

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

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

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



LÊ THẾ BIÊN

**NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH PHÁT SINH HÌNH THÁI
VÀ SINH TRƯỞNG *IN VITRO* CỦA MỘT SỐ CÂY
TRỒNG CÓ GIÁ TRỊ KINH TẾ DƯỚI ĐIỀU KIỆN
MÔ PHỎNG KHÔNG TRỌNG LỰC**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC
Mã số: 9 42 02 01

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. GS.TS. Dương Tấn Nhựt, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên
2. TS. Bùi Văn Thế Vinh, Trường Đại học Công nghệ TP.HCM

Phản biện 1: GS.TS. Nguyễn Trung Thành

Phản biện 2: GS.TS. Nguyễn Huy Hoàng

Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Du Sanh

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 8 giờ 30 phút, ngày 06 tháng 4 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

Lý do chọn đề tài

Trọng lực là một đại lượng hằng số đóng vai trò quyết định đối với sự tồn vong, sinh trưởng, phát triển và tiến hoá của thực vật. Do đó, câu hỏi đặt ra là khi thoát khỏi sự chi phối của trọng lực, thực vật sẽ bị những tác động như thế nào? Liệu chúng có phát huy được tính mềm dẻo đến kỳ diệu vốn có để chống chọi với những điều kiện sống bị thay đổi to lớn như đã từng gặp trong lịch sử tiến hóa của mình hay không? Đó là câu hỏi đã thách thức các nhà khoa học trong một thời gian rất dài.

Trong năm thập kỷ qua, cùng với sự phát triển bùng nổ của khoa học vũ trụ, những hiểu biết mới đây thú vị về đời sống của thực vật trong môi trường trọng lực bị thay đổi đã dần được hé lộ. Khi con người khám phá sâu vào không gian, công tác hậu cần và bài toán kinh tế của việc vận chuyển thực phẩm đóng gói cho thành viên phi hành đoàn ngày càng trở nên bất cập. Bên cạnh đó, các chất dinh dưỡng trong thực phẩm đóng gói có xu hướng giảm chất lượng đáng kể khi được bảo quản trong không gian. Do đó, các thí nghiệm sinh học thực vật trong không gian là cần thiết nhằm cung cấp thực phẩm tươi sống cho phi hành gia và tạo nền tảng xây dựng hệ thống tái tạo sinh học hỗ trợ sự sống bền vững để con người khám phá không gian trong thời gian dài.

Các thí nghiệm sinh học trong điều kiện trọng lực thay đổi đã được thực hiện thông qua các chuyến bay của tàu vũ trụ quanh quỹ đạo và các nền tảng điều kiện mô phỏng không trọng lực (Simulated microgravity - SMG) bằng các thiết bị như Clinostat (2-D và 3-D), máy định vị ngẫu nhiên (Random positioning machine - RPM) trên mặt đất. Ví dụ, ảnh hưởng của không trọng lực (Microgravity – MG) lên những thay đổi ở cấp độ tế bào và phân tử dẫn đến thay đổi kiểu hình của thực vật như những thay đổi trong thành tế bào và chu kỳ tế bào đã được làm sáng tỏ chi tiết. Quá trình phân chia mạnh mẽ và tăng sinh của tế bào thực vật đã được quan sát rõ ràng dưới điều kiện MG, các phản ứng sinh lý, đặc biệt là sự phân bố/dịch

chuyển của các tế bào sỏi thăng bằng (statolith), quá trình quang hợp và sự biến dạng của các hạt tinh bột đã được báo cáo. Sự thay đổi sinh hóa cụ thể là thay đổi hàm lượng chất diệp lục, thay đổi vị trí các hormone thực vật và cân bằng nội môi canxi trong tế bào để đáp ứng không trọng lực đã được ghi nhận rõ ràng. Các kiến thức thu được thông qua các thí nghiệm này đã được ứng dụng thành công với việc trồng cây Xà lách của Cơ quan hàng không và vũ trụ Hoa Kỳ (NASA) trên Trạm Vũ trụ quốc tế (ISS) để góp phần bổ ích vào chế độ ăn uống của phi hành đoàn.

Bên cạnh đó, kết quả từ Chương trình Hạt giống không gian cho tương lai Châu Á giai đoạn 2010 – 2011 cho thấy việc xử lý hạt giống ở môi trường không trọng lực rồi đem về gieo trồng ở mặt đất đã cho thấy hạt giống đã được kích thích nảy mầm nhiều hơn và tăng khả năng tích lũy các hợp chất thứ cấp trong cây. Điều này mở ra tiềm năng to lớn cho lĩnh vực công nghệ sinh học trong việc chọn tạo giống mới cũng như sản xuất sinh khối và thu nhận các dược chất quý phục vụ cho công nghiệp dược phẩm.

Tuy nhiên, đa số các nghiên cứu kể trên được thực hiện trong không gian đòi hỏi trình độ kỹ thuật chuyên môn cao từ các nhà khoa học, các chế độ kiểm soát nghiêm ngặt cũng như cơ sở vật chất hiện đại nên bị giới hạn trong phạm vi một số cường quốc về không gian. Các quốc gia đang phát triển như Việt Nam chưa có đủ tiềm lực về kinh tế và trình độ khoa học kỹ thuật để thực hiện các nghiên cứu trong điều kiện này. Vì vậy, việc lựa chọn một giải pháp khả thi hơn đã được thúc đẩy bằng thiết bị mô phỏng điều kiện không trọng lực trên mặt đất được xem là phù hợp cho việc nghiên cứu chủ động và dài hạn trong bối cảnh khoa học vũ trụ còn rất non trẻ của nước nhà. Đặc biệt, việc nghiên cứu để tìm hiểu quá trình phát sinh hình thái và sinh trưởng của thực vật bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào dưới điều kiện mô phỏng không trọng lực là phương pháp thích hợp cho việc ghi nhận vai trò của không trọng lực ở các giai đoạn sớm trong chu trình sống của thực vật. Từ đó, ứng dụng vào công tác vi nhân giống và sản xuất sinh khối thực vật, cũng như cung cấp thêm các tri thức mới cho sứ mệnh chinh

phục không gian của loài người bằng việc tạo ra các hệ thống hỗ trợ sự sống sinh học bên ngoài Trái Đất.

Đề tài “Nghiên cứu quá trình phát sinh hình thái và sinh trưởng *in vitro* của một số cây trồng có giá trị kinh tế dưới điều kiện mô phỏng không trọng lực” là hướng nghiên cứu hoàn toàn mới trên thế giới cũng như tại Việt Nam. Nghiên cứu được thực hiện trên ba loại cây trồng đại diện cho nhóm cây hoa cảnh (Thu hải đường), cây ăn trái (Dâu tây) và cây dược liệu (Diệp hạ châu đắng) đã được khẳng định có giá trị kinh tế cao cũng như kỳ vọng chúng là các giống cây trồng có khả năng đáp ứng được nhu cầu cơ bản về dinh dưỡng, sức khỏe và tinh thần cho con người khi sống bên ngoài Trái Đất.

Mục tiêu của đề tài

Mục tiêu tổng quát

Đánh giá ảnh hưởng của điều kiện SMG lên quá trình phát sinh hình thái và sinh trưởng *in vitro* của cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và cây Diệp hạ châu đắng.

Mục tiêu cụ thể

Đánh giá ảnh hưởng của điều kiện SMG lên các con đường phát sinh hình thái của cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và cây Diệp hạ châu đắng.

Đánh giá ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hàm lượng và tỷ lệ hormone nội sinh, hoạt tính enzyme kháng oxy hóa, tích lũy hợp chất thứ cấp và chuyển hóa năng lượng trong quá trình phát sinh hình thái cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và cây Diệp hạ châu đắng.

Nghiên cứu ghi nhận sự sinh trưởng ở điều kiện trọng lực thực của cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và cây Diệp hạ châu đắng có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện SMG.

Những đóng góp mới của luận án

Kết quả thu được cho thấy điều kiện SMG dẫn tới các con đường phát sinh hình thái khác nhau của cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và

cây Diệp hạ châu đắng. Các đối tượng thực vật trong nghiên cứu đã có những thay đổi về sinh lý, sinh hóa để đáp ứng thích nghi với điều kiện trọng lực bị thay đổi. Ngoài ra, các mẫu cây phát sinh hình thái *in vitro* dưới điều kiện SMG khi được đưa về nuôi cấy ở điều kiện trọng lực thực có sự sinh trưởng diễn ra bình thường, thậm chí một số chỉ tiêu tỏ ra ưu việt hơn so với đối chứng.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Luận án đã tham khảo và tổng kết về 6 vấn đề chính với các nội dung liên quan đến: (1) Thực vật và trọng lực; (2) Điều kiện không trọng lực thực và điều kiện mô phỏng không trọng lực; (3) Quá trình phát sinh hình thái thực vật dưới điều kiện MG; (4) Quá trình sinh trưởng của thực vật dưới điều kiện MG; (5) Sự thay đổi sinh lý và sinh hóa của thực vật dưới điều kiện MG; (6) Sơ lược về đối tượng thực vật.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

2.1.1. Đối tượng thực vật

Mẫu cuống lá 4 tháng tuổi của cây hoa Thu hải đường (*Begonia tuberosus*) của Dalat Hasfarm (Lâm Đồng, Việt Nam) được sử dụng làm nguồn mẫu nuôi ban đầu. Mẫu lá của cây Dâu tây Camarosa (*Fragaria × ananassa* Duch.) *in vitro* 4 tuần tuổi đã được xác định tính đa dạng di truyền và đã được ổn định qua nhiều lần cấy chuyển trên môi trường MS tại Trung tâm Nghiên cứu Đa dạng sinh học và Biến đổi khí hậu (Trường Đại học Đà Lạt, Lâm Đồng, Việt Nam) được sử dụng làm nguồn mẫu ban đầu. Mẫu lóng thân của cây Diệp hạ châu đắng (*Phyllanthus amarus* Schum. & Thonn.) *in vitro* 4 tuần tuổi sinh trưởng và phát triển tốt đã được ổn định qua nhiều lần cấy chuyển trên môi trường MS tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên (Lâm Đồng, Việt Nam) được sử dụng làm nguồn mẫu ban đầu.

2.1.2. Môi trường nuôi cấy

Môi trường được sử dụng của các thí nghiệm là môi trường khoáng MS bổ sung hoặc không bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thực vật tùy vào mục đích thí nghiệm, pH được điều chỉnh về 5,8 và hấp tiệt trùng trong nồi hấp ở 121°C, 15 psi trong vòng 20 phút.

2.1.3. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất

Thiết bị Clinostat 2-D (Advanced Engineering Services Co., Ltd., Nhật Bản) với tốc độ quay 2 rpm được lựa chọn cho mục đích SMG. Đây là tốc độ quay chậm (cổ điển) được các nhà sinh lý học thực vật sử dụng để nghiên cứu.

Các dụng cụ và hóa chất dùng trong nuôi cấy mô tế bào thường quy.

2.2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Nội dung 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện SMG lên các con đường phát sinh hình thái của cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và cây Diệp hạ châu đấng nuôi cấy *in vitro*.

Nội dung 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hàm lượng, tỷ lệ hormone nội sinh, hoạt tính enzyme kháng oxy hóa, tích lũy hợp chất thứ cấp và chuyển hóa năng lượng trong quá trình phát sinh hình thái của cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và cây Diệp hạ châu đấng nuôi cấy *in vitro*.

Nội dung 3: Nghiên cứu ghi nhận sự sinh trưởng ở điều kiện trọng lực thực của cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và cây Diệp hạ châu đấng có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện SMG

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Bố trí thí nghiệm

2.3.1.1. Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự phát sinh SE của mẫu cây p-TCL cây hoa Thu hải đường nuôi cấy *in vitro*

2.3.1.2. Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự phát sinh mô sẹo và chồi của mẫu cây lá cây Dâu tây nuôi cấy *in vitro*

2.3.1.3. Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự phát sinh mô sẹo và rễ bất định của mẫu cây lóng thân cây Diệp hạ châu trồng nuôi cấy *in vitro*

2.3.1.4. Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hàm lượng và tỷ lệ hormone nội sinh trong quá trình phát sinh SE cây hoa Thu hải đường, chồi cây Dâu tây, mô sẹo và rễ bất định cây Diệp hạ châu trồng nuôi cấy *in vitro*

2.3.1.5. Thí nghiệm 5: Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hoạt tính enzyme kháng oxy hóa trong quá trình phát sinh mô sẹo cây Dâu tây, mô sẹo và rễ bất định cây Diệp hạ châu trồng nuôi cấy *in vitro*

2.3.1.6. Thí nghiệm 6: Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự tích lũy hợp chất thứ cấp trong quá trình phát sinh mô sẹo và rễ bất định cây Diệp hạ châu trồng nuôi cấy *in vitro*

2.3.1.7. Thí nghiệm 7: Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự chuyển hóa năng lượng (tinh bột và đường) trong quá trình phát sinh SE cây hoa Thu hải đường nuôi cấy *in vitro*

2.3.1.8. Thí nghiệm 8: Nghiên cứu ghi nhận sự sinh trưởng ở môi trường trọng lực thực của chồi và cây con Thu hải đường, cây Dâu tây có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện SMG

2.3.1.9. Thí nghiệm 9: Nghiên cứu ghi nhận sự tăng sinh ở môi trường trọng lực thực của mô sẹo cây Diệp hạ châu trồng có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện SMG

2.3.1.10. Thí nghiệm 10: Nghiên cứu ghi nhận sự thích nghi ở vườn ươm của cây con Dâu tây nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện SMG

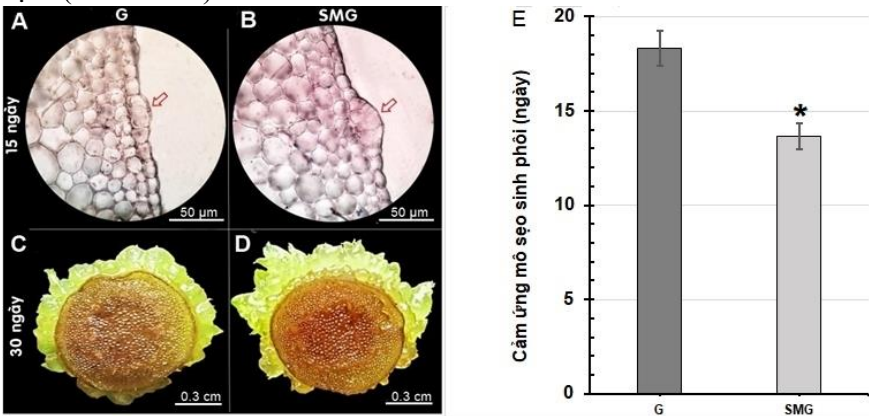
2.3.2. Phương pháp giải phẫu hình thái

2.3.3. Phương pháp xử lý thống kê

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự phát sinh SE của mẫu cây p-tTCL cây hoa Thu hải đường nuôi cấy *in vitro*

Kết quả ghi nhận được cho thấy điều kiện SMG không ảnh hưởng đến khả năng tái sinh của các mẫu cây với tỷ lệ tái sinh đều đạt 100% ở nghiệm thức SMG và G sau 30 ngày nuôi cấy (Hình 3.1A-D). Tuy nhiên, vào ngày nuôi cấy thứ 14, các mẫu cây của nghiệm thức SMG đã bắt đầu xảy ra hiện tượng cảm ứng (Hình 3.1B); trong khi vẫn chưa có tế bào biểu bì nào của mẫu của nghiệm thức G có hiện tượng này (Hình 3.1A). Hơn nữa, quan sát hình thái cho thấy sự phát sinh SE từ mô sẹo sinh phôi trong điều kiện G (Hình 3.1C) xảy ra với tốc độ chậm hơn so với điều kiện SMG (Hình 3.1D) sau 30 ngày nuôi cấy. Có thể thấy điều kiện SMG đã rút ngắn thời gian cảm ứng phát sinh SEs so với nghiệm thức ở điều kiện G (khoảng 5 ngày) (Hình 3.1E). Sau 3 tháng nuôi cấy, kết quả cho thấy có hai chương trình biệt hóa đã diễn ra trong cả điều kiện SMG và G đó là SEs (Hình 3.2A-C) và rễ bất định (Hình 3.2.D).



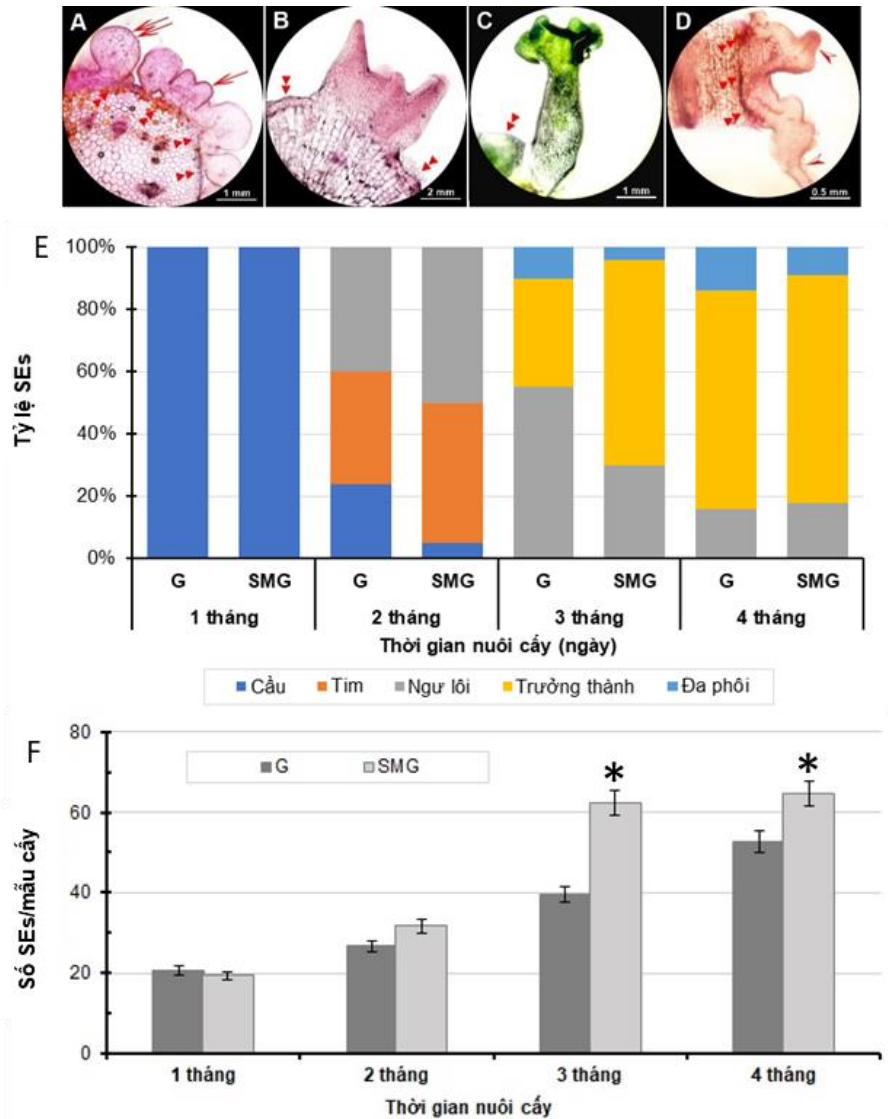
Hình 3.1. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự cảm ứng SEs của mẫu p-tTCL cây hoa Thu hải đường *in vitro* sau 30 ngày nuôi cấy. **A, B**: Quá trình tạo SEs bắt đầu từ lớp biểu bì tế bào mẫu p-tTCL sau 15 ngày nuôi cấy (mũi tên chỉ sự cảm ứng của tế bào); **C, D**: Biệt hóa SEs từ mô sẹo sinh phôi sau 30 ngày nuôi cấy; **E**: Thời gian cảm ứng của SEs; *Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình theo phép thử Tukey ($p < 0,05$). Hình ảnh được quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính $\times 40$.

Trong đó, SEs là chủ yếu trong khi cơ quan rễ bất định chỉ hình thành với số lượng không đáng kể (dữ liệu không thể hiện). Những kết quả này

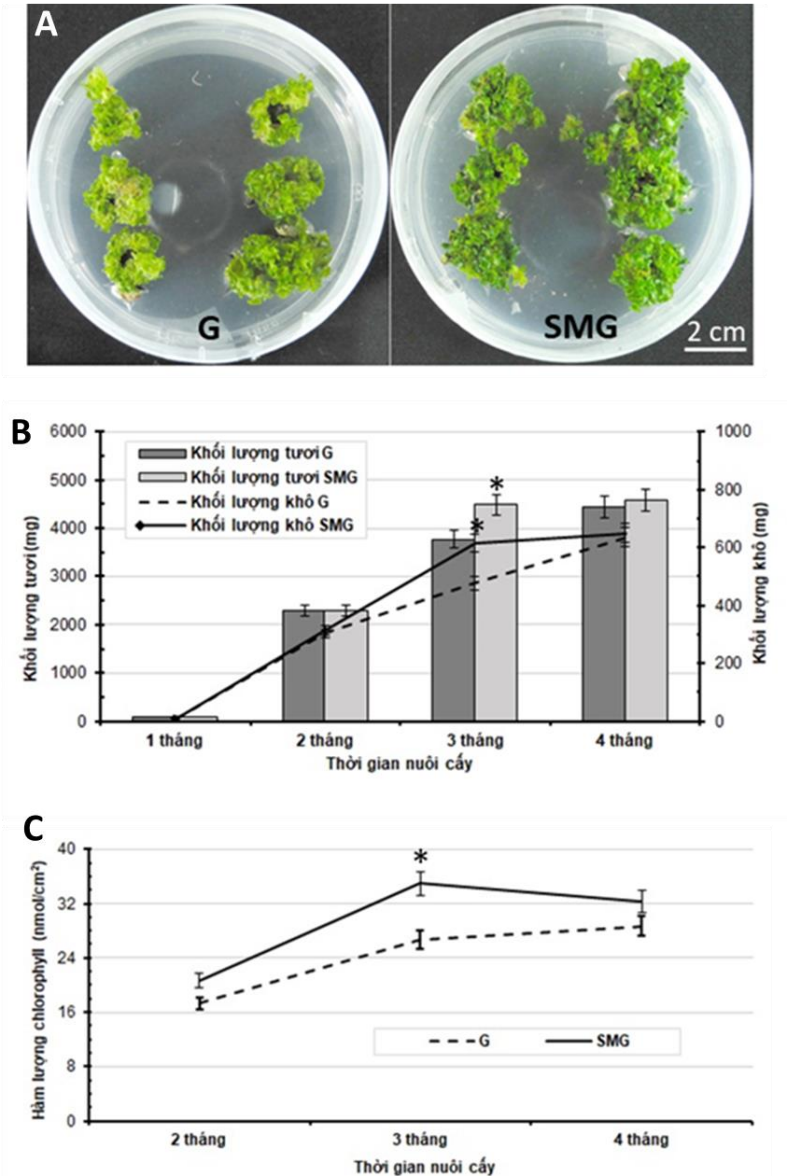
chỉ ra rằng điều kiện SMG không hề can thiệp đến sự biệt hóa tế bào mẫu p-tTCL cây hoa Thu hải đường. Hơn nữa, quan sát hình thái mô học cho thấy dưới điều kiện SMG thì SEs vẫn trải qua các giai đoạn phát triển điển hình của phôi soma tương tự như G (Hình 3.2E).

Các tác động của điều kiện SMG lên sự phát triển của các SEs đã được đánh giá thông qua khối lượng tươi, khối lượng khô và hàm lượng diệp lục tổng (Hình 3.3).

Về cơ bản, các quan sát hình thái cho thấy khí khổng ở điều kiện G có hình bầu dục đặc trưng (Hình 3.4.A); trong khi đó khí khổng của nghiệm thức SMG có hình elip (thuôn dài) và độ mở khí khổng lớn hơn đã được quan sát (Hình 3.4.B). Dưới điều kiện SMG, các khí khổng có chiều dài gấp 1,4 lần so với đối chứng; trong khi đó, chiều rộng của khí khổng không thay đổi dưới điều kiện SMG (Hình 3.4.C).



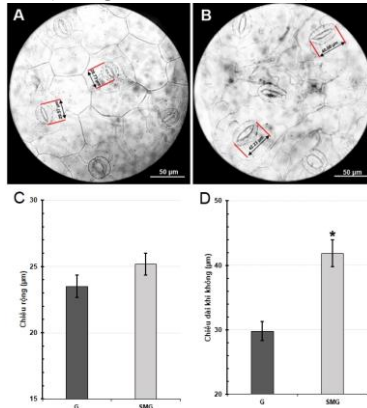
Hình 3.2. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên các giai đoạn phát triển của SEs ở mẫu p-tTCL cây hoa Thu hải đường *in vitro* sau 1, 2, 3 và 4 tháng nuôi cấy. **A-C-** Các giai đoạn phát triển của SEs quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính $\times 40$, tam giác kép chỉ lớp biểu bì của tế bào mẫu cây p-tTCL; **A.** Sự hình thành phôi hình cầu (mũi tên kép) và phôi hình tim (mũi tên) sau 2 tháng nuôi cấy; **B:** Sự hình thành đa phôi sau 3 tháng nuôi cấy; **C:** Sự hình thành phôi hình ngư lôi sau 2 tháng nuôi cấy; **D:** Sự hình thành rễ bất định (mũi tên) từ lớp biểu bì của tế bào mẫu p-tTCL sau 2 tháng nuôi cấy; **E:** Tỷ lệ các loại SEs; **F:** Tổng số SEs tại các thời điểm ghi nhận; *Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình theo phép thử Tukey ($p < 0,05$).



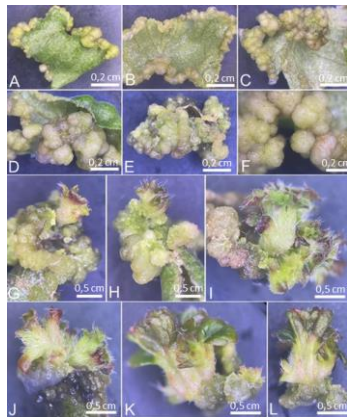
Hình 3.3. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự phát triển của SEs ở mẫu p-tTCL cây hoa Thu hải đường *in vitro* sau 1, 2, 3 và 4 tháng nuôi cấy. **A:** Quá trình tạo SEs dưới điều kiện SMG và G sau 3 tháng nuôi cấy; **B:** Khối lượng tươi và khối lượng khô của SEs; **C:** Hàm lượng chlorophyll tổng số trong lá của SEs trưởng thành; *Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình theo phép thử Tukey ($p < 0,05$).

3.2. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự phát sinh mô sẹo và chồi của mẫu cấy lá cây Dâu tây nuôi cấy *in vitro*

Kết quả ghi nhận được cho thấy, thời gian cảm ứng (2 tuần) và hình thái mô sẹo dưới điều kiện SMG và điều kiện G được quan sát là tương đồng; tuy nhiên, khả năng tái sinh chồi của mẫu cấy lá Dâu tây *in vitro* dưới hai điều kiện có sự khác biệt (Bảng 3.1 và Hình 3.5).



Hình 3.4. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hình thái khí không trong lá SEs trưởng thành của mẫu p-TCL cây hoa Thu hải đường *in vitro*. **A:** Dưới điều kiện G; **B:** Dưới điều kiện SMG; **C:** Chiều dài và chiều rộng của khí không; *Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình theo phép thử Tukey ($p < 0,05$). Khí không được quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính $\times 40$.



Hình 3.5. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự phát sinh mô sẹo và chồi của mẫu lá Dâu tây *in vitro* sau 2, 3, 4 và 6 tuần nuôi cấy. Tạo mô sẹo sau 2 tuần (**A**), 3 tuần (**B**, **C**), 4 tuần (**D**), 6 tuần (**E**, **F**); Tái sinh chồi sau 3 tuần (**G**) dưới điều kiện SMG; Tái sinh chồi sau 4 tuần dưới điều kiện G (**H**) và SMG (**I**); Tái sinh chồi sau 6 tuần điều kiện G (**J**) và SMG (**K**, **L**).

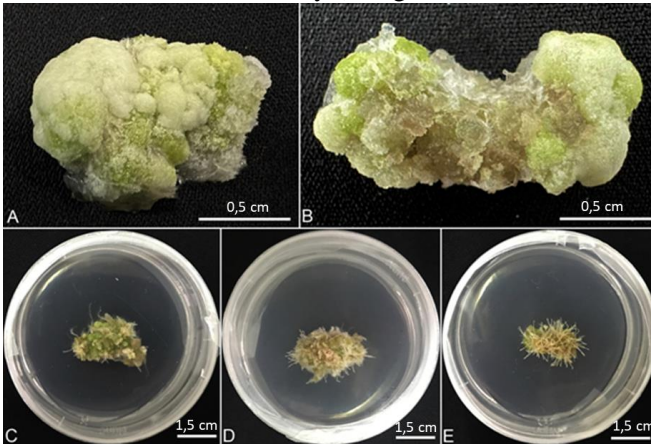
Bảng 3.1. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự phát sinh mô sẹo và chồi của mẫu lá Dâu tây *in vitro* sau 2, 3, 4 và 6 tuần nuôi cấy

Thời gian nuôi cấy	2 tuần		3 tuần		4 tuần		6 tuần	
Chỉ tiêu	G	SMG	G	SMG	G	SMG	G	SMG
Tỷ lệ cảm ứng mô sẹo (%)	25,00 ±2,89 ^d	53,33 ±1,45 ^{bc}	46,33 ± 1,45 ^c	66,33 ± 1,45 ^a	62,00 ±2,89 ^{ab}	57,00 ±1,53 ^{abc}	62,67 ± 2,19 ^{ab}	56,67 ± 3,48 ^{abc}
Tỷ lệ mẫu không cảm ứng (%)	75,00 ± 2,89 ^a	46,67 ± 1,45 ^b	53,67 ± 1,45 ^b	27,00 ± 1,53 ^c	25,00 ± 2,89 ^c	23,67 ± 0,67 ^{cd}	16,00 ± 1,00 ^d	7,00 ± 1,54 ^e
Tỷ lệ tái sinh chồi (%)	**	-	-	6,67 ± 0,89 ^d	13,00 ± 0,00 ^c	19,33 ± 1,20 ^b	21,33 ± 1,76 ^b	36,33 ± 2,33 ^a
Khối lượng tươi (mg)	90,86 ± 3,88 ^c	117,49 ± 2,18 ^d	114,34 ± 5,00 ^d	158,85 ± 4,47 ^c	149,69 ± 3,67 ^c	194,20 ± 4,51 ^b	183,25 ± 3,94 ^b	223,25 ± 6,58 ^a
Khối lượng khô (mg)	10,92 ± 0,43 ^c	13,83 ± 0,30 ^d	13,61 ± 0,36 ^d	17,69 ± 0,48 ^c	17,65 ± 0,05 ^c	20,85 ± 0,85 ^b	19,48 ± 0,42 ^{bc}	24,97 ± 0,19 ^a

*Các chữ cái khác nhau (a, b,...) trong cùng một hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức theo phép thử Tukey. Giá trị thể hiện trong bảng là giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn); ** Không ghi nhận số liệu.

3.3. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự phát sinh mô sẹo và rễ bất định của mẫu cấy lông thân cây Diệp hạ châu đấng nuôi cấy *in vitro*

Kết quả ghi nhận được cho thấy, thời gian cảm ứng mô sẹo của mẫu lông thân cây Diệp hạ châu đấng dưới điều kiện SMG và G có không có sự khác biệt. Tuy nhiên, tỷ lệ cảm ứng mô sẹo và hình thành rễ bất định cho thấy sự khác biệt giữa 2 điều kiện nuôi cấy (Bảng 3.2). Sau 4 tuần nuôi cấy, tỷ lệ cảm ứng mô sẹo dưới điều kiện SMG chỉ còn 34,33% và tỷ lệ hình thành rễ bất định tăng lên 65,67%. Dưới điều kiện G, không ghi nhận hình thành rễ bất định sau 4 tuần nuôi cấy (Bảng 3.2 và Hình 3.6).



Hình 3.6. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự phát sinh mô sẹo và rễ bất định của mẫu lông thân cây Diệp hạ châu đấng *in vitro* sau 2, 3 và 4 tuần nuôi cấy. **A:** Mô sẹo ở điều kiện G sau 4 tuần nuôi cấy; **B:** Mẫu mô sẹo ở điều kiện SMG sau 4 tuần nuôi cấy; **C, D, E:** Rễ bất định ở điều kiện SMG sau 2, 3 và 4 tuần nuôi cấy.

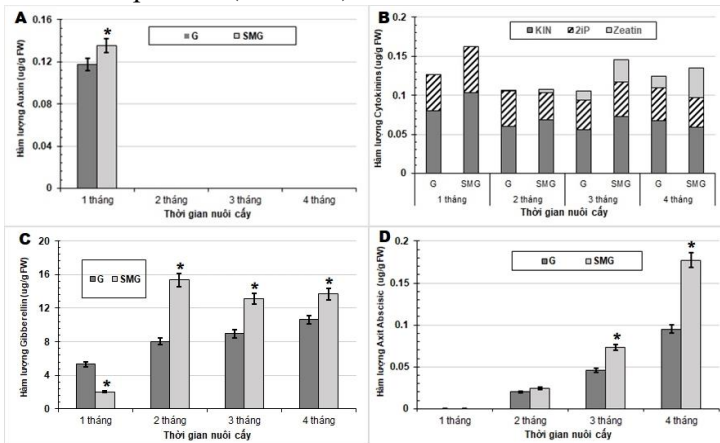
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự phát sinh mô sẹo và rễ bất định của mẫu lông thân cây Diệp hạ châu đấng *in vitro* sau 2, 3 và 4 tuần nuôi cấy

Thời gian nuôi cấy	2 tuần		3 tuần		4 tuần	
Chỉ tiêu theo dõi	G	SMG	G	SMG	G	SMG
Tỷ lệ cảm ứng mô sẹo (%)	100,00 ± 0,00 ^{a*}	90,33 ± 0,67 ^b	100,00 ± 0,00 ^a	62,67 ± 1,76 ^b	100,00 ± 0,00 ^a	34,33 ± 1,20 ^c
Tỷ lệ hình thành rễ bất định (%)	- ^{**}	6,67 ± 0,67 ^c	-	37,33 ± 1,76 ^b	-	65,67 ± 1,20 ^a
Khối lượng tươi (mg)	263,00 ± 3,79 ^f	541,00 ± 3,21 ^c	291,00 ± 1,53 ^e	598,67 ± 4,33 ^b	313,33 ± 2,03 ^d	792,00 ± 1,73 ^a
Khối lượng khô (mg)	24,67 ± 0,67 ^e	53,83 ± 0,41 ^c	29,00 ± 0,45 ^d	59,89 ± 0,43 ^b	30,07 ± 0,25 ^d	79,17 ± 0,27 ^a

*Các chữ cái khác nhau (a, b,...) trong cùng một hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức theo phép thử Tukey. Giá trị thể hiện trong bảng là giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn); ** Không ghi nhận số liệu.

3.4. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hàm lượng hormone nội sinh trong quá trình phát sinh SE cây hoa Thu hải đường, chồi cây Dâu tây, mô sẹo và rễ bất định cây Diệp hạ châu đấng nuôi cấy *in vitro*

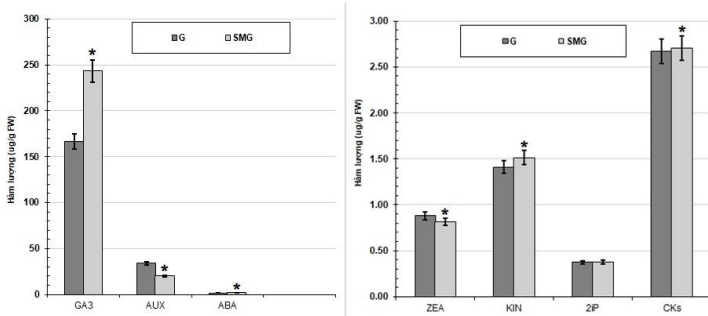
Đối với cây hoa Thu hải đường, sự khác biệt là đáng kể ở các giai đoạn SE của mẫu p-tTCL (Hình 3.7).



Hình 3.7. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự thay đổi hàm lượng hormone nội sinh trong SE mẫu cây p-tTCL cây hoa Thu hải đường *in vitro*. **A:** Hàm lượng AUX; **B:** Hàm lượng KIN, 2iP, ZEA; **C:** Hàm lượng GA₃; **D:** Hàm lượng ABA; *Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình theo phép thử Tukey ($p < 0,05$).

Đối với cây Dâu tây, mẫu chồi có nguồn gốc ở điều kiện SMG ghi nhận hàm lượng GA₃, ABA, KIN cao hơn so với điều kiện G sau 6 tuần nuôi cấy; trong khi đó, hàm lượng AUX, ZEA lại cho kết quả ngược lại (Hình

3.8). Hàm lượng 2iP hầu như không có sự khác biệt ở cả 2 điều kiện nuôi cấy (Hình 3.8).



Hình 3.8. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự thay đổi hàm lượng hormone nội sinh trong chồi mẫu cây lá cây Dầu tây *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy; *Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình theo phép thử Tukey ($p < 0,05$).

Đối với cây Diệp hạ châu đắng, mô sẹo có nguồn gốc ở điều kiện SMG ghi nhận hàm lượng GA_3 , AUX, ABA cao hơn so với điều kiện G; trong khi đó, hàm lượng KIN lại cho kết quả ngược lại (Bảng 3.3).

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hàm lượng hormone nội sinh ở mô sẹo rễ bất định cây Diệp hạ châu đắng sau 4 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức		GA_3	AUX	ABA	ZEA	KIN	2iP
G	Mô sẹo	28,00 $\pm 0,130^b$	2,12 $\pm 0,017^b$	0,88 $\pm 0,003^c$	0,19 $\pm 0,006^a$	0,23 $\pm 0,009^a$	0,032 $\pm 0,001^a$
	Rễ	29,62 $\pm 0,064^a$	3,24 $\pm 0,052^a$	1,81 $\pm 0,018^a$	0,18 $\pm 0,006^a$	0,17 $\pm 0,006^b$	0,028 $\pm 0,001^a$
SMG	Mô sẹo	27,62 $\pm 0,064^b$	2,06 $\pm 0,009^b$	1,74 $\pm 0,009^b$	0,17 $\pm 0,001^a$	0,17 $\pm 0,011^b$	0,27 $\pm 0,001^a$
	Rễ	27,62 $\pm 0,064^b$	2,06 $\pm 0,009^b$	1,74 $\pm 0,009^b$	0,17 $\pm 0,001^a$	0,17 $\pm 0,011^b$	0,27 $\pm 0,001^a$

*Các chữ cái khác nhau (a, b, ...) trong cùng một hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức theo phép thử Tukey. Giá trị thể hiện trong bảng là giá trị trung bình $\pm SE$ (sai số chuẩn).

3.5. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hoạt tính enzyme kháng oxy hóa trong quá trình phát sinh mô sẹo cây Dầu tây, mô sẹo và rễ bất định cây Diệp hạ châu đắng nuôi cấy *in vitro*

Trên cây Dầu tây, hoạt tính enzyme kháng oxy hóa (APX, CAT), hoạt tính bắt gốc tự do DPPH và hàm lượng phenolic có sự khác biệt ở cả 2 điều kiện nuôi cấy sau 2, 3, 4 và 6 tuần (Bảng 3.4). Trên cây Diệp hạ châu đắng, hoạt tính của các enzyme kháng oxy hóa như SOD, APX, CAT và hàm lượng phenolic ghi nhận có sự khác biệt ở điều kiện SMG và G sau 2, 3 và 4 tuần nuôi cấy (Bảng 3.5).

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hoạt tính enzyme kháng oxy hóa của mô sẹo cây Dâu tây sau 2, 3, 4 và 6 tuần nuôi cấy

Thời gian nuôi cấy	2 tuần		3 tuần		4 tuần		6 tuần	
Chỉ tiêu theo dõi	G	SMG	G	SMG	G	SMG	G	SMG
CAT (U/g)	96,82 ± 0,929 ^f	107,69 ± 1,227 ^e	121,13 ± 2,147 ^d	137,67 ± 0,633 ^c	140,05 ± 2,887 ^c	156,73 ± 0,829 ^b	163,42 ± 0,229 ^{ab}	167,90 ± 0,241 ^a
APX (U/g)	0,11 ± 0,006 ^e	0,16 ± 0,007 ^{bc}	0,18 ± 0,003 ^b	0,22 ± 0,007 ^a	0,15 ± 0,003 ^{cd}	0,17 ± 0,003 ^b	0,12 ± 0,007 ^{de}	0,11 ± 0,006 ^e
DPPH (% RSA)	6,61 ± 0,208 ^f	8,20 ± 0,062 ^{de}	7,56 ± 0,026 ^e	8,69 ± 0,174 ^d	8,06 ± 0,050 ^{de}	11,42 ± 0,136 ^b	9,53 ± 0,136 ^e	13,38 ± 0,15 ^a
Phenolic (mg GAE/100 g chất khô)	124,57 ± 2,378 ^d	81,84 ± 2,436 ^f	131,38 ± 0,882 ^d	96,05 ± 1,443 ^e	171,72 ± 0,667 ^a	148,69 ± 2,273 ^c	161,88 ± 1,167 ^b	155,38 ± 2,315 ^{bc}

**Các chữ cái khác nhau (a, b, ...) trong cùng một hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức theo phép thử Tukey. Giá trị thể hiện trong bảng là giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn).*

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hoạt tính enzyme kháng oxy hóa ở mô sẹo và rễ bất định cây Diệp hạ châu đang sau 2, 3 và 4 tuần nuôi cấy

Thời gian nuôi cấy	2 tuần			3 tuần			4 tuần		
	G	SMG		G	SMG		G	SMG	
Chỉ tiêu theo dõi	Mô sẹo	Mô sẹo	Rễ	Mô sẹo	Mô sẹo	Rễ	Mô sẹo	Mô sẹo	Rễ
SOD (U/g)	22,28 ± 0,36 ^g	51,23 ± 0,48 ^f	75,79 ± 0,20 ^e	31,18 ± 0,52 ^b	60,90 ± 0,61 ^e	90,42 ± 0,36 ^b	44,72 ± 0,71 ^e	71,38 ± 0,83 ^d	121,39 ± 0,41 ^a
CAT (U/g)	174,95 ± 1,37 ^f	181,05 ± 0,74 ^f	227,70 ± 0,70 ^d	215,81 ± 1,19 ^e	222,80 ± 1,5 ^{de}	303,70 ± 3,18 ^b	236,46 ± 1,77 ^c	243,29 ± 1,15 ^c	344,79 ± 1,21 ^a
APX (U/g)	0,28 ± 0,012 ^{ef}	0,24 ± 0,003 ^f	0,63 ± 0,023 ^b	0,35 ± 0,015 ^{de}	0,32 ± 0,012 ^{ef}	0,67 ± 0,023 ^b	0,43 ± 0,023 ^{cd}	0,44 ± 0,009 ^c	0,95 ± 0,015 ^a
Phenolic (mg GAE/100 g CK)	50,91 ± 0,607 ^f	56,47 ± 0,364 ^f	81,40 ± 0,549 ^d	71,56 ± 0,820 ^e	77,19 ± 1,025 ^{de}	97,33 ± 0,884 ^{bc}	92,31 ± 0,787 ^c	99,24 ± 0,549 ^b	126,24 ± 2,728 ^a

**Các chữ cái khác nhau (a, b, ...) trong cùng một hàng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức theo phép thử Tukey. Giá trị thể hiện trong bảng là giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn).*

3.6. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự tích lũy hợp chất thứ cấp trong quá trình phát sinh mô sẹo và rễ bất định cây Diệp hạ châu đang nuôi cấy *in vitro*

Các hợp chất thứ cấp quyết định dược tính của cây Diệp hạ châu đang là rutin, quercetin là các flavonoid với vai trò được biết đến là ngăn ngừa tế bào ung thư và hypophyllanthin, phyllanthin là các lignan có chức năng bảo vệ gan. Kết quả phân tích HPLC cho thấy hàm lượng flavonoid (rutin và quercetin), lignan (hypophyllanthin và phyllanthin) có sự khác biệt ở điều kiện SMG và G (Bảng 3.6).

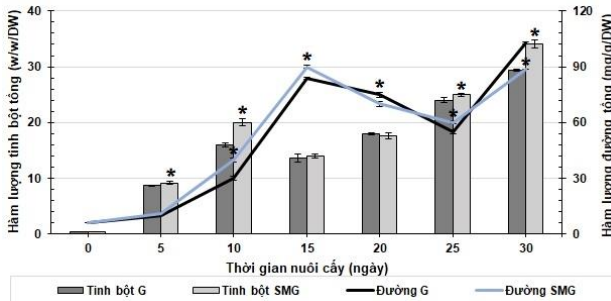
Bảng 3.6. Sự tích lũy hợp chất thứ cấp ở mô sẹo và rễ bất định cây Diệp hạ châu đấng sau 4 tuần nuôi cấy dưới điều kiện SMG

Nghiệm thức	Flavonoid ($\mu\text{g}/1\text{ g}$ chất tươi)		Lignan ($\mu\text{g}/1\text{ g}$ chất tươi)		
	Rutin	Quercetin	Hypophyllanthin	Phyllanthin	
G	Mô sẹo	**	9,61 $\pm 0,024^a$	17,29 $\pm 0,008^b$	11,53 $\pm 0,005^b$
	Rễ	1,79 $\pm 0,047^{a*}$	3,25 $\pm 0,007^b$	29,06 $\pm 0,039^a$	16,01 $\pm 0,041^a$
SMG	Mô sẹo	1,19 $\pm 0,007^b$	9,54 $\pm 0,066^a$	9,03 $\pm 0,043^c$	-
	Rễ				

*Các chữ cái khác nhau (a, b,...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức theo phép thử Tukey; ** Không ghi nhận số liệu. Giá trị thể hiện trong bảng là giá trị trung bình \pm SE (sai số chuẩn).

3.7. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên sự chuyển hóa năng lượng (tinh bột và đường) trong quá trình phát sinh SEs cây hoa Thu hải đường nuôi cấy *in vitro*

Trong tháng đầu tiên của quá trình nuôi cấy, tương ứng với giai đoạn cảm ứng của SEs, những thay đổi về tinh bột và lượng đường dưới điều kiện G và SMG đã được ghi lại và hiển thị trong Hình 3.9.



Hình 3.9. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hàm lượng tinh bột và đường tổng số trong giai đoạn cảm ứng SEs cây hoa Thu hải đường nuôi cấy *in vitro*. *Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình theo phép thử Tukey ($p < 0,05$).

Kết quả cũng cho thấy hàm lượng tinh bột tổng của nghiệm thức SMG đạt cực đại vào ngày nuôi cấy cuối cùng của tháng thứ 2 (Bảng 3.7) khi SEs hình cầu đang biệt hóa thành hình tim và hình ngư lôi. Sau đó, hàm lượng tinh bột tổng của nghiệm thức SMG giảm sau 2 và 3 tháng nuôi cấy trùng với thời điểm trưởng thành của SEs.

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của điều kiện SMG lên hàm lượng tinh bột và đường của SEs cây hoa Thu hải đường sau 1, 2, 3 và 4 tháng nuôi cấy

Thời gian nuôi cấy	1 tháng		2 tháng		3 tháng		4 tháng	
	G	SMG	G	SMG	G	SMG	G	SMG
Tinh bột (% w/w DW)	29,37 ± 0,14 ^{a*}	34,06 ± 0,44 ^c	38,28 ± 0,09 ^b	39,91 ± 0,03 ^a	38,13 ± 0,06 ^b	35,06 ± 0,04 ^d	30,02 ± 0,03 ^f	35,91 ± 0,10 ^e
Đường (mg/g DW)	103,01 ± 0,07 ^e	88,74 ± 0,34 ^f	84,67 ± 0,23 ^g	68,19 ± 0,21 ^h	124,43 ± 0,65 ^c	153,61 ± 0,30 ^a	105,67 ± 0,31 ^d	150,00 ± 0,36 ^b

*Các chữ cái khác nhau (a, b, ...) trong cùng một dòng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa các nghiệm thức theo phép thử Tukey. Giá trị thể hiện trong bảng là giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn).

3.8. Nghiên cứu ghi nhận sự sinh trưởng ở môi trường trọng lực thực của chồi và cây con Thu hải đường, cây Dâu tây có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện SMG

3.8.1. Nghiên cứu ghi nhận sự sinh trưởng ở môi trường trọng lực thực của chồi và cây con Thu hải đường có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện SMG

Sau 1 tháng nuôi cấy trong điều kiện trọng lực thực, mẫu cây của cây hoa Thu hải đường có nguồn gốc SMG cho chỉ tiêu về số chồi (136,67 chồi), khối lượng tươi (4774,67 mg), khối lượng khô (423,33 mg) đạt cao nhất; tuy nhiên, chiều cao chồi (1,13 cm), diện tích lá (0,90 cm²) và hàm lượng chlorophyll tổng (38,37 nmol/cm²) đạt giá trị thấp hơn đáng kể so với điều kiện G (Bảng 3.8).

Bảng 3.8. Sự sinh trưởng và phát triển của chồi cây hoa Thu hải đường có nguồn gốc dưới điều kiện SMG sau 1 tháng nuôi cấy ở môi trường trọng lực thực

Nghiệm thức	Số chồi	Chiều cao chồi (cm)	Số lá	Diện tích lá (cm ²)	Hàm lượng chlorophyll tổng (nmol/cm ²)	Khối lượng tươi (mg)	Khối lượng khô (mg)
G	67,00± 1,15 ^a	2,00± 0,06	3,33± 0,33	2,03± 0,09	45,40 ± 0,12	4007,67± 3,84	327,67± 0,88
SMG	136,67 ± 1,20	1,13± 0,12	2,33± 0,33	0,90± 0,56	38,37 ± 0,16	4774,67± 13,84	423,33± 0,88
Sig. t-Test	0	0,003	0,101	0	0	0	0
	≠	≠	×	≠	≠	≠	≠

*Các giá trị trong bảng thể hiện giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn) theo kiểm định t-Test ($p < 0,05$);

≠ Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình; × Không có sự khác biệt.

Kết quả cho thấy cây hoa Thu hải đường có nguồn gốc từ điều kiện SMG có chỉ tiêu về chiều cao cây (12,33 cm), số rễ chính (8,67 cm), số lá

(6,67), hàm lượng chlorophyll tổng (47,77 nmol/cm²) và khối lượng tươi (2212,00 mg), khối lượng khô (217,33 mg) cao hơn đáng kể khi so sánh với điều kiện G (Bảng 3.9).

Bảng 3.9. Sự sinh trưởng và phát triển của cây hoa Thu hải đường con hoàn chỉnh có nguồn gốc dưới điều kiện SMG sau 3 tháng nuôi cấy ở môi trường trọng lực thực

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Số rễ chính	Chiều dài rễ chính (cm)	Số lá	Hàm lượng chlorophyll tổng (nmol/cm ²)	Khối lượng tươi (mg)	Khối lượng khô (mg)
G	9,00± 0,58*	6,67± 0,33	4,33 ± 0,33	4,67± 0,33	45,43± 0,09	2013,00± 1,15	203,33± 1,45
SMG	12,33± 0,33	8,67± 0,33	5,33 ± 0,33	6,67± 0,33	47,77± 0,09	2212,00± 0,58	217,33± 0,88
Sig. t-Test	0,007	0,013	0,101	0,013	0	0	0,01
	≠	≠	×	≠	≠	≠	≠

*Các giá trị trong bảng thể hiện giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn) theo kiểm định t-Test ($p < 0,05$);

≠ Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình; × Không có sự khác biệt.

3.8.2. Nghiên cứu sự sinh trưởng ở môi trường trọng lực thực của chồi và cây con Dầu tây có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện SMG

Sau 4 tuần nuôi cấy, cụm chồi có nguồn gốc dưới điều kiện SMG ghi nhận chiều cao chồi (2,90 cm), khối lượng tươi cụm chồi (464 mg) và khối lượng khô cụm chồi (35,67 mg) là cao hơn so với cụm chồi ở điều kiện G (Bảng 3.10). Trong giai đoạn ra rễ *in vitro*, sự sinh trưởng của cây có nguồn gốc dưới điều kiện SMG thể hiện ở chiều cao cây, chiều rộng lá, khối lượng tươi và khối lượng khô cao hơn điều kiện G (Bảng 3.11).

Bảng 3.10. Sự sinh trưởng trong quá trình nhân nhanh chồi của cây Dầu tây có nguồn gốc dưới điều kiện SMG sau 4 tuần nuôi cấy ở môi trường trọng lực thực

Nghiệm thức	Số chồi	Chiều cao chồi (cm)	Khối lượng tươi (mg)	Khối lượng khô (mg)	CAT (U/g)	APX (U/g)	Phenolic (mg GAE/100 g chất khô)
G	8,33± 0,33*	0,67 ± 0,03	351,33 ± 5,78	26,00 ± 0,58	167,85 ± 0,26	0,13± 0,00	195,18 ± 0,26
SMG	7,33 ± 0,33	2,90 ± 0,12	464,00 ± 6,66	35,67± 0,67	174,53 ± 0,05	0,46± 0,02	153,36 ± 0,26
Sig. t-Test	0,101	0	0	0	0	0	0
	×	≠	≠	≠	≠	≠	≠

*Các giá trị trong bảng thể hiện giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn) theo kiểm định t-Test ($p < 0,05$);

≠ Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình; × Không có sự khác biệt.

Bảng 3.11. Sự sinh trưởng và phát triển trong quá trình tạo rễ *in vitro* của chồi cây Dâu tây có nguồn gốc dưới điều kiện SMG sau 2 tuần nuôi cây ở môi trường trọng lực thực

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá	Chiều rộng lá (cm)	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng tươi (mg)	Khối lượng khô (mg)
G	6,23 ± 0,15*	6,00 ± 0,00	1,10 ± 0,10	7,33 ± 0,67	4,67 ± 0,33	233,33 ± 17,64	26,00 ± 2,08
SMG	8,33 ± 0,33	6,67 ± 0,33	1,70 ± 0,10	9,33 ± 0,67	4,33 ± 0,33	653,33 ± 68,88	65,67 ± 3,38
Sig. t-Test	0,004	0,184	0,013	0,101	0,59	0,004	0,001
	≠	×	≠	×	×	≠	≠

*Các giá trị trong bảng thể hiện giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn) theo kiểm định t-Test ($p < 0,05$);

≠ Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình; * Không có sự khác biệt.

3.9. Nghiên cứu ghi nhận sự tăng sinh của mô sẹo cây Diệp hạ châu đẳng có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện SMG

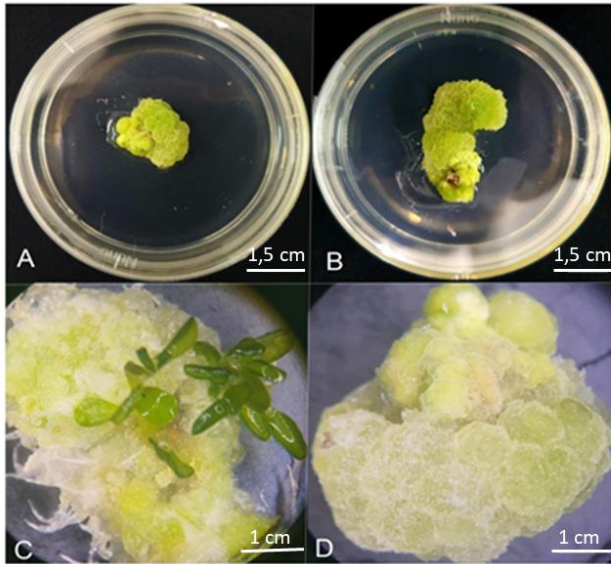
Sau 4 tuần nuôi cấy kết quả cho thấy có hai quá trình đã diễn ra đó là tăng sinh và tái sinh (chồi và rễ) (Hình 3.10C-D) dưới cả hai điều kiện SMG và G. Ngoài ra, khối lượng tươi của mô sẹo dưới điều kiện SMG đạt cao hơn dưới điều kiện G 1,67 lần. Trong khi đó, khối lượng khô của mô sẹo dưới điều kiện SMG cũng cao hơn điều kiện G xấp xỉ 1,6 lần (Bảng 3.12, Hình 3.10A-B).

Bảng 3.12. Sự tăng sinh mô sẹo cây Diệp hạ châu đẳng có nguồn gốc dưới điều kiện SMG sau 4 tuần nuôi cấy ở môi trường trọng lực thực

Nghiệm thức	Khối lượng tươi (mg)	Khối lượng khô (mg)	Flavonoid (µg/1 g chất tươi)		Lignan (µg/1 g chất tươi)		Hormone	
			Rutin	Quercetin	Hypophyllanthin	Phyllanthin	SA	MEL
G	1933,33 ± 20,28*	196,67 ± 8,82	**	10,49 ± 0,01	18,70 ± 0,04	12,40 ± 0,30	1,46 ± 0,002	0,2 ± 0,0008
SMG	3213,33 ± 34,80	310,00 ± 11,55	2,39 ± 0,02	17,67 ± 0,02	39,77 ± 0,02	29,03 ± 0,04	1,59 ± 0,006	0,39 ± 0,003
Sig. t-Test	0	0,01	0	0	0	0	0	0
	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠

*Các giá trị trong bảng thể hiện giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn) theo kiểm định t-Test ($p < 0,05$); ** Không ghi nhận số liệu.

≠ Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình. * Không có sự khác biệt.



Hình 3.10. Sự tăng sinh mô sẹo cây Diệp hạ châu đấng có nguồn gốc dưới điều kiện SMG sau 4 tuần nuôi cây *in vitro* ở môi trường trọng lực. **A:** Mô sẹo có nguồn gốc dưới điều kiện G; **B:** Mô sẹo có nguồn gốc dưới điều kiện SMG; **C:** Mô sẹo tái sinh chồi và rễ; **D:** Mô sẹo quan sát dưới kính hiển vi soi nổi với thị kính $\times 10$.

3.10. Nghiên cứu ghi nhận sự thích nghi ở vườn ươm của cây Dâu tây con có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện SMG

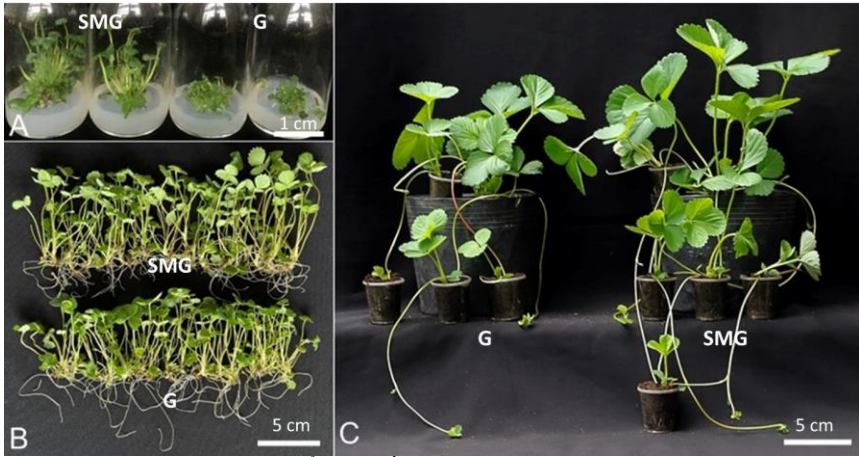
Cây con có nguồn gốc nuôi cấy dưới điều kiện SMG ghi nhận khả năng thích nghi và sự sinh trưởng không có sự khác biệt so với điều kiện G sau 4 tuần nuôi cây (Bảng 3.13). Tuy nhiên, thời gian hình thành cây ngó lại ghi nhận sự khác biệt ở 2 điều kiện nuôi cấy (Bảng 3.14 và Hình 3.11).

Bảng 3.13. Sự thích nghi của cây Dâu tây có nguồn gốc dưới điều kiện SMG ở giai đoạn vườn ươm

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá	Chiều rộng lá (cm)	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng tươi (mg)	Khối lượng khô (mg)	Hàm lượng chlorophyll tổng (nmol/cm ²)
G	11,37 ± 0,19*	8,00 ± 0,58	4,67 ± 0,09	10,33 ± 0,88	11,20 ± 0,21	3775,67 ± 102,28	431,00 ± 17,21	45,33 ± 1,45
SMG	12,63 ± 0,09	9,00 ± 0,58	5,17 ± 0,20	12,67 ± 0,88	13,67 ± 0,90	4096,00 ± 54,53	469,00 ± 10,58	48,00 ± 1,53
Sig. t-Test	0,004	0,288	0,087	0,135	0,056	0,051	0,133	0,275
	≠	×	×	×	×	×	×	×

*Các giá trị trong bảng thể hiện giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn) theo kiểm định t-Test ($p < 0,05$);

≠ Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình. × Không có sự khác biệt.



Hình 3.11. Sự sinh trưởng và phát triển của chồi, cây con và hình thành ngó của cây Dâu tây có nguồn gốc nuôi cây dưới điều kiện SMG ở vườn ươm. **A:** Nhân chồi sau 4 tuần nuôi cấy; **B:** Cây con sau 4 tuần nuôi cấy ở vườn ươm; **C:** Sự hình thành cây ngó sau 8 tuần ở vườn ươm.

Bảng 3.14. Sự hình thành cây ngó của cây Dâu tây có nguồn gốc dưới điều kiện SMG ở giai đoạn vườn ươm

Nghiệm m thứ	Thời gian hình thành ngó (ngày)	Tỷ lệ hình thành ngó (%)	Số ngó/cây	Cây ngó			
				Chiều cao ngó (cm)	Số lá	Khối lượng tươi (mg)	Hàm lượng chlorophyll tổng (nmol/cm ²)
G	30,00 ± 0,58*	83,33 ± 3,33	4,00 ± 0,00	7,73 ± 0,63	4,00 ± 0,00	2049,67 ± 42,98	42,67 ± 0,80
SMG	27,67 ± 0,33	93,33 ± 3,33	5,33 ± 0,33	9,07 ± 0,15	4,33 ± 0,33	2336,33 ± 66,47	43,60 ± 0,68
Sig. t-Test	0,025	0,101	0,057	0,109	0,423	0,022	0,425
	≠	×	×	×	×	≠	×

*Các giá trị trong bảng thể hiện giá trị trung bình ± SE (sai số chuẩn) theo kiểm định t-Test ($p < 0,05$);

≠ Sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị trung bình. × Không có sự khác biệt.

3.11. Đề xuất quy trình vi nhân giống cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và sản xuất hợp chất thứ cấp trên cây Diệp hạ châu đắng

Dựa trên những kết quả của nghiên cứu này, quy trình nhân giống cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và sản xuất hợp chất thứ cấp quy mô lớn trên cây Diệp hạ châu đắng bằng việc xử lý SMG trong giai đoạn phát sinh hình thái được đề xuất.

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy tác động tích cực của điều kiện SMG trong quá trình phát sinh hình thái và sinh trưởng *in vitro* của cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và cây Diệp hạ châu đắng.

1. Đối với quá trình phát sinh hình thái:

Trên cây hoa Thu hải đường, điều kiện SMG đã thúc đẩy sự cảm ứng, biệt hóa và trưởng thành ở SEs từ mẫu cuống lá nuôi cấy *in vitro*.

Trên cây Dâu tây, điều kiện SMG đã kích thích khả năng hình thành mô sẹo cũng như tái sinh chồi của mẫu lá nuôi cấy *in vitro*.

Trên cây Diệp hạ châu đắng, điều kiện SMG đã thúc đẩy quá trình cảm ứng mô sẹo và hình thành rễ bất định của mẫu cây lóng thân cây nuôi cấy *in vitro*.

2. Quá trình phát sinh hình thái trong điều kiện stress lực hấp dẫn đã được thích nghi bằng cách điều chỉnh hàm lượng và tỷ lệ hormone nội sinh (AUX, GA₃, ABA và CKs) ở cây hoa Thu hải đường, cây Dâu tây và cây Diệp hạ châu đắng. Hoặc bằng cách tăng cường hoạt tính các enzyme kháng oxy hóa (CAT, APX) ở cây Dâu tây, cây Diệp hạ châu đắng. Sự thích nghi này cũng được thể hiện bằng việc gia tăng tích lũy hợp chất thứ cấp và tăng sinh tế bào ở cây Diệp hạ châu đắng.

3. Sự sinh trưởng *in vitro* của chồi cũng như sự tạo cây con hoàn chỉnh của cây hoa Thu hải đường ở môi trường trọng lực thực từ SEs được hình thành dưới điều kiện SMG cũng được tăng cường; cây con có nguồn gốc dưới điều kiện SMG sinh trưởng, phát triển tốt và không có bất thường về hình thái.

Trên cây Dâu tây, sự sinh trưởng tiếp theo của chồi, cây con có nguồn gốc dưới điều kiện SMG là tốt hơn so với điều kiện G. Ở giai đoạn

vườn ươm, khả năng thích nghi và hình thành cây nõg của cây con có nguồn gốc nuôi cấy dưới điều kiện SMG cho thấy không có sự khác biệt so với điều kiện G, duy chỉ có thời gian hình thành nõg của cây con có nguồn gốc dưới điều kiện SMG là sớm hơn.

Trên cây Diệp hạ châu đấng, sự tăng sinh mô sẹo được hình thành dưới điều kiện SMG cho sinh khối và sự tích lũy hợp chất thứ cấp flavonoid (rutin và quercetin) và lignan (phyllanthin và hypophyllanthin) cho thấy là tốt hơn điều kiện G.

4.2. Kiến nghị

1. Tiếp tục nghiên cứu ghi nhận sự sinh trưởng và phát triển *in vitro* ở các giai đoạn tạo chồi và tạo rễ của cây Diệp hạ châu đấng nguồn gốc nuôi cấy dưới điều kiện SMG.

2. Tiếp tục nghiên cứu ghi nhận sự thích nghi của cây con Thu hải đường, Diệp hạ châu đấng có nguồn gốc nuôi cấy dưới điều kiện SMG ở giai đoạn vườn ươm.

3. Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện SMG trên các đối tượng cây trồng với các thiết bị mô phỏng và tốc độ quay khác nhau; đặc biệt đi sâu tìm hiểu vai trò của SMG đối với các cơ chế sinh hóa và biểu hiện gen.

4. Nghiên cứu ứng dụng việc xử lý mẫu cấy dưới điều kiện SMG trong lĩnh vực vi nhân giống cây trồng cũng như nuôi cấy tế bào để sản xuất các hợp chất thứ cấp trên quy mô công nghiệp.

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

1. Hoang Dac Khai, **Le The Bien**, Nguyen Quang Vinh, Doan Manh Dung, Ngo Dai Nghiep, Nguyen Thi Nhu Mai, Hoang Thanh Tung, Vu Quoc Luan, Do Manh Cuong, Duong Tan Nhut, *Alterations in endogenous hormone levels and energy metabolism promoted the induction, differentiation and maturation of Begonia somatic embryos under clinorotation*, Plant Science, 2021, 312, 111045.
2. **Le The Bien**, Hoang Thanh Tung, Nguyen Thi Nhu Mai., Truong Hoai Phong, Do Manh Cuong, Hoang Dac Khai, Vu Quoc Luan, Nguyen Ba Nam, Trinh Thi Huy Tra, Bui Van The Vinh, Duong Tan Nhut, *Morphogenesis of in vitro strawberry leaf cultured under Clinostat 2-D condition*, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2023, 152(1), 1-12.
3. **Lê Thế Biên**, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Thị Như Mai, Hoàng Đắc Khải, Đỗ Mạnh Cường, Trương Hoài Phong, Vũ Quốc Luận, Bùi Văn Thế Vinh, Dương Tấn Nhựt, *Phát sinh hình thái in vitro, hoạt tính enzyme kháng oxy hóa và tích lũy hợp chất thứ cấp của mẫu lông thân cây Diệp hạ châu đắng (Phyllanthus amarus) dưới điều kiện Clinostat 2D*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam (Bản B), 2024, 66(2), 49-54.
4. Duong Tan Nhut, Hoang Dac Khai, Nguyen Xuan Tuan, **Le The Bien**, Hoang Thanh Tung, *In vitro growth and development of plant under simulated microgravity condition*, In: Duong Tan Nhut, Hoang Thanh Tung, Edward Chee-Tak Yeung (Eds), *Plant tissue culture: New techniques and application in horticultural species of tropical region*, Springer, Singapore, 2022, 343-382.