



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0042227

(51)^{2021.01} A01H 4/00; C08L 7/00; C08L 1/00;
A01G 31/00; A01H 6/38

(13) B

(21) 1-2022-06432

(22) 22/03/2021

(86) PCT/JP2021/011569 22/03/2021

(87) WO 2021/200303 07/10/2021

(30) 2020-066819 02/04/2020 JP

(45) 27/01/2025 442

(43) 26/12/2022 417A1

(73) SUMITOMO RUBBER INDUSTRIES, LTD. (JP)

6-9, Wakinohama-cho 3-chome, Chuo-ku, Kobe-shi, Hyogo 6510072, Japan

(72) OKADA, Akari (JP); CHARUNGCHITAREE, Kamolchat (TH).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT CÂY, PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT CAO SU TỰ
NHIÊN, PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT LỚP HƠI VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT
SẢN PHẨM CAO SU

(21) 1-2022-06432

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất cây cho phép sản xuất cây từ cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ với năng suất cao cũng như phương pháp sản xuất cao su tự nhiên, phương pháp sản xuất lớp hơi và phương pháp sản xuất sản phẩm cao su mà mỗi trong số chúng đều bao gồm phương pháp sản xuất cây này. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất cây bao gồm bước trồng thủy canh cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất cây, phương pháp sản xuất cao su tự nhiên, phương pháp sản xuất lớp hơi và phương pháp sản xuất sản phẩm cao su.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hiện nay, cao su tự nhiên (kiểu polyisoprenoid) được dùng trong các sản phẩm cao su công nghiệp thu được bằng cách trồng các cây tạo ra cao su như các cây cao su Paras (*Hevea brasiliensis*) thuộc họ *Euphorbiaceae* hoặc các cây cao su Ấn độ (*Ficus elastica*) trong số các cây *Moraceae* sao cho các tế bào cây có nhựa mủ của các cây này tổng hợp sinh học ra cao su tự nhiên và thu hoạch thủ công cao su tự nhiên từ các cây này.

Cao su tự nhiên dùng cho các ứng dụng công nghiệp hiện có nguồn gốc gần như hoàn toàn từ *Hevea brasiliensis*. Hơn nữa, nó còn được sử dụng rộng rãi và với các lượng lớn trong nhiều ứng dụng làm nguyên liệu chính của các sản phẩm cao su. Tuy nhiên, *Hevea brasiliensis* là cây chỉ có thể phát triển ở các khu vực hạn chế như Đông Nam Á và Nam Mỹ. Hơn nữa, *Hevea brasiliensis* còn cần khoảng bảy năm từ khi trồng cho đến khi đủ lớn để chiết ra cao su và mùa thu hoạch có thể bị giới hạn. Khoảng thời gian trong đó cao su tự nhiên có thể được thu hoạch từ khi cây tăng trưởng cũng bị giới hạn ở 20 đến 30 năm.

Trong tương lai, nhu cầu tăng về cao su tự nhiên chủ yếu ở các nước phát triển sẽ được mong chờ và khả năng cạn kiệt các nguồn cao su tự nhiên là vấn đề phải quan tâm. Vì vậy, một nguồn cung cấp ổn định của cao su tự nhiên luôn được mong muốn.

Trong các trường hợp này, các nỗ lực dự định để tăng sản xuất cao su tự nhiên bởi *Hevea brasiliensis* đã xuất hiện. Đối với *Hevea brasiliensis*, việc nhân giống cây non được thực hiện bằng cách ươm và trồng các cây giống con được cung cấp bằng cách gieo hạt để tạo ra thân rễ và các chồi ghép thu được từ cây non nhân bản cho thân rễ. Tuy nhiên, các chỗ ghép có thể bị ảnh hưởng bởi thân rễ và vì vậy không trở thành các cây non nhân bản thật.

Hơn nữa, vi nhân giống được biết là kỹ thuật nhân bản nhân giống cây non bằng cách sử dụng phương pháp nuôi cấy mô. Trong kỹ thuật vi nhân giống này, các cây non được nhân giống bằng cách nuôi cấy mô vô trùng. Cụ thể là, mô như các chồi hoặc ngọn chồi non, lấy từ cá thể cây cần được nhân giống có thể được nuôi cấy để gây cảm ứng các chồi non mà chúng cuối cùng có thể được tạo rễ để sản xuất các cây con. Cách tiếp cận này có thể tạo ra các cây non nhân bản thật.

Vấn đề cần được giải quyết bởi sáng chế

Các nghiên cứu sâu rộng của các tác giả của sáng chế đã cho thấy là cây con có

nguồn gốc từ các chồi non cây thân gỗ có thể thiếu sự phát triển rễ đầy đủ và có thể dẫn đến sự tăng trưởng chậm. Vì vậy, khi các cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ được sử dụng thương mại thì sự chậm phát triển và tăng trưởng của rễ sẽ gây ra vấn đề lớn và luôn có chỗ để cải thiện việc sản xuất ra cây từ cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ với năng suất cao.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế nhằm giải quyết vấn đề mới được phát hiện bởi các tác giả của sáng chế và đề xuất phương pháp sản xuất cây cho phép sản xuất cây từ cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ với năng suất cao cũng như phương pháp sản xuất cao su tự nhiên, phương pháp sản xuất lớp hơi và phương pháp sản xuất sản phẩm cao su mà mỗi trong các phương pháp đó bao gồm phương pháp sản xuất cây.

Hơn nữa, ngoài kỹ thuật dựa vào chồi non như được mô tả ở trên thì cũng có kỹ thuật nhân bản nhân giống cây non bằng cách sử dụng phương pháp nuôi cấy mô bao gồm bước nuôi cấy mô như các chồi hoặc ngọn chồi non lấy từ cá thể cây cần được nhân giống để gây cảm ứng thể chai, nhân giống thể chai cảm ứng được, chia thể chai được nhân giống thành các miếng chai và phân hóa lại các miếng chai đã chia để thu được các cây con. Các cây con thu được bằng kỹ thuật này có thể dễ dàng tạo ra các rễ chính và không gặp vấn đề về sự phát triển rễ không đầy đủ (đặc biệt là, sự tạo rễ chính) như với các cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ. Vì vậy, vấn đề lớn liên quan đến sự phát triển rễ và sự chậm tăng trưởng là đặc thù cho các cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ. Nói cách khác, vấn đề mới được phát hiện bởi các tác giả của sáng chế là đặc thù cho các cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ.

Phương tiện để giải quyết vấn đề

Các tác giả của sáng chế đã tiến hành các khảo sát mở rộng để giải quyết vấn đề mới mà họ đã phát hiện và sau đó phát hiện thấy các vấn đề sau: mặc dù, nói chung, các cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ được chuyển sang các chậu chứa đất để trồng trong đất nhưng việc trồng thủy canh cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ có thể thúc đẩy sự ra rễ, phát triển rễ và tăng trưởng của các phần trên mặt đất so với sự trồng trong đất sao cho sự tăng trưởng của cây con có thể được thúc đẩy mạnh và vì vậy cây có thể được tạo từ cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ với năng suất cao. Phát hiện này đã dẫn đến việc hoàn thiện sáng chế.

Cụ thể là, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất cây bao gồm bước trồng thủy canh cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ.

Tốt hơn là, khi trồng thủy canh, thì dung dịch dinh dưỡng có nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 36°C.

Tốt hơn là, khi trồng thủy canh, thì dung dịch dinh dưỡng có hàm lượng oxy hòa tan nằm trong khoảng từ 2 đến 20 phần triệu.

Tốt hơn là, khi trồng thủy canh, thì dung dịch dinh dưỡng có độ pH ban đầu nằm trong khoảng từ 5,6 đến 5,8.

Tốt hơn là, khi trồng thủy canh, thì dung dịch dinh dưỡng có độ pH được duy trì ở khoảng từ 5,0 đến 6,5.

Tốt hơn là, khi trồng thủy canh, thì việc trồng được thực hiện trong môi trường với độ rọi ở mức lá với ánh sáng bằng 5000 lx hoặc cao hơn.

Tốt hơn là, cây con có chiều cao trên mặt đất bằng 1 m hoặc nhỏ hơn.

Tốt hơn là, chồi non là chồi non của cây thuộc giống *Hevea*.

Tốt hơn là, chồi non là chồi non thuộc *Hevea brasiliensis*.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất cao su tự nhiên, phương pháp này bao gồm các bước:

sản xuất cây bằng phương pháp sản xuất cây; và

sản xuất cao su tự nhiên bằng cách sử dụng cây thu được trong sản xuất cây.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất lớp hơi, phương pháp này bao gồm các bước:

sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên,

nhào trộn cao su tự nhiên thu được trong sản xuất với chất phụ gia để thu được hỗn hợp nhào,

tạo lớp xanh từ hỗn hợp nhào và

lưu hóa lớp xanh.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất sản phẩm cao su, phương pháp này bao gồm các bước:

sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên,

nhào trộn cao su tự nhiên thu được trong sản xuất với chất phụ gia để thu được hỗn hợp nhào,

tạo sản phẩm cao su nguyên liệu từ hỗn hợp nhào và

lưu hóa sản phẩm cao su nguyên liệu.

Hiệu quả có lợi của sáng chế

Phương pháp sản xuất cây theo sáng chế bao gồm bước trồng thủy canh cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ và vì vậy cho phép sản xuất cây từ cây con có nguồn gốc

từ chồi non cây thân gỗ với năng suất cao.

Phương pháp sản xuất cao su tự nhiên theo sáng chế bao gồm bước sản xuất cây bằng phương pháp sản xuất cây và vì vậy cho phép sản xuất cao su tự nhiên với năng suất cao.

Phương pháp sản xuất lớp hơi theo sáng chế bao gồm bước sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên và vì vậy cho phép sản xuất lớp hơi với năng suất cao.

Phương pháp sản xuất sản phẩm cao su theo sáng chế bao gồm bước sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên và vì vậy cho phép sản xuất sản phẩm cao su với năng suất cao.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là hình vẽ thể hiện các kết quả trong ví dụ 1 và ví dụ so sánh 1.

Fig.2 là các ảnh chụp ví dụ của các phần trên mặt đất.

Fig.3 là các ảnh chụp ví dụ của các rễ.

Fig.4 là các ảnh chụp thể hiện các kết quả trong ví dụ 2.

Mô tả chi tiết sáng chế

Phương pháp sản xuất cây

Phương pháp sản xuất cây theo sáng chế bao gồm bước trồng thủy canh cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ.

Điều này có thể thúc đẩy sự ra rễ, phát triển rễ và tăng trưởng của các phần trên mặt đất so với sự trồng trong đất sao cho sự tăng trưởng của cây con có thể được thúc đẩy mạnh và vì vậy cây có thể được sản xuất từ cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ với năng suất cao.

Hơn nữa, ngay cả khi cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ đã thể hiện xu hướng tăng trưởng kém khi trồng trong đất thì việc chuyển sang trồng thủy canh vẫn cho phép cây con có xu hướng tăng trưởng kém có sự tăng trưởng được cải thiện.

Hơn nữa, do phương pháp trồng thủy canh thường sử dụng dung dịch dinh dưỡng nên các rễ tiếp xúc với dung dịch dinh dưỡng và không có cản trở vật lý theo hướng trong đó các rễ tăng trưởng, điều này làm giảm ứng suất do ma sát tiếp xúc.

Cần lưu ý là miễn là phương pháp sản xuất cây theo sáng chế bao gồm bước trồng thủy canh thì nó sẽ có thể bao gồm các bước khác.

Lý do sáng chế mang lại hiệu quả có lợi nêu ở trên không rõ ràng nhưng được tin là như dưới đây.

Khi trồng thủy canh, các chất dinh dưỡng và nước có thể được hấp thụ tương đối dễ từ dung dịch nước, điều này cho phép các rễ tăng trưởng tương đối kém để hấp thụ các chất dinh dưỡng và nước. Vì vậy, trong bước trồng thủy canh, thậm chí cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ vẫn có thể được phép tăng trưởng ổn định và sự tăng trưởng rễ của nó có thể được thúc đẩy.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “chồi non” chỉ chồi ngọn, chồi nách hoặc chồi ngẫu nhiên và còn chỉ chồi được phân biệt với nhiều chồi non hoặc mầm chồi non hoặc chồi bất kỳ trong số các chồi nêu trên đã kéo dài.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “cây con” chỉ chồi non có rễ. Trong bản mô tả này, ở đây thuật ngữ “cây con” bao gồm, ngoài chồi non có rễ, chồi non có rễ đã thể hiện xu hướng tăng trưởng kém khi trồng trong đất.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “trồng thủy canh” chỉ phương pháp trồng mà không cần sử dụng môi trường rắn như đất và còn được gọi là thủy canh (trồng trong nước) hoặc trồng thủy sản. Thường thì, dung dịch dinh dưỡng sẽ được dùng để trồng cây.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “phần trên mặt đất” chỉ thân hoặc lá trên thân.

Mặc dù phương pháp sản xuất theo sáng chế có thể ứng dụng cho cây bất kỳ (cây mà chồi non có nguồn gốc từ đó) nhưng cây này tốt hơn là cây thân gỗ.

Ví dụ không giới hạn về cây thân gỗ bao gồm một khoảng rộng các loại và loài của các cây rụng lá và cây thường xanh. Đặc biệt là, các cây cao su mà cao su có thể được thu hoạch từ đó là một nguồn được ưu tiên. Được ưu tiên hơn là giống *Hevea*, ví dụ, *Hevea brasiliensis*, giống *Ficus*, ví dụ, *Ficus carica*, *Ficus elastica*, *Ficus pumila* L., *Ficus erecta* Thumb., *Ficus ampelas* Burm. f., *Ficus benguetensis* Merr., *Ficus irisana* Elm., *Ficus microcarpa* L. f., *Ficus septica* Burm. f. và *Ficus benghalensis* và *Parhenium argentatum*. Được ưu tiên hơn nữa là các cây thuộc họ *Euphorbiaceae*, ví dụ, giống *Hevea*, đặc biệt tốt hơn là các cây thuộc giống *Hevea*. *Hevea brasiliensis* được ưu tiên nhất trong số này.

Ví dụ về các nguyên liệu có thể được dùng để gây cảm ứng chồi non bao gồm các mô cây như các cuống lá cây, lát mỏng, trụ dưới lá mầm của các phôi thân, mầm, chồi nách và chồi ngọn. Các mô bao gồm các mầm, chồi nách hoặc chồi ngọn được ưu tiên trong số này do các chồi non có thể được gây cảm ứng một cách ổn định. Ví dụ cụ thể bao gồm các mô nêu trên có nguồn gốc từ các cây trưởng thành, cây đang lớn, cây non hoặc cây non nhân bản và các mô này có nguồn gốc từ các cây giống con vô trùng được trồng trong ống nghiệm từ các cây giống con.

Khi các mô nêu trên có nguồn gốc từ các cây trưởng thành, cây đang lớn, cây non hoặc cây non nhân bản được dùng thì chúng có thể được cắt theo kích cỡ yêu cầu khi cần, sau đó khử trùng hoặc tiệt trùng bề mặt trước khi sử dụng. Khi các mô nêu trên có nguồn gốc từ các cây giống con vô trùng được trồng trong ống nghiệm từ các cây giống con được

dùng thì chúng cũng có thể được cắt theo kích cỡ yêu cầu khi cần trước khi sử dụng.

Khi các mô nêu trên có nguồn gốc từ các cây trưởng thành, cây đang lớn, cây non hoặc cây non nhân bản được dùng thì bề mặt mô trước tiên được làm sạch trước khi nuôi cấy trong môi trường cảm ứng nêu dưới đây. Ví dụ, bề mặt có thể được làm sạch bằng bột mài hoặc bột biển mềm nhưng tốt hơn là được làm sạch bằng dòng nước. Nước dùng để làm sạch có thể chứa gần 0,1% khối lượng (các) chất hoạt động bề mặt.

Tiếp theo, mô được khử trùng hoặc tiệt trùng. Việc khử trùng hoặc tiệt trùng có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các chất khử trùng hoặc chất tiệt trùng đã biết, tốt hơn là etanol, chất làm sạch và tẩy trùng clorua hoặc dung dịch natri hypoclorit chứa nước. Trong bản mô tả này, việc xử lý khử trùng hoặc tiệt trùng có thể còn tiếp theo bằng cách rửa bằng nước tiệt trùng.

Như một ví dụ cụ thể, việc xử lý làm sạch và khử trùng hoặc tiệt trùng có thể được thực hiện bằng quy trình sau: làm sạch bề mặt mô bằng dòng nước và rửa mô bằng etanol; sau đó tiệt trùng mô bằng cách sử dụng dung dịch natri hypoclorit chứa nước tùy chọn kết hợp với khuấy; và sau đó rửa mô bằng nước tiệt trùng.

Mặc dù phương pháp gây cảm ứng chồi non không bị giới hạn nhưng phần dưới đây sẽ mô tả bước cảm ứng ví dụ để gây cảm ứng chồi non từ mô hoặc nguyên liệu khác.

Bước cảm ứng

Bước cảm ứng bao gồm bước nuôi cấy mô trong môi trường cảm ứng chứa hormone thực vật và nguồn cacbon để cảm ứng và tạo chồi non. Trong bản mô tả này, mặc dù môi trường cảm ứng có thể là chất lỏng hoặc chất rắn nhưng việc nuôi cấy rắn được ưu tiên do cảm ứng chồi non được tạo điều kiện khi mô được nuôi cấy trong khi nó được đưa vào môi trường. Hơn nữa, khi môi trường cảm ứng là môi trường lỏng, thì việc nuôi cấy tĩnh hoặc nuôi cấy lắc cũng có thể được thực hiện.

Hơn nữa, khi mô được khử trùng hoặc tiệt trùng được sử dụng, thì đầu cắt tốt hơn là được cắt bỏ để loại bỏ tác dụng của chất khử trùng hoặc chất tiệt trùng trước khi nuôi cấy.

Các ví dụ về hormone thực vật (hormone sinh trưởng thực vật) bao gồm các hormone thực vật auxin và/hoặc các hormone thực vật xytokinin. Các hormone thực vật xytokinin được ưu tiên trong số các hormone này.

Ví dụ về các hormone thực vật auxin bao gồm axit 2,4-diclophenoxyaxetic, axit 1-naphtalenaxetic, axit indol-3-butyric, axit indol-3-axetic, axit indolpropionic, axit clophenoxyaxetic, axit naphtoxyaxetic, axit phenylaxetic, axit 2,4,5-triclophenoxyaxetic, axit para-clophenoxyaxetic, axit 2-methyl-4-clophenoxyaxetic, 4-axit flophenoxyaxetic, axit 2-metoxi-3,6-diclobenzoic, axit 2-phenyl, picloram (một loại thuốc diệt cỏ) và axit picolinic. Trong số này, axit 2,4-diclophenoxyaxetic, axit 1-naphtalenaxetic và axit indol-3-butyric được ưu tiên và axit 2,4-diclophenoxyaxetic hoặc axit 1-naphtalenaxetic được ưu

tiên hơn.

Ví dụ về các hoocmon thực vật xytokinin bao gồm benzyladenin, kinetin, zeatin, benzylaminopurin, isopentenylaminopurin, tidiazuron, isopentenyladenin, zeatin ribosit và dihydrozeatin. Trong số này, benzyladenin, kinetin và zeatin được ưu tiên, benzyladenin và kinetin được ưu tiên hơn và benzyladenin được ưu tiên hơn nữa.

Nguồn cacbon bất kỳ có thể được dùng, bao gồm các đường như sucroza, glucoza, trehaloza, fructoza, lactoza, galactoza, xyloza, aloza, taloza, guloza, altoza, manoza, idoza, arabinoza, apioza, manitol, sorbitol, xylitol, erytritol và maltoza. Sucroza được ưu tiên trong số các nguồn này.

Môi trường cảm ứng tốt hơn là còn bao gồm cacbon hoạt tính để ngăn các chất ức chế sinh trưởng tích tụ trong mô. Hơn nữa, môi trường cảm ứng tốt hơn là còn bao gồm nitrat bạc để thúc đẩy sự tạo chồi non. Hơn nữa, môi trường cảm ứng còn có thể chứa nước dừa (sữa dừa) để thúc đẩy sự tạo chồi non.

Ví dụ về môi trường cảm ứng bao gồm các môi trường được chuẩn bị bằng cách bổ sung các hoocmon thực vật vào các môi trường cơ sở bao gồm: các môi trường nền như môi trường White (được bộc lộ ở trang 20-36 của Shokubutsu Saibo Kogaku Nyumon (Introduction to Plant Cell Engineering), Japan Scientific Societies Press), môi trường Heller (Heller R, Bot. Biol. Veg. Paris 14, 1-223 (1953)), môi trường SH (Schenk and Hildebrandt medium), môi trường MS (Murashige and Skoog medium) (được bộc lộ ở trang 20-36 của Shokubutsu Saibo Kogaku Nyumon (Introduction to Plant Cell Engineering), Japan Scientific Societies Press), môi trường LS (Linsmaier and Skoog medium) (được bộc lộ ở trang 20-36 của Shokubutsu Saibo Kogaku Nyumon (Introduction to Plant Cell Engineering), Japan Scientific Societies Press), môi trường Gamborg, môi trường B5 (được bộc lộ ở trang 20-36 của Shokubutsu Saibo Kogaku Nyumon (Introduction to Plant Cell Engineering), Japan Scientific Societies Press), môi trường MB (được bộc lộ ở trang 222-245 của Biotechnology in Agriculture and Forestry volum5 (TreesII)) và WP môi trường (dùng cho các cây thân gỗ) và các môi trường nền cải biến thu được bằng cách thay đổi thành phần của các môi trường nền nêu trên. Được ưu tiên trong số này là các môi trường được chuẩn bị bằng cách bổ sung các hoocmon thực vật vào môi trường MS, môi trường B5, môi trường WP hoặc môi trường MB. Được ưu tiên hơn là các môi trường được chuẩn bị bằng cách bổ sung các hoocmon thực vật vào môi trường MS, môi trường MS cải biến thu được bằng cách thay đổi thành phần môi trường này, môi trường MB hoặc môi trường MB cải biến thu được bằng cách thay đổi thành phần môi trường này.

Khi môi trường cảm ứng được sử dụng làm môi trường rắn thì môi trường này có thể được đóng rắn bằng cách sử dụng chất đóng rắn. Chất đóng rắn bất kỳ đều có thể được dùng bao gồm gelatin Nhật Bản, gồm gelan, chất làm đông agaoza, gelrit, chất làm đông aga và phytagel.

Thành phần phù hợp và các điều kiện nuôi cấy của môi trường cảm ứng khác nhau tùy thuộc vào các loài cây và cũng khác nhau tùy thuộc vào liệu môi trường này là môi trường lỏng hay môi trường rắn nhưng thành phần thường như dưới đây, đặc biệt là trong trường hợp của các cây cao su.

Nồng độ nguồn cacbon trong môi trường cảm ứng tốt hơn là ít nhất 0,1% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 1,0% khối lượng, còn tốt hơn nữa là ít nhất 3,0% khối lượng. Nồng độ nguồn cacbon tốt hơn là không lớn hơn 10% khối lượng, tốt hơn nữa là không lớn hơn 9,0% khối lượng, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 6,0% khối lượng. Trong bản mô tả này, thuật ngữ “nồng độ nguồn cacbon” chỉ nồng độ các đường.

Tốt hơn là, về cơ bản hoocmon thực vật auxin không được bổ sung vào môi trường cảm ứng. Cụ thể là, nồng độ hoocmon thực vật auxin trong môi trường cảm ứng tốt hơn là không lớn hơn 1,0 mg/l, tốt hơn nữa là không lớn hơn 0,1 mg/l, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 0,05 mg/l, đặc biệt tốt hơn là không lớn hơn 0,01 mg/l.

Khi hoocmon thực vật xytokinin được bổ sung vào môi trường cảm ứng thì nồng độ hoocmon thực vật xytokinin trong môi trường cảm ứng tốt hơn là ít nhất 0,01 mg/l, tốt hơn nữa là ít nhất 0,1 mg/l, còn tốt hơn nữa là ít nhất 0,5 mg/l, đặc biệt tốt hơn là ít nhất 0,8 mg/l, tốt nhất là ít nhất 3,0 mg/l. Nồng độ hoocmon thực vật xytokinin tốt hơn là không lớn hơn 8,0 mg/l, tốt hơn nữa là không lớn hơn 7,0 mg/l, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 6,0 mg/l.

Đặc biệt là, khi hoocmon thực vật xytokinin được dùng là benzyladenin, thì nồng độ benzyladenin tốt hơn là 4,0 đến 6,0 mg/l, tốt nhất là 5,0 mg/l. Hơn nữa, khi hoocmon thực vật xytokinin được dùng là kinetin, thì nồng độ kinetin tốt hơn là 0,8 đến 1,2 mg/l, tốt nhất là 1,0 mg/l.

Nồng độ cacbon hoạt tính trong môi trường cảm ứng tốt hơn là ít nhất 0,01% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 0,03% khối lượng. Nồng độ cacbon hoạt tính tốt hơn là không lớn hơn 1,0% khối lượng, tốt hơn nữa là không lớn hơn 0,1% khối lượng.

Nồng độ nitrat bạc trong môi trường cảm ứng tốt hơn là ít nhất 0,1 mg/l, tốt hơn nữa là ít nhất 0,3 mg/l, còn tốt hơn nữa là ít nhất 0,5 mg/l. Nồng độ nitrat bạc tốt hơn là không lớn hơn 5,0 mg/l, tốt hơn nữa là không lớn hơn 3,0 mg/l.

Độ pH của môi trường cảm ứng tốt hơn là 4,0 đến 10,0, tốt hơn nữa là 5,0 đến 6,5, còn tốt hơn nữa là 5,5 đến 6,0.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “pH” của các môi trường rắn chỉ độ pH của môi trường kết hợp tất cả các thành phần ngoại trừ chất đóng rắn.

Bước cảm ứng thường được thực hiện trong môi trường có điều khiển trong đó các điều kiện nuôi cấy như nhiệt độ và chu kỳ chiếu sáng được quản lý. Các điều kiện nuôi cấy có thể được chọn khi cần nhưng, ví dụ, nhiệt độ nuôi cấy tốt hơn là từ 0 đến 40°C, tốt hơn nữa là từ 20 đến 40°C, còn tốt hơn nữa là từ 25 đến 35°C. Việc nuôi cấy có thể được thực

hiện trong bóng tối hoặc ánh sáng nhưng, ví dụ, các điều kiện ánh sáng có thể bao gồm chu kỳ chiếu sáng bằng 14 đến 16 giờ sáng ở $12,5 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$. Thời gian nuôi cấy không bị giới hạn nhưng việc nuôi cấy trong một đến mười tuần được ưu tiên và việc nuôi cấy trong ba đến năm tuần được ưu tiên hơn.

Khi môi trường cảm ứng là môi trường rắn thì nồng độ chất đóng rắn trong môi trường cảm ứng tốt hơn là ít nhất 0,1% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 0,2% khối lượng. Nồng độ chất đóng rắn tốt hơn là không lớn hơn 2,0% khối lượng, tốt hơn nữa là không lớn hơn 1,1% khối lượng, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 0,8% khối lượng.

Trong số các điều kiện được chỉ báo ở trên, đặc biệt được ưu tiên là hoocmon sinh trưởng thực vật được sử dụng là hoocmon thực vật xytokinin, đặc biệt là benzyladenin hoặc kinetin, ở nồng độ bằng 3,0 đến 8,0 mg/l và nhiệt độ nuôi cấy là từ 25 đến 35°C.

Chồi non có thể được gây cảm ứng và tạo bằng cách nuôi cấy mô trong môi trường cảm ứng như được mô tả ở trên.

Mặc dù phương pháp thu cây con từ chồi non không bị giới hạn nhưng phần dưới đây sẽ mô tả phương pháp thu ví dụ cây con từ chồi non.

Chồi non tạo được có thể được đưa vào bước nuôi cấy được mô tả sau đây. Tốt hơn là, chồi non phải trải qua bước ngâm dưới đây trước bước nuôi cấy. Trong trường hợp này, cây con sẽ có xu hướng thu được phù hợp hơn.

Bước ngâm

Bước ngâm bao gồm bước ngâm chồi non trong dung dịch auxin chứa hoocmon thực vật auxin.

Cụ thể là, chồi non (ví dụ, đoạn chồi non bằng khoảng 2 cm) thu được trong bước cảm ứng hoặc bước khác có thể được ngâm trong dung dịch auxin.

Tốt hơn là, chồi non được ngâm trong dung dịch auxin sao cho đầu của đoạn chồi non, cụ thể là, đầu cắt của chồi non, được chìm trong dung dịch auxin.

Hơn nữa, chồi non còn có thể được ngâm trong dung dịch auxin trong khi nó được phép nằm yên hoặc được lắc.

Thời gian của bước ngâm tốt hơn là 24 giờ hoặc dài hơn, tốt hơn nữa là 40 giờ hoặc dài hơn, còn tốt hơn nữa là 60 giờ hoặc dài hơn, đặc biệt tốt hơn là 70 giờ hoặc dài hơn nhưng tốt hơn là 168 giờ hoặc ngắn hơn, tốt hơn nữa là 150 giờ hoặc ngắn hơn, còn tốt hơn nữa là 130 giờ hoặc ngắn hơn, đặc biệt tốt hơn là 100 giờ hoặc ngắn hơn, tốt nhất là 90 giờ hoặc ngắn hơn, còn tốt nhất là 80 giờ hoặc ngắn hơn. Điều này có thể tạo ra tỷ lệ ra rễ tốt hơn.

Bước ngâm tốt hơn là được thực hiện trong môi trường có điều khiển trong đó các điều kiện như nhiệt độ và chu kỳ chiếu sáng được quản lý. Ví dụ, nhiệt độ trong bước ngâm

tốt hơn là từ 0 đến 40°C, tốt hơn nữa là từ 20 đến 40°C, còn tốt hơn nữa là từ 25 đến 35°C. Bước ngâm có thể được thực hiện trong bóng tối hoặc ánh sáng nhưng, ví dụ, các điều kiện ánh sáng có thể bao gồm chu kỳ chiếu sáng bằng 14 đến 16 giờ sáng ở 5 đến 20 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$.

Chồi non phải trải qua bước ngâm có thể là chồi non bất kỳ và có thể được tạo bằng phương pháp bất kỳ. Ví dụ, nó có thể là chồi non thu được trong bước cảm ứng hoặc bước khác.

Hơn nữa, chồi non còn phải trải qua bước ngâm tốt hơn là đoạn chồi non. Ví dụ, nó tốt hơn là đoạn chồi non được cắt ra khỏi mô (ví dụ, chồi nách) dùng làm nguyên liệu để gây cảm ứng chồi non.

Cũng vậy, chồi non tốt hơn là chồi non đã được nuôi cấy trong môi trường cảm ứng trong nhiều nhất là sáu tháng.

Chiều dài chồi non (đoạn chồi non) phải trải qua bước ngâm tốt hơn là 10 mm hoặc dài hơn, tốt hơn nữa là 15 mm hoặc dài hơn, còn tốt hơn nữa là 20 mm hoặc dài hơn nhưng tốt hơn là 100 mm hoặc ngắn hơn, tốt hơn nữa là 80 mm hoặc ngắn hơn, còn tốt hơn nữa là 50 mm hoặc ngắn hơn. Điều này có thể tạo ra tỷ lệ ra rễ tốt hơn.

Hoocmon thực vật auxin chứa trong dung dịch auxin có thể như được mô tả cho các hoocmon thực vật auxin dùng được trong môi trường cảm ứng. Axit indol-3-butyric và axit 1-naphtalenaxetic được ưu tiên trong số này với sự kết hợp của axit indol-3-butyric và axit 1-naphtalenaxetic được ưu tiên.

Nồng độ hoocmon thực vật auxin trong dung dịch auxin tốt hơn là không lớn hơn 15 mg/l, tốt hơn nữa là không lớn hơn 12 mg/l nhưng tốt hơn là ít nhất 1,0 mg/l, tốt hơn nữa là ít nhất 3,0 mg/l, còn tốt hơn nữa là ít nhất 5,0 mg/l, đặc biệt tốt hơn là ít nhất 8,0 mg/l. Điều này có thể tạo ra tỷ lệ ra rễ tốt hơn.

Trong bản mô tả này, khi nhiều hoocmon thực vật auxin được dùng thì nồng độ hoocmon thực vật auxin nghĩa là tổng nồng độ các hoocmon thực vật auxin.

Khi hoocmon thực vật auxin được dùng là kết hợp của axit indol-3-butyric và axit 1-naphtalenaxetic thì:

axit indol-3-butyric nồng độ trong dung dịch auxin tốt hơn là không lớn hơn 10 mg/l, tốt hơn nữa là không lớn hơn 7,5 mg/l, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 6,0 mg/l nhưng tốt hơn là ít nhất 1,0 mg/l, tốt hơn nữa là ít nhất 2,5 mg/l, còn tốt hơn nữa là ít nhất 3,0 mg/l, đặc biệt tốt hơn là ít nhất 4,0 mg/l và

axit 1-naphtalenaxetic nồng độ trong dung dịch auxin tốt hơn là không lớn hơn 10 mg/l, tốt hơn nữa là không lớn hơn 7,5 mg/l, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 6,0 mg/l nhưng tốt hơn là ít nhất 1,0 mg/l, tốt hơn nữa là ít nhất 2,5 mg/l, còn tốt hơn nữa là ít nhất 3,0 mg/l, đặc biệt tốt hơn là ít nhất 4,0 mg/l. Điều này có thể tạo ra tỷ lệ ra rễ tốt hơn.

Là đủ khi dung dịch auxin chứa hoocmon thực vật auxin và môi trường phân tán bất kỳ đều có thể được dùng để hòa tan hoocmon thực vật auxin bao gồm nước, các dung dịch đẳng trương, chất đệm và môi trường nuôi cấy mô. Ví dụ về các dung dịch đẳng trương bao gồm các chất lỏng được chuẩn bị bằng cách bổ sung muối vô cơ như KCl, NaCl, CaCl₂ hoặc MgCl₂ đến nồng độ bằng 0,01 đến 7 M, tốt hơn là 0,5 đến 2 M. Ví dụ về các chất đệm bao gồm chất đệm phosphat, chất đệm Tris và chất đệm MES. Ví dụ về các môi trường nuôi cấy mô bao gồm các môi trường nêu trên. Để đạt được một cách thích hợp hơn hiệu quả có lợi thì nước được ưu tiên trong số này. Nói cách khác, dung dịch auxin tốt hơn là dung dịch nước trong đó hoocmon thực vật auxin được hòa tan trong nước.

Mặc dù thành phần bất kỳ đều có thể được kết hợp ngoài hoocmon thực vật auxin vào dung dịch auxin nhưng glutation được ưu tiên. Điều này có thể tạo ra tỷ lệ ra rễ tốt hơn.

Glutation là tripeptit gồm axit glutamic, cystein và glyxin là các amino axit cấu thành và có thể là glutation khử, glutation oxi hóa (glutation disulfua) hoặc hỗn hợp của chúng, tốt hơn là glutation khử.

Nồng độ glutation trong dung dịch auxin tốt hơn là ít nhất 10 $\mu\text{mol/l}$, tốt hơn nữa là ít nhất 30 $\mu\text{mol/l}$, còn tốt hơn nữa là ít nhất 40 $\mu\text{mol/l}$, đặc biệt tốt hơn là ít nhất 60 $\mu\text{mol/l}$, tốt nhất là ít nhất 80 $\mu\text{mol/l}$ nhưng tốt hơn là không lớn hơn 500 $\mu\text{mol/l}$, tốt hơn nữa là không lớn hơn 400 $\mu\text{mol/l}$, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 300 $\mu\text{mol/l}$, đặc biệt tốt hơn là không lớn hơn 200 $\mu\text{mol/l}$, tốt nhất là không lớn hơn 150 $\mu\text{mol/l}$. Điều này có thể tạo ra tỷ lệ ra rễ tốt hơn.

Các hoocmon thực vật không phải là các hoocmon thực vật auxin có thể cũng được dùng trong dung dịch auxin. Các hoocmon thực vật xytokinin như được mô tả cho các hoocmon thực vật xytokinin dùng được trong môi trường cảm ứng có thể được dùng trong dung dịch auxin nhưng tốt hơn là hoocmon thực vật không phải là các hoocmon thực vật auxin không được sử dụng trong dung dịch auxin.

Nồng độ của các hoocmon thực vật không phải là các hoocmon thực vật auxin trong dung dịch auxin tốt hơn là không lớn hơn 2,0 mg/l, tốt hơn nữa là không lớn hơn 1,0 mg/l, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 0,1 mg/l, đặc biệt tốt hơn là không lớn hơn 0,08 mg/l, tốt nhất là 0 mg/l. Điều này có thể tạo ra tỷ lệ ra rễ tốt hơn.

Bước nuôi cấy

Bước nuôi cấy bao gồm bước nuôi cấy chồi non được ngâm trong bước ngâm trong môi trường cảm ứng ra rễ để gây ra rễ.

Trong bản mô tả này, mặc dù môi trường cảm ứng ra rễ có thể là chất lỏng hoặc chất rắn nhưng nuôi cấy rắn được ưu tiên do sự ra rễ được tạo điều kiện khi chồi non được nuôi cấy trong khi nó được đưa vào môi trường. Hơn nữa, khi môi trường cảm ứng ra rễ là môi trường lỏng thì nuôi cấy tĩnh hoặc nuôi cấy lắc đều có thể được thực hiện.

Chồi non phải trải qua bước nuôi cấy có thể là chồi non bất kỳ được ngâm trong bước ngâm. Cụ thể là, tốt hơn là chồi non ở chân mà lượng mô của nó được tạo bằng cách ngâm chồi non trong bước ngâm. Hơn nữa, tốt hơn nữa là chồi non ở chân mà lượng mô của nó đã được tạo được sử dụng trong bước ngâm.

Môi trường cảm ứng ra rễ chứa nguồn cacbon.

Hoocmon thực vật bất kỳ đều có thể được dùng trong môi trường cảm ứng ra rễ bao gồm môi trường như được mô tả cho các hoocmon thực vật (các hoocmon thực vật auxin, các hoocmon thực vật xytokinin) dùng được trong môi trường cảm ứng.

Mặc dù nguồn cacbon bất kỳ đều có thể được dùng trong môi trường cảm ứng ra rễ bao gồm môi trường như được mô tả cho các nguồn cacbon dùng được trong môi trường cảm ứng nhưng sucroza được ưu tiên trong số này. Điều này có thể tạo ra tỷ lệ ra rễ tốt hơn.

Giống môi trường cảm ứng, môi trường cảm ứng ra rễ tốt hơn là còn bao gồm cacbon hoạt tính và/hoặc nitrat bạc. Điều này có thể tạo ra tỷ lệ ra rễ tốt hơn.

Giống dung dịch auxin, môi trường cảm ứng ra rễ tốt hơn là còn bao gồm glutation. Điều này có thể tạo ra tỷ lệ ra rễ tốt hơn.

Glutation có thể là glutation khử, glutation oxi hóa hoặc hỗn hợp của nó, tốt hơn là glutation khử.

Ví dụ về môi trường cảm ứng ra rễ bao gồm các môi trường được chuẩn bị bằng cách bổ sung các nguồn cacbon vào các môi trường cơ sở như các môi trường nền dùng làm môi trường cảm ứng và các môi trường nền cải biến thu được bằng cách thay đổi thành phần của các môi trường nền. Được ưu tiên trong số này là các môi trường được chuẩn bị bằng cách bổ sung các nguồn cacbon vào môi trường MS, môi trường B5, môi trường WP hoặc môi trường MB. Được ưu tiên hơn là các môi trường được chuẩn bị bằng cách bổ sung các nguồn cacbon vào môi trường MS, môi trường MS cải biến thu được bằng cách thay đổi thành phần môi trường này, môi trường MB hoặc môi trường MB cải biến thu được bằng cách thay đổi thành phần môi trường. Được ưu tiên hơn nữa là các môi trường được chuẩn bị bằng cách bổ sung các nguồn cacbon vào môi trường MB hoặc môi trường MB cải biến thu được bằng cách thay đổi thành phần môi trường.

Khi môi trường cảm ứng ra rễ được sử dụng làm môi trường rắn thì môi trường có thể được đông rắn bằng cách sử dụng chất đông rắn. Chất đông rắn bất kỳ đều có thể được dùng, bao gồm gelatin Nhật Bản, gồm gelatin, chất làm đông agaoza, gelrit, chất làm đông aga và phytagel.

Thành phần phù hợp và các điều kiện nuôi cấy của môi trường cảm ứng ra rễ khác nhau tùy thuộc vào các loài cây và cũng thay đổi liệu môi trường là môi trường lỏng hoặc môi trường rắn nhưng thành phần thường như dưới đây, đặc biệt là trong trường hợp của các cây cao su.

Nồng độ nguồn cacbon trong môi trường cảm ứng ra rễ tốt hơn là ít nhất 0,1% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 1,0% khối lượng. Nồng độ nguồn cacbon tốt hơn là không lớn hơn 10% khối lượng, tốt hơn nữa là không lớn hơn 6,0% khối lượng.

Hoocmon thực vật nồng độ trong môi trường cảm ứng ra rễ tốt hơn là không lớn hơn 2,0 mg/l, tốt hơn nữa là không lớn hơn 1,0 mg/l, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 0,1 mg/l, đặc biệt tốt hơn là không lớn hơn 0,08 mg/l, tốt nhất là 0 mg/l. Điều này có thể tạo ra tỷ lệ ra rễ tốt hơn.

Nồng độ cacbon hoạt tính trong môi trường cảm ứng ra rễ tốt hơn là ít nhất 0,005% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 0,008% khối lượng. Nồng độ cacbon hoạt tính tốt hơn là không lớn hơn 1,0% khối lượng, tốt hơn nữa là không lớn hơn 0,1% khối lượng.

Nồng độ nitrat bạc trong môi trường cảm ứng ra rễ tốt hơn là ít nhất 0,1 mg/l, tốt hơn nữa là ít nhất 0,3 mg/l, còn tốt hơn nữa là ít nhất 0,5 mg/l. Nồng độ nitrat bạc tốt hơn là không lớn hơn 5,0 mg/l, tốt hơn nữa là không lớn hơn 3,0 mg/l.

Nồng độ glutation trong môi trường cảm ứng ra rễ tốt hơn là ít nhất 10 $\mu\text{mol/l}$, tốt hơn nữa là ít nhất 30 $\mu\text{mol/l}$, còn tốt hơn nữa là ít nhất 40 $\mu\text{mol/l}$, đặc biệt tốt hơn là ít nhất 60 $\mu\text{mol/l}$, tốt nhất là ít nhất 80 $\mu\text{mol/l}$ nhưng tốt hơn là không lớn hơn 500 $\mu\text{mol/l}$, tốt hơn nữa là không lớn hơn 400 $\mu\text{mol/l}$, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 300 $\mu\text{mol/l}$, đặc biệt tốt hơn là không lớn hơn 200 $\mu\text{mol/l}$, tốt nhất là không lớn hơn 150 $\mu\text{mol/l}$.

Độ pH của môi trường cảm ứng ra rễ tốt hơn là 4,0 đến 10,0, tốt hơn nữa là 5,0 đến 6,5, còn tốt hơn nữa là 5,5 đến 6,0.

Bước nuôi cấy thường được thực hiện trong môi trường có điều khiển trong đó các điều kiện nuôi cấy như nhiệt độ và chu kỳ chiếu sáng được quản lý. Các điều kiện nuôi cấy có thể được chọn khi cần nhưng, ví dụ, nhiệt độ nuôi cấy tốt hơn là từ 0 đến 40°C, tốt hơn nữa là từ 20 đến 40°C, còn tốt hơn nữa là từ 25 đến 35°C. Nuôi cấy có thể được thực hiện trong bóng tối hoặc ánh sáng nhưng, ví dụ, các điều kiện ánh sáng có thể bao gồm chu kỳ chiếu sáng bằng 14 đến 16 giờ sáng ở 5 đến 20 $\mu\text{mol/m}^2/\text{giây}$. Thời gian nuôi cấy không bị giới hạn nhưng nuôi cấy trong một đến mười tuần được ưu tiên và nuôi cấy trong bốn đến tám tuần được ưu tiên hơn.

Trong bản mô tả này, thời gian nuôi cấy trong bước nuôi cấy được định như sau: nuôi cấy bắt đầu (0 giờ) khi chồi non (đoạn chồi non) được ngâm trong bước ngâm được cấy lại vào môi trường cảm ứng ra rễ; chu kỳ nuôi cấy là ba tuần và chu kỳ nuôi cấy là 9 tuần nghĩa là 504 giờ và 1512 giờ một cách tương ứng từ thời điểm bắt đầu nuôi cấy nuôi cấy; và nếu chồi non được cấy lại (được trồng lại) vào môi trường cảm ứng ra rễ mới thì chu kỳ nuôi cấy không được thiết đặt lại mà sẽ tiếp tục tăng.

Khi môi trường cảm ứng ra rễ là môi trường rắn thì nồng độ chất đóng rắn trong môi trường cảm ứng ra rễ tốt hơn là ít nhất 0,1% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 0,2% khối

lượng. Nồng độ chất đóng rắn tốt hơn là không lớn hơn 2,0% khối lượng, tốt hơn nữa là không lớn hơn 1,1% khối lượng, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 0,75% khối lượng.

Trong số các điều kiện được chỉ báo ở trên thì được ưu tiên là môi trường có nồng độ hoocmon thực vật thấp (về cơ bản không có hoocmon thực vật) hoặc chứa glutation. Được ưu tiên hơn là môi trường có nồng độ hoocmon thực vật thấp (về cơ bản không có hoocmon thực vật) và còn bao gồm glutation.

Như được mô tả ở trên, chồi non được ngâm trong bước ngâm có thể được nuôi cấy trong môi trường cảm ứng ra rễ để gây ra rễ, bằng cách này thu được chồi non có rễ (cây con). Vì vậy, cây non nhân bản hoàn chỉnh có thể được tạo thành.

Theo sáng chế, cây con thu được (cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ) mà nó theo các kỹ thuật thông thường sẽ được cấy lại trực tiếp vào đất thì phải trải qua bước trồng thủy canh dưới đây.

Bước trồng thủy canh

Bước trồng thủy canh bao gồm bước trồng thủy canh cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ.

Cây con phải trải qua bước trồng thủy canh có thể là cây con có nguồn gốc từ chồi cây thân gỗ bất kỳ. Như được mô tả ở trên, cây con phải trải qua bước trồng thủy canh bao gồm không chỉ chồi non có rễ mà còn chồi non có rễ đã thể hiện xu hướng tăng trưởng kém khi trồng trong đất.

Cây con phải trải qua bước trồng thủy canh tốt hơn là có lá phát triển hoàn chỉnh. Trong bản mô tả này, thuật ngữ “lá phát triển hoàn chỉnh” nghĩa là các lá phát triển nhô ra từ các chồi kéo dài đã hoàn chỉnh.

Chiều cao trên mặt đất của cây con phải trải qua bước trồng thủy canh tốt hơn là 1 m hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là 50 cm hoặc nhỏ hơn, còn tốt hơn nữa là 20 cm hoặc nhỏ hơn nhưng tốt hơn là 1,5 cm hoặc lớn hơn, tốt hơn nữa là 3,0 cm hoặc lớn hơn, còn tốt hơn nữa là 4,5 cm hoặc lớn hơn. Khi chiều cao trên mặt đất nằm trong khoảng được chỉ báo ở trên thì hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Trong bản mô tả này, chiều cao trên mặt đất của cây con phải trải qua bước trồng thủy canh chỉ chiều cao trên mặt đất của cây con lúc bắt đầu bước trồng thủy canh.

Khi trồng thủy canh, việc trồng thường được thực hiện bằng cách sử dụng dung dịch dinh dưỡng. Tốt hơn là, việc trồng được thực hiện trong khi các rễ của cây con tiếp xúc với dung dịch dinh dưỡng. Hơn nữa, môi trường rắn như đất cũng không được sử dụng.

Dung dịch dinh dưỡng được chuẩn bị bằng cách hòa tan phân bón chứa các chất dinh dưỡng cần cho sự tăng trưởng của cây trong nước và có thể là dung dịch dinh dưỡng bất kỳ thích hợp cho sự tăng trưởng của cây bao gồm các chất dinh dưỡng thông thường.

Các ví dụ bao gồm phân bón KANEKO dùng để nuôi cấy dung dịch dinh dưỡng “Farm Ace No.1” (mua từ KANEKO SEEDS CO.,LTD.), phân bón KANEKO dùng để nuôi cấy dung dịch dinh dưỡng “Farm Ace No.2” (mua từ KANEKO SEEDS CO.,LTD.), phân bón dùng để nuôi cấy dung dịch dinh dưỡng “OAT house No.1” (mua từ OAT Agrio Co., Ltd.), phân bón dùng để nuôi cấy dung dịch dinh dưỡng “OAT house No.2” (mua từ OAT Agrio Co., Ltd.), phân bón lỏng HYPONICA (mua từ KYOWA CO., LTD.) và dung dịch thủy canh Hoagland. Các phân bón này có thể được dùng riêng hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều hơn hai. Phân bón lỏng HYPONICA (mua từ KYOWA CO., LTD.) và dung dịch thủy canh Hoagland được ưu tiên trong số này với dung dịch thủy canh Hoagland được ưu tiên hơn.

Ví dụ, OAT house No.1 là phân bón dạng bột có tổng hàm lượng nitơ bằng 10,0% khối lượng, hàm lượng phosphat hòa tan trong nước bằng 8,0% khối lượng, hàm lượng kali hòa tan trong nước bằng 27,0% khối lượng, hàm lượng magiê hòa tan trong nước bằng 4,0% khối lượng, hàm lượng mangan hòa tan trong nước bằng 0,10% khối lượng, hàm lượng bo hòa tan trong nước bằng 0,10% khối lượng, hàm lượng sắt bằng 0,18% khối lượng, hàm lượng đồng bằng 0,002% khối lượng, hàm lượng kẽm bằng 0,006% khối lượng và hàm lượng molybden bằng 0,002% khối lượng.

Hơn nữa, OAT house No.2 là phân bón dạng bột có tổng hàm lượng nitơ bằng 11,0% khối lượng và hàm lượng vôi bằng 23,0% khối lượng.

Ví dụ, khi OAT house No.1 và OAT house No.2 được dùng để chuẩn bị dung dịch dinh dưỡng thì OAT house No.1 có thể được hòa tan trong nước để tạo ra dung dịch, tiếp theo bởi việc bổ sung và hòa tan OAT house No.2 trong dung dịch theo pha chế đã biết (ví dụ, pha chế A hoặc pha chế C).

Chế phẩm thành phần của một pha chế ví dụ A của OAT house No.1 (mua từ OAT Agrio Co., Ltd.) và OAT house No.2 (mua từ OAT Agrio Co., Ltd.) sẽ được mô tả dưới đây.

Tổng nitơ (TN): 260 phần triệu

(trong đó amoniắc nitơ (AN): 23 phần triệu, nitrat nitơ (NN): 233 phần triệu)

Phosphat (P_2O_5): 120 phần triệu

Kali (K_2O): 405 phần triệu

Vôi (CaO): 230 phần triệu

Magiê (MgO): 60 phần triệu

Mangan (MnO): 1,5 phần triệu

Bo (B_2O_3): 1,5 phần triệu

Sắt (Fe): 2,7 phần triệu

Đồng (Cu): 0,03 phần triệu

Kẽm (Zn): 0,09 phần triệu

Molypden (Mo): 0,03 phần triệu

Trị số EC (dS/m): 2,6

Ví dụ, dung dịch thủy canh Hoagland có thành phần dưới đây.

Bảng 1

	Thành phần	Nồng độ trong dung dịch dinh dưỡng
P, K	KH ₂ PO ₄	2mM
Ca	CaCl ₂ *2H ₂ O	3mM
Mg, S	MgSO ₄ *7H ₂ O	2mM
N, (K)	KNO ₃	8mM
	NH ₄ Cl	8mM
Fe	Fe(III)EDTA	50μM
	H ₃ BO ₃	3μM
	MnSO ₄	0,5μM
	Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	1μM
	ZnSO ₄ *7H ₂ O	0,4μM
	CuSO ₄ *5H ₂ O	0,2μM

Hàm lượng nitơ, hàm lượng phosphat hòa tan trong nước, hàm lượng kali hòa tan trong nước, hàm lượng vôi, hàm lượng magiê hòa tan trong nước, v.v., trong dung dịch dinh dưỡng không bị giới hạn. Người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể dễ dàng thiết đặt chúng để tạo ra dung dịch dinh dưỡng thích hợp cho sự tăng trưởng của cây.

Ví dụ, nồng độ nitơ trong dung dịch dinh dưỡng tốt hơn là 10 đến 20 mmol/l.

Ví dụ, nồng độ phosphat hòa tan trong nước trong dung dịch dinh dưỡng tốt hơn là 1 đến 6 mmol/l. Ví dụ, nồng độ kali hòa tan trong nước trong dung dịch dinh dưỡng tốt hơn là 5 đến 15 mmol/l.

Nhiệt độ của dung dịch dinh dưỡng và hàm lượng oxy hòa tan của dung dịch dinh dưỡng là rất quan trọng để thúc đẩy hơn sự ra rễ, phát triển rễ và tăng trưởng của các phần trên mặt đất để cho sự tăng trưởng của cây con có thể được thúc đẩy mạnh hơn và vì vậy cây có thể được sản xuất từ cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ với năng suất cao

hơn. Khi nhiệt độ của dung dịch dinh dưỡng và hàm lượng oxy hòa tan của dung dịch dinh dưỡng được điều chỉnh trong các khoảng thích hợp nêu dưới đây thì hiệu quả có lợi có thể đạt được một cách thích hợp hơn.

Lý do để tin được điều này như dưới đây.

Sự cung cấp đủ oxy cần thiết cho các rễ có thể tránh được sự thiếu oxy và hơn nữa việc duy trì nhiệt độ nước phù hợp cho sự tăng trưởng có thể ngăn ngừa khả năng hồng ứ. Vì vậy, sự hấp thụ các chất dinh dưỡng và nước qua các rễ có thể được thúc đẩy để cho cây khỏe có thể thu được một cách thích hợp.

Nhiệt độ của dung dịch dinh dưỡng tốt hơn là 20°C hoặc cao hơn, tốt hơn nữa là 22°C hoặc cao hơn, còn tốt hơn nữa là 24°C hoặc cao hơn, đặc biệt tốt hơn là 25°C hoặc cao hơn nhưng tốt hơn là 36°C hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 34°C hoặc thấp hơn, còn tốt hơn nữa là 32°C hoặc thấp hơn, đặc biệt tốt hơn là 30°C hoặc thấp hơn, tốt nhất là 28°C hoặc thấp hơn, còn tốt nhất là 26°C hoặc thấp hơn. Khi nhiệt độ nằm trong khoảng được chỉ báo ở trên thì hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Hàm lượng oxy hòa tan của dung dịch dinh dưỡng tốt hơn là 2 phần triệu hoặc cao hơn, tốt hơn nữa là 4 phần triệu hoặc cao hơn, còn tốt hơn nữa là 5 phần triệu hoặc cao hơn, đặc biệt tốt hơn là 7 phần triệu hoặc cao hơn, tốt nhất là 9 phần triệu hoặc cao hơn nhưng tốt hơn là 20 phần triệu hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 18 phần triệu hoặc thấp hơn, còn tốt hơn nữa là 15 phần triệu hoặc thấp hơn, đặc biệt tốt hơn là 12 phần triệu hoặc thấp hơn. Khi hàm lượng oxy hòa tan nằm trong khoảng được chỉ báo ở trên thì hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Trong bản mô tả này, hàm lượng oxy hòa tan của dung dịch dinh dưỡng được đo ở 25°C bằng cách sử dụng máy đo oxy hòa tan.

Hơn nữa, hàm lượng oxy hòa tan còn có thể được điều chỉnh trong khoảng được chỉ báo ở trên bằng phương pháp bất kỳ như bằng cách bổ sung không khí hoặc oxy vào dung dịch dinh dưỡng, nghĩa là, sự thông khí. Trong trường hợp này, hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Độ pH ban đầu của dung dịch dinh dưỡng tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5,6 đến 5,8. Khi độ pH ban đầu nằm trong khoảng được chỉ báo ở trên thì hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Hơn nữa, trong bước trồng thủy canh, thì việc trồng tốt hơn là được thực hiện trong khi duy trì độ pH của dung dịch dinh dưỡng nằm trong khoảng từ 5,0 đến 6,5. Độ pH tốt hơn là 5,2 hoặc cao hơn, tốt hơn nữa là 5,5 hoặc cao hơn nhưng tốt hơn là 6,3 hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 6,0 hoặc thấp hơn. Khi pH nằm trong khoảng được chỉ báo ở trên thì hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Hơn nữa, độ pH có thể được điều chỉnh trong khoảng được chỉ báo ở trên bằng cách bổ sung axit hoặc kiềm vào dung dịch dinh dưỡng khi cần.

Trong bản mô tả này, độ pH được đo ở 25°C.

Trong bước trồng thủy canh, việc trồng tốt hơn là được thực hiện trong môi trường với độ rọi ở mức lá trong ánh sáng bằng 5000 lx hoặc cao hơn. Độ rọi tốt hơn là 6000 lx hoặc cao hơn, tốt hơn nữa là 7000 lx hoặc cao hơn nhưng tốt hơn là 15000 lx hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 10000 lx hoặc thấp hơn. Khi độ rọi nằm trong khoảng được chỉ báo ở trên, hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Trong bản mô tả này, độ rọi ở mức lá được đo theo JIS C 7612.

Nguồn sáng dùng để thu được độ rọi nêu trên không bị giới hạn và có thể là ánh sáng tự nhiên, ánh sáng nhân tạo hoặc kết hợp của chúng. Khi ánh sáng nhân tạo được sử dụng, các ví dụ bao gồm các điốt phát quang (light-emitting diode: LED), đèn halogen, đèn nóng sáng, đèn huỳnh quang, đèn hồ quang, đèn phóng điện không điện cực, đèn phóng điện điện áp thấp, đèn huỳnh quang catốt lạnh, đèn huỳnh quang điện cực ngoài, đèn điện phát quang và đèn HID. Ví dụ về các đèn HID bao gồm đèn thủy ngân cao áp, đèn halogen kim loại và đèn natri cao áp. Các nguồn sáng này có thể được dùng riêng hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều hơn hai.

Mặc dù chu kỳ sáng (trong ánh sáng) trong bước trồng thủy canh không bị giới hạn nhưng chu kỳ sáng tốt hơn là 12 giờ hoặc dài hơn, tốt hơn nữa là 14 giờ hoặc dài hơn nhưng tốt hơn là 22 giờ hoặc ngắn hơn, tốt hơn nữa là 20 giờ hoặc ngắn hơn. Khi chu kỳ sáng nằm trong khoảng được chỉ báo ở trên thì hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Nhiệt độ trồng trong bước trồng thủy canh tốt hơn là 20°C hoặc cao hơn, tốt hơn nữa là 22°C hoặc cao hơn, còn tốt hơn nữa là 24°C hoặc cao hơn, đặc biệt tốt hơn là 26°C hoặc cao hơn nhưng tốt hơn là 36°C hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 34°C hoặc thấp hơn, còn tốt hơn nữa là 32°C hoặc thấp hơn, đặc biệt tốt hơn là 30°C hoặc thấp hơn. Khi nhiệt độ trồng nằm trong khoảng được chỉ báo ở trên thì hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Mặc dù chu kỳ trồng trong bước trồng thủy canh không bị giới hạn nhưng chu kỳ trồng tốt hơn là hai tháng hoặc dài hơn, tốt hơn nữa là ba tháng hoặc dài hơn, còn tốt hơn nữa là bốn tháng hoặc dài hơn và giới hạn trên không bị giới hạn. Khi chu kỳ trồng nằm trong khoảng được chỉ báo ở trên thì hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Các điều kiện trồng thủy canh khác không bị giới hạn và việc trồng có thể được thực hiện trong các điều kiện thông thường thích hợp cho sự tăng trưởng của cây. Hơn nữa, các

hệ thống và tương tự cho trồng thủy canh cũng không bị giới hạn và các hệ thống thường được dùng trong thủy canh đều có thể dùng được.

Trong bước trồng thủy canh, nguyên liệu đàn hồi tốt hơn là được buộc xung quanh chân của các rễ của cây con. Điều này cho phép cây con được cố định trong dung dịch dinh dưỡng sao cho hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Nguyên liệu đàn hồi có thể là nguyên liệu bất kỳ có độ đàn hồi. Ví dụ bao gồm các bọt biển và lá cấp nước. Chúng có thể được dùng riêng hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều hơn hai. Các bọt biển được ưu tiên trong số này.

Trong bản mô tả này, chân của các rễ chỉ vùng lân cận của khu vực trong đó việc ra rễ được quan sát.

Để buộc nguyên liệu đàn hồi vào chân của các rễ của cây con thì chân tốt hơn là không bị thắt quá chặt. Vì vậy, tốt hơn là khe hở sẽ được tạo trong nguyên liệu đàn hồi.

Độ bền kéo của nguyên liệu đàn hồi tốt hơn là 30 kPa hoặc cao hơn, tốt hơn nữa là 40 kPa hoặc cao hơn, còn tốt hơn nữa là 60 kPa hoặc cao hơn nhưng tốt hơn là 1000 kPa hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 500 kPa hoặc thấp hơn, còn tốt hơn nữa là 100 kPa hoặc thấp hơn. Khi độ bền kéo nằm trong khoảng được chỉ báo ở trên thì nguyên liệu đàn hồi có thể không thắt chân quá chặt sao cho hiệu quả có lợi có xu hướng đạt được một cách thích hợp hơn.

Trong bản mô tả này, độ bền kéo của nguyên liệu đàn hồi được xác định theo JIS K6400-5 bằng cách kéo mẫu đến đứt bằng máy thử nghiệm kéo và chia độ bền cực đại ở thời điểm đứt cho diện tích mặt cắt ngang của mẫu.

Như được mô tả ở trên, bằng bước trồng thủy canh để trồng thủy canh cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ mà có thể thúc đẩy sự ra rễ, phát triển rễ và tăng trưởng của các phần trên mặt đất so với sự trồng trong đất sao cho sự tăng trưởng của cây con có thể được thúc đẩy mạnh và vì vậy cây (cây non nhân bản là cây hoàn chỉnh) có thể được tạo từ cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ với năng suất cao.

Cây sản xuất được có thể được cấy lại vào đất nếu cần.

Hơn nữa, sự thích nghi môi trường cũng được hoàn chỉnh trong bước trồng thủy canh. Vì vậy, bước trồng thủy canh có thể thúc đẩy có hiệu quả cả sự thích nghi môi trường lẫn sự tăng trưởng ban đầu và vì vậy có thể sản xuất cây (cây non nhân bản là cây hoàn chỉnh) từ cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ với năng suất cao mà không cần thực hiện bước thích nghi môi trường riêng.

Phương pháp sản xuất cao su tự nhiên

Phương pháp sản xuất cao su tự nhiên theo sáng chế bao gồm các bước:

sản xuất cây bằng phương pháp sản xuất cây; và

sản xuất cao su tự nhiên bằng cách sử dụng cây thu được trong sản xuất cây. Phương pháp sản xuất cao su tự nhiên theo sáng chế bao gồm bước sản xuất cây bằng phương pháp sản xuất cây và vì vậy cho phép sản xuất cao su tự nhiên với năng suất cao.

Bước sản xuất cây bao gồm bước sản xuất cây bằng phương pháp sản xuất cây và có thể được thực hiện bằng cách thực hiện phương pháp sản xuất cây.

Trong bước sản xuất cao su tự nhiên thì cao su tự nhiên được sản xuất bằng cách sử dụng cây thu được trong bước sản xuất cây. Cụ thể là, cao su tự nhiên có thể được sản xuất bằng cách trồng cây thu được trong bước sản xuất cây để tổng hợp sinh học cao su tự nhiên trong các tế bào cây có nhựa mủ của cây.

Cao su tự nhiên có thể được thu thập từ cây bằng các phương pháp đã biết thông thường.

Ví dụ, cây có thể bị cắt vật lý bằng dụng cụ như dao để thu thập nhũ tương (mủ cao su), tùy chọn tiếp theo bởi việc đóng rắn mủ cao su, ví dụ, bằng cách bổ sung axit, bằng cách này thu thập cao su (cao su tự nhiên) dưới dạng chất rắn từ cây. Vì vậy, cao su thu được (cao su tự nhiên) tùy chọn có thể được rửa, tách nước và làm khô trước khi sử dụng.

Phương pháp sản xuất sản phẩm cao su

Phương pháp sản xuất sản phẩm cao su theo sáng chế bao gồm các bước: sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên; nhào trộn cao su tự nhiên thu được trong sản xuất với chất phụ gia để thu được hỗn hợp nhào; tạo sản phẩm cao su nguyên liệu từ hỗn hợp nhào; và lưu hóa sản phẩm cao su nguyên liệu. Phương pháp sản xuất sản phẩm cao su theo sáng chế bao gồm bước sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên và vì vậy cho phép sản xuất sản phẩm cao su với năng suất cao.

Sản phẩm cao su có thể là sản phẩm cao su bất kỳ có thể được sản xuất từ cao su, tốt hơn là cao su tự nhiên và các ví dụ bao gồm các lớp hơi, bánh xích cao su và vật chắn cao su.

Khi sản phẩm cao su là lớp hơi hoặc nói cách khác khi phương pháp sản xuất sản phẩm cao su theo sáng chế là phương pháp sản xuất lớp hơi theo sáng chế thì bước tạo sản phẩm cao su nguyên liệu tương ứng với việc tạo lớp xanh từ hỗn hợp nhào và bước lưu hóa tương ứng với việc lưu hóa lớp xanh. Vì vậy, phương pháp sản xuất lớp hơi theo sáng chế sẽ bao gồm các bước: sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên; nhào trộn cao su tự nhiên thu được trong sản xuất với chất phụ gia để thu được hỗn hợp nhào; tạo lớp xanh từ hỗn hợp nhào; và lưu hóa lớp xanh. Phương pháp sản xuất lớp hơi theo sáng chế bao gồm bước sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên và vì vậy cho phép sản xuất lớp hơi với năng suất cao.

Bước sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên có thể được thực hiện bằng cách thực hiện phương pháp sản xuất cao su tự nhiên để sản xuất cao

su tự nhiên.

Bước nhào

Trong bước nhào, cao su tự nhiên thu được trong bước sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên sẽ được nhào với chất phụ gia để thu được hỗn hợp nhào.

Phụ gia bất kỳ đều có thể được dùng bao gồm các phụ gia dùng trong sản xuất các sản phẩm cao su. Ví dụ, khi sản phẩm cao su là lớp hơi, thì ví dụ về phụ gia bao gồm các thành phần cao su không phải là cao su thu được từ mủ cao su thì các chất độn tăng bền như đen cacbon, oxit silic, cacbonat canxi, oxit nhôm, đất sét và đá tan, các chất kết hợp silan, oxit kẽm, axit stearic, các chất trợ xử lý, các kiểu chất trống oxi hóa khác nhau, chất làm mềm như dầu, sáp, chất lưu hóa như lưu huỳnh và chất tăng tốc lưu hóa.

Việc nhào trong bước nhào có thể được thực hiện bằng cách sử dụng máy nhào trộn cao su như máy nghiền trục hở, máy trộn banbury hoặc máy trộn trong.

Bước tạo sản phẩm cao su nguyên liệu (bước tạo lớp xanh trong trường hợp của lớp)

Trong bước tạo sản phẩm cao su nguyên liệu thì sản phẩm cao su nguyên liệu (lớp xanh trong trường hợp của lớp) sẽ được tạo từ hỗn hợp nhào thu được trong bước nhào.

Phương pháp sản xuất sản phẩm cao su nguyên liệu không bị giới hạn và các phương pháp dùng để tạo các sản phẩm cao su nguyên liệu có thể được dùng một cách thích hợp. Ví dụ, khi sản phẩm cao su là lớp hơi thì hỗn hợp nhào thu được trong bước nhào có thể được đùn thành hình dạng thành phần lớp và sau đó được tạo và lắp với các thành phần lớp khác theo cách thông thường trên máy làm lớp để tạo lớp xanh (lớp chưa lưu hóa).

Bước lưu hóa

Trong bước lưu hóa, sản phẩm cao su nguyên liệu thu được trong bước tạo sản phẩm cao su nguyên liệu được lưu hóa để sản xuất sản phẩm cao su.

Phương pháp lưu hóa sản phẩm cao su nguyên liệu không bị giới hạn và các phương pháp dùng để lưu hóa các sản phẩm cao su nguyên liệu đều có thể được dùng một cách thích hợp. Ví dụ, khi sản phẩm cao su là lớp hơi thì lớp xanh (lớp chưa lưu hóa) thu được trong bước tạo sản phẩm cao su nguyên liệu sẽ được lưu hóa bằng cách gia nhiệt và ép trong thiết bị lưu hóa để sản xuất lớp hơi.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả cụ thể dựa vào các ví dụ nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó.

Các hóa chất được dùng trong các ví dụ sẽ được mô tả chung dưới đây.

BA: benzyladenin

KI: kinetin

Nitrat bạc: nitrat bạc mua từ Merck

Chất gel hóa (chất đóng rắn): phytigel mua từ Sigma-Aldrich

Bước cảm ứng

Mô bao gồm chồi nách được lấy từ cây non thuộc *Hevea brasiliensis*.

Tiếp theo, mô bao gồm chồi nách lấy từ cây non được làm sạch bằng dòng nước và sau đó với 70% khối lượng etanol, sau đó được tiệt trùng bằng dung dịch natri hypoclorit chứa nước được pha loãng ở gần 5 đến 10% thể tích và được rửa bằng nước tiệt trùng.

Tiếp theo, mô đã tiệt trùng được đưa vào môi trường cảm ứng (môi trường rắn) và được nuôi cấy (bước cảm ứng). Môi trường cảm ứng được chuẩn bị bằng cách bổ sung 5,0 mg/l benzyladenin, 1,0 mg/l nitrat bạc, 3,0% khối lượng sucroza và 0,05% khối lượng cacbon hoạt tính vào môi trường MB, điều chỉnh độ pH của môi trường đến 5,7 và sau đó bổ sung chất gel hóa đến nồng độ bằng 0,275% khối lượng tiếp theo bởi việc tiệt trùng trong nồi hấp (121°C, 20 phút) và làm mát trên bàn sạch.

Mô *Hevea brasiliensis* được đưa vào môi trường cảm ứng (môi trường rắn) và được nuôi cấy trong chu kỳ chiếu sáng bằng 16 giờ sáng ở 12,5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$ và ở nhiệt độ nuôi cấy bằng 28°C để gây cảm ứng các chồi non. Trong bản mô tả này, việc nuôi cấy phụ được thực hiện bằng cách trồng lại vào môi trường cảm ứng có cùng thành phần bốn tuần một lần.

Các chồi non được gây cảm ứng trong bước cảm ứng được dùng trong phần dưới đây.

Đầu cắt của mỗi chồi non được ngâm trong dung dịch auxin (5,0 mg/l axit 1-naphtalenaxetic, 5,0 mg/l axit indol-3-butyric và 100 $\mu\text{mol}/\text{l}$ glutation khử) trong 72 giờ (bước ngâm trong chu kỳ chiếu sáng bằng 16 giờ sáng ở 12,5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$ và ở nhiệt độ bằng 28°C). Tiếp theo, bề mặt đầu cắt của mỗi chồi non được ngâm trong bước ngâm được đưa vào và nuôi cấy trong môi trường rắn không hoocmon (hoocmon thực vật nồng độ: 0 mg/l, độ pH 5,7) chứa trong môi trường nền MB 3,0% khối lượng sucroza, 0,01% khối lượng cacbon hoạt tính, 1,0 mg/l nitrat bạc, 100 $\mu\text{mol}/\text{l}$ glutation khử và 0,275% khối lượng chất đóng rắn (bước nuôi cấy). Việc nuôi cấy được thực hiện trong chu kỳ chiếu sáng bằng 16 giờ sáng ở 12,5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$ và ở nhiệt độ bằng 25 đến 28°C trong tám tuần. Các rễ được quan sát ở một số cá thể ít nhất hai tuần từ thời điểm nuôi cấy trong môi trường không hoocmon và các cá thể được nuôi cấy trong bốn tuần nữa để thu được các cây con (các cây con có nguồn gốc từ chồi non).

Trong bản mô tả này, dung dịch auxin được chuẩn bị bằng cách hòa tan các thành phần nêu trên trong nước cất.

Hơn nữa, môi trường còn được chuẩn bị bằng cách bổ sung tất cả các thành phần nêu trên ngoại trừ chất đông rắn vào môi trường nền, điều chỉnh độ pH của môi trường đến 5,7 và sau đó bổ sung chất đông rắn đến nồng độ bằng 0,275% khối lượng tiếp theo bởi việc tiệt trùng trong nồi hấp (121°C, 20 phút) và làm mát trên bàn sạch.

Ví dụ 1: Trồng thủy canh

Bọt biển với khe hở (độ bền kéo: 80 KPa) được buộc xung quanh chân của các rễ của mỗi cây con (chiều cao trên mặt đất: 5,0 cm) thu được ở trên. Sau đó, cây con được đặt trong lỗ được cung cấp trong cái đôn (nguyên liệu: bọt styro) và cái đôn được nổi trên dung dịch dinh dưỡng (độ pH ban đầu: 5,7) trong hộp chứa sâu sao cho các rễ của cây con chìm trong dung dịch dinh dưỡng. Oxy được cấp cho dung dịch dinh dưỡng bằng máy bơm không khí để duy trì hàm lượng oxy hòa tan của dung dịch dinh dưỡng ở 12 phần triệu. Sau đó, việc trồng thủy canh được thực hiện trong chu kỳ bằng 16 giờ sáng và 8 giờ tối ở nhiệt độ dung dịch dinh dưỡng bằng 25°C và nhiệt độ trồng bằng 28°C. Trong bản mô tả này, độ rọi ở mức lá trong ánh sáng được duy trì ở 5.000 đến 10.000 lx và độ rọi ở mức lá trong bóng tối được duy trì ở 1 lx hoặc thấp hơn.

Hơn nữa, việc trồng còn được thực hiện trong khi duy trì độ pH của dung dịch dinh dưỡng ở 5,6 đến 5,8 bằng cách bổ sung dung dịch axit nitric vào dung dịch dinh dưỡng.

Trong bản mô tả này, dung dịch dinh dưỡng được dùng là dung dịch thủy canh Hoagland.

Sau đó, các cây con được quan sát và chụp ảnh mỗi tháng một lần trong khi trồng để xác định liệu sự tạo rễ đã xảy ra và quan sát độ dài của rễ, chiều cao trên mặt đất, chu vi thân, sự xuất hiện của hiện tượng héo lá, v.v.. Các kết quả được dùng để đánh giá sự tăng trưởng của các phần trên mặt đất và sự tạo rễ.

Ví dụ so sánh 1

Việc trồng trong đất được thực hiện trong cùng các điều kiện, ngoại trừ một điểm là đất nuôi cấy (hỗn hợp của vecmiculit và đất dùng cho cây cảnh) được sử dụng thay vì dung dịch dinh dưỡng. Việc tưới nước được thực hiện bằng cách làm ướt đất nuôi cấy bằng dung dịch dinh dưỡng sử dụng bình tưới nước một lần trong ngày.

Fig.1 là hình vẽ thể hiện các kết quả đánh giá trong ví dụ và ví dụ so sánh. Trong bản mô tả này, mỗi ví dụ được thực hiện hai lần.

Fig.1(a) thể hiện sự biến đổi chiều cao trên mặt đất trong mỗi ví dụ và Fig.1(b) thể hiện sự biến đổi chu vi thân trong mỗi ví dụ.

Các so sánh giữa các ví dụ và ví dụ so sánh trên Fig.1 cho thấy là trồng thủy canh thúc đẩy đáng kể tăng trưởng của các phần trên mặt đất so với sự trồng trong đất.

Hơn nữa, ví dụ so sánh 1-1 và 1-2 còn bao gồm bước trồng trong đất có giai đoạn chậm trên sáu tháng khi bắt đầu trồng. Ngược lại, ví dụ 1-1 và 1-2 bao gồm bước trồng thủy canh thể hiện tăng trưởng của các phần trên mặt đất từ khi bắt đầu trồng.

Trong bản mô tả này, chu vi thân được đo ở vị trí 1,0 cm cách với ranh giới giữa các phần trên mặt đất và rễ.

Fig.2 thể hiện ảnh chụp của các phần trên mặt đất sau khi trồng ba tháng trong các ví dụ.

Như được thể hiện trên Fig.2, việc trồng thủy canh dẫn đến sự tăng trưởng được thúc đẩy của các phần trên mặt đất và sức sống tốt của các lá so với việc trồng trong đất.

Fig.3 là các ảnh chụp của các rễ sau khi trồng ba tháng trong các ví dụ.

Như được thể hiện trên Fig.3, chủ yếu là các rễ chính trong ví dụ so sánh bao gồm bước trồng trong đất là xoắn, trong khi các rễ trong ví dụ bao gồm bước trồng thủy canh lại không xoắn và các rễ ngang phát triển tốt. Điều này thể hiện là việc trồng thủy canh thúc đẩy sự ra rễ và phát triển rễ so với việc trồng trong đất.

Ví dụ 2

Trước tiên, cây con (chiều cao trên mặt đất: 5,0 cm) thu được như được mô tả ở trên được trồng trong đất. Sau đó, nó thể hiện sự tăng trưởng kém.

Cây con đã thể hiện tăng trưởng kém được trồng thủy canh trong cùng các điều kiện như trong ví dụ 1 trong hai tháng. Fig.4 là các ảnh chụp của cây con ở thời điểm bắt đầu trồng thủy canh và sau khi trồng thủy canh hai tháng.

Như được thể hiện trên Fig.4, ngay cả khi cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ đã thể hiện xu hướng tăng trưởng kém khi trồng trong đất, thì việc chuyển sang trồng thủy canh vẫn cho phép cây con có xu hướng tăng trưởng kém có sự tăng trưởng được cải thiện.

Ngược lại, cây con đã thể hiện tăng trưởng kém với khi nó được trồng trong đất trong cùng các điều kiện như trong ví dụ so sánh 1.

Các kết quả nêu trên cho thấy rằng bằng cách trồng thủy canh thì có thể thúc đẩy sự ra rễ, phát triển rễ và tăng trưởng của các phần trên mặt đất so với việc trồng trong đất sao cho sự tăng trưởng của cây con có thể được thúc đẩy mạnh và vì vậy cây có thể được tạo từ cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ với năng suất cao.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất cây, phương pháp này bao gồm bước trồng thủy canh cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ,
 chồi non là chồi non của cây thuộc giống *Hevea*,
 bước trồng thủy canh sử dụng dung dịch dinh dưỡng có hàm lượng oxy hòa tan nằm trong khoảng từ 2 đến 20 phần triệu và không sử dụng môi trường rắn.
2. Phương pháp sản xuất cây theo điểm 1,
 trong đó trong bước trồng thủy canh, dung dịch dinh dưỡng có nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 36°C.
3. Phương pháp sản xuất cây theo điểm 1 hoặc 2,
 trong đó trong bước trồng thủy canh, dung dịch dinh dưỡng có độ pH ban đầu nằm trong khoảng từ 5,6 đến 5,8.
4. Phương pháp sản xuất cây theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3,
 trong đó trong bước trồng thủy canh, dung dịch dinh dưỡng có độ pH được duy trì trong khoảng từ 5,0 đến 6,5.
5. Phương pháp sản xuất cây theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4,
 trong đó trong bước trồng thủy canh, việc trồng được thực hiện trong môi trường với độ rọi ở mức lá với ánh sáng bằng 5000 lx hoặc cao hơn.
6. Phương pháp sản xuất cây theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5,
 trong đó cây con có chiều cao trên mặt đất bằng 1 m hoặc nhỏ hơn.
7. Phương pháp sản xuất cây theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6,
 trong đó chồi non là chồi non của *Hevea brasiliensis*.
8. Phương pháp sản xuất cao su tự nhiên, phương pháp này bao gồm các bước:
 sản xuất cây bằng phương pháp sản xuất cây theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7; và
 sản xuất cao su tự nhiên sử dụng cây thu được trong sản xuất cây.
9. Phương pháp sản xuất lớp hơi, phương pháp này bao gồm các bước:
 sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên theo điểm 8;
 nhào trộn cao su tự nhiên thu được trong sản xuất với chất phụ gia để thu được hỗn hợp nhào;
 tạo lớp xanh từ hỗn hợp nhào; và

lưu hóa lớp xanh.

10. Phương pháp sản xuất sản phẩm cao su, phương pháp này bao gồm các bước:

sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên theo điểm 8;

nhào trộn cao su tự nhiên thu được trong sản xuất với chất phụ gia để thu được hỗn hợp nhào;

tạo sản phẩm cao su nguyên liệu từ hỗn hợp nhào; và

lưu hóa sản phẩm cao su nguyên liệu.

11. Phương pháp sản xuất cây, phương pháp này bao gồm bước trồng thủy canh cây con có nguồn gốc từ chồi non cây thân gỗ,

chồi non là chồi non của cây thuộc giống *Hevea*,

bước trồng thủy canh không sử dụng môi trường rắn.

12. Phương pháp sản xuất cây theo điểm 11,

trong đó trong bước trồng thủy canh, dung dịch dinh dưỡng có nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 36°C.

13. Phương pháp sản xuất cây theo điểm 11 hoặc 12,

trong đó trong bước trồng thủy canh, dung dịch dinh dưỡng có độ pH ban đầu nằm trong khoảng từ 5,6 đến 5,8.

14. Phương pháp sản xuất cây theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 11 đến 13,

trong đó trong bước trồng thủy canh, dung dịch dinh dưỡng có độ pH được duy trì trong khoảng từ 5,0 đến 6,5.

15. Phương pháp sản xuất cây theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 11 đến 14,

trong đó trong bước trồng thủy canh, việc trồng được thực hiện trong môi trường với độ rọi ở mức lá với ánh sáng bằng 5000 lx hoặc cao hơn.

16. Phương pháp sản xuất cây theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 11 đến 15,

trong đó cây con có chiều cao trên mặt đất bằng 1 m hoặc nhỏ hơn.

17. Phương pháp sản xuất cây theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 11 đến 16,

trong đó chồi non là chồi non của *Hevea brasiliensis*.

18. Phương pháp sản xuất cao su tự nhiên, phương pháp này bao gồm các bước:

sản xuất cây bằng phương pháp sản xuất cây theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 11 đến 17; và

sản xuất cao su tự nhiên sử dụng cây thu được trong sản xuất cây.

19. Phương pháp sản xuất lớp hơi, phương pháp này bao gồm các bước:

sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên theo điểm 18;
nhào trộn cao su tự nhiên thu được trong sản xuất với chất phụ gia để thu được hỗn hợp nhào;

tạo lớp xanh từ hỗn hợp nhào; và

lưu hóa lớp xanh.

20. Phương pháp sản xuất sản phẩm cao su, phương pháp này bao gồm các bước:

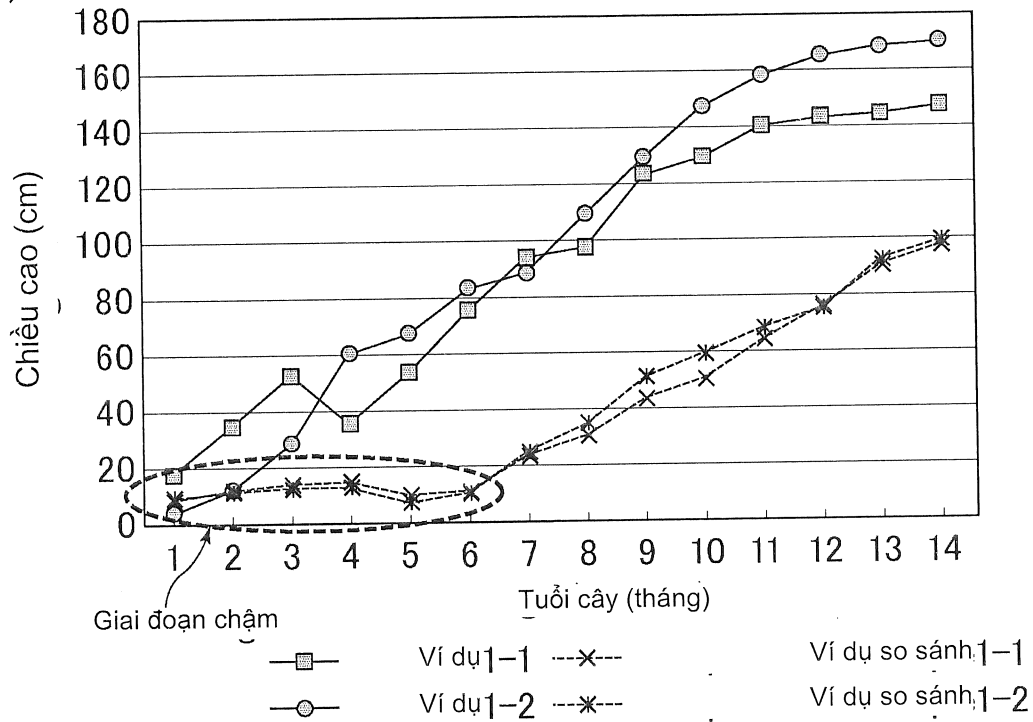
sản xuất cao su tự nhiên bằng phương pháp sản xuất cao su tự nhiên theo điểm 18;
nhào trộn cao su tự nhiên thu được trong sản xuất với chất phụ gia để thu được hỗn hợp nhào;

tạo sản phẩm cao su nguyên liệu từ hỗn hợp nhào; và

lưu hóa sản phẩm cao su nguyên liệu.

FIG. 1

(a)



(b)

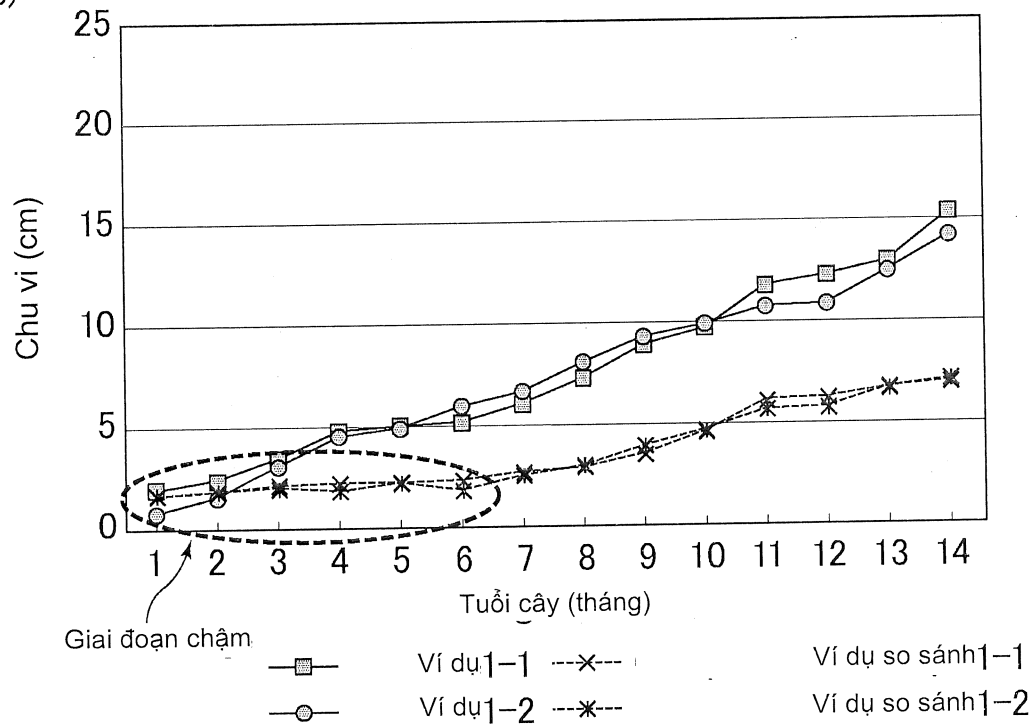
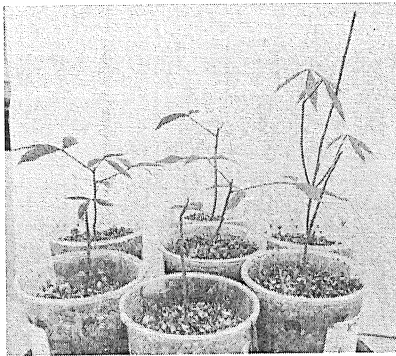


FIG.2

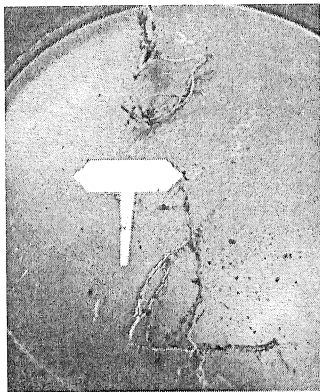


Trồng trong đất

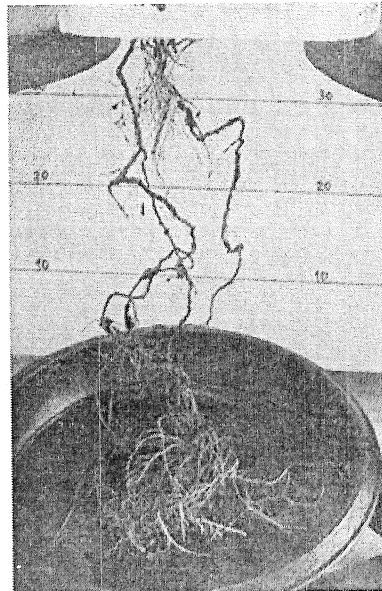


Trồng thủy canh

FIG.3



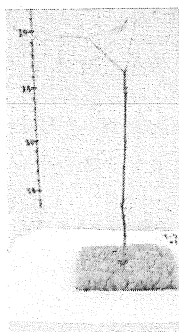
Trồng trong đất



Trồng thủy canh

5

FIG.4



Hai tháng

