

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

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

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



PHAN LÊ HÀ NGUYỄN

**NGHIÊN CỨU THAY THẾ MỘT SỐ MUỐI KIM LOẠI
VI LƯỢNG BẰNG NANO KIM LOẠI TRONG VI NHÂN
GIỐNG CÂY HOA (CÚC, ĐỒNG TIỀN VÀ TỬ LINH LAN)**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG
Ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 942 02 01

Hà Nội – 2026

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

Người hướng dẫn khoa học:

1. GS.TS. Dương Tấn Nhựt, Viện Khoa Học Sự Sống
2. PGS.TS. Vũ Quốc Luận, Viện Khoa Học Sự Sống

Phản biện 1: PGS. TS. Trương Thị Bích Phượng

Phản biện 2: PGS. TS. Hoàng Thị Kim Hồng

Phản biện 3: PGS. TS. Trần Thanh Hương

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi ... giờ ..., ngày ... tháng ... năm 2026

Có thể tìm hiểu luận án tại:

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

MỞ ĐẦU

Lý do chọn đề tài

Thế kỷ XXI chứng kiến sự bùng nổ của công nghệ Nano trên mọi lĩnh vực của đời sống, từ mỹ phẩm, dệt may, hàng gia dụng, thực phẩm đến môi trường và y tế. Ngành khoa học sự sống nói chung và sinh học, công nghệ sinh học (CNSH) nói riêng bao gồm CNSH trong nhân giống thực vật cũng đang tận dụng và tiếp nhận những tiến bộ này để thúc đẩy sự phát triển.

Nghiên cứu ứng dụng các hạt nano (NPs) trong nuôi cấy *in vitro* hiện nay chủ yếu tập trung đến việc bổ sung NPs vào môi trường nuôi cấy nhằm tăng cường khả năng phát sinh hình thái, sinh trưởng, cải thiện năng suất cây trồng, cải thiện hiệu quả chuyển gen và bảo vệ cây trước tác động môi trường, nhưng vẫn còn một khoảng trống trong việc ứng dụng NPs như là nguồn dinh dưỡng thay thế các muối kim loại trong môi trường nuôi cấy *in vitro*.

Chính vì vậy, đề tài "**Nghiên cứu thay thế muối kim loại vi lượng bằng nano kim loại trong môi trường nuôi cấy *in vitro* trên một số đối tượng cây trồng**" đã được chọn để tìm hiểu sâu về tiềm năng của NPs để thay thế các muối kim loại trong môi trường Mourashige et Skoog (1962) (MS) [1]. Đề tài tập trung vào việc tìm hiểu hiệu quả của các hạt nano sắt (FeNPs), nano molybden (MoO_3NPs), và nano cobalt (CoNPs) thay thế cho các muối kim loại vi lượng tương ứng trong môi trường MS đến quá trình nhân giống vô tính và sinh trưởng tiếp theo ở giai đoạn vườn ươm của các loại cây hoa như cúc, đồng tiền và tử linh lan. Kết quả nghiên cứu sẽ mở ra một hướng đi mới và mang tính đột phá trong nuôi cấy *in vitro*.

Mục tiêu nghiên cứu

Mục tiêu tổng quát

Đề tài “nghiên cứu thay thế một số muối kim loại vi lượng bằng nano kim loại trong vi nhân giống cây hoa (cúc, đồng tiền và tử linh lan) được thực hiện với mục đích đánh giá hiệu quả của việc thay thế các muối kim loại vi lượng ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) trong môi trường nuôi cấy MS bằng các NPs tương ứng (FeNPs, MoO_3NPs và CoNPs) trên ba loại cây trồng là cúc, đồng tiền, và tử linh lan. Từ đó, hướng đến việc sử dụng các NPs này thay thế cho các muối kim loại vi

lượng trong môi trường nuôi cấy MS – giúp tối ưu hóa quá trình sinh trưởng, phát triển và chất lượng của cây giống.

Mục tiêu cụ thể

Dinh dưỡng vi lượng là thành phần không thể thiếu xuyên suốt đời sống của cây trồng. Trong luận án này, vai trò của MoO_3NPs (đối với quá trình cảm ứng mô sẹo, tái sinh chồi, nhân nhanh chồi, sinh trưởng và ra rễ của cây hoa cúc), CoNPs (đối với quá trình tái sinh chồi, nhân nhanh chồi, sinh trưởng và ra rễ của cây tử linh lan và đồng tiền; ra rễ của cây cúc), FeNPs (đối với quá trình ra rễ của cây cúc, đồng tiền và tử linh lan) được nghiên cứu. Bên cạnh đó, các thí nghiệm còn được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của NPs đến quá trình quang hợp, hoạt độ của các enzyme kháng oxy hóa, hoạt độ enzyme thủy phân và hấp thu các khoáng đa lượng, vi lượng trong quá trình nuôi cấy các đối tượng cây trồng.

Các hiện tượng bất thường trong nuôi cấy *in vitro* như tích lũy ethylene, thủy tinh thể, hóa nâu mẫu cấy và stress oxy hóa đã làm giảm hiệu quả của quá trình nuôi cấy mô thông qua việc làm giảm chất lượng cây con hoặc làm chết mẫu cấy. Bên cạnh việc sử dụng NPs như một nguồn dinh dưỡng, nghiên cứu còn hướng đến việc đánh giá tác động của CoNPs nhằm làm giảm các hiện tượng bất thường trong nuôi cấy *in vitro* (cây đồng tiền và tử linh lan).

Dư lượng các muối kim loại mà cây trồng hấp thu trong suốt quá trình nuôi cấy *in vitro* có thể có những tác động tích cực hoặc tiêu cực đến sự sinh trưởng và phát triển của cây con. Nghiên cứu này cũng đánh giá tổng quát về những tác động của dư lượng NPs (MoO_3NPs , CoNPs , FeNPs) đến nhóm đối tượng cây trồng nghiên cứu ở giai đoạn ra rễ và phát triển ở vườn ươm. Hướng đến việc sử dụng NPs như một nguồn dinh dưỡng thay thế hiệu quả trong môi trường nuôi cấy MS.

Những đóng góp mới của luận án

Luận án đã chứng minh một cách có hệ thống khả năng thay thế các muối kim loại vi lượng truyền thống trong môi trường MS bằng các dạng nano kim loại (FeNPs , MoO_3NPs , CoNPs) trên ba loài cây hoa (cúc, đồng tiền, tử linh lan), qua đó mở ra hướng tiếp cận mới trong cải tiến môi trường nuôi cấy *in vitro*.

- Xác định được nồng độ tối ưu của từng loại nano kim loại cho từng giai đoạn phát triển (cảm ứng mô sẹo, tái sinh chồi, nhân nhanh và ra rễ) ở từng đối tượng cây trồng.
- Cung cấp bằng chứng về cơ chế tác động sinh lý – sinh hóa của nano kim loại, thông qua việc gia tăng hoạt độ các enzyme kháng oxy hóa (SOD, CAT, APX), giảm hoạt động enzyme thủy phân (cellulase, pectinase) và hạn chế tích tụ ethylene, từ đó giảm các rối loạn sinh lý trong nuôi cấy *in vitro*.
- Làm rõ vai trò của nano kim loại trong tăng cường khả năng hấp thu dinh dưỡng khoáng (đa lượng và vi lượng), góp phần cải thiện sinh trưởng, phát triển và chất lượng cây con.
- Chứng minh rằng cây con thu được từ các nghiệm thức sử dụng nano kim loại có khả năng thích nghi tốt hơn, sinh trưởng ổn định và nâng cao chất lượng hoa trong điều kiện vườn ươm, khẳng định tiềm năng ứng dụng thực tiễn của hướng nghiên cứu.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Luận án đã tham khảo và tổng kết về 6 vấn đề chính với các nội dung liên quan đến: (1) Môi trường nuôi cấy MS; (2) Một số hạn chế của phương pháp nuôi cấy *in vitro*; (3) Nano kim loại; (4) Nano kim loại trong vi nhân giống thực vật; (5) Nano kim loại sắt, cobalt và molybden trong vi nhân giống; (6) Sơ lược về các đối tượng nghiên cứu.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG

2.1.1. Đối tượng thực vật

Vật liệu thực vật được sử dụng cho thí nghiệm là các mẫu cây *in vitro* 30 ngày tuổi bao gồm lá, đoạn thân và chồi ngọn cây cúc (*Chrysanthemum morifolium* Ramat cv. "Jimba"); chồi cây đồng tiền (*Gerbera jamesonii* "Revolution Yellow"); lá và chồi cây tử linh lan (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). Các mẫu cây có kích thước đồng đều và được nhân giống tại phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo giống cây trồng - VAST

2.1.2. Dung dịch nano kim loại

Dung dịch nano kim loại (FeNPs, CoNPs và MoO₃NPs) được cung cấp bởi Viện Công nghệ Môi trường (VAST, Hà Nội, Việt Nam).

2.1.3. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất

2.1.4. Điều kiện nuôi cấy

2.1.5. Môi trường nuôi cấy

2.2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Nội dung 1: Nghiên cứu thay thế muối Na₂MoO₄.2H₂O bằng MoO₃NPs trong vi nhân giống cây cúc

Nội dung 2: Nghiên cứu thay thế muối CoCl₂.6H₂O bằng CoNPs trong vi nhân giống cây tử linh lan và đồng tiền và cúc

Nội dung 3: Nghiên cứu thay thế muối FeSO₄.7H₂O bằng FeNPs trong vi nhân giống cây cúc, đồng tiền và tử linh lan

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Bố trí thí nghiệm

2.3.1.1. Nghiên cứu thay thế muối Na₂MoO₄.2H₂O bằng MoO₃NPs trong vi nhân giống cây cúc

2.3.1.2. Nghiên cứu thay thế muối CoCl₂.6H₂O bằng CoNPs trong vi nhân giống cây đồng tiền và tử linh lan

2.3.1.3. Nghiên cứu thay thế muối FeSO₄.7H₂O bằng FeNPs trong vi nhân giống cây cúc, đồng tiền và tử linh lan

2.3.2. Một số phương pháp nghiên cứu

2.3.2.1. Xác định hoạt độ enzyme chống oxy hóa

2.3.2.2. Hấp thụ kim loại

2.3.2.3. Ethylene trong bình nuôi cấy

2.3.2.4. Hoạt độ enzyme thủy phân

2.3.2.5. Giải phẫu hình thái thực vật

2.3.2.6. Phân tích thống kê

2.3.2.7. Phương pháp quy đổi nồng độ muối sang nồng độ Nano kim loại

2.4. ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

2.4.1. Địa điểm nghiên cứu

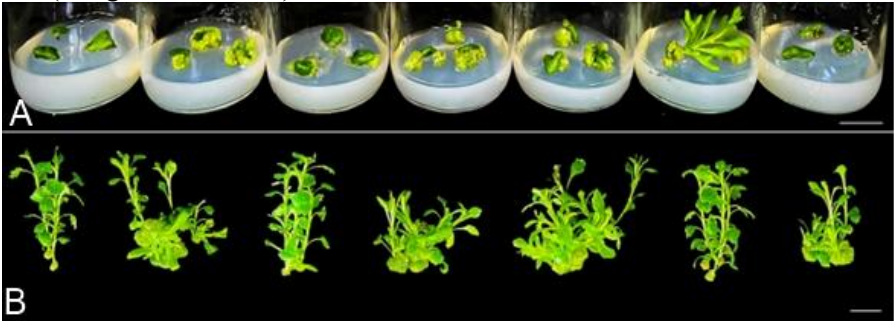
2.4.2. Thời gian nghiên cứu

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu thay thế muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs trong vi nhân giống cây cúc

3.1.1. Cảm ứng mô sẹo và tái sinh chồi thông qua nuôi cấy mẫu lá

Kết quả ghi nhận được cho thấy, tất cả mẫu cây (100%) đều ghi nhận hình thành mô sẹo từ các mẫu lá nuôi cấy trên môi trường CS0 (+) hoặc nghiệm thức xử lý với MoO_3NPs ; trong khi đó, các mẫu lá nuôi cấy trên môi trường CS0 loại bỏ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (-) không ghi nhận sự cảm ứng mô sẹo (Bảng 3.1; Hình 3.1).



Hình 3.1. Ảnh hưởng của MoO_3NPs lên tái sinh chồi của mẫu lá và nhân nhanh chồi của mẫu đoạn thân cây cúc sau 30 ngày nuôi cấy. (-); (+); 37,25; 74,5; 149; 223,5; 298 $\mu\text{g/L}$; trái qua phải. *Thước đo: 2 cm*. **A:** Tái sinh chồi của mẫu lá; **B:** Nhân nhanh chồi của mẫu đoạn thân.

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của MoO_3NPs lên cảm ứng mô sẹo và tái sinh chồi của mẫu lá cây cúc sau 30 ngày nuôi cấy.

MoO_3NPs ($\mu\text{g/L}$)	Tỷ lệ cảm ứng mô sẹo (%) ^x	Tỷ lệ tái sinh chồi (%) ^y	Số chồi/ mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Khối lượng tươi (mg)
(-)	$0,00 \pm 0,00\text{b}^*$	$0,00 \pm 0,00\text{b}$	$0,00 \pm 0,00\text{b}$	$0,00 \pm 0,00\text{b}$	$163 \pm 2,08\text{e}$
(+)	$100 \pm 0,0\text{a}$				$183 \pm 1,15\text{e}$
37,25					$770 \pm 2,89\text{d}$
74,50					$800 \pm 5,68\text{d}$

149,00					960 ± 6,56b
223,50		33,33 ± 0,00a	1,00 ± 0,00a	1,14 ± 0,06a	1210 ± 3,22a
298,00		0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	890 ± 2,65c

(-) *Đối chứng âm: Môi trường loại bỏ Na₂MoO₄.2H₂O; (+) Đối chứng dương: Môi trường chứa Na₂MoO₄.2H₂O; *Giá trị trung bình ± SD (Sai số chuẩn) và các giá trị với các chữ cái khác nhau có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức; ^x: 15 ngày; ^y: 30 ngày.*

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của MoO₃NPs lên nhân nhanh chồi của mẫu đoạn thân cây cúc sau 30 ngày nuôi cấy.

MoO ₃ NPs (µg/L)	Tỷ lệ tái sinh chồi (%)	Số chồi/mẫu			Chiều cao chồi (cm)	Khối lượng tươi (mg)
		Tổng	≥ 2 cm	< 2 cm		
(-)	100	3,33 ± 0,06d*	1,33 ± 0,58c	2,00 ± 1,00b	2,40 ± 0,10c	260 ± 6,02e
(+)		7,33 ± 1,53ab	2,67 ± 0,58b	4,67 ± 1,15a	2,77 ± 0,06b	690 ± 6,02d
37,25		4,67 ± 0,58cd	0,33 ± 0,58c	4,33 ± 0,58a	1,60 ± 0,10e	1160 ± 17,10bc
74,50		6,00 ± 1,00bc	0,67 ± 0,58c	5,33 ± 1,53a	1,70 ± 0,10e	1120 ± 2,89c
149,00		7,00 ± 1,00ab	5,00 ± 1,00a	2,00 ± 1,00b	3,23 ± 0,25a	1870 ± 9,71a
223,50		7,00 ± 1,00ab	2,67 ± 0,58b	4,33 ± 0,58a	2,10 ± 0,10d	1370 ± 4,73b
298,00		8,00 ± 1,00a	2,67 ± 0,58b	6,00 ± 1,14a	1,63 ± 0,06e	1370 ± 23,39b

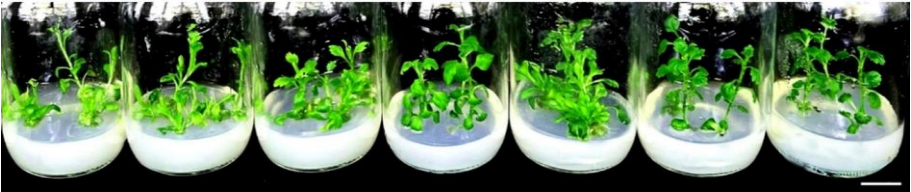
*Giá trị trung bình ± SD (Sai số chuẩn) và các giá trị với các chữ cái khác nhau có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của MoO₃NPs lên nhân nhanh chồi của mẫu chồi ngọn cây cúc sau 30 ngày nuôi cấy.

MoO ₃ NPs (µg/L)	Số chồi	Chiều cao chồi (cm)	Số lá	Số đốt	Chiều dài lá (cm)	SPAD	Khối lượng tươi (mg)
(-)	1,00 ± 0,00a*	3,17 ± 1,00b	8,67 ± 4,67bc	3,67 ± 0,58c	1,10 ± 0,00ab	14,00 ± 4,36b	230 ± 4,88b
(+)	1,67 ± 0,58a	4,90 ± 0,36a	12,00 ± 7,00ab	4,67 ± 0,58c	1,17 ± 0,15ab	29,07 ± 4,29a	630 ± 14,71ab
37,25	1,67 ± 0,58a	3,67 ± 0,58b	7,67 ± 3,37c	7,00 ± 0,00b	1,17 ± 0,06ab	15,00 ± 5,53b	260 ± 1,64b

74,50	1,67 ± 0,58a	5,13 ± 0,32a	10,33 ± 8,00ab	8,00 ± 0,00ab	1,20 ± 0,20ab	29,60 ± 4,29a	740 ± 12,92a
149,00	3,00 ± 0,00a	5,40 ± 0,17a	14,00 ± 8,67a	8,67 ± 0,58a	1,30 ± 0,17a	31,17 ± 12,97a	980 ± 6,73a
223,50	1,00 ± 0,00a	3,10 ± 0,56b	8,67 ± 0,58bc	5,00 ± 0,00c	1,07 ± 0,06ab	25,93 ± 8,59ab	510 ± 1,64ab
298,00	1,00 ± 0,00a	2,93 ± 0,81b	6,67 ± 0,58c	4,33 ± 0,58c	0,97 ± 0,15b	24,07 ± 6,95ab	190 ± 2,95b

* Giá trị trung bình ± SD (Sai số chuẩn) và các chữ cái (a, b,...) trong một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncan's test).



Hình 3.2. Ảnh hưởng của MoO_3NPs lên nhân nhanh chồi của chồi ngọn cây cúc sau 30 ngày nuôi cấy. (-); (+); 37,25; 74,50; 149,00; 223,50; 298,00 $\mu\text{g/L}$; trái sang phải. *Thước đo = 2 cm*

3.1.2. Nhân nhanh chồi của mẫu đốt thân và chồi ngọn cây cúc nuôi cấy trên môi trường thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs

Đối với mẫu đoạn thân, tất cả mẫu cây được nuôi cấy trên môi trường bổ sung MoO_3NPs và đối chứng (có/không có $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ghi nhận tỷ lệ tái sinh chồi 100% sau 30 ngày nuôi cấy (Bảng 3.2; Hình 3.1).

Enzyme chống oxy hóa

Đối với giai đoạn tái sinh chồi từ mẫu lá, tác dụng tối ưu của MoO_3NPs trong việc tăng cường hoạt động của các enzyme chống oxy hóa cũng được ghi nhận trong nghiên cứu này. Hoạt độ của enzyme chống oxy hóa ở nghiệm thức bổ sung 149,00 $\mu\text{g/L}$ MoO_3NPs tốt hơn so với nghiệm thức đối chứng (+) (trừ SOD) và các nghiệm thức khác. Sự tăng trưởng của cây cũng giảm tương tự khi Mo không được bổ sung vào môi trường dinh dưỡng cũng phản ánh hoạt độ của hệ enzyme chống oxy hóa giảm mạnh. Ngoài ra, hoạt động của các enzyme này bị ức chế do dư thừa Mo (Hình 3.2A).

Đối với giai đoạn nhân nhanh chồi từ mẫu đốt thân, các kết quả tương tự cũng được ghi nhận trong thí nghiệm nhân chồi cây cúc, nồng độ enzyme

SOD, CAT và APX giảm do thừa hoặc thiếu Mo trong môi trường nuôi cấy (Hình 3.2B). Ngược lại, nồng độ tối ưu (đối chứng (+) và 149,00 $\mu\text{g/L}$ MoO_3NPs) cho thấy tác dụng tích cực không chỉ đối với sự tăng trưởng mà còn ở các chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa (Hình 3.2B).

Dur lượng Mo của cây cúc nuôi cấy trên môi trường bổ sung MoO_3NPs

Dur lượng Mo tăng dần theo nồng độ Mo có trong môi trường nuôi cấy. Dur lượng Mo vẫn được phát hiện ngay cả khi mẫu được nuôi cấy trên môi trường không có $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (nghiệm thức (-)); điều này cho thấy sự tích tụ Mo vẫn còn sót lại từ giai đoạn nuôi cấy trước đó. Tuy nhiên, nồng độ Mo này không đủ cho quá trình sinh trưởng và phát triển của chồi cây cúc. Bên cạnh đó, nghiên cứu này còn chứng minh rằng các chất dinh dưỡng (Ca, Mg, K, Cu, Fe) được hấp thụ nhanh hơn bởi các mẫu thực vật khi ở kích thước hạt nano. Những kết quả này cho thấy rằng việc thay thế MoO_3NPs cho muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ trong môi trường nuôi cấy đã giúp tăng cường khả năng hấp thụ, cung cấp nguồn dinh dưỡng vi lượng cho thực vật để hỗ trợ quá trình sinh trưởng và các hoạt động quan trọng khác.

Hấp thụ khoáng của cây cúc nuôi cấy trên môi trường bổ sung MoO_3NPs

Kết quả tối ưu được ghi nhận ở nghiệm thức 149,00 $\mu\text{g/L}$ MoO_3NPs . Mặc dù nồng độ Mo trong nghiệm thức đối chứng thuận lợi tương đương với nghiệm thức 149,00 $\mu\text{g/L}$ MoO_3NPs , hiệu quả hấp thụ chất dinh dưỡng trong nghiệm thức này không tối ưu. Vì vậy, ở mức độ nano, Mo có tác động tối ưu hơn đến khả năng hấp thụ khoáng chất của cây trồng. Tuy nhiên, nồng độ MoO_3NPs quá cao (223,50 và 298,00 $\mu\text{g/L}$) tỏ ra độc hại đối với cây cúc, gây ra sự suy giảm về khả năng hấp thụ chất dinh dưỡng.

Chồi cây cúc ở nghiệm thức (-) ghi nhận khả năng hấp thụ các khoáng là thấp nhất so với các nghiệm thức còn lại. Trong nghiên cứu này, khả năng hấp thụ khoáng (Ca, Mg, K, Cu, Fe) tăng dần theo sự tăng của MoO_3NPs trong môi trường nuôi cấy (37,25 – 149,00 $\mu\text{g/L}$). Ở nghiệm thức 149,00 $\mu\text{g/L}$ MoO_3NPs ghi nhận khả năng hấp thụ khoáng cao hơn các nghiệm thức khác (Hình 3.6). Ở nồng độ MoO_3NPs quá cao (223,50 hoặc 298,00 $\mu\text{g/L}$) khả năng hấp thụ chất dinh dưỡng ở đối tượng này lại giảm và làm giảm khả năng sinh trưởng.

Sinh trưởng tiếp theo của cây cúc

Sau 15 ngày nuôi cấy, dư lượng MoO₃NPs còn lại trong mẫu cây đã ảnh hưởng đến giai đoạn ra rễ *in vitro* của cây cúc (Bảng 3.4; Hình 3.3). Ở tất cả các chỉ tiêu (chiều cao cây, số lá, số rễ, chiều dài rễ, SPAD, khối lượng tươi và khối lượng khô), nghiệm thức 149,00 µg/L MoO₃NPs vẫn cho thấy ưu thế ở giai đoạn ra rễ. Điều thú vị là mặc dù dư lượng Mo trong mẫu đối chứng dương cao hơn so với các nghiệm thức còn lại (ngoại trừ 149,00 µg/L MoO₃NPs), khả năng ra rễ và sinh trưởng của những cây này không tốt bằng những cây có nguồn gốc từ môi trường bổ sung MoO₃NPs (74,50 - 223,50 µg/L). Sau 15 ngày nuôi cấy, dư lượng MoO₃NPs còn lại trong mẫu chồi đã ảnh hưởng đến giai đoạn ra rễ *in vitro* của cây cúc (Hình 3.4 và 3.5).

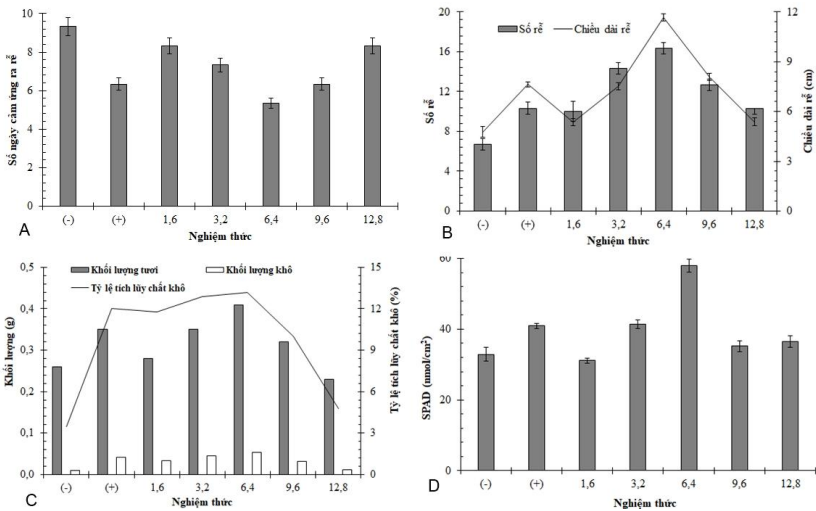
Bảng 3.4. Sự sinh trưởng và ra rễ cây cúc có nguồn gốc từ mẫu đốt thân nuôi cấy trên môi trường bổ sung MoO₃NPs sau 15 ngày nuôi cấy.

MoO ₃ NPs (µg/L)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây	Số rễ/cây	Chiều dài rễ (cm)	SPAD	Khối lượng tươi (mg)
(-)	100 ± 0,00a*	9,17 ± 0,15e*	10,33 ± 0,58cd	6,67 ± 0,58e	4,77 ± 0,31e	32,9 ± 1,97de	260 ± 30cd
(+)		10,3 ± 0,44d	11,67 ± 1,15b	10,33 ± 0,58d	5,63 ± 0,15d	40,97 ± 0,72b	350 ± 10b
37,25		9,3 ± 0,20e	7,33 ± 0,58e	10 ± 1,00d	5,37 ± 0,21d	31,1 ± 0,70e	280 ± 0,00cd
74,50		14,03 ± 0,21b	9,33 ± 0,58d	14,33 ± 0,58b	6,53 ± 0,21c	41,43 ± 1,19b	350 ± 30b
149,00		16,83 ± 0,25a	13,67 ± 0,58a	16,33 ± 0,58a	11,57 ± 0,21a	57,93 ± 1,80a	410 ± 50a
223,50		12,57 ± 0,15c	11,33 ± 0,58bc	12,67 ± 0,58c	8,07 ± 0,21b	35,17 ± 1,55cd	320 ± 20bc
298,00		10,23 ± 0,25d	7,67 ± 0,58e	10,33 ± 0,58d	6,37 ± 0,25c	36,5 ± 1,6c	230 ± 60d

* Các chữ cái khác nhau (a, b, ...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $p < 0,05$ (Duncan's test). **: Môi trường nuôi cấy loại bỏ CoCl₂



Hình 3.3. Ảnh hưởng của dư lượng Mo lên khả năng ra rễ *in vitro* sau 15 ngày nuôi cấy.



Hình 3.4. Ảnh hưởng của dư lượng MoO₃NPs lên khả năng ra rễ *in vitro* của cây cúc sau 15 ngày nuôi cấy.



Hình 3.5. Ảnh hưởng của dư lượng MoO₃NPs lên khả năng ra rễ *in vitro* của cây cúc sau 15 ngày nuôi cấy.

3.2. Nghiên cứu thay thế muối $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ bằng CoNPs trong vi nhân giống cây tử linh lan, đồng tiền và cúc

3.2.1. Nhân nhanh chồi của mẫu lá cây tử linh lan trên môi trường thay thế $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ bằng CoNPs

Sau 60 ngày nuôi cấy, CoNPs có hiệu quả lên khả năng tái sinh chồi, khắc phục một số hiện tượng bất thường, sự biến động khí ethylene, enzyme kháng oxy hóa (Bảng 3.5; Hình 3.6 và 3.7).

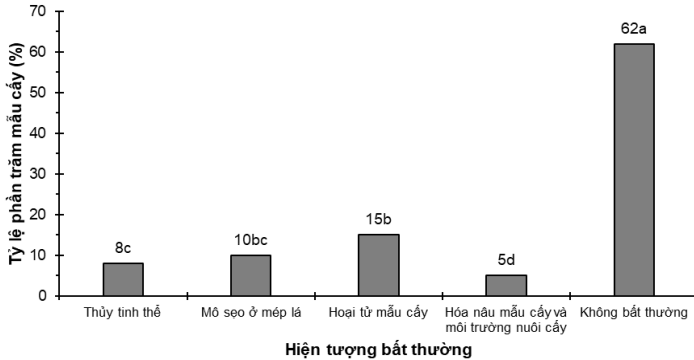
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của CoNPs lên sự tái sinh chồi và sinh trưởng của cụm chồi sau 60 ngày nuôi cấy.

CoNPs ($\mu\text{g/L}$)	Số chồi/mẫu		CCC (cm)	SPAD	KLT cụm chồi (mg)	KLK cụm chồi (mg)
	Tổng số chồi	Chồi > 1 cm				
(+)**	7,33 \pm 0,58c*	1,33 \pm 0,58e	0,67 \pm 0,06cd	27,00 \pm 2,00b	1.047 \pm 10c	118 \pm 2e
(-)	6,67 \pm 0,58c	2,67 \pm 0,58d	0,43 \pm 0,11e	27,67 \pm 2,51b	760 \pm 54d	124 \pm 11de
1,55	9,33 \pm 0,58b	4,33 \pm 0,58c	0,57 \pm 0,06de	29,00 \pm 1,00ab	1.360 \pm 70b	162 \pm 3c
3,1	10,67 \pm 1,15b	6,33 \pm 0,58b	0,80 \pm 0,10bc	28,33 \pm 0,58b	1.384 \pm 106b	187 \pm 8b
4,65	13,00 \pm 1,0a	7,67 \pm 0,58a	1,37 \pm 0,11a	31,33 \pm 1,15a	1.535 \pm 32a	212 \pm 12a
6,2	6,67 \pm 1,5c	4,67 \pm 0,58b	0,97 \pm 0,15b	26,67 \pm 1,53b	800 \pm 100d	136 \pm 11d

* Các chữ cái khác nhau (a, b, ...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $p < 0,05$ (Duncan's test). **: Môi trường nuôi cấy loại bỏ CoCl_2



Hình 3.6. Ảnh hưởng của CoNPs lên khả năng tái sinh chồi cây tử linh lan



Hình 3.7. Ảnh hưởng của 4,65 $\mu\text{g/L}$ CoNPs lên khả năng khắc phục một số hiện tượng bất thường trong giai đoạn tái sinh chồi cây tử linh lan sau 60 ngày nuôi cấy.

Bảng 3.6. Hàm lượng khí ethylene trong đĩa nuôi cấy và hoạt độ enzyme chống oxy hóa của cụm chồi trên môi trường có bổ sung CoNPs sau 60 ngày nuôi cấy.

CoNPs ($\mu\text{g/L}$)	Ethylene (ppm)	Hoạt độ CAT U/g)	Hoạt độ APX (U/g)
(+)	$1,37 \pm 0,02a$	$80,00 \pm 1,00d$	$0,55 \pm 0,01e$
(-)	$1,28 \pm 0,02b$	$87,33 \pm 2,08c$	$0,93 \pm 0,03d$
1,55	$1,19 \pm 0,01c$	$97,33 \pm 1,52b$	$1,26 \pm 0,03c$
3,10	$1,11 \pm 0,02d$	$98,33 \pm 2,08b$	$1,57 \pm 0,06b$
4,65	$0,87 \pm 0,06e$	$105,67 \pm 1,15a$	$2,00 \pm 0,04a$
6,20	$1,31 \pm 0,02b$	$80,33 \pm 2,51d$	$1,27 \pm 0,47c$

* Các chữ cái khác nhau (a, b, ...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $p < 0,05$ (Duncan's test).

3.2.2. Nhân nhanh chồi của mẫu chồi cây đồng tiền nuôi cấy trên môi trường thay thế $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ bằng CoNPs

Hiện tượng bất thường trong vi nhân giống cây đồng tiền

Trong quá trình nhân chồi và ra rễ *in vitro*, các hiện tượng bất thường như thủy tinh thể, vàng lá và mẫu hóa nâu được quan sát và ghi nhận sau 30 ngày nuôi cấy. Kết quả cho thấy hiện tượng thủy tinh thể (23,33% ở giai đoạn nhân chồi và 27,67% ở giai đoạn ra rễ *in vitro*) và vàng lá (23,33% ở

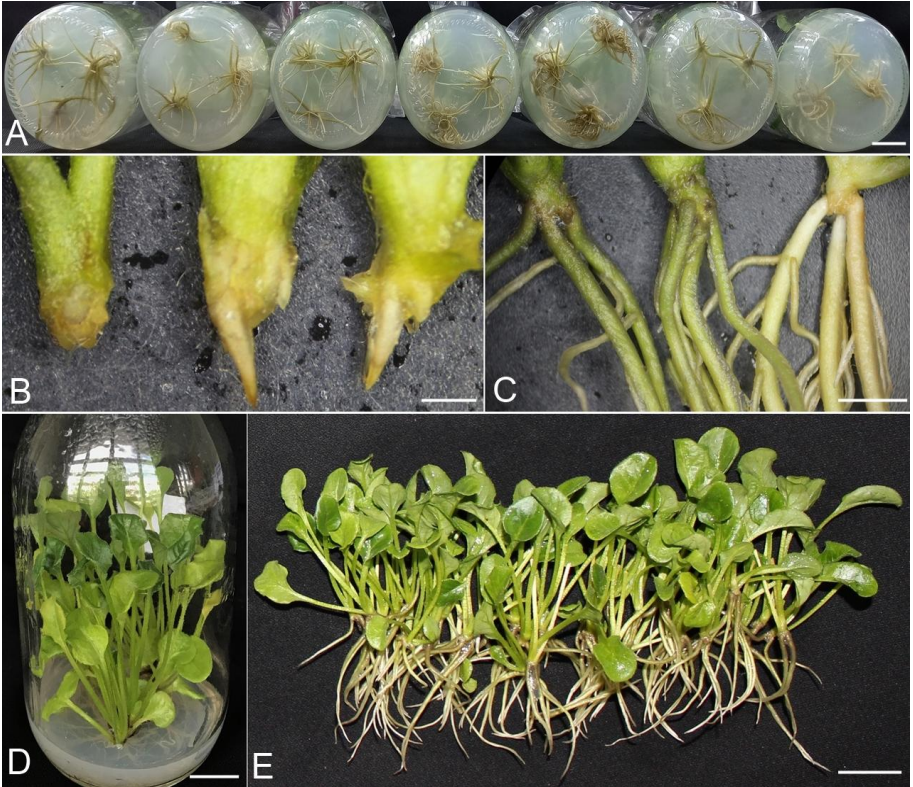
giai đoạn nhân chồi và 20,00% ở giai đoạn ra rễ *in vitro*) là cao hơn tỷ lệ mẫu hóa nâu trong cả hai giai đoạn nhân chồi và ra rễ *in vitro*.

Kết quả ghi nhận được cho thấy môi trường DC0 bổ sung CoNPs đã ảnh hưởng đến quá trình nhân chồi và giảm hiện tượng thủy tinh thể, vàng lá sau 30 ngày nuôi cấy. Số lượng chồi cao nhất thu được từ chồi nuôi cấy trên môi trường DC0 bổ sung 6,20 $\mu\text{g/L}$ CoNPs ghi nhận số lượng chồi lớn hơn 2 cm với 6,67 chồi, trong khi các đặc điểm sinh trưởng của chồi cao hơn so với các nghiệm thức khác.

3.2.3. Ra rễ *in vitro* của mẫu chồi cây đồng tiền nuôi cấy trên môi trường thay thế $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ bằng CoNPs

Ra rễ *in vitro* đạt 100% ở tất cả các nghiệm thức có bổ sung CoNPs và đối chứng (không có CoNP) sau 7 ngày. Tuy nhiên, thời gian ra rễ *in vitro* (5,33 ngày) của chồi ở nghiệm thức DR0 bổ sung 4,65 $\mu\text{g/L}$ CoNPs sớm hơn 2 ngày so với trên môi trường đối chứng (7,33 ngày). Tùng và cộng sự [45] chỉ ra rằng AgNPs có cảm ứng ra rễ *in vitro* cây dâu tây sớm hơn khoảng 3 ngày so với đối chứng (không có AgNP). Ngoài ra, 4,65 $\mu\text{g/L}$ CoNP làm giảm hiệu quả quá trình thủy tinh thể, vàng lá và hóa nâu của mẫu so với đối chứng (không có CoNPs), trong đó 4,65 $\mu\text{g/L}$ CoNPs làm giảm hiệu quả quá trình thủy tinh thể, vàng lá và hóa nâu của mẫu gấp 5 lần so với đối chứng (Hình 3.15B).

Kết quả cho thấy nghiệm thức DR0 bổ sung 4,65 $\mu\text{g/L}$ CoNPs là tối ưu cho việc khắc phục hiện tượng bất thường về hình thái của mẫu cây cây đồng tiền sau 30 ngày. Ngoài ra, hiệu quả quang hợp được cải thiện đáng kể, thể hiện qua giá trị SPAD cao hơn (55,77) so với các nghiệm thức CoNPs khác (Bảng 3.8). Cây con có lá màu xanh đậm và giảm màu vàng của lá và màu nâu của mẫu. Ngoài ra, enzyme thủy phân (pectinase và cellulase) của cây con ở nghiệm thức CoNPs cũng khác nhau đáng kể sau 30 ngày (Bảng 3.9). Trên môi trường DR0 có 4,65 $\mu\text{g/L}$ CoNPs, enzyme cellulase giảm 9 lần và enzyme pectinase giảm 5 lần; trong khi đó, APX, CAT và SOD tăng gấp 1,5 đến 3 lần so với đối chứng. Ngoài ra, chồi ở nghiệm thức DR0 bổ sung 4,65 $\mu\text{g/L}$ CoNPs ghi nhận ethylene giảm đáng kể (1,5 - 2 lần) so với nghiệm thức không có CoNPs.



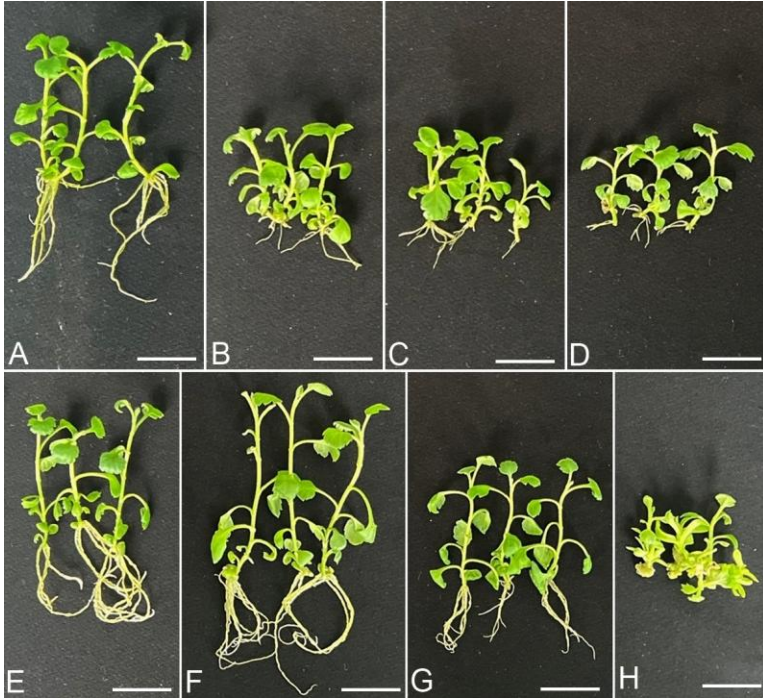
Hình 3.8. Ra rễ *in vitro* của cây đồng tiền (*Gerbera jamesonii* Revolution Yellow) trên môi trường bổ sung CoNPs sau 30 ngày nuôi cấy.

Sinh trưởng tiếp theo ở điều kiện vườn ươm

Sau 15 ngày trồng trong vườn ươm, kết quả cho thấy tỷ lệ sống của cây con (có nguồn gốc từ 4,65 $\mu\text{g/L}$ CoNPs) cao hơn so với cây ở nghiệm thức đối chứng. Hơn nữa, chiều cao cây con, số rễ trên mỗi cây con, chiều dài rễ, số lá, kích thước lá, SPAD, khối lượng tươi và khô của cây con ở nghiệm thức 4,65 $\mu\text{g/L}$ CoNPs đều tốt hơn so với cây ở nghiệm thức đối chứng. Ngoài ra, sự hình thành nụ hoa và ra hoa của cây con có nguồn gốc từ 4,65 $\mu\text{g/L}$ CoNPs ghi nhận sớm hơn khoảng 7 ngày so với cây đối chứng.

3.2.4. Ra rễ *in vitro* của mẫu chồi cây cúc nuôi cấy trên môi trường thay thế $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ bằng CoNPs

Sau 15 ngày nuôi cấy, kết quả ghi nhận được cho thấy CoNPs với các nồng độ khác nhau ảnh hưởng lên khả năng ra rễ và sinh trưởng của mẫu chồi ngọn cây cúc (Hình 3.9).



Hình 3.9. Hình thái cây cúc ở giai đoạn ra rễ *in vitro* trên môi trường nuôi cấy bổ sung các nồng độ khác nhau của CoNPs sau 2 tuần nuôi cấy.

Kết quả cho thấy mẫu chồi ngọn nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản (đối chứng dương), môi trường MS loại bỏ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ và bổ sung các CoNPs ở nồng độ 1,55 - 6,20 $\mu\text{g/L}$ đều ghi nhận tỷ lệ ra rễ là 100%; trong khi đó, nghiệm thức bổ sung 12,40 $\mu\text{g/L}$ CoNPs không ghi nhận ra rễ *in vitro*, ngoài ra các mẫu chồi ngọn còn ghi nhận hiện tượng hình thành mô sẹo ở gốc (Hình 3.9H). Bổ sung CoNPs vào môi trường nuôi cấy ảnh hưởng lên sự thay đổi hoạt độ SOD và CAT, hoạt độ enzyme gia tăng ở nghiệm thức không bổ sung (đối chứng -) đến nghiệm thức bổ sung 4,65 $\mu\text{g/L}$

CoNPs và sau đó giảm (Bảng 3.7). Trong khi đó, hoạt độ enzyme chống oxy hóa APX không có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức.

Bảng 3.7. Hoạt độ enzyme chống oxy hóa của cây cúc sau 15 ngày nuôi cấy.

CoNPs ($\mu\text{g/L}$)	SOD (U/g)	CAT (U/g)	APX (U/g)
(+)	141,03 \pm 7,72a	330,60 \pm 9,38b	0,47 \pm 0,06
(-)	92,02 \pm 2,56e	295,27 \pm 16,70de	0,45 \pm 0,04
1,55	102,18 \pm 11,13cd	321,17 \pm 3,65bc	0,54 \pm 0,06
3,10	116,80 \pm 17,20bc	335,98 \pm 13,38b	0,49 \pm 0,04
4,65	132,11 \pm 8,12ab	367,61 \pm 9,33a	0,54 \pm 0,06
6,20	124,04 \pm 6,72b	276,93 \pm 14,05e	0,46 \pm 0,07
12,40	100,86 \pm 3,98cd	306,71 \pm 7,75cd	0,43 \pm 0,07
			ns

* Giá trị trung bình \pm SD; *Các chữ cái khác nhau (a, b,...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncan's test); ns: non-significant.

3.3. Nghiên cứu thay thế muối $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ bằng FeNPs trong vi nhân giống cây cúc, đồng tiền và tử linh lan

3.3.1. Ra rễ *in vitro* của chồi ngọn cây cúc nuôi cấy trên môi trường thay thế $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ bằng FeNPs

Kết quả ở Bảng 3.8 và Hình 3.10 cho thấy ảnh hưởng của FeNPs lên sinh trưởng của chồi cúc sau 30 ngày nuôi cấy. Ở các chỉ tiêu chiều cao cây, chiều dài lá, chiều rộng lá, số rễ không có sự khác biệt nhiều. Tuy nhiên ở những chỉ tiêu về khối lượng tươi, khối lượng khô, chiều dài rễ, SPAD có sự khác biệt. Trong đó ở nghiệm thức có bổ sung 4,2 mg/L FeNPs cho kết quả gia tăng số lá, khối lượng tươi, khối lượng khô là tốt nhất so với mẫu đối chứng.

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của FeNPs lên ra rễ *in vitro* của mẫu chồi ngọn cây cúc sau 30 ngày nuôi cấy.

FeNPs (mg/L)	CCC (cm)	Số lá	Số rễ	CDR (cm)	KLT (mg)	KLK (mg)
(+)	4,40 ± 0,30cd*	13,33 ± 0,58ab	13,33 ± 0,58b	3,30 ± 0,30d	694 ± 5g	11,67 ± 0,58c
(-)	4,80 ± 0,30ab	11,33 ± 1,53c	12,33 ± 0,58bc	6,20 ± 0,10a	1016 ± 7c	14,33 ± 1,52b
1,4	4,20 ± 0,30d	11,00 ± 1,00c	11,00 ± 1,00c	4,10 ± 0,40bc	806 ± 5e	11,67 ± 0,58c
2,8	4,20 ± 0,20d	12,67 ± 0,58bc	13,00 ± 1,00b	3,90 ± 0,30bc	786 ± 5f	10,33 ± 0,58c
4,2	5,00 ± 0,20ab	14,67 ± 0,58a	15,67 ± 0,58a	4,3 ± 0,30b	1445 ± 13a	24,33 ± 0,58a
5,6	5,20 ± 0,40a	11,00 ± 1,00c	12,33 ± 1,15bc	4,20 ± 0,30b	1078 ± 7b	11,67 ± 0,58c
11,2	4,50 ± 0,30bc	12,33 ± 1,49bc	13,33 ± 1,51b	3,60 ± 0,30cd	934 ± 5d	11,67 ± 0,58c

* Giá trị trung bình ± SD; *Các chữ cái khác nhau (a, b,...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncan's test).

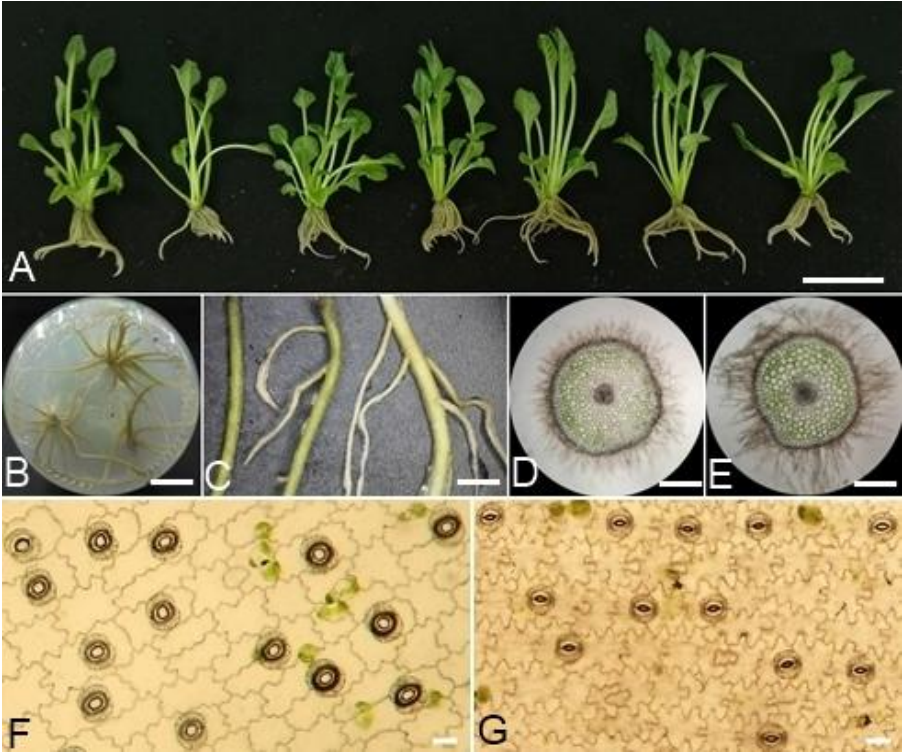


Hình 3.10. Ra rễ *in vitro* của cây cúc trên môi trường bổ FeNPs sau 30 ngày nuôi cấy

3.3.2. Ra rễ *in vitro* của mẫu chồi cây đồng tiền nuôi cấy trên môi trường thay thế $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ bằng FeNPs

Kết quả ghi nhận được cho thấy, tỷ lệ ra rễ của chồi cây đồng tiền đạt 100% ở tất cả các nghiệm thức sau 30 ngày nuôi cấy. Tuy nhiên, thời gian cảm ứng ra rễ của các chồi trên môi trường bổ sung 5,6 mg/L FeNPs (5,00 ngày) sớm hơn so với các chồi trên môi trường đối chứng (7,33 ngày). Bổ sung FeNPs ảnh hưởng lên khả năng ra rễ và sinh trưởng của cây đồng tiền sau 30 ngày nuôi cấy (Hình 3.11A-C).

Chiều cao cây (5,83 cm) và SPAD (41,47) thu nhận ở các cây nuôi cấy trên môi trường bổ sung 5,6 mg/L FeNPs là cao hơn so với các cây có nguồn gốc bổ sung các nồng độ FeNPs khác và tương đồng với cây đối chứng (lần lượt là 5,83 cm và 33,27) sau 30 ngày nuôi cấy. Khối lượng tươi và khối lượng khô đều tăng khi tăng nồng độ từ 0 - 4,2 mg/L FeNPs trong môi trường nuôi cấy *in vitro* và cao hơn đối chứng. Không có sự khác biệt ở các cây có nguồn gốc nồng độ 4,2 và 5,6 mg/L FeNPs về chỉ tiêu khối lượng tươi và khối lượng khô; tuy nhiên, số rễ (13,00 rễ), chiều dài rễ (5,27 cm), chiều dài lá (2,07 cm) và chiều rộng lá (1,83 cm) ở các cây có nguồn gốc nồng độ 5,6 mg/L FeNPs là cao hơn so với các cây có nguồn gốc nồng độ 4,2 mg/L FeNPs. Hoạt độ enzyme kháng oxy hoá (SOD, CAT và APX) của cây con có nguồn gốc bổ sung 5,6 mg/L FeNPs ở giai đoạn ra rễ *in vitro* là cao hơn (41,32 U/g; 308,70 U/g; 0,55 U/g; tương ứng) so với cây có nguồn gốc nuôi cấy trên môi trường MR0 (Đối chứng) và môi trường MR0 loại bỏ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sau 30 ngày nuôi cấy. Trong khi đó, hoạt độ enzyme thủy phân lại cho kết quả ngược lại. Điều này cho thấy việc bổ sung FeNPs đã làm gia tăng hoạt độ enzyme kháng oxy hóa và giảm hoạt độ enzyme thủy phân; qua đó, thúc đẩy khả năng ra rễ *in vitro* và sinh trưởng của cây đồng tiền 30 ngày nuôi cấy.



Hình 3.11. Ảnh hưởng của FeNPs lên sự hình thành rễ và hình thái khí khổng của cây đồng tiền sau 30 ngày nuôi cấy.

Khả năng hấp thu K, Ca và Mg

Kết quả sau 30 ngày nuôi cấy cho thấy 5,6 mg/L FeNPs giúp gia tăng sự hấp thu khoáng K (436,04 mg), Mg (60,33 mg) và Ca (42,33 mg) trong cây đồng tiền nuôi cấy *in vitro* so với nghiệm thức MS-Fe và MR0.

3.3.3. Ra rễ *in vitro* của chồi cây tử linh lan trên môi trường thay thế $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ bằng FeNPs

Tỷ lệ ra rễ của chồi cây tử linh lan đạt 100% ở tất cả các nghiệm thức sau 30 ngày ở điều kiện vườn ươm. Sử dụng FeNPs thay thế $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ không cho sự khác biệt ở các tính trạng về sinh trưởng của cây như: chiều cao cây, số rễ, chiều dài rễ, số lá, chiều dài lá cũng như khối lượng tươi và khối lượng khô.

Tuy nhiên, hoạt độ enzyme chống oxi hóa và thủy phân sau 30 ngày cho thấy sự khác biệt (Bảng 3.18). SOD, CAT và APX ở nghiệm thức 5,6 mg/L FeNPs ở giai đoạn ra rễ *in vitro* là cao hơn (41,32 U/g; 308,70 U/g; 0,55 U/g; tương ứng) so với cây đối chứng và môi trường MR0 loại bỏ FeSO₄.7H₂O sau 30 ngày. Trong khi đó, hoạt độ enzyme thủy phân lại cho kết quả ngược lại (Bảng 3.18). Điều này cho thấy việc bổ sung FeNPs đã làm gia tăng hoạt độ enzyme chống oxi hóa và giảm hoạt độ enzyme thủy phân; qua đó, thúc đẩy ra rễ *in vitro* và sinh trưởng của cây con sau 30 ngày.

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. KẾT LUẬN

Luận án “nghiên cứu thay thế một số muối kim loại vi lượng bằng nano kim loại trong vi nhân giống cây hoa (cúc, đồng tiền và tử linh lan) đã đánh giá được hiệu quả của việc thay thế các muối kim loại vi lượng (FeSO₄.7H₂O, Na₂MoO₄.2H₂O, CoCl₂.6H₂O) trong môi trường nuôi cấy MS bằng các NPs tương ứng (FeNPs, MoO₃NPs và CoNPs) trên ba loại cây trồng là cúc, đồng tiền, và tử linh lan. Các NPs được sử dụng trong nghiên cứu này đã giúp cải thiện các chỉ tiêu về sinh trưởng, phát triển trên các đối tượng cây trồng (cúc, đồng tiền và tử linh lan), bên cạnh đó còn giúp khắc phục một số hiện tượng bất thường trong nhân giống *in vitro* như vàng lá, thủy tinh thể. Kết quả đã cho thấy tiềm năng của việc sử dụng NPs thay thế cho các muối vi lượng thường dùng trong môi trường nuôi cấy MS.

Ở cây cúc, quá trình cảm ứng mô sẹo và tái sinh chồi từ mẫu lá đạt hiệu quả tối ưu, với tỷ lệ cảm ứng mô sẹo là 100% và khả năng tái sinh chồi là 33,33% sau 30 ngày nuôi cấy trên môi trường được thay thế muối Na₂MoO₄.2H₂O bằng MoO₃NPs (223,50 µg/L). Đồng thời, khả năng nhân nhanh chồi và sinh trưởng tiếp theo được cải thiện đáng kể ở nồng độ 149,00 µg/L MoO₃NPs, thể hiện qua sự gia tăng khả năng ra rễ, phát triển hình thái chồi và hiệu quả hấp thu các nguyên tố dinh dưỡng thiết yếu, bao gồm cả đa lượng (Ca, Mg, K) và vi lượng (Cu, Fe). Hoạt động của hệ enzyme kháng oxy hóa được tăng cường rõ rệt trong giai đoạn tái sinh chồi từ mẫu lá, trong khi duy trì ở mức tương đương với đối chứng trong giai

đoạn nhân nhanh từ mẫu đốt thân. Bên cạnh đó, khả năng ra rễ *in vitro* của cây cúc cũng được cải thiện khi được nuôi cấy trên môi trường thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs (149,00 $\mu\text{g/L}$), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ bằng CoNPs (4,65 $\mu\text{g/L}$) hoặc $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ bằng FeNPs (4,2 mg/L), đi kèm với sự gia tăng hoạt độ enzyme SOD và CAT, góp phần nâng cao sinh trưởng và ổn định trạng thái sinh lý của cây.

Đối với cây đồng tiền, việc sử dụng CoNPs (6,20 $\mu\text{g/L}$) để thay thế cho $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ đã thúc đẩy mạnh mẽ hệ số nhân chồi, cải thiện các chỉ tiêu hình thái (số lượng chồi > 2 cm, chiều cao chồi), đồng thời làm giảm đáng kể các hiện tượng sinh lý bất thường như thủy tinh thể và vàng lá 2-3 lần. Ở giai đoạn ra rễ, chồi ở nghiệm thức CoNPs (4,65 $\mu\text{g/L}$) ghi nhận thời gian ra rễ sớm hơn, gia tăng hiệu quả ra rễ, sinh trưởng của cây, hoạt độ kháng oxy hóa (SOD, CAT và APX) và làm giảm các hiện tượng bất thường, tích tụ khí ethylene và hoạt động của enzyme thủy phân (cellulase và pectinase) sau 30 ngày. Những cây từ nghiệm thức này có khả năng thích nghi, sinh trưởng, ra hoa và chất lượng hoa tốt hơn các nghiệm thức khác ở điều kiện vườn ươm. Bên cạnh CoNPs , việc sử dụng FeNPs (5,6 mg/L) cũng đã cho thấy hiệu quả tốt hơn $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ trong giai đoạn ra rễ khi cho thời gian cảm ứng ra rễ *in vitro* sớm hơn khoảng 2 ngày, chỉ tiêu sinh trưởng, SOD, CAT và APX cao hơn, cellulase và pectinase thấp hơn các nghiệm thức khác sau 30 ngày.

Ở cây tử linh lan, nghiệm thức 4,65 $\mu\text{g/L}$ CoNPs cho khả năng tái sinh chồi từ mẫu lá được nâng cao đáng kể, đồng thời ghi nhận sự giảm tích tụ ethylene nội sinh (0,87 ppm so với 1,37 ppm ở nghiệm thức đối chứng) và sự gia tăng hoạt độ các enzyme kháng oxy hóa, đặc biệt là CAT (104,67 U/g) và APX (1,98 U/g). Trong giai đoạn ra rễ *in vitro*, việc sử dụng FeNPs (5,6 mg/L) thay thế cho $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ giúp hoạt độ của các enzyme SOD, CAT và APX tiếp tục được duy trì ở mức cao, trong khi hoạt động của các enzyme thủy phân giảm, góp phần cải thiện hiệu quả hình thành rễ và nâng cao chất lượng cây con.

Tổng hợp các kết quả thu được cho thấy việc sử dụng NPs để thay thế cho các muối kim loại trong môi trường nuôi cấy MS không chỉ giúp nâng cao hiệu quả nhân giống *in vitro* mà còn điều hòa trạng thái sinh lý –

sinh hóa của cây, thông qua việc tăng cường hệ thống chống oxy hóa, cải thiện khả năng hấp thu dinh dưỡng và hạn chế các rối loạn sinh lý. Những cải thiện này đóng vai trò quan trọng trong việc nâng cao chất lượng cây giống và đảm bảo khả năng sinh trưởng, phát triển ổn định trong các giai đoạn tiếp theo, đặc biệt là trong điều kiện vườn ươm và sản xuất thực tiễn.

4.2. KIẾN NGHỊ

Tiếp tục nghiên cứu về tác động của FeNPs, CoNPs, MoO₃NPs lên các giai đoạn khác của cây cúc, cây tử linh lan và cây đồng tiền.

Cần có những chuyên sâu hơn về vai trò, sự hấp thu, vận chuyển và sử dụng NPs trong cây trồng, cũng như ảnh hưởng của NPs đến khả năng hấp thu các chất khoáng đa lượng, trung lượng và vi lượng trong thực vật.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ

- [1]. Nhut DT, Ngan HTM, Mai NTN, **Nguyen PLH**, Le BV, Tung HT. 2022. Chapter 15: Enhanced growth and overcoming abnormal phenomena in micropropagation by nanoparticles. In: Nhut DT, Tung HT, Yeung EC (Eds.) Plant tissue culture: New techniques and application in horticultural species of tropical region. Springer, Singapore.
- [2]. Tung HT, **Nguyen PLH**, Lich TV, Ngan HTM, Cuong DM, Luan VQ, Khai HD, Mai NTN, Vinh BVT, Nhut DT. 2022. Enhanced shoot and plantlet quality of *Gerbera* (*Gerbera jamesonii* Revolution Yellow) cultivar on medium containing silver and cobalt nanoparticles. *Sci Hortic*, 306: 111445.
- [3]. **Nguyễn PLH**, Tùng HT, Lịch TV, Ngân HTM, Cường ĐM, Luận VQ, Khải HĐ, Mai NTN, Vinh BVT, Nhựt DT. 2022. Ảnh hưởng của nano sắt lên khả năng ra rễ *in vitro* của cây hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii* var Revolution Yellow). Hội nghị công nghệ Sinh học Toàn quốc, Đắk Lắk, 178-182.
- [4]. Tùng HT, **Nguyễn PLH**, Cường ĐM, Luận VQ, Khải HĐ, Mai NTN, Thúy NTT, Vinh BVT, Nhựt DT. 2022. Ảnh hưởng của nano coban lên hiện tượng bất thường, sinh trưởng, tích lũy khí ethylen và hoạt độ enzyme kháng oxy hóa trong giai đoạn tái sinh chồi cây Tử linh lan (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). Hội nghị công nghệ Sinh học Toàn quốc, Đắk Lắk, 183-188
- [5]. **Nguyen PLH**, Thuy NTT, Mai NTN, Hoa HCK, Khai HD, Tung HT, Cuong DM, Luan VQ, Phuong HTN, Vinh NQ, Dung DM, Nhut DT. 2024. The role of MoO₃NPs on regeneration, growth and development of chrysanthemum cultured *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 158:4.
- [6]. **Nguyễn PLH**, Nhựt DT, Thúy NTT, Mai NTN, Tùng HT, Khải HĐ, Cường ĐM, Luận VQ, Phương HTN, Châu NH, Buru NQ. 2024. Vai trò của nano molybdenum trioxide thay thế natri molybdate dehydrat trong môi trường nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng và phát triển của cây hoa cúc nuôi cấy *in vitro*. *Tạp chí Khoa học và công nghệ Việt Nam* 67(11), pp. 12-18