữ được bao bọc bởi vỏ hạt. Sự nảy mầm của hạt có thể được định nghĩa như một loạt sự kiện xảy ra khi những hạt khô không hoạt động hút nước, kết quả là gia tăng hoạt động trao đổi chất và khởi tạo một cây con từ phôi. Để khởi đầu sự nảy mầm, những tiêu chuẩn sau cần phải có:

- Trước nhất hạt phải sống được (phôi còn sống và có khả năng nảy mầm).
- Những điều kiện môi trường thích hợp như nước đầy đủ, nhiệt độ thích hợp, oxygen, và trong một vài trường hợp ánh sáng phải được cung cấp.
- Miền trạng chính phải được khắc phục.

Trong nhiều trường hợp, dấu hiệu còn sống đầu tiên của hạt nảy mầm là sự nhú ra của rễ mầm từ vỏ hạt. Có những trường hợp đặc biệt, chồi là tính hiệu của sự sống đầu tiên, ví dụ như hạt *Salsola*. Theo sau sự nhú ra của rễ mầm cây con mọc như một sinh vật dưới mặt đất vẫn chưa dựa vào quang hợp cho sự sinh trưởng. Khi cây nhú lên từ đất, quang hợp và hoạt động sinh dưỡng bắt đầu.

Bốn giai đoạn liên quan đến sự nảy mầm của hạt và sự phát triển của cây con là:

- Sự hút nước.
- Sự tạo thành hoặc hoạt hóa các enzyme.
- Sự biến dưỡng của những chất dự trữ, sự vận chuyển tiếp theo và sự tổng hợp của những chất mới.
- Sự nhú ra của rễ mầm và sự sinh trưởng của cây con.

Có những chất ức chế và kích thích sinh trưởng nội sinh ảnh hưởng trực tiếp đến sự nảy mầm của hạt. Mỗi quan hệ của những chất sinh trưởng thực vật đơn lẻ và kết hợp là dựa trên những quan hệ của nồng độ nội sinh của chúng với những giai đoạn phát triển đặc biệt, những ảnh hưởng của việc áp dụng ngoại sinh và môi

quan hệ của những chất sinh trưởng thực vật với hoạt động biến dưỡng. Những chất sinh trưởng thực vật cũng có liên quan đến quá trình trước khi nảy mầm như sự huy động chất dự trữ, phát triển rễ, phát triển trục hạ diệp, kích thước tử diệp và trọng lượng của nó và sinh tổng hợp diệp lục tố trong tử diệp.

#### 4.1.1. Ảnh hưởng của gibberellin và abscisic acid

- Gibberellin kích thích sự nảy mầm.
- ABA ức chế nảy mầm và tác động như một chất đối kháng tự nhiên với gibberellin.

Dưới những điều kiện thích hợp, những biến dị thiếu ABA đã nảy mầm sớm trước khi chín. Những biến dị thiếu ABA cho những hạt không miên trạng và nảy mầm nhanh chóng; trái lại những hạt thiếu GA sẽ không nảy mầm nếu không áp dụng GA ngoại sinh và tỉ lệ nảy mầm tăng theo nồng độ GA xử lý.

Sự nảy mầm của hạt luôn nhạy cảm với cả chất sinh trưởng thực vật nội sinh và môi trường. Ảnh hưởng ức chế của ABA ngoại sinh lên hạt thì tương tự và cộng tính với sự giảm thế năng nước. Hàm lượng ABA cao trong hạt kích thích tính nhạy cảm của hạt đến sự giảm thế năng nước, do đó làm giảm khả năng nảy mầm.

#### 4.1.2. Ảnh hưởng của cytokinin

Cytokinin có vai trò điều hòa quá trình nảy mầm. Nếu cung cấp cytokinin vào tử diệp hạt *Cicer arietinum* lúc 12 giờ sau khi ngâm hạt thì thấy có sự huy động chất dự trữ cần thiết cho quá trình nảy mầm. Áp dụng auxin ngoại sinh cũng cho thấy có liên quan đến sự nảy mầm của hạt thông Scotland mặc dù những hạt này yêu cầu ánh sáng đỏ để nảy mầm tối đa.

#### 4.1.3. Ảnh hưởng của ethylene

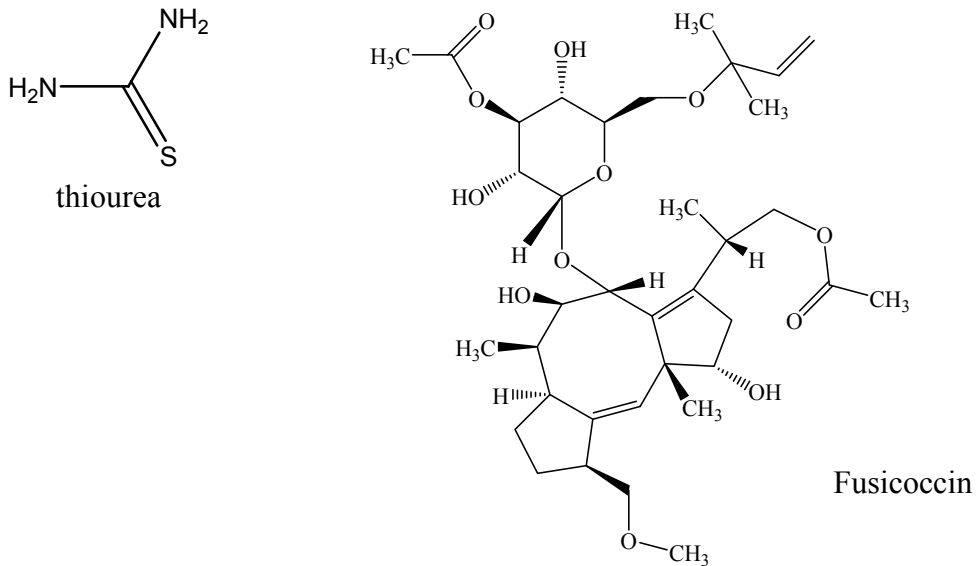
- Ethylene kích thích nảy mầm của hạt. Xử lý ethylene hoặc những chất phóng thích ethylene như ethephon có thể kích thích nảy mầm trong nhiều loài. Có sự gia tăng sản sinh ethylene trước quá trình nảy mầm. Hàm lượng ethylene thoát ra ít hơn ở những hạt có miên trạng hơn là những hạt không miên trạng. Những biến dị (*etr*) của *Arabidopsis thaliana* thì không nhạy cảm với ethylene và hạt của những cây này có tỉ lệ nảy mầm thấp hơn dạng hoang dại.

- CO<sub>2</sub> là chất ức chế hoạt động của ethylene, nó lại kích thích sự nảy mầm. Khi xử lý kết hợp CO<sub>2</sub> với ethylene chúng cũng kích thích sự tổng hợp ethylene. Những yếu tố khác cũng kích thích sự nảy mầm như sự hóa già, phytochrome,

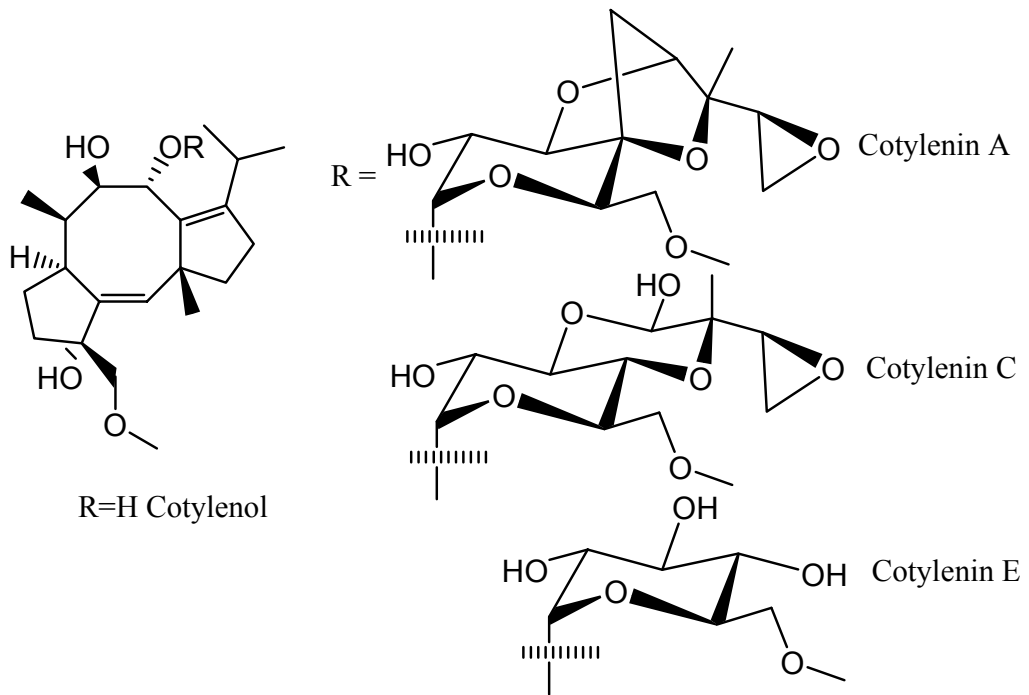
nhiệt độ, cytokinin, gibberellin, fusicoccin (một độc tố từ nấm) và nitrate. Tuy nhiên ethylene không liên quan đến sự nảy mầm của hạt rau diếp với cytokinin, fusicoccin hay gibberellin.

#### 4.1.4. Ảnh hưởng của những chất khác

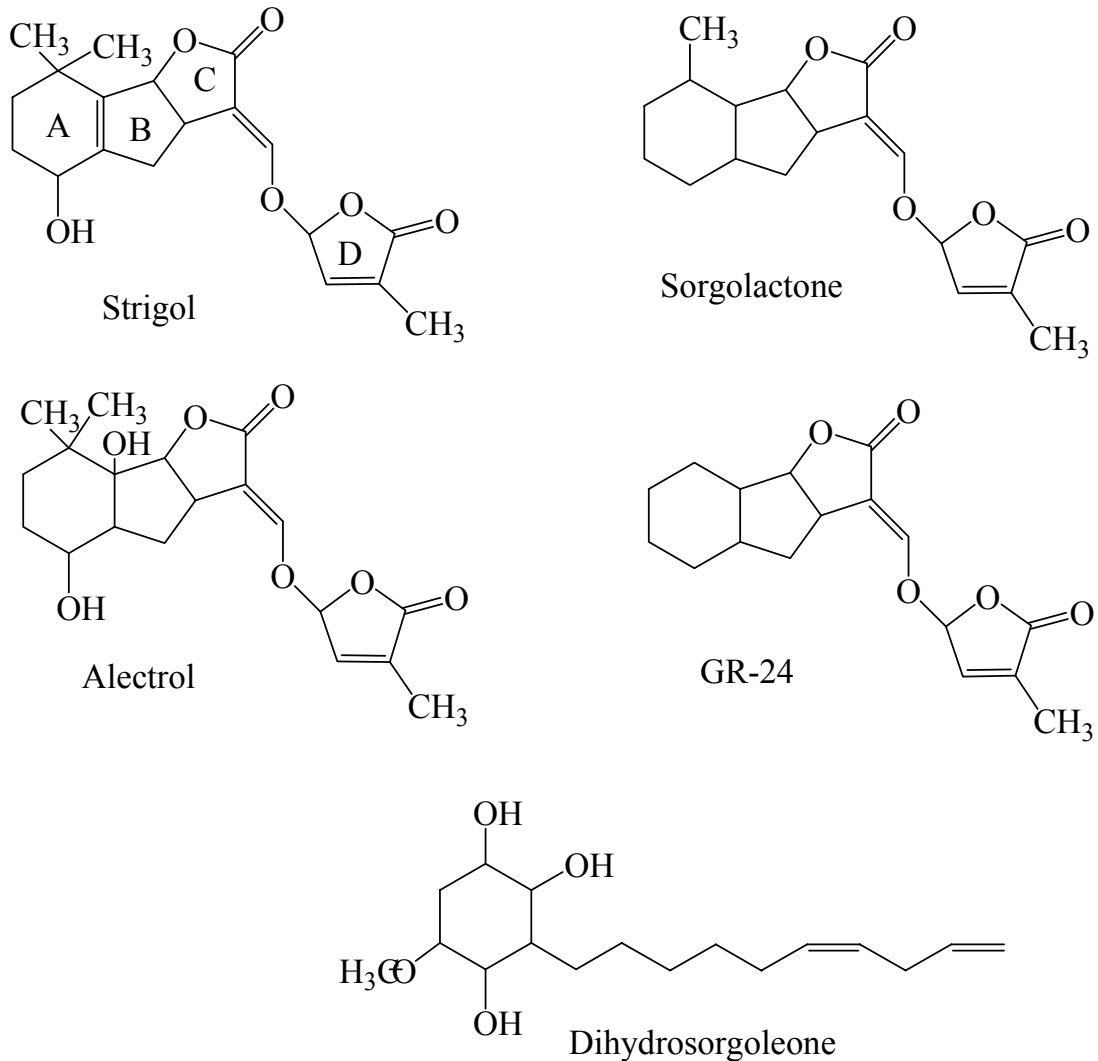
Những chất khác như potassium nitrate, thiourea, fusicoccin, cotylenin, brassinolide và strigol cũng kích thích sự nảy mầm tuy nhiên vai trò của chúng chưa rõ.



Hình 4.1. Cấu trúc của thiourea và fusicoccin



Hình 4.2. Cấu trúc của nhóm cotylenin



Hình 4.3. Cấu trúc của các chất strigol, sorgolactone, alectrol, GR-24 và dihydrosorgoleone

- Potassium nitrate: Kích thích sự nảy mầm của hạt, tuy nhiên cách tác động của nó vẫn chưa rõ.
- Thiourea: Có khả năng tối đa hóa sự nảy mầm và vượt qua những miền trạng do vỏ hạt và sự ức chế ở nhiệt độ cao. Người ta nghĩ rằng những ảnh hưởng kích thích của nó có thể do hoạt động cytokinin của nó.
- Fusicoccin và cotylenin: Cả hai chất này đều có ảnh hưởng kích thích nảy mầm, sự kích thích được thúc đẩy khi kết hợp với GA và cytokinin.
- BR kích thích sự nảy mầm của hạt witchweed và loại trừ ảnh hưởng ức chế của IAA và ánh sáng lên sự nảy mầm của hạt này.

## 4.2. Sự thành lập rễ bất định từ cành giâm

Khả năng của nhiều loài cây và nhiều phần của của cây có khả năng tạo rễ bằng cách giâm dưới những điều kiện thích hợp là yếu tố quan trọng trong việc nhân giống của nhiều loài. Thân, rễ hoặc lá có thể dùng làm nguồn cho việc nhân giống khi được kết hợp với hóa chất thích hợp, tác nhân cơ học và những điều kiện môi trường. Một trong những lợi điểm chính của phương pháp nhân giống vô tính này là cây mới được tạo thành giống như cây cha mẹ.

Von Sachs (1882) cho rằng có một chất hay những chất nào đó trong lá, nụ và tử diệp của cây đã di chuyển đến rễ và kích thích sự tạo rễ. Hormone này đã được Bouillene và Went (1933) gọi là *zhizocaline* và cho đến ngày nay vẫn là một chất mang tính chất giả thuyết. Những nhóm kích thích sinh trưởng như auxin, cytokinin, gibberellin, ethylene, brassinolide cũng như những chất ức chế như abscisic acid, những chất hoãn sinh trưởng, và phenolic đều có ảnh hưởng lên sự khởi sinh rễ. Ngày nay, auxin được biết là nhóm có ảnh hưởng lớn nhất trên sự tạo rễ và đã được thương mại hóa. Có những yếu tố liên quan đến sự tạo rễ và chất sinh trưởng thực vật được liệt kê sau:

- (1). Những điều kiện môi trường và dinh dưỡng của cây cha mẹ và cành cắt.
- (2). Thực hiện sự cắt cành sau khi di chuyển từ cây cha mẹ.
- (3). Khoảng nồng độ được chọn, phương pháp áp dụng và chất đặc biệt được dùng như GA<sub>1</sub> hoặc GA<sub>4</sub>, zeatin hoặc isopentyladenine.
- (4). Giai đoạn của quá trình tạo rễ.
- (5). Những tương tác giữa những chất sinh trưởng thực vật đã biết và chưa biết.

- **Auxin:** Ảnh hưởng lớn trên sự kích thích ra rễ và đã được thương mại hóa. Các chất tổng hợp như IBA và NAA đã cho hiệu quả kích thích tạo rễ hơn cả IAA. Có nhiều báo cáo cho rằng auxin liên quan đến sự khởi tạo rễ bất định và sự phân chia đó của những khởi đầu thì phụ thuộc vào auxin nội sinh hay ngoại sinh. Auxin cũng ức chế tạo rễ với nồng độ cao. Trong nhiều trường hợp, tính nhạy cảm với chất sinh trưởng thực vật thì quan trọng hơn nồng độ. Nghiên cứu với mô thực vật chuyển gene cho thấy rằng sự truyền plasmic Ri (root-inducing) vào trong mô thực vật đã gia tăng tính nhạy cảm của chúng với auxin.

- **Cytokinin:** Tỷ lệ cao của cytokinin/ auxin kích thích sự phát triển chồi và ức chế sự phát triển rễ.

- **Gibberellin:** Ức chế sự thành lập rễ (dưới những điều kiện đặc biệt kích thích sự tạo rễ).

**- ABA và những chất ức chế sinh trưởng:**

- + ABA ức chế sự phát triển rễ.
- + Chất ức chế sinh tổng hợp GA có ảnh hưởng nhẹ lên sự kích thích sự tạo rễ bất định, giảm GA nội sinh và giảm sự phát triển của chồi.
- Ethylene kích thích sự thành lập rễ bất định.
- BR ức chế sự thành lập rễ.

### **4.3. Miên trạng**

- ABA gây miên trạng: Hàm lượng ABA trong hạt, lá và mầm chồi cao đều dẫn đến sự miên trạng. Tuy nhiên cũng có trường hợp trong điều kiện ngày ngắn gây ra sự miên trạng trong vài loài lại không có sự gia tăng ABA nội sinh. Việc xử lý ABA ngoại sinh lên mầm chồi và lên hạt đã kích thích miên trạng của chúng.

- Gibberellin: làm mất đi một số loại miên trạng bao gồm miên trạng do sinh lý, miên trạng do ánh sáng và miên trạng do nhiệt.

- Cytokinin: Ảnh hưởng của cytokinin lên miên trạng không rõ. Cytokinin ngoại sinh đôi khi có thể khắc phục miên trạng trong chồi và hạt, tuy nhiên đôi khi ảnh hưởng này cũng không có.

- Ethylene có thể khắc phục miên trạng ở một vài loài.

- Những chất khác:

- + IAA/ ABA: Tỷ lệ IAA cao có khuynh hướng phá vỡ miên trạng.
- + Thiourea khắc phục vài loại miên trạng và ảnh hưởng của nó có liên quan đến hoạt động của cytokinin.
- + Coumarin gây ra tính nhạy cảm đối với ánh sáng cho vài giống rau diếp mà hạt của chúng nảy mầm không cần ánh sáng.

### **4.4. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên quá trình lão hoá**

- Cytokinin: Cytokinin được biết là chất làm giảm lão hoá, nó kích thích sự phân chia tế bào và vận chuyển các chất dinh dưỡng làm tăng khả năng hoạt động của mô và tế bào.

- Auxins: Auxin có thể làm tăng, giảm hoặc không có tác dụng lên sự lão hoá phụ thuộc vào cách xử lý và nồng độ xử lý. Auxin gây ra sự lão hóa do kích thích sự sản sinh ethylene. Auxin nội sinh giảm trước hoặc trong suốt quá trình lão hoá.



- Gibberellin: GA làm giảm sự phân rã RNA và protein, chúng giúp giảm sự lão hóa ở cuống lá và kéo dài sự chín. Người ta cũng thấy rằng hàm lượng GA giảm trước hoặc trong suốt quá trình lão hóa.

- Ethylene, ABA và methyl jasmonate: Các chất này được biết như là những chất kích thích sự lão hóa. Trong đó ethylene chi phối quá trình lão hoá rõ nhất. Ảnh hưởng trên sự lão hoá do ABA và jasmonate gây nên đều có liên quan đến sự sinh tổng hợp ethylene.

\* Ứng dụng của chất điều hòa sinh trưởng để giảm lão hóa: Nhiều loại rau, quả, trái cây và nấm được giữ tươi để đưa ra thị trường. Do đó việc duy trì chất lượng trong suốt quá trình tồn trữ sau thu hoạch, vận chuyển để giảm hư hại là rất quan trọng. Cytokinin, chất cản sinh trưởng, auxin, gibberellin và những chất ức chế hoạt động hoặc sinh tổng hợp ethylene có khả năng giảm lão hóa.

*Chương 5*  
**VAI TRÒ CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG  
LÊN CÁC QUÁ TRÌNH SINH SẢN CỦA THỰC VẬT**

### **5.1. Trổ hoa**

Sự chuyển tiếp từ sự phát triển sinh dưỡng sang sinh sản là một pha cực trọng trong chu trình sống của thực vật bậc cao. Cơ chế của cách chuyển tiếp từ sự phát triển sinh dưỡng sang sinh sản vẫn còn chưa được hiểu rõ hoàn toàn và có thể tóm tắt theo ba bước chính sau:

- Giai đoạn đầu tiên là sự tượng hoa, nó là một sự thay đổi sinh lý nội tại trong mô phân sinh kéo theo sự thay đổi về hình thái. Sự thay đổi về hình thái học dễ nhận thấy trước nhất đánh dấu sự chuyển tiếp từ giai đoạn sinh dưỡng sang sinh sản là sự gia tăng phân chia tế bào trong vùng trung tâm ngay phía dưới đỉnh sinh trưởng của mô phân sinh. Những sự phân chia xảy ra ở đây là kết quả phân hóa của những tế bào nhu mô bao quanh mô phân sinh thành khối hoa sơ khởi.

- Giai đoạn thứ hai là sự thành lập hoa, sự khởi đầu của những thành phần hoa có thể nhìn thấy được.

- Giai đoạn cuối cùng là sự phát triển hoa. Đó là sự phân hóa cấu trúc hoa từ sự thành lập hoa đến trổ hoa và tung phấn.

Trong nhiều loài thực vật, sự khởi đầu quá trình sinh sản được điều hòa bởi những yếu tố môi trường như độ dài ngày và nhiệt độ theo một chu kỳ thay đổi hàng năm. Sự khởi đầu quá trình sinh sản này còn bị chi phối bởi chất điều hòa sinh trưởng hay do sự tương tác giữa yếu tố môi trường với chất điều hòa sinh trưởng cùng với các yếu tố khác. Tuy nhiên sự đáp ứng này tùy theo loài.

#### **5.1.1. Ảnh hưởng của những yếu tố môi trường lên sự phát triển sinh sản**

##### **5.1.1.1. Quang kỳ (photoperiodism)**

- Cây trung gian: Sự tượng hoa của những cây này phụ thuộc vào kiểu di truyền và cây không đòi hỏi nhu cầu ánh sáng đặc biệt.

- Cây quang cảm: Sự trổ hoa của những cây này phụ thuộc vào độ dài ngày. Những cây quang cảm có thể trổ hoa theo những điều kiện sau:

+ Cây ngày ngắn (short-day plant): Những cây này chỉ trổ hoa khi chu kỳ tối dài hơn độ dài tối hạn nào đó. Cây giới hạn chu kỳ tối để trổ hoa.

+ Cây ngày dài (long-day plant): Những cây này chỉ trổ hoa khi chu kỳ tối ngắn hơn độ dài tới hạn nào đó.

+ Bên cạnh cây ngày ngắn và cây ngày dài còn có hai nhóm phụ khác. Nhóm thứ nhất là cây ngày ngắn-dài (short-long-day plant) chỉ trổ hoa khi trải qua điều kiện ngày ngắn trước và theo sau bởi điều kiện ngày dài. Nhóm thứ hai là cây ngày dài-ngắn (long-short-day plant) chỉ trổ hoa khi trải qua điều kiện ngày dài trước và theo sau bởi điều kiện ngày ngắn.

Độ dài ngày được cảm nhận từ lá cây do sự hấp thu photon ánh sáng của phytochrome. Tính hiệu của sự cảm nhận ánh sáng sinh ra từ lá sẽ được truyền đến nơi hoạt động. Chất tạo tính hiệu trổ hoa được gọi là florigen, chất kích thích trổ hoa hoặc hormone trổ hoa. Chất tạo tính hiệu trổ hoa đã được chứng minh bằng những thí nghiệm ghép cây trong điều kiện cảm ứng và không cảm ứng. Khi lá của cây trồng trong điều kiện kích thích trổ hoa như chu kỳ ánh sáng thích hợp hoặc xử lý lạnh được ghép vào cây trồng trong điều kiện không cảm ứng có thể kích thích sự tượng hoa. Như vậy có thể tồn tại một chất kích thích trổ hoa tương tự nhau trong toàn cây. Tuy nhiên, vẫn có những trường hợp không thu được sự trổ hoa khi ghép trên một số loài cây. Cho đến nay florigen vẫn chưa được phân lập, vì vậy có những giả thuyết cho rằng sự trổ hoa khởi đầu bởi sự tương tác giữa những chất điều hòa sinh trưởng thực vật kích thích hoặc ức chế trổ hoa đã biết và chưa biết.

#### **5.1.1.2. Sự thụ hàn (Vernalization)**

Cây trồng trong vùng ôn đới sẽ trổ hoa trong điều kiện xử lý nhiệt độ thấp, hiện tượng này gọi là sự thụ hàn.

#### **5.1.2. Sự tượng mầm hoa**

- Cây sẽ không trổ hoa trong suốt thời kỳ cây con.
- Khi cây hoàn tất giai đoạn cây con của sự phát triển, chúng có khả năng sản xuất một chất kích thích trổ hoa.
- Dựa trên những thí nghiệm ghép cây có thể kết luận rằng chất kích thích trổ hoa thì tương tự hoặc rất giống nhau trong nhiều trường hợp.
- Chất kích thích trổ hoa được đề xuất lần đầu tiên do Chailakhyan (1936), ông có nhiều cố gắng để xác định và đặc tính hóa về mặt hóa học của nó. Florigen là một chất giả thiết quyết định quá trình này, nhưng đến nay vẫn còn là điều bí ẩn.

Cho đến ngày nay, người ta vẫn còn nghĩ rằng chất kích thích trổ hoa là đơn chất hoặc một vài chất riêng biệt, hoặc có sự tương tác giữa những chất điều hòa sinh trưởng thực vật có thể trực tiếp gây ra trổ hoa, hay những chất điều hòa sinh trưởng này liên quan đến việc gây ra sự sản xuất những chất kích thích trổ hoa.

## **5.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên sự tượng mầm hoa, kích thích và ức chế trổ hoa**

Các chất điều hòa sinh trưởng đã biết có thể gây nên sự tượng mầm hoa, kích thích và ức chế trổ hoa trên nhiều loài thực vật.

- Auxin kích thích sự thành lập hoa ở họ Bromeliaceae thông qua sự kích thích sản sinh ethylene. Auxin ngoại sinh như IAA và NAA ức chế sự thành lập hoa khi được áp dụng dưới những điều kiện cảm ứng. Chất ức chế vận chuyển auxin (TIBA, tên thương mại là floraltone) kích thích sự tượng hoa ở táo.

- Khí ethylene hoặc những hợp chất phóng thích ethylene như ethrel ức chế hoặc kìm hãm sự trổ hoa. Ethylene cũng có khả năng kích thích trổ hoa ở vài loài thực vật như khóm.

- Cytokinin được áp dụng ngoại sinh sẽ kích thích sự thành lập hoa. Khi xử lý cytokinin lên đọt cây dưới những quang kỳ không cảm ứng sẽ gây ra sự phân chia tế bào sớm hơn trong giai đoạn tượng hoa.

- GA được áp dụng ngoại sinh lên cây dưới những điều kiện không cảm ứng sẽ kích thích sự trổ hoa ở một vài loài cây. GA cũng làm cây kiêng trổ hoa sớm và tập trung.

- ABA được cho là chất ức chế trổ hoa sau khi được phát hiện. Tuy nhiên những nghiên cứu gần đây cho thấy rằng ABA không phải là chất đóng vai trò có ý nghĩa quan trọng trong sự điều hòa quá trình thành lập hoa. Thật ra thì vai trò của nó trên sự trổ hoa vẫn chưa được biết rõ.

- Salicylic acid có khả năng kích thích trổ hoa trên vài loài. Tuy nhiên cơ chế của nó tác động lên sự trổ hoa vẫn chưa rõ.

Ở thời điểm hiện tại thì vai trò của BR và JA lên sự trổ hoa vẫn còn chưa được biết nhiều, những nghiên cứu về ảnh hưởng của hai chất này lên sự trổ hoa cần tiếp tục được làm rõ.

## **5.3. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên sự phát triển của chùy hoa hoặc thân trong những cây có hoa và sự thể hiện giới tính**

### **5.3.1. Gibberellin và sự phát triển chùy hoa hoặc thân**

- Áp dụng GA lên cây có yêu cầu lạnh hoặc cây ngày dài sẽ kích thích sự thành lập hoa dưới những điều kiện không cảm ứng. GA cũng kích thích trổ hoa

trong những cây ngày ngắn được trồng trong điều kiện cảm ứng.

- Sự thành lập hoa trong những cây có yêu cầu lạnh và cây ngày dài đã được điều khiển bằng cách điều hòa mức độ GA nội sinh thông qua việc sử dụng chất ức chế sinh tổng hợp GA.

### 5.3.2. Chất điều hòa sinh trưởng và sự thể hiện giới tính

Nghiên cứu về giới tính của thực vật đã được con người quan tâm từ trước thời của Aristotle (384-322 trước công nguyên). Tuy nhiên việc nghiên cứu ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên sự thể hiện giới tính của thực vật chỉ mới bắt đầu từ năm 1987 do Chailakhyan và Khrianin khởi xướng. Có nhiều công trình cho thấy việc áp dụng chất điều hòa sinh trưởng ngoại sinh đã làm thay đổi giới tính của hoa.

Những nghiên cứu đầu tiên trên họ bầu bí đã cho thấy rằng việc xử lý auxin ngoại sinh làm tăng số lượng hoa cái trên những cây thuộc họ này, trong khi GA ngoại sinh lại làm tăng số lượng hoa đực. Sự thay đổi giới tính gây ra do auxin được cho rằng có liên quan đến sự kích thích sinh tổng hợp ethylene. Trong nhiều trường hợp sự thay đổi mức độ nội sinh của auxin hoặc GA cũng có liên quan đến sự phân hoá giới tính của hoa. Hiện nay, người ta chấp nhận rằng sự thể hiện giới tính trên họ bầu bí được cân bằng bởi hoạt động của auxin nội sinh thông qua ethylene và gibberellin. Tuy nhiên cũng có ý kiến không đồng tình hoàn toàn với quan điểm này. Sự thay đổi giới tính tương tự cũng đã được nghiên cứu trên cây cần xà *Cannabis sativa*, thu hải đường, hoa bia, nho, dưa hương, bí đao, bí rợ, cà chua và bông vải. Cytokinin cũng cho thấy kích thích sự tạo hoa cái trên cây cần xà *Cannabis sativa*. Nghiên cứu của Trường Đại Học Cần Thơ cũng cho thấy auxin làm tăng hoa đực trên chôm chôm.

### 5.4. Sự rụng

Sự rụng được định nghĩa là sự tách rời của một phần thực vật như lá, hoa, trái, hạt, cành hoặc bộ phận khác của cây mẹ. Mặc dù người ta thường nghĩ rằng sự rụng thường xảy ra đối với thực vật bậc cao, tuy nhiên ở thực vật bậc thấp sự rụng vẫn xảy ra. Một ví dụ thông thường về sự rụng là sự tách rời của những tế bào thuộc mô chuyên hoá đặc biệt gọi là tầng rụng. Trong những trường hợp này một tầng phân biệt phải còn sống và có khả năng sản sinh ra những enzyme thuỷ phân kích thích sự rụng. Ở đây chủ yếu đề cập đến sự rụng ở thực vật bậc cao với sự rụng lá, cành, hoa, trái và hạt. Đối với lá có 3 dạng rụng lá như sau:

1. Ở những cây dễ rụng lá và cây bụi được trồng trong vùng ôn đới: Sự rụng lá liên quan đến những yếu tố môi trường như quang kỳ ngắn và lạnh.

2. Những cây dễ rụng lá và cây bụi trong vùng nhiệt đới và á nhiệt đới: Sự rụng lá phụ thuộc vào những thay đổi trong sinh trưởng và cường lực của cây.

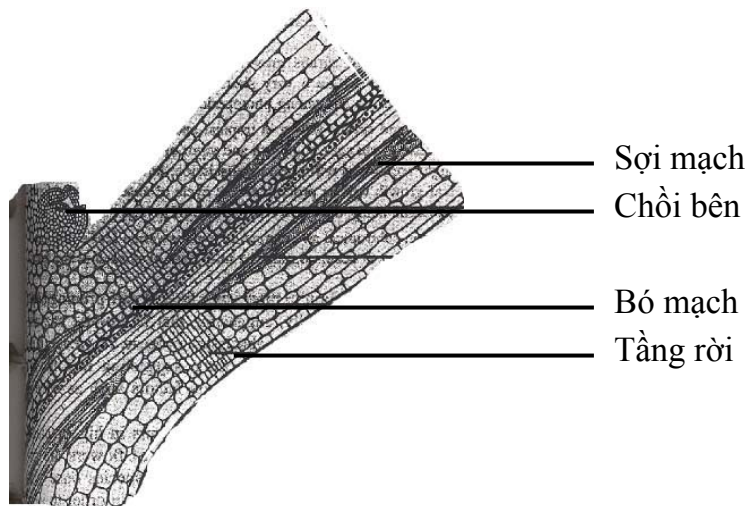
3. Những cây thường xanh trồng trong vùng ôn đới và á nhiệt đới: Sự rụng lá thuộc về sự phát triển của mùa trước xảy ra trong khi có sự mới khởi đầu của sự sinh trưởng trong mùa xuân.

- Sự rụng cành cũng có thể xem như là một thói quen tự tĩa cành.

- Sự rụng hoa, trái và hạt thường xảy ra ở thực vật bậc cao tạo sự thuận lợi cho quá trình sinh sản.

#### 5.4.1. Giải phẫu học của sự rụng

Sự rụng của lá, cành, hoa trái và hạt trong phần lớn loài cây đến trước bằng sự thành lập vùng hoặc tầng rời từ những tế bào đặc biệt. Vị trí tầng rời ở lá được mô tả trong hình 5.1. Như vậy muốn hạn chế sự rụng cần phải hạn chế sự thành lập tầng rời.



Hình 5.1. Tế bào tầng rời ở lá

#### 5.4.2. Sinh lý của sự rụng

##### 5.4.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ, oxygen và những yếu tố dinh dưỡng

Nhiệt độ chi phối quan trọng đến sự rụng. Khi nhiệt độ tăng cao sẽ làm gia tăng sự rụng. Có một nhiệt độ tối hảo cho sự rụng tối đa. Sự đáp ứng với nhiệt độ cho sự rụng cũng khác nhau. Ở đậu cove nhiệt độ này là 25<sup>0</sup>C, trong khi đó ở bông vải là 30<sup>0</sup>C.

Hàm lượng oxy cao cũng làm gia tăng sự rụng. Vấn đề này được giả thiết rằng sự gia tăng oxy sẽ kích hoạt enzyme IAA oxidase dẫn đến sự oxy hoá IAA và làm giảm IAA nội sinh trong mô. Giả thiết khác cho rằng oxy kích thích sự chuyển hoá ACC thành ethylene và kích thích sự rụng.

Hàm lượng carbohydrate cao sẽ giảm sự rụng và ngược lại. Dưới điều kiện ánh sáng cao sẽ kích thích quang hợp để sinh tổng hợp nhiều carbohydrate và làm chậm sự rụng. Các quá trình dẫn đến sự tích lũy carbohydrate thấp sẽ dẫn đến sự rụng.

Cây được cung cấp đạm đầy đủ cũng duy trì lá lâu hơn và cho nhiều trái hơn cây thiếu đạm. Những cây này đặc biệt có hàm lượng amino acid và những hợp chất chứa đạm cao hơn là yếu tố giúp cho sự sinh tổng hợp DNA, RNA, protein và những thành phần khác có khả năng ngăn sự rụng. Cây có chứa đạm cao cũng chứa nhiều auxin và cytokinin.

Các nguyên tố khoáng cũng rất cần cho sự phát triển của cây. Thiếu kẽm hay thiếu calcium đều làm lá dễ rụng.

#### **5.4.2.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên sự rụng**

- Ethylene kích thích sự rụng: Ethylene kích thích sự rụng đã được biết từ lâu, nó được xem như tính hiệu khởi đầu của quá trình rụng trong cây song tử diệp.

- Auxin: Auxin có thể hạn chế sự rụng hoặc kích thích sự rụng. Hàm lượng auxin nội sinh trong lá hoặc những cơ quan khác giảm sẽ kích thích sự rụng. Xử lý auxin ngoại sinh xa tầng rụng (về phía lá của tầng rụng) làm giảm sự lão hóa, ở đầu gần tầng rụng (về phía thân của tầng rụng) kích thích sự lão hóa.

- ABA được biết là chất làm gia tăng sự rụng.

- GA có thể làm gia tăng sự rụng nếu hàm lượng đủ lớn để kích thích sản xuất ethylene. Hiện tượng gây ra sự rụng bởi GA được xem là tác động của ethylene, GA không tự gây ra sự rụng. Mặt khác GA cũng giảm sự rụng do gia tăng hoạt động của các cơ quan tích lũy.

- Cytokinin có tác dụng kích thích sinh trưởng và giảm sự rụng. Xử lý cytokinin ở vị trí xa tầng rụng sẽ kích thích sự rụng. Xử lý cytokinin trực tiếp hoặc ở trên tầng rụng sẽ ức chế sự rụng.

- Jasmonate được biết là chất kích thích sự rụng do kích thích quá trình lão hóa.

- Những chất kích thích rụng lá: Các chất kích thích rụng lá hiện nay được biết phổ biến như calcium cyanamid, thidiazuron, ammonium nitrate, endothall, paraquat, sodium cacodylate, sodium chlorate, tributyl phosphorotrithioate, ethephon và thidiazuron.

#### ***Cách tốt nhất để giảm rụng lá:***

1. Cung cấp dinh dưỡng tối hảo cho cây, đặc biệt là đạm.
2. Tránh stress về nước hoặc những yếu tố dẫn đến sản xuất ethylene hoặc

ABA.

3. Tránh tích lũy ethylene và giữ tốc độ hô hấp thấp khi vận chuyển hoặc dự trữ.

4. Khi sự sản xuất ethylene không thể tránh được thì dùng máy lọc ethylene hoặc những chất ức chế hoạt động hay sinh tổng hợp ethylene cũng có hiệu quả.

## **5.5. Sinh lý của sự đậu trái, sinh trưởng, phát triển, chín và rụng trái**

### **5.5.1. Sinh lý của sự đậu trái**

Sự đậu trái có thể được định nghĩa như là sự phát triển nhanh của noãn mà thường theo sau bằng sự thụ phấn và thụ tinh. Sự phát triển trái xảy ra không qua thụ phấn hoặc thụ tinh với trái không hạt gọi là trình quả sinh. Có thể phân biệt trình quả sinh thành trình quả sinh sinh dưỡng và trình quả sinh được kích thích.

+ Trình quả sinh sinh dưỡng (vegetative parthenocarpy): Sự phát triển trái xảy ra không qua thụ phấn (khóm, cam navel washington).

+ Trình quả sinh được kích thích: Yêu cầu có sự kích thích của hạt phấn mà không có sự thụ tinh đến sau để tạo ra sự đậu trái.

Các chất điều hoà sinh trưởng như auxin, gibberellin, cytokinin, ABA và ethylene đều chi phối quá trình này. Các loại trái nho không hạt ở Nhật, Úc, Mỹ và châu Âu thường có xử lý GA<sub>3</sub>.

- Ảnh hưởng của auxin và gibberellin lên sự đậu trái:

+ NAA tăng đậu trái trên quả đa noãn (dâu tây, bí, vả, cà chua, hoa hồng, thuốc lá, cà phôi...).

+ GA cũng có khả năng tăng đậu trái trên những cây đáp ứng với auxin và những cây khác mà auxin không hiệu quả (việt quất, cam quít, nho, quả có hạt).

- Ảnh hưởng của cytokinin, ABA và ethylene lên sự đậu trái:

+ Cytokinin tổng hợp: Tăng đậu trái trên nho, vãi...

+ ABA và ethylene: Gây ra sự rụng hoa và trái non.

### **5.5.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên sinh trưởng và phát triển của hạt và trái**

- **Auxin và sự sinh trưởng trái:** Auxin có vai trò liên quan giữa sự phát triển hạt, kích thước và hình dạng cuối cùng của trái. Áp dụng auxin vào giai đoạn bất kỳ nào của sự phát triển trái đều có sự đáp ứng. Nội nhũ và phôi trong hạt sản sinh ra auxin, nó sẽ di chuyển ra phía ngoài vỏ và kích thích sự phát triển.



- **GA và sự phát triển trái:** Hột là nguồn giàu GA. Vì vậy GA được xem là chất góp phần phát triển trái cùng với auxin. Xử lý GA ngoại sinh gây ra trình quả sinh là yếu tố khẳng định vai trò của GA lên sự phát triển trái. GA còn ảnh hưởng lên độ lớn và hình dạng của trái. Bằng cách giảm lão hóa, GA giữ cho vỏ trái cam quýt tươi lâu hơn chậm mềm khi chín và kéo dài thời gian bảo quản hơn. GA cũng làm cho vỏ táo đẹp hơn.

- **Cytokinin và sự phát triển trái:** Trái non phát triển rất nhanh và có sự phân chia tế bào mạnh mẽ. Hột của chúng chứa nhiều cytokinin và được xem là yếu tố quan trọng trong sự phát triển trái. Việc xử lý cytokinin ngoại sinh cũng làm tăng kích thước trái, tuy nhiên ảnh hưởng này thay đổi tùy theo loài cây.

Nhìn chung cytokinin ảnh hưởng nhiều trên sự đậu trái, trong khi GA ảnh hưởng nhiều trên sự phát triển trái và auxin ảnh hưởng cả lên sự đậu trái và phát triển trái. Một sản phẩm có tên là Promalin = BA + GA4 + GA7 là sản phẩm thương mại của Abbott Laboratories được dùng trên táo để điều khiển dạng trái, cỡ trái, trọng lượng và gia tăng năng suất trái táo.

### 5.5.3. Tỉa thưa hoa và trái bằng hóa chất

Việc tỉa thưa giúp loại những vấn đề có thể xảy ra đối với cây ăn trái đa niên như sự trở hoa cách năm, những tổn thương về vật lý đối với cây và cũng có ảnh hưởng tốt đến kích thước trái, dạng trái, màu sắc trái và chất lượng vượt trội. Có thể sử dụng chất điều hoà sinh trưởng để điều hoà quá trình này, tuy nhiên nồng độ và thời gian xử lý rất quan trọng: Đối với NAA hoặc NAAM nên áp dụng sau khi hoa trở đều trên táo và 5-7 ngày sau khi trảng hoa rụng trên lê. Việc xử lý các chất khác như accel (cytokinin + gibberellin), ethrel, sevin, vydate cũng có hiệu quả nhưng còn phụ thuộc vào thời tiết, tình trạng cây, giống và những yếu tố khác.

### 5.5.4. Sự chín của trái

Ethylene liên quan đến sự chín ở nhiều loại cây ăn trái. Thật ra thuật ngữ “climacteric” (già mãn dục) để ám chỉ những trái sẽ chín trong sự đáp ứng với ethylene như cà chua và chuối. Còn thuật ngữ “nonclimacteric” (chưa già, chưa mãn dục) ám chỉ những trái sẽ không đáp ứng với ethylene để chín như nho và dâu tây. Có rất nhiều thông tin để khẳng định về vai trò của ethylene trong quá trình chín. Ethephon chất phóng thích ethylene làm tăng độ chín và chín đồng đều. Có thể làm giảm sự chín để kéo dài tuổi thọ của trái bằng cách ngăn cản sự sinh tổng hợp ethylene, giảm hoạt động của ethylene hoặc lấy ethylene ra khỏi vùng gần quả. Có thể ức chế quá trình chín bằng cách ức chế ACC synthase với antisense RNA. Có thể rút ra về vai trò của ethylene trong quá trình chín như sau:

+ Ethylene điều hòa sự chín, yêu cầu sự chuyển thông tin liên tục của những gene cần thiết.

+ Ethylene được điều hòa một cách tự xúc tác.

+ Ethylene hoạt động như là một biến trở hơn là một cái ngắt điện để điều khiển quá trình chín.

+ Ethylene là chìa khóa điều hòa ở mức độ phân tử cho quá trình chín và lão hóa, không phải là sản phẩm phụ của sự chín.

#### **5.5.5. Ngăn sự rụng trái**

Trái thường bị rụng trước khi chín, đây là tổn thất lớn trong sản xuất nông nghiệp. Người sản xuất đôi khi phải thu hoạch sớm để hạn chế sự tổn thương trái do rụng, tuy nhiên đây không phải là biện pháp tối hảo. Việc áp dụng chất điều hoà sinh trưởng có thể làm giảm sự rụng trái. Các sản phẩm thương mại gốc auxin đã sớm được áp dụng để làm giảm sự rụng trái. NAA được phun lên lá hai tuần trước khi thu hoạch giúp giảm được sự rụng trái táo. Daminozide (Alar) cũng được phun trước khi thu hoạch táo giảm được rụng trái (hiện nay không dùng nữa do ảnh hưởng đến sức khỏe).

#### **5.5.6. Gây ra sự rụng trái**

Việc ngăn sự rụng trái ở trên đôi khi làm cho trái bám chặt trên cây và gây khó khăn khi thu hoạch. Việc rung cây có thể làm thất thoát năng suất vì có những trái chưa chín bị rụng. Việc áp dụng những chất phóng thích ethylene đã kích thích sự rụng trái cherry, táo, mâm xôi, dưa lê, óc chó và quýt. Để tránh ảnh hưởng khác của ethylene lên sự rụng lá, rụng lá và tạo mủ làm mất năng suất ở mùa sau cần đặc biệt chú ý đến nồng độ và thời gian xử lý. Việc xử lý 500 và 1000 ppm ethephon có hiệu quả rất rõ để làm cho trái cherry dễ rụng với ảnh hưởng độc tối thiểu và chấp nhận được trong thương mại. Nồng độ ethephon cao đến 2000 và 4000 ppm đã gây hiện tượng rụng lá và tạo mủ. Ở những nồng độ này không thể chấp nhận được vì không được chấp nhận trong thương mại và lại gây ảnh hưởng xấu cho cây.

*Chương 6*  
**VAI TRÒ CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG  
LÊN QUÁ TRÌNH QUANG HỢP CỦA THỰC VẬT**

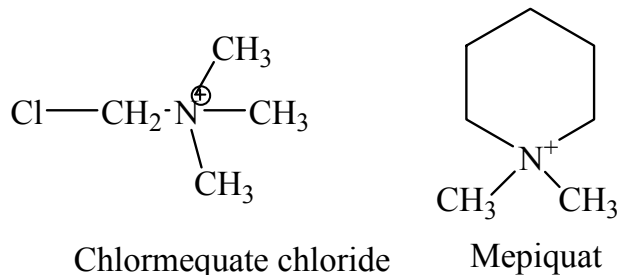
### **6.1. Chất cản sinh trưởng**

Chất điều hoà sinh trưởng thực vật bao gồm các chất kích thích các quá trình sinh trưởng và phát triển của thực vật và cả các chất có hoạt động ức chế. Các chất ức chế có thể chi phối quá trình sinh tổng hợp của các chất điều hoà sinh trưởng nội sinh khác như các chất ức chế sự sinh tổng hợp gibberellin. Các chất này làm cho quá trình sinh tổng hợp gibberellin bị trở ngại và kết quả là thường làm cho cây lùn lại. Bên cạnh đó cũng có những chất có tác dụng cản trở trực tiếp quá trình sinh trưởng và phát triển mà không ức chế sự sinh tổng hợp gibberellin.

#### **6.1.1. Những chất ức chế sinh tổng hợp gibberellin**

##### **6.1.1.1. Những hợp chất onium**

Các chất ức chế tổng hợp gibberellin có thể kể đến là chlormequate chloride (cycocel, thường gọi là CCC), mepiquate chloride (thường được sử dụng), AMO-1618, phosphon D, piperidium bromide (hình 6.1). Các hợp chất nhóm onium sẽ ức chế quá trình tạo vòng của geranylgeranyl pyrophosphate thành copallyl pyrophosphate và ngăn cản quá trình tạo thành các hợp chất gibberellin. Cây được xử lý với những hợp chất onium sẽ có lóng ngắn, lá xanh hơn và dày hơn. Các hợp chất nhóm onium còn thúc đẩy quang hợp thuần và tăng tính chịu hạn của thực vật.



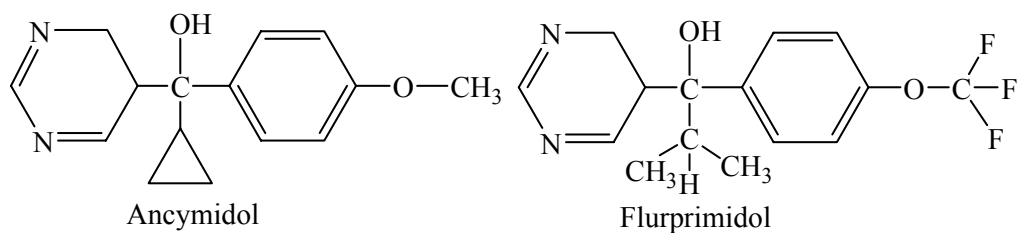
*Hình 6.1. Những hợp chất đại diện nhóm onium*

##### **6.1.1.2. Pyrimidine**

Hai chất cản sinh trưởng pyrimidine thường dùng là Ancymidol và Flurprimidol (hình 6.2). Cơ chế tác dụng cơ bản của nhóm này là:

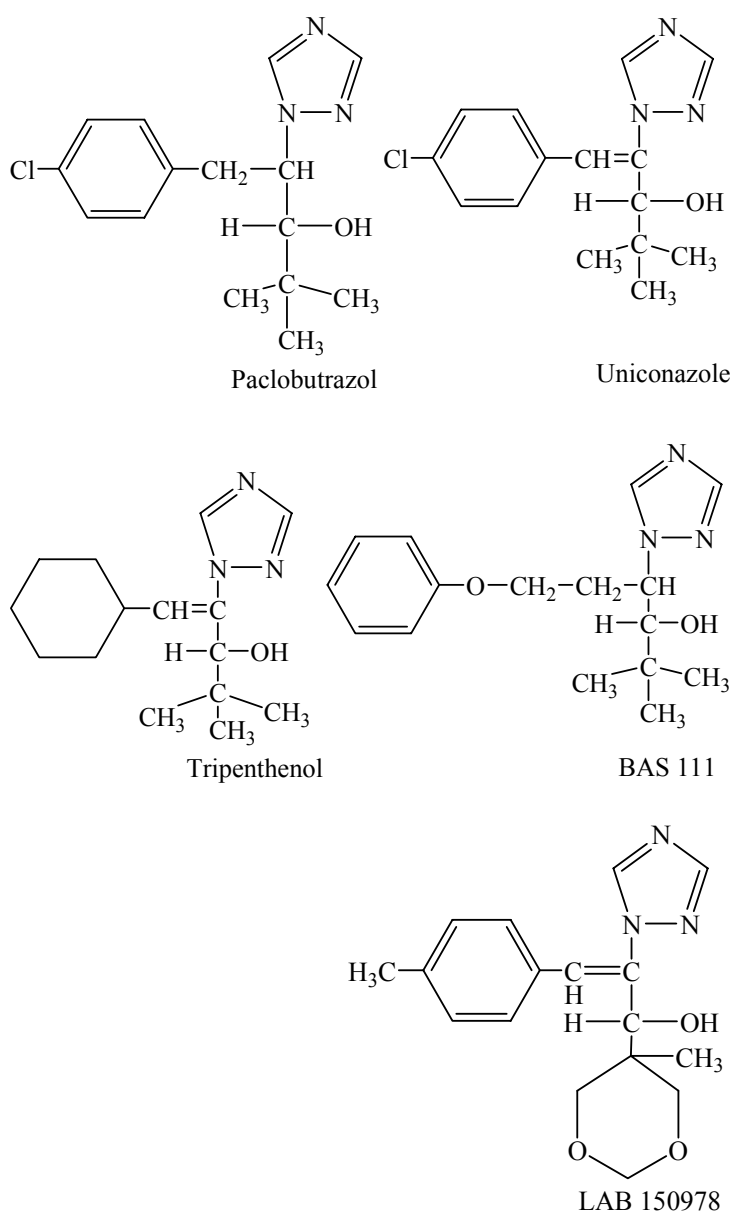
- Ức chế cytochrome P-450, yếu tố điều khiển sự oxi hóa của kaurene thành kaurenoid acid.
- Ức chế sinh tổng hợp GA.
- Gây trở ngại đến quá trình sinh tổng hợp sterol và ABA.

Các hợp chất nhóm pyrimidine ít ảnh hưởng lên quang hợp, nhưng chúng làm giảm khả năng sử dụng nước của cây.



Hình 6.2. Những hợp chất đại diện nhóm pyrimidine

### 6.1.1.3. Triazole



Hình 6.3. Những hợp chất đại diện nhóm triazole

Triazole cũng là chất ức chế sinh tổng hợp gibberellin, chúng là nhóm cản sinh trưởng có hoạt tính cao như paclobutrazol, uniconazole, tripenthenol, BAS 111, LAB 150978 (hình 6.3). Hoạt động ức chế sinh tổng hợp ethylene và tác dụng sinh lý của nó lên thực vật có thể được tóm tắt như sau:

- Hợp chất triazole làm giảm sự sinh trưởng của cây bằng cách ức chế sự oxy hóa microsome của kaurene, kaurenol và kaurenal. Những chất này được xúc tác bởi kaurene oxidase là enzyme cytochrome P-450 oxidase.

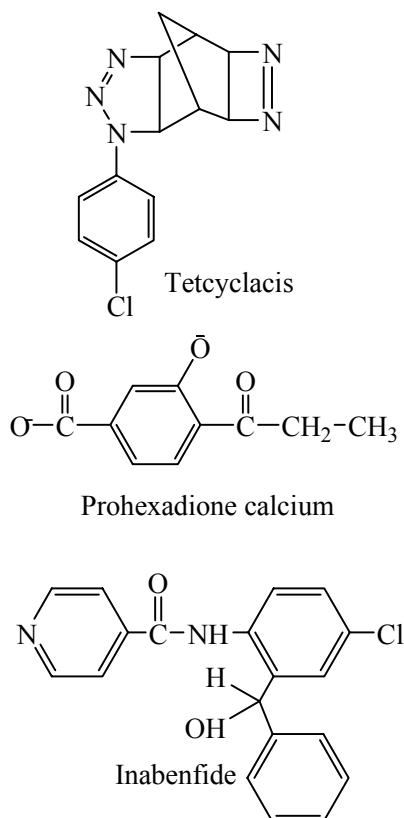
- Để ngăn cản sự sinh tổng hợp gibberellin, những hợp chất triazole còn ức chế sinh tổng hợp sterol; làm giảm ABA, ethylene và IAA nhưng lại tăng hàm lượng cytokinin.

- Triazole có làm tăng hàm lượng chlorophyll nhưng lại ít ảnh hưởng trực tiếp đến quang hợp. Tuy nhiên, triazole lại có những ảnh hưởng gián tiếp đến quang hợp.

- Triazole có thể giúp cây chống lại stress gây ra do nước và sulfur dioxide. Ảnh hưởng này có thể do triazole làm gia tăng hàm lượng hoặc hoạt động của chất chống oxi hóa trong cây.

- Triazole có thể ảnh hưởng lên sự giảm mật độ quần thể côn trùng. Tuy nhiên, bản chất của hiện tượng này chưa được nghiên cứu rõ ràng.

#### 6.1.1.4. Những chất khác



Hình 6.4. Cấu trúc của tetcyclacis, prohexadione và inabenfide

Bên cạnh các chất cản sinh trưởng được phân nhóm như trên còn có các chất khác như tetcyclasis, prohexadione-Ca và inabenfide. Cấu trúc của chúng được mô tả trong hình 6.4.

- Tetcyclasis: Tetcyclasis là dẫn xuất của norbornenodiazentine. Tetcyclasis làm giảm sinh tổng hợp GA, ức chế sinh tổng hợp sterol. Nói chung tác động của nó tương tự như nhóm triazole.

- Prohexadione-Ca: Ức chế sự hydroxy hóa 3 $\beta$  của G<sub>20</sub> thành GA<sub>1</sub> và sự hydroxy hóa 2 $\beta$  của GA<sub>1</sub> thành GA<sub>8</sub>.

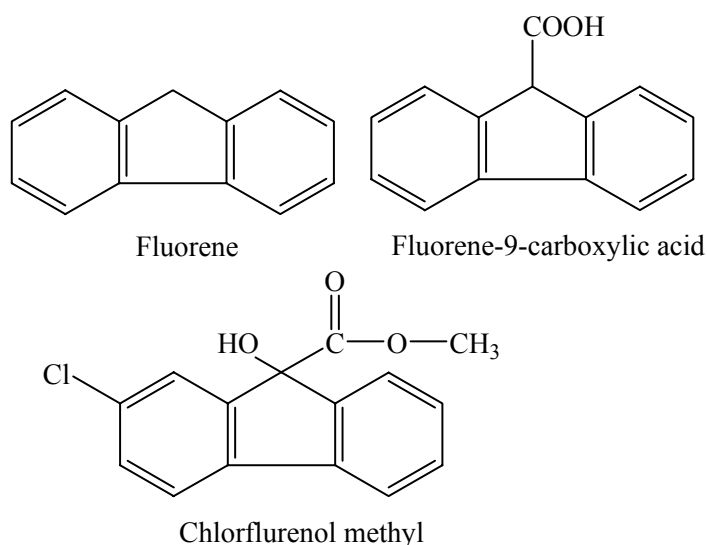
- Inabenfide: Là dẫn xuất anilide của isonicotinic acid. Inabenfide ức chế sự sinh tổng hợp gibberellin bằng cách ngăn cản sự chuyển đổi oxy hóa kaurene thành kaurenoid acid.

### 6.1.2. Những chất cản sinh trưởng không ức chế sinh tổng hợp gibberellin

Những hợp chất cản sinh trưởng không ức chế sinh tổng hợp GA có thể kể đến là morphactin, dikegulac, ethephon, maleic hydrazile, dẫn xuất của acetamide và dẫn xuất của fatty acid.

#### 6.1.2.1. Morphactin

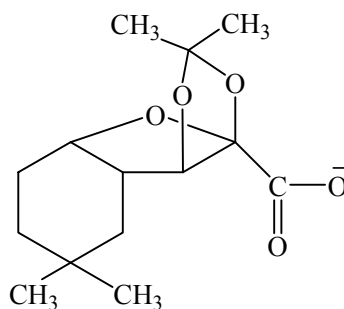
Là một nhóm chất cản sinh trưởng bao gồm flourence, flourence-9-carboxylic acid và chlorflurenol methyl (hình 6.5). Nhóm này ảnh hưởng lên hình thể cây. Morphactin ức chế sự sinh trưởng của cây trong khi gibberellin kích thích sự sinh trưởng của cây. Morphactin không ức chế sinh tổng hợp gibberellin nhưng hoạt động như một chất đối kháng. Mặc dù morphactin có ảnh hưởng sinh lý rộng trên thực vật, tuy nhiên cách tác động của nó không đặc hiệu.



Hình 6.5. Những hợp chất của nhóm morphactin

### 6.1.2.2. Dikegulac

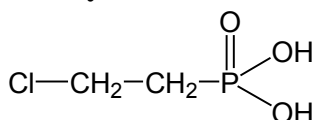
Cấu trúc của dikegulac được mô tả trong hình 6.6. Chất này làm giảm ưu thế chồi ngọn và kích thích chồi bên. Những tế bào đang phân chia thì nhạy cảm với dikegulac, trái lại những tế bào đã ổn định thì ít bị ảnh hưởng. Cơ chế tác dụng của dikegulac vẫn chưa được hiểu rõ, nó làm giảm những chất giống như GA, kích thích những chất giống như ABA và ethylene.



Dikegulac

Hình 6.6. Cấu trúc của dikegulac

### 6.1.2.3. Hợp chất phóng thích ethylene



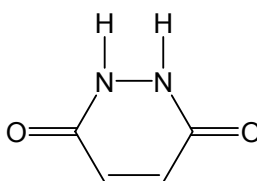
Ethephon

Hình 6.7. Cấu trúc của ethephon

Hợp chất phóng thích ethylene điển hình là ethephon hay ethrel (hình 6.7) được xem như là chất cản sinh trưởng, vì ethylene làm cho thân ngắn hơn và dày hơn. Ethephon hay ethrel hiện được dùng khá phổ biến. Ứng dụng đầu tiên của ethephon là được dùng để điều khiển đổ ngã trên ngũ cốc và cây lấy hạt. Ngày nay nó được ứng dụng vào nông nghiệp với nhiều mục đích như làm chín trái với màu vàng đẹp hay làm tăng sự tích lũy đường trên mía.

### 6.1.2.4. Maleic hydrazide

Maleic hydrazide (hình 6.8) là chất cản sinh trưởng bằng cách ngăn cản sự phân chia tế bào. Maleic hydrazide chen vào sự sản xuất uracil.

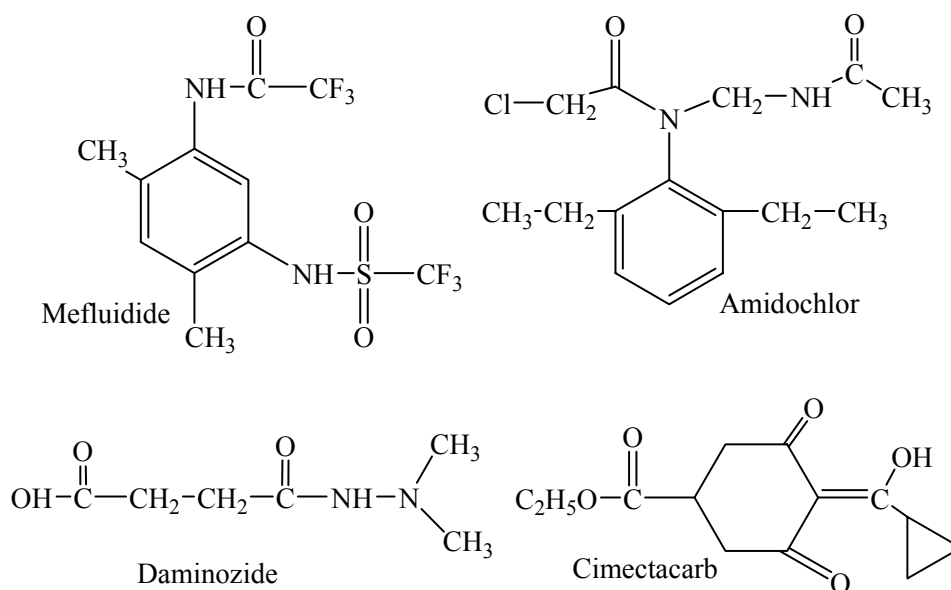


Maleic hydrazile

Hình 6.8. Cấu trúc của maleic hydrazile

### 6.1.2.5. Dẫn xuất của acetamide

Các dẫn xuất của acetamide điển hình là mefluidide, amidochlor, daminozide, cimectacarb (hình 6.9). Các hợp chất này được biết là chất ức chế sự sinh trưởng của những bãi cỏ.



Hình 6.9. Cấu trúc của maleic hydrazile

### 6.1.2.6. Dẫn xuất của acid béo

Các dẫn xuất của acid béo bao gồm các hợp chất alcol của acid béo với mạch carbon từ 8-10 và các methyl ester với mạch carbon từ 8-12 có tác dụng làm giảm chiều cao cây nhưng cơ chế tác động chưa được biết. Sản phẩm thương mại methyl ester của acid béo đã được công bố là có tác dụng gia tăng sự phân cành và làm giảm sự phát triển chồi.

## 6.2. Ứng dụng của chất cản sinh trưởng

Các chất cản sinh trưởng có rất nhiều ứng dụng trong sản xuất nông sản, sản xuất hoa kiểng, giảm đổ ngã, làm thuốc diệt cỏ... Các ứng dụng thực tiễn của nó có thể tóm tắt như sau:

- Điều khiển kích thước, hình dạng và chất lượng của hoa kiểng có thể dùng CCC, daminozide, ancymidol, paclobutrazol, uniconazol, tetcyclasis. Trong đó paclobutrazol có tác dụng mạnh và độ bền cao do đó chỉ cần phun xịt một lần.

- Một trong những ứng dụng chính của chất cản sinh trưởng trong nông nghiệp là ngăn đổ ngã trên ngũ cốc và hoa màu lấy hạt như lúa mì, lúa, lúa mạch đen và kiều mạch. Ngăn đổ ngã cũng có thể dùng paclobutrazol, prohexadione-Ca, CCC và ethephon.

- Maleic hydrazide được dùng để ức chế sự nảy mầm của củ hành và khoai



tây.

- Daminozide được dùng làm giảm sinh trưởng dinh dưỡng và kích thích trổ hoa (1989 bị cấm ở Mỹ).

- Paclobutrazol được đăng ký sử dụng ở nhiều nước trừ Mỹ.

### **6.3. Mối liên quan giữa chất sinh trưởng cây trồng trong quá trình quang hợp và sự phân chia của chất đồng hóa**

#### **\* Gibberellin và quang hợp**

- Áp dụng trên lá: Ảnh hưởng của GA trên quang hợp không rõ và phụ thuộc vào loài cây. Có nhiều kết quả cho thấy có sự gia tăng tốc độ quang hợp hoặc giảm quang hợp.

- Áp dụng lên rễ: Ảnh hưởng không rõ.

#### **\* Cytokinin và quang hợp**

- Áp dụng lên lá: Kích thích tốc độ quang hợp.

- Áp dụng lên rễ: Tăng tốc độ quang hợp.

#### **\* Điều khiển ở mức phân tử lượng cytokinin nội sinh và quang hợp**

Cytokinin có khả năng làm tăng quang hợp. Cây thuốc lá chuyển gene với T-DNA mang gene 4 để tổng hợp cytokinin có chứa 10-20% nhiều hơn zeatin, zeatin riboside, và isopentenyladenosine so với cây đối chứng. Cây chuyển gene có hoạt động của hệ thống quang 2 trong màng thylakoid tốt hơn trong cây đối chứng.

#### **\* ABA và quang hợp**

- ABA có vai trò quan trọng trong tính kháng của cây đối với stress của môi trường.

- Phun ABA lên lá làm giảm quang hợp và hoạt động của enzyme ribulose biphosphate carboxylase (rubisco).

#### **\* IAA và quang hợp**

- IAA kích thích quang hợp.

#### **\* Những chất điều hòa sinh trưởng thực vật khác và quang hợp**

Ethylene và những hợp chất phóng thích ethylene không ảnh hưởng hoặc ảnh hưởng kích thích quang hợp.

- BR: Tăng tích lũy chlorophyll, khả năng quang hợp sự vận chuyển các sản phẩm đồng hóa do quang hợp.

- Jasmonate có thể ức chế quang hợp.

- Những ảnh hưởng của salicylic acid lên quang hợp chưa được nghiên cứu

nhiều.

#### **6.4. Các vấn đề về phòng trừ cỏ dại**

Cỏ dại cạnh tranh với cây trồng về nước, dinh dưỡng và ánh sáng. Cỏ dại còn là nơi cho nguồn bệnh và côn trùng ẩn náu để tấn công cây trồng. Có thể tóm tắt các bất lợi của cỏ dại trong 10 điểm sau:

1. Giảm chất lượng nông sản.
2. Giảm năng suất cây trồng và vật nuôi.
3. Tăng giá thành sản phẩm.
4. Cản trở việc quản lý nước.
5. Là vấn đề đối với sức khỏe con người.
6. Giới hạn hiệu quả con người.
7. Giảm giá trị sử dụng đất.
8. Giảm sự lựa chọn cây trồng được trồng trên một mảnh đất cho phép.
9. Thảm họa của hỏa hoạn.
10. Không đẹp mắt.

#### **6.4.1. Phương pháp phòng trừ cỏ**

##### **6.4.1.1. Ngăn ngừa, phòng trừ và nhổ cỏ**

Việc ngăn ngừa, phòng trừ và nhổ cỏ có 3 tác dụng chính:

- Ngăn chặn sự xâm nhiễm của những loài cỏ mới.
- Ngăn chặn sự tạo hạt của cỏ.
- Ngăn chặn sự lây lan của cỏ bằng con đường sinh sản sinh dưỡng.

##### **6.4.1.2. Quản lý cỏ dại**

Có thể tóm tắt các phương pháp cơ bản sau để quản lý cỏ dại:

- Các biện pháp cơ học như cày bừa, nhổ bằng tay, cắt cỏ, màng phủ, đốt và cho ngập.
- Các biện pháp canh tác như chọn loại cây trồng, luân canh, chọn giống, bố trí thời vụ, mật độ, khoảng cách trồng, phân bón...
- Phòng trừ sinh học.
- Phòng trừ hóa học.

#### **6.4.2. Giới thiệu về phòng trừ cỏ bằng hóa chất**

Hiện tại đã có hơn 130 loại thuốc cỏ chọn lọc khác nhau trên thế giới. Có thể phân loại thuốc cỏ thành 5 nhóm chính sau:

1. Dựa vào loại cây sử dụng.
2. Dựa vào những ảnh hưởng nhìn thấy được.

3. Theo phương diện hấp thu.
4. Dựa vào tính lưu dẫn hay tính tiếp xúc.
5. Dựa vào tính chọn lọc.

Các loại thuốc cỏ đang sử dụng có nhiều cơ chế tác động khác nhau. Có thể tóm tắt ảnh hưởng của nó theo ba cơ chế tác dụng chính như sau:

1. Ức chế sinh trưởng cây trồng.
2. Ức chế hô hấp hoặc quang hợp.
3. Ức chế những quá trình sinh tổng hợp.

#### **6.4.2.1. Thuốc cỏ có tác dụng giống như IAA**

Thuốc cỏ thuộc nhóm auxin có tác dụng giống như IAA có thể kể đến là những phenoxy acid, benzoic acid và pyridine

**6.4.2.1.1. Phenoxy acid:** Kích thích tổng hợp ethylene và ức chế sinh trưởng (2,4 D, Quinclorac, 2,4DP, TCDD, MCPA, MCPP).

**6.4.2.1.2. Benzoic acid:** Dicamba, chloramben có phương thức tác động giống như 2,4D là gây ra sự nghiêng.

**6.4.2.1.3. Pyridine:** Picloram, triclopyr và clopyralid. Có hiệu quả mạnh, lưu tồn lâu, phân hủy chậm bởi vi sinh vật đất. Cũng có tác động giống như 2,4D là gây ra sự nghiêng.

**6.4.2.2. Những chất ức chế tổng hợp gibberellin:** Những chất ức chế sinh tổng hợp gibberellin cũng có thể sử dụng để phòng trừ cỏ như flurprimidol, paclobutrazol, và uniconazole.

#### **6.4.3. Sự ức chế quá trình sinh tổng hợp, quang hợp và hô hấp**

##### **6.4.3.1. Những chất ức chế hô hấp (MAA, dinoseb, bromoxynil)**

Thuốc cỏ ngăn cản quá trình hô hấp của thực vật bằng hai cách:

- Phá hủy sự oxy hóa vòng phosphoryl như methylarsonic acid (MAA) và phenols (dinoseb).

- Ngăn cản sự vận chuyển electron: Như nhóm hydroxybenzotrile (ví dụ: bromoxynil).

##### **6.4.3.2. Chất ức chế quang hợp**

Nhiều nhóm thuốc cỏ có tác động ức chế quang hợp bằng cách ức chế sự chuyển hóa năng lượng ánh sáng thành năng lượng hóa học ví dụ như urea, uracil, triazine, triazinone, acylanilid và pyridazinone. Các chất này chen vào quá trình khử

plastoquinone của chất nhận PSII (hệ thống quang II). Những chất này với những cấu trúc khác nhau gắn chặt vào màng thylakoid làm ngăn cản sự vận chuyển electron quang hợp (Diuron, bromacil, simazine, propanil, pyrazon).

#### **6.4.3.3. Những chất ức chế quá trình sinh tổng hợp**

- Ngăn cản quá trình phân chia tế bào như carbamate (propham), dinitroaniline (oryzalin) và difenzoquat (difenzoquat methyl sulphate).
- Ngăn cản tổng hợp nucleic acid và protein như alphachloroacetamides.
- Ngăn cản tổng hợp amino acid như sulfonylureas (Bensulfuron), imidazolinones (imazapyr), glyphosate.
- Ức chế tổng hợp carotenoid (carotinoid) như amitrole, pyridazinones (norflurazon), fluridone.
- Ức chế sinh tổng hợp lipid như carbamothioate (EPTC), cyclohexanedione (Sethoxydim), aryloxyphenoxypropionate (Diclofop).
- Phá hủy màng tế bào như P-nitro, thay thế diphenylether (oxyflourfen), bipyridylium (paraquat).
- Ức chế phân chia tế bào như Propham (1-methylethyl phenyl carbamate), oryzalin, difenzoquat methyl sulphate.
- Ức chế tổng hợp protein và nucleic acid nhưalachlor.
- Những chất ức chế amino acid như sulfonylurea và imidazolinone. Chúng ức chế enzyme acetolactate synthase (ALS). Glyphosate là thuốc cỏ phổ rộng cũng có tác dụng này.
- Những chất ức chế tổng hợp carotenoid như amitrole, norflurazon, fluridone. Chúng ức chế sự tạo thành sắc tố và sự tái sinh chồi.
- Ức chế tổng hợp lipid như EPTC, sethoxydim và diclofop. Chúng được hấp thu bởi rễ và vận chuyển lên lá và thân làm ức chế vùng phân sinh bằng cách ảnh hưởng lên sinh tổng hợp lipid.
- Phá vỡ màng tế bào như oxyflourfen và paraquat. Chúng được hấp thu qua chồi lớn hơn qua rễ.

#### **6.4.4. Công nghệ di truyền và tính kháng thuốc cỏ ở thực vật bậc cao**

Trong thực tế áp dụng các biện pháp trừ cỏ, các nhà nghiên cứu luôn tìm cách nâng cao hiệu quả của quá trình diệt cỏ bằng nhiều biện pháp khác nhau. Sau đây là tóm tắt việc dùng các loại hoá chất thêm vào thuốc diệt cỏ hay các biện pháp kỹ thuật có liên quan để làm tăng hiệu quả diệt trừ cỏ dại:

- Safener: Dùng để nới rộng tính chọn lọc của cây trồng đối với những loại thuốc cỏ đặc biệt. Các loại safener đã được dùng như flurazole và cyometronil.
- + Flurazole: Giúpalachlor có thể được dùng như một thuốc cỏ chọn lọc trên

sorghum.

+ Cyometronil được dùng để bảo vệ sorghum đối với metolachlor. Những safener có thể dùng cho lúa, bắp, lúa mì và lúa mạch.

- Tính kháng thuốc cỏ có thể đạt được bằng cách giảm hấp thu thuốc cỏ, tính biến dưỡng, bổ sung, hoặc phân ly của thuốc cỏ.

- Cây mô và công nghệ di truyền: Việc sử dụng công nghệ di truyền như chuyển gene, hay việc phát hiện ra các biến dị tạo ra tính kháng ngẫu nhiên và nuôi cấy mô có thể tạo ra những cây kháng với thuốc cỏ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abe, H. 1989. Advances in brassinosteroid research and prospects for its agricultural application. *Japan Pesticide Information*. 55: 10-14.
- Abeles, F. B., Morgan, P. W. and Saltveit M. E. 1992. Ethylene in plant biology. Academic Press, INC. Harcourt Brace Jovanovich.
- Arteca, R. N. 1995. Brassinosteroids. In P. J. Davies ed., *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands. 206-213.
- Arteca, R. N. 1996. *Plant growth substances: Principles and applications*. Chapman & Hall, New York. 1-22.
- Chon, N. M., Nishikawa-Koseki, N., Hirata, Y., Saka, H. and Abe, H. 2000. Effects of brassinolide on mesocotyl, coleoptile and leaf growth in rice seedlings. *Plant Prod. Sci.* 3(4): 360-365.
- Chon, N. M., Nishikawa-Koseki, N., Hirata, Y., Saka, H. and Abe, H. 2000. Effects of brassinolide on mesocotyl, coleoptile and leaf growth in rice seedlings. *Plant Production Science*. Vol. 3, No. 4: 360-365.
- Chon N. M., Takeuchi Y., Saka H. and Abe H. 2001. Inhibitory effect of brassinolide on shoot growth of rice and barnyard grass seedlings. The 17<sup>th</sup> International Conference on Plant Growth Substances. Brno, Czech Republic. July 2001.
- Chon N. M. 2002. Analysis of inhibitory effect of brassinolide on shoot growth of rice seedlings. Doctor thesis. March 2002.
- Chon, Nguyễn Minh. 2003. Brassinosteroids: Nhóm chất điều hòa sinh trưởng thực vật thứ sáu. *Tạp Chí Khoa Học Trường Đại Học Cần Thơ*.
- Grossmann, K. 1998. Quinclorac belongs to a new class of highly selective auxin herbicide. *Weed Science* 46: 706-716.
- Khripach, V. A., Zhabinskii, V. N. and Groot, A. E. 1999. Brassinosteroids, a new class of plant hormones. Academic Press, San Diego. 1-5 and 219-299.
- Nomura, T., Nakayama, M., Reid, J. B., Takeuchi, Y. and Yokota, T. 1997. Blockage of Brassinosteroid biosynthesis and sensitivity causes dwarfism in garden pea. *Plant Physiol.* 113: 31-37.
- Takahashi, N., Phinney B. O. and MacMillan J. 1991. *Gibberellins*. Springer-Verlag.
- Wada, K., Marumo, S., Abe, H., Morishita, T., Nakamura, K., Uchiyama, M. and Mori, K. 1984. A rice lamina inclination test - A micro-quantitative bioassay for brassinosteroids. *Agric. Bio. Chem.* 48: 719 - 726.