

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

---



**Trương Hoài Phong**

**NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ  
ĐẾN QUÁ TRÌNH RA HOA VÀ BƯỚC ĐÀU TẠO QUẢ  
CỦA CÂY CHANH DÂY TÍM (*Passiflora edulis* Sims f. *edulis*)  
NUÔI CÂY *IN VITRO***

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH LÝ HỌC THỰC VẬT**

**Mã số: 9 42 01 12**

*Hà Nội - 2024*

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn 1: GS.TS. Dương Tấn Nhựt, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên
2. Người hướng dẫn 2: TS. Nguyễn Bá Nam, Trường Đại học Đà Lạt

Phản biện 1: PGS.TS. Nguyễn Du Sanh

Phản biện 2: PGS.TS. Nguyễn Vũ Phong

Phản biện 3: PGS.TS. Hoàng Thị Kim Hồng

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi ..... giờ ....., ngày ..... tháng ..... năm 2024

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

## MỞ ĐẦU

Hiểu rõ về sự ra hoa của thực vật cung cấp một nền tảng lý thuyết hữu ích để phát triển các phương pháp thích hợp trong quá trình nghiên cứu sinh lý, tăng cường năng suất và quyết định các chiến lược chọn tạo giống cây trồng. Nắm bắt được các cơ chế và yếu tố ảnh hưởng đến sự ra hoa góp phần vào việc tối ưu hóa thời gian ra hoa, số lượng hoa, quá trình thụ phấn và tạo hạt ở thực vật.

Tuy nhiên, sự ra hoa trong tự nhiên của thực vật thường phụ thuộc theo mùa và quá trình này cũng bị ảnh hưởng đáng kể bởi nhiều yếu tố môi trường khác nhau. Trong hoàn cảnh đó, các phương pháp tiếp cận công nghệ sinh học có thể góp phần khắc phục những hạn chế này. Hệ thống ra hoa *in vitro* được coi là một công cụ thuận tiện để nghiên cứu cảm ứng ra hoa, sự già đi của hoa và sự phát triển của các cơ quan hoa. Kỹ thuật này tạo điều kiện thuận lợi và đồng nhất để tìm hiểu về sinh lý ra hoa bằng cách kiểm soát ảnh hưởng của các yếu tố như ánh sáng, nhiệt độ, các chất điều hoà sinh trưởng thực vật (PGRs) và khoáng chất. Nghiên cứu ra hoa *in vitro* có tiềm năng lớn trong các chương trình nhân giống cải tiến cây trồng dựa trên ưu điểm là rút ngắn và đồng bộ thời gian ra hoa. Hiện tại, sự ra hoa *in vitro* chủ yếu được quan sát và mô tả trong quá trình vi nhân giống một số loài cây cảnh và cây rau.

Mặt khác, *Passiflora* là chi lớn nhất trong họ Passifloraceae; trong đó, chanh dây tím (*Passiflora edulis* Sims f. *edulis*) là một trong những loài mang lại giá trị đáng kể cả về mặt thương mại và dược liệu. Ở thời điểm hiện tại, dựa trên những báo cáo đã được xuất bản, chưa có tài liệu nào ghi nhận về sự ra hoa *in vitro* của cây chanh dây tím. Hơn nữa, sự ra hoa *in vitro* không phải là hiện tượng phổ biến ở chi *Passiflora*, chỉ có sự ra hoa ở cây *P. suberosa* L. được ghi nhận trong điều kiện *in vitro*. Do đó, việc nghiên cứu sự ra hoa *in vitro* mang lại ý nghĩa quan trọng trong việc tạo nền tảng để tìm hiểu sâu hơn sự ra hoa trên chi này. Vì vậy, nghiên cứu điều khiển ra hoa *in*

*vitro* trên cây chanh dây tím là một hướng nghiên cứu cần thiết và có tính ứng dụng cao trên nhiều phương diện. Bên cạnh đó, chanh dây tím là loài có hoa lưỡng tính, dựa trên cơ sở đặc tính tự thụ của hoa thì việc nghiên cứu vấn đề tạo quả *in vitro* có tính khả thi cao.

Xuất phát từ những vấn đề trên, đề tài “Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình ra hoa và bước đầu tạo quả của cây chanh dây tím (*Passiflora edulis* Sims f. *edulis*) nuôi cấy *in vitro*” mở ra một hướng nghiên cứu mới và tiềm năng trên đối tượng cây trồng này.

**Mục tiêu của đề tài:** Xác định được tác động của một số yếu tố bao gồm PGR (axit gibberellic A3 - GA<sub>3</sub>, axit abscisic - ABA), muối và nano kim loại (bạc nitrate - AgNO<sub>3</sub>, các hạt nano bạc - AgNPs, các hạt nano coban - CoNPs), và polyamine (spermidine - Spd) đến sự sinh trưởng, ra hoa và bước đầu tạo quả *in vitro* trên cây chanh dây tím..

**Đối tượng nghiên cứu:** Đề tài tiến hành nghiên cứu sự sinh trưởng, ra hoa và bước đầu tạo quả của cây chanh dây tím (*Passiflora edulis* Sims f. *edulis*) dưới ảnh hưởng của một số yếu tố bổ sung trong môi trường nuôi cấy, bao gồm GA<sub>3</sub>, ABA, AgNO<sub>3</sub>, AgNPs, CoNPs và Spd trong điều kiện *in vitro*.

**Những đóng góp mới của luận án:** (1) Nghiên cứu đã góp phần cải thiện đáng kể hiệu quả tái sinh chồi và phát sinh SE của cây chanh dây tím. (2) Các kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin đáng tin cậy về tác động của các yếu tố như PGR, các hạt nano kim loại và PA đến sự sinh trưởng, ra hoa và bước đầu tạo quả từ chồi chanh dây tím trong điều kiện *in vitro*. (3) Kết quả đề tài cung cấp một quy trình có thể tham khảo để ứng dụng tạo hoa và quả *in vitro* dựa trên tác động AgNPs, từ đó tạo tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo

**Cấu trúc của luận án:** Luận án bao gồm 5 phần chính: Phần *Mở đầu*, Chương 1: *Tổng quan nghiên cứu*, Chương 2: *Nội dung, vật liệu và phương pháp nghiên cứu*, Chương 3: *Kết quả và thảo luận* và phần *Kết luận và kiến nghị*.

## CHƯƠNG 1 TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

### 1.1. Sự ra hoa và ra hoa *in vitro* ở thực vật

#### 1.1.1. Ý nghĩa của sự ra hoa và ra hoa *in vitro* ở thực vật

#### 1.1.2. Các giai đoạn chính của sự ra hoa ở thực vật

#### 1.1.3. Một số con đường ra hoa chủ yếu ở thực vật

#### 1.1.4. Một số mô hình phát triển hoa ở thực vật

### 1.2. Một số yếu tố ảnh hưởng đến sự ra hoa ở thực vật

### 1.3. Một số nghiên cứu ra hoa và tạo quả *in vitro*

### 1.4. Khái quát về cây chanh dây tím

#### 1.4.1. Giới thiệu về cây chanh dây tím

#### 1.4.2. Một số nghiên cứu trên cây chanh dây tím trong điều kiện *in vitro*

#### 1.4.3. Sự ra hoa và tạo quả trên cây chanh dây tím

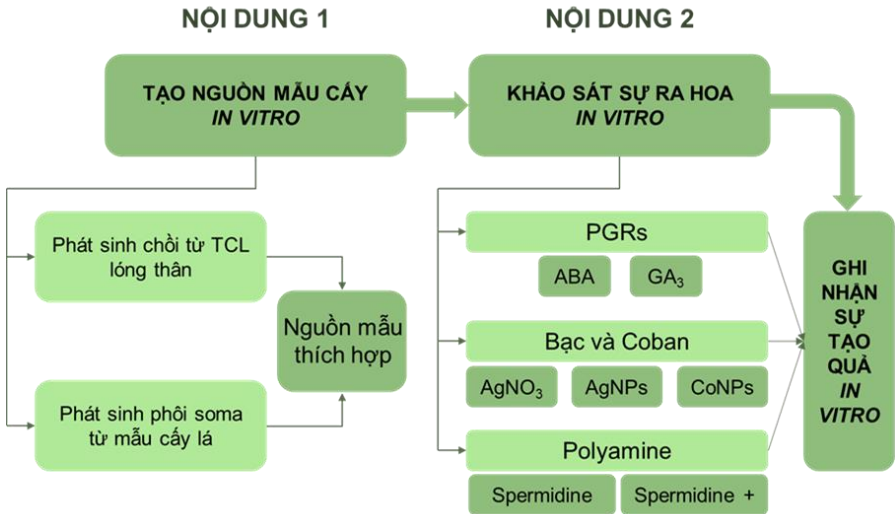
Đối với chi *Passiflora*, hiện tượng ra hoa *in vitro* không phải là một hiện tượng phổ biến trong quá trình nuôi cấy. Theo các báo cáo hiện tại, sự ra hoa *in vitro* chỉ được ghi nhận trên cây *P. suberosa*. Trong báo cáo này, cây *P. suberosa* được nuôi cấy trong vòng 21 ngày trên môi trường MS bổ sung 3% sucrose, glycine, vitamin và cytokinin đã ra hoa *in vitro*. Nghiên cứu cũng chỉ ra rằng sự ra hoa *in vitro* phụ thuộc vào vị trí và nguồn gốc mẫu cấy. Các mẫu lá và mẫu lóng chỉ ra hoa nếu chúng có nguồn gốc gần các ngọn; các mẫu cây có nguồn gốc dưới đốt thứ 5 chỉ tạo ra các chồi không ra hoa. Bên cạnh đó, hầu hết các hoa được hình thành *in vitro* đều thiếu nhị, chỉ một số hoa hoàn chỉnh được tạo ra. Nghiên cứu trên cũng cho thấy rằng các loài *P. caerulea*, *P. edulis* Sims., *P. foetida* và *P. trifasciata* chỉ tạo chồi nhưng không ra hoa khi được nuôi cấy trong điều kiện *in vitro* tương tự. Nhìn chung, trong lĩnh vực ra hoa *in vitro*, các nghiên cứu trên chi *Passiflora* còn rất hạn chế. Dựa trên các báo cáo ở thời điểm hiện tại, chưa có công bố nào được ghi nhận cho sự ra hoa *in vitro* đối với loài chanh dây tím (*P. edulis* Sims f. *edulis*), một trong những loài có giá trị thương mại cao trong chi này.

## CHƯƠNG 2. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nội dung nghiên cứu

**Nội dung 1:** Nghiên cứu tạo nguồn mẫu cây *in vitro* cây chanh dây tím.

**Nội dung 2:** Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến sự ra hoa và bước đầu tạo quả của cây chanh dây tím trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*.



**Hình 2.1.** Sơ đồ thể hiện khái quát các nội dung nghiên cứu.

### 2.2. Vật liệu nghiên cứu

#### 2.2.1. Vật liệu thực vật

Trong nội dung 1, các mẫu lá và lỏng thân của cây chanh dây tím (*Passiflora edulis* Sims f. *edulis*) 6 tháng tuổi tại vườn ươm của Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên được sử dụng làm vật liệu ban đầu. Trong nội dung 2, các chồi ngọn của cây chanh dây tím *in vitro* được sử dụng để bố trí các thí nghiệm ra hoa. Các mẫu cây trong từng thí nghiệm được mô tả cụ thể trong phần Phương pháp nghiên cứu.

## **2.2.2. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất**

### **2.2.3. Môi trường nuôi cấy**

## **2.3. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.3.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm**

#### **2.3.1.1. Nội dung 1: Nghiên cứu tạo nguồn mẫu cấy *in vitro* cây chanh dây tím**

- Thí nghiệm 1: Nghiên cứu tái sinh chồi từ các mẫu cây TCL từ lóng thân *ex vitro*

*Thí nghiệm 1.1.* Khảo sát ảnh hưởng của vị trí lóng thân đến sự cảm ứng chồi: Các đoạn lóng thân *ex vitro* (1 cm) ở vị trí lóng thứ 1 đến thứ 5 (tính từ ngọn chồi) được cắt theo chiều ngang với độ dày khoảng 0,2 cm để tạo ra các mẫu cấy tTCL. Các mẫu cấy tTCL được nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L BA và 1,0 mg/L NAA để so sánh tỉ lệ cảm ứng chồi.

*Thí nghiệm 1.2.* Khảo sát sự cảm ứng chồi từ các loại mẫu cấy TCL lóng thân: Trong thí nghiệm này, các đoạn lóng thân *ex vitro* ở vị trí lóng thứ 3 được sử dụng làm nguồn mẫu cấy. Các đoạn lóng thân (1 cm) được cắt ngang thành 5 mẫu tTCL hoặc cắt dọc thành 4 mẫu ITCL. Các mẫu cấy được nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L BA; 1,0 mg/L NAA để so sánh hiệu quả cảm ứng chồi.

*Thí nghiệm 1.3.* Ảnh hưởng của AgNPs đến sự tái sinh chồi từ mẫu cấy TCL: Tương tự như thiết lập mẫu cấy ITCL, các đoạn lóng thân có chiều dài 1 cm và đường kính khoảng 0,4 cm được cắt dọc thành 4 mẫu, tiến hành loại bỏ phần mô bên trong của mẫu và chỉ giữ lại các lớp tế bào bên ngoài (độ dày khoảng 0,1 cm) để tạo thành mẫu cấy oTCL. Các mẫu cấy ITCL và oTCL được nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L BA; 1,0 mg/L NAA và AgNPs (0; 1,0; 3,0; 5,0 và 7,0 mg/L) ở các nồng độ khác nhau để khảo sát và cải thiện hiệu quả cảm ứng chồi.

- Thí nghiệm 2: Nghiên cứu sự phát sinh phôi soma từ mẫu cây lá *ex vitro* của cây chanh dây tím

*Thí nghiệm 2.1.* Ảnh hưởng của 2,4-D và NAA đến sự phát sinh SE: Mẫu cây lá *ex vitro* (1,0 × 1,0 cm) được sử dụng làm mẫu cấy. Trong thí nghiệm này, các mẫu được nuôi cấy trong môi trường MS có chứa 2,4-D (0; 1,0; 2,0; 3,0 và 4,0 mg/L) hoặc NAA (0; 1,0; 2,0; 3,0 và 4,0 mg/L) để khảo sát sự cảm ứng SE.

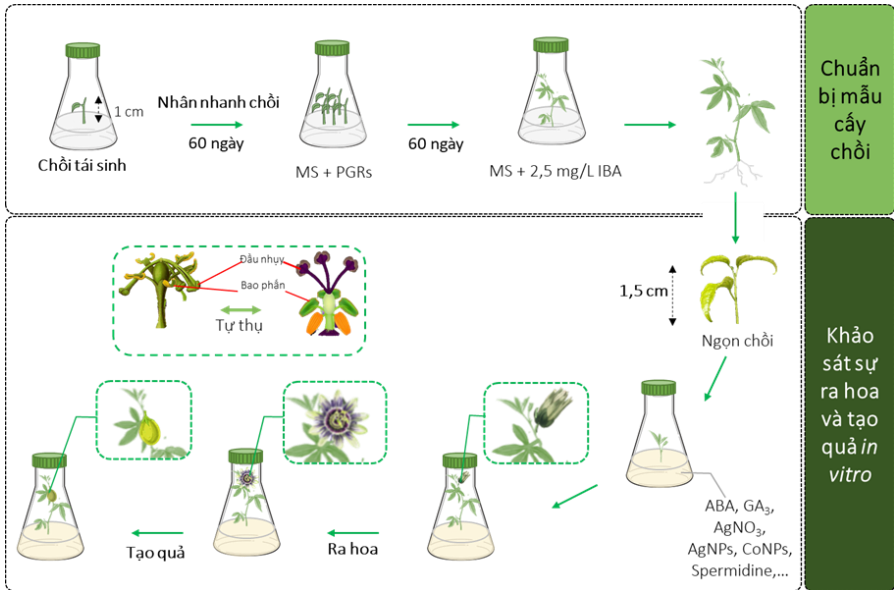
*Thí nghiệm 2.2.* Ảnh hưởng của Auxin kết hợp với AgNPs đến sự phát sinh SE: Để nghiên cứu tác động của AgNPs đối với sự phát sinh SE, các mẫu lá (1 × 1 cm) được nuôi cấy trong môi trường MS có bổ sung PGRs được nghiên cứu trong thí nghiệm trên và bổ sung AgNPs ở các nồng độ khác nhau (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 và 3,0 mg/L).

- Thí nghiệm 3: Nghiên cứu nhân nhanh nguồn mẫu cây chồi thích hợp: Tiếp theo, các chồi tái sinh từ nguồn mẫu cây ở nghiệm thức tối ưu được khảo sát ở các thí nghiệm trước được chọn và được chuyển sang môi trường nuôi cấy để tiến hành nhân nhanh chồi. Các chồi có chiều dài khoảng 1 cm được thu nhận và nuôi cấy trong môi trường MS có bổ sung cố định 1,0 mg/L meta-Topolin (mT) và AgNPs ở các nồng độ khác nhau (0; 1,0; 3,0; 5,0 và 7,0 mg/L).

*2.3.1.2. Nội dung 2: Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình ra hoa và bước đầu tạo quả của cây chanh dây tím trong điều kiện nuôi cấy in vitro*

*Vật liệu thí nghiệm:* Chồi chanh dây (từ quá trình tái sinh thích hợp được khảo sát phía trên) được nhân lên trong môi trường tối ưu được khảo sát ở Nội dung 1. Các chồi sau khi tái sinh được chuyển sang môi trường MS bổ sung 2,5 mg/L IBA để kích thích tạo rễ trong vòng 60 ngày. Ngọn chồi (từ các chồi đã hình thành rễ) với chiều cao khoảng 1,5 cm (bao gồm 1 ngọn và 3 lá) được sử dụng làm nguồn mẫu cấy cho các thí nghiệm ra hoa và tạo quả *in vitro* (Hình 2.5).





**Hình 2.5.** Sơ đồ mô tả các giai đoạn bố trí thí nghiệm nghiên cứu sự ra hoa *in vitro* của cây chanh dây tím.

- Thí nghiệm 1. Khảo sát ảnh hưởng của PGR ngoại sinh đến quá trình ra hoa và tạo quả *in vitro*

**Thí nghiệm 1.1.** Khảo sát ảnh hưởng của GA<sub>3</sub> đến sự sinh trưởng, ra hoa và tạo quả *in vitro*: Chồi chanh dây *in vitro* cao khoảng 1,5 cm được chuyển sang môi trường MS cơ bản chứa 30 g/L sucrose và 8 g/L agar và bổ sung các nồng độ GA<sub>3</sub> (0; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 mg/L). Sau khi môi trường MS cơ bản được hấp khử trùng, GA<sub>3</sub> sẽ được lọc qua màng lọc khử trùng và bổ sung lạnh vào môi trường nuôi cấy trong tủ cấy vô trùng.

**Thí nghiệm 1.2.** Khảo sát ảnh hưởng của ABA đến sự sinh trưởng, ra hoa và tạo quả *in vitro*: Chồi chanh dây *in vitro* cao khoảng 1,5 được chuyển sang môi trường MS cơ bản chứa 30 g/L sucrose và 8 g/L agar và bổ sung ABA ở các nồng độ khác nhau (0; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 mg/L).

- Thí nghiệm 2. Khảo sát ảnh hưởng của bạc và coban đến sự sinh trưởng, ra hoa và tạo quả *in vitro*

*Thí nghiệm 2.1.* Khảo sát ảnh hưởng của  $\text{AgNO}_3$  đến sự sinh trưởng, ra hoa và tạo quả *in vitro*: Các ngọn chồi có chiều dài khoảng 1,5 cm được nuôi cấy trong môi trường MS cơ bản, 30 g/L sucrose và 8 g/L agar và bổ sung  $\text{AgNO}_3$  (0; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0; và 9,0 mg/L) tại các nồng độ khác nhau để khảo sát sự ra hoa *in vitro*.

*Thí nghiệm 2.2.* Khảo sát ảnh hưởng của AgNPs đến sự sinh trưởng, ra hoa và tạo quả *in vitro*: Các ngọn chồi có chiều dài khoảng 1,5 cm được nuôi cấy trong môi trường MS cơ bản có bổ sung AgNPs ở các nồng độ khác nhau (0; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0; và 9,0 mg/L). Các nghiệm thức không bổ sung AgNPs được sử dụng làm đối chứng.

*Thí nghiệm 2.3.* Khảo sát sự ảnh hưởng của CoNPs đến sự sinh trưởng, ra hoa và tạo quả *in vitro*: Các ngọn chồi có chiều dài khoảng 1,5 cm được chuyển sang môi trường MS cơ bản hoặc MS loại bỏ thành phần muối  $\text{CoCl}_2$ , có chứa 30 g/L sucrose và 8 g/L agar và bổ sung CoNPs ở các nồng độ khác nhau (0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 và 0,5 mg/L) để khảo sát sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro*.

- Thí nghiệm 3. Khảo sát ảnh hưởng của polyamine đến sự sinh trưởng, ra hoa và tạo quả *in vitro*

*Thí nghiệm 3.1.* Khảo sát ảnh hưởng của spermidine (Spd) đơn lẻ đến sự sinh trưởng, ra hoa và tạo quả *in vitro*: Các chồi ngọn chanh dây *in vitro* cao khoảng 1,5 cm được chuyển sang môi trường MS bổ sung các nồng độ Spd (0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 mM) để khảo sát sự ra hoa *in vitro*. Sau khi môi trường MS cơ bản được hấp khử trùng, Spd sẽ được lọc qua màng lọc khử trùng và bổ sung lạnh vào môi trường nuôi cấy trong tủ cấy vô trùng.

*Thí nghiệm 3.2.* Khảo sát ảnh hưởng của spermidine kết hợp đến sự sinh trưởng, ra hoa và tạo quả *in vitro*: Tương tự với thí nghiệm trước, các

chồi ngọn chanh dây *in vitro* cao khoảng 1,5 cm được nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung các nồng độ Spd (0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 mM) kết hợp với các yếu tố thích hợp được khảo sát ở thí nghiệm phía trên để tăng cường sự ra hoa *in vitro*.

- Bố trí và ghi nhận sự ra hoa và tạo quả *in vitro*

Đối với các thí nghiệm ra hoa: Mỗi bình cấy 1 mẫu chồi. Mỗi nghiệm thức được tiến hành với 60 bình nuôi cấy và lặp lại 3 lần.

Đặc điểm ra hoa và tạo quả trong quá trình này được giải phẫu và quan sát theo các giai đoạn phát triển. Các đặc điểm ra hoa và tạo quả của cây chanh dây tím 2 năm tuổi ngoài tự nhiên được dùng để so sánh với các cây trong điều kiện *in vitro*. Theo dõi và ghi nhận sự tạo quả đối với các chồi trong các nghiệm thức có sự hình thành hoa *in vitro*.

### **2.3.2. Một số phương pháp và kỹ thuật dùng trong nghiên cứu**

#### **2.3.2.1. Thu nhận và đánh giá một số chỉ tiêu theo dõi trong đề tài**

##### **2.3.2.2. Định lượng hormone nội sinh**

Hàm lượng axit gibberellic (GAs), axit abscisic (ABA) và melatonin của chồi được xác định bằng phương pháp HPLC sau 60 ngày nuôi cấy.

##### **2.3.2.3. Định lượng ethylene**

Phương pháp sắc ký khí với đầu dò ion hóa ngọn lửa được sử dụng để định lượng khí ethylene tích lũy trong bình sau 60 ngày nuôi cấy.

##### **2.3.2.4. Quan sát hình thái giải phẫu**

Những biến đổi tế bào học trong quá trình tạo chồi và tạo hoa *in vitro* được theo dõi bằng phương pháp giải phẫu. Việc quan sát mẫu được tiến hành trên kính hiển vi quang học với thị kính 10×, và vật kính 10× và 40×.

##### **2.3.2.5. Phân tích và xử lý số liệu**

Số liệu thu được từ các thí nghiệm được phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS 26.0 với các phép thử phù hợp với từng thí nghiệm với mức ý nghĩa  $p < 0,05$ . Sử dụng phần mềm Microsoft excel 2019 để vẽ đồ thị và biểu diễn các kết quả thống kê.

## CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Nội dung 1: Nghiên cứu tạo nguồn mẫu cây chanh dây tím

#### 3.1.1. Nghiên cứu tái sinh chồi từ các mẫu cây TCL lóng thân *ex vitro*

Nhìn chung, đối với mẫu cây TCL từ lóng thân *ex vitro*, sự cảm ứng chồi tối ưu (70,37%) được quan sát tại các mẫu cây tại vị trí lóng thân thứ 3. Tỷ lệ cảm ứng chồi của mẫu cây tTCL và ITCL tại vị trí lóng thân thứ 3 khác biệt không đáng kể; tuy nhiên, số chồi ở mẫu cây ITCL cao hơn đáng kể so với mẫu cây tTCL. Các mẫu cây oTCL cho tỷ lệ tái sinh chồi cao hơn so với mẫu cây ITCL. Việc bổ sung AgNPs ở nồng độ thích hợp trong môi trường nuôi cấy cũng cải thiện đáng kể hiệu quả tái sinh chồi của mẫu cây ITCL (5,0 mg/L AgNPs) và oTCL (3,0 mg/L AgNPs) từ các lóng thân *ex vitro*.

#### 3.1.2. Nghiên cứu phát sinh phôi soma từ mẫu cây lá *ex vitro*

Việc bổ sung AgNPs ở tất cả các nồng độ thí nghiệm cho tỷ lệ phát sinh SE và số lượng phôi trên mẫu cây cao hơn so với đối chứng. Trong đó, môi trường nuôi cấy bổ sung kết hợp 2,0 mg/L 2,4-D và 2,0 mg/L AgNPs cho tỷ lệ cảm ứng SE (92,59%) và số phôi trên mẫu (31,67 phôi) tối ưu. Ngoài ra, sự hình thành mô sẹo sinh phôi và SE được quan sát thấy trên môi trường bổ sung AgNPs rõ ràng hơn so với môi trường đối chứng sau 15 ngày, 30 ngày, và 75 ngày. Ngoài ra, các thí nghiệm thử nghiệm đều cho thấy khả năng hình thành cây con sau 120 ngày nuôi cấy. Việc bổ sung 2,0 mg/L 2,4-D kết hợp với các nồng độ của AgNPs đều cho số cây con hình thành từ phôi cao hơn đáng kể so với việc bổ sung đơn lẻ 2,4-D. Trong đó, bổ sung 2,0 mg/L 2,4-D kết hợp với 2,0 mg/L AgNPs cho số lượng cây con hình thành cao nhất (6,67 cây/mẫu).

Dựa trên hiệu quả tái sinh thực vật có thể thấy rằng sự tái sinh chồi từ các mẫu cây oTCL cho hiệu quả cao hơn so với sự phát sinh SE về số lượng mẫu tạo thành cũng như thời gian trung bình của quá trình nuôi cấy.

Đối với mẫu cây oTCL, số chồi tái sinh trung bình sau 60 ngày nuôi cấy là 15,33 chồi/mẫu; trong khi số phôi hình thành từ mẫu mảnh lá là trung bình 6,67 cây con từ phôi được tạo thành sau 120 ngày nuôi cấy. Vì vậy, các chồi tái sinh từ mẫu cây oTCL được lựa chọn làm nguồn mẫu khởi đầu cho các thí nghiệm sau.

### **3.1.3. Ảnh hưởng của AgNPs đến quá trình nhân nhanh chồi**

Kết quả cho thấy việc bổ sung AgNPs trong môi trường nuôi cấy đã tăng cường đáng kể hiệu quả nhân chồi. Nghiệm thức bổ sung 5,0 mg/L AgNPs cho số lượng chồi (13,67 chồi/mẫu) và chiều cao chồi (4,43 cm) cao nhất. Hơn nữa, việc bổ sung AgNPs trong môi trường nuôi cấy cũng làm tăng đáng kể chỉ số SPAD ở lá (33,93) so với đối chứng (22,18).

## **3.2. Nội dung 2: Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình ra hoa và bước đầu tạo quả của cây chanh dây tím trong điều kiện nuôi cấy *in vitro***

### **3.2.1. Ảnh hưởng của một số PGR ngoại sinh đến quá trình ra hoa *in vitro***

#### **3.2.1.1. Ảnh hưởng của GA<sub>3</sub> đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro***

Trong nghiên cứu này, kết quả ban đầu cho thấy sự cảm ứng ra hoa *in vitro* ở cây chanh dây tím không được ghi nhận trong môi trường bổ sung GA<sub>3</sub> đơn lẻ trong giới hạn của thí nghiệm.

#### **3.2.1.2. Ảnh hưởng của ABA đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro***

Nhìn chung, kết quả ban đầu cho thấy sự sinh trưởng của các chồi suy giảm trong môi trường bổ sung ABA, nhưng không gây ra sự ra hoa *in vitro* đối với cây chanh dây tím trong giới hạn của thí nghiệm.

### **3.2.2. Ảnh hưởng của Bạc và Coban đến quá trình ra hoa và tạo quả *in vitro***

#### **3.2.2.1. Ảnh hưởng của AgNO<sub>3</sub> đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro***

Các kết quả ban đầu cho thấy sự cảm ứng ra hoa *in vitro* ở cây chanh dây tím không được ghi nhận trong môi trường bổ sung AgNO<sub>3</sub> đơn lẻ tại các nồng độ thí nghiệm.

### 3.2.2.2. Ảnh hưởng của AgNPs đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro*

Sau 60 ngày nuôi cấy, sự sinh trưởng của các chồi chanh dây tím được tăng cường đáng kể trong môi trường nuôi cấy bổ sung AgNPs tại nồng độ thích hợp. Chiều cao chồi cao nhất (7,50 cm) được ghi nhận ở nồng độ 7,0 mg/L AgNPs và cao hơn đáng kể so với đối chứng (2,07 cm). Nghiệm thức bổ sung 3,0 mg/L AgNPs làm tăng đáng kể số lá (13,33 lá/chồi) và chỉ số SPAD (30,12) so với đối chứng (6,67 lá/chồi và 27,12; tương ứng). Tuy nhiên, chỉ số SPAD giảm đáng kể khi tăng nồng độ AgNPs bổ sung lên 7,0 và 9,0 mg/L so với đối chứng (Bảng 3.6).

**Bảng 3.6.** Ảnh hưởng của AgNPs đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro* của chồi sau 60 ngày nuôi cấy.

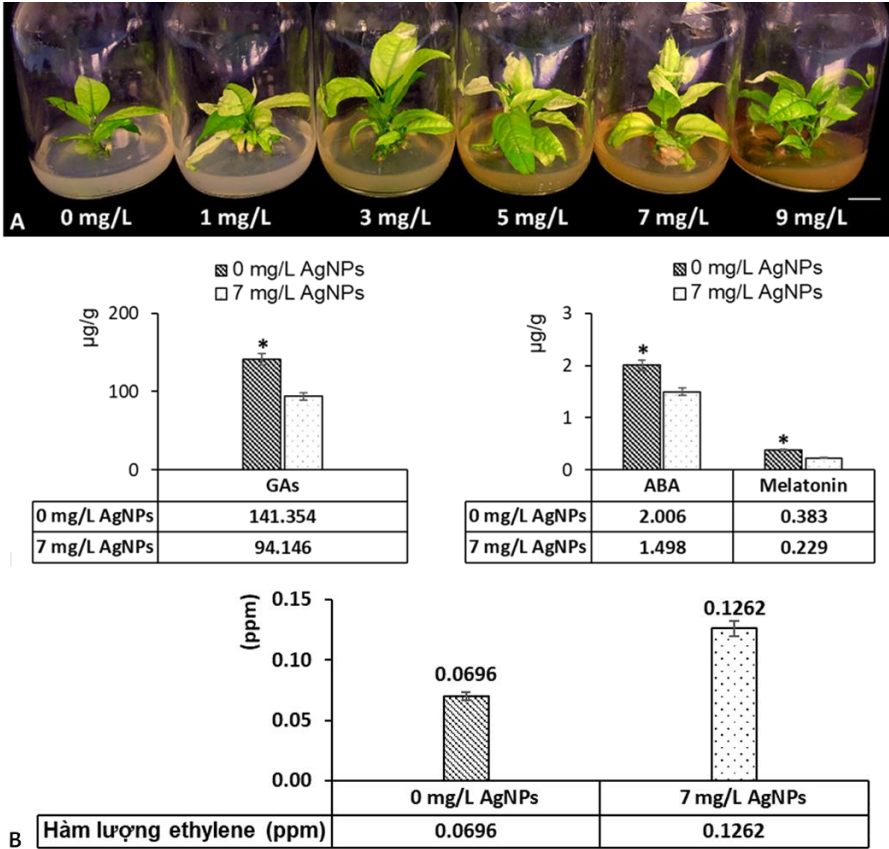
| AgNPs (mg/L) | Chiều cao chồi (cm) | Số lá /chồi         | SPAD                | Tỉ lệ ra hoa (%)   | Số nụ hoa /chồi    |
|--------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| 0            | 2,07 <sup>e*</sup>  | 6,67 <sup>d</sup>   | 27,12 <sup>bc</sup> | 0,00 <sup>e</sup>  | -                  |
| 1,0          | 3,50 <sup>d</sup>   | 10,67 <sup>c</sup>  | 28,40 <sup>ab</sup> | 0,00 <sup>e</sup>  | -                  |
| 3,0          | 7,23 <sup>a</sup>   | 13,33 <sup>ab</sup> | 30,12 <sup>a</sup>  | 11,58 <sup>d</sup> | 0,67 <sup>bc</sup> |
| 5,0          | 6,27 <sup>c</sup>   | 10,67 <sup>c</sup>  | 25,68 <sup>cd</sup> | 23,60 <sup>c</sup> | 1,00 <sup>b</sup>  |
| 7,0          | 7,50 <sup>a</sup>   | 12,00 <sup>bc</sup> | 24,73 <sup>d</sup>  | 51,72 <sup>a</sup> | 2,33 <sup>a</sup>  |
| 9,0          | 6,77 <sup>b</sup>   | 14,67 <sup>a</sup>  | 24,00 <sup>d</sup>  | 38,20 <sup>b</sup> | 1,33 <sup>b</sup>  |

\* Trong cùng một cột, các giá trị trung bình theo sau bởi cùng một ký tự (a, b, ...) thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở  $p < 0,05$  (Duncan's test).

Mặt khác, sự ra hoa *in vitro* đã được quan sát thấy ở các chồi được nuôi cấy trong môi trường bổ sung từ 3,0 đến 9,0 mg/L AgNPs với tỉ lệ ra hoa dao động từ 11,58% đến 51,72% sau 60 ngày nuôi cấy (Bảng 3.6, Hình 3.14A). Trong đó, các chồi được nuôi cấy trong môi trường bổ sung 7,0 mg/L AgNPs cho tỉ lệ ra hoa (51,72%) và số hoa (2,33 hoa/chồi) cao nhất. Tỉ lệ ra hoa và số hoa giảm đáng kể khi tăng nồng độ AgNPs bổ sung trong môi trường nuôi cấy lên 9,0 mg/L (38,20% và 1,33 hoa/chồi, tương ứng).

Ngoài ra, các chồi được nuôi cấy trong môi trường bổ sung 7,0 mg/L AgNPs cho thấy hàm lượng GAs (94,146  $\mu\text{g/g}$ ) và ABA (1,498  $\mu\text{g/g}$ ) nội sinh thấp hơn đáng kể so với đối chứng (141,354  $\mu\text{g/g}$  và 2,006  $\mu\text{g/g}$ , tương ứng) sau 60 ngày nuôi cấy. Trong nghiên cứu này, hàm lượng Melatonin trong các chồi được nuôi cấy trong nghiệm thức bổ sung 7,0 mg/L AgNPs (0,229  $\mu\text{g/g}$ ) cũng thấp hơn đáng kể so với đối chứng (0,383  $\mu\text{g/g}$ ) (Hình 3.14B).

Ngoài ra, hàm lượng ethylene trong bình nuôi cấy tại nghiệm thức bổ sung 7,0 mg/L AgNPs (0,1262 ppm) cũng cao hơn so với nghiệm thức không bổ sung AgNPs (0,0696 ppm) (Hình 3.14B). Tuy nhiên, sự tích tụ ethylene cao hơn có thể là do nồng độ cao của AgNPs bổ sung và giai đoạn sinh lý của thực vật. Do đó, sự tích tụ ethylene và tác động của chúng đối với sự ra hoa đối với cây chanh dây tím cần được khảo sát làm rõ trong những nghiên cứu tiếp theo. Mặt khác, kết quả quan sát cho thấy các chồi hoa được cảm ứng tại vị trí dưới nách lá ở các đốt gần với ngọn chồi. Ở chồi không cảm ứng ra hoa, các chồi sinh dưỡng thường được hình thành phát triển ở các đốt thân (Hình 3.15). Tại thời điểm sau 40 - 45 ngày nuôi cấy trong điều kiện *in vitro*, kết quả giải phẫu cho thấy sự chuyển đổi từ chồi sinh dưỡng sang chồi hoa trong môi trường nuôi cấy bổ sung 7,0 mg/L AgNPs. Các chồi hoa có đỉnh sinh trưởng mở rộng, phình to lên theo dạng hình vòm và hình thành sơ khởi hoa (Hình 3.17).

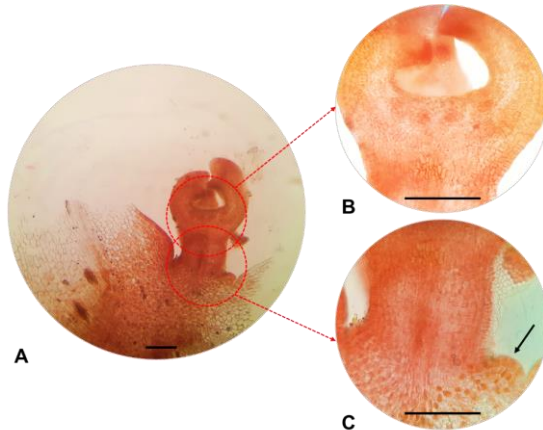


**Hình 3.14.** Ảnh hưởng của AgNPs đến sự ra hoa *in vitro*, sự thay đổi hormone nội sinh và sự tích lũy ethylene của chồi sau 60 ngày nuôi cấy. **A.** Sự ra hoa *in vitro* trong môi trường bổ sung AgNPs ở các nồng độ khác nhau (Thước: 1 cm). **B.** Hàm lượng GAs, ABA, melatonin của chồi và hàm lượng ethylene tích lũy trong bình nuôi cấy ở nghiệm thức bổ sung 7,0 mg/L AgNPs và đối chứng.



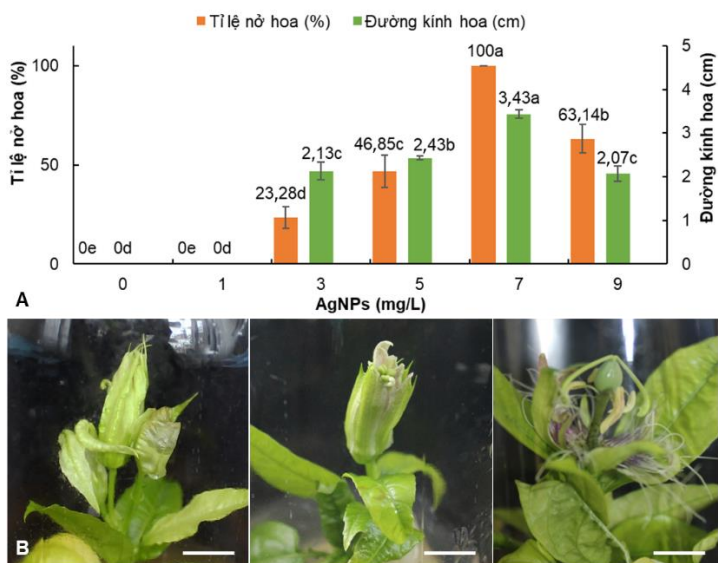


**Hình 3.15.** Sự hình thành và phát triển của chồi hoa *in vitro* trong môi trường bổ sung 7,0 mg/L AgNPs. **A.** Vị trí hình thành các chồi hoa *in vitro*. **B.** Chồi sinh dưỡng phát triển khi chồi hoa không hình thành. **C.** Sự hình thành chồi hoa ở ngọn chồi sau 45 ngày nuôi cây. **D.** và **E.** Sự hình thành chồi hoa ở đốt thân sau 45 ngày nuôi cây (1 - vị trí thân, 2 - vị trí vảy, 3 - vị trí lá, 4 - vị trí chồi sinh dưỡng, 5 - vị trí chồi hoa). (Thước 1 cm). (Mũi tên đỏ chỉ vị trí của chồi hoa).



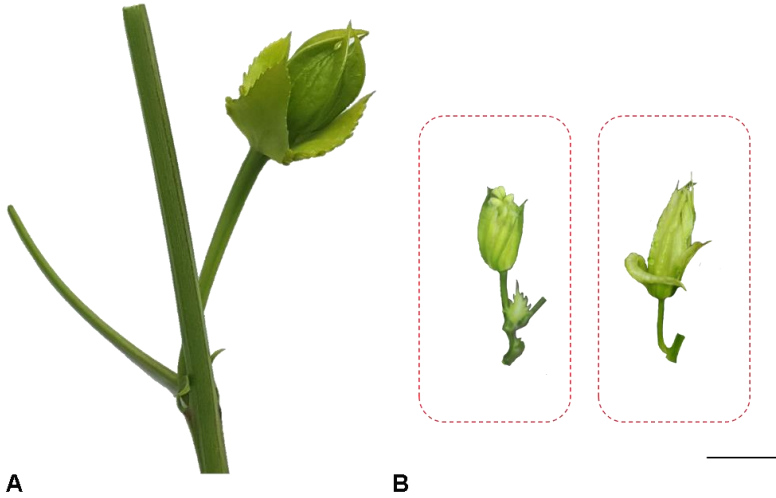
**Hình 3.17.** Giải phẫu chồi hoa từ chồi *in vitro* nuôi cây trong môi trường bổ sung 7,0 mg/L AgNPs sau 45 ngày nuôi cây. **A.** Chồi hoa. **B.** Vùng mô phân sinh mở rộng của sơ khởi hoa. **C.** Vùng mô hình thành tua cuốn (Thước: 40  $\mu$ m).

Kết quả cũng cho thấy tỉ lệ nở hoa (23,28 - 100%) được quan sát thấy trong các nghiệm thức bổ sung AgNPs tại ngày nuôi cấy thứ 70. Tỉ lệ nở hoa cao nhất (100%) được ghi nhận ở nghiệm thức bổ sung 7,0 mg/L AgNPs; tuy nhiên, khi nồng độ AgNPs tăng lên 9,0 mg/L, tỉ lệ nở hoa giảm mạnh (63,14%). Ngoài ra, những hoa có đường kính lớn nhất (3,43 cm) cũng được quan sát thấy trong nghiệm thức bổ sung 7,0 mg/L AgNPs (Hình 3.18).

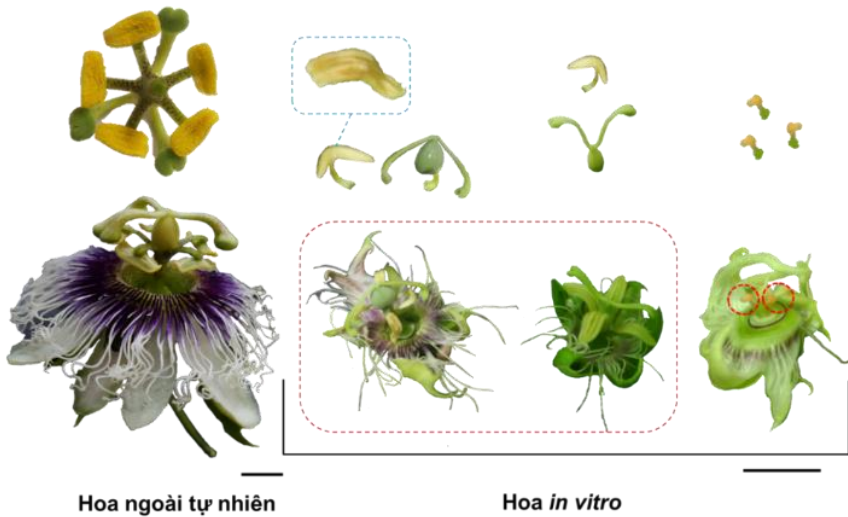


**Hình 3.18.** Ảnh hưởng của AgNPs đến sự nở hoa *in vitro* sau 70 ngày nuôi cấy. A. Tỉ lệ nở hoa và đường kính hoa trong môi trường nuôi cấy bổ sung các nồng độ AgNPs khác nhau. B. Sự nở hoa trong môi trường bổ sung 7,0 mg/L AgNPs (thước: 1 cm).

Mặt khác, khi so sánh với nụ hoa ngoài tự nhiên từ cây 2 năm tuổi cho thấy rằng, nụ hoa *in vitro* có kích thước nhỏ, các lá đài bao quanh mỏng hơn. Ngoài ra, đa số hoa *in vitro* thường khuyết thiếu các lá bắc hoặc các lá bắc rụng trong quá trình phát triển của nụ hoa (Hình 3.19). Một số chương trình phát triển ở thực vật được quy nghiêm ngặt có thể bị tổn hại bởi các đột biến hoặc do tín hiệu môi trường. Do đó, hiện tượng ghi nhận trên đây cần được tiếp tục làm rõ ở các nghiên cứu tiếp theo.



**Hình 3.19.** Đặc điểm của nụ hoa ngoài tự nhiên và nụ hoa *in vitro*. **A.** Nụ hoa ngoài tự nhiên từ cây 2 năm tuổi. **B.** Nụ hoa *in vitro* từ chồi ngọn sau 60 ngày nuôi cây trong môi trường bổ sung 7,0 mg/L AgNPs. (Thước: 1 cm).



**Hình 3.20.** Một số đặc điểm của hoa chanh dây ngoài tự nhiên từ cây 2 năm tuổi và hoa từ chồi *in vitro* (Thước: 1 cm).

Ngoài ra, khi so sánh các hoa *in vitro* và hoa ngoài tự nhiên cho thấy nhiều đặc điểm khác biệt. Các hoa *in vitro* có kích thước nhỏ hơn, đồng thời một số hoa *in vitro* có những đặc điểm bất thường so với hoa ngoài tự nhiên. Một số đặc điểm sai khác điển hình như sự ít đi của các hạt phấn, sự tiêu biến của cánh hoa, sự thiếu đi một vôi nhụy hoặc sự teo tóp của các nhị hoa (Hình 3.20).

### 3.2.2.3. Ảnh hưởng của AgNPs đến sự tạo quả *in vitro*

Kết quả ghi nhận cho thấy rằng hầu hết các hoa *in vitro* có các cơ quan sinh sản như bầu nhụy, vòi nhụy và bao phấn có khả năng thụ phấn và hình thành quả non sau 90 ngày nuôi cấy (Hình 3.21). Những hoa có những bất thường về nhị thường không có khả năng tạo quả *in vitro*. Những hoa không tạo quả có dấu hiệu héo sau khi nở khoảng 10 ngày nở hoa (Hình 3.21B). Tỷ lệ tạo quả ở nghiệm thức sử dụng AgNPs ở nồng độ thích hợp cao hơn đáng kể so với đối chứng. Trong đó, nghiệm thức sử dụng 7,0 mg/L AgNPs cho tỷ lệ tạo quả (56,67%), số quả (1,67 quả) và đường kính quả (1,13 cm) cao nhất (Bảng 3.7).

**Bảng 3.7.** Ảnh hưởng của AgNPs đến quá trình tạo quả *in vitro* sau 90 ngày nuôi cấy.

| AgNPs (mg/L) | Tỷ lệ tạo quả (%)  | Số quả /chồi      | Đường kính quả (cm) |
|--------------|--------------------|-------------------|---------------------|
| 0            | 0,00 <sup>d*</sup> | 0,00 <sup>c</sup> | 0,00 <sup>d</sup>   |
| 1,0          | 0,00 <sup>d</sup>  | 0,00 <sup>c</sup> | 0,00 <sup>d</sup>   |
| 3,0          | 20,09 <sup>c</sup> | 1,00 <sup>b</sup> | 0,07 <sup>c</sup>   |
| 5,0          | 35,82 <sup>b</sup> | 1,00 <sup>b</sup> | 0,77 <sup>bc</sup>  |
| 7,0          | 56,79 <sup>a</sup> | 1,67 <sup>a</sup> | 1,13 <sup>a</sup>   |
| 9,0          | 33,53 <sup>b</sup> | 1,00 <sup>b</sup> | 0,83 <sup>bc</sup>  |

\* Trong cùng một cột, các giá trị trung bình theo sau bởi cùng một ký tự (a, b, ...) thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở  $p < 0,05$  (Duncan's test).



**Hình 3.21.** Sự nở hoa và tạo quả *in vitro* trong môi trường bổ sung 7,0 mg/L AgNPs. **A.** Hoa *in vitro* có đầy đủ nhị và nhụy. **B.** Hoa không tạo quả héo sau khi nở 10 ngày. **C.** Quả non hình thành sau 20 ngày hoa nở (Thước: 1 cm). (Mũi tên đỏ chỉ vị trí của hoa, mũi tên xanh chỉ vị trí của quả).

#### 3.2.2.4. Ảnh hưởng của CoNPs đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro*

Trong nghiên cứu này, các chồi chanh dây tím không ra hoa *in vitro* trong môi trường bổ sung CoNPs tại các nồng độ thí nghiệm.

#### 3.2.3. Ảnh hưởng của Spermidine đến sự sinh trưởng, ra hoa và tạo quả *in vitro*

Kết quả ghi nhận cho thấy rằng, chiều cao chồi được cải thiện đáng kể trong môi trường bổ sung Spd sau 90 ngày nuôi cấy. Cụ thể, bổ sung Spd ở nồng độ từ 0,05 - 0,2 mM cho chiều cao chồi (5,77 - 8,87 cm) cao hơn đáng kể so với nghiệm thức đối chứng (5,13 cm). Số lá trên chồi cao nhất (10,33 lá/chồi) được ghi nhận trong môi trường bổ sung 0,1 mM Spd. Ngoài ra, kết quả cũng cho thấy chỉ số SPAD tăng đáng kể trong môi trường bổ sung 0,1 mM và 0,2 mM Spd (33,75 và 32,94; tương ứng). Tuy nhiên, khi tăng nồng độ Spd lên 0,3 mM, kết quả ghi nhận một sự sụt giảm đáng kể cả về chiều cao của chồi và chỉ số SPAD ở lá.

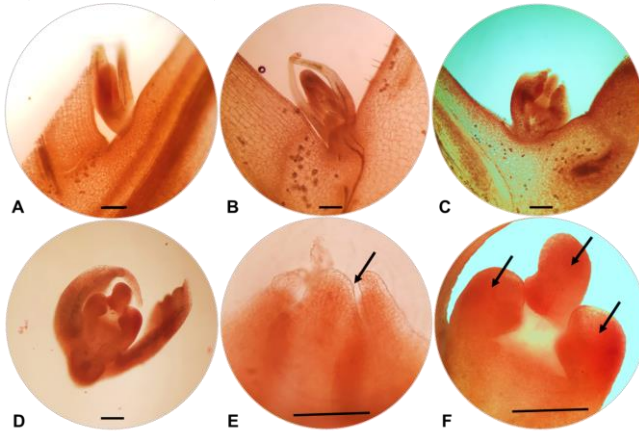
Trong các thí nghiệm trước, sự ra hoa *in vitro* ở chanh dây tím được ghi nhận tối ưu trong môi trường bổ sung 7,0 mg/L AgNPs. Trong thí nghiệm này, các nồng độ Spd khác nhau sẽ được bổ sung kết hợp với 7,0 mg/L AgNPs để khảo sát sự ra hoa *in vitro*. Kết quả cho thấy rằng, môi trường nuôi cấy bổ sung kết hợp Spd và AgNPs tác động đáng kể đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro* ở cây chanh dây tím. Sau 90 ngày nuôi cấy, chiều cao chồi được tăng cường đáng kể trong môi trường bổ sung Spd tại các nồng độ khác nhau. Chiều cao chồi cao nhất (9,17 cm) được ghi nhận tại nghiệm thức bổ sung 0,3 mM Spd. Các nghiệm thức bổ sung 0,05 và 0,1 mM cho số lá trên chồi cao (13,67 và 14,33 lá/chồi, tương ứng). Tuy nhiên, khi tăng nồng độ Spd lên 0,2 và 0,3 mM, số lá trên chồi giảm đáng kể (8,00 và 8,33 chồi/mẫu, tương ứng). Mặt khác, sự ra hoa *in vitro* chỉ được ghi nhận đối với các chồi trong môi trường bổ sung kết hợp 0,05 mM Spd và 7,0 mg/L AgNPs sau 90 ngày nuôi cấy (với 17,78% số chồi ra hoa và 1,33 nụ hoa trên chồi). Các nghiệm thức bổ sung kết hợp với nồng độ Spd từ 0,1 - 0,3 mM không ghi nhận sự ra hoa trong thời gian khảo sát (Bảng 3.11).

**Bảng 3.11.** Ảnh hưởng của Spd trong môi trường bổ sung AgNPs đến sự ra hoa *in vitro* sau 90 ngày nuôi cấy.

| AgNPs (mg/L) | Spd (mM) | Chiều cao chồi (cm) | Số lá /chồi        | Tỉ lệ ra hoa (%) | Số nụ hoa /chồi |
|--------------|----------|---------------------|--------------------|------------------|-----------------|
| 7,0          | 0,05     | 8,03 <sup>b*</sup>  | 13,67 <sup>a</sup> | 17,78            | 1,33            |
|              | 0,1      | 7,90 <sup>b</sup>   | 14,33 <sup>a</sup> | 0,00             | -               |
|              | 0,2      | 7,77 <sup>b</sup>   | 8,00 <sup>b</sup>  | 0,00             | -               |
|              | 0,3      | 9,17 <sup>a</sup>   | 8,33 <sup>b</sup>  | 0,00             | -               |

\* Trong cùng một cột, các giá trị trung bình theo sau bởi cùng một ký tự (a, b, ...) thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở  $p < 0,05$  (Tukey's test).

Mặt khác, quan sát một số chồi trong môi trường bổ sung 0,05 mM Spd và 7,0 mg/L AgNPs cho thấy có sự xuất hiện của các tua cuốn sau 60 ngày nuôi cấy. Đây cũng là vị trí xuất hiện đồng thời của các mô phân sinh hoa *in vitro* (Hình 3.29, 3.31).

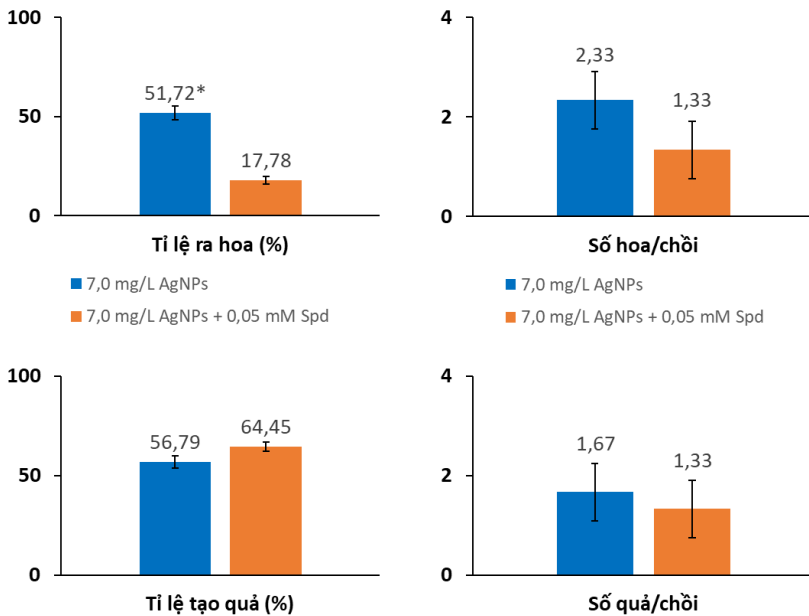


**Hình 3.29.** Hình ảnh giải phẫu của chồi hoa cảm ứng từ chồi *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy. **A và B.** Chồi sinh dưỡng. **C - F.** Sơ khởi hoa (Thước: 40  $\mu$ m).



**Hình 3.31.** Sự hình thành chồi hoa của cây chanh dây tím ở điều kiện tự nhiên và *in vitro*. Ngọn (**A**) và đốt thân (**B, C**) chứa chồi hoa của cây ngoài tự nhiên. Ngọn (**D**) và đốt thân (**E, F**) chứa chồi hoa của cây *in vitro*. (Thước: 1 mm).

Đối với sự tạo quả *in vitro*, kết quả ghi nhận cho thấy rằng hầu hết các có các cơ quan sinh sản như bầu nhụy, vòi nhụy và bao phấn có khả năng hình thành quả non (Hình 3.32). Các hoa hình thành có khả năng tạo quả *in vitro* (64,45%) và đạt trung bình 1,33 quả/chồi sau 120 ngày nuôi cấy. Khi so sánh với việc bổ sung 7,0 mg/L AgNPs đơn lẻ, việc bổ sung Spd kết hợp với AgNPs cho thấy sự sinh trưởng chồi tốt hơn so với bổ sung riêng lẻ AgNPs. Tuy nhiên, việc bổ sung kết hợp với Spd làm chậm quá trình ra hoa so với bổ sung AgNPs riêng lẻ.



**Hình 3.32.** So sánh sự ra hoa và tạo quả *in vitro* của chồi chanh dây tím trong môi trường bổ sung 7,0 mg/L AgNPs riêng lẻ và kết hợp với 0,05 mM Spd.

Kết quả trong nghiên cứu hiện tại bước đầu ghi nhận sự trì hoãn ra hoa trong môi trường bổ các nồng độ Spm đơn lẻ và kết hợp với AgNPs. Tuy nhiên, cơ chế chính xác và tương tác của AgNPs với Spd trong quá trình này cần được làm rõ trong các nghiên cứu tiếp theo.



## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### Kết luận

#### ***Nội dung 1: Nghiên cứu tạo nguồn mẫu cây in vitro cây chanh dây tím.***

Nguồn mẫu cây từ quá trình phát sinh chồi tối ưu hơn nguồn mẫu từ quá trình phát sinh SE dựa trên hiệu quả tái sinh.

Hiệu quả tái sinh chồi tối ưu được ghi nhận từ các mẫu cây oTCL tại lóng thân thứ 3 trong môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L BA; 1,0 mg/L NAA và 3,0 mg/L AgNPs.

Môi trường MS bổ sung 1 mg/L mT và 3 mg/L AgNPs thích hợp để nhân nhanh chồi.

#### ***Nội dung 2: Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến sự ra hoa và bước đầu tạo quả của cây chanh dây tím trong điều kiện in vitro.***

Tại nồng độ thích hợp, GA<sub>3</sub> tăng cường khả năng sinh trưởng của chồi, trong khi ABA làm giảm sinh trưởng của chồi tại tất cả các nồng độ bổ sung. Môi trường bổ sung đơn lẻ ABA hoặc GA<sub>3</sub> tại các nồng độ thí nghiệm không kích thích sự ra hoa của chồi chanh dây tím trong điều kiện *in vitro*.

Bạc ở dạng NPs kích thích sự ra hoa từ các chồi của cây chanh dây tím, trong khi ở dạng AgNO<sub>3</sub> không gây cảm ứng ra hoa trong giới hạn của nghiên cứu. Tỷ lệ ra hoa dao động từ 11,67% đến 51,67% sau 60 ngày nuôi cấy. Khả năng ra hoa và tạo quả *in vitro* phụ thuộc đáng kể vào nồng độ AgNPs bổ sung. Một số hoa *in vitro* mang các đặc điểm cấu trúc khác biệt so với cấu trúc hoa ngoài tự nhiên. Đối với CoNPs, các chồi không ra hoa ở tất cả nồng độ thí nghiệm sau 60 ngày nuôi cấy.

Sự ra hoa *in vitro* không được ghi nhận đối với các chồi trong môi trường bổ sung Spd đơn lẻ tại các nồng độ thí nghiệm. Các chồi chậm ra hoa, tỷ lệ ra hoa và số hoa giảm trong môi trường bổ sung Spd kết hợp với AgNPs

so với việc bổ sung AgNPs đơn lẻ. Việc bổ sung kết hợp với Spd cho cấu trúc cụm hoa gần với cấu trúc cụm hoa ngoài tự nhiên.

### **Kiến nghị**

Trong khuôn khổ về phạm vi và giới hạn nghiên cứu nhất định, để có thể nghiên cứu sâu, hoàn chỉnh và có khả năng ứng dụng cao hơn, một số kiến nghị được đề xuất như sau:

Tiếp tục nghiên cứu sự ra hoa và tạo quả *in vitro* của cây chanh dây tím từ nguồn mẫu cấy từ SE.

Nghiên cứu đã chỉ ra được AgNPs có ảnh hưởng tích cực đến sự ra hoa và tạo quả *in vitro*; tuy nhiên, để làm rõ được các tác động này cần tiếp tục đi sâu nghiên cứu về sự biến đổi động học của các hormone nội sinh và đặc biệt là biểu hiện của các gen liên quan.

Nghiên cứu chỉ dừng lại việc ghi nhận bước đầu tạo quả *in vitro* của cây chanh dây tím. Do đó, các nghiên cứu tiếp theo cần được thực hiện để hiểu rõ hơn về các đặc điểm sinh lý cũng như các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình này.

**DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN  
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

**1. Trương Hoài Phong**, Tran Hieu, Hoang Thanh Tung, Nguyen Thi Nhu Mai, Hoang Dac Khai, Do Manh Cuong, Vu Quoc Luan, Nguyen Ba Nam, Duong Tan Nhut, Silver nanoparticles enhance the *in vitro* plant regeneration via thin cell layer culture system in purple passion fruit. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **2023**, 155, 403-415.

<https://doi.org/10.1007/s11240-023-02566-8>

**2. Trương Hoài Phong**, Tran Hieu, Hoang Thanh Tung, Nguyen Thi Nhu Mai, Hoang Dac Khai, Do Manh Cuong, Vu Quoc Luan, Nguyen Ba Nam, Duong Tan Nhut, Somatic embryogenesis as potential method for commercial propagation in *Passiflora edulis* Sims f. *edulis* – an important horticultural crop. *Scientia Horticulturae*, **2023**, 316, 112020.

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112020>

**3. Trương Hoài Phong**, Tran Hieu, Hoang Thanh Tung, Nguyen Thi Nhu Mai, Hoang Dac Khai, Do Manh Cuong, Vu Quoc Luan, Nguyen Ba Nam, Duong Tan Nhut, Silver nanoparticles: a positive factor for *in vitro* flowering and fruiting of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *edulis*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **2022**, 151, 401-412.

<https://doi.org/10.1007/s11240-022-02361-x>