



I. TIÊU BAN SINH HỌC

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

DANH MỤC ĐỀ TÀI NCKH SINH VIÊN TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT NĂM 2021
I - TIỂU BAN SINH HỌC

STT	Tên đề tài	Sinh viên chịu trách nhiệm chính		Sinh viên tham gia		Lớp/Khoa	Họ tên cán bộ hướng dẫn	Trang
		Họ tên	Mã số	Họ tên	Mã số			
1	Nghiên cứu nhân giống in vitro cây thủy sinh <i>Bucephalandra</i> sp.	Phạm Thị Thanh Vân	1812698	Dương Võ Nhật Hạ	1710749	CSK41/CNSH	ThS. Trần Thị Nhung	1
				Trương Thị Nhã Uyên	1812695	CSK42/CNSH		
				Mai Thị Thuỷ	1812674	CSK42/CNSH		
				Nguyễn Ngọc Thạch	1812657	CSK42/CNSH		
2	Khảo sát khả năng ứng dụng làm nhang của một số loài thực vật chứa tinh dầu ở Đà Lạt.	Võ văn Nghĩa	1910202	Huỳnh Thị Hương Trâm	1911339	CSK43/CNSH	TS. Hoàng Thị Bình	38
				Bùi Phạm Bảo Ngọc	1910248	CSK43/CNSH		
				Lê Thị Thuỷ Duyên	1911276	CSK43/CNSH		
3	Nghiên cứu lên men rượu vang từ quả hồng (<i>Diospyros</i> sp.)	Lê Thị Lan	1812605	Hồ Thị Trinh	1714219	CSK41/CNSH	ThS. Nguyễn Khoa Trường	118
				Phạm Ngọc Kim Nữ	1710824	CSK41/CNSH		
4	Nghiên cứu sản xuất giá thể hữu cơ để trồng cây dâu tây (<i>Fragaria</i> sp.)	Nguyễn Thị Như Hà	1812583	Vũ Trung Duy	1911274	CSK43/CNSH	ThS. Nguyễn Khoa Trường	226
				Nguyễn Đình Hy	1812600	CSK43/CNSH		
				Dương Thị Cẩm Vân	1910236	CSK43/CNSH		
				Mai Thị Mỹ Lanh	1710777	CSK41/CNSH		

5	Bước đầu nghiên cứu khả năng nhân giống loài thu hái đường hoang dại <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh. bằng phương pháp giâm.	Đỗ Văn Dương	1911273	Nguyễn Ngọc Thảo Nguyên	1910204	CSK43/CNSH	TS. Nguyễn Văn Ngọc	359
				Nguyễn Đăng Khoa	1910188	CSK43/CNSH		
				Lã Thị Vân Khánh	1910187	CSK43/CNSH		
				Đinh Thị Phương Trinh	1911343	CSK43/CNSH		

Danh sách gồm: 05 đề tài.

NGƯỜI LẬP BẢNG

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

**BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021**

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY *BUCEPHALANDRA SP.*

Thuộc nhóm ngành khoa học: Tự nhiên

Sinh viên thực hiện: Phạm Thị Thanh Vân Nam, Nữ: Nữ

Dân tộc: Kinh

Lớp, khoa: CSK42

Năm thứ: 3 /Số năm đào tạo: 4

Ngành học: Công nghệ sinh học

Người hướng dẫn: ThS. Trần Thị Nhung

TS. Hoàng Thị Như Phương

Lâm Đồng, tháng 6 năm 2021

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

**BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021**

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY *BUCEPHALANDRA SP.*

Danh sách thành viên:

<i>STT</i>	<i>Họ và tên</i>	<i>Mã số SV</i>	Lớp/ Khoa
1	Phạm Thị Thanh Vân	1812798	CSK42 / Khoa Sinh học
2	Dương Võ Nhật Hạ	1710749	CSK41 / Khoa Sinh học
3	Trương Thị Nhã Uyên	1812695	CSK42 / Khoa Sinh học
4	Mai Thị Thủy	1812674	CSK42 / Khoa Sinh học
5	Nguyễn Ngọc Thạch	1812657	CSK42 / Khoa Sinh học

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1. Cây <i>Bucephalandra</i> sp.	2
Hình 2. Mẫu cây <i>Bucephalandra</i> sp. được sử dụng trong thí nghiệm	12
Hình 3. Ảnh hưởng của BA lên khả năng bật chồi cây <i>Bucephalandra</i> sp. sau 4 tuần nuôi cấy	18
Hình 4. Ảnh hưởng của BA lên khả năng nhân nhanh chồi cây <i>Bucephalandra</i> sp.	20
Hình 5. Ảnh hưởng của môi trường MS bổ sung 1,5mg/l BA lên khả năng bật chồi cây <i>Bucephalandra</i> sp. sau 10 tuần nuôi cấy.	21

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1. Ảnh hưởng của chất khử trùng lên các nguồn mẫu (thân, lá, rễ và ngọn) của cây <i>Bucephalandra</i> sp. sau 1 tuần nuôi cấy.....	15
Bảng 2. Ảnh hưởng của BA lên khả năng bật chồi cây <i>Bucephalandra</i> sp. từ các nguồn mẫu (rễ, thân và ngọn) sau 4 tuần nuôi cấy.....	17
Bảng 3. Ảnh hưởng của BA lên khả năng nhân nhanh chồi cây <i>Bucephalandra</i> sp.	19

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Các chất điều hòa sinh trưởng

BA	: 6-benzylaminopurine
IAA	: Indole acetic acid
IBA	: 3-Indolebutyric acid
KIN	: Kinetin
NAA	: α -Naphthalene acetic acid
TDZ	: Thidiazuron

Một số chữ viết tắt khác

MS	: Murashige – Skoog
cs.	: cộng sự

MỤC LỤC

LỜI MỞ ĐẦU	1
PHẦN 1 - TỔNG QUAN TÀI LIỆU	2
1.1. Tổng quan về cây <i>Bucephalandra</i> sp.....	2
1.1.1. Vị trí phân loại	2
1.1.2. Đặc điểm sinh lí, sinh thái	2
1.2. Tổng quan về nuôi cấy mô tế bào thực vật	4
1.2.1. Nuôi cấy mô tế bào thực vật	4
1.2.2. Ý nghĩa của nuôi cấy mô tế bào thực vật.....	5
1.2.3. Phương pháp nuôi cấy mô, cơ quan tách rời	6
1.2.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến nuôi cấy in vitro	6
1.3. Tổng quan về tình hình nhân giống <i>Bucephalandra</i> và các cây thủy sinh	9
1.3.1. Vi nhân giống các loài thuộc chi <i>Bucephalandra</i>	9
1.3.2. Vi nhân giống cây thủy sinh	9
PHẦN 2 - VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP	11
2.1. Địa điểm thời gian và mục đích thực hiện đề tài	11
2.1.1. Thời gian thực hiện	11
2.1.2. Mục đích nghiên cứu	11
2.1.3. Đối tượng nghiên cứu	11
2.1.4. Dụng cụ trong nghiên cứu	11
2.2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu	11
2.2.1. Nội dung	11
2.2.2. Phương pháp thu mẫu	11
2.2.3. Môi trường nuôi cấy	12
2.2.4. Điều kiện nuôi cấy	12
2.2.5. Bố trí thí nghiệm	12
2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu	14
PHẦN 3 - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	15
3.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của chất khử trùng lên cây <i>Bucephalandra</i> sp..	15
3.2. Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của BA và nguồn mẫu mô đối với khả năng bật chồi mẫu cây <i>Bucephalandra</i> sp..	17

3.3. Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin lên khả năng nhân nhanh chồi cây <i>Bucephalandra</i> sp.....	19
KẾT LUẬN	22
KIẾN NGHỊ.....	22
TÀI LIỆU THAM KHẢO	23

LỜI MỞ ĐẦU

Xu hướng dùng cây thủy sinh để trang trí cho không gian sống – làm việc – bể cá được rất nhiều người ưa chuộng trong thời gian gần đây. Những loại cây thủy sinh không chỉ có công dụng trang trí mà còn giúp thanh lọc không khí cho không gian sống, làm việc thêm trong lành, tươi mát. Có rất nhiều loài thủy sinh đã được tuyển chọn và thuần hóa để phục vụ cho việc trang trí. Trong đó, *Bucephalandra* là một trong những loài có giá trị, dần được trồng phổ biến vì đặc điểm hình thái đặc biệt với dải màu từ xanh đến tím, trên lá cây còn có những bóng khí tạo ra từ hoạt động hô hấp trông như những viên ngọc trai li ti.

Hiện nay, việc nhân giống thực vật thủy sinh vẫn chưa có nhiều nghiên cứu. Trong điều kiện tự nhiên, nhiều loài thực vật thủy sinh nhân giống khá thấp bởi tốc độ sinh trưởng chậm, hệ số nhân không cao. Cây *Bucephalandra* có thể nhân giống bằng phương pháp gieo hạt trên giá thể được tưới nước thường xuyên, tuy nhiên tỉ lệ nảy mầm thấp và có hiện tượng phân li tính trạng. Việc nhân giống bằng phương pháp tách cây con không mang lại tính khả thi vì hệ số nhân thấp. Nhân giống *in vitro* cây *Bucephalandra* trong điều kiện vô trùng cùng với việc cung cấp môi trường dinh dưỡng thuận lợi cho sự phát triển, tạo ra một số lượng cây con lớn, đồng nhất về mặt di truyền cũng đã được nghiên cứu nhưng số lượng chưa nhiều.

Chính vì thế, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài “Bước đầu nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây *Bucephalandra* sp.” để khảo sát các quá trình: Khử trùng mẫu *ex vitro*; ảnh hưởng của BA lên khả năng bật chồi mẫu cây *Bucephalandra* sp.; ảnh hưởng của lên khả năng nhân nhanh chồi cây *Bucephalandra* sp. *in vitro*. Kết quả của nghiên cứu này sẽ giải quyết được nhu cầu về giống khan hiếm trên thị trường cũng như cung cấp thông tin quan trọng cho các nghiên cứu nhân nhanh giống cây *Bucephalandra* sp. trong tương lai ở Việt Nam.

PHẦN 1 - TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về cây *Bucephalandra* sp.

1.1.1. Vị trí phân loại

Bucephalandra Schoot là một chi thực vật thủy sinh có hoa thuộc họ Araceae (Ráy), được tìm thấy ở Borneo bởi Schott vào năm 1858 (Mayo và cs., 1997). Trong đó, *Bucephalandra motleyana* là loài đầu tiên được tìm thấy trong bộ sưu tập của James Motley từ Borneo. Năm 1984, *B. gigantea* là loài thứ hai được định danh bởi Bogner (Bogner, 1984). *B. gigantea* là loài thực vật đặc hữu ở sông Kiau, miền Trung Kalimantan (Media Fitri Isma Nugraha và cs., 2020). Hơn 160 năm từ khi định danh loài đầu tiên, nhiều loài *Bucephalandra* đã được phát hiện và buôn bán trên thị trường với tên thương mại là Rheophyte. Hiện nay, chi *Bucephalandra* có khoảng 31 loài được biết đến (Yeng và Boyce, 2014; Nugraha và cs., 2020).



Hình 1. Cây *Bucephalandra* sp.

1.1.2. Đặc điểm sinh lý, sinh thái

Bucephalandra thường mọc xung quanh bờ hoặc trên đá ở sông, suối. Mặt khác, khi sống trong điều kiện ngập nước, nơi có dòng chảy mạnh, chúng bắt đầu chuyển đổi sang dạng hình thái thích nghi với đời sống thủy sinh hoàn toàn (Boyce, 1995; Boyce và cs., 1995).

Lá *Bucephalandra* có hình elip, thuôn dài, hình mác hoặc hình trứng; mép lá răng cưa hoặc nhẵn, độ dày mỏng khác nhau, kích thước và màu sắc thay đổi tùy theo ảnh hưởng của một số yếu tố (tuổi cây, chất nền sinh trưởng (đất, trên đá hoặc trong nước ngọt) và cường độ ánh sáng) (Boyce, 1995; Boyce và cs., 2012). Điểm đặc biệt ở loài thực vật này là ở dạng thích nghi với môi trường nước, chúng sẽ có hình dạng và màu sắc bắt mắt hơn, với dải màu từ xanh đến tím, tùy vào điều kiện ánh sáng và dinh dưỡng, trên lá cây

còn có những bóng khí từ hoạt động hô hấp của lá bám lên bề mặt, trông như những viên ngọc trai li ti. Chính vì đặc điểm này mà *Bucephalandra* dần được xem như một loài thực vật thu hút và rất có giá trị về mặt thẩm mỹ. Thoạt đầu, *Bucephalandra* thường bị nhầm lẫn thuộc chi tiêu thảo vì hình dạng lá tương đối giống nhau. Tuy nhiên, dạng thân rễ leo cũng như khả năng bám của rễ trần gần với nhiều đặc tính của ráy *Anubias* hơn.

Việc sử dụng cây thủy sinh, đặc biệt là cây cảnh, cho hồ thủy sinh tiếp tục phát triển mỗi năm. Loại cây cảnh này có sức hấp dẫn cao do có vẻ ngoài trang trí và độc đáo. Vì vậy, nhiều người quan tâm đến việc chọn loại cây này là một trong những thành phần quan trọng trong hệ sinh thái thủy sinh. Thời gian gần đây, cây thủy sinh luôn gắn liền với ngành kinh doanh cá cảnh. Số liệu thống kê cho thấy giá trị xuất khẩu cá cảnh và thực vật thủy sinh của Indonesia đạt 1,7 nghìn tỷ Rupiah (~2,6 nghìn tỷ VNĐ). Điều này cho thấy cây thủy sinh có khả năng trở thành một trong những ngành chính mới để hỗ trợ xuất khẩu cá cảnh (Sholichah, 2020).

Mặc dù có giá trị kinh tế khá cao nhưng loài này có hạn chế là sinh sản chậm nên vẫn phải nhập nội (Laohavisuti, 2017). Khó khăn thường gặp trong quá trình nhân nuôi *Bucephalandra* là khó kiểm soát việc phát triển của các loại rêu trong môi trường nước vì *Bucephalandra* chỉ có thể phát triển tốt trong điều kiện nguồn dinh dưỡng phong phú và ánh sáng mạnh (Boyce và cs., 2012), mà đây lại là điều kiện thuận lợi cho rêu phát triển. Sự phát triển của rêu đốm xanh GSA (Green Spot Algae) đã làm ảnh hưởng đến khả năng quang hợp và ức chế sự phát triển của *Bucephalandra* trong tự nhiên. (Wong và cs., 2013).

Cây *Bucephalandra* có thể nhân giống bằng phương pháp gieo hạt trên giá thể được tưới nước thường xuyên, tuy nhiên tỉ lệ nảy mầm thấp và có hiện tượng phân li tính trạng. Việc nhân giống bằng phương pháp tách cây con không mang lại tính khả thi vì hệ số nhân thấp (Okada và cs., 1987). Bởi vì chưa có nhiều nghiên cứu nhân giống *Bucephalandra*, cùng với những khó khăn trong nhân giống tự nhiên mà giá thành của những loài thuộc giống cây này khá cao (dao động từ vài trăm đến vài triệu đồng một ngọn – tham khảo giá thành thị trường trên internet).

Chính vì lý do đó, nuôi cấy mô tế bào thực vật chính là một giải pháp khả thi có thể giải quyết được các vấn đề này. Bởi ngoài việc cung cấp môi trường dinh dưỡng ổn định, quá trình khử mẫu còn loại bỏ rêu bám trên bề mặt mẫu, tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của chúng, tạo ra một số lượng cây con lớn, đồng nhất về mặt di truyền. Chính những ưu điểm này sẽ giải quyết được nhu cầu về giống đang khan hiếm trên thị trường.

1.2. Tổng quan về nuôi cấy mô tế bào thực vật

1.2.1. Nuôi cấy mô tế bào thực vật

Nuôi cấy mô tế bào thực vật là phương pháp nuôi cấy tế bào, mô, cơ quan thực vật trên môi trường dinh dưỡng nhân tạo trong điều kiện vô trùng (Thorpe, 1981). Quá trình vi nhân giống bao gồm 5 giai đoạn (Debergh và cs., 1981; Bhojwani và cs., 1986; Hoàng và cs., 2006) sau:

Giai đoạn 1: Chọn lọc và chuẩn bị mẫu cây

Mẫu được chọn để nuôi cấy thường là mẫu có khả năng tái sinh cao, sạch bệnh, giữ được các đặc tính sinh học quý của cây mẹ và ổn định, thường là cây ưu việt, khỏe, có giá trị kinh tế cao.

Giai đoạn 2: Nuôi cấy khởi động

Khi đưa từ bên ngoài vào nuôi cấy trong điều kiện *in vitro*, mẫu cần phải qua quá trình khử trùng nhằm loại bỏ hoàn toàn các vi sinh vật có trên bề mặt của mẫu cây. Giai đoạn này cần phải đảm bảo các yêu cầu: tỷ lệ mẫu nhiễm/chết thấp, tỷ lệ mẫu không nhiễm và có sức sống tốt cao.

Hệ thống nuôi cấy vô trùng được thiết lập như sau:

- Khử trùng bề mặt mẫu vật và chuẩn bị môi trường nuôi cấy.

- Cấy mẫu vô trùng vào môi trường nhân tạo trong ống nghiệm hoặc bình nuôi.

Giai đoạn nuôi cấy này gọi là cấy mẫu *in vitro*.

- Các mẫu nuôi cấy nếu không bị nhiễm khuẩn, nấm hoặc virus sẽ được bảo quản trong phòng với điều kiện nhiệt độ, ánh sáng phù hợp. Sau một thời gian nhất định, từ mẫu nuôi cấy bắt đầu xuất hiện các cụm tế bào hoặc cơ quan (chồi, cụm chồi, rễ) hoặc phôi vô tính có đặc tính gần như phôi hữu tính.

Giai đoạn 3: Nhân nhanh

Là giai đoạn quan trọng trong nuôi cấy mô vì nó quyết định hệ số nhân chồi của quy trình vi nhân giống. Mẫu cấy sẽ được đặt trên môi trường có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng và nuôi cấy ở các điều kiện phù hợp để kích thích cho quá trình phát sinh hình thái xảy ra và tăng nhanh số lượng thông qua các con đường: bật chồi trực tiếp và bật chồi gián tiếp.

Giai đoạn 4: Ra rễ và tạo cây con *in vitro* hoàn chỉnh

Trong quá trình nuôi cấy, các chồi có thể phát sinh rễ tự nhiên, nhưng thông thường các chồi này cần phải cấy chuyển sang một môi trường khác để kích thích tạo rễ. Các chồi tạo ra từ giai đoạn nhân nhanh được tách riêng lẻ và chuyển vào nuôi cấy trên môi trường tạo rễ để tái sinh thành cây hoàn chỉnh, có đầy đủ các bộ phận rễ, thân và lá.

Giai đoạn 5: Thích nghi ngoài vườn ươm

Khi cây *in vitro* đã bước sang giai đoạn trưởng thành với đầy đủ các bộ phận thì cây sẽ được chuyển ra ngoài vườn ươm. Ở giai đoạn này, cây chuyển từ môi trường bảo hòa hơi nước sang vườn ươm với những điều kiện khó khăn hơn, cần sự chăm sóc đặc biệt và sử dụng các giá thể đã qua xử lý, không sâu bệnh, tối xốp để tránh các cây con bị tổn thương. Đây chính là giai đoạn quyết định kết quả của quy trình vi nhân giống.

1.2.2. Ý nghĩa của nuôi cấy mô tế bào thực vật

Phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật là một thành tựu quan trọng mang ý nghĩa to lớn không chỉ trong lĩnh vực sinh học mà còn nhiều lĩnh vực khác nhau như nông nghiệp, hóa dược, v.v. Giúp rút ngắn nhiều thời gian, cung cấp nguồn vật liệu dồi dào cho việc nghiên cứu khoa học. Ngoài những đóng góp về nghiên cứu học thuật, nhờ kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật mà ta có thể:

- Áp dụng phương pháp nuôi cấy mô với đa số các cây có tầm quan trọng kinh tế thông qua sản xuất quy mô lớn các sản phẩm thực vật có giá trị (Susan và cs., 1997).
- Tìm hiểu, nghiên cứu tính di truyền của thực vật, quá trình sinh trưởng - phát triển, các vấn đề bệnh lý của cây, cũng như là vai trò của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đối với từng loại cây (Thorpe, 1981; Neumann và cs., 2009).
- Tạo ra một số lượng lớn cây trồng từ cây mẹ có giá trị thương mại, đặc biệt những cây khó nhân giống ngoài môi trường tự nhiên. Các cây được tạo ra giống với cây mẹ và có sự đồng nhất về mặt di truyền, đồng đều về sinh trưởng, phát triển và sạch bệnh trong thời gian ngắn (Ziv, 1991; Smith, 2012; Gamborg và cs., 2013).
- Phục tráng giống thông qua nuôi cấy đỉnh sinh trưởng, tạo nguồn cây sạch bệnh, sạch virus (Belkengren và cs., 1962; Mulin và cs., 1974; Boxus, 1977).
- Tạo ra các đồng đột biến, tăng tần số đột biến và nhân lên với số lượng lớn (Thorpe, 1981).
- Cải tiến giống cây trồng bằng công nghệ sinh học (Pandey và cs., 2010).

- Sản xuất các hợp chất thứ cấp phục vụ cho nhiều lĩnh vực như: mỹ phẩm, dược phẩm, hương liệu, v.v. (Zárate và cs., 2008).

1.2.3. Phương pháp nuôi cấy mô, cơ quan tách rời

Năm 1946, Wetmore đã tiến hành nuôi cấy đỉnh chồi cây nho dại, cùng với một số tác giả khác, ông đã chứng minh các bộ phận của cây đều có thể nuôi cấy khi gặp điều kiện thuận lợi.

Nhu cầu dinh dưỡng khi nuôi cấy các bộ phận khác nhau của cây là khác nhau nhưng có thể thấy một số yêu cầu chung như nguồn cacbon dưới dạng đường và các muối của các nguyên tố đa lượng (nitơ, phospho, kali, canxi) và vi lượng (Mg, Fe, Mn, Co, Zn, v.v.). Ngoài ra cần một số chất đặc biệt như vitamin (B1, B6, B3, v.v.) và các chất điều hoà sinh trưởng. Muốn duy trì sinh trưởng và phát triển của cơ quan nuôi cấy cần thường xuyên cấy chuyển qua môi trường mới.

Nuôi cấy đột thân là một phương pháp phổ biến được sử dụng rộng rãi trong kỹ thuật nuôi cấy mô với tần số đột biến thấp, mẫu cấy thường được sử dụng là đoạn thân ngắn có chứa chồi ngọn hoặc chồi bên (Chu, 1992).

Một số phương pháp nuôi cấy khác: nuôi cấy mô sẹo, nuôi cấy phôi vô tính, v.v.

1.2.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến nuôi cấy in vitro

1.2.4.1. Môi trường nuôi cấy

Sự tăng trưởng, phát triển và phát sinh hình thái của mẫu cấy phụ thuộc vào cấu trúc di truyền, môi trường xung quanh và thành phần của môi trường. Trong đó, yếu tố môi trường là dễ điều khiển nhất. Việc lựa chọn môi trường phù hợp đóng vai trò quan trọng quyết định thành công của một thí nghiệm nuôi cấy mô (Bhojwani và cs., 2013).

Mặc dù nhu cầu dinh dưỡng của các loại mô nuôi cấy là rất khác nhau nhưng môi trường nuôi cấy mô thực vật đặc trưng chứa các thành phần sau:

- Các nguyên tố đa lượng, gồm sáu nguyên tố chính là các loại muối của nitrogen, potassium, calcium, phosphorus, magnesium và sulfur, cần thiết cho sinh trưởng của thực vật bậc cao.

- Các nguyên tố vi lượng, gồm các loại muối của sắt, kẽm, mangan, boron, copper, molybdenum và cobalt.

- Các loại vitamin (myo-inositol, thiamine, nicotinic acid, pyridoxine, riboflavin, v.v.), các amino acid, và các phụ gia hữu cơ không xác định khác (malt, dịch chiết nấm men, dịch thủy phân casein, nước dừa, v.v.).

- Các chất điều hòa sinh trưởng thực vật là thành phần phụ gia quan trọng nhất quyết định kết quả nuôi cấy. Auxin kích thích ra rễ (IAA, IBA, NAA, v.v.) và cytokinin kích thích bật chồi (zeatin, kinetin, BA, v.v.) là hai nhóm chất kích thích sinh trưởng và phát sinh hình thái chủ yếu trong nuôi cấy mô và cơ quan của thực vật.

- Nguồn carbon (thường sử dụng sucrose).

- Các tác nhân làm rắn (tạo gel) môi trường (thường sử dụng là agar) (Nguyễn Hoàng Lộc, 2007).

Môi trường được Murashige và Skoog (MS) (phụ lục 1) nghiên cứu thành công vào năm 1962 (Murashige và cs., 1962). Hiện nay, môi trường MS là một trong những loại môi trường giàu dinh dưỡng, được sử dụng rộng rãi cho các loài thực vật vì nó chứa tất cả các chất dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển của cây trong ống nghiệm (Kumar và cs., 2011). Theo Phillips và cs., (2019), MS là môi trường thích hợp để tái sinh cây do hàm lượng nitơ tổng số cao (với tỷ lệ amoni cao hơn nitrate).

1.2.4.2. Mẫu nuôi cấy

Chọn lọc mẫu để đặt vào trong môi trường nuôi cấy là một bước vô cùng quan trọng, nó quyết định sự thành công của quá trình vi nhân giống. Một số yếu tố cần chú ý khi lựa chọn mẫu là: kiểu hình (màu sắc, hình dạng, v.v.), cơ quan lấy mẫu (lá, cuống lá, đốt thân, v.v.), độ tuổi sinh lý (các mẫu còn non như đỉnh sinh trưởng, chồi ngủ, v.v.) và độ khỏe của mẫu (mẫu được lấy từ cây mẹ khỏe, không bị bệnh, v.v.) (Murashige, 1974).

1.2.4.3. Các yếu tố vật lý

* Ánh sáng

Ánh sáng là một yếu tố quan trọng kiểm soát sự tăng trưởng và phát triển của thực vật, vì nó liên quan đến quang hợp, quang hướng động và quang phát sinh hình thái (Read và cs., 2003; Kumar, Reddy, 2011). Trong nuôi cấy mô tế bào thực vật, ánh sáng được hấp thu đóng vai trò quan trọng trong việc phát sinh hình thái của cây *in vitro*, cường độ và chu kỳ là hai nhân tố cần được quan tâm khi chiếu sáng cho cây trồng. Cường độ ánh sáng liên quan khả năng quang hợp và thời gian chiếu sáng ảnh hưởng tới sinh lý của mẫu cấy (Lê, 2007). Thông thường, điều kiện ánh sáng tốt nhất trong nuôi cấy *in vitro* là từ 2000-3000lux

với chu kỳ chiếu sáng là 16 giờ/ngày (Smith, 1992). Tuy nhiên, tác động của ánh sáng có sự khác nhau giữa các loài và từng giai đoạn nuôi cấy (Miller và cs., 1976). Vì vậy, tùy vào từng loại cây hay giai đoạn nuôi cấy sẽ sử dụng chế độ ánh sáng thích hợp để năng suất đạt mức cao nhất có thể.

* Nhiệt độ

Nhiệt độ ảnh hưởng lớn đến các quá trình sinh lý, sự sinh trưởng và phát triển của cây nuôi cấy mô thông qua quá trình hô hấp, quang hợp, hình thành tế bào và cơ quan (Kumar, Reddy, 2011). Đối với hầu hết các loại cây, nhiệt độ thích hợp để cây phát triển là $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ (điều kiện nhiệt độ phòng nuôi cấy mô). Nếu trong các trường hợp nhiệt độ bị tăng lên hoặc giảm xuống dưới ngưỡng cho phép thì cây sẽ bị ảnh hưởng (Murashige, 1974).

* Khí CO₂

Năng suất quang hợp của cây phụ thuộc vào nồng độ CO₂ trong không gian nuôi cấy khi nồng độ CO₂ tăng thì năng suất quang hợp cũng tăng theo. Trong nuôi cấy mô năng suất quang hợp của cây không đáng kể do sự hạn chế về thể tích nuôi cấy, lượng khí CO₂ trong không gian nuôi cấy không đủ cung cấp nguồn cacbon cho cây nên việc bổ sung saccarozo vào môi trường nuôi cấy giúp giải quyết vấn đề về nguồn cacbon.

1.2.4.4. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật

Chất điều hòa sinh trưởng là các chất hữu cơ có bản chất hóa học khác nhau, nhưng đều có tác dụng điều tiết quá trình sinh trưởng phát triển của cây. Các chất điều hòa sinh trưởng đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh sinh lý, quá trình sinh trưởng và phát triển của cây. Chúng có thể có nguồn gốc nội sinh do chính cơ thể thực vật tiết ra (phytohormone) hoặc được tổng hợp nhân tạo có cấu trúc tương tự với phytohormone. Các chất này được sử dụng với liều rất nhỏ, nếu ở liều cao có thể gây độc (một số loại được sử dụng làm thành phần chính của thuốc diệt cỏ) (Moore, 2012).

Dựa vào tác dụng sinh lý, các chất điều hòa sinh trưởng và phát triển thực vật được chia làm thành hai nhóm cơ bản: chất kích thích sinh trưởng và chất ức chế sinh trưởng (Hoàng và cs., 2006). Trong lĩnh vực nuôi cấy mô tế bào thực vật, chất điều hòa sinh trưởng thường được bổ sung trong môi trường nuôi cấy là các chất thuộc nhóm: auxin, cytokinin, gibberellin, acid abscisic và ethylene (Nguyễn, 2008).

* Cytokinin

Theo Davies (2012), cơ quan tổng hợp cytokinin là hệ thống rễ. Cytokinin được vận chuyển từ rễ lên các bộ phận trên mặt đất theo hướng ngược chiều với auxin. Ngoài ra, một lượng nhỏ cytokinin cũng được tổng hợp từ một số cơ quan non như lá non, quả non, v.v..

Cytokinin có vai trò quan trọng trong việc tạo cơ quan thực vật, chúng kích thích mạnh mẽ sự hình thành chồi non, duy trì sự sống của mô, kích thích sự phân chia tế bào và định hướng tế bào trong con đường phân hóa, tạo điều kiện thuận lợi cho nuôi cấy *in vitro* (Nguyễn, 2008). Do đó, cytokinin là một chất đối kháng với auxin và được sử dụng để kích thích sự hình thành chồi trong nuôi cấy mô, tăng hệ số nhân chồi.

1.3. Tổng quan về tình hình nhân giống *Bucephalandra* và các cây thủy sinh

1.3.1. Vi nhân giống các loài thuộc chi *Bucephalandra*

Năm 2017, nhóm nghiên cứu của Nongnuch Laohavisuti đã khảo sát điều kiện vào mẫu và ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật trong nuôi cấy mô cây *Bucephalandra* sp., môi trường kích thích sự bật chồi tốt nhất là MS bổ sung 0,5 mg/l BA và môi trường tạo rễ tốt nhất là MS.

Năm 2020, nhóm nghiên cứu của Rossa Yunita đã tiến hành nhân giống *in vitro* thành công cây *Bucephalandra* sp., môi trường MS có bổ sung 2mg/l BA cho kết quả cảm ứng chồi tốt nhất, môi trường nhân nhanh tốt nhất là MS bổ sung BA 2mg/l và TDZ 0,1mg/l và môi trường tạo rễ tối ưu nhất là MS bổ sung IBA 2mg/l.

Có thể thấy, có khá nhiều nghiên cứu về cây thủy sinh, tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu về nhân giống đối tượng *Bucephalandra* sp.. Bên cạnh đó, chưa có nghiên cứu nào được thực hiện tại Việt Nam. Vì lý do đó, nghiên cứu này có thể góp phần khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng lên khả năng nhân giống *in vitro* cây *Bucephalandra*, làm nền tảng cho các nghiên cứu khác trong nuôi cấy *in vitro* cây thủy sinh trong tương lai. Do các nghiên cứu về loài còn hạn chế nên chúng tôi tiến hành tham khảo thêm những nghiên cứu về các loài cây thủy sinh khác.

1.3.2. Vi nhân giống cây thủy sinh

Năm 2019, nhóm nghiên cứu của Atchara Srisawang và cs., đã khảo sát quá trình khử trùng tối ưu của cây *Anubias* sp. với nồng độ chất khử trùng tốt nhất là HgCl₂ 0,1% trong 20 phút.

Năm 2019, nhóm nghiên cứu của Azmi và cs., đã nghiên cứu đề tài “Khử trùng *Anubias nana* và *Rotala macrandra* để nuôi cấy trong ống nghiệm”. Có ba tác nhân khử

trùng khác nhau là thuốc diệt nấm, nitrat bạc (AgNO_3) và clorua thủy ngân (HgCl_2) đã được sử dụng.

Năm 2017, nhóm nghiên cứu của Sereda và cs., đã thực hiện nghiên cứu về cây thủy sinh *Staurogyne repens* (Nees). Khử trùng bề mặt bằng thủy ngân clorua (HgCl_2) và nuôi cấy mẫu trên môi trường MS bổ sung 2 mg/l BA và 0,5 mg/l IAA cho kết quả nhân cao nhất.

Năm 2010, nhóm nghiên cứu của Christine Stanly và cs., đã nghiên cứu tái sinh cây con *in vitro* *Cryptocoryne wendtii* và *Cryptocoryne beckettii* thông qua nuôi cấy chồi đỉnh trên môi trường bán rắn cũng như môi trường MS lỏng được bổ sung 0,5 mg/l BA và 0,2 mg/l IBA. Số lượng chồi cao nhất thu được từ mẫu cây chồi đỉnh của cả hai loài được nuôi cấy bằng môi trường MS lỏng sau 4 tuần.

PHẦN 2 - VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Địa điểm thời gian và mục đích thực hiện đề tài

2.1.1. Thời gian thực hiện

Từ tháng 11 năm 2020 đến tháng 5 năm 2021.

2.1.2. Mục đích nghiên cứu

Tạo nguồn vật liệu *in vitro* thông qua nuôi cấy cây *Bucephalandra* sp..

2.1.3. Đối tượng nghiên cứu

Cây *Bucephalandra* sp. được mua ở cửa hàng cây thủy sinh tại Đà Lạt.

2.1.4. Dụng cụ trong nghiên cứu

- Nồi hấp Autoclave (Tommy SS-325)
- Tủ cấy vô trùng (ESCO)
- Thiết bị hỗ trợ (cân phân tích, cân kỹ thuật, máy đo pH)
- Bịch nilon (7x14 cm)
- Dụng cụ thủy tinh (pipet, cốc đong, ống đong, đĩa thủy tinh)
- Đèn cồn, dao mổ, pank, ...
- Các dụng cụ khác.

2.2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nội dung

- Khảo sát ảnh hưởng của chất khử trùng lên cây *Bucephalandra* sp..
- Khảo sát ảnh hưởng của BA và nguồn mẫu đối với khả năng bật chồi mẫu cây *Bucephalandra* sp..
- Khảo sát ảnh hưởng của BA lên khả năng nhân nhanh chồi cây *Bucephalandra* sp..

2.2.2. Phương pháp thu mẫu

Mẫu cây được thu từ những cây *Bucephalandra* trưởng thành, có đủ thân, lá, ngọn và rễ khỏe mạnh, không nhiễm nấm bệnh (hình 2.). Mẫu trước khi tiến hành thí nghiệm

được nuôi với nước vô trùng trong vòng 2 tuần. Ba ngày thay nước một lần, tránh ánh sáng mạnh.



Hình 2. Mẫu cây *Bucephalandra* sp. được sử dụng trong thí nghiệm.

2.2.3. Môi trường nuôi cấy

Môi trường MS được sử dụng để nuôi cây mẫu ở tất cả các thí nghiệm. Tùy theo mục đích của từng thí nghiệm mà sử dụng độc lập hay phối hợp với chất điều hòa sinh trưởng BA.

Chuẩn bị môi trường:

Môi trường MS được sử dụng độc lập hoặc phối hợp với BA tùy mục đích của thí nghiệm. Tiến hành điều chỉnh pH của môi trường đã pha về 6,0 bằng các dung dịch NaOH 1N và HCl 1N sau đó phân phối vào các bình đựng môi trường (500 ml; 250 ml) và hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C với áp suất 1atm trong 20 phút. Sau khi hấp, đổ môi trường vào bịch nylon (đã được hấp vô trùng) có kích thước 7×14 cm, mọi thao tác đổ môi trường được thực hiện trong tủ cấy vô trùng.

2.2.4. Điều kiện nuôi cấy

Tất cả các giai đoạn sinh trưởng và phát triển của cây đều được chiếu sáng 16 giờ/ngày bằng đèn LED trắng với nhiệt độ phòng 25±2°C.

2.2.5. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của chất khử trùng lên cây *Bucephalandra* sp..

Mục tiêu: Nghiên cứu chất khử trùng phù hợp cho việc vào mẫu cây *Bucephalandra* sp..

Mẫu cấy: ngọn, lá, rễ và thân.

Quy trình khử mẫu: Mẫu được rửa với xà phòng trong 5 phút và rửa lại dưới vòi nước đang chảy. Mẫu được khử trùng mẫu với cồn 70° trong 30 giây, rửa lại với nước hấp vô trùng một lần. Tiếp tục khử trùng với NaClO 2% trong 15 phút hoặc HgCl₂ 0,1% trong 20 phút, rửa lại 3 lần với nước hấp vô trùng. Mẫu sau khi khử trùng được cắt với chiều dài khoảng 0,5×0,5 cm (lá), 0,5-1 cm (thân, ngọn có hai lá) và 1-1,5cm (rễ) và cấy vào môi trường MS.

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỉ lệ mẫu chết/sống (%) sau 1 tuần nuôi cấy.

Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của BA và nguồn mẫu đối với khả năng bật chồi mẫu cây *Bucephalandra* sp. *ex vitro*.

Mục tiêu: Nghiên cứu nồng độ chất điều hòa sinh trưởng BA, loại mẫu cấy (thân, rễ, ngọn) cho hiệu quả bật chồi và nhân nhanh tốt nhất.

Mẫu cấy: Thân, rễ và ngọn (có hai lá) khỏe mạnh, không nhiễm thu được ở thí nghiệm 1 sau 1 tuần nuôi cấy.

Môi trường thí nghiệm: Mẫu được cấy vào môi trường MS bổ sung 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l BA. Bố trí 25 mẫu/nghiệm thức.

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu bật chồi (%), số chồi trung bình/mẫu sau 4 tuần nuôi cấy.

Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của BA lên khả năng nhân nhanh chồi cây *Bucephalandra* sp. *in vitro*.

Mục tiêu: Xác định nồng độ BA cho kết quả nhân nhanh chồi tốt nhất.

Mẫu cấy: Các mẫu chồi thu từ thí nghiệm 2 được cấy vào môi trường MS không bổ sung chất điều hoà sinh trưởng trong 4 tuần để loại bỏ bớt chất điều hoà sinh trưởng ở thí nghiệm 2 và tạo lượng mẫu ban đầu đồng đều về mặt kích thước và chất lượng. Sau đó, các chồi này được tách ra và cấy vào môi trường MS có bổ sung BA ở các nồng độ khác nhau.

Môi trường nuôi cấy: Mẫu được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l BA. Bố trí 10 mẫu/nghiệm thức, thí nghiệm được lập lại ba lần.

Chỉ tiêu theo dõi: Số chồi trung bình/mẫu, số mẫu bật chồi sau 4 tuần nuôi cấy.

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft office excel 2013 và phần mềm IBM SPSS Statistics 20.

PHẦN 3 - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của chất khử trùng lên cây *Bucephalandra* sp..

Thí nghiệm sử dụng nguồn mẫu là ngọn, thân, lá và rễ của cây *Bucephalandra* sp. khỏe mạnh. Mẫu được khử trùng bằng NaClO 2% trong vòng 15 phút hoặc HgCl₂ 0,1% trong vòng 20 phút để đánh giá hiệu quả khử trùng của từng loại mẫu, đồng thời tạo ra nguồn mẫu vô trùng cho các thí nghiệm tiếp theo. Mẫu sau khi được khử trùng tiếp tục cấy trên môi trường MS để theo dõi hiệu quả khử trùng trong vòng 7 ngày (kể từ ngày vô mẫu). Đây là khoảng thời gian đủ để đánh giá mức độ nhiễm, sức sống của mẫu, mẫu thể hiện sức sống khi mẫu còn xanh không bị hóa đen và nhũn. Kết quả thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của chất khử trùng lên các nguồn mẫu (thân, lá, rễ và ngọn) của cây *Bucephalandra* sp. sau 1 tuần nuôi cấy.

Chất khử trùng	Thời gian	Nguồn mẫu	Tỷ lệ %		
			Nhiễm	Chết	Sống
NaClO 2%	15 phút	Thân	100	0	0
		Lá	100	0	0
		Rễ	100	0	0
		Ngọn	100	0	0
HgCl ₂ 0,1%	20 phút	Thân	31,87	57,14	10,99
		Lá	74,19	25,81	0,00
		Rễ	41,67	22,22	36,11
		Ngọn	48,94	2,12	48,94

Do *Bucephalandra* sp. là cây thủy sinh sống trong môi trường nước nên mẫu bị nhiễm nấm, vi sinh vật và tảo, bên cạnh đó, thân lá của cây này khá mỏng manh chính vì vậy việc khử trùng gặp nhiều khó khăn hơn so với cây trên cạn. Từ bảng 1 cho thấy khả năng khử trùng của NaClO 2% trong vòng 15 phút là chưa đủ để loại bỏ toàn bộ vi sinh vật có trong mẫu cây *Bucephalandra* sp. thể hiện ở tỷ lệ nhiễm của các mẫu đều là 100%. Nếu tăng nồng độ hoặc thời gian xử lý mẫu bằng NaClO thì dễ gây chết mẫu vì đây là chất khử trùng có ảnh hưởng mạnh đến các mô sống. Chính vì vậy, NaClO không phải là chất khử trùng thích hợp để xử lý mẫu cây *Bucephalandra* sp..

Ở thí nghiệm xử lý với HgCl_2 0,1% trong 20 phút cho thấy hiệu quả khử trùng ở các bộ phận khác nhau là khác nhau, tuy nhiên hiện tượng nhiễm ghi nhận ở các nguồn mẫu thí nghiệm đều khá cao. Cụ thể:

- Đối với mẫu lá: Toàn bộ mẫu bị nhiễm (74,19%) hoặc chết (25,81%), cho tỷ lệ nhiễm cao nhất trong tất cả các nguồn mẫu sử dụng và nhạy cảm với chất khử trùng. Từ kết quả này cho thấy lá không phải là bộ phận thích hợp cho giai đoạn vào mẫu.
- Đối với mẫu thân: Chúng tôi nhận thấy mẫu thân có 31,87% mẫu bị nhiễm và lại rất nhạy cảm với chất khử trùng (57,14% mẫu chết, tỷ lệ cao nhất trong các nguồn mẫu sử dụng). Như vậy, việc tạo ra mẫu vô trùng và có sức sống từ mẫu thân là rất thấp (chỉ đạt khoảng 10%).
- Đối với mẫu rễ: tuy tỷ lệ sống tương đối cao (36,11%) nhưng mẫu chết vẫn ở mức cao (22,22%).
- Đối với mẫu ngọn: tỷ lệ chết là thấp nhất (chỉ 2,12%), đồng thời cũng là loại mẫu đạt tỷ lệ sống cao nhất (48,94%). Như vậy, có thể thấy mẫu ngọn được bảo vệ trong một số lớp lá, ít bị tác động trực tiếp bởi chất khử trùng, cho nên tỷ lệ chết là thấp nhất. Bên cạnh tác dụng bảo vệ ngọn, thì chính những lớp lá này lại là nơi nấm, vi sinh vật hay tảo tồn tại nên việc khử trùng tương đối khó khăn.

Kết quả của thí nghiệm cho thấy, mẫu rễ, lá và thân do chịu tác động trực tiếp bởi chất khử trùng nên tỷ lệ mẫu chết khá cao. Mẫu ngọn là nguồn mẫu phù hợp nhất cho quá trình vào mẫu, tuy nhiên điều kiện ở thí nghiệm này chưa phải là điều kiện tối ưu nhất để giảm tỷ lệ nhiễm và tăng tỷ lệ mẫu sống. Kết quả thu được ở nghiên cứu cũng tương đồng với thí nghiệm trên cây *Bucephalandra* đã được công bố (Nongnuch Laohavisuti và cs., 2017). Tuy cũng được xử lý với chất khử trùng là HgCl_2 0,1% trong vòng 15 phút nhưng ở đối tượng cây *Anubias* spp. lại cho kết quả tốt hơn, tỷ lệ mẫu sống là 90,00% (Atchara Srisawang và cs., 2019). Do đó, hiệu quả khử trùng còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố như loại chất khử trùng, nồng độ, thời gian và cả loại mô. Nếu là các bộ phận dày và cứng, có thể sử dụng chất khử trùng với nồng độ cao và/hoặc kéo dài thời gian xử lý. Mặt khác, nếu các bộ phận của cây mỏng và các mô cây mềm thì việc sử dụng riêng lẻ hay phối hợp các chất khử trùng với nồng độ và thời gian xử lý cũng cần được rút ngắn (Boonyuen Kitviyan, 2004).

Tóm lại, trong số các nghiệm thức được bố trí trong thí nghiệm này thì xử lý mẫu ngọn với HgCl_2 0.1% trong 20 phút là có hiệu quả tốt nhất.

3.2. Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của BA và nguồn mẫu mô đối với khả năng bật chồi mẫu cây *Bucephalandra* sp..

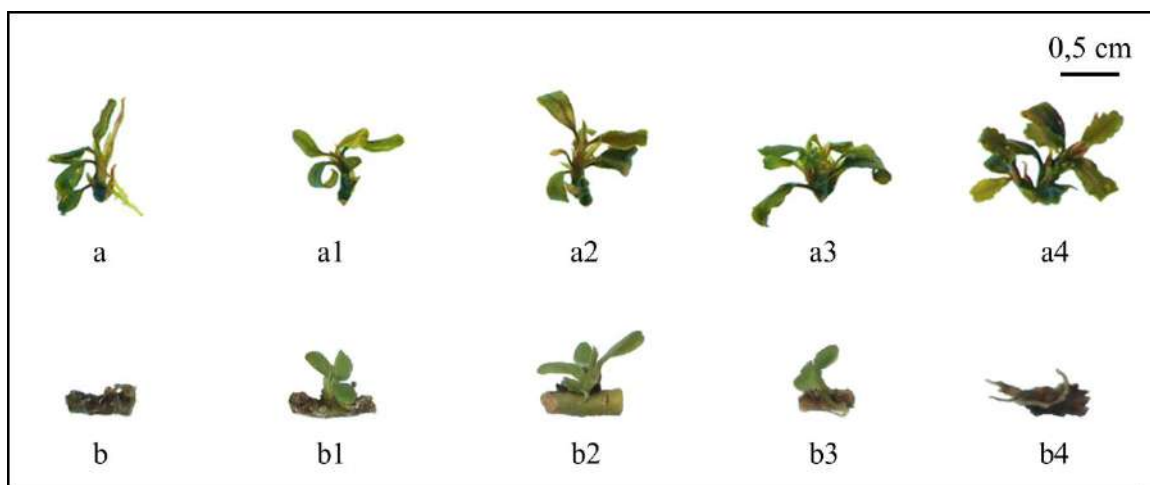
Mẫu cây (thân, rễ, ngọn) còn sống thu được ở thí nghiệm 1 sau 1 tuần nuôi cấy trên môi trường MS được cấy vào môi trường cảm ứng bật chồi là MS bổ sung 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l BA, thu số liệu sau 4 tuần với chỉ tiêu theo dõi là tỷ lệ cảm ứng và số chồi trung bình. Kết quả thu được thể hiện trong bảng 2:

Bảng 2. Ảnh hưởng của BA lên khả năng bật chồi cây *Bucephalandra* sp. từ các nguồn mẫu (rễ, thân và ngọn) sau 4 tuần nuôi cấy.

*Các chữ cái a,b,c thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy $P = 0,05$ trong phép thử Duncan.

* Đối với mẫu thân, mỗi nghiệm thức chỉ có 1 – 2 mẫu bật chồi với 1 chồi/mẫu nên không có sai số khi thống kê.

Nồng độ BA (mg/l)	Rễ		Thân		Ngọn	
	Tỷ lệ bật chồi (%)	Số chồi/mẫu	Tỷ lệ bật chồi (%)	Số chồi/mẫu	Tỷ lệ bật chồi (%)	Số chồi/mẫu
0	0	0	0	0	13	2 ^a
0,5	0	0	5	1	50	2,33 ^a
1	0	0	5	1	86	2,33 ^a
1,5	0	0	10	1	100	2,63^a
2	0	0	0	0	100	2,73 ^a



Hình 3. Ảnh hưởng của BA lên khả năng bật chồi cây *Bucephalandra* sp. sau 4 tuần nuôi cấy

(a0-a4) mẫu ngọn được nuôi cấy ở nồng độ 0; 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/l;

(b0-b4) mẫu thân được nuôi cấy ở nồng độ 0; 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/l.

Từ kết quả của bảng 2 cho thấy mỗi loại mẫu cây có khả năng cảm ứng khác nhau. Cụ thể như sau:

- Đối với mẫu rễ: không cảm ứng bật chồi với dãy nồng độ BA thí nghiệm, từ mẫu rễ ban đầu có xuất hiện thêm các rễ thứ cấp ở nồng độ 0,0 và 0,5 mg/l BA mà không ghi nhận được trường hợp bật chồi nào. Do nồng độ BA tăng lên làm ức chế khả năng hình thành rễ thứ cấp ở mẫu, tuy nhiên lượng BA vẫn chưa đủ để tế bào rễ bước vào quá trình phân biệt hóa tạo thành phôi và tái phân hóa tạo thành chồi. Từ kết quả cho thấy nguồn mẫu cây từ rễ không phù hợp cho quá trình bật chồi ở cây *Bucephalandra* sp..
- Ở mẫu thân: khác với mẫu rễ, mỗi đốt thân đều có chồi dưới nách lá, các chồi này rất non và cuống lá khá mỏng manh nên khả năng bảo vệ chồi thấp dẫn đến chồi dễ bị tổn thương dưới tác động của chất khử trùng, chính vì vậy tỷ lệ cảm ứng bật chồi từ mẫu thân là rất thấp (5-10%). Các chồi mới được tạo ra từ đốt thân nhỏ và có sức sống yếu, bên cạnh đó số liệu thu được chưa thể hiện rõ ảnh hưởng của BA đến quá trình bật chồi từ thân. Do những nguyên nhân trên nên đốt thân không phù hợp làm vật liệu ban đầu để tạo mẫu *in vitro* cho cây *Bucephalandra* sp..
- Mẫu ngọn: tỷ lệ mẫu cảm ứng bật chồi tăng theo nồng độ của BA và đạt cao nhất (100%) ở nồng độ 1,5 và 2,0 mg/l BA với số chồi tương ứng là 2,63 và 2,73

chồi/mẫu (không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê) chứng tỏ BA có tác dụng kích thích bật chồi ở mẫu ngọn. Số lượng chồi tăng lên ở các nghiệm thức bổ sung BA là nhờ tác động kéo dài mẫu, hình thành lóng mới có chứa chồi non. Hiện tượng ưu thế ngọn không được thể hiện trong loài *Bucephalandra* sp. được sử dụng ở thí nghiệm này, các chồi ở nách lá sẽ phát triển đồng thời với chồi ngọn. Như vậy, ngọn là nguồn mẫu thích hợp nhất cho quá trình bật chồi, đồng thời các chồi non mới sẽ được hình thành cùng với sự kéo dài của mẫu chồi.

Tóm lại, từ kết quả của các nghiệm thức trong thí nghiệm này cho thấy mẫu cây ngọn cây *Bucephalandra* sp. cấy trên môi trường MS được bổ sung 1,5 mg/l BA là tốt nhất cho quá trình bật chồi.

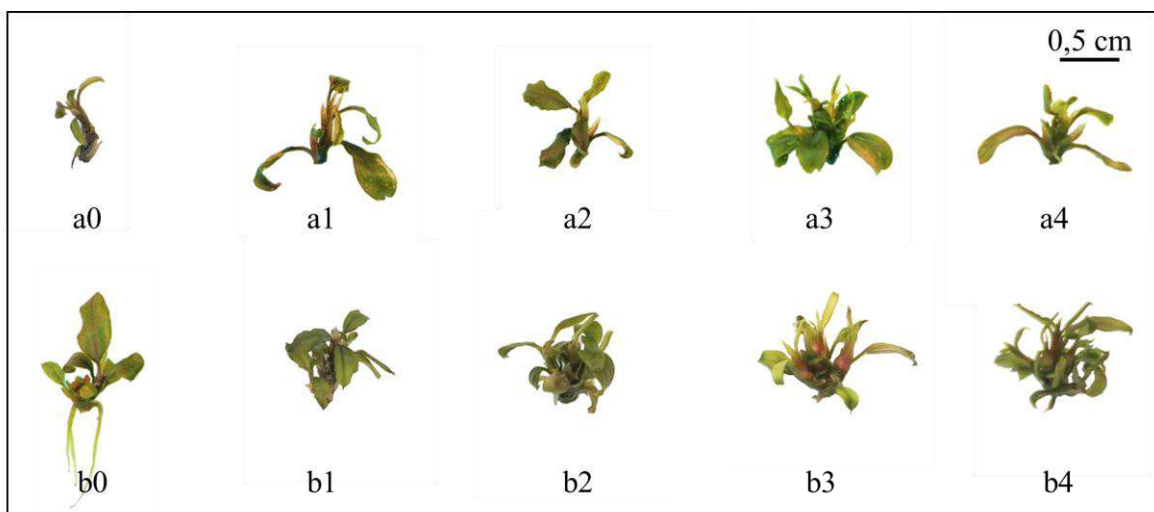
3.3. Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của cytokinin lên khả năng nhân nhanh chồi cây *Bucephalandra* sp..

Chồi thu được từ nghiệm thức tốt nhất ở thí nghiệm 2 được cấy vào môi trường MS không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng trong vòng 4 tuần để đạt trạng thái đồng nhất giữa các mẫu. Sau đó, mẫu được cấy vào môi trường nhân nhanh chồi là MS bổ sung 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l BA. Kết quả được thể hiện ở bảng sau:

Bảng 3. Ảnh hưởng của BA lên khả năng nhân nhanh chồi cây *Bucephalandra* sp.

Nồng độ BA (mg/l)	Tỷ lệ cảm ứng (%)	Số chồi/ mẫu	
		Tuần 4	Tuần 8
0	63	3,00 ^{ab}	2,3 ^c
0,5	85	3,47 ^{ab}	4,22 ^{bc}
1	87	3,16 ^{ab}	5,67 ^b
1,5	100	3,62 ^a	9,4 ^a
2	96	2,96 ^b	4,78 ^{bc}

*Các chữ cái a,b,c thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy $P = 0,05$ trong phép thử Duncan.



Hình 4. Ảnh hưởng của BA lên khả năng nhân nhanh chồi cây *Bucephalandra* sp. (a0-a4) sau 4 tuần nuôi cấy ở các nồng độ 0; 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/l; (b0-b4) sau 8 tuần nuôi cấy ở các nồng độ 0; 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/l.

Từ kết quả ở bảng 3 cho thấy BA có tác động kích thích tới việc nhân nhanh chồi của mẫu chồi ngọn *Bucephalandra* sp.. Cụ thể là:

- Chất điều hòa sinh trưởng BA có tác dụng kích thích nhân chồi và tỷ lệ nhân chồi gia tăng khi nồng độ tăng. Khi môi trường có bổ sung BA từ 0,5 đến 2,0 mg/l tỷ lệ cảm ứng và số chồi cao hơn so với đối chứng (tỷ lệ cảm ứng 63% với 2,3 chồi/mẫu). Sau 8 tuần nuôi cấy, hệ số nhân chồi cao nhất (9,4 chồi/ mẫu) thu được ở nghiệm thức 1,5 mg/l BA và giảm xuống chỉ còn 4,78 chồi/ mẫu khi nồng độ tăng lên 2 mg/l, điều này cho thấy rằng nồng độ BA cao sẽ gây ức chế tạo chồi.
- Tỷ lệ bật chồi mới tăng khi nồng độ BA tăng, đạt tỷ lệ cao nhất ở hai nồng độ 1,5 và 2,0 mg/l BA với 100% mẫu tạo chồi mới.
- Nghiệm thức đối chứng không có sự khác biệt giữa 4 và 8 tuần nhưng có sự xuất hiện rễ sau 4 tuần nuôi cấy. Đối với các nghiệm thức có bổ sung BA thì thời gian thí nghiệm càng dài, số chồi/ mẫu càng tăng:
 - + Sau 4 tuần nuôi cấy, số chồi trên mẫu cũng tương đương với thí nghiệm 2 (với nồng độ 1,5 mg/l BA cho kết quả bật chồi tốt nhất, ở thí nghiệm 2 hình thành 2,6 chồi/mẫu; thí nghiệm 3 là 3,4 chồi/mẫu). Không có sự khác biệt về số chồi/ mẫu giữa các nghiệm thức có bổ sung BA.

- + Sau 8 tuần, có sự khác biệt rõ về số chồi/mẫu giữa các nghiệm thức. Trên môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l BA cho hệ số nhân chồi cao nhất (9,4 chồi/mẫu) và giảm khi nồng độ tăng lên 2,0 mg/l (4,78 chồi/mẫu).
- + Qua theo dõi đến 10 tuần chúng tôi nhận thấy các chồi xuất hiện nhiều hơn. (hình 5) tuy nhiên số liệu chưa đủ để thống kê.



Hình 5. Ảnh hưởng của môi trường MS bổ sung 1,5mg/l BA lên khả năng bật chồi cây *Bucephalandra* sp. sau 10 tuần nuôi cấy.

Số chồi/mẫu sau 4 tuần nuôi cấy trên nghiệm thức tốt nhất (1,5 mg/l BA với 3,63 chồi) thu được từ nghiên cứu này thấp hơn so với thí nghiệm kết hợp 2 mg/l BA và 0,1 mg/l TDZ là 5 chồi/mẫu (Rossa Yunita và cs., 2020). Tuy nhiên, kết quả chúng tôi cao hơn nhiều khi so sánh với nghiệm thức tốt nhất khi bổ sung 0,5 mg/l BA khảo sát trong 8 tuần (2,45 chồi) (Nongnuch Laohavisuti và cs., 2017). Như vậy, kết quả từ thí nghiệm của chúng tôi cho hiệu quả nhân chồi cao, điều này chứng tỏ BA riêng lẻ cũng đã có ảnh hưởng rõ rệt đến sự nhân nhanh chồi của đối tượng này.

Tóm lại: chồi ngọn *in vitro* của *Bucephalandra* sp. sau 8 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l BA cho kết quả tốt nhất (100% mẫu bật chồi với 9,4 chồi/mẫu).

KẾT LUẬN

Đề tài đã thành công trong việc vô trùng mẫu cây *Bucephalandra* sp. từ các mẫu *ex vitro* và tạo một số lượng lớn các mẫu chồi *in vitro* thông qua việc nhân nhanh chồi.

Từ các kết quả trên cho thấy:

- Mẫu thân, lá và rễ không phải là nguồn mẫu thích hợp để tạo vật liệu nuôi cấy ban đầu do dễ bị tác động trực tiếp bởi chất khử trùng.
- Mẫu ngọn cây *Bucephalandra* sp. được khử trùng với HgCl_2 0,1% trong vòng 20 phút cho tỷ lệ sống cao nhất.
- Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BA cho kết quả tốt đối với việc cảm ứng bật chồi của mẫu ngọn (100% mẫu bật chồi mới, với 2,63 chồi/mẫu). Mẫu rễ và thân không phù hợp để làm vật liệu tạo chồi.
- Chồi ngọn *in vitro* của *Bucephalandra* sp. sau 8 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l BA cho kết quả tốt nhất (100% mẫu bật chồi với 9,4 chồi/mẫu).

Nhóm nghiên cứu đã hoàn thành được các mục tiêu đã đề ra, kết quả nghiên cứu giúp đóng góp một phần vào việc nghiên cứu vi nhân giống ở đối tượng cây thủy sinh giúp tạo ra một nguồn khai thác bền vững ít tác động vào thiên nhiên giúp bảo tồn hệ thực vật tự nhiên. Đồng thời cung cấp lượng lớn cây con đáp ứng nhu cầu của thị trường cây thủy sinh.

KIẾN NGHỊ

Do hạn chế về thời gian và nguồn mẫu ban đầu, để có những nghiên cứu đầy đủ hơn chúng tôi có kiến nghị như sau:

- Sử dụng các phương pháp định danh loài để định danh chính xác mẫu *Bucephalandra* sp.
- Khảo sát thêm về thời gian ở quá trình nhân nhanh chồi.
- Nghiên cứu thêm về khả năng ra rễ của cây *in vitro*.
- Mở rộng nghiên cứu trên các loài khác để đáp ứng nhu cầu đa dạng của thị trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tham khảo trong nước:

- Bình, N. X. (2010). *Nuôi cấy mô tế bào thực vật cơ sở lý luận và ứng dụng*.
- Hoàng, M. T., Nguyễn, Q. T., & Vũ, Q. S. (2006). *Giáo trình sinh lý thực vật*.
- Ngô, X. B., (2010). *Nuôi cấy mô tế bào thực vật: Cơ sở lý luận và ứng dụng*, nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật Hà Nội.
- Nguyễn, H. L., (2007). *Giáo trình công nghệ tế bào*, nhà xuất bản đại học Huế.
- Nguyễn, T. Đ., Kha, N. T. U., Vương, T. H. L., Nguyễn, T. H. T., & Dũng, P. Đ. (2016). Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* cây Diệp tài hồng lá đỏ (*Ludwigia repens* Rubin) và cây Diệp tài hồng lá táo (*Ludwigia natans*). *Tạp chí khoa học Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh* (3 (81)), 170.
- Nguyễn, Đ. L. (2008). *Công nghệ tế bào*. NXB Đại học quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

Tài liệu tham khảo nước ngoài:

- Aasim, M., KarataS, M., KhawarI. Km & Dogan, M. (2019). Optimization of Sterilization and Micropropagation of Water Lettuce (*Pistia stratiotes* L.), *Tạp chí Khoa học Sinh học Ứng dụng* , 7 (3), trang 71-74.
- Aazmi, N. A., Abdullah, T. A., Mahmud, N. H., Sajili, M. H., Mahmud, K., Mohamed, S. & Khandaker, M. (2019). Sterilization of *Anubias nana* and *Rotala macrandra* for *in vitro* culture, *Journal of Agricultural Technology Industry*, 10 (1S), trang 13-21.
- Aloni, R. (1995). *The induction of vascular tissues by auxin and cytokinin*. In: Davies, P. J., ed. *Plant hormones*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 531-546.
- Atchara, S. , Nongnuch, L. & Achari, R. (2019). The Optimum Sterilization Procedures on Micropropagation of *Anubias* sp. 'White', *The Agricultural Journal of King Mongkut*, 37(4), 648 - 654.
- Bhojwani, S. S., & Dantu, P. K. (2013). Micropropagation. *In Plant tissue culture: An introductory text* (pp. 245-274). Springer, India.

- Bhojwani, S. S., & Razdan, M. K. (1986). *Plant tissue culture: theory and practice*. Elsevier.
- Boonyuen Kitviyan, 2004. Giới thiệu về Công nghệ nuôi cấy mô thực vật để phát triển thực vật. Khon Kaen: Đại học Khon Kaen. Onuma Songsri, Yaowapa Jirakiatkul, Panupas Ritthichai và Arunporn Itratt 2012. Khử trùng các mảnh vớ của loài *Dioscorea* để nuôi cấy mô. W. Sci. K. 43 (2): 637-640.
- Boxus, P., Quoirin, M., & Laine, J. M. (1977). Large scale propagation of strawberry plants from tissue culture. *Applied and Fundamental Aspects of Plant, Cell, Tissue and Organ Culture*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 130-143.
- Boyce, P. (1995). *Bucephalandra motleyana*. *Curtis's Botanical Magazine*, 12(3): 131-134.
- Boyce, P. C., & Yeng, W. S. (2012). Studies on *Schismatoglottideae* (Araceae) of Borneo XX: Beccari's «La Più piccola delle Aracee» (*Microcasia pygmaea*) recollected and transferred to *Bucephalandra* Schott. *Webbia*, 67(2), 139–146.
- Boyce, P., Bogner, J., & Mayo, S. (1995). *Bucephalandra catherineae* a new species from Kalimantan. *Curtis's Botanical Magazine*, 12(3): 150-153.
- Chandler, S. F.; Thorpe, T. A. (1986). *Hormonal regulation of organogenesis in vitro*. In: Hormonal regulation of plant growth and development, Vol. 3. India: Agro Botanical Publ.;;1-27.
- Christine Stanly, Arvind Bhatt, Chan Lai Keng, (2010). An efficient in vitro plantlet regeneration of *Cryptocoryne wendtii* and *Cryptocoryne beckettii* through shoot tip culture. *Acta physiologiae plantarum*, 33(2), 619-624.
- Davies, P. J. (2012). Plant hormones and their role in plant growth and development. *Springer Science & Business Media*.
- Debergh, P. C., & Maene, L. J. (1981). A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia horticultrae*, 14(4), 335-345.

- Evans, D. A.; Sharp, W. R. & Flick, C. E. (1981). *Growth and behavior of cell cultures: embryogenesis and organogenesis*. In: Thorpe, T. A., ed. *Plant cell culture: methods and applications in agriculture*. New York: Academic Press, 45-113.
- Gamborg, O., & Phillips, G. C. (2013). *Plant cell, tissue and organ culture: fundamental methods*. Springer Science & Business Media.
- Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M., Thorpe, T. A. J. I. v. C., & Biology-Plant, D. (1996). *Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture*. 32(4), 272-289.
- Jenny, A. C., Toyoki, K., & Mary, A. L. S., (1995). Automation and environmental control in plant tissue culture. *Springer Science+Business Media*, B.V. 319-371.
- Kuhnle, J. A., Fuller, G., Corse, J., et al (1977). Antisenescence activity of natural cytokinins. *Plant Physiol.* 41:14-21.
- Kumar, N., & Reddy, M. P. (2011). *In vitro* plant propagation: a review. *Journal of forest and environmental science*, 27(2), 61-72.
- Sholichah, L., Yamin, M., Ginanjar, R., & Meilisza., N. (2020). *Anubias (Anubias sp.) propagation through hydroponic culture technique*. Paper presented at the *Journal of Physics: Conference Series*.
- Lance, B., Durley, R. C., Reid, D. M., Thorpe, T. A., & Pharis, R. P. (1976). Metabolism of [3H] gibberellin A20 in light-and dark-grown tobacco callus cultures. *Plant physiology*, 58(3), 387-392.
- Li-Chun, H., Y.-H. C., & L Yu-Li, C. (1994). Rapid *in vitro* multiplication of the aquatic angiosperm, *Anubias barteri* var. *undulata*. *Institute of Botany*: 77-83.
- Liu, J.; Mukherjee, I.; & Reid, D. M. (1990). Adventitious rooting in hypocotyls of sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. III. *The role of ethylene*. *Physiol. Plant.* 78:268-276;.
- Sereda, M. M., Lutsenko, E. V., Chokheli, V. A., Vereschagina, A. V., Rachkovskaya, K. Y., Lysenko, V. S., & Varduny, T. V. (2017). A method for microclonal

- propagation of *Staurogyne repens* in tissue culture. *Journal of Plant Sciences*, 12(1), 17-21.
- Mayer, S. J., Boger, J., Boyce P. C. (1997). *The genera of Araceae*.
- Media, F. I. N., Ina, E., Deni, S., Wening, E., Rossa, Y., & Yamin, M. (2020). Tracking the morphological diversity of *Bucephalandra motleyana* Schott (1858 (Araceae) using its commercial name in the proximities of Jakarta, Indonesia. *Jurnal biologi univeritas andalas*, 8(1), 1-8.
- Merve, S. H. K., Muhammet, D., & Sadi, G. (2020). Surface sterilization of *Staurogyne repens* (Nees) Kuntze with hydrogen peroxide. *Bulletin of Biotechnology*, 1(2), 39-42.
- Michael, E. K., Greg, L. D., Dennis, B. M., & Gargiulo, J. A. (1999). *In vitro* propagation of *Cryptocoryne wendtii*. *Aquatic Botany*, 63(3-4), 197-202.
- Miller, L. R., & Murashige, T. (1976). *Tissue culture propagation of tropical foliage plants. In vitro-Plant*, 12(12), 797-813.
- Miller, P. W., & Belkengren, R. O. (1962). Obtaining virus-free strawberries by excision and culturing of apical meristems of plants infected with the yellow edge, crinkle, and veinbanding viruses and certain other virus complexes. *Phytopathology*, 52, 743-4.
- Moore, T. C. (2012). *Biochemistry and physiology of plant hormones*. Springer Science & Business Media.
- Mullin, R. H., Smith, S. H., Frazier, N. W., Schlegel, D. E., & McCall, S. R. (1974). Mild Yellow Edge, Pallidosis, and Mottle Diseases. *Phytopathology*, 64, 1425-1429.
- Murashige, T. (1974). Plant propagation through tissue cultures. *Annual review of plant physiology*, 25(1), 135-166.
- Murasnige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio agsays with tohaoco tissue cultures. *Physiol. plant*, 15(3), 473-497.

- Neumann, K. H., Kumar, A., & Imani, J. (2009). *Plant cell and tissue culture: a tool in biotechnology* (Vol. 12). Berlin: Springer.
- Nongnuch, L., Uscharee, R., Somkiat, S., & Somchai, W. (2017). Effect of disinfectants and plant growth regulator in aquatic plant *Bucephalandra* sp.. Micropropagation, *Agriculture Magazine of King Mongkut*, 35(2), 95 – 103.
- Nooden, L. D.; Leopold, A. C. (1988). *Senescence and aging in plants*. San Diego: Academic Press.
- Nugraha, M. F. I., Erlinawati, I., Sahroni, D., Enggarini, W., Yunita, R., & Yamin, M. (2020). Tracking the morphological diversity of *Bucephalandra motleyana* Schott (1858 (Araceae) using its commercial name in the proximities of Jakarta, Indonesia. *Jurnal biologi univeritas andalas*, Vol.8, No.1, 1-8.
- Okada, H., & Hotta, M. (1987). *Species diversity at wet tropical environments II. Speciation of Schismatoglottis okadae (Araceae)*. Kyoto University (1987), 27(2): 153-170.
- Oteh, H. M. (2018). *Bucephalandra* Propagation and Conservation Efforts. *Tropical Fish Hobbyist Magazine* April 2010.
- Pandey, V., Misra, P., Chaturvedi, P., Mishra, M. K., Trivedi, P. K., & Tuli, R. (2010). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Withania somnifera* (L.) Dunal: an important medicinal plant. *Plant cell reports*, 29(2), 133-141.
- Prakash, P. K., David, M. R., & Thorpe, T. A. (1987). The role of ethylene and carbon dioxide in differentiation of shoot buds in excised cotyledons of *Pinus radiata* in vitro. *Physiologia plantarum*, 69(2), 244-252.
- Preece, J. E., & Read, P. E. (2003). *Novel methods in micropropagation*. *Acta Hortic*, 616, 71-76.
- Phillips, G. C., & Garda, M. (2019). *Plant tissue culture media and practices: an overview*. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 55(3), 242-257.
- Rossa, Y., Media, F. I. N., & Endang, G. L. (2020). *Micropropagation of Bucephalandra* sp.. *Bioscience research*, 17(2), 1339 - 1343.

- Sabater, B. (1985). *Hormonal regulation of senescence*. In: Purohit, S. S., ed. Hormonal regulation of plant growth and development, Vol. 1. India: Agro Botanical Publ. 169-217.
- Sholichah, L., et al. (2020). *Anubias (Anubias sp.) propagation trough hydroponic culture technique*. *Journal of Physics: Conference Series* 1422.
- Smith, R. H. (2012). Plant tissue culture: techniques and experiments. *Academic Press*.
- Susan, C. R., Michael, L. S.r (1997). *Large-scale plant cell culture*. , 8(2), 154–159.
- Tamas, I. A. (1995). *Hormonal regulation of apical dominance*. In: Davies, P. J., ed. Plant hormones. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers;572- 597.
- Thorpe, T. A. (1981). Plant tissue culture: methods and applications in agriculture. *Symposium UNESCO Brasil Nov.*, No. 574.0724/T518. New York: Academic Press.
- Vanisree, M., & Tsay, H. S. (2004). Plant cell cultures-an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 2(1), 29-48.
- Vasil, I. K.; Thorpe, T. A., ed. (1994). *Plant cell and tissue culture*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Wong, S. Y. & Boyce, P. C. (2013). *The role of the interstice staminodes of Bucephalandra Schott (Araceae: Schismatoglottideae)*. IAS Newsletter, 35(2):11-12.
- Yeng, W. S., Boyce, P. C. (2014). Studies on *Schismatoglottideae* (Araceae) of Borneo XXX - New species and combinations for *Bucephalandra*. *Willdenowia*, 44(2), 149–199.
- Yeng, W. S., Boyce, P. C. (2014). *Studies on Schismatoglottideae (Araceae) of Borneo LVII: Bucephalandra filiformis – a new species from Maligan, Sarawak, Malaysian Borneo*. *Aroideana*. 39: 56–60.

- Yeng, W. S., Boyce, P. C. (2014-12-05). Studies on *Schismatoglottideae* (Araceae) of Borneo XXXXI: Additional new species of *Bucephalandra*. *Willdenowia*. 44 (3): 415–421.
- Zárate, R., El, J.-V., N., Cequier-Sánchez, E., Gutierrez-Nicolás, F., & Ravelo, Á. G. (2008). *Biotechnology for the production of plant natural products*. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 34, pp. 309-392). Elsevier.
- Ziv, M. (1991). *Vitrification: morphological and physiological disorders of in vitro plants*. In *Micropropagation* (pp. 45-69). Springer, Dordrecht.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1. Môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962)

Đa lượng	Nồng độ (mg/l)
Potassium nitrate (KNO_3)	1900
Amonium nitrate (NH_4NO_3)	1650
Calcium chloride ($\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	440
Magnesium sulfate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	370
Potassium phosphate (KH_2PO_4)	170
Vi lượng	
Zinc Sulfate ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	8,6
Sodium molybdate ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0,25
Boric Acid (H_3BO_3)	6,2
Manganese sulfate ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	22,3
Cobalt chloride ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,025
Cupric Sulfate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0,025
Ferrous sulfate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	27,8
Potassium Iodine (KI)	0,83
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37,2
Vitamin và chất hữu cơ	
Myo-inositol	100 mg/l
Pyridoxine HCl	0,5 mg/l
Nicotinic acid	0,5 mg/l
Thiamine HCl	0,1 mg/l
Glycine (recrystallized)	2,0g/l
Sucrose	20 g/l
Agar	10 g/l

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT
KHOA SINH HỌC



ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN

**KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG LÀM NHANG
CỦA MỘT SỐ LOÀI THỰC VẬT CHỨA TINH DẦU Ở ĐÀ LẠT**

Giáo viên hướng dẫn: TS. Hoàng Thị Bình

Nhóm sinh viên thực hiện

Đà Lạt, 2021

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT
KHOA SINH HỌC

BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG LÀM NHANG
CỦA MỘT SỐ LOÀI THỰC VẬT CHỨA TINH DẦU Ở ĐÀ LẠT

Thuộc nhóm ngành khoa học: Tự nhiên

Đà Lạt, 2021

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT
KHOA SINH HỌC

BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG LÀM NHANG
CỦA MỘT SỐ LOÀI THỰC VẬT CHỨA TINH DẦU Ở ĐÀ LẠT

Thuộc nhóm ngành khoa học: Tự nhiên

Sinh viên thực hiện: Võ Văn Nghĩa Nam, Nữ: Nam

Lớp, Khoa: CSK43 – Khoa Sinh học

Năm thứ: 2/Số năm đào tạo: 04 Ngành học: Công nghệ sinh học

Người hướng dẫn: TS. Hoàng Thị Bình

Đà Lạt, 2021

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Lâm Đồng, ngày 08 tháng 06 năm 2021

**BÁO CÁO KẾT QUẢ TỰ ĐÁNH GIÁ
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ SINH VIÊN 2021**

I. Thông tin chung về đề tài:

1. Tên đề tài: Khảo sát khả năng ứng dụng làm nhang của một số loài thực vật chứa tinh dầu ở Đà Lạt.

2. Mục tiêu đề tài: Góp phần đa dạng hóa nguồn nguyên liệu làm nhang có nguồn gốc từ thực vật.

3. Chủ nhiệm đề tài: Võ Văn Nghĩa

4. Giáo viên hướng dẫn: TS. Hoàng Thị Bình

5. Tổng kinh phí thực hiện: 5.000.000 VNĐ (Bằng chữ: năm triệu đồng)

6. Thời gian thực hiện:

Bắt đầu: tháng 11 năm 2020

Kết thúc: tháng 05 năm 2021

7. Danh sách thành viên chính thực hiện đề tài nêu trên gồm:

STT	Họ và tên	Mã số SV	Lớp/ Khoa
1	Võ Văn Nghĩa	1910202	CSK43 – Khoa Sinh học
2	Bùi Phạm Bảo Ngọc	1910248	CSK43 – Khoa Sinh học
3	Huỳnh Thị Hương Trâm	1911339	CSK43 – Khoa Sinh học
4	Lê Thị Thùy Duyên	1911276	CSK43 – Khoa Sinh học

II. Nội dung tự đánh giá về kết quả thực hiện đề tài:

1. Về sản phẩm khoa học:

1.1. Danh mục sản phẩm đã hoàn thành:

STT	Tên sản phẩm	Số lượng			Khối lượng			Chất lượng		
		xuất sắc	Đạt	Không đạt	xuất sắc	Đạt	Không đạt	xuất sắc	Đạt	Không đạt
1	Bảng kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học (Bạch đàn, màng tang, hương thảo)	X			X			X		
2	Bảng kết quả khảo sát thành phần vô cơ, hữu cơ trong khói nhang	X			X			X		
3	Bảng kết quả đánh giá thị hiếu người tiêu dùng	X			X			X		
4	Nhang thành phẩm		X			X			X	

Minh chứng:

- Bảng thành phần hóa học của loài *Eucalyptus globulus* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. tại khu vực Lâm Đồng.
- Bảng khảo sát thành phần hóa học trong khói nhang thiên nhiên.
- Sản phẩm nhang thiên nhiên từ các đối tượng nghiên cứu tại khu vực Lâm Đồng.

1.2 Danh mục sản phẩm khoa học dự kiến ứng dụng chuyển giao (nếu có):

STT	Tên sản phẩm	Thời gian dự kiến ứng dụng	Cơ quan dự kiến ứng dụng	Ghi chú
1	Bảng kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học (<i>Eucalyptus globulus</i> L., <i>Rosmarinus officinalis</i> L., <i>Litsea cubeba</i> (Lour.) Pers.)	Từ tháng 7 – tháng 12 năm 2021	Khoa Sinh học – Trường Đại học Đà Lạt	
2	Bảng kết quả khảo sát thành phần vô cơ, hữu cơ trong khói nhang	Từ tháng 7 – tháng 12 năm 2021	Khoa Sinh học – Trường Đại học Đà Lạt	

1.3 Danh mục sản phẩm khoa học đã được ứng dụng (nếu có):

STT	Tên sản phẩm	Thời gian ứng dụng	Tên cơ quan ứng dụng	Ghi chú
1	Nhang thành phẩm	Năm 2021	Khoa Sinh học – Trường Đại học Đà Lạt	

2. Về những đóng góp mới của đề tài:

Đề tài phân tích được thành phần hóa học có trong khói nhang làm từ các loài *Eucalyptus globulus* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. và ứng dụng vào làm nhang thiên nhiên.

3. Về hiệu quả của đề tài

3.1. Hiệu quả kinh tế

Việc nghiên cứu các loài trên ứng dụng vào làm nhang thiên nhiên giúp đa dạng hóa các sản phẩm từ những loài này, làm tăng giá trị về mặt ứng dụng và kinh tế của chúng.

3.2. Hiệu quả xã hội

Góp phần đa dạng hóa sản phẩm nhang thiên nhiên, đem lại một sản phẩm có giá thành thấp hơn mà độ an toàn khi sử dụng tương đương với các loại nhang sạch trên thị trường. Bên cạnh đó giúp nâng cao giá trị của các loài trên với mục đích được nhân giống và trồng rộng rãi hơn.

III. Tự đánh giá, xếp loại kết quả thực hiện đề tài

1. Về tiến độ thực hiện: (đánh dấu ✓ vào ô tương ứng):

- Nộp hồ sơ đúng hạn ☐
- Nộp chậm từ trên 30 ngày đến 6 tháng ☐
- Nộp hồ sơ chậm trên 6 tháng ☐

2. Về kết quả thực hiện đề tài:

- Xuất sắc ☐
- Đạt ☐
- Không đạt ☐

Giải thích lý do:

- Đề tài đã thực hiện đúng 07 nội dung đã đăng ký trong thuyết minh đề tài và đáp ứng được mục tiêu của đề tài.

Cam đoan nội dung của báo cáo là trung thực; Chủ nhiệm và các thành viên tham gia thực hiện đề tài không sử dụng kết quả nghiên cứu của người khác trái với quy định của pháp luật.

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI

CHỦ TỊCH HĐ NGHIỆM THU

LỜI CẢM ƠN

Để thực hiện và hoàn thành đề tài nghiên cứu khoa học này không chỉ bằng sự nỗ lực và cố gắng của chúng tôi mà trong đó còn có sự hỗ trợ giúp đỡ cũng như quan tâm, động viên và tạo điều kiện về vật chất và tinh thần từ phía gia đình, thầy cô và bạn bè.

Với tình cảm chân thành, chúng tôi bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đối với TS. Hoàng Thị Bình, người đã hướng dẫn giúp đỡ chúng tôi thực hiện đề tài này.

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn phòng thí nghiệm Tài Nguyên Thực Vật, phòng thí nghiệm hóa sinh, phòng thí nghiệm vi sinh vật đã tạo điều kiện cho chúng tôi hoàn thành đề tài này.

Và hơn nữa chúng tôi xin chân thành cảm ơn đến các thầy cô Khoa Sinh học nói riêng và Trường Đại học Đà Lạt nói chung đã tạo điều kiện tốt nhất để chúng tôi hoàn thành đề tài nghiên cứu này.

Chúng tôi xin cảm ơn các anh chị, bạn bè hoạt động trong phòng thí nghiệm tài nguyên thực vật đã động viên và hết lòng giúp đỡ chúng tôi trong quá trình thực hiện đề tài.

Xin Trân trọng cảm ơn!

Đà Lạt, tháng 06 năm 2021.

LỜI CAM ĐOAN

Chúng tôi xin cam đoan công trình nghiên cứu khoa học này là của chúng tôi, không sao chép của ai và chưa được công bố dưới bất kỳ hình thức nào.

Nội dung đề tài có sự tham khảo và sử dụng một số thông tin, tài liệu được đăng lên sách, báo, tạp chí và từ các trang web có nguồn gốc xuất xứ rõ ràng.

Đà Lạt, tháng 06 năm 2021.

Nhóm sinh viên

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN	I
LỜI CAM ĐOAN.....	II
MỤC LỤC	III
DANH MỤC BẢNG	V
DANH MỤC BIỂU ĐỒ	VI
DANH MỤC SƠ ĐỒ.....	VII
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT.....	VIII
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG I. TỔNG QUAN.....	3
1.1. Tổng quan về nhang	3
1.1.1. Tổng quan về nhang ở Việt Nam.....	3
1.1.2 Tổng quan về nhang trên thế giới.....	4
1.1.3 Tổng quan về nhang thiên nhiên	5
1.2. Tổng quan về các đối tượng nghiên cứu sử dụng để làm nhang	5
1.2.1. Tổng quan về cây <i>Eucalyptus globulus</i> L.....	5
1.2.2. Tổng quan về cây <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	8
1.2.3. Tổng quan về cây <i>Litsea cubeba</i> (Lour.) Pers.....	11
1.3. Tổng quan về các đối tượng hỗ trợ nghiên cứu	13
1.3.1. Tổng quan về cây <i>Litsea glutinosa</i> (Lour.) C.B.Rob.	13
1.3.2. Tổng quan về <i>Saccharum officinarum</i> L.....	14
CHƯƠNG II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	17
2.1. Vật liệu nghiên cứu.....	17
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	17
2.1.2. Đối tượng hỗ trợ	17
2.1.3 Hóa chất hỗ trợ nghiên cứu	17
2.1.4. Thiết bị.....	17
2.2. Phương pháp nghiên cứu	17
2.2.1. Thu và xử lý mẫu.....	17
2.2.2. Phương pháp chiết Soxhlet (Soxhlet, 1879; Harborne, 1998).....	18
2.2.3. Định tính các hợp chất thứ cấp (Đàn và cộng sự, 1985; Phụng, 2007).....	18
2.2.4. Phương pháp sắc ký khí (GC) và sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS)	20

2.2.5. Các bước tạo sản phẩm nhang hữu cơ	21
2.2.6. Phương pháp phòng vấn	22
2.2.7. Xử lý số liệu	22
CHƯƠNG III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	23
3.1. Kết quả khảo sát khối lượng sấy mẫu.....	23
3.2. Kết quả khảo sát sơ bộ một số hợp chất thứ cấp có trong 3 loài <i>Eucalyptus globulus</i> L., <i>Rosmarinus officinalis</i> L., <i>Litsea cubeba</i> (Lour.) Pers.....	23
3.3. Đánh giá thị hiếu của người tiêu dùng đối với sản phẩm được tạo ra.....	25
3.4. Bước đầu hình thành quy trình tạo sản phẩm nhang tự nhiên.....	27
3.5. Kết quả khảo sát thành phần hóa học khói nhang	28
3.5.1. Kết quả khảo sát thành phần vô cơ	28
3.5.2. Kết quả khảo sát thành phần hữu cơ.....	28
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	31
Kết luận.....	31
Kiến nghị	31
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	32
Tài liệu tiếng Việt.....	32
Tài liệu tiếng Anh.....	33
PHỤ LỤC	44

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1. Kết quả khảo sát khối lượng sấy mẫu.....	23
Bảng 2. Kết quả khảo sát sơ bộ các nhóm hợp chất trong cây <i>E. globulus</i> , <i>R. officinalis</i> , <i>L. cubeba</i>	24
Bảng 3. Kết quả khảo sát thị hiếu người tiêu dùng trên 2 mẫu khách quan nhất	25
Bảng 4. So sánh nồng độ thành phần hóa học vô cơ của khói nhang so với Quy chuẩn Việt Nam.....	28
Bảng 5. Thành phần hóa chất hữu cơ của khói nhang thiên nhiên	29

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 1. Biểu đồ thể hiện sự so sánh về các chỉ tiêu của 2 mẫu được khảo sát.....26

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 1: Quy trình tóm tắt tạo nhang thiên nhiên trong phòng thí nghiệm	21

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

GC: Gas Chromatography

GC-MS: Gas chromatography–mass spectrometry

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI

1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: Khảo sát khả năng ứng dụng làm nhang của một số loài thực vật chứa tinh dầu ở Đà Lạt
- Sinh viên thực hiện: Võ Văn Nghĩa
- Lớp: CSK43 Khoa: Sinh học Năm thứ: 02 Số năm đào tạo: 04
- Người hướng dẫn: TS. Hoàng Thị Bình

2. Mục tiêu đề tài: Góp phần đa dạng hóa nguồn nguyên liệu làm nhang có nguồn gốc từ thực vật.

3. Tính mới và sáng tạo:

- Đề tài lần đầu tiên ứng dụng 3 loài thực vật phân bố ở Đà Lạt bao gồm Bạch đàn (*Eucalyptus globulus* L.), Hương thảo (*Rosmarinus officinalis* L.) và Màng tang (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) để làm sản phẩm nhang (hương).
- Đề tài đã phân tích thành phần hoá học có trong khói nhang tự nhiên làm từ các loài trên và xác định được các hợp chất có trong khói nhang từ nghiên cứu này nằm trong phạm vi được cho phép theo quy chuẩn Việt Nam và tiêu chuẩn Việt Nam về chất lượng không khí, khí thải công nghiệp.

4. Kết quả nghiên cứu:

- Đề tài đã đánh giá được sơ bộ thành phần các hợp chất thứ cấp có trong 3 loài thực vật phân bố ở Đà Lạt bao gồm Bạch đàn (*Eucalyptus globulus* L.), Hương thảo (*Rosmarinus officinalis* L.) và Màng tang (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) để làm sản phẩm nhang (hương).
- Bước đầu xây dựng được quy trình làm nhang thiên nhiên từ các loài thực vật trên.
- Bước đầu đánh giá được thành phần hoá học có trong khói nhang và khảo sát được thị hiếu của người dùng đối với sản phẩm nhang đã tạo ra.

5. Đóng góp về mặt kinh tế - xã hội, giáo dục và đào tạo, an ninh, quốc gia và khả năng áp dụng của đề tài:

- Việc khảo sát, đánh giá hiệu quả sử dụng làm nhang của 3 loài thực vật ở Đà Lạt gồm Bạch đàn, Hương thảo và Màng tang là nền tảng ban đầu để giúp Đà Lạt đa dạng hoá thêm các loài thực vật sử dụng làm nhang thiên nhiên.

- Góp phần đa dạng hoá sản phẩm nhang thiên nhiên, giúp người nông dân thương mại hóa được các sản phẩm nhang thiên nhiên tại Đà Lạt nói riêng và Lâm Đồng nói chung. Bên cạnh đó, góp phần bảo tồn nguồn tài nguyên thực vật cũng như nguồn gen của địa phương.

6. Công bố khoa học của sinh viên từ kết quả nghiên cứu của đề tài (*ghi rõ tên tạp chí nếu có*) hoặc nhận xét, đánh giá của cơ sở đã áp dụng các kết quả nghiên cứu (*nếu có*):

Ngày 08 tháng 06 năm 2021

**Sinh viên chịu trách nhiệm chính
thực hiện đề tài**

Nhận xét của người hướng dẫn về những đóng góp khoa học của sinh viên thực hiện đề tài:

- Nhóm sinh viên thực hiện đề tài đã có những đóng góp khoa học quan trọng từ đề tài này, cụ thể là:
 - + Góp phần cung cấp những dẫn liệu ban đầu về việc đánh giá sơ bộ thành phần hoá học trong 3 loài cây phân bố ở Đà Lạt bao gồm: Bạch đàn (*Eucalyptus globulus* L.), Hương thảo (*Rosmarinus officinalis* L.) và Màng tang (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.).
 - + Bước đầu cung cấp được quy trình làm nhang thiên nhiên từ các loài thực vật chứa tinh dầu ở địa phương. Thêm vào đó, việc đánh giá được thành phần hoá học có trong khói sản phẩm nhang từ đề tài là một dẫn liệu quan trọng góp phần xem xét tính an toàn của sản phẩm làm ra đối với người sản xuất, người sử dụng cũng như môi trường không khí.

Ngày 08 tháng 06 năm 2021

Xác nhận của trường đại học
(*ký tên và đóng dấu*)

Người hướng dẫn
(*ký, họ và tên*)

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN VỀ SINH VIÊN CHỊU TRÁCH NHIỆM CHÍNH THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

I. SƠ LƯỢC VỀ SINH VIÊN:

Họ và tên: Võ Văn Nghĩa

Sinh ngày: 25 tháng 11 năm 2001

Nơi sinh: Bình Thuận

Lớp: CSK43

Khóa: K43

Địa chỉ liên hệ: 30A Trần Khánh Dư, phường 8, Tp. Đà Lạt

Điện thoại: 0946108736

Email: 1910202@dlu.edu.vn

Ảnh

4x6

II. QUÁ TRÌNH HỌC TẬP (Kê khai thành tích của sinh viên từ năm 1 đến năm đang học):

****Năm thứ 1:***

Ngành học: Công nghệ Sinh học

Khoa: Sinh học

Kết quả xếp loại học tập: Khá

Sơ lược thành tích:

- Tham gia đề tài nghiên cứu khoa học do doanh nghiệp tài trợ. Tên đề tài “Tuyển chọn một số loài thực vật ở Đà Lạt để nghiên cứu tạo chế phẩm thuốc trừ sâu sinh học phòng trừ sâu bệnh”

- Tham gia tích cực công tác phòng chống dịch bệnh Covid-19 (có bằng khen)

- Hoạt động tích cực trong phong trào đoàn hội, công tác xã hội như hiến máu nhân đạo (có giấy khen và giấy chứng nhận)

****Năm thứ 2:***

Ngành học: Công nghệ Sinh học

Khoa: Sinh học

Kết quả xếp loại học tập: Khá

Sơ lược thành tích:

- Hoạt động tích cực trong phong trào đoàn hội, công tác xã hội như hiến máu nhân đạo (có giấy khen và giấy chứng nhận)

Ngày 08 tháng 06 năm 2021

Xác nhận của trường đại học
(ký tên và đóng dấu)

Sinh viên chịu trách nhiệm chính
thực hiện đề tài
(ký, họ và tên)

MỞ ĐẦU

Nhang được sử dụng phổ biến trong nước và trên thế giới, đặc biệt là Trung Quốc, Ấn Độ và các nước thuộc khu vực Châu Á với nhiều mục đích khác nhau như dâng hương cúng lễ, thư giãn, đuổi côn trùng, ... Hiện nay cùng với sự phát triển của xã hội, nhu cầu sử dụng các sản phẩm có nguồn gốc từ thiên nhiên đang ngày càng được tăng cao nhằm hạn chế tối đa các ảnh hưởng xấu đến đời sống của người tiêu dùng cũng như môi trường và để góp phần bảo vệ sức khỏe, môi trường. Nhang không thể thiếu trong đời sống tinh thần của mỗi người Việt, thắp nhang là việc làm hằng ngày ở mỗi gia đình người Việt và đặc biệt trong các dịp lễ tết, ngày giỗ. Hiện nay, những loại nhang tẩm hóa chất công nghiệp đang trôi nổi trên thị trường, khi sử dụng sẽ gây khó chịu cho những người xung quanh. Đáng lo ngại hơn là sức khỏe của người tiêu dùng và những công nhân làm nhang. Sự ra đời của nhang thiên nhiên giúp phần nào hạn chế thải các loại khói độc ra môi trường cũng như tiếp xúc trực tiếp với người tiêu dùng gây ra nhiều bệnh liên quan đến hệ hô hấp. Nắm bắt được cơ hội về nhu cầu sử dụng nhang sạch ngày càng nhiều, trên thị trường nhang trong nước cũng như ngoài nước bên cạnh một số cơ sở sản xuất nhang uy tín vẫn còn xuất hiện nhiều mặt hàng nhang thiên nhiên trôi nổi khác nhau không rõ nguồn gốc và không có giấy chứng nhận nhang sạch dẫn đến ngành công nghiệp nhang sạch ở Việt Nam không được đánh giá cao về chất lượng, gây mất lòng tin ở người tiêu dùng.

Do đó việc sử dụng một số loài thực vật có chứa tinh dầu và đã được ứng dụng nhiều trong các lĩnh vực về hương liệu giúp cho người tiêu dùng dễ dàng tiếp cận hơn. Hướng đến việc giúp cho sản phẩm nhang sinh học phổ biến rộng rãi hơn với người tiêu dùng, có mùi hương dễ chịu, gần gũi cũng như không chứa các chất gây độc đối với sức khỏe con người và không ảnh hưởng nhiều đến môi trường. Trong đề tài này chúng tôi làm rõ sơ bộ về các hợp chất thứ cấp trong lá từ 3 loài Bạch đàn, Màng tang, Hương thảo và thành phần hóa học trong khói nhang cũng như bước đầu đưa ra quy trình làm nhang từ các đối tượng trên. Để làm rõ những vấn đề trên chúng tôi thực hiện đề tài **“Khảo sát khả năng ứng dụng làm nhang của một số loài thực vật chứa tinh dầu ở Đà Lạt”**.

Mục tiêu nghiên cứu: Nhằm đa dạng hóa cho các sản phẩm có nguồn gốc từ thiên nhiên, tăng tính ứng dụng của các loài cây cho tinh dầu từ đó góp phần tăng giá trị kinh

tế của các loài cây này. Đồng thời, đa dạng hóa nguồn nguyên liệu làm nhang có nguồn gốc từ thiên nhiên.

Nội dung nghiên cứu:

- Bước đầu tách chiết hợp chất thứ cấp và khảo sát sơ bộ thành phần hóa học trong 3 loài cho tinh dầu ở Đà Lạt (Bạch đàn, Màng tang, Hương thảo)
- Xây dựng quy trình tạo sản phẩm nhang tự nhiên
- Đánh giá thị hiếu của người dùng đối với sản phẩm được tạo ra
- Khảo sát thành phần hóa học trong khói nhang.

CHƯƠNG I. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về nhang

1.1.1. Tổng quan về nhang ở Việt Nam

Tại Việt Nam, sản xuất nhang được coi là một nghề truyền thống và có nguồn gốc từ xa xưa không thể thiếu trong đời sống tinh thần của mọi người dân, đặc biệt là những tín đồ của đạo Phật. Thắp nhang cho ông bà trong các dịp lễ hay trong những ngày giỗ là truyền thống lâu đời của người dân Việt Nam để tưởng nhớ và thể hiện lòng biết ơn sâu sắc đối với các thế hệ đi trước. Bên cạnh đó, sử dụng nhang còn mang lại cảm giác ấm cúng trong mỗi gia đình, giúp xua đuổi một số loại côn trùng gây hại như muỗi, gián, ... Ngoài ra, nhang còn được sử dụng như một loại hương liệu giúp thư giãn, giải tỏa tinh thần như đàn hương, trầm hương, ...

Một số làng nghề làm nhang lâu đời và nổi danh trải dài trên khắp các tỉnh của Việt Nam như làng hương xạ Cao Thôn ở xã Bảo Khê, Hưng Yên, làng hương trầm Quỳnh Châu ở Nghệ An, hương xạ Hoàng Xá ở Hải Dương, làng hương Báo Ân ở Hà Tĩnh, ... (Vũ, 2018). Mỗi làng hương đều có những đặc điểm, công thức phối trộn mang lại tính đặc trưng về màu sắc, mùi hương riêng làm đa dạng hóa về sản phẩm của ngành làm nhang ở Việt Nam (Vũ, 2018). Tùy vào những đặc điểm của từng địa phương mà nguyên liệu và cách tạo ra sản phẩm cũng khác nhau như ở tỉnh Bình Phước người dân thường sử dụng mùn cưa, thân cây bầu, cây lòng mứt, phối thêm hương quế hoặc hương trầm và se nhang theo hướng truyền thống (Thư và cộng sự, 2020), ở tỉnh Hưng Yên người dân sử dụng các loại thảo mộc như tùng bạch chỉ, trắc bách diệp, trầm, hồi, quế, cam thảo, ... để làm nhang và có nhiều sản phẩm đa dạng như nhang vòng, nhang nén, nhang sào, ... (Vũ, 2018).

Ngày nay với sự phát triển của xã hội bên cạnh một số làng nghề còn giữ cách làm truyền thống cũng có một số bộ phận làng nghề bước sang một giai đoạn mới theo hướng công nghiệp hóa, kéo theo đó là sự sụt giảm về chất lượng của nhang cũng như thành phần của nhang truyền thống bị thay đổi theo hướng hóa học để cho ra một cây nhang đẹp hơn, thơm hơn nhưng gây ảnh hưởng đến sức khỏe của con người (Quyên, 2013). Nhang có nguồn gốc từ hóa học có mùi thơm và giữ mùi được lâu hơn, có độ cháy tốt hơn, hình dáng tạo tàn đẹp mắt hơn nhờ bổ sung vào nhang một số mùi hương tổng hợp, chất dẫn cháy (Lưu huỳnh), H_3PO_4 . Khi cháy những chất này sẽ sản sinh ra một lượng khí độc như NO_2 , SO_2 , benzene, xylene, ... gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến

sức khỏe con người. Ngoài ra, để bảo quản nhang được lâu hơn thì một số nơi sản xuất còn bổ sung formaldehyde để giúp nhang chống mốc (Hải, 2018).

Theo hộ làm nhang quy mô gia đình ở phố xưa Thu Xà cho biết cứ 1000 cây nhang thì có thể bán được từ 35.000 – 40.000 đồng đối với nhang bình thường. Trung bình một ngày theo quy mô hộ gia đình có thể sản xuất được 30 – 40 kg nhang, tùy vào nhu cầu người sử dụng trong các dịp lễ khác nhau (Trang, 2020). Đây là một làng nghề phổ biến ở quy mô hộ gia đình, tuy ít phát triển theo quy mô công nghiệp nhưng lại là nguồn kinh tế chính cho nhiều người dân, nhiều hộ gia đình mặc dù không cao nhưng lại khá ổn định (Hồng, 2020).

1.1.2 Tổng quan về nhang trên thế giới

Đối với các nước châu Á, đặc biệt Trung Quốc và Ấn Độ nơi mà Phật giáo và Đạo giáo là tôn giáo chính thì nhu cầu sử dụng nhang rất cao. Thành phần tiêu chuẩn của một que nhang 21% bột thảo mộc và gỗ, 35% nguyên liệu tạo mùi, 11% bột kết dính, 33% thanh tre (Lee và cộng sự, 2004). Trung bình các hạt khí được tạo ra khi đốt nhang có kích thước to hơn các hạt khí khi đốt thuốc lá. Khi đốt nhang không những tạo ra các chất vô cơ như CO₂, CO, NO₂, SO₂, ... mà còn tạo ra các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi như benzene, toluene, xylenes và các hydrocacbon thơm đa vòng gây ảnh hưởng nghiêm trọng về mặt sức khỏe đối với người sử dụng và ảnh hưởng đến môi trường (Lin và cộng sự, 2008). Năm 2004 tại Trung Quốc các nhà khoa học đã khảo sát các chất gây ô nhiễm không khí khi đốt hương trong môi trường lớn, quá trình khảo sát trên được tiến hành trên 20 loại hương khác nhau ở các vùng khác nhau và cho thấy được sự tăng quá mức cho phép hàm lượng các chất độc trong môi trường lớn như benzene, toluene, ... (Lee và cộng sự, 2004).

Ấn Độ là một trong những quốc gia sản xuất nhang lớn nhất chiếm được thị trường trong nước và ngoài nước, đa phần nhang được sử dụng chủ yếu ở vùng nông thôn chiếm khoảng 61,23% trên tổng sản lượng cả nước (Hazarika và cộng sự, 2018). Ngành công nghiệp nhang đóng một vai trò quan trọng trong nền kinh tế Ấn Độ, người ta ước tính mang lại thu nhập cho 500.000 người, trong đó, khoảng 90% là phụ nữ (Hazarika và cộng sự, 2018). Năm 2012, một trường cao đẳng lâm nghiệp đã nghiên cứu sử dụng 2 loài là *Valeria indica* và *Canarium precisionum* làm hương liệu tự nhiên thay thế cho hương liệu truyền thống và có tác dụng đuổi muỗi (Niveditha và cộng sự, 2012).

1.1.3 Tổng quan về nhang thiên nhiên

Nằm trong xu hướng tiêu dùng xanh, trên thị trường hiện nay xuất hiện nhiều loại nhang sạch được quảng cáo làm từ bột cây thực vật như quế, trầm, thảo mộc tự nhiên, ... và keo kết dính làm từ vỏ cây bời lời. Trên thị trường hiện nay, các sản phẩm nhang nguồn gốc từ thiên nhiên được đánh giá chất lượng có giá thành cao gấp 3 đến 4 lần so với các sản phẩm nhang truyền thống như nhang trầm, nhang đàn hương, nhang tùng, nhang quế, nhang hồi, nhang bài, nhang trám, nhang hoa lái, ... (<https://vietnamnet.vn/vn/kinh-doanh/thi-truong/nhang-sach-co-thuc-su-sach-675104.html>).

Những nguyên liệu làm nhang có nguồn gốc từ thiên nhiên thường là những nguyên liệu sử dụng trong thuốc bắc hoặc ẩm thực với tỷ lệ phối trộn nhất định nhằm tạo ra mùi hương đặc trưng theo từng vùng miền (Chính, 2020). Nhang sạch được phối trộn với keo có nguồn gốc từ thiên nhiên và có độ cháy nhất định mà không bổ sung chất dẫn cháy hay chất tạo tàng (Chính, 2020). Trong một số cách phân biệt nhang sạch với nhang bình thường người ta thường dựa vào mùi khói nhang, màu của nhang, tẩm nhang và tàng nhang để xác định nhang có bị tẩm hóa chất hay không (Chính, 2020).

Một sản phẩm nhang sạch hay nhang thiên nhiên thì nguồn nguyên liệu phải chặt chẽ trong khâu xử lý, sơ chế đến các bước làm nhang với sản xuất khép kín và nguồn nước dùng để làm nhang cũng phải thật sự sạch, không gian phơi nhang cũng phải thoáng, ít bụi bặm để không ảnh hưởng đến chất lượng của nhang (Minh, 2018). Cuộc sống con người ngày càng thay đổi, không mãi chỉ “ăn no mặc đủ” mà “ăn ngon mặc đẹp”, do đó nhu cầu sử dụng các sản phẩm đảm bảo về chất lượng ngày càng cao, trong đó có cả các sản phẩm như nhang sạch (nhang thiên nhiên) – có chất lượng tốt, không gây ảnh hưởng đến sức khỏe người sản xuất và người sử dụng (Minh, 2018). Từ đó cho thấy được các sản phẩm nhang có nguồn gốc từ thiên nhiên dần được quan tâm nhiều hơn và có tương lai phát triển mạnh. Cùng với đó là sự đa dạng trong việc sử dụng các loại nhang với nhiều hình thức khác nhau, ví dụ như nhang không tẩm, nhang nự, bột nhang, ...

1.2. Tổng quan về các đối tượng nghiên cứu sử dụng để làm nhang

1.2.1. Tổng quan về cây *Eucalyptus globulus* L.

Eucalyptus globulus L. có tên thông thường là bạch đàn hay khuynh diệp, khi vò, lá có mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng chát, sau có cảm giác mát và dễ chịu (Lợi, 2004). Lá có

thể dùng để hãm thuốc, xông hoặc pha chế thành các dạng bào chế siro, dùng để chữa ho, sát khuẩn đường hô hấp, chữa các bệnh nhiễm trùng đường hô hấp, ... (Hải và cộng sự, 2011).

E. globulus tập trung nhiều ở các vùng nhiệt đới và ôn đới, thường được trồng ở nơi ẩm thấp, vùng lầy có khả năng hút nước làm giảm môi trường sống của muỗi gây bệnh (Lợi, 2004). Việt Nam là nước có *E. globulus* phân bố nhiều ở các rừng ngập mặn và dồi dào nguồn nước. Ngày nay, với phong trào phủ xanh đồi trọc, trồng cây gây rừng, *E. globulus* là đối tượng được trồng nhiều nhất để phủ xanh đồi trọc ở các tỉnh trung du như Vĩnh Phúc, Phú Thọ, Bắc Cạn, ... (Lợi, 2004).

Úc là quốc gia đầu tiên sử dụng *E. globulus* để tách chiết tinh dầu (Pearson, 1993). Thành phần hóa học của *E. globulus* có nhiều hoạt tính sinh học cao, các chiết xuất metanol có hàm lượng axit phenolic cao nhất (González-Burgos và cộng sự, 2018). Lá *E. globulus* có chứa hợp chất tannin, nhựa và tinh dầu có mùi thơm (Lợi, 2004).

Thành phần hóa học chính của tinh dầu cây *E. globulus* là 1,8-cineole và α -pinene, hai hợp chất này có tính dược lý mạnh, ứng dụng lớn trong y học, tính kháng khuẩn, kháng nấm cao như nấm *Candida* (Noumi, 2011), sử dụng nhiều trong mỹ phẩm, nhờ khả năng chống oxy hóa cao (Huang và cộng sự, 2015). Ngoài ra, 1,8-cineole còn có khả năng diệt ký sinh trùng, có tính sát trùng, long đờm, dịu ho. Không những vậy, 1,8-cineole còn có tác dụng chữa bỏng, làm thuốc tẩy (Hương và cộng sự, 2020). Tinh dầu khuynh diệp còn có khả năng chống lại mụn nước, vết cắt, vết loét lạnh, côn trùng cắn, bệnh zona, viêm da do vi khuẩn (Orchard và cộng sự, 2017). Ngoài ra, tinh dầu *E. globulus* còn được ứng dụng làm túi thơm có khả năng khử mùi (Hải và cộng sự, 2014), nến thơm từ tinh dầu *E. globulus* giúp thư giãn (Hải và cộng sự, 2014), dùng tinh dầu trong kỹ nghệ hương liệu để sản xuất nước hoa và các loại chất thơm khác có mùi thơm tự nhiên, có thể thay thế tinh dầu sả Java, xua đuổi chuột trong nhà và rắn đuôi chuông (Silva và cộng sự, 2003).

Gần đây nhất, tinh dầu *E. globulus* còn được ứng dụng trong lĩnh vực thú y, tinh dầu cùng với nước chiết xuất của *Thymus fontanesii* và *Eucalyptus* chống lại tác nhân viêm vú lâm sàng ở bò (Houria và cộng sự, 2020). Tinh dầu *E. globulus* được nghiên cứu và ứng dụng như một chất bảo quản thực phẩm tự nhiên (Boukhatem và cộng sự, 2020). Không những vậy, dầu được chiết xuất từ *E. globulus* có thể sử dụng cho bệnh viêm da và ngăn chặn việc sản xuất chemokine, cytokine và chất trung gian lipid trong

basophils (Nakamura và cộng sự, 2020). Tinh dầu *E. globulus* được ứng dụng dùng để làm giảm đau cơ do tình trạng viêm nhiễm hoặc chấn thương (Agarwal và cộng sự, 2020).

Trong tình hình của thế giới hiện tại tinh dầu của chi *Eucalyptus* có thể được sử dụng như một chất ức chế tiềm năng chống lại COVID-19 và nó cũng có thể được sử dụng trong quá trình điều trị (Panikar và cộng sự, 2021). Chất chiết xuất từ nước của *E. globulus* chủ yếu là polyphenol và flavonoid có hoạt tính chống oxy hóa tuyệt vời và tác dụng kháng khuẩn mạnh mẽ (Bencheikh và cộng sự, 2021). Tinh dầu *E. globulus* được nghiên cứu có khả năng gây độc thực vật và có thể được ứng dụng như một chất diệt cỏ sinh học gây ức chế nảy mầm và phát triển của rễ (Flores-Macías và cộng sự, 2021). Bên cạnh đó chiết xuất từ lá Bạch đàn non có tác dụng diệt cỏ (Pinto và cộng sự, 2021). Bổ sung tinh dầu *E. globulus* vào thức ăn cho gà cho thấy sự cải thiện một phần cân bằng hệ vi sinh ở manh tràng, khả năng tiêu hóa chất dinh dưỡng cao hơn, hoạt động chống oxy hóa được tăng cường và ảnh hưởng đến thành phần axit béo trong đùi gà (Mohebodini và cộng sự, 2021).

Hợp chất etanolic thu được từ những loài thuộc chi *Eucalyptus* có khả năng kháng khuẩn và có thể được sử dụng thay thế cho lượng kháng sinh được bổ sung trong thức ăn gia cầm (Ullah và cộng sự, 2021). Nước chiết xuất từ vỏ cây *E. globulus* được sử dụng để nhuộm vải bông, tơ tằm, len và tơ eri trong trường hợp không có muối vô cơ hoặc chất trộn để tạo ra các sản phẩm có giá trị gia tăng thân thiện với môi trường (Maulik và cộng sự, 2021). Không những vậy, bã vỏ cây *E. globulus* trong công nghiệp khi sử dụng phương pháp xử lý thủy nhiệt có khả năng đồng sản xuất nhiên liệu sinh học (Gomes và cộng sự, 2021). Bột của vỏ cây *E. globulus* có thể trở thành nguồn nguyên liệu để làm sợi và các sản phẩm liên quan khác (Andrade và cộng sự, 2021).

Bằng cách sử dụng hợp chất được chiết xuất từ lá cây *E. globulus* để tổng hợp La_2O_3 có thể kiểm soát các bệnh viêm và bệnh tiểu đường bằng cách sử dụng như một loại thuốc ức chế tiềm năng (Maheshwaran và cộng sự, 2021). Hoạt tính được lý, chống oxy hóa liên quan đến các hợp chất hóa học của *E. globulus* được đánh giá có tiềm năng chống đái tháo đường (Dwivedi và cộng sự, 2021). Chất chiết xuất từ *E. globulus* như một nguồn chất ức chế lipase tuyến tụy và có thể hoạt động như một chất thay thế tự nhiên trong việc phát triển các sản phẩm thịt lành mạnh (Chauhan và cộng sự, 2021).

1.2.2. Tổng quan về cây *Rosmarinus officinalis* L.

Rosmarinus officinalis L. có tên thông thường là Hương thảo, một loại cây gia dụng phổ biến thuộc họ Lamiaceae và được trồng ở nhiều nơi trên thế giới (Begum và cộng sự, 2013). *R. officinalis* phân bố rộng rãi ở các nơi trên thế giới. Ở châu Phi, châu Âu, châu Á thì tập trung phân bố ở Việt Nam, Trung Quốc, Ấn Độ, Đài Loan. Ngoài ra, *R. officinalis* còn được phân bố ở Bắc Mỹ, Nam Mỹ và Châu Đại dương (Hanelt và cộng sự, 2001; Govaerts, 2014).

Thành phần hóa của *R. officinalis* bao gồm nhựa, axit tannic, tinh dầu và flavonoid. Thành phần chính của tinh dầu *R. officinalis* bao gồm borneol, camphene, cineol, pinen và camphor (Begum, 2013). Tinh dầu loài này thường được sử dụng để điều trị các bệnh liên quan đến hệ thống thần kinh trung ương, hệ thống mạch máu tim, tình trạng tiết niệu genito, điều trị gan, hệ thống sinh sản và hệ thống hô hấp (Begum, 2013).

Thành phần hóa học trong loài *R. officinalis* có 3 cấu trúc polyphenol khác nhau là phenolic diterpenes (axit carnosic, carnosol và 12 - O - methylcarnosic axit), dẫn xuất caffeoyl (axit rosmarinic), và flavon (isoscuteallarenin 7 - O - glucoside và genkwanin) (Del Bano và cộng sự, 2003). Tùy vào từng giai đoạn phát triển và bộ phận của cây mà hàm lượng các hợp chất phenol trong cây có sự thay đổi. Bên cạnh đó, axit rosmarinic thường có tỷ lệ cao nhất trong các polyphenol của cây hương thảo ở tất cả bộ phận của cây (Del Bano, 2003). Tinh dầu thu được từ *R. officinalis* rất giàu chất chống oxy hóa, các chất chống oxy hóa được tìm thấy trong *R. officinalis* bao gồm ba cấu trúc polyphenol trên, các chất này giúp tăng cường sự phát triển thần kinh và có tác dụng bảo vệ phóng xạ chống lại tổn thương nhiễm sắc thể trong tế bào bạch huyết của người. Năm 2007, tinh dầu của *R. officinalis* đã được đánh giá là có đặc tính kháng khuẩn cụ thể đối với cả vi khuẩn gram dương và gram âm (Bandara và cộng sự, 2007).

R. officinalis còn chứa các chất chuyển hóa thứ cấp có tiềm năng điều trị, chẳng hạn như carnosol và các axit carnosic, rosmarinic, ursolic, oleanolic và micromeric, các hợp chất này đã được sử dụng và được nghiên cứu về khả năng chống viêm, khả năng chữa lành vết thương, tác dụng đối với sự tồn tại của mô, tác dụng chống ung thư da, kháng nấm và hoạt động bảo vệ tia cực tím (Altinier và cộng sự, 2007; Hcini và cộng sự, 2013; Lee và cộng sự, 2017). Ngoài ra, thành phần hợp chất có trong loài *R. officinalis* còn được đánh giá về hoạt tính kháng nấm và cho thấy có khả năng chống lại

các loại nấm gây bệnh cho cây trồng (Bandara và cộng sự, 2007). *R. officinalis* ở Lâm Đồng cũng được nghiên cứu làm chất bảo quản thực phẩm (Tâm và cộng sự, 2018), tinh dầu được ứng dụng làm dược phẩm để chữa một số bệnh về hô hấp (Anh, 2019).

Hợp chất được chiết xuất từ *R. officinalis* đã được nghiên cứu và xác nhận là có hoạt tính chống oxy hóa mạnh, hỗ trợ tiềm năng của nó như một chất chống viêm và khả năng chống kết tập tiểu cầu, là công cụ để cải thiện vi tuần hoàn (Yimam và cộng sự, 2017).

Cao chiết của *R. officinalis* được nghiên cứu và ứng dụng như một chất bảo quản tự nhiên và an toàn trong bảo quản lạnh các sản phẩm như chả từ cá thác lát. Chả cá được bổ sung cao chiết hương thảo đảm bảo được các đặc tính như cảm quan, Sản phẩm có thể bảo quản đến 2 tuần trong tủ mát vẫn đảm bảo về mặt vi sinh và chất lượng của sản phẩm (Tâm và cộng sự, 2018).

Gần đây tinh dầu *R. officinalis* thu tại Lâm Đồng đã được Anh và cộng sự phân tích và đánh giá bằng phương pháp sắc ký khí – ghép khối phổ (GC-MS) ghi nhận có một số thành phần chính như là R- α -Pinene, tiếp theo là eucalyptol (cineole), levoverbenone, geraniol, bornyl acetate, và camphol (Anh và cộng sự, 2019). Đối với lá khô đã đưa ra 17 thành phần, trong đó các thành phần chính là 1R- α -pinene, eucalyptol (cineole), levoverbenone, geraniol, camphor, và bornyl axetat. Đặc biệt phát hiện một thành phần mới là L-verbenone là một hợp chất hữu cơ thuộc nhóm terpene, đã được chứng minh là một chất có lợi cho sức khỏe và được sử dụng trong điều trị các bệnh về đường hô hấp (Anh và cộng sự, 2019).

Tinh dầu từ lá tươi hoặc khô của *R. officinalis* được sử dụng trong ẩm thực như một loại gia vị và chất bảo quản thực phẩm, trong y học là chất ức chế cho nhiều chứng rối loạn (Jessica Elizabeth và cộng sự, 2017). Lá *R. officinalis* tươi và khô hiện đang được sử dụng phổ biến trong lĩnh vực ẩm thực (Moore và cộng sự, 2016). sản phẩm của lá *R. officinalis* có mặt trên thế giới và mang lại giá trị kinh tế cao, ứng dụng của loại thảo mộc mạnh mẽ này cũng mở rộng sang y học cổ truyền và dân gian vì hương thảo là một nguồn tài nguyên phong phú các hợp chất phenolic, có tác dụng chống ung thư (Moore và cộng sự, 2016).

Các nghiên cứu gần đây cho thấy chiết xuất của *R. officinalis* chứa một nguồn axit rosmarinic tiềm năng, mà axit rosmarinic được biết là một chất chống oxy hóa mạnh được ứng dụng rộng rãi trong ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm

(Nguyễn và cộng sự, 2021). *R. officinalis* rất giàu các hợp chất phenolic được biết đến với các đặc tính và ứng dụng đa dạng tiềm năng của chúng. Công trình này đã chứng minh khả năng khai thác kỹ thuật chiết xuất có hỗ trợ vi sóng được tối ưu hóa để thu được trong thời gian ngắn các chất chống oxy hóa quý giá này từ lá *R. officinalis*. Nói đến ứng dụng của cây *R. officinalis* trong thực phẩm, thì chiết xuất etanolic từ lá được kết hợp trong công thức pho mát tươi để cung cấp hương vị, mùi thơm đặc biệt và đóng vai trò như một chất tăng cường hương vị để người tiêu dùng sử dụng một cách tốt hơn (Himed-Idir và cộng sự, 2021).

Hàm lượng của các hợp chất phenolic và flavonoid, axit hydroxycinnamic và triterpenoit có trong dịch chiết của *R. officinalis* đã được xác định, và phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao - phát hiện mảng diode cho thấy rằng axit rosmarinic và các dẫn xuất hydroxycinnamic khác là thành phần chính của dịch chiết. Được chứng minh là có cả hoạt tính chống oxy hóa và khả năng loại bỏ hydrogen peroxide theo cách phụ thuộc vào nồng độ (Lamponi và cộng sự, 2021). *R. officinalis* và *Thymus vulgaris* được nghiên cứu và ứng dụng làm chất thúc đẩy tăng trưởng tự nhiên, đóng một vai trò quan trọng trong việc cải thiện sự nhiễm trùng đường ruột ở gia cầm (Lahlou và cộng sự, 2021).

R. officinalis được nghiên cứu về hoạt tính chống oxy hóa và được ghi nhận chiết xuất của cây này thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh mẽ vì khả năng bắt gốc tự do, ngăn chặn quá trình peroxy hóa lipid và tăng hoạt động của các enzyme chống oxy hóa (Sueishi và cộng sự, 2018). Hoạt động chống oxy hóa đáng kể này của *R. officinalis* có thể tăng cường khả năng bảo vệ của cơ thể và được giải thích cho các tiềm năng điều trị của nó. (Sueishi và cộng sự, 2018).

R. officinalis là một loài được biết đến rộng rãi với công dụng chữa bệnh, nó cũng được sử dụng làm nguyên liệu cho ngành công nghiệp thực phẩm và mỹ phẩm, mới đây người ra đã phát hiện ra khả năng bảo vệ gan của loài này qua việc đánh giá hoạt tính chống oxy hóa qua ống nghiệm và sử dụng các xét nghiệm DPPH, FRAP (Ielciu và cộng sự, 2021). Gần đây nhất, *R. officinalis* lại được nghiên cứu, ứng dụng làm chất bảo quản thực phẩm do tiềm năng kháng khuẩn của chúng (Khin và cộng sự, 2021) và còn là một vị thuốc ức chế sự phát triển của bệnh ung thư (Makaremi và cộng sự, 2021).

Trong nông nghiệp do tác hại của thuốc bảo vệ thực vật đối với môi trường và sức khỏe con người, các phương pháp kiểm soát thay thế đã trở nên phổ biến hơn trong quản lý dịch hại rau (Li và cộng sự, 2021). Trồng xen và sử dụng thiên địch là hai

phương pháp phòng trừ thân thiện với môi trường được thực hiện rộng rãi. Gần đây việc nghiên cứu trồng xen ớt ngọt và *R. officinalis* đối với việc ngăn chặn quần thể sâu bệnh đã được đánh giá cao trong điều kiện nhà kính (Li và cộng sự, 2021). Kết quả của một nghiên cứu cho thấy rằng việc trồng xen cây Hương thảo với cây ớt ngọt đã làm giảm đáng kể mật độ quần thể của ba loài sâu hại chính trên cây ớt ngọt là *Frankliniella intonsa*, *Myzus persicae* và *Bemisia tabaci* nhưng không ảnh hưởng đến mật độ quần thể của các loài thiên địch được sử dụng như là bộ săn mồi *Orius sauteri* và ký sinh trùng *Encarsia formosa* (Li và cộng sự, 2021).

1.2.3. Tổng quan về cây *Litsea cubeba* (Lour.) Pers.

Litsea cubeba (Lour.) Pers. hay còn gọi là bời lời chanh, màng tang; thuộc họ Lauraceae, cây nhỏ, cao chừng 5m; lá mọc so le, hình mác, mép nguyên, có cuống ngắn, mặt trên xanh sẫm, mặt dưới màu tro trắng, vỏ có mùi thơm; hoa màu trắng; quả nhỏ, lúc non có màu xanh, khi chín có màu đen (Lợi, 2004).

L. cubeba mọc hoang dại, thường phân bố ở các vùng rừng núi cao, có khí hậu lạnh hay mát như Lai Châu, Lào Cai, Yên Bái, Hà Giang, Tuyên Quang (Lợi, 2004). Trong thời gian gần đây người dân đã bắt đầu nhân giống và trồng cây để đảm bảo nguồn nguyên liệu trong việc khai thác tinh dầu. Người ta sử dụng quả hoặc rễ để làm thuốc để chữa đau bụng, không tiêu, nhức đầu, và có thể chữa rắn cắn. Trong hầu hết các bộ phận trên cây *L. cubeba* đều chứa tinh dầu, ở lá 0,2 - 0,4%, quả 2 - 6%, rễ 0,2 - 1,2% (Lợi, 2004). Ngoài ra *L. cubeba* còn phân bố ở các vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới Australia, New Zealand, Bắc Mỹ, Nam Mỹ và Châu Á (Si, 2012).

L. cubeba được xác định có một số hợp chất như alkaloid, monoterpen, sesquiterpenes, diterpenes, flavonoid, amid, lignans, steroid và axit béo có công dụng chống ung thư, chống viêm, kháng khuẩn, tiểu đường, HIV (Kamle và cộng sự, 2019). Tinh dầu *L. cubeba* có chứa các hợp chất chính như citral, sabinene, limonene, linalool trong đó citral là thành phần chủ yếu (Dai, 2020). Tùy từng khu vực mà thành phần tinh dầu trong cây có sự khác nhau (Si, 2012). *L. cubeba* được nghiên cứu về hoạt tính chống oxy hóa từ các hợp chất chiết được từ cây (Hwang và cộng sự, 2005). Bên cạnh đó, tinh dầu *L. cubeba* còn được nghiên cứu chống lại một số nấm bệnh như: *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Alternaria alternata* và *Aspergillus niger* (Gogoi và cộng sự, 2011). Tinh dầu được chiết xuất từ quả *L. cubeba* còn có hoạt tính kháng khuẩn, và tác dụng chống lại *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* (Li và cộng sự, 2014; Hao và

cộng sự, 2021). Sự kết hợp của các thành phần chính của tinh dầu *L. cubeba* và *L. pungens* được đánh giá là có khả năng chống lại ấu trùng *Trichoplisia ni* ở giai đoạn thứ ba (Jiang và cộng sự, 2009). *L. cubeba* còn được nghiên cứu để chống lại mối Nhật Bản bằng phương pháp xử lý hung trùng (Seo và cộng sự, 2009).

Năm 2020 ở Trung Quốc, hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu thu được từ *L. cubeba* được nghiên cứu để chống lại *Salmonella* và *E. coli* O157, đặc biệt là vi khuẩn gram âm, bên cạnh đó tinh dầu loài này còn được áp dụng làm chất bảo quản trái cây và rau quả (Yang và cộng sự, 2020). Cùng với đó thành phần citral của tinh dầu *L. cubeba* được nghiên cứu để chống lại nấm mốc gây hại cho sản phẩm của nông nghiệp như nấm thuộc chi *Penicillium* (Ju và cộng sự, 2020). Cụ thể cho thấy tinh dầu của *L. cubeba* có thể kiểm soát sự phát triển của *Penicillium italicum* và *Penicillium digitatum*, từng bước ứng dụng thay thế cho thuốc diệt nấm hóa học (Wang và cộng sự, 2020). Ngoài ra thành phần citral của tinh dầu *L. cubeba* còn được ứng dụng làm màng bọc thực phẩm có tác dụng diệt một số loại vi khuẩn có hại (Thielmann và cộng sự, 2021). Ở Việt Nam, dịch chiết từ quả của *L. cubeba* được nghiên cứu để tạo ra nano vàng khi cho phản ứng với dung dịch HAuCl_4 để đáp ứng nhu cầu của trong ngành y học (Dat và cộng sự, 2020). Cũng vào năm này, một loại hợp chất mới được chiết xuất từ *L. cubeba* đó là dibenzyl butan lignin có khả năng ức chế sự biệt hóa tế bào hủy xương giúp ngăn ngừa quá trình hủy xương và các bệnh liên quan (Yu và cộng sự, 2020).

Từ các hoạt tính sinh học kháng khuẩn và kháng nấm, tinh dầu *L. cubeba* đã được nghiên cứu nano hóa để làm tăng khả năng hòa tan trong nước để ứng dụng như một chất bảo quản thực phẩm và chất chống oxy hóa thực phẩm (Wang và cộng sự, 2021). Từ các điểm nổi bật về hoạt tính sinh học của tinh dầu *L. cubeba*, vào năm 2021 Dai và cộng sự đến từ Trung Quốc đã ứng dụng đưa tinh dầu của *L. cubeba* vào nước ép của rau củ quả để bảo quản nước ép đến 4 ngày mà chất lượng không bị ảnh hưởng đáng kể, mở rộng ứng dụng của tinh dầu *L. cubeba* trong ngành thực phẩm (Dai và cộng sự, 2021). Tiếp nối trong các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của *L. cubeba*, nghiên cứu gần đây cho thấy tinh dầu loài này còn có khả năng chống lại vi khuẩn *Acinetobacter baumannii*, một loại vi khuẩn gram âm có khả năng đề kháng với kháng sinh mạnh (Hao và cộng sự, 2021).

1.3. Tổng quan về các đối tượng hỗ trợ nghiên cứu

1.3.1. Tổng quan về cây *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob.

Litsea glutinosa (Lour.) C.B.Rob. thuộc họ Lauraceae có tên thông thường là mò nhót, sần thụ, sần cào, bời lời. Cây thường có nhiều hình dạng khác nhau, cành trưởng thành có hình trụ, lá mọc so le thường mọc thành cụm ở đầu cành; vỏ của thân thường có màu nâu, không mùi, không vị và có chất nhót nên thường được ứng dụng làm chất kết dính; quả hình cầu, nhỏ, màu đen chủ yếu chứa các dầu laurin và olenin. *L. glutinosa* phân bố nhiều nhất ở Trung Quốc, Ấn Độ và một số nước Đông Nam Á. Bên cạnh đó, *L. glutinosa* còn có công dụng chữa một số bệnh như kiết lỵ, thiên đầu thống, chữa các vết bỏng (Lợi, 2004).

Thành phần hoá học của loài *L. glutinosa* đã được xác định bao gồm các hợp chất như alkaloid, flavonoid, tannin, saponin (Pradeepa và cộng sự, 2011). Vào năm 2019, một alkaloid morphinandienone mới đã được các nhà khoa học của Trung Quốc phân lập từ trong vỏ rễ của cây *L. glutinosa* bằng kỹ thuật quang phổ (Ji và cộng sự, 2019). Bên cạnh đó, dịch chiết được chiết xuất bằng ethanol của vỏ cây *L. glutinosa* có khả năng kháng được một số loại vi khuẩn như *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Proteus* sp., *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa* (Pradeepa và cộng sự, 2011). Theo nghiên cứu về hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm vào năm 2018 cho thấy các chất chiết xuất từ lá loài *L. glutinosa* có khả năng chống lại cả vi khuẩn và nấm, đặc biệt là vi khuẩn gram dương, đó là do sự có mặt của chất phytochemical có trong lá cây (Lagudu và cộng sự, 2018).

Thành phần hoá học của loài *L. glutinosa* được nhân trùng cũng đã được đánh giá và cho thấy không có mặt nhóm hợp chất alkaloid trong cây, tuy nhiên có sự hiện diện của 2 hợp chất là stigmasterol và β -sitosterol, 2 hợp chất này rất đặc trưng cho cây (Haque và cộng sự, 2014). Bên cạnh đó, thành phần hoá học của loài *L. glutinosa* phân bố ở Huế bao gồm 15 chất lần lượt là nicotiflorin, rutin, afzelin, quercitrin, magnocurarin chloride, oblongine chloride, boldine methochloride, pallidine, predicietrine, criptodorine, reticuline, aripuanin, blumenol A, phloroglucinol, and 2-phyten-1-ol. Trong đó, nicotiflorin, magnocurarin chloride, oblongine chloride, boldine methochloride, pallidine, predicietrine, criptodorine, aripuanin, blumenol A, phloroglucinol là những chất được phát hiện đầu tiên (Thao và cộng sự, 2019). Theo

nghiên cứu về thành phần tinh dầu của *L. glutinosa* các hydrocacbon monoterpene (E) - β -ocimene (57,4%), cùng với α -pinen (7,8%) và β -pinen (7,3%) là những thành phần chính có trong tinh dầu chiết xuất từ lá của cây (Dai và cộng sự, 2020). Dịch chiết từ lá và vỏ cây *L. glutinosa* được đánh giá là có hoạt tính chống oxy hóa (Devi và cộng sự, 2010).

L. glutinosa được ghi nhận là đối tượng không thể thiếu trong ngành công nghiệp nhang và còn được ứng dụng làm chất kết dính trong công thức viên nén, là miếng dán cho các chi bị gãy. Một số bộ lạc còn sử dụng vỏ cây ở dạng bột để trị vết thâm do đòn đánh, ngoài da (Ramana và cộng sự, 2017).

Hạt của *L. glutinosa* đã sử dụng của để nghiên cứu làm than hoạt tính bằng phương pháp hoạt hóa hóa học với NaHCO_3 để làm sạch nước thải (Đào và cộng sự, 2020). Ở Ấn Độ *L. glutinosa* đã được làm rõ về mục tiêu được lý chống lại bệnh loãng xương bằng các phương pháp tiếp cận như *In-silico*, *In-vitro* (Changani và cộng sự, 2020). Ngoài được sử dụng như một chất kết dính, *L. glutinosa* còn được nghiên cứu về khả năng hoạt động bề mặt của saponin áp dụng trong các loại sản phẩm tẩy rửa thu được từ mô sẹo trong quá trình nuôi cấy *In-vitro* (Wisetkomolmat và cộng sự, 2020).

1.3.2. Tổng quan về *Saccharum officinarum* L.

Saccharum officinarum L. có tên thông thường hay gọi là mía thuộc chi *Saccharum*, họ Poaceae, bộ Poales, lớp Monocotyledoneae, chủ yếu phân bố ở khu vực nhiệt đới và ôn đới (Artschwager và cộng sự, 1958). Nhiều tác giả nghiên cứu nguồn gốc cây *S. officinarum* đã xác nhận Guinea là quê hương của cây *S. officinarum* nguyên thủy, nhưng theo De Candelle thì cây *S. officinarum* được trồng đầu tiên tại vùng Đông Nam Á rồi từ đó qua châu Phi và sau cùng là châu Mỹ.

Ở Việt Nam, cây *S. officinarum* đã có từ lâu đời. Theo nghiên cứu của Ni tới từ Trung Quốc cây *S. officinarum* và nghề chế biến đường cổ xưa ở Trung Quốc đã được du nhập từ Giao Chi (Việt Nam) đến Quảng Đông, Hồ Bắc (Thùy, 1999). Mía có thân to, chia đốt, chứa nhiều đường có chiều cao từ 2 - 6m. Cây *S. officinarum* là nguồn nguyên liệu quan trọng của ngành công nghiệp chế biến đường. Sucrose có trong *S. officinarum* là chất làm ngọt và thức ăn có giá trị cao và cũng phục vụ như là chất bảo quản cho thực phẩm khác. Mật đường được dùng để chưng cất thành cồn và là chất phụ gia quan trọng trong thức ăn gia súc.

Ở Brazil, cây *S. officinarum* được sản xuất để cung cấp ethanol làm nhiên liệu động cơ. Ngọn của *S. officinarum* cũng có thể được sử dụng làm thức ăn gia súc. *S. officinarum* cung cấp đường, năng lượng sinh học, sợi, phân bón và vô số sản phẩm phụ khác với hệ sinh thái bền vững. Trên thế giới cây *S. officinarum* chiếm diện tích 20,42 triệu hecta với tổng sản lượng là 1,333 triệu tấn (Ul Hussnain và cộng sự, 2011). Ở nước ta nghề trồng *S. officinarum* đã có từ lâu đời, cây *S. officinarum* được trồng rộng khắp trong cả nước, trải dài từ Lạng Sơn đến Cà Mau (<https://www.vienmiaduong.vn/vi/nganhang-kien-thuc/phan2.html>).

Bã và nước ép của *S. officinarum* là những phần có giá trị nhất để sản xuất cồn sinh học. Bã bùn là sản phẩm cặn bã còn lại thải ra sau khi chế biến đường tinh luyện. Trong bã mía có chứa một lượng dinh dưỡng cao như đạm, lân, lưu huỳnh và canxi. Thành phần hóa học và đặc tính của bã *S. officinarum* được xác định bằng phương pháp nhiễu tia X, chụp ảnh hiển vi điện tử quét và phương pháp phân tích huỳnh quang tia X (Thoa và cộng sự, 2018). Kết quả của nghiên cứu trên cho thấy bã của *S. officinarum* có hàm lượng silic dioxit, nhôm oxit cao và hàm lượng nhỏ các oxit của sắt, kẽm và kẽm thỏ, bên cạnh đó bã của *S. officinarum* được sử dụng để thay thế một phần felspat trong chế biến gạch ceramic (Thoa và cộng sự, 2018). Thành phần hóa học cơ bản của *S. officinarum* là xenlulozo (44,02%), lignin (25,49%), pentozan (18,70%), các chất tan trong nước nóng (5,01%), các chất tan trong dung dịch NaOH 1% (39,84%) và độ tro (5,19%) (Diễn và cộng sự, 2014). Bã *S. officinarum* chứa các thành phần tự nhiên có thể ức chế đáng kể sự phát triển của mầm bệnh từ thực phẩm. Hàm lượng phenol trong bã *S. officinarum* được phát hiện là cao hơn 4 mg/g bã mía khô, với 470 mg quercetin/g polyphenol. Chiết xuất bã mía cho thấy hoạt động kìm khuẩn chống lại sự phát triển của *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* và *Salomonella typhimurium* (Thùy, 1999).

Ngoài ra, dịch chiết từ bã *S. officinarum* có thể làm tăng độ dẫn điện của huyền phù tế bào vi khuẩn gây rò rỉ chất điện giải trong tế bào. Ngoài sản phẩm chính là đường, các sản phẩm phụ của *S. officinarum* còn là nguyên liệu cho một số ngành công nghiệp khác như rượu, giấy, gỗ ép, dẹt, dược phẩm, thức ăn gia súc, ... *S. officinarum* có khả năng để lại gốc được nhiều năm, khả năng thích ứng rộng, chống chịu tốt với các điều kiện khắc nghiệt (Thùy, 1999). Bã *S. officinarum* cũng được ứng dụng nhiều trong các lĩnh vực khác nhau. Bã mía được sử dụng làm vật liệu hấp thụ nguồn nguyên liệu phế

thải thông qua quá trình xử lý hóa học bằng natri hidroxit và acid citric (Lương, 2016). Ngoài ra, bã mía được nhiệt phân trên hệ thống biomass nhiệt phân nhanh tạo sinh khối thành sản phẩm lỏng (bio-oil) (Hải, 2011). Tại Việt Nam từ xưa, bã *S. officinarum* đã được sử dụng làm chất dẫn cháy hiệu quả cao mà lại không tốn nhiều kinh phí. Trong công nghiệp sản xuất nhang, bã *S. officinarum* được dùng làm một phụ liệu tăng khả năng cháy cho nhang. Nhằm tăng thêm ứng dụng của bã mía, góp phần giải quyết vấn đề ô nhiễm môi trường trong sản xuất đường đồng thời tăng giá trị kinh tế cho cây mía.

CHƯƠNG II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

- Cây *Eucalyptus globulus* L.
- Cây *Rosmarinus officinalis* L.
- Cây *Litsea cubeba* (Lour.) Pers.

2.1.2. Đối tượng hỗ trợ

- Cây *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob.
- Cây *Saccharum officinarum* L.

2.1.3 Hóa chất hỗ trợ nghiên cứu

Ethanol	Thuốc thử Bajiet
Natri hydroxit (NaOH)	Thuốc thử Tollen
Natri cabornat (NaCO ₃)	Bột Magie
Axit hydrochloric (HCl)	Sắt (III) clorua (FeCl ₃)
Thuốc thử Mayer	Chì acetate (Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₄)
Thuốc thử Bouchardat	Gelatin

2.1.4. Thiết bị

- Hệ thống chiết soxhlet
- Hệ thống chưng cất cách thủy
- Máy cô quay chân không IKA
- Tủ sấy UNB 500 Memmert
- Cân phân tích Denver Instrument MXX 212
- Máy xay
- Hệ thống sắc ký khí (GC)
- Hệ thống sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu và xử lý mẫu

Thu mẫu thực vật đúng thời điểm trong ngày (từ 10 giờ đến 11 giờ) để không làm ảnh hưởng đến hàm lượng và chất lượng của tinh dầu có trong các đối tượng nghiên cứu (Thạch, 2003).

Các đối tượng nghiên cứu được thu tại thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng. Trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ thu chủ yếu lá của các đối tượng và thu khi cây đã trưởng thành đảm bảo được hàm lượng và chất lượng của tinh dầu có trong lá.

Mẫu sau khi thu được sẽ được rửa sơ để loại bỏ các tạp chất và bụi bẩn bên ngoài của lá. Sau đó ta đem mẫu đi sấy ở nhiệt độ từ 55 °C trong 24 giờ, hạn chế sấy mẫu ở nhiệt độ cao để tránh làm ảnh hưởng đến hàm lượng tinh dầu bên trong lá. Sau khi lá được sấy khô ta xay mẫu và qua các bước sàng lọc để tạo thành dạng bột mịn phục vụ cho việc tạo ra sản phẩm, cuối cùng ta thu được mẫu dưới dạng bột (Phụ lục 1).

2.2.2. Phương pháp chiết Soxhlet (Soxhlet, 1879; Harborne, 1998)

Để tách chiết các hợp chất trong các đối tượng chúng tôi sử dụng phương pháp chiết Soxhlet để thu cao chiết của các đối tượng nghiên cứu, ở đây là cây *E. globulus*, *R. officinalis*, *L. cubeba*.

Chúng tôi tiến hành cân 30 g mẫu đã xử lý sấy khô ở điều kiện 55 °C trong 24 giờ. Mẫu sau khi sấy được xay thô và cho vào túi vải để tiến hành tách chiết với 500 ml dung môi là cồn 70 °C trong thời gian 8 giờ. Sau khi hoàn thành quá trình tách chiết, chúng tôi thu được dịch chiết và đem xử lý thu hồi dung môi bằng hệ thống cô quay chân không ở điều kiện 180 vòng/phút với nhiệt độ 70 °C trong vòng 1 giờ đồng hồ. Tiếp đến cô cao dịch chiết bằng hệ thống chưng cách thủy ở nhiệt độ 70 °C để loại bỏ hoàn toàn lượng dung môi còn lại để thu cao chiết.

2.2.3. Định tính các hợp chất thứ cấp (Đàn và cộng sự, 1985; Phụng, 2007)

- Chuẩn bị dịch cao chiết để khảo sát thành phần hóa học: Hòa tan 0,2 g cao chiết với 10ml cồn 70 °C sau đó lọc lại bằng giấy lọc để loại bớt cặn giúp quan sát tốt hơn trong quá trình khảo sát.

- Định tính alkaloid:

Chuẩn bị 3 ống nghiệm, sau đó cho vào mỗi ống nghiệm 1 ml dịch cao chiết

+ Ống thứ nhất làm đối chứng

+ Ống 2 cho thêm 5 giọt thuốc thử Mayer

+ Ống 3 cho thêm 5 giọt thuốc thử Bouchardat

Quan sát hiện tượng phản ứng trong ống nghiệm

- Định tính flavonoid:

+ Thí nghiệm 1: Phản ứng Cyanidin, chuẩn bị 2 ống nghiệm, mỗi ống nghiệm thêm vào 2 ml dịch chiết

Ống 1: Đối chứng

Ống 2: Cho vào ít bột magie và vài giọt acid hydrochloric, lắc nhẹ và đun sôi cách thủy vài phút

+ Thí nghiệm 2: Phản ứng với kiềm

Cho 2 giọt dịch cao chiết lần lượt lên 2 bên trên giấy lọc, hơi khô bằng ngọn lửa đèn cồn. Giọt thứ nhất làm đối chứng, Giọt còn lại hơi trên miệng bình amoniac đậm đặc. Quan sát hiện tượng xảy ra

+ Thí nghiệm 3: Phản ứng với kiềm

Chuẩn bị 2 ống nghiệm, mỗi ống cho vào 1 ml dịch cao chiết.

Ống 1: Làm đối chứng

Ống 2: Cho vào vài giọt NaOH 10%

+ Thí nghiệm 4: Phản ứng với kiềm

Chuẩn bị 2 ống nghiệm, cho vào mỗi ống 1 ml dịch chiết.

Ống 1: Làm đối chứng

Ống 2: Cho thêm vài giọt FeCl_3 5%

Quan sát các hiện tượng xảy ra trong ống nghiệm

- Định tính nhóm coumarine:

Phản ứng mở vòng Lacton. Chuẩn bị 2 ống nghiệm, mỗi ống nghiệm cho vào 1 ml dịch cao chiết

+ Ống 1: Cho vào 0.5 ml NaOH 10%

+ Ống 2: Để nguyên

Đun sôi 2 ống nghiệm, kế tiếp cho vào 2 ống nghiệm mỗi ống 2 ml nước cất, lắc đều. Sau đó cho vào ống 1 vài giọt HCl đậm đặc. Quan sát hiện tượng

- Định tính glycoside Tim:

Phản ứng với Baljet, chuẩn bị 2 ống nghiệm.

+ Ống 1: Cho vào 1ml nước cất

+ Ống 2: Cho vào 1ml dịch cao chiết

Cho vào mỗi ống 0.5 ml thuốc thử Baljet. Quan sát hiện tượng và so sánh với dịch cao chiết ban đầu.

- Định tính nhóm tannin: Chuẩn bị 4 ống nghiệm, mỗi ống nghiệm cho vào 1ml dịch cao chiết.

+ Ống 1: Đối chứng

+ Ống 2: Cho vào 5 giọt chì acetate 10%

+ Ống 3: Cho vào 5 giọt gelatin 1%

+ Ống 4: Cho vào 5 giọt FeCl_3

- Định tính nhóm saponin:

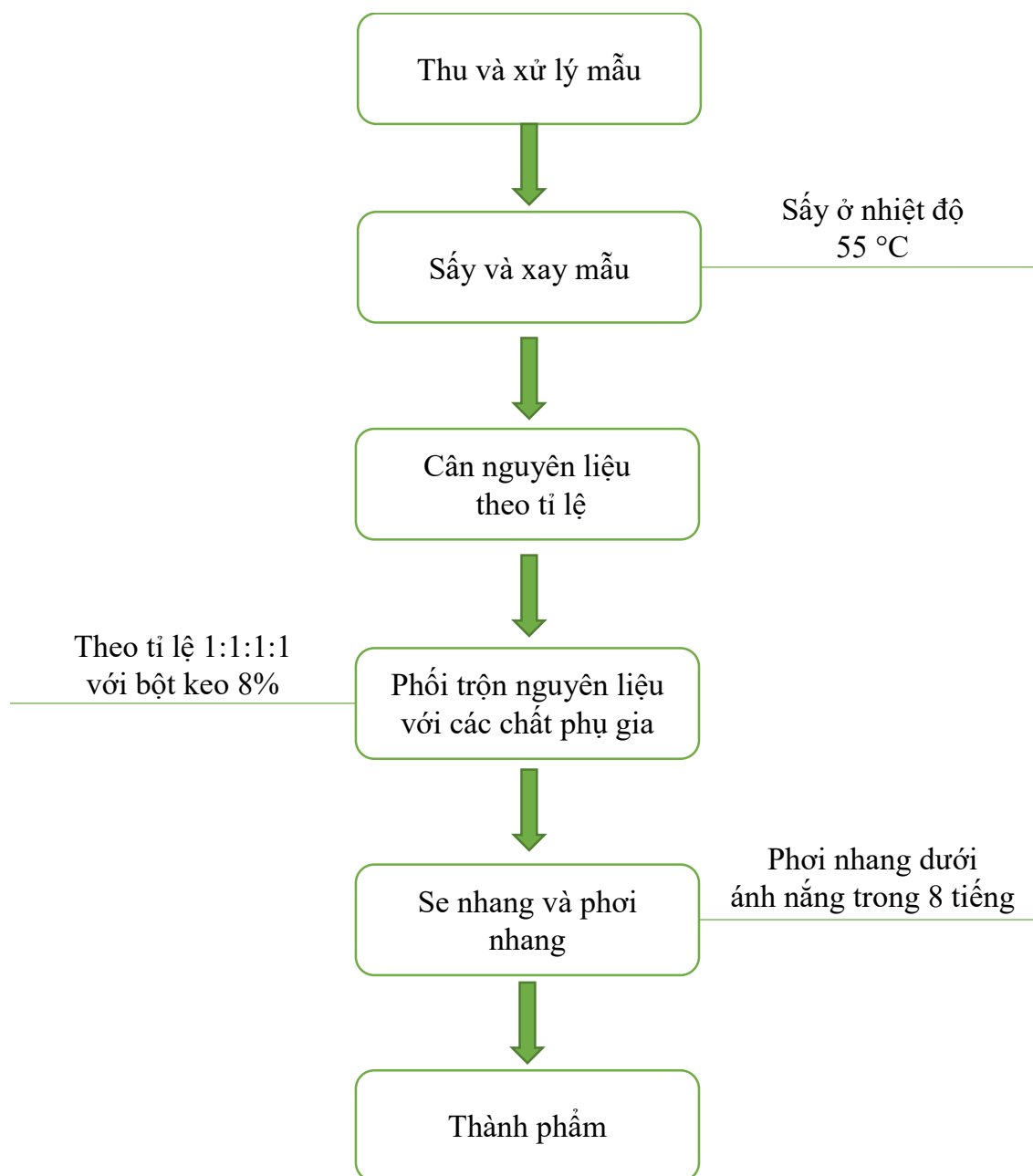
+ Thí nghiệm 1: Cho vào ống nghiệm 5 ml dịch lọc. Sau đó đun sôi nhẹ, cho tiếp vào 10ml nước cất. Lắc mạnh theo chiều dọc trong 5 phút; sau đó giữ nguyên trong 15 phút; quan sát cột bọt.

+ Thí nghiệm 2: Chuẩn bị hai ống nghiệm, cho vào mỗi ống 1 ml dịch lọc. Ống thứ nhất cho thêm 5 ml NaOH 0,1 N (pH=13); ống thứ hai cho thêm 5 ml HCL 0,1 N (pH=1); bịt miệng ống và lắc mạnh cả hai ống trong 1 phút và để yên. Quan sát cột bọt.

2.2.4. Phương pháp sắc ký khí (GC) và sắc ký khí ghép khối phổ (GC/MS)

Sử dụng phương pháp sắc ký khí Gas Chromatography (GC) để khảo sát các hợp chất vô cơ và phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) để khảo sát các hợp chất hữu cơ có trong khói nhang được làm từ *E. globulus*, *R. officinalis*, *L. cubeba*. Khói nhang được phân tích các thành phần hóa học bằng những phương pháp trên tại Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm Tp. Hồ Chí Minh (CASE) thuộc Sở Khoa học và Công nghệ Tp. Hồ Chí Minh thực hiện.

2.2.5. Các bước tạo sản phẩm nhang hữu cơ



Sơ đồ 1: Quy trình tóm tắt tạo nhang thiên nhiên trong phòng thí nghiệm

2.2.6. Phương pháp phỏng vấn

Sau khi chúng tôi xây dựng được các bước làm nhang, chúng tôi đã tiến hành lập và khảo sát các tỉ lệ phối trộn nhang khác nhau. Tiếp đó chúng tôi đã lập bảng khảo sát (Phụ lục 2) với 100 người, ở môi trường khảo sát là hộ gia đình.

Các chỉ tiêu khảo sát mà chúng tôi đưa ra dựa trên mục đích và nhu cầu của đa số người tiêu dùng. Trên thang điểm tối đa là 5 điểm (Rất hài lòng) và tối thiểu là 1 điểm (Rất không hài lòng).

- Độ cháy của nhang
- Mùi thơm của nhang khi chưa đốt
- Mùi thơm của khói nhang sau khi đốt
- Sự thoải mái khi đang sử dụng nhang
- Độ mịn của tàn nhang sau khi cháy
- Mức độ yêu thích

2.2.7. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được chúng tôi thực hiện bố trí một cách ngẫu nhiên và được lặp lại 3 lần. Các dữ liệu được chúng tôi xử lý bằng phần mềm Excel 2016.

CHƯƠNG III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát khối lượng sấy mẫu

Bảng 1. Kết quả khảo sát khối lượng sấy mẫu (Phụ lục 3)

Loài	Khối lượng trước khi sấy (g)	Khối lượng trung bình sau khi sấy khô (g)
<i>Eucalyptus globulus</i> L.	500	261,3333 $\pm$ 8,0829
<i>Litsea cubeba</i> (Lour.) Pers.		192,6667 $\pm$ 2,5166
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.		183,3333 $\pm$ 22,5462

Qua quá trình sấy mẫu với lượng mẫu tươi đưa vào ở mỗi đối tượng là 500 g, nhiệt độ 55 °C cho đến khi khối lượng không đổi, nhận thấy hiệu suất sấy mẫu ở *E. globulus* là cao nhất với 52,27%, *L. cubeba* là 38,53%, và *R. officinalis* có hiệu suất thấp nhất với 36,67%.

Thông qua quá trình sấy mẫu chúng tôi ghi nhận *E. globulus* là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho ngành công nghiệp nhang thiên nhiên ở Việt Nam với hiệu suất sấy thô cao đảm bảo cho chất lượng và kinh phí của nguồn nguyên liệu. Trong khi đó *L. cubeba* và *R. officinalis* cho hiệu suất sấy thô thấp dẫn đến dễ thiếu hụt nguồn nguyên liệu trong quá trình sản xuất, đóng vai trò như một chất phụ gia dùng để tạo mùi hương cho nhang. Cùng với đó qua việc sấy mẫu chúng tôi cũng ghi nhận được tiềm năng của các đối tượng trong quá trình hình thành nên nguồn nguyên liệu (*E. globulus* cho lượng bột nhiều nhất trong số các đối tượng, *L. cubeba* và *R. officinalis* có mùi hương thơm hơn) giúp cho việc bảo quản nguyên liệu một cách tốt hơn, chống bị nấm mốc, lưu giữ được mùi hương đặc trưng của các đối tượng lâu hơn.

3.2. Kết quả khảo sát sơ bộ một số hợp chất thứ cấp có trong 3 loài *Eucalyptus globulus* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Litsea cubeba* (Lour.) Pers.

Áp dụng các phương pháp định tính của Đàn và cộng sự năm 1985, những phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ của Phụng năm 2007, đã khảo sát sơ bộ một số hợp chất có trong cao chiết của các loài *E. globulus*, *R. officinalis*, *L. cubeba* được ghi nhận ở bảng 2 (Phụ lục 4):

Bảng 2. Kết quả khảo sát sơ bộ các nhóm hợp chất trong cây *E. globulus*, *R. officinalis*, *L. cubeba*.

STT	Các nhóm chất	Kết quả		
		<i>E. globulus</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>L. cubeba</i>
1	Alkaloid	-	+	-
2	Flavonoid	+	+	+
3	Saponin	+	+	+
4	Coumarine	+	+	+
5	Glycoside Tim	+	+	+
6	Tannin	+	+	+

Ghi chú: “+”: có mặt hợp chất; “-”: không có mặt hợp chất.

Trong điều kiện cho phép, chúng tôi tiến hành khảo sát sơ bộ thành phần hóa học của lá các loài *E. globulus*, *R. officinalis*, *L. cubeba* được thu tại Đà Lạt. Cụ thể, chúng tôi đã tiến hành khảo sát các nhóm hợp chất chính như alkaloid, flavonoid, saponin, coumarine, glycoside Tim, tannin kết quả ghi nhận được trong cao chiết của lá *E. globulus*, *L. cubeba* có chứa các nhóm hợp chất bao gồm flavonoid, saponin, coumarine, glycoside tim, tannin, polysaccharide, tinh dầu, không ghi nhận được sự xuất hiện của alkaloid, ngoại trừ loài *R. officinalis* ngoài các nhóm nêu trên thì còn có sự xuất hiện của nhóm alkaloid.

Kết quả này của chúng tôi phù hợp với báo cáo trước đó của Đỗ Tất Lợi (2004), tác giả này đã ghi nhận trong lá của *E. globulus* có sự xuất hiện của tannin và tinh dầu. Thêm vào đó, lá của *E. globulus* được ghi nhận có một lượng lớn tinh dầu và thành phần chính là 1.8-cineol (Noumi, 2011).

Đối với loài *R. officinalis*, các nghiên cứu trước cũng đã chỉ xác định được thành phần hoá học của loài này có các nhóm hợp chất như nhựa, axit tannic, tinh dầu và flavonoid, phenolic (Begum, 2013; Bicchi và cộng sự, 2000; Nieto và cộng sự, 2018; Ferreira và cộng sự, 2020).

Thành phần hoá học của loài *L. cubeba* cũng đã được ghi nhận bao gồm các nhóm hợp chất như alkaloid, monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, flavonoid, amides, lignans, steroid, axit béo (Kamle và cộng sự, 2019). Kết quả khảo sát thành phần hóa học của đối tượng này trong đề tài của chúng tôi cũng gần như tương đồng với các nghiên cứu trước đó.

Việc đánh giá sơ bộ các thành phần hoá học trong nguyên liệu sử dụng cũng góp phần xem xét tính an toàn của sản phẩm đối với người sản xuất và người tiêu dùng.

3.3. Đánh giá thị hiếu của người tiêu dùng đối với sản phẩm được tạo ra

Qua quá trình nghiên cứu, các tỉ lệ phối trộn khác nhau về độ kết dính và các thành phần bột khác nhau, chúng tôi đưa ra được 42 tỷ lệ phối trộn khác nhau. Tuy nhiên, qua khảo sát sơ bộ về độ cháy và mùi thơm do các thành viên trong nhóm nghiên cứu thực hiện, chúng tôi nhất trí đưa ra được 2 tỷ lệ phối trộn khách quan nhất (tỷ lệ 1. 1:1:1:1: mẫu 1, tỷ lệ 2. 2:1:1:1: mẫu 2 tương ứng với bột *E. globulus*, bột *R. officinalis*, bột *L. cubeba* và bột *S. officinarum* với thành phần keo là 8%) để khảo sát trên phạm vi rộng hơn.

Tiến hành khảo sát và so sánh các tiêu chí trên gần 100 người trong các hộ gia đình khác nhau trên phạm vi tỉnh Lâm Đồng, cho ra được kết quả như sau:

Bảng 3. Kết quả khảo sát thị hiếu người tiêu dùng trên 2 mẫu khách quan nhất

Các chỉ tiêu đánh giá	Điểm	
	Mẫu 1	Mẫu 2
Độ cháy của nhang	284	276
Mùi thơm của nhang khi chưa đốt	327	317
Mùi thơm của nhang trong khi đốt	345	326
Sự thoải mái khi sử dụng	311	321
Độ mịn của tàn nhang sau khi cháy	340	318
Mức độ yêu thích	331	324

Từ kết quả của bảng 2 ta vẽ được biểu đồ so sánh về các chỉ tiêu của 2 mẫu được đưa ra khảo sát.



Biểu đồ 1. Biểu đồ thể hiện sự so sánh về các chỉ tiêu của 2 mẫu được khảo sát

Kết quả trên cho thấy được điểm của 5 trên 6 các chỉ tiêu của mẫu 1 (tỷ lệ 1) được đánh giá cao hơn mẫu 2 (tỷ lệ 2). Từ những cơ sở trên chúng tôi tiến hành xây dựng cơ bản các bước làm nhang theo tỷ lệ 1 và cải thiện hơn để sản phẩm làm ra có sự thoải mái tốt nhất.

3.4. Bước đầu hình thành quy trình tạo sản phẩm nhang tự nhiên

Qua quá trình thử nghiệm và khảo sát các tỉ lệ phối trộn nhang, từ kết quả như trên chúng tôi đã bước đầu xây dựng được quy trình tạo thành sản phẩm với các bước như sau:

Bước 1: Thu và xử lý thô các đối tượng làm nhang.

Bước 2: Sấy khô các đối tượng làm nhang ở nhiệt độ 55 °C, xay mẫu và sàng lọc để tạo bột mịn.

Bước 3: Chuẩn bị đầy đủ các nguyên liệu chính (bột: *E. globulus*, *R. officinalis*, *L. cubeba* và các nguyên liệu phụ (bột: *S. officinarum*, *L. glutinosa*). Các dụng cụ hỗ trợ cần thiết.

Bước 4: Cân lần lượt các nguyên liệu: 80 g bột *L. glutinosa* (bột keo), 230 g bột *E. globulus*, *R. officinalis*, *L. cubeba*, *S. officinarum*.

Bước 5: Trộn đều các nguyên liệu cùng với nhau và trải đều trên mâm lớn. Tiếp đến tiến hành se nhang bằng các phương pháp se nhang thủ công.

Bước 6: Phoi nhang ngoài ánh nắng mặt trời trong vòng 8 giờ. Khi nhang khô đóng hộp và bảo quản nơi khô thoáng.

3.5. Kết quả khảo sát thành phần hóa học khối nhang

3.5.1. Kết quả khảo sát thành phần vô cơ

Sau khi có được thành phẩm chúng tôi đã tiến hành khảo sát thành phần hóa học trong khối nhang bằng phương pháp sắc ký khí (GC). Kết quả cho thấy trong khối của loại nhang từ nghiên cứu này có 03 hợp chất vô cơ bao gồm HCl, hơi HNO₃, hơi H₂SO₄. Hàm lượng các thành phần vô cơ được so sánh với quy chuẩn Việt Nam qua bảng sau (phụ lục 5, phụ lục 6):

Bảng 4. So sánh nồng độ thành phần hóa học vô cơ của khối nhang so với Quy chuẩn Việt Nam

STT	Thành phần	Nồng độ C (mg/Nm ³)	
		QCVN 19:2009/BTNMT	Khối nhang
1	HCl	50	0,4
2	Hơi HNO ₃	500	0,5
3	Hơi H ₂ SO ₄	50	0,5

Kết quả từ bảng 5 cho thấy cả 3 thành phần vô cơ có trong khối nhang từ sản phẩm nhang của chúng tôi thấp hơn nhiều so với nồng độ cho phép của chúng trong không khí theo QCVN 19:2009/BTNMT. Như vậy, sản phẩm nhang của chúng tôi tạo ra có hàm lượng các thành phần vô cơ nằm trong mức an toàn so với quy chuẩn Việt Nam quy định.

3.5.2. Kết quả khảo sát thành phần hữu cơ

Bên cạnh việc ghi nhận được một số thành phần vô cơ, chúng tôi khảo sát thành phần hữu cơ trong khối nhang bằng phương pháp sắc ký khí – ghép khối phổ (GC-MS) và đã định danh, ghi nhận một số thành phần hóa học hữu cơ có trong khối nhang được thể hiện trong bảng sau (phụ lục 5, phụ lục 7):

Bảng 5. Thành phần hóa chất hữu cơ của khói nhang thiên nhiên

STT	Quy chuẩn Việt Nam (TCVN 6994:2001)	Thành phần
1	-	Acetic acid
2	+	Acetol
3	+	Toluene
4	-	3-Furaldehyde
5	-	2-Furanmethanol
6	-	2-Propanone,1-(actyloxy)-
7	-	4-Cyclopentene-1,3-dione
8	+	Styrene
9	-	Ethanone,1-(2-franyl)-
10	-	2-Fruradehyde,5-methyl-
11	-	β -pinene
12	+	Phenol
13	-	α -Pinene
14	-	2-thujene
15	-	p-menthan-1,4(8)-diene
16	-	o-cymene
17	-	D-Limonene
18	+	m-cresol
19	-	Phenol,2-methoxy
20	-	Borneol
21	-	α -Terpinol
22	-	Levoverbenone
23	-	Phenol,5-ethnyl-2-methoxy-
24	-	Isoledene
25	-	Caryophyllene

Ghi chú: “-”: không quy định; “+”: có quy định

Kết quả khảo sát thành phần các hợp chất hữu cơ có trong khói nhang (bảng 6) cho thấy 25 hợp chất hữu cơ có mặt trong khói của sản phẩm nhang do chúng tôi làm

ra. Trong đó, có 20 hợp chất không quy định trong TCVN 6994:2001 và 05 hợp chất có trong TCVN 6994:2001. Trong số 20 hợp chất không quy định trong TCVN 6994:2001 thì có một số hợp chất các tác dụng tích cực đối với con người như 3-Furaldehyde có tác dụng diệt khuẩn (Eseyin và cộng sự, 2020), α -terpineol có hoạt tính kháng ung thư biểu mô ở phổi (Hassan và cộng sự, 2010), α -pinen và β -pinen là 2 thành phần có trong tinh dầu của *R. officinalis* có khả năng chống ung thư tuyến tiền liệt ở người và được ứng dụng như một chất chống oxy hóa cao, bảo vệ tế bào và chữa lành vết thương (Xanthis và cộng sự, 2021; Oualdi và cộng sự, 2021). O-cymene là thành phần có trong tinh dầu của một số loài thuộc họ hoa tán và có trong tinh dầu của *L. cubeba*, được đánh giá hoạt tính kháng khuẩn mạnh (Si và cộng sự, 2012; Mahboubi và cộng sự, 2011). Borneol là một thành phần trong một số loại tinh dầu được sử dụng trong mỹ phẩm trang trí, nước hoa hảo hạng, dầu gội đầu, xà phòng vệ sinh và đồ vệ sinh cá nhân khác cũng như trong các sản phẩm không chứa chất tẩy rửa gia dụng, chất tẩy rửa (Bhatia và cộng sự, 2008). Levoverbenone là thành phần có trong tinh dầu hương thảo có khả năng chống oxy hóa cao và kháng khuẩn tốt (Bouzekri, 2020).

Bên cạnh các hợp chất không có quy định về chất lượng khí thải theo TCVN 6994:2001 thì chúng tôi cũng ghi nhận được 05 hợp chất nằm trong TCVN 6994:2001 về không khí theo tiêu chuẩn Việt Nam bao gồm Acetol Toluene, Styrene, m-cresol và Phenol (TCVN 6994:2001). Theo quy định trong TCVN 6994:2001 thì hàm lượng các chất này chỉ quy định trong khí thải tại các khu công nghiệp ứng với lưu lượng khí thải là $< 5000 \text{ m}^3/\text{h}$, do đó chưa có quy định chung về hàm lượng 05 chất này trong khí thải trong sinh hoạt tại các hộ gia đình, hoặc 1 số cơ sở tôn giáo như chùa chiền, đền. Do đó, bước đầu khảo sát thành phần các hợp chất vô cơ và hữu cơ trong khói của sản phẩm nhang từ nghiên cứu này cho thấy sản phẩm này khá an toàn cho người sử dụng.

Tuy nhiên, trong nghiên cứu này của chúng tôi do giới hạn về kinh phí nên hiện tại chỉ mới định danh các thành phần hợp chất hữu cơ có trong khói nhang mà chưa định lượng được hàm lượng của chúng, trong đó có 05 chất có trong quy định này. Do đó, để thực sự khẳng định được tính an toàn cao của sản phẩm này thì cần phải làm thêm phân tích để định lượng 05 thành phần hợp chất nêu trên. Từ đó, chúng tôi đưa ra lời khuyên với người sử dụng, hạn chế sử dụng nhang cho dù đó là nhang có nguồn gốc từ hóa học hay nhang có nguồn gốc từ thiên nhiên đều có ảnh hưởng đến sức khỏe của người tiêu dùng chỉ là ít hay nhiều.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Từ các kết quả đạt được chúng tôi đưa ra những kết luận sau:

- Đã khảo sát sơ bộ được thành phần hóa học của cao chiết từ ba loài *E. globulus*, *R. officinalis*, *L. cubeba* được thu tại Đà Lạt và ghi nhận là các loài trên có những hợp chất như flavonoid, coumarine, glycoside tim, tannin, saponin, polysaccharide và tinh dầu. Riêng *R. officinalis* có thêm alkaloid.

- Bước đầu xây dựng được quy trình làm nhang thiên nhiên từ 3 loài thực vật gồm Hương thảo, Bạch đàn, Màng tang ở Đà Lạt

- Trong khối nhang thiên nhiên được tạo ra từ các loài trên có 3 hợp chất vô cơ và 25 hợp chất hữu cơ. Hàm lượng của các hợp chất trên nằm trong phạm vi được cho phép theo quy chuẩn Việt Nam và tiêu chuẩn Việt Nam về chất lượng không khí, khí thải công nghiệp.

Kiến nghị

- Cần thời gian để phát triển sản phẩm nghiên cứu có chất lượng tốt hơn, đáp ứng được nhu cầu của người tiêu dùng.

- Làm rõ hơn về các thành phần hóa học có trong cao chiết của các đối tượng trên.

- Mở rộng phạm vi đối tượng nghiên cứu ở các loài cho tinh dầu và đa dạng hóa các sản phẩm từ các loài cho tinh dầu được thu ở Đà Lạt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

Chính, M. (2020). Phật giáo. Thế nào là nhang sạch. <https://phatgiaio.org.vn/the-nao-la-nhang-sach-d40925.html>.

Diễn, L. Q., Anh, P. T., Anh, T. K., Nguyệt, N. T. M. (2014). Thu nhận xenlulozo từ bã mía cho sản xuất etanol sinh học theo phương pháp xử lý với axit axetic. Trường Đại học Bách khoa Hà Nội, Trường Đại học Lâm nghiệp.

Đàn, N. V., & Tựu, N. V. (1985). Phương pháp nghiên cứu cây thuốc. NXB Y học.

Hải, B. T. (2011). Đại học Bách Khoa thành phố Hồ Chí Minh. Sản xuất BIO-OIL từ nhiệt BIOMASS

Hải, N. (2018). Báo người lao động. Nhang gây độc, ngoài vòng lao lý. nld.com.vn/kinh-te/nhang-gay-doc-ngoai-vong-quan-ly-20180618213047265.htm.

Hồng, N. (2020). 365 tìm việc. Nghề làm hương trầm – lưu giữ “hơi thở” văn hóa truyền thống. <https://timviec365.vn/blog/nghe-lam-huong-tram-new11479.html>.

Hương, P. T. L., & Định, N. T. (2020). Nguyên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu từ lá bạch đàn thứ sinh (Eucalyptus) tại thành phố Việt Trì, tỉnh Phú Thọ.

Lợi, Đ. T. (2004). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản y học.

Lương, N. H., Long, D. T., Lương, Đ. N., Hưng, N. H. M., & Thuận, H. M. (2019). Sản xuất bio-oil từ rơm và bã mía trên hệ thống nhiệt phân nhanh công suất 5kg nguyên liệu/giờ. Bản B của Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 61(11).

Minh, P. Đ. (2018). Cây nhang thiên Minh Đức. Nhang sạch là gì. <http://caynhangthieng.com/vi/nhang-sach-la-gi->

Nguyễn, T. T. T. (2016). Nghiên cứu xử lý sắt trong nước bằng vật liệu hấp phụ chế tạo từ bã mía (Doctoral dissertation, Đại học Dân lập Hải Phòng).

Nguyễn, T. T., Nguyễn, V. H., Đào, T. H., Trần, Q. H., Nguyễn, M. H., & Nguyễn, T. T. P. (2018). Đặc tính của tro bã mía và sử dụng tro bã mía trong sản xuất gạch Ceramic. Tạp chí khoa học và công nghệ số 45.

Phụng, N. K. P. (2007). Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

Quyên, Đ. (2013). Báo nông nghiệp Việt Nam. Công Nghệ làm nhang tẩm hóa chất. <https://nongnghiep.vn/cong-nghe-lam-nhang-tam-hoa-chat-d106112.html>.

Tài, I. thực hiện đề tài “Nghiên cứu ứng dụng các biện pháp quản lý dịch hại và thâm canh tổng hợp nhằm phát triển vùng sản xuất mía đường nguyên liệu của tỉnh Hậu.http://ast.apmb.gov.vn/Upload/Download/Baocaotongketdetai/83.%20Nguy%E1%BB%85n%20Th%E1%BB%8B%20B%C3%A9%20H%E1%BB%93ng.pdf.

Tâm, P. T. M., & Phương, N. T. B. (2018). Ảnh hưởng của giá thể trồng và nồng độ đạm đến sự sinh trưởng và phát triển của cây hương thảo (*Rosmarinus officinalis* L.) trồng trong chậu. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 102-108.

Thạch, L. N. (2003). Tinh dầu. Nhà Xuất bản Đại học Quốc gia Tp HCM.

Thoa, N. T., Hoàn, N. V., Hà, Đ. T., Hải, T. Q., Hà, N M., & Phương, N. T. T. (2018). Đặc tính của tro bã mía svaif sử dụng tro bã mía trong sản xuất gạch ceramic.

Thom, C. T., & Lại, P. T. (2005). Kỹ thuật trồng mía. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

Thư. T, Huy. A. (2020). Trang tin điện tử Đảng bộ thành phố Hồ Chí Minh. Nghề làm nhang ở Bình Chánh – Gìn giữ nét đẹp văn hóa truyền thống. <https://hcmcpv.org.vn/tin-tuc/nghe-lam-nhang-o-binh-chanh-gin-giu-net-dep-van-hoa-truyen-thong-1491861768>.

Thùy. T. (1999). Kỹ thuật trồng mía. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

Trang, N. (2020). Báo Sài Gòn giải phóng online. Nghề làm nhang ở phố xưa Thu Xà. <https://www.sggp.org.vn/nghe-lam-nhang-o-pho-xua-thu-xa-641763.html>

Viện nghiên cứu mía đường. Sản xuất mía đường ở Việt Nam. <https://www.vienmiaduong.vn/vi/ngan-hang-kien-thuc/phan2.html>

Vietnamnet vì Việt Nam Hùng Cường. (2020). Nhang sạch có thực sự sạch. <https://vietnamnet.vn/vn/kinh-doanh/thi-truong/nhang-sach-co-thuc-su-sach-675104.html>

Vũ, A. (2018). Báo văn hóa và du lịch. Những làng nghề làm hương nổi danh. <https://truyenhinhdulich.vn/experience/nhung-lang-nghe-lam-huong-noi-danh-dat-viet-1002.html>

Tài liệu tiếng Anh

Agarwal, S., & Bhargava, D. (2020). Curative application of essential oils on textiles for relieving muscular pain: Areview. Man-Made Textiles in India, 98(12).

Altinier, G.; Sosa, S.; Aquino, R.P.; Mencherini, T.; Loggia, R.D.; Tubaro, A. (2007). Characterization of Topical Antiinflammatory Compounds in *Rosmarinus officinalis* L. J. Agric. Food Chem. 55, 1718–1723.

Andrade, A., Herrera, O. E., Reyes-Contreras, P., Pereira, M., & Vásquez-Garay, F. (2021). *Eucalyptus globulus* bark valorization: Production of fibers by Neutral Sulphite Semi-Chemical Process for Liner Paper Manufacture. Floresta e Ambiente, 28(2).

Anh, T. T., Ngan, L. T. T., & Lam, T. D. (2019, July). Essential oil from fresh and dried Rosemary cultivated in Lam Dong province, Vietnam. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (Vol. 544, No. 1, p. 012025). IOP Publishing.

Artschwager, E., & Brandes, E. W. (1958). Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.).

Bandara MS, Tanino KK, Acharya SN. (2007). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): a medicinal plant species. In: Advances in medicinal plant research 2007 [ed. by Acharya, S. N.\Thomas, J. E.]. Trivandrum, India: Research Signpost, 173-194.

Begum, A., Sandhya, S., Vinod, K. R., Reddy, S., & Banji, D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 12(1).

Bencheikh, D., Gueddah, A., Soualat, K., Ben-aissi, H., Benslama, A., Harrar, A., & Khennouf, S. (2021). Poluphenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of aqueous extracts of *Eucalyptus globulus* L. and *Trigonella foenum-graecum* L. Journal of Applied Biological Sciences, 15(1), 53-63.

Bhatia, S. P., Letizia, C. S., & Api, A. M. (2008). Fragrance material review on borneol. Food and chemical toxicology, 46(11), S77-S80.

Bicchi, C., Binello, A., & Rubiolo, P. (2000). Determination of phenolic diterpene antioxidants in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) with different methods of extraction and analysis. Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques, 11(4), 236-242.

Boukhatem, M. N., Boumaiza, A., Nada, H. G., Rajabi, M., & Mousa, S. A. (2020). *Eucalyptus globulus* essential oil as a natural food preservative: Antioxidant, antibacterial and antifungal properties in vitro and in a real food matrix (orange fruit juice). Applied Sciences, 10(16), 5581.

Bouzekri, O. (2020). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Rosmarinus Officinalis* L., cultivated in Fes-Meknes region. *RHAZES: Green and Applied Chemistry*, 8, 01-09.

Changani, H., & Parikh, P. Elucidating the pharmacological targets of *Litsea glutinosain* Osteoporosis: An In-silico and In-vitro approach.

Chauhan, P., Kumar, R. R., Mendiratta, S. K., Talukder, S., Gangwar, M., Sakunde, D. T., & Meshram, S. K. (2021). In-vitro functional efficacy of extracts from *Phyllanthus emblica*, *Eucalyptus globulus*, *Tinospora cordifolia* as pancreatic lipase inhibitor and source of anti-oxidant in goat meat nuggets. *Food Chemistry*, 348, 129087.

Dai, D. N., Lam, N. T., Dung, N. A., Huong, L. T., Chau, D. T., & Ogunwande, I. A. (2020). Compostion of essentia oils from *Litsea firma* var. *austroannamensis* from Vietnam. *Chemistry of Natural Compounds*, 56(3).

Dai, J., Li, C., Cui, H., & Lin, L. (2021). Unraveling the anti-bacterial mechanism of *Litsea cubeba* essential oil against *E. coli* O157: H7 and its application in vegetable juices. *International Journal of Food Microbiology*, 338, 108989.

Dat, V. D., Thieu, A. T., Nguyen, T. D., Nguyen, V. C., Cao, X. T., Nguyen, T. L. H., & Le, V. T. (2020). Biosynthesis of gold nanoparticles using *Litsea cubeba* fruit extract for catalytic reduction of 4-Nitrophenol. *Journal of Nanomaterials*, 2020.

Del Bano, M. J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., Del Rio, J. A., Ortuño, A., ... & Gerard, D. (2003). Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(15), 4247-4253.

Devi, P., & Meera, R. (2010). Study of antioxdant, antiinflammatory and woundhealing activity of extracts of *Litsea glutinosa*. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(3), 155.

Dwivedi, N., Shukla, P. K., Sharma, R., & Tripathi, I. P. (2021). Pharmacognostical, Antioxidative Activity Associated with Phytochemical of *Eucalyptus globulus* Labill. and Evaluation of in vitro Antidiabetic Potential. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 1-10.

Eseyin, E. A., Rabo, J. J., Amali, S. J., & Dodo, D. J. (2020). Furfural, the Sleeping Beauty: Synthesis, Application as a Nematicide and to Improve the Viscosity Index of Raw Lubricating Oil.

Ferreira, D. F., Lucas, B. N., Voss, M., Santos, D., Mello, P. A., Wagner, R., ... & Barin, J. S. (2020). Solvent-free simultaneous extraction of volatile and non-volatile antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity. *Industrial Crops and Products*, 145, 112094.

Flores-Macías, A., Reyes-Zarate, G. G., da Camara, C. A. G., López-Ordaz, R., Guillén, J. C., & Ramos-López, M. Á. (2021). Chemical composition and phytotoxic potential of *Eucalyptus globulus* essential oil against *Lactuca sativa* and two herbicide-resistant weeds: *Avena fatua* and *Amaranthus hybridus*. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24.

Gogoi, P., Baruah, P., & Nath, S. C. (1997). Antifungal Activity of the Essential Oil of *Litsea cubeba* Pers. *Journal of Essential Oil Research*, 9(2), 213-215.

Gomes, D. G., Michelin, M., Romaní, A., Domingues, L., & Teixeira, J. A. (2021). Co-production of biofuels and value-added compounds from industrial *Eucalyptus globulus* bark residues using hydrothermal treatment. *Fuel*, 285, 119265.

González-Burgos, E., Liaudanskas, M., Viškelis, J., Žvikas, V., Janulis, V., & Gómez-Serranillos, M. P. (2018). Antioxidant activity, neuroprotective properties and bioactive constituents analysis of varying polarity extracts from *Eucalyptus globulus* leaves. *Journal of food and drug analysis*, 26(4), 1293-1302.

Hanelt, P., Buttner, R., & Mansfeld, R. (2001). *Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops (except Ornamentals)*.

Hao, K., Xu, B., Zhang, G., Lv, F., Wang, Y., Ma, M., & Si, H. (2021). Antibacterial Activity and Mechanism of *Litsea cubeba* L. Essential Oil Against *Acinetobacter baumannii*. *Natural Product Communications*, 16(3), 1934578X21999146.

Haque, T., Uddin, M. Z., Saha, M. L., Mazid, M. A., & Hassan, M. A. (2014). Propagation, antibacterial activity and phytochemical profiles of *Litsea glutinosa* (Lour.) CB Robinson. *Dhaka University Journal of Biological Sciences*, 23(2), 165-171.

Harborne, A. J. (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. springer science & business media.

Hassan, S. B., Gali-Muhtasib, H., Göransson, H., & Larsson, R. (2010). Alpha terpineol: a potential anticancer agent which acts through suppressing NF- κ B signalling. *Anticancer Research*, 30(6), 1911-1919.

Hazarika, P., Dutta, N. B., Biswas, S. C., Dutta, R. C., & Jayaraj, R. S. C. (2018). Status of Agarbatti Industry in India with special reference to Northeast. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci*, 5(1), 173-186.

Hcini, K.; Sotomayor, J.A.; Jordan, M.J.; Bouzid, S. (2017). Identification and Quantification of Phenolic Compounds of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. *Asian J. Chem.* 25, 9299–9301.

Himed-Idir, H., Mouhoubi, K., Siar, E. H., Boudries, H., Mansouri, H., Adjerdou, N., ... & Boulekbache-Makhlouf, L. (2021). Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) supplementation on fresh cheese: Physicochemical properties, antioxidant potential, and sensory attributes. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1), e15057.

Houria, A. D. I. D. A., Ammar, S. S. M., Amina, B. B., & Hanane, D. R. A. O. U. I. (2020). In vitro antibacterial activities of essential oil and aqueous extracts of *Thymus fontanesii* and *Eucalyptus* against subclinical mastitis pathogens. *예방수의학회지*, 44(4), 216-221.

Huang, H. C., Ho, Y. C., Lim, J. M., Chang, T. Y., Ho, C. L., & Chang, T. M. (2015). Investigation of the anti-melanogenic and antioxidant characteristics of *Eucalyptus camaldulensis* flower essential oil and determination of its chemical composition. *International journal of molecular sciences*, 16(5), 10470-10490.

Hwang, J. K., Choi, E. M., & Lee, J. H. (2005). Antioxidant activity of *Litsea cubeba*. *Fitoterapia*, 76(7-8), 684-686.

Ielciu, I., Sevastre, B., Olah, N. K., Turdean, A., Chișe, E., Marica, R., ... & Hanganu, D. (2021). Evaluation of Hepatoprotective Activity and Oxidative Stress Reduction of *Rosmarinus officinalis* L. Shoots Tincture in Rats with Experimentally Induced Hepatotoxicity. *Molecules*, 26(6), 1737.

Jessica Elizabeth, DLT, Gassara F, Kouassi AP, Brar SK, Belkacemi K. (2017). Spice use in food: properties and benefits. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 57(6):1078–1088.

Ji, Y., Wang, C., Zhang, Y., Zhang, C., Cui, D., & Zhang, X. (2019). Glutinosine A: A New Morphinandienone Alkaloid from *Litsea glutinosa*. *Records of Natural Products*, 13(4), 366.

- Jiang, Z., Akhtar, Y., Bradbury, R., Zhang, X., & Isman, M. B. (2009). Comparative toxicity of essential oils of *Litsea pungens* and *Litsea cubeba* and blends of their major constituents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4833-4837.
- Ju, J., Xie, Y., Yu, H., Guo, Y., Cheng, Y., Zhang, R., & Yao, W. (2020). Major components in Lilac and *Litsea cubeba* essential oils kill *Penicillium roqueforti* through mitochondrial apoptosis pathway. *Industrial Crops and Products*, 149, 112349.
- Kamle, M., Mahato, D. K., Lee, K. E., Bajpai, V. K., Gajurel, P. R., Gu, K. S., & Kumar, P. (2019). Ethnopharmacological properties and medicinal uses of *Litsea cubeba*. *Plants*, 8(6), 150.
- Khin, M., Knowles, S. L., Crandall, W. J., Jones Jr, D. D., Oberlies, N. H., Cech, N. B., & Houriet, J. (2021). Capturing the antimicrobial profile of *Rosmarinus officinalis* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with bioassay-guided fractionation and bioinformatics. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 197, 113965.
- Lagudu, M. N., & Owk, A. K. (2018). *Litsea glutinosa* (Lauraceae): Evaluation of its Foliar Phytochemical Constituents for Antimicrobial Activity. *Notulae Scientia Biologicae*, 10(1), 21-25.
- Lahlou, R. A., Bounechada, M., Mohammedi, A., Silva, L. R., & Alves, G. (2021). Dietary use of *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris* as anticoccidial alternatives in poultry. *Animal Feed Science and Technology*, 114826.
- Lamponi, S., Baratto, M. C., Miraldi, E., Bains, G., & Biagi, M. (2021). Chemical Profile, Antioxidant, Anti-Proliferative, Anticoagulant and Mutagenic Effects of a Hydroalcoholic Extract of Tuscan *Rosmarinus officinalis*. *Plants*, 10(1), 97.
- Lee, D.Y.; Hwang, C.J.; Choi, J.Y.; Park, M.H.; Song, M.J.; Oh, K.W.; Son, D.J.; Lee, S.H.; Han, S.B.; Hong, J.T. (2017). Inhibitory Effect of Carnosol on Phthalic Anhydride-Induced Atopic Dermatitis via Inhibition of STAT3. *Biomol. Ther.* 25, 535–544.
- Lee, S. C., & Wang, B. (2004). Characteristics of emissions of air pollutants from burning of incense in a large environmental chamber. *Atmospheric Environment*, 38(7), 941-951.

- Li, W. R., Shi, Q. S., Liang, Q., Xie, X. B., Huang, X. M., & Chen, Y. B. (2014). Antibacterial activity and kinetics of *Litsea cubeba* oil on *Escherichia coli*. PLoS One, 9(11), e110983.
- Li, X. W., Lu, X. X., Zhang, Z. J., Huang, J., Zhang, J. M., Wang, L. K., ... & Lu, Y. B. (2021). Intercropping rosemary (*Rosmarinus officinalis*) with sweet pepper (*capsicum annum*) reduces major pest population densities without impacting natural enemy populations. Insects, 12(1), 74.
- Lin, T. C., Krishnaswamy, G., & Chi, D. S. (2008). Incense smoke: clinical, structural and molecular effects on airway disease. Clinical and Molecular Allergy, 6(1), 1-9.
- Mahboubi, M., & Kazempour, N. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja hortensis* and *Trachyspermum copticum* essential oil. Iranian journal of microbiology, 3(4), 194.
- Maheshwaran, G., Muneeswari, R. S., Bharathi, A. N., Kumar, M. K., & Sudhahar, S. (2021). Eco-friendly synthesis of lanthanum oxide nanoparticles by *Eucalyptus globulus* leaf extracts for effective biomedical applications. Materials Letters, 283, 128799.
- Makaremi, S., Ganji, A., Ghazavi, A., & Mosayebi, G. (2021). Inhibition of tumor growth in CT-26 colorectal cancer-bearing mice with alcoholic extracts of *Curcuma longa* and *Rosmarinus officinalis*. Gene Reports, 22, 101006.
- Maulik, S. R., Chakraborty, L., & Pandit, P. (2021). Evaluation of Cellulosic and Protein Fibers for Coloring and Functional Finishing Properties Using Simultaneous Method with *Eucalyptus* Bark Extract as a Natural Dye. Fibers and Polymers, 22(3), 711-719.
- Mohebodini, H., Jazi, V., Ashayerizadeh, A., Toghyani, M., & Tellez-Isaias, G. (2021). Productive parameters, cecal microflora, nutrient digestibility, antioxidant status, and thigh muscle fatty acid profile in broiler chickens fed with *Eucalyptus globulus* essential oil. Poultry Science, 100(3), 100922.
- Moore, J., Yousef, M., & Tsiani, E. (2016). Anticancer effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract and rosemary extract polyphenols. Nutrients, 8(11), 731.

Nakamura, T., Yoshida, N., Yamanoi, Y., Honryo, A., Tomita, H., Kuwabara, H., & Kojima, Y. (2020). *Eucalyptus* oil reduces allergic reactions and suppresses mast cell degranulation by downregulating IgE-FcεRI signalling. *Scientific reports*, 10(1), 1-15.

Nguyen, H. C., Nguyen, H. N. T., Huang, M. Y., Lin, K. H., Pham, D. C., Tran, Y. B., & Su, C. H. (2021). Optimization of aqueous enzyme-assisted extraction of rosmarinic acid from *rosemary* (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves and the antioxidant activity of the extract. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), e15221.

Nieto, G., Ros, G., & Castillo, J. (2018). Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *Medicines*, 5(3), 98.

Niveditha, T. P., Indupriya, J., Vinohar, V., Sathish, B. N., & Prakash, N. A. (2012). Value addition of Dhup (*Vateria indica* and *Canarium strictum*): a case study of making Agarbatti. *MFP News*, 22(1), 4-6.

Noumi, E., Snoussi, M., Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Ksouri, R., Valentin, E., & Bakhrouf, A. (2011). Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) and *Eucalyptus globulus* essential oils against oral *Candida* species. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4147-4156.

Orchard, A., & van Vuuren, S. (2017). Commercial essential oils as potential antimicrobials to treat skin diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

Oualdi, I., Brahmi, F., Mokhtari, O., Abdellaoui, S., Tahani, A., & Oussaid, A. (2021). *Rosmarinus officinalis* from Morocco, Italy and France: Insight into chemical compositions and biological properties. *Materials Today: Proceedings*.

Panikar, S., Shoba, G., Arun, M., Sahayarayan, J. J., Nanthini, A. U. R., Chinnathambi, A., ... & Kim, H. J. (2021). Essential oils as an effective alternative for the treatment of COVID-19: Molecular interaction analysis of protease (Mpro) with pharmacokinetics and toxicological properties. *Journal of Infection and Public Health*.

Pearson, M. (1993). The good oil: *Eucalyptus* oil distilleries in Australia. *Australasian Historical Archaeology*, 99-107.

Pinto, M., Soares, C., Martins, M., Sousa, B., Valente, I., Pereira, R., & Fidalgo, F. (2021). Herbicidal Effects and Cellular Targets of Aqueous Extracts from Young

Eucalyptus globulus Leaves-A Novel Post-Fire Management Strategy of *Eucalyptus* Stands.

Pradeepa, K., Krishna, V., Kumar, K. G., Thirumalesh, B. V., & Kumar, K. N. (2011). Antibacterial screening of the stem bark and leaf extracts of *Litsea glutinosa* (Lour.) CB Rob-an ethnomedicinally important tree of the Western Ghats. *Pharmacognosy Journal*, 3(21), 72-76.

Ramana, K. V., & Raju, A. S. (2017). Traditional and commercial uses of *Litsea glutinosa* (Lour.) CB Robinson (Lauraceae). *Journal of Medicinal Plants Studies*, 5(3), 89-91.

Seo, S. M., Kim, J., Lee, S. G., Shin, C. H., Shin, S. C., & Park, I. K. (2009). Fumigant antitermitic activity of plant essential oils and components from *ajowan* (*Trachyspermum ammi*), *allspice* (*Pimenta dioica*), *caraway* (*Carum carvi*), *dill* (*Anethum graveolens*), *geranium* (*Pelargonium graveolens*), and *litsea* (*Litsea cubeba*) oils against Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(15), 6596-6602.

Si, L., Chen, Y., Han, X., Zhan, Z., Tian, S., Cui, Q., & Wang, Y. (2012). Chemical composition of essential oils of *Litsea cubeba* harvested from its distribution areas in China. *Molecules*, 17(6), 7057-7066.

Silva, J., Abebe, W., Sousa, S. M., Duarte, V. G., Machado, M. I. L., & Matos, F. J. A. (2003). Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*. *Journal of ethnopharmacology*, 89(2-3), 277-283.

Soxhlet, F. (1879). *Dinglers' Polyt. J*, 232, 461.

Sueishi, Y., Sue, M., & Masamoto, H. (2018). Seasonal variations of oxygen radical scavenging ability in rosemary leaf extract. *Food chemistry*, 245, 270-274.

Thao, T. T. P., Ninh, P. T., Van Loc, T., Thanh, N. T., & Van Sung, T. (2019). Chemical Constituents, Cytotoxic and α -Glucosidase Inhibitory Activity of a Compound Isolated from *Litsea glutinosa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 55(1), 186-188.

Thielmann, J., Theobald, M., Wutz, A., Krolo, T., Buergy, A., Niederhofer, J., ... & Muranyi, P. (2021). *Litsea cubeba* fruit essential oil and its major constituent citral as volatile agents in an antimicrobial packaging material. *Food Microbiology*, 96, 103725.

Ul Hussnain, Z., Afghan, S., Naheed, A., Rizwana, S., Saleem, K., Ishfaq, S., & Farooq, A. (2009). Screening of final sugarcane genotypes (*Saccharum officinarum* L.) for red rot *Colletotricum falcatum* Went disease resistance. *Pakistan Sugar Journal*, 24(3).

Ullah, A., Anjum, A. A., Rabbani, M., Ijaz, M., Nawaz, M., Ashraf, M., ... & Hussain, A. (2021). Activity of ethanolic extract of *Eucalyptus globulus* leaves against multi drug resistant poultry pathogens in broiler chicks. *Cellular and Molecular Biology*, 67(1), 153-158.

Wang, Y., Cen, C., Chen, J., Zhou, C., & Fu, L. (2021). Nano-emulsification improves physical properties and bioactivities of *Litsea cubeba* essential oil. *LWT*, 137, 110361.

Wang, Y., Yin, C., Cheng, X., Li, G., Yang, S., & Zhu, X. (2020). β -Cyclodextrin Inclusion Complex Containing *Litsea cubeba* Essential Oil: Preparation, Optimization, Physicochemical, and Antifungal Characterization. *Coatings*, 10(9), 850.

Wisetkomolmat, J., Suksathan, R., Puangpradab, R., Kunasakdakul, K., Jantanasakulwong, K., Rachtanapun, P., & Sommano, S. R. (2020). Natural Surfactant Saponin from Tissue of *Litsea glutinosa* and Its Alternative Sustainable Production. *Plants*, 9(11), 1521.

Xanthis, V., Fitsiou, E., Voulgaridou, G. P., Bogadakis, A., Chlichlia, K., Galanis, A., & Pappa, A. (2021). Antioxidant and Cytoprotective Potential of the Essential Oil *Pistacia lentiscus* var. chia and Its Major Components Myrcene and α -Pinene. *Antioxidants*, 10(1), 127.

Yang, Y. J., Lin, M. Y., Feng, S. Y., Gu, Q., Chen, Y. C., Wang, Y. D., ... & Gao, M. (2020). Chemical composition, antibacterial activity, and mechanism of action of essential oil from *Litsea cubeba* against foodborne bacteria. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9), e14724.

Yimam, M., Lee, Y. C., Jiao, P., Hong, M., Brownell, L., & Jia, Q. (2017). A Standardized Composition Comprised of Extracts from *Rosmarinus officinalis*, *Annona squamosa* and *Zanthoxylum clava-herculis* for Cellulite. *Pharmacognosy research*, 9(4), 319. Govaerts, R. (2014). *World Checklist of Lamiaceae*. Richmond, London, UK: Royal Botanic Gardens, Kew.

Yu, L., Jia, D., Feng, K., Sun, X., Xu, W., Ding, L., ... & Han, T. (2020). A natural compound (LCA) isolated from *Litsea cubeba* inhibits RANKL-induced osteoclast differentiation by suppressing Akt and MAPK pathways in mouse bone marrow macrophages. *Journal of ethnopharmacology*, 257, 112873.

Дао, М. У., Сироткин, А. С., Конг, Х. Х., Ле, В. Т., & Хоанг, Х. И. (2020). Removal of dye and ion metal using activated carbon beads derived from *Litsea glutinosa* seeds and its application. *Химическая безопасность*, 4(2), 180-189.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1: Các đối tượng nghiên cứu sau khi sơ chế dưới dạng bột mịn



(1): Bột Bạch đàn



(2): Bột Hương thảo



(3): Bột Màng tang

Phụ lục 2: Phiếu khảo sát thị hiếu người tiêu dùng đối với sản phẩm nhang thiên nhang

PHIẾU ĐÁNH GIÁ CẢM QUAN SẢN PHẨM NHANG THIÊN NHIÊN

PHÒNG TÀI NGUYÊN THỰC VẬT KHOA SINH HỌC – TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

Họ và tên: Giới tính: Tuổi:

Xin chào anh/chị chúng tôi là nhóm sinh viên chuyên ngành công nghệ sinh học của trường đại học Đà Lạt. Hiện tại chúng tôi đang thực hiện một nghiên cứu khoa học:

“Khảo sát khả năng ứng dụng làm nhang của một số loài thực vật chứa tinh dầu ở Đà Lạt”.

Anh/chị có thể dành chút thời gian dùng thử sản phẩm của chúng tôi và trả lời vài câu hỏi khảo sát dưới đây để chúng tôi có thể đánh giá chất lượng sản phẩm nghiên cứu của chúng tôi một cách khách quan nhất. Rất mong sự cộng tác của anh/chị.

Anh/chị hãy đánh giá theo thang điểm từ 1 đến 5 bằng cách điền trực tiếp vào đây:

STT	Chỉ tiêu đánh giá	Mẫu 1	Mẫu 2
1	Độ cháy của nhang		
2	Mùi thơm của nhang khi chưa đốt		
3	Mùi thơm của nhang sau khi đốt		
4	Sự thoải mái khi đang sử dụng		
5	Độ mịn của tàn nhang sau khi cháy		
6	Mức độ yêu thích		

Chú thích:

(1) Rất không hài lòng, (2) Không hài lòng, (3) Bình thường, (4) Hài lòng, (5) Rất hài lòng.

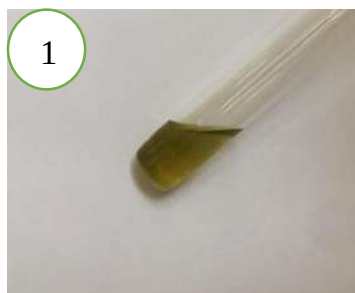
Chúng tôi chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của anh chị!

Phụ lục 3: Bảng khảo sát khối lượng sấy mẫu

Số lần sấy	Khối lượng sau khi sấy (g)		
	Bạch đàn	Màng tang	Hương thảo
Lần 1	270	190	185
Lần 2	254	210	205
Lần 3	260	215	160
Khối lượng trung bình	$261,3333 \pm 8,0829$	$192,6667 \pm 2,5166$	$183,3333 \pm 22,5462$

Phụ lục 4: kết quả khảo sát sơ bộ các nhóm hợp chất trong cây**4.1. *Eucalyptus globulus* L.**

- Định tính Alkaloid



(1): Đối chứng



(2): Thuốc thử Mayer

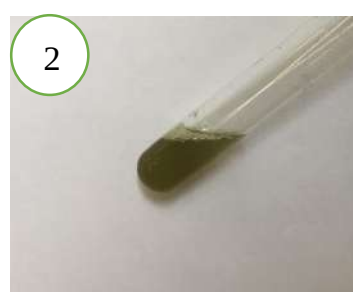


(1): Thuốc thử Bouchardat

- Định tính Flavonoid



(1): Đối chứng

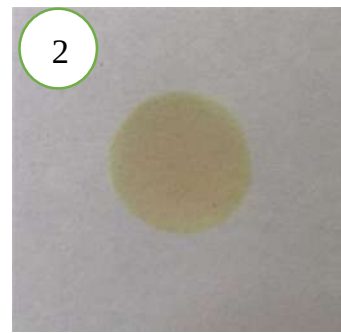


(2): Phản ứng Cyanidin

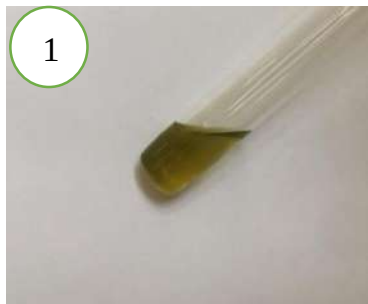
+ Phản ứng với kiềm



(1): Đối chứng



(2): Hơ trên miệng bình Amoni đđ



(1): Đối chứng



(1): Phản ứng NaOH 10%

- Định tính Courmarine



(1): ống nghiệm 1



(1): Ống nghiệm 2

- Định tính Glycoside Tim



(1): Thuốc thử Bajiet với nước cất



(2): Thuốc thử Bajiet với dịch chiết

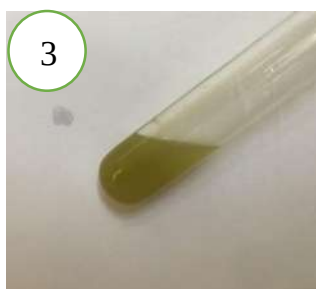
- Định tính tannin



(1): Đối chứng



(2): Phản ứng chì acetate 1%



(3): Phản ứng với Gelatin 1%

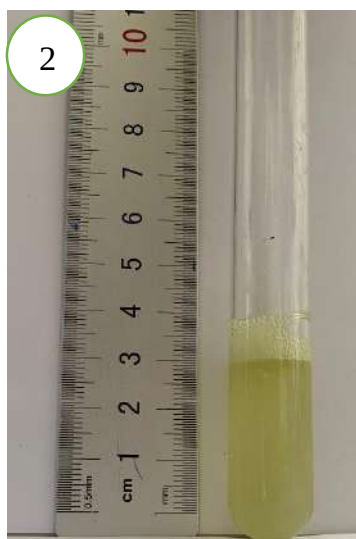


(4): Phản ứng với FeCl_3 1%

- Định tính Saponin



(1): Dịch chiết với nước



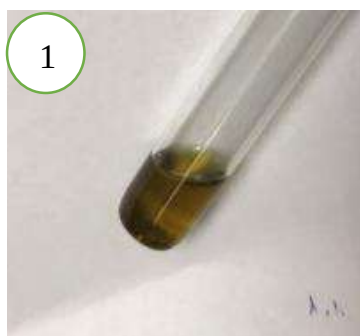
(2): Dịch chiết với HCl 0,1N



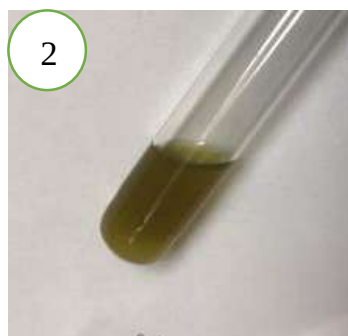
(3): Dịch chiết với NaOH 0,1 N

4.2. *Rosmarinus officinalis* L.

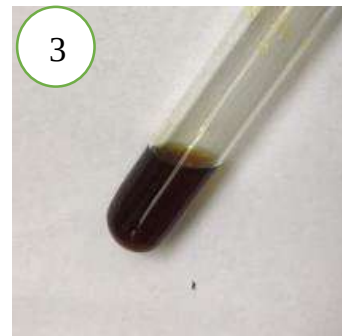
- Định tính Alkaloid



(1): Đối chứng



(2): Thuốc thử Mayer



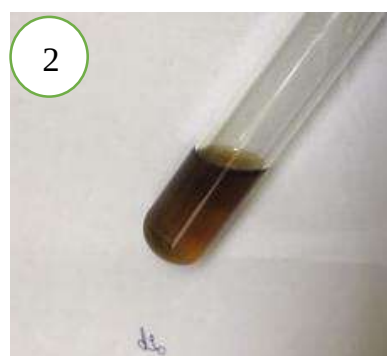
(3): Thuốc thử Bouchardat

- Định tính Flavonoid

+ Phản ứng Cyanidin



(1): Đối chứng



(2): Phản ứng Cyanidin

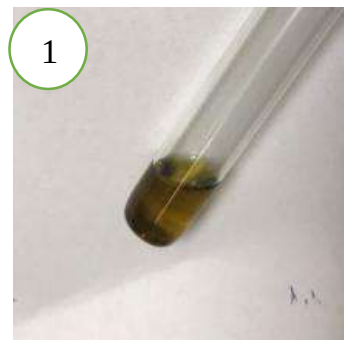
+ Phản ứng với kiềm



(1): Đối chứng



(2): Hơ trên miệng bình Amoni đđ

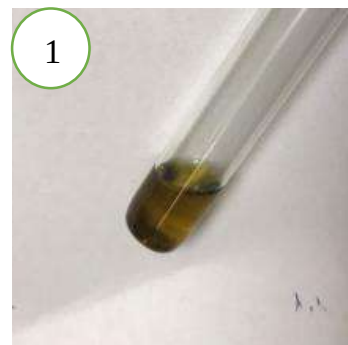


(1): Đối chứng

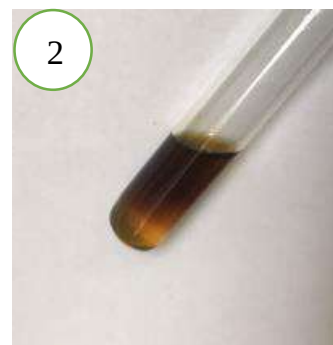


(2): NaOH 10%

- Định tính Courmarine

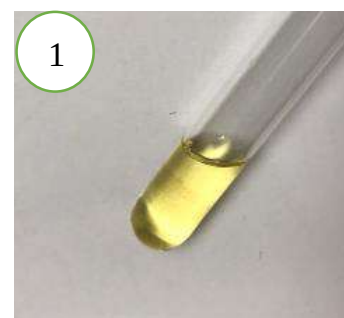


(1): Ống nghiệm 1

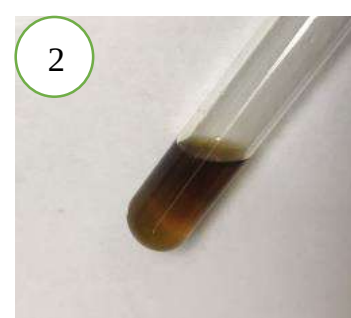


(2): Ống nghiệm 2

- Định tính Glycoside Tim

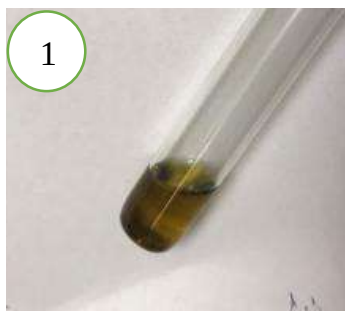


(1): Thuốc thử Bajiet với nước cất

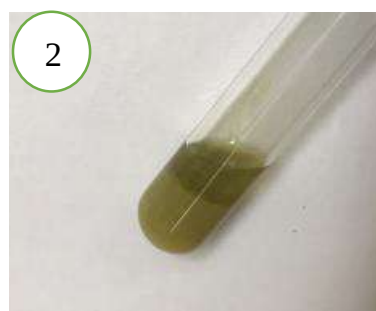


(2): Thuốc thử Bajiet với dịch chiết

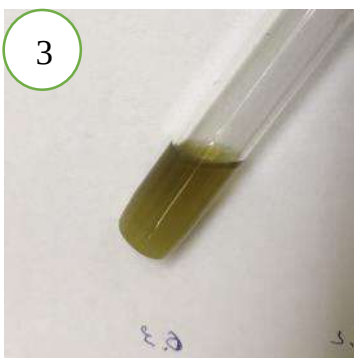
- Định tính tannin



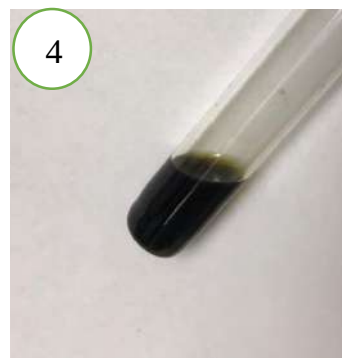
(1): Đối chứng



(2): Phản ứng chì acetate 1%



(3): Phản ứng với Gelatin 1%



(4): Phản ứng với FeCl_3 1%

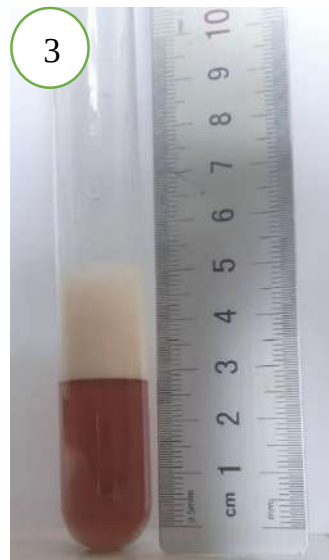
- Định tính Saponin



(1): Dịch chiết với nước



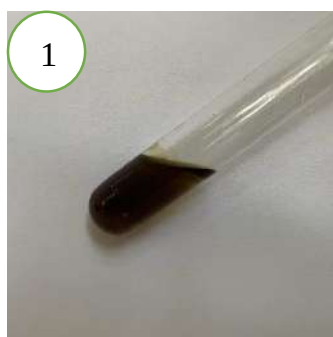
(2): Dịch chiết với HCl 0,1N



(3): Dịch chiết với NaOH 0,1 N

4.3. *Litsea cubeba* (Lour.L) Pers.

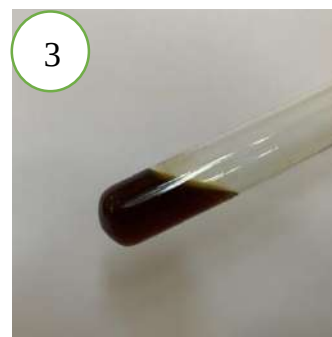
- Định tính Alkaloid



(1): Đối chứng



(2): Thuốc thử Mayer



(3): Thuốc thử

- Định tính Flavonoid

+ Phản ứng Cyanidin

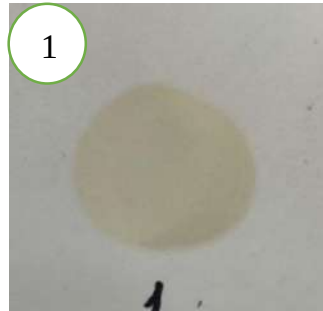


(1): Đối chứng

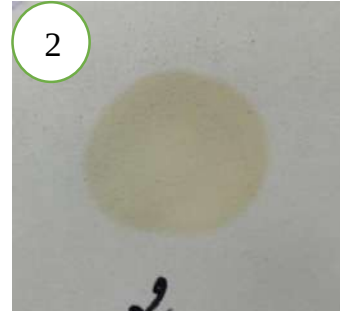


(2): Phản ứng Cyanidin

+ Phản ứng với kiềm



(1): Đối chứng



(2): Hơ trên miệng bình Amoni đđ

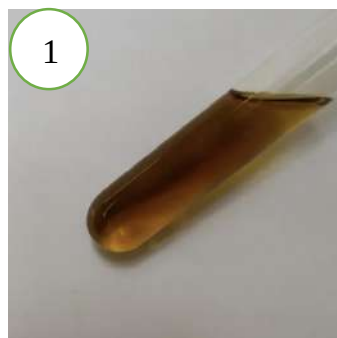


(1): Đối chứng

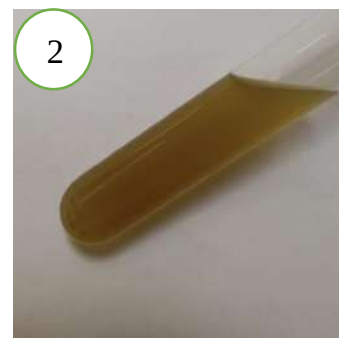


(2): NaOH 10%

- Định tính Courmarine



(1): Ống nghiệm 1

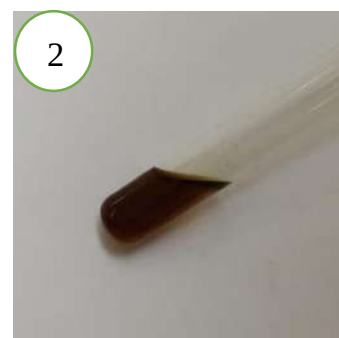


(2): Ống nghiệm 2

- Định tính Glycoside Tim



(1): Thuốc thử Bajiet với nước cất



(2): Thuốc thử Bajiet với dịch chiết

- Định tính tannin



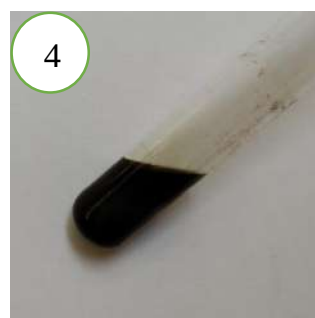
(1): Đối chứng



(2): Phản ứng chì acetate 1%



(3): Phản ứng với Gelatin 1%

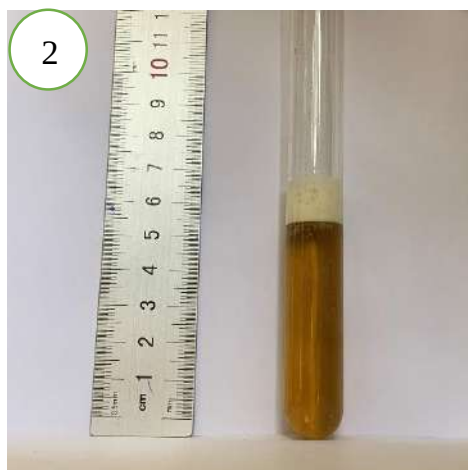


(4): Phản ứng với FeCl_3 1%

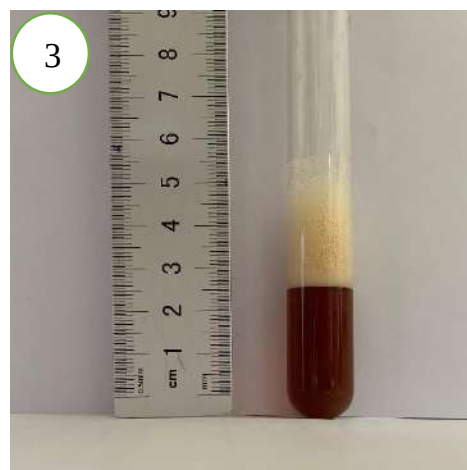
- Định tính Saponin



(1): Dịch chiết với nước



(2): Dịch chiết với HCl 0,1N



(3): Dịch chiết với NaOH 0,1 N

Phụ lục 5: bảng phân tích thành phần hóa học trong khói nhang



CASE

SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP. HỒ CHÍ MINH
DEPARTMENT OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

TRUNG TÂM DỊCH VỤ PHÂN TÍCH THÍ NGHIỆM TP. HỒ CHÍ MINH
CENTER OF ANALYTICAL SERVICES AND EXPERIMENTATION HCMC






VIMCER
147

Mã số mẫu/ Sample code
BN12104.13140209
MM12104.131402091

KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

TEST REPORT

BMKD 03/1 - LBH 01
Ngày/ Date: 24/04/2021

Tên khách hàng/ Customer : **TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

Địa chỉ/ Address : **01 PHÙ ĐỔNG THIÊN VƯƠNG, PHƯỜNG 8, THÀNH PHỐ ĐÀ LẠT, TỈNH LÂM ĐỒNG, VIỆT NAM**

Tên mẫu/ Name of sample : **NHANG THIÊN NHIÊN**

Số lượng/ Quantity : **1**

Mô tả mẫu/ Sample description : **Nhang nụ**

Ngày nhận mẫu/ Date of receiving : **13/04/2021**

Ngày hẹn trả KH/ Date of issue : **24/04/2021**

STT/ No	Chỉ tiêu kiểm nghiệm/ Parameters	Đơn vị tính/ Unit	Kết quả/ Result	Phương pháp/ Test method
1	Một số hợp chất vô cơ và hữu cơ trong thành phần khói nhang		Xem đính kèm	CASE.NC.0159

(*) Phương pháp được VILAS công nhận/ Method is accredited by VILAS.

**Phụ trách phòng thử nghiệm/
Officer in charge of laboratory**



Trần Thị Hiền

**TL.GIÁM ĐỐC/ PP.DIRECTOR
TRƯỞNG PHÒNG/ HEAD OF DIVISION**




Trương Huỳnh Anh Vũ

1. Kết quả này chỉ có giá trị trên mẫu thử/ This result is only valid on tested sample.

2. Thông tin về mẫu được ghi theo yêu cầu của khách hàng/ The sample information is written as customer's request.

3. Không được sao chép toàn bộ hoặc một phần kết quả này dưới bất kỳ hình thức nào nếu không được sự đồng ý bằng văn bản của CASE/ No fully or partial of this result may be reproduced in any form without prior permission in writing from CASE.

TRỤ SỞ CHÍNH:

(1) 021 Nguyễn Văn Thủ, P. Đa Kao, Q. 1, TP. HCM

N: 18001105

(4) 04.380.338.728

casehcm@case.vn

CHI CÁN THỊ:

(1) P2.67 - P2.68, Đường số 6, KDC 586, P. Phú Thọ, Q. Bình Tân, TP. HCM

N: (04.292) 399226 - 207 - 211

(4) (04.292) 399279

support@case.com.vn, casecanthi@case.vn

VĂN PHÒNG ĐẠI DIỆN TRUNG:

(1) 571.0278, Đường 6C, KĐT Lũy Bán Giang, LT Phước Hòa, Nha Trang, Khánh Hòa

N: (04.258) 246.1255

(4) (04.258) 246.5355

vanphongnha Trang@case.vn

www.case.vn



SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP. HỒ CHÍ MINH

DEPARTMENT OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

TRUNG TÂM DỊCH VỤ PHÂN TÍCH THÍ NGHIỆM TP. HỒ CHÍ MINH

CENTER OF ANALYTICAL SERVICES AND EXPERIMENTATION HCMC

P2/3_MM12104.131402091

KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM/ TEST REPORT

BN12104.13140209/MM12104.131402091

Một số thành phần hóa chất vô cơ được phát hiện trong khói nhang:

STT	THÀNH PHẦN	HÀM LƯỢNG (mg/Nm ³)
1	HCl	0,4
2	Flo, HF hoặc các hợp chất vô cơ của Flo, tính theo HF	Không phát hiện. MDL = 0,1
3	Hơi HNO ₃	0,5
4	Hơi H ₂ SO ₄	0,7

Một số thành phần hóa chất hữu cơ được phát hiện trong khói nhang:

STT/No	Tên / Name
1	Acetic acid
2	Acetol
3	Toluene
4	3-Furaldehyde
5	2-Furanmethanol
6	2-Propanone,1-(acetyloxy)-
7	4-Cyclopentene-1,3-dione
8	Styrene
9	Ethanone,1-(2-furanyl)-
10	2-furaldehyde,5-methyl-
11	β-Pinene
12	Phenol
13	α-Pinene
14	2-thujene
15	p-menthan-1,4(8)-diene
16	o-cymene
17	D-Limonene
18	m-cresol
19	Phenol,2-methoxy-
20	Borneol
21	α-Terpineol
22	Levoverbenone
23	Phenol,5-ethenyl-2-methoxy-
24	isoleudene
25	Caryophyllene

Ghi chú: Mẫu được đốt trong ống: 20 ngy/lần. Khói được hấp phụ vào cột hấp phụ chuyên dụng với lưu lượng 1lít/phút. Thời gian cho hấp phụ hợp chất vô cơ: 10 phút; thời gian cho hấp phụ hợp chất hữu cơ là 10 phút.

1/ Kết quả này chỉ có giá trị trên mẫu thử/ This result is only valid on tested sample.

2/ Thông tin về mẫu được ghi theo yêu cầu của khách hàng/ The sample information is written as customer's request.

3/ Không được sao chép toàn bộ hoặc một phần kết quả này dưới bất kỳ hình thức nào nếu không được sự đồng ý bằng văn bản của CASE/ No fully or partial of this result may be reproduced in any form without prior permission in writing from CASE.

TRỤ SỞ CHÍNH

81/02 Nguyễn Văn Thủ, P. Đa Kao, Q. 1, TP. HCM

T: 18001005

☎ (04.28) 390 7228

✉ casehcmc@case.vn

CHI CÁN THỦ

81/02/07-7268, Đường số 6, KDC 506, P. Thủ Thiêm, Quận 2, TP. HCM

☎ (04.292) 328276 - 217 - 200

☎ (04.292) 328209

✉ support@case.com.vn, casecantho@case.vn

VỊ CÁN ĐIỀU HÀNH

81/02/07/06, Đường số 6, KDC 506, P. Thủ Thiêm, Quận 2, TP. HCM

☎ (04.258) 246 5235

☎ (04.290) 240 5235

✉ vietphongminh@case.vn

Phụ lục 6: Quy chuẩn Việt Nam 19: 2009/BTNMT (QCVN 19: 2009/BTNMT)

Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia

về khí thải công nghiệp đối với bụi và các chất vô cơ

1.1. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng đối với tổ chức, cá nhân liên quan đến hoạt động phát thải khí thải công nghiệp có chứa bụi và các chất vô cơ vào môi trường không khí.

Khí thải của một số ngành công nghiệp lĩnh vực hoạt động đặc thù được quy định riêng.

1.2. Nồng độ C của bụi và các chất vô cơ làm cơ sở tính nồng độ tối đa cho phép trong khí thải công nghiệp.

STT	Thông số	Nồng độ C (mg/Nm ³)	
		A	B
1	Bụi tổng	400	200
2	Bụi chứa silic	50	50
3	Amoniac và các hợp chất amoni	76	50
4	Antimon và hợp chất, tính theo Sb	20	10
5	Asen và các hợp chất, tính theo As	20	10
6	Cadmi và hợp chất, tính theo Cd	20	5
7	Chì và hợp chất, tính theo Pb	10	5
8	Cacbon oxit, CO	1000	1000
9	Clo	32	10
10	Đồng và hợp chất, tính theo Cu	20	10
11	Kẽm và hợp chất, tính theo Zn	30	30
12	Axit clohydric, HCl	200	50
13	Flo, HF, hoặc các hợp chất vô cơ của Flo, tính theo HF	50	20
14	Hydro sunphua, H ₂ S	7,5	7,5
15	Lưu huỳnh đioxit, SO ₂	1500	500
16	Nitơ oxit, NO _x (tính theo NO ₂)	1000	850

17	Nitơ oxit. NO _x (cơ sở sản xuất hóa chất), tính theo NO ₂	2000	1000
18	Hơi H ₂ SO ₄ hoặc SO ₃ , tính theo SO ₃	100	50
19	Hơi HNO ₃ (các nguồn khác), tính theo NO ₂	1000	500

Trong đó:

- Cột A quy định nồng độ C của bụi và các chất vô cơ làm cơ sở tính nồng độ tối đa cho phép trong khí thải công nghiệp đối với các cơ sở sản xuất, chế biến, kinh doanh, dịch vụ công nghiệp.

- Cột B quy định nồng độ C của bụi và các chất vô cơ làm cơ sở tính giá tối đa cho phép trong khí thải công nghiệp đối với:

+ Các cơ sở sản xuất, chế biến, kinh doanh, dịch vụ công nghiệp hoạt động kể từ ngày 16 tháng 01 năm 2007.

+ Tất cả các cơ sở sản xuất, chế biến, kinh doanh, dịch vụ công nghiệp với thời gian áp dụng kể từ ngày 01 tháng 01 năm 2015.

Phụ lục 7: Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6994:2001

CHẤT LƯỢNG KHÔNG KHÍ – KHÍ THẢI CÔNG NGHIỆP –

TIÊU CHUẨN THẢI THEO THẢI LƯỢNG CỦA CÁC CHẤT HỮU CƠ

1.1. Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này áp dụng để kiểm soát nồng độ thành phần khí thải phát thải từ các nguồn thải tĩnh đang hoạt động và/hoặc áp dụng để tính, thẩm định sự phát thải của một cơ sở sản xuất công nghiệp mới, hoặc sau khi cải tạo nâng cấp.

Tiêu chuẩn này cụ thể hóa việc áp dụng TCVN 5940:1995 có tính đến lưu lượng thải của khí thải công nghiệp chứa thành phần các chất hữu cơ được thải ra môi trường trong khu công nghiệp, trình độ công nghệ và khu vực hoạt động của cơ sở sản xuất.

1.2. Tiêu chuẩn thải

- Danh mục các chất hữu cơ trong khí thải công nghiệp và nồng độ của chúng theo lưu lượng, trình độ công nghệ khí phát thải vào môi trường khu công nghiệp, không được vượt các giá trị nêu trong bảng 1 khi hệ số KV= 1.

- Trong trường hợp cơ quan có thẩm quyền về môi trường yêu cầu có sự phân vùng chi tiết và cụ thể hơn cho mỗi vùng (KV khác 1), thì có thể áp dụng hệ số KV là một dãy giá trị để tính nồng độ thải theo công thức nêu ở phụ lục A cùng với hệ số KQ, KCN tương ứng với từng nguồn thải.

STT	Tên	Công nghệ A			Công nghệ B			Công nghệ C		
		KCN= 0,6			KCN= 0,75			KCN= 1		
		Q1	Q2	Q3	Q1	Q2	Q3	Q1	Q2	Q3
1	Aceton	1440	1080	720	1800	1350	900	2400	1800	1200
2	Creson (a-, m-, p-)	13,2	9,9	6,9	16,5	12,37 5	8,25	22	16,5	11
3	Phenol	11,4	8,55	5,7	14,25	10,68 75	7,12 5	19	14,25	9,5
4	Styren						57,5	420	315	210
5	Toluen						1.25	750	562.5	375

Chú thích:

- Q1 ứng với các nguồn thải có lưu lượng khí thải nhỏ hơn 5000m³/h (Q<5000m³/h).
- Q2 ứng với các nguồn thải có lưu lượng khí thải bằng hoặc lớn hơn 5000m³/h đến nhỏ hơn 20000m³/h (5000 m³/h ≤ Q < 20000m³/h).
- Q3 ứng với các nguồn thải có lưu lượng khí thải bằng hoặc lớn hơn 20000m³/h (Q ≥ 20000m³/h).
- Công nghệ cấp A: áp dụng cho các cơ sở sản xuất công nghiệp có các thiết bị mới, hiện đại, tương đương với trình độ công nghệ hiện thời của thế giới.
- Công nghệ cấp B: áp dụng cho các cơ sở sản xuất công nghiệp đang hoạt động sau khi được đầu tư.
- Công nghệ cấp C: áp dụng cho các cơ sở sản xuất công nghiệp đang hoạt động nhưng được lắp đặt, vận hành.

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

BÁO CÁO TỔNG KẾT

ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021

**NGHIÊN CỨU LÊN MEN RƯỢU VANG TỪ
QUẢ HỒNG (*Diospyros* sp.)**

Thuộc nhóm ngành khoa học: Tự nhiên

LÂM ĐỒNG, 2021

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

BÁO CÁO TỔNG KẾT

ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021

**NGHIÊN CỨU LÊN MEN RƯỢU VANG TỪ
QUẢ HỒNG (*Diospyros* sp.)**

Thuộc nhóm ngành khoa học: Tự nhiên

Sinh viên thực hiện: Lê Thị Lan

Nam, Nữ: Nữ

Dân tộc: Kinh

Lớp, khoa: CSK42 – Khoa Sinh học

Năm thứ: 03

Số năm đào tạo: 04

Ngành học: Công nghệ sinh học

Người hướng dẫn: ThS. Nguyễn Khoa Trưởng

LÂM ĐỒNG, 2021

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Lâm Đồng, ngày tháng 06 năm 2021

**BÁO CÁO KẾT QUẢ TỰ ĐÁNH GIÁ
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ SINH VIÊN 2021**

I. Thông tin chung về đề tài:

- 1. Tên đề tài:** Nghiên cứu lên men rượu vang từ quả hồng (*Diospyros* sp.)
- 2. Mục tiêu đề tài:** Nghiên cứu các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng và ứng dụng tạo sản phẩm rượu vang hồng đạt chất lượng.
- 3. Chủ nhiệm đề tài:** Lê Thị Lan
- 4. Giáo viên hướng dẫn:** ThS. Nguyễn Khoa Trường
- 5. Tổng kinh phí thực hiện:** 5.000.000 VNĐ (Bằng chữ: năm triệu đồng)
- 6. Thời gian thực hiện:**

Bắt đầu: tháng 10 năm 2020

Kết thúc: tháng 06 năm 2021

7. Danh sách thành viên chính thực hiện đề tài nêu trên gồm:

STT	Họ và tên	Mã số SV	Lớp/ Khoa
1	Lê Thị Lan	1812605	CSK42- Khoa Sinh Học
2	Hồ Thị Trinh	1714219	CSK41- Khoa Sinh Học
3	Phạm Ngọc Kim Nữ	1710824	CSK41- Khoa Sinh Học

II. Nội dung tự đánh giá về kết quả thực hiện đề tài:

1. Về sản phẩm khoa học:

1.1. Danh mục sản phẩm đã hoàn thành:

ST T	Tên sản phẩm	Số lượng			Khối lượng			Chất lượng		
		Xuất sắc	Đạt	Không đạt	Xuất sắc	Đạt	Không đạt	Xuất sắc	Đạt	Không đạt
1	Các bước lên men rượu vang từ quả hồng (<i>Diospyros</i> sp.)		X			X			X	
2	Sản phẩm rượu vang từ quả hồng (<i>Diospyros</i> sp.)		X			X			X	

Minh chứng: Sản phẩm rượu vang từ quả hồng (*Diospyros* sp.)

1.2. Danh mục sản phẩm khoa học dự kiến ứng dụng, chuyển giao (nếu có):

STT	Tên sản phẩm	Thời gian dự kiến ứng dụng	Cơ quan dự kiến ứng dụng	Ghi chú
1	Các bước lên men rượu vang từ quả hồng (<i>Diospyros</i> sp.)	Từ tháng 07 – tháng 12 năm 2021	Khoa Sinh học – Trường Đại học Đà Lạt	

1.3. Danh mục sản phẩm khoa học đã được ứng dụng (nếu có):

STT	Tên sản phẩm	Thời gian ứng dụng	Tên cơ quan ứng dụng	Ghi chú
1	Sản phẩm rượu vang từ quả hồng	Năm 2021	Khoa Sinh học – Trường Đại học Đà Lạt.	

2. Về những đóng góp mới của đề tài:

- Đề tài đã phân lập được 5 chủng nấm men có khả năng lên men rượu vang từ quả hồng.
- Đề tài đã khảo sát được các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng: tỷ lệ giống, hàm lượng đường, pH dịch lên men, nhiệt độ lên men.
- Xây dựng các bước cơ bản trong lên men rượu vang từ quả hồng (*Diospyros* sp.)

3. Về hiệu quả của đề tài:

3.1. Hiệu quả kinh tế

Việc nghiên cứu xây dựng các bước lên men rượu vang từ quả hồng ứng dụng vào việc sản xuất rượu vang góp phần đa dạng hóa các sản phẩm trên thị trường nhằm đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng. Có thể tận dụng một số nguyên liệu không đạt chuẩn bán ra thị trường để lên men do đó tiết kiệm được chi phí sản xuất.

3.2. Hiệu quả xã hội

Góp phần tạo chỗ đứng vững chắc cho thị trường rượu vang ở Việt Nam. Bên cạnh đó, giúp cho người dân thương mại hóa được các sản phẩm từ quả hồng tại Đà Lạt nói riêng và Lâm Đồng nói chung. Vì đề tài tận dụng nguồn nguyên liệu là quả hồng không đạt chuẩn bán ra thị trường nên hạn chế được nguồn gây ô nhiễm môi trường cũng như tăng thu nhập, cải thiện cuộc sống nhân dân.

III. Tự đánh giá, xếp loại kết quả thực hiện đề tài

1. Về tiến độ thực hiện: (đánh dấu ✓ vào ô tương ứng):

- Nộp hồ sơ đúng hạn ☐
- Nộp chậm từ trên 30 ngày đến 06 tháng ☐
- Nộp hồ sơ chậm trên 06 tháng ☐

2. Về kết quả thực hiện đề tài:

- Xuất sắc ☐
- Đạt ☐
- Không đạt ☐

Giải thích lý do

Đề tài đã thực hiện đúng 4 nội dung đã đăng kí trong thuyết minh đề tài và đáp ứng được mục tiêu của đề tài.

Cam đoan nội dung của Báo cáo là trung thực; Chủ nhiệm và các thành viên tham gia thực hiện đề tài không sử dụng kết quả nghiên cứu của người khác trái với quy định của pháp luật.

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI

CHỦ TỊCH HĐ NGHIỆM THU

LỜI CAM ĐOAN

Với tinh thần và trách nhiệm học tập của một sinh viên, chúng tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của chính bản thân chúng tôi dưới sự hướng dẫn của ThS. Nguyễn Khoa Trưởng. Toàn bộ số liệu, hình ảnh được thực hiện tại phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học, Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt và không sao chép của bất kỳ tài liệu nào cũng như chưa từng công bố dưới bất kỳ hình thức nào.

Chúng tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước khoa với lời cam đoan này.

Lâm Đồng, ngày tháng năm 2021

Thay mặt nhóm

Chủ nhiệm đề tài

LỜI CẢM ƠN

Trong thời gian hoàn thành và thực hiện đề tài, ngoài những nỗ lực của bản thân, chúng tôi đã nhận được nhiều sự quan tâm, động viên và giúp đỡ nhiệt tình của các cá nhân và tổ chức:

Lời đầu tiên, với lòng biết ơn sâu sắc nhất, tôi xin được gửi lời cảm ơn đặc biệt nhất đến ThS. Nguyễn Khoa Trưởng đã trực tiếp giảng dạy, hướng dẫn chỉ bảo tận tình giúp chúng tôi hoàn thành tốt đề tài này. Trong quá trình thực hiện đề tài, chúng tôi cũng không tránh khỏi những khó khăn và những thất bại nhưng Thầy đã luôn bên cạnh động viên hỗ trợ hết mình giúp chúng tôi hoàn thành tốt đề tài và đã cho tôi nhiều bài học quý giá trong khoảng thời gian sinh viên của mình.

Chúng tôi chân thành cảm ơn các anh chị cùng làm tại phòng thí nghiệm Công nghệ Vi sinh, Khoa Sinh học đã giúp đỡ tạo điều kiện cũng như cho tôi hoàn thành nghiên cứu trên.

Xin chân thành cảm ơn!

Nhóm nghiên cứu

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Giá trị dinh dưỡng của quả hồng có trong 100 gram	6
Bảng 2.1. Hệ số quan trọng của từng chỉ tiêu (TCVN 3215-79)	17
Bảng 2.2. Xếp hạng mức chất lượng theo điểm số (TCVN 3215-79)	18
Bảng 3.1. Kết quả phân lập các chủng nấm men có khả năng lên men tạo rượu.....	21
Bảng 3.2. Kết quả đánh giá khả năng chuyển hóa đường của các chủng nấm men.....	22
Bảng 3.3. Kết quả khảo sát độ rượu sau lên men của hai chủng nấm men G1, G2.....	23
Bảng 3.4. Bảng điểm đã được hiệu chỉnh và đánh giá chất lượng.....	24
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống bổ sung vào dịch lên men.....	25
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của tỷ lệ đường bổ sung vào dịch lên men.....	27
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của pH bổ sung vào dịch lên men.....	29
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men.....	31
Bảng 3.9. Bảng điểm đã được hiệu chỉnh và đánh giá chất lượng.....	36
Bảng 3.10. So sánh chỉ tiêu cảm quan sản phẩm rượu vang từ quả hồng với TCVN 7045:2013	37
Bảng 3.11. So sánh chỉ tiêu hóa lý sản phẩm rượu vang từ quả hồng với TCVN 7045:2013	37
Bảng 3.12. So sánh chỉ tiêu vi sinh sản phẩm rượu vang từ quả hồng với TCVN 7045:2013	38

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 1.1. Sự hình thành ethanol trong quá trình lên men rượu vang.....	12
Sơ đồ 3.1. Các bước lên men rượu vang từ quả hồng (<i>Diospyros</i> sp.)... ..	34

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ giống bổ sung trong quá trình lên men.....	26
Biểu đồ 3.2. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ đường bổ sung trong quá trình lên men.....	28
Biểu đồ 3.3. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ pH bổ sung trong quá trình lên men.....	30
Biểu đồ 3.4. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men	32

DANH MỤC VIẾT TẮT

BGBLB:	Brilliant Green Bile Lactose Broth
CFU:	Colony Forming Unit
<i>E. coli</i> :	<i>Escherichia coli</i>
LSB:	Laury Sulphate Broth
PCA:	Plate Count Agar
PDA:	Potato Dextro Agar
PGY:	Potato Glucose Yeast
PTN:	Phòng thí nghiệm
QCVN:	Quy chuẩn Việt Nam
TCVN:	Tiêu chuẩn Việt Nam

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Tình hình sản xuất và tiêu thụ rượu vang trên thế giới và Việt Nam	3
1.1.1. Tình hình sản xuất và tiêu thụ rượu vang trên thế giới.....	3
1.1.2. Tình hình sản xuất và tiêu thụ rượu vang tại Việt Nam	4
1.1.3. Giá trị của rượu vang	4
1.2. Tổng quan về quả hồng	4
1.2.1. Giá trị dinh dưỡng của quả hồng.....	5
1.2.2. Ứng dụng.....	6
1.3. Công nghệ sản xuất rượu vang	7
1.3.1. Đặc điểm nước quả và yêu cầu về nguyên liệu	7
1.3.2. Hệ vi sinh vật lên men rượu vang	7
1.3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang	9
1.3.4. Các quá trình sinh hóa liên quan đến tạo sản phẩm rượu vang	11
1.3.5. Lên men sản xuất rượu vang.....	13
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	15
2.1. Đối tượng nghiên cứu	15
2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu	15
2.3. Phương pháp nghiên cứu	15
2.3.1. Phương pháp phân lập nấm men có khả năng lên men quả hồng tạo rượu vang	15
2.3.2. Phương pháp định lượng tế bào nấm men.....	15
2.3.3. Đánh giá khả năng chuyển hóa đường của các chủng nấm men (Ngô, 2009) ..	15
2.3.4. Khảo sát sự ảnh hưởng của các chủng nấm men đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng	16
2.3.5. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng	16
2.3.6. Phương pháp đánh giá cảm quan.....	17
2.3.7. Phương pháp hóa lí	19
2.3.8. Phương pháp kiểm nghiệm vi sinh vật	19

2.3.9. Phương pháp xử lý số liệu.....	20
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	21
3.1. Kết quả phân lập nấm men có khả năng lên men rượu vang từ quả hồng.....	21
3.2. Kết quả đánh giá khả năng chuyển hóa đường của các chủng nấm men	22
3.3. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của các chủng nấm men đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng	23
3.4. Kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang của chủng giống G2	24
3.4.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến quá trình lên men rượu vang hồng	24
3.4.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ đường đến quá trình lên men rượu vang hồng	26
3.4.3. Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men rượu vang hồng.....	29
3.4.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men rượu vang hồng	31
3.5. Các bước lên men rượu vang từ quả hồng	33
3.6. Kết quả đánh giá cảm quan, hóa lí, vi sinh vật của quá trình lên men	36
3.6.1. Kết quả đánh giá chỉ tiêu cảm quan	36
3.6.2. Kết quả đánh giá chỉ tiêu hóa lí	37
3.6.3. Kết quả đánh giá chỉ tiêu vi sinh	38
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	39
4.1. Kết luận	39
4.2. Kiến nghị	39
TÀI LIỆU THAM KHẢO	1
PHỤ LỤC	5

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI

1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: Nghiên cứu lên men rượu vang từ quả hồng (*Diospyros* sp.).
- Sinh viên thực hiện: Lê Thị Lan
- Lớp: CSK42 Khoa: Sinh Học Năm thứ: 03 Số năm đào tạo: 04
- Người hướng dẫn: ThS. Nguyễn Khoa Trường

2. Mục tiêu đề tài: Nghiên cứu các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng (*Diospyros* sp.) và ứng dụng tạo sản phẩm rượu vang hồng đạt chất lượng.

3. Tính mới và sáng tạo:

Đề tài đã thu nhận được 5 chủng nấm men có khả năng lên men rượu vang từ quả hồng; khảo sát được các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang bao gồm tỷ lệ giống, hàm lượng đường, pH dịch lên men, nhiệt độ lên men; bước đầu xây dựng được các bước cơ bản trong quá trình lên men rượu vang từ quả hồng (*Diospyros* sp.), từ đó ứng dụng tạo sản phẩm rượu vang hồng đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng.

4. Kết quả nghiên cứu:

- Phân lập được 5 chủng nấm men từ quả hồng có khả năng lên men rượu vang từ quả hồng.
- Qua khảo sát tốc độ chuyển hoá đường và khả năng lên men, nhận thấy chủng giống G2 cho kết quả chuyển hoá đường mạnh cũng như khả năng lên men tạo màu sắc, mùi vị, hương thơm đặc trưng cho sản phẩm rượu vang hồng.
- Khảo sát được một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng:
 - ✓ Tỷ lệ giống bổ sung vào dịch lên men thích hợp là 9% giống G2 với mật độ vi sinh vật $> 10^9$ CFU/ml

- ✓ Hàm lượng đường thích hợp ở dịch lên men là 20% Brix.
 - ✓ pH thích hợp ở dịch lên men là 4.0.
 - ✓ Nhiệt độ cho quá trình lên men rượu vang (ở giai đoạn nhân sinh khối) thích hợp là 25°C.
- Xây dựng được các bước cơ bản trong quá trình lên men rượu vang từ quả hồng.
 - Kiểm tra và đánh giá được một số các chỉ tiêu cảm quan, một số các chỉ tiêu hóa lí và vi sinh của sản phẩm rượu vang lên men từ quả hồng. Sản phẩm tạo ra đáp ứng yêu cầu chất lượng rượu vang của TCVN 7045:2013.

5. Đóng góp về mặt kinh tế - xã hội, giáo dục và đào tạo, an ninh, quốc phòng và khả năng áp dụng của đề tài:

Việc nghiên cứu xây dựng các bước lên men rượu vang từ quả hồng ứng dụng vào việc sản xuất rượu vang góp phần đa dạng hóa các sản phẩm trên thị trường nhằm đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng, góp phần tạo chỗ đứng vững chắc cho thị trường rượu vang ở Việt Nam. Bên cạnh đó còn giúp cho người dân thương mại hóa được các sản phẩm từ quả hồng tại Đà Lạt nói riêng và Lâm Đồng nói chung.

6. Công bố khoa học của sinh viên từ kết quả nghiên cứu của đề tài (*ghi rõ tên tạp chí nếu có*) hoặc nhận xét, đánh giá của cơ sở đã áp dụng các kết quả nghiên cứu (*nếu có*):

Ngày tháng 06 năm 2021

Sinh viên chịu trách nhiệm chính

thực hiện đề tài

(*ký, họ và tên*)

Nhận xét của người hướng dẫn về những đóng góp khoa học của sinh viên thực hiện đề tài *(phần này do người hướng dẫn ghi):*

Các nội dung nghiên cứu của nhóm thực hiện đề tài đã góp phần sử dụng nguồn nguyên liệu tại địa phương để bước đầu xây dựng các bước lên men và làm đa dạng hóa các sản phẩm rượu vang lên men từ trái cây. Bên cạnh đó, nhóm đã phân lập và tuyển chọn các chủng nấm men từ quả Hồng tròng ở Đà Lạt để bổ sung vào nguồn chủng giống để phục vụ công tác nghiên cứu trong thời gian tới liên quan đến lĩnh vực công nghệ vi sinh.

Ngày tháng 06 năm 2021

Xác nhận của trường đại học

(ký tên và đóng dấu)

Người hướng dẫn

(ký, họ và tên)

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN VỀ SINH VIÊN

CHỊU TRÁCH NHIỆM CHÍNH THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

I. SƠ LƯỢC VỀ SINH VIÊN:

Họ và tên: Lê Thị Lan

Sinh ngày: 12 tháng 11 năm 2000

Nơi sinh: Xóm Lam Thắng - xã Ngọc Sơn - huyện Thanh Chương -
Tỉnh Nghệ An.

Lớp: CSK42

Khóa: 2018 - 2022

Khoa: Sinh Học

Địa chỉ liên hệ: 8/17B Võ Trường Toản, p8, Đà Lạt, Lâm Đồng.

Điện thoại: 0385928265

Email: 1812605@dlu.edu.vn

Ảnh 4x6

II. QUÁ TRÌNH HỌC TẬP (kê khai thành tích của sinh viên từ năm thứ 1 đến năm đang học):

*** Năm thứ 1:**

Ngành học: Công nghệ sinh học

Khoa: Sinh học

Kết quả xếp loại học tập: Giỏi

Sơ lược thành tích:

*** Năm thứ 2:**

Ngành học: Công nghệ sinh học

Khoa: Sinh học

Kết quả xếp loại học tập: Giỏi

Sơ lược thành tích:

Ngày tháng 06 năm 2021

Xác nhận của trường đại học

Sinh viên chịu trách nhiệm chính

(ký tên và đóng dấu)

thực hiện đề tài

(ký, họ và tên)

MỞ ĐẦU

Việt Nam là quốc gia có tốc độ tiêu thụ rượu lớn nhất thế giới (“Tốc độ tiêu thụ rượu bia ở Việt Nam đứng đầu thế giới”, 2019). Sự xuất hiện của rượu vang nhập khẩu như thổi một làn gió mới vào thị trường bia rượu Việt Nam vốn đã bão hòa từ rất lâu. Theo thống kê của Hiệp hội Rượu Bia và Nước giải khát Việt Nam, hiện cả nước có hơn 15 doanh nghiệp sản xuất và đóng chai rượu vang với sản lượng mỗi năm tăng khoảng 12 – 13 triệu lít (“Bức tranh đa diện trên thị trường rượu vang thế giới”, 2019). Được biết rượu vang là một sản phẩm lên men ethanol không qua chưng cất được sản xuất từ trái cây. Rượu vang giúp hỗ trợ tiêu hóa tốt, đặc biệt các loại rượu vang đỏ còn có thể phòng bệnh về tim mạch (“Lợi ích sức khỏe của quả hồng giòn”, 2019).

Trước đó, rượu vang được sản xuất từ quả nho là chủ yếu, nhưng để đa dạng hóa các sản phẩm rượu trên thị trường nhằm thu hút người tiêu dùng thì hiện nay đã có rất nhiều nghiên cứu cũng như các sản phẩm mới về nguyên liệu trong sản xuất rượu vang như: Nghiên cứu quy trình sản xuất rượu vang từ bí đao của Nguyễn Thị Hải (2017), Nguyễn Bá Ngọc Đồ, Nghiên cứu lên men rượu vang từ thịt quả điều năm 2013; Nghiên cứu lên men rượu vang từ cà chua thân gỗ, Nguyễn Thị Hồng (2019), Trường Đại học Đà Lạt; Fermentation temperature and the phenolic and aroma profile of persimmon wine of (Liu et al, 2017),...

Được biết, quả hồng là một trong những đặc sản tại thành phố Đà Lạt (Lâm Đồng). Đây là địa phương đi đầu trong việc trồng, thu hoạch, chế biến và tiêu thụ quả hồng, với khoảng 80% sản lượng hồng được tiêu thụ dưới hình thức ăn tươi, 20% được chế biến thành các sản phẩm sấy khô để cung cấp sản phẩm đặc sản cho thị trường trong nước. Tại các địa phương sản xuất quả hồng lâu đời như D’ran, Ka Đô cũng chỉ mới tiêu thụ quả hồng bằng cách bán cho thương lái với giá bấp bênh không ổn định, như vậy, nguồn thu nhập kinh tế cho người dân rất thấp và ngày càng giảm đi giá trị đặc sản của quả hồng. Với mong muốn nâng cao chất lượng, phát triển thương hiệu Hồng Đà Lạt nhằm nâng cao thu nhập cho người dân thì UBND Thành phố Đà Lạt đã thực hiện dự án Tạo lập, quản lý và phát triển nhãn hiệu chứng nhận “Hồng Đà Lạt” được triển khai từ năm 2018 – 2020 đã liên kết được 3 hợp tác xã đang hoạt động trong lĩnh vực chế biến và tiêu thụ hồng khô từ đó mang lại

thu nhập ngày càng cao cho các thành viên của hợp tác xã và các hộ dân liên kết (“Đồng lòng phát triển thương hiệu Hồng Đà Lạt”, 2020). Tuy nhiên, với sự bão hòa và không đổi mới các sản phẩm từ quả Hồng dẫn đến sản lượng tiêu thụ Hồng giảm một cách rõ rệt và đối tượng khách hàng ngày càng thu hẹp.

Nhận thấy quả hồng có giá trị dinh dưỡng rất cao và nhiều đặc tính thích hợp cho quá trình lên men rượu vang như hàm lượng đường đạt 12.53g, hàm lượng tanin tạo vị chất đặc trưng cho sản phẩm rượu vang (“Bảng thành phần dinh dưỡng thực phẩm”, 2020) nhưng chưa hề có nghiên cứu nào được công bố liên quan đến sản phẩm rượu vang từ quả hồng ở Việt Nam.

Hiện nay, theo các khảo sát gần đây, việc sử dụng chính hệ vi sinh vật nấm men trong nguyên liệu quả hồng là chưa được nghiên cứu và ứng dụng. Vì vậy, ứng dụng quả hồng làm nguồn nguyên liệu cho quá trình lên men rượu vang là rất có triển vọng. Xuất phát từ các lý do trên, cùng với mong muốn tận dụng nguồn nguyên liệu sẵn có tại Đà Lạt và huyện lân cận để đa dạng hóa các sản phẩm rượu vang, nâng cao thu nhập cho người dân tại địa phương, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: “Nghiên cứu lên men rượu Vang từ quả hồng (*Diospyros* sp.)”.

Nội dung nghiên cứu:

- Phân lập, tuyển chọn các chủng nấm men có ý nghĩa trong lên men rượu vang từ quả hồng (*Diospyros* sp.)
- Nghiên cứu các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng: tỷ lệ giống, hàm lượng đường, pH dịch lên men, nhiệt độ lên men.
- Xây dựng các bước cơ bản trong lên men rượu vang từ quả hồng (*Diospyros* sp.)
- Kiểm tra và đánh giá một số chỉ tiêu cảm quan, hóa lý và vi sinh của sản phẩm sau lên men.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tình hình sản xuất và tiêu thụ rượu vang trên thế giới và Việt Nam

1.1.1. Tình hình sản xuất và tiêu thụ rượu vang trên thế giới

Tổ chức nho và rượu vang quốc tế (OIV) ước tính năm 2018 sản lượng rượu vang trên toàn cầu đạt 279 triệu hectoliter (1 hectoliter tương đương 100 lít), mức cao nhất kể từ năm 2000 (“Bức tranh đa diện trên thị trường rượu vang thế giới”, 2019). Ý là quốc gia đang giữ vị trí sản xuất rượu vang hàng đầu thế giới với 48.5 triệu hectoliter (4.85 tỷ lít), sau đó là Pháp đạt 46.4 triệu hectoliter. Tại Pháp, trong khi xu hướng tiêu thụ rượu nói chung đi xuống, rượu vang được làm từ nho hữu cơ đang ngày càng hấp dẫn người tiêu dùng (“Bức tranh đa diện trên thị trường rượu vang thế giới”, 2019). Bên cạnh hai nhà sản xuất rượu vang hàng đầu, bức tranh về thị trường rượu vang thế giới 2018 còn được tô điểm bởi những thông tin đa chiều từ các nhà sản xuất khác như Chile, Mexico, Mỹ và Australia (“Bức tranh đa diện trên thị trường rượu vang thế giới”, 2019).

Theo hãng nghiên cứu Statista, quy mô thị trường rượu vang toàn cầu ước tính sẽ đạt giá trị 340.797 triệu USD trong năm 2020 cùng tốc độ tăng trưởng hàng năm kép (CAGR) 9.2% trong vòng 5 năm tới. Xét trên góc độ dân số, mỗi người tiêu dùng chi tiêu trung bình 45.79 USD cho việc sử dụng loại đồ uống này. Xét về thị phần, với tổng doanh thu lên đến 49.795 triệu USD, Hoa Kỳ là quốc gia đóng góp nhiều vào tổng giá trị thị trường rượu toàn thế giới năm 2020 (“Sản lượng rượu vang toàn cầu năm 2020 tiếp tục chạm đáy thị trường”, 2020).

Nếu Hoa Kỳ là quốc gia tiêu thụ nhiều rượu nhất thì Châu Âu là khu vực có tổng sản lượng cao nhất thế giới (chiếm 60%). Cũng theo dữ liệu từ OIV, tổng sản lượng rượu vang tại châu Âu năm 2020 ước tính đạt 15.9 tỷ lít, tăng 5% so với cùng kỳ năm ngoái, tuy nhiên, con số này vẫn đang ở mức dưới trung bình. Bên cạnh đó, Ý, Pháp và Tây Ban Nha, Hoa Kỳ, Argentina và Úc là những quốc gia dẫn đầu về sản lượng rượu vang toàn cầu. Trong đó, 3 quốc gia châu Âu đang chiếm hơn 80% sản lượng khu vực và gần 50% tổng sản lượng thế giới. (“Sản lượng rượu vang toàn cầu năm 2020 tiếp tục chạm đáy thị trường”, 2020).

1.1.2. Tình hình sản xuất và tiêu thụ rượu vang tại Việt Nam

Theo số liệu từ Hiệp hội Rượu bia và Nước giải khát của Việt Nam, hiện nay trong nước có trên 15 doanh nghiệp chuyên về sản xuất và đóng chai rượu vang, với sản lượng mỗi năm tăng khoảng 12-13 triệu lít. Số liệu của Tổng cục Thống kê Việt Nam cho biết, nhập khẩu rượu vang của Việt Nam từ năm 2010 trở lại đây gia tăng đều đặn, trung bình tăng 10%/năm. Tốc độ gia tăng nhập khẩu rượu vang Pháp và Ý vào Việt Nam là mạnh nhất, trung bình lên đến 15%/năm. Năm 2012, rượu vang Pháp chiếm 14.3% tổng lượng rượu nhập khẩu của nước ta. Việt Nam đang được đánh giá là thị trường tiêu thụ rượu vang tốt nhất châu Á với tốc độ tăng trưởng 10% (“Thị trường Rượu Việt Nam còn nhiều tiềm năng”, 2020).

Thị trường rượu vang tăng sức mua khá rõ rệt vì nhu cầu biếu tặng tăng và giá bia cao. Các thương hiệu Vang Việt Nam như: vang Đà Lạt, Thăng Long, Đông Đô,... từng bước chiếm lĩnh thị trường vì chất lượng ổn định. Rượu vang Đà Lạt cũng đang cố gắng thuyết phục thị trường phong phú này với các loại rượu vang mang phong cách riêng của mình với một số công ty rượu vang như: Công ty BeCo Đà Lạt, Công ty Langbiang, Công ty Vĩnh Tiến, v, v... (“Thị trường Rượu Việt Nam còn nhiều tiềm năng”, 2020).

1.1.3. Giá trị của rượu vang

Rượu vang gồm khoảng 85% là nước, 12% là ethanol, cấu rượu, và loại acid khác. Trong rượu vang còn có nhiều loại đường, carbohydrate, aldehyde thơm, ketone, enzyme, chất tạo màu, nhiều loại vitamin, vài loại muối khoáng và một số chất khác. Rượu vang tốt cho tiêu hóa và làm tăng hương vị món ăn vì thế nó thường xuất hiện trên các bữa ăn và bàn tiệc, là một loại chất có ảnh hưởng đến sức khỏe, tác động và ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất, lượng uống của mỗi người có khác nhau nhưng chúng đều làm dịu bớt căng thẳng (“Lịch sử và tính chất của rượu vang”, 2015).

1.2. Tổng quan về quả hồng

Ở Việt Nam, quả hồng (*Diospyros* sp.) là quả được trồng phổ biến. Đây là cây ăn quả lâu đời ở các tỉnh phía Bắc từ Thanh Hóa trở ra. Ở miền Nam cây được trồng ở Đà Lạt (Lâm Đồng) và các huyện lân cận. Các giống hồng đang được trồng hiện nay vô cùng phong phú như hồng Hạc, hồng Lạng, hồng vuông,...trong đó hồng trứng lóc chiếm khoảng 80%

diện tích, riêng hồng vuông được trồng chủ yếu ở huyện Đơn Dương (giống này thu hoạch muộn chủ yếu làm nguyên liệu hồng khô), Hồng Đà Lạt thu hoạch mỗi năm một mùa, trái thường chín tập trung, tiêu thụ trên thị trường 80% dưới hình thức ăn quả tươi. Theo thống kê của Phòng kinh tế thành phố Đà Lạt, hiện nay diện tích hồng Đà Lạt còn khoảng 370 ha, trong đó trồng xen canh với cà phê khoảng 98.1%, còn 1.9% trồng thuần. Hồng Đà Lạt được trồng chủ yếu tại các phường 3, 4, 5, 7, 10 và các xã Xuân Thọ, Xuân Trường, Tà Nung với sản lượng quả tươi hàng năm đạt trên 12.500 tấn, trong đó có 20% được sấy khô đóng gói bán tại các quầy hàng đặc sản, còn 80% sản lượng hồng Đà Lạt được bán tươi chủ yếu cho khách du lịch và các tỉnh lân cận (Nâng tầm trái hồng Đà Lạt, 2017).

1.2.1. Giá trị dinh dưỡng của quả hồng

Quả hồng có giá trị dinh dưỡng rất cao được chứng minh qua nhiều nghiên cứu khác nhau. Dưới đây là bảng giá trị dinh dưỡng đặc biệt của quả hồng.

Bảng 1.1: Giá trị dinh dưỡng của quả hồng có trong 100 gram.

Thành phần	Giá trị
Năng lượng	29kcal
Cacbohydrat	18.59g
Đường	12.53g
Chất xơ	3.6g
Chất béo	19g
Chất béo bão hòa	0.2g
Chất đạm	0.7g
Riboflavin(B2)	0.02mg
Folate(B9)	- Mg
Vitamin C	16mg
Canxi	10mg
Sắt	0.20mg
Natri	4mg
Tanin	2.9g

Nguồn: BYT, Viện dinh dưỡng, bảng thành phần dinh dưỡng Việt Nam

1.2.2. Ứng dụng

Ngoài có giá trị về mặt dinh dưỡng, quả hồng còn giúp ngăn ngừa và chữa bệnh, dưới đây là các ứng dụng đặc biệt của quả hồng đối với sức khỏe con người:

Tăng cường thị lực: Nguồn vitamin A dồi dào từ quả hồng sẽ giúp cải thiện thị lực, tăng cường tầm nhìn cho đôi mắt.

Tốt cho hệ tiêu hóa, tăng cường hệ miễn dịch: Quả hồng rất giàu chất xơ, nên việc ăn hồng thường xuyên sẽ giúp hệ tiêu hóa khỏe mạnh hơn. Bên cạnh đó, quả hồng chứa rất

nhiều chất Tanin (gọi là mù, một chất trong vỏ trái cây), loại chất nhầy này có khả năng kiểm soát chuyển động của đường ruột, qua đó hỗ trợ điều trị các bệnh tiêu chảy.

Tốt cho người bị huyết áp cao: Hồng được biết đến là loại trái cây có lượng Natri cực thấp, đồng thời chất Shiboul trong quả hồng có tác dụng làm hạ huyết áp. Nên bệnh nhân cao huyết áp có thể thêm quả hồng vào thực đơn hàng ngày.

Ngoài ra, quả hồng còn chứa hàm lượng cao vitamin C và vitamin A, cũng như các hợp chất Phenolic như Catechins và Gallocatechins là những chất liên quan trực tiếp đến việc phòng chống các loại ung thư. (“Lợi ích sức khỏe của quả hồng giòn”, 2019).

1.3. Công nghệ sản xuất rượu vang

1.3.1. Đặc điểm nước quả và yêu cầu về nguyên liệu

1.3.1.1. Đặc điểm nước quả

Nguyên liệu làm rượu vang là các quả chín (có thể chưa thật chín) sau khi thu hoạch chọn loại quả tươi, chất lượng tốt, ép lấy nước hoặc ngâm với đường để thu được dịch nước quả dùng cho lên men. Tất cả các loại quả đều có đường, nhiều vitamin, nhiều acid hữu cơ, trong đó có nhiều vitamin C, có đầy đủ chất khoáng và có một lượng protein đáng kể. Ngoài ra nước quả còn chứa tanin, pectin (Lê & Nguyễn, 2009).

1.3.1.2. Yêu cầu về nguyên liệu

Nguyên liệu được xem là yếu tố hàng đầu, quyết định đến chất lượng vang. Nguyên liệu là các loại quả thu hái về, tránh dập nát, chọn các loại quả tốt ép lấy dịch. Để sản xuất vang người ta thường phải quan tâm đến một số chỉ tiêu chất lượng của nguyên liệu như hàm lượng đường, thành phần và hàm lượng acid, pectin, tanin, các loại vitamin, các loại enzyme (Lê, 2009).

1.3.2. Hệ vi sinh vật lên men rượu vang

Hệ vi sinh vật tham gia vào quá trình lên men rượu vang rất đa dạng và phong phú, bao gồm các loài nấm men, nấm mốc, vi khuẩn. Hệ vi sinh vật này vốn sẵn có từ nguyên liệu quả, từ dụng cụ sản xuất, từ không khí, nước, v.v ... trong đó bao gồm các loài đã tạo ra sản phẩm có lợi nhưng cũng có nhiều loài tạo ra những sản phẩm không có lợi, thậm chí là hỏng vang (Lương, 2009).

1.3.2.1. Nấm men

Là nhóm vi sinh vật có vai trò quan trọng nhất trong sản xuất vang. Trong quá trình lên men rượu vang, các cơ sở, nhà sản xuất thường sử dụng một số loài nấm men khác nhau trong quá trình lên men tùy vào cơ chất, điều kiện lên men và sản phẩm mong muốn, ví dụ như:

- *Saccharomyces cerevisiae*: có khả năng lên men dịch có hàm lượng đường cao và có thể tạo ra 18-20 % cồn theo thể tích, khả năng kết lắng, tạo hương, vị đặc trưng cho rượu vang. Vì vậy, trong sản xuất rượu vang có độ cồn cao, người ta thường sử dụng *S. cerevisiae* để lên men (Lương, 2009).
- *Saccharomyces vini*: có khả năng sinh ra invertase nội bào để chuyển hóa saccharose thành fructose và glucose. Vì vậy, nó sử dụng để lên men rượu từ dịch quả có bổ sung thêm saccharose ở hàm lượng khá cao (Lương, 2009).
- *Saccharomyces oviformis*: có khả năng sinh trưởng, phát triển ở giai đoạn đầu chậm hơn *S. vini*, *S. oviformis* có khả năng lên men kiệt đường và độ rượu đạt tới 18%, sản phẩm có hương, vị khá tốt, thường để sản xuất các loại rượu vang khô (Lương, 2009).

1.3.2.2. Vi khuẩn lactic

Trong quá trình sản xuất rượu vang, ngoài quá trình lên men tạo cồn của nấm men còn có quá trình lên men khác là sự lên men malolactic để chuyển hóa acid malic có trong dịch quả nho và rượu vang non thành acid lactic có vị chua dịu hơn ở trong vang thành phẩm mà tác nhân của quá trình này chính là vi khuẩn lactic (Lê, 2009).

1.3.2.3. Vi sinh vật có hại cho sản xuất rượu vang

Có không ít các loại vi khuẩn làm cho rượu vang bị đục, có vị chua gắt, mùi khó chịu, làm cho rượu vang bị hỏng.

Một số nấm men tạo màng trên bề mặt rượu vang như *Pichia*, *Candida*... phân giải đường thành những acid hữu cơ như acid citric, acid acetic,... làm cho vang bị đục, độ chua tăng cao, vị không ngon. Một số nấm men giống *Torulopsis*, *Brettanomyces*... lên men

đường tạo thành rượu và nhiều loại acid bay hơi, làm hỏng rượu vang hoặc rượu vang bị hóa nhầy.

Các loại vi khuẩn thuộc *Acetobacter* oxy hóa ethylic thành acid acetic và CO₂ thậm chí sản phẩm cuối cùng chỉ là CO₂ và H₂O đã làm cho rượu vang có vị chua gắt của giấm, vang bị nhớt, không thể sử dụng được (Lê, 2011).

1.3.2.4. Yêu cầu đối với chọn chủng nấm men thuần chủng

Chủng nấm men sử dụng trong lên men rượu vang phải thuần khiết, dễ dàng phát triển, sinh trưởng mạnh mẽ, dễ kiểm, rẽ tiền. Thích nghi trong điều kiện pH thấp, nhiệt độ cao hoặc có khả năng sinh ra chất ức chế các vi sinh vật khác. Có hoạt lực lên men cao đối với nước quả, sử dụng đường trong lên men gần như hoàn toàn, kết lắng tốt, làm trong dịch, chịu được độ rượu cao và độ acid của môi trường (Lương, 2009).

1.3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang

1.3.3.1. Nhiệt độ

Nấm men có thể sinh trưởng và phát triển ở dải nhiệt độ 4-45°C nhưng thích hợp nhất là 22-28°C. Nhiệt độ càng thấp thì nấm men sinh sản càng chậm, thời gian lên men kéo dài, tuy nhiên lại hạn chế được sự nhiễm khuẩn và ngược lại nhiệt độ càng cao thì nấm men sinh sản nhanh hơn nên thời gian lên men rút ngắn hơn nhưng khả năng nhiễm khuẩn sẽ rất cao (Nguyễn, 2006).

1.3.3.2. pH môi trường

Nấm men có thể sinh trưởng và phát triển trong môi trường có pH từ 2.5 - 7.5, tuy nhiên độ pH phù hợp nhất là 4-6, nhiều chủng nấm men có thể sinh trưởng và phát triển tốt ở pH 3-3.5 (Lương, 2009).

1.3.3.3. Nồng độ cồn

Mỗi nấm men có khả năng chịu được nồng độ rượu khác nhau. Trong quá trình lên men rượu, nồng độ cồn tăng dần sẽ gây ức chế không chỉ cho các hoạt động sống của nấm men mà còn kìm hãm hoạt động của nhiều loại enzyme chuyển hóa đường thành rượu, khả

năng sống sót của nấm men phụ thuộc vào nhiệt độ và nồng độ rượu có trong dịch lên men (Lương, 2009).

1.3.3.4. Hàm lượng đường

Hàm lượng đường trong dịch lên men ở 1–2% thì tốc độ lên men đạt nhanh nhất, nhưng hiệu suất lên men lại thấp. Hàm lượng đường thích hợp cho lên men vang là 12-25% (Lê, 2009).

Sự thay đổi nồng độ đường trong dịch nho ban đầu còn ảnh hưởng đến hàm lượng các sản phẩm trao đổi chất khác do nấm men sinh ra (Lê, 2009).

1.3.3.5. Acid hữu cơ

Acid là thành phần quan trọng để làm giảm độ pH, có tác dụng ức chế nhiều loại vi khuẩn tạp nhiễm. Ảnh hưởng của acid hữu cơ đối với quá trình lên men không phải do hàm lượng tổng số của các acid hữu cơ không bay hơi mà do thành phần và hàm lượng của các loại acid hữu cơ, các acid béo, acetic, butyric, propionic có trong dịch lên men sẽ tác động phối hợp đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm men (Lê, 2009).

1.3.3.6. Lượng men giống

Số lượng tế bào nấm men có trong dịch lên men càng thấp thì thời gian nhân giống và lên men rượu vang sẽ kéo dài hơn, dễ bị nhiễm khuẩn, ngược lại hàm lượng men giống trong dịch lên men càng cao thì thời gian lên men sẽ ngắn hơn, hạn chế sự nhiễm khuẩn do sự áp đảo của nấm men (Lê, 2009).

1.3.3.7. Nồng độ oxy hòa tan và

Lượng oxy thích hợp cho quá trình lên men vang sẽ góp phần đáp ứng yêu cầu sinh trưởng phát triển mạnh ban đầu của nấm men. Tuy nhiên, sự dư thừa oxy trong quá trình lên men rượu sẽ làm cho sự tạo thành ATP mạnh mẽ hơn và trạng thái tích lũy năng lượng của tế bào tăng lên, làm ức chế quá trình lên men rượu và làm giảm cả hiệu suất lên men (Lê, 2009).

1.3.3.8. Vitamin và muối khoáng

Một số loại vitamin như B1, Biotin, vitamin E... có tác dụng rất tốt đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm men (Lê, 2009).

Các nguyên tố N, P, S... đóng vai trò quan trọng đối với sự hình thành màng và nhân tế bào, Cu, Ca, Mg, là trung tâm hoạt hóa của nhiều loại enzyme tham gia vào quá trình chuyển hóa đường thành rượu (Lê, 2009).

1.3.3.9. Chế độ khử trùng

Dịch nước quả và thiết bị lên men cần được khử trùng trước khi lên men nhằm tránh nhiễm và diệt nấm dại. Có hai cách khử trùng thường sử dụng là khử trùng bằng nhiệt và khử trùng bằng hóa chất (Lê, 2009).

1.3.4. Các quá trình sinh hóa liên quan đến tạo sản phẩm rượu vang

Lên men sản xuất vang bao gồm hàng loạt các quá trình biến đổi sinh học, hóa học, hóa lý khác nhau, trong đó quan trọng nhất là các quá trình sau:

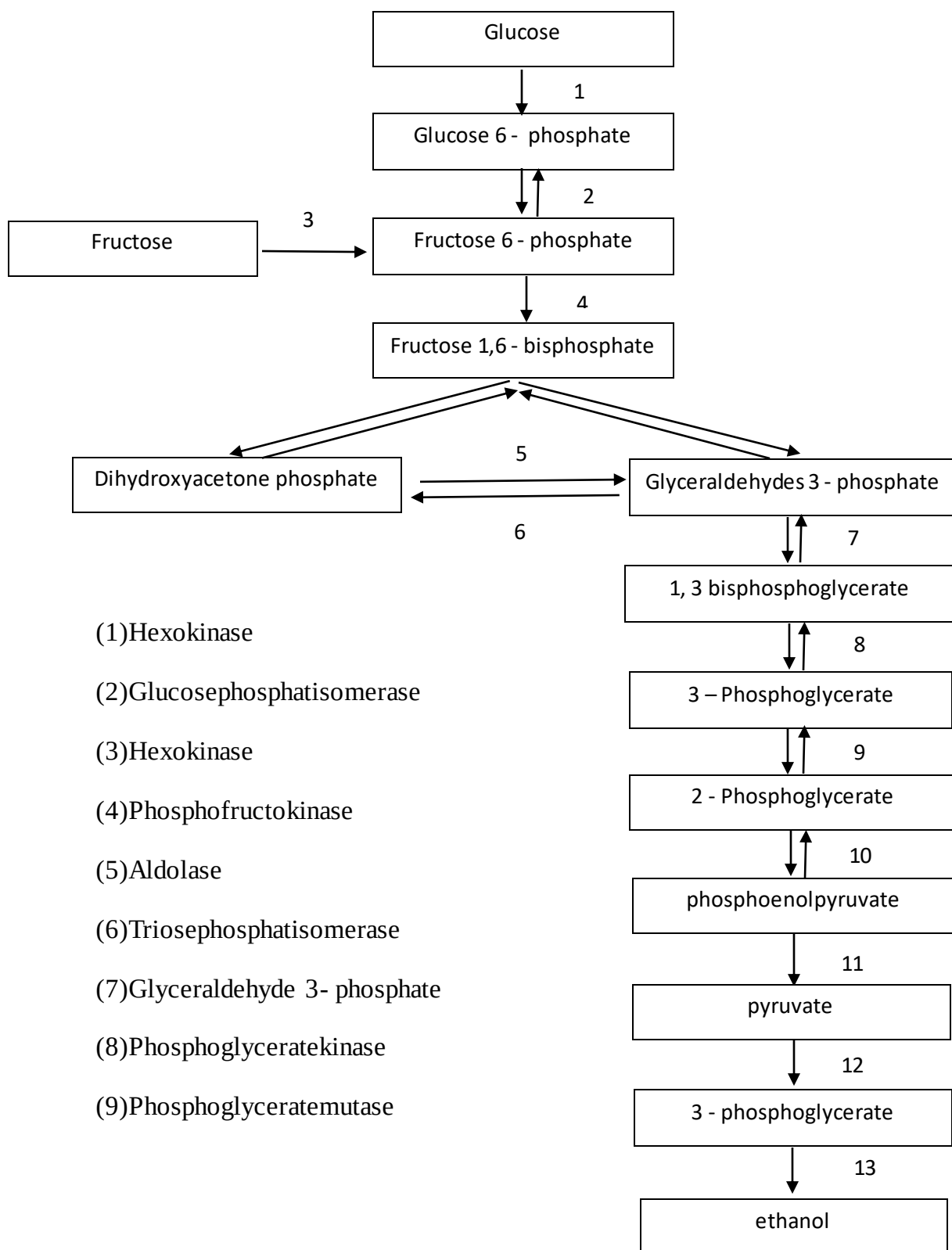
1.3.4.1. Lên men rượu

Lên men rượu là quá trình hô hấp kỵ khí của nấm men để chuyển hóa đường thành rượu và giải phóng CO₂, theo phương trình tổng quát sau:



Quá trình lên men các đường đơn glucose, fructose thành ethanol và giải phóng CO₂ được thực hiện qua con đường fructozodiphosphat và chu trình tricacboxylic (Lê, 2011).

Các sản phẩm bậc 2 và các sản phẩm phụ được coi là thành phần tất yếu và không thể thiếu được của quá trình lên men rượu. Từ đường glucose (100%) thì sau khi kết thúc lên men thu được 44.4% CO₂, rượu ethanol, 3.3% glycerine, 0.65% acid succinic, 1.1% acid lactic và acetic (Lê, 2011).



Sơ đồ 1.1. Sự hình thành ethanol trong quá trình lên men rượu vang (Lê, 2006)

Các sản phẩm phụ như glycerine, acid acetic có thể chuyển hóa qua lại và có thể tạo

thành ethanol. Acetaldehyde là sản phẩm trung gian trong quá trình lên men rượu và có vai trò quan trọng trong việc tăng giá trị cảm quan của rượu vang (Lê, 2011)

1.3.5. Lên men sản xuất rượu vang

1.3.5.1. Nhân giống lên men

Mục đích của quá trình nhân giống lên men là tăng số lượng tế bào, cần tạo điều kiện môi trường nuôi cấy, thành phần môi trường đảm bảo tối ưu cho sự sinh trưởng nhanh (tăng số lượng tế bào, không tạo sản phẩm). Nấm men thường được nhân giống trong môi trường dịch thể, có thể nhân giống cấp 1, cấp 2... tùy theo yêu cầu của mỗi quá trình lên men khác nhau.

1.3.5.2. Lên men chính

Lên men chính là quá trình chuyển hóa đường thành các sản phẩm cần thiết cho rượu vang (Lê, 2009).

Giai đoạn oxy hóa đường thành CO_2 , H_2O và năng lượng để nấm men tăng sinh khối, do đó trong giai đoạn này cần cung cấp oxy hòa tan trong dịch lên men.

Giai đoạn chuyển hóa đường thành rượu và giải phóng CO_2 nhờ hệ enzyme của nấm men (quá trình hô hấp kỵ khí của nấm men), do đó lượng oxy hòa tan là tối thiểu.

Lên men chính thường kết thúc sau 4-8 ngày, tùy theo chủng nấm men và điều kiện lên men (Lê, 2011).

1.3.5.3. Lên men phụ

Là giai đoạn tiếp theo của lên men chính diễn ra chậm 2-3 tháng ở nhiệt độ thấp 8-12°C, sản phẩm lúc này chưa thực sự “chín”, vì vậy một số quá trình biến đổi tạo acid, muối, các cấu tử chất thơm,... tiếp tục diễn ra, cùng với các quá trình biến đổi này là sự tự phân và kết lắng của nấm men và một số cặn lơ lửng xuất hiện trong khi lên men (Lê & Nguyễn, 2009)

1.3.5.4. Lưu trữ và tạo hương, vị đặc trưng cho rượu vang

Giai đoạn lưu trữ còn gọi là giai đoạn ủ “chín” rượu vang, để thúc đẩy quá trình chín của rượu người ta phải thường xuyên tách cặn, giữ rượu vang ở nhiệt độ thấp và điều quan

trọng chính là quá trình oxy hóa trong giai đoạn này đã làm cho rượu vang non được biến đổi thành rượu vang trưởng thành (Lê & Nguyễn, 2009).

1.3.5.5. Hoàn thành sản phẩm

Rượu vang thường được lọc lần cuối ngay trước khi đóng chai, sau đó được dán nhãn để tiêu thụ hoặc tiếp tục tàng trữ trong các hầm có nhiệt độ thấp. Để rượu vang luôn ổn định và giữ được chất lượng tốt thì việc sử dụng chai có màu sẫm và giữ nhiệt độ khoảng 15-20°C là phù hợp (Lê & Nguyễn, 2009).

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Quả hồng: được thu tại Trạm Hành, Xuân Trường, Đà Lạt, Lâm Đồng.

Giống nấm men: giống được phân lập từ dịch quả hồng lên men tự nhiên.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 10/2020 đến tháng 6/2021.

Địa điểm nghiên cứu: tại phòng thí nghiệm Công nghệ vi sinh, Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp phân lập nấm men có khả năng lên men quả hồng tạo rượu vang

Phân lập các chủng nấm men bằng phương pháp pha loãng cấy trải trên môi trường thạch đĩa (Nguyễn, Nguyễn & Phạm, 2009).

Pha loãng 10ml dịch quả đã lên men tự nhiên trong 90ml nước muối sinh lý 0.85% vô trùng. Lắc đều từ 10-20 phút. Pha loãng đến nồng độ thích hợp, dùng micropipet hút 0,1ml dung dịch sau pha loãng ở ba nồng độ vào đĩa Petri có sẵn môi trường thạch Hansen, dùng que cấy trải đều dịch pha loãng trên môi trường. Sau đó, ủ ở 28°C trong 24-48h. Các chủng vi sinh vật sau khi được phân lập thì tiến hành cấy truyền để làm thuần giống.

2.3.2. Phương pháp định lượng tế bào nấm men

Định lượng tế bào bằng phương pháp đếm trực tiếp trên buồng đếm hồng cầu (Nguyễn, 2006).

2.3.3. Đánh giá khả năng chuyển hóa đường của các chủng nấm men (Ngô, 2009)

Nhân sinh khối các chủng nấm men: lấy nửa vòng của đầu kim các chủng nấm men từ ống thạch nghiêng cấy vào ống nghiệm chứa 9ml dung dịch môi trường PGY (Potato, Glucose, Yeast) đã được khử trùng ở 121°C trong 15 phút, ủ trong 24h ở 25°C. Sau đó, lấy 1ml dung dịch sinh khối đã được ủ sau 24h cho vào ống nghiệm chứa chuông Durham có chứa 9ml dung dịch glucose 2% đã được khử trùng ở 121°C trong 15 phút. Lắc thật đều để dung dịch đường tràn đầy vào chuông Durham, ủ ở 25°C. Thực hiện đo chiều cao cột khí

CO₂ được sinh ra bên trong ống ở các thời điểm 4, 8, 12, 14, 16, 20, 24 giờ ủ. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.3.4. Khảo sát sự ảnh hưởng của các chủng nấm men đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng

Nhân giống cấp 1 của các chủng nấm men trong môi trường Hansen lỏng với điều kiện nhiệt độ 28°C.

Tiến hành lên men với lần lượt các chủng nấm men trong điều kiện nhiệt độ 25°C trong 24-48h, bổ sung đường trong dịch lên men lên 20%Brix, và bổ sung 7% giống. Sau khi kết thúc quá trình lên men, chưng cất rượu để kiểm tra độ rượu và đánh giá cảm quan của sản phẩm.

2.3.5. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng

Trong các nghiệm thức tiếp theo, quá trình lên men chính diễn ra kỵ khí ở nhiệt độ phòng (20-22°C) từ 10 - 15 ngày và quá trình lên men phụ kéo dài 1-2 tháng ở nhiệt độ từ 5-10°C (Lương, 1998).

2.3.5.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến quá trình lên men rượu vang hồng

Tiến hành lên men dịch hồng trong điều kiện nhiệt độ 25°C trong 24-48h, pH 4.0, điều chỉnh đường trong dịch lên men lên 20% và tỉ lệ giống là 7%, 9%, 11% với mật độ nấm men là 10⁹ CFU/ml vào dịch lên men. Sau khi kết thúc quá trình lên men, chưng cất rượu để kiểm tra độ rượu và đánh giá cảm quan của sản phẩm.

2.3.5.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ đường đến quá trình lên men rượu vang hồng (Phạm & cs., 2017)

Tiến hành lên men dịch hồng trong điều kiện nhiệt độ 25°C trong 24-48h, pH 4.0 bổ sung 9% tỷ lệ giống với mật độ nấm men là 10⁹ CFU/ml và điều chỉnh đường trong dịch lên men lên 15%, 20%, 25%,. Sau khi kết thúc quá trình lên men, chưng cất rượu để kiểm tra độ rượu và đánh giá cảm quan của sản phẩm.

2.3.5.3. Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men rượu vang hồng (Cho & cs., 2006)

Tiến hành lên men dịch hồng trong điều kiện nhiệt độ 25°C, điều chỉnh pH trong dịch lên men ở 4.0, 4.5, 5.0, bổ sung 9% tỷ lệ giống với mật độ nấm men là 10⁹ CFU/ml và điều chỉnh tỷ lệ đường trong dịch lên men lên 20%. Sau khi kết thúc quá trình lên men, chưng cất rượu để kiểm tra độ rượu và đánh giá cảm quan của sản phẩm.

2.3.5.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men rượu vang hồng (Liu et al, 2017)

Tiến hành lên men dịch hồng tại các điều kiện nhiệt độ phòng, 25°C, 30°C trong 24-48h, pH 4.0, bổ sung 9% tỷ lệ giống với mật độ nấm men là 10⁹ CFU/ml và điều chỉnh độ đường trong dịch lên men lên 20%. Sau khi kết thúc quá trình lên men, chưng cất rượu để kiểm tra độ rượu và đánh giá cảm quan của sản phẩm.

2.3.6. Phương pháp đánh giá cảm quan

Đánh giá cảm quan rượu vang thành phẩm theo TCVN 3215-79.

Cách tiến hành:

Thành lập hội đồng cảm quan gồm 10 người. Mỗi thành viên được phát 2 phiếu:

Phiếu 1: phiếu điểm đánh giá chất lượng rượu vang theo TCVN 3215-79 Rượu - Phân tích cảm quan - Phương pháp cho điểm (trình bày ở phụ lục 1).

Phiếu 2: phiếu trả lời đánh giá cảm quan thực phẩm (trình bày ở phụ lục 2).

Các thành viên trong hội đồng tiến hành đánh giá độ trong, màu sắc, mùi và vị sản phẩm sau đó đối chiếu tương ứng ở phiếu 1 và cho điểm vào phiếu 2.

Tính kết quả:

Bảng 2.1. Hệ số quan trọng của từng chỉ tiêu (TCVN 3215-79)

STT	Chỉ tiêu	Hệ số quan trọng
1	Độ trong và màu sắc	0.8
2	Mùi	1.2
3	Vị	2.0
Tổng cộng		4.0

Chất lượng của mẫu rượu vang được đánh giá qua điểm tổng hợp (D) theo công thức:

$$D = \sum_{i=1}^3 DiKi$$

Trong đó:

Di: Điểm trung bình của toàn bộ hội đồng cho 1 chỉ tiêu thứ i

Ki: Hệ số quan trọng của chỉ tiêu tương ứng thứ i

Theo mức điểm, rượu vang được xếp thành 6 hạng mức chất lượng và được trình bày ở bảng 2.2.

Bảng 2.2. Xếp hạng mức chất lượng theo điểm số (TCVN 3215-1979)

STT	Mức chất lượng	Số điểm chung	Yêu cầu tối thiểu về điểm trung bình chưa có trọng lượng của hội đồng cảm quan
1	Loại tốt	18,6 – 20,0	Mùi: 4,8 Vị: 4,8
2	Loại khá	15,2 – 18,5	Mùi: 3,8 Vị: 3,8
3	Loại trung bình	11,2 – 15,1	Mỗi chỉ tiêu: 2,8
4	Loại kém	7,2 – 11,1	Mỗi chỉ tiêu: 1,8
5	Loại rất kém	4,0 – 7,1	Mỗi chỉ tiêu: 1,0
6	Loại hỏng	0 – 3,9	Mỗi chỉ tiêu nhỏ hơn 1,0

2.3.7. Phương pháp hóa lí

2.3.7.1. Xác định hàm lượng ethanol

Nguyên tắc:

Tiến hành phương pháp chưng cất rượu. Mẫu sau khi qua chưng cất, được đo bằng còn kế ở 20°C. Hàm lượng ethanol trong 100ml mẫu chính là độ rượu của mẫu ở 20°C (Đặng, 2008; Lê, 2007).

Cách tiến hành:

Dùng bình định mức đong chính xác 250ml dịch lên men, rót cẩn thận vào bình cầu của bình chưng cất còn. Lấy 40ml nước cất tráng lại bình định mức vài lần chuyển vào bình cầu. Lắp hệ thống chưng cất, hứng vào bình, trong bình chứa 5ml nước cất. Sau khi cất được 3/4 bình thì dừng lại, tháo bình hứng ra chuyển dịch cất sang bình định mức, tráng bình hứng vài lần với nước cất và chuyển vào bình định mức, thêm nước cất đến vạch. Lắc đều, để nguội đến nhiệt độ phòng. Đổ dịch chưng cất vào ống đong 100ml (Đặng, 2008; Lê, 2007).

Tính kết quả:

Thả tử tử còn kế vào. Để còn kế đứng yên, cân bằng, không chạm vào thành vào đáy ống đong. Nhìn mặt tiếp giáp dung dịch với còn kế, đọc kết quả nhiệt độ và độ còn. Nếu nhiệt độ không ở 20°C thì tra bảng hiệu chỉnh để quy đổi về độ rượu ở 20°C (Đặng, 2008; Lê, 2007).

2.3.7.4 Xác định hàm lượng đường tổng

Sử dụng máy đo độ đường HANNA HI96813 (Độ chính xác $\pm 0.2\%$)

2.3.7.5. Xác định pH của dịch lên men

Sử dụng máy đo pH HANNA HI99121 (Độ chính xác ± 0.01 pH)

2.3.8. Phương pháp kiểm nghiệm vi sinh vật

2.3.8.1. Xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí theo TCVN 5165:1990

2.3.8.2. Xác định tổng số nấm men, nấm mốc theo TCVN 5166:1990

2.3.8.3. *Xác định coliform* (Đào, 2008; Trần, 2003)

2.3.8.4. *Xác định E. coli* (Đào, 2008; Trần, 2003).

2.3.9. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu được xử lý trên phần mềm Excel bằng công cụ Data Analysis.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập nấm men có khả năng lên men rượu vang từ quả hồng

Sau khi tiến hành phân lập dịch lên men từ quả hồng trên môi trường Hansen, chúng tôi thu được 5 chủng nấm men có ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng, cụ thể được trình bày tại bảng 3.1.

Bảng 3.1. Kết quả phân lập các chủng nấm men có khả năng lên men tạo rượu.

Tên chủng	Mật độ CFU/ml	Đặc điểm khuẩn lạc	Hình thái tế bào
G1	2×10^5	Khuẩn lạc tròn, nhô cao so với mặt thạch. Màu trắng sữa, viền khuẩn lạc đều.	Tế bào hình bầu dục, sinh sản bằng hình thức nảy chồi, nhiều hướng, mỗi tế bào chỉ nảy một chồi.
G2	1.2×10^4	Hình tròn, bề mặt khô, viền không đều, có tua bao quanh khuẩn lạc.	Tế bào hình bầu dục đến que, sinh sản bằng hình thức nảy chồi, nhiều hướng, mỗi tế bào chỉ nảy một chồi.
G3	2.4×10^5	Khuẩn lạc tròn, trung tâm có viền tròn màu trắng đục nhô lên so với mặt thạch. Màu trắng sữa.	Tế bào hình oval đến elip, sinh sản bằng hình thức nảy chồi, nhiều hướng, mỗi tế bào chỉ nảy một chồi.
G4	1.1×10^4	Khuẩn lạc tròn, nhô ở giữa như hình nón. Màu	Tế bào hình elip ngắn, sinh sản bằng hình thức nảy chồi, nhiều hướng,

		trắng trong ngả xám viền khuẩn lạc đều.	mỗi tế bào chỉ nảy một chồi.
G5	1×10^5	Khuẩn lạc tròn, bề mặt phẳng.	Tế bào hình elip ngắn, sinh sản bằng hình thức nảy chồi, nhiều hướng, mỗi tế bào chỉ nảy một chồi.

Qua các đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của năm chủng giống trên cùng với khả năng lên men tạo rượu và khi so sánh với khóa phân loại nấm men của Kudriavtsev, 1954 thì chúng tôi đi đến kết luận năm chủng nấm men trên (G1, G2, G3, G4, G5) đều thuộc chi *Saccharomyces*, loài chưa xác định rõ.

3.2. Kết quả đánh giá khả năng chuyển hóa đường của các chủng nấm men

Tiến hành đánh giá khả năng chuyển hoá đường của các chủng nấm men phân lập được, theo dõi quá trình chuyển hoá đường của chúng sau mỗi 2 tiếng một lần, kết quả được trình bày tại bảng 3.2.

Bảng 3.2. Kết quả đánh giá khả năng chuyển hóa đường của các chủng nấm men

Chủng giống	Thời gian khảo sát Giờ (h)								
	6h	8h	10h	12h	14h	16h	18h	20h	22h
G1	-	+	+	++	+	+	+	+	-
G2	-	+	+	+	++	++	++	++	+
G3	-	-	-	-	-	-	+	+	+
G4	-	+	+	+	+	+	+	+	+
G5	-	-	-	+	+	+	+	+	+

“-”: Không có khả năng chuyển hóa đường “+”: có khả năng chuyển hóa đường “++”: chuyển hóa đường mạnh

Từ kết quả thí nghiệm trong bảng 3.2 cho thấy ở 8h đầu chỉ có 3 chủng G1, G2 và G4 có khả năng chuyển hóa đường, qua 6h tiếp theo lượng khí CO₂ sinh ra nhiều hơn, tuy nhiên vẫn không đủ để có thể đẩy được chuông Durham nổi lên. Đối với G1 có tốc độ chuyển hóa đường tốt trong các giờ đầu nhưng sau 22h khả năng này đã suy giảm. Trong khi đó chủng G2 bắt đầu chuyển hóa nhanh lúc 14h và sau đó. Các chủng nấm men còn lại có khả năng chuyển hóa đường ở mức trung bình.

Như vậy, qua quá trình khảo sát khả năng chuyển hoá đường của các chủng nấm men thì 2 chủng nấm men G1, G2 cho kết quả chuyển hoá đường tốt hơn so với các chủng giống còn lại, do đó chúng tôi chọn chủng giống G1 và G2 để tiếp tục thực hiện các khảo sát tiếp theo.

3.3. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của các chủng nấm men đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng

Tiến hành lên men với các chủng nấm men G1 và G2 trong điều kiện nhiệt độ 25 °C trong 24 - 48h, pH= 4.0, điều chỉnh tỉ lệ đường ở dịch lên men là 20% và 7% tỷ lệ giống với mật độ nấm men là 10⁹ CFU/ml vào dịch lên men. Sau khi kết thúc quá trình lên men thu dịch lên men đem đi chưng cất, tiến hành xác định độ rượu và đánh giá cảm quan, kết quả được thể hiện qua bảng 3.3 và bảng 3.4:

Bảng 3.3. Kết quả khảo sát độ rượu sau lên men của hai chủng nấm men G1 và G2

Chủng giống	Độ cồn (%V/v) sau lên men chính	Độ cồn (%V/v) sau lên men phụ
G1	9.85 ^a ± 0.23	11.5 ^a ± 0.4
G2	8.24 ^b ± 0.44	10.47 ^b ± 0.35

(Các số trong cùng một cột có ký tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu với mức ý nghĩa 5% theo phép thử Tuskey)

Tiến hành đánh giá cảm quan sản phẩm của 2 lô có bổ sung chủng giống G1, G2, kết quả đánh giá cảm quan sản phẩm sau lên men (theo TCVN 3215-1979) được thể hiện ở bảng 3.4.

Bảng 3.4. Bảng điểm đã được hiệu chỉnh và đánh giá chất lượng

STT	Chỉ tiêu chất lượng	Điểm trung bình chưa có trọng lượng		Hệ số quan trọng	Điểm đã được điều chỉnh	
		G1	G2		G1	G2
1	Độ trong màu sắc	4.2	4.4	0.8	3.36	3.52
2	Mùi	4	4.8	1.2	4.8	5.76
3	Vị	3.8	4.9	2.0	7.6	9.8
	Điểm chất lượng				15.76	19.08
	Mức chất lượng				Khá	Tốt

Theo kết quả của hội đồng đánh giá cảm quan cho thấy cả hai chủng nấm men G1 và G2 đều có khả năng lên men tạo sản phẩm rượu vang hồng. Ở nghiệm thức có bổ sung chủng G1 cho độ cồn trong rượu đạt 11.5% cao hơn nghiệm thức có bổ sung chủng G2 cho độ cồn trong rượu đạt 10.47%. Tuy nhiên, ở nghiệm thức có bổ sung chủng G2 lại cho kết quả đánh giá cảm quan tốt hơn so với nghiệm thức có bổ sung chủng G1.

Từ hai kết quả: Khảo sát tốc độ chuyển hoá đường và khả năng lên men của hai chủng trên, chúng tôi nhận thấy chủng giống G2 cho kết quả chuyển hoá đường mạnh cũng như khả năng lên men tạo mùi hương, màu sắc đặc trưng của quả hồng hơn là chủng G1. Vì vậy, chúng tôi chọn chủng G2 để tiếp tục khảo sát và hoàn thiện quy trình lên men.

3.4. Kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang của chủng giống G2

3.4.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến quá trình lên men rượu vang hồng

Tiến hành lên men có bổ sung chủng G2 trong điều kiện nhiệt độ 25°C trong 24 - 48h, pH 4.0, điều chỉnh đường trong dịch lên men lên 20% và tỉ lệ giống là 7%, 9%, 11% với mật độ nấm men là 10^9 CFU/ml vào dịch lên men. Sau khi kết thúc quá trình lên men, thu dịch lên men đem đi chưng cất, tiến hành xác định độ rượu và đánh giá cảm quan, kết quả được thể hiện qua bảng 3.5.

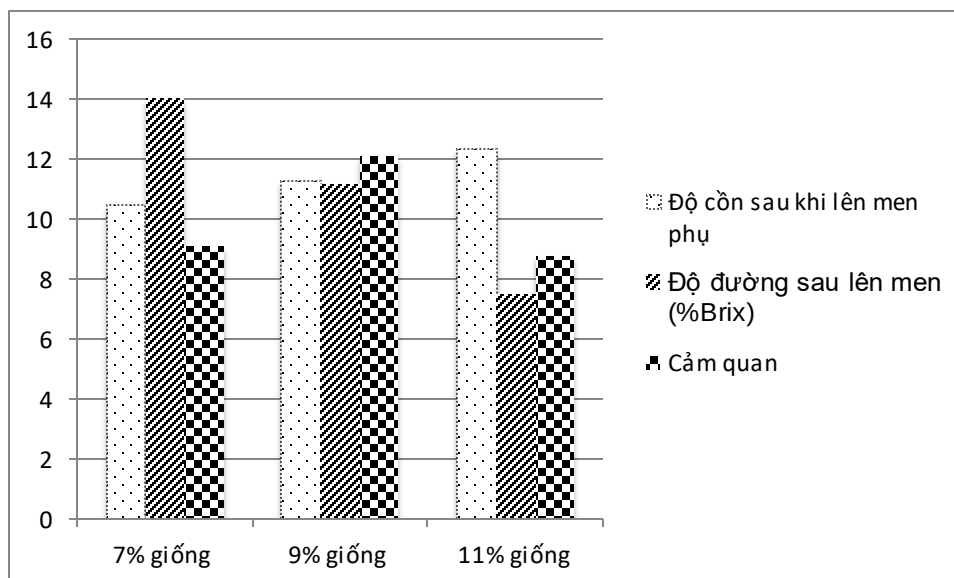
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến quá trình lên men rượu vang hồng

STT	Tỷ lệ giống	Độ đường sau lên men (%Brix)	Độ cồn (%V) sau lên men chính	Độ cồn (%V) sau lên men phụ	Đánh giá cảm quan
1	7%	14.05 ^a ± 0.37	8.23 ^c ± 0.43	10.49 ^c ± 0.33	Màu vàng trong, vị ngọt nhẹ, nhạt và chưa có đặc trưng của sản phẩm rượu vang hồng
2	9%	11.17 ^b ± 0.45	9.47 ^b ± 0.35	11.28 ^b ± 0.36	Màu vàng trong, vị ngọt dịu, chát nhẹ, mùi hương đặc trưng của quả hồng
3	11%	7.52 ^c ± 0.23	10.24 ^a ± 0.45	12.53 ^a ± 0.37	Màu vàng trong, vị đắng, chát và nồng

(Các số trong cùng một cột có ký tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu với mức ý nghĩa 5% theo phép thử Tuskey)

Dựa vào kết quả thu được ở bảng 3.5, chúng tôi nhận thấy sự thay đổi tỷ lệ giống bổ sung làm ảnh hưởng đến chất lượng rượu vang hồng. Tăng tỷ lệ giống dẫn đến độ cồn trong rượu tăng và ngược lại. Trong các tỷ lệ giống khảo sát, nghiệm thức bổ sung 11% tỷ lệ giống cho sản phẩm rượu có độ cồn cao nhất là 12.53% và lượng đường còn lại sau lên men rất ít là 7.52% nhưng sản phẩm sau lên men về cảm quan có vị đắng, chát và nồng độ cồn cao. Ở nghiệm thức sử dụng 9% tỷ lệ giống cho độ cồn trong rượu đạt 11.28% và sản phẩm có màu vàng trong, vị ngọt dịu, chát nhẹ và mùi hương đặc trưng của quả hồng.

Biểu đồ 3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến quá trình lên men rượu vang hồng



Theo Lương Đức Phẩm (2000), khi sử dụng nấm men ở nồng độ thấp thì khả năng nảy chồi tiếp và thời gian đạt được định mức là rất dài sẽ ảnh hưởng đến hoạt động trao đổi chất của nấm men. Những mẻ lên men này thường cho hiệu quả kém và chất lượng thành phẩm xấu. Tuy nhiên nếu bổ sung nấm men quá nhiều thì tốc độ lên men ở thời gian đầu nhanh nhưng về sau lại có thể cản trở quá trình lên men tiếp theo (Sevda, 2011). Hơn nữa sử dụng nấm men với mật độ cao thì cần thời gian nhân giống dài và tốn kém hơn. Ở nghiệm thức sử dụng 11% tỷ lệ giống nấm men, mặc dù thu được sản phẩm có độ cồn cao hơn so với mẫu sử dụng 7% và 9% tỷ lệ giống nấm men, nhưng giá trị cảm quan rượu lại kém do có khả năng quá trình lên men bên cạnh tạo ra ethanol còn sinh ra nhiều sản phẩm khác như rượu bậc cao, aldehyde, diacetyl dẫn đến vị nồng của sản phẩm (Pino et al., 2011).

Chính vì vậy để tiết kiệm nguyên liệu cho môi trường nhân giống và đạt các chỉ tiêu hóa lí, cảm quan thì việc bổ sung 9% tỷ lệ giống với mật độ nấm men là 10^9 CFU/ml là thích hợp cho quá trình lên men.

3.4.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ đường đến quá trình lên men rượu vang hồng

Tiến hành lên men có bổ sung chủng G2 trong điều kiện nhiệt độ 25°C trong 24-48h, pH 4.0 bổ sung 9% tỷ lệ giống với mật độ nấm men là 10^9 CFU/ml và điều chỉnh đường

trong dịch lên men lên 15%, 20%, 25%. Sau khi kết thúc quá trình lên men, thu dịch lên men đem đi chưng cất, tiến hành xác định độ rượu và đánh giá cảm quan, kết quả được thể hiện tại bảng 3.6.

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của tỷ lệ đường đến quá trình lên men rượu vang hồng

STT	Tỷ lệ đường	Độ đường sau lên men (%Brix)	Độ còn (%V) sau lên men chính	Độ còn (%V) sau lên men phụ	Đánh giá cảm quan
1	15%	$7.25^c \pm 0.39$	$6.56^c \pm 0.28$	$9.05^c \pm 0.34$	Màu vàng trong, vị đắng, nhạt, chua nhẹ, mùi hương chưa đặc trưng cho sản phẩm rượu vang hồng
2	20%	$11.17^b \pm 0.45$	$9.47^b \pm 0.35$	$11.28^b \pm 0.36$	Màu vàng trong, vị ngọt dịu, chát nhẹ, đậm đà và mùi hương đặc trưng của quả hồng
3	25%	$15.39^a \pm 0.49$	$10.08^a \pm 0.42$	$11.88^a \pm 0.28$	Màu vàng nâu, vị ngọt gắt, nồng

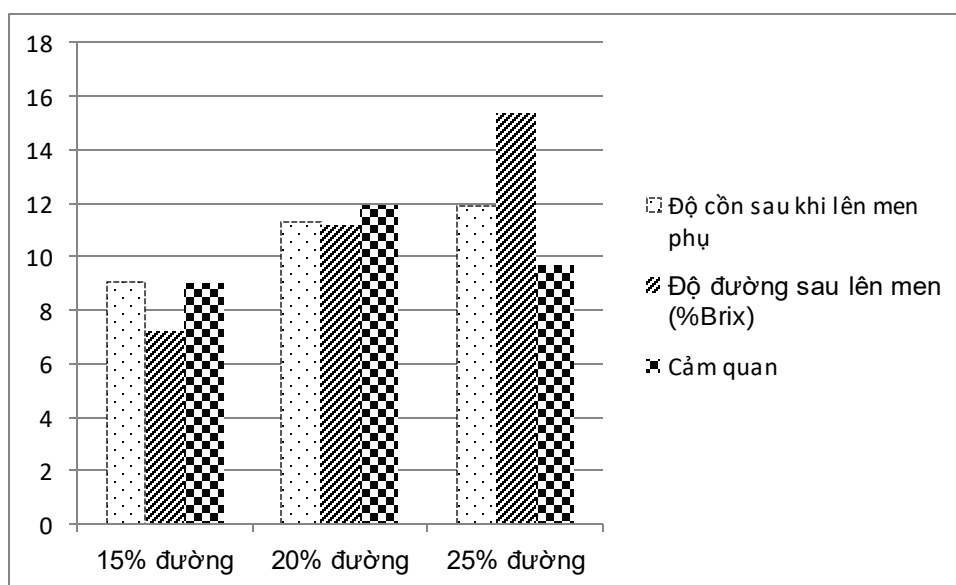
(Các số trong cùng một cột có ký tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu với mức ý nghĩa 5% theo phép thử Tuskey)

Theo kết quả từ bảng 3.6 cho thấy độ còn trong rượu ở ba tỷ lệ đường 15%, 20%, 25% đều tăng tỉ lệ thuận với tỉ lệ đường ở dịch lên men và nồng độ chất khô của dung dịch sau lên men đều thấp hơn so với ban đầu. Điều đó chứng tỏ đã có sự hoạt động sử dụng cơ chất của nấm men. Theo Larpent (1991), có khoảng 10% đường được sử dụng cho quá trình tăng sinh khối, phần còn lại được sử dụng để chuyển hóa thành rượu etylic và các sản phẩm phụ khác như glycerol, pyruvate... Khi lên men cùng điều kiện pH và tỷ lệ giống, hàm lượng ethanol tăng đáng kể khi dịch lên men ban đầu có nồng độ chất khô cao hơn 20%,

nồng độ còn thu được ở nghiệm thức 20% là 11.28%, cao hơn so với nghiệm thức 15% chỉ đạt 9.05%. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Attri (2009). Tác giả cho rằng khi dịch lên men không đủ lượng đường cho nấm men tăng sinh khối thì nấm men có thể chết đi do cạnh tranh dinh dưỡng lẫn nhau và cuối cùng là lượng rượu sinh ra thấp. Tuy nhiên khi tăng lên 25% thì kết quả về hàm lượng còn thu được lại không có sự khác biệt quá nhiều so với ở nghiệm thức bổ sung 20% (hàm lượng còn ở nghiệm thức 25% đạt 11.88%). Hơn nữa, lượng đường còn lại sau lên men của nghiệm thức 25% cũng khá cao (15.39%), chứng tỏ ở đây đã có sự dư thừa về mặt cơ chất hoặc cũng có thể nồng độ chất khô ban đầu quá cao đã phần nào ức chế quá trình sinh trưởng và trao đổi chất của nấm men, dẫn đến quá trình lên men không đạt hiệu quả (Kurtzman et al., 1998).

Kết quả đánh giá cảm quan sản phẩm cũng cho thấy, sử dụng dịch lên men với nồng độ chất khô ban đầu 20% cho kết quả tốt nhất, sản phẩm có mùi vị đặc trưng cho sản phẩm rượu vang hồng.

Biểu đồ 3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ đường đến quá trình lên men rượu vang hồng



Kết quả đạt được của nghiên cứu này tương tự với kết quả nghiên cứu của (Phạm & cs, 2017) khi khảo sát sự ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình lên men rượu vang từ trái chùm ruột (*Phyllanthus acidus*) và kết quả nghiên cứu của Attri (2009), khi khảo sát

các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men vang trái điều. Sản phẩm thu được đều có nồng độ cồn cao và hương vị hài hòa khi sử dụng nồng độ chất khô ban đầu là 20%.

Do đó, để đạt được độ cồn trong rượu cao và nâng cao chất lượng sản phẩm thì chúng tôi chọn tỷ lệ đường là 20% cho khảo sát tiếp theo.

3.4.3. Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men rượu vang hồng

Tiến hành lên men có bổ sung chủng G2 trong điều kiện nhiệt độ 25°C trong 24-48h, điều chỉnh pH trong dịch lên men ở 4.0, 4.5, 5.0, bổ sung 9% tỷ lệ giống với mật độ nấm men là 10^9 CFU/ml và điều chỉnh tỷ lệ đường trong dịch lên men lên 20%. Sau khi kết thúc quá trình lên men, thu dịch lên men đem đi chưng cất, tiến hành xác định độ rượu và đánh giá cảm quan, kết quả được thể hiện qua bảng 3.7.

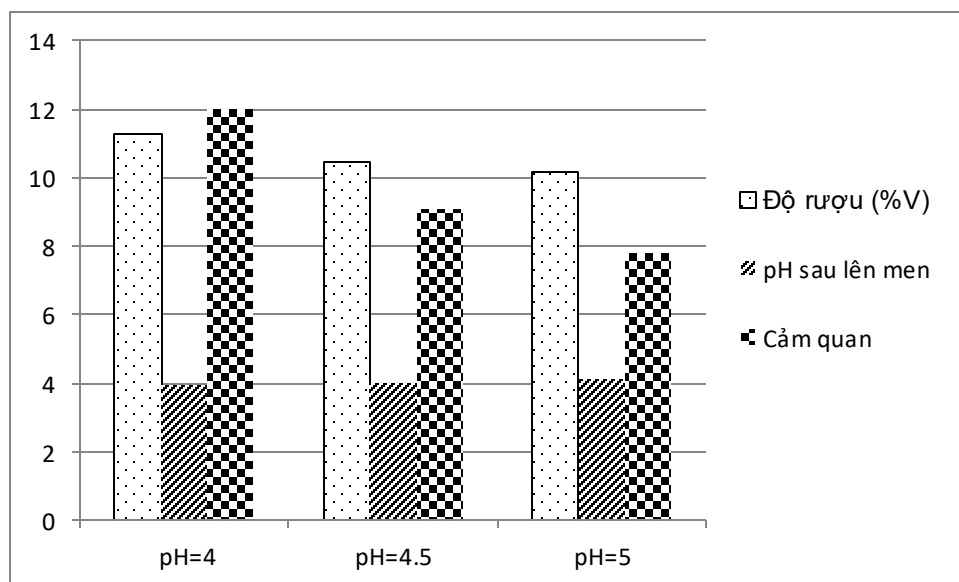
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men rượu vang hồng

STT	pH trước lên men	Độ cồn (%V/v) sau lên men chính	Độ cồn (%V/v) sau lên men phụ	pH sau lên men	Đánh giá cảm quan
1	4.0	$9.47^a \pm 0.35$	$11.28^a \pm 0.36$	$3.97^c \pm 0.16$	Màu vàng trong, vị ngọt dịu, chất nhẹ, hương vị đặc trưng cho sản phẩm rượu vang hồng.
2	4.5	$8.75^b \pm 0.5$	$10.46^b \pm 0.13$	$4.01^b \pm 0.33$	Màu vàng trong, vị ngọt, chua nhẹ và nhạt
3	5.0	$8^c \pm 0.27$	$10.15^c \pm 0.12$	$4.11^a \pm 0.16$	Màu vàng nâu, vị ngọt, chua gắt

(Các số trong cùng một cột có ký tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu với mức ý nghĩa 5% theo phép thử Tuskey)

Quá trình phát triển và lên men rượu của *Saccharomyces cerevisiae* chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố trong đó có pH môi trường (Hồ, 2011). Qua số liệu thực nghiệm thu được bảng 3.7 cho thấy khi điều chỉnh pH ban đầu của dịch lên men về 4.0, 4.5, 5.0 đã dẫn đến sự thay đổi về độ cồn %V/v và pH của sản phẩm thu được. Độ cồn trong rượu vang sau quá trình lên men đều giảm tỷ lệ nghịch với tỷ lệ pH trước lên men. Tại pH trước lên men là 4.0 cho sản phẩm có độ cồn trong rượu cao nhất đạt 11.28%V và pH của dịch sau lên men giảm còn 3.97, chứng tỏ sự sụt giảm pH trong quá trình lên men là không đáng kể so với các nghiệm thức tại pH 4.5 và 5.0. Các kết quả thu được ở đây hầu như đồng ý với Nguyễn & cs., 2013 về lên men rượu vang khóm (*Ananas comosus*) Cầu Đúc (Hậu Giang) bằng nấm men phân lập và thuần chủng, người đã báo cáo rằng pH ban đầu của dịch lên men quá cao thì sẽ dẫn đến pH cao. Điều này có thể tạo điều kiện cho các vi khuẩn phát triển nhanh chóng và dẫn đến quá trình lên men hư hỏng, rượu vang thu được có chất lượng kém và màu sắc xấu. Do vậy cần kiểm soát tiến trình lên men ở pH thích hợp.

Biểu đồ 3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ pH đến quá trình lên men rượu vang



Kết quả đánh giá cảm quan sản phẩm cũng cho thấy khi lên men ở pH 4.0 cho kết quả cảm quan tốt, sản phẩm màu vàng trong, vị ngọt dịu, chất nhẹ, hương vị đặc trưng cho sản phẩm rượu vang hồng.

Kết quả đạt được tương tự với kết quả nghiên cứu của Cho et al., (2017) và Phạm & cs, 2017. Sản phẩm thu được đều có nồng độ cồn cao và hương vị hài hòa khi lên men ở pH 4.0.

3.4.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men rượu vang hồng

Tiến hành lên men có bổ sung chủng G2 trong điều kiện nhiệt độ phòng, 25°C, 30°C trong 24-48h, bổ sung tỷ lệ giống 9% với mật độ nấm men là 10^9 CFU/ml và tỷ lệ đường 20% vào dịch lên men; điều chỉnh pH trong dịch lên men lên 4.0. Sau khi kết thúc quá trình lên men, thu dịch lên men đem đi chưng cất, tiến hành xác định độ rượu và đánh giá cảm quan, kết quả được thể hiện qua bảng 3.8.

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men rượu vang hồng

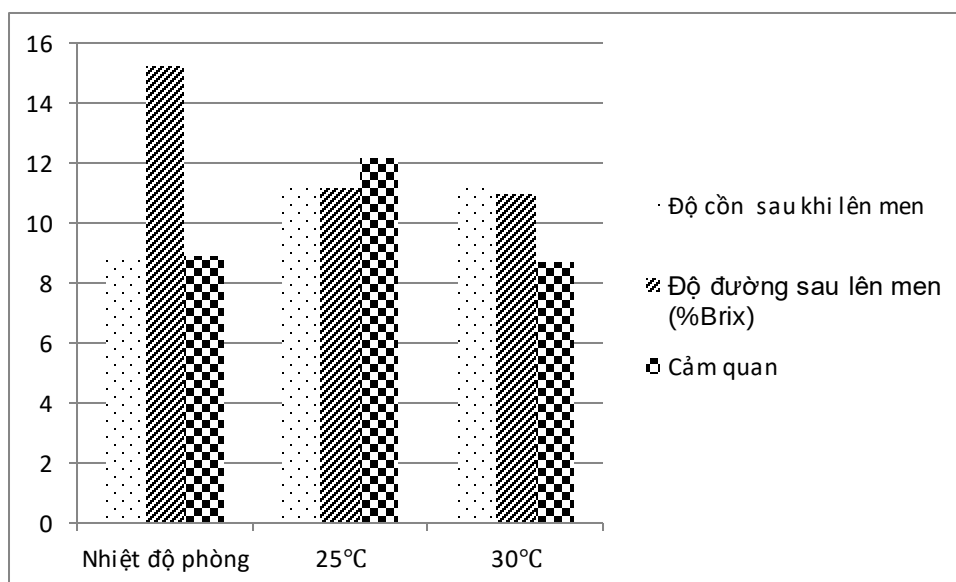
STT	Nhiệt độ	Độ cồn (%V) sau lên men chính	Độ cồn (%V) sau lên men phụ	Độ đường sau lên men (%Brix)	Cảm quan
1	Nhiệt độ phòng	$7.43^b \pm 0.44$	$9.00^b \pm 0.4$	$15.22^a \pm 0.44$	Màu vàng nhạt, vị ngọt, chua nhẹ, mùi hương chưa đặc trưng của sản phẩm rượu vang hồng
2	25°C	$9.47^a \pm 0.35$	$11.28^a \pm 0.36$	$11.17^b \pm 0.45$	Màu vàng trong, vị ngọt dịu, chất nhẹ có mùi thơm đặc trưng của sản phẩm rượu hồng
3	30°C	$9.57^a \pm 0.18$	$11.4^a \pm 0.47$	$10.94^b \pm 0.44$	Màu vàng nâu, vị ngọt, đắng, chát, mùi thơm đặc

					trung của sản phẩm rượu hồng

(Các số trong cùng một cột có ký tự chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu với mức ý nghĩa 5% theo phép thử Tuskey)

Ảnh hưởng của nhiệt độ lên men đến các chỉ tiêu lý hóa cơ bản của rượu hồng được tóm tắt trong bảng 3.8. Hàm lượng ethanol tăng lên được quan sát thấy khi nhiệt độ tăng từ nhiệt độ phòng đến 30°C, phù hợp với quá trình lên men rượu gạo (Liu et al, 2014). Tại nghiệm thức lên men ở nhiệt độ phòng có ethanol thấp 9.00% và lượng đường dư cao hơn so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả này đồng ý với Deed et al (2017), người đã báo cáo rằng ở nhiệt độ cao hơn có lợi cho quá trình lên men, trong khi nhiệt độ thấp dẫn đến quá trình lên men chậm hơn có thể làm giảm khả năng chịu đựng của nấm men đối với ethanol hoặc các chất ức chế khác.

Biểu đồ 3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men rượu vang hồng



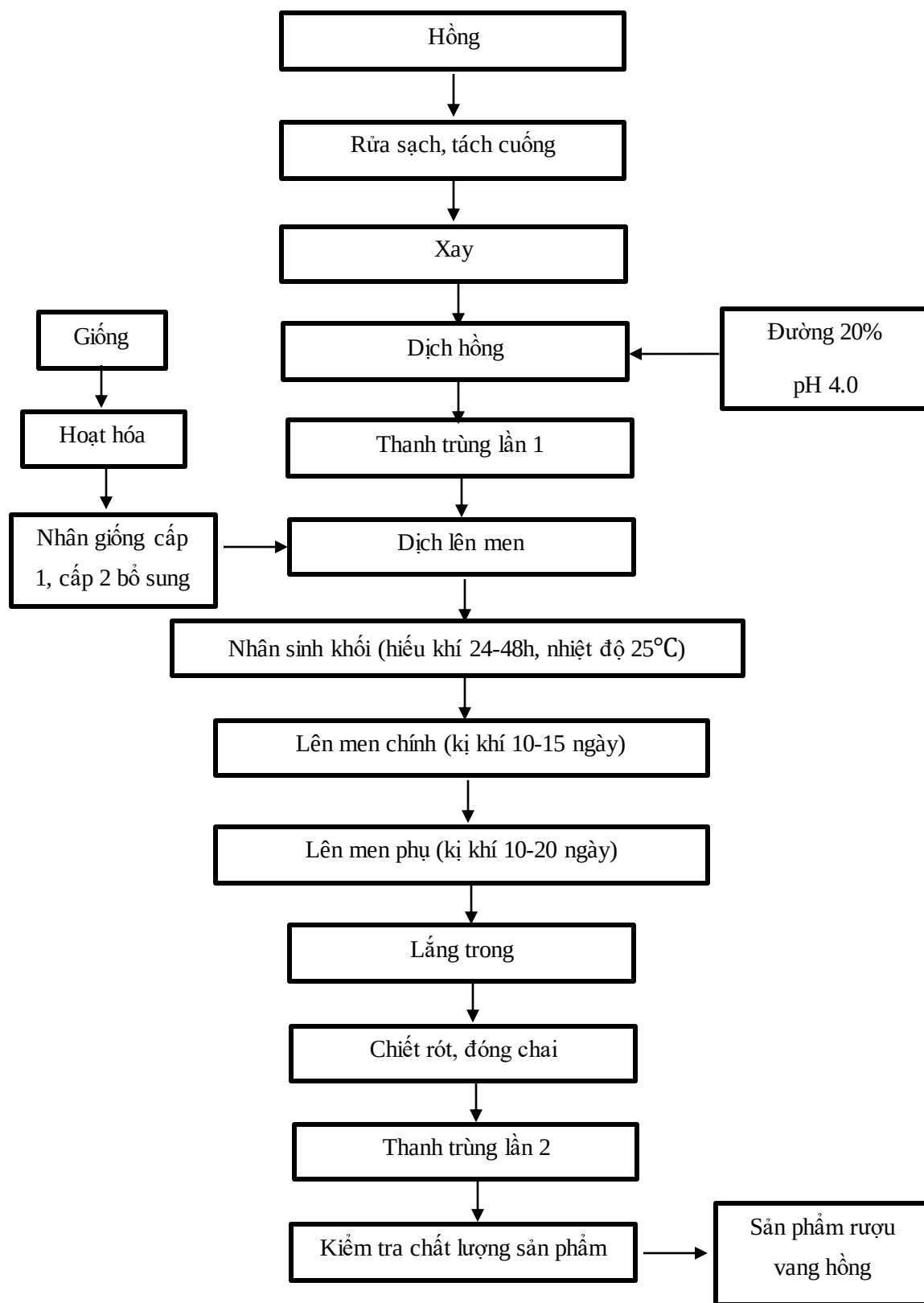
Các hợp chất phenolic rất quan trọng đối với chất lượng rượu vang vì chúng góp phần vào chống oxy hóa, hình thành mùi thơm, độ ổn định của chất keo và các đặc tính cảm quan (Ye et al, 2014). Este cũng góp phần vào hương thơm trái cây và đặc điểm cảm quan của rượu vang (Ferreira et al, 2000). Chúng bị ảnh hưởng đáng kể bởi nhiệt độ lên men, khi nhiệt độ tăng từ 25°C đến 30°C thì cho chất lượng về cảm quan mùi, vị ổn định hơn so với khi lên men ở 15°C. Các kết quả thu được ở đây hầu như đồng ý với Girard et al (2001),

người đã chỉ ra rằng nhiệt độ cao làm tăng hàm lượng của sắc tố phenolic và polyme trong rượu. Nhưng kết quả đánh giá cảm quan tại nghiệm thức lên men ở nhiệt độ 25°C trong 24-48h cho đánh giá cảm quan về cả độ trong, màu sắc hay hương vị của sản phẩm đều tốt và được nhiều người ưa thích hơn so với nghiệm thức được lên men ở 30°C.

Để nâng cao chất lượng của sản phẩm rượu vang hồng cũng như để đạt được các chỉ tiêu hoá lý tối ưu thì lên men rượu vang tại 25°C ở giai đoạn nhân sinh khối là thích hợp.

3.5. Các bước lên men rượu vang từ quả hồng

Từ những kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi đã bước đầu xây dựng các bước lên men rượu vang từ quả hồng theo sơ đồ 3.1.



Sơ đồ 3.1. Các bước lên men rượu vang từ quả hồng (*Diospyros* sp.)

Thuyết minh quy trình:

(1) Nguyên liệu quả hồng: quá trình tiếp nhận và phân loại quả hồng được tiến hành thủ công và kỹ lưỡng. Lựa chọn quả chín để lên men loại bỏ quả dập nát, thối hoặc quả xanh.

(2) Rửa sạch, tách cuống: quả hồng sau khi phân loại cần được rửa sạch để loại bỏ bụi bẩn và vi sinh vật bám trên bề mặt. Hồng sau khi hái về vẫn còn dính cả cuống, vì vậy cần loại bỏ cuống để rượu không có vị đắng chát.

(3) Xay: quá trình xay sẽ giúp giảm kích thước quả và giải phóng dịch quả, tăng hiệu suất quá trình lên men.

(4) Thanh trùng lần 1: Thanh trùng bằng nhiệt ở nhiệt độ 65-70°C trong 30 phút. nhằm mục đích tiêu diệt, ức chế vi sinh vật có hại trong nguyên liệu, đồng thời gia tăng sự trích ly của các chất chiết (chất màu và chất chát) vào dịch lên men.

(5) Dịch lên men: dịch quả hồng sau thanh trùng sẽ được hiệu chỉnh các thành phần trước khi lên men như sau: điều chỉnh độ đường trong dịch lên men lên đến 20%, sau khi dịch lên men hạ nhiệt độ còn 28-30°C thì bổ sung 9% tỷ lệ giống (đã được hoạt hóa sau 24h), sau cùng dịch lên men sẽ được đặt vào tủ và điều chỉnh nhiệt độ đến 25°C.

(6) Nhân sinh khối (hiếu khí 2 ngày): ở giai đoạn này, nấm men sẽ oxy hóa đường thành CO₂, H₂O và năng lượng để nấm men tăng sinh khối, làm cho số lượng tế bào tăng rất nhanh trong một thời gian ngắn, sự có mặt của oxy hòa tan trong dịch lên men là hết sức cần thiết (nhiệt độ lên men là 25°C).

(7) Lên men chính (kỵ khí 10-15 ngày): là quá trình hô hấp kỵ khí của nấm men, nấm men tiến hành chuyển hóa đường thành rượu và giải phóng CO₂.

(8) Lên men phụ (kỵ khí 10-20 ngày): tiến hành gạn cặn, tách xác bã thu được rượu vang non, tiếp tục lên men, phân hủy những gam đường cuối cùng có trong dịch lên men. Đồng thời ở giai đoạn này có quá trình lên men malolactic, kết quả làm chuyển từ vị chua gắt sang vị chua nhẹ dễ chịu.

(9) Lắng trong: nhằm mục đích tách xác nấm men ra khỏi rượu vang non. Rượu được trữ trong các bình đầy không có không khí. Trong quá trình trữ, một số sản phẩm phụ

như aldehyde acid hữu cơ, ester, hợp chất cao phân tử được hình thành giúp nâng cao chất lượng và tăng cảm quan cho sản phẩm.

(10) Chiết rót, đóng chai rượu được chiết rót và đóng vào các chai.

(11) Thanh trùng lần 2 (thanh trùng sản phẩm lên men để tạo thành phẩm): trong quá trình thao tác các bước trên vẫn có khả năng tái xâm nhiễm các vi sinh vật vào sản phẩm, thanh trùng lần 2 nhằm mục đích khử khuẩn cho sản phẩm sau lên men. Thanh trùng ở 65-70°C, trong 30 phút không ảnh hưởng đến giá trị cảm quan của sản phẩm rượu vang từ quả hồng

(12) Kiểm tra chất lượng sản phẩm: kiểm tra các chỉ tiêu cảm quan, hóa lý, vi sinh vật của sản phẩm sau lên men đạt chất lượng theo TCVN 7045-2013.

3.6. Kết quả đánh giá cảm quan, hóa lý, vi sinh vật của quá trình lên men

Từ sơ đồ các bước lên men xây dựng được tiến hành lên men ở điều kiện nhiệt độ 25°C trong 24 - 48h, điều chỉnh đường trong dịch lên men lên 20%Brix, pH = 4.0 và 9% giống G2 với mật độ nấm men là 10^9 CFU/ml. Sau khi kết thúc quá trình lên men, thu nhận kết quả và đem so sánh với TCVN về chỉ tiêu cảm quan, hàm lượng đường tổng, độ cồn và chỉ tiêu vi sinh vật của rượu vang.

3.6.1. Kết quả đánh giá chỉ tiêu cảm quan

Tiến hành đánh giá cảm quan với hội đồng gồm 10 người, phép thử cho điểm chất lượng, TCVN 3217-79 của sản phẩm rượu vang lên men từ quả hồng, kết quả đánh giá cảm quan được thể hiện qua bảng 3.9.

Bảng 3.9. Bảng điểm đã được hiệu chỉnh và đánh giá chất lượng

Chỉ tiêu chất lượng	Điểm trung bình chưa có trọng lượng	Hệ số quan trọng	Điểm đã được hiệu chỉnh
Độ trong màu sắc	4.2	0.8	3.36
Mùi	4.9	1.2	5.88
Vị	4.9	2.0	9.8
Điểm chất lượng			19.04
Mức chất lượng			Tốt

Từ kết quả đánh giá cảm quan trên, so sánh với TCVN 7045:2013 tôi xây dựng được bảng đối sánh dưới đây:

Bảng 3.10. So sánh chỉ tiêu cảm quan sản phẩm rượu vang từ quả hồng với TCVN 7045:2013

STT	Chỉ tiêu cảm quan	Sản phẩm sau lên men	TCVN 7045:2013
1	Màu sắc	Có màu vàng trong, đặc trưng cho sản phẩm rượu vang hồng.	Đặc trưng cho từng loại sản phẩm
2	Mùi	Có mùi thơm tự nhiên đặc trưng của quả hồng	Thơm đặc trưng của nguyên liệu và sản phẩm lên men, không có mùi lạ
3	Vị	Vị ngọt dịu, chất nhẹ	Đặc trưng cho từng loại sản phẩm
4	Trạng thái	Trong suốt, không vẩn đục	Trong không vẩn đục

Sản phẩm rượu vang từ quả hồng sau lên men đạt chất lượng chỉ tiêu cảm quan theo quy định về chất lượng rượu vang của TCVN 7045:2013.

3.6.2. Kết quả đánh giá chỉ tiêu hóa lí

Kết quả phân tích một số các chỉ tiêu hóa lí và đối sánh với TCVN (7045: 2013) được thể hiện dưới bảng sau:

Bảng 3.11. So sánh chỉ tiêu hoá lí sản phẩm rượu vang từ quả hồng với TCVN 7045:2013

STT	Chỉ tiêu vi sinh	Sản phẩm sau lên men	TCVN 7045:2013
1	Hàm lượng cồn ở 20 ⁰ C (%V)	11.28 ± 0.10	≥ 8.5
2	Hàm lượng đường tổng (%Brix)	11.17 ± 0.05	

Sản phẩm rượu vang từ quả quả hồng sau lên men đạt chất lượng về chỉ tiêu hóa lí theo quy định về chất lượng rượu vang của TCVN 7045:2013.

3.6.3. Kết quả đánh giá chỉ tiêu vi sinh

Sự có mặt của vi sinh vật trong thực phẩm là dấu hiệu nhận biết thực phẩm bị ô nhiễm và giảm chất lượng. Tiến hành phân tích các chỉ tiêu vi sinh trong mẫu rượu vang, kết quả được trình bày trong bảng 3.12.

Bảng 3.12. So sánh chỉ tiêu vi sinh sản phẩm rượu vang từ quả hồng với TCVN 7045–2013

STT	Chỉ tiêu vi sinh vật	Sản phẩm sau lên men	TCVN 7045–2013
1	Tổng vi khuẩn hiếu khí (CFU/ml)	3×10^0	$\leq 10^2$
2	Tổng nấm men, nấm mốc (CFU/ml)	1×10^0	≤ 10
3	<i>E. coli</i>	0	0
4	Coliform	0	0

Kết quả từ bảng 3.12 cho thấy mật độ tổng vi khuẩn hiếu khí trong sản phẩm rượu vang hồng là 3 CFU/ml ($< 10^2$ CFU/ml). Mật độ tổng nấm men, nấm mốc là 1 CFU/ml. Và không phát hiện sự hiện diện của *E. coli*, Coliform. Do đó, sản phẩm rượu vang từ quả hồng sau lên men đạt chất lượng về chỉ tiêu vi sinh vật theo TCVN 7045–2013 (Phụ lục 10).

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Qua quá trình nghiên cứu, chúng tôi rút ra các kết luận sau:

- Phân lập được năm chủng nấm men đều thuộc chi *Saccharomyces* (kí hiệu là G1, G2, G3, G4, G5) từ dịch lên men quả hồng.
- Qua khảo sát tốc độ chuyển hoá đường và khả năng lên men, nhận thấy chủng giống G2 cho kết quả chuyển hoá đường mạnh cũng như khả năng lên men tạo màu sắc, mùi vị, hương thơm đặc trưng cho sản phẩm rượu vang hồng.
- Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang từ quả hồng:
 - Tỷ lệ giống thích hợp để bổ sung vào dịch lên men là 9% chủng giống G2 với mật độ vi sinh vật là 10^9 CFU/ml.
 - Hàm lượng đường thích hợp cho quá trình lên men rượu vang hồng là 20%.
 - pH thích hợp cho quá trình lên men rượu vang hồng là 4.0.
 - Nhiệt độ cho quá trình lên men rượu vang (ở giai đoạn nhân sinh khối) thích hợp là 25°C.
- Đã xây dựng các bước lên men tạo sản phẩm rượu vang từ quả hồng và kiểm tra, đánh giá các chỉ tiêu cảm quan, hóa lý và vi sinh vật của sản phẩm sau lên men. Sản phẩm tạo ra đáp ứng yêu cầu chất lượng rượu vang theo TCVN 7045:2013.

4.2. Kiến nghị

Qua quá trình nghiên cứu chúng tôi có các kiến nghị như sau:

- Kéo dài thời gian lên men phụ để giảm lượng đường trong dịch lên men và ổn định chất lượng rượu vang thành phẩm.
- Hoàn thiện quy trình lên men rượu vang từ quả hồng và ứng dụng vào sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Attri, B. L. (2009). “Effect of initial sugar concentration on phisycos-chemical characteristics and sensory quality of cashew apple wine”. *Natural product radiance*, 8 (4), 287-293.

Blomberg, A., & Alder, L. (1992). Physiology of osmotolerance in fungi. *Advanced in Microbiology and Physiology*, 33, 145-212.

“Bức tranh đa diện trên thị trường rượu vang thế giới”, 2019. Ngày 03/02/2019. Truy xuất từ <https://www.phanphoiruoungoai.net/thi-truong-ruou-viet-nam-con-nhieu-tiem-nang/>.

Cho, K. M., Lee, J. B., Kahng, G. G., & Seo, W. T. (2006). A study on the making of sweet persimmon (*Diosyros kaki*, T) wine. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 38(6), 785-792.

Deed, R. C., Fedrizzi, B., & Gardner, R. C. (2017). Influence of fermentation temperature, yeast strain and grape juice on the aroma chemistry and sensory profile of Sauvignon Blanc wines. *J. Agric. Food Chem*, 65, 8902-8912.

“*Diospyros KaKi*”, 2020. Ngày 31/05/2020. Truy xuất từ https://en.wikipedia.org/wiki/Diospyros_kaki.

Đào, X. V. (2011). *Bài giảng tóm tắt công nghệ lên men và sau lên men*. Đại học Đà Lạt.

Đào, X. V. (2008). *Giáo trình các kỹ thuật kiểm nghiệm thực phẩm*. Đại học Đà Lạt.

Đặng, T. N. L. (2008). *Thiết kế một số bài thực hành về công nghệ lên men và sau lên men*. Đề tài nghiên cứu khoa học cấp trường. Đại học Cần Thơ.

“Đồng lòng phát triển thương hiệu hồng Đà Lạt”, 2020. Ngày 23/06/2020. Truy xuất từ <https://vnbusiness.vn/hop-tac-xa/dong-long-phat-trien-thuong-hieu-hong-da-lat-1070062.html>.

Ferreira, V., Lopez, R., & Cacho, J. F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *J. Sci. Food Agric*, 80, 1659–1667.

Fleet, G. (1993). Wine microbiology and Biotechnology. *Harwood academic Publishers, Camberwell*, 515.

Girard, B., Yuksel, D., Cliff, M. A., Delaquis, P., & Reynolds, A. G. (2001). Vinification effects on the sensory, colour and GC profiles of Pinot noir wines from British Columbia. *Food Res. Int*, 34, 483-499.

“*Hồng (quả)*”, 2020. Ngày 11/6/2020. Truy xuất từ https://vi.wikipedia.org/wiki/Hồng_giòn.

Hồ, T. T. (2011). *Phân lập và tuyển chọn nấm men tự nhiên ứng dụng trong sản xuất rượu vang thanh long*. Luận văn tốt nghiệp cao học chuyên ngành Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.

Kurtzman, C. P. & Fell, J. W. (1998). The yeast, A taxonomic, *Elsevier Science B.V*, 113-121.

Lê, N. T. (2006). *Hóa sinh công nghiệp*. NXB: Khoa học và Kỹ thuật.

Lê, T. M. (2007). *Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men*. NXB: Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

Lê, V. N., & Nguyễn. V. C. (2009). *Cơ sở công nghệ vi sinh tập 4*. NXB: Giáo dục.

Lê, V. V. M. (2011). *Công nghệ sản xuất rượu vang*. NXB: Đại học quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

Liu, M., Yang. K., Qi. Y., Zhang. J., & Fan. M. (2017). Fermentation temperature and the phenolic and aroma profile of persimmon wine. *Institute of brewing & distilling*.

Liu, D., Zhang, H., Xu, B., & Tan, J. (2014). Influence of fermentation temperature and source of enzymes on enological characteristics of rice wine. *J. Inst. Brewing*, 120, 231-237.

“Lợi ích sức khỏe của quả hồng giòn”, 2019. Ngày 26/09/2019. Truy xuất từ <https://vov.vn/suc-khoe/loi-ich-suc-khoe-cua-quả-hong-gion-959203.vov>.

Lương, Đ. P. (2009). *Nấm men công nghiệp*. NXB: Khoa học và Kỹ thuật.

Lương, Đ. P. (2000). *Vi sinh vật học và an toàn thực phẩm*. NXB: Khoa học Kỹ thuật.

Miaomiao, L., Kun, Y., Yiman, Q., Jie, Z., Mingtao, F., & Xinyuan, W. (2018). Fermentation temperature and the phenolic and aroma profile of persimmon wine. *Research article*, 24, 269-275.

Ngô, T. P. D. (2009). Khảo sát khả năng lên men và tính chịu cồn của nấm men. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, (11), 347-382.

Nguyễn, Đ. L. (2006). *Thực hành vi sinh vật học*. NXB: Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 150-151.

Nguyễn, Đ. L., Phan, T. H., & Nguyễn, A. T. (2006). *Thí nghiệm công nghệ sinh học tập 2, Thí nghiệm vi sinh vật học*. NXB: Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 260-291.

Nguyễn, L. D., Nguyễn, D. Q., & Phạm, V. T. (2009). *Vi sinh vật học*. Hà Nội: NXB Giáo dục.

Phạm, T. C. H., Nguyễn, P. K. H., Nguyễn. B. T & Nguyễn, T. T. N. (2017). Khảo sát sự ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình lên men rượu vang từ trái chùm ruột (*Phyllanthus acidus*). *Kỷ yếu kỷ niệm 35 năm thành lập trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP Hồ Chí Minh*.

Pino J.A., Queris O. (2011). Analysis of volatile compounds of mango wine, *Food Chemistry*. 125(4), 1141-1146.

QCVN 6-3:2010/BYT. Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm đồ uống có cồn.

Quy định về vệ sinh an toàn đối với bia hơi và rượu lên men độ cồn thấp”. Bộ Y Tế. Số 3542.

Ribereau – Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B., & Lonvaud, A. (2006). Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinification. 2nd Editsion, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 497.

“Sản lượng rượu vang toàn cầu năm 2020 tiếp tục chạm đáy thị trường”, 2020. Ngày 03/10/2020. Truy xuất từ <https://mqflavor.com/san-luong-ruou-vang-toan-cau-nam-2020-tiep-tuc-cham-day-thi-truong>.

Sevda, S.B., & Rodrigues, L. (2011). “Fermentative behavior of *Saccharomyces* strains during Guava (*Psidium Guajava* L) must fermentation and optimization of Guava wine product”. Food Processing & Technology, 2(4), 1-9.

“Tác dụng của quả hồng đối với sức khỏe không thể bỏ qua”, 2019. Ngày 09/09/2019. Truy xuất từ <https://phunusuckhoe.vn/tac-dung-cua-qua-hong-doi-voi-suc-khoe-khong-the-bo-qua-c6a325837.html>.

TCVN 3215:79, Rượu – Phân tích cảm quan – Phương pháp cho điểm chất lượng.

TCVN 5165: 1990, Sản phẩm thực phẩm – Phương pháp xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí.

TCVN 5166: 1990, Sản phẩm thực phẩm – Phương pháp xác định tổng số bào tử nấm men, nấm mốc.

TCVN 7045:2013, Rượu vang – Quy định kỹ thuật.

“Thị trường Rượu Việt Nam còn nhiều tiềm năng”. Truy xuất từ <https://www.phanphoiruoungoai.net/thi-truong-ruou-viet-nam-con-nhieu-tiem-nang/> .

Trần, T. T. (2003). Công nghệ vi sinh. NXB: Giáo dục Việt Nam.

Ye, M., Yue, T., & Yuan, Y. (2014). Evolution of polyphenols and organic acids during the fermentation of apple cider. J. Sci. Food Agric, 94, 2951-2957.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1: Phiếu điểm đánh giá chất lượng rượu vang theo TCVN 3215-79, sản phẩm thực phẩm- phân tích cảm quan-phương pháp cho điểm chất lượng.

Tên chỉ tiêu	Điểm chưa có trọng lượng	Yêu cầu
Độ trong và màu sắc	5	Chất lỏng trong suốt, không vẩn đục và vật thể lạ nhỏ, màu hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm.
	4	Chất lỏng trong suốt không vẩn đục, có ít vật thể lạ nhỏ, màu đặc trưng cho sản phẩm.
	3	Chất lỏng trong, có tương đối nhiều vật thể lạ nhỏ, màu hơi khác một ít so với màu đặc trưng của sản phẩm.
	2	Chất lỏng hơi đục, có khá nhiều vật thể lạ nhỏ, thô trầm trọng, màu khác nhiều so với màu đặc trưng của sản phẩm.
	1	Chất lỏng đục nhiều lắng cặn, có nhiều vật thể lạ nhỏ trầm trọng, thô, màu không đặc trưng cho sản phẩm.
	0	Vẩn đục, màu bắng, sản phẩm bị hỏng.
Mùi	5	Hòa hợp, thơm dịu, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm
	4	Chưa hoàn toàn hòa hợp, thơm đặc trưng cho sản phẩm nhưng hơi khó nhận thấy.
	3	Hơi nồng thoảng mùi phụ, ít đặc trưng cho sản phẩm.
	2	Nồng, thoảng mùi lạ, rất ít đặc trưng cho sản phẩm.

	1	Nồng, hăng, mùi lạ rõ không đặc trưng cho sản phẩm.
	0	Có mùi lạ khó chịu của sản phẩm hỏng.
Vị	5	Hòa hợp, êm dịu, hậu tốt, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm
	4	Chưa hoàn toàn hòa hợp, hậu vừa phải, đặc trưng cho sản phẩm bình thường.
	3	Chưa hòa hợp, hơi gắt và xốc, hậu yếu, ít đặc trưng cho sản phẩm
	2	Đắng, xốc, thoảng vị lạ, rất ít đặc trưng cho sản phẩm
	0	Có vị lạ khó chịu của sản phẩm bị hỏng.

Phụ lục 2: Phiếu đánh giá cảm quan thực phẩm

ĐÁNH GIÁ CẢM QUAN THỰC PHẨM

PHIẾU TRẢ LỜI

Phép thử: Cho điểm chất lượng (TCVN 3217-79)

Sản phẩm: Rượu vang lên men từ quả hồng

Họ và tên:

Ngày thử:

Bạn hãy đánh dấu (x) vào ô cho điểm:

Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm					
	5	4	3	2	1	0
Độ trong và màu sắc						
Mùi						
Vị						

Thư ký hội đồng cảm quan

(kí và ghi rõ họ tên)

Người đánh giá

(kí và ghi rõ họ tên)

Phụ lục 3: TCVN7045:2013 Đối với chất lượng rượu vang

Chỉ tiêu cảm quan:

Tên chỉ tiêu	Yêu cầu
Màu sắc	Đặc trưng cho từng loại sản phẩm
Mùi	Thơm đặc trưng của nguyên liệu và sản phẩm lên men, không có mùi lạ
Vị	Đặc trưng cho từng loại sản phẩm
Trạng thái	Trong, không vẩn đục

Chỉ tiêu vi sinh vật:

Chỉ tiêu	Giới hạn tối đa
Tổng số vi sinh vật hiếu khí, số khuẩn lạc trong 1ml sản phẩm	$\leq 10^2$
<i>E. coli</i> , số vi khuẩn trong 1ml sản phẩm	0
Coliforms, số vi khuẩn trong 1ml sản phẩm	10

Chỉ tiêu hóa học:

Tên chỉ tiêu	Mức
1. Hàm lượng ethanol (cồn) ở 20 ⁰ C, % thể tích, không nhỏ hơn	8 . 5
2. Hàm lượng methanol, mg/ etanol 100 ⁰ , không lớn hơn	
● Rượu vang đỏ	4 0 0
● Rượu vang trắng và rượu vang hồng	2 5 0
3. Độ axit dễ bay hơi, meq/l sản phẩm ¹ , không lớn hơn	2 0
4. Hàm lượng SO ₂ , mg/l sản phẩm, không lớn hơn	
● Rượu vang đỏ có hàm lượng đường kính theo tổng hàm lượng glucose và fructose nhỏ hơn 5g/l	1 5 0
● Rượu vang đỏ có hàm lượng đường kính theo tổng hàm lượng glucose và fructose không nhỏ hơn 5g/l	2 0 0

• Rượu vang trắng và rượu vang hồng có hàm lượng đường kính theo tổng hàm lượng glucose và fructose nhỏ hơn 5g/l	2 0 0
• Rượu vang trắng và rượu vang hồng có hàm lượng đường kính theo tổng hàm lượng glucose và fructose nhỏ hơn 5g/l	2 5 0
• Rượu vang nổ	2 3 5
5. Áp suất dư trong chai tại 20 ⁰ C, không nhỏ hơn	
• Đối với chai có dung tích không nhỏ hơn 0,25 lít	3 , 5
• Đối với chai có dung tích nhỏ hơn 0,25 lít	3 , 0
a) meq = mili đương lượng, 1 meq tương đương với 60mg axid acetic	

Phụ lục 4: Môi trường nuôi cấy vi sinh vật

Môi trường Hansen

Sucrose	50g	MgSO ₄ .7H ₂ O	2g
Peptone	10g	Agar	18g
KH ₂ PO ₄	3g	Nước cất	1000ml

Môi trường PDA

Dịch chiết khoai	250ml	Agar	20g
Dextrose	20g	Nước cất	100ml

Môi trường tăng sinh chọn lọc LSB

Trypton	20g	KH ₂ PO ₄	2.75g
K ₂ HPO ₄	2.75g	Natri laury sulphate	0.1g
NaCl	5g	Nước cất	1000ml
Môi trường LSB tổng hợp: 35.6g/l		pH = 6.8 ± 0.2	
Lactose	5g		

Canh trường BGBL 2%

Pepton	10g	Nước cất	1000ml
Mật bò	20g	Brilliant Green	0.0133
Lactose	10g		
Môi trường tổng hợp: 40g/l, pH = 7			

Môi trường thạch thường glucoza

Pepton	10g	NaCl	5g
Cao thịt	5g	Thạch	15-20g
Glucoza	1g	Nước cất	1000ml

Môi trường nước Peptone

Pepton	10g
NaCl	8.5g
Nước cất	1000m

Phụ lục 5: Hình ảnh các chủng nấm men phân lập từ dịch lên men quả hồng



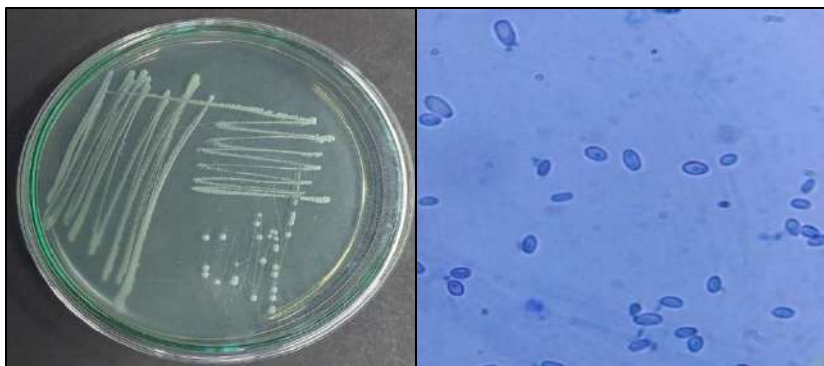
Hình 5.1 Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của chủng G1



Hình 5.2 Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của chủng G2



Hình 5.3. Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của chủng G3



Hình 5.4. Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của chủng G4



Hình 5.5. Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của chủng G5

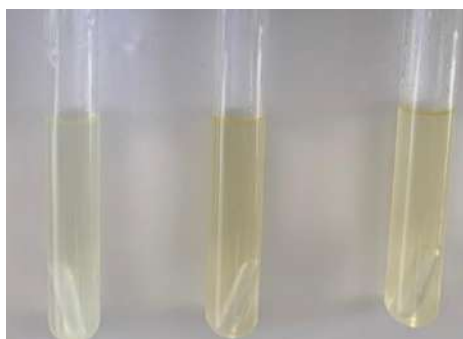
Phụ lục 6: Hình ảnh khảo sát khả năng chuyển hóa đường của các chủng nấm men trên môi trường PGY



Khả năng chuyển hóa đường
chủng G1 sau 8h



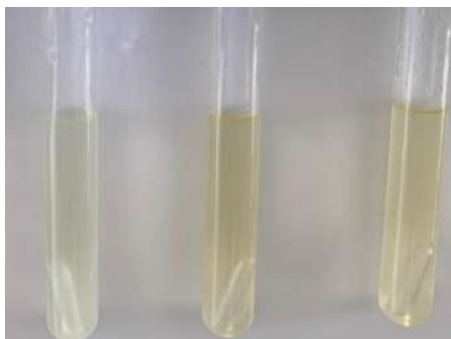
Khả năng chuyển hóa đường
chủng G2 sau 8h



Khả năng chuyển hóa đường
chủng G3 sau 8h



Khả năng chuyển hóa đường
chủng G4 sau 8h



Khả năng chuyển hóa đường
chủng G5 sau 8h

Phụ lục 7: Kết quả xử lý số liệu

Xử lý số liệu về khả năng lên men của chủng G1 và G2

Chủng giống	Độ rượu (%V) lên chính			TB
G1	10.1	9.89	9.55	9.85
G2	8.78	8.24	7.69	8.24

<i>G1</i>		<i>G2</i>	
Mean	9.846666667	Mean	8.236666667
Standard Error	0.113308821	Standard Error	0.222498439
Median	9.868333333	Median	8.238333333
Mode	#N/A	Mode	#N/A
Standard Deviation	0.23	Standard Deviation	0.44
Sample Variance	0.051355556	Sample Variance	0.198022222
Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5
Skewness	0.559670009	Skewness	-0.022471227
Range	0.55	Range	1.09
Minimum	9.55	Minimum	7.69
Maximum	10.1	Maximum	8.78
Sum	39.38666667	Sum	32.94666667
Count	4	Count	4
Confidence Level(95.0%)	0.360599238	Confidence Level(95.0%)	0.708089337

Chủng giống	Độ rượu (%V) lên phụ			TB
G1	11.99	11.5	11.01	11.50
G2	10.9	10.47	10.05	10.47

<i>G1</i>		<i>G2</i>	
Mean	11.5	Mean	10.47333333
Standard Error	0.200041662	Standard Error	0.173509526
Median	11.5	Median	10.47166667
Mode	11.5	Mode	#N/A
Standard Deviation	0.40	Standard Deviation	0.35
Sample Variance	0.160066667	Sample Variance	0.120422222
Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5
Skewness	0	Skewness	0.028815089
Range	0.98	Range	0.85
Minimum	11.01	Minimum	10.05
Maximum	11.99	Maximum	10.9
Sum	46	Sum	41.89333333
Count	4	Count	4
Confidence Level(95.0%)	0.636621849	Confidence Level(95.0%)	0.552184749

Xử lý số liệu về tỉ lệ giống

Tỷ lệ giống	Độ cón (%V) sau lên men chính			TB
7%	8.75	8.24	7.69	8.23
9%	9.05	9.47	9.9	9.47
11%	10.75	10.31	9.65	10.24

<i>0.07</i>		<i>0.09</i>		<i>0.11</i>
Mean	226667	Mean	9.47333333	Mean
Standard Error	216423	Standard Error	0.17350953	Standard Error
Median	233333	Median	9.47166667	Median
Mode	N/A	Mode	#N/A	Mode
Standard Deviation	43	Standard Deviation	0.35	Standard Deviation
Sample Variance	187356	Sample Variance	0.12042222	Sample Variance
Kurtosis	5	Kurtosis	1.5	Kurtosis
Skewness	1.09235	Skewness	0.02881509	Skewness
Range	06	Range	0.85	Range
Minimum	69	Minimum	9.05	Minimum
Maximum	75	Maximum	9.9	Maximum
Sum	2.90667	Sum	37.89333333	Sum
Count		Count	4	Count
Confidence Level(95.0%)	688754	Confidence Level(95.0%)	0.55218475	Confidence Level(95.0%)

Tỷ lệ giống	Độ cồn (%V) sau lên men phụ			TB
7%	10.9	10.47	10.1	10.49
9%	11.68	11.34	10.81	11.28
11%	12.08	12.51	12.99	12.53

<i>0.07</i>		<i>0.09</i>		<i>0.11</i>	
Mean	10.49	Mean	1.27667	Mean	2.52667
Standard Error	.163452	Standard Error	.178994	Standard Error	.185846
Median	10.48	Median	1.30833	Median	2.51833
Mode	#N/A	Mode	#N/A	Mode	#N/A
Standard Deviation	0.33	tandard Deviation	0.36	tandard Deviation	0.37
Sample Variance	.106867	Sample Variance	.128156	Sample Variance	.138156
Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5
Skewness	.183082	Skewness	0.51967	Skewness	.134339
Range	0.8	Range	0.87	Range	0.91
Minimum	10.1	Minimum	10.81	Minimum	12.08
Maximum	10.9	Maximum	11.68	Maximum	12.99
Sum	41.96	Sum	5.10667	Sum	0.10667
Count	4	Count	4	Count	4
Confidence Level(95.0%)	.520178	Confidence Level(95.0%)	.569639	Confidence Level(95.0%)	.591446

Tỷ lệ giống	Độ đường sau lên men (%Brix)			TB
7%	14.5	14.05	13.6	14.05
9%	11.7	11.2	10.61	11.17
11%	7.79	7.56	7.22	7.52

<i>0.07</i>		<i>0.09</i>		<i>0.11</i>	
					7.52333
Mean	14.05	Mean	11.17	Mean	3
	0.18371	Standard	0.22274		0.11707
Standard Error	2	Error	8	Standard Error	1
					7.54166
Median	14.05	Median	11.185	Median	7
Mode	#N/A	Mode	#N/A	Mode	#N/A
Standard		Standard		Standard	
Deviation	0.37	Deviation	0.45	Deviation	0.23
Sample		Sample	0.19846	Sample	0.05482
Variance	0.135	Variance	7	Variance	2
Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5
Skewness	1.47E-14	Skewness	-0.20141	Skewness	-0.46212
Range	0.9	Range	1.09	Range	0.57
Minimum	13.6	Minimum	10.61	Minimum	7.22
Maximum	14.5	Maximum	11.7	Maximum	7.79
					30.0933
Sum	56.2	Sum	44.68	Sum	3
Count	4	Count	4	Count	4
Confidence	0.58465	Confidence	0.70888	Confidence	0.37257
Level(95.0%)	3	Level(95.0%)	4	Level(95.0%)	1

Xử lý số liệu về tỉ lệ đường

Tỷ lệ đường	Độ cồn (%V) sau lên men chính			Trung bình
15%	6.9	6.58	6.21	6.56
20%	9.05	9.47	9.9	9.47
25%	10.61	10.05	9.58	10.08

<i>0.15</i>		<i>0.2</i>	
Mean	6.563333	Mean	9.473333333
Standard Error	0.140969	Standard Error	0.173509526
Median	6.571667	Median	9.471666667
Mode	#N/A	Mode	#N/A
Standard Deviation	0.28	Standard Deviation	0.35
Sample Variance	0.079489	Sample Variance	0.120422222
Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5
Skewness	-0.17693	Skewness	0.028815089
Range	0.69	Range	0.85
Minimum	6.21	Minimum	9.05
Maximum	6.9	Maximum	9.9
Sum	26.25333	Sum	37.89333333
Count	4	Count	4
Confidence Level(95.0%)	0.448626	Confidence Level(95.0%)	0.552184749

Tỷ lệ đường	Độ cồn (%V) sau lên men phụ			TB
15%	9.48	9.03	8.65	9.05
20%	11.68	11.34	10.81	11.28
25%	12.2	11.92	11.51	11.88

<i>0.15</i>		<i>0.2</i>		<i>0.25</i>	
	9.05333		11.2766		11.8766
Mean	3	Mean	7	Mean	7
	0.16962		0.17899	Standard	0.14167
Standard Error	4	Standard Error	4	Error	6
	9.04166		11.3083		11.8983
Median	7	Median	3	Median	3
Mode	#N/A	Mode	#N/A	Mode	#N/A
Standard		Standard		Standard	
Deviation	0.34	Deviation	0.36	Deviation	0.28
	0.11508	Sample	0.12815	Sample	0.08028
Sample Variance	9	Variance	6	Variance	9
Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5
	0.20568		-		-
Skewness	8	Skewness	0.51967	Skewness	0.45164
Range	0.83	Range	0.87	Range	0.69
Minimum	8.65	Minimum	10.81	Minimum	11.51
Maximum	9.48	Maximum	11.68	Maximum	12.2
	36.2133		45.1066		47.5066
Sum	3	Sum	7	Sum	7
Count	4	Count	4	Count	4
				Confidence	
Confidence	0.53981	Confidence	0.56963	Level(95.0%	0.45087
Level(95.0%)	9	Level(95.0%)	9	)	8

Tỷ lệ đường	Độ đường sau lên men (%Brix)			TB
15%	7.76	7.2	6.8	7.25
20%	11.7	11.2	10.61	11.17
25%	16	15.4	14.81	15.40

0.15		0.2		0.25	
Mean	7.253333	Mean	11.17	Mean	
Standard Error	0.196864	Standard Error	0.222748	Standard Error	
Median	7.226667	Median	11.185	Median	
Mode	#N/A	Mode	#N/A	Mode	
Standard Deviation	0.39	Standard Deviation	0.45	Standard Deviation	
Sample Variance	0.155022	Sample Variance	0.198467	Sample Variance	
Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5	Kurtosis	
Skewness	0.4014	Skewness	-0.20141	Skewness	
Range	0.96	Range	1.09	Range	
Minimum	6.8	Minimum	10.61	Minimum	
Maximum	7.76	Maximum	11.7	Maximum	
Sum	29.01333	Sum	44.68	Sum	
Count	4	Count	4	Count	
Confidence Level(95.0%)	0.62651	Confidence Level(95.0%)	0.708884	Confidence Level(95.0%)	

Xử lý số liệu về nhiệt độ

Nhiệt độ	Độ cồn (%V) sau lên men chính			TB
15°C	7.97	7.42	6.88	7.42
25°C	9.05	9.47	9.9	9.47
30°C	9.8	9.56	9.35	9.57

15°C		25°C		30°C	
	7.42333		9.47333333		
Mean	3	Mean	3	Mean	9.57
Standard Error	0.22249	Standard Error	0.17350952	Standard Error	0.091923882
	7.42166		9.47166666		
Median	7	Median	7	Median	9.565
Mode	#N/A	Mode	#N/A	Mode	#N/A
Standard Deviation	0.44	Standard Deviation	0.35	Standard Deviation	0.18
Sample Variance	0.19802	Sample Variance	0.12042222	Sample Variance	0.0338
Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5
	0.02247		0.02881508		
Skewness	1	Skewness	9	Skewness	0.162856637
Range	1.09	Range	0.85	Range	0.45
Minimum	6.88	Minimum	9.05	Minimum	9.35
Maximum	7.97	Maximum	9.9	Maximum	9.8
	29.6933		37.8933333		
Sum	3	Sum	3	Sum	38.28
Count	4	Count	4	Count	4
				Confidence	
Confidence Level(95.0%)	0.70808	Confidence Level(95.0%)	0.55218474	Confidence Level(95.0 %)	0.292542817

Nhiệt độ	Độ cồn (%V) sau lên men phụ			TB
15°C	9.47	9.02	8.5	9.00
25°C	11.68	11.34	10.81	11.28
30°C	11.98	11.4	10.84	11.4

15 °C		25 °C		30 °C	
Mean	8.99666 7	Mean	11.2766 7	Mean	11.40667
Standard Error	0.19817 2	Standard Error	0.17899 4	Standard Error	0.232713
Median	9.00833 3	Median	11.3083 3	Median	11.40333
Mode	#N/A	Mode	#N/A	Mode	#N/A
Standard Deviation	0.40	Standard Deviation	0.36	Standard Deviation	0.47
Sample Variance	0.15708 9	Sample Variance	0.12815 6	Sample Variance	0.216622
Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5
Skewness	-0.17621	Skewness	-0.51967	Skewness	0.042965
Range	0.97	Range	0.87	Range	1.14
Minimum	8.5	Minimum	10.81	Minimum	10.84
Maximum	9.47	Maximum	11.68	Maximum	11.98
Sum	35.9866 7	Sum	45.1066 7	Sum	45.62667
Count	4	Count	4	Count	4
Confidence Level(95.0%)	0.63067 2	Confidence Level(95.0%)	0.56963 9	Confidence Level(95.0%)	0.740598

Nhiệt độ	Độ đường sau lên men (%Brix)			TB
15°C	14.66	15.26	15.74	15.22
25°C	11.7	11.2	10.61	11.17
30°C	11.46	10.98	10.39	10.94

15 °C		25 °C		30 °C	
Mean	15.22	Mean	11.17	Mean	10.9433
	0.22090		0.22274		0.21879
Standard Error	7	Standard Error	8	Standard Error	7
					10.9616
Median	15.24	Median	11.185	Median	7
Mode	#N/A	Mode	#N/A	Mode	#N/A
Standard		Standard		Standard	
Deviation	0.44	Deviation	0.45	Deviation	0.44
Sample		Sample	0.19846	Sample	0.19148
Variance	0.1952	Variance	7	Variance	9
Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5
	-		-		
Skewness	0.27012	Skewness	0.20141	Skewness	-0.2502
Range	1.08	Range	1.09	Range	1.07
Minimum	14.66	Minimum	10.61	Minimum	10.39
Maximum	15.74	Maximum	11.7	Maximum	11.46
					43.7733
Sum	60.88	Sum	44.68	Sum	3
Count	4	Count	4	Count	4
Confidence	0.70302	Confidence	0.70888	Confidence	
Level(95.0%)	5	Level(95.0%)	4	Level(95.0%)	0.69631

Xử lý số liệu về pH

pH trước lên men	Độ cồn (%V) sau lên men chính			Trung bình
4	9.05	9.47	9.9	9.47
4.5	8.22	8.75	9.45	8.81
5	7.67	8.02	8.32	8.00

	4	4.5	5
Mean	9.473333	8.80666	8.003333
Standard Error	0.173509	0.25187	0.132811
Median	9.471666	8.77833	8.011666
Mode	#N/A	#N/A	#N/A
Standard Deviation	0.35	0.50	0.27
Sample Variance	0.120422	0.25375	0.070555
Kurtosis	1.5	1.5	1.5
Skewness	0.028815	0.33462	0.187742
Range	0.85	1.23	0.65
Minimum	9.05	8.22	7.67
Maximum	9.9	9.45	8.32
Sum	37.89333	35.2266	32.01333
Count	4	4	4
Confidence Level(95.0%)	0.552184	0.80156	0.422665

pH trước lên men	Độ cồn (%V) sau lên men phụ			Trung bình
4	11.68	11.34	10.81	11.28
4.5	10.61	10.47	10.29	10.46
5	10	10.16	10.29	10.15

	4		4.5		5
Mean	11.2766	Mean	10.4566	Mean	10.15
Standard Error	0.17899	Standard Error	0.06549	Standard Error	0.05930
Median	11.3083	Median	10.4633	Median	10.155
Mode	#N/A	Mode	#N/A	Mode	#N/A
Standard Deviation	0.36	Standard Deviation	0.13	Standard Deviation	0.12
Sample Variance	0.12815	Sample Variance	0.01715	Sample Variance	0.01406
Kurtosis	6	Kurtosis	6	Kurtosis	7
	1.5		1.5		1.5
	-		-		-
Skewness	0.51967	Skewness	0.30328	Skewness	0.25175
Range	0.87	Range	0.32	Range	0.29
Minimum	10.81	Minimum	10.29	Minimum	10
Maximum	11.68	Maximum	10.61	Maximum	10.29
Sum	45.1066	Sum	41.8266	Sum	40.6
Count	7	Count	7	Count	4
Confidence Level(95.0%)	0.56963	Confidence Level(95.0%)	0.20841	Confidence Level(95.0%)	0.18872
	9		7		4

pH trước lên men	pH sau lên men			Trung bình
4	3.77	3.98	4.16	3.97
4.5	4.41	4.02	3.6	4.01
5	3.92	4.12	4.3	4.11

4		4.5		5	
Mean	3.97	Mean	4.01	Mean	4.11333
Standard Error	0.07968	Standard Error	0.16537	Standard Error	0.07760
Median	3.975	Median	4.015	Median	4.11666
Mode	#N/A	Mode	#N/A	Mode	7
Standard Deviation	0.16	Standard Deviation	0.33	Standard Deviation	0.16
Sample Variance	0.0254	Sample Variance	0.1094	Sample Variance	0.02408
Kurtosis	1.5	Kurtosis	1.5	Kurtosis	9
Skewness	-	Skewness	-	Skewness	1.5
Range	0.39	Range	0.09065	Range	-0.1287
Minimum	3.77	Minimum	0.81	Minimum	0.38
Maximum	4.16	Maximum	3.6	Maximum	3.92
Sum	15.88	Sum	4.41	Sum	4.3
Count	4	Count	16.04	Count	16.4533
Confidence Level(95.0%)	0.25359	Confidence Level(95.0%)	4	Confidence Level(95.0%)	3
	9		0.52630		4
			8		0.24696
					7

Phụ lục 8: Kết quả đánh giá cảm quan

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi bổ sung tỷ lệ 7% giống G2

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5										
	4	X	X	X			X	X	X	X	
	3				X	X					X
	2										
	1										
	0										
Mùi	5										
	4										
	3						X				X
	2	X	X	X	X	X		X	X	X	
	1										
	0										
Vị	5										
	4			X				X			
	3	X	X		X	X	X		X	X	X
	2										
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi bổ sung tỷ lệ 9% giống G2

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5										
	4	X	X	X	X	X	X	X	X		X
	3									X	
	2										
	1										
	0										
Mùi	5	X									
	4		X	X	X	X	X	X	X	X	X
	3										
	2										
	1										
	0										
Vị	5								X		
	4	X	X	X	X	X	X	X		X	X
	3										
	2										
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi bổ sung tỷ lệ 11% giống G2

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5										
	4	X		X	X	X	X			X	X
	3		X					X	X		
	2										
	1										
	0										
Mùi	5										
	4										
	3	X	X	X	X	X		X	X	X	X
	2						X				
	1										
	0										
Vị	5										
	4										
	3		X						X		
	2	X		X	X	X	X	X		X	X
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi bổ sung tỷ lệ đường 15%Brix

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5										
	4	X		X				X	X	X	X
	3		X		X	X	X				
	2										
	1										
	0										
Mùi	5										
	4						X	X			
	3	X	X	X	X	X			X	X	X
	2										
	1										
	0										
Vị	5										
	4										
	3				X			X			
	2	X	X	X		X	X		X	X	X
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi bổ sung tỷ lệ đường 20%

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5										
	4	X	X	X		X	X			X	X
	3				X			X	X		
	2										
	1										
	0										
Mùi	5				X						
	4	X	X	X		X	X	X		X	X
	3								X		
	2										
	1										
	0										
Vị	5			X						X	
	4	X	X		X	X	X	X	X		X
	3										
	2										
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi bổ sung tỷ lệ đường 25%

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5										
	4	X		X	X	X			X	X	X
	3		X				X	X			
	2										
	1										
	0										
Mùi	5										
	4										
	3	X	X	X	X			X	X	X	X
	2					X	X				
	1										
	0										
Vị	5										
	4				X			X			
	3	X	X	X		X	X		X	X	X
	2										
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi lên men ở nhiệt độ phòng

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5										
	4			x			x				
	3	x	x		x	x		x	x	x	x
	2										
	1										
	0										
Mùi	5										
	4										
	3		x			x	x			x	
	2	x		x	x			x	x		x
	1										
	0										
Vị	5										
	4				x					x	x
	3	x	x	x		x	x	x	x		
	2										
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi lên men ở nhiệt độ 25°C

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5					x					
	4	x	x	x	x		x	x	x	x	x
	3										
	2										
	1										
	0										
Mùi	5						x	x			
	4	x	x	x	x	x			x	x	x
	3										
	2										
	1										
	0										
Vị	5										
	4	x		x	x	x	x	x	x	x	x
	3		x								
	2										
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi lên men ở nhiệt độ 30°C

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5										
	4										
	3			x					x		
	2	x	x		x	x	x	x		x	x
	1										
	0										
Mùi	5										
	4				x	x				x	
	3	x	x	x			x	x	x		x
	2										
	1										
	0										
Vị	5										
	4			x			x				
	3	x	x		x	x		x	x	x	x
	2										
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi lên men ở pH 4.0

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5										
	4		x	x	x		x	x	x	x	x
	3	x				x					
	2										
	1										
	0										
Mùi	5										
	4	x	x	x	x	x		x	x	x	x
	3						x				
	2										
	1										
	0										
Vị	5					x	x			x	
	4	x	x	x	x			x	x		x
	3										
	2										
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi lên men ở pH 4.5

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5										
	4			x							
	3	x	x		x	x	x	x	x	x	x
	2										
	1										
	0										
Mùi	5										
	4			x				x		x	
	3	x	x		x	x	x		x		x
	2										
	1										
	0										
Vị	5										
	4										
	3	x	x	x			x	x		x	x
	2				x	x			x		
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi lên men ở pH 5.0

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5										
	4										
	3	x		x	x	x			x		x
	2		x				x	x		x	
	1										
	0										
Mùi	5										
	4										
	3	x	x	x		x		x	x	x	x
	2				x		x				
	1										
	0										
Vị	5										
	4										
	3				x	x			x	x	
	2	x	x	x			x	x			x
	1										
	0										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi lên men với chủng giống G1

Hội đồng	0										
Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5				x			x			
	4	x	x	x		x	x		x	x	x
	3										
	2										
	1										
	0										
Mùi	5										
	4	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	3										
	2										
	1										
	0										
Vị	5										
	4	x	x	x		x	x	x	x		x
	3				x					x	
	2										
	1										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang khi lên men với chủng giống G2

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5		x			x		x	x		
	4	x		x	x		x			x	x
	3										
	2										
	1										
	0										
Mùi	5	x			x	x	x	x	x	x	x
	4		x	x							
	3										
	2										
	1										
	0										
Vị	5	x	x	x	x	x		x	x	x	x
	4						x				
	3										
	2										
	1										

Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang thành phẩm khi lên men với chủng giống G2

Hội đồng Chỉ tiêu chất lượng	Cho điểm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ trong và màu sắc	5			x				x			
	4	x	x		x	x	x		x	x	x
	3										
	2										
	1										
	0										
Mùi	5	x	x	x	x	x		x	x	x	x
	4						x				
	3										
	2										
	1										
	0										
Vị	5	x		x	x	x	x	x	x	x	x
	4		x								
	3										
	2										
	1										

Phụ lục 9: Phương pháp kiểm nghiệm vi sinh vật

Xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí theo TCVN 5165: 1990

Nguyên tắc:

Sử dụng kỹ thuật đổ đĩa, đếm khuẩn lạc trên môi trường thạch sau khi ủ hiếu khí ở nhiệt độ $30 \pm 1^\circ\text{C}$ trong thời gian từ 48–72h. Số lượng vi khuẩn hiếu khí trong 1g hoặc 1ml mẫu sản phẩm thực phẩm kiểm nghiệm được tính từ số khuẩn lạc đếm được từ các đĩa nuôi cấy theo các độ pha loãng.

Cách tiến hành:

Chuẩn bị môi trường thạch thường glucoza.

Đối với một mẫu kiểm nghiệm phải nuôi cấy ít nhất 3 độ pha loãng khác nhau. Lấy 1 ml sản phẩm (lỏng) hoặc dung dịch pha loãng ở những độ pha loãng khác nhau cho vào giữa từng đĩa petri. Rót vào từng đĩa 12 – 15 ml môi trường thạch PCA ($40-45^\circ\text{C}$), trộn đảo đều dung dịch mẫu và môi trường bằng cách lắc sang phải và sang trái mỗi chiều 3 lần. Sau đó, để các đĩa thạch đông tự nhiên trên mặt ngang.

Khi thạch đã đông, lật sập các đĩa petri và để vào tủ ấm ở nhiệt độ $30 \pm 1^\circ\text{C}$ từ 48-72h. Sau 48h tính kết quả sơ bộ bằng cách đếm những khuẩn lạc đã mọc trên các đĩa nuôi cấy, sau 72h tính kết quả chính thức.

Tính kết quả:

Sau 24h, đọc sơ bộ kết quả. Sau 48 giờ, đếm tất cả các khuẩn lạc có trên các đĩa đã nuôi cấy và lấy kết quả chính thức. Chọn các đĩa có số khuẩn lạc từ 25-250 để tính giá trị trung bình của các nồng độ pha loãng rồi tính toán ra số lượng vi khuẩn trong 1ml mẫu. Tính số vi khuẩn hiếu khí theo công thức:

$$N\left(\frac{CFU}{ml}\right) = \frac{N}{n1Vf1 + \dots + niVfi}$$

Trong đó:

A: Tổng số tế bào vi khuẩn hiếu khí trong 1ml mẫu
N: Tổng số khuẩn lạc đếm được trên các đĩa đã chọn
ni: số lượng đĩa cấy tại độ pha loãng thứ i
V: thể tích dịch mẫu (ml) cấy vào mỗi trong mỗi đĩa
fi: Độ pha loãng tương ứng

Xác định tổng số nấm men, nấm mốc theo TCVN 5166: 1990

Nguyên tắc:

Sử dụng kỹ thuật đổ đĩa, đếm khóm nấm trên môi trường thạch sau khi ủ hiếu khí ở nhiệt độ $28 \pm 1^\circ\text{C}$ trong thời gian từ 5 đến 7 ngày. Số lượng bào tử nấm men, nấm mốc trong 1g hoặc 1ml mẫu sản phẩm thực phẩm kiểm nghiệm được tính từ số khóm nấm đếm được từ các đĩa nuôi cấy theo các nồng độ pha loãng.

Cách tiến hành:

Chuẩn bị môi trường PDA

Cho vào mỗi đĩa Petri 15ml môi trường PDA, để nguội cho môi trường đông. Dùng pipette cho vào các đĩa 1ml mẫu có độ pha loãng khác nhau, dùng que cấy trải tiến hành trải đều dịch mẫu trên bề mặt thạch. Sau khi cấy trải, gói giấy báo và ủ ở nhiệt độ $28 \pm 1^\circ\text{C}$ trong 5-7 ngày.

Tính kết quả:

Sau 3 ngày đọc kết quả sơ bộ, đếm tổng số khuẩn lạc mọc trên môi trường nuôi cấy. Sau 6 ngày đọc kết quả chính thức. Chọn tất cả các đĩa có không quá 150 khuẩn lạc để tính kết quả:

$$N\left(\frac{CFU}{ml}\right) = \frac{\sum C}{(n1+n2) \times d}$$

Trong đó:

N: Tổng số tế bào nấm men, nấm mốc trong 1ml mẫu

$\sum C$: Tổng số khuẩn lạc đếm được trên tất cả các đĩa

n_1, n_2 : Số đĩa đếm ở nồng độ pha loãng thứ 1, thứ 2

d : Hệ số pha loãng tương ứng

Xác định coliform

Nguyên tắc:

Xác định bằng phương pháp MPN với nguyên tắc mẫu được pha loãng thành một dãy thập phân (hệ 9 ống nghiệm). Ghi nhận số ống nghiệm dương tính ở mỗi nồng độ pha loãng và dựa vào bảng MPN để suy ra số lượng nhóm vi sinh vật tương ứng hiện diện trong 1ml mẫu ban đầu (Đào, 2008; Trần, 2003).

Cách tiến hành:

Chuẩn bị môi trường: Môi trường LSB và môi trường BGBL

Nuôi cấy: Hút 1ml mẫu cho vào 3 ống nghiệm khác nhau. Hút 10ml môi trường LSB cho vào 3 ống đó. Thực hiện tương tự với các nồng độ pha loãng 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , v.v... Ủ ống nghiệm ở tủ ấm 37°C trong 48h (Đào, 2008; Trần, 2003)

Tính kết quả:

Sau 48h, ghi nhận số ống có sinh hơi (dương tính). Nếu môi trường bị đục mà không sinh hơi là âm tính (âm tính). Dùng que cấy vòng chuyển dịch mẫu từ các ống chứa môi trường LSB (dương tính) sang các ống có chứa môi trường BGBL (mỗi ống một khay cấy). Các ống được ủ ở nhiệt độ 30°C trong 48h. Ghi nhận số ống có sinh hơi ứng với mỗi nồng độ pha loãng. Ở mỗi nồng độ pha loãng của mẫu, dùng bảng MPN thích hợp để tính ra mật độ vi sinh vật trong mẫu và biểu diễn dưới dạng trị số MPN/ml (Đào, 2008; Trần, 2003)

Xác định E. coli

Nguyên tắc:

Tương tự nguyên tắc xác định Coliform.

Cách tiến hành:

Chuẩn bị môi trường: Môi trường BGBL, thạch EMB, môi trường indole, thạch thường, nước peptone, môi trường MR-VP, môi trường Simmon citrate (Đào, 2008; Trần, 2003).

Nuôi cấy: Hút 1ml mẫu cho vào 3 ống nghiệm khác nhau. Hút 10ml môi trường BGBL cho vào 3 ống đó. Thực hiện tương tự với các nồng độ pha loãng 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , v.v. Ủ ống nghiệm ở tủ ấm 37°C trong 48h (Đào, 2008; Trần, 2003).

Tính kết quả:

Sau 48h, ghi nhận số ống có sinh hơi (dương tính). Nếu môi trường bị đục mà không sinh hơi là âm tính (âm tính). Ria một khuyên cấy từ ống chứa môi trường BGBL (dương tính) sang môi trường thạch EMB và để tủ ấm 37°C trong 24h. Sau thời gian nói trên, chọn các khuẩn lạc điển hình của E. coli (khuẩn lạc hình tròn, mặt phẳng hoặc hơi lồi, có ánh kim) cấy vào môi trường thạch thường, tiếp tục nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong 24h. Nếu môi trường sinh hơi thì thực hiện các phản ứng sau (Đào, 2008; Trần, 2003):

Phản ứng sinh indol: Cấy vi khuẩn từ môi trường thạch thường vào môi trường nước peptone, nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong 24-48h. Cho 5 giọt thuốc thử Kovac's vào môi trường có vi khuẩn vừa cấy, để yên vài phút. Phản ứng (dương tính) khi có vòng nhẫn màu đỏ cánh sen trên môi trường (Đào, 2008; Trần, 2003).

Phản ứng MR (Methyl Red): Cấy vi khuẩn từ môi trường thạch thường sang môi trường MR-VP. Đặt ở tủ ấm 37°C trong 24-48h. Lấy 5ml MR-VP có vi khuẩn vào ống nghiệm khác để thực hiện phản ứng VP. Canh khuẩn MR-VP còn lại: cho 5 giọt methyl đỏ 0.2% vào. Phản ứng (dương tính) khi môi trường có màu đỏ ngay sau khi cho thuốc thử (Đào, 2008; Trần, 2003).

Phản ứng VP (Voges-Proskauer): Cho 1.8 ml α Naphthol 5% cùng 0.6ml KOH 40% vào canh khuẩn MR-VP. Phản ứng (dương tính) khi có màu đỏ xuất hiện trong vòng 5-10 phút sau khi cho thuốc thử vào. Một số loài cho phản ứng (dương tính) chậm nên phải hơi nóng nhẹ (Đào, 2008; Trần, 2003).

Phản ứng Citrate: Cấy chuyển vi khuẩn từ thạch thường vào môi trường Simmon Citrate. Nuôi ở tủ ẩm 37°C trong 18-24h. Phản ứng (dương tính) khi môi trường chuyển sang màu xanh dương (Đào, 2008; Trần, 2003).

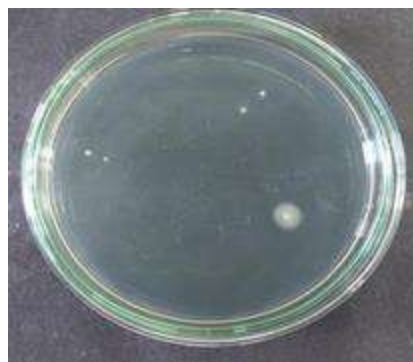
Xác định *E. coli* gây bệnh khi phát hiện vi khuẩn gram (âm tính) bằng phương pháp nhuộm gram với đặc tính sinh hóa như sau:

	Indol	MR	VP	Citrate
<i>E. coli</i> type I	+	+	-	-
<i>E. coli</i> type II.	+	+	-	-

Phụ lục 10: Kết quả kiểm tra tổng vi khuẩn hiếu khí, tổng men mốc, *E. coli*, Coliform trong sản phẩm rượu vang hồng



Hình 10.1. Khuẩn lạc vi khuẩn hiếu khí nuôi cấy trên môi trường thạch PCA ở nồng độ 10^0



Hình 10.2. Khuẩn lạc nấm men, nấm mốc nuôi cấy trên môi trường thạch PDA nồng độ 10^0



Hình 10.3. Môi trường LSB (âm tính ở tất cả các nồng độ pha loãng 10^0 đến 10^{-2})



Hình 10.4. Môi trường BGBL (âm tính ở tất cả các nồng độ pha loãng 10^0 đến 10^{-2})



Phụ lục 11: Hình ảnh sản phẩm rượu vang từ quả hồng (*Diospyros* sp.)



**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

**BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021**

**NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT GIÁ THỂ HỮU CƠ ĐỂ
TRỒNG CÂY DÂU TÂY (*Fragaria* sp.)**

Thuộc nhóm ngành: Khoa học Tự nhiên

LÂM ĐỒNG, 2021

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

**BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021**

**NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT GIÁ THỂ HỮU CƠ ĐỂ
TRỒNG CÂY DÂU TÂY (*Fragaria* sp.)**

Thuộc nhóm ngành: Khoa học Tự nhiên

Sinh viên thực hiện: Nguyễn Thị Như Hà

Giới tính: Nữ

Dân tộc: Kinh

Lớp, khoa: CSK42 – Khoa Sinh học

Năm thứ: 03

Số năm đào tạo: 04

Ngành học: Công nghệ sinh học

Người hướng dẫn: Th.S. Nguyễn Khoa Trưởng

LÂM ĐỒNG, 2021

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Lâm Đồng, ngày 27 tháng 05 năm 2021

BÁO CÁO KẾT QUẢ TỰ ĐÁNH GIÁ

ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ SINH VIÊN 2020

I. Thông tin chung về đề tài:

1. Tên đề tài: *Nghiên cứu sản xuất giá thể dâu tây để trồng cây dâu tây (Fragaria sp.)*

2. Mục tiêu đề tài: Nghiên cứu tạo giá thể hữu cơ từ nguồn phế phụ phẩm nông nghiệp (trấu, xơ dừa, trấu hun) và phối trộn các chủng vi sinh vật có lợi để chủ động trong quá trình canh tác nhằm hạn chế một số vi sinh vật gây bệnh, nâng cao giá trị kinh tế và hạn chế ô nhiễm môi trường.

3. Chủ nhiệm đề tài: Nguyễn Thị Như Hà

4. Giáo viên hướng dẫn: ThS. Nguyễn Khoa Trường

5. Tổng kinh phí thực hiện: 5.000.000 VNĐ (Bằng chữ: năm triệu đồng).

6. Thời gian thực hiện:

Bắt đầu: tháng 11 năm 2020

Kết thúc: tháng 05 năm 2021

7. Danh sách thành viên chính thực hiện đề tài nêu trên gồm:

STT	Họ và tên	Mã số SV	Lớp/ Khoa
1	Nguyễn Thị Như Hà	1812583	CSK42 – Khoa Sinh học
2	Nguyễn Đình Gia Hy	1812600	CSK42 – Khoa Sinh học
3	Dương Thị Cẩm Vân	1910236	CSK43 – Khoa Sinh học
4	Vũ Trung Duy	1911274	CSK43 – Khoa Sinh học
5	Mai Thị Mỹ Lanh	1710777	CSK41 – Khoa Sinh học

II. Nội dung tự đánh giá về kết quả thực hiện đề tài:

1. Về sản phẩm khoa học:

1.1. Danh mục sản phẩm đã hoàn thành:

STT	Tên sản phẩm	Số lượng			Khối lượng			Chất lượng		
		Xuất sắc	Đạt	Không đạt	Xuất sắc	Đạt	Không đạt	Xuất sắc	Đạt	Không đạt
1	Vỉ giá thể sử dụng để ươm cây mô		×			×			×	
2	Viên nén giá thể để trồng ngó dâu tây		×			×			×	
3	Bao giá thể trồng cây dâu tây		×			×			×	

Minh chứng:

- Sản phẩm viên nén và bao giá thể trồng cây dâu tây.
- Cây dâu tây Bạch Tuyết được trồng trên giá thể.

1.2. Danh mục sản phẩm khoa học dự kiến ứng dụng, chuyển giao (nếu có):

ST T	Tên sản phẩm	Thời gian dự kiến ứng dụng	Cơ quan dự kiến ứng dụng	Ghi chú
1	Thành phần tỷ lệ phối trộn các cơ chất và chế phẩm vi sinh.	Từ tháng 7 năm 2021	Khoa Sinh học – Trường Đại học Đà Lạt	

1.3. Danh mục sản phẩm khoa học đã được ứng dụng (nếu có):

STT	Tên sản phẩm	Thời gian ứng dụng	Tên cơ quan ứng dụng	Ghi chú
1	Giá thể trồng cây dâu tây	Từ tháng 2 – tháng 5 năm 2021	Vườn ươm A12, Khoa Sinh học – Trường Đại học Đà Lạt	

2. Về những đóng góp mới của đề tài:

Đề tài đã xác định được tỷ lệ phối trộn của cơ chất trấu, tro, xơ dừa và chế phẩm vi sinh. Từ đó, ứng dụng tạo ra giá thể trồng dâu tây Bạch Tuyết với khả năng kháng mầm bệnh, cung cấp chất dinh dưỡng cho cây, dễ dàng sử dụng, thân thiện với môi trường và dễ phân hủy.

3. Về hiệu quả của đề tài:

3.1. Hiệu quả kinh tế

Việc khảo sát các thành phần tỷ lệ của các cơ chất từ đó nâng cao giá trị của phế phụ phẩm, làm đa dạng hóa thêm các sản phẩm trong việc ứng dụng làm giá thể trồng cây.

3.2. Hiệu quả xã hội

Góp phần làm hạn chế ô nhiễm môi trường do phế phụ phẩm thải ra hằng năm.

III. Tự đánh giá, xếp loại kết quả thực hiện đề tài

1. Về tiến độ thực hiện: (đánh dấu ✓ vào ô tương ứng):

- Nộp hồ sơ đúng hạn ☐
- Nộp chậm từ trên 30 ngày đến 06 tháng ☐
- Nộp hồ sơ chậm trên 06 tháng ☐

2. Về kết quả thực hiện đề tài:

- Xuất sắc ☐
- Đạt ☐
- Không đạt ☐

Giải thích lý do:

- Đề tài đã thực hiện đúng 04 nội dung đã đăng ký trong thuyết minh đề tài và đáp ứng được mục tiêu của đề tài.

Cam đoan nội dung của Báo cáo là trung thực; Chủ nhiệm và các thành viên tham gia thực hiện đề tài không sử dụng kết quả nghiên cứu của người khác trái với quy định của pháp luật.

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI

CHỦ TỊCH HĐ NGHIỆM THU

LỜI CAM ĐOAN

Chúng tôi xin cam đoan nghiên cứu này là do chúng tôi thực hiện tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Vi sinh và khu sản xuất thử nghiệm A12 khoa Sinh học, trường Đại học Đà Lạt. Những hình ảnh, kết quả, số liệu chưa được công bố trên bất kỳ tài liệu nào.

Chúng tôi xin chịu trách nhiệm với lời cam đoan này.

Đà Lạt, ngày 27 tháng 05 năm 2021

Nhóm nghiên cứu

Nguyễn Thị Như Hà

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến thầy Nguyễn Khoa Trường, người đã đồng hành, hỗ trợ và giúp đỡ chúng tôi trong quá học tập, nghiên cứu, đặc biệt trong thời gian chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu khoa học “*Nghiên cứu sản xuất giá thể hữu cơ để trồng cây dâu tây*”.

Chúng tôi cũng xin cảm ơn tất cả các thầy cô là giảng viên Trường Đại học Đà Lạt, là những người đã tận tình giúp đỡ, tạo điều kiện để sinh viên có thể thực hiện các đề tài nghiên cứu của mình.

Cảm ơn gia đình, các anh chị, bạn bè đã ủng hộ, động viên và giúp đỡ chúng tôi trong quá trình nghiên cứu và học tập, là chỗ dựa tinh thần, là động lực và mục tiêu để chúng tôi học tập và hoàn thiện tốt đề tài.

Trong quá trình nghiên cứu chúng tôi không thể tránh khỏi những thiếu sót. Vì vậy chúng tôi rất mong nhận được sự góp ý của quý thầy cô và những định hướng phát triển đề tài. Xin chân thành cảm ơn.

Nhóm nghiên cứu

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Giá trị dinh dưỡng của dâu tây	4
Bảng 1.2. Thành phần dinh dưỡng một số phế phụ phẩm	9
Bảng 3.1. Đánh giá cảm quan của các loại giá thể sau khi ủ	19
Bảng 3.2. Mật độ các chủng vi sinh vật có trong 2 loại giá thể tại các thời điểm ủ	20
Bảng 3.3. Kết quả đánh giá tính chất vật lý của giá thể	21
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của giá thể đến sức sống của cây dâu bạch tuyết cấy mô sau 65 ngày theo dõi	23
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của giá thể đến sức sống của ngó dâu bạch tuyết sau 65 ngày theo dõi	24
Bảng 3.6. Tốc độ tăng trưởng diện tích lá và chiều cao của cây dâu bạch tuyết cấy mô	25
Bảng 3.7. Tốc độ tăng trưởng diện tích lá và chiều cao của ngó cây dâu bạch tuyết .	25
Bảng 3.8. Kết quả phân tích thành phần dinh dưỡng của giá thể trước và sau khi ủ ..	27

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1. Các tính chất vật lý của các giá thể	22
Biểu đồ 3.2. Tỷ lệ sống của cây dâu bạch tuyết cấy mô trên các giá thể	24
Biểu đồ 3.3. tỷ lệ sống của ngó dâu bạch tuyết trên các giá thể	24
Biểu đồ 3.4. Ảnh hưởng của giá thể đến diện tích lá của cây dâu bạch tuyết	26
Biểu đồ 3.5. Ảnh hưởng của giá thể đến chiều cao cây dâu bạch	26

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1. Hình ảnh các giá thể sau khi ủ	19

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

AB:	Ashby
CFU:	Colony forming unit
MRS:	Morris
NBRIP:	National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium
GT1:	Giá thể 1
GT2:	Giá thể 2
GT3:	Giá thể 3
GT4:	Giá thể 4
PGA:	Potato Glucose Agar
TCVN:	Tiêu chuẩn Việt Nam

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Tổng quan về dâu tây	4
1.1.1. Giới thiệu chung về cây dâu tây	4
1.1.2. Dâu tây bạch tuyết	5
1.1.3. Yêu cầu về điều kiện ngoại cảnh	6
1.1.4. Tình hình canh tác và sản xuất dâu tây	7
1.2. Phế phụ phẩm nông nghiệp	8
1.2.1. Khái quát chung về phế phụ phẩm nông nghiệp	8
1.2.2. Các nguồn phát sinh và thành phần dinh dưỡng phế phụ phẩm nông nghiệp	8
1.3. Các phương pháp xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp hiện nay	10
1.4. Tổng quan về giá thể	12
1.4.1. Đặc điểm chung và công dụng của giá thể	12
1.4.2. Giá thể trồng dâu tây	13
1.5. Lợi ích vi sinh vật trong giá thể	14
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	16
2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu	16
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	16
2.1.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	16
2.2. Phương pháp nghiên cứu	16
2.2.2. Phương pháp kiểm tra mật độ vi sinh vật (Nguyễn & cs., 2006).	16
2.2.3. Phương pháp kiểm tra tính chất vật lý của giá thể (Gessert, 1976)	17
2.2.4. Phương pháp theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng của cây	18
2.2.5. Phương pháp phân tích thành phần dinh dưỡng	18
2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu	18
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	19
3.1. Kết quả nghiên cứu tỷ lệ phối trộn giá thể với cơ chất trấu, tro, xơ dừa	19
3.2. Kết quả đánh giá tính chất vật lý của giá thể	21
3.3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến sức sống của cây dâu bạch tuyết	23
3.4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sinh trưởng của cây dâu bạch tuyết	25
3.5. Kết quả phân tích thành phần dinh dưỡng của giá thể	27
CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	30
4.1. Kết luận	30
4.2. Kiến nghị	30
TÀI LIỆU THAM KHẢO	31
PHỤ LỤC	39

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI

1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT GIÁ THỂ HỮU CƠ ĐỂ TRỒNG CÂY DÂU TÂY (*Fragaria* sp.)
- Sinh viên thực hiện: Nguyễn Thị Như Hà Lớp: CSK42
- Khoa: Sinh học Năm thứ: 3 Số năm đào tạo: 4
- Người hướng dẫn: ThS. Nguyễn Khoa Trường

2. Mục tiêu đề tài:

Nghiên cứu tạo giá thể hữu cơ từ nguồn phế phụ phẩm nông nghiệp (trấu, trấu hun, xơ dừa) và phối trộn các chủng vi sinh vật có lợi để chủ động trong quá trình canh tác nhằm hạn chế một số vi sinh vật gây bệnh, nâng cao giá trị kinh tế và hạn chế ô nhiễm môi trường.

3. Tính mới và sáng tạo:

Nghiên cứu xác định được tỷ lệ phối trộn của cơ chất trấu, trấu hun, xơ dừa và chế phẩm vi sinh. Từ đó, ứng dụng tạo ra giá thể hữu cơ trồng cây dâu tây Bạch Tuyết với khả năng kháng mầm bệnh, cung cấp chất dinh dưỡng cho cây, dễ dàng sử dụng, thân thiện với môi trường và dễ phân hủy.

4. Kết quả nghiên cứu:

Đề tài đã xác định được tỷ lệ phối trộn giá thể với thành phần tro: trấu: xơ dừa lần lượt là 1:1:3, kết hợp ủ với 1% các chủng vi sinh vật có lợi là phù hợp với độ xốp là 73,35%, độ thoáng khí là 35,5%, khả năng giữ nước là 37,75%, hàm lượng hữu cơ tổng số đạt 22,4% và hàm lượng carbon hữu cơ đạt 11,3%. Đánh giá về chỉ tiêu sinh trưởng cây trồng trên 04 giá thể cho thấy cây trồng trên giá thể với tỷ lệ phối trộn là 1:1:3 có ủ với 1% chế phẩm vi sinh là tốt nhất trong 04 giá thể với tỷ lệ sống của cây dâu tây cấy mô là 76,67%, tốc độ tăng trưởng trung bình về chiều cao cây là 0,16 cm/ngày, tốc độ tăng trưởng trung bình về diện tích lá là 3,43 cm²/ngày và tỷ lệ sống của nõng cây dâu tây là 96,67%, tốc độ tăng trưởng trung bình về chiều cao cây là 0,19 cm/ngày, tốc độ tăng trưởng trung bình về diện tích lá là 4,7 cm²/ngày.

5. Đóng góp về mặt kinh tế - xã hội, giáo dục và đào tạo, an ninh, quốc phòng và khả năng áp dụng của đề tài:

Kinh tế - xã hội: Việc khảo sát các thành phần tỷ lệ của các cơ chất từ đó nâng cao giá trị của phế phụ phẩm, làm đa dạng hóa thêm các sản phẩm trong việc ứng dụng làm giá thể trồng cây. Góp phần làm hạn chế ô nhiễm môi trường do phế phụ phẩm thải ra hằng năm.

6. Công bố khoa học của sinh viên từ kết quả nghiên cứu của đề tài (*ghi rõ tên tạp chí nếu có*) hoặc nhận xét, đánh giá của cơ sở đã áp dụng các kết quả nghiên cứu (*nếu có*):

Ngày 01 tháng 06 năm 2021

**Sinh viên chịu trách nhiệm chính
thực hiện đề tài**

Nguyễn Thị Như Hà

Nhận xét của người hướng dẫn về những đóng góp khoa học của sinh viên thực hiện đề tài (*phần này do người hướng dẫn ghi*):

Kết quả nghiên cứu của đề tài góp phần tận dụng nguồn phế phụ phẩm nông nghiệp để xử lý và tạo nguồn giá thể để hỗ trợ trong việc trồng một số cây trồng nói chung và làm giá thể để trồng cây dâu tây cấy mô, trồng cây dâu tây thương phẩm góp phần hạn chế ô nhiễm môi trường và tăng thu nhập cho người dân. Ngoài ra, nhóm nghiên cứu bước đầu đã chọn các công thức phối trộn cơ chất, bổ sung các chủng vi sinh vật có lợi để hỗ trợ sinh trưởng, hạn chế sử dụng phân bón hóa học và thuốc bảo vệ thực vật trong quá trình trồng cây dâu tây.

Ngày 01 tháng 06 năm 2021

Xác nhận của trường đại học
(*ký tên và đóng dấu*)

Người hướng dẫn

Nguyễn Khoa Trường

Mẫu 2. Thông tin về sinh viên chịu trách nhiệm chính thực hiện đề tài

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN VỀ SINH VIÊN
CHỊU TRÁCH NHIỆM CHÍNH THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

I. SƠ LƯỢC VỀ SINH VIÊN:

Họ và tên: Nguyễn Thị Như Hà

Sinh ngày: 03 tháng 11 năm 2000

Nơi sinh: Trạm Y tế Hải Thọ - Hải Lăng – Quảng Trị

Lớp: CSK42

Khóa: 42

Khoa: Sinh học

Địa chỉ liên hệ: 1/1 Võ Trường Toản – Phường 8 – Đà Lạt – Lâm Đồng

Điện thoại: 0356818176

Email: 1812583@dlu.edu.vn

Ảnh 4x6

II. QUÁ TRÌNH HỌC TẬP (kê khai thành tích của sinh viên từ năm thứ 1 đến năm đang học):

*** Năm thứ 1:**

Ngành học: Công nghệ sinh học

Khoa: Sinh học

Kết quả xếp loại học tập: Khá

Sơ lược thành tích:

*** Năm thứ 2:**

Ngành học: Công nghệ sinh học

Khoa: Sinh học

Kết quả xếp loại học tập: Khá

Sơ lược thành tích:

*** Năm thứ 3:**

Ngành học: Công nghệ sinh học

Khoa: Sinh học

Kết quả xếp loại học tập: Khá

Sơ lược thành tích:

Ngày 01 tháng 06 năm 2021

Xác nhận của trường đại học

(ký tên và đóng dấu)

Sinh viên chịu trách nhiệm chính

thực hiện đề tài

(ký, họ và tên)

Nguyễn Thị Như Hà

MỞ ĐẦU

Hiện nay, tại Lâm Đồng nói chung và Đà Lạt nói riêng, được biết dâu tây là một trong những đặc sản thu hút khách du lịch và mang lại giá trị kinh tế cao cho người dân. Theo Tổ chức Nông lương Liên hợp quốc, 2015 thì trên thế giới từ năm 2008 - 2011, sản lượng dâu tây chỉ có 5,98 - 6,40 triệu tấn/năm, đến năm 2015 đạt 8,09 triệu tấn và tăng lên 8,34 triệu tấn vào năm 2018. Tại Lâm Đồng theo Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Lâm Đồng (2020) thì năm 2015 diện tích dâu tây đạt 132 ha, năng suất đạt 92,3 tạ/ha và sản lượng đạt 1.218 tấn đến năm 2018 thì diện tích dâu tây đạt 184 ha, năng suất đạt 120 tạ/ha và sản lượng đạt 2,208 tấn. Qua đó, cho thấy được sản lượng dâu tây trên tỉnh vẫn còn rất thấp. Tại thành phố Đà Lạt, hiện có hai nhóm giống dâu tây được sử dụng trong hai phương thức canh tác dâu tây khác nhau là trồng ngoài trời và trong nhà màng. Tuy nhiên, cây dâu tây được trồng trên luống đất và chịu ảnh hưởng trực tiếp của nắng, mưa thêm vào đó là khí hậu nhiệt đới ôn hòa, mưa nhiều và thời tiết ẩm áp là điều kiện lý tưởng cho các loại nấm bệnh hại phát triển trên cây dâu tây (Murthy et al., 2012). Theo số liệu thống kê của Chi cục Bảo vệ thực vật Lâm Đồng (2013) thì diện tích trồng dâu tây là 87 ha trong đó cho thấy bệnh mốc xám nhiễm 14 ha, xì mủ lá nhiễm 5 ha, đốm đen nhiễm 6 ha (Phạm, 2013). Hơn thế nữa, việc trồng loại trái cây này cũng đã gặp không ít những khó khăn về kỹ thuật canh tác, chất lượng phối trộn giá thể, sự tấn công của các loại sâu bệnh làm giảm đi chất lượng dâu thương phẩm và cho năng suất kém (Trần & cs., 2020). Nhằm nâng cao chất lượng dâu thương phẩm thì việc tìm kiếm giá thể khác mang lại lợi ích và giá trị kinh tế có thể thay thế giá thể cũ đang là vấn đề được người dân và các doanh nghiệp quan tâm.

Được biết, Việt Nam là nước đứng đầu trong lĩnh vực sản xuất và xuất khẩu lúa gạo (Cục chế biến và phát triển nông sản, 2020). Bên cạnh lượng lúa gạo xuất khẩu hằng năm, lượng phế thải từ ngành này khá lớn (Học viện nông nghiệp Việt Nam, 2018). Theo số liệu thống kê năm 2015 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn và Hiệp hội Dừa Việt Nam năm 2011 cho năng suất lúa gạo cả nước ước tính đạt gần 50 triệu tấn trong đó tỷ lệ trấu khoảng 20% tức gần 10 triệu tấn (“Đốt trấu ra vàng”, 2016) và sản lượng dừa đạt 825.000 trái trong đó có đến 85% dùng dưới dạng dừa khô. Ngoài những giá trị công dụng mà phế phụ phẩm nông nghiệp mang lại của vỏ trấu này được sử dụng để đốt chiếm 25%, 7% đun nấu, 7% lót ổ gia súc, gia cầm và 11% ủ làm vi sinh thì xơ dừa cũng là phụ phẩm từ quá trình chế biến quả dừa dùng để làm giá thể trồng

cây và sử dụng rất nhiều trong nông nghiệp (Phạm & cs., 2011; Cẩm, 2011; Trần & cs., 2011). Mặt khác, vẫn còn tồn đọng 50% lượng trấu cày vùi và không sử dụng đến với thành phần chính bao gồm cellulose, hemicellulose, lignin SiO₂ (Giá thể vỏ trấu - Những tác dụng của vỏ trấu với cây trồng, 2019). Đã có một vài nghiên cứu được thực hiện và chỉ ra rằng vỏ trấu sau khi đốt yếm khí sẽ trở thành trấu hun, với thành phần chính gồm carbohydrate và kali, là hai chất giúp cải thiện đất trồng tốt, giữ ẩm cho đất, cung cấp chất dinh dưỡng cho cây. Hiện nay, việc phối trộn tạo ra các giá thể từ phế phụ phẩm để trồng cây nhằm thay thế một lượng lớn đất trồng là rất cần thiết.

Trước đó, đã có một vài nghiên cứu trong việc sử dụng các loại phế phụ phẩm để làm giá thể trồng cây như Nghiên cứu khả năng sử dụng một số loại giá thể để sản xuất rau mầm củ cải trắng an toàn, chất lượng cao theo quy mô hộ gia đình của Nguyễn Ngân Hà & cs., 2016; Nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể trồng đến sinh trưởng và năng suất của giống dâu tây Newzealand trồng trong nhà plastic tại Đà Lạt của Cao Thị Làn & cs., 2019; Effect Of Different Substrates On Nutrients Content, Yield And Quality Of Strawberry Cv of Dilmaghani et al., 2011; The effect of substrates on yield and quality of strawberry fruits cultivated in a heated foil tunnel of Wysocki et al., 2017;... Nhưng tính đến nay, vẫn chưa có một nghiên cứu nào sử dụng cả 3 loại nguồn phế phụ phẩm từ trấu, trấu hun, xơ dừa làm giá thể hữu cơ để trồng cây dâu tây.

Mặt khác, theo công bố của Maas, (1998), Pertot et al. (2004), Chong et al. (2012) đều cho thấy bệnh phấn trắng do nấm *Podosphaera aphanis* gây thiệt hại lớn, ảnh hưởng đến năng suất cũng như chất lượng và sản lượng của dâu tây thương phẩm và A Tronsmo et al. (1977) đã nghiên cứu đặc tính đối kháng của các loài *Trichoderma* đối với nấm *Botrytis cinerea* và *Mucor mucedo* (bệnh thối quả trên quả dâu tây).. Cho nên, việc bổ sung chế phẩm vi sinh từ nguồn vi sinh vật mang lại lợi ích là hướng đi tiềm năng trong việc kiểm soát sinh học các mầm bệnh bằng các vi sinh vật đối kháng tự nhiên. Chính vì vậy, việc phối trộn các phế phụ phẩm và chế phẩm vi sinh để làm giá thể trồng cây dâu tây nhằm giúp cây trồng dễ dàng hấp thu chất dinh dưỡng, kích thích khả năng sinh trưởng và kháng lại một số bệnh. Từ đó, nâng cao năng suất và chất lượng dâu thương phẩm góp phần xây dựng thị trường cây dâu tây tại Đà Lạt hướng tới nền nông nghiệp sạch, an toàn và bền vững.

Xuất phát từ những lý do trên, nhóm chúng tôi chọn đề tài “**Nghiên cứu sản xuất giá thể hữu cơ để trồng cây dâu tây**” nhằm tạo ra giá thể dâu tây đảm bảo an toàn, giá

thành rẻ, dễ dàng sử dụng; bổ sung các chủng vi sinh vật có lợi giúp cây trồng có khả năng kháng mầm bệnh, cung cấp chất dinh dưỡng cho cây, thân thiện với môi trường và dễ phân hủy.

Nội dung nghiên cứu:

1. Xác định tỷ lệ phối trộn cơ chất trấu, tro và xơ dừa trong giá thể.
2. Phân tích một số tính chất vật lý, hàm lượng hữu cơ tổng số và hàm lượng carbon hữu cơ.
3. Đánh giá chất lượng giá thể bằng phương pháp phân tích sinh trưởng cây dâu tây bạch tuyết cấy mô và ngó cây dâu tây qua các chỉ số về chiều cao, kích thước lá, số lá và diện tích lá.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về dâu tây

1.1.1. Giới thiệu chung về cây dâu tây

1.1.1.1 Nguồn gốc, phân loại dâu

Dâu tây (*Fragaria*) có nguồn gốc từ châu Mỹ và là loại cây lai ghép giữa các dạng của Bắc Mỹ và Nam Mỹ, được các nhà làm vườn châu Âu cho lai tạo giữa *Fragaria chiloensis* và *Fragaria virginiana* vào thế kỷ 18 để tạo nên giống dâu tây được trồng rộng rãi hiện nay *Fragaria x ananassa*. Dâu tây là một họ thực vật thuộc ngành hạt kín (Angiospermae), lớp hai lá mầm (Dicotyledoneae), họ hoa hồng (Rosaceae), chi *Fragariinae*.

1.1.1.2 Giá trị dinh dưỡng và ý nghĩa kinh tế của dâu tây

Dâu tây chín có màu đỏ tươi chứa 90,95% nước và 9,05% chất rắn hòa tan, trong đó có nhiều chất dinh dưỡng quan trọng bao gồm đường, các loại vitamin, khoáng chất, folate, chất xơ và rất phong phú các hợp chất polyphenol. Thể hiện ở bảng 1.1

Bảng 1.1. Giá trị dinh dưỡng của dâu tây

Các chất dinh dưỡng	Hàm lượng
Vitamin C	58,8 mg
Folate	20 µg/100g
Đường (chủ yếu là fructose và glucose)	4,89g/100g quả tươi, chiếm hơn 90%

Nguồn: US Department of Agriculture, Agriculture Research Service. (2020)

Dâu tây là cây trồng mang lại hiệu quả kinh tế cao. Tại Lâm Đồng, với năng suất dâu tây trung bình khoảng 9 - 10 tấn/ha/năm và giá trung bình 100.000 đ/kg thì lợi nhuận thu được hàng năm khoảng 400 - 700 triệu đồng/ha (Cao & cs, 2019). Do có nhiều đặc tính ưu việt về hình thái, màu sắc quả cũng như hương vị mà cây dâu tây đã và đang được đưa vào các mô hình du lịch canh nông tại Đà Lạt, Mộc Châu, Sơn La nhằm thu hút khách du lịch và mang lại lợi nhuận cao cho người dân.

Tại Đà Lạt, hiện có hai nhóm giống dâu tây được sử dụng trong hai phương thức canh tác dâu tây khác nhau là trồng ngoài trời và trong nhà màng. Theo báo cáo của Chi cục Bảo vệ Thực Vật Lâm Đồng (2014), các giống dâu tây hiện đang trồng phổ biến tại

Lâm Đồng bao gồm: giống Angelique (Mỹ Đá), giống FA (Mỹ Hương) và Mỹ lai; giống trồng trong nhà kính bao gồm giống New Zealand và một số giống nhập nội từ Nhật (Akihime) và Pháp (Mara des Boi) (Cao & cs., 2019). Trong đó, dâu Bạch Tuyết được rất nhiều người dân ưa chuộng. Tuy nhiên hiện nay giống dâu Bạch Tuyết (nội nhập từ Nhật Bản) do các vấn đề về kỹ thuật canh tác, sinh dưỡng của dâu tây nên dâu bạch tuyết chưa được trồng phổ biến tại cả nước nói chung và Đà Lạt nói riêng.

1.1.2. Dâu tây bạch tuyết

Dâu tây Bạch Tuyết hay còn gọi là dâu bạch tạng hoặc dâu tây trắng có nguồn gốc từ Nam Mỹ và đã được tạo ra cách đây 4 năm bởi ông Yasuhito Teshima, trang trại của ông ở tỉnh Saga của Nhật và là nơi duy nhất trên thế giới sản xuất ra trái cây độc đáo này. Quả căng mọng, vỏ ngoài trắng, ăn có vị ngọt, mùi thơm như dứa, đã và đang được đánh giá là loại dâu thơm ngon và hiếm nhất thế giới đã được trồng thành công tại Đà Lạt, Lâm Đồng. Mật độ trồng giống dâu bạch tuyết khoảng 45.000 - 50.000 cây/ha, thấp hơn so với những giống dâu phổ biến khác ở Đà Lạt (Báo Lâm Đồng, 2020). Nhà vườn canh tác 75 - 80 ngày, dâu bạch tuyết bắt đầu cho quả và thời gian thu hoạch có thể kéo dài 12 tháng. Nếu chăm sóc tốt, mỗi cây cho sản lượng tới 1 kg trong 12 tháng.

Đặc điểm thực vật học của dâu tây:

Dâu tây có hệ thống rễ chùm, rễ phát triển ở độ sâu 30 cm và nhạy cảm với sự thiếu hụt hoặc dư thừa nước và muối trong môi trường trồng (Ellis, MA et al., 2006). Thành phần dinh dưỡng: thân dâu tây thuộc loại cây thân thảo, sống đa niên, thân ngắn với nhiều lá mọc rất gần nhau. Chồi nách được mọc từ nách lá, tùy vào điều kiện môi trường và đặc tính ra hoa của từng giống, các chồi nách có thể phát triển thành thân nhánh, thân bò hoặc phát hoa. Lá dâu có hình dạng, cấu trúc, độ dày và lượng lông tơ thay đổi tùy theo giống. Hầu hết các giống dâu tây đều có lá kép với 3 lá chét, một số giống có lá kép với 4 hoặc 5 lá chét. Mép lá có răng cưa. Cuống lá dài, cuống lá thường có màu trắng khi lá còn non và chuyển sang màu đỏ của đất khi lá già. Bộ phận sinh sản: Hoa phân chia thành nhiều nhánh, mỗi nhánh có một hoa. Hoa có 5 cánh tràng mỏng, màu trắng, hơi tròn. Hoa lưỡng tính, có 25 - 30 nhị và 50 - 500 nhụy. Dâu tây là loài giao phấn nhưng thông qua hình thức tự thụ phấn để gia tăng tần suất các gen mong muốn và tạo ra một số loài. Quả là một loại quả giả do đế hoa phình to, quả thật nằm ở bên ngoài quả giả. Quả có hình bầu dục, quả non có màu xanh lục, khi bé, cho trái dâu

màu xanh, lúc chín chuyển dần sang màu trắng, còn mắt dâu lại có màu chấm bi đỏ. Quả dâu tây có mùi thơm, vị ngọt lẫn vị chua (Quy trình kỹ thuật trồng cây dâu tây, 2012).

Ngoài một số giá trị về dinh dưỡng mà dâu bạch tuyết mang lại thì bên cạnh đó loại dâu này còn có những giá trị về mặt dược liệu. Một loại protein liên quan đến quá trình chín được cho là thành phần chính gây ra dị ứng dâu tây được gọi là chất gây dị ứng *Fragaria A1*. Người bị dị ứng dâu tây có thể ăn dâu bạch tuyết mà không có tác dụng phụ hoặc phản ứng dị ứng nào. Mặt khác, dâu bạch tuyết có giá trị kinh tế rất cao, ở Việt Nam tùy theo kích cỡ mà giá bán lẻ sẽ dao động từ 800.000 - 1.000.000 đồng/kg, cao hơn các giống dâu đã phổ biến gần 10 lần (Báo Lâm Đồng, 2020). Bên cạnh đó, cách trồng dâu tây bạch tuyết không khác các giống dâu tây đỏ bình thường, trồng dưới đất, thùng chứa hoặc giỏ treo và sẽ cho thu hoạch vào cùng thời điểm vào khoảng tháng 6. Tuy nhiên, điều kiện trồng dâu bạch tuyết rất khó khăn nên phải được trồng trong nhà kính và thoáng mát, đồng thời giá thể trồng cây phải tơi, xốp, thoát nước tốt vì chúng rất dễ bị úng và thối rễ trong điều kiện quá ẩm ướt. Do đó, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu, đánh giá giá thể hữu cơ để trồng cây dâu bạch tuyết nhằm góp phần đưa cây dâu Bạch Tuyết đến gần với người dân hơn.

1.1.3. Yêu cầu về điều kiện ngoại cảnh

Yếu tố ngoại cảnh là một trong những điều kiện ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng cây dâu tây thương phẩm. Nhiệt độ thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cây dâu tây từ 18 - 22°C. Cây dâu tây yêu cầu ánh sáng đầy đủ với sự thông khí tốt ở xung quanh và dưới lá. Cây quang hợp tốt ở cường độ ánh sáng khoảng 800 - 1.200 mol/m²/s; cường độ ánh sáng dưới 700 mmol/cm²/s quang hợp bắt đầu giảm nhanh chóng (Morgan, 2003). Độ ẩm cần thiết cho sự phát triển của cây dâu tây nằm trong khoảng 65 - 75% , ẩm độ không khí cao và mưa kéo dài thường gây bệnh cho cây. Dâu tây sinh trưởng, phát triển tốt trên môi trường có tính chua nhẹ, có pH trong phạm vi 5,5 - 6,0. Nếu pH của môi trường trồng lớn hơn 8 có thể ảnh hưởng đến sự hấp thu chất dinh dưỡng của dâu tây, đặc biệt là sắt. (Sở nông nghiệp và phát triển nông thôn Lâm Đồng, 2012. Quy trình kỹ thuật trồng cây dâu tây). Vì vậy chúng tôi thực hiện đánh giá sinh trưởng của cây dâu trên giá thể trong điều kiện nhà màng tại Đà Lạt.

1.1.4. Tình hình canh tác và sản xuất dâu tây

1.1.4.1. Tình hình sản xuất dâu tây trên thế giới

Dâu tây là một trong những loại trái cây được ưa chuộng và trồng rộng rãi trên thế giới. Theo thống kê của FAO, trên thế giới có khoảng hơn 40 quốc gia sản xuất dâu tây. Trong thời gian 10 năm từ 2008 đến 2018, sản lượng dâu tây trên thế giới có xu hướng tăng dần. Từ 2008 - 2011, sản lượng dâu tây biến động không nhiều trong phạm vi từ 5,98 - 6,40 triệu tấn/năm. Sau đó sản lượng dâu tây tăng nhanh, đến năm 2015 đạt 8,09 triệu tấn và tăng nhẹ lên 8,34 triệu tấn vào năm 2018. Trên thế giới, Trung Quốc là nước sản xuất dâu tây lớn nhất, chiếm 28 - 35% sản lượng dâu tây của toàn thế giới. Kế tiếp là Mỹ, sản lượng dâu tây chiếm 17 - 21% sản lượng dâu tây của toàn thế giới. Các nước sản xuất dâu tây lớn khác là Mexico, Thổ Nhĩ Kỳ, Ai Cập và Tây Ban Nha, sản lượng dâu tây của mỗi nước chỉ chiếm khoảng 3 - 5% sản lượng dâu tây của toàn thế giới (Tổ chức Nông lương Liên hợp quốc, 2015). Vì vậy, dâu tây là loại cây có tiềm năng kinh tế lớn.

1.1.4.2. Tình hình sản xuất dâu tây tại Lâm Đồng Việt Nam

Được biết, dâu tây là đặc sản của thành phố sương mù Đà Lạt. Theo Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Lâm Đồng cho biết, diện tích trồng dâu tây 9 tháng đầu năm 2011 là 114 ha. Diện tích dâu tây đã giảm đến mức thấp nhất vào năm 2012, chỉ còn khoảng 70 ha. Sau khi thay đổi tập quán canh tác tự nhiên sang canh tác có bảo vệ bằng cách trồng trong nhà màng, trồng trên giá thể và sử dụng hệ thống tưới nhỏ giọt cũng như thay đổi giống nên diện tích dâu tây đã tăng dần. Năm 2015 diện tích dâu tây đạt 132 ha, năng suất đạt 92,3 tạ/ha và sản lượng đạt 1.218 tấn. Từ năm 2015 đến năm 2017, sản xuất dâu tây tại Lâm Đồng không có sự thay đổi nhiều nhưng đến năm 2018 có sự nhảy vọt đáng kể. Sau 5 năm diện tích dâu tây đã tăng 44 %, năng suất dâu tây đã tăng 35% và sản lượng tăng gần gấp đôi (95%). Tuy nhiên, do áp lực của các loại sâu bệnh, đặc biệt là bệnh thối đen rễ gây chết hàng loạt, bệnh đốm lá đỏ, thối quả tấn công nên cây dâu ra hoa nhưng không đậu quả hoặc tỉ lệ đậu quả thấp nên diện tích dâu tây giảm đáng kể (Trung tâm khuyến nông tỉnh Lâm Đồng, 2020). Do vậy, nhằm khắc phục được tình trạng trên thì việc tạo ra một loại giá thể mới trong việc trồng cây dâu tây là một hướng đi tiềm năng giúp nâng cao năng suất và tăng giá trị kinh tế cho người dân Đà Lạt.

1.2. Phế phụ phẩm nông nghiệp

1.2.1. Khái quát chung về phế phụ phẩm nông nghiệp

Phế phụ phẩm nông nghiệp được định nghĩa là những chất thải phát sinh từ quá trình sản xuất nông nghiệp hoặc chế biến nông sản. Các phế phụ phẩm nông nghiệp thường thấy là rơm rạ, vỏ trấu, mùn cưa, xơ dừa, bã mía, cùi ngô, bẹ ngô, dây đậu, vỏ quả,... Đây là nguồn nguyên liệu tồn tại và không thể tách rời khỏi nông nghiệp. Khi lượng sản phẩm nông nghiệp gia tăng thì lượng phế phụ phẩm cũng tăng theo.

Bản chất của phế phụ phẩm nông nghiệp là thực vật nên thành phần chính của chúng gồm nhóm hợp chất hữu cơ chứa carbon là cellulose, hemicellulose, lignin, tinh bột và nhóm hợp chất chứa nitơ là protein và kitin. Trong số đó, cellulose là phần tử chiếm tỉ lệ cao nhất, kết hợp chặt chẽ với hemicellulose, lignin và pectin tạo nên cấu trúc bền vững của tế bào thực vật. Hàm lượng cellulose thay đổi khác nhau giữa các chất: 64% trong giấy, 31% trong trấu (Nguyễn, 2010).

1.2.2. Các nguồn phát sinh và thành phần dinh dưỡng phế phụ phẩm nông nghiệp

1.2.2.1. Các nguồn phát sinh phế phụ phẩm nông nghiệp

Việt Nam là nước đứng đầu trong lĩnh vực sản xuất và xuất khẩu lúa gạo (Cục chế biến và phát triển nông sản, 2020). Bên cạnh lượng lúa gạo xuất khẩu hằng năm, lượng phế thải từ ngành này khá lớn (Học viện nông nghiệp Việt Nam, 2018). Theo số liệu thống kê năm 2015 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn năng suất lúa gạo cả nước ước tính đạt gần 50 triệu tấn trong đó tỷ lệ trấu khoảng 20% tức gần 10 triệu tấn (“Đốt trấu ra vàng”, 2016). Lượng vỏ trấu này được sử dụng để đốt chiếm 25%, 7% đun nấu, 7% lót ổ gia súc, gia cầm và 11% ủ làm vi sinh và còn lại 50 % hầu như không sử dụng đến (Phạm & cs., 2011). Tại đồng bằng sông Cửu Long, các nhà máy xay xát đồ trấu xuống sông, rạch; vỏ trấu trôi đi khắp nơi, chìm xuống đáy, gây ô nhiễm nguồn nước và ảnh hưởng đến đời sống sinh hoạt của người dân. Do ít có giá trị kinh tế cũng như giá trị sử dụng nên vỏ trấu được coi như một loại phế thải nông nghiệp và là một trong những yếu tố gây ô nhiễm môi trường (Học viện nông nghiệp Việt Nam, 2018). Mặt khác, theo Hiệp hội Dừa Việt Nam, năm 2010, sản lượng dừa trái cả nước đạt trên 818.000 trái, ước tính năm 2011 là 825.000 trái, có khoảng 15% số trái dừa tiêu thụ dạng dừa tươi, 20% dưới dạng dừa lột vỏ, 65% được chế biến thành các sản phẩm có giá trị cao như cơm dừa nạo sấy, bột sữa dừa, dầu dừa...(Cầm, 2011). Trong đó, xơ dừa và mụn dừa là phụ phẩm từ quá trình chế biến quả dừa và chưa được tận dụng triệt để (Trần

& cs., 2011). Như vậy, với số lượng phế phụ phẩm từ lúa và dừa ngày càng tăng mà việc sử dụng chúng vẫn chưa phát huy được hiệu quả nên việc tận dụng nó để làm các sản phẩm có giá trị hơn vừa giúp hạn chế được sự ô nhiễm môi trường vừa giải quyết được lượng phế phụ phẩm thải ra hằng năm.

1.2.2.2. Những dinh dưỡng từ nguồn phế phụ phẩm

Dinh dưỡng trong phế phụ phẩm nông nghiệp có giá trị khá cao (45,9 – 65,5% tổng chất dinh dưỡng) và có khả năng cung cấp một lượng calo lớn với 1.662 - 2.549 kcal/kg chất khô (Trung tâm Thông tin và Thống kê Khoa học và Công nghệ, 2019). Nếu ứng dụng có hiệu quả các công nghệ mới để khai thác nguồn dinh dưỡng trên thì phế phụ phẩm sẽ đem lại giá trị lớn cho chăn nuôi và tăng đáng kể nguồn dinh dưỡng đất, góp phần tăng năng suất cây trồng. Thể hiện ở bảng sau:

Bảng 1.2. Thành phần dinh dưỡng một số phế phụ phẩm

Các phế phụ phẩm	Thành phần dinh dưỡng	Hàm lượng (%)
Trấu	Cellulose	35 - 40
	Lignin	25 - 30
	Thành phần khác:	
	- Nitơ - Photpho - Silic	1.7 - 7.4 0,4 - 3 20
Trấu hun (tro)	SiO ₂	86,9 - 97,3
	K ₂ O	0,6 - 2,5
	Na ₂ O	0,3 - 1,8
	CaO	0,2 - 1,5
	MgO	0,1 - 2
	Fe ₂ O ₃	0,2 - 0,9

	P ₂ O ₅	0,2 - 2,9
	SO ₃	0,1 - 1,1
	Cl ⁻	0,1 - 1,4
Xơ dừa	Tỷ lệ C : N	8 : 1
	Cellulose	20 - 30
	Lignin	60 - 70
	Độ xốp	10 - 12
	Chất hữu cơ	9,4 - 9,8
	Tổng lượng tro	3 - 6
	Tanin	8 - 8,5
	EC	0,8 dS/m

Nguồn: Trấu (Nguyễn, 2012; Trần & Nguyễn, 2010; Lê & cs, 2010).

Trấu hun (Lê và cs., 2010).

Xơ dừa (Jos van der Knaap, 2015).

1.3. Các phương pháp xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp hiện nay

Khi xem xét đến cách xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp ta sẽ thấy còn nhiều vấn đề tồn đọng. Tại một số nước đang phát triển, mức độ nghèo đói cao, thiếu hiểu biết cùng sơ suất là nguyên nhân góp phần ô nhiễm môi trường thông qua xử lý chất thải bừa bãi (Ososanya, 2012).

Hiện nay, nhiều công nghệ đã được ứng dụng trên thế giới và cả Việt Nam nhằm xử lý chất thải trồng trọt, sản xuất phân bón hữu cơ, chất đốt theo hướng ít phát thải, ngăn chặn ô nhiễm môi trường. Trên thế giới, theo nghiên cứu của Hedges et al. (2000) đã sử dụng phương pháp nhiệt phân để sản xuất than sinh học từ phế phụ phẩm trồng trọt, nông sản, chất thải động vật trong chăn nuôi, rác thải hữu cơ. Tại Ấn Độ, Mỹ, công nghệ compost đã được ứng dụng để xử lý phụ phẩm trồng trọt thành phân bón hữu cơ. Cụ thể kỹ thuật ủ nhanh đã được các quốc gia này áp dụng để chất thải trồng trọt để đảm bảo chất lượng phân ủ và rút ngắn thời gian ủ cũng như hạn chế tối đa các ảnh hưởng

không tích cực của quá trình chế biến phân ủ đến môi trường. Ở Châu Âu, Châu Á đã tái sử dụng phụ phẩm để trồng nấm mỡ, nấm hương, mộc nhĩ (Trung tâm Thông tin và Thống kê Khoa học và Công nghệ, 2019). Một hướng nghiên cứu mới là tận dụng nguồn phế phẩm nông nghiệp để sản xuất nhiên liệu sinh học như ethanol nhờ vào khả năng thủy phân lignocellulose của một số vi sinh vật.

Ở Việt Nam, vỏ trấu được xử lý bằng nhiều cách thức khác nhau: vỏ trấu sử dụng làm chất đốt, chất đốt từ vỏ trấu được sử dụng rất nhiều trong cả sinh hoạt và sản xuất nhờ có những ưu điểm: trấu có khả năng cháy và sinh nhiệt tốt do thành phần có 75% là chất xơ, cứ 1kg trấu khi đốt sinh ra 3.400 Kcal. Vỏ trấu sau khi xay xát luôn ở dạng khô, có hình dáng nhỏ và rời, tơi xốp, nhẹ, vận chuyển dễ. Chính vì những lí do trên mà trấu được sử dụng làm chất đốt rất phổ biến (Trần & Nguyễn, 2010). Vỏ trấu còn được sử dụng làm đồ mỹ nghệ tạo ra các sản phẩm mỹ nghệ nội thất được tạo ra từ vỏ trấu bằng cách nghiền vỏ trấu thành bột dưới dạng mịn và bột sợi (Vũ, 2008). Aerogel từ vỏ trấu - sản phẩm công nghệ cao, aerogel là mặt hàng có giá trị cao được sản xuất từ loại tro tinh sạch (Đỗ, 2009).

Bên cạnh đó, hiện nay có rất nhiều sản phẩm từ xơ dừa được ứng dụng trong cuộc sống. Xơ dừa thông thường được sử dụng làm dây thừng và thảm tuy nhiên do sự phát triển trong thời gian gần đây mà xơ dừa có rất nhiều ứng dụng. Như ứng dụng xơ dừa và trấu vào công nghệ sản xuất tấm vách ngăn tường không nung. Việc nghiên cứu có thể tận dụng nguồn vật liệu có sẵn giảm bớt sử dụng nguồn nguyên liệu như đất sét nguồn nguyên liệu đang giảm thiểu và bảo vệ môi trường (Đào & cs., 2015). Trong ngành thủ công mỹ nghệ, xơ dừa chính là dòng nguyên liệu thứ yếu quan trọng để giúp người dân dệt ra những tấm thảm trải sàn, thảm lót chân, hay túi xách, mũ nón...với nhiều mẫu mã đẹp, thuần khiết.

Với nguồn phế phụ phẩm nông nghiệp rất lớn từ nền nông nghiệp truyền thống lâu đời, các sản phẩm ứng dụng đã không tận dụng hết các nguồn nguyên liệu này. Vì vậy, phần lớn lượng xơ dừa và vỏ trấu được thải ra ngoài gây ô nhiễm môi trường. Do đó, rất nhiều nghiên cứu trong nước được thực hiện để xử lý nguồn phế phẩm nông nghiệp như là để cải thiện một số thuộc tính tính hóa học và vật lý không mong muốn của mụn xơ dừa Awang et al., (2009) đã nghiên cứu bổ sung than trấu vào giá thể mụn xơ dừa hay nghiên cứu của Calderón et al., (2001) cho biết vỏ trấu thường được sử dụng cho trồng thủy canh ở Nam Mỹ... (Tạp chí Khoa Học Công Nghệ Nông Nghiệp Việt

Nam, 2019). Việc nghiên cứu sử dụng nguồn phụ phẩm nông nghiệp này phối trộn với nhau để làm giá thể trồng dâu tây vừa giải quyết được vấn đề ô nhiễm môi trường, vừa kiểm soát được dịch chết hàng loạt dâu tây trên đồng ruộng góp phần mở rộng và phục hồi lại diện tích trồng dâu tây tại Đà Lạt (Cao & cs., 2019).

1.4. Tổng quan về giá thể

1.4.1. Đặc điểm chung và công dụng của giá thể

Giá thể là một loại vật liệu tự nhiên hoặc nhân tạo dùng làm nơi cho rễ cây bám và hấp thu dinh dưỡng do người trồng cung cấp. Dung dịch dinh dưỡng chứa đầy đủ các nguyên tố đa lượng, trung lượng và vi lượng cần thiết cho cây trồng. Vì thế, giá thể phải không chứa dinh dưỡng hoặc nếu có thì rất ít ở nồng độ gần như không gây xáo trộn môi trường dinh dưỡng đã được tính toán cho cây. Để giúp bộ rễ có môi trường hoạt động tốt, giá thể cần có khả năng hấp thu, giữ nước (dung dịch dinh dưỡng) để cung cấp cho cây, nhưng cũng cần có độ thoáng nhất định để rễ cây hô hấp. Giá thể cần có pH trung tính, EC thấp, không chứa các chất gây hại cây và mầm mống sâu bệnh. Giá thể cũng cần nhẹ, bền, có thể xử lý dùng lại một số lần (Pardossi et al., 2011).

Giá thể được chia thành làm hai loại:

Một là giá thể hữu cơ tự nhiên, bao gồm các loại giá thể như than bùn (được tạo thành từ xác loài thực vật khác nhau do quá trình thủy phân yếm khí). Mùn cưa (thành phần chủ yếu của mùn cưa là xenlulozo dễ phân hủy). Vỏ cây (vỏ cây tươi chứa tanin, giữ ẩm kém nên 2 – 3 tuần đầu cây sinh trưởng kém). Xơ dừa (thành phần: chủ yếu là xenlulo chiếm 80%, ngoài ra lignin chiếm 18% và các hợp chất khác như tannin...). Trấu hun (thành phần chính của trấu hun là các chất như kali, silicat và các loại muối khoáng vi lượng).

Hai là giá thể nhân tạo, bao gồm: cát sỏi (dùng cát có độ lớn hạt cát từ 0,1 – 0,2 mm. Sỏi có độ lớn từ 1 – 5 cm). Giá thể hữu cơ tổng hợp (là những chất hữu cơ nhân tạo như polystyrene xopps, bột urea formaldehyde, chất bột có gốc Phenol ở dạng hạt). Perlite (có khả năng tiêu nước, thông thoáng tốt, ổn định về tính chất vật lý, có tính trơ hóa học. Thành phần 76% là Al, một phần Al được giải phóng ra ngoài làm pH giảm) (Cù, 2020).

Hiện nay, nhiều vật liệu đã được sử dụng làm giá thể trồng do có khả năng giữ ẩm, độ thoáng khí, thoát nước hoặc thẩm hút và khả năng tái sử dụng (Bilderback et al., 2005; Mastouri et al., 2005; Olle et al., 2012). Và xu hướng sử dụng ruột bầu bằng giá

thể hữu cơ để sản xuất cây giống ngày càng phổ biến, phương pháp này được dung nhiều ở các nước châu Mỹ như Hoa Kỳ, Canada và một số nước ở Châu Á như Ấn Độ, Malaixia, Trung Quốc (Toshiaki, 2007). Theo đó, các vật liệu hữu cơ sẵn có như lá khô, mùn cưa, xơ dừa... được sử dụng thay vật liệu truyền thống là đất để làm giá thể trồng cây. Vỏ trấu có đặc tính nhẹ, xốp, kích thước hạt lớn, thoát nước tốt đã được Evan (2007) sử dụng để cải thiện sự thoát nước và thoáng khí của giá thể. Theo các nghiên cứu của Papafotiou et al. (2001) đã nghiên cứu sử dụng vỏ trấu làm giá thể trồng cây cảnh; Evans & Gachukia (2004), Calderón & Cevallos (2001) báo cáo rằng vỏ trấu thường được sử dụng cho trồng trọt thủy canh ở Nam Mỹ; Handreck (1993) đã nghiên cứu tính chất của mụn xơ dừa và cách sử dụng mụn xơ dừa làm giá thể trồng chậu; Abad et al. (2002) thu thập 13 mẫu mụn xơ dừa từ châu Á, châu Mỹ và châu Phi để đánh giá, lựa chọn thay thế cho than bùn; Tehranifar et al. (2007), Prasad (1997) đã nghiên cứu sử dụng mụn xơ dừa làm giá thể trồng cây.

1.4.2 Giá thể trồng dâu tây

Hiện nay, có rất nhiều giá thể được sử dụng trong việc trồng dâu tây trong đó giá thể xơ dừa cũng là loại chất hữu cơ dễ phân hủy, sẽ mất đi và chúng ta cần thay thế trong 6 - 8 tháng sử dụng. Nó cũng là thức ăn cho vi sinh vật, nên nó cũng tạo ra môi trường có lợi cho các vi nấm, vi khuẩn gây bệnh cho đường rễ phát triển. Để khắc phục nhược điểm của giá thể xơ dừa thì giá thể xơ dừa - đá trân châu: Với tỉ lệ Trân châu từ 10 - 30% trộn với xơ dừa nhằm tạo độ thông thoáng cho môi trường trong vùng rễ vừa giảm nguy cơ chết cây do úng nước vừa hỗ trợ giữ nước tạo độ ẩm thích hợp cho vùng rễ khi lượng nước không đủ. Hoặc có thể thay thế bằng giá thể perlite trân châu: Đá Perlite không bị phân hủy nên không tạo ra môi trường cho các loại vi sinh vật gây bệnh cho cây, vì thế có thể giảm các bệnh đường rễ cho cây. Giá thể xơ dừa với trấu: Trộn xơ dừa, trấu hun, đất màu theo tỉ lệ 2:1:1 rồi ủ trong vòng từ 2 - 7 ngày, giá thể này có công dụng làm cải thiện độ pH cho đất, tăng độ thoáng khí, tăng khả năng thoát nước nhờ trấu và giữ độ ẩm thích hợp cho đất nhờ xơ dừa (Giá thể trồng dâu tây thủy canh và những điều cần biết, 2019).

1.4.2.1 Một số nghiên cứu giá thể trồng cây dâu tây

Tại Azarbaijan, nghiên cứu của Dilmaghani et al. (2011) đã phối trộn giá thể từ perlite với mụn xơ dừa theo tỷ lệ 75:25 và 50:50 rất thích hợp cho cây dâu tây sinh trưởng và phát triển. Nghiên cứu phối trộn than bùn với mụn xơ dừa (50:50) và than bùn

với xơ dừa (80:20) làm giá thể trồng dâu tây. Và theo Wysocki et al. (2017) đã nghiên cứu về năng suất và một số thông số chất lượng quả dâu tây cao hơn khi trồng trên giá thể than bùn- mụn xơ dừa (50:50), riêng hàm lượng vitamin C trong quả dâu tây cao hơn khi trồng trên giá thể than bùn - xơ dừa (80:20).

Kết quả nghiên cứu của Jansen (1996) đã chỉ ra cây dâu tây sinh trưởng và phát triển rất tốt trên giá thể than bùn; giá thể có bổ sung than bùn cho năng suất dâu tây cao hơn so với giá thể không chứa than bùn (Tehranifar et al., 2006); giá thể có tỷ lệ phối trộn 20% than bùn với 80% perlite cho năng suất dâu tây cao nhất so với các tỷ lệ phối trộn khác (Linardakis & Manios, 1991).

Tại Italia, theo Altieri et al. (2010) đã nghiên cứu sử dụng bã dầu oliu phối hợp với than bùn để làm giá thể trồng dâu tây; Melgarejo et al. (2017) đã nghiên cứu sử dụng thành công đá trầm tích làm giá thể trồng dâu tây thay thế cho than bùn ngày càng khan hiếm tại Tây Ban Nha.

Tại Việt Nam, các công trình công bố về nghiên cứu giá thể trồng cây chưa nhiều, chủ yếu các nghiên cứu tập trung trên cây rau và hoa. Nghiên cứu phối trộn than bùn với mụn xơ dừa với các tỷ lệ (v/v) khác nhau làm giá thể trồng rau tại Đà Lạt, đã xác định giá thể có tỷ lệ 2 than bùn : 1 mụn xơ dừa phù hợp cho cây rau xà lách, dưa leo và giá thể có tỷ lệ 1 than bùn : 1 mụn xơ dừa phù hợp cho cây cà chua (Cao & cs., 2011).

1.5. Lợi ích vi sinh vật trong giá thể

Một trong những hướng đi tiềm năng có nhiều triển vọng, hướng tới nền nông nghiệp sạch, an toàn và bền vững là kiểm soát sinh học các mầm bệnh bằng các vi sinh vật đối kháng tự nhiên. Cụ thể như vi khuẩn *Bacillus subtilis* với khả năng sinh tổng hợp IAA giúp kích thích sinh trưởng và khả năng kháng một số bệnh liên quan đến nấm đã có nghiên cứu của Trần Kim Điệp & cs. (2020) đã khảo sát đánh giá khả năng đối kháng và ức chế sự phát triển nấm *Podosphaera aphanis* gây bệnh phấn trắng trên dâu tây của một số chủng *Bacillus subtilis* trong điều kiện in-vitro. Đặc biệt, được biết đến nấm *Trichoderma* sp. gồm nhiều loài có ích đã được nghiên cứu và sử dụng rộng rãi trong trồng trọt ở nhiều quốc gia. Là loài nấm phân bố rộng trên nhiều vùng địa lý, sinh thái khác nhau, có nhiều tác động trên hệ sinh vật, thảm thực vật đất và đất trồng do đặc điểm là loài nấm đối kháng với các loài sinh vật gây hại quan trọng như *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* sp.,... gây bệnh thối rễ, chết yếu, héo rũ, những loài vi khuẩn và tuyến trùng cho cây trồng trong đất bằng cách ký sinh hoặc tiết

các kháng sinh, enzyme để ức chế hoặc phân hủy vi sinh vật đối kháng. Cơ chế hoạt động của nấm *Trichoderma* sp. là tiết ra một enzyme làm tan vách tế bào của các loài nấm hại, sau đó tấn công vào bên trong và tiêu diệt chúng bảo vệ cây trồng. Theo Nguyễn & cs. (2018), nấm *Trichoderma* sp. làm giảm hoàn toàn tỷ lệ bệnh chết héo do nấm *Phytophthora* spp. gây ra và làm cho cây dâu tây sinh trưởng tốt hơn. Theo Tronsmo & Dennis (1977) đã nghiên cứu đặc tính đối kháng của các loài *Trichoderma* đối với nấm *Botrytis cinerea* và *Mucor mucedo* (bệnh thối quả trên quả dâu tây). Ngoài ra, còn có vi khuẩn cố định đạm làm phân sinh học cũng đã và đang được nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi trên nhiều loại cây trồng. Mối quan hệ giữa vi khuẩn vùng rễ (*rhizobacteria*) với cây trồng đã mang đến nhiều lợi ích đặc biệt là kích thích sự tăng trưởng. Chính vùng rễ là nơi xuất phát của nhiều vi khuẩn cố định đạm và thân thực vật để sống nội sinh như: *Acetobacter*, *Gluconacetobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, và *Pseudomonas* (Weller & Thomashow, 1994). Vi sinh vật phân giải lân, vi sinh vật chuyển hóa lân là các vi sinh vật có khả năng chuyển hóa hợp chất photpho khó tan thành dạng dễ tiêu cho cây trồng sử dụng. Các vi sinh vật phân giải hợp chất photpho khó tan được biết đến nay là các loại: *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Penicillium*, *Sclerotium*, *Aspergillus*. Các vi sinh vật này không chỉ phân giải photphat canxi mà cả photphat nhôm, sắt, mangan và các dạng khác kể cả quặng. Vi sinh vật không những chuyển hóa photphat vô cơ, mà còn có khả năng khoáng hóa các hợp chất phân hữu cơ tạo ra sản phẩm mà cây trồng có thể hấp thu được (Gaur, 1992; Richardson, 2001). Vì thế, việc bổ sung chế phẩm vi sinh giúp cây trồng dễ dàng hấp thu chất dinh dưỡng, kháng lại một số bệnh, kích thích khả năng sinh trưởng và năng suất cho cây trồng.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Giá thể hữu cơ để trồng cây dâu tây với các tỷ lệ phối trộn từ một số phế phụ phẩm nông nghiệp và các chủng vi sinh vật.

2.1.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm Công nghệ Vi sinh và khu sản xuất thử nghiệm A12, khoa Sinh học, trường Đại học Đà Lạt;

Thời gian nghiên cứu: tháng 11 năm 2020 đến tháng 05 năm 2021.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xác định tỷ lệ phối trộn cơ chất phù hợp (Nguyễn, 2016; Nguyễn & cs., 2014; Nguyễn & cs., 2006).

Tiến hành phối trộn các cơ chất là trấu, tro và xơ dừa theo các tỷ lệ:

Giá thể 1 (GT1): tỷ lệ 1:1:3 và bổ sung 1% các chủng vi sinh vật có lợi.

Giá thể 2 (GT2): tỷ lệ 1:1:4 và bổ sung 1% các chủng vi sinh vật có lợi.

Giá thể 3 (GT3): tỷ lệ 1:1:3 và không bổ sung các chủng vi sinh vật có lợi.

Giá thể 4 (GT4): tỷ lệ 0:0:1 và không bổ sung các chủng vi sinh vật có lợi.

Đối với giá thể 1 và giá thể 2, ủ với 1% chế phẩm vi sinh (gồm 4 chủng *Rhizobium leguminosarum*, *Burkholderia ambifaria*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp. với tỷ lệ 1:1:1:1) ở ngoài trời trong 15 ngày. Kiểm tra mật độ vi sinh vật có trong chế phẩm tại các thời điểm 5 ngày, 10 ngày, 15 ngày sau ủ.

Phân tích độ xốp, độ thoáng khí, khả năng giữ nước, hàm lượng carbon hữu cơ và hữu cơ tổng số của các giá thể này.

2.2.1. Phương pháp thu mẫu

Mẫu được thu bằng cách đảo trộn đều mẫu, sau đó lấy mẫu tại 5 điểm ngẫu nhiên theo chiều sâu và chiều rộng của đồng ủ mẫu, bảo quản trong túi polyetylen.

2.2.2. Phương pháp kiểm tra mật độ vi sinh vật (Nguyễn & cs., 2006).

Kiểm tra mật độ vi sinh vật bằng phương pháp định lượng gián tiếp.

Cân 10g giá thể cho vào bình chứa 90 mL nước muối sinh lý 0,85 % vô trùng. Lắc đều từ 10 – 20 phút. Pha loãng đến nồng độ thích hợp. Dùng micropipet hút 0,1 mL dung dịch sau pha loãng ở ba nồng độ pha loãng liên tiếp vào các đĩa petri chứa sẵn môi trường tương ứng cho các chủng vi sinh vật đã chuẩn bị từ trước. Dùng que cấy trải thủy

trái đều dịch lên bề mặt thạch. Sau đó đem các đĩa này nuôi trong tủ ẩm trong 2 – 3 ngày ở điều kiện nhiệt độ thích hợp cho từng chủng vi sinh vật phát triển. Kiểm tra mật độ của các chủng *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp., *Rhizobium leguminosarum*, *Burkholderia ambifaria* sau thời gian nuôi.

Môi trường dùng để kiểm tra các chủng *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp., *Rhizobium leguminosarum*, *Burkholderia ambifaria* lần lượt là MRS, PGA, AB, NBRIP. Quan sát đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào nấm mốc dựa theo mô tả của Đặng Vũ Hồng Miên năm 2015 và phân loại vi khuẩn theo khoá phân loại Bergey's (Holt et al., 1993).

2.2.3. Phương pháp kiểm tra tính chất vật lý của giá thể (Gessert, 1976)

Các tính chất vật lý của giá thể: Độ xốp, độ thoáng khí và khả năng giữ nước của giá thể được xác định theo phương pháp của Gessert (1976).

Dùng băng keo dán kín các lỗ thoát nước phía dưới đáy chậu trồng cây. Dùng thước đo từ miệng chậu xuống 1 cm sau đó dùng bút vạch dấu 4 điểm đối diện nhau trên thành chậu. Đổ nước vào chậu đến đúng vạch dấu. Đổ nước từ chậu vào cốc đo để tính thể tích của chậu trồng, ký hiệu (W1).

Tiếp theo, lau khô bên trong chậu, không tháo băng dán. Đổ giá thể khô vào chậu đến đúng vạch dấu. Chú ý cách cho giá thể vào chậu giống như khi chuẩn bị chậu giá thể để trồng cây. Làm ướt giá thể trong chậu bằng cách sử dụng cốc đong và đổ từ từ lượng nước vào chậu.

Khi một màng mỏng nước tự do xuất hiện ở vạch dấu - nghĩa là khi giá thể bão hòa nước - thì dừng lại. Một số giá thể khó thấm nước có thể mất nhiều thời gian (30 - 60 phút) để giá thể ngấm nước bão hòa. Tổng lượng nước được đã đổ vào chậu giá thể ký hiệu là W2. Khi giá thể đã được bão hòa hoàn toàn, tháo các băng dán dưới đáy chậu và hứng toàn bộ lượng nước thoát ra. Đo lượng nước thoát ra được ký hiệu là W3.

Khi đó công thức tính về tính chất vật lý của giá thể được tính như sau:

$$\text{Độ xốp của giá thể (\%)} = W2/W1 \times 100$$

$$\text{Độ thoáng khí (\%)} = (W2 - W3)/W1 \times 100$$

$$\text{Khả năng giữ nước (\%)} = \text{Độ xốp (\%)} - \text{Độ thoáng khí (\%)}$$

2.2.4. Phương pháp theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng của cây

2.2.4.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Chọn các cây dâu tây cấy mô và ngó dâu tây khỏe mạnh, không sâu bệnh, có kích thước tương đối đồng đều về số lá và chiều dài lá. Tiến hành đánh giá tốc độ sinh trưởng của cây dâu tây bằng cách trồng thử nghiệm cây dâu tây trên 4 loại giá thể (GT1, GT2, GT3, GT4) để chọn ra loại giá thể trồng dâu phù hợp.

Mỗi loại giá thể trồng 10 cây dâu bạch tuyết cấy mô và 10 ngó dâu bạch tuyết vào từng chậu có kích thước 15 x 12 cm. Kế hoạch chăm sóc được thực hiện đồng bộ, trong các lô thử nghiệm, tưới nước 3 - 4 ngày/ lần, lượng nước với từng cây mô 100 mL và từng cây ngó 200 mL. Bổ sung chế phẩm vi sinh 1 tuần/lần, tùy thuộc thời tiết và giai đoạn sinh trưởng của cây để tăng hay giảm liều lượng nước tưới cho phù hợp. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Theo dõi và ghi nhận sinh trưởng của cây về chiều cao cây và diện tích lá (theo dõi số lá, kích thước lá).

2.2.4.2. Phương pháp theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng của cây dâu bạch tuyết (Cao & cs., 2019).

Các chỉ tiêu sinh trưởng của cây được theo dõi trên cây tại các thời điểm 5 ngày/lần đo sau trồng.

Số lá/cây: Tính từ lá non có cuống lá và phiến lá đã mở.

Kích thước lá: Đo chiều dài, chiều rộng phiến lá giữa của lá lớn nhất của cây.

Diện tích lá = chiều dài × chiều rộng × 3 × số lá/cây × 0,7 (Demirsoy et al., 2005; Cao và cộng sự, 2019).

Chiều cao cây: Đo từ gốc đến ngọn cây (Nguyễn & Nguyễn, 2019)

2.2.5. Phương pháp phân tích thành phần dinh dưỡng

Hàm lượng hữu cơ tổng số được phân tích theo TCVN 8561:2010.

Hàm lượng cacbon hữu cơ được phân tích theo TCVN 5987:1995.

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu về mật độ được xử lý trên phần mềm Microsoft Excel bằng công cụ Data Analysis.

Xử lý ý nghĩa thống kê bằng phép thử Tuskey trên phần mềm **R**.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu tỷ lệ phối trộn giá thể với cơ chất trấu, tro, xơ dừa

Sau quá trình bố trí thí nghiệm, tiến hành đánh giá cảm quan giá thể sau khi ủ, kết quả được thể hiện tại bảng 3.1 và hình 1.

Bảng 3.1. Đánh giá cảm quan của các loại giá thể sau khi ủ

Giá thể	Đánh giá cảm quan
Giá thể 1 (GT1)	Giá thể toi xốp, màu chuyển sang nâu đen, mùi thơm của giá thể đang chuyển hoá.
Giá thể 2 (GT2)	Giá thể toi xốp, màu chuyển sang nâu đen, mùi thơm của giá thể đang chuyển hoá.
Giá thể 3 (GT3)	Giá thể toi xốp, màu vàng, mùi của cơ chất chưa chuyển hoá.
Giá thể 4 (GT4)	Giá thể bị nén, không toi xốp, màu nâu của xơ dừa, mùi xơ dừa chưa chuyển hoá.



A

B

C

D

Hình 1. Hình ảnh các giá thể sau khi ủ

A: giá thể 1 sau khi ủ

B: giá thể 2 sau khi ủ

C: giá thể 3 sau khi ủ

D: giá thể 4 sau khi ủ

Kết quả từ bảng 3.1 và hình 1 cho thấy giá thể 1 và 2 đang có sự chuyển hoá các cơ chất, mùi thơm nhẹ của bã xác thực vật đang phân huỷ. Giá thể 3 và 4 gần như không có sự phân huỷ và nguyên vẹn như lúc đầu trước khi ủ. Điều này chứng tỏ các chủng vi sinh vật bổ sung vào giá thể đã phát huy tác dụng phân huỷ cơ chất. Do đó, chúng tôi tiến hành đánh giá mật độ vi sinh vật đã bổ sung trong 02 giá thể là GT1 và GT2. Kết quả phân tích mật độ vi sinh vật được thể hiện tại bảng 3.2.

Bảng 3.2. Mật độ các chủng vi sinh vật có trong 2 loại giá thể tại các thời điểm ủ

Chủng vi sinh vật	Thời điểm kiểm tra	GT1	GT2
<i>Bacillus subtilis</i> (CFU/g)	Bắt đầu ủ	83×10^8	83×10^8
	5 ngày	35×10^7	57×10^7
	10 ngày	4×10^7	3×10^7
	15 ngày	2×10^6	2×10^6
<i>Trichoderma</i> spp. (CFU/g)	Bắt đầu ủ	20×10^7	20×10^7
	5 ngày	3×10^7	10×10^7
	10 ngày	2×10^7	1×10^6
	15 ngày	1×10^6	1×10^6
<i>Rhizobium leguminosarum</i> (CFU/g)	Bắt đầu ủ	10×10^7	10×10^7
	5 ngày	41×10^6	6×10^6
	10 ngày	4×10^6	48×10^5
	15 ngày	11×10^5	2×10^6
<i>Burkholderia ambifaria</i> (CFU/g)	Bắt đầu ủ	10×10^7	10×10^7
	5 ngày	10×10^7	13×10^6
	10 ngày	33×10^6	4×10^6
	15 ngày	4×10^6	3×10^6

Kết quả từ bảng 3.1 cho thấy, ở GT1 và GT2 không có sự chênh lệch lớn về mật độ vi sinh vật giữa 2 nghiệm thức, mật độ các chủng vi sinh vật giảm từ 10^8 CFU/g còn 10^6 CFU/g sau 15 ngày, sau đó mật độ vi sinh vật không giảm nữa. Qua đó, chứng tỏ được rằng khi bổ sung chế phẩm vi sinh vào để ủ thì các chủng vi sinh vật này đã hoạt động và thích nghi trong suốt quá trình ủ giá thể. Các chủng vi sinh vật *Rhizobium*

leguminosarum, *Burkholderia ambifaria*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp. đã được xác định là có khả năng cung cấp lượng đạm, lân là các nguyên tố dinh dưỡng cần thiết của cây trồng, phân giải cellulose làm tăng các hợp chất hữu cơ khó tiêu rất tốt và kích thích khả năng sinh trưởng và kháng các mầm bệnh. Nguyễn Thị Thu Thủy & Nguyễn Tiến Long (2018) đã chứng minh chủng *Streptomyces olivochromogenes* và *Bacillus amyloliquefaciens* cho hàm lượng cellulose giảm 55,87 % trong quá trình sản xuất phân hữu cơ.

Việc ủ giá thể với chế phẩm sinh học làm cho các bã mùn hữu cơ phân hủy nhanh, giúp cân đối dinh dưỡng cho cây trồng, thúc đẩy quá trình chuyển hóa dinh dưỡng giúp cây hấp thụ một cách dễ dàng hơn, mang đến hệ vi sinh vật có ích và làm giảm vi sinh vật có hại, bao tử nấm bệnh và trứng giun trong quá trình ủ. Từ đó, xem xét lại lượng N, P, K cung cấp cho cây từ phân hóa học và hạn chế việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật. Vì vậy, việc sử dụng chế phẩm vi sinh là bước đi an toàn hướng tới nông nghiệp sạch và thân thiện với môi trường (Các cách ủ phân chuồng đạt tiêu chuẩn nhất hiện nay, 2020).

Như vậy, việc ủ giá thể với chế phẩm vi sinh là việc làm cần thiết giúp cung cấp một lượng vi sinh vật vào giá thể ban đầu, tạo nên một giá thể tương đối sạch bệnh, cung cấp một phần dinh dưỡng cho cây, góp phần giảm lượng phân hóa học, cải thiện sự thoái hóa của giá thể. Từ đó, tiết kiệm được chi phí đầu vào, hạn chế ô nhiễm môi trường do sử dụng phân bón hóa học và thuốc bảo vệ thực vật. Ngoài ra, đây sẽ là hướng đi đúng đắn để tiến đến công nghệ xanh trong nông nghiệp, đảm bảo và phát triển bền vững kết hợp với bảo vệ môi trường.

3.2. Kết quả đánh giá tính chất vật lý của giá thể

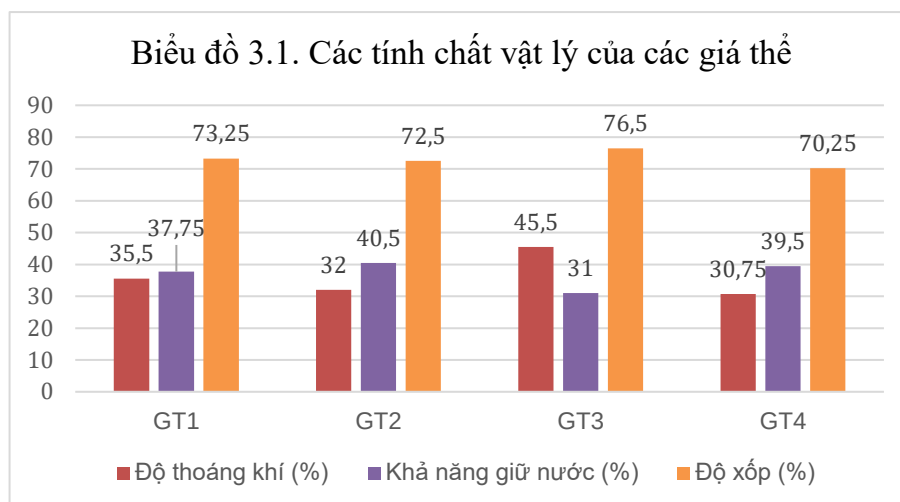
Tiến hành thí nghiệm kiểm tra tính chất vật lý 4 loại giá thể bằng việc đo khả năng giữ nước, độ thoáng khí và độ xốp của giá thể, kết quả được thể hiện ở bảng 3.3.

Bảng 3.3. Kết quả đánh giá tính chất vật lý của giá thể

Giá thể trồng cây	Độ thoáng khí (%)	Khả năng giữ nước (%)	Độ xốp (%)
GT1	35,5 ^b ± 0,23	37,75 ^c ± 0,09	73,25 ^b ± 0,15
GT2	32 ^c ± 0,35	40,5 ^a ± 0,15	72,5 ^c ± 0,22

GT3	45,5 ^a ± 0,05	31 ^d ± 0,18	76,5 ^a ± 0,15
GT4	30,75 ^d ± 0,26	39,5 ^b ± 0,13	70,25 ^d ± 0,13

Ghi chú: Trong cùng một cột, các ký tự chữ cái đi theo sau các giá trị khác nhau thì biểu thị có ý nghĩa về mặt thống kê theo phép thử Tuskey tại mức ý nghĩa 5%



Kết quả từ bảng 3.3 và biểu đồ 3.1 cho thấy ở các giá thể thì độ xốp gần như tương tự nhau và nằm trong phạm vi 70,25 - 76,5% do kích thước hạt của các vật liệu này khác nhau nên khả năng giữ nước và độ thông khí rất khác nhau nằm trong phạm vi khuyến nghị 50% đến 85% (Yeager et al., 2007). Nhưng ở GT3 hình dạng kích thước của vỏ trấu tươi khá lớn làm cho khoảng trống giữa các phân tử có nhiều lỗ hổng và không khí của giá thể càng lớn dẫn đến khả năng giữ nước của giá thể này là kém nhất và nếu như không tưới nước thường xuyên cây sẽ dễ bị thiếu nước trầm trọng. Ở GT4 chủ yếu là mụn xơ dừa và chúng có kích thước hạt nhỏ nên dẫn đến khả năng giữ nước là 39,5% tương đối cao nhưng lại cho độ thông thoáng khí thấp làm cho rễ cây không cung cấp đủ lượng oxy để hô hấp. Ngoài ra, 2 nghiệm thức còn lại là GT1 và GT2 cho kết quả độ xốp tương đối gần nhau nhưng ở GT1 cho kết quả tốt nhất khi độ thoáng khí là 35,5 % và khả năng giữ nước là 37,75 % phù hợp với nhận định về giá thể (Tilt et al., 1987).

Nghiên cứu của Quintero et al. (2006) cũng chỉ ra mụn xơ dừa có thành phần hạt mịn còn vỏ trấu và than trấu có kích thước hạt thô vì vậy, khi phối trộn hoặc vỏ trấu hoặc than trấu với mụn xơ dừa sẽ làm giảm thành phần hạt mịn trong giá thể, nhờ vậy khả năng giữ nước của giá thể giảm đi. Trong khi đó, sự lún xẹp của giá thể trong quá trình trồng trọt sẽ làm thay đổi đặc tính vật lý của giá thể có thể ảnh hưởng tiêu cực đến

sự tăng trưởng của cây trồng. Vì vậy, sau khi đã tạo được giá thể có những đặc tính vật lý phù hợp với cây trồng, người trồng luôn mong muốn các đặc tính này được giữ nguyên hoặc thay đổi ít nhất để không ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây trồng (Cao & cs 2019). John và Harold (1999) kết luận rằng tính chất vật lý của giá thể có tác động đến tính chất hoá học trong giá thể, ví dụ như các chất hữu cơ và mùn làm tăng khả năng hấp phụ và trao đổi ion làm cho giá thể có khả năng chịu nước, chịu phân cao, tăng tính đệm cho giá thể tạo điều kiện cho cây phát triển tốt.

Như vậy, từ các dẫn liệu trên cho thấy rằng GT1 và GT2 là giá thể có các tính chất vật lý tốt nhất trong 04 giá thể thử nghiệm với độ xốp là 73,25 % và 72,5%, độ thoáng khí là 35,5% và 32 %; khả năng giữ nước là 37,75 % và 40,5% thích hợp cho cây trồng sinh trưởng và phát triển tốt.

3.3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến sức sống của cây dâu bạch tuyết

Để đánh giá chất lượng cũng như chọn được loại giá thể phù hợp cho cây dâu bạch tuyết, chúng tôi tiến hành trồng thử nghiệm cây dâu bạch tuyết trên 4 loại giá thể với 2 giai đoạn phát triển của cây là từ cây dâu bạch tuyết cấy mô và ngó dâu bạch tuyết. Sau quá trình theo dõi và thu thập số liệu chúng tôi ghi nhận được tỷ lệ sống của cây dâu bạch tuyết được thể hiện trong bảng 3.4, 3.5 và biểu đồ 3.2, 3.3.

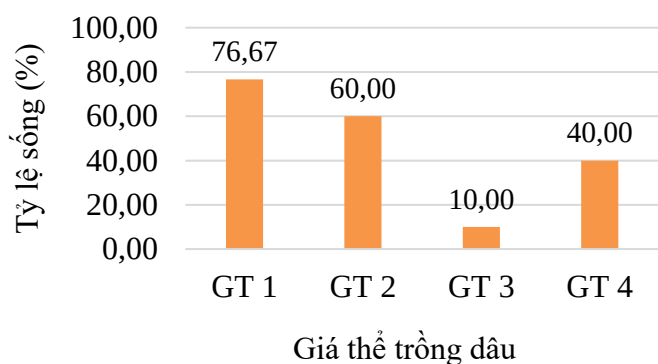
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của giá thể đến sức sống của cây dâu bạch tuyết cấy mô sau 65 ngày theo dõi

Giá thể trồng cây	Số cây trồng ban đầu (cây)	Số cây còn sống sau 65 ngày (cây)	Tỷ lệ cây sống (%)
GT 1	30	23	76,67
GT 2	30	18	60,00
GT 3	30	3	10,00
GT 4	30	12	40,00

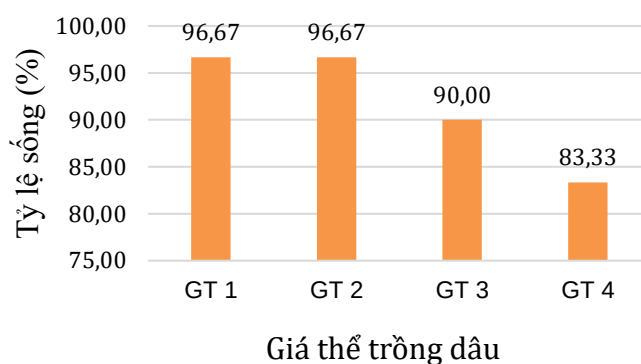
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của giá thể đến sức sống của ngó dâu bạch tuyết sau 65 ngày theo dõi

Giá thể trồng cây	Số cây trồng ban đầu (cây)	Số cây còn sống sau 65 ngày (cây)	Tỷ lệ cây sống (%)
GT 1	30	29	96,67
GT 2	30	29	96,67
GT 3	30	27	90,00
GT 4	30	25	83,33

Biểu đồ 3.2. Tỷ lệ sống của cây dâu bạch tuyết cấy mô trên các giá thể



Biểu đồ 3.3. tỷ lệ sống của ngó dâu bạch tuyết trên các giá thể



Kết quả trên cho thấy, cây dâu bạch tuyết cấy mô trồng trên giá thể 1 và giá thể 2 cho tỷ lệ cây sống trên 50% cao hơn giá thể 3 và 4. Do trước khi trồng, giá thể 1, 2 đã được ủ chung với các chủng vi sinh vật. Các chủng này đã chuyển hóa một số thành phần có trong giá thể thành cơ chất và cung cấp chất dinh dưỡng để cây dễ hấp thụ. Bên cạnh đó độ thoáng khí và khả năng giữ nước cũng ảnh hưởng đến cây trồng. Trong giá thể 3, khả năng giữ nước của nó thấp nhất trong 4 loại giá thể nên cùng một chế độ chăm sóc thì những cây ở giá thể này sẽ chết vì thiếu nước. Với giá thể 4, tuy khả năng giữ nước cao nhưng độ thoáng khí lại thấp ảnh hưởng đến khả năng hô hấp của rễ làm cây phát triển chậm và làm chết cây. Đặc biệt, thời kỳ cây con là thời kỳ nhạy cảm của cây, trong giai đoạn này nếu cây con bị thiếu dinh dưỡng hoặc ẩm độ thì cây sinh trưởng chậm hoặc có thể chết. Vì vậy giá thể trồng dâu phải đáp ứng đủ các điều kiện cần thiết để cây dâu phát triển. Điều này cũng đã được chứng minh trong nghiên cứu này khi tỷ

lệ sống của cây dâu tây mô trồng trên giá thể 1 đạt 76,67% cao nhất trong 4 loại giá thể được khảo sát.

Ngó dâu bạch tuyết trồng trên 4 loại giá thể được khảo sát có tỷ lệ sống cao đạt trên 80%. Điều này cho thấy chúng có sự thích nghi cao với các loại giá thể, nhưng so với các giá thể có thành phần gồm trấu, tro, xơ dừa (GT1, GT2, GT3) thì giá thể chỉ có xơ dừa (GT 4) cho tỷ lệ sống của ngó dâu bạch tuyết là thấp nhất. Giá thể 1 và giá thể 2 với việc ủ giá thể với chế phẩm vi sinh trước khi trồng cho tỷ lệ sống của ngó dâu tây đạt 96,67% cao nhất trong 2 giá thể còn lại.

Qua kết quả khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến sức sống của cây dâu bạch tuyết, chúng tôi nhận thấy trong 4 loại giá thể khảo sát thì giá thể 1 là giá thể phù hợp để trồng cây dâu bạch tuyết cấy mô và ngó dâu bạch tuyết.

3.4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sinh trưởng của cây dâu bạch tuyết

Để đánh giá ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sinh trưởng của cây dâu bạch tuyết, chúng tôi tiến hành theo dõi tốc độ tăng trưởng chiều cao và diện tích lá của cây dâu bạch tuyết cấy mô và ngó dâu bạch tuyết. Kết quả theo dõi được ghi nhận và trình bày tại bảng 3.6, bảng 3.7, biểu đồ 3.4 và 3.5.

Bảng 3.6. Tốc độ tăng trưởng diện tích lá và chiều cao của cây dâu bạch tuyết cấy mô

Giá thể trồng cây	Tốc độ tăng trưởng trung bình của cây dâu tây cấy mô	
	Diện tích lá (cm ² /ngày)	Chiều cao cây (cm/ngày)
GT1	3,43 ^a ± 0,77	0,16 ^a ± 0,01
GT2	2,23 ^b ± 0,28	0,14 ^b ± 0,01
GT3	1,29 ^d ± 0,24	0,10 ^{ab} ± 0,05
GT4	1,86 ^c ± 0,26	0,11 ^c ± 0,01

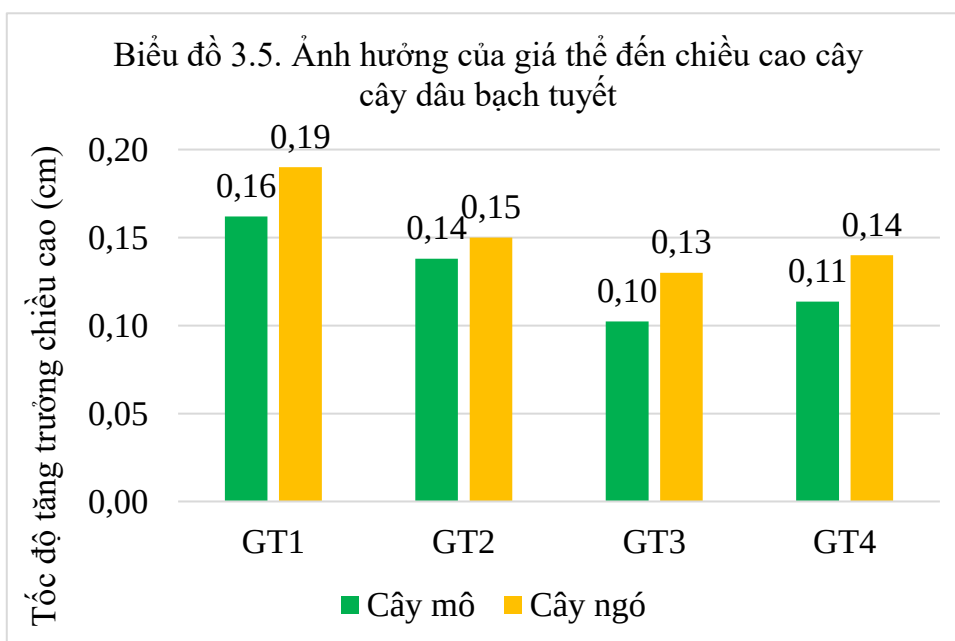
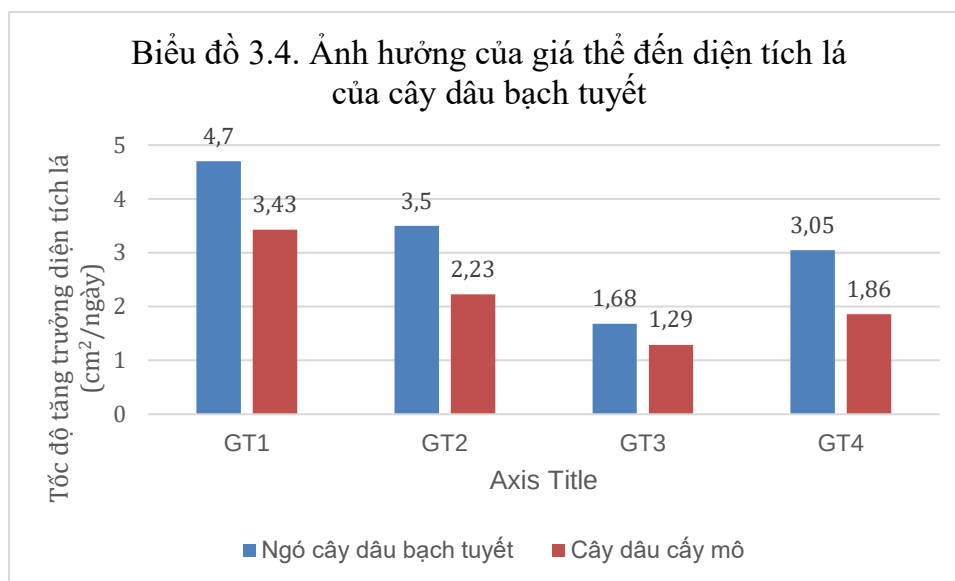
Ghi chú: Trong cùng một cột, các ký tự khác nhau đi theo sau các giá trị biểu thị cho sự khác biệt có ý nghĩa thống kê tại mức ý nghĩa 5% theo phép thử Tuskey.

Bảng 3.7. Tốc độ tăng trưởng diện tích lá và chiều cao của ngó cây dâu bạch tuyết

Giá thể trồng cây	Tốc độ tăng trưởng trung bình của ngó cây dâu tây	
	Diện tích lá (cm ² /ngày)	Chiều cao cây (cm/ngày)
GT1	4,7 ^a ± 0,56	0,19 ^a ± 0,02
GT2	3,5 ^b ± 0,64	0,15 ^b ± 0,01

GT3	$1,68^d \pm 0,22$	$0,13^c \pm 0,01$
GT4	$3,05^c \pm 0,18$	$0,14^{bc} \pm 0,01$

Ghi chú: Trong cùng một cột, các ký tự khác nhau đi theo sau các giá trị biểu thị cho sự khác biệt có ý nghĩa thống kê tại mức ý nghĩa 5% theo phép thử Tuskey.



Kết quả từ bảng 3.5 và bảng 3.6 cho thấy, cây dâu tây cấy mô trồng trong giá thể 1 có tốc độ tăng trưởng về diện tích lá và chiều cao cây là cao hơn so với cây trồng trong các giá thể khác với tốc độ tăng trưởng trung bình diện tích lá đạt 3,43 cm²/ngày và chiều cao đạt 0,16 cm/ngày. Đối với ngó cây dâu tây, khi được trồng trong giá thể 1 cũng cho kết quả tương tự như cây cấy mô với tốc độ tăng trưởng trung bình diện tích lá và chiều cao cây lần lượt là 4,7 cm²/ngày và 0,19 cm/ngày. Phù hợp với nhận định của Cao Thị Làn & cs. (2019) là sự tăng trưởng lá ảnh hưởng rất lớn đến các yếu tố cấu

thành năng suất dâu tây, cây có bộ tán lá phát triển tốt và cân đối thường cho năng suất quả cao.

Qua các kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi nhận thấy giá thể có các chỉ số về khả năng giữ nước, độ thoáng khí, và có bổ sung các chủng vi sinh vật thì cây trồng sinh trưởng và phát triển mạnh. Trong các giá thể khảo sát thì giá thể 3 và 4 có các tính chất vật lý kém hơn so với giá thể 1 và 2. Giá thể 1 và giá thể 2 có bổ sung các chủng vi sinh vật có lợi để hỗ trợ sinh trưởng, phát triển cho cây trồng. Các giải pháp vi sinh có nhiều cơ chế tác động khác nhau để giúp tăng lượng dinh dưỡng có trong giá thể, giúp cây phát triển tốt hơn nhưng vẫn duy trì được năng suất cho vụ mùa tiếp theo. Cụ thể, làm chuyển đổi nitơ và phospho thành dạng dễ hấp thụ cho cây; giúp cây hấp thụ phospho nhanh hơn, tăng cường và tăng hiệu quả cố định nitơ trong giá thể, sản xuất enzyme phân huỷ các chất hữu cơ phức tạp trong giá thể, kích thích sự phát triển của các vi khuẩn có lợi, làm giá thể tơi xốp, tăng khả năng hấp thụ dinh dưỡng cho cây.

3.5. Kết quả phân tích thành phần dinh dưỡng của giá thể

Từ các kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi tiến hành phân tích hàm lượng carbon hữu cơ và hàm lượng hữu cơ tổng số của giá thể 1 và giá thể 2, kết quả phân tích được trình bày tại bảng 3.8.

Bảng 3.8. Kết quả phân tích thành phần dinh dưỡng của giá thể trước và sau khi ủ

STT	Tên mẫu/Chỉ tiêu phân tích	Giá thể trước ủ		Giá thể sau ủ	
		Cacbon hữu cơ (%)	Hữu cơ tổng số (%)	Cacbon hữu cơ (%)	Hữu cơ tổng số (%)
1	GT1	8,3	16,4	11,3	22,4
2	GT2	8,2	16,2	10,1	19,9

Kết quả từ bảng 3.8 cho thấy GT1 có thành phần dinh dưỡng cao hơn so với giá thể 2. Đối với giá thể 1, hàm lượng carbon hữu cơ và hàm lượng hữu cơ tổng số tăng lần lượt là 3% và 6% cao hơn so với giá thể 2 (tăng lần lượt là 1,9% và 3,7 %). Sự sinh

trưởng và năng suất của cây trồng được quyết định bởi chất dinh dưỡng, nước, không khí trong đất, và điều kiện môi trường như ánh sáng và nhiệt độ. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu cho thấy chất mùn hữu cơ trong đất có ảnh hưởng rất lớn đến cây trồng. Số lượng và chất lượng của chất mùn hữu cơ trong đất có tương quan chặt chẽ đến năng suất cây trồng (Nguyễn, 2010). Trong tự nhiên, xác bã thực vật được vi sinh vật phân hủy tạo thành một hợp chất hữu cơ phức tạp là chất mùn, một nhân tố quan trọng tạo nên độ phì nhiêu của đất (Harrison, 2008). Chất mùn chứa nhiều loại acid hữu cơ như acid humic, acid fulvic, acid fugavic... gọi chung là acid mùn. Trong số đó acid humic chiếm tỉ lệ nhiều nhất (Nguyễn, 2016; Nguyễn, 2010).

Hàm lượng carbon hữu cơ và hữu cơ tổng số là một trong những chỉ tiêu dinh dưỡng bắt buộc của giá thể để có thể trồng cây. Nghiên cứu đánh giá hàm lượng acid humic trong quá trình ủ hoại vỏ cà phê bằng chế phẩm E.M và thử nghiệm bón hỗn hợp ủ cho cây cà phê vối (*Coffea robusta*). Thực tế sản xuất đã khẳng định vai trò thiết yếu của phân hữu cơ trong việc duy trì độ phì nhiêu của đất, gia tăng hàm lượng mùn cho đất, ổn định năng suất cây trồng, góp phần vào sản xuất nông nghiệp bền vững. Nguyễn Mạnh Chinh (2016) đã báo cáo acid humic cùng với các acid mùn khác bón vào cây có tác dụng kích thích sự phát triển của hệ rễ để hấp thu chất dinh dưỡng tốt hơn, cây sinh trưởng phát triển mạnh hơn. Nếu được hấp thu trực tiếp qua lá chúng sẽ giúp tăng cường sự quang hợp của cây do kích thích sự hoạt động của các men tham gia trong quá trình quang hợp. Cường độ quang hợp mạnh cây sẽ sinh trưởng nhanh. Ngoài ra acid humic còn làm tăng sức đề kháng của cây với sâu bệnh và các điều kiện bất lợi như nóng, rét, hạn, úng, chua phèn, chất kích thích sinh trưởng cây trồng và thuốc trừ bệnh cây. Tương tự như vậy, Trần Thị Mil & cs., 2012 đã chứng minh nấm *Trichoderma* sp. giúp tăng hàm lượng chất hữu cơ cao trong quá trình xử lý rơm rạ, có ý nghĩa phục vụ cho nông nghiệp.

Qua các kết quả nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy việc trồng cây dâu tây trên giá thể có tỷ lệ thành phần trấu:tro:xơ dừa lần lượt là 1:1:3 kết hợp với việc ủ chế phẩm vi sinh trước khi trồng có tác dụng chuyển hoá một số thành phần có trong giá thể thành một số cơ chất mà cây dễ hấp thụ giúp cây phát triển tốt, cung cấp một lượng chất dinh dưỡng cần thiết làm hạn chế việc sử dụng phân bón hoá học. Bên cạnh đó, việc có mặt của các chủng vi sinh vật có lợi giúp cây kháng lại một số mầm bệnh, cố định nitơ, phân giải lân và tổng hợp chất kích thích sinh trưởng cho cây trồng. Từ đó, cải thiện hiệu quả

canh tác, góp phần làm giảm chi phí đầu tư và nâng cao thu nhập, ổn định cuộc sống cho người dân.

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Qua quá trình nghiên cứu chúng tôi đã rút ra một số kết luận sau:

- Tỷ lệ phối trộn giá thể với thành phần tro: trấu: xơ dừa lần lượt là 1:1:3, kết hợp ủ với 1% các chủng vi sinh vật có lợi (*Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis*, *Rhizobium leguminosarum*, *Burkholderia ambifaria*) là phù hợp với độ xốp là 73,35%, độ thoáng khí là 35,5%, khả năng giữ nước là 37,75%, hàm lượng hữu cơ tổng số đạt 22,4% và hàm lượng carbon hữu cơ đạt 11,3%.

- Đánh giá về chỉ tiêu sinh trưởng cây trồng trên 04 giá thể cho thấy cây trồng trên giá thể với tỷ lệ phối trộn là 1:1:3 có ủ với 1% chế phẩm vi sinh là tốt nhất trong 04 giá thể với tỷ lệ sống của cây dâu tây cấy mô là 76,67%, tốc độ tăng trưởng trung bình về chiều cao cây là 0,16 cm/ngày, tốc độ tăng trưởng trung bình về diện tích lá là 3,43 cm²/ngày và tỷ lệ sống của gốc cây dâu tây là 96,67%, tốc độ tăng trưởng trung bình về chiều cao cây là 0,19 cm/ngày, tốc độ tăng trưởng trung bình về diện tích lá là 4,7 cm²/ngày.

4.2. Kiến nghị

Sau quá trình thực hiện nghiên cứu chúng tôi có một số kiến nghị như sau:

- Tiếp tục trồng, chăm sóc và theo dõi để đánh giá về năng suất quả của cây dâu tây bạch tuyết trên giá thể đã chọn.

- Tiếp tục khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ bổ sung các chủng vi sinh vật đến chất lượng giá thể và chất lượng cây trồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Altieri, R., Esposito, A., & Baruzzi, G. (2010). Use of olive mill waste mix as peat surrogate in substrate for strawberry soilless cultivation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(7), 670–675. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.08.003>
- Awang, Yahya, Anieza, S. S., Mohamad, R. B. & Selamat, A. (2009). "Chemical and physical characteristics of cocopeat-based media mixtures and their effects on the growth and development of *Celosia cristata*", *American journal of agricultural and biological sciences*, 4(1), pp. 63-71
- Các cách ủ phân chuồng đạt tiêu chuẩn nhất hiện nay. (2020). Truy cập ngày 5/5/2021 tại [https://chephamvisinh.vn/cac-cach-u-phan-chuong-dat-tieu-chuan-nhat/#Tai sao can su dung che pham sinh hoc de u phan](https://chephamvisinh.vn/cac-cach-u-phan-chuong-dat-tieu-chuan-nhat/#Tai%20sao%20can%20su%20dung%20che%20pham%20sinh%20hoc%20de%20u%20phan)
- Cách làm xơ dừa trồng cây xử lý loại bỏ độc hại dễ dàng. (2018). Truy cập ngày 21/5/2021 tại <https://daperlite.com/cach-lam-xo-dua-trong-cay-xu-ly-loai-bo-doc-hai-tai-nha/>
- Calderón, F. & Cevallos, F. (2001). "Los sustratos", *Memorias Primer Curso de Hidroponía para la Floricultura. Bogota*, pp. 21
- Cầm, T. (2011). *Cây dừa các tỉnh phía Nam – Thực trạng và giải pháp*. Truy cập ngày 21/5/2021 tại <https://baodongkhoi.vn/cay-dua-cac-tinh-phia-nam-thuc-trang-va-giai-phap-10062011-a16819.html>
- Cao, T. L. (2011). *Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất xà lách, dưa leo, cà chua sạch trên giá thể trong nhà che phủ tại Đà Lạt* (Luận án Tiến sĩ). Trường Đại học Đà Lạt.
- Cao, T. L., Nguyễn, V. K., & Ngô, Q. V. (2019). Ảnh hưởng của giá thể trồng đến sinh trưởng và năng suất của giống dâu tây Newzealand trồng trong nhà Plastic tại Đà Lạt. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 2(99), 64–70.
- Carlile, W. R., Cattivello, C., & Zaccheo, P. (2015). Organic Growing Media: Constituents and Properties. *Vadose Zone Journal*, 14(6), 1-13. DOI:10.2136/vzj2014.09.0125
- Phạm, N. T. (2013). *Công tác điều tra dự tính dự báo sâu bệnh hại cây trồng 6 tháng đầu năm 2013*. Đăng trên Chi cục Bảo vệ thực vật Lâm Đồng truy cập ngày

6/5/2021 tại <http://ttbvtv.lamdong.gov.vn/du-tinh-du-bao-dich-hai/727-cong-tac-dieu-tra-du-tinh-du-bao-sau-benh-hai-cay-trong-6-thang-dau-nam-2013>

Chi cục Bảo vệ thực vật Lâm Đồng. (2014). Báo cáo tình hình canh tác dâu tây tại Đà Lạt.

Cù, Q. T. (2020). Nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể dinh dưỡng đến sinh trưởng và năng suất của rau Dền tại xã Tụ Liệt, huyện Thanh Trì, Hà Nội.

Đào, T. K. & Trần, T. N. (2015). Ứng dụng xơ dừa và trấu vào công nghệ sản xuất tấm vách ngăn tường không nung. *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 5, 121-126.

Đặng, V. H. M. (2015). *Hệ nắm móc ở Việt Nam*. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

Demirsoy, Hüsnü, Demirsoy, L. & Öztürk, A. (2005). "Improved model for the non-destructive estimation of strawberry leaf area", *Fruits*. 60(1), pp. 69- 73.

Dilmaghani, M., & Hemmaty, S. (2011). Effect Of Different Substrates On Nutrients Content, Yield And Quality Of Strawberry Cv. Selva In Soilless Culture. *Journal Of Science And Technology Of Greenhouse Culture*, 2(7), 1–7.

Dole, J. M., & Wilkins, H. F. (1999). *Floriculture: principles and species*, 79–89. NXB Prentice Hall.

Đốt trấu ra vàng. (2016). Truy xuất 21/5/2021 từ <https://moit.gov.vn/web/guest/tin-chi-tiet/-/chi-tiet/%C4%91ot-trau-ra-vang-108141-23.html>

Ellis, M. A., Funt, R. C., Wright, S., & et al.,(2006). *Midwest strawberry production guide*. Ohio State University Extension.

Ercisli, S., Sahin, U., Esitken, A., & Anapali, O. (2005). Effects of some growing media on the growth of strawberry cvs.'Camarosa'and'Fern'. *Acta Agrobotanica*, 58(1).

Evans, M. R., & Gachukia, M. (2004). Fresh parboiled rice hulls serve as an alternative to perlite in greenhouse crop substrates. *HortScience*, 39(2), 232-235.

Evans, M. R., & Gachukia, M. M. (2007). Physical properties of sphagnum peat-based root substrates amended with perlite or parboiled fresh rice hulls. *Hort Technology*, 17(3), 312-315.

Gaur, A. C. (1990). *Phosphate solubilizing micro-organisms as biofertilizer*. Omega Scientific Publishers.

Gessert, G. (1976). Measuring a medium's air space and water holding capacity. *Ornamentals Northwest*, 1(8), 11-12.

Giá thể trồng dâu tây thủy canh và những điều cần biết. (2019). Truy xuất 23/5/2021, từ <https://namix.vn/dau-la-gia-the-trong-dau-tay-tot-nhat-hien-nay/>

Giá thể vỏ trấu - những tác dụng của vỏ trấu với cây trồng. (2021). Truy xuất 21/5/2021, từ <https://gfrvietnam.com/gia-the-vo-trau-nhung-tac-dung-cua-vo-trau-voi-cay-trong.html>

Gómez, C., & Robbins, J. (2011). Pine bark substrates amended with parboiled rice hulls: Physical properties and growth of container-grown *Spirea* during long-term nursery production. *HortScience*, 46(5), 784-790.

Hoàng, X. P. (2009). *Aerogel vỏ trấu - Mặt hàng công nghệ cao*. Báo Nông Nghiệp Việt Nam. <https://nongnghiep.vn/aerogel-vo-trau---mat-hang-cong-nghe-cao-d35202.html>.

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. & Williams, S. T. (1993). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*. William & Wilkins Publisher.

Jansen, W. A. G. M. (1997). Growing Media And Plant Densities For Strawberry Tray Plants. *Acta Horticulturae*, (439), 457–460. <https://doi.org/10.17660/actahortic.1997.439.76>

López-Aranda, J. M., Soria, C., Santos, B. M., Miranda, L., Domínguez, P. & Medina-Mínguez, J. J. (2011) Strawberry Production in Mild Climates of the World: A Review of Current Cultivar Use. *International Journal of Fruit Science*, 11:3, 232-244, DOI: 10.1080/15538362.2011.608294

Lê, H. N., Nguyễn, V. T., & Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam - Viện Hóa học. (2010). Sử dụng nguồn phế thải nông nghiệp để tổng hợp vật liệu nano silic và nano cacbon làm xúc tác cho quá trình chuyển cặn dầu thực vật thành nhiên liệu sinh học và làm chất hấp phụ để sản xuất etanol tuyệt đối. *Đề Tài Khoa Học Công Nghệ Cấp Nhà Nước (Thuộc Nghị Định Thư Với Vương Quốc Bỉ)*.

Linardakis, D. K., & Manios, V. I. (1991). Hydroponic Culture Of Strawberries In Plastic Greenhouse In A Vertical System. *Acta Horticulturae*, 287, 317–326. <https://doi.org/10.17660/actahortic.1991.287.36>

Martínez-Ferri, E., Ariza, M. T., Domínguez, & et al., (2014). Cropping strawberry for improving productivity and environmental sustainability. *Strawberries: Cultivation, Antioxidant Properties and Health Benefits*. Nova Science Publishers, New York, 1-20

Melgarejo, P. , Legua, P. , Pérez-Sarmiento, F. , Martínez-Font, R. , Martínez-Nicolás, J. J. , & Hernández, F. (2017). Effect of a New Remediated Substrate on Fruit Quality and Bioactive Compounds in Two Strawberry Cultivars. *Journal of Food and Nutrition Research*, 5(8), 579-586.

Morgan, L. (2003). Hydroponic Strawberries. *The Growing Edge*, 14(4), 46–57.

Murthy, B. N. S. & Pramanick, K. K. (2012). Strawberry cultivation in mild-tropics: Prospects and challenges from diseases'perspective, *VII International Strawberry Symposium 1049*, pp. 151-159.

Nguyễn D. H. (2006). Nghiên cứu sản xuất giá thể tổng hợp phục vụ trồng hoa lan và các loại hoa cảnh có giá trị kinh tế ở Lâm Đồng.

Nguyễn, B. T. (2012). *Nghiên cứu ứng dụng phương pháp phân tích quang học để đánh giá khả năng hấp phụ Cr (VI) và Cr (III) của vỏ trấu biến tính* (Luận văn Thạc sỹ). Trường Đại học Quốc gia Hà Nội.

Nguyễn, B. V. (2019). *Vai Trò Của Chất Mùn Hữu Cơ Trong Sản Xuất Nông Nghiệp*. <https://coa.ctu.edu.vn/khuyen-nong-khct/522-vai-tro-cua-chat-mun-huu-co-trong-san-xuat-nong-nghiep.html>.

Nguyễn, L. D., Nguyễn, Đ. Đ., Đặng, H. M., Nguyễn, V. P., Nguyễn, Đ. Q., Nguyễn, P. T., & Phạm, V. T. (1976). Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật tập II. Hà Nội: NXB Khoa học và Kỹ thuật.

Nguyễn, M. C. (2011). *Sử dụng axit Humic cho cây trồng*. Báo Nông nghiệp Việt Nam. <https://nongnghiep.vn/su-dung-axit-humic-cho-cay-trong-d76236.html>.

Nguyễn, N. H., Trần, Đ. L., Nguyễn, T. N., & Hồ, H. N. (1996). Bước đầu nghiên cứu và trồng thử nghiệm cây dâu tây tại ĐBSH. *Kết Quả Nghiên Cứu Khoa Học Kỹ Thuật Nông Nghiệp Chủ Biên, Viện Khoa Học Kỹ Thuật Nông Nghiệp Việt Nam*, 238–243.

Nguyễn, N. H., và Nguyễn, H. H. (2019). Nghiên cứu tận dụng một số loại phế phụ phẩm nông nghiệp để làm giá thể hữu cơ phục vụ trồng rau mầm cải ngọt an toàn. *VNU Journal of Science: Earth and Environmental Sciences*, 35(2), 1-1.

Nguyễn, T. H. H., & Trần, T. N. M. (2010). Ứng dụng zeolit NaX để tách loại ion Pb^{2+} trong các nguồn nước bị ô nhiễm. *Tạp Chí Khoa Học Và Phát Triển*, 8(6), 989–993.

Nguyễn, T. H., Nguyễn, M. H., & Lê, T. N. T. (2013). Kết quả nghiên cứu sản xuất giá thể trồng rau, hoa, cây cảnh từ vỏ cà phê và bã mía. *Hội thảo Quốc gia về Khoa học Cây trồng lần thứ nhất*, 807 - 812.

Nguyễn, T. M. (2016). Nghiên cứu xử lý phế phụ phẩm trồng nấm làm giá thể hữu cơ trồng rau an toàn. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 14(11), 1781-1788.

Nguyễn, T. T., & Nguyễn, T. L. (2018). Vi sinh vật phân giải cellulose mạnh trong sản xuất phân hữu cơ từ phế phụ phẩm nông nghiệp và ảnh hưởng của chúng đối với giống lạc L14 tại Hương Trà, Thừa Thiên Huế. *Tạp Chí Khoa Học Đại Học Huế: Nông Nghiệp Và Phát Triển Nông Thôn*, 127(3B), 5–19.
<https://doi.org/10.26459/hueuni-jard.v127i3b.4483>

Nguyen, V. T. & Wang, C. (2017) “Sử dụng vật liệu hữu cơ làm chất trồng cho cây giống dưa mật trong nông nghiệp hữu cơ.” *Truyền thông trong Khoa học Đất và Phân tích Thực vật* 48: 2137 - 2147.

Nguyễn, X. T., Vũ, T. X. H., Phan, Q. H., Đoàn, V. Đ., Phan, T. Q., Đinh, H. D., & Nguyễn, T. B. (2011). Giáo trình Công nghệ sinh học và xử lý môi trường.

Nông, T. H., Phạm, T. T. H., Tường, T. T. H., Nguyễn, T. T. L., Nguyễn, T. L. H., & Nguyễn, T. H. (2018). Nghiên cứu nhân giống in vitro cây dâu tây giống SMiA nhập nội từ Mỹ. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 15(12)

Ososanya, A. P., Ajinomoh, C. S., & Aderemi, B. O. (2012). Kinetic study of pineapple (ananas comosus) peel conversion to glucose by *Aspergillus niger*. *Ahmadu Bello University, Zaria*

Papafotiou, M., Chronopoulos, J., Kargas, G., Voreakou, M., Leodaritis, N., Lagogiani, O., & Gazi, S. (2001). Cotton gin trash compost and rice hulls as growing medium components for ornamentals. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76(4), 431-435.

Pardossi, A., Carmassi, G., Diara, C., Incrocci, L., Maggini, R., & Massa, D. (2011). Efficient use of inputs in protected horticulture. *Department of Biological Agriculture, University of Pisa, Italy*, 260.

Prasad, M. (1997). Physical, chemical and biological properties of coir dust. *Acta Hort*, 450, 21-29

Richardson, A. E. (2001). Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plant. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28(9), 897 - 906 DOI:10.1071/PP01093

Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Lâm Đồng. (2012). Quy trình kỹ thuật trồng cây dâu tây.

Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Lâm Đồng. (2020). Thống kê kế hoạch và thực hiện sản xuất cây trồng tại Lâm Đồng giai đoạn 2015 - 2020.

Tehranifar, A., Poostchi, M., Arooei, H., & Nematti, H. (2006, August). Effects of seven substrates on qualitative and quantitative characteristics of three strawberry cultivars under soilless culture. In *XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: International Symposium on Advances in Environmental Control, Automation* 761 (pp. 485-488).

Tehranifar, A., Poostchi, M., Arooei, H., & Nematti, H. (2007). Effects of seven substrates on qualitative and quantitative characteristics of three strawberry cultivars under soilless culture. *Acta Horticulturae*, (761), 485–488. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2007.761.67>

Tilt, K. M., Bilderback, T. E., & Fonteno, W. C. (1987). Particle size and container size effects on growth of three ornamental species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 112(6), 981-984.

Toshiaki, E. (2007). On technique of container seedlings. *Document for Final Seminar of Model Afforestation Project in Sichuan, JICA - Forestry Department of Sichuan province - Liangshan Forestry Department*

Trần, K. D., Võ, H. H., Hồ, S. Q., & Phan, N. D. Q. (2020). Khảo sát khả năng đối kháng và ức chế nấm *Podosphaera aphanis* gây bệnh phấn trắng trên đối tượng dâu tây (*Fragaria ananassa*) của một số chủng *Bacillus subtilis* trong điều kiện in vitro. *Báo cáo khoa học về nghiên cứu và giảng dạy sinh học ở Việt Nam - Hội nghị Khoa học Quốc gia lần thứ 4*. DOI:10.15625/vap.2020.00085

Trần, K. D., Võ, H. H., Hồ, S. Q., & Phan, N. Q. (2020). Khảo sát khả năng đối kháng và ức chế nấm *Podosphaera aphanis* gây bệnh phấn trắng trên đối tượng dâu tây (*Fragaria ananassa*) của một số chủng *Bacillus subtilis* trong điều kiện in-vitro. *Báo*

Cáo Khoa Học Về Nghiên Cứu Và Giảng Dạy Sinh Học Ở Việt Nam - Hội Nghị Khoa Học Quốc Gia Lần Thứ 4. <https://doi.org/10.15625/vap.2020.00085>

Trần, N. H. (2019). đánh giá hàm lượng acid humic trong quá trình ủ hoai vò cà phê bằng chế phẩm E.M và thử nghiệm bón hỗn hợp ủ cho cây cà phê vối (*Coffea robusta*). *Tạp Chí Khoa Học Trường Đại Học Sư Phạm Thành Phố Hồ Chí Minh*, 16(9), 351–359.

Trần, T. M., Phạm, N. M. T., & Võ, T. G. (2012). hiệu quả xử lý rơm rạ và phân hữu cơ trong cải thiện độ phì nhiêu đất và năng suất lúa tại Châu Thành Hậu Giang. *Tạp Chí Khoa Học Trường Đại Học Cần Thơ*, 22a, 253–206.

Tronsmo, A., & Dennis, C. (1977). The use of *Trichoderma* species to control strawberry fruit rots. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 83(S1), 449–455. <https://doi.org/10.1007/bf03041462>

Trung tâm Thông tin và Thống kê Khoa học và Công nghệ. (2019). Báo cáo phân tích xu hướng công nghệ: Xu hướng ứng dụng chế phẩm vi sinh trong xử lý phụ phẩm nông nghiệp.

US Department of Agriculture, Agricultural Research Service. (2016). USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28. <https://www.ars.usda.gov/northeast-area/beltsville-md-bhnrc/beltsville-human-nutrition-research-center/methods-and-application-of-food-composition-laboratory/mafcl-site-pages/sr11-sr28/>

Viện Tiêu chuẩn Chất lượng Việt Nam. (n.d.). TCVN 5987:1995 - *Chất lượng nước. Xác định nito Ken-đan (Kjeldahl). Phương pháp sau khi vô cơ hóa với Selen.* <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+5987%3A1995>

Viện Tiêu chuẩn Chất lượng Việt Nam. (n.d.). TCVN 8561:2010 - *Phân bón. Phương pháp xác định axit humic và axit fulvic.* <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+8561%3A2010>

Wang, D., Gabriel, M. Z., Legard, D., & Sjulín, T. (2016). Characteristics of growing media mixes and application for open-field production of strawberry (*Fragaria ananassa*). *Scientia Horticulturae*, 198, 294-303.

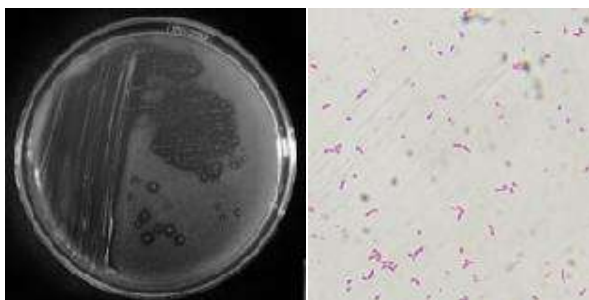
Weller, D. M., & Thomashow, L. S. (1994). Current challenges in introducing beneficial microorganisms into the rhizosphere. Trong F. O’Gara, D. N. Dowling, & B.

Boesten (Eds.), *Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms: Biotechnology and the Release of GMOs*. DOI:10.1002/9783527615810.ch1

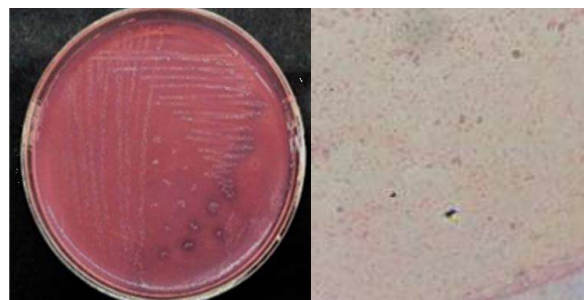
Wysocki, K., Kopytowski, J., Bieniek, A., & Bojarska, J. (2017). The effect of substrates on yield and quality of strawberry fruits cultivated in a heated foil tunnel. *Zemdirbyste-Agriculture*, 104(3), 283–286. <https://doi.org/10.13080/z-a.2017.104.036>

PHỤ LỤC

Phụ lục 1: Hình ảnh các chủng lợi khuẩn



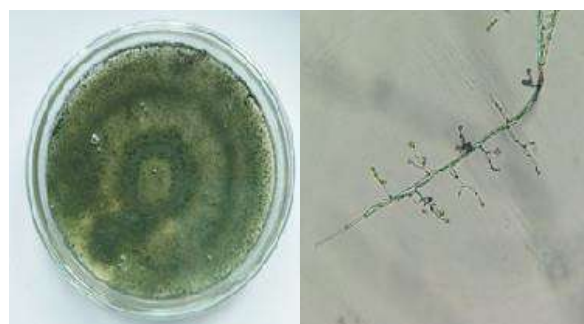
Hình 1: Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của vi khuẩn *Burkholderia ambifaria*



Hình 2: Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của vi khuẩn *Rhizobium leauminosarum*



Hình 3: Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của vi khuẩn *Bacillus subtilis*



Hình 4: Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của nấm mốc *Trichoderma* spp.

Phụ lục 2: Hình ảnh các nghiệm thức phối trộn hỗn hợp vi sinh vật với cơ chất và sản phẩm viên nén giá thể.



Hình 5: GT 1 trước ủ



Hình 6: GT 1 sau ủ



Hình 7: GT 2 trước ủ



Hình 8: GT 2 sau ủ



a

b

c

Hình 9. Viên nén giá thể

a: mặt trên của viên nén b: mặt dưới của viên nén c: mặt bên của viên nén

Phụ lục 3: Hình ảnh phiếu kết quả phân tích thành phần dinh dưỡng của giá thể.

PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

Trang 01/01

Số : 210512/1/0321-01+04

1 Đơn vị (người) gửi mẫu : Phan Trung Trực
 2 Địa chỉ : PTN Công nghệ Vi sinh, Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt
 3 Tên mẫu/kí hiệu mẫu : **Như bảng kết quả**
 4 Khối lượng mẫu : 0,5kg 5. Số lượng: 04
 6 Mô tả mẫu :
 7 Ngày nhận mẫu : 12/5/2021 8. Ngày trả kết quả : 19/5/2021
 9 Kết quả thử nghiệm : Tính trên trọng lượng thực tế

Stt	Tên mẫu/ Chỉ tiêu phân tích	Cacbon hữu cơ (%)	Hữu cơ (%)
1	NT1	11,3	22,4
2	NT2	10,1	19,9
3	NT3	8,3	16,4
4	NT4	8,2	16,2
	Phương pháp	TCVN 5987 -1995	TCVN 8561:2010

Giám đốc
Trung tâm Phân tích



Nguyễn Giảng

Viện trưởng
Viện Nghiên cứu hạt nhân



Cao Đông Vũ

Hình 10: Phiếu kết quả phân tích thành phần dinh dưỡng giá thể trước và sau ủ

Phụ lục 4: Một số hình ảnh về cây dâu tây Bạch Tuyết



Hình 11. Cây dâu bạch tuyết trong các thí nghiệm

Phụ lục 5. Phương pháp kiểm tra mật độ vi sinh vật

Lật úp các đĩa ngay sau khi đã cấy xong, đặt nhanh vào tủ ẩm ở nhiệt độ thích hợp, trừ khi được quy định trong các tiêu chuẩn cụ thể. Nếu bị mất nước quá mức (ví dụ: ở nhiệt độ 55 °C hoặc trong trường hợp không khí lưu thông mạnh), gói đĩa lỏng trong các túi chất dẻo trước khi ủ hoặc sử dụng hệ thống tương tự có hiệu quả tương đương.

Trong suốt thời gian ủ ẩm, có thể tránh khỏi sự thay đổi nhỏ về nhiệt độ ủ nhưng có thể chấp nhận được, ví dụ: Khi mở tủ đưa đĩa vào hoặc lấy đĩa ra, nhưng cần giữ ở mức thay đổi tối thiểu. Thời gian dao động nhiệt độ này cần được theo dõi để đảm bảo rằng không ảnh hưởng đáng kể đến kết quả.

Đôi khi nó có thể hữu ích cho các thao tác trong phòng thử nghiệm để làm lạnh các đĩa đã nuôi cấy trước khi ủ không quá 24h. Nếu vậy, phòng thử nghiệm phải đảm bảo rằng điều này không ảnh hưởng đến kết quả số đếm.

Nhìn chung, các đĩa Petri cần xếp chồng lên nhau không quá sáu đĩa để ủ hiệu khí và cần để xa nhau và xa thành tủ ẩm ít nhất 25 mm. Tuy nhiên, đối với tủ ẩm có gắn hệ thống tuần hoàn không khí có thể chồng cao hơn với khoảng trống ít cũng có thể được chấp nhận, trong trường hợp này cần kiểm tra xác nhận sự phân bố nhiệt độ.

Sau khi ủ, các đĩa thường được kiểm tra ngay. Tuy nhiên, có thể được bảo quản đến 48h trong tủ lạnh, trừ khi có quy định trong các tiêu chuẩn cụ thể. Việc bảo quản trong tủ lạnh có thể chấp nhận được nếu đã được chứng minh rằng không ảnh hưởng đến số lượng, về bề ngoài hoặc việc khẳng định tiếp theo của các khuẩn lạc. Với các môi trường nuôi cấy nhất định có chứa các chất nhuộm chỉ thị, thì các đĩa đã làm lạnh cần được cân bằng đến nhiệt độ phòng trước khi kiểm tra để đảm bảo màu sắc trở lại màu ban đầu.

Đếm các khuẩn lạc

Sau giai đoạn ủ như quy định trong tiêu chuẩn cụ thể, đếm các khuẩn lạc (tổng số khuẩn lạc, các khuẩn lạc điển hình hoặc khuẩn lạc giả định) đối với từng đĩa có chứa đến và bao gồm 300 khuẩn lạc (hoặc số bất kỳ số lượng khác được nêu trong tiêu chuẩn cụ thể).

Khi đếm các khuẩn lạc điển hình hoặc khuẩn lạc giả định, phải mô tả khuẩn lạc như được nêu trong tiêu chuẩn cụ thể.

Trong một số trường hợp, có thể khó để đếm các khuẩn lạc (ví dụ: có mặt các vi sinh vật mọc lan). Coi các khuẩn lạc mọc lan là các khuẩn lạc đơn lẻ. Nếu ít hơn một phần tư đĩa nhiều khuẩn lạc mọc lan, thì đếm những khuẩn lạc trên một phần không bị ảnh hưởng và tính bằng cách ngoại suy số đếm lý thuyết của các khuẩn lạc cho toàn bộ đĩa. Nếu có nhiều hơn một phần tư đĩa có khuẩn lạc mọc lan thì bỏ không đếm. Coi một chuỗi các khuẩn lạc là một đơn vị hình thành khuẩn lạc.

CHÚ THÍCH: Trong một số trường hợp, có thể hữu ích khi bảo quản các đĩa đã cấy ở $(3 \pm 2)^\circ\text{C}$ để sử dụng trong so sánh với các đĩa đã cấy và ủ trong khi đếm, để tránh đếm nhầm các hạt của sản phẩm là khuẩn lạc. Cũng có thể dùng kính lúp để phân biệt các hạt sản phẩm với các khuẩn lạc.

Có các phương pháp tính được nêu có tính đến các trường hợp đặc biệt và cung cấp thông tin về các khoảng tin cậy.

Trong các phương pháp tính toán khác nhau, cần phải tính đến các đĩa không chứa các khuẩn lạc nào trong các đĩa đã được giữ lại, vì khi tính trung bình khối lượng của các đĩa này là không đáng kể.

Nhuộm Gram (kỹ thuật Hucker cải biến)

Kỹ thuật nhuộm

Sau khi đã cố định trên lam kính màng vi khuẩn được chuẩn bị từ dịch cấy từ 18h đến 24h, hoặc khi canh thang đã đục, thì phủ lên màng này dung dịch tím tinh thể. Để cho phản ứng xảy ra trong 1 min.

Tráng nhẹ lam kính để ở tư thế nghiêng bằng nước trong vài giây.

Phủ lên lam kính dung dịch iodine. Để cho phản ứng xảy ra trong 1 min.

Tráng nhẹ lam kính để ở tư thế nghiêng bằng nước trong vài giây.

Rót một cách nhẹ nhàng và liên tục một lớp mỏng dung dịch etanol (95 %) lên lam kính để nghiêng trong khoảng thời gian không quá 30 s cho đến khi không còn màu tím.

Tráng nhẹ lam kính để ở tư thế nghiêng bằng nước để loại etanol. Phủ lên lam kính bằng dung dịch safranin trong 10 s. Tráng nhẹ lam kính để ở tư thế nghiêng bằng nước.

Làm khô lam kính.

Diễn giải kết quả

Kiểm tra lam kính dưới vật kính dầu có độ phóng đại cao của kính hiển vi. Các tế bào vi khuẩn có màu xanh lam hoặc màu tím là Gram dương (Gram +); có màu từ hồng thẫm đến đỏ là Gram âm (Gram-).

Đối với chủng thuần khiết của một vài dạng vi khuẩn nhất định, có thể thu được cả tế bào Gram dương và Gram âm trong cùng một trường hiển vi.

Phương pháp làm tiêu bản phòng ẩm

Chuẩn bị các đĩa petri sạch có chứa bông thấm nước, lam kính, lamén. Hấp vô trùng ở 121 °C trong 15 phút

Chuẩn bị môi trường thích hợp, đổ 1 lớp mỏng khoảng 1mm vào đĩa petri đã hấp khử trùng. Khi thạch đông, dùng dao vô trùng cắt thành các miếng thạch kích thước 0,5 x 0,5 (cm)

Đặt miếng thạch đã cắt vào lam kính trong đĩa petri đã chuẩn bị ở trên. Dùng que cấy vô trùng cấy bào tử nấm lên trung điểm của bốn cạnh miếng thạch. Dùng panh vô trùng đặt lamén lên miếng thạch, ấn nhẹ. Ủ trong tủ ẩm (30 ± 1 °C)

Tiến hành quan sát hình thái tế bào của nấm mốc và xạ khuẩn sau các mốc thời gian 24h, 48h, 72h, 96h bằng kính hiển vi. Ghi nhận đặc điểm hệ sợi, cấu tạo và hình dạng bào tử, cuống bào tử (Nguyễn và cs., 1976)

Phụ lục 6: Môi trường nuôi cấy.**Môi trường MRS**

Peptone	10g	Amoni citrate	5g
Cao thịt	10g	Tween 80	1g
Cao nấm men	5g	MnSO ₄	vết
Glucose	20g	Agar	20g
KH ₂ PO ₄	2g	Nước cất	1000ml
CH ₃ COONa	5g		

Môi trường PGA

Dịch chiết khoai tây	250ml	Agar	20g
Glucose	20g	Nước cất	1000ml

Môi trường AB

Sucrose	20g	MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2g
KH ₂ PO ₄	0.2g	NaCl	0.2g
K ₂ SO ₄	0.1g	Agar	20g
CaCO ₃	5g		

Môi trường NB

Glucose	10g	KCl	0.2g
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5g	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.1g
MgCl ₂ .6H ₂ O	5g	Agar	20g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.25g		

PHỤ LỤC 7: CÁC SỐ LIỆU THÔ TRONG QUÁ TRÌNH NGHIÊN CỨU

Số liệu về độ thoáng khí

Độ thoáng khí (%)				Trung bình
GT1	35,25	35,55	35,7	35,5
GT2	31,6	32,25	32,15	32
GT3	45,55	45,5	45,45	45,5
GT4	30,45	30,9	30,9	30,75

Số liệu về khả năng giữ nước

Khả năng giữ nước (%)				Trung bình
GT1	37,85	37,7	37,7	37,75
GT2	40,65	40,35	40,5	40,5
GT3	30,8	31,15	31,05	31
GT4	39,65	39,4	39,45	39,5

Số liệu về độ xốp

Độ xốp (%)				Trung bình
GT1	73,1	73,25	73,4	73,25
GT2	72,25	72,6	72,65	72,5
GT3	76,35	76,65	76,5	76,5
GT4	70,1	70,3	70,35	70,25

Cây dâu tây cấy mô

Xử lý số liệu về số lá

Giá thể 1														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	3	4	3	3	4	4	4	5	5	6	7	5	6	6
2	2	2	3	2	3	3	4	5	5	6	6	7	6	6
3	5	5	5	5	4	5	5	5	5	7	7	5	5	5
4	6	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	4	4	4
5	9	12	12	12	7	8	5	5	6	5	6	5	4	5
6	2	3	3	3	5	6	3	4	4	5	5	6	7	7
7	3	4	4	4	4	3	3	4	5	5	6	5	4	5
8	3	4	4	4	3	4	4	5	4	4	5	4	5	5
9	4	4	4	4	4	4	5	5	6	5	6	4	3	5
10	8	8	9	9	9	10	3	3	4	5	5	4	4	4
11	4	3	3	3	4	4	3	4	5	5	6	4	5	6
12	4	4	5	4	3	3	3	3	4	5	5	3	2	3
13	3	3	4	5	5	6	6	5	6	6	7	7	6	6
14	8	10	10	10	4	4	3	4	4	5	5	6	7	6
15	5	5	5	5	4	5	4	5	6	5	7	5	6	5
16	6	5	5	5	3	4	5	5	6	6	7	3	5	4
17	5	4	4	4	4	4	5	5	4	5	5	4	5	4
18	4	5	6	6	4	5	4	4	4	4	5	3	3	4
19	6	6	6	6	4	4	3	4	4	4	4	3	3	3
20	5	6	6	6	4	4	3	4	4	5	5	6	5	5
21	4	4	5	5	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3
22	5	5	5	5	3	3	3	3	3	4	5	4	4	4
23	3	4	5	5	3	3	3	3	4	4	4	3	3	3
24	6	6	6	6	4	4	4	5	5	5	6	6	6	5
25	5	5	5	5	3	4	3	3	3	4	4	5	6	6
26	6	6	6	6	4	5	4	5	5	5	5	3	3	3

27	6	6	6	6	4	4	4	5	5	5	6	4	4	3
28	5	5	5	5	3	4	3	3	4	4	4	3	3	3
29	8	8	8	8	6	6	5	5	6	6	7	7	6	7
30	5	5	5	5	4	4	3	3	4	5	6	3	3	4
TB	4.9	5.1	5.3	5.3	4.1	4.5	3.8	4.2	4.5	4.9	5.4	4.4	4.5	4.6
	3	7	7	3	0	0	0	0	7	3	7	7	3	3

Giá thể 2														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	6	6	5	5	4	5	5	4	5	6	5	4	5	6
2	4	6	6	6	7	8	4	3	5	3	4	5	4	3
3	7	6	6	6	7	8	4	5	4	5	6	5	5	5
4	2	2	2	2	3	4	5	5	6	7	6	5	5	5
5	2	2	3	5	6	5	5	5	5	6	6	6	5	6
6	4	5	5	5	3	3	4	4	5	5	6	6	5	3
7	4	5	5	5	4	5	4	4	5	6	6	5	5	3
8	3	4	5	5	4	5	6	5	5	6	6	5	5	6
9	2	3	3	3	4	4	5	5	6	5	5	5	6	4
10	5	0	5	5	3	4	5	5	6	4	5	6	4	4
11	4	2	2	2	3	4	4	4	4	5	5	4	5	5
12	2	5	5	5	4	4	4	4	5	4	5	6	5	5
13	4	3	3	3	3	4	5	6	6	7	6	6	5	5
14	5	6	6	7	7	8	6	5	4	5	6	5	5	5
15	2	3	3	3	4	4	5	4	3	4	5	5	4	4
16	5	6	6	6	5	5	5	5	6	6	6	5	6	4
17	5	4	4	4	5	4	5	6	5	5	4	4	5	4
18	2	2	2	2	1	1	2	3	4	5	5	4	4	5
19	4	3	3	3	3	4	5	6	5	4	4	3	3	3
20	4	4	4	4	2	5	5	5	4	5	4	4	5	4
21	2	2	2	2	2	3	4	5	5	4	4	5	4	4

22	3	3	3	3	3	3	3	4	4	3	4	4	3	4
23	5	4	4	4	3	3	2	3	4	4	3	3	4	4
24	3	3	3	3	3	4	5	5	4	4	4	3	3	3
25	5	5	5	5	4	5	4	5	5	4	4	5	4	4
26	6	5	5	5	4	4	4	4	5	3	3	4	4	5
27	5	4	4	4	3	4	3	5	4	4	4	5	5	4
28	3	3	3	3	2	3	3	3	4	5	4	5	5	4
29	2	2	2	2	3	4	4	3	4	4	3	4	4	3
30	5	5	5	5	4	4	4	3	4	3	3	4	4	5
TB	3.8 3	3.7 7	3.9 7	4.0 7	3.7 7	4.3 7	4.3 0	4.4 3	4.7 0	4.7 0	4.7 0	4.6 7	4.5 3	4.3 0

Giá thể 3														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	3	3	3	3	4	5	4	5	5	6	5	6	6	5
2	2	2	2	3	3	4	3	4	3	2	3	4	3	3
3	7	6	6	6	4	5	4	4	5	5	5	6	7	5
4	5	5	3	3	4	5	2	3	3	2	3	2	3	4
5	5	2	3	2	3	3	4	4	3	4	3	2	3	3
6	4	4	4	4	5	5	3	3	4	3	2	3	3	3
7	2	4	5	4	4	5	3	3	2	3	3	3	4	3
8	2	2	2	2	4	5	4	5	5	6	6	7	7	5
9	2	2	2	2	3	3	4	4	3	4	5	4	4	3
10	4	2	2	2	3	3	4	3	3	4	3	2	3	3
11	2	1	3	3	4	4	5	5	5	4	4	3	3	4
12	5	6	6	6	3	3	4	4	3	3	4	5	6	5
13	4	3	3	3	3	2	3	3	3	4	3	3	4	3
14	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	4	3	4	3
15	5	3	3	3	4	4	3	4	5	4	4	3	4	4
16	3	2	2	2	3	3	4	3	3	4	4	4	6	6

17	4	4	4	4	4	4	3	4	4	3	4	5	4	4
18	2	2	3	4	3	3	4	4	3	2	3	3	4	5
19	2	2	1	4	4	3	4	5	4	4	3	3	4	3
20	3	3	2	2	3	4	3	2	3	3	3	4	3	4
21	3	2	1	1	1	2	2	2	2	2	2	3	3	3
22	3	2	2	2	1	2	3	3	4	3	2	3	3	3
23	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	4	3
24	3	2	2	2	4	4	3	4	3	2	3	3	3	4
25	6	5	2	2	2	3	3	3	4	3	3	3	2	2
26	4	4	4	4	2	3	4	3	3	4	3	2	3	3
27	4	3	3	3	3	3	4	3	3	4	3	4	3	3
28	4	3	2	2	3	4	3	1	1	1	1	2	2	3
29	5	4	2	2	1	4	4	3	4	5	3	4	3	4
30	4	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3
TB	3.6	3.1	2.8	2.9	3.1	3.5	3.4	3.4	3.3	3.3	3.2	3.4	3.8	3.6
	3	0	3	3	0	3	0	0	3	7	7	7	0	3

Giá thể 4														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	3	4	4	4	3	3	3	3	4	4	3	3	4	4
2	4	4	4	4	5	5	3	4	4	4	5	6	4	4
3	3	2	2	2	3	3	3	3	4	4	3	3	4	4
4	4	4	4	4	6	6	5	3	4	4	4	5	6	4
5	4	4	4	4	6	6	6	4	3	4	4	5	5	6
6	4	5	5	5	7	7	6	7	7	8	6	6	7	4
7	4	4	4	4	2	2	2	3	4	4	5	5	7	6
8	6	5	5	5	3	3	4	4	5	5	6	6	7	5
9	6	6	6	6	5	5	5	3	3	5	4	4	5	5
10	4	5	5	5	4	4	4	4	5	5	6	7	7	5
11	5	6	6	6	5	5	5	5	5	6	6	6	7	4

12	4	5	5	5	3	3	3	3	4	4	3	3	4	4
13	2	3	3	4	4	4	3	3	4	4	5	5	7	6
14	3	3	3	4	4	4	4	5	5	6	7	8	8	6
15	2	3	3	4	4	4	5	4	4	4	5	5	6	5
16	3	4	4	5	5	4	4	5	5	6	6	6	5	4
17	4	6	6	5	5	5	5	3	4	4	4	5	6	4
18	4	6	6	6	4	4	4	5	5	6	6	6	5	4
19	2	3	3	4	3	3	4	3	4	3	3	4	4	5
20	5	5	4	4	3	3	3	3	4	4	3	3	4	4
21	5	4	4	3	2	2	3	3	3	4	5	6	7	6
22	4	6	6	5	5	5	4	4	5	6	6	5	5	4
23	5	6	5	6	4	3	3	4	4	5	4	3	4	5
24	4	5	5	5	3	3	3	3	4	4	4	6	6	5
25	4	5	5	4	3	3	3	3	2	3	4	5	6	8
26	5	3	3	4	4	4	3	3	4	4	4	4	3	4
27	5	4	4	5	3	3	2	3	3	3	4	5	6	7
28	6	5	5	5	3	3	5	6	6	5	5	5	6	4
29	6	6	5	5	2	2	3	4	5	5	6	4	5	6
30	6	5	5	4	2	3	3	4	4	5	5	6	6	5
TB	4. 20	4. 53	4. 43	4. 53	3. 83	3. 80	3. 77	3. 80	4.2 3	4.6 0	4.7 0	5.0 0	5.5 3	4.9 0

Xử lý số liệu về chiều cao

Giá thể 1														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1					3.	3.	4.	5.	5.	6.			10.	15.
	4	5.2	5.1	5.1	7	6	4	8	7	1	8	10	3	5
2		4.2					3.	6.	6.		10.	12.	13.	
	3.9	5	4.4	4.5	4	4	8	3	7	7	2	9	2	17
3							6.	7.			10.	12.	12.	17.
	3.2	4.5	4.5	4.5	5	5	3	6	8	9	1	3	3	5

4					3.	3.		5.	5.	6.			10.	16.
	3.9	3.2	3.2	3.1	4	4	4	4	7	7	8.5	9	1	5
5					3.	3.	3.	4.	4.	5.			10.	14.
	3	3.4	3.6	3.7	2	2	5	9	9	4	6.4	8.8	4	8
6					4.	4.	4.		4.	5.				10.
	3	3.5	3.5	3.5	5	4	2	4	3	4	6.5	8.5	9.8	4
7					2.	2.	3.	5.	5.	5.			12.	14.
	3	3.3	3.4	3.4	9	9	4	3	7	9	9	10	8	8
8		4.2			3.		3.	6.	6.			12.	13.	17.
	3.1	5	4.2	4.2	9	4	8	3	7	7	10	9	2	5
9		4.0				5.	6.	7.	7.	8.		10.	10.	13.
	3.2	5	4.1	4.1	5	1	3	1	6	4	9.2	4	8	5
10		4.3	4.3	4.3			3.	4.						10.
	3.6	5	5	5	4	4	8	5	4	4	4.6	6	7.3	6
11		4.1			4.	4.	3.	4.	4.	5.				10.
	2.9	5	4.2	4.2	5	6	9	2	3	4	6.1	8.5	10	4
12					4.	4.		6.	6.	6.				
	3.3	4.2	4.5	4.7	9	9	6	3	4	2	6	8.1	7.9	8.5
13					1.	2.	3.	5.	5.	5.				14.
	0.6	1	1	1	8	9	4	3	7	9	9.5	10	13	8
14					2.	2.	4.	5.	5.	6.			10.	15.
	2.9	2.5	2.6	2.7	8	9	4	8	7	1	8.2	10	5	5
15						3.	4.	5.	5.	5.				13.
	4.8	5.8	5.9	6	3	1	3	5	5	7	7.2	8.6	9.6	6
16					3.	3.	5.	5.	5.	7.				14.
	3	3.1	3.1	3.2	5	6	2	9	5	1	7.6	8.6	9.2	3
17					4.	4.	6.	7.	7.	8.			10.	15.
	4.4	1.9	1.9	1.9	8	9	5	9	7	5	8.6	9.9	4	4
18						3.	4.	5.	5.				10.	
	4	5.2	5.3	5.1	4	6	4	8	7	7	8.2	10	3	15

19		4.2			4.	4.		6.	6.	7.		12.	13.	
	4.1	5	4.2	4.2	3	5	5	3	7	5	11	9	2	18
20						4.		6.	6.	6.				
	3	4.4	4.5	4.7	5	9	6	3	5	2	6	8.1	8.2	8.5
21					3.	3.		5.	5.	5.			12.	14.
	3	3.3	3.4	3.4	5	7	4	3	7	9	8.5	9.4	8	7
22					4.	4.	4.		4.	5.				10.
	3.3	3.5	3.6	3.9	5	4	7	4	3	4	6.5	8.5	10	4
23					4.	4.		5.	5.	6.			10.	16.
	3.9	4.4	4	4.2	4	5	4	4	7	7	8.2	9	4	3
24						5.		7.	7.	8.			10.	
	2.9	4	4.1	4.5	5	1	6	1	6	4	9.2	9.9	8	13
25		4.3					3.	4.		4.				10.
	4	5	4.4	4.3	4	4	8	3	4	2	4.6	6	7.3	7
26					3.	3.		5.	5.	6.			10.	
	3	3.2	3.2	3.3	4	5	4	4	9	7	8.5	9.4	1	16
27					3.	3.	5.	5.	6.	7.				14.
	2.8	3.1	3.2	3.2	5	9	2	9	2	1	7.6	8.6	9.4	5
28					3.		4.	6.	6.	7.			13.	17.
	3.1	4	4.2	4.2	9	4	5	3	7	5	9.5	12	2	2
29						5.		6.	6.	6.				
	3.3	4.2	4.5	4.7	5	2	6	3	4	5	6	8.1	7.9	9
30					4.	4.		4.	4.	5.				
	2.9	4	4.2	4.2	5	8	4	2	3	4	6.3	8.5	9.8	11
TB					3.	3.	4.	5.	5.	6.			10.	15.
	4	5.2	5.1	5.1	7	6	4	8	7	1	8	10	3	5

Giá thể 2														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	4.3	3.7	3.1	3.2	3.3	3.3	4.3	4.8	5	6.2	8.6	9.6	11.5	13
2	4.5	4.7	3.6	3.6	5.3	5.4	6.2	5.9	5.7	5.5	6.3	8	9.2	12.1

3	3.4	1.8	1.8	1.8	3.2	3.2	3.5	3.7	3.5	3.5	5.4	6.4	8	11.1
4												10.		
	3.4	3.1	3.1	3.3	3.7	3.9	6.1	6.4	7	7.5	9.6	5	11	13.8
5	1.7	1.1	1.1	1.2	3.7	3.1	3.3	4	4.1	5.6	5	6.7	9	9.4
6	3.1	1.9	3	3	4.9	5.1	6.4	6.8	6.8	6.9	8.5	9.6	10.3	13.8
7											10.	12.		
	4.5	4	4	4	4.8	5	7.3	6.9	6.5	8.5	3	7	14.5	16.6
8	4.2	5.8	5.8	5.9	5.3	5.4	6.2	5.9	5.7	5.5	6.7	8	9.4	11.3
9												11.		
	4	5.5	5.5	5.6	4	4	5.6	6.2	7.1	7.9	9.4	2	12.9	15.5
10												11.		
	3.1	4	3.3	3.4	5.2	5.4	7.4	7.3	7.2	7.8	9	3	12	16.4
11	3.8	3.5	3	3	4	4.2	4.4	4.4	4.4	5.2	6.7	9	9.4	13
12	3	4.4	4.4	4.7	3.3	3.3	4.3	4.8	5.1	6.2	8.6	9.6	11.5	15.1
13	2.8	1	1	1	2.2	2.3	3.1	2.9	2.6	3.1	4.5	6.3	6.5	7.5
14	2.8	3.6	5.3	5.4	3.3	3.4	5.2	5.4	6	6.2	5.9	5.7	7	8.5
15	2.9	3.7	3.1	3.3	4	4.1	5.6	5	4.4	5	5.5	6	7	8.6
16												10.		
	3.9	4.5	2.9	3	3.7	3.9	6.1	6.4	6.4	7.5	9.4	5	11.2	15.8
17	3.3	2.6	3	3	4.9	5.1	6.4	6.8	7	6.9	8.2	9.6	10.5	15
18											10.	12.		
	3.4	3.1	3.1	3.3	4.2	4.4	4.4	4.4	6.5	8.5	3	7	14.5	16
19											10.	12.	11.	
	3	4.5	4	4	5.2	5.4	7.4	7.3	8.5	3	7	2	12.9	14
20	3	3	4	3.3	3.3	4.3	4.8	5.2	5.4	6	6.2	5.9	7	9.6
21	3.1	3.1	3.3	3.4	5.2	5.4	4	4.1	5.6	5	7.9	9.4	11.2	13
22	3.4	3.1	3.1	4	3.3	3.4	5.2	4.8	5	7.3	6.9	9.6	10.5	11.3
23	3	3	4.9	5.1	5.5	5.5	5.6	4	4.8	5	7.3	6.9	8	8.6
24												11.		
	2.5	3.7	3.1	3.3	4	4	4.8	5	5.6	6.2	7.1	2	12.9	16
25	3	4	4.4	4.7	3.3	4	5.6	5.4	6.2	5.9	5.7	6.4	7.5	9.4

26	3.8	3.5	3	3	4.9	5.1	6.4	6.4	7.5	9.4	10. 5	10. 3	12.7	11.2
27	3.7	3.1	3.3	3.3	3.3	4.3	4.8	5.1	5.4	6	6.2	5.9	5.7	7
28	2.7	3.3	3.3	4.3	4.8	4.9	5.1	6.4	6.8	7	6.9	8.5	10.3	12.7
29	3	3	4	4.2	4.4	5.1	6.4	6.8	7	6.9	7.3	6.9	9.6	10.5
30	3.1	2.9	2.6	3.1	4.5	5.2	5.4	7.4	7.3	7.2	6.9	9.6	10.5	12
TB	3.3 1	3.4 1	3.4 4	3.5 8	4.1 6	4.3 7	5.3 8	5.5 3	5.8 7	6.5 2	7.6 5	8.8 4	10.1 4	12.2 6

Giá thể 3														
Câ y	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	2.9	3	3	3	3.3	3.7	3.9	6.1	6.4	7	7.5	9.6	10. 5	11
2	3	1	1.2	3.7	3.1	3.3	4	4.1	5.6	5	6.7	6.4	7	7.5
3	2.5	3.6	3.6	3.6	4.2	4.4	3.4	3	3.4	4.4	5.4	5	6.6	10. 8
4	3.5	2.5	3.4	3.4	3.6	3.7	2.4	3.4	3.1	3.1	3.3	3.7	3.9	6.1
5	3.6	5.1	5.5	5.6	4	4	5.6	6.2	7.1	6.8	6.8	6.9	8.5	9.6
6	3	3.6	4.5	4.7	4.5	4.6	1.8	1.8	3.2	3.2	3.5	3.7	3.5	5.4
7	3.2	3.7 5	4	4	4	4.8	5	7.3	6.9	6.5	7.4	7.3	7.2	7.8
8	2.2	2.7	2.2	2.3	2.2	2.2	3.4	4.2	3.4 5	3.4 9	4.4 4	5.6	5.8	6.3
9	3.3	2.7	2.8	2.9	3	3	4.9	5.1	6.4	6.8	6.8	6.9	7	7.3
10	3.5	4.5	4.5	4.5	4.8	5	7.3	6.9	6.5	8.5	10. 3	10. 6	11. 2	11. 5
11	2.7	2.7	2.8	2.9	3.1	3.4	3.4	4	5.4	5.7	6.7	8.5	9	9.5
12	3	3.3	3.3	3.3	3.4	3.5	4.2	2.9	3.3	5.3	5.7	5.9	9	10
13	3.6	2.5	2.6	2.6	3.9	3.2	3.2	3.1	3.4	3.4	4	5.4	5.7	6.4

14	4.4	3.5	3.5	3.5	4.5	4.4	4	3.8	6.3	6.7	8.2	10	10.	11.		
15	4	4.4	1.9	1.9	1.9	4.8	4.2	4.2	4.3	4.5	5	6.3	6.8	7.6		
16	3.8	3.9	4	4.3	5	4.4	4.3	4	5	5.9	6	3	3.1	4	5.2	
17	3	3.1	4.3	5.5	5.5	5.7	5.3	4.6	4	4.1	4.5	5	5.1	6		
18	3.3	3.4	3.4	2.9	2.9	3.4	3.1	3.1	3.2	3.5	3.6	5.2	6	6.5		
19	3.8	3.9	4.2	4.2	4.3	4.5	5	6.3	5.9	6	3	3.1	4.3	5.5		
20	1	1	1.8	1.9	1.9	4.8	4.9	3.8	4.3	4	4.2	4.6	6	7.3		
21	2.5	2.7	3.1	3.1	3.2	3.5	3.6	5.2	4.0	5	4.1	4.1	5	5.1	6.3	
22	1.7	1.9	1.9	4.8	4.9	5	4.4	1.9	1.9	1.9	4.8	5.8	5.7	6.1		
23	2.9	2.5	2.6	2.7	4	3.1	3.2	3.2	3.5	4.1	5	5.1	6.3	7.1		
24	3.4	3.5	3.7	4	5.3	4	4.2	4.2	3.9	4	6.5	6.2	6	8.1		
25	3.5	3.5	4.5	4.4	6	3	3.1	4.3	5.5	5.4	5.7	6.7	8.2	9		
26	3.5	3.6	4.7	4.4	3.1	3.2	3.5	3.6	5.2	6.3	6.7	7.5	9.5	10		
27	3.6	4.3	4.3	4.3	5	4	4.0	5	4.1	4.1	5	5.1	6.3	6.1	8.5	10
28	4	5.2	5.3	5.1	4	3.6	4.2	4.2	4.3	4.5	5	6.3	7	7.2		
29	3	3.2	3.2	3.3	3.4	3.5	4	4.7	4	4.3	5.4	6.5	6.8	7.3		
30	3.1	3.1	3.2	3.5	3.6	5.2	5.4	5.7	6.7	8.2	9	8.5	9.4	10.	1	
TB	3.1	3.2	3.4	3.6	3.8	3.9	4.0	4.3	4.7	5.0	5.6	6.2	7.0	7.9		
	5	6	4	8	3.8	6	9	3	4	6	2	7	2	9		

Giá thể 4														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	4	6.2	4	6.4	6.2	7.1	7.9	9.4	11.	12.	18.	19	20	20.1
									2	9	5			

2													12.	
	4.1	3.7	4	3.9	3.9	5.9	5.5	5.1	5	6.2	7.4	7.9	2	14.5
3	3.7	2.9	2	3	3	4	4.2	4.4	4.4	4.4	5.2	6.7	9	9.4
4				4.2										
	5	4.2	4	5	5.3	5.3	5.2	2.9	3.1	4.5	6.3	6.5	7	8.5
5				4.6										
	5.3	4.5	4	5	5.6	5.6	5.5	3.5	2.4	2.3	4.1	4.8	4.9	7
6	4.1	3.6	5	3.3	3.5	3.5	2.9	2.4	2.8	2.5	3.2	3.2	3.4	6.7
7	4.7	4.5	4	4.7	4.7	4.7	4.9	5	5.2	6.7	9	9.4	13	14
8	4	3.1	5	3.2	3.6	3.6	4.8	5.4	7.2	7.6	8.4	8	8.6	11
9	4.3	3.6	6	3.8	2.9	2.9	3.4	3.9	3.6	3.7	3.7	5.4	6.4	8
10	5.3	4.7	5	4.9	3.9	3.9	5	5.5	5.1	5	6.2	7.4	7.9	12.2
11				5.2										
	6	5.3	6	5	5.4	5.4	5.8	6	5	5.7	6.8	6.1	7.7	10.2
12	3.4	3.2	5	3.1	3.4	3.4	3.6	3.7	3.9	4.5	2.9	3	3.7	4.5
13												11.	12.	
	4	5.5	5.5	5.6	4	4	5.6	6.2	7.1	7.9	9.4	2	9	15.5
14												11.		
	3	3.2	3.3	3.4	5.2	5.4	6.4	7.3	7.2	7.8	9	3	12	15.4
15	3.8	3.5	3	3	4	4.2	4.4	4.4	4.4	5.2	6.7	9	9.4	13
16													11.	
	3.8	4.4	4.4	4.7	3.3	3.3	4.3	4.8	5.1	6.2	8.6	9.6	5	15.1
17	2.8	1	1	1	2.2	2.3	2.6	2.9	2.6	3.1	4.5	6.3	6.5	9
18				4.6										
	3.1	4.5	4	5	5.6	5.6	5.5	3.5	2.4	2.3	4.1	4.8	4.9	8
19	3	3.6	4.3	5	3.5	3.5	2.9	2.4	2.8	2.5	3.2	3.2	3.4	9.8
20	3.4	4.5	4	4.7	4.7	4.7	4.9	5	5.2	6.7	9	9.4	13	14
21	4	3.1	5	5	3.6	3.6	5	5.4	7.2	7.6	8.4	8	8.6	12.1
22	3	3.6	6	6	2.9	2.9	3.4	3.9	3.6	3.7	3.9	4.5	2.9	5
23	3.9	4.7	5	3.7	3.9	3.9	5.9	5.5	5.1	5	6.2	7.4	7.9	12.2

24	4	4	4.3	5.2 5	5.4	5.4	5.8	6	5	5.7	6.8	6.1	7.7	10
25	3.9	4.7	3.6	3.6	5.3	5.4	5.5	5.9	5.7	5.5	6.3	8	9.2	12
26	3.4	1.8	1.8	2.6	3.2	3.2	3.5	3.7	3.5	3.5	5.4	6.4	8	11.1
27	3.8	3.5	3	3.5	4	4.2	4.4	4.4	4.4	5.2	6.7	9	9.4	13
28	3.6	4.4	4.4	4.7	3.3	3.3	4.3	4.8	5.1	6.2	8.6	9.6	11. 5	13
29	3.9	4.5	2.9	3	3.7	3.9	5	6.4	6.4	7.5	9.4	10. 5	11. 2	14.8
30	3.5	4.7	3.6	3.6	5.3	5.4	6.2	5.9	5.7	5.5	6.3	8	9.2	11.2
TB	3.9 3	3.9 6	4.1 0	4.1 2	4.1 5	4.3 2	4.8 1	4.8 5	4.9 1	5.4 4	6.8 1	7.6 6	8.7 7	11.3 4

Xử lý số liệu về chiều dài lá

Giá thể 1														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	1.2 5	0.9	0.9	0.9	1.1	1	1.9	1.5	1.3	2.5	2.9	3.5	4.1	5.9
2	0.9 5	0.6	0.9	1.2	1.3	1.2	1.4	1.7	1.9	2.3	3	3.2	4.2	5.4
3	1.1	0.7	1	0.8	1.6	1.6	1.2	2	2.2	3.1	3.5	4.1	4.5	6.2
4	0.5	0.5	0.6	0.5	1	1	1.3	1.8	1.8	2.3	2.5	3	4.1	5.5
5	0.7	0.7	0.8	0.7	0.9	0.9	0.9	1.5	1.5	2	2.5	3.1	3.7	5.2
6	1	0.9	0.9	0.8	1	0.9	0.9	1.2	1.5	1.9	2.4	3	3.5	4.7
7	1	1.2	1	1	1	1.1	1.2	1.5	1.6	2.1	2.7	3.2	4.3	4.7
8	1.3	1.2	1.1	1.2	1.1	1.2	1.4	1.8	1.9	2.3	3	3.5	4.2	5.3
9	1.5	1.5	1.1	1.6	1.5	1.5	1.6	2.3	2.3	2.9	3.2	3.7	4.1	5.5
10	0.7	0.8	0.7	0.8	1	1.1	0.7	0.6	1	1.2	1.7	2.1	2.6	3.7
11	1.9	1.1	1	1.2	1	0.9	1.1	1.5	1.7	2	2.4	3.1	3.6	4.7
12	1	1.1	0.6 5	0.7	1.1	1.1	1.5	1.8	1.7	2.2	2.1	2.9	2.6	3.2

13	0.3	0.6	0.6	0.6	0.8	1	1.3	1.5	1.8	2.3	2.7	3	4.1	5.6
14	0.8 5	0.8	0.7	0.9	0.9	0.7	1.1	1.1	1.2	1.5	1.8	2.1	2.2	2.9
15	0.9	1	0.9	1	0.8	0.7	1.2	1.4	1.5	1.9	2.5	3	3.5	4.9
16	1.0 5	1	1	1.2	1	1.2	1.4	1.6	2.2	2.5	3.1	3.6	4.2	4.8
17	0.9 5	0.9	0.9	0.9	1.1	1.2	1.5	1.7	2.1	2.5	2.7	3.5	4	5.4
18	0.8	0.9	0.9	0.9	1.1	1	1.8	1.5	1.3	2.5	3	3.5	4.1	5.7
19	0.6	0.7	1	1.1	1.5	1.6	1.8	2	2.2	3.1	3.6	4.1	4.5	6
20	0.6	0.8	0.8	0.9	0.9	1	1.1	1	1.3	1.7	2.1	2.8	3.4	5
21	0.5	0.5	0.6	0.9	1	1.1	1.3	1.6	1.8	2.3	2.7	3.3	3.8	5.4
22	0.8	0.9	1	1	1.1	1.1	1.2	1.5	1.6	2.1	2.6	3.2	4.3	5
23	0.9	1	1	1.2	1	1.2	1.4	1.6	2	2.9	3.3	3.6	4	4.6
24	0.7	0.8	0.9	1	0.8	0.7	1.2	1.3	1.5	1.9	2.6	3	3.5	5
25	0.6	0.6	0.8	0.9	0.9	1	1.1	1.5	1.7	2.1	2.4	3.1	3.6	4.9
26	0.9	1.1	0.8	0.9	1.1	1.1	1.5	1.9	2	2.2	2.6	2.9	3	3.9
27	1	1.2	1.1	1	1	1.1	1.2	1.5	1.6	2.5	3	3.5	4.5	5.3
28	1	1.1	1	1.2	1	1.1	1.1	1.4	1.7	2	2.8	3	3.6	4.5
29	1	1	0.9	1.1	1.1	1.2	1.2	1.3	1.8	1.8	2.3	2.5	3	4.1
30	0.8	0.8	0.9	1	1	1.1	0.9	1	1	1.5	1.7	2.1	2.7	3.8
TB	0.9 1	0.9 0	0.8 8	0.9 7	1.0 6	1.0 9	1.2 8	1.5 2	1.6 9	2.2 0	2.6 5	3.1 4	3.7 2	4.8 9

Giá thể 2														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	1.1	1.4	1.5	1.7	1.3	1.5	1.7	1.6	1.8	1.9	2.2	2.5	3	3.8
2	0.9	1.3	1.4	1.4	1.1	1.2	1.1	1.2	1.2	1.8	2.2	2.7	3.2	4
3	0.6	0.9	0.8	0.8	0.8	0.7	0.7	1	0.9	1.4	1.8	2.2	2.8	4
4	1.2	0.9	0.9	0.9 5	1	1.2	1.6	2.1	2	2.1	2	2.1	3.1	3.3

5	0.6	0.9	1	1	0.9	1	1	1.2	1.5	2.4	3	3.7	4	4
6	1.2	1.3	1.3	1.4	1.3	1.4	1.7	1.9	1.9	2.5	3.2	3.6	4	4.6
7	1	1.2	1.2	1.7	0.9	0.9	1.4	1.9	2.1	2.6	2.7	4	4.6	5.3
			5											
8	1.5	1.5	1.6	1.1	1.4	1.4	1.6	2.1	2	2.1	3.1	3.6	4.2	5.6
9	1	1.1	1.1	0.8	0.8	1	1.7	2	2	2.7	3.2	4	4.5	5
10	0.9	0	0.7	0.5	1	1.2	1.4	1.8	2	2.2	2.9	3.6	3.9	5.3
11	1	0.9	0.4	1	0.9	1	1	1.2	1.3	1.9	2.2	3.1	3.3	4.5
12	1.2	0.9	1	0.7	0.9	0.9	1.2	1.5	1.7	2	2.8	3	3.7	4.6
13	0.5	0.5	0.6	0.6	0.5	0.7	0.7	0.9	1	1.3	1.5	1.6	1.7	2.5
14	0.7	1.2	1.4	1.7	1	1.1	1.4	1.9	2.1	2.6	2.9	4	4.6	5.4
15	1.5	1.3	1.4	1.5	1.1	1.3	1.5	1.7	1.6	1.8	1.9	2.2	2.5	3
		5												
16	1.4	1.4	1	1	1.4	1.4	1.6	2.1	2	2.1	3.1	3.6	4.2	5.6
						5								
17	1.1	1	1.2	1.2	1.4	1.5	1.7	1.3	1.2	1.2	1.8	2.2	2.7	3.2
18	0.8	0.9	1.2	1.1	0.8	1	1.2	1	0.9	1.4	2	2.8	3.6	4.1
19	0.9	1	1.2	1.1	0.9	0.8	1.2	1.4	1.8	2	2.4	2.9	3.7	4.1
20	0.7	0.8	1.1	0.6	0.7	1.1	1.4	1.9	2.1	2.6	2.9	4.2	4.6	5.1
21	0.9	0.9	1.2	0.9	1	1.2	1.4	1.8	2	2.8	3.3	4	4.8	5
22	1	1	1.3	1.2	1.1	1	1.3	1.6	1.8	1.9	2.2	2.5	3	3.6
23	1	0.9	1.3	1	0.9	1	1	1.2	1.3	2.4	3	3.5	4	4.4
24	1.2	1	1.3	0.7	0.9	1	1.2	1.6	1.7	2.5	3.2	3.5	4	4.2
25	1.2	1.3	1.5	1.4	1.5	1.6	1.7	1.9	1.9	2.5	2.6	2.9	4.2	4.3
26	1	1.1	1.3	1.1	1	0.9	0.9	0.8	1	1.6	2.1	2	2.1	3.1
27	0.8	0.7	1	0.9	1	1.1	0.7	1	0.9	1.4	1.7	2.3	2.8	4.2
28	1.5	1.5	1.7	1.5	1.4	1.3	1.5	1.7	1.6	2.5	3.2	4	4.8	5.2
29	0.9	1.1	1.4	1.1	1.1	1	0.9	0.9	0.8	2.6	2.9	4	4.6	5.1
30	1	1	1.3	1.4	1.4	1.5	1.4	1.9	2.1	2.6	2.7	4	4.2	5
TB	1.0	1.0	1.5	1.1	1.0	1.1	1.2	1.5	1.6	2.1	2.5	3.1	3.6	4.3
	1	3	1	0	5	3	9	4	1	1	6	4	8	7

Giá thể 3														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	0.7	0.5	0.5	0.5	0.7 5	0.9	1.1	1	1.9	1.5	1.3	2.5	2.9	3
2	1.1	1.7	1.6	1.5 5	1.6	1.4	1.2	2	2.2	3.1	3.5	3	3.1	3
3	0.7	0.5	0.5	0.5	0.8	0.9	1	1.7	1.4 2	1.4 3	2	2.3	2.5	4
4	0.9	1	1	1	1	1	1.3	1.8	1.8	2.3	2.5	3	4.1	3.7
5	1.4	1.3	1.2	1.1	1.3	1.5	1.6	2.1	2.7	3.2	4.3	3.5	4.2	4
6	1.3	0.6	1.5	1.7	0.9	1	0.9	1.2	1.3	1.2	1.4	1.7	2.3	3
7	1.1	1	0.7	0.6	0.8	1.1	0.7	0.6	1	1.2	1.7	2.1	2.6	3.7
8	0.6	1.3	0.7	0.8	1	1.1	1.1	1.3	1.4 2	1.4 2	2	2	2.9	3
9	0.6	0.5	0.5	0.5	0.7 5	0.8	1	0.9	0.9	1.2	1.5	1.9	2.4	3
10	1.1	1.6	1.6	1.2	1.2	1	0.9	1.1	1.5	1.7	2	2.4	3.1	3.6
11	0.9	0.8	0.8	0.8	1	0.9	1.1	1.2	1.3	1.6	1.9	2.2	2.8	3.2
12	0.8	0.9	1	1	1	1.1	1	1.1	0.9	0.9	0.8	1	1.1	1.3
13	1.3	1.7	1.8	1.9	2	1.6	1.6	1.9	2.4	3.1	3.5	3	3.2	3.3
14	0.8	0.8	0.9	0.9	1	0.9	0.7	0.9	0.9	1.1	1.3	1.8	2.1	2.8
15	1.2	1.3	1.3	1.2 5	1.3	0.8	0.9	0.9	1.5	1.8	1.5	1.7	2.5	2.5
16	0.9	0.9 5	0.8	0.8	0.8	1	1.1	1.1	1.2	1.7	2.2	2.9	3.2	3.7
17	1.1	1.3	1.4	1.3 5	1.4	1.5	1.6	1.6	1.7	1.8	2.1	2.5	3	3.8
18	0.8	0.7	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	1.1	1.3	1.5	1.6	1.9	2.4	3.1
19	0.9 5	1.2	1.1	1.1	1.2	1.2	1.3 5	1.4	1.4	1.2	2	3.1	3.6	3.2

20	0.9	1	0.8	0.8	0.8 5	0.9	1.2	1.2	1.1	1.1	1.3	1.8	2.1	2.9
21	0.8	0.9 5	0.9	0.8	0.9	0.9	1.1	1.2	1.3	1.6	1.9	2.2	2.8	3.2
22	0.8 5	0.9	0.8 5	0.8	0.8	0.9	0.9	1.4	1.4	1.3	1.4	1.5	1.9	2.5
23	1.1 5	1.3	1.1	1.2	1.2 5	1.2	1.2	1.3	1.6	2	2.2	2.9	3.5	3.1
24	0.8 5	0.9	1	1.0 5	1.1	1.1	1	1.2	1.3	1.3	1.5	1.6	1.9	2.4
25	0.9	0.9 5	0.8	0.8	0.9	0.9	0.7	0.9	0.9	1.1	1.3	1.8	2.1	2.8
26	0.8	0.9 5	0.7	0.7 5	0.8	1	1.1	1.1	1.2	1.7	2.2	2.5	2.6	2.8
27	0.9 5	1.1	1.2	1.2	1.2	1.2	1.3	1.3	1.5	1.6	1.9	2.4	3.1	3
28	0.8 5	1	1	1.1	1.2	1	1	0.9	1.3	1.6	1.9	2.4	2.8	2.6
29	1.3	1.4	1.1	1.2	1.2 5	0.9	1.1	1.3	1.8	2.1	2.8	2.9	3.2	3.4
30	0.9	1	0.8	0.8 5	0.9	0.9	1.3	1.2	1.3	1.6	1.7	2.2	2.8	3.2
TB	0.9 5	1.0 4	1.0 0	0.9 9	1.0 6	1.0 5	1.1 0	1.2 6	1.4 5	1.6 7	1.9 7	2.2 9	2.7 6	3.0 9

Giá thể 4														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	1. 4	1. 5	1. 6	1. 2	1. 5	1.4	1. 3	1. 5	1.7	1.6	2.5	3.2	4	4.8
2	0. 9	1	1. 1	1. 3	1. 4	1.5 5	1. 6	1. 5	1.6 5	1.8	1.8 5	2	2.2	3.9

3	0. 8	0. 7	0. 75	0. 75	0. 8	0.7	1	0. 9	1	1.1	1.2	1.5	1.7	2
4	0. 9	1. 01	1. 15	1. 25	1. 1	1.2 5	1. 3	1. 45	1.6	2.1	2	2.1	3.1	3.6
5	1. 4	1. 5	1. 6	1. 7	1. 1	1.1	1. 4	0. 8	1	1	1.2	1.4	1.5	3.5
6	1	1	1	1	1	1	0. 8	1	1.2	1.8	1.5	1.4	1.3	2.6
7	1. 1	0. 9	1	1	1. 1	1.1	1. 2	1. 25	1.3	1.4	1.7	1.9	1.9	2.5
8	1. 2	1. 2	1. 2	1. 3	1. 4	1.4	1. 4	1. 6	1.9	1.8	2.3	2.8	2.6	4.4
9	0. 8	0. 9	0. 95	1	1. 15	1.2	1. 3	1. 4	1.2	1.3	1.5	2.4	3	3.5
10	1. 1	1	1	1	1. 1	1.1	0. 9	1. 4	1.6	1.3	1.8	2.3	2.4	4.5
11	1. 3	1. 45	1. 5	1. 5	1. 5	1.5	1. 5	1. 4	1.8	2	2.8	2.7	3.3	6.7
12	0. 9	0. 7	0. 7	0. 7	0. 8	0.8	0. 8	1	1.2	1.3	1.5	1.7	2	2.9
13	1	1. 2	1. 3	1. 4	1. 6	1.7 5	1. 8	2. 2	2.2 5	2.5 5	2.7	2.9	3.1	5.1
14	1. 3	1. 35	1. 4	1. 35	1. 4	1.4	1. 4	1. 4	1.5	1.4	1.9	2.1	2.6	2.7
15	1. 2	1. 3	1. 45	1. 5	1. 6	1.7 5	1. 9	2. 1	2.2	2.4 5	2.5	2.6 5	2.7	4.4
16	1. 2	1. 25	1. 3	1. 4	1. 45	1.5	1. 65	1. 9	2.1	2.3 5	2.5	2.5 5	2.6	4
17	0. 8	0. 9	0. 95	1. 1	1. 2	1.4	1. 5	1. 65	1.8	1.9	2.1	2.3 5	2.4	4.2

18	0. 9	0. 95	0. 9	1	1. 1	1.1	1. 3	1. 5	1.7	1.6	1.8	1.9	2.2	2.5
19	1. 4	1. 45	1. 4	1. 4	1. 45	1.3 5	1. 5	1. 7	1.6	2.5	3.2	4	4.8	6
20	1. 1	0. 9	0. 95	1	0. 95	0.9	1. 1	1. 3	1.5	1.7	1.6	1.8	1.9	2.2
21	1	1. 1	0. 9	0. 9	0. 9	0.9 5	1. 1	0. 8	1	1.2	1	0.9	1.4	2
22	1. 3	1. 35	1. 45	1. 5	1. 5	1.6 5	1. 7	1. 95	2.1	2.3 5	2.5	2.7 5	2.8	3.9
23	1. 1	1. 2	1. 25	1. 3	1. 3	1.3 5	1. 4	1. 45	1.6	2.1	2	2.1	3.1	3.6
24	1	1. 1	1. 3	1. 4	1. 4	1.5 5	1. 6	1. 9	2	2.1	2.3	2.4 5	2.5	4
25	0. 9	0. 8	0. 9	0. 95	0. 95	1.1	1. 2	1. 25	1.7	0.9	0.9	1.4	1.9	2.1
26	0. 9	0. 95	0. 95	0. 95	0. 95	1	1. 2	1. 35	1.5	1.7	1.6	1.8	1.9	2.2
27	0. 8	0. 75	0. 8	0. 85	0. 85	0.9	1. 2	1. 5	1.7	2	2.8	3	3.7	4.6
28	1	1. 1	1	0. 95	1	0.9 5	1. 25	1. 5	1.4	1.5	1.6	1.7	1.9	2.5
29	1. 2	1. 25	1. 2	1. 3	1. 25	1	1. 2	1. 35	1.7	2	2.2	2.9	3.5	4.7
30	1. 3	1. 15	1. 15	1. 1	1	0.9	1	1. 2	1.3	2.4	3	3.5	4	5.5
TB	1. 07	1. 10	1. 14	1. 17	1. 19	1.2 2	1. 32	1. 44	1.5 9	1.7 7	2.0 0	2.2 7	2.6 0	3.7 0

Xử lý số liệu về chiều rộng lá

Giá thể 1														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	0.9	0.6	0.6	0.6	1	1	1.1	1.2	1.2	2.5	3.2	3.7	3.8	5.5
2	0.7	0.6	1	1.1	1	1.2	1.8	2	2.1	2.8	3	3.7	3.8	5
	5													
3	1.3	0.9	1	1	1.3	1.2	1.4	1.9	2.2	3.3	3.6	3.9	4.4	6
		5												
4	0.7	0.6	0.6	0.7	1	1	1.1	1.9	1.6	2.2	2.5	2.9	3.6	5.7
5	1	0.8	0.8	0.8	1	0.9	0.9	1.4	1.5	1.9	2.6	3	3.6	5.4
6	0.9	0.9	0.9	0.9	0.7	0.7	1	1.2	1.4	1.6	2	2.3	2.9	3.5
7	1	1.1	1	1	1.1	1.1	1.1	1.4	1.5	2.2	2.9	3.4	3.9	5
8	1.2	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.2	1.6	1.7	2.4	3	3.6	4	5.4
9	1.4	1.1	1.1	1.1	1.2	1.2	1.8	2	2.2	2.8	3.1	3.7	3.8	5.2
10	0.8	0.7	0.7	0.6	0.9	1	0.9	0.9	1	1.4	1.6	2	2.6	3.4
				5										
11	1.8	0.9	1	1	0.9	0.9	1.2	1.4	1.5	1.8	2.4	2.6	3.2	4.7
12	1	1	0.6	0.6	1.2	1.2	1.3	1.4	1.6	2	2.3	2.9	2.9	3.3
			5											
13	0.3	0.6	0.6	0.6	1	1.2	1.8	2	2.2	2.8	3	3.7	4	5.2
14	0.7	0.6	0.7	0.7	1.1	1.1	0.9	1	1.2	1.5	1.7	1.8	2.4	3
		5												
15	1	0.9	0.9	1	1.1	1	1.1	1.2	1.8	2.2	2.7	3.2	3.8	5.2
		5												
16	1.0	1	1	0.8	1.1	1.1	1.2	1.4	2.2	2.1	3.1	3.5	4	4.6
	5													
17	0.7	0.9	0.9	0.9	1.1	1.1	1.3	1.5	2.1	2.5	3	3.5	4.1	5.5
	5													
18	1	1.1	1.1	1.2	1.2	1.2	1.4	1.5	1.7	1.8	2	2.3	3	4
19	1	0.9	1	1	1.1	1.2	1.4	1.8	2.2	3.3	3.6	4	4.4	6.2
		5												

20	0.7	0.8	0.8	0.9	0.9	1	1.1	1.1	1	0.9	1.2	1.9	2.5	3.2
21	1.4	1	1.1	1.1	1.2	1.2	1.7	2	2.2	2.8	3	3.7	3.8	5
22	0.8	0.7	0.9	0.9	0.9	1	0.9	0.9	1	1.4	1.6	2	2.6	3.6
23	0.9	0.8	1	1	1	1	1.1	1.2	1.4	2.5	3.2	3.7	3.8	5.3
24	1.2	1	1	1	1.3	1.2	1.4	1.9	2.2	3.3	3.7	3.9	4.4	6.2
25	0.9	1	1.2	1.2	1.2	1.4	1.3	1.2	2.2	2.1	3.1	3.7	4	4.9
26	0.9	1	1	0.8	1.1	1.1	1.2	1.5	2.2	2.1	3.3	3.5	4.1	4.6
27	0.9	1.1	1.1	1.2	1.2	1.3	1.3	1.6	1.7	2.4	3	3.6	4	5.5
28	0.8	0.9	1	0.9	1.1	1.1	1.4	1.5	2.1	2.6	3	3.5	4.1	5.8
29	0.6	0.6	0.6	0.6	1	1.2	1.3	1.5	1.8	2	2.5	2.6	3	3.6
			5											
30	0.5	0.6	0.6	0.6	1	1	1.1	1.2	1.4	2.5	3	3.7	3.8	5.2
TB	0.9	0.8	0.9	0.9	1.0	1.1	1.2	1.4	1.7	2.2	2.7	3.1	3.6	4.8
	4	7	0	0	7	0	6	8	4	6	3	8	1	2

Giá thể 2														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	0.9	1.2	1.2	1.2	1.4	1.5	1.5	1.6	2	2.2	2.2	2.8	3.2	3.8
2	0.9	1.2	0.9	0.9	1.1	1.1	1.1	1.2	1.3	1.7	2.2	2	2.9	3
3	0.9	0.7	0.8	0.8	0.7	0.7	0.7	0.8	0.9	1.5	1.7	2.1	2.9	4.2
4	1	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	1.4	1.4	2.2	2.9	3.5	3.7	4	4.2
5	0.6	0.5	0.6	0.7	1	1.1	1.1	1.2	1.7	2.2	3	3.2	3.7	4
6	1.1	1.1	0.8	0.8	1.1	1.3	1.5	1.6	1.9	2.4	3.1	3.4	3.7	4.1
7	0.9	1.2	1.3	1.5	1	1.1	1.3	1.8	2.1	2.5	2.9	3.5	4.2	4.3
8	1.2	1.3	1.4	1.3	1.4	1.5	1.5	1.6	1.9	2.2	2.9	3.4	4	4.2
9	0.9	0.7	0.9	1.3	1.2	1.3	1.6	1.7	2.2	2.8	3.2	3.8	4.5	5
10	0.8	1	1.2	0.6	1.2	1.2	1.3	1.6	2	2.2	2.9	3.5	3.8	4.3
11	0.9	1	0.5	0.9	0.7	0.9	0.9	1.1	1.3	1.8	2.1	2.8	3.4	4.6
12	1	0.7	0.8	0.5	1	1.1	1.1	1.2	1.7	2.2	2.9	3.2	3.7	4
13	0.5	0.4	0.4	0.5	0.6	0.6	0.8	0.9	0.9	1.5	1.8	1.5	1.7	2.5
14	0.8	1.1	1	1.2	1.3	1.3	1.5	1.6	1.9	2.4	3.1	3.5	3.7	4

15	1.1	1.2 5	0.7	0.8	0.9	0.9	1.4	1.4	1.3	1.4	1.5	1.9	2.5	3
16	1.1	1.3	0.7	0.9	1.2	1.3 5	1.4	1.4	1.2	2	2.2	2.5	2.6	3
17	0.7	0.9 5	1.2	1.2	1.3	1.5	1.9	1.9	2.2	2.6	2.8	3.2	3.8	4
18	0.7	0.8	1	0.9	1	1.1	1.1	1.2	1.9	2.2	2.9	3.5	3.7	4
19	0.8	1	1.2	0.9	1	1.1	0.9	0.9	1.1	1.3	1.8	2.1	2.8	4
20	0.9	1	1.1	1.1	1.2	1.3	1.6	2	2.2	2	1.5	1.6	1.9	2.2
21	0.9	1.1	1.3	1.5	1.6	1.6	1.7	1.8	2.1	2.5	3	3.8	4.5	5.6
22	0.8	0.9	1	0.9	1.2	1.2	1.1	1.1	1.3	1.8	2.1	2.9	3.4	3.7
23	0.9	1	0.9	1.1	1.2	1.3	1.6	1.9	2.2	2.8	3.2	3.8	3.8	4
24	0.8	1	1.2	0.6	1.2	1.2	1.3	1.6	2	2.2	2	2	2.2	2.8
25	0.9	1	1.1	1	1.3	1.4	1.4	1.1	1.3	1.8	2.1	2.8	3.6	4.1
26	1	0.9	1	1.1	0.9	0.9	0.8	1	1.1	1.3	1.4	2	2.6	3.4
27	0.8	0.7	0.9	1	1	1	0.9	1.3	1.6	1.9	2.4	1.9	2.2	2.8
28	0.5	0.4	0.5	0.7	0.6	0.6	0.8	0.9	0.9	1.5	2	2.1	2.2	3
29	0.9	0.9	1	1.1	1	1.2	1.3	1.3	1.6	1.9	2.4	3.1	3.5	4.6
30	1	1.1	1	1.2	1.3	1.5	1.9	1.9	2.2	2.5	2.7	3.2	3.8	4.2
TB	0.8 7	0.9 4	0.9 5	0.9 7	1.0 8	1.1 6	1.2 8	1.4 0	1.6 7	2.0 7	2.4 5	2.8 3	3.2 8	3.8 2

Giá thể 3														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	0. 8	0. 6	0. 6	0.6	0.9	0.8 5	0.8	1.2	1.4	1.4	1.5	2	3	5
2	0. 9	0. 5	0. 8	0.7	0.7 5	0.8	0.9	0.9	1.2	1	1.3	1.3 5	1.3	3
3	0. 6	0. 7	0. 7	0.7	0.8	0.8 5	0.8	1.1	1.4 2	1.4 2	1.4 9	1.8	2.3	4
4	0. 7	0. 9	1	1	0.8	0.9	0.7 5	0.8	0.9 5	1.4	1.5	1.4 5	1.5 5	2. 8
5	1. 1	1. 1	1. 3	1.3	1.1 5	1.1	1.1 5	1.2	1.6	1.2	1.4	1.7	2.3	5
6	0. 9	1. 2	1. 1	1.2	0.9	0.9	0.8 5	1.. 1	1.5	1.3	1.4 5	1.8	2.2	4
7	1	1. 2	1. 3	1.2 5	1.3	1.4	1.2	1.2	1.7	1.6	1.8	2.8	3.5	6
8	0. 6	1. 2	0. 6	0.7	1.1	1.1	1.1	1.1	1.4 1	1.4 1	1.4 1	1.9	2.5	3
9	0. 7	0. 5	0. 5	0.6	0.5	0.8	0.8	0.7 5	0.9 5	1.6	1.8	1.8 5	1.8	4
10	0. 9	0. 9	1	1	1.2	1.2	1.1	1.2	1.3	1.4	1.4 5	1.6	1.7	3. 5
11	0. 7	0. 6	0. 7	0.7	0.8 5	0.9	0.8 5	0.9	1.2	1.3	1.3 5	1.5	1.4 5	4
12	0. 8	0. 9	1	1	0.9	1	0.8 5	1.2	1.2 5	1.2	1.3	1.2 5	1.4	3. 5
13	1. 2	1. 7	1. 7	1.7	1.8	1.9	1.7 5	2	2.4	2.5	2.4 5	3	3.5	4
14	0. 7	0. 6	0. 6	0.8	0.8	0.7	0.9	1.2	1.1	1.3 5	1.4	1.5	1.7	3

15	1. 2	1. 2	1. 3	1.3 5	1.3 5	1.4	1.3	1.2 5	1.5	1.4 5	1.4	2	2.5	4
16	0. 5	0. 7	0. 65	0.8	0.6	0.7	0.7	0.6	0.8	0.9 5	0.9	0.9 5	1.1	3
17	1. 1	1	1. 2	1.3	1.1	1.1	1.2	1	1.5	1.6	2.5	2.2 5	2.4	5
18	0. 6	0. 9	0. 8	0.9	1	1.1	0.9	1.2	1.4 5	1.4	1.3	1.2 5	1.7	3. 5
19	0. 8	0. 8	0. 75	0.9	0.8	0.8	0.6	0.6 5	0.8 5	1.2	1.2	1.2 5	1.5	2. 3
20	0. 9	1. 2	1. 2	1.1	1.3	1.2	1	1.2	1.3 2	1.3 3	1.8	1.8	1.8	3
21	0. 7	0. 9	0. 8	0.8 5	0.8	0.9	0.7	0.7	1	1.2	1.3	1.2 5	1.4	3. 8
22	0. 85	0. 7	0. 8	0.9 5	0.8 5	0.8	0.6	0.9	1.1	1.1	1.3	1.2 5	1.4	4
23	1. 15	1. 2	1. 1	1.2	1.2	1.3	1.3	1.3	1.5	1.5	1.5 5	1.9	2.4 0	4. 7
24	0. 65	0. 8	0. 65	0.7	0.6	0.6	0.5	0.6	1	0.8	0.6	0.7	0.7 5	1. 5
25	1	0. 85	0. 8	0.8	0.7	0.8	0.6	0.6	1	1.2	1.4	1.5 5	2.3	5
26	0. 8	1	0. 7	0.7	0.8	0.9	0.6 5	0.7 5	1.5	1.7	1.6 5	1.8 5	2	3. 5
27	0. 9	1	0. 8	0.8	0.9	0.9 5	0.6	0.7	1	1	1.1	1.3	1.6	4
28	0. 65	0. 9	0. 85	0.9	0.8	0.8 5	0.5	0.9 5	1.4	1.6	1.5 5	1.6	1.7	5
29	0. 7	0. 95	0. 9	0.9 5	0.8	0.7 5	0.6	1	1.5	1.6	1.7	1.9	2.3	3. 5

30	0. 75	1. 1	0. 9	1	0.8	0.7	0.6	0.9	1.3	1.5	1.5	2	2.2	5
TB	0. 83	0. 93	0. 90	0.9 5	0.9 4	0.9 8	0.8 7	1.0 0	1.3 0	1.3 7	1.4 8	1.6 8	1.9 8	3. 85

Giá thể 4														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	1. 1	1. 55	0. 95	1	1. 15	1. 3	1. 35	1. 5	1.6	1.8	2.2	3.1	3.3	4.3
2	0. 9	0. 95	0. 95	1	1. 1	1. 2	1. 3	1. 5	1.6	1.6 5	1.8	2.1	2.4	3.9
3	0. 8	0. 9	1	1. 1	1. 2	1. 4	1. 4	1. 5	1.5	1.6	2	2.1	2.3	2.9
4	0. 8	1. 05	1. 1	1. 3	1. 1	1. 1	0. 9	0. 7	0.7	0.8	0.9	1	0.9	0.8 5
5	1. 1	1. 2	1. 3	1	1	1	0. 8	0. 7	0.8	0.9	1	1	1.3	2.7
6	0. 9	1	1	1	0. 8	0. 8	0. 9	1. 1	1.2	1.8	1.9	1.2	1.5	2.8
7	0. 9	0. 9	1	1	0. 9	0. 9	1	0. 9	0.9 5	1.2	1.2 5	1.4	1.6	2.4
8	1. 1	1. 2	1. 2	1. 2	1	1	1. 3	1. 3	1.7	1.8	2.1	2.1	2.1	4.5
9	0. 8	0. 65	0. 6	0. 6	1. 2	1. 2	1. 3	1. 3	1.2	1.1	1.3	1.5	1.7	1.8
10	1	1. 15	1. 1	1. 1	0. 9	0. 9	1	1. 1	1.2	1.3	1.5	2.1	2.4	4.2
11	1	1. 2	1. 2	1. 2	1. 4	1. 4	1. 5	1. 5	1.6	2	2.1	2.3	2.9	5
12	0. 7	0. 7	0. 7	0. 7	0. 9	0. 9	0. 5	0. 8	0.9	1.1	1.2	1.4	1.5	2.6

13	0. 9	0. 95	0. 95	1	1. 15	1. 2	1. 25	1. 3	1.4	1.4 5	1.5	1.7	1.8	3.1 5
14	0. 8	0. 85	0. 9	0. 95	1	1	1. 15	1. 3	1.3 5	1.5	1.6	1.8	2.2	3.1
15	1	1. 1	1. 2	1. 3	1. 35	1. 35	1. 4	1. 5	1.6	1.6 5	1.8	2	2.1	4.2
16	0. 7	0. 75	0. 8	0. 9	0. 95	0. 95	1	1. 2	1.3	1.3 5	1.5	1.7	1.9	3.3
17	1	1. 1	1. 2	1. 25	1. 3	1. 35	1. 4	1. 45	1.5	1.6	1.8	2	2.1	3.2
18	0. 9	0. 95	1	1. 1	1. 2	1. 1	1. 2	1. 1	1.2	1.2 5	1.3	1.4	1.5 5	1.7
19	1	1. 05	1. 05	1. 2	1. 15	0. 9	1	1. 2	1.3	1.3 5	1.5	1.7	1.9	3.3
20	1. 2	1. 3	1. 35	1. 4	1. 45	1. 3	1. 35	1. 4	1.2	1.3	1.8	2.1	2.8	3.4
21	1. 1	1. 2	1. 25	1. 3	1. 3	1. 2	1. 2	1. 1	1.2	1.2 5	1.3	1.4	1.5 5	1.7
22	0. 8	0. 85	0. 9	0. 95	1	1. 05	1. 1	1. 15	1.2 5	1.3	1.4 5	1.6	1.7	2.7
23	0. 9	0. 95	1. 1	1. 2	1. 25	1. 2	1. 3	1. 6	2	2.2	2.9	3.5	4.2	5.4
24	0. 9	1	1. 1	1. 2	1. 1	1. 2	1. 25	1. 3	1.4	1.5 5	1.7	1.7 5	1.8	2.9
25	1	1. 1	1. 2	1. 25	1. 2	1. 2	1. 35	1. 4	1.4	1.2	2	3.1	3.6	3.7
26	1. 1	1. 15	1. 25	1. 35	1. 4	1. 3	1. 4	1. 55	1.6	1.6	1.7	2.2	2.8	3.2
27	0. 7	0. 75	0. 8	0. 85	0. 85	0. 95	1	1. 2	1.3	1.3 5	1.5	1.7	1.9	3.3

28	0. 7	0. 8	0. 9	1	0. 9	0. 85	0. 95	1. 2	1.3	1.6	2	2.2	2.9	3.5
29	0. 8	0. 85	0. 9	0. 95	1	1. 15	1. 2	1. 3	1.6	1.9	2.2	2.8	3	3.8
30	0. 9	0. 9	1	1. 1	0. 95	0. 9	0. 9	1. 1	1.2	1.4	1.5	2.6	2.8	4.2
TB	0. 92	1. 00	1. 03	1. 08	1. 11	1. 11	1. 16	1. 24	1.3 4	1.4 6	1.6 8	1.9 5	2.2 2	3.2 6

Xử lý số liệu về diện tích lá

Giá thể 1														
C	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
ây														
1	7.0 875	4.5 36	3.4 02	3.4 02	9.2 4	8.4	17. 55 6	18. 9	16. 38	78. 75	136 .41 6	135 .97 5	196 .30 8	408 .87
2	2.9 925	1.5 12	5.6 7	5.5 44	8.1 9	9.0 72	21. 16 8	35. 7	41. 89 5	81. 144	113 .4	174 .04 8	201 .09 6	340 .2
3	15. 015	6.9 82 5	10. 5	8.4	17. 47 2	20. 16	17. 64	39. 9	50. 82	150 .38 1	185 .22	167 .89 5	207 .9	390 .6
4	4.4 1	2.5 2	3.0 24	2.9 4	8.4	8.4	12. 01 2	28. 72 8	24. 19 2	53. 13	65. 625	73. 08	123 .98 4	263 .34
5	13. 23	14. 11 2	16. 128	14. 11 2	13. 13. 23	60 8	8.5 05	22. 05	28. 35	39. 9	81. 9	97. 65	111 8	294 .84

6	3.7 8	5.1 03	5.1 03	4.5 36	7.3 5	7.9 38	5.6 7	12. 09 6	17. 64	31. 92	50. 4	86. 94	149 .20 5	241 .81 5
7	6.3	11. 08 8	8.4	8.4	9.2 4	7.6 23	8.3 16	17. 64	25. 2	48. 51	98. 658	114 .24	140 .86 8	246 .75
8	9.8 28	11. 08 8	10. 164	11. 08 8	7.6 23	08 8	14. 11 2	30. 24	27. 13 2	46. 368	94. 5	105 .84	176 .4	300 .51
9	17. 64	13. 86	10. 164	14. 78 4	15. 12	15. 12	30. 24	48. 3	63. 75 6	85. 26	124 .99 2	114 .99 6	98. 154	300 .3
10	9.4 08	9.4 08	9.2 61	9.8 28	17. 01	23. 1	3.9 69	3.4 02	8.4	17. 64	28. 56	35. 28	56. 784	105 .67 2
11	5.7 28	6.2 37	6.3	7.5 6	7.5 6	6.8 04	8.3 16	17. 64	26. 77 5	37. 8	72. 576	67. 704	120 .96	278 .33 4
12	8.4	9.2 4	4.4 362 5	3.5 28	8.3 16	8.3 16	12. 28 5	15. 87 6	22. 84 8	46. 2	50. 715	52. 983	31. 668	66. 528
13	0.5 67	2.2 68	3.0 24	3.7 8	8.4	15. 12	48 4	31. 5	49. 89 6	81. 144	119 .07	163 .17	206 .64	366 .91 2
14	9.9 96	10. 92	10. 29	13. 23	8.3 16	6.4 68	6.2 37	9.2 4	12. 09 6	23. 625	32. 13	47. 628	77. 616	109 .62
15	9.4 5	9.9 75	8.5 05	10. 5	7.3 92	7.3 5	11. 08 8	17. 64	34. 02	43. 89	99. 225	100 .8	167 .58	267 .54

1	13.					11.			60.		141			185
6	891	10.	10.	10.	6.9	08	17.	23.	98	66.	.26	79.	176	.47
	5	5	5	08	3	8	64	52	4	15	7	38	.4	2
1	7.4				10.	11.	20.	26.	37.					
7	812	6.8	6.8	6.8	16	08	47	77	04	65.	85.	102	172	249
	5	04	04	04	4	8	5	5	4	625	05	.9	.2	.48
1		10.		13.	11.		21.		18.					
8	6.7	39	12.	60	08	12.	16	18.	56	37.		50.	77.	191
	2	5	474	8	8	6	8	9	4	8	63	715	49	.52
1						16.	15.		40.		108			
9	7.5	8.3	12.	13.	13.	12	87	30.	65	85.	.86	103	124	234
	6	79	6	86	86	8	6	24	6	932	4	.32	.74	.36
2				10.										
0	4.4	8.0	8.0	20	6.8		7.6	9.2	10.	16.	26.	67.	89.	
	1	64	64	6	04	8.4	23	4	92	065	46	032	25	168
2				10.		11.	13.		24.					
1	5.8		6.9	39	7.5	08	92	20.	94	40.	51.	76.	90.	170
	8	4.2	3	5	6	8	3	16	8	572	03	923	972	.1
2	6.7	6.6	9.4	9.4	6.2	6.9	6.8	8.5	10.	24.	43.	53.	93.	151
2	2	15	5	5	37	3	04	05	08	696	68	76	912	.2
2								12.						153
3	5.1	6.7	10.	12.		7.5	9.7	09	23.	60.	88.	83.	95.	.59
	03	2	5	6	6.3	6	02	6	52	9	704	916	76	4
2							14.	25.			121			
4	10.	10.	11.	12.	8.7	7.0	11	93	34.	65.	.21	147	194	325
	584	08	34	6	36	56	2	5	65	835	2	.42	.04	.5
2									23.			120		302
5	5.6		10.	11.	6.8	11.	9.0	11.	56	37.	62.	.43	181	.52
	7	6.3	08	34	04	76	09	34	2	044	496	5	.44	6
2					10.	12.		29.						113
6	10.	13.	10.	9.0	16	70	15.	92	46.	48.	90.	63.	77.	.02
	206	86	08	72	4	5	12	5	2	51	09	945	49	2

2		16.				12.	13.							183
7	11.	63	15.	15.	10.	01	10	25.	28.		113	105	151	.64
	34	2	246	12	08	2	4	2	56	63	.4	.84	.2	5
2		10.				10.			29.					
8		39	10.	11.	6.9	16	9.7	13.	98	43.	70.	66.	92.	164
	8.4	5	5	34	3	4	02	23	8	68	56	15	988	.43
2				11.		18.		20.	40.					216
9	10.	10.	9.8	08	13.	14	16.	47	82	45.	84.	95.	113	.97
	08	08	28	8	86	4	38	5	4	36	525	55	.4	2
3														165
0		5.0	5.6			9.2	6.2	7.5	11.	39.	64.	48.	64.	.98
	4.2	4	7	6.3	8.4	4	37	6	76	375	26	951	638	4
T	8.0	8.4	8.8	9.5	9.5	11.	13.	21.	29.	53.	85.	93.	128	231
B	7	3	1	2	6	15	45	07	72	54	60	48	.77	.92

Giá thể 2														
Câ	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	12.				15.		26.	21.		52.				181
	47	21.1	18.	21.	28	23.6	77	50	37.	66	50.	58.	100	.94
	4	68	9	42	8	25	5	4	8	8	82	8	.8	4
2				15.	17.		10.			19.				
	6.8	19.6	15.	87	78	22.1	16	9.0	16.	27	40.	56.	77.	75.
	04	56	876	6	7	76	4	72	38	8	656	7	952	6
3	7.9	7.93	8.0	8.0	8.2	8.23	4.1		6.8	22.	38.	48.	85.	176
	38	8	64	64	32	2	16	8.4	04	05	556	51	26	.4

4	5.0 4	3.40 2	3.4 02	3.5 91	5.6 7	9.07 2	23. 52	30. 87	55. 44	89. 52 3	88. 2	81. 585	130 .2	145 .53
5	1.5 12	1.89	3.7 8	7.3 5	11. 34	11.5 5	11. 55	15. 12	26. 77 5	66. 52 8	113 .4	149 .18 4	155 .4	201 .6
6	5.0 88	7.01 5	10. 92	15. 76	17. 00 9	11.4 66	21. 42	25. 53 6	37. 90 5	89. 63	124 .99 2	154 .22 4	155 .4	118 .81 8
7	7.5 6	9.12	10. 062 5	26. 77 5	7.5 6	10.3 95	15. 28 8	28. 72 8	46. 30 5	81. 9	98. 658	147	202 .86	143 .57 7
8	11. 34	16.3 8	23. 52	15. 01 5	16. 46 4	22.0 5	30. 24	35. 28	39. 9	58. 21 2	113 .27 4	128 .52	176 .4	296 .35 2
9	3.7 8	4.85 1	62. 37	6.5 52	8.0 64	10.9 2	28. 56	35. 7	55. 44	79. 38	107 .52	159 .6	255 .15	210
10	7.5 6	0	8.8 2	3.1 5	7.5 6	12.0 96	19. 11	30. 24	50. 4	40. 65 6	88. 305	158 .76	124 8	191 .43 6
11	7.5 6	3.78	0.8 4	3.7 8	3.9 69	7.56	7.5 6	11. 08 8	14. 19 6	35. 91	48. 51	72. 912	117 .81	217 .35
12	5.0 4	6.61 5	8.4	3.6 75	7.5 6	8.31 6	11. 08 8	15. 12	30. 34 5	36. 96	85. 26	120 .96	143 5	193 .2
13	2.1	1.26	1.5 12	1.8 9	1.8 9	3.52 8	5.8 8	10. 20 6	11. 34	28. 66 5	34. 02	30. 24	30. 345	65. 625
14	5.8 8	16.6 32	12. 64	29. 98 8	19. 11	24.0 24	26. 46	31. 92	33. 51 6	65. 52	113 .27 4	147	178 .71	226 .8

15	6.9 3	10.6 312 5	6.1 74	7.5 6	8.3 16	9.82 8	22. 05	19. 99 2	13. 10 4	21. 16 8	29. 925	43. 89	52. 5	75. 6
16	16. 17	22.9 32	8.8 2	11. 34	17. 64	20.5 537 5	23. 52	30. 87	30. 24	52. 92	85. 932	94. 5	137 .59 2	141 .12
17	8.0 85	7.98	9.0 96	12. 09 6	19. 11	18.9	33. 91 5	31. 12 2	27. 72	32. 76	42. 336	59. 136	107 .73	107 .52
18	2.3 52	3.02 4	5.0 4	4.1 58	1.6 8	2.31	5.5 44	7.5 6	14. 36 4	32. 34	60. 9	82. 32	111 .88 8	172 .2
19	6.0 48	6.3	9.0 72	6.2 37	5.6 7	7.39 2	11. 34	15. 87 6	20. 79	21. 84	36. 288	38. 367	65. 268	103 .32
20	5.2 92	6.72	10. 164	5.5 44	3.5 28	15.0 15	23. 52	39. 9	38. 80 8	54. 6	36. 54	56. 448	91. 77	94. 248
21	3.4 02	4.15 8	6.5 52	5.6 7	6.7 2	12.0 96	19. 99 2	34. 02	44. 1	58. 8	83. 16	159 .6	181 .44	235 .2
22	5.0 4	5.67	8.1 9	6.8 04	8.3 16	7.56	9.0 09	14. 78 4	19. 65 6	21. 54 6	38. 808	60. 9	64. 26	111 .88 8
23	9.4 5	7.56	9.8 28	9.2 4	6.8 04	8.19	6.7 2	14. 36 4	24. 02 4	56. 44 8	60. 48	83. 79	127 .68	147 .84
24	6.0 48	6.3	9.8 28	2.6 46	6.8 04	10.0 8	16. 38	26. 88	28. 56	46. 2	53. 76	44. 1	55. 44	74. 088
25	11. 34	13.6 5	14. 325	14. 7	16. 38	23.5 2	19. 99 2	21. 94 5	25. 93 5	37. 8	45. 864	85. 26	127 .00 8	148 .09 2

26	12. 6	10.3 95	13. 65	12. 70 5	7.5 6	6.80 4	6.0 48	6.7 2	11. 55	13. 10 4	18. 522	33. 6	45. 864	110 .67
27	6.7 2	4.11 6	7.5 6	7.5 6	6.3 6.3	9.24	3.9 69	13. 65	12. 09 6	22. 34 4	34. 272	45. 885	64. 68	98. 784
28	4.7 25	3.78	5.3 55	6.6 15	3.5 28	4.91 4	7.5 6	9.6 39	12. 09 6	39. 37 5	53. 76	88. 2	110 .88	131 .04
29	3.4 02	4.15 8	5.8 8	5.0 82	6.9 3	10.0 8	9.8 28	7.3 71	10. 75 2	41. 49 6	43. 848	104 .16	135 .24	147 .79 8
30	10. 5	11.5 5	13. 65	17. 64	15. 28 8	18.9	22. 34 4	22. 74 3	38. 80 8	40. 95	45. 927	107 .52	134 .06 4	220 .5
TB	6.9 2	8.28 8	11. 08	9.9 5	9.6 0	12.3 5	16. 12	20. 87	27. 84	44. 46	63. 86	90. 06	118 .27	152 .14

Giá thể 3														
Câ y	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	3.5 28	1.8 9	1.8 9	1.89	5.6 7	8.0 32 5	7.3 92	12. 6	27. 93	26.4 6	20. 475	63	109 .62	157 .5
2	4.1 58	3.5 7	5.3 76	6.83 55	7.5 6	9.4 08	6.8 04	15. 12	16. 632	13.0 2	28. 665	34. 02	25. 389	56. 7
3	6.1 74	4.4 1	4.4 1	4.41	5.3 76	8.0 32 5	6.7 2	15. 70 8	21. 172 2	21.3 213	31. 29	52. 164	84. 525	168

4	6.6	9.4			6.7	9.4	4.0	9.0	10.	13.5	23.	18.	40.	
	15	5	6.3	6.3	2	5	95	72	773	24	625	27	036	87.
5	16.	6.0	9.8	6.00	9.4	10.	15.	21.						
	17	06	28	6	18	39	45	16	27.	32.2	37.	24.	60.	
6							4.8							
	9.8	6.0	13.	17.1	8.5	9.4	19	8.3	16.	9.82	8.5	19.	31.	75.
7	28	48	86	36	05	5	5	16	38	8	26	278	878	6
	4.6	10.	9.5		8.7	16.	5.2	4.5	7.1	12.0	19.	37.	76.	139
8	2	08	55	6.3	36	17	92	36	4	96	278	044	44	.86
						12.	10.	15.	21.	25.2			106	
9	1.5	6.5	1.7	2.35	9.2	70	16	01	023	277	35.	55.	.57	94.
	12	52	64	2	4	5	4	5	1	2	532	86	5	5
10					2.3									
	1.7	1.0	1.0		62	4.0	6.7	5.6	5.3	16.1	28.	28.	37.	75.
11	64	5	5	1.26	5	32	2	7	865	28	35	728	296	6
	8.3	6.0	6.7		9.0	7.5	8.3	8.3	12.	19.9	18.	16.	33.	79.
12	16	48	2	5.04	72	6	16	16	285	92	27	128	201	38
							9.8							
13	2.6	1.0	3.5	3.52	7.1	6.8	17	11.	16.	17.4	21.	20.	25.	107
	46	08	28	8	4	04	5	34	38	72	546	79	578	.52
14								11.						
	6.7	10.	12.		5.6	6.9	7.1	08	7.0	6.80	8.7	13.	19.	47.
15	2	206	6	12.6	7	3	4	8	875	4	36	125	404	775
			19.			12.					54.			
16	13.	18.	27	20.3	22.	76	17.	23.	36.		022	56.	94.	83.
	104	207	8	49	68	8	64	94	288	65.1	5	7	08	16
17	4.7	4.0	4.5	6.04	6.7	5.2	5.2	9.0	6.2	9.35	15.	17.	29.	52.
	04	32	36	8	2	92	92	72	37	55	288	01	988	92

15	15. 12	9.8 28	10. 64 7	10.6 312 5	14. 74 2	9.4 08	7.3 71	9.4 5	23. 625	21.9 24	17. 64	21. 42	52. 5	84
16	2.8 35	2.7 93	2.1 84	2.68 8	3.0 24	4.4 1	6.4 68	4.1 58	6.0 48	13.5 66	16. 632	23. 142	44. 352	139 .86
17	10. 164	10. 92	14. 11 2	14.7 42	12. 93 6	13. 86	12. 09 6	13. 44	21. 42	18.1 44	44. 1	59. 062 5	60. 48	159 .6
18	2.0 16	2.6 46	4.0 32	5.29 2	5.0 4	5.5 44	6.0 48	11. 08 8	11. 875 5	8.82	13. 104	14. 962 5	34. 272	113 .92 5
19	3.1 92	4.0 32	1.7 32 5	8.31 6	8.0 64	6.0 48	6.8 04	9.5 55	9.9 96	12.0 96	15. 12	24. 412 5	45. 36	46. 368
20	5.1 03	7.5 6	4.0 32	3.69 6	6.9 61 5	9.0 72	7.5 6	6.0 48	9.1 476	9.21 69	14. 742	27. 216	23. 814	73. 08
21	3.5 28	3.5 91	1.5 12	1.42 8	1.5 12	3.4 02	3.2 34	3.5 28	5.4 6	8.06 4	10. 374	17. 325	24. 696	76. 608
22	4.5 517 5	2.6 46	2.8 56	3.19 2	1.4 28	3.0 24	3.4 02	7.9 38	12. 936	9.00 9	7.6 44	11. 812 5	16. 758	63
23	8.3 317 5	9.8 28	5.0 82	6.04 8	6.3	6.5 52	6.5 52	7.0 98	10. 08	12.6	14. 322	34. 713	70. 56	91. 791
24	3.4 807 5	3.0 24	2.7 3	3.08 7	5.5 44	5.5 44	3.1 5	6.0 48	8.1 9	4.36 8	5.6 7	7.0 56	8.9 775	30. 24
25	11. 34	8.4 787 5	2.6 88	2.68 8	2.6 46	4.5 36	2.6 46	3.4 02	7.5 6	8.31 6	11. 466	17. 577	20. 286	58. 8

26	5.3 76	7.9 8	4.1 16	4.41	2.6 88	5.6 7	6.0 06	5.1 97 5	11. 34	24.2 76	22. 869	19. 425	32. 76	61. 74
27	7.1 82	6.9 3	6.0 48	6.04 8	6.8 04	7.1 82	6.5 52	5.7 33	9.4 5	13.4 4	13. 167	26. 208	31. 248	75. 6
28	4.6 41	5.6 7	3.5 7	4.15 8	6.0 48	7.1 4	3.1 5	1.7 95 5	3.8 22	5.37 6	6.1 845	16. 128	19. 992	81. 9
29	9.5 55	11. 172	4.1 58	4.78 8	2.1	5.6 7	5.5 44	8.1 9	22. 68	35.2 8	29. 988	46. 284	46. 368	99. 96
30	5.6 7	6.9 3	3.0 24	3.57	3.0 24	2.6 46	3.2 76	4.5 36	7.0 98	10.0 8	10. 71	18. 48	38. 808	100 .8
T	6.3	6.4	5.7			7.5	6.8	9.2	13.	16.7	20.	28.	44.	90.
B	9	2	7	6.16	6.8	6	5	7	76	7	18	08	87	29

Giá thể 4														
C	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
ây														
1	9. 70 2		12. 76 8		10. 867 5		11. 056 5		22. 84 8	24. 19 2		62. 49 6	11 0.8 8	17 3.3 76
2	6. 80 4								22. 17 6	24. 94 8	34. 96 5		44. 35 2	12 7.7 64
3	4. 03 2									14. 78 4		19. 84 5	32. 84 4	
4	6. 04 8	8.9 08 2	10. 62 6							14. 11 2			35. 15 4	25. 70 4

5	12		17.										20.	11
	.9	15.	47	14.	13.	13.	14.	4.7	5.0	7.5	10.	14.	47	9.0
	36	12	2	28	86	86	112	04	4	6	08	7	5	7
6									21.	54.		21.	28.	61.
	7.	10.	10.	10.	11.	11.	9.0	16.	16	43	35.	16	66	15
	56	5	5	5	76	76	72	17	8	2	91	8	5	2
7	8.								10.	14.	22.		44.	
	31	6.8			4.1	4.1	5.0	7.0	37	11	31	27.	68	75.
	6	04	8.4	8.4	58	58	4	875	4	2	25	93	8	6
8	16								33.		60.	74.	80.	
	.6	15.	15.	16.	8.8	8.8	15.	17.	91	34.	85	08	26	20
	32	12	12	38	2	2	288	472	5	02	8	8	2	7.9
9	8.									15.				
	06	7.3	7.1	7.5	14.	15.	17.	11.	9.0	01	16.	30.	53.	66.
	4	71	82	6	49	12	745	466	72	5	38	24	55	15
10		12.								17.		71.	84.	19
	9.	07	11.	11.	8.3	8.3	7.5	12.	20.	74	34.	00	67	8.4
	24	5	55	55	16	16	6	936	16	5	02	1	2	5
11	13	21.									74.	78.	14	
	.6	92	22.	22.	22.	22.	23.	22.	30.	50.	08	24	0.6	28
	5	4	68	68	05	05	625	05	24	4	8	6	79	1.4
12	5.									12.		14.		63.
	29	5.1	5.1	5.1	4.5	4.5	2.5	5.0	9.0	01	11.	99	25.	33
	2	45	45	45	36	36	2	4	72	2	34	4	2	6
13			7.7							31.	42.	51.	82.	20
	3.	7.1	80	11.	15.	17.	14.	18.	26.	05	52	76	02	2.4
	78	82	5	76	456	64	175	018	46	9	5	5	6	19
14	6.	7.2		10.					21.		44.	63.	96.	10
	55	29	7.9	77	11.	11.	13.	19.	26	26.	68	50	09	5.4
	2	25	38	3	76	76	524	11	25	46	8	4	6	62

15	5. 04	9.0 09	10. 96 2	16. 38	18. 144	19. 845	27. 93	26. 46	29. 56 8	33. 95 7	47. 25	55. 65	71. 44 2	19 4.0 4
16	5. 29 2	7.8 75	8.7 36	13. 23	14. 463 75	11. 97	13. 86	23. 94	28. 66 5	39. 97 35	47. 25	54. 62 1	51. 87	11 0.8 8
17	6. 72	12. 47 4	14. 36 4	14. 43 75	16. 38	19. 845	22. 05	15. 072 75	22. 68	25. 53 6	31. 75 2	49. 35	63. 50 4	11 2.8 96
18	6. 80 4	11. 37 15	11. 34	13. 86	11. 088	10. 164	13. 104	17. 325	21. 42	25. 2	29. 48 4	33. 51 6	35. 80 5	35. 7
19	5. 88	9.5 91 75	9.2 61	14. 11 2	10. 505 25	7.6 545	12. 6	12. 852	17. 47 2	21. 26 25	30. 24	57. 12	76. 60 8	20 7.9
20	13 .8 6	12. 28 5	10. 77 3	11. 76	8.6 782 5	7.3 71	9.3 555	11. 466	15. 12	18. 56 4	18. 14 4	23. 81 4	44. 68 8	62. 83 2
21	11 .5 5	11. 08 8	9.4 5	7.3 71	4.9 14	4.7 88	8.3 16	5.5 44	7.5 6	12. 6	13. 65	15. 87 6	31. 89 9	42. 84
22	8. 73 6	14. 45 85	16. 44 3	14. 96 25	15. 75	18. 191 25	15. 708	18. 837	27. 56 25	38. 49 3	45. 67 5	46. 2	49. 98	88. 45 2
23	10 .3 95	14. 36 4	14. 43 75	19. 65 6	13. 65	10. 206	11. 466	19. 488	26. 88	48. 51	48. 72	46. 30 5	10 9.3 68	20 4.1 2
24	7. 56	11. 55	15. 01 5	17. 64	9.7 02	11. 718	12. 6	15. 561	23. 52	27. 34 2	32. 84 4	54. 02 25	56. 7	12 1.8

25	7. 56	9.2 4	11. 34	9.9 75	7.1 82	8.3 16	10. 206	11. 025	9.9 96	6.8 04	15. 12	45. 57	86. 18 4	13 0.5 36
26	10 .3 95	6.8 82 75	7.4 81 25	10. 77 3	11. 172	10. 92	10. 584	13. 182 75	20. 16	22. 84 8	22. 84 8	33. 26 4	33. 51 6	59. 13 6
27	5. 88	4.7 25	5.3 76	7.5 86 25	4.5 517 5	5.3 865	5.0 4	11. 34	13. 92 3	17. 01	35. 28	53. 55	88. 57 8	22 3.1 46
28	8. 82	9.2 4	9.4 5	9.9 75	5.6 7	5.0 872 5	12. 468 75	22. 68	22. 93 2	25. 2	33. 6	39. 27	69. 42 6	73. 5
29	12 .0 96	13. 38 75	11. 34	12. 96 75	5.2 5	4.8 3	9.0 72	14. 742	28. 56	39. 9	60. 98 4	68. 20 8	11 0.2 5	22 5.0 36
30	14 .7 42	10. 86 75	12. 07 5	10. 16 4	3.9 9	5.1 03	5.6 7	11. 088	13. 10 4	35. 28	47. 25	11 4.6 6	14 1.1 2	24 2.5 5
T B	8. 66	10. 53	10. 9	12. 07	10. 82	11. 13	12. 27	14. 42	19. 43	25. 98	33. 74	46. 53	66. 68	12 9.7 3

Cây dâu tây lấy từ ngó

Xử lý số liệu về số lá

Giá thể 1														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	3 5	40	4 5	50	55	60	65
1	6	6	6	6	5	6	6	6	6	6	6	6	5	6
2	5	4	6	6	5	6	7	7	8	8	5	5	5	6
3	5	5	5	3	5	6	6	7	7	6	5	6	6	6

4	3	6	3	3	3	4	4	5	5	6	6	5	4	5
5	5	4	5	5	6	6	6	6	7	4	3	4	4	5
6	3	4	3	3	4	5	6	6	6	5	6	5	4	5
7	5	4	5	5	5	5	5	5	5	6	7	6	4	5
8	5	5	5	3	6	7	8	6	6	7	6	4	4	5
9	4	6	4	4	4	4	5	4	4	5	3	4	4	5
10	4	4	4	4	4	5	6	7	7	4	5	6	5	6
11	4	4	4	4	5	6	7	7	7	6	7	7	6	6
12	5	6	5	5	7	8	8	8	7	7	4	5	5	6
13	3	6	3	3	4	4	5	5	6	4	3	4	4	5
14	4	5	4	4	4	4	5	5	6	5	3	4	4	5
15	4	5	5	5	6	6	7	7	7	6	5	4	4	4
16	5	5	5	5	5	6	6	6	6	7	6	6	6	5
17	4	4	4	4	6	6	7	7	8	7	4	3	4	4
18	4	4	4	4	5	6	6	6	4	4	4	3	4	5
19	4	4	4	4	4	4	5	5	5	6	6	5	6	5
20	3	2	2	2	4	4	5	6	3	4	4	4	5	6
21	4	4	4	4	5	5	5	5	7	6	7	5	5	6
22	5	5	5	5	3	3	4	4	2	2	2	2	3	4
23	4	4	4	4	5	7	7	8	6	5	4	4	4	5
24	4	4	4	4	4	4	5	6	6	6	6	7	7	6
25	4	4	4	4	3	3	4	5	5	5	5	6	7	6
26	5	5	5	5	6	6	4	4	5	4	5	5	6	5
27	5	5	5	4	6	7	7	5	5	5	5	6	4	5
28	4	4	4	4	6	6	6	6	6	7	6	6	5	4
29	5	6	4	4	5	5	6	6	7	7	7	7	7	6
30	5	5	5	5	6	7	8	7	7	5	4	5	4	5
TB	4.33 33	4.6 33	4.33 33	4.1 67	4.86 667	5.36 67	5.8 67	5. 9	5. 87	5. 5	4. 97	4. 97	4. 83	5. 23

Giá thể 2														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	7	3	6	6	5	5	6	6	7	6	5	5	5	6
2	5	4	4	4	4	5	5	6	7	6	4	4	4	5
3	3	3	3	3	4	4	5	5	5	6	5	5	4	5
4	5	5	5	5	6	7	7	8	5	4	4	3	4	5
5	4	5	5	5	5	6	7	6	6	5	4	4	4	4
6	5	6	6	6	5	5	5	5	5	3	3	3	4	5
7	5	5	5	5	4	5	5	6	6	3	3	2	3	4
8	4	4	4	4	3	5	5	4	4	4	3	3	3	4
9	5	5	5	5	6	7	7	8	7	5	5	4	4	5
10	5	5	5	5	6	7	8	8	9	6	6	6	6	5
11	2	3	3	3	4	5	5	6	7	5	6	5	4	5
12	5	5	4	4	5	5	6	7	7	7	6	4	5	5
13	4	4	4	4	5	6	6	6	7	6	4	3	4	5
14	6	6	6	6	4	5	6	6	5	6	5	4	4	5
15	4	4	4	4	5	6	6	7	6	4	3	3	4	4
16	5	4	4	4	4	4	5	6	7	4	3	3	4	5
17	5	5	5	5	3	3	4	4	4	5	4	4	4	5
18	3	5	5	5	4	5	5	5	6	6	5	4	4	5
19	5	3	3	3	2	3	4	3	3	4	3	4	4	5
20	5	5	5	5	6	7	7	7	7	5	4	3	4	4
21	5	5	5	5	6	7	8	8	9	7	6	5	5	5
22	7	5	5	5	4	5	6	6	7	4	5	4	4	5
23	6	6	6	6	7	7	8	8	7	6	4	5	4	5
24	5	6	6	6	7	7	8	8	9	7	5	4	4	5
25	7	5	5	5	4	5	5	6	6	6	5	4	4	5
26	5	5	5	3	6	7	7	8	8	7	6	5	4	5
27	3	3	3	4	6	6	7	7	6	5	4	4	4	5
28	4	4	4	4	5	6	6	6	7	6	4	4	4	5

29	4	4	4	4	5	5	4	5	7	6	6	3	4	4
30	4	5	5	6	6	7	7	7	8	7	6	5	5	6
TB	4.7	4.5	4.6	4.6	4.	5.5	6	6.2	6.	5.3	4.	4	4.	4.
	3	7	3	3	9	7		7	5	7	5		1	9

Giá thể 3														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	5	5	5	5	3	4	5	5	6	6	6	6	7	3
2	4	4	4	4	5	7	7	8	6	5	4	4	4	4
3	3	3	3	3	3	4	4	4	5	5	4	4	4	3
4	4	4	4	4	4	5	6	6	6	6	6	4	8	4
5	4	4	4	4	4	5	6	7	6	7	6	7	8	5
6	4	4	4	4	4	5	6	5	5	5	6	4	7	2
7	6	6	6	6	4	5	5	5	5	5	5	5	4	1
8	4	5	5	5	5	6	6	6	7	8	7	7	5	5
9	4	4	4	4	4	5	5	4	4	4	4	4	4	2
10	5	5	5	5	5	6	6	6	5	5	6	7	7	4
11	4	4	4	4	4	5	5	4	4	4	4	5	5	2
12	3	3	3	3	4	3	4	4	5	5	6	6	6	3
13	6	6	6	6	6	6	6	6	4	5	5	6	6	3
14	5	5	5	5	5	6	6	6	6	7	6	6	6	2
15	4	4	4	4	6	6	7	7	8	7	4	3	4	2
16	4	4	4	4	5	6	6	6	4	4	4	3	4	3
17	4	4	4	4	4	4	5	5	5	6	6	5	6	4
18	3	2	2	2	4	4	5	6	3	4	4	4	3	6
19	4	4	4	4	5	5	5	5	7	6	7	5	5	3
20	5	5	5	5	3	3	4	4	2	2	2	2	3	3
21	4	4	4	4	5	7	7	8	6	5	4	4	4	4
22	4	4	4	4	4	4	5	6	6	6	6	7	7	3

23	4	4	4	4	3	3	4	5	5	5	5	6	7	3
24	5	5	5	5	6	6	4	4	5	4	5	5	6	5
25	5	5	5	4	6	7	7	5	5	5	5	6	4	2
26	4	4	4	4	6	6	6	6	6	7	6	6	5	3
27	5	6	4	4	5	5	6	6	7	7	7	7	7	4
28	5	5	5	5	6	7	8	7	7	5	4	5	4	2
29	3	3	4	5	6	6	6	5	6	5	4	3	4	5
30	5	5	5	5	5	5	5	6	7	6	4	3	3	5
TB	4	4.3	4	4	4.63	5	5.56	5.56	5.43	5.36	5.06	4.96	5.23	3.33
	.	33	.	.	333	.	667	667	333	667	667	667	333	333
	3	3	3	3		2								

Giá thể 4														
Cây	0	5	1 0	15	2 0	2 5	3 0	3 5	40	4 5	5 0	5 5	6 0	65
1	3	3	3	3	5	6	6	7	5	5	5	5	5	5
2	5	5	5	5	6	6	7	8	8	8	8	9	9	3
3	4	5	5	5	4	5	4	4	4	5	5	5	3	3
4	5	5	5	5	6	6	7	4	5	5	5	6	6	3
5	4	5	5	5	5	5	5	4	4	5	5	6	6	3
6	6	6	6	6	6	6	7	4	4	4	5	5	6	2
7	3	3	3	3	3	3	3	4	4	5	5	5	6	5
8	3	4	4	4	5	5	6	7	6	6	6	7	7	3
9	4	4	4	4	5	6	7	7	8	7	7	8	9	3
10	6	6	6	6	5	5	4	5	6	5	5	4	5	3
11	4	4	4	4	5	5	5	6	6	7	7	8	8	4
12	6	6	6	6	7	9	8	8	7	7	7	7	7	3
13	2	2	1	2	2	3	3	3	2	3	3	4	3	5
14	7	6	5	5	6	6	5	5	4	3	2	4	5	5
15	4	6	6	6	7	8	8	7	7	8	6	6	7	7
16	7	6	6	6	7	8	8	7	7	8	8	9	9	9

17	3	4	4	4	6	7	5	4	3	3	4	5	5	6
18	3	3	4	4	3	3	4	4	5	6	6	7	8	9
19	4	6	6	5	4	5	4	4	5	5	6	6	5	3
20	4	5	5	5	4	5	4	4	5	6	6	7	7	3
21	3	3	4	2	4	4	5	5	5	4	4	5	7	8
22	2	3	3	3	4	4	5	5	6	5	5	5	6	4
23	5	5	5	5	3	4	5	5	6	4	5	6	4	4
24	4	2	3	3	3	4	4	4	4	5	5	4	5	5
25	4	5	5	5	4	4	4	4	5	4	5	6	5	5
26	4	3	3	3	4	4	5	6	6	7	8	9	9	8
27	3	4	4	3	4	4	5	4	3	4	5	5	4	4
28	5	6	7	6	5	5	5	5	6	6	6	5	6	4
29	5	4	4	5	4	4	3	4	4	5	6	8	7	5
30	3	4	4	5	5	4	5	5	4	4	5	7	7	5
TB	4.16 67	4.43 33	4. 5	4.43 33	4. 7	5. 1	5. 2	5. 1	5.1 33	5. 3	5. 5	6. 1	6. 2	4.6 33

Xử lý số liệu về chiều cao

Giá thể 1														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1		7.	14.	14		14.	15.	15.	13.	14.	15.	16.	16.	24.
	5	9	6	.6	15	9	3	3	4	3	5	8	4	4
2		9.	11.		12.	12.			17.	20.	23.		26.	
	5.6	3	9	12	6	5	13	13	4	3	4	26	4	27
3		7.	11.	11	11.		12.		13.	15.		16.	16.	18.
	5	8	3	.4	9	12	1	12	3	9	16	6	8	2
4		4.		8.				11.	13.	15.	19.	22.	22.	24.
	5.8	6	8.5	9	8.9	8.9	9.2	4	9	9	8	2	6	3
5		8.	11.	11	11.	12.	12.	12.		15.	16.			16.
	6.2	3	6	.7	9	3	3	3	12	4	2	16	16	5

6	7.4	9. 7	7	7. 5	7.9	8	10	11. 8	16	18	19. 6	22. 5	25. 9	27. 9
7	7.5	10 .9	7.3	7. 3	9.3	9.5	10	9	14. 8	17. 5	17. 9	17. 9	17. 9	13. 8
8	5.6	8. 4	6.7	6. 7	7.8	8.1	8.2	8.7	11. 8	10. 5	13. 1	13. 3	13. 5	13. 5
9	5.8	4. 8	4.9	4. 9	4.6	4.8	5	7.5	8.8	11	12	12	12. 5	13. 8
10	8.3	11. 12	11. 8	11 .8	12. 3	12	11. 8	11. 9	11. 8	13. 7	14. 9	15	14. 2	16. 4
11	5	9. 2	8	8	9.7	9.2	10. 3	10. 2	12. 4	14. 8	15. 3	16. 6	16. 4	18. 5
12	5.8	10 .5	8.1	8. 2	10. 9	10. 5	10. 4	12. 4	14. 8	14. 8	17. 4	7.2	19. 9	19. 9
13	6	8. 7	8	8	8.4	8.7	9	9	12. 4	13. 1	15. 4	16. 2	16. 6	12. 4
14	6.2	10. 7	10. 9.8	10	10. 9	11	11. 8	10. 9	11. 8	15. 3	11. 4	16. 4	16. 2	16. 4
15	6	5. 6	5.7	5. 8	6	6.9	7.7	9.6	12. 9	14. 7	14. 5	14. 6	10. 2	14. 8
16	7.3	11. 9	11 10	11 10	11. 8	12	12. 2	12. 7	13. 6	13. 6	17	17. 4	16	17. 6
17	5.6	9. 6	12. 2	12 .3	13	13. 4	14. 1	13. 7	14. 2	15. 9	18. 3	18. 2	18. 4	19
18	5.5	5. 5	6	7	5.8	6.9	6.8	8.8	10. 6	11. 4	10. 5	12	11. 4	12
19	7	7. 1	7.1	7. 2	8	8.3	8.2	8.5	12. 3	15. 9	19. 3	23. 4	24. 4	27. 8
20	6.4	8. 4	11. 3	11 .4	11. 6	11. 5	12. 1	12. 1	10. 2	14. 7	16	16. 4	16. 3	20. 5

21	6	7. 4	7.4	7. 8	11. 7	11. 9	11. 5	11. 6	12. 1	12	15. 6	17. 2	15. 6	17. 9
22	6.5	8. 6	8.7	8. 4	8.4	9.4	9	9.5	9.8	11	11	11. 2	11	14. 9
23	7	9	11	11	9	9.4	9.6	10. 4	11. 5	12. 8	13	13	13. 3	13. 6
24	6.5	9	9	9	10. 7	9.4	9.8	9.6	11. 5	15. 4	15. 4	12. 6	15. 5	15. 5
25	5.9	10 .1	8.6	8. 7	10. 6	11	11. 8	11. 7	13. 5	18. 6	20	22. 5	25. 2	29. 6
26	5.6	9	10	10	9	10. 3	8.4	6.8	10. 9	13. 7	15. 8	17. 8	20. 8	24. 4
27	6.2	9	11. 2	13 .4	13. 4	13. 4	13. 9	13. 9	11. 4	11	11	10. 9	11. 5	13. 9
28	6.4	8. 9	10. 2	12 .8	13 13	13. 2	14. 4	13. 9	13. 5	13. 6	14. 4	16	16. 9	19
29	7.1	9	11. 2	13 .9	10	9.9	10	9.9	10. 6	14. 5	16	19. 2	20. 1	21
30	6.3	8	10. 6	13 .6	13. 5	14. 6	15. 3	15. 4	15. 2	15. 1	14. 5	15. 2	11	15. 3
TB	6.2 2	8. 41	9.3 2	9. 78	10. 25	10. 46	10. 77	11. 12	12. 61	14. 48	15. 67	16. 41	16. 96	18. 66

Giá thể 2														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	7	8. 8	13. 3	13. 3	14. 3	15. 5	15	15. 1	15. 1	15. 1	15. 5	16. 2	16. 5	17
2	6. 4	8	10. 1	11. 3	12 12	12	12. 1	12. 2	12. 2	12. 4	12. 4	13. 5	13. 7	15 .4

3	6	8. 45	8.5	8.5	10. 4	10. 7	10. 7	11 11	11. 3	11. 4	14. 9	15. 3	16. 2	17 .3
4	6. 2	8. 7	8.8	8.9	9.4	9.3	9.8	11	12. 3	13. 9	13. 9	14 14	14. 2	16 .1
5	6	7. 8	9.5	9.5	8.2	3.6	8.8	9.8	10. 8	12. 5	12. 5	12. 5	12. 5	18 .4
6	6. 3	7. 9	7.9	7.9	9	8.9	9	9.5	9.5	10. 9	16. 1	16. 8	16. 2	17
7	6. 5	6. 7	6.8	6.8	7	7	7.2	9	11	13	15. 5	16. 4	16. 4	17 .2
8	5	5. 5	6	6.2	6.4	6.6	6.8	6.9	7.7	8	8.4	9.2	8.6	11 .2
9	5. 9	7. 7	9.7	9.8	10. 4	10. 2	10. 2	11. 2	12. 4	15. 8	15. 8	15. 6	15. 9	16 .1
10	5	8. 85	10. 8	12. 3	11. 8	12. 6	12. 8	12. 8	13. 9	15	16. 8	17. 6	17. 5	19 .3
11	5. 8	6. 4	6.4	6.5	8.4	8	8.2	10. 7	12. 6	15	15. 3	15. 5	15. 4	18 .2
12	6. 2	7. 5	8	8.6	8.9	9.4	9.4	9.6	11. 3	14. 8	14. 5	16. 5	16. 5	17 .4
13	6. 4	8. 8	9.6	10. 2	11	11. 4	11. 4	12. 3	13. 6	13. 9	15. 9	13. 2	16. 4	16 .5
14	7. 1	9. 5	10. 1	11. 3	12. 3	12. 8	12. 4	13. 2	13. 4	18. 2	18. 6	18. 9	19	20 .1
15	6. 9	7. 15	7.2	7.3	7.6	8	8.1	9.8	11. 3	13	15. 5	16. 2	16. 1	17
16	6. 5	8. 8	8.8	8.7	9.6	9.9	10. 1	10. 2	10. 2	12. 7	13. 1	13. 3	13. 4	15
17	5. 9	9. 9	10 10	10. 2	6.6	6.7	6.9	6.9	9.5	10. 7	11. 2	11. 8	11. 9	12 .4

18	5. 6	7. 6	12. 4	12. 5	12. 4	12. 5	12. 8	12. 9	13. 4	14. 3	15	16. 6	16. 5	17 .1
19	5. 5	8. 45	8.5	8.6	8.4	7.3	8.5	6.8	7.9	8.3	10	9.9	9.6	10 .2
20	6. 3	8. 45	13 13	13. 2	13. 1	13. 2	13. 2	13. 4	13. 4	13. 1	13. 4	13. 7	13. 6	13 .9
21	6. 6	8. 7	10. 05	10. 7	12. 8	12. 8	12. 8	12. 8	13. 8	13. 7	16. 5	16. 4	16. 4	16 .7
22	6. 8	9. 5	11. 8	12 12	12. 1	12. 3	12. 4	12. 5	12. 2	13	13. 9	13. 9	13. 4	14 .5
23	5. 9	7. 8	14. 6	14. 8	14. 9	14. 9	15. 1	15. 2	15. 1	14	13. 9	13. 5	14. 1	15 15
24	7 7	7. 9	13. 2	13. 5	13 13	13. 4	13. 2	13. 3	13. 4	14. 4	16. 6	17. 18	18 5	18 .3
25	7. 2	6. 7	10. 3	10. 2	10. 4	10. 7	10. 9	12. 5	13. 4	14. 4	14. 5	12. 7	14. 5	15
26	5 5	8. 85	8.9	9	9.4	10. 3	10 10	13. 2	14. 4	14. 4	16. 9	17. 9	18. 4	17
27	5. 6	6. 85	6.9	7	9.6	9.9	9.6	9.9	11	15. 5	15. 6	16	16	16 .6
28	5. 8	8 8	8.8 5	8.9	7.9	8.1	8.3	12	13	13. 4	12. 3	12. 5	12. 4	16 .1
29	6. 7	8. 8	11. 8	12	8.7	8.9	8.4	8.9	9.7	11. 5	13. 6	14. 4	14. 5	16 .4
30	6. 2	9. 5	13. 2	13	12. 3	12. 5	12. 4	12. 4	14	13. 9	14. 9	16. 6	16. 9	17 .5
TB	6. 18	8. 12	9.8 3	10. 09	10. 28	10. 31	10. 55	11. 23	12. 09	13. 34	14. 43	14. 82	15. 01	16 .2

Giá thể 3

Câ y	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	10	14. 5	14. 5	15	15. 4	15. 8	15. 5	15. 4	15. 4	15. 7	14. 1	14. 2	14	15. 9
2	5.9	1.3	2.3	2.4	3	3.9	6.8	7.1	7.3	7.5	7.7	8.1	8.5	11. 4
3	5.9	6.3	6.4	6.6	6.6	6.7	8	9.9	10. 4	11. 3	12. 3	13. 4	13. 4	15. 9
4	7	9.9 5	10	10	11	11	10. 9	11	10. 9	11. 1	11. 4	11. 2	12. 1	14. 7
5	5.6	8	8	9	7.9	8.4	8.2	9.4	10. 4	14. 4	15. 4	15. 9	16	17. 5
6	5.8	9	13. 5	15	13. 5	13. 8	13. 8	13. 7	13. 9	13. 9	13.	13. 9	14. 2	14. 8
7	5.9	7.5	7.5	8	8.1	8.2	8	10. 5	10. 6	12. 9	13. 6	13	13. 6	13. 6
8	5	7.5	10. 1	10. 2	11. 4	10. 7	10. 6	10. 6	10. 5	10. 9	12. 4	12. 7	12. 8	14. 5
9	7.4	7	7.2	7.9	8.4	8.2	8.4	8.8	9.4	9.4	9.8	9.8	9.2	11. 4
10	6.9	6	6.1	6.2	6.4	6.9	9.4	9.8	10. 3	10. 8	9.9	9.8	11. 4	13. 5
11	8	10. 5	10. 5	10. 6	15. 4	15. 5	15. 4	12. 2	12. 3	15. 6	15. 9	16. 9	17. 1	19. 8
12	5.8	7.5	7.5	8	8.1	8.2	8	10. 5	10. 6	12. 9	13. 6	13	13. 6	14. 4
13	6.2	8.3	9.3	9.3	9.3	10. 6	10. 7	10. 6	12. 1	12. 3	13. 2	13. 4	13. 1	13. 9
14	6.4	5.6	5.7	5.8	6	6.9	7.7	9.6	12. 9	14. 7	14. 5	14. 6	10. 2	14. 8

15	8	10	10	10	11. 8	12	12. 2	12. 7	13. 6	13. 6	17	17. 4	16	17. 6
16	7.6	11	12. 2	12. 3	13. 13	13. 4	14. 1	13. 7	14. 2	15. 9	18. 3	18. 2	18. 4	19
17	6.2	5.5	6	7	5.8	6.9	6.8	8.8	10. 6	11. 4	10. 5	12	11. 4	12
18	8.2	8	8	9	7.9	8.4	8.2	9.4	10. 4	14. 4	15. 4	15. 9	16	17. 5
19	6.9	6	6.1	6.2	6.4	6.9	9.4	9.8	10. 5	10. 6	12. 9	13. 6	13	13. 6
20	5.6	7.4	7.4	7.8	11. 7	11. 9	11. 5	11. 6	12. 1	12	15. 6	17. 2	15. 6	17. 9
21	6.2	8.6	8.7	8.4	8.4	9.4	9	9.5	9.8	11	11	11. 2	11	14. 9
22	6.4	8	11	11	9	9.4	9.6	10. 4	13	12. 8	13	13. 3	11. 5	15. 4
23	7.2	9	9	9	10. 7	9.4	9.8	9.6	11. 5	15. 4	15. 4	12. 6	15. 5	15. 5
24	7.8	10. 1	8.6	8.7	10. 6	11	11. 8	11. 7	13. 5	18. 6	20	22. 5	25. 2	29. 6
25	5.6	7.5	7.5	8	8.1	8.2	8	10. 5	10. 6	12. 9	13. 6	13	13. 6	7.4
26	6.5	8	11. 1	13. 4	13. 4	13. 4	13. 9	13. 9	11. 4	11	11	10. 9	11. 5	13. 9
27	7	10. 5	12. 6	12. 8	13. 13	13. 2	14. 4	13. 9	13. 5	13. 6	14. 4	16	16. 9	19
28	5.9	6	6.1	6.2	6.4	6.9	9.4	9.8	10. 3	10. 8	9.9	9.8	8.2	11. 4
29	5	8	11. 1	13. 6	13. 5	14. 6	15. 3	11	15. 2	15. 1	14. 5	15. 2	15. 3	15. 4
30	5.8	1.3	2.3	2.4	3	3.9	6.8	7.1	7.3	7.5	7.7	8.1	8.5	9

TB	6.5		8.5	8.9	9.4	9.7	10.	10.	11.	12.	13.	13.	13.	15.
	9	7.8	4	9	4	9	39	75	48	67	27	56	56	17

Giá thể 4														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	6. 5	7	11. 7	11 .7	11 .6	12	12 .1	12 .1	8.9	9	9. 6	9.3	9.7	12. 1
2	5. 9	9. 5	9.5	9. 5	9. 6	9. 6	9. 7	9. 7	13. 1	17. 4	19 .4	20. 2	19. 4	20. 4
3	5	5. 5	5.6	5. 7	5. 8	6. 2	9	11	11. 5	11. 5	11 .8	11. 6	12. 2	13. 1
4	7. 4	8. 1	8.1	8. 1	9. 3	9. 2	9. 6	12	14. 8	15. 8	16 .4	9.5	11. 3	16. 9
5	7. 4	5. 2	5.2	5. 3	6. 3	6. 7	6. 2	8	8.8	8.7	9. 5	9.9	10. 2	12. 3
6	6. 9	6. 2	6.3	6. 4	6. 9	7	7. 2	10 .4	11. 9	12	12 .4	12. 8	12. 8	13. 9
7	5. 6	8	9.5	9. 7	10 .4	11 .2	11 .4	11 .4	11. 4	14. 3	15 .6	15. 4	16. 3	21. 3
8	5. 5	7. 75	7.7 5	7. 85	8. 1	8. 3	8. 4	10 .9	12. 2	14. 9	13 .4	15. 4	14. 4	15. 5
9	7	7. 2	7.2	7. 3	7. 8	8	10 .5	13 .5	14. 4	14. 4	14 .7	15. 4	15. 3	18
10	6. 4	10	10	10	10 .5	10 .1	11	10 .3	8	8.4	8. 9	9.9	10	12. 4
11	5. 6	7. 5	7.6	7. 7	8. 2	9	12 .1	12 .9	15. 1	16	17 .3	17. 8	17. 9	19. 4
12	5. 8	6. 5	6.7	6. 8	7. 4	8	12 .4	16 .4	17. 2	17. 2	18 .2	18. 4	18. 4	18. 7
13	5. 9	4. 1	4.1	4. 3	4. 9	6. 3	6. 3	6. 6	6.6	7	7. 2	7.4	6.8	7.8

14	5	1. 8	1.8	1. 8	3. 2	3. 2	3. 5	3. 7	3.5	3.5	5. 4	6.4	8	11. 1
15	5. 7	4. 4	4.4	4. 7	3. 3	3. 3	4. 3	4. 8	5.1	6.2	8. 6	9.6	11. 5	15. 1
16	5. 6	7. 5	7.6	7. 7	8. 2	9	12 .1	12 .9	15. 1	16	17 .3	17. 8	17. 9	19. 4
17	6. 5	4	4	4	4. 8	5	7. 3	6. 9	6.5	8.5	10 .3	12. 7	14. 5	16. 6
18	7	8. 1	8.1	8. 1	9. 3	9. 2	9. 6	12	14. 8	15. 8	16 .4	9.5	11. 3	16. 9
19	5. 9	4. 7	3.6	3. 6	5. 3	5. 4	6. 2	5. 9	5.7	5.5	6. 3	8	9.2	14. 1
20	5	1. 8	1.8	1. 8	3. 2	3. 2	3. 5	3. 7	3.5	3.5	5. 4	6.4	8	11. 1
21	5. 6	8	10	10	10 .5	10 .1	11	10 .3	8	8.4	8. 9	9.9	10	12. 4
22	5. 8	3. 5	3	3	4	4. 2	4. 4	4. 4	4.4	5.2	6. 7	9	9.4	13
23	6. 7	4. 5	2.9	3	3. 7	3. 9	6. 1	6. 4	6.4	7.5	9. 4	10. 5	11. 2	17. 8
24	6. 2	6. 5	6.7	6. 8	7. 4	8	12 .4	16 .4	17. 2	17. 2	18 .2	18. 4	18. 4	18. 7
25	5. 9	8. 1	8.1	8. 1	9. 3	9. 2	9. 6	12	14. 8	15. 8	16 .4	9.5	11. 3	16. 9
26	5	5. 2	5.2	5. 3	6. 3	6. 7	6. 2	8	8.8	8.7	9. 5	9.9	10. 2	12. 3
27	7. 4	6. 2	6.3	6. 4	6. 9	7	7. 2	10 .4	11. 9	12	12 .4	12. 8	12. 8	13. 9
28	6. 9	10	9.5	9. 7	10 .4	11 .2	11 .4	11 .4	11. 4	14. 3	15 .6	15. 4	16. 3	21. 3

29	5. 9	4. 1	4.1	4. 3	4. 9	6. 3	6. 3	6. 6	6.6	7	7. 2	7.5	6.8	7.8
30	5. 7	4. 4	4.4	4. 7	3. 3	3. 3	4. 3	4. 8	5.1	6.2	8. 6	9.6	11. 5	15. 1
TB	6. 09	6. 18	6.3 58	6. 45	7. 03	7. 33	8. 38	9. 53	10. 09	10. 93	11 .9	11. 86	12. 43	15. 18

Xử lý số liệu về chiều dài lá

Giá thể 1														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	4.4	4	3.9	4	4.6	4.5	4.6	4.6	4.5	4.6	5.2	4.9	5.7	7.5
2	4.7	3.4	4.7	4.8	5.1	5.3	5.4	5.4	7.2	7.9	9.1	9.8	10. 4	5.2
3	4.2	4	4.7	4.7	4.4	4.7	4.3	4.4	4.2	4.9	5.5	5.9	5.9	3
4	3.8	4	3.8	3.8	4	3.9	4	3.8	5.2	5.9	7	7.7	7.7	6.3
5	3.2	2.8	3.5	3.7	3.4	3.4	3.4	3.8	3.7	4.5	4.8	6.1	6.2	7
6	3.6	1.9	3.8	3.9	3.1	3.6	4	4.5	6.1	6.3	6.8	7.5	9.1	10. 5
7	3.2	4.8	2.7	2.7	3.4	3.4	4	3.5	3.9	4.9	5	5.6	5.6	5.8
8	2.8	3.5	2.7	2.5	2.7	2.6	2.8	3.2	3.6	4.3	4.1	4.3	4.6	6
9	2.3	4.1	2.5	2.5	1.7	1.7	1.9	2.1	2.4	2.2	3	3.3	3.8	5
10	4.1	3	4.3	4.3	4.4	4.4	4.8	4.8	4.2	4.7	5.1	5.2	4.9	4.3
11	3.6	5.1	3.6	3.9	3.5	3.5	3.5	3.5	4.4	4.2	5.2	5.7	5.9	4.1
12	4.7	5.2	4.4	4.6	4.8	4.8	4.9	4.8	4.4	4.2	5.9	6.8	7	6
13	3.6	5.9	2.7	2.9	3.2	3.7	3.2	3.8	4.5	5.5	6.2	7.1	7.3	3.9
14	3.3	6.2	3.1	3.2	3.8	3.1	3.3	3.4	3.3	3.8	4.2	4.3	4.7	5
15	3	4.2	2.8	2.8	3	2.9	3.1	3.1	3.5	3.9	4.5	4.6	4.5	5.6
16	4.4	4.5	4.6	4.7	4.5	4.5	4.5	4.6	4.6	5.9	5.4	6	6.2	5
17	3.5	4.2	4.3	4.5	3.6	3.6	3.8	3.8	4.2	4.4	5.2	6	6.3	4.6
18	1.8	2	2.7	2.8	2.5	1.9	2.1	2.1	2	2.9	3.3	3.3	3.8	4.4
19	4	2.6	2.7	2.7	3.8	3.9	3.8	3.9	4.3	5.2	6.5	7.7	8	9.1

20	4.1	2.2	1.6	1.6	4.2	4.2	4.2	4.3	3.6	4.3	4.8	5.6	5.8	8.3
21	2.8	2.6	2.7	2.8	4.2	4.1	4.3	3.7	4.2	4	4.1	5.5	5.7	6.5
22	3.2	3.4	3.5	3.5	2.8	3	2.2	3.1	3.7	4	4	4.7	4.2	5.7
23	4.2	4.5	1.6	1.6	2.9	3.5	4	2.9	3.1	3.2	3.2	4	2.2	2.2
24	2.8	2.7	2.8	2.7	2.5	2.9	2.9	2.8	2.9	3.8	4	5.6	5	5.4
25	4.1	2.7	4.4	4.6	4	4.1	4.3	4.3	4.9	6.1	6.5	8.5	8.6	9.1
26	3.9	2.5	2.7	2.5	3.6	3.7	3.7	3.2	3.9	4.6	6.1	6.7	7.4	8.3
27	3.1	3.2	2.6	2.6	3.2	2.9	3.2	3	2.7	3.5	3.7	4.5	4.4	4.8
28	5	4.4	4.5	4.5	4	4.7	4.3	4.2	4.4	5	5.3	6.6	6.2	8.5
29	4.5	3.6	4.5	4.5	4.5	4	4.8	4.2	4.3	5.2	6.2	6.8	6.9	7
30	4.4	4	4	4	4.4	4.5	4.5	4.3	4.4	4.5	5.5	6	5.6	5.2
TB	3.6	3.7	3.4	3.4	3.6	3.7	3.7	3.7	4.0	4.6	5.1	5.8	5.9	5.9
	8	1	1	6	6	0	9	7	8	1	8	8	9	8

Giá thể 2														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	4.4	3.5	3.5	3.5	4.5	4.1	4.7	4.5	5.5	6	5.5	6.1	6	5.9
	5	5												
2	4.6	4.2	4.3	4.4	4	4	4.1	4.1	4.1	4.1	4.6	4.9	4.9	6
3	4.4	3.4	3.4	3.4	3.8	3.9	3.9	4	4	4	4.7	5.3	5.5	3.6
4	3.1	3.1	3.5	3.6	3.2	3.2	3.6	3.5	3.6	4.7	5.5	6.1	6	5.4
5	3.3	3.1	3.1	3.2	3	3	3	3	3.8	4.2	4.2	4.1	4	6.4
6	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	2.5	3	4.1	5.1	5.4	5.5	5
7	2.8	3	3	3	2.8	2.8	2.8	2.8	4.3	4.2	5	5.5	5.6	5.9
8	1.9	2	2	2	2	1.9	2	1.9	2	2.1	2.3	2.9	3.6	5.2
9	3.8	3.7	3.8	3.9	3.7	3.8	3.8	3.8	4.7	5.6	5.4	5.5	6	5.9
10	4.8	5	5.5	6	5	5	5.1	5.1	4.8	5.3	6.2	6.7	5.9	6.1
	5													
11	2.5	2.6	2.7	2.8	3.3	3.2	3.2	3.1	4.2	4.8	5.8	5.8	5.7	7.1

12	4.2	4.3 5	4.2	4.2	4	3.9	3.9	3.8	4	4.9	4.4	5.8	6.4	6.3
13	3.5 5	3.9	4	4	3.8	3.9	4	3.9	3.9	4.6	5.6	6	6.1	5.5
14	5.1	5.2	5.2	5.2	4.5	4.5	4.5	4.6	4.5	6.1	6.1	6.2	5.9	6.2
15	2.8 5	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.8	2.5	3.5	4.6	5.3	5.5	5.5	6
16	2.6 5	3.5	3.6	3.4	3.8	3.7	3.6	3.7	3.8	4.3	5.2	5.3	5.6	4.1
17	4	2.7	2.8	2.9	2.3	2.3	2.3	2.5	3	3.8	4.1	4.3	4.4	5
18	2.5 5	4.2 5	4.3	4.2	4.3	4.2	4.3	4.1	4.4	4.8	5.6	6.6	6.6	7.2
19	3.7	2.7	2.8	2.9	2.6	2.6	2.6	1.8	2.2	2.9	2.8	3	3.6	4
20	4.5	3.6	3.6	2.7	3.6	3.6	3.7	3.7	3.5	4	4.6	5	4.7	5.5
21	3.9	4.1	4.2	4.5	4.6	4.1	4.7	4.6	5.1	5.5	5.4	5.5	5.5	5.6
22	4.1 5	3.6	3.6	3.9	3.5	3	3.6	3.6	3.7	4.5	5	5.3	5.3	6.1
23	3.7	4.2	4.2	4	4.2	4.4	4.2	4.9	5.6	6	6.1	5.4	5.3	5.1
24	3.8 5	3.7	3.7	3.8	3.8	3.8	3.7	4	5	5.2	6	6.9	6.7	6.2
25	2.7 5	3.9	4	4	4	4	4	4	4.1	4.5	4.8	5.1	5.7	6.4
26	3.9 5	3.8	3.8	3.7	2.9	2.2	2.8	3.6	3.9	4.5	6	5.6	6.3	6.4
27	2.9	3.0 5	3.1	3.3	3.9	3.9	4.1	4	3.9	4.6	6	6.2	6.1	6.6
28	2.4	2.5	2.5	2.7	3.1	3	3.2	2.9	3.6	3.9	5	5	5	5.7
29	4.5	4.3	4.4	4.6	2.5	2.6	2.6	2.6	2.5	3.4	4	4	5	5.6
30	3.6	3.4	3.8	3.7	4.4	4.5	4.4	4.1	4.2	4	5.5	5.8	5.7	6
TB	3.6 0	3.5 6	3.6 3	3.6 6	3.5 8	3.5 1	3.6 2	3.5 7	3.9 5	4.5 1	5.0 6	5.3 6	5.4 7	5.7 3

Giá thể 3														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	4.4	4.5	4.5	4.8	4.4	4.5	4.2	4.3	4.3	4.2	3.8	3.9	4	6
2	1.4	1.2	0.6	0.7	1.2	1.2	1.2	1.2	1.3	1.5	1.6 5	1.8	1.9	2.1
3	2.6	2.5	3	3	2.6	2.6	2.6	2.8	2.9	3.7	4.9	5.1	5.8	6.5
4	3.7	4	3.7	3.8	3.8	3.9	3.9	4	3.9	4	4.1	4.2	4.2	6.6
5	3.5	3.6	3.7	3.3	3.4 4	3.5	3.6	3.6	3.3	4.2	5.6	5.9	5.7	7.3
6	3.5	3.2	3.1	3.2	3	3.5	3.3	3.4	3.5	3.8	4	4	4.1	6.5
7	2.9	3	3	3	3.2	3	3.3	3.2	3.6	3.5	4.4	4.5	4.5	4.5
8	3.5	3.7	3.8	3.8	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	4.3	4.2	4.2	5.7
9	1.5	1.7 5	1.8	2.2	2.4	2.4 5	2.5	2.5	2.2	2.2	2.7	2.5	2.9	3
10	2.9	2.2	2.3	2.4	2.2	2.2	2.2	2.4	2.6	2.7	3.7	3.2	3.4	3.8
11	5	4.5	4.6	4.4	4.4	4.3	4.2	4.4	4.3	4.7	5.6	5.6	5	6.5
12	3.8	4.6	4.6	4.4	4	3.9	4	4.1	4.1	4	4.7	5.4	4.7	7
13	3.5	3.2	3.6	3.4	3.5	3.7	3.7	3.2	3.6	3.5	3.8	1.2	4.4	5.4
14	2.5	2.7	2.7	2.8	2.6	2.6	2.7	2.4	2.7	2.9	3	3.5	3.3	4.9
15	4.8	5	3.2	3.3	4.1	4	4.2	4.2	3.8	5	5.9	6.6	6.8	8.3
16	0.8	0.9	0.9 5	1.1	1.2	1.4	1.5	1.6 5	1.8	1.9	2.1	2.3 5	2.4	4.2
17	2.5	2.2	2.2	2.3	2.5	2.7	3.3	3.9	4.3	4.4	4.7	5.3	4.8	5.5
18	3.5	3.2	3.1	3.2	3	3.5	3.3	3.4	3.5	3.8	4	4	4.1	6.5
19	4.8	5	3.2	3.3	4.1	4	4.2	4.2	3.8	5	5.9	6.6	6.8	8.3
20	1.4	1.2	0.6	0.7	1.2	1.2	1.2	1.2	1.3	1.5	1.6 5	1.7	1.9 5	2.3
21	2.6	2.5	3	3	2.6	2.6	2.6	2.7	3.3	3.9	4.3	4.4	4.7	5.3
22	4.4	4.5	4.5	4.8	4.4	4.5	4.2	4.3	4.3	4.2	3.8	3.9	4	6
23	3.5	3.2	3.1	3.2	3	3.5	3.3	3.4	3.5	3.8	4	4	4.1	6.5

24	2.9	2.2	2.3	2.4	2.2	2.2	2.2	2.4	2.6	2.7	3.7	3.2	3.4	3.8
25	4.1	3.6	5	3.3	3.5	3.5	2.9	2.4	2.8	2.5	3.2	3.2	3.4	8.8
26	4.3	3.6	6	3.8	2.9	2.9	4.2	3.9	3.6	3.7	3.9	4.5	2.9	3
27	4.3	3.6	6	3.8	2.9	2.9	4.2	3.9	3.6	3.7	3.7	5.4	6.4	8
28	0.8	0.9	0.9 5	1.1	1.2	1.3	1.5	1.6 5	1.8	1.9	2.1	2.4	2.6	2.7
29	2.9	2.2	2.3	2.4	2.2	2.2	2.2	2.4	2.6	2.7	3.7	3.2	3.4	3.8
30	4.4	4.5	4.5	4.8	4.4	4.5	4.2	4.3	4.3	4.2	4.4	4.3	4.7	5.6
TB	3.2 2	3.1 0	3.2 0	3.0 6	2.9 9	3.0 6	3.1 4	3.1 6	3.2 2	3.4 4	3.9 1	4.0 0	4.1 5	5.4 8

Giá thể 4														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	3.3	3.4	3.4	3.4	3.4	3.2	3.2	3.4	2.8	2.8	3	3.4	2.3	1.8
2	3.7	3.5	3.6	3.7	3.7	3.7	3.6	3.7	3.7	4.2	4.8	5.8	6	8.1
3	3.5	3.6	3.6	3.7	1.8	1.8	2.1	2.3	2.2	2.6	2.7	3.1	3.3	4
4	3.5	3.8	3.8	3.9	3.6	4.5	3.5	3.5	3.6	2.7	3.4	3.8	4	4.6
5	2	2	2	2	1.9	1.5	1.5	1.6	1.8	2.2	2.5	2.5	2.8	4.8
6	2.5	2.7	2.7	2.8	2.6	2.6	2.7	2.4	2.7	2.9	3	3.5	3.3	4.9
7	4.8	5	3.2	3.3	4.1	4	4.2	4.2	3.8	5	5.9	6.6	6.8	8.3
8	3.3	2.7	2.9	2.8	3.3	3.4	3.4	3.3	3	3.5	3.5	4.3	4.3	5.7
9	2.5	2.5	2.4	2.5	2.5	2.5	2.9	3.2	3.5	3.5	3.6	4.2	4.6	5.6
10	2.2	2.4	2.3	2.3	2.2	2.4	2.3	2.2	2.1	2.4	2.7	3.2	3.3	4.8
11	2.9	3	3	3	3	3	3.1	3.1	4	4.4	4.8	5.5	5.4	6.4
12	2.5	2.2	2.2	2.3	2.5	2.7	3.3	3.9	4.3	4.4	4.7	5.3	4.8	5.5
13	1.7	1.5	1.5	1.6	2	2.1	2.1	2.2	2.1	2	2	2.5	2.6	2.8
14	1.4	1.5	1.6	1.7	1.1	1.1	1.4	0.8	1	0.9	1	1.4	1.5	3.7
15	1.2	1.2	1.3	1.4	1.4	1.4	1.6	1.9	1.8	2.8	2.8	2.6	3.1	3.5
16	1	1	1 5	1.1 5	1.2	1.3	1.4	1.2	1.1	1.3	1.2 5	1.4	1.7	1.8

17	1	1	1	1.1	1.1	0.9	1.4	1.5	1.3	1.8	2.3	2.4 5	3.5 5	4.5
18	1.4 5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.4	1.8	2	2.8	2.7	3.3	3.7	4.2 5
19	2.5	2.5	2.4	2.5	2.5	2.5	2.9	3.2	3.5	3.5	3.6	4.2	4.6	5.4
20	3.5	3.6	3.6	3.7	1.8	1.8	2.1	2.3	2.2	2.6	2.7	3.1	3.3	4
21	2.5	2.7	2.7	2.8	2.6	2.6	2.7	2.4	2.7	2.9	3	3.5	3.3	4.9
22	4.8	5	3.2	3.3	4.1	4	4.2	4.2	3.8	5	5.9	6.6	6.8	8.3
23	3.3	2.7	2.9	2.8	3.3	3.4	3.4	3.3	3	3.5	3.5	4.3	4.3	5.7
24	2.5	2.5	2.4	2.5	2.5	2.5	2.9	3.2	3.5	3.5	3.6	4.2	4.6	5.2
25	2.2	2.4	2.3	2.3	2.2	2.4	2.3	2.2	2.1	2.4	2.7	3.2	3.3	4.8
26	2.9	3	3	3	3	3	3.1	3.1	4	4.4	4.8	5.5	5.4	6.4
27	4.8	5	3.2	3.3	4.1	4	4.2	4.2	3.8	5	5.9	6.6	6.8	8.3
28	1.4	1.5	1.6	1.7	1.1	1.1	1.4	0.8	1	0.9	1	1.4	1.5	3.7
29	3.5	3.6	3.7 5	4.2	4.7	5.2	5.4 5	5.9	6.3	6.4 5	6.6	7.5	7.6 5	8.1 5
30	3.3	3.4	3.4	3.4	3.4	3.2	3.2	3.4	2.8	2.8	3	3.4	2.3	1.8
TB	2.7 2	2.7 5	2.5 8	2.6 6	2.6 1	2.6 4	2.7 7	2.8 1	2.8 5	3.1 7	3.4 3	3.9 5	4.0 3	5.0 6

Xử lý số liệu về chiều rộng lá

Giá thể 1														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	4.6	2.8	3.5	3.5	4.8	5	5	5	5	5	5.7	6.2	6.6	6.2
2	3.8	3.3	3.7	3.7	4	4	4.1	4.1	5.7	6.2	7.4	7.9	8.2	6.2
3	4.6	2.8	4.5	4.3	4.8	4.7	4.9	4.5	4.9	4.8	5.7	5.9	5.9	1.7
4	2.8	3.5	3.1	3.1	2.8	2.9	3	3	4.1	4.6	5.2	6	6.2	6.5
5	3.3	3.5	3.6	3.6	3.5	3.5	3.6	3	4.1	4.9	5.2	4.9	6	6.5
6	2.8	3.6	2.8	2.9	2.8	2.8	3.1	3.7	4.8	5.2	5.9	6.3	7.2	7.5
7	3.5	3.1	3.7	3.7	3.6	3.6	3.6	3.6	3.8	4.5	5	5.7	5.9	6.3
8	3.5	3.6	3	3	3	2.9	2.7	3.2	3.8	4.1	4.2	4.2	4.8	6

9	2	2.7	2.6	2.6	1.7	1.7	1.2	2	2.3	2.4	2.7	3.3	4	6
10	4.6	4.5	4.7	4.8	4.9	4.8	4.7	4.9	4.8	4.2	4.6	4.5	5.3	7
11	3.5	3.8	0	3.6	3.9	3.9	4	4	4.5	4.9	5.7	6	6	4.5
12	4.8	3.8	4.5	4.5	4.9	4.7	4.9	4.9	4.5	4.6	5.6	6.5	6.5	7.2
13	2.6	3.4	2.9	2.9	3	2.9	2.9	2.9	3.8	4.2	4.6	5.4	5.4	3.2
14	3.5	4.7	3.1	3.2	3.6	3.1	3.7	3.8	3.8	3.8	4.2	4.4	4.8	6
15	3.3	3.2	8.3	3.4	3.4	3.6	3.4	3.6	3.4	3.8	4.7	4.9	4.9	6.2
16	4.5	4.5	4.4	4.5	4.6	4.5	4.7	4.7	4.7	4.9	5.6	6.5	6.5	5.8
17	3.6	3	4	6	3.6	3.6	3.7	3.6	3.2	3.8	4.3	5.4	5.4	4
18	3.4	1.5	2.4	2.5	2.4	2.5	1.8	1.9	2	2.9	3.6	3.6	4.2	5.5
19	4.2	2.7	2.7	2.7	2.9	2.9	3	3	3.6	4.5	4.9	5.7	5.9	7.8
20	3.9	3.6	4.9	5	4	4.5	4	4.5	3.1	3.8	4.5	5.4	5.6	8.2
		5												
21	2.3	2.6	2.7	2.8	4.5	4.5	4.6	4.1	4.5	4.6	4.7	5.8	6.3	7.5
22	3	3.5	3.6	3.7	2.5	2.5	2.1	2.8	2.7	3	3	3.5	3.2	3.9
23	4.4	4.4	4.5	4.6	3.3	3.2	3.4	3.4	3.2	3.3	3.3	4	2.8	10.
														8
24	2.9	3	3	4	2.7	3	2.9	2.9	3	4	4.3	5	5	6.5
25	3.3	2.2	2.7	2.8	3.2	3.4	3.8	3.3	3.6	4.6	5	5	6.5	6.4
26	3	2.5	2.7	2.6	2.5	2.6	2.6	2.4	3.1	3.7	4.7	5	4.9	6
27	3.3	3.5	2.4	4	3.4	3	3.4	3.1	2.7	3.2	3.7	3.8	5	5.6
28	4.8	5	5	5	4.3	4.3	4.3	4.3	4.4	4.7	5	5	6.9	8.9
29	3.1	3.6	5	4	3.2	3.1	3.2	3.2	3.5	5	5.4	5.2	5.7	5.6
30	4.7	4	4	4	4.9	5	5	4.9	4.8	4.9	4.6	5.2	5.5	5.5
TB	3.5	3.4	3.6	3.7	3.5	3.5	3.5	3.6	3.8	4.2	4.7	5.2	5.5	6.1
	9	0	0	0	6	6	8	1	5	7	7	1	7	7

Giá thể 2														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	4.9	3.8	3.8	3.8	4.7	4.5	4.8	4.9	4.5	4.9	5.9	6.2	6.1	6.7

2	5.4	4.5	4.6	4.7	4	4	4.2	4.2	4.2	4.1	4.6	4.8	4.9	6
3	2.8	3.6	3.6	3.6	3	3	3	3	3	3.2	3.6	4.2	4.5	3.2
4	3.8	3.8	3.9	3.9	3.7	3.6	3.6	3.5	3.9	5	5.5	5.7	5.8	5.8
5	3.5	3.2	3.2	3.1	3	3	3	3	3.5	4	4.1	4.8	4.8	7.2
6	3.5	3.9	3.9	4	3.5	3.5	3.6	2.5	3.1	4	5.2	5.4	5.4	5.8
7	2.9	2.8	2.9	2.9	2.8	2.9	2.9	2.9	4	4.4	5.2	5.7	5.9	6.1
8	2.1	1.9	1.9	1.9	2.1	1.9	2.2	2.6	2	2.5	3.1	3.4	3.8	5.7
			5	5										
9	3.7	3.7	3.8	3.8	3.6	3.5	3.8	3.6	3.6	4.4	6	6.3	6.6	6.5
10	4.8	5	5	4.9	4.8	4.7	4.9	5	5.1	5.8	6	6	6.5	6.6
11	3	3.3	2.7	2.6	3.2	3.2	3.4	3.2	4.2	4.8	5.5	5.5	6	6.3
12	4.8	4.3	4.4	4.5	3.8	4.3	4.3	4.3	4	4.5	4.8	6.2	7	6.6
	5													
13	3.9	4	4	4	4.2	4	4.3	4.2	4.2	4.8	5.8	6.3	6.2	6
14	5.5	5.3	5.3	5.3	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.7	5	5.2	5.9	6.1
15	2.9	2.9	2.9	2.8	2.9	2.9	3	2.7	3.3	4.5	5.4	5.5	5.5	6
	5													
16	3.2	3.4	3.5	3.3	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	4.5	5.4	5.5	6.1	4.2
		5												
17	4.2	2.7	2.8	2.8	2	1.9	2.4	2.4	2.4	3.2	3.5	4	4.6	5.1
18	2.4	3.3	3.3	3.5	4.1	4.4	4.3	4.2	4.3	5	5.8	6.6	6.7	7.6
19	3.7	3	2.5	2.7	2.5	2.5	2.6	2	2	2.5	2.7	3.4	3.6	4.2
20	4.4	3.5	3.6	3.5	3.6	3.5	3.6	3.5	3.6	4.1	4.1	4.5	4.5	5.6
21	3.9	4.2	4.2	4.2	4.3	4.2	4.4	4.7	5.4	5.7	6	6	6.5	6.2
22	5.7	3.3	3.3	3.3	3.7	3.1	3.3	3.4	3.9	4.4	5	5.2	5.5	6
23	4	4.9	4.7	4.9	4.6	4.7	4.7	4.2	4.9	5	5.4	6.4	6.4	5.9
24	3.8	4.2	4	4.2	4	4	4	3.7	4.5	5.1	6.3	7.1	7.4	6.8
25	3	4.3	4	4.3	4	4.1	4.1	4.2	4.5	4.6	4.6	5.2	6	6.6
26	4.3	3.7	3.5	3.7	3.1	2.8	3	3.4	3.8	4.8	5.9	6.3	6.4	7.4
	5													

27	3.0 5	2.9	2.8	2.9	4.2	4.2	4.4	4.4	4.1	5.5	6	6.1	5.9	7.2
28	2.5	2.6	2.5	2.6	2.8	2.8	3	3.3	3.5	4.1	5.5	5.7	5.6	6.3
29	4.7 5	5.4	5.3	5.4	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	3.8	4.6	6	6	6.7
30	3.3	3.3	3.7	4	4.6	4.8	4.8	4.7	4.4	4	6.3	6.5	6.7	7
TB	3.8 0	3.6 9	3.6 6	3.7 1	3.5 8	3.5 5	3.6 7	3.6 1	3.8 1	4.4 0	5.0 9	5.5 2	5.7 6	6.1 1

Giá thể 3														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	4.5	4.7	4.7	4.2	4.7	4.7	4.7	4.7	4.7	4.6	3.8	3.8	4	5.7
2	1	0.7	0.5	0.6	1.1	1.2	1.2	1.2	1.2	1.5	1.6 5	1.8	2.2	2.9
3	2.5	2.6	2.2	2.5	2.2	2.2	2.4	2.6	2.7	3.5	3.9	4.1	4.2	4.5
4	4	4	3.8	3.9	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4	4.2	4.2	4.2	5.7
5	3.3	3.5	3.4	3.6	3.5	3.5	3.6	3.6	3.9	4.1	4.5	4.8	5	6
6	3.6	3.9	3.6	3.6	3.8	3.6	3.9	4	3.7	4	4	4	4	6
7	3.1	3.7	3.8	3.8	3.5	3.2	3.5	3.5	3.6	3.4	3	3.6	3.7	4.4
8	3.4	3.5	3.6	3.6	3.6	3.7	3.8	3.8	3.6	3.7	3.7	3.7	3.8	4.4
9	2.4	2.5	2.5	2.5	2.4	2.9	2.5	2.5	2	2	1.2	2.5	2.1	2.6
10	3.3	2.5	2.6	2.6	2.9	2.2	2.3	2.6	2.6	2.7	2.8	2.9	2.8	3.5
11	3.9	3	3	3	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.5	3.7	3.6	3.6	5
12	3.2	3.4	3.4	3.4	3.2	3.2	3.2	3.3	3.4	3.3	3	3.2	3.8	4.6
13	4	3.5	4	4	4.2	4.3	4.4	4.8	4.3	4.2	4.2	3.5	3.8	5
14	3.3	3.4	3.3	3.4	3.4	3.6	3.4	3.6	3.4	3.8	4.7	4.9	4.9	6.2
15	2.4	2.5	2.5	2.5	2.4	2.9	2.5	2.5	2	2	1.2	2.5	2.1	2.6
16	2.3	2.6	2.7	2.8	4.5	4.5	4.6	4.1	4.5	4.6	4.7	5.8	6.3	7.5
17	3.3	3.5	3.4	3.6	3.5	3.5	3.6	3.6	3.9	4.1	4.5	4.8	5	6
18	2.9	3	3	4	2.7	3	2.9	2.9	3	4	4.3	5	5	6.5

19	4.5	4.7	4.4	4.2	4.7	4.7	4.7	4.7	4.7	4.6	3.8	3.8	4	5.7
20	3.6	3	4	6	3.6	3.6	3.7	3.6	3.2	3.8	4.3	5.4	5.4	4
21	3.4	1.5	2.4	2.5	2.4	2.5	1.8	1.9	2	2.9	3.6	3.6	4.2	5.5
22	3.4	3.5	3.6	3.6	3.6	3.7	3.8	3.8	3.6	3.7	3.7	3.7	3.8	4.4
23	3.1	3.7	3.8	3.8	3.5	3.2	3.5	3.5	3.6	3.4	3	3.6	3.7	4.4
24	4.5	4.7	4.3	4.2	4.7	4.7	4.7	4.7	4.7	4.6	3.8	3.8	4	5.7
25	3	3.5	3.6	3.7	2.5	2.5	2.1	2.8	2.7	3	3	3.5	3.2	3.9
26	4.2	2.7	2.7	2.7	2.9	2.9	3	3	3.6	4.5	4.9	5.7	5.9	7.8
27	3	2.5	2.7	2.6	2.5	2.6	2.6	2.4	3.1	3.7	4.7	5	4.9	6
28	2.5	2.9	3.7	3.7	4	4	4.1	4.1	5.7	6.2	7.4	7.9	8.2	6.2
29	3	3.5	3.7	4.3	4.8	4.7	4.9	4.5	4.9	4.8	5.7	5.9	5.9	1.7
30	3.3	2.2	2.7	2.8	3.2	3.4	3.8	3.3	3.6	4.6	5	5	6.5	6.4
TB	3.2	3.1	3.2	3.3	3.3	3.4	3.4	3.4	3.5	3.7	3.8	4.1	4.3	5.0
	6	6	5	9	8	0	2	3	1	6	7	9	4	3

Giá thể 4														
Cây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	3.2	3.5	3.5	3.5	3.4	3.5	3.5	3.5	3	2.9	2.9	2.9	1.8	1.9
2	3.8	3.6	3.5	3.5	3.7	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	4.4	4.7	4.6	6.9
3	3.5	3.6	3.6	3.7	3.8	2	1.9	2.2	2.4	2.5	2.5	2.6	2.6	2.8
													5	
4	4.1	4.3	4.3	4.3	4.4	4.4	4.4	3.9	4.1	2.6	4.2	4.1	3	4.7
5	1.5	1.7	1.8	1.8	1.1	1.5	1.5	1.4	1.6	1.8	2	2	2.2	4.6
			5											
6	2.2	2.6	2.7	2.9	2.3	2.5	2.5	2.2	2.5	2.7	2.8	2.8	2.5	4.1
7	3.9	4.2	2.3	2.3	3	2.9	2.9	3	3.2	4	4.5	4.6	4.6	6.3
8	3.2	2.7	2.7	2.8	3.2	3.3	3.3	3.1	3	3.5	3.5	3.6	3.7	4.6
9	2.2	2.6	2.3	2.4	2.8	2.7	2.6	3.2	3.5	3.6	3.9	4	4.2	6.7
10	2.2	2.3	2.4	2.4	2.2	2.2	2.2	2.3	2.2	2.5	2.7	2.8	2.9	3.8
11	3.1	3.2	3.2	3.1	3.2	3.2	3.3	3.2	3.2	3.6	4	4.1	4	5.6
12	2.4	2.7	2.7	2.8	2.5	2.7	3.2	3.9	4.2	4.3	4.5	4.6	5.1	6.3

13	1.6	2	2	3	2	2.1	2.2	2.2	2.2	2.2	3.7	2.3	2.1	2.5
14	3.5	3.3	3.1	3.2	3.6	3.1	3.7	3.8	3.8	3.8	4.2	4.3	4.5	5.2
15	3.3	3.4	3.5	3.4	3.5 5	3.6	3.4	3.6	3.4	3.8	4.7	4.9	4.9	6.2
16	2	2.6	2.7 5	3.4	4.6	4.5	4.7	4.7	4.7	4.9	5.6	6.5	6.5	5.8
17	3.6	3	3.2	3.5	3.6	3.6	3.7	3.6	4	4.1	4	5.6	5.7	6
18	3.4	1.5	2.4	2.5	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8	4.5	4.5	4.6	4.1	4.5
19	2.3	2.4 5	2.5 5	2.7 5	2.8 5	2.9	3	3	3.6	4.5	4.9	5.7	5.9	7.8
20	3.9	3.6 5	4.0 5	4.2 5	4.3 5	4.5	4	4.5	3.1	3.8	4.5	5.4	5.6	8.2
21	2.3	2.6	2.7	2.8	4.5	4.5	4.6	4.1	4.5	4.6	4.7	5.8	6.3	7.5
22	2.8	3.5	3.6	3.7	2.5	2.5	2.1	2.8	2.7	3	3	3.5	3.2	3.9
23	2.3 5	3.1	3.6	4.2	3.3	3.2	3.4	3.4	3.2	3.3	3.3	4	2.8	10. 8
24	2.9	3	3.1 5	3.3 5	2.7	3	2.9	2.9	3	4	4.3	5	5	6.5
25	3.3	2.2	2.3 5	2.4	3.2	3.4	3.8	3.3	3.6	4.6	5	5	6.5	6.4
26	3	2.5	2.7	2.6	2.5	2.6	2.6	2.4	3.1	3.7	4.7	5	4.9	6
27	3.3	3.5	2.2	2.3	3.4	3	3.4	3.1	2.7	3.2	3.7	3.8	5	5.6
28	3.2	4.3	4.5	4.6 5	4.3	4.3	4.3	4.3	4.4	4.7	5	5	6.9	8.9
29	2.2	3.6	3.9	4.1	3.2	3.1	3.2	3.2	3.5	5	5.4	5.2	5.7	5.6
30	2.3	2.7	2.9 5	3.2 5	4.9	5	5	4.9	4.8	4.9	4.6	5.2	5.5	5.5
TB	2.8 9	3.0 0	3.0 1	3.1 6	3.2 4	3.2 0	3.2 6	3.2 7	3.3 3	3.6 8	4.0 6	4.3 2	4.4 1	5.7 1

Xử lý số liệu về diện tích lá

Giá thể 1														
C â y	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	255	141	171	176	231	283	289	289	283	289	373	382	395	585
	.02	.12	.99	.40	.84	.50	.80	.80	.50	.80	.46	.79	.01	.90
2	187	94.	219	223	214	267	325	325	689	822	707	812	895	406
	.53	25	.11	.78	.20	.12	.46	.46	.47	.86	.07	.91	.44	.22
3	202	117	222	127	221	278	265	291	302	296	329	438	438	464
	.86	.60	.08	.32	.76	.33	.48	.06	.53	.35	.18	.61	.61	.26
4	67.	176	74.	74.	70.	95.	100	119	223	341	458	485	401	429
	03	.40	21	21	56	00	.80	.70	.86	.96	.64	.10	.02	.98
5	110	82.	132	139	149	149	154	143	223	185	157	251	312	477
	.88	32	.30	.86	.94	.94	.22	.64	.00	.22	.25	.08	.48	.75
6	63.	57.	67.	71.	72.	105	156	209	368	343	505	496	550	826
	50	46	03	25	91	.84	.24	.79	.93	.98	.51	.13	.37	.88
7	117	124	104	104	128	128	151	132	155	277	367	402	277	383
	.60	.99	.90	.90	.52	.52	.20	.30	.61	.83	.50	.19	.54	.67
8	102	132	85.	47.	102	110	127	129	172	259	216	151	185	378
	.90	.30	05	25	.06	.84	.01	.02	.37	.16	.97	.70	.47	.00
9	38.	139	54.	54.	24.	24.	23.	35.	46.	55.	51.	91.	127	315
	64	.48	60	60	28	28	94	28	37	44	03	48	.68	.00
1	158	113	169	173	181	221	284	345	296	165	246	294	272	379
0	.42	.40	.76	.38	.10	.76	.26	.74	.35	.82	.33	.84	.69	.26
1	105	162	0.0	117	143	171	205	205	291	259	435	502	446	232
1	.84	.79	0	.94	.33	.99	.80	.80	.06	.31	.71	.74	.04	.47
1	236	248	207	217	345	379	403	395	291	284	277	464	477	544
2	.88	.98	.90	.35	.74	.01	.37	.14	.06	.00	.54	.10	.75	.32
1	58.	252	49.	52.	80.	90.	97.	115	215	194	179	322	331	131
3	97	.76	33	98	64	13	44	.71	.46	.04	.68	.06	.13	.04

1	97.	305	80.	86.	114	80.	128	135	158	151	111	158	189	315
4	02	.97	72	02	.91	72	.21	.66	.00	.62	.13	.93	.50	.00
1	83.	141	244	99.	128	131	154	164	174	186	222	189	185	291
5	16	.12	.02	96	.52	.54	.94	.05	.93	.73	.08	.34	.22	.65
1	207	212	212	222	217	255	266	272	272	424	381	491	507	304
6	.90	.63	.52	.08	.35	.15	.49	.41	.41	.98	.02	.40	.78	.50
1	105	105	144	226	163	163	206	201	225	245	187	204	285	154
7	.84	.84	.48	.80	.30	.30	.68	.10	.79	.78	.82	.12	.77	.56
1	51.	25.	54.	58.	63.	59.	47.	50.	33.	70.	99.	74.	134	254
8	41	20	43	80	00	85	63	27	60	64	79	84	.06	.10
1	141	58.	61.	61.	92.	95.	119	122	162	294	401	460	594	745
9	.12	97	24	24	57	00	.70	.85	.54	.84	.31	.85	.72	.29
2	100	33.	32.	33.	141	158	176	243	70.	137	181	254	341	857
0	.74	73	93	60	.12	.76	.40	.81	31	.26	.44	.02	.04	.56
2	54.	56.	61.	65.	198	193	207	159	277	231	283	334	377	614
1	10	78	24	86	.45	.73	.69	.29	.83	.84	.27	.95	.06	.25
2	100	124	132	135	44.	47.	38.	72.	41.	50.	50.	69.	84.	186
2	.80	.95	.30	.98	10	25	81	91	96	40	40	09	67	.73
2	155	166	60.	61.	100	164	199	165	124	110	88.	134	51.	249
3	.23	.32	48	82	.49	.64	.92	.65	.99	.88	70	.40	74	.48
2	68.	68.	70.	90.	56.	73.	88.	102	109	191	216	411	367	442
4	21	04	56	72	70	08	31	.31	.62	.52	.72	.60	.50	.26
2	113	49.	99.	108	80.	87.	137	149	185	294	341	535	821	733
5	.65	90	79	.19	64	82	.26	.00	.22	.63	.25	.50	.73	.82
2	122	65.	76.	68.	113	121	80.	64.	126	142	301	351	456	522
6	.85	63	55	25	.40	.21	81	51	.95	.97	.04	.75	.88	.90
2	107	117	65.	87.	137	127	159	97.	76.	117	143	215	184	282
7	.42	.60	52	36	.09	.89	.94	65	55	.60	.75	.46	.80	.24
2	201	184	189	189	216	254	232	227	243	345	333	415	449	635
8	.60	.80	.00	.00	.72	.65	.97	.56	.94	.45	.90	.80	.19	.46

2	146	163	189	151	151	130	193	169	221	382	492	519	578	493
9	.48	.30	.00	.20	.20	.20	.54	.34	.24	.20	.16	.79	.15	.92
3	217	168	168	168	271	330	378	309	310	231	212	327	258	300
0	.14	.00	.00	.00	.66	.75	.00	.73	.46	.53	.52	.60	.72	.30
T	126	129	116	116	141	159	180	181	212	246	278	341	365	431
B	.02	.75	.70	.54	.94	.39	.08	.55	.53	.22	.47	.50	.99	.29

Giá thể 2														
C ây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	320. 53	84.9 9	167. 58	167. 58	222. 08	193. 73	284. 26	277. 83	363. 83	370. 44	340. 73	397. 11	384. 30	498. 08
2	260. 82	158. 76	166. 15	173. 71	134. 40	168. 00	180. 81	216. 97	253. 13	211. 81	177. 74	197. 57	201. 68	378. 00
3	77.6 2	77.1 1	77.1 1	77.1 1	95.7 6	98.2 8	122. 85	126. 00	126. 00	161. 28	177. 66	233. 73	207. 90	280. 96
4	123. 69	123. 69	143. 33	147. 42	149. 18	169. 34	190. 51	205. 80	147. 42	197. 40	254. 10	219. 05	292. 32	358. 86
5	97.0 2	104. 16	104. 16	104. 16	94.5 0	113. 40	132. 30	113. 40	167. 58	176. 40	144. 65	165. 31	161. 28	387. 07
6	128. 63	171. 99	171. 99	176. 40	128. 63	128. 63	132. 30	65.6 3	97.6 5	103. 32	167. 08	183. 71	249. 48	304. 50
7	85.2 6	88.2 0	91.3 5	91.3 5	65.8 6	85.2 6	85.2 6	102. 31	216. 72	116. 42	163. 80	131. 67	208. 15	302. 32
8	33.5 2	31.9 2	32.7 6	32.7 6	26.4 6	37.9 1	46.2 0	41.5 0	33.6 0	44.1 0	44.9 2	62.1 2	86.1 8	248. 98
9	147. 63	143. 75	151. 62	155. 61	167. 83	195. 51	212. 27	229. 82	248. 72	258. 72	340. 20	291. 06	332. 64	402. 68
10	244. 44	262. 50	288. 75	308. 70	302. 40	345. 45	419. 83	428. 40	462. 67	387. 32	468. 72	506. 52	483. 21	422. 73
11	31.5 0	54.0 5	45.9 3	45.8 6	88.7 0	107. 52	114. 24	124. 99	259. 31	241. 92	401. 94	334. 95	287. 28	469. 67
12	213. 89	196. 40	155. 23	158. 76	159. 60	176. 09	211. 30	240. 20	235. 20	324. 14	266. 11	302. 06	470. 40	436. 59
13	116. 30	131. 04	134. 40	134. 40	167. 58	196. 56	216. 72	206. 39	240. 79	278. 21	272. 83	238. 14	317. 69	346. 50
14	353. 43	347. 26	347. 26	347. 26	170. 10	212. 63	255. 15	260. 82	212. 63	361. 24	320. 25	270. 82	292. 40	397. 11
15	70.6 2	65.7 7	65.7 7	63.5 0	82.2 2	98.6 6	105. 84	99.2 3	145. 53	173. 88	180. 31	190. 58	254. 10	302. 40
16	87.3 6	102. 88	105. 84	94.2 5	111. 72	108. 78	132. 30	163. 17	195. 51	162. 54	176. 90	183. 65	286. 94	340. 81

17	176. 40	76.5 5	82.3 2	85.2 6	28.9 8	27.5 3	46.3 7	50.4 0	60.4 8	127. 68	120. 54	144. 48	170. 02	267. 75
18	38.5 6	147. 26	149. 00	154. 35	148. 09	194. 04	194. 15	180. 81	238. 39	302. 40	341. 04	365. 90	371. 45	574. 56
19	143. 75	51.0 3	44.1 0	49.3 3	27.3 0	40.9 5	56.7 8	22.6 8	27.7 2	60.9 0	47.6 3	85.6 8	108. 86	176. 40
20	207. 90	132. 30	136. 08	99.2 3	163. 30	185. 22	195. 80	190. 37	185. 22	172. 20	158. 42	141. 75	177. 66	258. 72
21	159. 71	180. 81	185. 22	198. 45	249. 23	253. 13	347. 42	363. 22	520. 51	460. 85	408. 24	346. 50	375. 38	364. 56
22	347. 73	124. 74	124. 74	135. 14	108. 78	97.6 5	149. 69	154. 22	212. 12	166. 32	262. 50	231. 50	244. 86	384. 30
23	186. 48	259. 31	248. 72	246. 96	284. 00	304. 00	331. 63	345. 74	403. 37	378. 00	276. 70	362. 88	284. 93	315. 95
24	153. 62	195. 80	186. 48	201. 10	223. 44	223. 44	248. 64	248. 64	425. 25	389. 84	396. 90	411. 52	416. 47	442. 68
25	121. 28	176. 09	168. 00	180. 60	134. 40	172. 20	172. 20	211. 68	232. 47	260. 82	231. 84	222. 77	287. 28	443. 52
26	180. 42	147. 63	139. 65	86.2 5	113. 27	90.5 5	123. 48	205. 63	248. 98	317. 52	446. 04	370. 44	338. 69	497. 28
27	55.7 2	55.7 2	54.6 8	80.3 9	206. 39	206. 39	265. 19	258. 72	201. 47	265. 65	302. 40	317. 69	302. 32	498. 96
28	50.4 0	54.6 0	52.5 0	58.9 7	91.1 4	105. 84	120. 96	120. 58	185. 22	201. 47	231. 00	239. 40	235. 20	377. 06
29	179. 55	195. 05	195. 89	208. 66	65.6 3	68.2 5	54.6 0	68.2 5	91.8 8	162. 79	231. 84	151. 20	252. 00	315. 17
30	99.7 9	117. 81	147. 63	186. 48	255. 02	317. 52	310. 46	283. 27	310. 46	235. 20	436. 59	395. 85	401. 00	529. 20
T B	149. 78	135. 31	138. 81	141. 67	142. 20	157. 41	181. 98	186. 89	224. 99	235. 69	259. 65	256. 52	282. 74	377. 44

Giá thể 3														
C ây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	207. 90	222. 08	222. 08	211. 68	130. 28	177. 66	207. 27	212. 21	254. 65	243. 43	181. 94	186. 73	235. 20	215. 46

2	11.7 6	7.06	2.52	3.53	13.8 6	21.1 7	21.1 7	24.1 9	19.6 6	23.6 3	22.8 7	27.2 2	35.1 1	51.1 6
3	40.9 5	40.9 5	41.5 8	47.2 5	36.0 4	48.0 5	52.4 2	61.1 5	82.2 2	135. 98	160. 52	175. 64	204. 62	184. 28
4	124. 32	134. 40	118. 10	124. 49	130. 87	167. 90	201. 47	206. 64	201. 47	201. 60	216. 97	148. 18	296. 35	316. 01
5	97.0 2	105. 84	105. 67	99.7 9	101. 14	128. 63	163. 30	190. 51	162. 16	253. 13	317. 52	416. 30	478. 80	459. 90
6	105. 84	104. 83	93.7 4	96.7 7	95.7 6	132. 30	162. 16	142. 80	135. 98	159. 60	201. 60	134. 40	241. 08	163. 80
7	113. 27	139. 86	143. 64	143. 64	94.0 8	100. 80	121. 28	117. 60	136. 08	124. 95	138. 60	170. 10	139. 86	141. 58
8	99.9 6	135. 98	143. 64	143. 64	132. 30	163. 17	167. 58	167. 58	185. 22	217. 56	233. 88	228. 44	167. 58	263. 34
9	30.2 4	36.7 5	37.8 0	46.2 0	48.3 8	74.6 0	65.6 3	52.5 0	36.9 6	36.9 6	27.2 2	52.5 0	51.1 6	32.7 6
10	100. 49	57.7 5	62.7 9	65.5 2	66.9 9	60.9 8	63.7 6	78.6 2	70.9 8	76.5 5	130. 54	136. 42	139. 94	111. 72
11	163. 80	113. 40	115. 92	110. 88	118. 27	144. 48	141. 12	118. 27	115. 58	138. 18	174. 05	211. 68	189. 00	196. 50
12	76.6 1	98.5 3	98.5 3	94.2 5	107. 52	78.6 2	107. 52	113. 65	146. 37	138. 60	177. 66	217. 73	225. 04	202. 86
13	176. 40	141. 12	181. 44	171. 36	185. 22	200. 47	205. 13	193. 54	130. 03	154. 35	167. 58	52.9 2	210. 67	220. 10
14	86.6 3	96.3 9	93.5 6	99.9 6	92.8 2	117. 94	115. 67	108. 86	115. 67	161. 99	177. 66	216. 09	203. 74	127. 60
15	96.7 7	105. 00	67.2 0	69.3 0	123. 98	146. 16	154. 35	154. 35	127. 68	147. 00	59.4 7	103. 95	119. 95	130. 64
16	15.4 6	19.6 6	21.5 5	25.8 7	56.7 0	79.3 8	86.9 4	85.2 4	68.0 4	73.4 2	82.9 1	85.8 7	127. 01	198. 45
17	69.3 0	64.6 8	62.8 3	69.5 5	73.5 0	79.3 8	124. 74	147. 42	176. 09	227. 30	266. 49	267. 12	302. 40	277. 20
18	63.9 5	40.3 2	39.0 6	53.7 6	68.0 4	88.2 0	100. 49	124. 24	66.1 5	127. 68	144. 48	168. 00	129. 15	532. 35
19	181. 44	197. 40	118. 27	116. 42	202. 34	197. 40	207. 27	207. 27	262. 54	289. 80	329. 57	263. 34	285. 60	298. 05

20	52.9 2	37.8 0	25.2 0	44.1 0	27.2 2	27.2 2	37.3 0	36.2 9	17.4 7	23.9 4	29.8 0	38.5 6	66.3 4	57.9 6
21	74.2 6	31.5 0	60.4 8	63.0 0	65.5 2	95.5 5	68.8 0	86.1 8	83.1 6	118. 76	130. 03	133. 06	165. 82	244. 86
22	125. 66	132. 30	136. 08	145. 15	133. 06	139. 86	167. 58	205. 88	195. 05	195. 80	177. 16	212. 12	223. 44	166. 32
23	91.1 4	99.4 6	98.9 5	102. 14	66.1 5	70.5 6	97.0 2	124. 95	132. 30	135. 66	126. 00	181. 44	223. 00	180. 18
24	137. 03	108. 57	103. 85	105. 84	130. 28	130. 28	86.8 6	94.7 5	128. 31	104. 33	147. 63	127. 68	171. 36	227. 43
25	129. 15	132. 30	189. 00	102. 56	110. 25	128. 63	89.5 2	70.5 6	79.3 8	78.7 5	100. 80	141. 12	91.3 9	144. 14
26	151. 70	81.6 5	136. 08	86.1 8	105. 97	105. 97	158. 76	147. 42	163. 30	244. 76	240. 79	323. 19	179. 66	197. 42
27	135. 45	113. 40	136. 08	82.9 9	76.1 3	79.1 7	137. 59	117. 94	164. 05	201. 24	255. 63	396. 90	460. 99	403. 20
28	21.0 0	27.4 1	36.9 1	42.7 4	60.4 8	76.4 4	103. 32	99.4 5	150. 82	123. 69	130. 54	199. 08	179. 09	70.3 1
29	54.8 1	48.5 1	71.4 8	108. 36	133. 06	130. 28	135. 83	113. 40	160. 52	136. 08	177. 16	118. 94	168. 50	67.8 3
30	152. 46	103. 95	127. 58	141. 12	147. 84	160. 65	167. 58	178. 79	227. 56	243. 43	184. 80	135. 45	192. 47	376. 32
T B	99.5 9	92.6 3	96.3 9	93.9 4	97.8 0	111. 73	123. 98	126. 08	133. 18	151. 27	163. 73	175. 67	196. 81	196. 81

Giá thể 4														
C ây	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
1	66.5 3	74.9 7	74.9 7	74.9 7	121. 38	141. 12	141. 12	174. 93	88.2 0	85.2 6	91.3 5	103. 53	143. 47	155. 91
2	147. 63	132. 30	132. 30	135. 98	172. 49	177. 16	201. 10	236. 21	236. 21	268. 13	354. 82	515. 21	521. 64	352. 11
3	102. 90	136. 08	136. 08	143. 75	57.4 6	37.8 0	33.5 2	42.5 0	44.3 5	68.2 5	70.8 8	84.6 3	90.0 9	120. 56
4	150. 68	171. 57	171. 57	176. 09	199. 58	249. 48	226. 38	114. 66	154. 98	73.7 1	149. 94	196. 31	151. 20	176. 21

5	25.2 0	35.7 0	38.8 5	37.8 0	21.9 5	23.6 3	23.6 3	18.8 2	24.1 9	41.5 8	52.5 0	63.0 0	77.6 2	139. 10
6	69.3 0	88.4 5	91.8 5	102. 31	75.3 5	81.9 0	99.2 3	44.3 5	56.7 0	65.7 7	88.2 0	102. 90	103. 95	84.3 8
7	117. 94	132. 30	46.3 7	47.8 2	77.4 9	73.0 8	76.7 3	105. 84	102. 14	210. 00	278. 78	318. 78	394. 13	449. 05
8	66.5 3	61.2 4	65.7 7	65.8 6	110. 88	117. 81	141. 37	150. 38	113. 40	154. 35	154. 35	227. 56	233. 88	165. 19
9	46.2 0	54.6 0	46.3 7	50.4 0	73.5 0	85.0 5	110. 84	150. 53	205. 80	185. 22	206. 39	282. 24	365. 15	236. 38
10	60.9 8	69.5 5	69.5 5	69.5 5	50.8 2	55.4 4	42.5 0	53.1 3	58.2 1	63.0 0	76.5 5	75.2 6	100. 49	114. 91
11	75.5 2	80.6 4	80.6 4	78.1 2	100. 80	100. 80	107. 42	124. 99	161. 28	232. 85	282. 24	378. 84	362. 88	301. 06
12	75.6 0	74.8 4	74.8 4	81.1 4	91.8 8	137. 78	177. 41	255. 53	265. 48	278. 12	310. 91	358. 39	359. 86	218. 30
13	11.4 2	12.6 0	6.30	20.1 6	16.8 0	27.7 8	29.1 1	30.4 9	19.4 0	27.7 2	46.6 2	48.3 0	34.4 0	73.5 0
14	72.0 3	62.3 7	52.0 8	57.1 2	49.9 0	42.9 7	54.3 9	31.9 2	31.9 2	21.5 5	17.6 4	50.5 7	70.8 8	202. 02
15	33.2 6	51.4 1	57.3 3	59.9 8	73.0 6	84.6 7	91.3 9	100. 55	89.9 6	178. 75	165. 82	160. 52	223. 29	318. 99
16	29.4 0	32.7 6	34.6 5	49.2 7	81.1 4	98.2 8	110. 54	82.9 1	76.0 0	107. 02	117. 60	171. 99	208. 85	197. 32
17	22.6 8	25.2 0	26.8 8	32.3 4	49.9 0	47.6 3	54.3 9	45.3 6	32.7 6	46.4 9	77.2 8	144. 06	212. 47	340. 20
18	31.0 6	14.1 8	30.2 4	31.5 0	22.6 8	23.6 3	30.5 8	40.8 2	58.8 0	158. 76	153. 09	223. 15	254. 86	361. 46
19	48.3 0	77.1 8	77.1 1	72.1 9	59.8 5	76.1 3	73.0 8	80.6 4	132. 30	165. 38	222. 26	301. 64	284. 97	265. 36
20	114. 66	137. 97	153. 09	165. 11	65.7 7	85.0 5	70.5 6	86.9 4	71.6 1	124. 49	153. 09	246. 08	271. 66	206. 64
21	36.2 3	44.2 3	61.2 4	32.9 3	98.2 8	98.2 8	130. 41	103. 32	127. 58	112. 06	118. 44	213. 15	305. 61	317. 40
22	56.4 5	110. 25	72.5 8	76.9 2	86.1 0	84.0 0	92.6 1	123. 48	129. 28	157. 50	185. 85	242. 55	274. 18	271. 91

23	81.4 3	87.8 9	109. 62	123. 48	68.6 1	91.3 9	121. 38	117. 81	120. 96	97.0 2	121. 28	216. 72	101. 14	517. 10
24	60.9 0	31.5 0	47.6 3	52.7 6	42.5 3	63.0 0	70.6 4	77.9 5	88.2 0	147. 00	162. 54	176. 40	241. 50	354. 90
25	60.9 8	55.4 4	56.7 5	57.9 6	59.1 4	68.5 4	73.4 2	60.9 8	79.3 8	92.7 4	141. 75	201. 60	225. 23	322. 56
26	73.0 8	47.2 5	51.0 3	49.1 4	63.0 0	65.5 2	84.6 3	93.7 4	156. 24	239. 32	379. 01	519. 75	500. 09	445. 12
27	99.7 9	147. 00	59.1 4	47.8 2	117. 10	100. 80	149. 94	109. 37	64.6 4	134. 40	229. 22	263. 34	285. 60	390. 43
28	47.0 4	81.2 7	105. 84	99.6 0	49.6 7	49.6 7	63.2 1	36.1 2	55.4 4	53.3 0	63.0 0	73.5 0	130. 41	276. 61
29	80.8 5	108. 86	122. 85	180. 81	126. 34	135. 41	109. 87	158. 59	185. 22	338. 63	449. 06	655. 20	640. 99	479. 22
30	47.8 2	77.1 1	84.2 5	116. 03	174. 93	134. 40	168. 00	174. 93	112. 90	115. 25	144. 90	259. 90	185. 96	103. 95
T B	67.0 8	77.2 2	74.5 9	79.6 3	81.9 4	88.6 1	98.6 5	100. 93	104. 78	134. 79	168. 84	229. 17	240. 71	240. 71

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

KHOA SINH HỌC



ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN

**BUỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG NHÂN GIỐNG SINH DUỖNG
LOÀI THU HẢI ĐƯỜNG HOANG DẠI (*BEGONIA MASONIANA* IRMSCH.
EX ZIESENH.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÂM**

Giáo viên hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Ngọc

Nhóm sinh viên thực hiện

Đà Lạt, 2021

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

BÁO CÁO TỔNG KẾT

ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021

**BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG NHÂN GIỐNG SINH DƯỠNG
LOÀI THU HẢI ĐƯỜNG HOANG ĐẠI (*BEGONIA MASONIANA*
IRMSCH. EX ZIESENH.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÂM**

Thuộc nhóm ngành khoa học: Tự nhiên

Đà Lạt, 2021

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

BÁO CÁO TỔNG KẾT

ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021

**BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG NHÂN GIỐNG SINH DƯỠNG
LOÀI THU HẢI ĐƯỜNG HOANG ĐẠI (*BEGONIA MASONIANA*
IRMSCH. EX ZIESENH.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÂM**

Thuộc nhóm ngành khoa học: Tự nhiên

Sinh viên thực hiện: Đỗ Văn Dương

Nam, Nữ: Nam

Dân tộc: Kinh

Lớp, khoa: CSK43 – Khoa Sinh học

Năm thứ: 2/Số năm đào tạo: 04

Ngành học: Công nghệ sinh học

Người hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Ngọc

Đà Lạt, 2021

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

Lâm Đồng, ngày 08 tháng 06 năm 2021

**BÁO CÁO KẾT QUẢ TỰ ĐÁNH GIÁ
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ SINH VIÊN 2021**

I. Thông tin chung về đề tài:

1. Tên đề tài: Bước đầu nghiên cứu khả năng nhân giống loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh bằng phương pháp giâm.

2. Mục tiêu đề tài:

Mục tiêu chung:

- Đánh giá khả năng nhân giống của loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* bằng phương pháp giâm.

Mục tiêu cụ thể:

- Khảo sát khả năng nhân giống của loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* bằng phương pháp giâm cuống lá trên các giá thể khác nhau gồm: xơ dừa, đất đen, bã cà phê.
- Khảo sát khả năng nhân giống của loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* bằng phương pháp giâm phiến lá trên các giá thể khác nhau gồm: xơ dừa, đất đen, bã cà phê.

3. Chủ nhiệm đề tài: Đỗ Văn Dương

4. Giáo viên hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Ngọc

5. Tổng kinh phí thực hiện: 5.000.000 VNĐ (Bằng chữ: năm triệu đồng)

6. Thời gian thực hiện:

Bắt đầu: tháng 11 năm 2020

Kết thúc: tháng 05 năm 2021

7. Danh sách thành viên thực hiện đề tài nêu trên gồm:

STT	Họ và tên	Mã số SV	Lớp/Khoa
1	Đỗ Văn Dương	1911273	CSK43 – Khoa Sinh học
2	Nguyễn Đăng Khoa	1910188	CSK43 – Khoa Sinh học
3	Nguyễn Ngọc Thảo Nguyên	1910204	CSK43 – Khoa Sinh học
4	Lã Thị Vân Khánh	1910187	CSK43 – Khoa Sinh học
5	Đinh Thị Phương Trinh	1911343	CSK43 – Khoa Sinh học

II. Nội dung tự đánh giá về kết quả thực hiện đề tài:

1. Về sản phẩm khoa học:

1.1. Danh mục sản phẩm đã hoàn thành

STT	Tên sản phẩm	Số lượng			Khối lượng			Chất lượng		
		Xuất sắc	Đạt	Không đạt	Xuất sắc	Đạt	Không đạt	Xuất sắc	Đạt	Không đạt
1	Bảng kết quả đánh giá khả năng ra rễ, bật chồi ở các loại giá thể khác nhau	x			x			x		
2	Giống cây con	x			x			x		

Minh chứng:

- Các bảng kết quả khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng của loài *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh bằng phương pháp giâm.
- Cây con *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh

1.2. Danh mục sản phẩm khoa học dự kiến ứng dụng, chuyển giao (nếu có)

STT	Tên sản phẩm	Thời gian dự kiến ứng dụng	Cơ quan dự kiến ứng dụng	Ghi chú
1	Cây con <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh	Từ tháng 7 đến tháng 12 năm 2021	Khoa Sinh học - Trường Đại học Đà Lạt	

1.3. Danh mục sản phẩm khoa học đã được ứng dụng (nếu có)

STT	Tên sản phẩm	Thời gian dự kiến ứng dụng	Cơ quan dự kiến ứng dụng	Ghi chú
1	Cây con <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh	Năm 2021	Khoa Sinh học - Trường Đại học Đà Lạt	

2. Về những đóng góp mới của đề tài:

- Đề tài lần đầu tiên khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh bằng phương pháp giâm tại Việt Nam.
- Đề tài khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh bằng phương pháp giâm từ đó đã ứng dụng để làm kiếng lá và thương mại sản phẩm này.

3. Về hiệu quả kinh tế

- Việc khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh bằng phương pháp giâm là nền tảng ban

đầu để giúp Đà Lạt đa dạng hoá thêm các loài thực vật sử dụng làm làm kiểng và tăng giá trị kinh tế cho loài thực vật này.

4. Về hiệu quả xã hội

- Góp phần đa dạng hoá sản phẩm kiểng lá, giúp người nông dân thương mại hóa được các sản phẩm từ loài *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh tại Lâm Đồng cũng như tại Việt Nam. Bên cạnh đó góp phần bảo tồn nguồn tài nguyên thực vật cũng như nguồn gen của địa phương.

III. Tự đánh giá, xếp loại kết quả thực hiện đề tài

1. Về tiến độ thực hiện: (đánh dấu ✓ vào ô tương ứng):

- Nộp hồ sơ đúng hạn ☐
- Nộp chậm từ trên 30 ngày đến 06 tháng ☐
- Nộp hồ sơ chậm trên 06 tháng ☐

2. Về kết quả thực hiện đề tài:

- Xuất sắc ☐
- Đạt ☐
- Không đạt ☐

Giải thích lý do:

- Đề tài đã thực hiện đúng 07 nội dung đã đăng ký trong thuyết minh đề tài và đáp ứng được mục tiêu của đề tài.
- Cam đoan nội dung của báo cáo là trung thực; Chủ nhiệm và các thành viên tham gia thực hiện đề tài không sử dụng kết quả nghiên cứu của người khác trái với quy định của pháp luật.

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI

CHỦ TỊCH HĐ NGHIỆM THU

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành đề tài này chúng tôi đã nhận được rất nhiều sự giúp đỡ và động viên của thầy cô, gia đình, bạn bè và những người thân trong suốt thời gian thực hiện đề tài, chúng tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến:

TS. Nguyễn Văn Ngọc, thầy đã tận tình hướng dẫn và cung cấp những kiến thức vô giá, những kinh nghiệm bổ ích để hoàn thành công trình nghiên cứu và bài báo cáo một cách đầy đủ nhất có thể.

TS. Hoàng Thị Bình, cô đã giúp đỡ chúng tôi, cũng như đóng góp những ý kiến về đề tài, truyền đạt những kinh nghiệm, kiến thức quý báu về khoa học trong suốt quá trình thực hiện và hoàn thành đề tài nghiên cứu khoa học này.

TS. Hoàng Thị Như Phương, ThS. Trần Thị Nhung, các cô đã giúp đỡ chúng tôi, chia sẻ những kiến thức khoa học thú vị, quý báu, đóng góp ý kiến để chúng tôi hoàn thiện nghiên cứu này.

ThS. Nguyễn Khoa Trường, chú Đức (nhà kính Hasfarm) đã hỗ trợ chúng tôi, cung cấp đầy đủ tiện nghi tạo điều kiện để giúp chúng tôi hoàn thành đề tài.

Gửi lời cảm ơn đến Khoa Sinh học nói riêng và trường Đại học Đà Lạt nói chung, các thầy cô đã giảng dạy và trang bị cho chúng em những kiến thức cơ bản trên lĩnh vực Công nghệ sinh học.

Chúng tôi xin cảm ơn các anh, chị, các bạn thuộc phòng thí nghiệm Tài nguyên thực vật, phòng thí nghiệm Nuôi cấy mô đã trao đổi kinh nghiệm, đặc biệt là bạn Lê Thiện Hoàn đã chia sẻ những niềm vui nỗi buồn trong suốt thời gian làm việc tại phòng thí nghiệm và thực hiện nghiên cứu đề tài này.

Cuối cùng chúng em xin gửi những lời biết ơn sâu sắc tới Cha Mẹ. Cảm ơn gia đình đã tin tưởng và tạo điều kiện thuận lợi, luôn bên cạnh động viên tinh thần trong suốt thời gian học tập và hoàn thành đề tài này.

Trân trọng cảm ơn!

Đà Lạt, tháng 06 năm 2021

LỜI CAM ĐOAN

Chúng tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu “**Bước đầu nghiên cứu khả năng nhân giống loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh bằng phương pháp giâm.**” là công trình nghiên cứu của chúng tôi dưới sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Văn Ngọc.

Nội dung của nghiên cứu này có tham khảo tài liệu, thông tin được đăng tải trên sách, báo, tạp chí và các trang web theo danh mục tài liệu tham khảo của luận văn.

Các số liệu, kết quả và đánh giá được đưa ra trong bài luận văn chưa từng được công bố dưới bất kì hình thức nào trước đây. Chúng tôi xin chịu trách nhiệm hoàn toàn với nhà trường về lời cam đoan này.

Đà Lạt, tháng 06 năm 2021

Nhóm sinh viên

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN	i
LỜI CAM ĐOAN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC HÌNH	v
DANH MỤC BIỂU ĐỒ	vi
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	2
1.1. Khái quát về kiểng lá	2
1.1.1. Nguồn gốc kiểng lá	2
1.1.2. Ứng dụng của kiểng lá	2
1.2. Phương pháp nhân giống sinh dưỡng	3
1.2.1. Nhân giống sinh dưỡng	3
1.2.2. Giâm (hom) lá ở thực vật	4
1.3. Giới thiệu về chi <i>Begonia</i> L.....	5
1.3.1. Khái quát về chi <i>Begonia</i> L.....	5
1.3.2. Đặc điểm sinh học	6
1.3.3. Đặc điểm sinh thái.....	6
1.3.5. Tình hình nghiên cứu về chi <i>Begonia</i> L.....	7
1.4. Giới thiệu về <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh	9
1.4.1. Vị trí phân loại	9
1.4.2. Khái quát về tình hình nghiên cứu về loài <i>B. masoniana</i> trên thế giới và ở nước ta	10
1.4.3. Ý nghĩa kinh tế	11
1.5. Giá thể nhân giống	12
1.5.1. Xơ dừa	12
1.5.2. Bã cà phê	13
1.5.3. Đất đen tribat.....	13
CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	15
2.1. Địa điểm, thời gian, mục đích thực hiện nghiên cứu	15
2.1.1. Địa điểm	15
2.1.2. Thời gian.....	15
2.2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu.....	15
2.2.1. Vật liệu	15

2.2.2. Xử lí mẫu	15
2.2.3. Dụng cụ.....	15
2.3. Điều kiện nhân giống.....	16
2.4. Các bước tiến hành thí nghiệm.....	16
2.4.1. Chuẩn bị giá thể.....	16
2.4.2. Bố trí thí nghiệm.....	16
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	19
3.1. Kết quả khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng từ lá cây <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh. trên các loại giá thể.....	19
3.2. Kết quả khảo sát khả năng ra rễ, bật chồi từ phiến lá <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh trên giá thể xơ dừa	22
3.3. Kết quả khảo sát khả năng ra rễ.....	22
3.4. Kết quả khảo sát khả năng bật chồi	25
3.5. Ra chậu	27
KẾT LUẬN & KIẾN NGHỊ	29
Kết luận.....	29
Kiến nghị	29
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC HÌNH

Hình 1. Kiềm thu hải đường	7
Hình 2. Thu hải đường hoang dại <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh	9
Hình 3. Hom lá <i>Begonia masoniana</i> trên các loại giá thể.....	20
Hình 4. Chiều dài rễ của mẫu phiến lá trên giá thể xơ dừa	23
Hình 5. Các giai đoạn của quá trình bật chồi từ mẫu phiến lá <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh khi giâm trên giá thể xơ dừa	25
Hình 6. Chồi bất định khi quan sát dưới kính soi nổi.....	26
Hình 7. Các giai đoạn phát triển của cây.....	28

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

<i>Biểu đồ 1.</i> Tỷ lệ (%) mẫu tái sinh từ cuống lá và phiến lá trên các loại giá thể của cây <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh.....	20
<i>Biểu đồ 2.</i> Kết quả khảo sát khả năng ra rễ của mẫu phiến lá <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh trên giá thể xơ dừa.....	22
<i>Biểu đồ 3.</i> Kết quả khảo sát khả năng ra rễ của mẫu phiến lá <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh trên giá thể xơ dừa	26

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI

1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: Bước đầu nghiên cứu khả năng nhân giống loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh bằng phương pháp giâm.

- Sinh viên thực hiện: Đỗ Văn Dương

- Lớp: CSK43 Khoa: Sinh học Năm thứ: 02 Số năm đào tạo: 04

- Người hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Ngọc

2. Mục tiêu đề tài: Đánh giá khả năng nhân giống sinh dưỡng loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh, góp phần ứng dụng các loài thực vật nguồn gốc hoang dại đem lại giá trị kinh tế, làm đa dạng thêm nguồn cây làm kiểng ở Đà Lạt.

3. Tính mới và sáng tạo:

- Đề tài lần đầu tiên khảo sát khả năng nhân giống và ứng dụng tiềm năng làm kiểng của *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh.

- Đề tài đã đánh giá được khả năng nhân giống của loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh. trên 3 loại giá thể: đất đen tribat, bã cà phê, xơ dừa.

4. Kết quả nghiên cứu:

- Bước đầu đánh giá khả năng nhân giống của loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh. trên 3 loại giá thể: đất đen tribat, bã cà phê, xơ dừa bằng phương pháp giâm.

- Cuống lá loài *Begonia masoniana* không có khả năng tái sinh trên 3 loại giá thể khảo sát là đất đen tribat, bã cà phê, xơ dừa. Phiến lá loài này có khả năng tái sinh trên giá thể xơ dừa, nhưng không có khả năng trên giá thể đất đen tribat, bã cà phê.

5. Đóng góp về mặt kinh tế - xã hội, giáo dục và đào tạo, an ninh, quốc phòng và khả năng áp dụng của đề tài:

- Việc khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh bằng phương pháp giâm là nền tảng ban đầu để giúp Đà Lạt đa dạng hoá thêm các loài thực vật sử dụng làm làm kiểng và tăng giá trị kinh tế cho loài thực vật này.
- Góp phần đa dạng hoá sản phẩm kiểng lá, giúp người nông dân thương mại hóa được các sản phẩm từ loài *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh tại Lâm Đồng cũng như tại Việt Nam. Bên cạnh đó góp phần bảo tồn nguồn tài nguyên thực vật cũng như nguồn gen của địa phương.

6. Công bố khoa học của sinh viên từ kết quả nghiên cứu của đề tài (*ghi rõ tên tạp chí nếu có*) hoặc nhận xét, đánh giá của cơ sở đã áp dụng các kết quả nghiên cứu (*nếu có*):

Ngày 08 tháng 06 năm 2021
Sinh viên chịu trách nhiệm chính
thực hiện đề tài
(ký, họ và tên)

Nhận xét của người hướng dẫn về những đóng góp khoa học của sinh viên thực hiện đề tài (*phần này do người hướng dẫn ghi*):

Nhóm sinh viên thực hiện đề tài đã có những đóng góp khoa học quan trọng từ đề tài này, cụ thể là:

- + Góp phần cung cấp những dẫn liệu ban đầu về việc đánh giá khả năng nhân giống sinh dưỡng loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh bằng phương pháp giâm.
- + Bước đầu khảo sát được loại giá thể phù hợp cho quá trình nhân giống sinh dưỡng *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh. Thêm vào đó, việc khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng còn là một dẫn liệu quan trọng cho việc ứng dụng vào quá trình nhân giống trên quy mô công nghiệp, góp phần tận dụng tiềm năng làm kiểng của loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh. đem lại giá trị kinh tế.

Ngày 08 tháng 06 năm 2021

Xác nhận của trường đại học

(ký tên và đóng dấu)

Người hướng dẫn

(ký, họ và tên)

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN VỀ SINH VIÊN

CHỊU TRÁCH NHIỆM CHÍNH THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

I. SƠ LƯỢC VỀ SINH VIÊN:

Họ và tên: Đỗ Văn Dương

Sinh ngày: 29 tháng 07 năm 2001

Nơi sinh: thị trấn Thạnh An, huyện Vĩnh Thạnh, thành phố Cần Thơ

Lớp: CSK43

Khóa: K43

Khoa: Sinh học

Địa chỉ liên hệ: 75, Võ Trường Toản, phường 8, thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng

Điện thoại: 0774090802

Email: dovanduong2971@gmail.com

Ảnh 4x6

II. QUÁ TRÌNH HỌC TẬP (kê khai thành tích của sinh viên từ năm thứ 1 đến năm đang học):

*** Năm thứ 1:**

Ngành học: Công nghệ sinh học

Khoa: Sinh học

Kết quả xếp loại học tập: Xuất sắc

Sơ lược thành tích:

- Hoạt động tích cực trong phong trào đoàn hội, công tác xã hội.

*** Năm thứ 2:**

Ngành học: Công nghệ sinh học

Khoa: Sinh học

Kết quả xếp loại học tập: Xuất sắc

Sơ lược thành tích:

- Hoạt động tích cực trong phong trào đoàn hội, công tác xã hội.

Ngày 08 tháng 06 năm 2021

Xác nhận của trường đại học
(ký tên và đóng dấu)

Sinh viên chịu trách nhiệm chính
thực hiện đề tài
(ký, họ và tên)

MỞ ĐẦU

Từ xưa đến nay, việc sử dụng cây cảnh nhằm mục đích trang trí là một nhu cầu tinh thần, sáng tạo và vươn tới cái đẹp. Việc sưu tầm những loài cây đẹp, lạ mắt ngày càng gia tăng, trở thành niềm đam mê của nhiều người và cũng là nguồn thu của các cơ sở kinh doanh cây cảnh. Nhằm đáp ứng nhu cầu ngày càng cao này, nhiều cơ sở kinh doanh đã nhập khẩu một số loài cây đẹp, mới lạ trong đó có cả những loài thuộc chi *Begonia* (Thu hải đường). Trong khi đó, nguồn cây Thu hải đường hoang dại tại Việt Nam vẫn chưa được ứng dụng nhiều trong làm cảnh mặc dù ở nước ta có hơn 100 loài thuộc chi này. Kiểng lá thu hải đường là một lựa chọn hoàn hảo để thay thế các loài hoa chậu bởi vì chúng có nhiều màu sắc, cấu trúc, bền theo thời gian và là một sản phẩm vượt trội hơn hầu hết các sản phẩm hoa bởi lợi nhuận đáng kể.

Ngoài ra, cũng chưa có nhiều nghiên cứu liên quan đến sự nhân giống các loài Thu hải đường hoang dã tại nước ta, trong đó có loài Thu hải đường *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh. Trong khi đó, tiềm năng sử dụng làm cảnh của *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh là khá cao (Kiew, 2005, 2007). Chính vì những lý do trên, chúng tôi thực hiện đề tài: **“Bước đầu nghiên cứu khả năng nhân giống loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh bằng phương pháp giâm”**.

Mục đích nghiên cứu:

- Đánh giá khả năng nhân giống của loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch ex Ziesenh. bằng phương pháp giâm.

Nội dung nghiên cứu:

- Khảo sát khả năng nhân giống của loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch ex Ziesenh bằng phương pháp giâm cuống lá và phiến lá trên các giá thể khác nhau gồm: xơ dừa, đất đen, bã cà phê.

Do kiến thức còn hạn chế, trong một thời gian ngắn và bước đầu làm quen với công tác nghiên cứu khoa học, đề tài nghiên cứu này khó tránh khỏi nhiều thiếu sót. Do đó, chúng tôi rất mong nhận được sự đóng góp ý kiến của quý thầy cô và những ai quan tâm đến lĩnh vực này.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Khái quát về kiềng lá

1.1.1. Nguồn gốc kiềng lá

Kiềng lá theo nghĩa đen bao gồm tất cả các loại cây được trồng để làm kiềng do lá của chúng hơn là cho hoa hoặc trái cây. Tuy nhiên, trong thuật ngữ làm vườn nói chung, thực vật có tán lá là những loài có tán lá hấp dẫn hoặc hoa có thể tồn tại và phát triển trong nhà, chúng được dùng để trang trí nội thất hoặc cây cảnh nội thất (Chen và cộng sự, 2002b). Tuy nhiên, ở vùng nhiệt đới chúng cũng có thể được trồng dưới bóng râm làm cây cảnh.

Hầu hết các loài thực vật làm kiềng lá là cây bản địa của các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới nơi có nhiệt độ ẩm áp và nguồn nước dồi dào nuôi dưỡng. Các loài thực vật kiềng lá là cây ưa bóng, chịu được ánh sáng yếu, nhạy cảm với nhiệt độ lạnh (Henny và Chen, 2003). Những nơi có khí hậu cận nhiệt đới, cả nhiệt độ và độ ẩm có thể thay đổi theo mùa, cây kiềng lá ở khí hậu này chịu được hạn, ở nhiệt độ lạnh cây đi vào trạng thái ngủ đông (Chen và cộng sự, 2005). Tuy nhiên, một số cây trồng trong nhà có nguồn gốc khí hậu khắc nghiệt như sa mạc có các cơ chế tiến hóa để thích nghi với môi trường sống (Chen và cộng sự, 2005). Những loài thực vật này, chủ yếu là xương rồng, thường có tán lá hoặc hình dạng độc đáo. Một loài kiềng lá phổ biến ở vùng ôn đới là cây cuồng Nhật Bản (*Fatsia japonica*) và một cây dây leo là thường xuân Anh (*Hedera helix*); cả hai đều đã được sử dụng rộng rãi cho trang trí nội thất (Chen và cộng sự, 2005).

1.1.2. Ứng dụng của kiềng lá

Cây kiềng lá được đánh giá cao do sự kết hợp đa dạng giữa màu sắc, hoa văn và kết cấu và cả hình dạng của tán lá, cũng như màu sắc hoa (Chen và cộng sự, 2005). Cây kiềng đã được sử dụng rộng rãi để trang trí nội thất tòa nhà để mang lại vẻ đẹp và sự thoải mái cho môi trường xung quanh (Chen và cộng sự, 2005). Do đó, cây kiềng lá đáp ứng nhu cầu tâm lý, cải thiện môi trường xung quanh của chúng ta và cũng là một thú vui tao nhã (Lohr và cộng sự, 1996; Manaker, 1997). Ngoài ra, cây trồng trong nhà còn giúp giảm bụi, hoạt động như máy tạo độ ẩm tự nhiên và lọc không khí trong nhà (Chen và cộng sự, 2005).

Người ta thường sử dụng cây kiềng lá trong phòng để cải thiện môi trường làm việc. Trong những năm gần đây, việc sử dụng cây cảnh trong văn phòng đã trở nên phổ biến với hy vọng tăng cường vượng khí. Nhiều cách sắp xếp các loài kiềng lá khác nhau nhưng thông thường cây được đặt trên bàn hoặc trên sàn nhà như một tính năng trang trí hoặc đôi khi được bố trí để phân vùng. Asaumi và cộng sự (1995b) đã điều tra cảm giác của người sử dụng trong những căn phòng có bố trí cây cảnh, kết quả cho thấy rằng mọi người cảm thấy thư giãn hơn khi có cây cảnh so với những trường hợp không có cây cảnh. Mintz (1972) nói rằng thẩm mỹ của một căn phòng ảnh hưởng đến tâm trạng của con người. Ông nhận thấy rằng những người tham gia nghiên cứu của ông tràn đầy năng lượng hơn và có cảm giác hạnh phúc hơn khi ở trong một căn phòng có tính thẩm mỹ.

Người ta cũng sắp xếp các loại cây trồng với hy vọng giảm bớt căng thẳng như mỏi mắt, mỏi vai, đau lưng và mệt mỏi về tinh thần hoặc để phục hồi sức khỏe (Kondo và Toriyama, 1989; Asaumi và cộng sự, 1994, 1995a). Nhiều người tin rằng nhìn vào phong cảnh thiên nhiên có lợi cho những người đang mệt mỏi hoặc căng thẳng, làm tăng cảm giác hạnh phúc của một người (Chen và cộng sự, 2005).

1.2. Phương pháp nhân giống sinh dưỡng

1.2.1. Nhân giống sinh dưỡng

Qua nhiều năm, các nhà làm vườn đã phát triển các phương pháp nhân giống vô tính sử dụng các bộ phận sinh dưỡng của cây (Hartmann và Kester, 1975). Những phương pháp này có thể thực hiện thông qua việc sử dụng các bộ phận sinh dưỡng của thực vật, chẳng hạn như lá, thân và rễ để tạo ra cây mới hoặc thông qua sự phát triển từ các bộ phận sinh dưỡng chuyên biệt (Swingle và Charles, 1940).

Phương pháp giâm thân: một phần thân bị cắt khỏi cây mẹ và sau đó phát triển thành cây mới. Thông thường, đoạn thân sẽ được xử lý bằng hormone sinh trưởng, kích thích rễ mới hình thành trước khi trồng, đôi khi cành giâm rễ có chồi sẽ tạo ra chồi mới khi được trồng trực tiếp vào đất (Hartmann và Kester, 1975).

Phương pháp giâm lá: sử dụng phiến lá hoặc cuống lá để tạo cây mới. Từ phiến lá hoặc cuống lá, chồi và rễ hình thành tạo nên cây mới, lá đem giâm không trở thành một phần của cây mới, phương pháp này áp dụng đối với các loài thực vật có số lượng ít (Hartmann và Kester, 1975).

Phương pháp giâm rễ: mẫu rễ được lấy từ những cây mẹ vào cuối mùa đông hoặc đầu mùa xuân và được đem giâm trên môi trường thích hợp. Giâm rễ giúp tiết kiệm chi phí hơn khi thu hái cành giâm rễ bằng cách cắt tia rễ từ cây ươm (Hartmann và Kester, 1975).

Phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật: là một công cụ đắc lực cho khoa học trong việc nhân nhanh một số lượng lớn cây giống với tốc độ nhanh, chất lượng đồng đều và đồng nhất về mặt di truyền, phục vụ cho sản xuất và trong công tác nghiên cứu. Với các điều kiện nhân tạo về sinh lý, sinh hóa (độ ẩm, ánh sáng, nhiệt độ,...) và tạo điều kiện phát triển tối ưu (sạch vi sinh, nấm,...) cho cây (George E.F., 1993).

1.2.2. Giâm (hom) lá ở thực vật

Trong hom lá, phiến lá, hoặc cả phiến lá và cuống lá được sử dụng để nhân giống tạo cây mới. Chồi bất định, chồi ngọn và rễ hình thành ở gốc của lá và phát triển thành cây mới, lá ban đầu không trở thành một phần của cây mới. Có thể sử dụng giâm lá để tạo các cây con của những loài có số lượng ít (Hartmann và Kester, 1975).

Tử linh lan (*Saintpaulia*), thu hải đường và *peperomia* thường được nhân giống bằng cách giâm lá. Hom lá thu hải đường có thể sử dụng toàn bộ lá (phiến lá và cuống lá), phiến lá, hoặc chỉ một phần của phiến lá. Cây mới hình thành ở gốc của cuống lá hoặc gân giữa của phiến lá (Phụ lục 1 và 2) (Hartmann và Kester, 1975).

Để tạo cây mới từ lá chẳng hạn như thu hải đường nhóm rex, bằng cách giâm lá, các gân lớn mặt dưới của lá trưởng thành được cắt, sau đó được đặt phẳng trên bề mặt của môi trường nhân giống (Phụ lục 2). Lá được ghim hoặc giữ theo cách nào đó, với mặt trên của lá lộ ra ngoài. Sau một khoảng thời gian trong điều kiện ẩm ướt, cây mới hình thành tại điểm mà mỗi gân bị cắt. Phiến lá già và phân hủy dần dần (Hartmann và Kester, 1975).

Một phương pháp khác, đôi khi được sử dụng với thu hải đường có rễ xơ là cắt những lá lớn, phát triển tốt thành các phần hình tam giác, mỗi phần chứa một phần gân lớn. Phần mép lá mỏng bên ngoài bỏ đi. Những mảnh lá này sau đó được chèn thẳng đứng trong cát hoặc trên môi trường than bùn-perlite, với đầu nhọn hướng xuống. Cây mới phát triển từ gân của mảnh lá (Phụ lục 2) (Hartmann và Kester, 1975).

Một kiểu nhân giống bằng cách giâm lá các cây lưỡi hổ (*Sansevieria*), các lá thon dài được cắt thành các đoạn dài từ 8 đến 10 cm (3 - 4inch) (Phụ lục 3). Những

mảnh lá này được đưa vào môi trường tạo rễ và sau một thời gian cây mới hình thành ở gốc mảnh lá (Hartmann và Kester, 1975).

Cây mới phát sinh từ lá theo nhiều cách khác nhau. Cây lưng heo (*Tolmiea*) phát triển một cây con mới tại phần tiếp giáp của phiến lá và cuống lá của nó, ngay cả khi lá vẫn đang phát triển trên cây mẹ (Phụ lục 4). Với *Bryophyllum*, nhiều cây con hoặc phôi lá mới phát sinh ở rìa lá (Phụ lục 4) (Hartmann và Kester, 1975).

Giâm lá nên được bắt nguồn từ cùng một điều kiện ẩm ướt cao như những điều kiện được sử dụng cho giâm cành những cây gỗ mềm hoặc thân thảo. Hầu hết hom giống bằng lá ra rễ dễ dàng nhưng hạn chế đối với việc nhân giống là sự phát triển chồi ngọn và chồi bất định (Hartmann và Kester, 1975).

1.3. Giới thiệu về chi *Begonia* L.

1.3.1. Khái quát về chi *Begonia* L.

Chi Thu hải đường (*Begonia* L.) họ (Begoniaceae) phân bố hầu hết ở châu Á, châu Mỹ và châu Phi (Hilinske, 2016), ngoại trừ Úc (Hvoslef-Eide và Munster, 2007). *Begonia* là một trong mười chi thực vật lớn nhất (Frodin, 2004), gồm khoảng 2500 loài (Tian và cộng sự, 2018). Thu hải đường được trồng thương mại chủ yếu là giống lai giữa các loài cây hoang dã các loại từ khắp nơi trên thế giới (Hvoslef-Eide và Munster, 2007), là cây trang trí phổ biến. Chúng có thể được trồng ngoài trời, trong chậu, giỏ, và luống vườn (Hvoslef-Eide và Munster, 2006), hoặc trồng làm kiếng trong nhà (Tian và cộng sự, 2012).

Hiệp hội Thu hải đường Hoa Kỳ phân chia Thu hải đường thành các nhóm chính:

- Cane begonia
- Shrub-like
- Tuberous
- Rhizomatous
- Semperflorens
- Rex
- Trailing-scandent
- Thick-stemmed

Phần lớn sự phân chia các nhóm này không tương ứng với bất kỳ nhóm phân loại hoặc phát sinh loài theo phân loại chính thức nào, nhiều loài và giống lai có các đặc điểm của nhiều hơn một nhóm hoặc không phù hợp với bất kỳ nhóm nào trong số chúng.

1.3.2. Đặc điểm sinh học

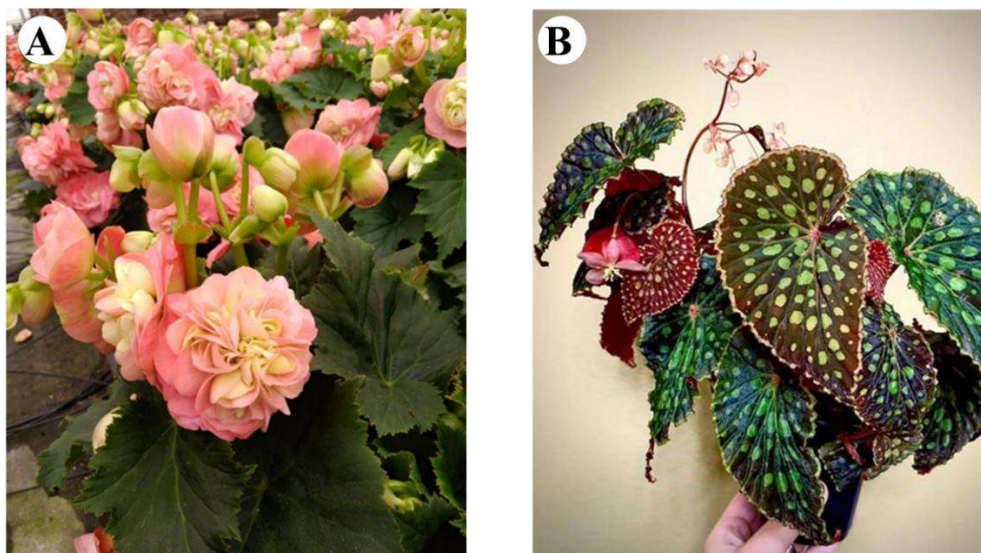
Thu hải đường là cây thảo hàng năm, cây thảo lưu niên hay cây bụi thấp có thân rễ hay có củ, có khi mọc đứng phân cành nhiều; lá có cuống, mọc so le, kèm theo những lá kèm sớm rụng, dù có hình dạng thay đổi nhưng hầu như đều không cân đối; hoa đơn tính cùng gốc, hoa đực có đế hoa lồi mang 2, 4 hay nhiều phiến dạng cánh và nhiều nhị vàng; hoa cái ngược lại, có đế hoa lõm và có bầu thường chia 3 ô vòi nhụy chẻ đôi ở đầu; quả nang có 3 cánh thường không đều, chứa nhiều hạt nhỏ (Chi, 2003).

1.3.3. Đặc điểm sinh thái

Phần lớn Thu hải đường có nguồn gốc từ rừng nhiệt đới nên chúng thường phát triển mạnh ở những vùng có khí hậu ẩm áp. Trong tự nhiên các loài này thường mọc ở tầng thấp trong rừng, chúng cần có bóng râm và chỉ có một số loài chịu được ánh sáng mạnh, đặc biệt trong các vùng có khí hậu nóng. Nhiều loài Thu hải đường phát triển và ra hoa quanh năm nhưng loài thân củ thường có thời kỳ ngừng phát triển, trong thời gian đó, củ có thể lưu trữ trong khu vực khô và mát mẻ. *Begonia* có thể được trồng từ hạt, giâm cành và một vài loài dạng thân củ có thể được dự trữ cho mùa đông dưới điều kiện lạnh giá. Đối với giâm cành, lá hoặc những phần của lá cũng có thể được sử dụng, chúng ra rễ dễ dàng dưới điều kiện ẩm ướt. Ngoài việc dễ dàng phát triển, chúng thường cho rất nhiều hoa với tất cả các màu từ đỏ, đỏ tươi, hồng, vàng và trắng tạo nên một sự thay đổi màu sắc qua các mùa (Hvoslef-Eide và cộng sự, 2007).

1.3.4. Ý nghĩa kinh tế

Thu hải đường được chia thành hai loại: kiểng hoa và kiểng lá. Tính độc đáo và vẻ đẹp của những chiếc lá (hình dạng và màu sắc của chúng) như sự nhỏ gọn, sức sống và khả năng chống lại tác nhân gây bệnh là những đặc tính cơ bản phải được ưu tiên khi phát triển nhiều giống kiểng lá thu hải đường mới (Krempin, 1993; Kiew, 2005). Thu hải đường chủ yếu được trồng để lấy lá trang trí do có màu sắc và họa tiết trên lá khác nhau và là lựa chọn tuyệt vời để thay thế cho một số loài hoa chậu (Wickramasinghe và cộng sự, 2020).



Hình 1. Kiểng thu hải đường

A. Kiểng hoa thu hải đường; B. Kiểng lá thu hải đường

1.3.5. Tình hình nghiên cứu về chi *Begonia* L.

Begonia là một chi gồm khoảng 2500 loài (Tian và cộng sự, 2018). Sự đa dạng về loài của chi *Begonia* có sự phân bố không đều giữa các hệ sinh thái khác nhau, người ta phát hiện nhiều loài ở vùng nhiệt đới hơn so với các vùng khác trên thế giới. Độ phong phú của loài này minh họa lịch sử tiến hóa phức tạp của đa dạng sinh học trên toàn cầu (Mittelbach và cộng sự, 2007). *Begonia* phân bố tương đối nhiều ở Mỹ và châu Á (600 loài) nhưng lại tương đối ít ở Châu Phi (160 loài) và không có sự xuất hiện ở Úc (Goodall-Copestake và cộng sự, 2010).

Begonia có thể dễ dàng nhận ra bởi các đặc điểm hình dạng đặc trưng như lá không đối xứng, hoa đơn tính, nhụy xoắn (Doorenbos, 1998). Tuy nhiên vẫn có các trường hợp ngoại lệ có hình thái khác với hình thái đặc trưng. Chúng có khả năng thích nghi với nhiều dạng sinh thái khác nhau (Hughes và cộng sự, 2008).

Frei và cộng sự (1998) đã nghiên cứu hoạt tính của các hợp chất: cucurbitacin B, cucurbitacin, 23,24-dihydrocucurbitacin D, 23,24-dihydrocucurbitacin F, 2- O - β -glucopyranosyl-cucurbitacin B, và 2- O - β -glucopyranosyl-cucurbitacin D được tách chiết từ thân *Begonia heracleifolia*. Kết quả cho thấy các hợp chất cucurbitacin B, cucurbitacin, 23,24-dihydrocucurbitacin D, 23,24-dihydrocucurbitacin F có khả năng chống tăng sinh mạnh mẽ đối với khối u.

Wu và cộng sự (2004) đã nghiên cứu hoạt tính của các hợp chất cucurbitacin B, dihydrocucurbitacin B, cucurbitacin E, dihydrocucurbitacin E, cucurbitacin I và –

auranamide được tách chiết từ thân rễ của *Begonia nantoensis* cho thấy khả năng gây độc tế bào đối với bốn dòng tế bào ung thư ở người . Axit 3 β , 22 α -Dihydroxyolean-12-en-29-oic, axit indole-3-carboxylic, 5,7-dihydroxychromone, và - catechin đã chứng minh hoạt tính đáng kể chống lại sự nhân lên của HIV trong tế bào lympho H9.

Jeeva và Marimuthu (2012) đã nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết methanolic của *B. floccifera* chống lại các vi khuẩn. Kết quả cho thấy, vùng ức chế tối đa là 28mm đối với *Bacillus cereus*, 25mm đối với *Staphylococcus aureus*, 15mm đối với *Escherichia coli*, 13mm đối với *Proteus mirabilis*, 7mm đối với *Klebsiella pneumonia* .

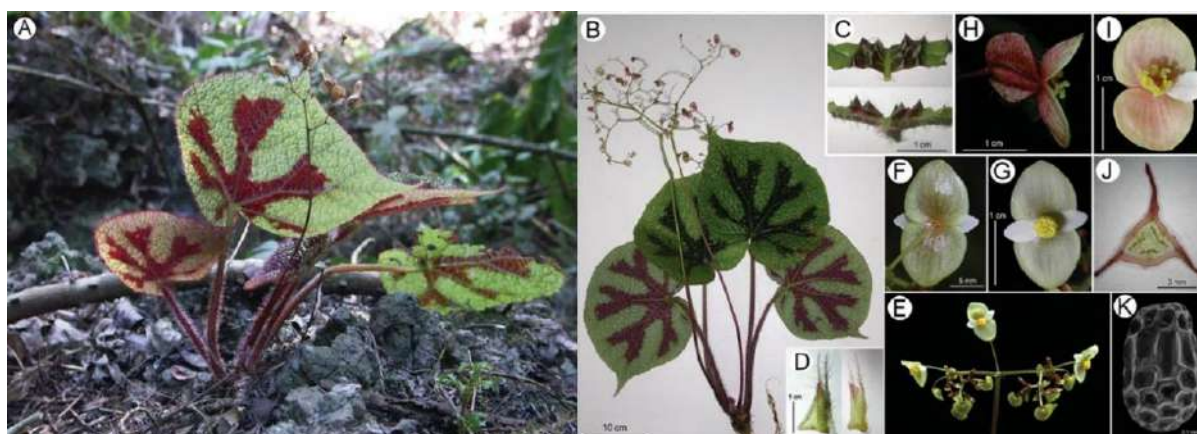
Nakano và cộng sự (1999) đã nghiên cứu nhân giống in vitro bằng các đoạn lá và cuống lá *Begonia* $\times$ *tubhybrida* Voss trên môi trường MS có chứa 0,54 μ M NAA và 0,44 μ M BA. Các chồi được nhân lên một cách hiệu quả bằng cách lặt các đoạn lá hình thành chồi trong môi trường lỏng chứa 0,54 μ M NAA và 0,44 μ M BA. Cây con thu được bằng cách tạo rễ các chồi kéo dài trên môi trường MS nửa độ bền có chứa 0,54 μ M NAA và được đông đặc với 8 gl⁻¹agar hoặc 2 gl⁻¹gellan gum, và trồng thành công trong nhà kính.

Hầu hết các loài Thu hải đường thường được trồng từ hạt, giâm cành hoặc giâm lá (Manuela và cộng sự, 2006). Phương pháp nhân giống bằng cách sử dụng lá (hay còn gọi là "giâm lá") thường được coi là phương pháp nhân giống đã được người nông dân sử dụng phổ biến để nhân giống loài *Begonia rex* (Oyeyemi, 2011). Trong đó, giá thể thường dùng để ra rễ là đá trân châu và vermiculite hoặc phối trộn cả hai. Ngoài ra, có thể sử dụng rêu, than bùn để tạo rễ hoặc kết hợp giữa rêu, than bùn, đá trân châu và vermiculite (Thompson, 2002). Một số tác giả đã khuyến nghị một giá thể nhân giống của một số loài thu hải đường là hỗn hợp gồm 60% than bùn, 30% đất và 10% cát, pH thích hợp là 6-6,5 (Cruceru, 2007).

1.4. Giới thiệu về *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh

1.4.1. Vị trí phân loại

Giới	: Plantae
(không phân hạng)	: Angiospermae
(không phân hạng)	: Eudicots
Bộ	: Cucurbitales
Họ	: Begoniaceae
Chi	: <i>Begonia</i> L.
Loài	: <i>Begonia masoniana</i> Irmsch. ex Ziesenh
Tên thông thường	: Begonia Iron cross



Hình 2. *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh (Peng và cộng sự, 2005)

A. Môi trường sống và sự ra quả của cây trên đá vôi; B. Sự phát triển, ra hoa trổ của cây; C. Đặc điểm của lá: phồng lên và có những túm lông ở trên bề mặt lá; D. Lá kèm; E. Sự ra hoa; F. Mặt sau hoa đực; G. Mặt trước hoa đực; H. Mặt bên hoa cái; I. Mặt trước hoa cái; J. Mặt cắt ngang của bầu nhụy; K. Hình dạng hạt

Begonia masoniana Irmsch. ex Ziesenh là một loài thực vật thuộc họ Thu hải đường (Begoniaceae), là loài cây có phân bố ở miền nam Trung Quốc và miền bắc Việt Nam (Kiew và cộng sự, 2015). *Begonia masoniana* thích nghi tốt với các vùng có độ cao khác nhau (Krempin, 1993; Kiew, 2005), loài này có lá đẹp với lông trơn trên bề mặt lá, giống một cái khiên với các vân chữ thập; mặt trên của lá có lông dày, ngược lại mặt dưới lá có lông rải rác và có màu xanh thẫm, cuống lá dài 12-20cm, hoa

đơn tính, mọc thành cụm, cuống hoa dài 12-20cm và không đối xứng. Lá của chúng đẹp và rất có tiềm năng dùng để làm cây giống (Siregar và Wahyumi, 2017).

Begonia masoniana (Iron Cross – tạm dịch “Chữ thập sắt”) được Maurice Mason giới thiệu ở Anh vào năm 1952. Đây là một loài kiểng lá phổ biến, thân rễ (rhizomatic begonia), thường xanh sống lâu năm, nổi bật với những chiếc lá được tô điểm bởi những tâm màu sô cô la hình chữ thập giống chữ thập sắt được sử dụng trên khiên và cờ trong các cuộc thập tự chinh thời trung cổ. Những bông hoa màu trắng hồng hoặc xanh nhạt của chúng xuất hiện theo mùa, nhưng chúng khá nhỏ và thường không được chú ý. Tuy nhiên, thể kết hợp *Begonia masoniana* với những loại cây kiểng lá khác tạo sẽ nên những chậu kiểng lá hoàn hảo, phù hợp để trang trí trong nhà và sân vườn. *Begonia masoniana* đạt giải thưởng Garden Merit của Hiệp hội Làm vườn Hoàng gia.

1.4.2. Khái quát về tình hình nghiên cứu về loài *B. masoniana* trên thế giới và ở nước ta

Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu về nhân giống sinh dưỡng của *B. masoniana* với một số nghiên cứu sau:

Zaiqi (2008) đã dùng phiến lá của *B. masoniana* làm mẫu cấy, cây con *B. masoniana* được thu nhận từ nuôi cấy mô như cảm ứng, phân hóa, tạo rễ và nuôi cấy cây con mạnh để nghiên cứu công nghệ cảm ứng mẫu cấy và nhân giống nhanh. Tỷ lệ cảm ứng mô sẹo của mẫu cấy *B. masoniana* đạt hơn 95%. Phiến lá của *B. masoniana* có thể tạo ra một số lượng lớn mô sẹo và phân hóa thành cây con với tỷ lệ phân hóa cao hơn, điều này có liên quan đến các đặc điểm sinh học của *B. masoniana*. Các phiến lá của *B. masoniana* có thể được lấy làm nguyên liệu trong quá trình sản xuất công nghiệp *B. masoniana*.

Lin và Songjun (1998) đã nghiên cứu nuôi cấy mô và nhân giống nhanh lá *Begonia masoniana* Irms. trong môi trường MS + 6-BA 2mg/L + NAA 0,2mg/L + 6-BA 1mg/L + NAA 0,1mg/L. Cây con phát triển nhanh nhất ở MS + 6-BA 0,5mg/L + NAA 0,5mg/L, 0,2% charecoal thúc đẩy sự phát triển của rễ. Tỷ lệ sống sót của cây con trong ống nghiệm là hơn 90%.

Wang và cộng sự (1990) đã nuôi cấy mẫu lá của *Begonia masoniana* var. *maculata* trên môi trường nền MS. Kết quả cho thấy BA kích thích sự hình thành và tăng sinh chồi. Khi sử dụng kết hợp BA và NAA, hiệu quả hình thành chồi của các

mẫu cây lá đã được tăng lên. Khi các chồi được chuyển vào môi trường cơ bản 1/2 MS với 0,2mg/L NAA hoặc 1mg/L IBA, chúng sẽ phát triển thành toàn bộ cây con có bộ rễ.

Manuela và Carmen (2013) đã nghiên cứu nhân giống sinh dưỡng bằng cách giâm của các loài thu hải đường *Begonia masoniana* Irmsch., *Begonia rex* 'Inca Fire', *Begonia rex* 'Fairy' bằng cách sử dụng hai loại môi trường để tạo rễ: than bùn + cát (1:1) và than bùn + đá trân châu (1:1). Nhiệt độ dao động trung bình từ 18°C – 20°C. Đánh giá chất lượng của cành giâm theo môi trường đã sử dụng bằng cách xác định chiều dài hom, số lượng và chiều dài rễ. Kết quả cho thấy than bùn + cát là môi trường thích hợp nhất cho sự ra rễ của *B. masoniana*, than bùn + đá trân châu là môi trường thích hợp nhất cho sự ra rễ của hai loài *Begonia rex* 'Inca Fire' và *Begonia rex* 'Fairy'. Gần đây, Siregar và Sri Wahyuni (2017) đã nghiên cứu phép lai giữa *B. masoniana* và *B. kui* tạo ra thế hệ F1 (*B. 'masokui'*) đặc trưng bởi một số đặc điểm hình thái.

Tại Việt Nam, các nghiên cứu về các loài thuộc chi *Begonia* chủ yếu tập trung vào việc công bố loài mới lai với một số nghiên cứu sau:

Hieu và Tebbitt (2006) đã công bố một loài mới ở Phú Thọ, Việt Nam: *Begonia hahiepiana* H. Q. Nguyen & Tebbitt.

Trinh và cộng sự (2019) đã công bố hai loài mới: *Begonia dinhdui* ở Lâm Đồng và *B. bacmeensis* ở Hà Giang.

Chen và cộng sự (2018) đã công bố 7 loài *Begonia* mới từ miền Bắc Việt Nam và miền Nam Trung Quốc bao gồm: *Begonia albopunctata* Y.M. Shui, W.H. Chen & H.Q. Nguyen và *B. erectocarpa* H.Q. Nguyen, Y.M. Shui & W.H. Chen, *B. gulongshanensis* Y.M. Shui & W. H. Chen, *B. minissima* H.Q. Nguyen, Y.M. Shui & W.H. Chen, *B. mollissima* Y.M. Shui, H.Q. Nguyễn & W.H. Chen, *B. rhytidophylla* Y.M. Shui & W.H. Chen, *Begonia bambusetorum* H.Q. Nguyen, Y.M. Shui & W.H. Chen.

Hiện nay, ở nước ta chưa có nghiên cứu nào về khả năng nhân giống sinh dưỡng bằng phương pháp giâm của các loài Thu hải đường hoang dại trong đó có loài *Begonia masoniana*.

1.4.3. Ý nghĩa kinh tế

Begonia masoniana Irmsch. ex Ziesenh có giá trị làm kiểng cao, đã trở thành loài kiểng trong nhà và sân vườn nổi tiếng thế giới (Zeng, 1998) và đã phát triển thành

một loại kiếng lá trong những năm gần đây. Vào đầu những năm 1960, Nhật Bản đã đi đầu trong việc giới thiệu *Begonia masoniana* như một loài thực vật lấy lá và thực hiện thành công việc trồng trọt và nhân giống nhân tạo. Đến những năm 1970, Châu Âu và Hoa Kỳ cũng bắt đầu sử dụng cây này như một loại kiếng lá (Zaiqi, 2008).

Ở nước ngoài, một số trang web bán cây kiếng online, cây đang được bán với mức giá 12 – 13dollar Mỹ. Ở Việt Nam, trên trang mua sắm online www.shopee.vn cây đang được bán với mức giá 250.000 - 400.000VNĐ cho mỗi chậu (Phụ lục 7).

1.5. Giá thể nhân giống

1.5.1. Xơ dừa

Năm 2007, khoảng 2,77 tỷ tấn dừa được sản xuất trên diện tích gieo trồng là 273.459 ha (FAO, 2008). Mặc dù, vỏ dừa xanh rất giàu vi lượng (Neto và cộng sự, 2004), các đặc tính vật lý - hóa học có tiềm năng lớn trong các ứng dụng khác nhau (Dey và cộng sự, 2005; Rosa và cộng sự, 2002; Tomczak và cộng sự, 2007). Trước nhu cầu về môi trường - xã hội, một số hình thức khai thác chất thải này đang được nghiên cứu. Các nghiên cứu về việc sử dụng vỏ dừa xanh và các sản phẩm của nó (màng, xơ và lõi) từ ứng dụng trong nông học đến các quy trình công nghệ sinh học.

Xơ dừa là vật liệu nhẹ, mềm mại lấy từ quả dừa (*Cocos nucifera* L.) khi nó được cắt nhỏ trong quá trình chế biến xơ dừa. Trong quá trình sơ chế các sản phẩm không có giá trị thường đốt hoặc đổ bỏ (Vidhana và Somasiri., 1997). Ở một số nước tiên tiến, bụi xơ dừa được làm ép thành gạch hoặc bìa để bao bọc, vận chuyển và bán (Evans và cộng sự, 1996).

Thành phần xơ dừa bao gồm xenlulose, hemicelluloses và các chất ngoại vi như pectin và tanin. Những thành phần này làm cho xơ dừa trở nên hữu ích, hầu hết là thụ phẩm nông nghiệp, đã được sử dụng làm chất hấp thụ sinh học (Randall và cộng sự, 1994; Low và cộng sự, 1995; Igwe và Abia, 2003; Krishnani và cộng sự, 2004; Perez-Marin, 2007).

Các đặc tính vật lý và hóa học được chọn lọc của xơ dừa được đánh giá là thành phần giá thể trồng trọt cho cây trồng. Giá thể xơ dừa được đánh giá là vật liệu nhẹ và có độ xốp đặc biệt cao. Khả năng giữ nước cao, khả năng trao đổi cation dao động từ 73 me 100 g⁻¹ (ME) đến 117 me 100 g⁻¹ Tỷ lệ (SL) và C/N trung bình là 105. Lượng chất dinh dưỡng có sẵn trong tự nhiên thấp, đặc biệt là nitơ khoáng, canxi và magiê. Các đặc tính đã được điều chỉnh để chuẩn bị giá thể phù hợp cho cây trồng trong chậu.

Xơ dừa (mùn dừa) được lấy từ vỏ dừa, và về cơ bản là một sản phẩm phế thải. Nó đã được sử dụng như một giá thể, và đang dần được chấp nhận làm chất trồng vì đặc tính giữ nước và thông khí tuyệt vời. Phân loại xơ dừa cho kích thước hạt bằng cách sàng, và sau đó trộn các loại kích cỡ khác nhau một cách thích hợp tạo cơ hội để tối ưu hóa các đặc tính vật lý của hỗn hợp nhằm nâng cao năng suất cây trồng (Nichols và cộng sự, 2008).

1.5.2. Bã cà phê

Cà phê là một trong những loại đồ uống phổ biến nhất trên toàn thế giới. Tuy nhiên, chuỗi chế biến cà phê dẫn đến sự tích tụ các tàn dư hữu cơ. Chất thải rắn bao gồm vỏ và bã cà phê, có đến hơn 80% chất thải rắn từ cà phê chưa được xử lý. Ở các nước tiêu thụ, dư lượng bã cà phê đã qua sử dụng thu được sau quá trình pha trong quán cà phê và nhà hàng, tại nhà, hoặc bởi ngành công nghiệp cà phê hòa tan. Ước tính sản lượng bã cà phê qua sử dụng hàng năm trên toàn thế giới là khoảng 6 triệu tấn (Mussatto và cộng sự, 2011). Cũng như các chất thải nông nghiệp và thực phẩm khác, bã cà phê có khối lượng lớn nhưng giá trị thấp, dẫn đến giảm lợi ích kinh tế toàn cầu. Do đó, nói chung, chúng được sử dụng để sản xuất năng lượng hoặc thải ra bãi chôn lấp, gây ra các vấn đề môi trường lớn. Một số nghiên cứu đã được xuất bản vào thập kỷ trước đề cập đến các chiến lược khả thi để giảm độc tính của chúng và tăng giá trị thương mại của chúng bao gồm thức ăn chăn nuôi, sản xuất nấm, dầu diesel sinh học, nhiên liệu hoặc cacbon hoạt hóa (Mussatto và cộng sự, 2011; Franca và cộng sự, 2009).

Bã cà phê là nguồn giàu chất khoáng (K, Mg, P, Ca, Na, Fe, Mn và Cu) với lượng dao động từ 0,82-3,52%, trong đó kali là chất khoáng chính với khoảng 3,12-21,88 mg/g (Cruz và cộng sự 2012). Bã cà phê cũng là nguồn giàu protein và Mg đáng kể với lượng chiếm lần lượt là 13,6% và 11% (Mussatto và cộng sự, 2011). Hàm lượng hemicellulose chiếm 36,7% và cellulose chiếm 8,6% (Mussatto và cộng sự, 2011; Vardon và cộng sự, 2013). Hàm lượng caffeine và lipid trong bã cà phê biến động lớn với khoảng 0,007-0,5% và 0,9-16,2%, theo thứ tự (Cruz và cộng sự, 2012).

1.5.3. Đất đen tribat

Đất đen tribat là hỗn hợp hữu cơ bao gồm các loại giá thể như mùn dừa, tro trấu, phân compost đã được xử lý khử trùng theo công nghệ tiên tiến loại trừ triệt để tuyến trùng và các vi sinh vật gây hại nên không gây tác động xấu đến cây trồng và môi

trường. Thành phần đa lượng: chất hữu cơ: 24.91%, chất mùn: 14.45%, K_2O tổng số: 0.73%, P_2O_5 tổng số: 0.30%, pH: 5.8-6.5. Ngoài ra đất còn được bổ sung lượng lớn nguyên tố vi lượng: Kali, Mg, Mn, Cu, Zn, Mo, B, sắt dạng chelate, nitơ tổng hợp, phần còn lại là các cấp hạt khác nhau (Andreeva, 2011). Đất đen tribat sử dụng thích hợp với tất cả các loại cây trồng: hoa cây kiểng hoặc gieo ươm cây con ... hoặc có thể dùng để bổ sung và thay thế đất trồng cây đã bạc màu đồng thời có tác dụng cải tạo đất (Liu và cộng sự, 2014).

CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm, thời gian, mục đích thực hiện nghiên cứu

2.1.1. Địa điểm

Đề tài nghiên cứu được tiến hành tại phòng thí nghiệm Tài nguyên thực vật, Nhà kính Hasfarm – Khoa Sinh học – Trường Đại học Đà Lạt.

2.1.2. Thời gian

Thực hiện từ tháng 11 năm 2020 đến tháng 5 năm 2021.

2.2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Vật liệu

Giống *Begonia masoniana* trong bộ sưu tập thu hải đường hoang dại được thu tại Hà Giang (Phụ lục 5). Sau 1 năm thuần với khí hậu Đà Lạt (Phụ lục 6), chọn những cây sinh trưởng và phát triển tốt, có mức độ đồng đều giữa các lá cao. Tiến hành cắt lá thành hai phần: cuống lá và phiến lá.

2.2.2. Xử lí mẫu

Mẫu được sử dụng trong thí nghiệm này là cuống lá và phiến lá.

Rửa sạch bề mặt mẫu dưới vòi nước máy 3 – 5 phút.

Tiếp theo, mẫu được cắt thành các phần: cuống lá được cắt thành các đoạn dài 1- 1.25cm, phiến lá được cắt thành các mảnh có kích thước $2.5 \times 2.5\text{cm}$.

Sau đó, các mẫu được chấm vào bột thuốc hồng (thành phần: Auxins (NAA) và các hợp chất trung gian)

2.2.3. Dụng cụ

Khay ươm hạt giống loại 50 lỗ

Kéo

Thước đo

Chậu

Bình tưới

2.3. Điều kiện nhân giống

Quá trình nhân giống được thực hiện trong điều kiện nhà kính Hasfarm – Khoa Sinh học.

Nhiệt độ: $19.2 \pm 5^{\circ}\text{C}$

Cường độ chiếu sáng: $345\text{W/m}^2 \approx 236.3\text{lux}$

Độ ẩm: 70 - 85%

2.4. Các bước tiến hành thí nghiệm

2.4.1. Chuẩn bị giá thể

Các loại giá thể như xơ dừa và đất đen được mua tại cửa hàng vật tư nông nghiệp Sơn Thủy. Riêng bã cà phê được thu tại các quán cà phê trên địa bàn thành phố Đà Lạt, sau đó được phơi dưới ánh nắng mặt trời và đem ủ với chế phẩm Trichoderma (Khoa Sinh học) trong vòng 2 tháng.

Cho các loại giá thể vào đầy các khay ươm, đánh dấu bằng bảng tên A đến F ở mỗi khay ươm.

2.4.2. Bố trí thí nghiệm

a. Thí nghiệm khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng từ cuống lá trên giá thể đất đen

Cuống lá sau khi được xử lí đem giâm vào các lỗ trên khay ươm.

Kí hiệu các mẫu của khay ươm từ A1 đến A50.

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ (%) mẫu tái sinh từ cuống lá, số rễ, chiều dài rễ, số lá, chiều cao cây.

b. Thí nghiệm khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng từ phiến lá trên giá thể đất đen

Phiến lá sau khi được xử lí đem giâm vào các lỗ trên khay ươm.

Kí hiệu các mẫu của khay ươm từ B1 đến B50

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ (%) mẫu tái sinh từ cuống lá, số rễ, chiều dài rễ, số lá, chiều cao cây.

c. Thí nghiệm khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng từ cuống lá trên giá thể bã cà phê

Cuống lá sau khi được xử lí đem giâm vào các lỗ trên khay ươm.

Kí hiệu các mẫu của khay ươm từ C1 đến C50

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ (%) mẫu tái sinh từ cuống lá, số rễ, chiều dài rễ, số lá, chiều cao cây.

d. Thí nghiệm khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng từ phiến lá trên giá thể bã cà phê

Phiến lá sau khi được xử lí đem giâm vào các lỗ trên khay ươm.

Kí hiệu các mẫu của khay ươm từ D1 đến D50

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ (%) mẫu tái sinh từ cuống lá, số rễ, chiều dài rễ, số lá, chiều cao cây.

e. Thí nghiệm khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng từ cuống lá trên giá thể xơ dừa

Cuống lá sau khi được xử lí đem giâm vào các lỗ trên khay ươm.

Kí hiệu các mẫu của khay ươm từ E1 đến E50

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ (%) mẫu tái sinh từ cuống lá, số rễ, chiều dài rễ, số lá, chiều cao cây.

f. Thí nghiệm khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng từ phiến lá trên giá thể xơ dừa

Phiến lá sau khi được xử lí đem giâm vào các lỗ trên khay ươm.

Kí hiệu các mẫu của khay ươm từ F1 đến F50

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ (%) mẫu tái sinh từ cuống lá, số rễ, chiều dài rễ, số lá, chiều cao cây.

2.5. Phương pháp xử lí số liệu

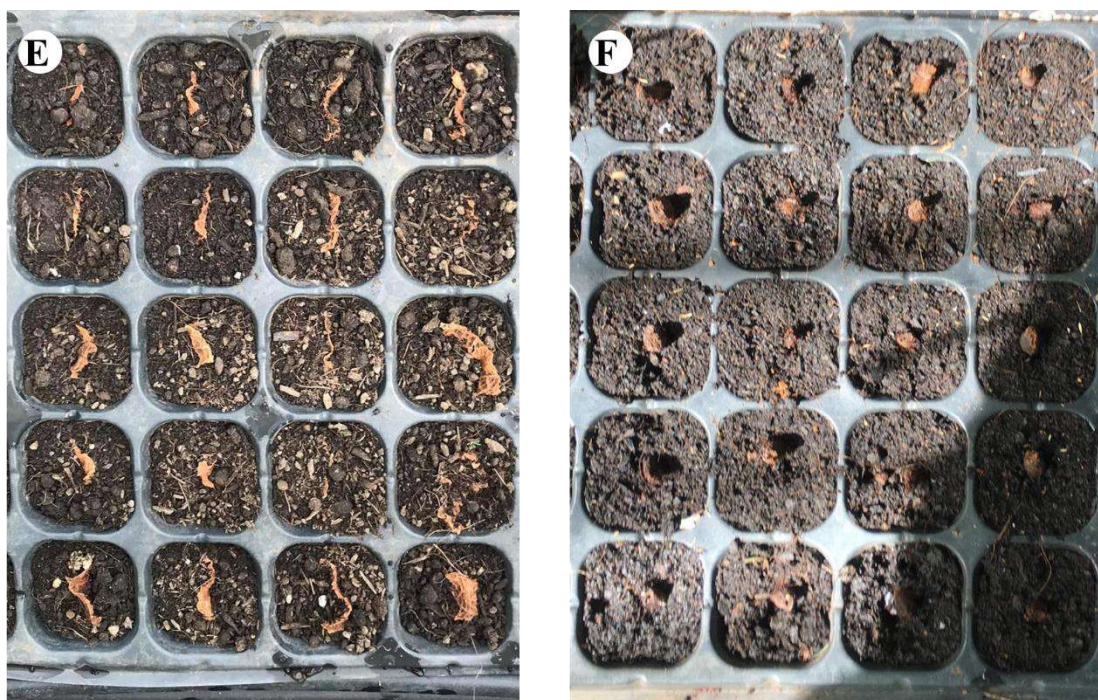
Mỗi thí nghiệm được bố trí 1 khay ươm và giâm 50 mẫu trên khay ươm, các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu thu nhận 3 lần, 10 mẫu ngẫu nhiên/ lần. Các số liệu

được xử lí theo phương pháp thống kê, sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2016, phần mềm xử lí thống kê SPSS version 20

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng từ lá cây *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh. trên các loại giá thể



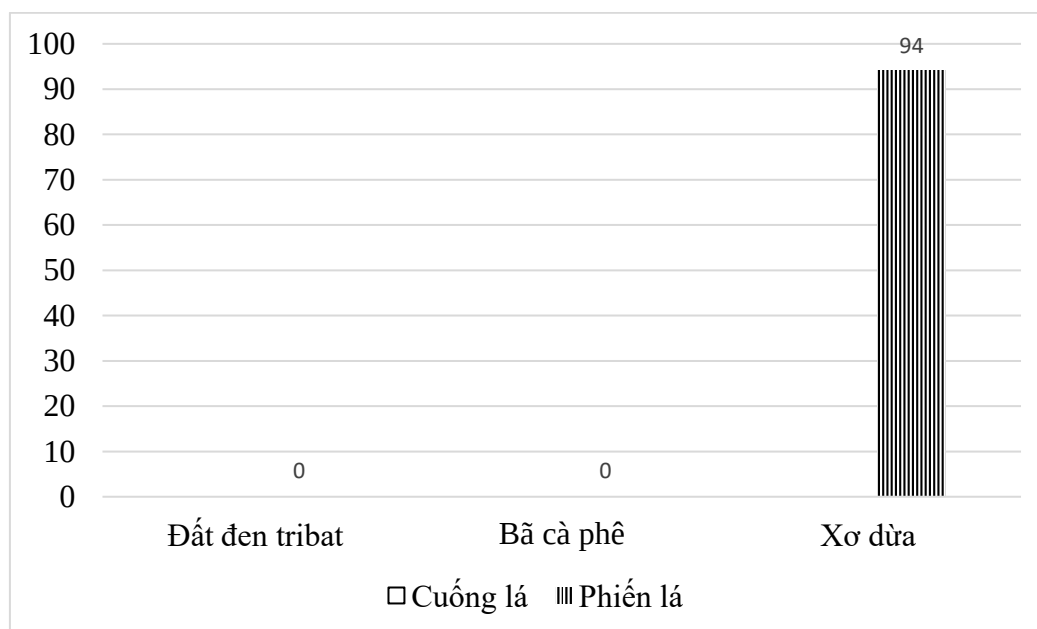


Hình 3. Hom lá *Begonia masoniana* trên các loại giá thể

A và B. Hom phiến lá và cuống lá trên giá thể xơ dừa

C và D. Hom phiến lá và cuống lá trên giá thể đất đen tribat

E và F. Hom phiến lá và cuống lá trên giá thể bã cà phê



Biểu đồ 1. Tỷ lệ (%) mẫu tái sinh từ cuống lá và phiến lá trên các loại giá thể của cây *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh.

Từ kết quả thu được ở biểu đồ 1, chúng tôi nhận thấy trong cùng một điều kiện nhân giống thì có sự khác nhau về tỷ lệ mẫu tái sinh trên các loại giá thể. Cụ thể, tỷ lệ mẫu tái sinh từ phiến lá trên giá thể xơ dừa cho kết quả tốt nhất với tỷ lệ đạt được là 94%, trên giá thể bã cà phê và đất đen tribat các mẫu không tái sinh: Trên giá thể đất đen tribat mẫu phiến lá héo khô và chết sau 13 ngày, trên giá thể bã cà phê mẫu phiến lá héo khô và chết sau 10 ngày.

Tỷ lệ mẫu tái sinh từ cuống lá trên các giá thể: đất đen tribat, bã cà phê, xơ dừa là 0%, cụ thể như sau: Trên giá thể đất đen tribat mẫu cuống lá héo khô và chết sau 20 ngày, trên giá thể bã cà phê mẫu cuống lá héo khô và chết sau 18 ngày, trên giá thể bã cà phê mẫu cuống lá héo khô và chết sau 35 ngày.

Theo nghiên cứu của Zaiqi (2008) khi nhân giống in vitro *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh từ phiến lá, tỉ lệ hình thành mô sẹo từ phiến lá là 95%. Lin và Songjun (1998) nghiên cứu nhân giống in vitro lá *Begonia masoniana* Irms với tỷ lệ tái sinh trong các ống nghiệm hơn 90%. So với kết quả của Zaiqi (2008) và Lin và Songjun (1998), trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ các hom phiến lá trên giá thể xơ dừa có sự tái sinh với tỷ lệ 94%, trên các giá thể khác thì các mẫu không tái sinh. Đối với cuống lá trên tất cả các loại giá thể đều không tái sinh.

Trong nghiên cứu này, các mẫu không tái sinh được, héo khô và chết trong vài tuần đầu tiên. Đối với các mẫu phiến lá không tái sinh trên giá thể đất đen tribat và bã cà phê, nguyên nhân liên quan đến hàm lượng các chất tan trong giá thể (đất đen tribat, bã cà phê) cao, từ đó dẫn đến sự héo khô dần dần của mẫu và cuối cùng là các mẫu phiến lá không còn khả năng tái sinh. Theo Hartmann và Kester (1975) trong quá trình hom giống, kích thước của các mẫu đem giâm đóng vai trò quan trọng đối với sự tái sinh của mẫu. Giai đoạn đầu của quá trình hom giống là khoảng thời gian nhạy cảm, do các vết cắt của mẫu rất dễ bị tấn công bởi các yếu tố bất lợi từ môi trường. Thêm vào đó, trong giai đoạn này, các mẫu giâm rất mẫn cảm, cần có nguồn dinh dưỡng cung cấp cho sự tái sinh của mẫu nên kích thước của mẫu đóng vai trò rất quan trọng (Hartmann và Kester, 1975). Trong nghiên cứu này, các mẫu cuống lá không tái sinh trên cả ba loại giá thể là do kích thước của mẫu cuống lá khá ngắn (1.00 đến 1.25cm) nên các mẫu cuống lá không thể cung cấp đủ các chất cần thiết cho sự tái sinh. Do sự thiếu hụt các chất cần thiết nên các mô gần vết cắt không tạo được lớp bảo vệ vết thương bằng suberin. Cùng với sự mẫn cảm tại vết cắt của mẫu, trong điều

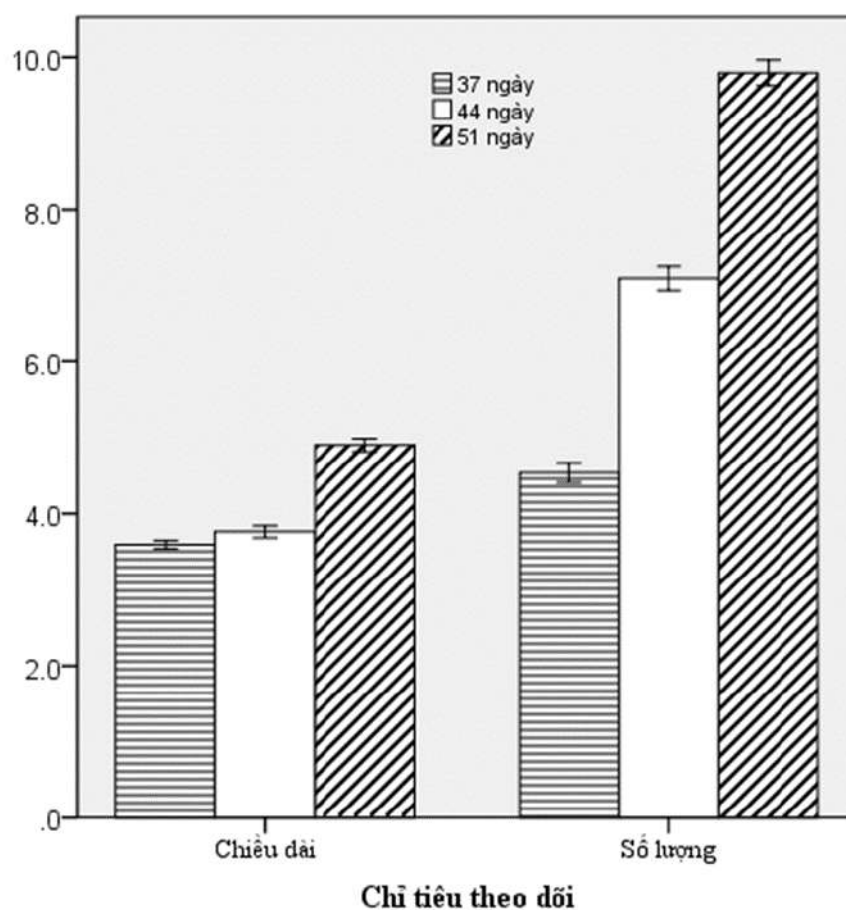
kiện nhân giống các giá thể ẩm ướt làm các mẫu cuống lá dần bị thối và không thể tái sinh.

Do giá thể xơ dừa có hàm lượng chất tan thấp, độ xốp cao, thoát nước tốt hơn đất đen tribat và bã cà phê nên các mẫu phiến lá giâm trên giá thể xơ dừa có tỉ lệ tái sinh khá cao (94%). Ngoài ra, 6% mẫu phiến lá không tái sinh là do gân lá của các mẫu này nhỏ nên không có khả năng tái sinh (hình 4b).

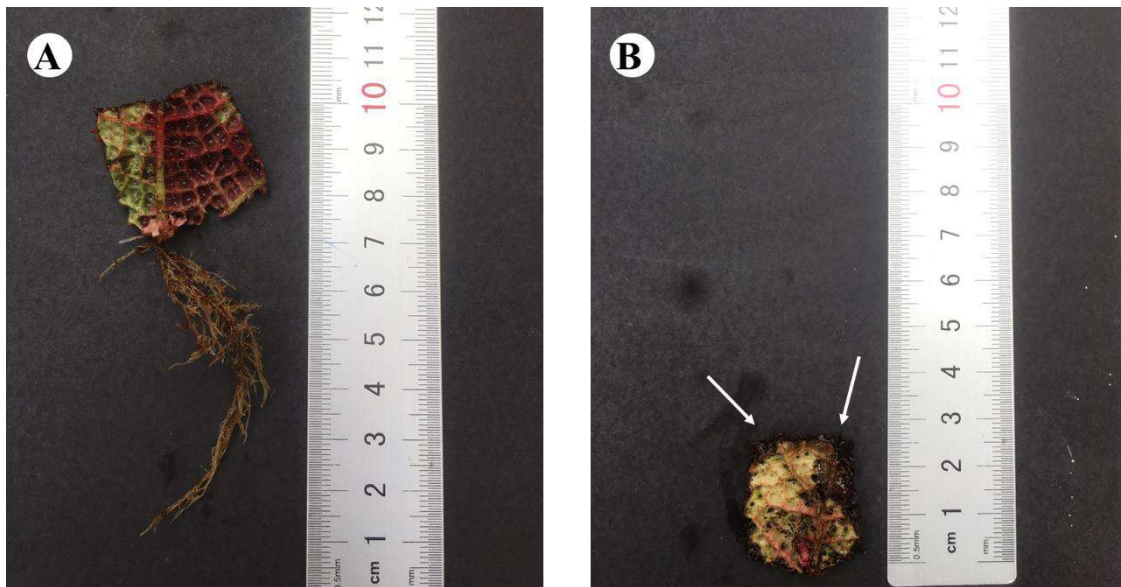
Như vậy, chúng tôi sử dụng giá thể xơ dừa là thích hợp nhất và sử dụng giá thể này cho những thí nghiệm tiếp theo trong nghiên cứu này.

3.2. Kết quả khảo sát khả năng ra rễ, bật chồi từ phiến lá *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh trên giá thể xơ dừa

3.3. Kết quả khảo sát khả năng ra rễ



Biểu đồ 2. Kết quả khảo sát khả năng ra rễ của mẫu phiến lá *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh trên giá thể xơ dừa



Hình 4. Chiều dài rễ của mẫu phiên lá trên giá thể xơ dừa

A. Mẫu ra rễ; B. Mẫu không ra rễ các mép lá đang dần bị héo và phân hủy (mũi tên trắng)

Từ kết quả thu được, chúng tôi nhận thấy khi giâm phiên lá trên giá thể xơ dừa thì số lượng rễ, chiều dài rễ tăng tương ứng theo thời gian, cụ thể:

Từ ngày bố trí thí nghiệm (15/11/2020) sau 1 tháng (15/12/2020) chúng tôi bắt đầu ghi nhận các kết quả: sau 37 ngày số lượng rễ trung bình là 4.54 ± 0.94 , sau 44 ngày là 7.09 ± 1.16 (hình 4a) và sau 51 ngày là 9.8 ± 1.22 . Chiều dài rễ (cm) cũng tăng theo thời gian: sau 37 ngày là 3.59 ± 0.40 , sau 44 ngày là 3.76 ± 0.58 (hình 4a) và sau 51 ngày là 4.90 ± 0.62 .

Kết quả này của chúng tôi tương đồng với kết quả nghiên cứu của Manuela và Carmen (2013), theo công bố của Manuela và Carmen (2013) khi nhân giống *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh trên 2 loại giá thể: than bùn + perlite và than bùn + cát cho kết quả tương ứng: trên giá thể than bùn + perlite: thời gian ra rễ là 115 ngày sau khi giâm hom, số lượng rễ trung bình là 12.25 rễ/cây, chiều dài trung bình của rễ là 8cm. Trên giá thể than bùn + cát: thời gian ra rễ là 107 ngày sau khi giâm hom, số lượng rễ trung bình là 10 rễ/cây, chiều dài trung bình của rễ là 10.06cm.

Như vậy, chúng tôi nhận thấy về kết quả chiều dài rễ và số lượng rễ trung bình khi giâm phiên lá của *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh trên giá thể xơ dừa tương đồng với kết quả của Manuela và Carmen (2013), nhưng mặt khác đối với thời

gian ra rễ của mẫu sau khi giâm hom thì thời gian ra rễ của mẫu phiến lá giâm trên giá thể xơ dừa có thời gian ra rễ nhanh hơn xấp xỉ 3 lần thời gian mẫu ra rễ trên giá thể than bùn + perlite (113 ngày) và than bùn + cát (107 ngày) mà Manuela và Carmen (2013) đã thực hiện.

Theo Hartmann và Kester (1975), sự hình thành rễ bất định của các hom là do vết thương tại các vị trí gân lá. Do phản ứng của lá với môi trường để hồi phục các vết cắt trên gân lá: cá tế bào bị thương phía bên ngoài mặt cắt chết đi hình thành mảng hoại tử, vết thương được bao bọc bởi lớp bản (suberin), xylem được bao bọc bởi lớp nhựa. Lớp này ngăn cản sự tấn công của mầm bệnh và sự thối rữa của hom giống. Các tế bào lân cận thương tầng và phloem bắt đầu phân chia và khởi tạo rễ bất định. Rễ mới phát triển từ sự hình thành mô phân sinh từ của các tế bào đã được biệt hóa trước đó của gân lá, lớp tế bào nằm giữa phloem và xylem – thương tầng. Rễ bất định phát sinh hình thành các rễ phụ và tiếp tục phát triển trước khi chồi bất định được hình thành. Sự hình thành và phát triển của rễ độc lập với sự hình thành và phát triển của chồi bất định. Các mảnh lá đem giâm đóng vai trò cung cấp các chất cần thiết cho sự hình thành cây mới nhưng không trở thành một phần của cây mới.

Do sự phát sinh và hình thành của rễ độc lập với sự hình thành với sự phát triển của chồi bất định (Hartmann và Kester, 1975), nên sau khi khảo sát khả năng ra rễ của phiến lá *Begonia masoniana* trên giá thể xơ dừa, chúng tôi tiếp tục quan sát và thu thập các số liệu về sự bật chồi.

3.4. Kết quả khảo sát khả năng bật chồi

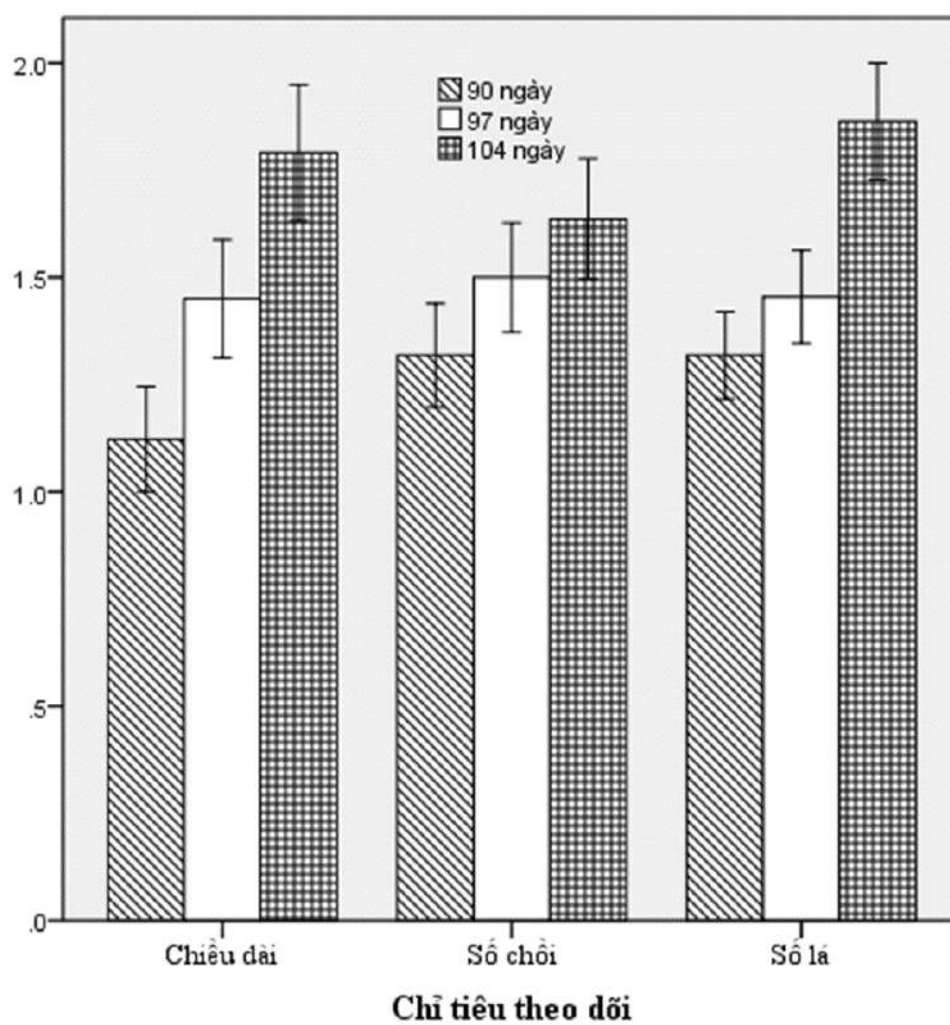


Hình 5. Các giai đoạn của quá trình bật chồi từ mẫu phiến lá *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh khi giâm trên giá thể xơ dừa

A. Chồi bất định bắt đầu hình thành (mũi tên trắng) sau 80 ngày; B. Chồi được hình thành sau 90 ngày; C. Chồi phát triển sau 97 ngày; D. Chồi phát triển sau 104 ngày



Hình 6. Chồi bất định (khoanh tròn) khi quan sát dưới kính soi nổi



Biểu đồ 3. Kết quả khảo sát khả năng ra rễ của mẫu phiến lá *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh trên giá thể xơ dừa

Trong quá trình khảo sát sự bật chồi, từ biểu đồ 3 chúng tôi nhận thấy chiều dài (cm), số chồi, số lá trung bình của các mẫu qua thời gian như sau:

Sau 75 ngày, các mẫu phiến lá bắt đầu có phản ứng, xuất hiện hiện tượng phồng lên ở các gân lá. Sau 80 ngày, các mẫu bắt đầu nhú chồi, số lượng, màu sắc, hình thái chồi ở các mẫu có sự giống nhau, tại vị trí vết cắt gân lá tiếp xúc với giá thể phát sinh các chồi bất định màu đỏ hồng (hình 7a). 90 ngày, ghi nhận các kết quả về chiều dài chồi, số chồi trung bình, số lá trung bình cụ thể như sau: chiều dài (cm) của chồi sau 90 ngày là 1.12 ± 0.56 , sau 97 ngày là 1.45 ± 0.63 , sau 104 ngày là 1.79 ± 0.73 . Số chồi trung bình sau 90 ngày là 1.32 ± 0.55 , sau 97 ngày là 1.50 ± 0.58 , sau 104 ngày 1.64 ± 0.64 . Số lá trung bình sau 90 ngày là 1.32 ± 0.47 , sau 97 ngày là 1.45 ± 0.5 , sau 104 ngày là 1.86 ± 0.62 (hình 7)

Mặt khác, kết quả nghiên cứu của Manuela và Carmen (2013), theo công bố của Manuela và Carmen (2013) khi nhân giống *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh trên 2 loại giá thể than bùn + perlite và than bùn + cát cho kết quả tương ứng: Trên giá thể than bùn + perlite: sau 115 ngày, chiều cao của cây là 4.50cm. Trên giá thể than bùn + cát: sau 107 ngày, chiều cao của cây là 4.75cm.

Rễ bất định được hình thành trước và độc lập với sự hình thành chồi bất định. Tương tự sự phát sinh hình thái của rễ, các chồi mới phát sinh từ sự hình thành của các tế bào thuộc mô phân sinh đã được biệt hóa trước đó nằm dưới lớp biểu bì của gân lá (hình 6).

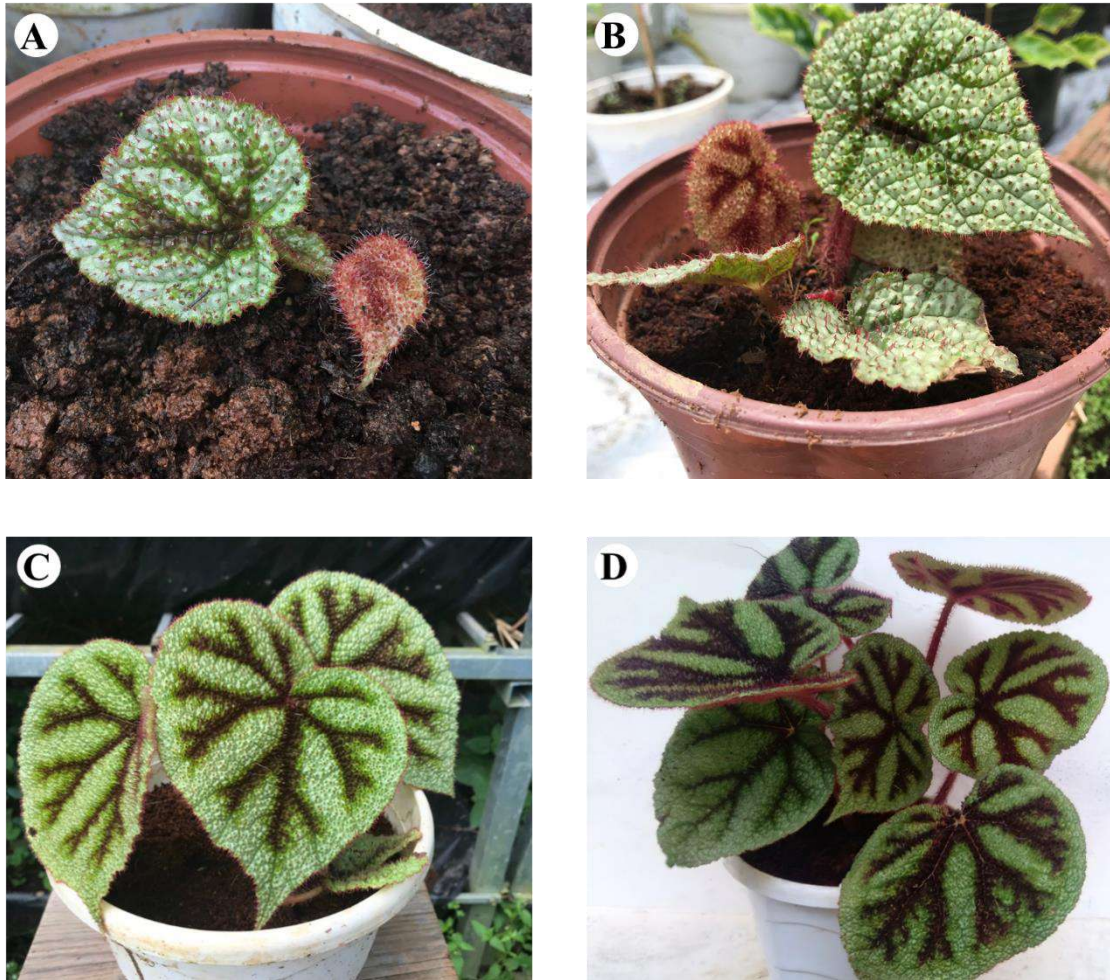
Sau một thời gian dài trong điều kiện nhân giống, các chất dinh dưỡng trong giá thể xơ dừa đã bị rửa trôi, thêm vào đó là rễ của hom đã chiếm trọn không gian các lỗ của khay ươm dẫn đến các chất dinh dưỡng cung cấp cho cây không còn nhiều nên chiều cao cây phát triển khá chậm.

3.5. Ra chậu

Do các chất dinh dưỡng trong hom không đáp ứng được sự phát triển của các cây con nên chúng tôi chuyển các cây con từ hom sang trồng trong các chậu (hình 7a). Do giá thể xơ dừa phù hợp cho sự ra rễ và bật chồi nên chúng tôi sử dụng giá thể xơ dừa làm thành phần chính trong giá thể trồng, ngoài ra có bổ sung thêm một lượng nhỏ các chất trồng khác như đất đen, vỏ trấu.

Theo quan sát của chúng tôi, thời gian phát triển của cây từ lúc ra chậu đến lúc trưởng thành là khoảng 2.5 đến 3 tháng (hình 7). Trong quá trình phát triển, cây khá

mẫn cảm với ánh sáng mạnh, nên trồng cây dưới bóng râm, trong nhà nên đặt cây cạnh bộ cửa sổ không có ánh sáng mạnh sẽ giúp cây sinh trưởng tốt hơn.



Hình 7. Các giai đoạn phát triển của cây

A. Cây con sau khi giâm hom được ra chậu; B. Cây 2 tuần tuổi; C. Cây sau 1 tháng tuổi; D. Cây trưởng thành (2.5 tháng tuổi)

KẾT LUẬN & KIẾN NGHỊ

Kết luận

Từ kết quả thu được qua các thí nghiệm, chúng tôi đưa ra một số kết luận sau:

- Cuồng lá loài *Begonia masoniana* không có khả năng tái sinh trên 3 loại giá thể khảo sát là đất đen tribat, bã cà phê, xơ dừa. Phiến lá loài này có khả năng tái sinh trên giá thể xơ dừa, nhưng không có khả năng trên giá thể đất đen tribat, bã cà phê.

- Khả năng tái sinh từ mẫu phiến lá trên giá thể xơ dừa đạt tỷ lệ cao với 94% cụ thể như sau:

- + Sau 37 ngày số lượng rễ trung bình là 4.54 ± 0.94 (hình 3), sau 44 ngày là 7.09 ± 1.16 và sau 51 ngày là 9.8 ± 1.22 . Chiều dài rễ (cm) cũng tăng theo thời gian: sau 37 ngày là 3.59 ± 0.40 , sau 44 ngày là 3.76 ± 0.58 và sau 51 ngày là 4.90 ± 0.62 .

- + Chiều dài (cm) của chồi sau 90 ngày là 1.12 ± 0.56 , sau 97 ngày là 1.45 ± 0.63 , sau 104 ngày là 1.79 ± 0.73 . Số chồi trung bình sau 97 ngày là 1.32 ± 0.55 , sau 97 ngày là 1.50 ± 0.58 , số lá trung bình 1.64 ± 0.64 . Số lá trung bình sau 104 ngày là 1.32 ± 0.47 , sau 97 ngày là 1.45 ± 0.5 , số lá trung bình 1.86 ± 0.62 .

- Giá thể xơ dừa phù hợp với nhân giống sinh dưỡng *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh.

Kiến nghị

Đề tài này chỉ mới đưa ra sơ bộ 3 loại giá thể để khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng *Begonia masoniana* bằng phương pháp giâm cuống và phiến lá, do đó, để có thể tạo ra được quy trình nhân giống hoàn chỉnh từ lá của *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh chúng tôi đưa ra một số kiến nghị sau:

- Cần khảo sát khả năng nhân giống sinh dưỡng của *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh trên các loại giá thể khác, cũng như kết hợp các loại giá thể với các tỉ lệ khác nhau để tìm ra loại giá thể tái sinh, phát sinh chồi, ra rễ tốt nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

Chi V.V. (2003) Từ điển thực vật thông dụng, tập 1. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

Tài liệu tiếng Anh

Andreeva, D. B., Leiber, K., Glaser, B., Hambach, U., Erbajeva, M., Chimitdorgieva, G. D., ... & Zech, W. (2011). Genesis and properties of black soils in Buryatia, southeastern Siberia, Russia. *Quaternary International*, 243(2), 313-326.

Asaumi, H., Nishina, H., Nakamura, H., Masui, Y. & Hashimoto, Y. (1995a). Effect of ornamental foliage plants on visual fatigue caused by visual display terminal operation. *Journal of Shita*, 7, 138^143.

Asaumi, H., Nishina, H., Tsukanishi, K., Yoshinori, M. & Hashimoto, Y. (1994). Effects of foliage plants on thermal environment and comfort inside room: experimental analysis in winter. *Journal of Architecture, Planning and Environmental Engineering: Transactions of AIJ*, 464, 39^46.

Asaumi, H., Nshina, H., Namba, R., Masui, Y. & Hashimoto, Y. (1995b). Evaluation of impression of ornamental foliage plants and psychological rating of rooms with ornamental foliage plants by means of semantic differential method. *Journal of Shita*, 7, 34^45.

Chen, J., McConnell, D. B., Henny, R. J., & Norman, D. J. (2005). The foliage plant industry. *Hort. Rev*, 31(45), 110.

Chen, J., R. J. Henny, and D. B. McConnell. 2002b. Development of new foliage plant cultivars. p. 446–452. In: J. Janick and A. Whipkey (eds.), *Trends in new crops and new uses*. ASHS Press, Alexandria, VA

Chen, W. H., Radbouchoom, S., Nguyen, H. Q., Nguyen, H. T., Nguyen, K. S., & Shui, Y. M. (2018). Seven new species of *Begonia* (Begoniaceae) in northern Vietnam and southern China. *PhytoKeys*, (94), 65.

Cruceru Sonia, Niculescu Mariana, Osiceanu Silvia. 2007, Growing aspects of *Begonia masoniana* Irmsch. on different types of sub-layers mixtures, *Analele Universității din Craiova, Seria Agricultură, Montanologie, Cadastru*, vol. XXXVII/A, p. 82-85, ISSN 1841-8317.

Cruz, R., Baptista, P., Cunha, S., Pereira, J. A., & Casal, S. (2012). Carotenoids of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown on soil enriched with spent coffee grounds. *Molecules*, 17(2), 1535-1547.

Dey, G., Chakraborty, M., & Mitra, A. (2005). Profiling C6–C3 and C6–C1 phenolic metabolites in *Cocos nucifera*. *Journal of Plant Physiology*, 162, 375–381.

Doorenbos, J., Sosef, M. S. M., & De Wilde, J. J. F. E. (1998). The sections of *Begonia* including descriptions, keys and species lists (Studies in Begoniaceae VI) (No. 98-2). Wageningen Agricultural University.

Evans, M. R. Knoduru, S. and Stamps, R. H. 1996. Source Variation in Physical and Chemical Properties of Coconut coir dust. *HortScience*. 31:965-967

Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO. (2008). Database agricultural – Production – Crops primary – Coconut, July 20. Available from: <http://faostat.fao.org>.

Franca, A.S.; Oliveira, L.S. Coffee processing solid wastes. In *Agricultural Wastes*, Ashworth, G.S.,

Frei, B., Heinrich, M., Bork, P. M., Herrmann, D., Jaki, B., Kato, T., ... & Sticher, O. (1998). Multiple screening of medicinal plants from Oaxaca, Mexico: ethnobotany and bioassays as a basis for phytochemical investigation. *Phytomedicine*, 5(3), 177-186.

Frodin, D.G. 2004. History and concepts of big plant genera. *Taxon* 53: 753 – 776.

George, E. F. (1993). Plant propagation by tissue culture. Part 1: The technology (No. Ed. 2). Exegetics limited.

Goodall-Copestake, W. P., Tarling, G. A., & Murphy, E. J. (2012). On the comparison of population-level estimates of haplotype and nucleotide diversity: a case study using the gene *cox1* in animals. *Heredity*, 109(1), 50-56.

Hartmann, H. T., & Kester, D. E. (1975). *Plant propagation: principles and practices*. Prentice-Hall

Henny, R. J., and J. Chen. 2003. Cultivar development of ornamental foliage plants. *Plant Breed. Rev.* 23:245–290.

Hieu, N. Q., & Tebbitt, M. C. (2006). *Begonia hahiepiana*, a new species of *Begonia* section *Sphenanthera* (Begoniaceae) from Vietnam. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*, 16(3), 374-377.

Hilinske, J., 2016. The toot of it all: Plant of the year 2016. In: *The Journal Times*.

Hughes, M., & Hollingsworth, P. M. (2008). Population genetic divergence corresponds with species-level biodiversity patterns in the large genus *Begonia*. *Molecular ecology*, 17(11), 2643-2651.

Hvoslef-Eide AK, Munster C (2006) *Begonia*, history and breeding. In: Anderson NO (ed) *Flower breeding and genetics: issues, challenges and opportunities for the 21st century*, Springer, Dordrecht, Netherlands, pp 241–275

Hvoslef-Eide, A. K., & Munster, C. (2007). *Begonia*. In *Flower Breeding and Genetics* (pp. 241-275). Springer, Dordrecht.

Igwe, J. C. and Abia, A. A. (2003). Maizecob and Husk as adsorbents for removal of Pb, Zn ions from Wastewater. *The Physical Science*. 2, 83-94.

Jeeva, S., & Marimuthu, J. (2012). Anti-bacterial and phytochemical studies on methanolic extracts of *Begonia floccifera* Bedd. flower. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S151-S154.

Kiew, R. (2005). *Begonias of peninsular Malaysia*. Kota Kinabalu, Sabah: Natural History Publications (Borneo) in association with Singapore Botanic Gardens and National Parks Board, 2005.

Kiew, R. (2007). Notes on Vietnamese *Begonia* (Begoniaceae), including three new species. *Adansonia*, 29(2), 229-238.

Kiew, R., Sang, J., Ripin, R., & Ali Ahmad, J. (2015). A guide to Begonias of Borneo. *UTAR Agriculture Science Journal (UASJ)*, 1(4).

Kondo, M. & Toriyama, T. (1989). Experimental research on the effectiveness of using green in reducing of visual fatigue caused by VDT operation. *Journal of the Japanese Institute of Landscape Architecture*, 52, 139-144.

Krempin, J. L. (1993). *Know Your Begonias*. Krempin Books.

Krishnani, K. K; Parmala, V. and Meng, X. (2004). Detoxification of Chromium (VI) in Coastal Wastes using Lignocellulosic Agricultural wastes. *Water SA*. 30 (4), 541- 545

Lin, J., & Songjun, Z. (1998). Tissue culture and rapid propagation of *Begonia masoniana* Irms. *Journal of Zhangkai Agrotechnical college*, 4.

Liu, J., Sui, Y., Yu, Z., Shi, Y., Chu, H., Jin, J., ... & Wang, G. (2014). High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, 70, 113-122.

Lohr, V. I., C. H. Pearson-Mims, and G. K. Goodwin. 1996. Interior plants may improve worker productivity and reduce stress in a windowless environment. *J. Environ. Hort.* 14:97–100

Low, K. S; Lee, C. K. and Leo, A. C. 1995. Removal of Metals from Electroplating Wastes using Banana pith. *Bioresource Technology*. 51 (2-3), 227-231

Manaker, G. H. 1997. *Interior plantscapes: Installation, maintenance, and management*. 3rd ed. Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ.

Manuela, M., & Carmen, N. (2013). Study on the vegetative propagation of some *Begonia* L. species. *University of Craiova*, 18, 223-228.

Mintz, N. (1972). Bitekisinrigaku noningenkankyou eno ouyou [An application of aesthetic psychology to human environment]. In D. Canter & M. Inui (Eds), Kankyo Shinri Towa Nani Ka. Tokyo: Shokokusha, pp. 13[^]50.

Mittelbach, G. G., Schemske, D. W., Cornell, H. V., Allen, A. P., Brown, J. M., Bush, M. B., ... & Turelli, M. (2007). Evolution and the latitudinal diversity gradient: speciation, extinction and biogeography. *Ecology letters*, 10(4), 315-331.

Mussatto, S. I., Machado, E. M., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011). Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 661-672.

Mussatto, S.I.; Machado, E.M.S.; Martins, S.; Teixeira, J.A. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food Bioprocess Technol.* 2011, 4, 661–672. 2.

Nakano, M., Niimi, Y., Kobayashi, D., & Watanabe, A. (1999). Adventitious shoot regeneration and micropropagation of hybrid tuberous begonia (*Begonia* × *tuberhybrida* Voss). *Scientia horticulturae*, 79(3-4), 245-251.

Neto, C. P. C. T., Ferreira, F. F. H., Bezerra, F. C., Sousa, R. F., & Cavalcanti, M. L. F. (2004). Efeito de diferentes substratos na aclimatização “ex-vitro” de mudas de Violeta Africana (*Saintpaulia ionatha* Wendl). *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, 4, 2. 6.

Nichols, M. A., & Savidov, N. A. (2008, August). Recent advances in coir as a growing medium. In *International Symposium on Soilless Culture and Hydroponics* 843 (pp. 333-336).

Oyeyemi O. Oni, 2011, Studies on the Mode of Propating *Begonia* *scapigera* Gilg. *Nigerian Journal of Horticultural Science*. ISSN 1118-2733 VoL 16 (2011) pp.103-107

Peng, C. I., Shin-Ming, K. U., & Leong, W. C. (2005). *Begonia liuyanii* (sect. *Coelocentrum*, *Begoniaceae*), a new species from limestone areas in Guangxi, China. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 46.

Perez-Marin, A. B., Mesequer, Z. V., Ortuno, J. F., Aguilar, M., Saez, J. and Llovens, M. 2007. Removal of Cadmium from Aqueous Solutions by Adsorption onto Orange waste. *Journal of Hazard Mater. B* (139), 122–131.

Randall, J. M; Reuter, F. C. and Waiss, A. C. 1994. Removal of Cupric ions from solution by contact with peanut skins. *Journal of Applied Polymer Science*. 19, 156–171.

Rosa, M. F., Bezerra, F. C., Correia, D., Santos, F. J. S., Abreu, F. A. P., Furtado, A. A. L., et al. (2002). Utilização da casca de coco como substrato agrícola. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 22p. (Documentos, 52).

Siregar, H. M., & Wahyuni, S. (2017). A New Hybrid from Interspecific Hybridization *Begonia masoniana* Irmsch. Ex *Ziesenhx Begonia kui* C.-I Peng. *Plan and people in harmony*, 18, 74.

Swingle, Charles F. (1940-07-01). "Regeneration and vegetative propagation". *The Botanical Review*. 6 (7): 301–355.

Thompson B., 2002, *Begonia* propagation. Brad's *Begonia* World. Retrieved 19 September 2006, from <http://www.bradsbegoniaworld.com/prop.htm>

Tian, D., Xiao, Y., Tong, Y., Fu, N., Liu, Q., & Li, C. (2018). Diversity and conservation of Chinese wild begonias. *Plant diversity*, 40(3), 75-90.

Tian, X., Dixon, M., & Zheng, Y. (2012). Susceptibility of various potted begonias to *Fusarium foetens*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 34(2), 248-254.

Tomczak, F., Sydenstricker, T. H. D., & Satyanarayana, K. G. (2007). Studies on lignocellulosic fibers of Brazil. Part II – Morphology and properties of Brazilian coconut fibers. *Composites: Part A*, 38, 1710–1721.

Trinh, N. B., Phan, K. L., & Lin, C. W. (2019). Two new species, *Begonia dinhdui* and *B. bacmeensis* (Begoniaceae), from Vietnam. *Phytotaxa*, 427(1), 22-30.

Vardon, D. R., Moser, B. R., Zheng, W., Witkin, K., Evangelista, R. L., Strathmann, T. J., ... & Sharma, B. K. (2013). Complete utilization of spent coffee grounds to produce biodiesel, bio-oil, and biochar. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(10), 1286-1294.

Vidhana, A. L. P. and Somasiri, L. L. W. 1997. Use of Coir Dust on the Productivity of Coconut on Sandy Soils. *Cocos* 12, 54–71.

Wang, R. Z., Zhang, Y. L., & Lin, R. studies on rapid propagation of *Begonia masoniana* var. *maculata*.

Wickramasinghe, P., Adikaram, N., & Yakandawala, D. (2020). Molecular characterization of *Colletotrichum* species causing *Begonia* anthracnose in Sri Lanka. *Ceylon Journal of Science*, 49(5).

Wu, P.L., Lin, F.W., Wu, T.S., Kuoh, C.S., Lee, K.H., Lee, S.J., 2004. Cytotoxic and anti-HIV principles from the rhizomes of *Begonia nantoensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 52, 345–349

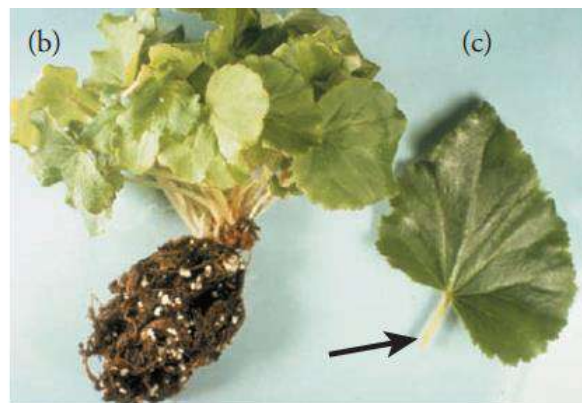
Zaiqi, L. (2008). Leaf Blade Explants Induction and Rapid Propagation of *Begonia masoniana* Irms. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 36(2), 508.

Tài liệu tiếng Trung Quốc

曾宋君. (1998). 铁十字海棠的观赏及栽培. *园林*, 4.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1:



- (a) Hom lá được lấy tại nhà kính; (b) Chồi và rễ mới được hình thành từ hom lá; (c) Chồi và rễ bất định sẽ hình thành ở gốc của cuống lá, nụ bất định là tác nhân giới hạn ở hom lá và hom rễ

Phụ lục 2: Hom lá ở một số loài thực vật



(a)

(b)



(c)

(d)

(e)

- (a) Tử linh lan; (b) Anh thảo Cape (*Streptocarpus*); (c) Mảnh lá thu hải đường; (d) Cây con thu hải đường mọc trên các gân chính; (e) Cỏ cảnh thiên

Phụ lục 3: Hom lá lưỡi hổ



(a)



(b)



(c)

(a) Phiến lá và chồi bất định; (b)(c) Cây mới có chồi, rễ và chồi bất định. Lá đem giâm không trở thành một bộ phận của cây mới

Phụ lục 4:



(a)



(b)



(c)

(a) Cây lung heo (*Tolmiea menziesii*) hình thành các cây con trên lá. Cây mới phát sinh từ giao nhau giữa phiến lá và cuống lá; (b) Hom lá *Bryophyllum crenatodaigremontianum* (c) *Bryophyllum daigremontianum*. Cây mới phát triển từ phôi lá ở mép lá. Lá được che phủ một phần hoặc cố định để giữ cho mép lá tiếp xúc với môi trường ra rễ

Phụ lục 5: Bộ sưu tập một số loài thu hải đường hoang dại được di thực từ rừng



Phụ lục 6: Một số hình ảnh về loài thu hải đường hoang dại *Begonia masoniana* Irmsch. ex Ziesenh



(a) Chậu *Begonia masoniana*; (b) Các cây *Begonia masoniana* mẹ

Phụ lục 7: Các chậu *Begonia masoniana* đang được bán trên thị trường

