

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

---



**Trương Minh Thắng**

**NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO*  
CÂY TIÊU THẢO LÁ NHẪN (*Cryptocoryne wendtii*)  
BẰNG HỆ THỐNG BIOREACTOR**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

*Tp. Hồ Chí Minh - 2024*

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**Trương Minh Thắng**

**NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO*  
CÂY TIÊU THẢO LÁ NHẪN (*Cryptocoryne wendtii*)  
BẰNG HỆ THỐNG BIOREACTOR**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

**Ngành:** Sinh học thực nghiệm

**Mã số:** 8420114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC :  
TS. Đỗ Đăng Giáp

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Đ.Đ. Giáp', is written below the supervisor's name.

***Tp. Hồ Chí Minh - 2024***

**LỜI CAM ĐOAN**

*Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.*

Tp. Hồ Chí Minh, ngày 19 tháng 11 năm 2024

Người cam đoan



Trương Minh Thắng

## LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên em xin chân thành gửi lời cảm ơn đến ban lãnh đạo Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện thuận lợi cho em trong suốt quá trình học tập cũng như trong quá trình thực hiện đề tài này.

Em xin chân thành cảm ơn Học viện khoa học và công nghệ, đặc biệt là các thầy cô đã truyền dạy, tạo điều kiện cũng như đóng góp ý kiến về những kiến thức khoa học vô cùng quý báu cho em trong suốt thời gian học tập.

Em xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến thầy Đỗ Đăng Giáp, người đã tận tình hướng dẫn em trong suốt quá trình thực hiện khóa luận. Nhờ sự hỗ trợ, định hướng và những lời khuyên quý báu của thầy, em đã hoàn thành tốt nhiệm vụ được giao.

Bên cạnh đó, tôi cũng xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến các anh, chị và các em Phòng Công nghệ tế bào Thực vật đã giúp đỡ tôi trong suốt thời gian qua.

Và cuối cùng, lời cảm ơn dành cho gia đình đã luôn bên cạnh ủng hộ, động viên con trong những lúc khó khăn, là những người luôn thương yêu và theo sát những bước đường con đi cũng như trong khóa luận này.

Tp. Hồ Chí Minh, ngày 19 tháng 11 năm 2024



Trương Minh Thắng

## MỤC LỤC

	Trang
<b>LỜI CAM ĐOAN</b> .....	<b>i</b>
<b>LỜI CẢM ƠN</b> .....	<b>ii</b>
<b>MỤC LỤC</b> .....	<b>iii</b>
<b>DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT</b> .....	<b>vii</b>
<b>DANH MỤC BẢNG</b> .....	<b>vii</b>
<b>DANH MỤC HÌNH</b> .....	<b>ix</b>
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	<b>1</b>
1. Lý do chọn đề tài .....	1
2. Mục đích nghiên cứu .....	1
3. Nội dung nghiên cứu .....	1
3.1 Đối tượng nghiên cứu .....	1
3.2. Phạm vi nghiên cứu của đề tài .....	2
4. Cơ sở khoa học và tính thực tiễn của đề tài.....	2
4.1. Cơ sở khoa học .....	2
4.2. Tính thực tiễn .....	2
5. Những đóng góp của luận văn .....	3
<b>CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU</b> .....	<b>4</b>
<b>1.1. SƠ LƯỢC VỀ CÂY TIÊU THẢO LÁ NHÃN (<i>CRYPTOCORYNE WENDTII</i>)</b> .....	<b>4</b>
1.1.1 Phân loại khoa học.....	4
1.1.2 Nguồn gốc, phân bố.....	4
1.1.3 Đặc điểm hình thái.....	5
1.1.3.1. Thân/Rễ .....	5
1.1.3.2. Lá .....	5
1.1.3.3. Hoa .....	5
<b>1.2. CÁC PHƯƠNG PHÁP NHÂN GIỐNG TIÊU THẢO LÁ NHÃN</b> .....	<b>6</b>
1.2.1 Phương pháp nhân giống bằng tách bụi .....	6
1.2.2 Phương pháp nhân giống <i>in vitro</i> .....	6
1.2.3 Một số nghiên cứu nhân giống <i>in vitro</i> cây tiêu thảo.....	8
<b>1.3. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH NHÂN GIỐNG <i>IN VITRO</i></b> .....	<b>9</b>
1.3.1 Môi trường nuôi cấy .....	9

1.3.2 Nhiệt độ và ánh sáng .....	10
1.3.3 Các yếu tố khác .....	10
<b>1.4. HỆ HỒNG NUÔI CÂY BIOREACTOR .....</b>	<b>12</b>
1.4.1 Hệ thống bioreactor air - lift .....	12
1.4.2 Các yếu tố ảnh hưởng đến việc tối ưu hóa hệ thống bioreactor sử dụng trong nuôi cấy mô thực vật .....	12
1.4.2.1 Không khí.....	12
1.4.2.2 Oxy hòa tan .....	13
1.4.2.3 Sự đảo trộn .....	14
1.4.2.4 pH.....	14
1.4.2.5 Chất dinh dưỡng .....	14
<b>CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>16</b>
2.1.1 Thời gian .....	16
2.1.2 Địa điểm.....	16
2.1.3 Vật liệu nghiên cứu.....	16
2.1.4 Điều kiện nuôi cấy .....	16
2.1.5 Dụng cụ và thiết bị.....	16
2.1.6 Môi trường và hóa chất.....	17
<b>2.2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>17</b>
2.2.1 Nội dung 1: Khảo sát điều kiện khử trùng của cây tiêu thảo lá nhẵn tạo nguồn mẫu <i>in vitro</i> .....	17
2.2.2 Nội dung 2: Khảo sát các điều kiện ảnh hưởng lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhẵn <i>in vitro</i> .....	17
2.2.3 Nội dung 3: Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhẵn trong hệ thống bioreactor .....	17
2.2.4 Nội dung 4: Khảo sát sự ảnh hưởng của auxin lên sự hình thành rễ từ chồi của cây tiêu thảo lá nhẵn <i>in vitro</i> .....	18
<b>2.3 PHƯƠNG PHÁP BỐ TRÍ THÍ NGHIỆM .....</b>	<b>18</b>
2.3.1 Nội dung 1: Khảo sát điều kiện khử trùng của cây tiêu thảo lá nhẵn tạo nguồn mẫu <i>in vitro</i> .....	18
2.3.2 Nội dung 2: Khảo sát các điều kiện ảnh hưởng lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhẵn <i>in vitro</i> .....	18

2.3.2.1. Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> .....	18
2.3.2.2. Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin kết hợp NAA lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> .....	19
2.3.2.3. Thí nghiệm 4: Khảo sát sự ảnh hưởng của trạng thái mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> ...	19
2.3.2.4. Thí nghiệm 5: Khảo sát ảnh hưởng của môi trường khoáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> .....	19
2.3.2.5. Thí nghiệm 6: Khảo sát sự ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> .....	20
2.3.3 Nội dung 3: Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn trong hệ thống bioreactor .....	20
2.3.3.1 Thí nghiệm 7: Khảo sát sự ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn trong hệ thống bioreactor. ....	20
2.3.3.2 Thí nghiệm 8: Khảo sát sự ảnh hưởng của lưu lượng sục khí lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhãn trong hệ thống bioreactor. ....	21
2.3.3.3 Thí nghiệm 9: Khảo sát sự ảnh hưởng của thể tích bioreactor lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhãn trong hệ thống bioreactor. ....	21
2.3.4 Nội dung 4: Khảo sát sự ảnh hưởng của auxin lên sự hình thành rễ từ chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> .....	21
2.4 PHƯƠNG PHÁP LẤY SỐ LIỆU .....	22
2.5 PHÂN TÍCH VÀ XỬ LÝ SỐ LIỆU .....	22
<b>CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>23</b>
3.1 NỘI DUNG 1: KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN KHỦ TRÙNG CỦA CÂY TIÊU THẢO LÁ NHÃN, TẠO NGUỒN MẪU <i>IN VITRO</i> .....	23
3.2 NỘI DUNG 2: KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG THỰC VẬT LÊN SỰ PHÁT SINH CHỒI CỦA CÂY TIÊU THẢO LÁ NHÃN <i>IN VITRO</i> .....	24
3.2.1 Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> .....	24

3.2.2 Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin kết hợp NAA lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> .....	26
3.2.3 Thí nghiệm 4: Khảo sát sự ảnh hưởng của trạng thái mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> .....	28
3.2.4 Thí nghiệm 5: Khảo sát ảnh hưởng của môi trường khoáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> .....	30
3.2.5 Thí nghiệm 6: Khảo sát sự ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> .....	31
<b>3.3 NỘI DUNG 3: KHẢO SÁT CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG LÊN SỰ NHÂN NHANH CHỒI CÂY TIÊU THẢO LÁ NHÃN TRONG HỆ THỐNG BIOREACTOR</b> .....	<b>33</b>
3.3.1 Thí nghiệm 7: Khảo sát sự ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> trong hệ thống bioreactor.....	33
3.3.1.1.Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít .....	33
3.3.1.2.Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> trong hệ thống bioreactor 10 lít.....	35
3.3.2 Thí nghiệm 8: Khảo sát sự ảnh hưởng của lưu lượng sục khí lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> trong hệ thống bioreactor .....	37
3.3.3 Thí nghiệm 9: Khảo sát sự ảnh hưởng của thể tích bioreactor lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhãn trong hệ thống bioreactor. ..	39
<b>3.4.NỘI DUNG 4: KHẢO SÁT SỰ ẢNH HƯỞNG CỦA AUXIN LÊN SỰ HÌNH THÀNH RỄ TỪ CHỒI CỦA CÂY TIÊU THẢO LÁ NHÃN <i>IN VITRO</i></b> .....	<b>41</b>
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ</b> .....	<b>44</b>
KẾT LUẬN.....	44
KIẾN NGHỊ .....	44
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b> .....	<b>45</b>
<b>PHỤ LỤC</b> .....	<b>53</b>



**DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT**

BA	6-benzyladenine
B5	Môi trường Gamborg B5
CDHSTTV	Chất điều hòa sinh trưởng thực vật
CMV	Cucumber mosaic virus
DsMV	Dasheen mosaic virus
GA3	Acid gibberellic
IAA	3-Indoleacetic acid
IBA	Indole- 3-butyric acid
KIN	Kinetin
MS	Murashige và Skoog
MS1/2	Môi trường MS có thành phần môi trường giảm một nửa
NAA	$\alpha$ -Naphthaleneacetic acid
RT-PCR	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
SH	Môi trường Schenk và Hildebrandt
TDZ	Thidiazuron
TTLN	Tiêu thảo lá nhãn
1/2MS	Môi trường MS có khoáng đa lượng được giảm đi một nửa
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1: Ảnh hưởng của điều kiện khử trùng lên mẫu cây TTLN để tạo nguồn mẫu <i>in vitro</i> sau 14 ngày nuôi cấy.....	23
Bảng 3.2: Ảnh hưởng của BA hoặc KIN lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	25
Bảng 3.3: Ảnh hưởng của BA kết hợp NAA lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	27
Bảng 3.4 : Ảnh hưởng của trạng thái mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi của cây TTLN <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	29
Bảng 3.5: Ảnh hưởng của môi trường khoáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	30
Bảng 3.6: Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	32
Bảng 3.7: Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít sau 8 tuần nuôi cấy.....	34
Bảng 3.8: Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> trong hệ thống bioreactor 10 lít sau 8 tuần nuôi cấy.....	35
Bảng 3.9: Ảnh hưởng của lưu lượng sục khí lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít sau 8 tuần nuôi cấy.....	38
Bảng 3.10: Ảnh hưởng của thể tích bioreactor lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 8 tuần nuôi cấy.....	40
Bảng 3.11: Ảnh hưởng của auxin lên sự hình thành rễ từ chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	42

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1: Tiêu thảo lá nhãn <i>C.wendtii</i> (Igor Sheremetyev).....	4
Hình 1.2: Hoa của tiêu thảo lá nhãn <i>C.wendtii</i> (Himesh Dilruwan Jayasinghe).....	6
Hình 2.1: Cây tiêu thảo lá nhãn sạch bệnh được giữ giống tại phòng CNTB TV – Viện Sinh học Nhiệt đới.....	16
Hình 3.1: Ảnh hưởng của KIN lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	26
Hình 3.2: Ảnh hưởng của BA lên sự phát sinh chồi của tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	26
Hình 3.3: Ảnh hưởng của BA kết hợp NAA lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	28
Hình 3.4: Ảnh hưởng của trạng thái mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	29
Hình 3.5: Ảnh hưởng của môi trường khoáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	31
Hình 3.6: Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	33
Hình 3.7: Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít sau 8 tuần nuôi cấy.....	34
Hình 3.8: Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> trong hệ thống bioreactor 10 lít sau 8 tuần nuôi cấy.....	36
Hình 3.9: Ảnh hưởng của lưu lượng sục khí lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít sau 8 tuần nuôi cấy.....	39
Hình 3.10: Ảnh hưởng của thể tích bioreactor lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 8 tuần nuôi cấy.....	40
Hình 3.11: Ảnh hưởng của auxin lên sự hình thành rễ từ chồi của cây tiêu thảo lá nhãn <i>in vitro</i> sau 6 tuần nuôi cấy.....	43

## MỞ ĐẦU

### 1. Lý do chọn đề tài

Cá cảnh đang trở thành một ngành có thu nhập cao. Theo chi cục thủy sản TP.Hồ Chí Minh, sản lượng cá cảnh đã đạt 182 triệu con, tăng 17,4% so với năm 2017 (155 triệu con). Xuất khẩu cá cảnh cũng ghi nhận sự tăng trưởng, đạt hơn 20,31 triệu con, tăng 11,6%, và giá trị kim ngạch đạt 22,39 triệu USD, tăng 11,5% so với năm 2017. Sự gia tăng ổn định trong sản lượng cá cảnh đã thúc đẩy sự phát triển của các ngành hỗ trợ như cây thủy sinh, vật tư thiết bị hồ cá, thức ăn, thuốc... Trong số này, giá trị của ngành cây thủy sinh phục vụ cho ngành cá cảnh đã vượt mức 10 tỷ USD, với mức tăng trưởng trung bình hàng năm trên 10%.

Công tác nghiên cứu phát triển ngành cây thủy sinh trong nước vẫn chưa được phát triển rộng rãi. Hiện nay, trên địa bàn thành phố Hồ Chí Minh, thực vật thủy sinh tuy rất đa dạng về chủng loại nhưng giá thành vô cùng đắt đỏ. Nguồn cây giống chủ yếu hiện nay được nhập từ Trung Quốc, Thái Lan, Nhật Bản, ... Bên cạnh đó, việc nhân giống mang tính nhỏ lẻ, hộ gia đình với phương pháp chủ yếu là chiết, giâm cành và tách bụi. Vì vậy, vấn đề đặt ra là cần nghiên cứu phương pháp sản xuất số lượng cây thủy sinh lớn, sạch bệnh, đáp ứng nhu cầu sử dụng, sản xuất và xuất khẩu.

Việc ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô vào nhân giống các loài thực vật đang rất được ưa chuộng vì cho phép sản xuất số lượng lớn thống nhất về mặt di truyền, cây khỏe mạnh, và sạch bệnh [1]. Nhằm mục đích nhân nhanh giống cây thủy sinh sạch bệnh bằng kỹ thuật nuôi cấy mô đề tài “Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây tiêu thảo lá nhẵn (*Cryptocoryne wendtii*) bằng hệ thống bioreactor” được thực hiện.

### 2. Mục đích nghiên cứu

Nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây tiêu thảo lá nhẵn với quy mô lớn bằng hệ thống bioreactor.

### 3. Nội dung nghiên cứu

#### 3.1 Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng được thực hiện trong nghiên cứu này là cây tiêu thảo lá nhẵn (*Cryptocoryne wendtii*) tại Phòng Công nghệ Tế bào Thực vật, Viện Sinh học

Nhiệt đới Tp.HCM.

### **3.2. Phạm vi nghiên cứu của đề tài**

Đề tài áp dụng phương pháp nuôi cấy mô chồi cây tiêu thảo lá nhẵn (TTLN) ở các loại và nồng độ chất điều hòa tăng trưởng thực vật, môi trường khoáng cũng như điều kiện nuôi cấy *in vitro* khác nhau, và áp dụng mô hình bioreactor để tăng nhanh sinh khối.

## **4. Cơ sở khoa học và tính thực tiễn của đề tài**

### **4.1. Cơ sở khoa học**

Sự sinh dưỡng và phát triển của các loài cây thủy sinh đã được nghiên cứu từ những năm 1960. Trong đó, ảnh hưởng của hàm lượng CO<sub>2</sub>, phân bón hòa tan, pH của nước, cường độ và thời gian chiếu sáng có tầm quan trọng cao đối với sự phát triển của cây thủy sinh [2]. Thực vật thủy sinh cũng đã được vi nhân giống thành công ở các nước trên thế giới từ các loài thuộc chi *Aponogeton*, *Anubias barteri*, *Cryptocoryne*, *Rotala rotundifolia*, *Hemianthus callitrichoides*, *Pogostemon helferi*, *Aponogeton ulvaceus* bằng cách bổ sung các CDHSTTV [3-9].

Hiện nay, các nghiên cứu về nhân giống cây kiểng thủy sinh ở nước ta còn hạn chế, hoặc chưa được công bố rộng rãi. Cho đến nay, nghiên cứu của Nguyễn Thị Diệp và cộng sự được công bố năm 2016 đã thành công nhân giống *in vitro* hai loài cây kiểng thủy sinh đó là *Ludwigia repens rubin* và *Ludwigia natans* [10]. Năm 2020, Nguyễn Thị Dược và cộng sự đã nghiên cứu sử dụng CDHSTTV để nhân giống thành công cây TTLN (*Cryptocoryne wendtii*) [11].

### **4.2. Tính thực tiễn**

Ngày nay, không gian sống hiện đại dần trở nên phổ biến, là nơi chia sẻ gắn kết mọi thành viên trong gia đình. Có nhiều yếu tố tạo nên giá trị tinh tế cho không gian này, trong đó mảng xanh là điểm nhấn quan trọng. Chúng ta có thể trồng cây hoặc dành một diện tích nhỏ để xây dựng một hồ thủy sinh khiến cho không gian tươi mát hơn. Bên cạnh việc mang lại vẻ đẹp cho hồ thủy sinh, thực vật thủy sinh còn mang lại giá trị kinh tế cho ngành kinh doanh cá cảnh [12]. Cây TTLN (*Cryptocoryne*) được yêu thích nhờ màu sắc và hình dáng đa dạng, đáp ứng thị hiếu của người tiêu dùng, gồm hơn 20 loài

phổ biến trên toàn thế giới [13].

### **5. Những đóng góp của luận văn**

Hiện nay, thị trường cây thủy sinh trở nên sôi động với nhu cầu tiêu thụ ngày càng tăng, thúc đẩy sự phát triển ngành nông nghiệp công nghệ cao ở một số quốc gia Châu Á, Hà Lan,... Việt Nam đã nhanh chóng hòa nhập với xu hướng toàn cầu và chứng kiến sự phát triển vượt bậc của ngành cá cảnh. Cây thủy sinh là một trong những sản phẩm phụ trợ quan trọng cho ngành này, do đó việc phát triển cây thủy sinh đóng vai trò thiết yếu trong việc nâng cao giá trị ngành cá cảnh và thủy sản. Đề tài: “Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây tiêu thảo lá nhẵn (*Cryptocoryne wendtii*) bằng hệ thống bioreactor” được nghiên cứu nhằm tạo ra số lượng lớn cây thủy sinh chất lượng tốt, sạch bệnh đáp ứng nhu cầu cây cảnh thủy sinh trong nước cũng như thị trường quốc tế, mang lại giá trị kinh tế cho đất nước và góp phần vào sự phát triển thị trường cây thủy sinh ở Việt Nam cũng như trên thế giới.

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

### 1.1 SƠ LƯỢC VỀ CÂY TIÊU THẢO LÁ NHÃN (*CRYPTOCORYNE WENDTII*)

#### 1.1.1 Phân loại khoa học

Giới (Kingdom)	: Plantae
Ngành (Division)	: Tracheophytes
Lớp (Class)	: Monocotyledone
Bộ (Order)	: Alismatales
Họ (Family)	: Araceae
Tông (Tribus)	: Cryptocoryneae
Chi (Genus)	: <i>Cryptocoryne</i>
Loài (Species)	: <i>Cryptocoryne wendtii</i>
Tên thường gọi	: Tiêu thảo lá nhãn, kèn nước



Hình 1.1: Tiêu thảo lá nhãn *C.wendtii* (Igor Sheremetyev)

#### 1.1.2 Nguồn gốc, phân bố

Tiêu thảo (*Cryptocoryne*), một chi thực vật thuộc họ Araceae, có nguồn gốc từ đảo Sri Lanka và bao gồm hơn 50 giống khác nhau, phân bố rộng rãi ở khu vực Đông Nam Á. Khoảng 20 loài trong chi này được nuôi trồng trong các bể thủy sinh với mục đích thương mại trên toàn thế giới [13,14]. Hầu hết loài thuộc chi *Cryptocoryne* được tìm thấy ở các khu vực phía nam Châu Á. Được mô tả bởi nhà thực vật học người Hà Lan Hendrik de Wit đầu tiên năm 1956 [15].

Cây tiêu thảo lá nhãn (TTLN) là loài cây thủy sinh có tên khoa học là *Cryptocoryne wendtii*. Ngoài ra, TTLN còn được gọi với tên khác là kèn nước, dùng để chỉ hình dạng của hoa, đặc trưng của họ Araceae. Loài cây này có nhiều hình dáng và màu sắc lá khác nhau, phổ biến nhất là lá dài, hình mũi

mác, mặt trên lá có màu nâu đậm hoặc xanh olive và mặt dưới lá có màu đỏ xanh. Cây sinh trưởng tốt trong điều kiện nhiệt độ từ 23 - 26°C, pH thích hợp từ 6.8 - 7.8, cây dễ dàng sống trong điều kiện nước mềm và nước cứng (độ cứng từ 8 - 10 dGH). Ngoài tự nhiên cây TTLN thường được tìm thấy mọc ven suối và sông. Cây chủ yếu được tìm thấy trong các khu vực bóng râm, những nơi không có ánh sáng trực tiếp [16]. Cây phát triển tương đối chậm do đó cần sự kiên nhẫn từ người trồng, trong điều kiện nhân tạo cần bổ sung phân bón cho cây.

### 1.1.3 Đặc điểm hình thái

Cây tiêu thảo lá nhẵn là cây họ Ráy, cây thân rễ, thực vật một lá mầm thân rễ hình trụ, có chiều cao trung bình khoảng 10 cm.

#### 1.1.3.1 Thân/Rễ

Cây tiêu thảo lá nhẵn là cây thân rễ, thân ngắn với nhiều bẹ lá bao quanh. Cây có chiều dài từ 5 – 15 cm, bán kính thân cây từ 0,4 – 0,8 cm. Loài tiêu thảo thích nghi với điều kiện trên cạn và dưới nước, là loại cây thân bò. Cây tiêu thảo lá nhẵn sinh sản thông qua hai phương pháp chính: sinh sản bằng hạt và sinh sản bằng cách tách cây con từ rễ [16].

#### 1.1.3.2 Lá

Lá cây tiêu thảo lá nhẵn mọc đều nhau từ 5 – 10 lá, cuống lá có chiều dài từ 2 – 3 cm, bán kính 2 – 2,5 mm, phiến lá dạng lưỡi kiếm màu xanh đậm, xanh nhạt hơn đến màu tía. Lá có thể hình bầu dục hoặc hơi thon dài, với đỉnh nhọn và rìa hình sin có kích thước dài từ 3 – 5 cm, rộng 2 – 3 cm, lá cây bóng loáng và có màu xanh đậm hoặc xanh nhạt. Trong đó, tùy thuộc vào môi trường cây cho lá rất khác nhau về hình dạng, kích thước và màu sắc. Do đó, cây ngập nước có lá nhỏ hơn, chiều dài tối đa là 10 – 15 cm và có thể có các dải màu nâu với những đốm nhỏ hoặc màu hồng nhạt hay màu nâu ô liu [17].

#### 1.1.3.3 .Hoa

Hoa của tiêu thảo lá nhẵn dạng cụm đơn độc, giống như các cụm hoa trong họ Ráy, cuống hoa có độ dài 2 – 3 cm và màu trắng, thường nằm gần sát đất, phần gần đầu bông khoảng 1/3 có màu đỏ tím. Bao cụm hoa rộng, dài khoảng 2 – 3 cm, ẩm hình trụ bên trong màu trắng và có màu vàng nhạt (Hình 1.2). Hoa có chiều dài từ 1,2 – 2,5 cm, phần hoa cái có chiều dài từ 0,3 – 0,5



cm, đường kính 0,3 – 0,5 cm. Có 5 – 7 hoa cái, nhụy hoa có đường kính 0,6 – 1 mm. Phần hoa đực bao gồm 40 – 60 nhị hoa không đều, nhị hoa to 1 mm, phần trụ hình nón, nhọn, hơi cong hình xoắn. Nó cũng có thể hình thành hoa trong điều kiện dưới nước nhưng hoa thì không nở [18].



Hình 1.2: Hoa của tiêu thảo lá nhọn *C. wendtii* (Himesh Dilruwan Jayasinghe)

## 1.2 CÁC PHƯƠNG PHÁP NHÂN GIỐNG TIÊU THẢO LÁ NHẪN

### 1.2.1 Phương pháp nhân giống bằng tách bụi

Quá trình nhân giống cây tiêu thảo không phức tạp. Thông thường, các thân bò sẽ phát triển từ thân rễ của cây và sau đó có thể chia tách các cây con hình thành từ chúng. Cây con này thường không liên kết chặt với cây mẹ, dễ dàng tách rời và có thể trồng lại ở vị trí mới. Các cụm cây con cũng có thể được tách rời, sau đó trồng lại trong môi trường mới để chúng thích ứng với sự phát triển tiếp theo [19].

### 1.2.2 Phương pháp nhân giống *in vitro*

Phương pháp nhân giống *in vitro* ứng dụng khoa học kỹ thuật trong nhân giống đã được ứng dụng trên nhiều đối tượng cần nhân nhanh với số lượng lớn và ngày càng trở nên phổ biến [20,21]. Tuy nhiên, trong phạm vi tìm hiểu trên đối tượng TTLN thì việc ứng dụng phương pháp này chỉ mới được thực hiện qua 1 số nghiên cứu ở quy mô phòng thí nghiệm [22-24]. Việc nhân giống ở quy mô lớn chưa được tìm thấy.

Tuy nhiên, việc ứng dụng phương pháp nhân giống *in vitro* sẽ là hướng

đi tiềm năng không chỉ bởi những ưu điểm của phương pháp này mà việc đưa đối tượng vào điều kiện phòng thí nghiệm còn có thể giúp cho việc phát triển các giống lai tạo mới hay kiểm soát các tác động gây đột biến tích cực trên đối tượng, đặc biệt là cây thủy sinh, vốn được quan tâm nhiều về hình thái, phục vụ mục đích tạo cảnh quan hồ thủy sinh [25,26].

- Ưu điểm của phương pháp nhân giống *in vitro*:

Công nghệ nuôi cấy mô thực vật cho phép nhân giống hàng loạt với số lượng lớn, cây con cấy mô mang những đặc tính ưu việt giống hệt cây mẹ. Phương pháp này tạo điều kiện dinh dưỡng tối ưu cho cây, giúp chúng phát triển nhanh chóng và hạn chế sự xâm nhập của sâu bệnh. Kỹ thuật nhân giống *in vitro* không chỉ tạo ra cây con hoàn chỉnh từ nhiều loại tế bào thực vật mà còn giúp cải thiện chất lượng cây giống, gia tăng hệ số nhân giống và đảm bảo nguồn cung cây giống quanh năm [20].

Phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật hiện nay được xem là một kỹ thuật tiên tiến trong nông nghiệp và công nghệ sinh học. Kỹ thuật này cho phép sản xuất cây trồng với số lượng lớn, chất lượng đồng đều, và hiệu quả cao, mang lại lợi ích kinh tế lớn cho người trồng cây. Ngoài ra, phương pháp này còn có một số ứng dụng khác như: giúp chọn ra những cây có các đặc tính ưu việt để phát triển thành được phẩm sinh học, phục vụ y học và công nghệ sinh học, cứu những cây có phôi khó phát triển hoặc dễ bị tổn thương, hỗ trợ sự sinh trưởng của những loài cây khó sống, bảo tồn những loài cây quý hiếm có nguy cơ tuyệt chủng để duy trì sự đa dạng sinh học. Nhìn chung, đây là một phương pháp hiện đại, đa dạng và có tiềm năng lớn trong nhiều lĩnh vực [27,28].

- Nhược điểm của phương pháp nhân giống *in vitro*:

Bên cạnh những ưu điểm vượt trội, công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật vẫn tồn tại một số hạn chế cần lưu ý như: kinh phí vận hành cao bao gồm máy móc thiết bị vật tư, việc triển khai công nghệ này đòi hỏi đội ngũ thực hiện có kỹ năng và kinh nghiệm chuyên sâu, và khả năng biến dị soma ở mô cấy sau nhiều lần cấy chuyền [29,30].

Công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật đã mang lại những thành tựu đáng kể trong việc nhân giống nhiều loại cây trồng quý hiếm và khó trồng, giúp quá trình này trở nên dễ dàng hơn, đồng thời đạt được sản lượng lớn và chất lượng cao [27]. Đối với cây thủy sinh thì việc nhân giống thông qua công

nghe cấy mô giúp loại bỏ các tác nhân gây bệnh như vi khuẩn, nấm, tuyến trùng và các tác nhân gây bệnh khác. Đảm bảo tính đồng nhất về kích thước của cây giống, cung cấp số lượng giống lớn và ổn định quanh năm, sản xuất hoàn loạt các loài khác nhau không cần khai thác trong thiên nhiên [31].

Ứng dụng công nghệ nhân giống *in vitro* để sản xuất thương mại các loài *Cryptocoryne* có thể làm giảm bớt vấn đề về nguồn cung và chất lượng giống, đồng thời cung cấp một phương tiện để bảo tồn các loài có nguy cơ tuyệt chủng

### 1.2.3 Một số nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây tiêu thảo

Năm 1999, Kane và cộng sự tiến hành nghiên cứu nhân giống *in vitro* *C. wendtii*. Chồi đỉnh được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 0,56 mM myo-inositol; 1,2  $\mu$ M thiamine – HCL; 87,6 mM sucrose; 2,2  $\mu$ M BA; 0,57  $\mu$ M IAA và 0,8% agar. Ảnh hưởng của việc bổ sung môi trường cơ bản kết hợp BA (0–25  $\mu$ M) và IAA (0–10  $\mu$ M) đối với sự tăng sinh chồi nách được xác định sau 28 ngày. Trong nghiên cứu này, sự tăng sinh chồi nách tối đa (tăng gấp bảy lần) xảy ra trên môi trường chỉ bổ sung 20  $\mu$ M BA [32].

Năm 2006, Micheli và cộng sự đã nghiên cứu nhân giống ba loài cây thủy sinh *Cryptocoryne beckettii*, *Cryptocoryne lutea*, *Rotala rotundifolia*, trong nghiên cứu này chất khử trùng sodium hypochlorite 1 và 1,5 % sử dụng thành công trên cây *Cryptocoryne* và *Rotala* spp. Chồi cây phát sinh trên môi trường Linsmaier và Skoog (1965) bổ sung 0,5 mg/l NAA và BA có nồng độ 1 mg/l hoặc 4 mg/l. Trong môi trường bổ sung 1 hoặc 4 mg/l BA đều cho tỷ lệ hình thành chồi cao tuy nhiên trong đó môi trường bổ sung 4 mg/l có hệ số nhân cao hơn nhưng số lượng và chiều dài rễ thấp hơn so với nghiệm thức bổ sung 1 mg/l BA [5].

Năm 2010, Stanly và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu sự tái sinh chồi của cây *Cryptocoryne wendtii* và *Cryptocoryne beckettii* trong điều kiện *in vitro* từ chồi đỉnh. Kết quả của nghiên cứu cho thấy khi nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BA và 0,2 mg/l IBA cho tỷ lệ hình thành chồi cao trên cả hai loài và 95% cây sinh trưởng mạnh mẽ và không có bất thường nào sau tái sinh [22].

Năm 2018, tại Thổ Nhĩ Kỳ, Sundus Unal và cộng sự đã đề xuất quy trình nhân giống *in vitro* hiệu quả cho cây tiêu thảo lá nhẵn *C. wendtii*. Số chồi

cao nhất đạt được trên môi trường MS bổ sung 4,0 mg/l BA, 1,0 mg/l IBA với 3% sucrose, 0,7% agar [33].

Hiện nay, các nghiên cứu về nhân giống cây kiềng thủy sinh ở nước ta còn hạn chế, hoặc chưa được công bố rộng rãi. Cho đến nay, chỉ có nghiên cứu của Nguyễn Thị Diệp và cộng sự được công bố năm 2016 về nhân giống *in vitro* hai loài cây kiềng thủy sinh đó là *Ludwigia repens rubin* và *Ludwigia natans*. Trong nghiên cứu này đối với cây *Ludwigia repens rubin*, sự tạo chồi được kích hoạt từ đốt thân trên môi trường MS có bổ sung 0,07 mg/l TDZ và 0,01 mg/l NAA, môi trường  $\frac{1}{2}$  MS cho tỷ lệ tạo rễ cao và cây con thích nghi với điều kiện vườn ươm đạt 98%. Còn đối với cây *Ludwigia natans*, môi trường MS có bổ sung nồng độ 0,2 mg/l TDZ cho tỷ lệ tạo chồi cao, môi trường  $\frac{1}{2}$  MS cũng được dùng cho sự tạo rễ và cây ngoài vườn ươm có tỷ lệ thích nghi đạt 96% [10].

Năm 2020, Nguyễn Thị Duyệt và cộng sự đã nhân giống thành công *in vitro* loài *C.wendtii*. Sau 8 tuần nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 2,0 mg/l BA, tỷ lệ tạo chồi khá cao (3,8 chồi/mẫu). Ngoài ra, rễ được hình thành sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung IBA 0,5 mg/l với kết quả là 5,9 rễ/mẫu [11].

### **1.3 CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH NHÂN GIỐNG *IN VITRO***

#### **1.3.1 Môi trường nuôi cấy**

Môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) là môi trường nuôi cấy được sử dụng phổ biến nhất trong nuôi cấy đỉnh sinh trưởng [34]. Tuy nhiên, mỗi loài thực vật có một loại môi trường nuôi cấy riêng biệt. Nghiên cứu của Samartin (1989) trên cây *Camellia japonica* đã thử nghiệm 6 công thức khoáng đa lượng khác nhau, kết quả môi trường MS giúp cây non phát triển nhanh nhất [35]. Ngược lại, môi trường MS không phù hợp với mẫu từ cây trưởng thành, trong khi môi trường có hàm lượng dinh dưỡng thấp lại mang lại kết quả tích cực [35,36].

Trong các khoáng đa lượng, nitơ đóng vai trò cảm ứng tái sinh chồi. Nghiên cứu của Welander (1985) cho thấy khi giảm một nửa nồng độ  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  và  $\text{KNO}_3$  trong môi trường MS, sự phát triển của đỉnh sinh trưởng ở cây mâm xôi được cải thiện đáng kể và hệ rễ trở nên mạnh mẽ hơn [37].

Trong một số nghiên cứu, việc giảm nồng độ muối khoáng có thể có lợi cho sự phát triển rễ ở một số loài như hoa hồng và đu đủ [38-41].

Nguồn carbon đóng vai trò thiết yếu trong nuôi cấy đỉnh sinh trưởng, với nồng độ đường từ 1-3% thường được sử dụng phổ biến [34,42,43]. Chong và Pua (1985) đã thử nghiệm các loại đường khác nhau ở nồng độ từ 1-7% ở táo Ottawa 3, kết quả nồng độ sucrose 3% là lựa chọn tốt nhất, giúp cây phát triển tốt nhất và tạo rễ 100% cho cây con [44].

Bên cạnh đó, trạng thái vật lý của môi trường nuôi cấy cũng rất quan trọng. Mặc dù agar thường được sử dụng, nhưng trong một số trường hợp, môi trường lỏng lại cho kết quả tốt hơn [45].

Nồng độ thấp của các CDHSTTV trong môi trường nuôi cấy có thể giúp giảm thiểu hiện tượng biến dị tế bào soma. Đối với các loài thuộc họ cam quýt, tế bào mô sẹo có khả năng chuyển hóa thành phôi, có thể được nuôi cấy và bảo quản trong thời gian dài trong môi trường không chứa CDHSTTV [46].

### 1.3.2 Nhiệt độ và ánh sáng

- Nhiệt độ:

Nhiệt độ là một yếu tố môi trường quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến sự thành công của quá trình nuôi cấy mô. Ngưỡng nhiệt độ lý tưởng từ 20-27°C là điều kiện cần thiết để tối ưu hóa các quá trình sinh lý như hô hấp, phân chia tế bào và hình thành cơ quan ở thực vật *in vitro* [47].

- Ánh sáng:

Cường độ ánh sáng, có tầm quan trọng lớn trong nuôi cấy *in vitro*. Ngoài việc cung cấp năng lượng cho quá trình quang hợp, ánh sáng còn tác động đến nhiều quá trình sinh lý khác như nảy mầm, ra hoa, tạo quả, và cả sự phát triển của rễ, từ đó định hình sự sinh trưởng toàn diện của cây. Tuy nhiên, cường độ ánh sáng cần được điều chỉnh hợp lý để tránh gây hại đến sự phát triển của chồi [48].

### 1.3.3 Các yếu tố khác

- Quang kỳ và chất lượng ánh sáng:

Chất lượng ánh sáng, đặc biệt là ánh sáng đỏ và các bước sóng dài hơn, có tác động đáng kể trong việc điều khiển các quá trình sinh lý của cây trồng *in vitro*. Ánh sáng đỏ không chỉ ảnh hưởng đến sự ra hoa và chế độ dinh

duỡng mà còn thúc đẩy sự tăng sinh chồi và khả năng ra rễ. Trong khi đó, ánh sáng xanh có tác động phức tạp hơn, cả kích thích và ức chế một số quá trình sinh lý [48].

- Các chất khí:

Thành phần khí trong bình nuôi cấy ảnh hưởng lớn đến sự sinh trưởng của cây trong điều kiện nuôi cấy mô. Các loại khí như  $O_2$ ,  $CO_2$  và ethylen đã được nghiên cứu rộng rãi [49]. Để tránh tình trạng thiếu  $CO_2$  trong bình nuôi cấy, có thể sử dụng nắp bình có lỗ thông khí hoặc bổ sung  $CO_2$  để kích thích cây phát triển [50]. Không khí giàu  $CO_2$  kết hợp với ánh sáng mạnh giúp cải thiện quá trình quang hợp và tăng tốc độ nhân giống vi mô. Việc loại bỏ sucrose trong môi trường nuôi cấy giúp giảm nguy cơ nhiễm vi sinh vật gây hại [49]. Oxy là một yếu tố quan trọng, có thể giới hạn sự phát triển trong nuôi cấy mô [51], trong khi ethylen thường được xem là yếu tố ức chế, với nồng độ cao có thể làm chậm quá trình phát triển của mô sẹo [49,52].

- Chất điều hòa sinh trưởng thực vật

Auxin và cytokinin là hai loại CDHSTTV đóng vai trò quan trọng trong vi nhân giống, đặc biệt là trong quá trình tạo chồi [53]. Auxin (khi kết hợp với cytokinin) thúc đẩy sự phát triển của chồi non và khởi đầu quá trình tái tạo mô phân sinh từ nhu mô. Cytokinin đóng vai trò chính trong sự phân chia tế bào và kích thích biệt hóa tế bào từ các tế bào gốc mô phân sinh ngọn, dẫn đến sự hình thành chồi. Auxin có vai trò quan trọng trong sự hình thành và phát triển của phác thể lá tại mô phân sinh ngọn. Tỷ lệ auxin/cytokinin cao thúc đẩy sự ra rễ, trong khi tỷ lệ thấp kích thích sự phát triển chồi [54]. Trong nuôi cấy mô thực vật, việc sử dụng kết hợp 2,4-D và NAA ảnh hưởng đến việc hình thành mô sẹo và tái sinh cây [55,56].

Gibberellin là một nhóm lớn gồm hơn 80 hợp chất, được đặt tên theo dạng Ax hoặc GAx theo thứ tự phát hiện. Trong số các gibberellin, GA1 là chất kích thích chính cho sự kéo dài thân cây, trong khi GA3, dù ít phổ biến hơn trong thực vật, lại có hoạt tính sinh học quan trọng và thường được coi là tiêu chuẩn để so sánh với các gibberellin khác [54]. GA3 thường được dùng trong việc kích thích sự phát triển của thân, đặc biệt khi nồng độ cytokinin cao, dẫn đến sự hình thành các cụm chồi với cấu trúc đặc biệt [57-59].

## 1.4 HỆ HỒNG NUÔI CÂY BIOREACTOR

### 1.4.1 Hệ thống bioreactor air-lift

Hệ thống bioreactor air-lift là một loại bioreactor đơn giản, được thiết kế bộ phận sủi bọt khí ở đáy bình, với tác dụng cung cấp oxy cũng như khuấy đảo môi trường. Lượng oxy được cung cấp từ hệ thống này ảnh hưởng trực tiếp đến sự phát triển của mẫu nuôi cấy. Hiroyuki Honda (2002) đã áp dụng hệ thống này để nuôi cấy mô sẹo cây nho, trong đó dòng khí 80 ml/phút cho kết quả tối ưu trong sự phát triển mô sẹo và hàm lượng anthocyanin [60]. So với hệ thống có cánh khuấy, bioreactor air-lift khắc phục nhược điểm chính là: giảm thiểu năng lượng và tác động vật lý lên mô thực vật nhờ sự chuyển động nhẹ nhàng của dòng bong bóng khí thổi từ dưới lên thông qua màng lọc có lỗ kích thước từ 0.01 đến 0.1  $\mu\text{m}$  [61].

Hệ thống này cho phép sinh khối tăng trưởng nhanh chóng nhờ nuôi cấy ngập chìm, tối ưu hóa quá trình trao đổi chất và loại bỏ hiện tượng cạnh tranh dinh dưỡng. Với khả năng thích ứng tốt trong điều kiện ngập nước, hệ thống này là lựa chọn hoàn hảo để tăng sinh khối và tạo rễ. Hệ thống này đã được ứng dụng rộng rãi trong sản xuất giống và sinh khối, bao gồm các loại cây trồng như hoa Lily, hoa thu hải đường và nhân sâm tại phân viện sinh học Đà Lạt [62]. Nhờ khả năng này, hệ thống bioreactor đã trở thành công cụ không thể thiếu trong việc nhân giống và sản xuất sinh khối quy mô lớn để thu được các hợp chất sinh học có giá trị.

Tuy nhiên, hệ thống bioreactor air-lift mặc dù có nhiều ưu điểm nhưng vẫn tồn tại một số hạn chế. Việc ngập chìm liên tục có thể gây ra hiện tượng thủy tinh hóa và stress cho tế bào, đồng thời làm tăng nguy cơ nhiễm khuẩn. Ngoài ra, hệ thống này chưa có tính linh hoạt cao khi áp dụng cho nhiều giống cây trồng khác nhau.

### 1.4.2 Các yếu tố ảnh hưởng đến việc tối ưu hóa hệ thống Bioreactor sử dụng trong nuôi cấy mô thực vật

#### 1.4.2.1 Không khí

Không khí bao gồm các thành phần chính là nitrogen (78%), oxygen (21%) và một lượng nhỏ carbon dioxide (0,036%) [63]. Lượng không khí trong bình phụ thuộc vào thể tích và khả năng thoát khí của bình nuôi cấy.

Những thành phần này ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình hô hấp và sinh trưởng của tế bào trong hệ thống bioreactor [63,64].

Quá trình hô hấp và quang hợp của thực vật ảnh hưởng trực tiếp đến nồng độ CO<sub>2</sub> trong môi trường nuôi cấy. Thực vật hô hấp sử dụng O<sub>2</sub> và thải ra CO<sub>2</sub>, trong khi điều này ngược lại khi quang hợp. Trong điều kiện tối, nồng độ CO<sub>2</sub> trong môi trường nuôi cấy tăng, nhưng trong pha sáng với sự chiếm ưu thế của quang tự dưỡng, nồng độ CO<sub>2</sub> giảm. Các nghiên cứu cho thấy nồng độ CO<sub>2</sub> cao kích thích sự sinh trưởng của chồi và lá ở *Theobroma cacao* [65,66]. Tuy nhiên, trong quá trình nuôi cấy *in vitro*, ngoài CO<sub>2</sub>, cây còn thải ra các khí khác như ethylene (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>), ethanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), acetaldehyde và hydrocarbon [67]. Nghiên cứu của De Proft và cộng sự (1985) chỉ ra rằng sự phát triển của mô cấy *in vitro* bị ảnh hưởng bởi sự giảm hàm lượng CO<sub>2</sub> và tăng hàm lượng ethylene [68]. Trong nuôi cấy củ khoai tây, sự hình thành củ bị ức chế khi nuôi cấy liên tục trong pha lỏng, củ bắt đầu hình thành khi chồi vươn dài và tiếp xúc với pha khí trong bình. Sự tăng CO<sub>2</sub>, điều chỉnh lượng hormone, và thay đổi điều kiện thẩm thấu đều không thay đổi được hiện tượng này. Tuy nhiên, khi chuyển sang nuôi cấy hai pha, sự cảm ứng tạo củ được tăng mạnh ở hàm lượng đường cao (9% sucrose) [65].

Theo kết quả của Hegarty và cộng sự (1986) về tác động của thông thoáng đến nuôi cấy huyền phù *Catharanthus roseus* trong hệ thống Bioreactor air-lift cho thấy, khối lượng khô có thể tăng đáng kể và hàm lượng chất hoạt tính thứ cấp cũng rất cao [69].

#### 1.4.2.2 Oxy hòa tan

Sự hòa tan oxy trong nước vào khoảng 0,25 mmol/l ở 25°C (1 atm). Hệ thống bioreactor giúp khuếch tán oxy từ pha khí sang pha lỏng, đảm bảo cho sự phát triển của mô thực vật. Do đó, mức độ khuấy trộn cần được điều chỉnh phù hợp cho từng loại mô cấy [70].

Để đảm bảo sự phát triển tối ưu của tế bào và mô, lượng oxy hòa tan trong môi trường nuôi cấy phải luôn được duy trì ở mức cao hơn ngưỡng tối thiểu cần thiết (DO<sub>2</sub> htcđ). Nếu không đáp ứng được tiêu chí này, năng lượng ATP của tế bào sẽ giảm. Do đó, việc thiết kế Bioreactor thường dựa vào giá trị DO<sub>2</sub> htcđ [62]. Ở nhân sâm, nồng độ oxy 40% là điều kiện lý tưởng để tối đa hóa sản lượng sinh khối và ginsenoside. Ngược lại, nồng độ 50% lại gây ức chế quá trình nuôi cấy tế bào và giảm khả năng tích lũy ginsenoside [71].



### 1.4.2.3 Sự đảo trộn

Trong các hệ thống bioreactor air-lift, quá trình đảo trộn đóng vai trò quan trọng trong việc tạo ra môi trường nuôi cấy đồng nhất và sự phân bố mẫu cấy trong pha lỏng. Việc này được đảm bảo nhờ phương pháp sục khí, khuấy trộn cơ học, hoặc kết hợp cả hai [72].

Trong một số trường hợp, nguồn oxy có thể không tiếp cận được với mẫu cấy ở trung tâm bioreactor đặc biệt là khi nuôi cấy nhân sinh khối rễ, tình trạng thiếu oxy thường xảy ra ở các vùng bên trong do sự đan xen của rễ cản trở việc lưu thông khí và phân bố chất dinh dưỡng. Điều này dẫn đến hiện tượng lão hóa mô và ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm cuối cùng. Vì vậy, việc thiết kế hệ thống đảo trộn là vô cùng quan trọng [73].

Tuy nhiên, tốc độ khuấy trộn quá mạnh có thể làm tổn hại đến tế bào, trong khi tốc độ quá yếu lại không đủ để cung cấp oxy và chất dinh dưỡng cho tế bào. Hiện nay, chưa có nhiều các công bố khoa học về sự đảo trộn trong nuôi cấy bioreactor. Để khắc phục điều này, hệ thống nuôi cấy bán ngập chìm ra đời với việc mẫu không hoàn toàn nằm bên trong pha lỏng, không cần sự khuấy trộn [74,75].

### 1.4.2.4 pH

Độ pH đóng vai trò quyết định đối với sự sinh trưởng và phát triển của thực vật [62]. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng sự thay đổi pH trong môi trường nuôi cấy có liên quan đến sự cân bằng của các muối amoni. Thực vật phát triển tốt trong khoảng pH từ 5,5 đến 6,5. pH ảnh hưởng đáng kể đến hoạt động của các nguyên tố vi lượng và đa lượng trong môi trường nuôi cấy. Khi pH dưới 5,5, hoạt động của các nguyên tố như P, K, Ca, Mg và Mo giảm đáng kể, trong khi pH trên 6,5 làm cho Fe và Mn mất hoạt tính. Trường hợp pH quá cao, hiện tượng kết tủa  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  có thể xảy ra [76]. Nghiên cứu của Lazzeri và cộng sự (1987) cho thấy khi pH giảm xuống dưới 5,0, sự phát triển của mô thực vật bị ức chế rõ rệt [77].

### 1.4.2.5 Chất dinh dưỡng

#### • Nguồn carbon

Trong nuôi cấy bằng bioreactor, giống như trong các hệ thống nuôi cấy khác, cần phải bổ sung nguồn carbon vào môi trường. Tùy thuộc vào mục tiêu của quá trình nuôi cấy, carbon có thể được bổ sung vào với các nồng độ

khác nhau. Các nguồn carbon phổ biến thường được sử dụng là sucrose hoặc glucose, với nồng độ khoảng 2 - 4% [78].

- Dinh dưỡng khoáng

Thực vật, giống như các sinh vật sống khác, cần nhiều nguyên tố khoáng, bao gồm cả đa lượng và vi lượng, để đảm bảo quá trình sinh trưởng và phát triển bình thường. Nguyên tố đa lượng thường được bổ sung với nồng độ cao (khoảng 0,5 mmol/l), trong khi nguyên tố vi lượng chỉ cần ở lượng rất nhỏ (khoảng 0,05 mmol/l) [79]. Trong hệ thống bioreactor, nhiều loại môi trường như SH, MS, B5 và Nisch được sử dụng, nhưng môi trường MS vẫn là lựa chọn phổ biến nhờ cung cấp đa dạng các khoáng chất phù hợp cho nhiều loại cây [80].

Trong nghiên cứu của Choi và cộng sự (2003), nồng độ  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  trong môi trường nuôi cấy cây *Panax ginseng* cần được điều chỉnh theo từng giai đoạn phát triển. Cụ thể, để kích thích sự hình thành callus, nồng độ  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  khoảng 60 mM là tối ưu; trong giai đoạn cấy chuyển, nồng độ nên giảm còn 40 mM; và để tăng sinh khối, nồng độ nên được duy trì ở mức 20 mM [81].

- Vitamin

Trong điều kiện tự nhiên, thực vật có khả năng tự tổng hợp đầy đủ các loại vitamin cho các hoạt động sống. Các vitamin này đóng vai trò như những "vật liệu xúc tác" quan trọng, giúp các phản ứng sinh hóa trong tế bào diễn ra trơn tru. Tuy nhiên, khi tế bào và mô thực vật được nuôi cấy in vitro, chúng có thể không sản xuất đủ một số vitamin cần thiết, đặc biệt là các vitamin nhóm B, do đó cần phải bổ sung từ bên ngoài [79]. Do đó, để đảm bảo các tế bào phát triển tốt nhất, việc bổ sung thêm các vitamin này từ bên ngoài là điều cần thiết.

Theo Masanaru Misawa (1994), vitamin Thiamine (B1) là một yếu tố dinh dưỡng thiết yếu đối với nhiều loại tế bào thực vật trong nuôi cấy mô. Vitamin B1 không chỉ kích thích sự tăng trưởng của thực vật, vitamin B1 còn tham gia vào nhiều quá trình sinh lý quan trọng của tế bào. Mặc dù tế bào thực vật có thể tự tổng hợp lại vitamin B1 sau khi khử trùng môi trường, việc bổ sung vitamin B1 vào môi trường nuôi cấy vẫn được khuyến khích để đảm bảo mô, tế bào thực vật phát triển tối ưu [82].

## CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

#### 2.1.1 Thời gian

Thời gian thực hiện: 03/2022 đến tháng 08/2024.

#### 2.1.2 Địa điểm

Đề tài nghiên cứu tại phòng thí nghiệm trọng điểm quốc gia phía Nam về công nghệ tế bào thực vật, Viện sinh học Nhiệt đới.

#### 2.1.3 Vật liệu nghiên cứu

Cây TTLN đã được đánh giá không bị nhiễm virus CMV và DsMV bằng phương pháp RT-PCR, được giữ giống tại phòng CNTB TV – Viện Sinh học Nhiệt đới.



Hình 2.1: Cây TTLN sạch bệnh được giữ giống tại phòng CNTB TV – Viện Sinh học Nhiệt đới.

#### 2.1.4 Điều kiện nuôi cấy

- Nhiệt độ phòng nuôi cấy:  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .
- Cường độ ánh sáng:  $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .
- Thời gian chiếu sáng: 12 giờ/ngày.
- Độ ẩm trung bình từ 60-70%.

#### 2.1.5 Dụng cụ và thiết bị

- Đĩa cấy, dao cấy, kẹp, đèn cồn.
- Nồi hấp khử trùng, thiết bị đo đường kính, máy đo pH, máy cất nước, cân điện tử, tủ lạnh, tủ cấy vô trùng, chai thủy tinh.
- Hệ thống bioreactor có thể tích 1 lít, 5 lít và 10 lít.

### **2.1.6 Môi trường và hóa chất**

- Khoáng đa lượng và vi lượng theo công thức MS (Murashige và Skoog, 1962) và B5 (Gamborg, 1968), chất điều hòa sinh trưởng Benzyl adenine (BA), Kinetin (KIN), Naphthalen acetic acid (NAA), Indole-3-butyric acid (IBA) và các chất khác (agar, đường sucrose).
- Hóa chất sử dụng: Cồn 96°, cồn 70°, nước cất, agar.

## **2.2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.2.1 Nội dung 1: Khảo sát điều kiện khử trùng của cây TTLN tạo nguồn mẫu *in vitro***

Xác định chế độ khử trùng thích hợp đối với mẫu cây chồi đỉnh cây TTLN

### **2.2.2 Nội dung 2: Khảo sát các điều kiện ảnh hưởng lên sự phát sinh chồi của cây TTLN *in vitro***

Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin lên sự phát sinh chồi của cây TTLN *in vitro*.

Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin kết hợp NAA lên sự phát sinh chồi của cây TTLN *in vitro*.

Khảo sát sự ảnh hưởng của trạng thái mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi của cây TTLN *in vitro*.

Khảo sát ảnh hưởng của môi trường khoáng lên sự tăng trưởng của chồi cây TTLN *in vitro*.

Khảo sát sự ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng của chồi cây TTLN *in vitro*.

### **2.2.3 Nội dung 3: Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng lên sự nhân nhanh chồi cây TTLN trong hệ thống bioreactor**

Khảo sát sự ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây TTLN trong hệ thống bioreactor

Khảo sát sự ảnh hưởng của lưu lượng sục khí lên sự nhân nhanh của chồi cây TTLN trong hệ thống bioreactor.

Khảo sát sự ảnh hưởng của thể tích bioreactor lên sự nhân nhanh của chồi cây TTLN trong hệ thống bioreactor.

#### **2.2.4 Nội dung 4: Khảo sát sự ảnh hưởng của auxin lên sự hình thành rễ từ chồi của cây TTLN *in vitro***

Xác định nồng độ auxin thích hợp cho sự hình thành rễ từ chồi ở cây TTLN *in vitro*.

### **2.3 PHƯƠNG PHÁP BỐ TRÍ THÍ NGHIỆM**

#### **2.3.1 Nội dung 1: Khảo sát điều kiện khử trùng của cây TTLN, tạo nguồn mẫu *in vitro***

*Thí nghiệm 1: Khảo sát điều kiện khử trùng của cây TTLN, tạo nguồn mẫu *in vitro**

Mục đích: Thí nghiệm nhằm xác định chế độ khử trùng thích hợp đối với mẫu cấy chồi đỉnh cây TTLN

Cách tiến hành: Mẫu chồi từ cây TTLN sạch bệnh được giữ giống tại phòng CNTB TV – Viện Sinh học Nhiệt đới, với chiều cao khoảng 1 cm được loại bớt lá, lặt với xà phòng 3 phút, sau đó được khử trùng bằng các chất và nồng độ khác nhau như: javel thương mại (nồng độ 25% và 50%), thủy ngân clorua ( $\text{HgCl}_2$  0,1%) với thời gian khử trùng lần lượt là 5, 10 và 15 phút. Sau đó được nuôi cấy trong môi trường MS cơ bản. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 9 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 10 bình, mỗi bình chứa 5 mẫu, lặp lại 3 lần.

Sau 14 ngày nuôi cấy, tiến hành thu thập số liệu với các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu nhiễm (%) và mẫu sống vô trùng (%).

#### **2.3.2 Nội dung 2: Khảo sát các điều kiện ảnh hưởng lên sự phát sinh chồi của cây TTLN *in vitro***

*2.3.2.1 Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin lên sự phát sinh chồi của cây TTLN *in vitro*.*

Mục đích: Xác định loại và nồng độ cytokinin thích hợp cho sự phát sinh chồi cây TTLN *in vitro*.

Cách tiến hành: Sau giai đoạn khử trùng, các mẫu sống vô trùng được cắt ngắn khoảng khoảng 1 cm và cấy trên môi trường MS cơ bản bổ sung BA hoặc KIN riêng lẻ ở các nồng độ khác nhau (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/l). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 9 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức gồm 5 bình, mỗi bình chứa 5 mẫu, 3 lần lặp lại.

Chỉ tiêu theo dõi: Sau thời gian 6 tuần nuôi cấy, tiến hành thu nhận các số liệu với các chỉ tiêu: số chồi/mẫu, số lá/mẫu, và chiều cao chồi (mm).

*2.3.2.2 Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin kết hợp NAA lên sự phát sinh chồi của cây TTLN in vitro.*

Mục đích: Xác định nồng độ cytokinin kết hợp NAA thích hợp cho sự phát sinh chồi cây TTLN *in vitro*.

Cách tiến hành: Các mẫu chồi đơn *in vitro* có chiều cao khoảng 1 cm được cấy lên môi trường MS cơ bản bổ sung BA hoặc KIN được lựa chọn ở thí nghiệm 2 kết hợp với NAA ở các nồng độ 0,0; 0,05; 0,1; 0,15 và 0,2 mg/l. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 5 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức gồm 5 bình, mỗi bình chứa 5 mẫu với 3 lần lặp lại.

Chỉ tiêu theo dõi: Sau 6 tuần nuôi cấy, tiến hành thu nhận các số liệu với các chỉ tiêu: số chồi/mẫu; số lá/chồi và chiều cao (mm).

*2.3.2.3 Thí nghiệm 4: Khảo sát sự ảnh hưởng của trạng thái mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi của cây TTLN in vitro.*

Mục đích: Xác định trạng thái mẫu cây ban đầu thích hợp cho sự phát sinh chồi cây TTLN *in vitro*.

Phương pháp thực hiện: Các mẫu cụm chồi *in vitro* có số lượng khác nhau (chồi đơn, cụm 3 chồi và cụm 5 chồi) chiều cao khoảng 1 cm được cấy lên môi trường MS cơ bản bổ sung CĐHSTTV có nồng độ thích hợp được xác định ở thí nghiệm 3. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, một yếu tố với 3 nghiệm thức, 3 lần lặp lại.

Chỉ tiêu theo dõi: Sau 6 tuần nuôi cấy, tiến hành thu nhận các số liệu với các chỉ tiêu: Số chồi/mẫu; số lá/mẫu; chiều cao chồi trung bình (mm); hệ số tăng sinh và hệ số nhân giống.

*2.3.2.4 Thí nghiệm 5: Khảo sát ảnh hưởng của môi trường khoáng lên sự tăng trưởng của chồi cây TTLN in vitro.*

Mục đích: Xác định môi trường khoáng thích hợp cho sự tăng trưởng chồi ở cây TTLN *in vitro*.

Cách tiến hành: Mẫu chồi đơn TTLN *in vitro* có cùng kích thước khoảng 1 cm được cấy lên môi trường khoáng khác nhau (MS;  $\frac{1}{2}$  MS; MS  $\frac{1}{2}$  và B5) có bổ sung CĐHSTTV với nồng độ thích hợp được xác định ở thí nghiệm 3. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 4

nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 10 bình, mỗi bình 5 mẫu với 3 lần lặp lại.

Chỉ tiêu theo dõi: Sau 6 tuần nuôi cấy, tiến hành thu nhận các số liệu với các chỉ tiêu: chiều cao chồi trung bình (mm), số lá/mẫu, khối lượng tươi (g/bình).

*2.3.2.5 Thí nghiệm 6: Khảo sát sự ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng của chồi cây TTLN in vitro.*

Mục đích: Xác định cường độ ánh sáng thích hợp cho sự tăng trưởng chồi cây TTLN *in vitro*.

Cách tiến hành: Mẫu chồi đơn TTLN *in vitro* có kích thước khoảng 1 cm được cấy trong môi trường với thành phần khoáng thích hợp ở thí nghiệm 5. Các mẫu cấy được khảo sát sự sinh trưởng trong các điều kiện có cường độ chiếu sáng khác nhau (1000; 2500 và 4500 lux) bằng đèn led HortiPower Tissue Culture Linear 20W. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 5 bình, mỗi bình 5 mẫu, 3 lần lặp lại.

Chỉ tiêu theo dõi: Sau 6 tuần nuôi cấy, tiến hành thu nhận các số liệu với các chỉ tiêu: Số chồi/mẫu; số lá/mẫu; chiều cao chồi trung bình (mm); diện tích lá (cm<sup>2</sup>); khối lượng tươi (g/bình) và khối lượng khô (g/bình) .

### **2.3.3 Nội dung 3: Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng lên sự nhân nhanh chồi cây TTLN trong hệ thống Bioreactor**

*2.3.3.1 Thí nghiệm 7: Khảo sát sự ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây TTLN trong hệ thống bioreactor.*

Mục đích: Xác định khối lượng mẫu cấy thích hợp cho sự nhân nhanh chồi trong Bioreactor

Cách tiến hành: Các cụm chồi TTLN có số chồi thích hợp được lựa chọn ở thí nghiệm 4 có cùng kích thước được cấy trong hệ thống bioreactor 1 lít và 10 lít với khối lượng mẫu ban đầu được khảo sát thay đổi theo từng nghiệm thức khác nhau. Trong đó, hệ thống bioreactor 1 lít chứa 500 ml môi trường, các bình này được đậy nắp cao su có gắn 2 ống để thổi khí và xả khí, phần bên ngoài có gắn filter để lọc không khí. Ống thổi khí được nối dài tới đáy bình và gắn đầu đá bọt để sục khí với lưu lượng khí là 1 L/phút, khối lượng mẫu ban đầu là (5; 10; 15 và 20 g). Hệ thống bioreactor 10 lít chứa 4 lít môi trường, tốc độ sục khí 2 L/phút, khối lượng mẫu ban đầu là (20, 40, 60,

và 80 g)

Sau 8 tuần nuôi cấy, tiến hành thu nhận số liệu với các chỉ tiêu: khối lượng sinh khối tươi (g/bình), số chồi/mẫu, kích thước cụm chồi trung bình (mm), số lá, số rễ, và hệ số tăng sinh.

*2.3.3.2 Thí nghiệm 8: Khảo sát sự ảnh hưởng của lưu lượng sục khí lên sự nhân nhanh của chồi cây TTLN trong hệ thống Bioreactor.*

Mục đích: Xác định lưu lượng sục khí thích hợp cho sự nhân nhanh chồi trong Bioreactor

Cách tiến hành: Các cụm chồi TTLN có số chồi thích hợp được lựa chọn ở thí nghiệm 4 có cùng kích thước được cấy trong hệ thống Bioreactor thể tích 1 lít chứa 500 ml môi trường với khối lượng mẫu ban đầu thích hợp từ thí nghiệm 7. Lưu lượng sục khí được thay đổi theo từng nghiệm thức khác nhau (1, 2, 3 và 4 L/phút). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 1 bình với 3 lần lặp lại.

Chỉ tiêu theo dõi: Sau 8 tuần nuôi cấy, tiến hành thu nhận số liệu với các chỉ tiêu: khối lượng sinh khối tươi (g/bình), số chồi/mẫu, kích thước cụm chồi trung bình (mm), số lá, số rễ, và hệ số tăng sinh.

*2.3.3.3 Thí nghiệm 9: Khảo sát sự ảnh hưởng của thể tích bioreactor lên sự nhân nhanh của chồi cây TTLN trong hệ thống bioreactor.*

Mục đích: Xác định thể tích bioreactor thích hợp cho sự nhân nhanh chồi trong bioreactor

Cách tiến hành: Các cụm chồi TTLN có số chồi thích hợp được lựa chọn ở thí nghiệm 4 có cùng kích thước được cấy trong các hệ thống Bioreactor có thể tích thay đổi theo từng nghiệm thức khác nhau (1 lít, 5 lít, 10 lít) chứa lượng môi trường lần lượt là 500mL, 2500mL, 4000mL và khối lượng mẫu tương ứng là 15g, 40g, 80g. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 1 bình với 3 lần lặp lại.

Chỉ tiêu theo dõi: Sau 8 tuần nuôi cấy, tiến hành thu nhận số liệu với các chỉ tiêu: khối lượng sinh khối tươi (g/bình), số chồi/mẫu, kích thước cụm chồi trung bình (mm), số lá và hệ số tăng sinh.

**2.3.4 Nội dung 4: Khảo sát sự ảnh hưởng của auxin lên sự hình thành rễ từ chồi của cây TTLN *in vitro***



***Thí nghiệm 10: Khảo sát sự ảnh hưởng của auxin lên sự hình thành rễ từ chồi của cây TTLN in vitro***

Mục đích: Xác định nồng độ auxin thích hợp cho sự hình thành rễ từ chồi ở cây thủy sinh in vitro

Cách tiến hành: Các chồi đơn TTLN in vitro có chiều cao khoảng 1 cm được nuôi cấy trong môi trường khoáng thích hợp ở thí nghiệm 5 bổ sung NAA (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/L) hoặc IBA (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/L). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 9 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 5 bình, mỗi bình 5 mẫu, 3 lần lặp lại.

Chỉ tiêu theo dõi: Sau 6 tuần nuôi cấy, tiến hành thu nhận các số liệu với các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu tạo rễ (%); số lá/chồi (lá), số rễ/mẫu (rễ) và chiều cao cây (cm).

## **2.4 PHƯƠNG PHÁP LẤY SỐ LIỆU**

Tỷ lệ mẫu nhiễm (%): phần trăm mẫu nhiễm trên tổng số

Tỷ lệ mẫu sống vô trùng (%): phần trăm mẫu sống vô trùng trên tổng số

Số chồi/mẫu: đếm số chồi hình thành trên 1 mẫu

Số lá/mẫu: đếm số lá hình thành trên 1 mẫu

Chiều cao chồi (mm): được xác định bằng thiết bị đo chiều dài

Hệ số tăng sinh: tỷ lệ khối lượng tươi sau khi nuôi cấy và trước khi nuôi cấy

Hệ số nhân giống: tỷ lệ số chồi hình thành sau khi nuôi cấy và trước khi nuôi cấy

Khối lượng tươi: được xác định bằng cách cân khối lượng tươi của mẫu

Khối lượng khô: được xác định bằng cách cân khối lượng của mẫu sau khi sấy khô

Diện tích lá: được xác định bằng dụng cụ đo diện tích.

## **2.5 PHÂN TÍCH VÀ XỬ LÝ SỐ LIỆU**

Các thí nghiệm đều được bố trí theo kiểu thí nghiệm đơn yếu hoàn toàn ngẫu nhiên. Số liệu được ghi nhận và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai (ANOVA), kết quả phân hạng theo Duncan bằng chương trình Minitab 16.

### CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 NỘI DUNG 1: KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN KHỬ TRÙNG CỦA CÂY TIÊU THẢO LÁ NHÃN, TẠO NGUỒN MẪU *IN VITRO*

##### Thí nghiệm 1: Khảo sát điều kiện khử trùng của cây tiêu thảo lá nhãn, tạo nguồn mẫu *in vitro*

Bảng 3.1: Ảnh hưởng của điều kiện khử trùng lên mẫu cây TTLN để tạo nguồn mẫu *in vitro* sau 14 ngày nuôi cấy

Nghiệm thức	Nồng độ chất khử trùng	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu sống vô trùng (%)
Javel	25 %	T1-5	100	0
		T1-10	95	5
		T1-15	60	10
	50%	T2-5	70	0
		T2-10	60	15
		T2-15	35	20
HgCl <sub>2</sub>	0,1 %	T3-5	60	20
		T3-10	25	60
		T3-15	10	45

Hiệu quả khử trùng mẫu của các chất khử trùng phụ thuộc vào thời gian xử lý, nồng độ xử lý và loại mô ở thí nghiệm này hai chất khử trùng được sử dụng là Javel và HgCl<sub>2</sub> ở các nồng độ và thời gian được thay đổi theo bảng 3.1 để khảo sát hiệu quả tạo mẫu vô trùng.

Số liệu ghi nhận ở bảng 3.1 cho thấy Javel ở cả hai nồng độ khảo sát với các thời gian khử trùng khác nhau đều không có hiệu quả trong khử trùng mẫu TTLN, với tỷ lệ mẫu sống vô trùng không quá 20%.

Ngược lại, dung dịch 0,1%  $\text{HgCl}_2$  đã thể hiện sự hiệu quả trong quá trình khử trùng, vượt trội so với Javel. Trong đó, việc sử dụng dung dịch 0,1%  $\text{HgCl}_2$  và thời gian khử trùng kéo dài 10 phút (T3-10) cho kết quả tốt nhất, với 60% mẫu sống vô trùng và 25% mẫu nhiễm. Nghiệm thức T3-15, với thời gian khử trùng tăng lên, đã giảm tỷ lệ mẫu nhiễm xuống dưới 10%, nhưng đồng thời cũng giảm đáng kể tỷ lệ mẫu sống xuống còn 45%. Có thể giải thích rằng thời gian tiếp xúc lâu với chất khử trùng đã gây tổn thương mạnh mẽ cho mô thực vật.

Tuy nhiên, tỷ lệ mẫu sống vô trùng cao nhất cũng chỉ đạt 60%. Điều này có thể do cây TTLN có thân ngắn, các tầng lá xếp gần nhau, thân và chồi đỉnh gần như nằm trong giá thể nên việc loại bỏ hoàn toàn các tạp nhiễm rất khó khăn. Việc loại bỏ lá và một phần cuống lá để khử trùng đã tạo vết thương cũng gây ra thương tổn đáng kể cho mẫu.

Với kết quả ghi nhận được ở bảng 3.1 cho thấy điều kiện khử trùng thích hợp đối với chồi TTLN là sử dụng dung dịch 0,1%  $\text{HgCl}_2$  trong 10 phút.

## **3.2 NỘI DUNG 2: KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG THỰC VẬT LÊN SỰ PHÁT SINH CHỒI CỦA CÂY TIÊU THẢO LÁ NHÃN *IN VITRO***

### **3.2.1 Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro***

Cytokinin kích thích phân chia và biệt hóa tế bào gốc mô phân sinh ngọn, ảnh hưởng rõ rệt lên sự phân hóa cơ quan của thực vật, đặc biệt là phân hóa chồi. Cytokinin đã được chứng minh tác động lên quá trình ngủ đông của các chồi, kích thích nảy mầm và hình thành mô mạch, mở rộng lá mầm ở nhiều loài thực vật [83,84].

Nhằm tăng sự phát sinh chồi cây TTLN, các chồi *in vitro* có độ dài khoảng 1 cm được nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản, có bổ sung BA hoặc KIN riêng lẻ ở các nồng độ khác nhau. Sau 6 tuần nuôi cấy, kết quả theo dõi được ghi nhận và trình bày ở bảng 3.2.

Bảng 3.2: Ảnh hưởng của BA hoặc KIN lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	Số chồi (chồi/mẫu)	Số lá (lá/mẫu)	Chiều cao (mm)
ĐC	1,00c	5,13d	8,80b
KIN0,5	1,50bc	6,67ab	8,40b
KIN1,0	1,67abc	7,07a	12,40a
KIN1,5	2,03ab	5,93bcd	10,00b
KIN2,0	1,97ab	6,33abc	8,40b
BA0,5	1,53bc	5,47cd	9,93b
BA1,0	1,60bc	5,60cd	9,07b
BA1,5	2,47a	5,80bcd	10,07b
BA2,0	1,47bc	5,80bcd	8,07b
ANOVA	**	**	**

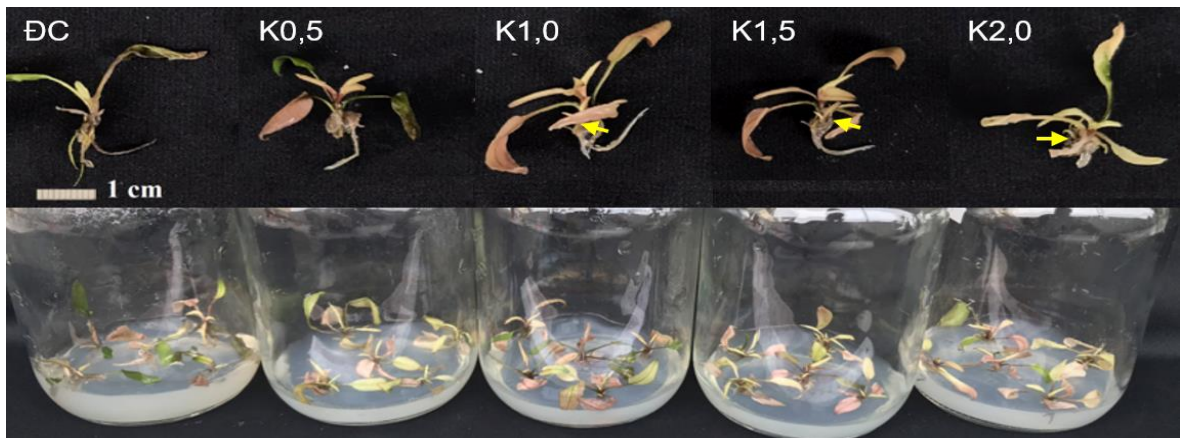
Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê; \*\*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,01$ .

Sự bổ sung KIN 0,5 và 1,0 mg/l không làm tăng sự phát sinh chồi so với đối chứng, chỉ ghi nhận được sự tăng sinh lá hoặc chiều cao chồi. Trong khi đó, mẫu cấy trên môi trường bổ sung KIN 1,5 và 2,0 mg/l trong môi trường nuôi cấy kích thích tạo chồi nhiều hơn (2,03 và 1,97 chồi/mẫu) so với đối chứng (1,00 chồi/mẫu), tuy nhiên không có sự khác biệt về tăng trưởng chồi (số lá và chiều cao chồi) (Bảng 3.2, Hình 3.1).

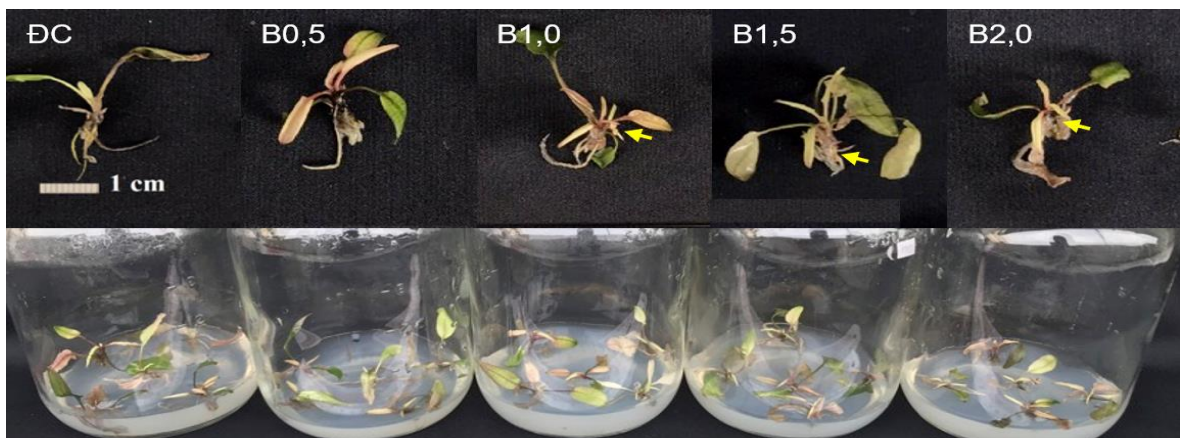
Tương tự ở các loài tiêu thảo khác (*Cryptocoryne wendtii* và *Cryptocoryne ferruginea*), việc sử dụng BA cũng đã được chứng minh giúp thúc đẩy mạnh mẽ quá trình phát sinh chồi [23,85]. Sự bổ sung BA trong môi trường nuôi cấy cho thấy nồng độ BA càng cao số chồi hình thành trên mẫu, cũng như số lá càng tăng tương ứng với mức nồng độ BA 0,5 mg/l; 1 mg/l và 1,5 mg/l, tuy nhiên tăng nồng độ BA ở mức 2,0 mg/l kết quả ghi nhận được cho thấy số chồi hình thành trên mẫu cũng như chiều cao cây giảm so với nồng độ BA 1,5 mg/l (Bảng 3.2, Hình 3.2). Sự bổ sung BA trong môi trường nuôi cấy cho kết quả khác biệt ở nồng độ BA 1,5 mg/l, với 2,47 chồi/mẫu sau 6 tuần nuôi cấy.

Như vậy, việc bổ sung BA ở nồng độ 1,5 mg/l cũng như KIN ở nồng độ 1,5 mg/l tác động tích cực đến sự hình thành chồi trên cây TTLN. Với mục tiêu khảo sát sự phát sinh chồi và dựa trên kết quả ghi nhận được ở nồng độ

BA 1,5 mg/l với 2,47 chồi/mẫu sau 6 tuần nuôi cấy, nồng độ BA 1,5 mg/l được chọn để khảo sát cho thí nghiệm tiếp theo.



Hình 3.1: Ảnh hưởng của KIN lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy, vị trí chồi mới hình thành được đánh dấu mũi tên màu vàng.



Hình 3.2: Ảnh hưởng của BA lên sự phát sinh chồi của tiêu thảo lá nhãn *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy, vị trí chồi mới hình thành được đánh dấu mũi tên màu vàng.

### 3.2.2 Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin kết hợp NAA lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro*

Sự cân bằng giữa auxin và cytokinin đóng vai trò quan trọng trong quá trình phát sinh hình thái của mô thực vật. Trong đó, tỷ lệ auxin/cytokinin lớn hơn 1 kích thích tạo rễ, và nhỏ hơn 1 sẽ kích thích tạo chồi [53,54]. Trong thí nghiệm này, khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ auxin/cytokinin lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo *in vitro*, bằng cách áp dụng nồng độ cytokinin tối ưu từ thí nghiệm 2 (BA 1,5 mg/l) kết hợp với các nồng độ NAA khác nhau, từ 0 đến

0,2 mg/l, tương ứng với tỷ lệ auxin/cytokinin từ thấp đến cao. Sau 6 tuần nuôi cấy, sự khác biệt trong phát sinh chồi của mẫu cấy được ghi nhận ở bảng 3.3.

Bảng 3.3: Ảnh hưởng của BA kết hợp NAA lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhẵn *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy

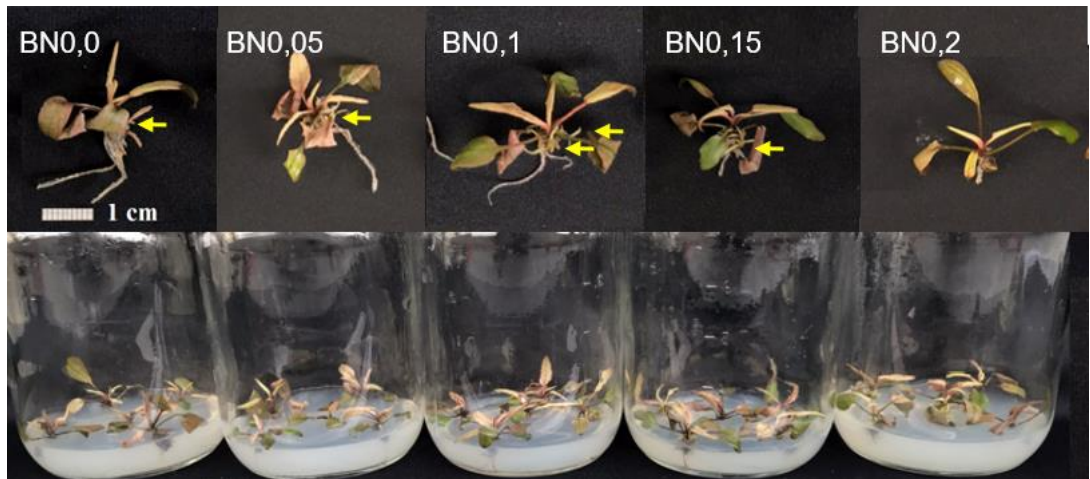
Nghiệm thức	Số chồi (chồi/mẫu)	Số lá (lá/mẫu)	Chiều cao (mm)
BN0,0	2,17b	6,93a	9,80b
BN0,05	2,33ab	6,67a	11,40ab
BN0,10	2,93a	6,73a	13,03a
BN0,15	2,23ab	6,33a	10,03b
BN0,20	1,90b	5,40b	10,33ab
ANOVA	**	**	**

*Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. \*\*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,01$ .*

Kết quả ở bảng 3.3 và hình 3.3 cho thấy, sự kết hợp auxin/cytokinin trong môi trường nuôi cấy cụ thể là việc kết hợp BA 1,5 mg/l và tăng tỷ lệ NAA từ 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 tương ứng với các nghiệm thức BN0,05; BN0,10; BN0,15; BN0,20 không đi kèm với thay đổi rõ rệt về số chồi hình thành, chiều cao chồi cũng như số lá.

Kết quả ghi nhận được cho thấy sự hình thành chồi, chiều cao chồi, số lá đạt giá trị cao nhất ở nghiệm thức 1,5 mg/l BA kết hợp với 0,10 mg/l NAA với các giá trị lần lượt là 2,93 chồi hình thành trên mẫu với chiều cao trung bình là 13,03 mm và số lá hình thành trung bình là 6,73.

Ở nghiệm thức sử dụng BA 1,5 mg/l kết hợp với NAA ở nồng độ cao hơn 0,10 mg/l cụ thể 0,15 mg/l; 0,20 mg/l NAA tương ứng với nghiệm thức BN0,15, BN0,20 kết quả cho thấy số chồi, số lá và chiều cao giảm hơn so với nghiệm thức 1,5 mg/l BA kết hợp với 0,10 mg/l NAA.



Hình 3.3: Ảnh hưởng của BA kết hợp NAA lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy, vị trí chồi mới hình thành được đánh dấu mũi tên màu vàng.

Mẫu cây ở những nghiệm thức bổ sung BA kết hợp với NAA với nồng độ thấp cho tỷ lệ mẫu tạo chồi thấp. Tuy nhiên, khi nồng độ NAA tăng cao thì tỷ lệ chồi hình thành cũng bắt đầu giảm. Như vậy, trong phạm vi thí nghiệm, nồng độ 1,5 mg/l BA kết hợp với 0,10 mg/l NAA là thích hợp cho sự tạo chồi.

### 3.2.3 Thí nghiệm 4: Khảo sát sự ảnh hưởng của trạng thái mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro*

Các cụm chồi được tách thành các cụm chồi nhỏ có số lượng chồi khác nhau (1, 3 và 5 chồi). Mẫu sau đó được cấy trên môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l BA kết hợp với 0,10 mg/l NAA. Kết quả ghi nhận sau 6 tuần nuôi cấy ở bảng 3.4 và hình 3.4 cho thấy chỉ tiêu số lá hình thành trên mẫu không có sự khác biệt về mặt thống kê ở cả ba nghiệm thức. Số lượng chồi/mẫu ban đầu cấy vào càng tăng tương ứng chiều cao cây càng giảm.

Nghiệm thức BN3 (cụm 3 chồi) có tỷ lệ tăng sinh và tỷ lệ nhân giống cao hơn so với nghiệm thức BN1 (chồi đơn). Bên cạnh đó, nghiệm thức BN5 (cụm 5 chồi) cũng có tỷ lệ tăng sinh và tỷ lệ nhân giống cao hơn BN1 nhưng thấp hơn BN3. Trong nuôi cấy mô thực vật, việc sử dụng cụm chồi thay vì chồi đơn có thể gia tăng tốc độ nhân giống và đem lại nhiều lợi ích trong việc nhân giống nhanh các loài thực vật quý hiếm hoặc có giá trị kinh tế cao, cụ thể như ở cây Switchgrass (*Panicum virgatum*) và keo tai tượng (*Acacia mangium*) [86,87].

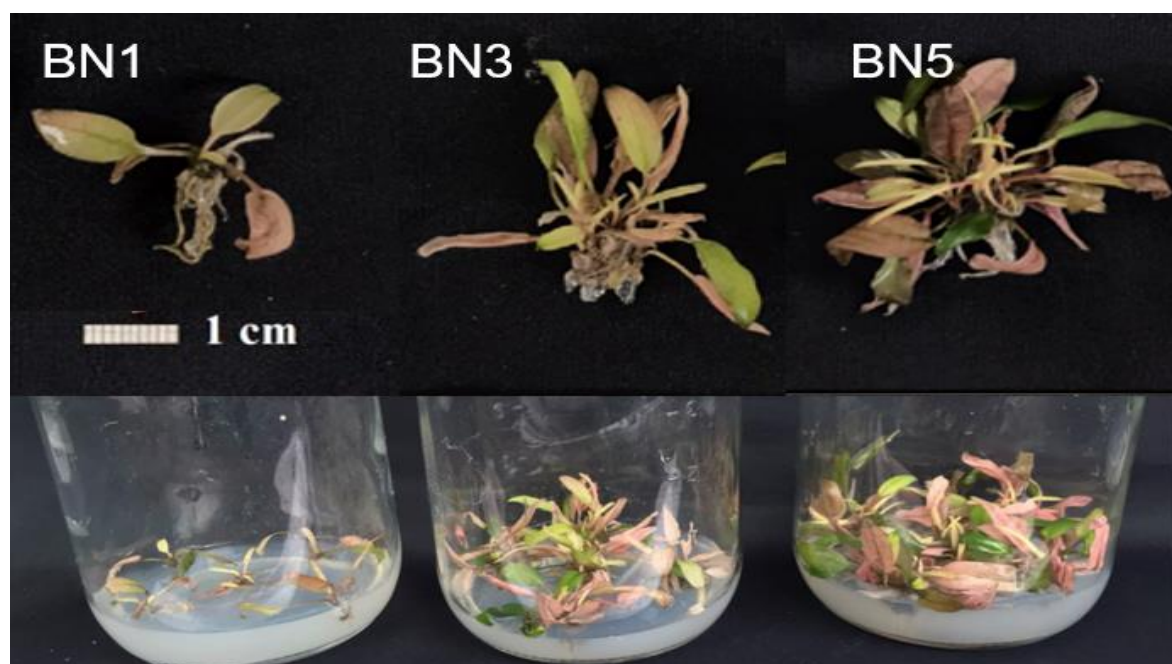


Bảng 3.4 : Ảnh hưởng của trạng thái mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi của cây TTLN *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy.

Nghiệm thức	Số chồi (chồi/mẫu)	Số lá (lá/mẫu)	Chiều cao (mm)	Hệ số tăng sinh (lần)	Hệ số nhân giống (lần)
BN1	2,33c	2,33	3,25a	9,20c	0,62b
BN3	6,97b	2,32	2,02b	18,50a	4,62a
BN5	14,50a	2,90	1,78b	15,80b	4,52a
ANOVA	**	ns	**	*	**

Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. ns: Không có sự khác biệt về mặt thống kê; \*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,05$ ; \*\*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,01$

So sánh về hình thái mẫu sau 6 tuần nuôi cấy (Hình 3.4), các mẫu là cụm chồi có từ ba đến năm chồi ban đầu có lá mở, mẫu khỏe, cứng cáp hơn, màu sắc lá tươi hơn. Quan sát bằng mắt thường cho thấy các cụm chồi này phát triển tốt hơn khi nuôi cấy chồi riêng lẻ.



Hình 3.4: Ảnh hưởng của trạng thái mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy.

Qua số liệu ghi nhận và hình thái quan sát được, mẫu ban đầu cắt thành cụm chứa 3 đến 5 chồi sẽ giúp mẫu cây phát triển tốt hơn là tách thành từng chồi đơn khi nuôi cấy. Dựa vào hệ số tăng sinh, hệ số nhân giống chọn cụm



chứa 3 chồi để cấy trên môi trường nhân chồi đối với cây tiêu thảo lá nhãn.

### 3.2.4 Thí nghiệm 5: Khảo sát ảnh hưởng của môi trường khoáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro*

Thành phần khoáng trong môi trường luôn đóng vai trò quan trọng đến sự tăng trưởng của thực vật. Trong nuôi cấy *in vitro*, các loại khoáng rất cần thiết cho sinh trưởng của mô và tế bào thực vật. Các chất khoáng bổ sung vào môi trường nuôi cấy được chia thành hai loại: Khoáng đa lượng và khoáng vi lượng. Tuy nhiên từng loại thực vật có nhu cầu dinh dưỡng không giống nhau, do đó hàm lượng và thành phần khoáng bổ sung vào môi trường nuôi cấy được thay đổi nhằm khảo sát môi trường khoáng thích hợp lên sự tăng trưởng của cây TTLN *in vitro* [35,36]. Môi trường được chọn để khảo sát thí nghiệm này là môi trường MS, 1/2MS (khoáng đa lượng được giảm đi một nửa), MS1/2 (thành phần môi trường giảm một nửa) và B5.

Bảng 3.5: Ảnh hưởng của môi trường khoáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	Chiều cao (mm)	Số lá (lá/mẫu)	Số chồi (chồi/mẫu)	Khối lượng tươi (g/bình)
MS	17,80a	5,77ab	1,14	1,062a
MS1/2	11,00c	5,60bc	1,02	0,958a
1/2MS	9,34d	5,36c	1,07	0,720b
B5	15,80b	5,94a	1,13	1,026a
ANOVA	**	**	ns	**

Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. ns: Không có sự khác biệt về mặt thống kê; \*\*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,01$ .

Việc thay đổi các loại môi trường khoáng và hàm lượng có tác động đến chiều cao, số lá và khối lượng tươi của cây TTLN. Môi trường MS có chiều cao đạt giá trị cao nhất 17,80 mm. Chiều cao chồi ở các nghiệm thức còn lại giảm theo thứ tự B5 (15,80 mm); MS1/2 (11,00 mm); 1/2MS (9,34 mm). Các nghiệm thức này đều có hàm lượng khoáng thấp hơn so với môi

trường MS nên việc thúc đẩy quá trình sinh trưởng cây không mạnh mẽ như môi trường MS.

Ở chỉ tiêu số lá, môi trường B5 có số lá mới hình thành tốt nhất đạt 5,94 lá. Môi trường 1/2MS và MS1/2 có hàm lượng khoáng bị giảm nên có số lá mới lần lượt là 5,36 và 5,60 lá thấp hơn so với môi trường MS (5,8 lá). Khối lượng tươi thấp nhất ở môi trường 1/2MS, trong khi tương tự nhau ở các môi trường còn lại. Chỉ tiêu số chồi hình thành trên tất cả các nghiệm thức không có sự khác biệt về thống kê (bảng 3.5).



Hình 3.5: Ảnh hưởng của môi trường khoáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy.

Từ các kết quả trên cho thấy, môi trường khoáng có tác động lên việc tăng trưởng chồi của cây tiêu thảo lá nhãn. Trong đó môi trường MS thể hiện tác động tích cực đối với sự tăng trưởng chồi về chiều cao. Môi trường B5 lại thể hiện vai trò tích cực với sự hình thành lá, tuy nhiên kết quả này không có khác biệt về mặt thống kê so với môi trường MS. So sánh giữa các nghiệm thức có thể chọn ra môi trường MS là môi trường khoáng hiệu quả nhất để tăng trưởng chồi.

### 3.2.5 Thí nghiệm 6: Khảo sát sự ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro*

Trong nhân giống *in vitro*, ánh sáng đóng vai trò thiết yếu, ảnh hưởng mạnh mẽ đến toàn bộ quá trình sinh trưởng và phát triển của cây. Ba yếu tố chính của ánh sáng—cường độ, quang kỳ, và bước sóng—có tác động quan trọng. Cường độ ánh sáng không chỉ điều chỉnh kích thước lá và thân, mà còn ảnh hưởng đến sự phát sinh hình thái, sự hình thành sắc tố và hiện tượng mọng nước của cây con trong môi trường nuôi cấy [48].

Bảng 3.6: Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy.

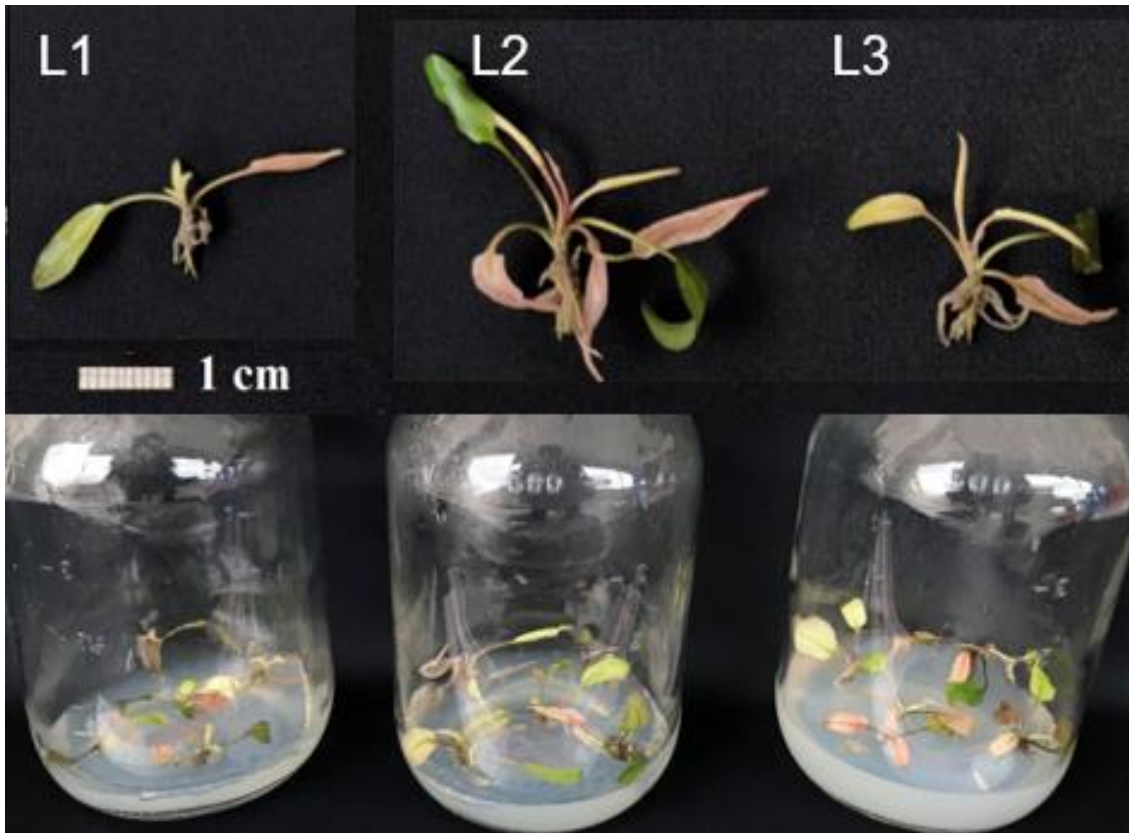
Nghiệm thức	Số chồi (chồi/mẫu)	Số lá (lá/mẫu)	Chiều cao(mm)	Diện tích lá (cm <sup>2</sup> )	Khối lượng tươi (g/bình)	Khối lượng khô (g/bình)
L1000	1,13	4,13b	8,20b	0,77a	0,84ab	0,10b
L2500	1,13	5,20a	11,20a	0,69ab	1,13a	0,14a
L4500	1,07	4,87a	7,53b	0,56b	0,79b	0,10b
ANOVA	ns	**	**	**	**	**

Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. ns: Không có sự khác biệt về mặt thống kê; \*\*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,01$ .

Kết quả sau 6 tuần cho thấy các cường độ ánh sáng khác nhau ảnh hưởng lên sự sinh trưởng và hình thành chồi mới của cây TTLN *in vitro*. Sự hình thành chồi mới không có sự khác biệt về mặt thống kê giữa các nghiệm thức. Tuy nhiên việc tăng cường độ ánh sáng làm ảnh hưởng đến số lá, chiều cao chồi, diện tích lá, khối lượng tươi và khối lượng khô của mẫu cây. Ở nghiệm thức L2500 lux cây phát triển tốt, khỏe mạnh, chồi đạt chiều cao (11,20 cm) tốt nhất so với các nghiệm thức còn lại. Sự gia tăng khối lượng tươi và khối lượng khô của nghiệm thức L2500 đều đạt giá trị cao hơn các nghiệm thức còn lại (1,13 và 0,14 g). Khi tăng cường độ ánh sáng lên L4500 lux chiều cao của mẫu có xu hướng giảm so với nghiệm thức L2500 và bằng với nghiệm thức L1000 lần lượt là 7,53 và 8,20 mm.

Hiện tại, nghiên cứu về ảnh hưởng của cường độ ánh sáng đối với cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* còn khá hạn chế. Tuy nhiên, theo Ammirato (1987), cường độ ánh sáng từ 1000 đến 2500 lux thường được áp dụng cho nhiều loại mô nuôi cấy. Ánh sáng với cường độ cao có thể làm chậm sự sinh trưởng của chồi, trong khi ánh sáng tham gia vào sự phát sinh và phát triển của phôi soma. Ánh sáng cường độ cao thúc đẩy sự phát triển của mô sẹo, ánh sáng ở mức trung bình kích thích sự hình thành chồi, và ánh sáng cường độ thấp giúp tăng chiều cao cây và làm lá có màu xanh đậm [88]. Kết quả cho thấy cây TTLN cảm ứng chồi tốt nhất ở cường độ ánh sáng 2500 lux cho kết quả khả quan nhất về sự tăng trưởng của chồi với chiều cao, số lá, khối lượng của mẫu

đạt giá trị cao nhất. Cường độ ánh sáng 2500 lux được chọn cho nuôi cấy cây TTLN, kết quả này cũng phù hợp với cường độ ánh sáng cho nhiều loại mô nuôi cấy được nghiên cứu trước đây.



Hình 3.6: Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng của chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy.

### 3.3 NỘI DUNG 3: KHẢO SÁT CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG LÊN SỰ NHÂN NHANH CHỒI CÂY TTLN TRONG HỆ THỐNG BIOREACTOR

#### 3.3.1 Thí nghiệm 7: Khảo sát sự ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* trong hệ thống bioreactor

##### 3.3.1.1. Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít

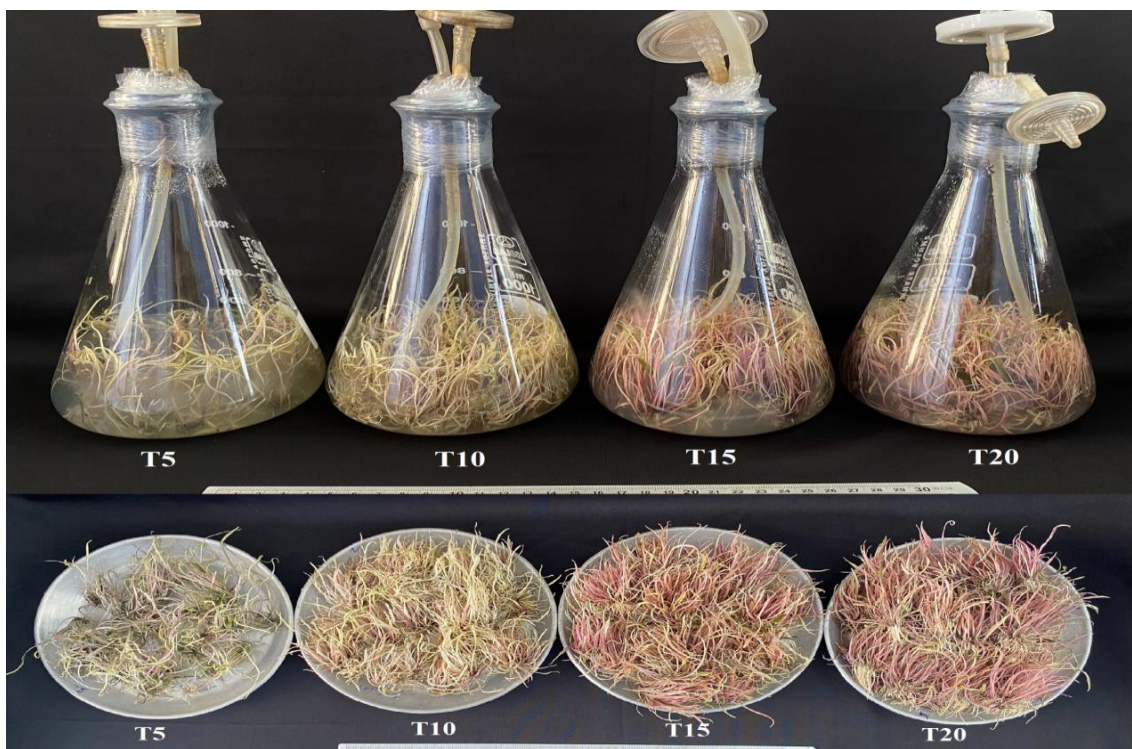
Để đánh giá khả năng nhân nhanh chồi TTLN trong hệ thống nuôi cấy bioreactor với dung tích lớn, cần tiến hành các thí nghiệm ban đầu ở các dung tích nhỏ hơn giúp giảm thiểu chi phí, giảm nguồn mẫu ban đầu sử dụng cho thí nghiệm cũng như khảo sát để tìm ra được thể tích, lượng mẫu phù hợp với

mục đích nhân giống .

Bảng 3.7: Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhẵn *in vitro* trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít sau 8 tuần nuôi cấy

KL mẫu cây ban đầu (g/bình)	Số chồi (chồi/ mẫu)	Chiều dài (mm/ mẫu)	Chiều rộng (mm/ mẫu)	Chiều cao (mm/ mẫu)	Số lá (lá/mẫu)	KL tươi (g/bình)	Hệ số tăng sinh (lần)
T5	21,83	17,60b	13,97b	49,93b	5,80ab	24,41c	4,88b
T10	21,43	27,17a	21,43a	51,63b	6,20a	60,26b	6,03a
T15	23,43	29,33a	19,90a	50,23b	5,23ab	83,01a	5,53a
T20	19,57	32,07a	22,87a	56,90a	5,17b	81,33a	4,07c
ANOVA	ns	**	**	*	*	**	**

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. ns: Không có sự khác biệt về mặt thống kê; \*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,05$ ; \*\*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,01$ .



Hình 3.7: Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhẵn *in vitro* trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít sau 8 tuần nuôi cấy.



Sau 8 tuần nuôi cấy, kết quả cho thấy có sự ảnh hưởng bởi lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn với kết quả là số chồi tạo thành trên mẫu tăng dần ở nghiệm thức 5g/bình, 10g/bình, 15g/bình nhưng lại giảm ở nghiệm thức 20g/bình. Chiều dài mẫu cũng đạt cao nhất ở nghiệm thức T15g/bình. Bên cạnh đó, khối lượng tươi cũng tăng dần theo khối lượng mẫu cấy ban đầu ở T5, T10 và đạt cao nhất ở nghiệm thức T15 nhưng lại giảm ở nghiệm thức T20 (Bảng 3.7, hình 3.7). Điều này cho thấy việc sử dụng lượng mẫu ban đầu quá ít (5g) hoặc quá nhiều (20g) đều làm giảm hiệu quả tăng sinh khối cây TTLN trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít.

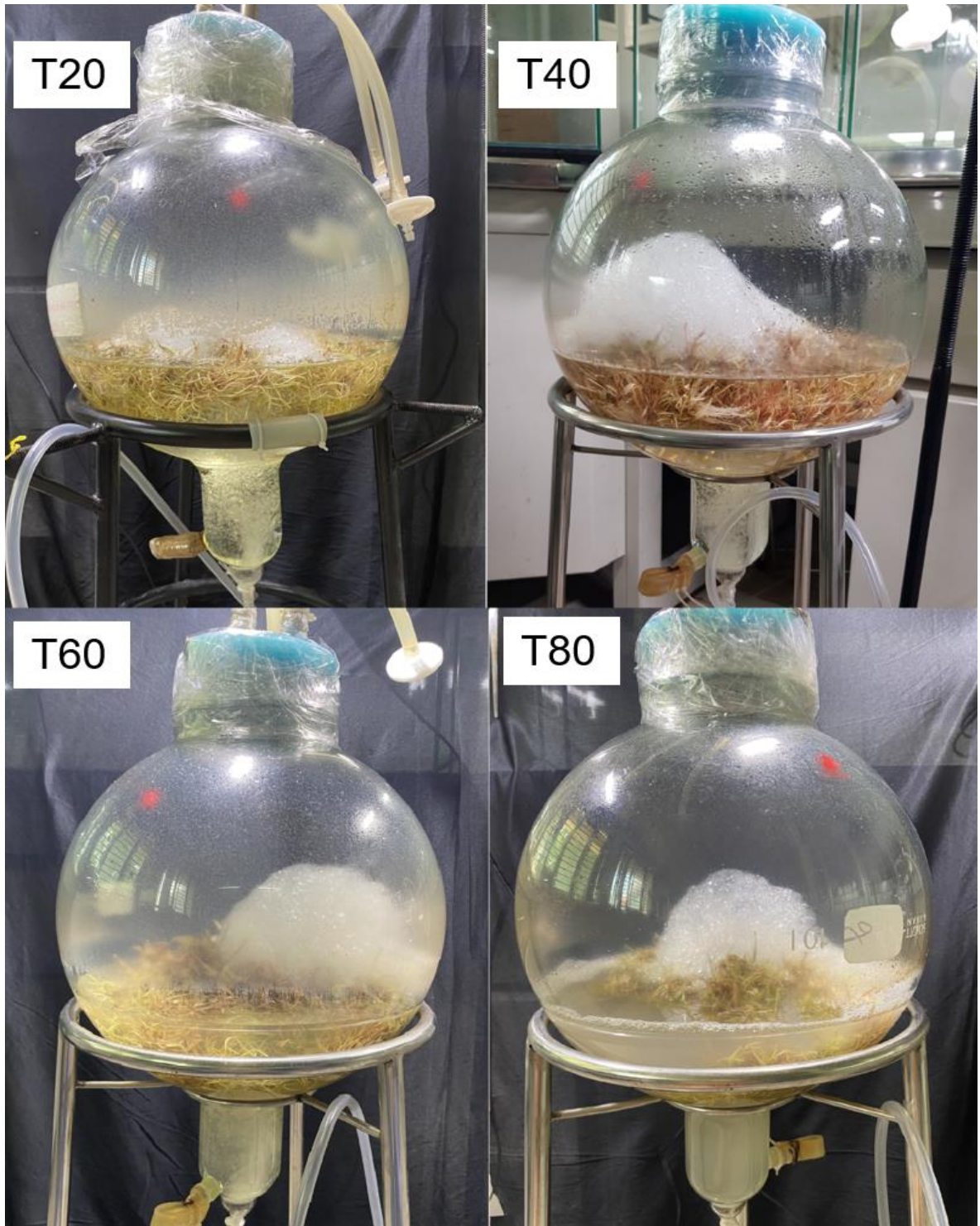
Xét về hiệu quả kinh tế, lượng mẫu ban đầu 15g là thích hợp để nhân nhanh chồi trong mô hình bioreactor dung tích 1 lít.

### 3.3.1.2. Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* trong hệ thống bioreactor 10 lít

Bảng 3.8: Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* trong hệ thống bioreactor 10 lít sau 8 tuần nuôi cấy

KL mẫu cấy ban đầu (g/bình)	Số chồi (chồi/mẫu)	Chiều dài (mm/mẫu)	Chiều rộng (mm/mẫu)	Chiều cao (mm/mẫu)	Số lá (lá/mẫu)	KL tươi (g/bình)	Hệ số tăng sinh (lần)
T20	19,17	49,07ab	50,13a	39,57b	10,07a	150,21b	7,51a
T40	22,70	51,43a	48,60a	37,30b	8,67b	286,04a	7,15a
T60	20,57	47,83ab	40,57b	44,03a	7,07c	291,39a	4,86b
T80	19,53	43,53b	36,10b	40,60ab	5,47d	293,78a	3,67c
ANOVA	ns	*	**	*	**	**	**

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. ns: Không có sự khác biệt về mặt thống kê; \*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,05$ ; \*\*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,01$ .



Hình 3.8: Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* trong hệ thống bioreactor 10 lít sau 8 tuần nuôi cấy.

Sau 8 tuần nuôi cấy ghi nhận kết quả có sự khác biệt ở hầu hết các chỉ tiêu theo dõi. Trong cùng điều kiện nuôi cấy và môi trường dinh dưỡng thì số chồi hình thành không có sự khác biệt về mặt thống kê.

Nhưng các chỉ tiêu liên quan đến hình thái thì có sự khác biệt như chiều cao, chiều rộng và số lá. Trong đó, kích thước cụm chồi cao nhất ở nghiệm thức T40 (chiều dài và chiều rộng) và T60 (chiều cao). Số lá cao nhất ở nghiệm thức T20. Về khả năng tăng sinh, khối lượng tươi ở các nghiệm thức T40, T60 và T80 là gần như nhau, tuy nhiên hệ số tăng sinh ở các nghiệm thức T20, T40 lại cao hơn T80 (Bảng 3.8, Hình 3.8).

Điều này là do mối tương quan giữa lượng cơ chất và lượng đối tượng tiêu thụ cơ chất. Ở đây cơ chất là môi trường dinh dưỡng và không khí sục vào hoà tan trong môi trường nuôi cấy, còn mẫu cấy chính là đối tượng sử dụng cơ chất. Trong đó, mối tương quan giữa lượng mẫu và lượng dinh dưỡng đang đóng vai trò quyết định kết quả của thí nghiệm. Trong đó, nguyên nhân chủ yếu đến từ việc cạnh tranh sử dụng nguồn khí, dinh dưỡng, và hiệu quả đảo trộn [70-82].

Xét về hiệu quả kinh tế, lượng mẫu ban đầu 40g là thích hợp để nhân nhanh chồi trong hệ thống bioreactor dung tích 10 lít.

### **3.3.2 Thí nghiệm 8: Khảo sát sự ảnh hưởng của lưu lượng sục khí lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhẵn *in vitro* trong hệ thống bioreactor**

Tốc độ sục khí có ảnh hưởng lớn đến sự sinh trưởng của mẫu cấy trong hệ thống bioreactor, thông qua việc làm mới thành phần khí trong bình, cũng như tốc độ đảo trộn [64-75]. Trong thí nghiệm này, các bình mô phỏng bioreactor thể tích 1 lít được sục khí với các lưu lượng khí khác nhau sau 8 tuần nuôi cấy cho kết quả có sự khác biệt giữa các nghiệm thức được khảo sát. Ở chỉ tiêu số chồi hình thành thì không có sự khác biệt về mật độ thống kê giữa các nghiệm thức được khảo sát nhưng ở các chỉ tiêu ghi nhận khác thì có sự khác biệt. Cụ thể là ở nghiệm thức có lưu lượng sục khí lớn từ 3 đến 4 L/phút cho kết quả gia tăng sinh khối tốt hơn so với các nghiệm thức còn lại với hệ số tăng sinh hơn 12 lần. Hai nghiệm thức này cũng có kết quả tốt nhất về số rễ, khối lượng tươi và chiều cao chồi. Qua hình thái ghi nhận, các cụm chồi ở nghiệm thức này phát triển mạnh mẽ, chiếm hết phần không gian trong bể nơi có môi trường và phát triển lên cao hơn bề mặt môi trường. Chính sự phát triển mạnh mẽ trong không gian hẹp là yếu tố thúc đẩy mẫu có sự phát

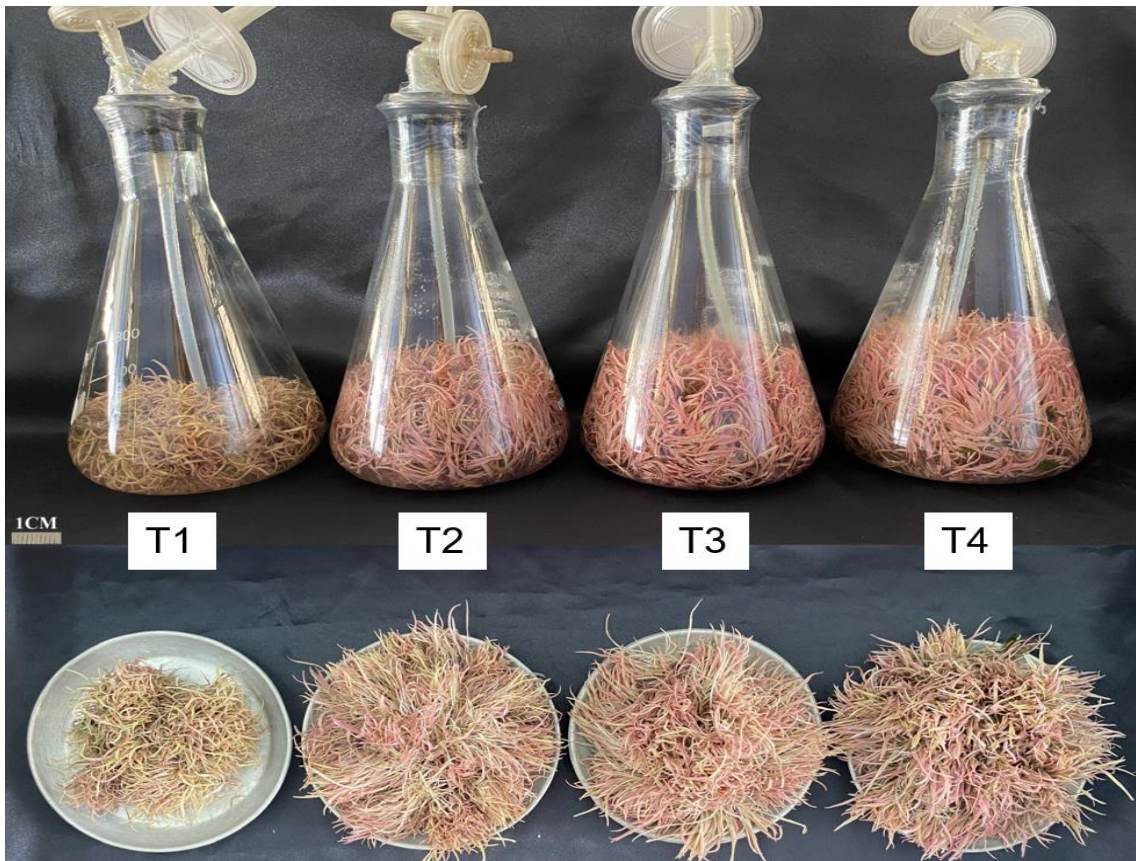


triển về chiều cao. Từ những số liệu ghi nhận thấy rằng, với cùng thể tích môi trường, khối lượng mẫu ban đầu thì lưu lượng sục khí lớn từ 3 đến 4 L/phút có tác động tốt nhất đến sự nhân nhanh chồi TTLN trong điều kiện nuôi cấy mô phỏng Bioreactor 1 lít thể hiện ở sự gia tăng sinh khối, tạo lượng chồi lớn với kích thước, số rễ hình thành hiệu quả so với các nghiệm thức còn lại (Bảng 3.9, Hình 3.9).

Bảng 3.9: Ảnh hưởng của lưu lượng sục khí lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhẵn *in vitro* trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít sau 8 tuần nuôi cấy

Lưu lượng sục khí (l/phút)	Số chồi (chồi/mẫu)	Chiều dài (mm)	Chiều rộng (mm)	Chiều cao (mm)	Số lá (lá/mẫu)	Số rễ (rễ/mẫu)	Khối lượng tươi (g/bình)	Hệ số tăng sinh (lần)
T1	19,17	46,73b	48,07a	39,33bc	11,67a	4,13ab	80,22c	5,35c
T2	22,70	53,77a	50,67a	37,53c	6,87b	3,97b	142,38b	9,49b
T3	20,57	27,97d	17,57b	44,50ab	5,87b	5,00a	194,56a	12,97a
T4	19,53	34,73c	14,70b	49,40a	5,57b	4,63ab	200,36a	13,36a
ANOVA	ns	**	**	*	**	*	**	**

Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. ns: Không có sự khác biệt về mặt thống kê; \*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,05$ ; \*\*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,01$ .



Hình 3.9: Ảnh hưởng của lưu lượng sục khí lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít sau 8 tuần nuôi cấy

### 3.3.3 Thí nghiệm 9: Khảo sát sự ảnh hưởng của thể tích bioreactor lên sự nhân nhanh của chồi cây TTLN trong hệ thống bioreactor.

Thể tích của bioreactor ảnh hưởng đáng kể đến sự tăng sinh của mẫu thực vật được nuôi cấy trong đó. Các yếu tố chính mà thể tích bioreactor tác động đến bao gồm: sự phân bố dinh dưỡng, cung cấp khí và trao đổi khí, cường độ khuấy trộn, nhiệt độ, và tỉ lệ diện tích bề mặt/ thể tích. Nhìn chung, khi thiết kế và vận hành bioreactor để nuôi cấy thực vật, việc lựa chọn thể tích phù hợp là rất quan trọng để tối ưu hóa sự phát triển và tăng sinh của mẫu thực vật [89].

Trong thí nghiệm này, số liệu ghi nhận được cho thấy chồi hình thành trên mẫu không có sự khác biệt về mặt thống kê giữa các nghiệm thức được khảo sát cho thấy thể tích bioreactor không ảnh hưởng đáng kể đến sự hình thành chồi trên mẫu cấy tuy nhiên ở các chỉ tiêu theo dõi khác như chiều dài, chiều rộng, chiều cao, số lá thì có sự khác biệt giữa các nghiệm thức với kết

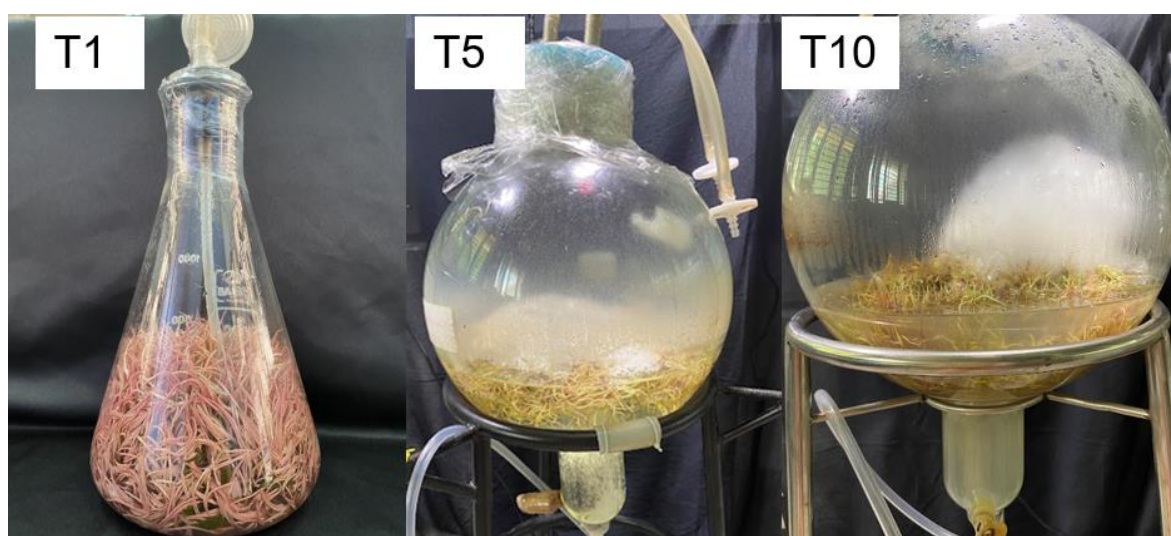
quả này cho thấy thể tích thể tích của bioreactor ảnh hưởng đến kiểu hình cây TTLN tạo ra nhiều mẫu mã đa dạng. (Bảng 3.10, Hình 3.10).

Đề tài nhằm tạo ra số lượng lớn cây thủy sinh chất lượng tốt, sạch bệnh đáp ứng nhu cầu thị trường cây cảnh thủy sinh vì vậy kết quả thí nghiệm ta có thể kết luận rằng tùy nhu cầu về mẫu cây và mục đích mong muốn chúng ta có thể lựa chọn thể tích bioreactor để nuôi cấy tăng sinh cây TTLN cho phù hợp.

Bảng 3.10: Ảnh hưởng của thể tích bioreactor lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhẵn *in vitro* sau 8 tuần nuôi cấy

Thể tích (lít)	Số chồi (chồi/mẫu)	Chiều dài (mm/mẫu)	Chiều rộng (mm/mẫu)	Chiều cao (mm/mẫu)	Số lá (lá/mẫu)	KL tươi (g)	Hệ số tăng sinh (lần)
T1	20,57	27,97b	17,57c	44,50ab	5,87b	194,56c	12,97b
T5	21,10	48,77a	43,37a	47,87a	8,27a	561,38b	14,04a
T10	21,17	45,10b	38,07b	40,60b	6,40b	1054,92a	13,19ab
ANOVA	ns	**	**	**	**	**	*

Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. ns: Không có sự khác biệt về mặt thống kê; \*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,05$ ; \*\*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,01$ .



Hình 3.10: Ảnh hưởng của thể tích bioreactor lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhẵn sau 8 tuần nuôi cấy

### **3.4 NỘI DUNG 4: KHẢO SÁT SỰ ẢNH HƯỞNG CỦA AUXIN LÊN SỰ HÌNH THÀNH RỄ TỪ CHỒI CỦA CÂY TIÊU THẢO LÁ NHẪN *IN VITRO***

#### **Thí nghiệm 10: Khảo sát sự ảnh hưởng của auxin lên sự hình thành rễ từ chồi của cây tiêu thảo lá nhẵn *in vitro***

Auxin là một hormone thực vật quan trọng, đóng vai trò tích cực trong nhiều quá trình sinh trưởng của cây, bao gồm sự phát triển của tế bào, hoạt động của tầng phát sinh, hình thành rễ, hiện tượng ưu thế ngọn, tính hướng của thực vật, sự phát triển của quả và khả năng tạo quả không hạt. Auxin thúc đẩy sự giãn nở của tế bào, nhưng nồng độ cao của nó có thể ảnh hưởng tiêu cực đến sự hình thành và phát triển của cây. Tính hướng là một đặc tính cơ bản của thực vật, cho phép cây phản ứng với các yếu tố kích thích bên ngoài. Ví dụ, cây có thể hướng về phía ánh sáng (hướng quang), rễ có thể đâm xuống đất (hướng địa), hoặc rễ tìm đến nguồn nước và phân bón (hướng thủy và hóa). Trong đó sự hình thành rễ là điều quan trọng trong việc đưa cây ra trồng ở vườn ươm để có bộ rễ khỏe mạnh giúp cây hút nước và khoáng trước khi được đưa ra ngoài tự nhiên [53].

Cùng là CDHSTTV thuộc auxin nhưng kết quả bảng 3.11 cho thấy sự tác động khác nhau giữa NAA và IBA lên sự hình thành rễ. Đối với môi trường bổ sung NAA nồng độ 0,5 mg/l cho thấy sự hình thành rễ cao nhất lần lượt là 6,04 rễ. Số rễ ở nghiệm thức N0,5 cao hơn gấp 2 lần so với môi trường đối chứng (2,96 rễ). Khi tăng nồng độ NAA từ 1,0 – 2,0 mg/l sự hình thành rễ mới của mẫu giảm dần và thấp hơn nghiệm thức đối chứng. Ở nghiệm thức bổ sung 2,0 mg/l NAA có số rễ hình thành ít nhất đạt 0,63 rễ và mẫu cây có xu hướng tạo sẹo.

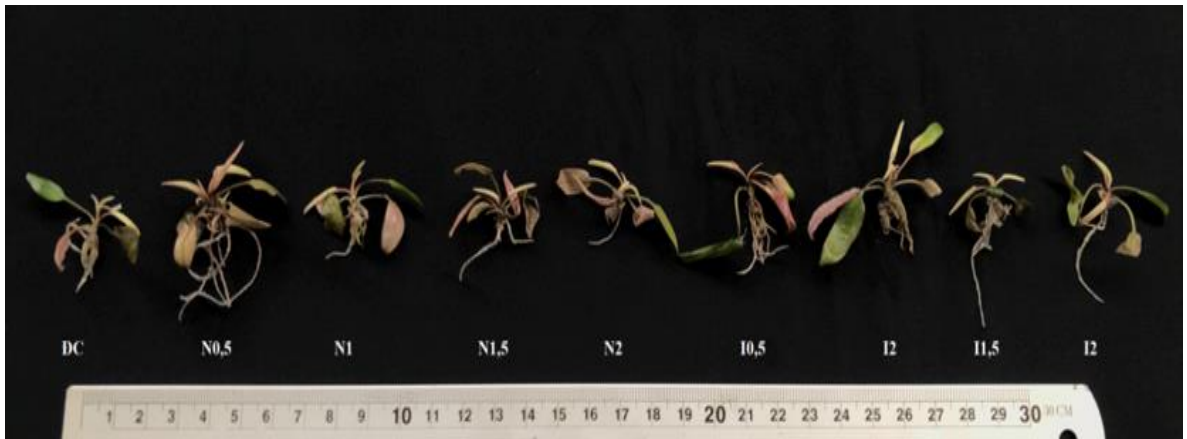
Môi trường bổ sung IBA cũng có tác động tích cực đến sự tạo ở mẫu cây TTLN. Điều này thể hiện ở số rễ hình thành ở tất cả các nghiệm thức khảo sát đều cao hơn so với nghiệm thức đối chứng với giá trị đạt được trong khoảng 4,96 - 5,85 rễ. Ở nồng độ IBA 0,5 mg/l cây tiêu thảo lá nhẵn đạt 5,85 rễ, nhưng khi tiếp tục tăng nồng độ IBA dẫn đến giảm số lượng rễ hình thành. Nghiệm thức bổ sung 0,5 mg/l IBA có số rễ tạo thành tuy thấp hơn nghiệm thức bổ sung 0,5 mg/l NAA nhưng là 2 nghiệm thức có giá trị ở chỉ tiêu này cao nhất và không có khác biệt về mặt thống kê.

Xét về chỉ tiêu số lá hình thành, các nghiệm thức bổ sung IBA có số lá hình thành nhìn chung cao hơn so với các nghiệm thức bổ sung NAA tuy nhiên giá trị cao nhất ở chỉ tiêu này lại đạt được ở nghiệm thức đối chứng. Tương tự, chiều cao chồi ghi nhận được ở các nghiệm thức bổ sung IBA cũng tốt hơn so với nghiệm thức bổ sung NAA. Chiều cao chồi có giá trị xấp xỉ nhau (từ 17,49 mm đến 18,82 mm) ở các nghiệm thức bổ sung IBA và cao nhất ở nghiệm thức 1,0 mg/l IBA. Chiều cao chồi khi bổ sung NAA có sự gia tăng tuyến tính với nồng độ NAA bổ sung và trong khoảng từ 11,03 mm đến 16,66 mm. Số chồi hình thành cũng được ghi nhận trong thí nghiệm này nhưng không có khác biệt về mặt thống kê ở các nghiệm thức khảo sát.

Bảng 3.11: Ảnh hưởng của auxin lên sự hình thành rễ từ chồi của cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	Số rễ (rễ/mẫu)	Số chồi (chồi/mẫu)	Số lá (lá/mẫu)	Chiều cao (mm)
ĐC	2,96e	1,07	5,15a	11,55d
IBA0,5	5,85ab	1,03	4,95ab	17,49ab
IBA1,0	5,44abc	1,33	4,85abc	18,82a
IBA1,5	4,96cd	1,17	4,99ab	18,81a
IBA2,0	5,15bc	1,13	4,68bc	18,08ab
NAA0,5	6,04a	1,23	4,73bc	11,03d
NAA1,0	2,96e	1,33	4,55bc	13,56c
NAA1,5	0,75f	1,07	4,20de	16,52b
NAA2,0	0,63f	1,17	4,14e	16,66b
ANOVA	**	ns	**	**

Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. ns: Không có sự khác biệt về mặt thống kê; \*\*: Khác biệt về mặt thống kê ở mức xác suất  $P < 0,01$ .



Hình 3.11: Ảnh hưởng của auxin lên sự hình thành rễ từ chồi của cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy.

Với mục đích cảm ứng tạo rễ, kết quả khảo sát cho thấy môi trường bổ sung 0,5 mg/l NAA cảm ứng tạo rễ hiệu quả nhất với số rễ hình thành nhiều nhất. Môi trường bổ sung 0,5 mg/l IBA cũng cho thấy hiệu quả cảm ứng tạo rễ tốt và còn tác động tích cực đến sự tăng trưởng của cây tiêu thảo lá nhãn qua sự hình thành lá và gia tăng chiều cao cây. Như vậy, môi trường bổ sung 0,5 mg/l IBA là hiệu quả nhất cho giai đoạn tạo rễ tạo cây hoàn chỉnh ở cây tiêu thảo lá nhãn.



## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### KẾT LUẬN

Từ các kết quả ghi nhận được, đề tài đã rút ra được một số kết luận như sau:

Bước đầu khảo sát được điều kiện khử trùng và môi trường nuôi cấy và các yếu tố khác ảnh hưởng đến sự nhân nhanh và tăng trưởng chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro*. Trong đó, chồi tiêu thảo lá nhãn được khử trùng bằng  $\text{HgCl}_2$  trong 10 phút với tỷ lệ mẫu sống vô trùng đạt 60%. Các cụm 3 chồi được nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản có bổ sung BA 1,5 mg/l kết hợp NAA 0,1 mg/l dưới cường độ ánh sáng 2500 lux cho tỷ lệ nhân giống đạt 4,62 (6,97 chồi/mẫu), hệ số tăng sinh đạt 18,5 lần.

Khảo sát được các yếu tố ảnh hưởng như khối lượng mẫu ban đầu, lưu lượng sục khí, thể tích bioreactor đến sự tăng sinh cũng như hình thái cây tiêu thảo lá nhãn trong hệ thống bioreactor.

Xác định được nồng độ auxin thích hợp cho sự tạo rễ cây TTLN là môi trường MS cơ bản bổ sung IBA 0,5 mg/l, mẫu cấy đạt 5,85 rễ/mẫu.

### KIẾN NGHỊ

Tiếp tục khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến sự nhân nhanh và tăng trưởng chồi trong hệ thống bioreactor.

Khảo sát khả năng thích nghi và thuần dưỡng cây con *in vitro* được nhân giống bằng hệ thống bioreactor.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ailstock S., Shafer D.J., 2006, *Applications and Limitations of Micropropagation for the Production of Underwater Grasses*, U.S. Army Engineer Research and Development Center Vicksburg, 11 pages.
2. Hiscock P., 2003. *Encyclopaedia of aquarium plants*. Barron's Educational Series, Inc., Hauppauge, NY, USA.
3. Huang L., Chang Y., Chang Y., 1994, Rapid *in vitro* multiplication of the aquatic angiosperm, *Anubias barteri var. undulata*. *Aquat Bot* 47, pp. 77-83.
4. Carter J., Arunika H.L.A.N., 2011, Regeneration of the aquatic monocot *Aponogeton madagascariensis* (lace plant) through callus induction. *Aquatic Botany*, 94, pp. 143-149,
5. Maurizio M., De A., Prosperi F., Alvaro S., 2006, Micropropagation of three species of aquatic plants. *Agricoltura Mediterranea*, 136, pp: 46-51.
6. Herath H.M.I., Krishnarajah S.A., Wijesundara D., 2010, Micropropagation of two endemic threatened *Cryptocoryne* species of Sri Lanka. *Tropical Agricultural Research and Extension*. 11.
7. Aasim M., 2015, *In vitro* high frequency regeneration through apical shoot proliferation of *Hemianthus callitrichoides* 'Cuba' - a multipurpose ornamental aquatic plant. *Turkish Journal of Biology* 39, pp: 493-500.
8. Maneerat W., Srunya V., 2016, Ex-situ propagation of *Pogostemon helferi* (Hook. f.) Press using tissue culture and a hydroponics system. *Agriculture and natural resources*, 50.
9. Kam M.Y.Y., Chai L.C., Chin, C.F., 2016, The biology and *in vitro* propagation of the ornamental aquatic plant, *Aponogeton ulvaceus*. *SpringerPlus* 5, pp: 1657.
10. Nguyễn Thị Diệp, et al., 2016. Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* cây Diệp tài hồng lá đỏ (*Ludwigia repens runbin*) và cây Diệp tài hồng lá táo (*Ludwigia natans*). *Tạp chí khoa học ĐHSP thành phố Hồ Chí Minh*, 3(81).
11. Nguyễn Thị Dược, et al., 2020, Vai trò của chất điều hòa sinh trưởng



- thực vật trong nhân giống *in vitro* cây tiêu thảo lá nhẵn (*Cryptocoryne wendtii*). Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc 2009.
12. Samuli L., Daniel F., 2011, Watery varieties: Aquarium plant diversity from aesthetic, commercial, and systematic perspectives. *Ornamental Plants: Types, Cultivation and Nutrition*. pp 1-46.
  13. Nurul-Shakina M.T., Suwidji W., Ahmad-Sofiman O., 2022, Complete chloroplast genome data for *Crptocoryne elliptica* (Araceae) from Peninsular Malaysia. *Data in Brief*, 42, 108075.
  14. Wijesundara D.S.A, Shantha Siri I.G., 2004, Some Selected Aquatic Ornamental Plants of Sri Lanka. *National Science Foundation*, 95.
  15. Dirk H.C., 1956, Mainly on *Cryptocoryne*. *World Aquarist* 2.
  16. Bercu R., 2019, *Structural aspects of the vegetative organs of Cryptocoryne wendtii de Wit. (Araceae)*. Romania, 47(2), Craiova, Annals of the University of Craiova - Agriculture, Montanology, Cadastre Series, (38–43), Faculty of Agriculture, University of Craiova.
  17. Manthei D., 2010, *Plant of the month –Cryptocoryne wendtii de Wit*, Tropical Fish Magazine, Issue September, 2010.
  18. Croat T.B., 1988, Ecology and life forms of Araceae. *Aroideana* 11(3), pp 4-55.
  19. Bambaranda B.V.A.S.M., Peiris S.E., 2016, *Cryptocoryne wendtii* can successfully be grown in river sand enriched with nutrients. *Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences*, 21(1).
  20. Nitish K., and Reddy M.P., 2011, *In vitro* plant propagation: a review. *Journal of forest and environmental science*, 27(2), pp 61-72.
  21. Vinoth A., and Ravindhran R., 2022, *In vitro* propagation-a potential method for plant conservation. *International Journal of Computing Algorithm*, 2, pp 268-272.
  22. Christine S., Bhatt A., and Keng C.L., 2011, An efficient *in vitro* plantlet regeneration of *Cryptocoryne wendtii* and *Cryptocoryne beckettii* through shoot tip culture. *Acta physiologiae plantarum*, 33, pp 619-624.
  23. Sutha K., et al., 2020, Induction of direct shoot organogenesis from shoot tip explants of an ornamental aquatic plant, *Cryptocoryne wendtii*. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)* 17(4), pp 293-302.
  24. Harshani W.M.S., et al., 2020, Effects of fertilization levels on growth

- performance of micro-propagated *Cryptocoryne wendtii* (Water Trumpet)." *Journal of the University of Ruhuna*, 8(1), pp 32.
25. Velmurugan M., et al., 2010, *In vitro* mutation in horticultural crops-a review. *Agricultural Reviews*, 31(1), pp 63-67.
  26. Kumar D.S., 2020, Induced mutations: technological advancement for development of new ornamental varieties. *The Nucleus*, 63.2, pp 119-129.
  27. Valerie C.P., 2011, Evaluating costs for the *in vitro* propagation and preservation of endangered plants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 47, pp 176-187.
  28. Sharma S., and Thokchom R., 2014, A review on endangered medicinal plants of India and their conservation. *Journal of Crop and Weed*, 10(2), pp 205-218.
  29. Preil W., 1986, *In vitro* propagation and breeding of ornamental plants: advantages and disadvantages of variability. *Genetic manipulation in plant breeding*, pp 377-403.
  30. Georgiana D-C., et al., 2023, Somaclonal variation—Advantage or disadvantage in micropropagation of the medicinal plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), pp 838.
  31. Wang P.J., and Hu C.Y., 2005, *Regeneration of virus-free plants through in vitro culture*. *Advances in Biomedical Engineering*, Volume 18. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp 61-99.
  32. Kane M.E., et al., 1990, Micropropagation of the aquatic plant *Cryptocoryne lucens*. *HortScience* 25(6), pp 687-689.
  33. Unal S., et al., 2019, Improved *in vitro* propagation and direct acclimatization of *Cryptocoryne wendtii* in aquarium in the presence of aquarium fish *Puntius tetrazona* (Bleeker). *Indian Journal of Experimental Biology*, 57, pp 330-337.
  34. Gamborg O.L. and Phillips G.C., 1995, *Media Preparation and Handling*. In: Gamborg, O.L. and Phillips, G.C., Eds., *Plant Cell, Tissue and Organ Culture—Fundamental Methods*, Springer-Verlag, Berlin, pp 21-34.
  35. Samartin A., 1989, A comparative study of effects of nutrient media and cultural conditions on shoot multiplication of *in-vitro* cultures of

- Camellia japonica* explants. *Journal of horticultural science*, 64(1), pp 73-79.
36. Heller G.S., 1953, Propagation of acoustic discontinuities in an inhomogeneous moving liquid medium. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 25.5, pp 950-951.
  37. Margareta W., 1985, *In vitro* culture of raspberry (*Rubus ideaus*) for mass propagation. *Journal of horticultural science*, 60(4), pp 493-499.
  38. Murashige T., 1977, *Clonal crops through tissue culture. Plant Tissue Culture and Its Bio-technological Application: Proceedings of the First International Congress on Medicinal Plant Research, Section B, held at the University of Munich, Germany September 6–10, 1976.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
  39. Hasegawa P.M., 1980, Factors Affecting Shoot and Root Initiation from Cultured Rose Shoot Tips<sup>1</sup>. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 105(2), pp 216-220.
  40. Drew R.A., 1987, The effects of medium composition and cultural conditions on *in vitro* root initiation and growth of papaya (*Carica papaya* L.). *Journal of Horticultural Science* 62(4), pp 551-556.
  41. Hyndman S.E., Paul M.H., and Ray A.B., 1982, Stimulation of Root Initiation from Cultured Rose Shoots through the Use of Reduced Concentrations of Mineral Salts. *HortScience* 17(1), pp 82-83.
  42. Rahman M.H., et al., 2010, Role of sucrose, glucose and maltose on conventional potato micropropagation. *Journal of Agricultural Technology*, 6(4), pp 733-739.
  43. Yaseen M., et al., 2013, Role of carbon sources for *in vitro* plant growth and development. *Molecular biology reports* 40, pp 2837-2849.
  44. Chong C., and Pua E-C., 1985, Carbon nutrition of Ottawa 3 apple rootstock during stages of *in vitro* propagation. *Journal of horticultural science* 60(3), pp 285-290.
  45. Mellor F.C., and Richard S-S., 1969, Development of excised potato buds in nutrient culture. *Canadian Journal of Botany* 47(10), pp 1617-1621.
  46. Grosser J.W., and Frederick G.G., 1990, Somatic hybridization of Citrus with wild relatives for germplasm enhancement and cultivar

- development." *HortScience* 25(2), pp 147-151.
47. Murashige T., 1974, Plant propagation through tissue cultures. *Annual review of plant physiology* 25(1), pp 135-166.
  48. Batista D.S., et al., 2018, Light quality in plant tissue culture: does it matter?. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 54, pp 195-215.
  49. Jackson M.B., et al., 1991, Ventilation in plant tissue cultures and effects of poor aeration on ethylene and carbon dioxide accumulation, oxygen depletion and explant development. *Annals of Botany* 67(3), pp 229-237.
  50. Dubey A.K., et al., 2021, Inferences of carbon dioxide in present-day cell culture systems: An unacknowledged problem and perspectives. *Austin Ther* 6(10), pp 26420.
  51. Yazdani M., 2016, Technical aspects of oxygen level regulation in primary cell cultures: A review. *Interdisciplinary toxicology* 9(3), pp 85-89.
  52. Pengelly W.L., Su L-Y., 2018, Ethylene and plant tissue culture. *The plant hormone ethylene*, pp 259-278.
  53. Phillips G.C., Garda M., 2019, Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 55, pp 242-257.
  54. Trinh Việt Nga, 2020, Nghiên cứu nhân giống cây đinh lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) bằng phương pháp nuôi cấy phôi vô tính. Luận văn Tiến sĩ ngành Nông nghiệp, Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.
  55. Bhati A., et al., 2017, Effect of 2, 4-D and NAA on callus induction in date palm cultivars Halawy and Medjool. *International Journal of Farm Sciences* 7(3), pp 132-136.
  56. Zaman M.A.K, et al., 2021, Prolonged incubation of callus on auxin herbicide 2,4-D displayed significant effect on alkaloid production in callus of the woody medicinal plant *Polyalthia bullata*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 57(5), pp 749-759.
  57. Emami H., et al., 2011, The effect of gibberellic acid and benzyladenine in growth and flowering of lily (*Lilium longiflorum*). *Advances in Environmental Biology*, pp 1606-1612.

58. Janowska B., Roman A., 2022, Cytokinins and gibberellins stimulate the flowering and post-harvest longevity of flowers and leaves of Calla lilies (*Zantedeschia Spreng.*) with colourful inflorescence spathes. *Agronomy* 12(8), pp 1859.
59. Hassanpour A., Moazzam Z.R., and Jafar A., 2011, Response of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) to gibberellic acid and benzyladenine. *Horticulture, Environment, and Biotechnology* 52, pp 46-51.
60. Hiroyuki H., et al., 2002 Enhanced anthocyanin production from grape callus in an air-lift type bioreactor using a viscous additive-supplemented medium. *Journal of bioscience and bioengineering* 94(2), pp 135-139.
61. Yoeup P.K., Debasis C., 2003, *Micropropagation of woody plants using bioreactor*. Micropropagation of woody trees and fruits. Dordrecht: Springer Netherlands, pp 735-755.
62. Nhựt, D. T. and N. T. Hải, 2006, Hệ thống nuôi cấy Bioreactor trong Công nghệ Sinh học Thực vật. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 4(3), pp 265-283
63. Smil, V., 1997, Global population and the nitrogen cycle. *Scientific American* 277(1), pp 76-81.
64. Nhựt, D. T., et al., 2005. Bước đầu nghiên cứu khả năng sản xuất củ giống Lily (*Lilium* spp.) bằng hệ thống Bioreactor. *Báo cáo Khoa học: Những vấn đề nghiên cứu cơ bản của Khoa học sự sống*.
65. Nhựt, D. T., 2007. *Công nghệ Sinh học Thực vật tập 1*. NXB Nông nghiệp.
66. Woltering E.J., 1990, Beneficial effects of carbon dioxide on development of gerbera and rose plantlets grown *in vitro*." *Scientia horticultrae* 44(3-4), pp 341-345.
67. Righetti B., Osvaldo F., 1992, Headspace gas composition in four *Prunus avium* cultivars with differing photosynthetic capabilities. *In Vitro-Plant* 28, pp 179-182.
68. De Proft M.P., Ludo J.M., and Pierre C.D., 1985, Carbon dioxide and ethylene evolution in the culture atmosphere of *Magnolia* cultured *in vitro*. *Physiologia plantarum* 65(4), 375-379.
69. Hegarty P., et al., 1986, The aeration of *Catharanthus roseus* LG Don

- suspension cultures in airlift bioreactors: the inhibitory effect at high aeration rates on culture growth. *Journal of experimental botany* 37(12), pp 1911-1
70. Curtis, W.R., 2005, Application of bioreactor design principles to plant micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 81, pp 255-264.
  71. Thanh N., et al., 2005. High-density cultivation of *P. ginseng* cells in balloon type bioreactors: role of oxygen supply on biomass and ginsenoside production. *Genetics and Applications* 2, pp 7-13.
  72. Yuan X-F., Bing Z., and Yuchun W., 2004, Cell culture of *Saussurea medusa* in a periodically submerged air-lift bioreactor. *Biochemical engineering journal* 21(3), pp 235-239.
  73. Karataş İ., 2022, Production of rosmarinic acid and biomass from adventitious root cultures of *Ocimum basilicum* by optimization of medium components in airlift bioreactors. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 151(2), pp 235-251.
  74. Valdiani A., et al., 2019, Bioreactor-based advances in plant tissue and cell culture: challenges and prospects. *Critical reviews in biotechnology* 39(1), pp 20-34.
  75. Su R., et al., 2019, A review on bioreactor technology assisted plant suspension culture. *Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology* 5(4), pp 1-13.
  76. Mai V.T.B., 2003. Thủy canh cây trồng. *NXB Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh*.
  77. Lazzeri P.A., et al., 1987, Soybean somatic embryogenesis: effects of hormones and culture manipulations. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 10(3), pp 197-208.
  78. Valdiani A., et al., 2019, Bioreactor-based advances in plant tissue and cell culture: challenges and prospects. *Critical reviews in biotechnology* 39(1), pp 20-34.
  79. Kiệt H.V., 2006, *Giáo trình Công nghệ Tế bào Thực Vật*, Trường Cao Đẳng LTTP Đà Nẵng.
  80. Phillips G.C., Martina G., 2019, Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 55, pp 242-257.

81. Choi Y., et al., 2003, Hormone-independent embryogenic callus production from ginseng cotyledons using high concentrations of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  and progress towards bioreactor production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 72(3), pp 229-235
82. Misawa M, 1994, *Plant tissue culture: an alternative for production of useful metabolites*. No. 108. Food & Agriculture Org..
83. Werner T., et al., 2001, Regulation of plant growth by cytokinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(18), pp 10487-10492.
84. Bùi Trang Việt, 2000, *Sinh lý thực vật đại cương*, NXB Đại học quốc gia TP HCM.
85. Yin C.M., 1996, *In vitro propagation of Cryptocoryne ferruginea engler*. Bachelor of Science with Honours. Universiti Malaysia Sarawak.
86. Garbett K., Denchev P., Conger B., 1996, Micropropagation of Switchgrass by Node Culture. *Crop science*. 36, pp 1709-11.
87. La Ánh Dương, et al., 2021, Nhân giống các gia đình Keo tai tượng bằng nuôi cấy *in vitro*. Công nhận tại Quyết định số 74/QĐ-TCLN-KH&HTQT của Tổng cục Lâm nghiệp, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.
88. Ammirato P.V., 1987, *Organizational Events during Somatic Embryogenesis*. Plant Tissue and Cell Culture Plant Biology, Green.
89. Thái, T. D., et al., 2019, Ảnh hưởng của nồng độ đường, loại bioreactor và thể tích bình nuôi cấy lên sự sinh trưởng của huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.). Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ, 55(CĐ Công nghệ Sinh học), 203-208.

## PHỤ LỤC

### Phụ lục 1: Thành phần môi trường MS

Thành phần đa lượng	Thành phần vi lượng	Vitamin
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Myo-Inosito
$\text{KNO}_3$	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Nicotinic acid
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	FeNaEDTA	Pyridoxine HCl
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	$\text{H}_3\text{BO}_3$	Thiamine HCl
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	KI	Glycine
	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	

### Phụ lục 2: Hệ thống bioreactor bao gồm các bộ phận:

- ✓ 1 bình bioreactor hình cầu
- ✓ 1 nắp đậy theo bình.
- ✓ 2 khóa ống hơi silicol.
- ✓ Ống hơi silicol.
- ✓ 1 máy bơm cấp khí (220 V; 85 W).
- ✓ 2 filter 0,2  $\mu\text{m}$  PTPE.
- ✓ 1 bộ điều chỉnh lưu lượng khí (0 -10 L/phút).
- ✓ Hệ thống giá đỡ inox: cao 0,6 -0,8 m.





a: Bình bioreactor BTBB. b: Nắp đậy bioreactor. c: Ống silicol. d: 2 filter 0,2  $\mu\text{m}$  PTFE. e: Khóa ống silicol. f: Máy bơm cấp khí (220 V, 85 W). g: Bộ điều chỉnh lưu lượng khí (10 L/phút). h: Giá đỡ bình bioreactor

### Phụ lục 3: Các kết quả xử lý thống kê

#### Khảo sát ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn in vitro

General Linear Model: S.CHỒI, S.LÁ, C.CAO versus NT

Factor	Type	Levels	Values
NT	fixed	9	B0.5, B1, B1.5, B2, ĐC, K0.5, K1, K1.5, K2

Analysis of Variance for S.CHỒI, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	8	41.785	41.785	5.223	4.94	0.000
Error	261	275.700	275.700	1.056		
Total	269	317.485				

S = 1.02778 R-Sq = 13.16% R-Sq(adj) = 10.50%

Unusual Observations for S.CHỒI

Obs	S.CHỒI	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
65	4.00000	1.66667	0.18765	2.33333	2.31 R
125	4.00000	1.96667	0.18765	2.03333	2.01 R
127	4.00000	1.96667	0.18765	2.03333	2.01 R
139	4.00000	1.96667	0.18765	2.03333	2.01 R

140	4.00000	1.96667	0.18765	2.03333	2.01 R
142	4.00000	1.96667	0.18765	2.03333	2.01 R
146	5.00000	1.96667	0.18765	3.03333	3.00 R
148	4.00000	1.96667	0.18765	2.03333	2.01 R
152	4.00000	1.53333	0.18765	2.46667	2.44 R
167	4.00000	1.53333	0.18765	2.46667	2.44 R
190	4.00000	1.60000	0.18765	2.40000	2.38 R
205	4.00000	1.60000	0.18765	2.40000	2.38 R
214	6.00000	2.46667	0.18765	3.53333	3.50 R
220	5.00000	2.46667	0.18765	2.53333	2.51 R
229	6.00000	2.46667	0.18765	3.53333	3.50 R
235	5.00000	2.46667	0.18765	2.53333	2.51 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for S.LÁ, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	8	89.067	89.067	11.133	9.17	0.000
Error	261	316.800	316.800	1.214		
Total	269	405.867				

S = 1.10172 R-Sq = 21.94% R-Sq(adj) = 19.55%

Unusual Observations for S.LÁ

Obs	S.LÁ	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
9	2.00000	5.13333	0.20115	-3.13333	-2.89 R
24	2.00000	5.13333	0.20115	-3.13333	-2.89 R
43	9.00000	6.66667	0.20115	2.33333	2.15 R
58	9.00000	6.66667	0.20115	2.33333	2.15 R
127	9.00000	6.33333	0.20115	2.66667	2.46 R
142	9.00000	6.33333	0.20115	2.66667	2.46 R
160	3.00000	5.46667	0.20115	-2.46667	-2.28 R
161	3.00000	5.46667	0.20115	-2.46667	-2.28 R
175	3.00000	5.46667	0.20115	-2.46667	-2.28 R
176	3.00000	5.46667	0.20115	-2.46667	-2.28 R
181	8.00000	5.60000	0.20115	2.40000	2.22 R
182	8.00000	5.60000	0.20115	2.40000	2.22 R
196	8.00000	5.60000	0.20115	2.40000	2.22 R
197	8.00000	5.60000	0.20115	2.40000	2.22 R
215	3.00000	5.80000	0.20115	-2.80000	-2.58 R
225	8.00000	5.80000	0.20115	2.20000	2.03 R
230	3.00000	5.80000	0.20115	-2.80000	-2.58 R

240 8.00000 5.80000 0.20115 2.20000 2.03 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for C.CAO, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	8	429.185	429.185	53.648	8.50	0.000
Error	261	1647.867	1647.867	6.314		
Total	269	2077.052				

S = 2.51270 R-Sq = 20.66% R-Sq(adj) = 18.23%

Unusual Observations for C.CAO

Obs	C.CAO	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	15.0000	8.8000	0.4588	6.2000	2.51 R
18	15.0000	8.8000	0.4588	6.2000	2.51 R
42	14.0000	8.4000	0.4588	5.6000	2.27 R
57	14.0000	8.4000	0.4588	5.6000	2.27 R
63	18.0000	12.4000	0.4588	5.6000	2.27 R
66	18.0000	12.4000	0.4588	5.6000	2.27 R
78	18.0000	12.4000	0.4588	5.6000	2.27 R
81	18.0000	12.4000	0.4588	5.6000	2.27 R
158	15.0000	9.9333	0.4588	5.0667	2.05 R
160	4.0000	9.9333	0.4588	-5.9333	-2.40 R
165	15.0000	9.9333	0.4588	5.0667	2.05 R
173	15.0000	9.9333	0.4588	5.0667	2.05 R
175	4.0000	9.9333	0.4588	-5.9333	-2.40 R
186	3.0000	9.0667	0.4588	-6.0667	-2.46 R
193	18.0000	9.0667	0.4588	8.9333	3.62 R
201	3.0000	9.0667	0.4588	-6.0667	-2.46 R
208	18.0000	9.0667	0.4588	8.9333	3.62 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for S.CHÔI

NT	N	Mean	Grouping
B1.5	30	2.467	A
K1.5	30	2.033	A B
K2	30	1.967	A B
K1	30	1.667	A B C

B1	30	1.600	B C
B0.5	30	1.533	B C
K0.5	30	1.500	B C
B2	30	1.467	B C
ĐC	30	1.000	C

Means that do not share a letter are significantly different.

#### Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for S.LÁ

NT	N	Mean	Grouping
K1	30	7.067	A
K0.5	30	6.667	A B
K2	30	6.333	A B C
K1.5	30	5.933	B C D
B2	30	5.800	B C D
B1.5	30	5.800	B C D
B1	30	5.600	C D
B0.5	30	5.467	C D
ĐC	30	5.133	D

Means that do not share a letter are significantly different.

#### Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for C.CAO

NT	N	Mean	Grouping
K1	30	12.400	A
B1.5	30	10.067	B
K1.5	30	10.000	B
B0.5	30	9.933	B
B1	30	9.067	B
ĐC	30	8.800	B
K2	30	8.400	B
K0.5	30	8.400	B
B2	30	8.067	B

Means that do not share a letter are significantly different.

#### General Linear Model: KL.TUỔI, KL.KHÔ versus NT1

Factor	Type	Levels	Values
NT1	fixed	9	B0.5, B1, B1.5, B2, ĐC, K0.5, K1, K1.5, K2

## Analysis of Variance for KL.TU'OI, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT1	8	2.11132	2.11132	0.26392	3.10	0.007
Error	45	3.82647	3.82647	0.08503		
Total	53	5.93779				

S = 0.291604 R-Sq = 35.56% R-Sq(adj) = 24.10%

## Unusual Observations for KL.TU'OI

Obs	KL.TU'OI	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
20	1.85500	1.14700	0.11905	0.70800	2.66 R
23	1.85500	1.14700	0.11905	0.70800	2.66 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

## Analysis of Variance for KL.KHÔ, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT1	8	0.042567	0.042567	0.005321	1.63	0.143
Error	45	0.146794	0.146794	0.003262		
Total	53	0.189361				

S = 0.0571147 R-Sq = 22.48% R-Sq(adj) = 8.70%

## Unusual Observations for KL.KHÔ

Obs	KL.KHÔ	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
14	0.292000	0.183333	0.023317	0.108667	2.08 R
20	0.309000	0.163667	0.023317	0.145333	2.79 R
31	0.265000	0.127500	0.023317	0.137500	2.64 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

## Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for KL.TU'OI

NT1	N	Mean	Grouping
K1	6	1.28133	A
K1.5	6	1.14700	A B
K2	6	0.89600	A B
B1	6	0.85500	A B
B0.5	6	0.85267	A B
K0.5	6	0.75900	A B

B1.5	6	0.73500	A B
B2	6	0.70967	B
ĐC	6	0.64900	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for KL.KHỒ

NT1	N	Mean	Grouping
K1	6	0.18333	A
K1.5	6	0.16367	A
K2	6	0.13067	A
B0.5	6	0.12750	A
B1	6	0.12367	A
K0.5	6	0.10833	A
B1.5	6	0.10550	A
B2	6	0.10450	A
ĐC	6	0.09183	A

Means that do not share a letter are significantly different.

**Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin kết hợp NAA lên sự phát sinh chồi của cây tiêu thảo lá nhẵn *in vitro***

General Linear Model: S.CHỒI, S.LÁ, C.CAO versus NT

Factor	Type	Levels	Values
NT	fixed	5	BN0, BN0.05, BN0.1, BN0.15, BN0.2

Analysis of Variance for S.CHỒI, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	4	17.507	17.507	4.377	4.27	0.003
Error	145	148.767	148.767	1.026		
Total	149	166.273				

S = 1.01291 R-Sq = 10.53% R-Sq(adj) = 8.06%

Unusual Observations for S.CHỒI

Obs	S.CHỒI	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
-----	--------	-----	--------	----------	----------

57	5.00000	2.33333	0.18493	2.66667	2.68 R
79	6.00000	2.93333	0.18493	3.06667	3.08 R
104	5.00000	2.23333	0.18493	2.76667	2.78 R
127	4.00000	1.90000	0.18493	2.10000	2.11 R
132	4.00000	1.90000	0.18493	2.10000	2.11 R
147	4.00000	1.90000	0.18493	2.10000	2.11 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for S.LÁ, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	4	44.107	44.107	11.027	8.15	0.000
Error	145	196.267	196.267	1.354		
Total	149	240.373				

S = 1.16343 R-Sq = 18.35% R-Sq(adj) = 16.10%

Unusual Observations for S.LÁ

Obs	S.LÁ	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
93	9.00000	6.33333	0.21241	2.66667	2.33 R
99	3.00000	6.33333	0.21241	-3.33333	-2.91 R
108	9.00000	6.33333	0.21241	2.66667	2.33 R
114	3.00000	6.33333	0.21241	-3.33333	-2.91 R
132	3.00000	5.40000	0.21241	-2.40000	-2.10 R
147	3.00000	5.40000	0.21241	-2.40000	-2.10 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for C.CAO, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	4	212.44	212.44	53.11	3.57	0.008
Error	145	2156.60	2156.60	14.87		
Total	149	2369.04				

S = 3.85657 R-Sq = 8.97% R-Sq(adj) = 6.46%

Unusual Observations for C.CAO

Obs	C.CAO	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	18.0000	9.8000	0.7041	8.2000	2.16 R
18	18.0000	9.8000	0.7041	8.2000	2.16 R

32	3.0000	11.4000	0.7041	-8.4000	-2.22	R
43	22.0000	11.4000	0.7041	10.6000	2.80	R
47	3.0000	11.4000	0.7041	-8.4000	-2.22	R
58	22.0000	11.4000	0.7041	10.6000	2.80	R
122	20.0000	10.3333	0.7041	9.6667	2.55	R
124	20.0000	10.3333	0.7041	9.6667	2.55	R
137	20.0000	10.3333	0.7041	9.6667	2.55	R
139	20.0000	10.3333	0.7041	9.6667	2.55	R

R denotes an observation with a large standardized residual.

#### Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for S.CHÔI

NT	N	Mean	Grouping
BN0.1	30	2.933	A
BN0.05	30	2.333	A B
BN0.15	30	2.233	A B
BN0	30	2.167	B
BN0.2	30	1.900	B

Means that do not share a letter are significantly different.

#### Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for S.LÁ

NT	N	Mean	Grouping
BN0	30	6.933	A
BN0.1	30	6.733	A
BN0.05	30	6.667	A
BN0.15	30	6.333	A
BN0.2	30	5.400	B

Means that do not share a letter are significantly different.

#### Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for C.CAO

NT	N	Mean	Grouping
BN0.1	30	13.033	A
BN0.05	30	11.400	A B
BN0.2	30	10.333	A B
BN0.15	30	10.033	B
BN0	30	9.800	B



Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: KL.TU'OI, KL.KHÔ versus NT1

Factor Type Levels Values

NT1 fixed 5 BN0, BN0.05, BN0.1, BN0.15, BN0.2

Analysis of Variance for KL.TU'OI, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT1	4	0.45992	0.45992	0.11498	1.19	0.339
Error	25	2.41535	2.41535	0.09661		
Total	29	2.87527				

S = 0.310828 R-Sq = 16.00% R-Sq(adj) = 2.56%

Unusual Observations for KL.TU'OI

Obs	KL.TU'OI	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
21	1.86500	1.21933	0.12689	0.64567	2.28 R
24	1.86500	1.21933	0.12689	0.64567	2.28 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for KL.KHÔ, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT1	4	0.009787	0.009787	0.002447	0.97	0.444
Error	25	0.063327	0.063327	0.002533		
Total	29	0.073113				

S = 0.0503296 R-Sq = 13.39% R-Sq(adj) = 0.00%

Unusual Observations for KL.KHÔ

Obs	KL.KHÔ	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
23	0.076000	0.175000	0.020547	-0.099000	-2.15 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for KL.TU'OI

NT1	N	Mean	Grouping
BN0	6	1.3313	A
BN0.15	6	1.2193	A
BN0.1	6	1.0870	A
BN0.05	6	1.0780	A
BN0.2	6	0.9753	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for KL.KHỒ

NT1	N	Mean	Grouping
BN0	6	0.1922	A
BN0.15	6	0.1750	A
BN0.1	6	0.1587	A
BN0.05	6	0.1527	A
BN0.2	6	0.1403	A

Means that do not share a letter are significantly different.

**Khảo sát sự ảnh hưởng của trạng thái mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi của cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro***

General Linear Model: S.CHỒI, HS.NHÂN, S.LÁ/CHỒI, C.CAO versus NT

Factor	Type	Levels	Values
NT	fixed	3	BN1, BN3, BN5

Analysis of Variance for S.CHỒI, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	322.69	322.69	161.34	55.75	0.000
Error	87	251.80	251.80	2.89		
Total	89	574.49				

S = 1.70125 R-Sq = 56.17% R-Sq(adj) = 55.16%

Unusual Observations for S.CHỒI

Obs	S.CHỒI	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
40	3.0000	6.9667	0.3106	-3.9667	-2.37 R

45	11.0000	6.9667	0.3106	4.0333	2.41	R
50	11.0000	6.9667	0.3106	4.0333	2.41	R
65	9.0000	4.8333	0.3106	4.1667	2.49	R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for HS.NHÂN, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	6.551	6.551	3.275	3.24	0.044
Error	87	87.919	87.919	1.011		
Total	89	94.469				

S = 1.00526 R-Sq = 6.93% R-Sq(adj) = 4.79%

Unusual Observations for HS.NHÂN

Obs	HS.NHÂN	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
13	5.00000	2.33333	0.18354	2.66667	2.70 R
28	5.00000	2.33333	0.18354	2.66667	2.70 R
65	5.40000	2.90000	0.18354	2.50000	2.53 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for S.LÁ/CHÔI, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	37.678	37.678	18.839	11.01	0.000
Error	87	148.806	148.806	1.710		
Total	89	186.484				

S = 1.30783 R-Sq = 20.20% R-Sq(adj) = 18.37%

Unusual Observations for S.LÁ/CHÔI

Obs	S.LÁ/CHÔI	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
6	6.00000	3.25444	0.23878	2.74556	2.14 R
7	7.00000	3.25444	0.23878	3.74556	2.91 R
9	6.00000	3.25444	0.23878	2.74556	2.14 R
21	6.00000	3.25444	0.23878	2.74556	2.14 R
22	7.00000	3.25444	0.23878	3.74556	2.91 R
24	6.00000	3.25444	0.23878	2.74556	2.14 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for C.CAO, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	1373.40	1373.40	686.70	49.82	0.000
Error	87	1199.10	1199.10	13.78		
Total	89	2572.50				

S = 3.71251 R-Sq = 53.39% R-Sq(adj) = 52.32%

Unusual Observations for C.CAO

Obs	C.CAO	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
49	29.0000	18.5000	0.6778	10.5000	2.88 R
55	11.0000	18.5000	0.6778	-7.5000	-2.05 R
76	25.0000	15.8000	0.6778	9.2000	2.52 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for S.CHÒI

NT	N	Mean	Grouping
BN3	30	6.967	A
BN5	30	4.833	B
BN1	30	2.333	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for HS.NHÂN

NT	N	Mean	Grouping
BN5	30	2.900	A
BN1	30	2.333	A
BN3	30	2.322	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for S.LÁ/CHÒI

NT	N	Mean	Grouping
BN1	30	3.254	A

BN3 30 2.018 B  
 BN5 30 1.778 B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for C.CAO

NT N Mean Grouping  
 BN3 30 18.500 A  
 BN5 30 15.800 B  
 BN1 30 9.200 C

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: KL.TU'OI, KL.KHÔ versus NT1

Factor Type Levels Values  
 NT1 fixed 3 BN1, BN3, BN5

Analysis of Variance for KL.TU'OI, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT1	2	62.397	62.397	31.198	27.17	0.000
Error	15	17.223	17.223	1.148		
Total	17	79.619				

S = 1.07153 R-Sq = 78.37% R-Sq(adj) = 75.48%

Unusual Observations for KL.TU'OI

Obs	KL.TU'OI	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
12	6.80900	4.62267	0.43745	2.18633	2.24 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for KL.KHÔ, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT1	2	0.98639	0.98639	0.49320	25.38	0.000
Error	15	0.29149	0.29149	0.01943		
Total	17	1.27789				

S = 0.139402 R-Sq = 77.19% R-Sq(adj) = 74.15%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for  
KL.TUỔI

NT1 N Mean Grouping  
BN3 6 4.62267 A  
BN5 6 4.51567 A  
BN1 6 0.62067 B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for  
KL.KHÔ

NT1 N Mean Grouping  
BN3 6 0.57667 A  
BN5 6 0.57450 A  
BN1 6 0.07900 B

Means that do not share a letter are significantly different.

**Khảo sát sự ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng của  
chồi cây tiêu thảo lá nhãn *in vitro***

General Linear Model: S.CHỒI, S.LÁ, C.CAO, DT.LÁ versus NT

Factor Type Levels Values  
NT fixed 3 L1, L2, L3

Analysis of Variance for S.CHỒI, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	0.0889	0.0889	0.0444	0.44	0.646
Error	87	8.8000	8.8000	0.1011		
Total	89	8.8889				

S = 0.318040 R-Sq = 1.00% R-Sq(adj) = 0.00%

Unusual Observations for S.CHỒI

Obs	S.CHỒI	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	2.00000	1.13333	0.05807	0.86667	2.77 R

8	2.00000	1.13333	0.05807	0.86667	2.77 R
18	2.00000	1.13333	0.05807	0.86667	2.77 R
23	2.00000	1.13333	0.05807	0.86667	2.77 R
42	2.00000	1.13333	0.05807	0.86667	2.77 R
45	2.00000	1.13333	0.05807	0.86667	2.77 R
57	2.00000	1.13333	0.05807	0.86667	2.77 R
60	2.00000	1.13333	0.05807	0.86667	2.77 R
63	2.00000	1.06667	0.05807	0.93333	2.98 R
78	2.00000	1.06667	0.05807	0.93333	2.98 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for S.LÁ, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	17.8667	17.8667	8.9333	9.28	0.000
Error	87	83.7333	83.7333	0.9625		
Total	89	101.6000				

$S = 0.981046$   $R\text{-Sq} = 17.59\%$   $R\text{-Sq}(\text{adj}) = 15.69\%$

Unusual Observations for S.LÁ

Obs	S.LÁ	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
37	2.00000	5.20000	0.17911	-3.20000	-3.32 R
52	2.00000	5.20000	0.17911	-3.20000	-3.32 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for C.CAO, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	228.89	228.89	114.44	17.62	0.000
Error	87	565.07	565.07	6.50		
Total	89	793.96				

$S = 2.54853$   $R\text{-Sq} = 28.83\%$   $R\text{-Sq}(\text{adj}) = 27.19\%$

Unusual Observations for C.CAO

Obs	C.CAO	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	15.0000	8.2000	0.4653	6.8000	2.71 R
15	3.0000	8.2000	0.4653	-5.2000	-2.08 R
16	15.0000	8.2000	0.4653	6.8000	2.71 R

30	3.0000	8.2000	0.4653	-5.2000	-2.08	R
43	5.0000	11.2000	0.4653	-6.2000	-2.47	R
58	5.0000	11.2000	0.4653	-6.2000	-2.47	R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for DT.LÁ, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	0.66497	0.66497	0.33248	7.24	0.001
Error	87	3.99328	3.99328	0.04590		
Total	89	4.65825				

S = 0.214242 R-Sq = 14.28% R-Sq(adj) = 12.30%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for S.CHÔI

NT	N	Mean	Grouping
L2	30	1.1333	A
L1	30	1.1333	A
L3	30	1.0667	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for S.LÁ

NT	N	Mean	Grouping
L2	30	5.2000	A
L3	30	4.8667	A
L1	30	4.1333	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for C.CAO

NT	N	Mean	Grouping
L2	30	11.2000	A
L1	30	8.2000	B
L3	30	7.5333	B

Means that do not share a letter are significantly different.



Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for DT.LÁ

NT	N	Mean	Grouping
L1	30	0.7713	A
L2	30	0.6913	A B
L3	30	0.5627	B

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: KL.TUÓI, KL.KHÔ versus NT1

Factor	Type	Levels	Values
NT1	fixed	3	L1, L2, L3

Analysis of Variance for KL.TUÓI, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT1	2	0.40596	0.40596	0.20298	4.01	0.040
Error	15	0.75949	0.75949	0.05063		
Total	17	1.16544				

S = 0.225017 R-Sq = 34.83% R-Sq(adj) = 26.14%

Unusual Observations for KL.TUÓI

Obs	KL.TUÓI	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
9	1.58200	1.12933	0.09186	0.45267	2.20 R
12	1.58200	1.12933	0.09186	0.45267	2.20 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for KL.KHÔ, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT1	2	0.0054671	0.0054671	0.0027336	6.27	0.010
Error	15	0.0065373	0.0065373	0.0004358		
Total	17	0.0120044				

S = 0.0208764 R-Sq = 45.54% R-Sq(adj) = 38.28%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for KL.TUÓI

NT1 N Mean Grouping  
 L2 6 1.1293 A  
 L1 6 0.8367 A B  
 L3 6 0.7900 B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for  
 KL.KHÔ

NT1 N Mean Grouping  
 L2 6 0.1390 A  
 L1 6 0.1040 B  
 L3 6 0.1003 B

Means that do not share a letter are significantly different.

**Khảo sát sự ảnh hưởng của khối lượng mẫu cấy ban đầu lên sự nhân  
 nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhẵn trong hệ thống bioreactor 1 lít  
 General Linear Model: Chiều dài, Chiều rộng, ... versus NT**

Welcome to Minitab, press F1 for help.

**General Linear Model: C dài, C rộng, C cao, số chồi, số lá versus NT**

Factor Type Levels Values  
 NT fixed 4 KL10, kl15, kl20, KL5

Analysis of Variance for C dài, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	3	3559.9	3559.9	1186.6	19.92	0.000
Error	116	6909.9	6909.9	59.6		
Total	119	10469.8				

S = 7.71804 R-Sq = 34.00% R-Sq(adj) = 32.29%

Unusual Observations for C dài

Obs	C dài	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
-----	-------	-----	--------	----------	----------

21	36.0000	17.6000	1.4091	18.4000	2.42	R
28	33.0000	17.6000	1.4091	15.4000	2.03	R
73	60.0000	29.3333	1.4091	30.6667	4.04	R
91	15.0000	32.0667	1.4091	-17.0667	-2.25	R
92	55.0000	32.0667	1.4091	22.9333	3.02	R
101	50.0000	32.0667	1.4091	17.9333	2.36	R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for C rộng, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	3	1375.29	1375.29	458.43	9.17	0.000
Error	116	5798.50	5798.50	49.99		
Total	119	7173.79				

S = 7.07015 R-Sq = 19.17% R-Sq(adj) = 17.08%

Unusual Observations for C rộng

Obs	C rộng	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	45.0000	13.9667	1.2908	31.0333	4.46 R
73	47.0000	19.9000	1.2908	27.1000	3.90 R
92	40.0000	22.8667	1.2908	17.1333	2.46 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for C cao, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	3	942.4	942.4	314.1	2.89	0.038
Error	116	12594.9	12594.9	108.6		
Total	119	13537.3				

S = 10.4200 R-Sq = 6.96% R-Sq(adj) = 4.56%

Unusual Observations for C cao

Obs	C cao	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	12.0000	49.9333	1.9024	-37.9333	-3.70 R
2	25.0000	49.9333	1.9024	-24.9333	-2.43 R
47	30.0000	51.6333	1.9024	-21.6333	-2.11 R
54	75.0000	51.6333	1.9024	23.3667	2.28 R
92	80.0000	56.9000	1.9024	23.1000	2.25 R
93	80.0000	56.9000	1.9024	23.1000	2.25 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for số chồi, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	3	227.20	227.20	75.73	1.41	0.245
Error	116	6248.27	6248.27	53.86		
Total	119	6475.47				

S = 7.33923 R-Sq = 3.51% R-Sq(adj) = 1.01%

Unusual Observations for số chồi

Obs	số chồi	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
5	39.0000	21.8333	1.3400	17.1667	2.38 R
7	39.0000	21.8333	1.3400	17.1667	2.38 R
47	40.0000	21.4333	1.3400	18.5667	2.57 R
48	36.0000	21.4333	1.3400	14.5667	2.02 R
72	39.0000	23.4333	1.3400	15.5667	2.16 R
73	51.0000	23.4333	1.3400	27.5667	3.82 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for số lá, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	3	21.667	21.667	7.222	3.47	0.018
Error	116	241.133	241.133	2.079		
Total	119	262.800				

S = 1.44178 R-Sq = 8.24% R-Sq(adj) = 5.87%

## Unusual Observations for số lá

Obs	số lá	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
18	9.00000	5.80000	0.26323	3.20000	2.26 R
22	9.00000	5.80000	0.26323	3.20000	2.26 R
96	2.00000	5.16667	0.26323	-3.16667	-2.23 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

## Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for C dài

NT	N	Mean	Grouping
k120	30	32.067	A
k115	30	29.333	A
KL10	30	27.167	A
KL5	30	17.600	B

Means that do not share a letter are significantly different.

## Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for C rộng

NT	N	Mean	Grouping
k120	30	22.867	A
KL10	30	21.433	A
k115	30	19.900	A
KL5	30	13.967	B

Means that do not share a letter are significantly different.

## Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for C cao

NT	N	Mean	Grouping
k120	30	56.900	A
KL10	30	51.633	A
k115	30	50.233	A
KL5	30	49.933	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for số chồi

NT	N	Mean	Grouping
k115	30	23.433	A
KL5	30	21.833	A
KL10	30	21.433	A
k120	30	19.567	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for số lá

NT	N	Mean	Grouping
KL10	30	6.200	A
KL5	30	5.800	A B
k115	30	5.233	A B
k120	30	5.167	B

Means that do not share a letter are significantly different.

**Khảo sát sự ảnh hưởng của lưu lượng sục khí lên sự nhân nhanh của chồi cây tiêu thảo lá nhẵn *in vitro* trong hệ thống bioreactor**

Welcome to Minitab, press F1 for help.

**General Linear Model: C dài, C rộng, C cao, số chồi, số lá versus NT5**

Factor	Type	Levels	Values
NT5	fixed	4	SK1, SK2, SK3, SK4

Analysis of Variance for C dài, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT5	3	12145.1	12145.1	4048.4	52.07	0.000
Error	116	9018.1	9018.1	77.7		
Total	119	21163.2				

S = 8.81714 R-Sq = 57.39% R-Sq(adj) = 56.29%

## Unusual Observations for C dài

Obs	C dài	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
40	29.0000	53.7667	1.6098	-24.7667	-2.86 R
52	32.0000	53.7667	1.6098	-21.7667	-2.51 R
54	75.0000	53.7667	1.6098	21.2333	2.45 R
94	59.0000	34.7333	1.6098	24.2667	2.80 R
100	56.0000	34.7333	1.6098	21.2667	2.45 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

## Analysis of Variance for C rộng, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT5	3	30439	30439	10146	146.47	0.000
Error	116	8035	8035	69		
Total	119	38474				

S = 8.32283 R-Sq = 79.12% R-Sq(adj) = 78.57%

## Unusual Observations for C rộng

Obs	C rộng	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
11	30.0000	48.0667	1.5195	-18.0667	-2.21 R
22	65.0000	48.0667	1.5195	16.9333	2.07 R
27	27.0000	48.0667	1.5195	-21.0667	-2.57 R
31	70.0000	50.6667	1.5195	19.3333	2.36 R
33	76.0000	50.6667	1.5195	25.3333	3.10 R
39	85.0000	50.6667	1.5195	34.3333	4.20 R
41	34.0000	50.6667	1.5195	-16.6667	-2.04 R
42	72.0000	50.6667	1.5195	21.3333	2.61 R
49	34.0000	50.6667	1.5195	-16.6667	-2.04 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

## Analysis of Variance for C cao, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT5	3	2584.76	2584.76	861.59	11.24	0.000
Error	116	8894.83	8894.83	76.68		

Total 119 11479.59

$S = 8.75669$   $R\text{-Sq} = 22.52\%$   $R\text{-Sq}(\text{adj}) = 20.51\%$

Unusual Observations for C cao

Obs	C cao	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	70.0000	39.3333	1.5987	30.6667	3.56 R
12	60.0000	39.3333	1.5987	20.6667	2.40 R
92	72.0000	49.4000	1.5987	22.6000	2.63 R
95	21.0000	49.4000	1.5987	-28.4000	-3.30 R
106	67.0000	49.4000	1.5987	17.6000	2.04 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for số chồi, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT5	3	226.69	226.69	75.56	1.49	0.221
Error	116	5879.30	5879.30	50.68		
Total	119	6105.99				

$S = 7.11924$   $R\text{-Sq} = 3.71\%$   $R\text{-Sq}(\text{adj}) = 1.22\%$

Unusual Observations for số chồi

Obs	số chồi	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
40	37.0000	22.7000	1.2998	14.3000	2.04 R
43	39.0000	22.7000	1.2998	16.3000	2.33 R
47	40.0000	22.7000	1.2998	17.3000	2.47 R
76	36.0000	20.5667	1.2998	15.4333	2.20 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for số lá, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT5	3	725.02	725.02	241.67	23.00	0.000



Error 116 1218.97 1218.97 10.51  
 Total 119 1943.99

S = 3.24166 R-Sq = 37.30% R-Sq(adj) = 35.67%

Unusual Observations for số lá

Obs	số lá	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
4	24.0000	11.6667	0.5918	12.3333	3.87 R
8	23.0000	11.6667	0.5918	11.3333	3.56 R
10	2.0000	11.6667	0.5918	-9.6667	-3.03 R
16	19.0000	11.6667	0.5918	7.3333	2.30 R
17	5.0000	11.6667	0.5918	-6.6667	-2.09 R
20	2.0000	11.6667	0.5918	-9.6667	-3.03 R
27	20.0000	11.6667	0.5918	8.3333	2.61 R
28	20.0000	11.6667	0.5918	8.3333	2.61 R
30	5.0000	11.6667	0.5918	-6.6667	-2.09 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for C dài

NT5	N	Mean	Grouping
SK2	30	53.767	A
SK1	30	46.733	B
SK4	30	34.733	C
SK3	30	27.967	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for C rộng

NT5	N	Mean	Grouping
SK2	30	50.667	A
SK1	30	48.067	A
SK3	30	17.567	B
SK4	30	17.567	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for C cao

NT5	N	Mean	Grouping
SK4	30	49.400	A
SK3	30	44.500	A B
SK1	30	39.333	B C
SK2	30	37.533	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for số chồi

NT5	N	Mean	Grouping
SK2	30	22.700	A
SK3	30	20.567	A
SK4	30	19.533	A
SK1	30	19.167	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for số lá

NT5	N	Mean	Grouping
SK1	30	11.667	A
SK2	30	6.867	B
SK3	30	5.867	B
SK4	30	5.567	B

Means that do not share a letter are significantly different.

**Khảo sát sự ảnh hưởng của thể tích Bioreactor lên sự nhân nhanh của chồi cây TTLN trong hệ thống Bioreactor.**

Welcome to Minitab, press F1 for help.

**General Linear Model: c dài, c rộng, c cao, số chồi, số lá versus NT**

Factor	Type	Levels	Values
NT	fixed	3	V1, V10, V5

Analysis of Variance for c dài, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	7396.4	7396.4	3698.2	77.88	0.000
Error	87	4131.0	4131.0	47.5		
Total	89	11527.4				

$S = 6.89080$   $R\text{-Sq} = 64.16\%$   $R\text{-Sq(adj)} = 63.34\%$

Unusual Observations for c dài

Obs	c dài	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
38	35.0000	48.7667	1.2581	-13.7667	-2.03 R
47	33.0000	48.7667	1.2581	-15.7667	-2.33 R
48	63.0000	48.7667	1.2581	14.2333	2.10 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for c rộng, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	11139.8	11139.8	5569.9	122.12	0.000
Error	87	3968.2	3968.2	45.6		
Total	89	15108.0				

$S = 6.75363$   $R\text{-Sq} = 73.73\%$   $R\text{-Sq(adj)} = 73.13\%$

Unusual Observations for c rộng

Obs	c rộng	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
35	30.0000	43.3667	1.2330	-13.3667	-2.01 R
44	57.0000	43.3667	1.2330	13.6333	2.05 R
47	57.0000	43.3667	1.2330	13.6333	2.05 R
49	58.0000	43.3667	1.2330	14.6333	2.20 R
50	57.0000	43.3667	1.2330	13.6333	2.05 R
55	29.0000	43.3667	1.2330	-14.3667	-2.16 R
60	13.0000	43.3667	1.2330	-30.3667	-4.57 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for c cao, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	793.49	793.49	396.74	8.27	0.001
Error	87	4172.17	4172.17	47.96		
Total	89	4965.66				

S = 6.92502 R-Sq = 15.98% R-Sq(adj) = 14.05%

Unusual Observations for c cao

Obs	c cao	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
10	29.0000	44.5000	1.2643	-15.5000	-2.28 R
62	55.0000	40.6000	1.2643	14.4000	2.11 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for số chòi, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	6.49	6.49	3.24	0.13	0.875
Error	87	2114.23	2114.23	24.30		
Total	89	2120.72				

S = 4.92966 R-Sq = 0.31% R-Sq(adj) = 0.00%

Unusual Observations for số chòi

Obs	số chòi	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
4	34.0000	20.5667	0.9000	13.4333	2.77 R
15	33.0000	20.5667	0.9000	12.4333	2.57 R
16	36.0000	20.5667	0.9000	15.4333	3.18 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Analysis of Variance for số lá, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	95.289	95.289	47.644	21.53	0.000
Error	87	192.533	192.533	2.213		
Total	89	287.822				

S = 1.48762 R-Sq = 33.11% R-Sq(adj) = 31.57%

Unusual Observations for số lá

Obs	số lá	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
6	9.0000	5.8667	0.2716	3.1333	2.14 R
7	9.0000	5.8667	0.2716	3.1333	2.14 R
33	5.0000	8.2667	0.2716	-3.2667	-2.23 R
45	5.0000	8.2667	0.2716	-3.2667	-2.23 R
53	5.0000	8.2667	0.2716	-3.2667	-2.23 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for c dài

NT	N	Mean	Grouping
V5	30	48.767	A
V10	30	45.100	A
V1	30	27.967	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for c rộng

NT	N	Mean	Grouping
V5	30	43.367	A
V10	30	38.067	B
V1	30	17.567	C

Means that do not share a letter are significantly different.

## Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for c cao

NT	N	Mean	Grouping
V5	30	47.867	A
V1	30	44.500	A B
V10	30	40.600	B

Means that do not share a letter are significantly different.

## Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for số chòi

NT	N	Mean	Grouping
V10	30	21.167	A
V5	30	21.100	A
V1	30	20.567	A

Means that do not share a letter are significantly different.

## Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for số lá

NT	N	Mean	Grouping
V5	30	8.267	A
V10	30	6.400	B
V1	30	5.867	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Welcome to Minitab, press F1 for help.

**General Linear Model: KL tươi, KL khô, Hệ số nhân versus NT**

Factor	Type	Levels	Values
NT	fixed	3	v1, v10, v5

## Analysis of Variance for KL tươi, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	1118377	1118377	559188	4895.34	0.000

Error	6	685	685	114
Total	8	1119062		

S = 10.6878 R-Sq = 99.94% R-Sq(adj) = 99.92%

Analysis of Variance for KL khô, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	2874.0	2874.0	1437.0	1801.17	0.000
Error	6	4.8	4.8	0.8		
Total	8	2878.8				

S = 0.893206 R-Sq = 99.83% R-Sq(adj) = 99.78%

Analysis of Variance for Hệ số nhân, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
NT	2	1.9045	1.9045	0.9523	6.78	0.029
Error	6	0.8422	0.8422	0.1404		
Total	8	2.7467				

S = 0.374654 R-Sq = 69.34% R-Sq(adj) = 59.12%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for KL tươi

NT	N	Mean	Grouping
v10	3	1054.92	A
v5	3	561.38	B
v1	3	194.56	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for KL khô

NT	N	Mean	Grouping
----	---	------	----------

v10	3	55.64	A
v5	3	31.27	B
v1	3	11.96	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence for Hệ số nhân

NT	N	Mean	Grouping
v5	3	14.04	A
v10	3	13.19	A B
v1	3	12.97	B

Means that do not share a letter are significantly different.



Hà Nội, ngày 04 tháng 10 năm 2024

Số: 1125 /QĐ-HVKHCN

**QUYẾT ĐỊNH**  
**Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ**

**GIÁM ĐỐC**  
**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

Căn cứ Quyết định số 303/QĐ-VHL ngày 01/03/2023 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 15/2014/TT-BGDĐT ngày 15/5/2014 của Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 775/QĐ-HVKHCN ngày 21/11/2016 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1982/QĐ-HVKHCN ngày 07/12/2020 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học trúng tuyển đợt 2 năm 2020;

Căn cứ Quyết định số 334/QĐ-HVKHCN ngày 04/04/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và cử người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 306/QĐ-HVKHCN ngày 02/04/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc gia hạn thời gian học tập lần 4 cho học viên Trương Minh Thắng;

Xét đề nghị của Trưởng khoa Khoa Công nghệ sinh học, Trưởng phòng Đào tạo.

**QUYẾT ĐỊNH:**

**Điều 1.** Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Trương Minh Thắng với đề tài: “Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây tiêu thảo lá nhẵn (*Cryptocoryne wendtii*) bằng hệ thống Bioreactor”.

Ngành: Sinh học thực nghiệm Mã số: 8 42 01 14

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

**Điều 2.** Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn thạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

**Điều 3.** Trưởng phòng Tổ chức - Hành chính và Truyền thông, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, Trưởng Khoa Công nghệ sinh học, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /s/

**Nơi nhận:**

- Như Điều 3;
- Giám đốc Học viện (để b/c);
- Lưu hồ sơ học viên;
- Lưu: VT, ĐT, MT.07.

KT. GIÁM ĐỐC  
PHÓ GIÁM ĐỐC  
  
Trần Thị Phương Anh

## DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Ban theo Quyết định số 1125/QĐ-HVKHCN ngày 04/10/2024  
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)



Chủ luận văn của học viên: Trương Minh Thắng

Tên đề tài: Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây tiêu thảo lá nhẵn (*Cryptocoryne wendtii*) bằng hệ thống Bioreactor.

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

Người hướng dẫn: TS. Đỗ Đăng Giáp

- Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KHCNVN

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	PGS.TS. Nguyễn Thị Phương Thảo	Sinh học	Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	TS. Bùi Văn Thế Vinh	Công nghệ sinh học	Trường Đại học Công nghệ TP. HCM, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 1
3.	TS. Trịnh Thị Hương	Sinh lý học thực vật	Trường Đại học Công thương TP.HCM, Bộ Công thương	Phản biện 2
4.	TS. Bùi Đình Thạc	Sinh lý học thực vật	Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
5.	TS. Phan Tường Lộc	Hóa sinh học	Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên

(Hội đồng gồm 05 thành viên)./ *ghe*



TP. HCM, ngày 14 tháng 11 năm 2024

## BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 1125/QĐ-HVKHCN ngày 04/10/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Trương Minh Thắng

Tên đề tài: Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây tiêu thảo lá nhẵn (*Cryptocoryne wendtii*) bằng hệ thống Bioreactor.

Ngành/Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

Hôm nay, ngày 14/11/2024 Hội đồng đã họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ vào lúc 09h00, Hội đồng gồm 05 thành viên:

- |                                   |                   |
|-----------------------------------|-------------------|
| 1. PGS.TS. Nguyễn Thị Phương Thảo | Chủ tịch hội đồng |
| 2. TS. Bùi Đình Thạch             | Thư ký hội đồng   |
| 3. TS. Bùi Văn Thế Vinh           | Phản biện 1       |
| 4. TS. Trịnh Thị Hương            | Phản biện 2       |
| 5. TS. Phan Tường Lộc             | Ủy viên hội đồng  |

Thành viên vắng mặt: ..... (Phản biện hoặc ủy viên, đã có bản nhận xét đồng ý cho phép học viên được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ).

### NỘI DUNG LÀM VIỆC

- Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn
- Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp
- Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên
- Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng
- Phản biện 1:

Đs. tài. có. hđ. thđ. tiên. và. khoa. học.  
Cần. mô. tả? chi. tiết. các. nđ. dự. ý. luận. về.  
cách. quy. đố. thí. nghiệm. mẫu. thí. nghiệm. qua. các.  
thế. hệ. phân. cđ.  
tại. sao. chỉ. phân. về. 1. l. k? tạo. bộ.



6. Phản biện 2:

- Đề tài: chấp ý in loan các học sĩ;
- phụng sự, ghiền với các tài năng và thế;
- phân biệt loan các việc để làm bài học qua các

7. Học viên trả lời:

- Tiếp thu và chắt lọc các ý kiến để góp vào thành
- viên học tập;
- Mẫu sự duy chí ghiền việc học và việc tốt của
- đang ghiền với;

8. Các thành viên HĐ và những người tham dự nêu câu hỏi

- cần tìm hiểu thêm các yếu tố để chọn điều kiện tốt
- vì;
- Mối lo ngại về duy ghiền với;
- cấp phát tài liệu tham khảo;

9. Học viên trả lời

10. Hội đồng họp kín và cho điểm

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:

Trưởng ban: ... Trịnh Thu Hương

Ủy viên: ... Phan Thị Lệ

Ủy viên: ... Bùi Anh Thảo

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: ... 05

Số phiếu thu về: ... 05

Tổng số điểm: ... 11, 2



Điểm trung bình: ... 8,24 ...

Điểm thưởng công trình công bố: ... 0 ...

Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố: ... 8,24 ...

- Kết luận của Hội đồng:

+ Luận văn ... Đạt ... (đạt/không đạt yêu cầu)

+ Tính không trùng lặp nội dung và tên đề tài với các công trình công bố:

Nội dung và tên đề tài không trùng lặp với các công trình đã công bố

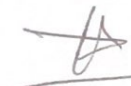
11. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

Để tài đáp ý, mở liên lạc theo số  
Ker gửi đề tài có thể viết bài báo khoa học  
Chỉnh sửa theo gợi ý hội đồng


Buổi họp đã kết thúc vào ... 10 giờ 45 phút ngày 14/11/2024

TP.HCM, ngày 14 tháng 11 năm 2024

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG

  
Đuri Đức Thảo

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

  
Nguyễn Thị Phương Thảo



XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

KT. GIÁM ĐỐC

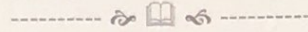
PHÓ GIÁM ĐỐC



  
Nguyễn Thị Trung

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc



## BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ tên người nhận xét: BÙI VĂN THẾ VINH      Học vị: Tiến sĩ

Chức danh trong Hội đồng: Phản biện 1

Cơ quan công tác: Trường Đại học Công nghệ TP.HCM (HUTECH)

Họ và tên học viên: TRƯƠNG MINH THẮNG

Tên đề tài: Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Tiêu thảo lá nhãn (*Cryptocoryne wendtii*) bằng hệ thống Bioreactor

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

### NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. *Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:*

Tiêu thảo lá nhãn (*Cryptocoryne wendtii*) là loại cây thủy sinh được sử dụng rất phổ biến. Bình thường, cây có thể nhân giống dễ dàng bằng cách tách các thân bò phát triển gần gốc cây mẹ.

Vì là cây thủy sinh nên rất phù hợp cho việc nghiên cứu nuôi cấy trong hệ thống Bioreactor để tăng nhanh sinh khối phục vụ cho công tác nhân giống.

2. *Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:*

Đề tài nghiên cứu không có sự trùng lặp với các công trình khoa học hay các luận văn đã công bố trước đây.

Tác giả tham khảo 89 tài liệu khoa học trong và ngoài nước, được trích dẫn đầy đủ, rõ ràng.

3. *Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:*

*Thu*



Nội dung nghiên cứu của đề tài phù hợp với tên đề tài đặt ra và phù hợp với chuyên ngành Sinh học thực nghiệm, mã số 8 42 01 14.

4. *Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:*

Đề tài nghiên cứu được thực hiện bằng kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào thực vật thường quy. Bên cạnh việc sử dụng hệ thống nuôi cấy Bioreactor 5 lít và 10 lít, tác giả còn tự thiết kế mô hình nuôi cấy mô phòng Bioreactor 1 lít để nuôi cấy nhân nhanh chồi cây Tiêu thảo lá nhẵn. Các kết quả thí nghiệm được ghi nhận đầy đủ và có xử lý thống kê theo phương pháp Duncan test đảm bảo độ tin cậy ở mức ý nghĩa 0.05 (không nêu rõ phần mềm xử lý thống kê được sử dụng).

5. *Kết quả nghiên cứu của luận văn:*

Kết quả nghiên cứu của đề tài đã xác định được quy trình nhân giống cây Tiêu thảo lá nhẵn bằng hệ thống Bioreactor: khử trùng mẫu cây bằng  $HgCl_2$  trong 10 phút, môi trường nhân chồi MS + 1.5 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA, môi trường cảm ứng tạo rễ MS + 0.5 mg/l IBA.

Khi nuôi cấy bằng hệ thống Bioreactor thì khối lượng mẫu cây ban đầu là 40g/ hệ thống 10 lít, lưu lượng sục khí tối ưu 3-4 lít/phút.

6. *Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung, hình thức và câu hỏi:*

- Tên khoa học, các cụm từ “*in vitro*”, “*ex vitro*” phải được viết in nghiêng theo thông lệ.
- Trong phần mục lục không nên viết tắt cụm từ “TTLN”
- Bổ sung một số từ trong danh mục chữ viết tắt: ATP, TDZ, KIN, SH, B5, dGH, CMV, DsMV,...
- Phần danh mục hình chỉ nên nêu tiêu đề chính của hình, không kèm theo chú thích (VD: vị trí chồi mới hình thành được đánh dấu mũi tên vàng)
- Mục 1.4.1 trang 12: màng lọc hệ thống Bioreactor air-lift có kích thước lỗ lọc từ 0.01 – 0.1  $\mu m$  (thay vì mm)
- Trong phần VLPP, thí nghiệm 9 không nêu rõ thể tích dung dịch được sử dụng trong các bình dung tích 1 lít, 5 lít và 10 lít, không có khối lượng mẫu ban đầu.
- Câu hỏi 1: Trong kết quả thí nghiệm 7 cho rằng khối lượng mẫu ban đầu 40g thích hợp để nhân nhanh chồi trong hệ thống Bioreactor 10 lít. Trong thí nghiệm 9 dung tích Bioreactor phù hợp lại là 5 lít. Vậy có thể tính lượng mẫu

ban đầu phù hợp cho bình Bioreactor 5 lít dựa vào kết quả thí nghiệm 7 được không?

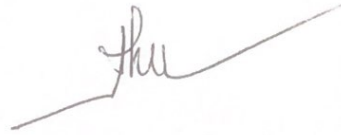
- Câu hỏi 2: Vì sao trong các bình mô phỏng Bioreactor 1 lít không tạo bọt, còn các hệ thống Bioreactor 5 lít và 10 lít đều có tạo bọt?
- 7. *Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?*

Khối lượng nghiên cứu của đề tài rất lớn, có nhiều dữ liệu khoa học mới đáng tin cậy nên hoàn toàn có thể viết thành bài báo khoa học đăng trên các tạp chí uy tín.

- 8. *Kết luận chung:* đề tài đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ, luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ.

*Tp. Hồ Chí Minh, ngày 25 tháng 10 năm 2025*

Người nhận xét



**Bùi Văn Thế Vinh**



## BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người nhận xét: Trịnh Thị Hương      Học hàm, học vị: Tiến sĩ  
Chức danh trong Hội đồng: Phản biện  
Cơ quan công tác: Trường Đại học Công thương TP.HCM  
Họ và tên học viên: Trương Minh Thắng  
Tên đề tài: Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây tiêu thảo lá nhãn (*Cryptocoryne wendtii*) bằng hệ thống bioreactor  
Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm      Mã số: 9 42 01 14

### NỘI DUNG NHẬN XÉT

#### 1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Hiện nay thị trường cây thủy sinh trở nên sôi động với nhu cầu tiêu thụ ngày càng tăng. Tuy nhiên, việc nhân giống cây thủy sinh ở nước ta còn hạn chế. Phương pháp nhân giống truyền thống cho hệ số nhân giống thấp, và thời gian kéo dài. Do đó, việc phát triển quy trình nhân giống cây thủy sinh tiêu thảo lá nhãn trong hệ thống bioreactor có thể giải quyết được các vấn đề này, cho phép tạo ra số lượng lớn cây giống sạch bệnh, đồng nhất trong thời gian ngắn, đáp ứng được nhu cầu trong nước cũng như thị trường quốc tế, mang lại giá trị kinh tế cao.

#### 2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Số liệu, hình ảnh, kết quả không trùng lặp với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tài liệu tham khảo được trích dẫn đầy đủ.

#### 3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như chuyên ngành và mã số đào tạo:

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu cũng như chuyên ngành và mã số đào tạo.

#### 4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Đề tài sử dụng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật thường quy, kết hợp sử dụng các hệ thống bioreactor để nâng cao hệ số nhân giống cây trồng. Phương pháp bố trí thí nghiệm logic, các số liệu được xử lý thống kê đáng tin cậy, hình ảnh minh họa cho các thí nghiệm đầy đủ.

#### 5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Nghiên cứu đã đưa ra được một quy trình nhân giống *in vitro* cây tiêu thảo lá nhãn tương đối hoàn chỉnh từ giai đoạn khử trùng tạo vật liệu đến giai đoạn ra rễ, với hệ số nhân giống được cải thiện (4,62 lần) và hệ số tăng sinh đạt được 18,6 lần sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường thạch. Nghiên cứu cũng đã ứng dụng hệ thống bioreactor vào nuôi cấy nhân nhanh chồi loài cây này. Kết quả đã xác định được một số thông số thích hợp cho quá trình nuôi cấy như: khối lượng mẫu nuôi cấy ban đầu, lưu lượng sục khí và đánh giá được tác động của thể tích bình nuôi đến hệ số tăng sinh của mẫu nuôi cấy. Kết quả đã nâng cao đáng kể hệ tổ tăng

sinh (14,01 lần). Các kết quả đạt được của nghiên cứu có ý nghĩa lớn trong việc kiểm soát tạo ra số lượng lớn cây giống trong thời gian ngắn, đáp ứng được nhu cầu ngày càng gia tăng về thị trường cây thủy sinh ở trong và ngoài nước.

## 6. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung, hình thức và câu hỏi:

### \* Nội dung:

- Cơ sở khoa học (Tr.2): câu văn là các loài, nhưng khi liệt kê thì chỉ có chi (*Aponogeton*, *Cryptocoryne*).
- Cần bổ sung tên đầy đủ cây “tiêu thảo lá nhãn” và mở ngoặc chú thích (TTLN) ở lần xuất hiện đầu tiên trong bài (Tr 2).
- Những đóng góp của luận văn: đang viết là lý do chọn đề tài, cần viết lại cho đúng về các đóng góp mà luận văn mang lại (Tr.3).
- Tổng quan về hệ thống bioreactor (Tr.12), cần sửa lại cụm từ “**Hiện nay**” trong câu “Hiện nay, hệ thống này đang được sử dụng rộng rãi... tại phân viện sinh học Đà Lạt” vì công bố này đưa ra từ năm 2006.
- Dụng cụ thiết bị: cần bổ sung bioreactor 1 lít.
- Xem lại số lượng mẫu được bố trí nghiệm thức viết trong bố trí thí nghiệm (mỗi nghiệm thức 5 bình, mỗi bình 5 mẫu, lặp lại 3 lần) với phụ lục thống kê (N= 30).
- Tên thí nghiệm 4: cần nhắc thay đổi cụm từ “trạng thái mẫu” thành “số lượng chồi/kích thước mẫu”.
- Thí nghiệm 6: Bổ sung thêm thông tin về loại đèn, ánh sáng sử dụng trong nghiên cứu.
- Thí nghiệm 9: Làm rõ khối lượng mẫu cấy, lưu lượng sục khí được sử dụng trong các bình bioreactor thể tích khác nhau.
- Thí nghiệm 10: sử dụng mẫu chồi từ bioreactor hay từ mẫu nuôi cấy trên môi trường thạch, nếu sử dụng mẫu chồi từ hệ thống bioreactor thì kết quả sẽ hoàn thiện quy trình nuôi cấy trọn vẹn hơn.
- Các chỉ tiêu theo dõi: cần làm rõ cách tính tỷ lệ tăng sinh, hệ số nhân nhanh, cách đo chiều cao, chiều dài, chiều rộng và diện tích lá.
- Các bảng 3.2; 3.3: bỏ chú thích “ns” vì không có trong bảng, nhưng bảng 3.6 lại thiếu chú thích “ns”.
- Sửa cụm từ: “ các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê thành “không có ý nghĩa thống kê” ở tất cả các bảng.
- Ở các bảng số liệu đơn yếu tố, như bảng 3.3 thay vì ghi nghiệm thức thì ghi trực tiếp nồng độ NAA để người đọc dễ theo dõi hơn. Tương tự với bảng 3.4 (ghi số lượng chồi), bảng 3.6 (ghi cường độ ánh sáng); bảng 3.7; 3.8 (khối lượng mẫu); 3.9 (lưu lượng khí); 3.10 (thể tích bình).
- Tr.35: tác giả nhận định “khối lượng mẫu ban đầu khác nhau có hệ số nhân chồi không khác biệt về thống kê” nhưng không có dữ liệu về hệ số nhân chồi. Kiểm tra lại nhận định số lá tăng rõ rệt ở nghiệm thức T20 (Tr 35) không phù hợp với số liệu trong bảng 3.7.
- Sửa bảng 10.3 và hình 10.3 thành bảng 3.10 và hình 3.10 (Tr.39)
- Bổ sung thời gian nuôi cấy của thí nghiệm 9 ở bảng 3.10.
- Bổ sung đơn vị đo lường cho chỉ tiêu hệ số tăng sinh và hệ số nhân nhanh (lần).
- Kết luận nên viết lại để làm nổi bật các kết quả đạt được của nghiên cứu hơn.

### \* Hình thức:

- rà soát lại một số lỗi đánh máy trong bài.



- Chưa thống nhất viết in nghiêng/ không in nghiêng cụm từ “in vitro” trong bài. Chữ “Bioreactor” không cần viết in hoa chữ cái đầu.
- Tên khoa học loài, tên chi: trong bài còn nhiều chỗ chưa được viết in nghiêng, cần rà soát chỉnh sửa lại (Tr. 4, 9, 15).
- Tên loài ở các lần xuất hiện thứ 2 trở đi, thì chi cần viết tắt tên chi (VD: *Cryptocoryne beckettii* -> *C. beckettii*) (Tr.8)
- Tên tông “Cryptocoryneae” không cần viết in nghiêng (Tr.4- Phân loại khoa học). Cụm từ “spp” không viết in nghiêng (Tr.8).
- Hình ảnh nền đen làm rõ mẫu không thể hiện được rõ do bị trùng nền tối.
- Bảng 3.10: đôi dấu . thành dấu , trong số thập phân. Tương tự đối với các số liệu trong phần kết luận.
- Tài liệu tham khảo chưa định dạng thống nhất. VD nhiều tác giả thì sử dụng et al (Tài liệu số 10, 87, 89... ) dấu , hay dấu . ở trước năm, tài liệu có 3 tác giả có chữ “and” hay không...

**\*Câu hỏi:**

- Cho biết cách giữ giống sạch bệnh giống cây TTNL tại phòng thí nghiệm? Cơ sở nào tác giả khẳng định giống được sạch bệnh trong quá trình lưu giữ giống?
- Tác giả giải thích các tính hệ số tăng sinh, hệ số nhân nhanh trong các bảng số liệu (3.4; 3.7; 3.8; 3.9, 3.10)? Cách đo kích thước mẫu (chiều cao, chiều dài, chiều rộng, số lá) ở các bảng 3.7; 3.8; 3.9, 3.10? Việc phân hạng thống kê về chỉ tiêu khối lượng thu được ở thí nghiệm khối lượng mẫu cây ban đầu có hợp lý không? Giải thích?
- Vì sao trong cùng 1 bảng số liệu lại sử dụng 2 mức ý nghĩa thống kê khác nhau ( $P < 0,01$  và  $P < 0,05$ )?

**7. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?**

Các kết quả đạt được ở nghiên cứu có thể viết thành bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia.

**8. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?)**

Luận văn đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn thạc sĩ, có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ.

TP.HCM, ngày 23 tháng 10 năm 2024

Người nhận xét



Trinh Thị Hương

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN  
THEO KẾT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ tên học viên: Trương Minh Thắng      Lớp: Sinh học thực nghiệm 2020B

Tên đề tài luận văn: Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây tiêu thảo lá nhãn  
(*Cryptocoryne wendtii*) bằng hệ thống bioreactor.

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8420114

Người hướng dẫn khoa học: TS.Đỗ Đăng Giáp

Ngày bảo vệ luận văn: 14/11/2024

Căn cứ biên bản họp hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên đã chỉnh sửa luận văn như sau:

STT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1	Rà soát, chỉnh sửa các lỗi chính tả, lỗi vi tính, số thập phân	Đã rà soát và xử lý chỉnh sửa các lỗi chính tả, lỗi đánh máy, số thập phân, ở toàn bộ luận văn
2	Bổ sung danh mục các ký hiệu và chữ viết tắt	Đã bổ sung danh mục các ký hiệu và chữ viết tắt trang vii
3	Nêu rõ tiêu đề chính của hình, không cần chú thích trong phần danh mục hình trang ix	Đã chỉnh sửa và viết lại tiêu đề chính của hình trong phần danh mục hình trang ix
4	Làm rõ hơn phần những đóng góp của luận văn	Đã chỉnh sửa và viết lại phần những đóng góp của luận văn ở trang 03
5	Chỉnh sửa lỗi viết tắt 'TTLN' trong phần mục lục	Đã thay đổi từ viết tắt 'TTLN' thành 'tiêu thảo lá nhãn' ở toàn bộ mục lục trang iii, iv, v, vi
6	Thống nhất viết in nghiêng cụm từ 'in vitro', Bioreactor không viết in hoa chữ cái đầu trong toàn bộ bài viết	Đã rà soát và chỉnh sửa viết in nghiêng cụm từ 'in vitro' và bioreactor trong toàn bộ bài viết
7	Tên tông <i>Cryptocoryneae</i>	Đã chỉnh sửa không viết in nghiêng





	không cần viết in nghiêng trang 4. Cụm từ 'spp' trang 8 không viết in nghiêng. Tên khoa học loài, tên chi nhiều chỗ trong bài chưa in nghiêng trang 4, 9, 15	tên tông Cryptocoryneae trang 4. Đã chỉnh không viết in nghiêng cụm từ 'spp' trang 8. Đã chỉnh sửa in nghiêng tên khoa học loài, tên chi trong bài trang 4, 9, 15
8	Tổng quan hệ thống bioreactor (tr12) cần sửa lại cụm từ 'Hiện nay' trong câu 'Hiện nay, hệ thống này đang được ứng dụng rộng rãi ..... tại phân viện sinh học Đà Lạt	Tổng quan hệ thống bioreactor đoạn từ 'Hiện nay, hệ thống này đang được ứng dụng rộng rãi ... tại phân viện sinh học Đà Lạt' đã được chỉnh sửa trang 12
9	Bổ sung tên phần mềm xử lý thống kê trong phần phân tích và xử lý số liệu ở trang 22	Đã bổ sung tên phần mềm xử lý thống kê trong phần phân tích và xử lý số liệu trang 22
10	Dụng cụ thiết bị cần bổ sung bioreactor 1 lít	Đã bổ sung dụng cụ thiết bị bioreactor 1 lít trang 16
11	Thí nghiệm 6: Bổ sung thông tin về loại đèn ánh sáng sử dụng trong nghiên cứu	Đã bổ sung thông tin về loại đèn ánh sáng sử dụng trong nghiên cứu ở thí nghiệm 6 trang 20
12	Nêu rõ thể tích môi trường và khối lượng mẫu cấy ở thí nghiệm 9	Đã bổ sung số liệu thể tích môi trường và khối lượng mẫu cấy sử dụng ở trang 21
13	Các bảng 3.2; 3.3: bổ chú thích ns, bảng 3.6 thiếu chú thích ns	Đã bổ chú thích ns ở bảng 3.2 trang 25, bảng 3.3 trang 27, bổ sung chú thích ns bảng 3.6 trang 32
14	Bổ sung đơn vị đo lường cho chỉ tiêu hệ số tăng sinh và hệ số nhân nhanh (lần)	Đã bổ sung đơn vị đo lường cho chỉ tiêu hệ số tăng sinh và hệ số nhân giống (lần) bảng 3.4 trang 29. Hệ số tăng sinh (lần) bảng 3.7 trang 34, bảng 3.8 trang 35, bảng 3.9 trang 38, bảng 3.10 trang 40
15	Ở các thí nghiệm đơn yếu tố thay vì ghi nghiệm thức thì ghi trực tiếp các yếu tố thí nghiệm	Đã thay nồng độ KIN, BA cho các ký hiệu nghiệm thức ở bảng 3.2 trang 25. Thay L1, L2, L3 bằng L1000, L2500, 14500 ở bảng 3.6 trang 32 và biện luận ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự tăng trưởng của chồi cây TTLN trang 32,33. Đã thay I(0,5;1;1,5;2), N(0,5;1;1,5;2) bằng nồng độ IBA(0,5;1;1,5;2) và

I CO  
 I EN  
 C VI  
 GH E  
 HVV

		nồng độ NAA(0,5;1;1,5;2) ở bảng 3.11 trang 42
16	Biện luận kết quả thí nghiệm: Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhân in vitro trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít chưa phù hợp	Đã chỉnh sửa lại biện luận kết quả thí nghiệm: Ảnh hưởng của khối lượng mẫu cây ban đầu lên sự nhân nhanh chồi cây tiêu thảo lá nhân in vitro trong hệ thống mô phỏng bioreactor 1 lít trang 33,34,35
17	Sửa bảng 10.3 và hình 10.3 thành bảng 3.10 và hình 3.10	Đã sửa bảng 10.3 và hình 10.3 thành bảng 3.10 và hình 3.10 trang 40
18	Bổ sung thời gian nuôi cấy của thí nghiệm 9 ở bảng 3.10	Đã bổ sung thời gian nuôi cấy của thí nghiệm 9 ở bảng 3.10 trang 40
19	Kết luận nên viết lại để làm nổi bật các kết quả đạt được của nghiên cứu hơn	Đã chỉnh sửa viết lại kết luận của luận văn trang 44
20	Định dạng thống nhất tài liệu tham khảo	Đã rà soát và định dạng tài liệu tham khảo theo quy định từ trang 45 đến trang 52

Tp.Hồ Chí Minh, ngày 19 tháng 11 năm 2024

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG



Nguyễn Thị Phương Thảo

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN



Đỗ Đăng Giáp

HỌC VIÊN




Trương Minh Thắng

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

KT. GIÁM ĐỐC

PHÓ GIÁM ĐỐC

Nguyễn Thị Trung

