

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Thị Thu Hiền

**NGHIÊN CỨU TÁC ĐỘNG CỦA CHIẾU SÁNG LED BỔ SUNG
ĐẾN SINH TRƯỞNG, PHÁT TRIỂN VÀ MỘT SỐ CHỈ TIÊU
SINH LÝ, SINH HÓA CỦA CÂY CÚC HOA VÀNG**
(*Chrysanthemum indicum* L.)

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. ĐỖ TIỀN PHÁT

2. TS. CHU THỊ THU HÀ

Hà Nội - 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan các số liệu nghiên cứu được trong luận văn là trung thực, chính xác, và là kết quả nghiên cứu tôi thực hiện dưới sự hướng dẫn của giáo viên hướng dẫn là TS. Đỗ Tiến Phát và TS. Chu Thị Thu Hà. Các số liệu thu thập được trong luận văn này chưa được ai công bố trong nghiên cứu nào.

Hà Nội, ngày 22 tháng 11 năm 2025



Nguyễn Thị Thu Hiền

LỜI CẢM ƠN

Trước hết, tôi xin được gửi lời cảm ơn sâu sắc nhất đến tập thể giáo viên hướng dẫn là TS Đỗ Tiến Phát và TS Chu Thị Thu Hà đã tận tình hướng dẫn và tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình nghiên cứu và thực hiện luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của toàn thể cán bộ phòng CNTBTV, Viện Sinh học – Viện Hàn lâm KH&CN VN, đồng thời tôi xin cảm ơn ban Lãnh đạo, phòng Đào tạo, các phòng chức năng của Học viện KH&CN đã giúp đỡ và tạo điều kiện để tôi hoàn thành việc thực hiện các thí nghiệm trong luận văn này.

Tôi xin bày tỏ lòng cảm ơn sâu sắc tới BGH, BCN Khoa, BM Công nghệ sinh học, các thầy cô giáo khoa Hóa & Môi trường – Trường Đại học Thủy lợi đã tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và hoàn thành nghiên cứu.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn đến Ban chủ nhiệm và các cộng tác viên đề tài “Nghiên cứu ứng dụng tiến bộ công nghệ nuôi cấy mô và chiếu sáng LED nhằm tăng cường sinh trưởng, phát triển và hàm lượng các hoạt chất sinh học của Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.)”; Mã số đề tài: ĐL0000.06/24-26; do TS. Chu Thị Thu Hà làm chủ nhiệm đề tài, đã hỗ trợ kinh phí, cung cấp điều kiện cần thiết và cho phép tôi khai thác các kết quả nghiên cứu để phục vụ cho luận văn.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời tri ân tới gia đình, người thân đã luôn động viên, và là nguồn động lực lớn giúp tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Trân trọng cảm ơn!

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT	v
DANH MỤC BẢNG BIỂU	vi
DANH MỤC HÌNH.....	vii
MỞ ĐẦU	1
Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU	4
1.1. Giới thiệu cây Cúc hoa vàng (<i>Chrysanthemum indicum</i> L.)	4
1.2. Phương pháp nhân giống cây Cúc hoa vàng (<i>Chrysanthemum indicum</i> L.)	5
1.3. Nghiên cứu về ảnh hưởng của yếu tố ánh sáng đến sinh trưởng, phát triển của cây hoa Cúc.....	8
1.4. Nghiên cứu về ảnh hưởng của chiếu sáng LED bổ sung đến quá trình sinh trưởng, phát triển của cây trồng.....	10
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	14
2.1. Đối tượng, phạm vi nghiên cứu.....	14
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	14
2.1.2. Phạm vi nghiên cứu	14
2.2. Phương pháp nghiên cứu	14
2.2.1. Vật liệu nghiên cứu.....	14
2.2.2. Môi trường, điều kiện nuôi cấy	14
2.2.3. Xác định một số điều kiện nuôi cấy <i>in vitro</i> cây Cúc hoa vàng (<i>Chrysanthemum indicum</i> L.).....	15
2.2.4. Đánh giá tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây Cúc hoa vàng.....	16
2.2.5. Đánh giá tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến quang hợp và tích lũy hợp chất hữu cơ của cây Cúc hoa vàng	18

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu	19
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	20
3.1. <i>Xác định một số điều kiện nuôi cây in vitro cây Cúc hoa vàng (Chrysanthemum indicum L.)</i>	20
3.1.1. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng tới sinh trưởng Cây Cúc hoa vàng in vitro.....	20
3.1.2. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng đến hiệu quả nhân nhanh chồi cây Cúc hoa vàng in vitro	21
3.1.3. Ảnh hưởng của các thành phần môi trường đến khả năng tạo cây Cúc hoa vàng in vitro hoàn chỉnh.....	23
3.1.4. Ảnh hưởng của thành phần giá thể tới hiệu quả ra ngôi cây Cúc hoa vàng in vitro	25
3.2. <i>Đánh giá tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến sinh trưởng phát triển và năng suất của cây Cúc hoa vàng</i>	27
3.2.1. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến sinh trưởng phát triển của cây Cúc hoa vàng	27
3.2.2. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến năng suất hoa của cây Cúc hoa vàng	30
3.3. <i>Phân tích tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến hoạt động quang hợp và tích lũy hợp chất thứ cấp của cây Cúc hoa vàng</i>	32
3.3.1. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến một số chỉ tiêu quang hợp của cây Cúc hoa vàng	32
3.3.2. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến tích lũy một số hợp chất thứ cấp của cây Cúc hoa vàng	34
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	37
1. <i>Kết luận</i>	37
2. <i>Kiến nghị</i>	37
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	38

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Nghĩa tiếng anh	Nghĩa tiếng việt
UNDP	United Nations Development Programme	Chương trình Phát triển Liên Hợp Quốc
GEF	Global Environmental Facility	Quỹ Môi trường Toàn cầu
GHG	Greenhouse gas	Khí nhà kính
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid	
TDZ	Thidiazuron	
IBA	Indole-3-butyric acid	
NAA	Naphthalene acetic acid	
BAP	6-Benzylaminopurine	
BA	6-benzyladenine	
EtOAc	Etyl axetat	
BuOH	Butanol	rượu butyl
GPHI		Giải pháp hữu ích

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 2.1: Các điều kiện chiếu sáng bổ sung sử dụng trong thí nghiệm.....	17
Bảng 3.1: Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến sinh trưởng cây Cúc hoa vàng <i>in vitro</i> sau 12 ngày nuôi cấy	20
Bảng 3.2: Ảnh hưởng của hormone sinh trưởng đến khả năng nhân đa chồi của Cúc hoa vàng <i>in vitro</i> sau 30 ngày nuôi cấy	21
Bảng 3.3: Ảnh hưởng của thành phần môi trường đến khả năng ra rễ của cây Cúc hoa vàng <i>in vitro</i>	24
Bảng 3.4: Ảnh hưởng của thành phần giá thể đến sinh trưởng, phát triển cây Cúc hoa vàng <i>in vitro</i> sau 40 ngày trồng	26

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1: Hoa cây Cúc hoa vàng (<i>Chrysanthemum indicum</i> L.).....	5
Hình 2.1: Sơ đồ bố trí thí nghiệm Cúc hoa vàng tại nhà lưới.....	17
Hình 3.1: Chồi Cúc hoa vàng <i>in vitro</i> sinh trưởng dưới các cường độ chiếu sáng sau 12 ngày nuôi cấy.....	20
Hình 3.2: Các mẫu đa chồi Cúc hoa vàng <i>in vitro</i> trên các điều kiện môi trường sau 30 ngày nuôi cấy	22
Hình 3.3: Khả năng phát sinh rễ của Cúc hoa vàng <i>in vitro</i> trên các điều kiện môi trường sau 6 ngày nuôi cấy	25
Hình 3.4: Sinh trưởng, phát triển của cây Cúc hoa vàng trên các điều kiện môi trường giá thể sau 40 ngày trồng.....	27
Hình 3.5: Cây Cúc hoa vàng sinh trưởng trong nhà lưới mùa vụ 2024-2025 dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung	28
Hình 3.6: Các đặc điểm sinh trưởng của Cúc hoa vàng dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung	29
Hình 3.7: Đặc điểm năng suất của cây Cúc hoa vàng dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung	31
Hình 3.8: Thành phần sắc tố trên lá của cây Cúc hoa vàng dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung	33
Hình 3.9: Hàm lượng các hợp chất thứ cấp trong lá cây Cúc hoa vàng dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung.....	34
chiếu sáng LED bổ sung	34
Hình 3.10: Hàm lượng một số nhóm hợp chất thứ cấp trên cánh hoa Cúc hoa vàng dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung	35

MỞ ĐẦU

Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.) được biết đến là một loài cây dược liệu quý với nhiều công dụng như thanh nhiệt, giải độc, làm sáng mắt, dưỡng nhan. Chống oxy hóa, kháng khuẩn chống trầm cảm, an thần, bảo vệ gan, hỗ trợ điều trị tiểu đường, ung thư, giảm béo phì [1]. Do đó, Cúc hoa vàng đang được xem là cây trồng có giá trị cao và được phát triển ở nhiều địa phương.

Những năm gần đây, năng suất của loài Cúc hoa vàng ở nước ta có những dao động lớn do những biến động của điều kiện thời tiết, khí hậu hàng năm. Bên cạnh đó, cây Cúc hoa vàng không được chọn lọc và nhân giống có hệ thống mà chủ yếu do nông dân tự để giống từ các gốc của năm trước sau khi thu hoạch hoa dẫn tới chất lượng nguồn giống không đảm bảo. Việc lưu giữ và nhân giống theo phương pháp truyền thống qua nhiều năm làm tích tụ nguồn bệnh và xuất hiện vấn đề thoái hóa giống. Đây cũng là một yếu tố làm giảm năng suất, chất lượng cây Cúc hoa vàng, từ đó ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế của người sản xuất.

Hiện nay, phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật đã và đang được áp dụng rộng rãi trong nhân giống nhiều loại cây trồng trên thế giới và ở Việt Nam. Phương pháp nhân giống này có nhiều ưu điểm như: tạo được số lượng nguồn giống lớn sạch bệnh, chất lượng cây đồng đều, không phụ thuộc vào điều kiện ngoại cảnh. Phương pháp nhân giống nuôi cấy mô đã được áp dụng với rất nhiều loài cây có giá trị ở Việt Nam, trong đó có nhiều loài thuộc họ Cúc. Gần đây, quy trình nhân giống cây Cúc hoa vàng cũng đã được xây dựng thành công sử dụng nguồn nguyên liệu là thân cành [2]. Mặc dù hệ số nhân giống thu được còn thấp, nghiên cứu này là tiền đề quan trọng cho các nghiên cứu tiếp theo trong việc tối ưu quy trình nhân nhằm tạo ra được nguồn giống lớn, ổn định và chất lượng cung cấp cho hoạt động sản xuất thực tiễn.

Khả năng sinh trưởng, phát triển và năng suất cây trồng nói chung và cây dược liệu nói riêng chịu tác động rất lớn từ các yếu tố môi trường. Trong đó, ánh sáng là yếu tố quan trọng có ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt động quang hợp và tích lũy hợp chất thứ cấp của cây. Việc điều chỉnh và tối ưu điều kiện chiếu sáng không chỉ giúp nâng cao sinh khối, năng suất mà còn ảnh hưởng trực tiếp tới chất lượng của cây trồng. Gần đây, công nghệ chiếu sáng LED được chú ý,

quan tâm rất nhiều và đặc biệt nó được xem là một nguồn ánh sáng nhân tạo có thể bổ sung hoặc thay thế nguồn ánh sáng mặt trời để thúc đẩy cũng như điều khiển hoạt động quang hợp của cây trồng [3]. Việc sử dụng chiếu sáng bổ sung bằng đèn LED mang đến nhiều ưu điểm nổi bật so với việc sử dụng các đèn huỳnh quang, đèn cao áp như: tiêu hao ít điện năng, kích thước nhỏ, tuổi thọ dài, nhiệt lượng tỏa ra thấp hơn [4], [5]. Chính vì vậy đèn LED đã và đang được sử dụng khá rộng rãi để nâng cao hiệu quả trong sản xuất nhiều đối tượng cây trồng [6], [7], [8]. Ngoài ra, chiếu sáng LED bổ sung giúp tăng cường sinh trưởng, năng suất cây trồng so với việc chỉ sử dụng ánh sáng tự nhiên [9]. Ở Việt Nam, việc chiếu sáng bổ sung chủ yếu tập trung trên đối tượng cây hoa, cây cảnh, cây lấy tinh dầu, cây rau, trong khi nghiên cứu trên đối tượng cây dược liệu còn hạn chế. Hơn thế, việc chiếu sáng LED toàn bộ hoặc nhiều giờ trong ngày sẽ tiêu hao nhiều điện năng, làm tăng chi phí sản xuất, đồng thời sẽ làm giảm tuổi thọ đèn LED. Vì vậy, các nghiên cứu gần đây đã tập trung theo hướng bổ sung một thời gian chiếu sáng LED nhất định trên cơ sở tận dụng nguồn ánh sáng mặt trời để điều khiển, cũng như nâng cao năng suất, chất lượng cây trồng, điều này kéo theo nâng cao hiệu quả kinh tế cho sản xuất.

Xuất phát từ những lý do trên, chúng tôi tiến hành đề tài “Nghiên cứu tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến sinh trưởng phát triển và một số chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa của cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.)” nhằm lựa chọn được điều kiện phù hợp cho nhân giống *in vitro* cây Cúc hoa vàng, đồng thời xác định tỉ lệ phổ chiếu sáng phù hợp nhằm thúc đẩy quá trình sinh trưởng phát triển và năng suất của cây Cúc hoa vàng phục vụ định hướng ứng dụng vào thực tiễn sản xuất.

Mục tiêu nghiên cứu:

- Xác định được một số điều kiện nhân giống cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.) thông qua nuôi cấy *in vitro*.
- Đánh giá được ảnh hưởng của chiếu sáng LED bổ sung đến sinh trưởng phát triển, năng suất và một số đặc điểm sinh lý, sinh hóa của cây Cúc hoa vàng.

Nội dung nghiên cứu:

- Nội dung 1: Xác định một số điều kiện nuôi cấy *in vitro* cây Cúc hoa vàng (*C. indicum* L.).

- Nội dung 2: Đánh giá tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến sinh trưởng phát triển và năng suất của cây Cúc hoa vàng.
- Nội dung 3: Phân tích tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến hoạt động quang hợp và tích lũy hợp chất thứ cấp của cây Cúc hoa vàng.

Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Giới thiệu cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.)

Nguồn gốc và phân bố:

Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.) còn có tên gọi là Kim cúc, Hoàng cúc, Cam cúc..., cây thuộc chi *Chrysanthemum*, họ *Asteracea*, có nguồn gốc ở vùng Đông Á, Trung Quốc và Nhật Bản. Ở Việt Nam, Cúc hoa vàng được trồng từ lâu đời. Hiện nay loài Cúc hoa vàng được xác định có nhiều ở Hưng Yên, Hải Dương, Bắc Ninh, Hà Nội và một số tỉnh khác ở phía bắc [10].

Đặc điểm hình thái:

Cây Cúc hoa vàng là cây thân thảo, sống hàng năm, cao 20 – 50 cm. Thân mọc thẳng, nhẵn, có khía dọc. Lá mọc so le, hình bầu dục, chia nhiều thùy sâu, mép có răng cưa, nhọn không đều, mặt trên lá màu xanh sẫm, mặt dưới lá màu xanh nhạt, cuống lá ngắn có tai ở gốc.

Cụm hoa mọc thành đầu trên một cuống dài ở ngọn thân hoặc kẽ lá, đường kính hoa 1,0-1,5cm, tổng bao lá bắc là những vảy thuôn dài, mép khô. Hoa ở ngoài hình lưỡi nhỏ màu vàng, hoa ở giữa hình ống, không có mào lông, tràng hoa hình ống ngắn hơn tràng hình lưỡi, có thùy tam giác nhọn và cũng có màu vàng. Quả bé, mùa hoa quả vào tháng 10 – 12 dương lịch.

Đặc điểm hình thái:

Cây Cúc hoa vàng ưa sáng và ưa ẩm, thường được trồng ở vườn, công viên hoặc trên cánh đồng với mục đích sản xuất dược liệu. Cây ra hoa nhiều hàng năm, hiếm có hạt. Mùa đông có hiện tượng rụng lá hoặc hơi tàn lụi, nên thời điểm này cây thường cắt bỏ phần thân cành, giữ lại gốc để tái sinh hoặc làm giống trồng vào mùa xuân năm sau [10].

Cây sinh trưởng tốt trên đất phù sa, đất thịt nhẹ, tơi xốp, vùng đạt cao không ngập nước, đủ ánh sáng, độ ẩm, pH 2,8-6,8..., có khả năng thích ứng mạnh, ưa mát, chịu lạnh tương đối. Nhiệt độ lý tưởng cho cây phát triển tốt là 15-25°C, nhưng cây có thể sinh trưởng trong khoảng 10°C-35°C [11], [1].



Hình 1.1: Hoa cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.)

Giá trị:

Tại Việt Nam, hiện nay có 181/374 loài cây thuộc họ Cúc đã được khai thác về giá trị sử dụng. Trong đó, loài Cúc hoa vàng được biết đến là một nguồn dược liệu quý. Cúc hoa vàng chứa: Tinh dầu (có các thành phần alpha- pinen, beta- pinen, sabinen, myrcen...; sesquiterpen: angeloyl cumambrin B, arteglaasin A, angeloylajadin...; carotenoid (chrysanthemoxanthin); flavonoid; acid amin; các thành phần khác gồm: vitamin A, indicumenon, beta-sitosterol...

Các bộ phận của hoa được dùng chữa các chứng cảm lạnh, sốt, chóng mặt, nhức đầu, đau mắt đỏ, thoái hóa điểm vàng, huyết áp cao, suy nhược thần kinh, viêm não, viêm gan, kiết lỵ.... Ngoài ra còn có tác dụng về nội tiết giúp trẻ lâu. Nhiều nghiên cứu trên Thế giới cho thấy tinh dầu Cúc hoa vàng có hoạt tính kháng khuẩn và chống oxy hóa cao với thành phần hóa học chính gồm các hợp chất 1,8-cineole, camphor, borneol và bornyl acetate [12]. Hoa của cây Cúc hoa vàng có giá bán đến 80.000 đ/kg hoa tươi và 1.000.000 đ/kg hoa khô, mang lại thu nhập từ 400-500 triệu đồng/1 ha.

1.2. Phương pháp nhân giống cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.)

Vào năm 1997, công trình nghiên cứu của Rout và cộng sự đã ghi nhận, phương pháp nhân giống loài cây Cúc hoa vàng chủ yếu được thực hiện bằng phương pháp truyền thống gồm giâm hom thông qua thân ngầm và đoạn cành. Phương thức nhân giống này thường có hệ số nhân giống thấp, chất lượng cây

giống không đồng đều, phụ thuộc nhiều vào thời vụ, bên cạnh đó còn tiềm ẩn nguy cơ lây nhiễm nguồn bệnh và đặc biệt là hiện tượng thoái hóa giống qua các giai đoạn lưu giữ và nhân giống nhiều lần. Điều này dẫn đến tăng chi phí và giảm hiệu quả sản xuất [13]. Ngoài ra, việc sử dụng các kỹ thuật kết hợp một số phương pháp công nghệ sinh học để làm giàu bộ gen cây hoa Cúc, cũng như việc sử dụng phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật với loài cây này cũng được xem xét trong nghiên cứu của Rout và cộng sự (1997) [13].

Sau đó, trong các nghiên cứu của một số tác giả như Kumar và cộng sự (2015), Miler và cộng sự (2021), Catalano và cộng sự (2022) đã cho thấy kỹ thuật nuôi cấy mô là giải pháp hiệu quả để khắc phục các hạn chế của phương pháp nhân giống truyền thống đối với cây Cúc hoa vàng, đồng thời có thể tạo ra số lượng lớn cây giống với độ đồng đều cao từ một nguồn mẫu ban đầu rất nhỏ. Thông qua nuôi cấy mô *in vitro* còn giúp tạo ra nguồn cây giống sạch bệnh và giảm thiểu khả năng thoái hóa giống [14], [15], [16]. Do vậy, phương pháp này cũng đã được ứng dụng rộng rãi và thành công trong việc tạo cây con giống hoa Cúc phục vụ sản xuất trên quy mô công nghiệp ở nhiều Quốc gia trên Thế giới. Tuy nhiên, quá trình nhân giống *in vitro* cây Cúc hoa vàng cũng gặp không ít trở ngại bởi phản ứng khác nhau giữa các giống, các nguyên liệu dùng trong nuôi cấy mô.

Những năm sau đó, rất nhiều các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng, hệ số nhân giống thông qua nuôi cấy mô của các loài Cúc đã được khảo sát, đánh giá và tối ưu [17], [18], [19]. Ngoài ra, các phương pháp khử trùng mẫu, chống nhiễm bằng việc sử dụng kết hợp các loại hóa chất, vật liệu nano, dịch chiết thực vật cũng được thử nghiệm trong quá trình nuôi cấy. Mặt khác, Nhiều phương thức tái sinh khác nhau đã được ứng dụng trong nhân giống các loài Cúc như tái sinh qua đa chồi trong nghiên cứu của Naing và cộng sự (2016) [19], tái sinh thông qua mô sẹo trong nghiên cứu của Murgayanti và cộng sự (2010) [20], Rivai và cộng sự (2015) [21], và tái sinh thông qua phôi soma trong nghiên cứu của Shinoyama và cộng sự (2004) [22], Kereša và cộng sự (2012) [23].

Thêm vào đó, ảnh hưởng của chủng loại và nồng độ các hormone sinh trưởng sử dụng trong quá trình cảm ứng tạo rễ của cây cúc nuôi cấy *in vitro* cũng được nghiên cứu và tối ưu [24], [25]. Giai đoạn thích nghi cây con có vai

trò khá quan trọng để đảm bảo khả năng thành công trong quá trình nhân giống thông qua nuôi cấy mô cây Cúc. Các yếu tố ảnh hưởng tới giai đoạn này đã được các nghiên cứu đánh giá và tối ưu [26].

Đa dạng các nguồn vật liệu ban đầu cũng được lựa chọn dùng trong nhân giống cây hoa Cúc như chồi ngủ, đỉnh sinh trưởng, mảnh lá hay các cơ quan của hoa. Nahid và đồng tác giả (2007) đã sử dụng tổ hợp chất điều hòa sinh trưởng với nồng độ 2 mg/L BA và 0,1 mg/L NAA để tạo mô sẹo từ cánh hoa Cúc đại đoá (*Chrysanthemum morifolium*) với tỉ lệ đạt trên 96%. Các mô sẹo này tiếp tục được chuyển sang môi trường có sự tổ hợp 2 mg/L BA với 0,1 mg/L kinetin và 0,1 mg/L NAA để kích thích tái sinh chồi hoàn chỉnh. Kết quả nghiên cứu cho thấy trên 83% số mô sẹo phát sinh từ cánh hoa có khả năng tái sinh chồi và tạo cây hoàn chỉnh trong nghiên cứu của Nahid và cộng sự (2007) [27]. Khả năng tái sinh chồi trực tiếp từ các bộ phận của cây cũng được khẳng định trong các nghiên cứu gần đây với các loài cúc khác nhau như Cúc lai Erica (*Dendranthema x grandiflora*) [28], [29]. Phương pháp nhân nhanh giống Cúc đại đoá (*Chrysanthemum morifolium*) cũng được thiết lập thông qua nuôi cấy các chồi ngủ [24].

Gần đây, một số thành công trong nuôi cấy *in vitro* cây Cúc hoa vàng đã được công bố. Zafarullah và cộng sự (2013) đã tiến hành đánh giá tác động của tổ hợp các hormone sinh trưởng tới các giai đoạn nuôi cấy *in vitro* cây Cúc hoa vàng và đã lựa chọn được môi trường tối ưu cho cảm ứng tạo đa chồi với tỉ lệ đạt trên 80%. Môi trường ra rễ cũng được nhóm tác giả khảo sát và lựa chọn, ở điều kiện tối ưu tỉ lệ cây nuôi cấy mô hình thành rễ đạt trên 85%, cây con được thích nghi và chuyển thành công ra trồng trong điều kiện nhà lưới [12]. Phương pháp tái sinh thông qua mô sẹo cũng đã được thử nghiệm với Cúc hoa vàng bởi Rivai và cộng sự (2015) [21]. Trong nghiên cứu này, hormone sinh trưởng 2,4D được bổ sung vào môi trường nuôi cấy để kích thích cảm ứng tạo mô sẹo từ nhiều loại vật liệu khác nhau của cây Cúc hoa vàng như mảnh lá, thân mầm, lá mầm, đoạn thân và phôi hạt. Tuy nhiên, các kết quả về tái sinh cây hoàn chỉnh từ các nguồn mô sẹo này không được nhóm nghiên cứu công bố. Gần đây, Alsoufi và đồng tác giả (2021) [30] đã sử dụng đốt thân có chứa mầm ngủ để xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây Cúc hoa vàng. Bằng

việc kết hợp giữa kinetin và IBA đã giúp hệ số nhân giống Cúc hoa vàng đạt 7,2 chồi trên một mẫu cấy. Ngoài ra, môi trường ra rễ tối ưu được lựa chọn và tỉ lệ ra rễ của cây Cúc hoa vàng nuôi cấy mô đạt trên 90%.

Ở Việt Nam, gần đây các nghiên cứu về nhân giống cây Cúc hoa vàng thông qua nuôi cấy mô đã được tiếp cận. Năm 2021, Phan Xuân Huyền và đồng tác giả đã thử nghiệm các hormone sinh trưởng trong việc nhân nhanh, tạo rễ và tạo cây Cúc hoa vàng *in vitro* hoàn chỉnh. Nhóm nghiên cứu cũng đã đưa cây Cúc hoa vàng *in vitro* ra trồng trong điều kiện nhà lưới thành công [2]. Tuy nhiên, hệ số nhân giống *in vitro* của nghiên cứu này còn rất thấp, quy trình nhân giống này cần tiếp tục nghiên cứu tối ưu và hoàn thiện để có thể áp dụng trong nhân và tạo nguồn giống nuôi cấy mô phục vụ sản xuất ở nước ta trong thời gian tới.

1.3. Nghiên cứu về ảnh hưởng của yếu tố ánh sáng đến sinh trưởng, phát triển của cây hoa Cúc

Trong những năm gần đây, nhiều công trình nghiên cứu đã chứng minh được rằng: ánh sáng có vai trò là nguồn năng lượng chủ yếu cho hoạt động quang hợp ở thực vật, nó có ý nghĩa then chốt cho sinh trưởng, phát triển của thực vật nói chung và Cúc hoa vàng nói riêng. Thực vật không chỉ chịu ảnh hưởng bởi chất lượng của ánh sáng mà còn ảnh hưởng bởi cường độ và thời gian chiếu sáng. Chất lượng ánh sáng và hướng chiếu sáng có tác động rõ ràng tới biểu hiện của các nhóm gene khác nhau liên quan tới hoạt động quang hợp, sinh trưởng và tích lũy các hợp chất khác nhau trong các giống hoa Cúc khác nhau [31], [32].

Một số nghiên cứu khác cũng chỉ ra rằng, ánh sáng là một tín hiệu quan trọng cho hoạt động sinh trưởng, phát triển của thực vật. Ngoài đáp ứng với chất lượng ánh sáng (màu sắc ánh sáng), thực vật còn đáp ứng với cường độ và thời lượng chiếu sáng. Shen và đồng tác giả (2011) [33] đã chứng minh rằng: màu sắc ánh sáng ảnh hưởng tới quá trình sinh trưởng của cây, số lượng hoa và làm thay đổi số lượng hợp chất thứ cấp trong hoa. Nghiên cứu này đánh giá ảnh hưởng của màu sắc màng che polyetylen (trắng, vàng, đỏ, và xanh) đến khả năng tích lũy hàm lượng một số hợp chất flavonoid và phenolic acid của cây

Cúc hoa vàng. Theo đó, nhóm nghiên cứu sử dụng các màng che có màu khác nhau để tạo ra sự đa dạng của môi trường ánh sáng để đánh giá ảnh hưởng của sự thay đổi này đến các hoạt động sinh trưởng và năng suất của cây Cúc hoa vàng. Kết quả nghiên cứu này đã xác định được: tổng số chồi và số hoa của cây trồng dưới màng polyetylen đỏ là cao nhất, sau đó đến màng màu vàng, màu trắng, màu xanh và cuối cùng là đối chứng (không sử dụng màng che). Tích lũy quercetin, apigenin và axit chlorogenic cao hơn dưới màu đỏ, nhưng hàm lượng luteolin và axit caffeic kém hơn. So sánh với cây trồng trong điều kiện mở, cây trồng dưới màng che polyetylen xanh có trọng lượng trung bình trên một nghìn nụ thu được từ các giai đoạn thu hoạch khác nhau là thấp nhất, tuy nhiên cây cho tổng số nụ và số hoa tính trên từng cây riêng lẻ tăng lên và cũng tăng hàm lượng tích lũy của các hợp chất có hoạt tính sinh học bao gồm: flavonoid tổng số, quercetin, apigenin, acacetin, linarin, axit chlorogenic và axit caffeic, ngoại trừ luteolin.

Năm 2022, Yang và đồng tác giả đã tiến hành nghiên cứu về hướng chiếu sáng tối ưu nhằm tăng cường hoạt động quang hợp, quá trình sinh trưởng, phát triển của 2 loài cây Cúc (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.), “Pearl Egg” và “Gaya Glory”. Kết quả nghiên cứu đã ghi nhận hướng chiếu sáng có tác động trực tiếp tới quá trình biểu hiện gene liên quan tới quá trình sinh tổng hợp đường, tổng hợp tinh bột, và hoạt động điều khiển quá trình quang hợp cũng như các gene có liên quan tới hoạt động ra hoa của 2 giống Cúc (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.), “Pearl Egg” và “Gaya Glory” [31].

Ngoài ra, trong một nghiên cứu khác Yang và đồng tác giả (2022) [32] cũng đã ghi nhận rằng: chất lượng ánh sáng có tác động tới biểu hiện gene liên quan tới cảm ứng quang hợp, gene điều khiển phân chia tế bào tại đỉnh sinh trưởng của loài cây Cúc. Để nghiên cứu các kiểu biểu hiện gene đặc hiệu liên quan đến ra hoa ở cây Cúc hoa vàng, gene kiểu TFL1/CEN mã hóa protein ức chế florigen (*CmTFL1*) và 3 gene *APETALA1* (*CdM111*), *FRUITFULL* (*CmAFL1*) và *LEAFY* (*CmFL*) đã được chọn lọc, phân tích bằng qRT-PCR ở lá và đỉnh chồi sau 60 ngày chiếu sáng bằng ánh sáng quang chu kỳ. Mặt khác, Kết quả nghiên cứu của Yang và cộng sự (2022) cũng cho thấy, biểu hiện của gene *CmTFL1* trong điều kiện quang chu kỳ ngày dài 13 giờ (LD13) cao hơn

so với quang chu kỳ ngày ngắn 10 giờ (SD10), và có tác động ức chế đáng kể đến quá trình ra hoa, đặc biệt ở các nghiệm thức cây trồng trong điều kiện chu kỳ ngày dài 13 giờ (LD13) và chu kỳ ngày dài 13 giờ có gián đoạn ban đêm (LD13 + NI-4B) [32].

1.4. Nghiên cứu về ảnh hưởng của chiếu sáng LED bổ sung đến quá trình sinh trưởng, phát triển của cây trồng

Trong một công trình nghiên cứu của Rahman và đồng tác giả (2021) về điều chỉnh quang phổ chiếu sáng LED để tăng năng suất của cây Húng quế ngọt (*Ocimum basilicum* L.) nhận định rằng, công thức chiếu sáng BRF* (kết hợp của đèn LED đỏ-R, xanh lam-B và đỏ xa-F, với cường độ R, B, F lần lượt là 79%, 11%, 10%) và BR* (kết hợp của đèn LED đỏ-R và xanh lam-B với cường độ R, B tương đối lần lượt là 84%, 16%) lần lượt tạo ra sinh khối tươi trung bình cao hơn 83% và 42% so với công thức chiếu sáng LED W* (chỉ chiếu bằng đèn LED trắng). Công thức BRF* và BR* lần lượt tạo ra sinh khối khô trung bình cao hơn 100% và 51% so với lều được chiếu sáng bằng W*. Kết quả này chứng minh rằng xử lý chiếu sáng BRF* cho năng suất và chất lượng cây trồng cao hơn so với xử lý chiếu sáng W*. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu cũng ghi nhận rằng hiệu suất sử dụng nước và điện với phổ BRF* tương ứng với phổ W* và BR*. Do đó, kết quả của nghiên cứu này đã chứng minh tính khả thi về mặt thương mại của việc sử dụng chiếu sáng BRF* và BR* so công thức chiếu sáng W* thường được sử dụng. Kết quả nghiên cứu này là cơ sở khoa học cho việc ứng dụng công nghệ chiếu sáng LED giúp tăng đáng kể năng suất Húng quế ngọt, cũng như cải thiện chất lượng thông qua quá trình tích lũy, tổng hợp các chất thứ cấp trong cây [34].

Bên cạnh đó, khả năng tối ưu phổ bức xạ và dải chiếu sáng đã nâng cao hiệu quả ứng dụng đèn LED trong điều khiển sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây trồng. Với việc lựa chọn và tối ưu các vùng phổ khác nhau, chiếu sáng LED có thể nâng cao khả năng quang hợp, điều khiển sự ra hoa, thay đổi biểu hiện gene, nâng cao khả năng tích lũy các hợp chất thứ cấp và các enzym quan trọng trong cây [35].

Ngoài ra, công nghệ chiếu sáng LED bổ sung cũng tác động điều hòa hoạt động quang hợp và điều hòa quá trình ra hoa theo kỳ vọng. Trong nghiên cứu này, Suarez-Lopez và cộng sự (2021) đã ghi nhận rằng, chiếu sáng LED tương tác thông qua các cơ quan thụ cảm ánh sáng (phytochromes, cryptochromes và phototropin) và liên quan đến đồng hồ sinh học nội sinh và các gene ra hoa [36]. Nghiên cứu với chu kỳ quang có thể giúp giảm chi phí sản xuất cũng như thời gian sản xuất và cải thiện chất lượng cây hoa đã được báo cáo bởi Runkle và cộng sự (2006). Nghiên cứu ảnh hưởng vùng phổ ánh sáng tới việc thúc đẩy sự ra hoa cũng cho thấy sự khác biệt đáng kể ở các loài hoa khác nhau. Cây Dâu tây với đèn LED màu xanh lam, bước sóng cực đại là 450 nm thúc đẩy sự ra hoa tốt hơn so với đèn LED đỏ có bước sóng cực đại là 660 nm [37].

Trong nghiên cứu của Sumitomo và đồng tác giả (2012) về tác động của quang phổ tới quá trình ra hoa ở giống hoa Cúc “Reagen” (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) cho thấy sử dụng ánh sáng đơn sắc ở bước sóng 596 nm có tác dụng ức chế mạnh đối với sự ra hoa và mức mRNA của *CmFTL3* cũng giảm theo [38]. Ngược lại, một nghiên cứu của Nissim-Levi và đồng tác giả (2019) [39] cho thấy rằng ánh sáng xanh lam gây ra sự ức chế ra hoa, nhưng hiệu quả phụ thuộc vào thời gian chiếu sáng. Một nghiên cứu tương tự về cây hoa họ Dền (*Chenopodium rubrum* L.) cho thấy rằng sự ra hoa bị trì hoãn khi bổ sung ánh sáng đỏ và đèn LED trắng [40]. Hướng chiếu sáng (chiếu từ trên xuống, chiếu từ dưới lên và chiếu bên) cũng ảnh hưởng đến sinh khối, sự hình thành cành, đốt thân và hoa của hai giống Cúc (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.), ‘Gaya Glory’ và ‘Pearl Egg’ [41]. So với ánh sáng chiếu từ trên xuống và dưới lên, chiếu sáng bên làm tăng đáng kể cường độ quang hợp, số lượng nhánh và đốt thân, tạo ra sự ra hoa dồi dào, hay nói cách khác làm tăng sản lượng hoa hơn ở cây hoa Cúc [41].

Ở Việt Nam, trong những năm gần đây, hướng nghiên cứu chiếu sáng LED bổ sung để điều khiển và nâng cao năng suất cây trồng đã và đang được quan tâm nhiều hơn trước kia. Trong đó có thể kể đến kết quả của một số công trình nghiên cứu điển hình như: kết quả nghiên cứu ứng dụng chiếu sáng LED kích thích cho cây Thanh long ở Bình Thuận ra hoa, kết trái trái vụ đã mang lại giá trị kinh tế đột phá cho bà con nông dân do tăng cả năng suất và giá cả, đồng

thời giảm chi phí tiêu thụ điện năng của Phạm Hồng Dương và cộng sự (2014) [42]. Kết quả nghiên cứu của Phan Hồng Khôi (2021) [43] đã khảo sát thành công và ghi nhận sử dụng đèn LED chuyên dụng dạng 3U-660 có thể thay thế đèn compact trong chiếu sáng cho cây hoa Cúc với thời gian giảm còn 1/3 (đối với cây cúc Pha Lê, Kim Cương) và 1/6 (đối với cây cúc Farm) so với phương pháp chiếu sáng truyền thống đã khẳng định hiệu quả tiết kiệm năng lượng trên 67% cho các mô hình ngoài trời và từ 83%-94% cho các mô hình trong nhà lưới. Cây hoa Cúc ở mô hình chiếu sáng bằng đèn LED chuyên dụng có thời điểm ra hoa đúng như mong muốn; có các chỉ tiêu về sinh trưởng, phát triển năng suất và chất lượng cây tương đương hoặc cao hơn so với cây hoa cúc được chiếu sáng bằng đèn compact 20W. Ngoài ra, các chỉ số tác động đến môi trường không khí, đất, nước và tài nguyên của đèn LED chuyên dụng chỉ bằng từ 12-16% so với đèn CFL-20W trong giai đoạn phá đêm cây hoa Cúc [43].

Phạm Hồng Dương và cộng sự (2018) [44] đã tiến hành nghiên cứu chiếu sáng LED kích thích sinh trưởng, phát triển cho cây hoa Cúc thông qua chiếu sáng gián đoạn thời gian ban đêm để điều khiển hoa nở theo kỳ vọng của người trồng hoa thành công, mang lại giá trị kinh tế lớn ở làng hoa Tây Tựu, Hà Nội và Đà Lạt, Lâm Đồng. Kết quả này đã ghi nhận giải pháp sử dụng đèn LED bổ sung có bước sóng phát xạ từ 625 - 670 nm và có hệ thống hẹn giờ điều khiển thời điểm ra hoa của cây hoa Cúc *Chrysanthemum*. Giải pháp phá đêm dùng đèn LED tiết kiệm điện năng từ 85 - 400 lần so với giải pháp dùng đèn sợi đốt, và từ 17 - 80 lần so với giải pháp dùng đèn compact. Chi phí đầu tư cho thiết bị cũng tiết kiệm hàng chục lần trên mỗi vụ, đồng thời giảm sâu bệnh do không hấp dẫn sâu bướm.

Ngô Văn Quyền và cộng sự (2021) đã nghiên cứu và lựa chọn được đèn LED chuyên dụng (có phổ ánh sáng chuyên dụng WBU với 3 đỉnh bước sóng 410nm, 450nm và 605nm) phù hợp với phổ hấp thụ của cây Dưa lưới tạo điều kiện tốt nhất về ánh sáng cho cây phát triển. Kết quả đã lựa chọn được công thức chiếu sáng LED có tỷ lệ ánh sáng vùng đỏ/vùng xanh lam/vùng tím thích hợp cho việc quang hợp và kích thích ra hoa cây Dưa lưới, giúp tăng năng suất quả, tăng độ ngọt và mùi vị của cây Dưa lưới [45].

Một số nghiên cứu khác đã được công bố như: kết quả ứng dụng chiếu sáng LED bổ sung đã thúc đẩy tăng trưởng và tích lũy flavonoid cho cây Lan kim tuyến của Đỗ Thị Gấm và cộng sự (2020) [46], tăng năng suất cho cây Tía tô xanh trồng thủy canh trong nhà, thúc đẩy nhân giống cây trồng (Bạch đàn, Lan hồ điệp, Chuối, Địa lan, Lan ý...) cũng được nghiên cứu [47]. Ứng dụng chiếu sáng LED cho cây Cà gai leo làm tăng sinh khối và hoạt tính chống oxy hóa của callus đã được báo cáo tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam [48]. Chiếu sáng LED ứng dụng trong nuôi cấy Đông trùng hạ thảo nhằm tăng hàm lượng adenosine và cordycepin cũng đã được báo cáo [49].

Trong những năm gần đây, một số nghiên cứu chiếu sáng LED bổ sung cho cây dược liệu, cây tinh dầu như cây Bạc hà, Húng quế, Hương nhu trắng, Hương nhu tía, cây Mùi đã và đang được nhóm các nhà khoa học thuộc Viện Khoa học vật liệu và Viện Sinh học triển khai thực hiện tại Trung tâm nghiên cứu và triển khai công nghệ cao Nguyễn Văn Hiệu ở Cổ Nhuế - Hà Nội, và triển khai tại một số huyện thuộc tỉnh Hưng Yên. Cụ thể, theo công bố của nhóm nghiên cứu Chu Thị Thu Hà và đồng tác giả (2022), chiếu sáng LED bổ sung cho cây Húng quế trong nhà lưới có thể làm sinh khối tươi và năng suất tinh dầu tăng lên gấp 1,74 và 1,75 lần so với đối chứng ở điều kiện chỉ có ánh sáng mặt trời [50].

Nhìn chung, các kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng, chiếu sáng LED chọn lọc bổ sung vào ánh sáng tự nhiên có tác động tích cực đến các hoạt động sinh trưởng, phát triển của cây trồng và nâng cao năng suất, chất lượng của một số loài cây dược liệu, cây tinh dầu cũng như bước đầu khảo sát với trên đối tượng Cúc hoa vàng. Tuy nhiên, các hướng nghiên cứu này ở Việt Nam chủ yếu khảo sát trên đối tượng hoa cây cảnh và cây lấy tinh dầu. Các nghiên cứu trên đối tượng cây dược liệu trong đó có Cúc hoa vàng còn hạn chế. Do vậy nghiên cứu xây dựng quy trình chiếu sáng để chủ động quản lý, điều khiển, thúc đẩy quá trình sinh trưởng - phát triển và tích lũy các hợp chất thứ cấp quan trọng của cây Cúc hoa vàng là một hướng nghiên cứu cần thiết, góp phần nâng cao hiệu quả của loài cây dược liệu này trong lĩnh vực kinh tế và chăm sóc sức khỏe cộng đồng tại Việt Nam.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, phạm vi nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.) sạch bệnh, đồng đều được lựa chọn, vào mẫu và lưu giữ giống *in vitro* tại phòng Công nghệ tế bào thực vật, Viện Sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.1.2. Phạm vi nghiên cứu

- Nghiên cứu quy trình nhân nhanh *in vitro* giống Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.) được thực hiện tại phòng Công nghệ tế bào thực vật - viện Sinh học;

- Nghiên cứu ảnh hưởng của việc chiếu đèn LED bổ sung đối với sinh trưởng, phát triển và một số đặc điểm sinh lý, sinh hóa của cây Cúc hoa vàng trồng trong điều kiện nhà lưới tại Khu Nghiên cứu và triển khai công nghệ cao Nguyễn Văn Hiệu, Cổ Nhuế, Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu cây Cúc hoa vàng thu được sử dụng trong nghiên cứu này có xuất xứ ở tỉnh Hưng Yên. Mẫu sau khi thu về được khử trùng bằng ethanol 70% trong 1 phút, sau đó sử dụng dung dịch HgCl_2 0,1% khử trùng mẫu trong 10 phút, cuối cùng rửa sạch mẫu bằng nước cất vô trùng. Sau khử trùng, mẫu sẽ được cắt thành các đốt có kích thước dài từ 1,0 - 1,5 cm, mỗi đốt mang một chồi ngủ và được cấy trên môi trường MS [51] có bổ sung đường sucrose 25 g/L, agar 10 g/L, pH 5,8. Các chồi non tái sinh từ các đốt thân sẽ được sử dụng làm nguồn vật liệu cho các nghiên cứu tiếp sau.

2.2.2. Môi trường, điều kiện nuôi cấy

Môi trường nền muối MS là môi trường nuôi cấy được dùng cho những nghiên cứu *in vitro* trong đề tài này. Tùy vào mục đích nghiên cứu sẽ bổ sung các hormone sinh trưởng như BAP, kinetin, NAA, IBA vào môi trường nuôi cấy mẫu.

Các nghiên cứu *in vitro* được thực hiện trong phòng nuôi cấy mô thực vật: cường độ chiếu sáng 2000 lux, thời gian chiếu sáng là 16 giờ sáng/8 giờ tối, nhiệt độ phòng là 24 – 25°C, độ ẩm không khí 75-85%. Các nghiên cứu *ex vitro* đánh giá sinh trưởng của cây Cúc hoa vàng được thực hiện trong nhà lưới.

Các công thức môi trường trong nghiên cứu được kế thừa và xây dựng dựa trên các thành phần môi trường nuôi cấy đã được thử nghiệm và sử dụng trong một số nghiên cứu của của tác giả trước đây [2], [30], [52].

2.2.3. Xác định một số điều kiện nuôi cấy *in vitro* cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.)

*** Đánh giá ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng:**

Để đánh giá ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến sinh trưởng của các chồi Cúc hoa vàng *in vitro*, hệ thống đèn LED trắng với các cường độ chiếu sáng khác nhau bao gồm 500 lux (CT1), 1000 lux (CT2), 2000 lux (CT3), 3000 lux (CT4) và 4000 lux (CT5) tương ứng với các mật độ chiếu sáng khác nhau (Bảng 3.1) được thiết lập tại phòng Công nghệ tế bào thực vật. Các đoạn mẫu mang hai đốt thân (1,5 cm) được cấy trên môi trường MS bổ sung 30g/L đường sucrose và đặt dưới các cường độ chiếu sáng khác nhau ở nhiệt độ 24°C $\pm$ 1-2°C, quang chu kỳ 16 giờ sáng/8 giờ tối. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm số đốt trung bình, chiều cao chồi và đường kính chồi sẽ được thu thập sau 2 tuần nuôi cấy.

*** Lựa chọn môi trường nhân đa chồi:**

Lựa chọn các đốt thân cây Cúc hoa vàng *in vitro* có chiều cao 1,0 – 1,5 cm và cấy trên môi trường MS + 30 g/L đường sucrose kết hợp các tổ hợp hormone BAP (6-benzylaminopurin) nồng độ từ 0 – 0,4 mg/L và kinetin nồng độ 0 – 0,1 mg/L, pH 5,8 (Bảng 3.2). Mỗi công thức môi trường được thực hiện với ba lần lặp, 25 - 27 mẫu/lần lặp. Sau 30 ngày nuôi cấy, các chỉ tiêu theo dõi được thu thập và đánh giá bao gồm: tỉ lệ mẫu tạo chồi, số lượng chồi/mẫu, chiều cao chồi, hiệu suất chồi/mẫu.

*** Xác định môi trường tạo rễ *in vitro*:**

Các chồi *in vitro* đồng đều về chiều cao (1,5 cm) và có 1 - 2 cặp lá/chồi, được cấy lên các môi trường ra rễ (Bảng 3.3). Mỗi công thức môi trường

được thử nghiệm với 3 lần lặp, 16 mẫu chồi ngọn *in vitro*/lần lặp. Sau 4 và 6 ngày nuôi cấy, khả năng tạo rễ của các chồi Cúc hoa vàng *in vitro* trên các công thức môi trường khác nhau được xác định thông qua một số chỉ tiêu gồm: tỉ lệ chồi tạo rễ (%), số rễ/chồi, chiều dài rễ.

** Lựa chọn giá thể ra cây in vitro:*

Những cây Cúc hoa vàng *in vitro* cao khoảng 3 cm và có rễ hoàn chỉnh, được ra ngôi trên các hỗn hợp giá thể khác nhau (Bảng 3.4). Mỗi công thức môi trường được thử nghiệm với 3 lần lặp, 25 mẫu/lần lặp. Các công thức thí nghiệm được đặt trong buồng sinh trưởng ở 28°C, chu kỳ chiếu sáng 16 giờ sáng/8 giờ tối. Sau 40 ngày, các chỉ tiêu thí nghiệm được thu thập và đánh giá bao gồm: tỉ lệ sống (%), số lá mới, chiều cao cây (cm), chiều dài bộ rễ (cm).

*** Tổ hợp các điều kiện tối ưu sẽ được sử dụng để đánh giá hệ số và hiệu quả nhân giống cho toàn bộ quá trình nuôi cấy (từ nhân nhanh, phát triển chồi, tạo rễ, tạo cây hoàn chỉnh và ra cây).

2.2.4. Đánh giá tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây Cúc hoa vàng

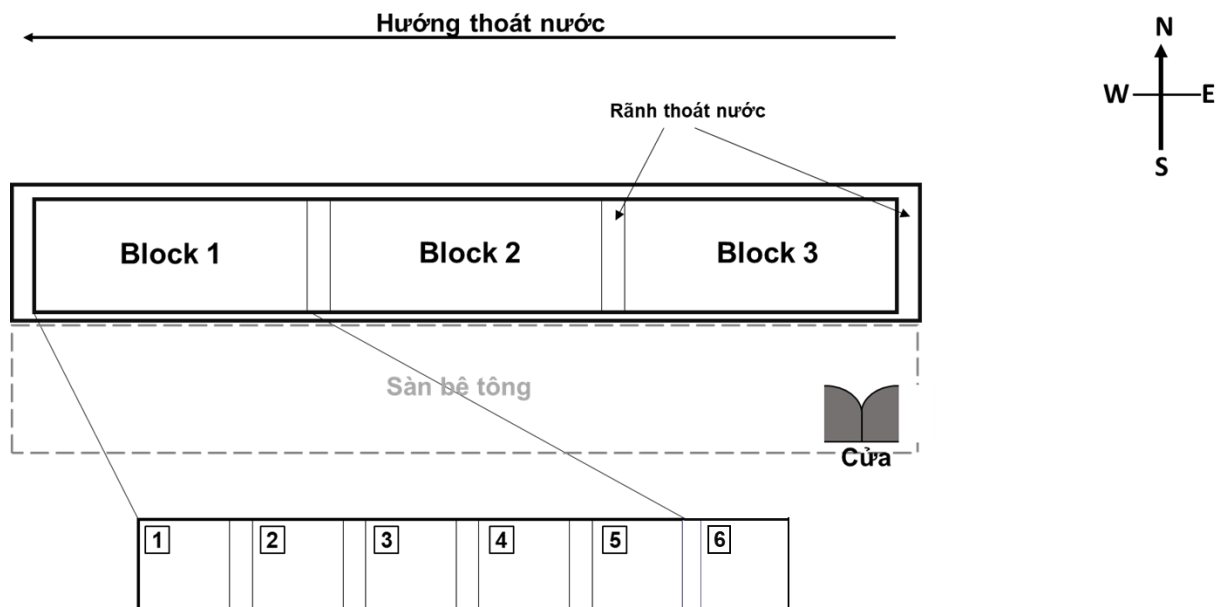
Các cây Cúc hoa vàng đồng đều về kích thước, tuổi cây được trồng trong nhà lưới theo khối ngẫu nhiên đầy đủ (bố trí theo RCB – random completed block) [53]. Cụ thể, thí nghiệm được bố trí thành ba khối, trong mỗi khối (block) được chia làm 6 ô diện tích 1 m² đánh số từ 1 đến 6, nghiên cứu được triển khai trong khoảng thời gian từ 20/9/2024 - 3/2025. Giữa các ô trồng cây được ngăn cách bằng các tấm bạt để tránh giao thoa ánh sáng giữa các ô liền kề.

Thời gian chiếu sáng LED bổ sung từ 18h đến 00h sáng hôm sau và liên tục trong 60 ngày. Sau 60 ngày chiếu sáng bổ sung hệ thống chiếu sáng LED được ngắt, cây Cúc hoa vàng tiếp tục được theo dõi về khả năng sinh trưởng và phát triển cho đến khi toàn bộ cây trong ô thí nghiệm xuất hiện hoa đầu cành. Các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây Cúc hoa vàng bao gồm: số đốt thân, số hoa nở, số nụ, đường kính hoa, khối lượng tươi của thân, khối lượng tươi của hoa được thu thập và phân tích. Thân và hoa Cúc hoa vàng được sấy ở 50°C (trong 5 - 7 ngày) đến khối lượng không đổi để thu nhận sinh khối khô.

Bảng 2.1: Các điều kiện chiếu sáng bổ sung sử dụng trong thí nghiệm

Công thức	Kí hiệu	Mật độ chiếu sáng ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Tỉ lệ phổ sáng				Bước sóng phát xạ
			Đỏ-Red (%)	Xanh-Blue (%)	Đỏ xa-Farred (%)	LED Trắng (%)	
CT1-ĐC	NT	0					R: 655-665 nm B: 435-445 nm
CT2	RB11	120	50	50			R: 655-665 nm B: 435-445 nm
CT3	RB73	120	70	30			R: 655-665 nm B: 435-445 nm
CT4	RB91	120	90	10			R: 655-665 nm B: 435-445 nm
CT5	RBF721	100	70	20	10		R: 655-665 nm F: 725-735 nm B: 435-445 nm
CT6	WL	100				100	W: 380-760 nm

Chú thích: K trong bảng là nhiệt độ màu của LED trắng

**Hình 2.1:** Sơ đồ bố trí thí nghiệm Cúc hoa vàng tại nhà lưới

2.2.5. *Đánh giá tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến quang hợp và tích lũy hợp chất hữu cơ của cây Cúc hoa vàng*

- Xác định hàm lượng diệp lục:

Các mẫu lá Cúc hoa vàng sau 2 tháng sinh trưởng trong điều kiện chiếu sáng LED bổ sung được thu thập trong khoảng 8 - 9 giờ sáng. Hàm lượng diệp lục (Chlorophyll) trong các mẫu lá được xác định theo phương pháp của Senthilkumar và đồng tác giả [54]. Cụ thể, 1 g mẫu lá tươi được nghiền mịn trong tối, sau đó bổ sung 10 mL acetone 80% để tạo thành hỗn dịch đồng thể. Hỗn dịch được ly tâm ở 5000 rpm trong 5 phút ở nhiệt độ phòng, có thể lặp lại cho đến khi dịch chiết trở nên trong suốt (không còn màu).

Dịch chiết được đo độ hấp phụ ở các bước sóng 643, 645, và 663 nm bằng máy đo quang phổ UV-vis (trong tối). Hàm lượng diệp lục được tính theo công thức sau:

$$\text{Chla} = (12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) \times V / (1000 \times w)$$

$$\text{Chlb} = (22,9 \times A_{643} - 4,68 \times A_{645}) \times V / (1000 \times w)$$

$$\text{Chl tổng số} = 20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663} \times V / (1000 \times w)$$

Trong đó: V là thể tích dịch chiết được; w là khối lượng mẫu

- Xác định flavonoid tổng số:

Hàm lượng flavonoid tổng số trong lá và cánh hoa Cúc hoa vàng được xác định theo phương pháp của Neatpatiparn và cộng sự với một số cải biến [55]. Trong đó, 20 mg bột lá khô được chiết trong 1,5 ml methanol 80% trong 24 giờ ở 4°C và thu nhận dịch chiết sau khi đã loại bỏ cặn. Phản ứng định lượng flavonoid được thực hiện bằng cách cho 100 µL dịch chiết vào hỗn hợp phản ứng gồm 400 µL nước cất, 30 µL NaNO₃ 5%, 30 µL AgCl₃ 10%. Phản ứng tiếp tục được xúc tác bằng việc bổ sung 200 µL NaOH 1M và đặt trong tối 10 phút ở nhiệt độ phòng.

Hỗn hợp sau đó được đo độ hấp phụ ở bước sóng 320 nm, sử dụng rutin làm chất chuẩn định lượng.

- Xác định phenolic tổng số:

Hàm lượng phenolic tổng số trong lá và cánh hoa Cúc hoa vàng được

định lượng sử dụng dung dịch phản ứng Folin-Ciocalteu (SigmaAldrich, Mỹ). Cụ thể, 20 μL dịch chiết được trộn đều với 100 μL thuốc thử Folin-Ciocalteu trong đĩa 96 giếng và để ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Sau đó, hỗn dịch được bổ sung 80 μL dung dịch Na_2CO_3 nồng độ 7,5%, trộn đều và ủ 15 phút trong tối.

Hỗn hợp sau phản ứng được đo độ hấp phụ ở bước sóng 765 nm, sử dụng axit galic làm chất chuẩn định lượng.

- *Xác định carotenoid tổng số:*

Mẫu cánh hoa Cúc hoa vàng được xác định hàm lượng carotenoid tổng số theo phương pháp của Jiaojiao và cộng sự [56]. 20 mg bột cánh hoa khô được chiết bằng 1,5 mL ethanol 60% trong 45 phút sử dụng bể siêu âm. Cặn bột cánh hoa sau đó được loại bỏ để thu dịch chiết.

Dịch chiết sau khi thu được đo độ hấp phụ ở bước sóng 445 nm. Hàm lượng carotenoid được xác định theo công thức:

$$\frac{\text{Độ hấp phụ} * \text{thể tích dịch chiết} * \text{hệ số pha loãng}}{0,16 * \text{khối lượng mẫu}}$$

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Dữ liệu thí nghiệm thu thập được xử lý và phân tích thống kê bằng phần mềm thống kê IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0 [57]. Sự khác biệt đáng kể giữa các công thức thí nghiệm được đánh giá bằng phân tích phương sai (ANOVA), tiếp theo là kiểm định phạm vi đa biến của Duncan ở xác suất $(p) \leq 0,05$ với chương trình thống kê SPSS. Các thí nghiệm đều được lặp lại ba lần và được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định một số điều kiện nuôi cấy *in vitro* cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.)

3.1.1. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng tới sinh trưởng Cây Cúc hoa vàng *in vitro*

Ánh sáng được xem là một trong những yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng tới hiệu quả nuôi cấy *in vitro* của nhiều loại cây trồng. Trong nghiên cứu này, tác động của ánh sáng tới sinh trưởng cây Cúc hoa vàng *in vitro* được khảo sát trên 5 công thức cường độ chiếu sáng khác nhau gồm 500, 1000, 2000, 3000, 4000 lux. Kết quả thu được từ thí nghiệm này được thể hiện trong Bảng 3.1 và Hình 3.1.

Bảng 3.1: Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến sinh trưởng cây Cúc hoa vàng *in vitro* sau 12 ngày nuôi cấy

Công thức	Cường độ chiếu sáng (lux)	Mật độ chiếu sáng ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Số đốt mẫu (đốt/mẫu cây)	Chiều cao chồi (cm)	Đường kính chồi (mm)
CT1	500	8,02	$5,93 \pm 1,27^a$	$3,68 \pm 0,89^b$	$0,93 \pm 0,15^a$
CT2	1000	16,04	$5,81 \pm 1,30^a$	$2,58 \pm 0,67^a$	$1,14 \pm 0,19^b$
CT3	2000	32,07	$7,33 \pm 1,01^b$	$4,27 \pm 2,00^b$	$1,22 \pm 0,24^b$
CT4	3000	48,11	$7,64 \pm 1,15^b$	$3,37 \pm 1,09^{ab}$	$1,25 \pm 0,18^b$
CT5	4000	64,15	$7,25 \pm 0,62^b$	$3,30 \pm 1,11^{ab}$	$1,24 \pm 0,08^b$

Chú thích: các chữ cái khác nhau đi theo sau các giá trị trong cùng 1 cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% trong Duncan.



Hình 3.1: Chồi Cúc hoa vàng *in vitro* sinh trưởng dưới các cường độ chiếu sáng sau 12 ngày nuôi cấy

Chú thích: A, B, C, D và E: công thức chiếu sáng 500, 1000, 2000, 3000 và 4000 lux.

Kết quả thí nghiệm cho thấy, cường độ chiếu sáng có tác động mạnh mẽ đến sinh trưởng và hình thái chồi của cây Cúc hoa vàng *in vitro*. Cụ thể, chồi cây Cúc hoa vàng *in vitro* sinh trưởng dưới cường độ chiếu sáng 500 lux có lá, thân nhỏ, chất lượng cây con thấp hơn hẳn so với các công thức cường độ chiếu sáng còn lại (Hình 3.1). Ở cường độ chiếu sáng 1000 lux ($16,04 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), số đốt mẫu đạt 6 đốt/chồi và chiều cao chồi đạt 2,58 cm. Khi tăng cường độ chiếu sáng lên 2000 lux ($32,07 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) số đốt trên mỗi chồi tăng đáng kể lên khoảng 7 đốt/chồi, đồng thời chiều cao chồi cũng tăng lên đến 4,27 cm (Bảng 3.1). Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng cường độ ánh sáng lên 3000 lux, 4000 lux (CT4 và CT5), kết quả cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa chỉ tiêu số lượng đốt và chiều cao chồi so với ngưỡng chiếu sáng 2000 lux. Ngoài ra, ngoại trừ cường độ chiếu sáng thấp nhất (500 lux) thì đường kính chồi không có sự khác biệt nào đáng kể giữa các cường độ chiếu sáng. Do vậy, công thức cường độ chiếu sáng 2000 lux ($32,07 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) được chọn là công thức tối ưu cho quá trình nuôi cấy *in vitro* cây Cúc hoa vàng trong nghiên cứu này.

3.1.2. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng đến hiệu quả nhân nhanh chồi cây Cúc hoa vàng *in vitro*

Để khảo sát tác động của các chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh chồi của cây Cúc hoa vàng *in vitro*, BAP với nồng độ từ 0-0.4 mg/L và Kinetin với nồng độ từ 0-0,1 mg/L được bổ sung riêng rẽ hoặc kết hợp vào môi trường MS. Kết quả nhân chồi Cúc hoa vàng *in vitro* thu được từ các công thức thí nghiệm này được thể hiện trong Bảng 3.2 và Hình 3.2.

Bảng 3.2: Ảnh hưởng của hormone sinh trưởng đến khả năng nhân đa chồi của Cúc hoa vàng *in vitro* sau 30 ngày nuôi cấy

Công thức	Thành phần môi trường	Số lượng chồi (chồi/mẫu cấy)	Chiều cao chồi (cm)
SM1	MS	$1,00 \pm 0,00^a$	$3,22 \pm 0,25^c$
SM2	MS + BAP 0,4 mg/L	$5,36 \pm 1,06^b$	$0,77 \pm 0,04^a$
SM3	MS + BAP 0,2 mg/L + kinetin 0,1 mg/L	$5,33 \pm 1,67^b$	$0,71 \pm 0,10^a$
SM4	MS + BAP 0,4 mg/L + kinetin 0,1 mg/L	$9,51 \pm 1,32^c$	$0,83 \pm 0,19^a$
SM5	MS + BAP 0,2 mg/L	$3,97 \pm 1,42^b$	$2,19 \pm 0,52^b$



Hình 3.2: Các mẫu đa chồi Cúc hoa vàng *in vitro* trên các điều kiện môi trường sau 30 ngày nuôi cấy

Chú thích: A: MS; B: MS + BAP 0,4 mg/L; C: MS + BAP 0,2 mg/L + kinetin 0,1 mg/L; D: MS + BAP 0,4 mg/L + kinetin 0,1 mg/L; E: MS + BAP 0,2 mg/L

Kết quả ghi nhận, các chất điều hòa sinh trưởng có ảnh hưởng mạnh mẽ đến khả năng nhân nhanh chồi cây Cúc hoa vàng *in vitro*. Cụ thể, hệ số nhân chồi tăng nhanh và có biến động lớn ở các tổ hợp có bổ sung BAP nồng độ từ 0 – 0,4 mg/L và Kinetin nồng độ từ 0 – 0,1 mg/L. Ở công thức SM1 (không sử dụng chất điều hòa sinh trưởng) số lượng chồi không tăng lên sau quá trình nuôi cấy, với số chồi ghi nhận 1,0 chồi/mẫu cây. Tuy nhiên, chiều cao chồi Cúc hoa vàng ở công thức môi trường này đạt giá trị lớn nhất (3,22 cm). Ngoài ra, toàn bộ các chồi Cúc hoa vàng trên môi trường SM1 có hiện tượng phát sinh rễ rất nhanh. Việc phát sinh rễ cũng được ghi nhận đối với công thức SM5 có bổ sung nồng độ thấp BAP (0,2 mg/L).

Trong khi đó, hệ số nhân chồi tăng nhanh ở các công thức môi trường có bổ sung BAP (SM2 và SM5) hoặc bổ sung kinetin kết hợp đồng thời với BAP (SM3 và SM4). Đặc biệt, số lượng chồi/mẫu đạt giá trị lớn nhất là (9,51 chồi) khi bổ sung đồng thời BAP và kinetin ở nồng độ tương ứng là 0,4 mg/L và 0,1 mg/L (SM4). Điều này chứng minh hiệu quả của tổ hợp BAP và kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi cây Cúc hoa vàng *in vitro*. Mặc dù vậy, chiều cao chồi ở cả ba công thức SM2, SM3 và SM4 đều giảm mạnh xuống dưới 1 cm. Vì vậy, cần có thêm các nghiên cứu tiếp theo nhằm xác định thời gian cảm ứng

tạo đa chồi phù hợp trên các công thức môi trường này cũng như thử nghiệm các môi trường kéo dài và phát triển chồi để nâng cao chất lượng cây giống ở các giai đoạn tiếp theo.

Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Phan Xuân Huyền và cộng sự (2021) [2]. Trong đó, nhóm tác giả cũng ghi nhận cây Cúc hoa vàng có khả năng phát sinh rễ hiệu quả trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*. Trong số các chất điều hòa sinh trưởng được sử dụng phổ biến trong nuôi cấy mô, BAP đã được khẳng định là có vai trò thúc đẩy khả năng nhân chồi trên các cây thuộc chi cúc (*Chrysanthemum*) [8]. Tuy nhiên, trong các nghiên cứu trước đây cũng đã ghi nhận, sử dụng BAP ở nồng độ cao cũng có khả năng làm giảm chất lượng chồi Cúc hoa vàng [12]. Trong một nghiên cứu khác, Zafarullah và đồng tác giả đã lựa chọn môi trường tối ưu để nhân giống *in vitro* loài *Chrysanthemum indicum* L. bao gồm MS có bổ sung thêm 1,0 mg/L BAP và 0,1 mg/L IAA với hệ số nhân chồi đạt 5,2 [12]. Khi sử dụng đốt thân Cúc hoa vàng để nhân giống, Alsoufin và đồng tác giả (2021) ghi nhận hệ số nhân chồi đạt cao nhất là 7,2 chồi trên một mẫu cấy [30].

Dựa trên kết quả thu được trong nghiên cứu này của chúng tôi, môi trường SM4 (MS + 0,4 mg/L BAP + 0,1 mg/L kinetin) được lựa chọn làm môi trường phù hợp nhân nhanh chồi cho các thí nghiệm tiếp theo, nhằm tối ưu quy trình nhân giống cây Cúc hoa vàng *in vitro*.

3.1.3. Ảnh hưởng của các thành phần môi trường đến khả năng tạo cây Cúc hoa vàng *in vitro* hoàn chỉnh

Sau khi xác định được môi trường MS có bổ sung tổ hợp 0,4 mg/L BAP và 0,1 mg/L kinetin là phù hợp cho quá trình nhân nhanh chồi, các thí nghiệm tiếp theo được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của thành phần môi trường khác nhau đến khả năng tạo rễ và tạo cây Cúc hoa vàng *in vitro* hoàn chỉnh. Cụ thể, môi trường nền được sử dụng bao gồm MS và ½ MS với các hàm lượng đường sucrose khác nhau, kết hợp hoặc không kết hợp với các nồng độ của IBA và NAA. Kết quả đánh giá được thể hiện chi tiết ở Bảng 3.3, Hình 3.3.

Bảng 3.3: Ảnh hưởng của thành phần môi trường đến khả năng ra rễ của cây Cúc hoa vàng *in vitro*

Công thức	Thành phần môi trường	Tỉ lệ ra rễ sau 4 ngày (%)	Tỉ lệ ra rễ sau 6 ngày (%)	Số lượng rễ sau 6 ngày (rễ/mẫu cấy)	Chiều dài rễ sau 6 ngày (cm)
R1	MS + 20g/L sucrose	11,80±0,69 ^b	100±0,00 ^a	6,33±0,57 ^a	3,47±0,25 ^b
R2	½MS + 20g/L sucrose	17,36±4,86 ^b	100±0,00 ^a	6,20±0,20 ^a	3,77±0,15 ^b
R3	½MS + 15g/L sucrose	11,80±0,69 ^b	100±0,00 ^a	6,46±1,03 ^a	4,03±0,25 ^b
R4	½MS + 30g/L sucrose	53,47±9,03 ^c	100±0,00 ^a	6,67±0,31 ^a	3,10±1,31 ^b
R5	½MS + 20g/L sucrose + 0,1mg/L IBA	0,00±0,00 ^a	100±0,00 ^a	12,77±1,24 ^c	0,80±0,13 ^a
R6	½MS + 20g/L sucrose + 0,1mg/L NAA	0,00±0,00 ^a	100±0,00 ^a	10,32±0,92 ^b	1,13±0,03 ^a

Chú thích: các chữ cái khác nhau đi theo sau các giá trị trong cùng 1 cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% trong Duncan.

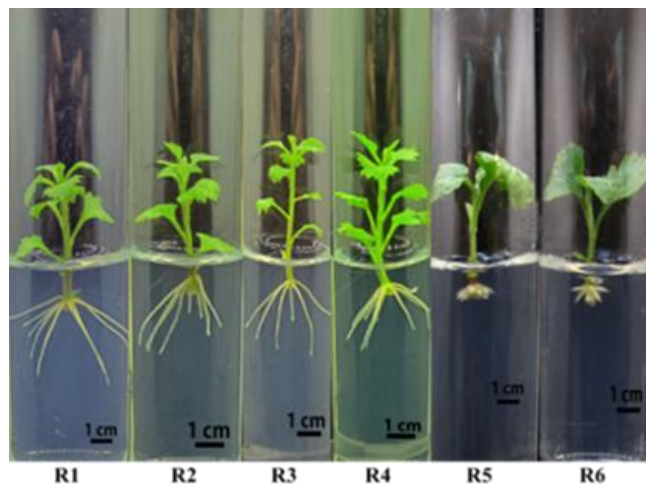
Kết quả cho thấy, trong điều kiện không sử dụng chất điều hòa sinh trưởng, hàm lượng đường sucrose trong môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng tới tốc độ ra rễ của các chồi Cúc hoa vàng *in vitro*, nhưng không ảnh hưởng tới số lượng rễ và chiều dài rễ. Cụ thể sau 4 ngày nuôi cấy trên môi trường ra rễ, công thức từ R1 đến R4 đều ghi nhận các chồi phát sinh rễ ở các tỉ lệ khác nhau. Trong đó, công thức R4 có tỉ lệ chồi ra rễ cao nhất đạt 53,47%. Tỉ lệ ra rễ ở các công thức còn lại (R1, R2 và R3) không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê. Sau 6 ngày nuôi cấy, tỉ lệ ra rễ ở tất cả các 4 công thức thí nghiệm không sử dụng chất điều hòa sinh trưởng đều đạt 100%.

Trong khi đó, việc bổ sung 0,1 mg/L IBA và 0,1 mg/L NAA vào môi trường nuôi cấy đã làm tăng đáng kể số lượng rễ và đạt 12,77 rễ/mẫu ở công thức R5 và 10,32 rễ/mẫu ở công thức R6. Tuy nhiên, việc bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng này ảnh hưởng trực tiếp đến thời gian ra rễ, chiều dài rễ. Cụ thể, chồi nuôi cấy trên hai môi trường này có tốc độ ra rễ chậm hơn so với các công thức còn lại và không ghi nhận mẫu xuất hiện rễ sau 4 ngày nuôi cấy. Ngoài ra, toàn bộ cây Cúc hoa vàng *in vitro* được nuôi cấy trên hai công thức

R5, R6 đều ra rễ sau 6 ngày nuôi cấy, tuy nhiên chiều dài rễ thấp hơn nhiều so với các công thức còn lại (chỉ đạt dưới 1,2 cm).

Kết quả trong nghiên cứu này có sự tương đồng cao với một số công bố trước đây khi nghiên cứu về khả năng tạo rễ *in vitro* loài cây *Chrysanthemum indicum* L. Trong đó, các nghiên cứu đều cho thấy việc sử dụng môi trường $\frac{1}{2}$ MS hoặc MS có bổ sung auxin (IBA, NAA) giúp tăng số lượng rễ của cây cúc nuôi cấy mô [2], [58], [12], [30].

Căn cứ vào kết quả nghiên cứu của chúng tôi, môi trường $\frac{1}{2}$ MS có bổ sung thêm 30 g/L đường sucrose được lựa chọn là môi trường phù hợp trong tạo rễ và cây hoàn chỉnh với cây Cúc hoa vàng nuôi cấy *in vitro*.



Hình 3.3: Khả năng phát sinh rễ của Cúc hoa vàng *in vitro* trên các điều kiện môi trường sau 6 ngày nuôi cấy

Chú thích: R1: MS + sucrose 20 g/L; R2: $\frac{1}{2}$ MS + sucrose 20 g/L; R3: $\frac{1}{2}$ MS + sucrose 15 g/L; R4: $\frac{1}{2}$ MS + sucrose 30 g/L; R5: $\frac{1}{2}$ MS + sucrose 20 g/L + IBA 0,1 mg/L; R6: $\frac{1}{2}$ MS + sucrose 20 g/L + NAA 0,1 mg/L;

3.1.4. Ảnh hưởng của thành phần giá thể tới hiệu quả ra ngôi cây Cúc hoa vàng *in vitro*

Để lựa chọn thành phần giá thể thích hợp cho ra ngôi cây Cúc hoa vàng *in vitro*, chúng tôi tiến hành khảo sát và thử nghiệm các giá thể ra cây khác nhau bao gồm: đất phù sa phối trộn trấu hun và phân bò ủ hoai mục; đất phù sa không phối trộn; vermiculite phối trộn perlite; vermiculite phối trộn perlite và peatmoss. Kết quả thu được từ thí nghiệm này được thể hiện trong Bảng 3.4 và Hình 3.4.

Bảng 3.4: Ảnh hưởng của thành phần giá thể đến sinh trưởng, phát triển cây Cúc hoa vàng *in vitro* sau 40 ngày trồng

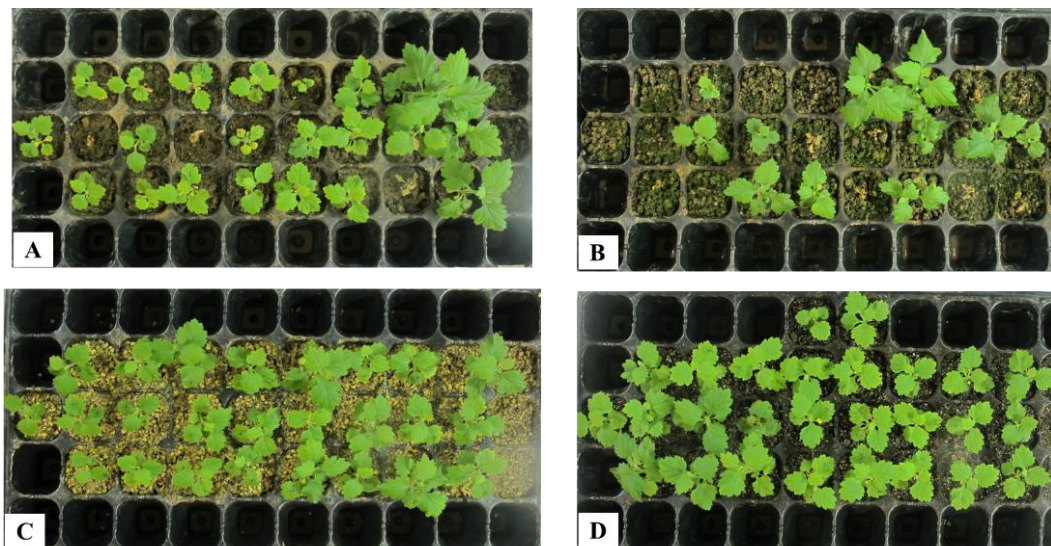
Công thức	Thành phần giá thể	Tỉ lệ sống (%)	Số lá mới (lá/cây)	Chiều dài rễ (cm)	Chiều cao cây (cm)	Sinh khối tươi (g/cây)
TN1	Đất phù sa + trấu hun + phân bò ủ hoai mục tỉ lệ 3:2:1	80,0	4,76±0,22 ^a	14,85±3,23 ^a	7,06±1,87 ^a	0,87±0,08 ^a
TN2	Đất phù sa	44,0	7,33±0,34 ^a	17,56±6,73 ^a	10,34±2,67 ^b	1,43±0,50 ^b
TN3	Vermiculite + perlite tỉ lệ 1:1	100	4,78±0,49 ^a	22,42±5,25 ^a	5,62±0,55 ^a	0,93±0,16 ^{ab}
TN4	Vermiculite + perlite + peatmoss tỉ lệ 1:1:3	100	6,59±2,60 ^a	15,90±1,52 ^a	6,33±0,72 ^a	0,81±0,04 ^a

Chú thích: các chữ cái khác nhau đi theo sau các giá trị trong cùng 1 cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% trong Duncan.

Sau 4 ngày ra ngôi, tỉ lệ sống của cây Cúc hoa vàng *in vitro* trồng trên giá thể vermiculite + perlite (TN3) và giá thể vermiculite + perlite + peatmoss (TN4) đều đạt 100%, trong khi tỉ lệ này ở điều kiện đất phù sa + trấu hun + phân bò ủ hoai mục (TN1) và đất phù sa (TN2) chỉ đạt tương ứng là 80 và 44% (Bảng 3.4). Như vậy, với các thành phần có khả năng tạo độ thông thoáng hơn, 2 loại giá thể TN3 và TN4 có hiệu quả ra ngôi tốt hơn so với 2 công thức giá thể còn lại.

Bên cạnh tỷ lệ sống sót sau ra ngôi, chúng tôi quan tâm và đánh giá khả năng sinh trưởng của cây con trong quá trình thích nghi ngoài giá thể. Ở công thức giá thể phối trộn vermiculite + perlite (TN3), rễ cây Cúc hoa vàng có khả năng kéo dài tốt hơn và đạt chiều dài rễ trung bình là 22,42 cm. Tuy nhiên, đây là các giá thể tro với hàm lượng dinh dưỡng rất thấp dẫn tới sinh trưởng của cây Cúc hoa vàng ở giai đoạn sau bị chậm hơn so với các công thức giá thể nhiều dinh dưỡng như TN1 và TN2. Do vậy, để đảm bảo tỉ lệ sống cao và giữ được chất lượng cây con, giá thể TN3 được lựa chọn trong ra ngôi cây Cúc hoa vàng, kết hợp với việc bổ sung thêm dinh dưỡng dạng dung dịch khi cây con đã thích nghi và ra lá. Việc này nhằm kích thích quá trình sinh trưởng của cây Cúc hoa vàng *in vitro* và đảm bảo chất lượng cây giống ở các giai đoạn tiếp theo tại vườn ươm.

Gần đây, nhiều nghiên cứu cho thấy một số loại giá thể với các thành phần khác nhau bao gồm đất bazan, đất mùn, vụn xơ dừa, trấu hun, vermiculite, perlite... được dùng phổ biến trong ra ngôi của nhiều loại cây trồng khác nhau ở giai đoạn vườn ươm [2], [59], [60], [61]. Ở Việt Nam, nhóm nghiên cứu của Phan Xuân Huyền và cộng sự (2021) đã lựa chọn vụn xơ dừa làm giá thể ra ngôi cây Cúc hoa vàng nuôi cấy mô ra ngoài vườn ươm, với tỉ lệ sống cao [2]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi bổ sung thêm một số thành phần giá thể để tăng thêm lựa chọn cho việc sử dụng các nguồn nguyên liệu khác nhau trong ra ngôi cây con Cúc hoa vàng *in vitro*, cũng như mở rộng tới các đối tượng cây trồng khác.



Hình 3.4: Sinh trưởng, phát triển của cây Cúc hoa vàng trên các điều kiện môi trường giá thể sau 40 ngày trồng

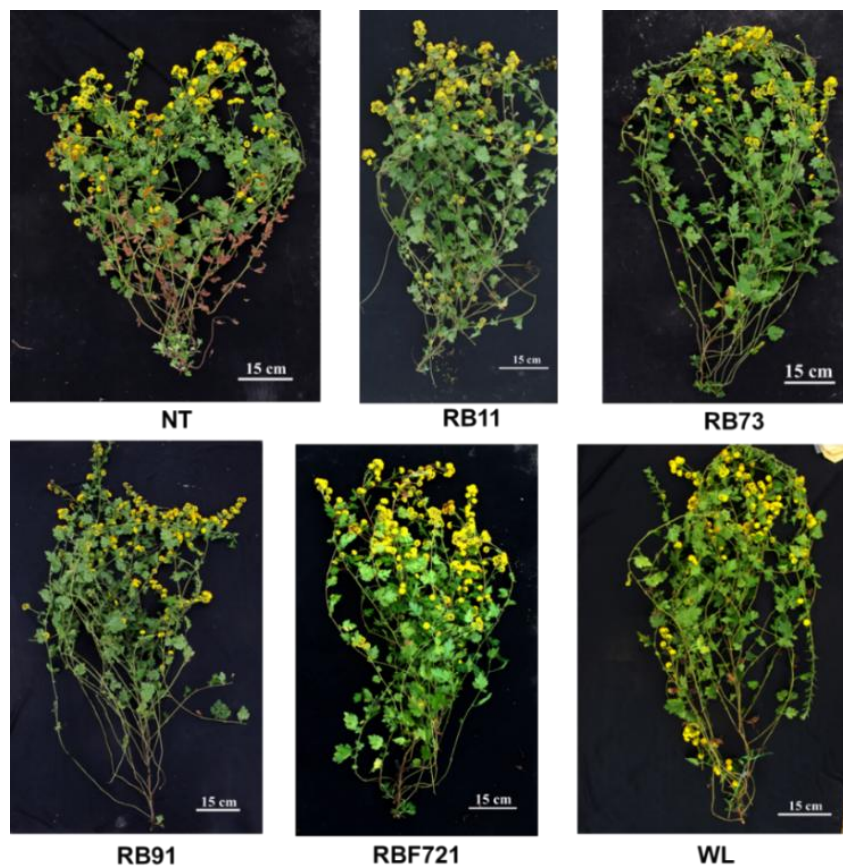
Chú thích: A: Đất phù sa + trấu hun + phân bò ủ hoai mục; B: Đất phù sa, C: Vermiculite + perlite; D: Vermiculite + perlite + peatmoss

3.2. Đánh giá tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến sinh trưởng phát triển và năng suất của cây Cúc hoa vàng

3.2.1. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến sinh trưởng phát triển của cây Cúc hoa vàng

Để nâng cao khả năng sinh trưởng, phát triển và tích lũy hoạt chất của cây Cúc hoa vàng, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của chiếu sáng LED bổ sung kết hợp với ánh sáng tự nhiên đến sinh trưởng phát triển của cây Cúc hoa vàng *in vitro* trồng trong điều kiện nhà lưới.

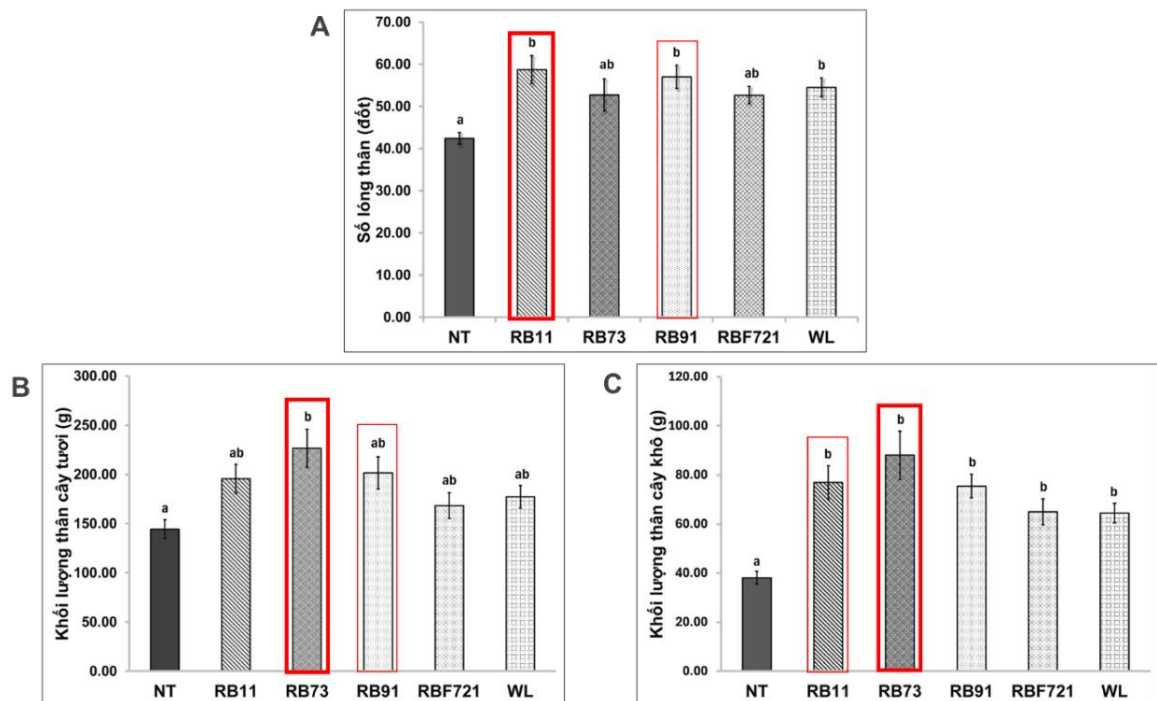
Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.) là cây ngày ngắn, do đó việc chiếu sáng bổ sung trong giai đoạn sinh trưởng ảnh hưởng lớn đến khả năng ra hoa [63], [64]. Trong nghiên cứu này của chúng tôi, cây Cúc hoa vàng thể hiện sự trì hoãn ra hoa ở cả 5 công thức có chiếu sáng LED bổ sung với các tỉ lệ phổ sáng khác nhau bao gồm 50% đỏ : 50% xanh (RB11), 70% đỏ : 30% xanh (RB73), 90% đỏ : 10% xanh (RB91), 70% đỏ : 20% xanh : 10% đỏ xa (RBF721), 100% ánh sáng LED trắng (WL) so với công thức chỉ sử dụng ánh sáng mặt trời. Cụ thể, cây Cúc hoa vàng ở công thức NT (không chiếu sáng bổ sung) bắt đầu ra hoa ở thời điểm 70 ngày sau khi trồng. Trong khi đó, ở các công thức chiếu sáng LED bổ sung, các cây Cúc hoa vàng bắt đầu xuất hiện hoa sau 30 ngày ngắt sáng (tương ứng với hơn 90 ngày sau khi trồng tại nhà lưới).



Hình 3.5: Cây Cúc hoa vàng sinh trưởng trong nhà lưới mùa vụ 2024-2025 dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung

Chú thích: NT: không chiếu sáng bổ sung, RB11: chiếu sáng red:blue=50:50, RB73: chiếu sáng red:blue=70:30, RB91: chiếu sáng red:blue=90:10, RBF721: chiếu sáng red:blue:farred=70:20:10, WL: chiếu sáng LED trắng.

Về số lông thân trong giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng, công thức NT đạt giá trị nhỏ nhất (42,41 lông), trong khi đó, các công thức còn lại đều có số lông thân nhiều hơn so với công thức NT. Đặc biệt, số lông thân cao vượt trội (dao động từ 54,53 - 58,71 lông) được ghi nhận ở 3 công thức chiếu sáng LED bổ sung bao gồm WL, RB91 và RB11 (Hình 3.6). Điều này cho thấy, việc chiếu sáng LED bổ sung đã kéo dài thời gian sinh trưởng sinh dưỡng của cây Cúc hoa vàng, qua đó làm tăng số đốt và số lông so với các cây ở công thức không chiếu sáng LED bổ sung.



Hình 3.6: Các đặc điểm sinh trưởng của Cúc hoa vàng dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung

Chú thích: NT: không chiếu sáng bổ sung, RB11: chiếu sáng red:blue=50:50, RB73: chiếu sáng red:blue=70:30, RB91: chiếu sáng red:blue=90:10, RBF721: chiếu sáng red:blue:farred=70:20:10, WL: chiếu sáng LED trắng; phân tích thống kê được thực hiện theo phương pháp phân tích ANOVA một chiều và kiểm định bằng phép thử Duncan (n=18); Trong mỗi biểu đồ, các chữ cái khác nhau ở trên mỗi cột giá trị thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% trong Duncan.

Cùng với số lông và số đốt nhiều hơn, kết quả nghiên cứu cũng ghi nhận có sự tăng lên về sinh khối giữa cây Cúc hoa vàng ở các công thức có chiếu sáng LED bổ sung so với công thức NT (Hình 3.6B và 3.6C). Cụ thể, giá trị trung bình về khối lượng thân tươi của công thức NT chỉ đạt 144,39 g/cây, trong

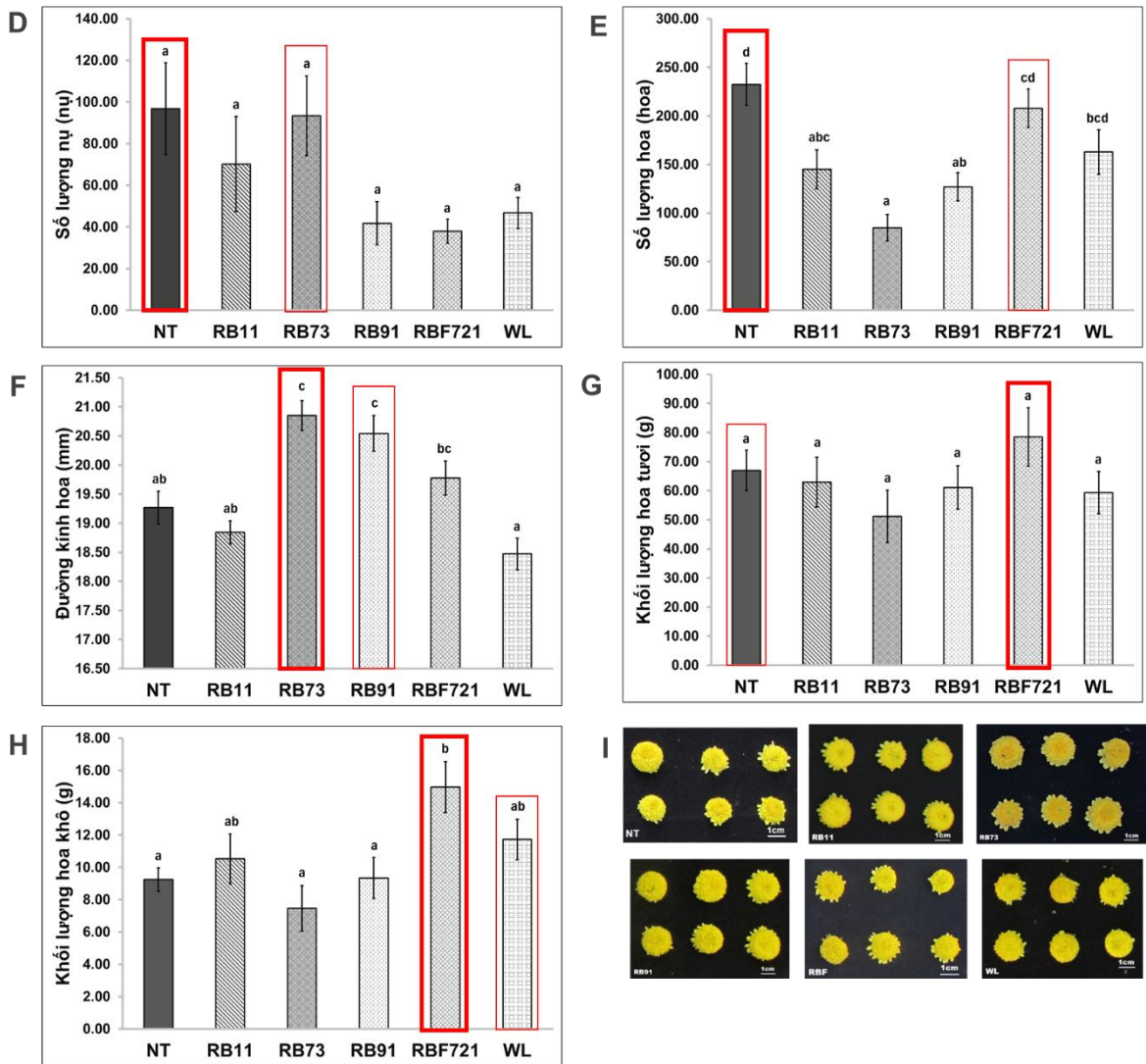
khi ở các công thức chiếu sáng LED bổ sung có giá trị tăng lên đáng kể và đạt khối lượng lớn nhất 226,49 g/cây (với công thức RB73). Tương tự, giá trị sinh khối thân khô ở các công thức RB11, RB73, RB93, RBF721 và WL đều cao hơn so với ở công thức NT. Trong đó, ở công thức RB73 có khối lượng thân khô lớn nhất, với 88,02 g/cây. Như vậy, công thức chiếu sáng LED bổ sung có tỉ lệ phổ sáng 70% đỏ : 30% xanh (RB73) là công thức chiếu sáng tiềm năng trong việc kích thích sinh trưởng, phát triển và nâng cao sinh khối cho cây Cúc hoa vàng trồng trong điều kiện nhà lưới.

Một số nghiên cứu đã công bố trước đây trên một số cây trồng thuộc họ Cúc, như Cúc đại đoá (*Chrysanthemum morifolium*) cũng ghi nhận việc tăng sinh khối của các đối tượng cây trồng này khi được chiếu sáng LED bổ sung. Việc chiếu sáng bổ sung được cho là làm tăng sinh khối cây thông qua sự tăng cường hoạt động của các phytochrome, kéo dài thời gian sinh trưởng sinh dưỡng của cây trồng [62], [63], [39].

3.2.2. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến năng suất hoa của cây Cúc hoa vàng

Cùng với việc đánh giá tác động của việc chiếu sáng LED bổ sung đến sinh trưởng, phát triển của cây Cúc hoa vàng tại nhà lưới, nghiên cứu này cũng phân tích tác động của các dạng chiếu sáng LED bổ sung đến năng suất hoa (Hình 3.7). Kết quả cho thấy, việc chiếu sáng LED bổ sung có ảnh hưởng đáng kể đến số lượng hoa nở và nụ trên cây Cúc hoa vàng. Cụ thể, ở công thức NT, số nụ trên cây là 96,72 nụ và số hoa trên cây đạt 232,44 hoa. Các giá trị này đều thấp hơn ở các công thức chiếu sáng LED khác, bao gồm RB91, RBF721 và WL so với công thức NT.

Kết quả này cho thấy, việc kéo dài thời gian sinh trưởng sinh dưỡng của cây trong các công thức chiếu sáng LED bổ sung đã có tác động rõ rệt đến đến tốc độ hình thành mầm hoa trên thân chính cũng như trên các nhánh bên của cây Cúc hoa vàng. Đây là một điểm cần tiếp tục theo dõi và tối ưu chế độ chiếu sáng LED bổ sung nhằm tăng cường sinh trưởng, sinh khối cây Cúc hoa vàng, đồng thời đảm bảo tính ra hoa tập trung của đối tượng cây trồng này.



Hình 3.7: Đặc điểm năng suất của cây Cúc hoa vàng dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung

Chú thích: NT: không chiếu sáng bổ sung, RB11: chiếu sáng red:blue=50:50, RB73: chiếu sáng red:blue=70:30, RB91: chiếu sáng red:blue=90:10, RBF721: chiếu sáng red:blue:farred=70:20:10, WL: chiếu sáng LED trắng; phân tích thống kê được thực hiện theo phương pháp phân tích ANOVA một chiều và kiểm định bằng phép thử Duncan ($n=18$); Trong mỗi biểu đồ, các chữ cái khác nhau ở trên mỗi cột giá trị thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% trong Duncan.

Bên cạnh việc thay đổi về số nụ, số hoa trên cây, chúng tôi cũng ghi nhận sự thay đổi về đường kính hoa của cây Cúc hoa vàng giữa công thức chiếu sáng LED bổ sung và công thức đối chứng (Hình 3.7F). Cụ thể công thức RB73, RB91 và RBF721 là ba công thức có giá trị trung bình về đường kính hoa lớn nhất (lần lượt đạt giá là 20,85 mm, 20,54 mm và 19,78 mm), trong khi công thức đối chứng đạt là 19,27 mm/bông.

Mặc dù vậy, tổng khối lượng hoa trên một cây có xu hướng tăng ở một số công thức chiếu sáng LED bổ sung so với công thức đối chứng. Cụ thể, công thức chiếu sáng RBF721 đạt giá trị trung bình về tổng khối lượng hoa tươi lớn nhất (đạt 78,44 g/cây), đứng thứ hai là công thức đối chứng (đạt 66,97 g/cây). Ngoài ra, khảo sát giá trị trung bình của tổng khối lượng hoa khô có sự vượt trội hoàn toàn giữa các công thức có chiếu sáng LED bao gồm RBF721, WL, RB11, RB91 so với công thức NT (đối chứng). Trong khi đó, chỉ tiêu này tăng lên đáng kể ở ba công thức RBF721, WL và RB11. Đáng chú ý, các cây Cúc hoa vàng ở công thức RBF721 có tổng khối lượng hoa tươi và hoa khô cao hơn so với công thức NT (đối chứng) và các công thức chiếu sáng LED bổ sung còn lại.

Dựa trên các kết quả thu được, công thức chiếu sáng LED RBF721 (70% đỏ : 20% xanh : 10% đỏ xa) được lựa chọn làm công thức thích hợp nhất cho tăng năng suất hoa ở cây Cúc hoa vàng trồng trong điều kiện nhà lưới.

3.3. Phân tích tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến hoạt động quang hợp và tích lũy hợp chất thứ cấp của cây Cúc hoa vàng

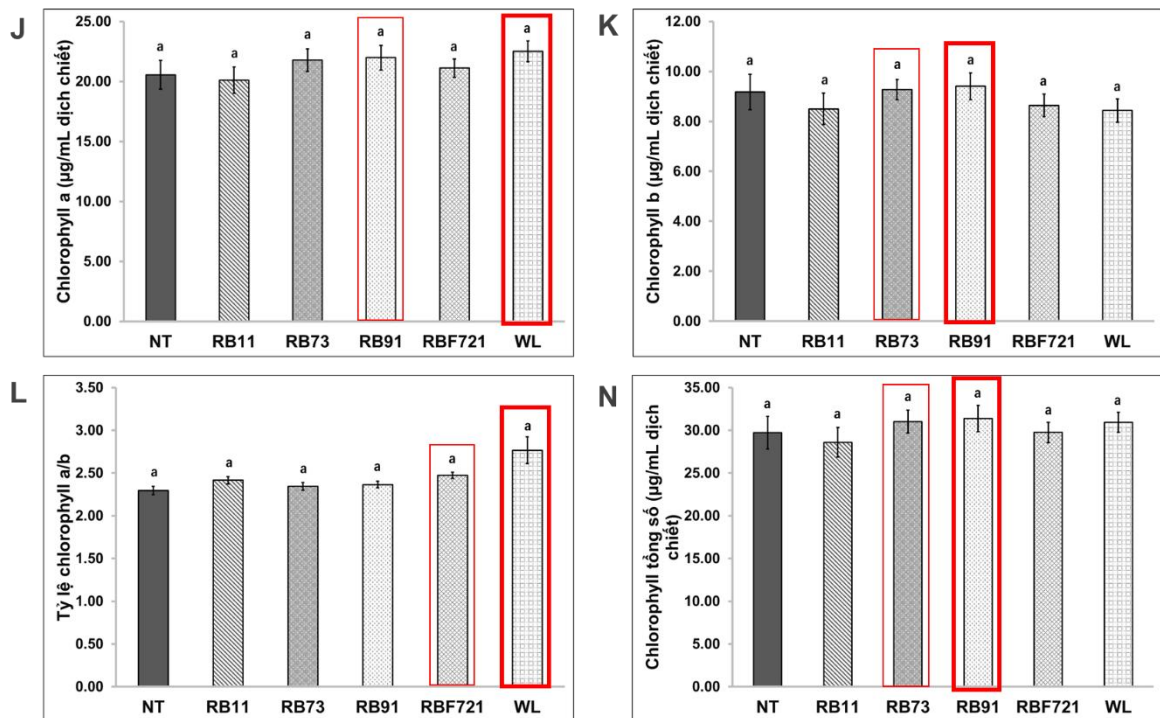
3.3.1. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến một số chỉ tiêu quang hợp của cây Cúc hoa vàng

Nhiều nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng, chất lượng ánh sáng có mối tương quan với thành phần sắc tố lá [64]. Để khảo sát tác động của chiếu các tỉ lệ phổ sáng LED khác nhau đến hoạt động quang hợp của cây Cúc hoa vàng, một thí nghiệm đã được thực hiện bằng việc khảo sát chỉ tiêu sắc tố quang hợp (như chlorophyll a, b) trong cây Cúc hoa vàng (Hình 3.8).

Kết quả Hình 3.8 cho thấy, các công thức chiếu bổ sung phổ sáng WL (100% LED trắng), RB91 (90% đỏ : 10 % xanh), RBF721 (70% đỏ : 20% xanh : 10% đỏ xa), RB73 (70% đỏ : 30% xanh) có giá trị trung bình về hàm lượng chlorophyll a (chla), chlorophyll b (chlb), chlorophyll tổng số, và tỷ lệ chlorophyll a/b lớn hơn so với công thức NT (đối chứng). Đặc biệt WL và RB91 là hai công thức đạt giá trị lớn nhất so với công thức NT và các công thức còn lại.

Tuy nhiên, phân tích thống kê cho thấy, chưa có sự sai khác có ý nghĩa thống kê về hàm lượng chla, chlb, chlorophyll tổng số, tỷ lệ chlorophyll a/b

giữa các công thức thí nghiệm. Điều này chứng minh rằng, các công thức chiếu sáng LED bổ sung chưa có ảnh hưởng nhiều đến khả năng tích lũy hàm lượng chla, chl_b, chlorophyll tổng số và tỷ lệ chlorophyll a/b so với các cây trồng ở công thức NT (đối chứng). Ghi nhận này cho thấy, cần tiếp tục theo dõi đánh giá thêm một số tỉ lệ phổ sáng khác và thời gian chiếu sáng khác để thu được thêm kết quả đa dạng hơn.



Hình 3.8: Thành phần sắc tố trên lá của cây Cúc hoa vàng dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung

Chú thích: NT: không chiếu sáng bổ sung, RB11: chiếu sáng red:blue=50:50, RB73: chiếu sáng red:blue=70:30, RB91: chiếu sáng red:blue=90:10, RBF721: chiếu sáng red:blue:farred=70:20:10, WL: chiếu sáng LED trắng; phân tích thống kê được thực hiện theo phương pháp phân tích ANOVA một chiều và kiểm định bằng phép thử Duncan ($n=18$); Trong mỗi biểu đồ, các chữ cái khác nhau ở trên mỗi cột giá trị thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% trong Duncan.

Trong một số nghiên cứu trước đây của Kitajima và đồng tác giả (2003) [64], Evans (1989) [65], Hikosaka và cộng sự (1995) [66] cho thấy, tỉ lệ chlorophyll a/b có tương quan thuận với hàm lượng nitơ trong mô lá. Ngoài ra, sự gia tăng của giá trị này cũng làm tăng cường hiệu suất quang hợp cây trồng, từ đó giúp làm tăng sinh khối. Kết quả tìm được trong nghiên cứu của các nhóm tác giả này cũng có sự tương đồng với kết quả đã ghi nhận được trong việc tăng

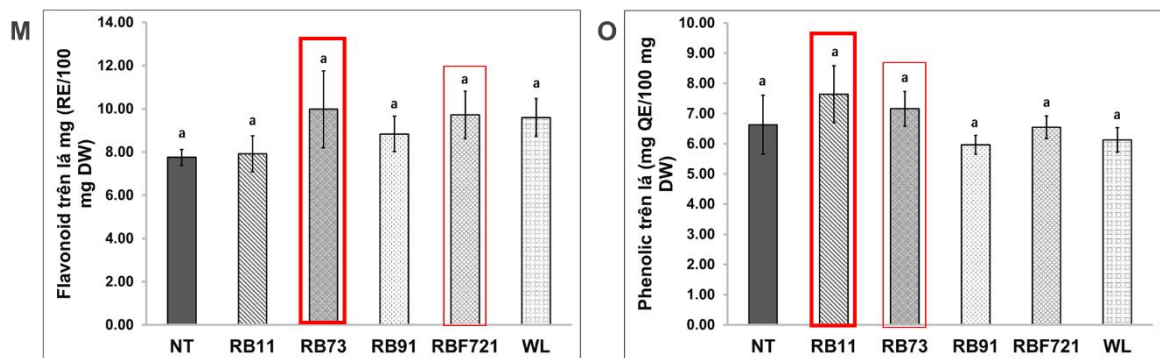
lên về sinh khối ở các công thức chiếu sáng LED bổ sung so với công thức đối chứng (Hình 3.6).

Như vậy trong nghiên cứu này, WL (100% LED trắng), RB91 (90% đỏ : 10 % xanh) là hai công thức phù hợp nhất cho tích lũy hàm lượng sắc tố quang hợp cây Cúc hoa vàng.

3.3.2. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến tích lũy một số hợp chất thứ cấp của cây Cúc hoa vàng

Tích lũy một số hợp chất sinh học trên lá:

Bên cạnh việc tác động tới thành phần diệp lục, các công thức chiếu sáng LED bổ sung khác nhau trong nghiên cứu này cũng khẳng định có ảnh hưởng đến khả năng tích lũy một số hợp chất thứ cấp (flavonoid, phenolic) trên lá của cây Cúc hoa vàng (Hình 3.9).



Hình 3.9: Hàm lượng các hợp chất thứ cấp trong lá cây Cúc hoa vàng dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung

chiếu sáng LED bổ sung

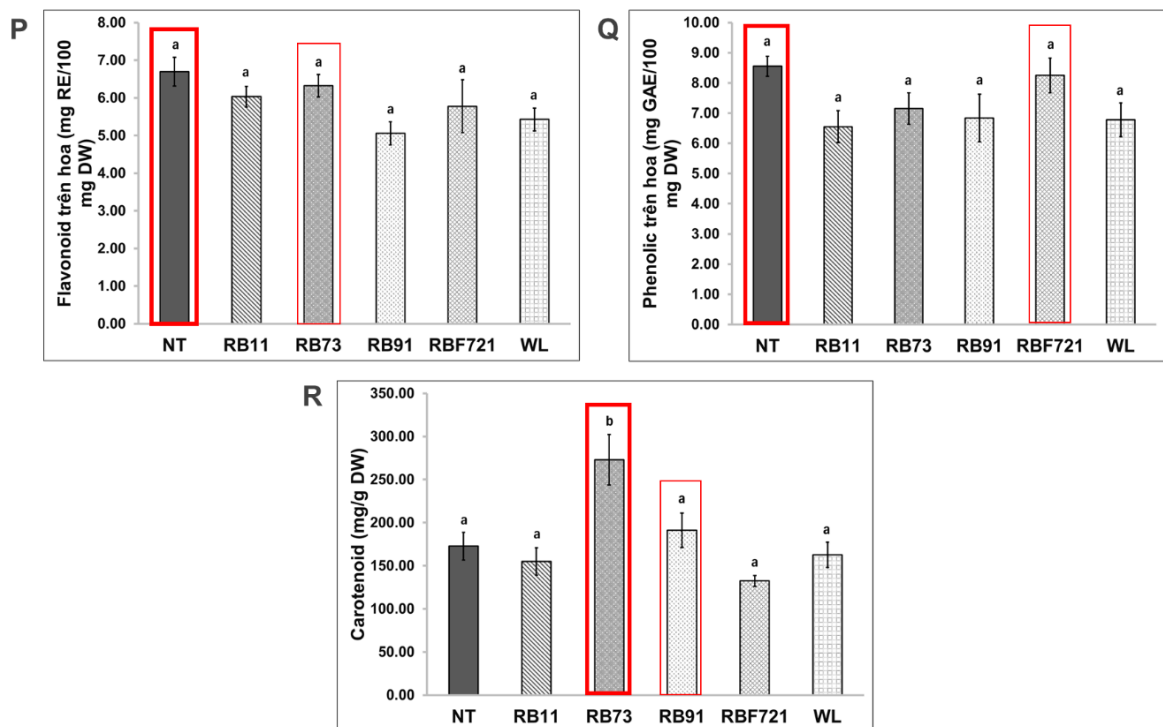
Chú thích: NT: không chiếu sáng bổ sung, RB11: chiếu sáng red:blue=50:50, RB73: chiếu sáng red:blue=70:30, RB91: chiếu sáng red:blue=90:10, RBF721: chiếu sáng red:blue:farred=70:20:10, WL: chiếu sáng LED trắng; phân tích thống kê được thực hiện theo phương pháp phân tích ANOVA một chiều và kiểm định bằng phép thử Duncan (n=18); Trong mỗi biểu đồ, các chữ cái khác nhau ở trên mỗi cột giá trị thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% trong Duncan.

Trong nghiên cứu này, hàm lượng flavonoid và phenolic của lá cây Cúc hoa vàng đều có xu hướng tăng lên ở các công thức có chiếu sáng LED bổ sung so với công thức NT, mặc dù không có sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê. Cụ thể, hàm lượng flavonoid dao động từ 7,91 tới 9,97 mgRE/100 mg DW

ở các công thức chiếu sáng LED bổ sung. Còn ở công thức NT (đối chứng) chỉ đạt 7,75 mgRE/100 mg DW. Tương tự, nghiên cứu này cũng ghi nhận không có sự khác nhau mang ý nghĩa thống kê về hàm lượng phenolic trong các công thức chiếu sáng LED bổ sung (dao động từ 5,96 tới 7,63 mg GAE/100 mg DW), so với ở công thức đối chứng (đạt 6,62 mg GAE/100 mg DW). Tuy nhiên, chỉ tiêu này có xu hướng cao hơn ở công thức chiếu sáng bổ sung RB11 và RB73.

Tích lũy một số hợp chất sinh học trên hoa:

Kết quả khảo sát khả năng tích lũy một số hợp chất sinh học trên hoa cây Cúc hoa vàng gồm flavonoid, phenolic, carotenoid được ghi nhận tại Hình 3.10.



Hình 3.10: Hàm lượng một số nhóm hợp chất thứ cấp trên cánh hoa Cúc hoa vàng dưới các điều kiện chiếu sáng LED bổ sung

Chú thích: NT: không chiếu sáng bổ sung, RB11: chiếu sáng red:blue=50:50, RB73: chiếu sáng red:blue=70:30, RB91: chiếu sáng red:blue=90:10, RBF721: chiếu sáng red:blue:farred=70:20:10, WL: chiếu sáng LED trắng; phân tích thống kê được thực hiện theo phương pháp phân tích ANOVA một chiều và kiểm định bằng phép thử Duncan (n=18); Trong mỗi biểu đồ, các chữ cái khác nhau ở trên mỗi cột giá trị thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% trong Duncan.

Kết quả Hình 3.10 cho thấy, hàm lượng flavonoid và phenolic trên cánh hoa của cây Cúc hoa vàng cũng không có sự khác biệt thống kê giữa các công

thức chiếu sáng LED bổ sung và công thức NT (đối chứng). Ở đây hàm lượng flavonoid và phenolic trên cánh hoa ở 5 công thức chiếu sáng LED bổ sung đều có xu hướng giảm. Cụ thể, hàm lượng flavonoid ở công thức NT đạt 6,69 mg RE/100 mg DW, còn năm công thức chiếu sáng LED bổ sung đều có giá trị hàm lượng thấp hơn và dao động từ 5,06 - 6,32 mg RE/100 mg DW. Tương tự, hàm lượng phenolic trên hoa ở công thức đối chứng đạt 8,55 mg GAE/100 mg DW, còn năm công thức chiếu sáng LED bổ sung có giá trị dao động từ 6,55 tới 8,25 mg GAE/100 mg DW, so với công thức đối chứng là 8,55 mg GAE/100 mg DW.

Ngoài ra khi phân tích hóa sinh, kết quả cũng cho thấy, không có sự khác nhau đáng kể với chỉ tiêu hàm lượng carotenoid trên cánh hoa của công thức NT với các công thức chiếu sáng LED bổ sung, ngoại trừ 2 công thức RB73 và RB91 (Hình 3.10R). Cụ thể, hàm lượng carotenoid trong cánh hoa đạt 273,02 mg/g DW ở công thức RB73, và đạt 191,25 mg/g DW ở công thức RB91. Trong khi đó, giá trị này chỉ dao động từ 132,51 - 172,65 mg/g DW ở công thức NT cũng như các công thức chiếu sáng bổ sung còn lại.

Các nghiên cứu trước đây trên cây trồng họ Cúc chỉ ra rằng, màu sắc hoa được quyết định chủ yếu thông qua hàm lượng carotenoid tổng số trên hoa [67], [68]. Trong nghiên cứu này, việc quan sát bằng mắt thường không nhận thấy có sự khác biệt về màu sắc hoa của cây Cúc hoa vàng trong các công thức chiếu sáng LED bổ sung so với công thức NT (Hình 3.7I) mặc dù hàm lượng một số sắc tố được ghi nhận có sự tăng lên ở một số công thức thí nghiệm.

Với các kết quả phân tích nêu trên, công thức chiếu sáng bổ sung RB73 là công thức phù hợp cho sinh trưởng, phát triển và khả năng tích lũy flavonoid và phenolic ở lá cây Cúc hoa vàng. Trong khi đó, 2 công thức RB73 và RB91 thích hợp cho việc tích lũy carotenoid ở cánh hoa Cúc hoa vàng.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

- Đã đánh giá và lựa chọn được một số điều kiện phù hợp và hiệu quả trong nhân giống *in vitro* cây Cúc hoa vàng phục vụ sản xuất, bao gồm việc sử dụng chiếu sáng LED trắng 2000 lux, môi trường nhân nhanh chồi MS30 bổ sung thêm tổ hợp BAP nồng độ 0,4 mg/L với kinetin nồng độ 0,1 mg/L, môi trường tạo rễ ½ MS bổ sung đường sucrose nồng độ 30 g/L, dùng vermiculite + perlite làm giá thể ra ngôi cây ;

- Đánh giá và lựa chọn được các công thức chiếu sáng LED bổ sung đều có tác dụng tăng số lóng thân, tăng sinh khối cây. Trong đó, công thức có tỉ lệ phổ chiếu sáng là 70% ánh sáng đỏ : 30% ánh sáng xanh (RB73) thể hiện tính ưu việt và hiệu quả. Các công thức có tỉ lệ phổ chiếu sáng 70% ánh sáng đỏ : 20% ánh sáng xanh : 10% ánh sáng đỏ xa (RB721), 50% ánh sáng đỏ : 50% ánh sáng xanh (RB11), 100% ánh sáng LED trắng (WL) đều có tác dụng tăng năng suất hoa, đặc biệt ở công thức RBF721.

- Kết quả phân tích cho thấy, chiếu sáng LED bổ sung ít có tác động tới các chỉ tiêu sinh lý sinh hóa trong cây Cúc hoa vàng (thể hiện ở chla và chl_b không khác biệt giữa sáu công thức). Thêm vào đó, chiếu sáng LED bổ sung cũng không có ảnh hưởng lớn tới tích lũy flavonoid, phenolic ở lá và hoa.

2. Kiến nghị

Tiếp tục tối ưu và hoàn thiện chế độ chiếu sáng LED bổ sung giúp tăng cường năng suất và hàm lượng các hoạt chất sinh học trong cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.).

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Võ Văn Chi, 2021, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Tập 1-2, NXB Y học, Hà Nội.
- [2]. Phan Xuân Huyền, Trương Ngọc Thảo Vy, Nguyễn Thị Phụng Hoàng, Nguyễn Thị Thanh Hằng, Đinh Văn Khiêm, 2021, Nghiên cứu nhân giống *in vitro* và sự sinh trưởng, phát triển *ex vitro* cây hoa cúc chi (*Chrysanthemum indicum* L.) tại Đà Lạt – Lâm Đồng, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 19(1), pp. 175-184.
- [3]. Ahmad N., Abbasi B.H., Fazal H., Khan M.A., Afridi M.S., 2014, Effect of reverse photoperiod on *in vitro* regeneration and piperine production in *Piper nigrum* L., *Comptes Rendus Biologies*, 337(1), pp. 19-28.
- [4]. Gupta S.D., Jatothu B., 2013, Fundamentals and application of light - emitting diodes (LEDs) in invitro plant growth and morphogenesis, *Plant Biotechnol Rep*, 7, pp. pp. 211-220.
- [5]. Tewolde F.T., Shiina N., Lu K., Maruo T., Takagaki M., Kozai T., Yamori W., 2016, Nighttime Supplemental LED Inte-lighting Improves Growth and Yield of Single-Truss Tomatoes by Enhacing Photosynthesis in Both Winter and Summer, *Front, Plant Sci*, 7, pp. 448.
- [6]. Stutte W.G., 2009, Light-emitting diodes for manipulating the phytochrome apparatus, *Hortscience*, 44, pp. 231-234.
- [7]. Tamulaitis G., Duchovskis P., Bliznikas Z., Breivė K., Ulinskaitė R., Brazaitytė A., Novičkovas A., Žukauskas A., 2005, High power light-emitting diode based facility for plant cultivation, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 38, pp. 3182-3187.
- [8]. Hayashi E., 2016, *Current Status of Commercial Plant Factories with LED Lighting Market in Asia, Europe, and Other Regions*, In: Hayashi E., In: Kozai T., Fujiwara K., Runkle E.S., (Editors). *LED Lighting for Urban Agriculture*, Springer Science + Business Medi Singapore, pp. 295-308.
- [9]. Phan Ngọc Nhi, Nguyễn Thị Kiều Khuyên, Trần Thanh Hậu, Võ Thị Bích Thủy, Trần Thị Ba, 2018, Ảnh hưởng của quang phổ đèn LED đến sự sinh trưởng và năng suất xà lách thủy canh, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 8, pp. 199-205.

- [10].Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thương Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Thu, Nguyễn Tập, Trần Đoàn, 2006, Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập 1-2, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [11].Lê Kim Biên, 2007, *Thực vật chí Việt Nam Quyển 7 - Họ Cúc (Asteraceae)*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 746 trang.
- [12].Zafarullah A., Ilyas S., Naz S., Aslam F., Manzoor F., 2013, Effect of culture media and growth regulators on *In vitro* propagation of *Chrysanthemum indicum* L., *Pakistan Journal of Science*, 65(4), pp. 462-466.
- [13].Rout G.R., Das P., 1997, Recent trends in the biotechnology of *Chrysanthemum*: A critical review, *Scientia Horticulturae*, 69(55), pp. 239–257.
- [14].Kumar R.K., Singh K.P., Raju D.V.S., 2015, Effect of Different Strains of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) on Macro and Micro Nutrient Uptake in Micropropagated *Chrysanthemum* Plantlets, *Vegetos*, 28(2), pp. 47–54.
- [15].Miler N., Iwona J., Jakubowski S., Winiecki J., 2021, Ovaries of *Chrysanthemum irradiated* with high energy photons and high-energy electrons can regenerate plants with novel traits, *Agronomy journal*, 11(6), pp. 1111; DOI: 10.3390/agronomy11061111.
- [16].Catalano C., Carra A., Carimi F., Motisi A., Abbate L., Sarno M., Carrubba A., 2022, Long-Term Field Evaluation of Conventional vs. Micropropagated Plants of *Chrysanthemum cinerariifolium*, *Agronomy*, 12(11), pp. 2756; DOI: 10.3390/agronomy12112756.
- [17].Hesami M., Naderi R., Tohidfar M., Miler N., Iwona J., Jakubowsk S., Winiecki J., Hesami M., Naderi R., Tohidfar M., 2014, Effects of Growth Regulators and Genotypes on *Pyrethrum in vitro*, *Sci. Hortic.*, 8(162–166).

- [18].Lim K.B., Kwon S.J., Lee S.I., Hwang Y.J., Naing A.H., 2012, Influence of Genotype, Explant Source, and Gelling Agent on *in vitro* Shoot Regeneration of Chrysanthemum, *Hortic. Environ. Biotechnol*, 53, pp. 329–335.
- [19].Naing A.H., Il Park K., Chung M.Y., Lim K.B., Kim C.K., 2016, Optimization of Factors Affecting Efficient Shoot Regeneration in Chrysanthemum Cv. Shinma, *Brazilian Journal of Botany*, 39, pp. 975–984.
- [20].Murgayanti S.E., Wiemy R.H., Rustiani S., 2010, Callus Formation and Plant Regeneration of Chrysanthemum Leaf Disks Explants through *in vitro*, *International Seminar on Horticulture Supporting Food Security*, 4, pp. 22-23.
- [21].Rivai R.R., Helmanto H., 2015, Callus Induction of *Chrysanthemum indicum* for Increasing Genetic Diversity from Somatic Cell, *Prosiding of the Seminar Nasional, Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1(1), pp. 167–170.
- [22].Shinoyama H., Nomura Y., Tsuchiya T., Kazuma T., 2004, A Simple and Efficient Method for Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Leaves of Chrysanthemum [*Dendranthema* × *Grandiflorum* (Ramat.) Kitamura], *Plant Biotechnology*, 21(1), pp. 25–33.
- [23].Kereša S., Mihovilović A., Barić M., Židovec V., Skelin M., 2012, The Micropropagation of Chrysanthemums via Axillary Shoot Proliferation and Highly Efficient Plant Regeneration by Somatic Embryogenesis, *African Journal of Biotechnology*, 11(22), pp. 6027-6033.
- [24].Imtiaz M., Khattak A.M., Khan M.A., Jalal F., Hussain S., Said F., Bo H., 2019, Rapid in-Vitro Propagation of Chrysanthemum morifolium through Shoot Bud Explants, *Pakistan Journal of Botany*, 51(3), pp. 1093–1098.
- [25].Lindiro C., Kahia J., Asiimwe T., Mushimiyimana I., Waweru B., Kouassi M., Koffi E., Kone S., Sallah P.Y., 2013, *In vitro* Regeneration of Pyrethrum (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) Plantlets from Nodal Explants of *in vitro* Raised Plantlets, *International Journal of Application or Innovation in Engineering and Management (IJAIEEM)*, 2(7), pp. 207–213.

- [26].Valero-Aracama C., Kane M.E., Wilson S.B., Vu J.C., Anderson J., Philman N.L., 2006, Photosynthetic and Carbohydrate Status of Easy-and Difficult-to-Acclimatize Sea Oats (*Uniola Paniculata* L.) Genotypes during *in vittro* Culture and Ex Vitro Acclimatization, *Journal of In vittro Cellular Developmental Biology Plant*, 42, pp. 572–583.
- [27].Nahid J.S., Shyamali S., Kazumi H., 2007, High frequency shoot regeneration from petal explants of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *in vittro*, *Pakistan Journal of Biological Sciences (PJBS)*, 10(19), pp. 3356-3361. doi: 10.3923/pjbs.2007.3356.3361.
- [28].Kulpa D., 2011, Plant regeneration in inflorescence culture of *Chrysanthemum* (*Dendranthema*× *grandiflora* (Ramat.) Kitamura), *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9(1), pp. 715-718.
- [29].Tymoszuk A., Zalewska M., Lema-Rumińska J., 2014, Regeneration of somatic embryos from *in vittro* isolated ligulate florets of *Chrysanthemum*, *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 13(4), pp. 13-22.
- [30].Alsoufi A.S., Ahmed Z.S., Salim A.M., 2021, The efficiency of interaction between cytokines and Auxins in Micropropagation of *Chrysanthemum* plant (*Chrysanthemum indicum* L.), *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 735(1), pp. 012048; DOI:10.1088/1755-1315/735/1/012048.
- [31].Yang J., Song J., Jeong B.R., 2022a, Lighting from top and side enhances photosynthesis and plant performance by improving light usage efficiency, *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), pp. 02448; DOI: 10.3390/ijms23052448.
- [32].Yang J., Song J., Jeong B.R., 2022b, The flowering of SDP chrysanthemum in response to intensity of supplemental or night-interruptional blue light is modulated by both photosynthetic carbon assimilation and photoreceptor-mediated regulation, *Frontiers in Plant Science*, 13, pp. 981143; DOI: 10.3389/fpls.2022.981143.
- [33].Shen H., Guo Q., Fang H., 2011, Impact of different colored shade polyethylene and maturation on development of flavonoids and phenolic

- acids in flowers of *Chrysanthemum indicum* L., *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(29), pp. 6555-6563.
- [34]. Rahman M.M., Vasiliev M., Alameh K., 2021, LED Illumination spectrum manipulation for increasing the yield of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.), *Plants*, 10(2), pp. 344; DOI: [10.3390/plants10020344](https://doi.org/10.3390/plants10020344).
- [35]. Al Murad M., Razi K., Jeong B.R., Samy P.M.A., Muneer S., 2021, Light emitting diodes (LEDs) as agricultural lighting: Impact and its potential on improving physiology, flowering, and secondary metabolites of crops, *Sustainability*, 13(4), pp. 1985; DOI: [10.3390/su13041985](https://doi.org/10.3390/su13041985).
- [36]. Suarez-Lopez P., Wheatley K., Robson F., Onouchi H., Valverde F., Coupland G., 2021, Constans mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*, *Nature*, 410, pp. 1116–1120.
- [37]. Yoshida H., Hikosaka S., Goto E., Takasuna H., Kudou T., 2012, Effects of light quality and light period on flowering of everbearing strawberry in a closed plant production system, *Acta Horticulturae*, 956, pp. 107–112.
- [38]. Sumitomo K., Higuchi Y., Aoki K., Miyamae H., Oda A., Ishiwata M., Yamada M., Nakayama M., Hisamatsu T., 2012, Spectral sensitivity of flowering and FT-like gene expression in response to night break light treatments in the *chrysanthemum* cultivar, Reagan, *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 87, pp. 461–469.
- [39]. Nissim-Levi A., Kitron M., Nishri Y., Ovadia R., Forer I., Oren-Shamir M., 2019, Effects of blue and red LED lights on growth and flowering of *Chrysanthemum morifolium*, *Scientia Horticulturae*, 254, pp. 77–83.
- [40]. Bavrina T.V., Lozhnikova V.N., Culafić S., Zhivanovich B., 2002, Flowering of cultivated green and SAN 9789-treated *Chenopodium rubrum* plants exposed to white, blue and red light, *Russian Journal of Plant Physiology*, 49, pp. 516–520.
- [41]. Yang J., Jeong B.R., 2021, Side lighting enhances morphophysiology by inducing more branching and flowering in *chrysanthemum* grown in control LED environment, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), pp. 12019; DOI: [10.3390/ijms222112019](https://doi.org/10.3390/ijms222112019).

- [42].Phạm Hồng Dương, Dương Thị Giang, 2014, *GPHI 2031 - Đèn LED đỡ dùng chiếu sáng vườn cây thanh long*, Cục sở hữu trí tuệ, Hà Nội.
- [43].Phan Hồng Khôi, 2021, *Nghiên cứu phát triển và triển khai ứng dụng các mô hình chiếu sáng điều khiển quang chu kỳ bằng đèn LED chuyên dụng nhằm nâng cao hiệu quả sản xuất hoa cúc thương mại tại khu vực Tây Nguyên*, Báo cáo tổng kết nhiệm vụ khoa học công nghệ TN18/C08 thuộc Chương trình Tây Nguyên 2016-2020.
- [44].Phạm Hồng Dương, Trần Quốc Tiến, Chu Hoàng Hà, 2018, *GPHI 1716 - Quy trình điều khiển thời điểm ra hoa của cây hoa cúc bằng hệ thống đèn điốt phát quang*, Cục sở hữu trí tuệ, Hà Nội.
- [45].Ngô Văn Quyền, Kim Tuấn Anh, Nguyễn Đoàn Thăng, Nguyễn Văn Trinh, 2021, *GPHI-00137 - Đèn LED chuyên dụng chiếu sáng cho cây dưa lưới*, Cục sở hữu trí tuệ, Hà Nội.
- [46].Do Thi Gam, Phan Hong Khoi, Pham Bich Ngoc, Ly Khanh Linh, Nguyen Khac Hung, Phan Thi Lan Anh, Nguyen Thi Thu, Nguyen Thi Thu Hien, Tran Dang Khanh, Chu Hoang Ha, 2020, LED lights promote growth and flavonoid accumulation of *Anoectochilus roxburghii* and are linked to the enhanced expression of several related genes, *Plants*, 9(10), pp. 1344; DOI: [10.3390/plants9101344](https://doi.org/10.3390/plants9101344).
- [47].Dương Tấn Nhật, Nguyễn Bá Nam, Hoàng Thanh Tùng, 2020, Hệ thống Wpt-Lp: giải pháp mới nâng cao hiệu quả vi nhân giống cây trồng, *Khoa học công nghệ và đổi mới sáng tạo*, 6, pp. 38-40.
- [48].Đoàn Ngọc Hân, Nguyễn Thị Lý Anh, Nguyễn Thị Thanh Phương, Nguyễn Văn Trinh, 2019, Ảnh hưởng của ánh sáng LED, chất kích ứng đến sinh trưởng và hoạt tính chống oxy hóa của callus cà gai leo (*Solanum hainanese*), *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 17(1), pp. 64-70.
- [49].Đỗ Thị Gấm, Dương Hương Quỳnh, Phan Thị Lan Anh, Nguyễn Hoàng Dương, Đỗ Thị Kim Hoa, 2019, Đánh giá ảnh hưởng của ánh sáng LED nông nghiệp đến quá trình nuôi cấy *in vitro* nấm đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* (Link.) Fries, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 17(3), pp. 473-481.

- [50]. Ha Thi Thu Chu, Thi Nghiem Vu, Thuy Thi Thu Dinh, Phat Tien Do, Ha Hoang Chu, Tran Quoc Tien, Quang Cong Tong, Manh Hieu Nguyen, Quyen Thi Ha, Setzer. W.N., 2022, Effects of Supplemental Light Spectra on the Composition, Production and Antimicrobial Activity of *Ocimum basilicum* L., Essential Oil, *Journal of Molecules*, 27(17), pp. 5599. DOI: 10.3390/molecules27175599.
- [51]. Murashige T., Skoog F., 1962, A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures, *Journal of Plant Physiology*, 15, pp. 473-497.
- [52]. Kashif W., Khan M.Q., Jaffar J., Khan M.S., 2007, Impact of Different Auxins on the Regeneration of Chrysanthemum (*Dendranthema morifolium*) through *in vitro* Shoot Tip Culture, *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 20, pp. 51–57.
- [53]. Harbur M.L., Moore K., Mowers R., Merrick L., Mahama A.A., 2023, *Randomized Complete Block Design*, In Suza W. P., Lamkey K. R. (Eds.), Quantitative Methods, Iowa State University Digital Press.
- [54]. Senthilkumar M., Amaresan N., Sankaranarayanan A., *Determination of Chlorophyll*, In book: *Plant-Microbe Interactions, Springer Protocols Handbooks*. 2021, Humana Press: New York. pp. 145-146.
- [55]. Neatpatiparn A., Junyaprasert VB., Thirapanmethee K., Teeranachaideekul V., 2025, Phytoconstituent analysis, bioactivity and safety evaluation of various colors of Chrysanthemum morifolium flower extracts for cosmetic application, *Sci Rep*, 15, pp.4073; DOI:10.1038/s41598-025-88590-4.
- [56]. Jiaojiao Z., Fen W., Kuanbo L., 2018, Heat and light stresses affect metabolite production in the fruit body of the medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 102, pp. 4523–4533. DOI:10.1007/s00253-018-8899-3.
- [57]. IBM Corp, 2011, *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0*, IBM Corp.

- [58].Liao M., Pu Y., Wu X., Ma C., Wang W., Dai S., 2023, Establishment of regeneration system of *Chrysanthemum indicum* in Pingtan with various ligulate floret form, *Chinese Bulletin of Botany*, 58(3), pp. 449-460.
- [59].Ghimire B.K., Kim S.H., Yu C.Y., Chung I.M., 2022, Biochemical and physiological changes during early adventitious root formation in *Chrysanthemum indicum* Linné cuttings, *Plants Journal*, 11(11), pp. 1440; DOI: 10.3390/plants11111440
- [60].Phạm Thị Minh Phượng, Trịnh Thị Mai Dung, Nguyễn Thế Hùng, 2011, Nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể đến sinh trưởng, phát triển và chất lượng hoa Cúc vạn thọ lùn (*Tagete patula* L.) trồng chậu, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 2(14), pp. 139-144.
- [61].Phan Xuân Huyền, Huỳnh Thị Ngoan, Nguyễn Thị Phượng Hoàng, 2017, Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây sâm bô chính (*Hibicus sagittifolius* Kurz) thông qua nuôi cấy đốt thân, *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 15(5), pp. 664-672.
- [62].Kim D., Son J.E., 2022, Adding Far-Red to Red, Blue Supplemental Light-Emitting Diode Interlighting Improved Sweet Pepper Yield but Attenuated Carotenoid Content, *Journal of Plant Science*, 13, pp. 1-12.
- [63].Meng Q., Runkle E.S., 2019, Regulation of flowering by green light depends on its photon flux density and involves cryptochromes, *Journal of Plant Physiology*, 166(3), pp. 762–771.
- [64].Kitajima K., Hogan K.P., 2003, Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light, *Plant, Cell and Environment*, 26(6), pp. 857–865.
- [65].Evans J.R., 1989, Partitioning of nitrogen between and withinleaves grown under different irradiances, *Australian Journal of Plant Physiology*, 16, pp. 533–548.
- [66].Hikosaka K., Terashima I., 1995, A model of the acclimation of photosynthesis in the leaves of C3 plants to sun and shade with respect to nitrogen use, *Plant, Cell and Environment*, 18, pp. 605–618.

- [67]. Sams C.E., Kopsell D., Morrow R.C., 2016, Light quality impacts on growth, flowering, mineral uptake and petal pigmentation of marigold, *International Society for Horticultural Science*, 1134, pp. 139–146.
- [68]. Zhang H., Zhang S., Zhang H., Chen X., Liang F., Qin H., Zhang Y., Cong R., Xin H., Zhang Z., 2020, Carotenoid metabolite and transcriptome dynamics underlying flower color in marigold (*Tagetes erecta* L.), *Scientific Reports*, 10(1), pp. 1–11.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

Nguyễn Thị Thu Hiền, Nguyễn Hồng Nhung, Đinh Thị Thảo, Chu Thị Thu Hà, Vũ Thị Nghiêm, Chu Hoàng Hà, Đỗ Tiến Phát (2025), Nghiên cứu một số điều kiện nuôi cấy nhằm nâng cao hiệu quả nhân nhanh *in vittro* cây Cúc hoa vàng, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*, 230(13), pp:410 – 417.

ASSESS SEVERAL CONDITIONS TO ENHANCE THE *IN VITRO* PROPAGATION EFFICACY OF *Chrysanthemum indicum* L.

Nguyen Thi Thu Hien^{1,2,5}, Nguyen Hong Nhung¹, Dinh Thi Thao¹,
Chu Thi Thu Ha³, Vu Thi Nghiem⁴, Chu Hoang Ha^{1,2}, Do Tien Phat^{1,2*}

¹Institute of Biotechnology – VAST, ²Graduate University of Science and Technology (GUST) – VAST

³Institute of Ecology and Biological Resources – VAST, ⁴Institute of Materials Science – VAST, ⁵Thuyloi University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 11/3/2025	<i>Chrysanthemum indicum</i> L., belonging to the <i>Chrysanthemum</i> genus, is a medicinal plant widely cultivated for pharmaceutical applications. The common method for propagating this plant is through terminal stem cuttings, but it is insufficient to meet the current cultivation demand. In this study, we optimized conditions for enhancing the <i>in vitro</i> propagation efficacy of <i>C. indicum</i> in Vietnam. The results showed that using the white LED condition with a light intensity of 2000 lux was suitable for the shoot growth of <i>C. indicum</i> under the <i>in vitro</i> condition. The MS medium supplemented with 0.4 mg/L BAP and 0.1 mg/L Kinetin was sufficient for shoot multiplication of <i>C. indicum</i> . The highest shoot number/explant reached 9.51 on the 30th day on the shoot induction medium. Furthermore, the suitable medium for <i>in vitro</i> rooting of <i>C. indicum</i> was ½ MS salts with 30 g/L sucrose. The substrate combining vermiculite and perlite in a ratio of 1:1 was the most suitable for the <i>in vitro</i> plant accumulation, with a survival rate of 100%. This study provides potential results for further research to optimize and establish a sufficient procedure for <i>in vitro</i> propagation of <i>C. indicum</i> .
Revised: 13/8/2025	
Published: 13/8/2025	
KEYWORDS	
<i>Chrysanthemum indicum</i> L.	
<i>In vitro</i> propagation	
LED	
Light intensity	
Murashige and Skoog	

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY NHẪM NÂNG CAO HIỆU QUẢ NHÂN NHANH *IN VITRO* CÂY CÚC HOA VÀNG (*Chrysanthemum indicum* L.)

Nguyễn Thị Thu Hiền^{1,2,5}, Nguyễn Hồng Nhung¹, Đinh Thị Thảo¹,
Chu Thị Thu Hà³, Vũ Thị Nghiễm⁴, Chu Hoàng Hà^{1,2}, Đỗ Tiến Phát^{1,2*}

¹Viện Công nghệ sinh học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, ²Học viện Khoa học và Công nghệ – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, ³Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, ⁴Viện Khoa học vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, ⁵Trường Đại học Thủy lợi

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 11/3/2025	Cúc hoa vàng (<i>Chrysanthemum indicum</i> L.) là một loài thực vật thuộc chi Cúc có tiềm năng khai thác trong công nghiệp dược phẩm. Giám hom thông qua thân ngầm đang được sử dụng phổ biến để nhân giống cúc hoa vàng, tuy nhiên phương pháp này chưa đáp ứng được nhu cầu về cây giống trong sản xuất hiện nay. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tối ưu một số điều kiện nhằm nâng cao hiệu quả nhân nhanh <i>in vitro</i> cây cúc hoa vàng tại Việt Nam. Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong quá trình nhân nhanh <i>in vitro</i> , sử dụng ánh sáng LED trắng ở cường độ 2000 lux là thích hợp cho sinh trưởng của chồi cây cúc hoa vàng <i>in vitro</i> . Môi trường Murashige and Skoog bổ sung 0,4 mg/L 6-benzylaminopurine kết hợp 0,1 mg/L kinetin phù hợp cho giai đoạn nhân nhanh với hệ số nhân đạt 9,51 chồi/mẫu cây sau 30 ngày nuôi cấy. Thêm vào đó, môi trường ½ Murashige and Skoog với 30 g/L sucrose mang lại hiệu quả tạo rễ tốt nhất cho cây cúc hoa vàng <i>in vitro</i> . Giá thể kết hợp giữa vermiculite và perlite ở tỉ lệ 1:1 mang lại hiệu quả cao trong giai đoạn thích nghi và ra ngôi cây cúc hoa vàng nuôi cấy mô với tỉ lệ cây sống đạt 100%. Các kết quả này là cơ sở để hoàn thiện qui trình nhân giống <i>in vitro</i> cây cúc hoa vàng và tạo nguồn cây giống chất lượng phục vụ sản xuất.
Ngày hoàn thiện: 13/8/2025	
Ngày đăng: 13/8/2025	
TỪ KHÓA	
<i>Chrysanthemum indicum</i> L.	
Nhân giống <i>in vitro</i>	
Ánh sáng LED	
Cường độ chiếu sáng	
Môi trường Murashige and Skoog	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.12273>

* Corresponding author. Email: dtphat@ib.ac.vn

1. Giới thiệu

Cây cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.) có nhiều tác dụng dược lý như: kháng khuẩn, chống oxy hoá... Loài cây này có tiềm năng để phát triển như nguồn thuốc từ thảo dược [1]. Hiện nay, cúc hoa vàng chủ yếu được nhân giống dựa vào các phương pháp truyền thống (giâm hom thông qua thân ngầm và đoạn cành) với hệ số nhân giống thấp, chất lượng cây giống không đồng đều, phụ thuộc nhiều vào thời vụ, đồng thời tiềm ẩn nguy cơ lây nhiễm nguồn bệnh và đặc biệt là hiện tượng thoái hóa giống. Điều này dẫn đến tăng chi phí và giảm hiệu quả sản xuất với người nông dân [2]. Kỹ thuật nuôi cấy mô thực vật được xem là giải pháp hiệu quả để khắc phục các hạn chế của phương pháp nhân giống truyền thống, đồng thời có thể tạo ra số lượng lớn cây giống với độ đồng đều cao từ một nguồn chọn lọc ban đầu. Ngoài ra, nhân giống cúc thông qua nuôi cấy mô còn giúp tạo ra nguồn cây giống sạch bệnh và giảm thiểu khả năng thoái hóa giống [3] - [5]. Do vậy, phương pháp này đã được ứng dụng rộng rãi và thành công trong việc tạo cây con trên các giống cúc phục vụ sản xuất ở quy mô công nghiệp tại nhiều quốc gia trên thế giới. Tuy nhiên, quá trình nhân giống *in vitro* loại cây này cũng gặp không ít trở ngại bởi phản ứng khác nhau giữa các giống, các nguyên liệu dùng trong nuôi cấy.

Gần đây, một số thành công trong nuôi cấy *in vitro* cúc hoa vàng đã được công bố trên thế giới. Cụ thể, Zafarullah và cộng sự [6] đã tiến hành đánh giá tác động của tổ hợp các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau tới các giai đoạn nuôi cấy *in vitro* cây cúc hoa vàng và đã lựa chọn được môi trường tối ưu cho cảm ứng tạo đa chồi và môi trường ra rễ. Alsoufi và cộng sự [1] đã sử dụng đốt thân có chứa mầm ngủ để xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây cúc hoa vàng và đã lựa chọn được môi trường tạo đa chồi, môi trường ra rễ thích hợp. Ở Việt Nam, Phan Xuân Huyền và cộng sự [7] đã tiến hành thử nghiệm các chất điều hòa sinh trưởng trong việc nhân nhanh, tạo rễ và tạo cây cúc hoa vàng *in vitro*. Tuy nhiên, hệ số nhân giống cúc hoa vàng trong nghiên cứu này còn rất thấp, quy trình nhân giống cần tiếp tục nghiên cứu tối ưu và hoàn thiện để có thể áp dụng trong tạo nguồn giống nuôi cấy mô phục vụ sản xuất ở nước ta trong thời gian tới.

Các nghiên cứu trước đây cho thấy, ánh sáng là yếu tố có ảnh hưởng lớn tới hiệu quả nhân giống *in vitro* của nhiều đối tượng cây trồng, trong đó có cây thuộc chi cúc (*Chrysanthemum*) [8] - [10]. Mặc dù vậy, các nghiên cứu về cường độ chiếu sáng trên cây cúc hoa vàng vẫn chưa được tiếp cận và đánh giá. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiếp tục tối ưu một số điều kiện về ánh sáng cũng như các yếu tố môi trường nuôi cấy nhằm nâng cao hiệu quả nhân nhanh *in vitro* cây cúc hoa vàng tại Việt Nam. Thêm vào đó, các yếu tố liên quan tới khả năng ra rễ, chất lượng cây giống cũng như giá thể ra ngôi cũng được khảo sát và lựa chọn. Kết quả nghiên cứu này sẽ bổ sung thông tin giá trị cho việc hoàn thiện và ứng dụng quy trình nhân giống cây cúc hoa vàng thông qua nuôi cấy mô phục vụ các hướng nghiên cứu tiếp theo cũng như ứng dụng trong sản xuất loại cây được liệt kê này ở nước ta.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.) sạch bệnh được lưu giữ *in vitro* tại phòng Công nghệ tế bào thực vật – Viện Công nghệ sinh học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Môi trường Murashige and Skoog pH = 5,8 (MS) [11] và các chất điều hòa sinh trưởng được sử dụng trong chuẩn bị môi trường nuôi cấy trong nghiên cứu này để tối ưu các điều kiện nhân nhanh *in vitro* cây cúc hoa vàng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng

Để đánh giá ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến sinh trưởng của các chồi cúc hoa vàng *in vitro*, hệ thống đèn LED trắng với các cường độ chiếu sáng khác nhau bao gồm 500 lux (CT1);

1000 lux (CT2); 2000 lux (CT3); 3000 lux (CT4) và 4000 lux (CT5) tương ứng với các mật độ chiếu sáng khác nhau (Bảng 1) được thiết lập tại phòng Công nghệ tế bào thực vật. Các đoạn mang hai đốt thân (1,5 cm) được cấy trên môi trường MS bổ sung 30 g/L sucrose và đặt dưới các cường độ chiếu sáng khác nhau ở nhiệt độ $24 \pm 1-2^\circ\text{C}$, quang chu kỳ 16 giờ sáng/8 giờ tối. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm số đốt trung bình, chiều cao chồi và đường kính chồi sẽ được thu thập sau 2 tuần nuôi cấy.

2.2.2. Lựa chọn môi trường nhân nhanh chồi *in vitro*

Những đốt thân cây cúc hoa vàng *in vitro* được cấy trên môi trường MS [11], pH 5,8 có chứa 30 g/L sucrose, 8 g/L agar và bổ sung các tổ hợp 0 - 0,4 mg/L 6-benzylaminopurine (BAP) và 0 - 0,1 mg/L kinetin (Bảng 2). Mỗi công thức môi trường được thử nghiệm với 3 lần lặp trên 25-27 mẫu. Sau 30 ngày nuôi cấy, số lượng chồi/mẫu, hiệu suất chồi/mẫu được thu thập và đánh giá.

2.2.3. Xác định môi trường tạo rễ *in vitro*

Các chồi *in vitro* đồng đều về chiều cao 1,5 cm và có 1-2 cặp lá/chồi được cấy lên các môi trường ra rễ (Bảng 3). Mỗi công thức môi trường được thử nghiệm với 3 lần lặp trên 16 mẫu chồi ngọn *in vitro*. Sau 4 và 6 ngày nuôi cấy, khả năng tạo rễ của các chồi cúc hoa vàng *in vitro* trên các công thức môi trường khác nhau được xác định thông qua một số chỉ tiêu theo dõi gồm tỉ lệ chồi tạo rễ (%), số rễ/chồi, chiều dài rễ.

2.2.4. Lựa chọn giá thể ra cây cúc hoa vàng *in vitro*

Những cây cúc hoa vàng *in vitro* cao khoảng 3 cm và có rễ hoàn chỉnh được ra ngôi trên các hỗn hợp giá thể khác nhau (Bảng 4). Mỗi công thức môi trường được thử nghiệm với 3 lần lặp trên 25 mẫu. Các công thức thí nghiệm được đặt trong buồng sinh trưởng 28°C , chu kỳ chiếu sáng 16 giờ sáng/8 giờ tối và theo dõi sinh trưởng trong 40 ngày thông qua các chỉ tiêu tỉ lệ sống (%), số lá mới, chiều cao cây (cm), chiều dài bộ rễ (cm).

2.2.5. Bố trí thí nghiệm và phân tích kết quả

Điều kiện nuôi cấy *in vitro*: Các thí nghiệm trong nghiên cứu được đặt trong phòng nuôi cấy có cường độ chiếu sáng 2000 lux (ngoại trừ thí nghiệm về cường độ ánh sáng), thời gian chiếu sáng 16 giờ sáng/8 giờ tối ở nhiệt độ $24 - 25^\circ\text{C}$ và độ ẩm không khí 75 - 85%.

Số liệu được thu thập và xử lý bằng chương trình Excel và phần mềm SPSS phiên bản 22.0. Ảnh hưởng của các nhân tố thí nghiệm được kiểm chứng bằng phân tích ANOVA một nhân tố, kiểm tra sự sai khác bằng Duncan's test, $\text{LSD}_{0,05}$, giá trị thể hiện trong bảng kết quả là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các chữ cái theo sau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $\alpha = 0,05$.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng tới sinh trưởng cây cúc hoa vàng *in vitro*

Trong nuôi cấy *in vitro*, ánh sáng được xem là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến hệ số nhân và chất lượng của cây con [8] - [10]. Trên cúc (*Chrysanthemum morifolium*), một số nghiên cứu đã chỉ ra ảnh hưởng của chất lượng ánh sáng đến quá trình nhân giống *in vitro* [12], [13]. Theo đó, nghiên cứu sử dụng đèn LED kết hợp xanh : đỏ : đỏ xa với cường độ chiếu sáng $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ là điều kiện thích hợp cho quá trình tái sinh chồi *Chrysanthemum morifolium* [13]. Nghiên cứu trên *Chrysanthemum* $\times$ *grandiflorum* 'Polka' cũng chỉ ra ánh sáng đa phổ (fluorescent lamp) phù hợp cho sự phát triển của chồi *in vitro* [14]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng đèn LED trắng ở các cường độ chiếu sáng khác nhau để đánh giá sự ảnh hưởng của điều kiện thí nghiệm đến sinh trưởng và hình thái của chồi cúc hoa vàng *in vitro*. Sự thay đổi về hình thái chồi chỉ ghi nhận ở cường độ chiếu sáng thấp 500 lux (tương ứng mật độ chiếu sáng $8,02 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) và không xảy ra ở các cường độ chiếu sáng trên 1000 lux (Hình 1). Số đốt và

chiều cao chồi thấp nhất ở cường độ chiếu sáng 1000 lux ($16,04 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Khi tăng cường độ chiếu sáng, số đốt và chiều cao chồi tăng lên, tuy nhiên chúng tôi không ghi nhận sự khác biệt đáng kể giữa các công thức. Chiều cao lớn nhất của chồi cúc *in vitro* được ghi nhận ở cường độ 2000 lux ($32,07 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) đạt đến 4,27 cm (Bảng 1). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Anželika và cộng sự trên cây cúc [13]. Ngoài ra, không có sự khác biệt về đường kính chồi giữa các cường độ chiếu sáng 1000-4000 lux. Do vậy, sử dụng đèn LED trắng với cường độ chiếu sáng 2000 lux (tương đương mật độ chiếu sáng $32,07 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) là thích hợp cho sinh trưởng của chồi cúc hoa vàng *in vitro*. Đây cũng là nghiên cứu đầu tiên đánh giá ảnh hưởng của cường độ ánh sáng tới hiệu quả nhân giống *in vitro* của cây cúc hoa vàng.

Bảng 1. Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến sinh trưởng cây cúc hoa vàng *in vitro* sau 12 ngày nuôi cấy

Công thức	Cường độ chiếu sáng (lux)	Mật độ chiếu sáng ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Số đốt trung bình (đốt/mẫu)	Chiều cao chồi (cm)	Đường kính chồi (mm)
CT1	500	8,02	$5,93 \pm 1,27^a$	$3,68 \pm 0,89^b$	$0,93 \pm 0,15^a$
CT2	1000	16,04	$5,81 \pm 1,30^a$	$2,58 \pm 0,67^a$	$1,14 \pm 0,19^b$
CT3	2000	32,07	$7,33 \pm 1,01^b$	$4,27 \pm 2,00^b$	$1,22 \pm 0,24^b$
CT4	3000	48,11	$7,64 \pm 1,15^b$	$3,37 \pm 1,09^{ab}$	$1,25 \pm 0,18^b$
CT5	4000	64,15	$7,25 \pm 0,62^b$	$3,30 \pm 1,11^{ab}$	$1,24 \pm 0,08^b$

Chú thích: Các chữ cái theo sau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $\alpha = 0,05$



Hình 1. Chồi cúc hoa vàng *in vitro* sinh trưởng dưới các cường độ chiếu sáng sau 12 ngày nuôi cấy

3.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến hiệu quả nhân nhanh chồi cây cúc hoa vàng *in vitro*

Bảng 2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng nhân đa chồi của Cúc hoa vàng *in vitro* sau 30 ngày nuôi cấy

Công thức	Thành phần môi trường	Số lượng chồi (chồi/mẫu)	Chiều cao chồi (cm)
SM1	MS	$1,00 \pm 0,00^a$	$3,22 \pm 0,25^c$
SM2	MS + 0,4 mg/L BAP	$5,36 \pm 1,06^b$	$0,77 \pm 0,04^a$
SM3	MS + 0,2 mg/L BAP + 0,1 mg/L kinetin	$5,33 \pm 1,67^b$	$0,71 \pm 0,10^a$
SM4	MS + 0,4 mg/L BAP + 0,1 mg/L kinetin	$9,51 \pm 1,32^c$	$0,83 \pm 0,19^a$
SM5	MS + 0,2 mg/L BAP	$3,97 \pm 1,42^b$	$2,19 \pm 0,52^b$

Chú thích: Các chữ cái theo sau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $\alpha = 0,05$

Đối với cây thuộc chi Cúc (*Chrysanthemum*), nhiều nghiên cứu chỉ ra vai trò thúc đẩy khả năng nhân chồi *in vitro* của BAP khi được sử dụng đơn lẻ trong môi trường hoặc cùng với sự có mặt ở nồng độ thấp của kinetin hoặc 1-naphthaleneacetic acid (NAA) [6], [7], [15]. Tăng nồng độ BAP trong môi trường làm tăng số lượng chồi, tuy nhiên sử dụng nồng độ BAP cao trên 0,5 mg/L gây ảnh hưởng đến chất lượng chồi [6], [15]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy sử dụng BAP ở nồng độ thấp đã tác động đến khả năng nhân nhanh chồi cúc hoa vàng *in vitro*. Cụ thể, ở công thức không sử dụng chất điều tiết sinh trưởng (SM1), hệ số nhân chồi là thấp nhất, chỉ đạt trung bình 1 chồi/mẫu cấy, chiều cao chồi đạt giá trị lớn nhất 3,22 cm (Bảng 2). Ngoài ra, toàn bộ các chồi cúc hoa vàng trên môi trường SM1 có hiện tượng phát sinh rễ rất nhanh (Hình 2). Việc phát sinh rễ cũng được ghi nhận đối với công thức SM5 có bổ sung nồng độ thấp BAP (0,2 mg/L). Hệ số nhân chồi cúc hoa vàng tăng nhanh và có biến động lớn ở các tổ hợp chất điều hòa sinh trưởng được thử nghiệm (Bảng 2). Trong đó, số chồi trung bình đạt cao nhất (9,51 chồi/mẫu cấy) trên môi trường SM4 và thấp nhất (3,97 chồi/mẫu cấy) ở môi trường SM5. Trên công thức SM3, số lượng chồi đạt thấp hơn so với trên môi trường SM4, chỉ đạt 5,33 chồi. Kết quả này

tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Văn Việt và cộng sự trên *C. indicum* [15], trong đó, tổ hợp 0,3 mg/L BAP và 0,2 mg/L kinetin tạo ra chồi to, khỏe với số chồi đạt 3,38. Trên môi trường sử dụng đơn lẻ BAP, số chồi chỉ đạt 3,97 khi nồng độ BAP là 0,2 mg/L và tăng lên 5,36 chồi khi nồng độ BAP tăng lên 0,4 mg/L. Nghiên cứu của Zafarullah cũng chỉ ra kết quả tương tự khi sử dụng BAP ở nồng độ 0,5 mg/L [6]. Như vậy, sử dụng đồng thời BAP và kinetin là thích hợp để nhân nhanh chồi cúc hoa vàng *in vitro* có chất lượng tốt.



Hình 2. Các mẫu đa chồi cúc hoa vàng *in vitro* trên các điều kiện môi trường sau 30 ngày nuôi cấy

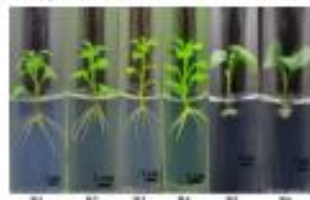
3.3. Ảnh hưởng của thành phần môi trường đến khả năng tạo cây cúc hoa vàng *in vitro* hoàn chỉnh

Một số nghiên cứu đối với nhân giống *in vitro* trên cúc đã chỉ ra rằng không có sự khác biệt về khả năng ra rễ của chồi cúc *in vitro* trên môi trường MS và ½ MS [1], [6], [16]. Đồng thời, trong điều kiện *in vitro*, đường sucrose là nguồn cung cấp carbon chủ yếu cho chồi *in vitro* sinh trưởng, và do đó thay đổi hàm lượng sucrose trong môi trường có thể ảnh hưởng đến khả năng ra rễ của chồi *in vitro* [17]-[19]. Kết quả thu được trong nghiên cứu này cho thấy, hàm lượng đường sucrose trong môi trường nuôi cấy ảnh hưởng tới tốc độ ra rễ của các chồi cúc hoa vàng *in vitro*, trong khi không tác động đến số lượng rễ và chiều dài rễ (Bảng 3). Cụ thể sau 4 ngày trên môi trường tại rễ, công thức R4 có tỉ lệ chồi ra rễ cao nhất đạt 53,47%. Tỉ lệ ra rễ ở các công thức khác sử dụng ½ MS (R2 và R3) và công thức sử dụng MS (R1) không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê. Sau 6 ngày thí nghiệm, chồi nuôi cấy trên tất cả các công thức thí nghiệm đều cho tỉ lệ ra rễ đạt 100%, tỉ lệ số lượng rễ và chiều dài rễ cũng không có sự thay đổi nhiều giữa 3 công thức này. Sự tăng khả năng ra rễ ở các công thức có hàm lượng đường cao hơn có thể do tỷ lệ giữa carbohydrate và nitrogen trong môi trường tăng lên [20].

Bảng 3. Ảnh hưởng của thành phần môi trường đến khả năng ra rễ của *C. indicum in vitro* sau 6 ngày nuôi cấy

Công thức	Thành phần môi trường	Tỉ lệ ra rễ sau 4 ngày (%)	Tỉ lệ ra rễ sau 6 ngày (%)	Số lượng rễ sau 6 ngày (rễ/mẫu cấy)	Chiều dài rễ sau 6 ngày (cm)
R1	MS + 20 g/L sucrose	11,80 ± 0,69 ^a	100 ± 0,00 ^a	6,33 ± 0,57 ^a	3,47 ± 0,25 ^a
R2	½ MS + 20 g/L sucrose	17,36 ± 4,86 ^b	100 ± 0,00 ^a	6,20 ± 0,20 ^a	3,77 ± 0,15 ^b
R3	½ MS + 15 g/L sucrose	11,80 ± 0,69 ^b	100 ± 0,00 ^a	6,46 ± 1,03 ^a	4,03 ± 0,25 ^b
R4	½ MS + 30 g/L sucrose	53,47 ± 9,03 ^c	100 ± 0,00 ^a	6,67 ± 0,31 ^a	3,10 ± 1,31 ^b
R5	½ MS + 20 g/L sucrose + 0,1 mg/L indole-3-butyric acid	0,00 ± 0,00 ^a	100 ± 0,00 ^a	12,77 ± 1,24 ^c	0,80 ± 0,13 ^a
R6	½ MS + 20 g/L sucrose + 0,1 mg/L NAA	0,00 ± 0,00 ^a	100 ± 0,00 ^a	10,32 ± 0,92 ^b	1,13 ± 0,03 ^a

Chú thích: Các chữ cái theo sau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $\alpha = 0,05$



Hình 3. Khả năng phát sinh rễ của cúc hoa vàng *in vitro* trên các điều kiện môi trường sau 6 ngày nuôi cấy

Việc bổ sung chất điều tiết sinh trưởng nhóm auxin như indole-3-butyric acid (IBA), NAA vào môi trường nuôi cấy mô giúp tăng khả năng cảm ứng tạo rễ cũng như số lượng rễ của chồi *C. indicum* [1], [6]. Hàm lượng IBA bổ sung vào môi trường cảm ứng tạo rễ cho *C. indicum* là khác nhau giữa các nghiên cứu. Zafarullah và cộng sự đã chứng minh môi trường MS bổ sung IBA 0,1

mg/L phù hợp để tạo rễ cho chồi cúc *in vitro* [6]. Trong khi đó, Alsoufi và cộng sự [1] chỉ ra rằng môi trường $\frac{1}{2}$ MS bổ sung IBA 1,0 mg/L đạt hiệu quả ra rễ cao nhất. Theo đó, trong nghiên cứu này chúng tôi đã tiến hành khảo sát kết quả tạo rễ *in vitro* cúc hoa vàng trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS bổ sung 0,1 mg/L IBA hoặc 0,1 mg/L NAA. Kết quả cho thấy bổ sung IBA hoặc NAA đều giúp tăng đáng kể số lượng rễ và đạt giá trị lớn nhất với 12,77 rễ/mẫu ở công thức R5 và 10,32 rễ/mẫu ở công thức R6. Tuy nhiên, việc bổ sung chất điều tiết sinh trưởng làm kéo dài thời gian ra rễ so với việc không bổ sung. Cụ thể là, sau 4 ngày nuôi cấy thì chồi sinh trưởng trên môi trường R5 và R6 chưa xuất hiện rễ, trong khi chồi ở các công thức khác đã ra rễ (Bảng 3). Mặt khác, tại cùng một thời điểm quan sát (6 ngày), rễ cây cúc hoa vàng *in vitro* ở hai công thức R5, R6 đều ngắn hơn nhiều (dưới 1,2 cm) so với các công thức không bổ sung chất điều tiết sinh trưởng (Bảng 3 và Hình 3). Nghiên cứu của Zafarullah và Alsoufi đều chỉ ra thời gian tạo rễ cho chồi *C. indicum in vitro* là 4 - 8 tuần [1], [6]. Thêm vào đó, chúng tôi cũng ghi nhận không có sự khác biệt về tỉ lệ sống sau khi ra cây giữa các công thức ra rễ trong điều kiện giá thể tối ưu. Do đó, để đảm bảo hiệu quả kinh tế trong việc ứng dụng quy trình này vào sản xuất, điều kiện ra rễ phù hợp đối với các chồi cúc hoa vàng *in vitro* sau 6 ngày nuôi cấy là môi trường $\frac{1}{2}$ MS bổ sung 30 g/L sucrose.

3.4. Ảnh hưởng của thành phần giá thể tới hiệu quả ra ngôi cây cúc hoa vàng *in vitro*

Bảng 4. Ảnh hưởng của thành phần giá thể đến sinh trưởng, phát triển của *C. indicum* sau 40 ngày nuôi trồng

Công thức	Thành phần giá thể	Tỉ lệ sống (%)	Số lá mới (lá/cây)	Chiều dài rễ (cm)	Chiều cao cây (cm)	Sinh khối tươi (g/cây)
TN1	Đất phù sa + trấu hun + phân bò ủ hoai mục tỉ lệ 3:2:1	80,0	4,76 ± 0,22 ^a	14,85 ± 3,23 ^a	7,06 ± 1,87 ^a	0,87 ± 0,08 ^a
TN2	Đất phù sa	44,0	7,33 ± 0,34 ^a	17,56 ± 6,73 ^a	10,34 ± 2,67 ^b	1,43 ± 0,50 ^b
TN3	Vermiculite + perlite tỉ lệ 1:1	100	4,78 ± 0,49 ^a	22,42 ± 5,25 ^a	5,62 ± 0,55 ^a	0,93 ± 0,16 ^{ab}
TN4	Vermiculite + perlite + peatmoss tỉ lệ 1:1:3	100	6,59 ± 2,60 ^a	15,90 ± 1,52 ^a	6,33 ± 0,72 ^a	0,81 ± 0,04 ^a

Chú thích: Các chữ cái theo sau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $\alpha = 0,05$

Đất bazan, đất mùn, vụn xơ dừa, trấu hun, vermiculite, perlite là những giá thể được sử dụng phổ biến trong ra ngôi cây con ở giai đoạn vườn ươm [3], [4], [7], [21]. Ở Việt Nam, kết quả nghiên cứu về giá thể trồng cây với cúc hoa vàng còn hạn chế, trong đó có nhóm nghiên cứu của Phan Xuân Huyền và cộng sự đã lựa chọn vụn xơ dừa làm giá thể ra ngôi cây cúc hoa vàng nuôi cấy mô ra ngoài vườn ươm, với tỉ lệ sống cao [3]. Ở điều kiện trồng trọt khu vực Đồng bằng Bắc Bộ, chúng tôi tiếp tục thử nghiệm các giá thể ra cây khác bao gồm: đất phù sa phối trộn trấu hun và phân bò ủ hoai mục; đất phù sa không phối trộn; vermiculite phối trộn perlite; vermiculite phối trộn perlite và peatmoss. Kết quả cho thấy, tỉ lệ sống của cây *in vitro* trồng trên giá thể vermiculite + perlite (TN3) và giá thể vermiculite + perlite + peatmoss (TN4) đều đạt 100%, trong khi tỉ lệ này ở điều kiện đất phù sa + trấu hun + phân bò ủ hoai mục (TN1) và đất phù sa (TN2) chỉ đạt tương ứng là 80 và 44% (Bảng 4). Như vậy, hai loại giá thể TN3 và TN4 có khả năng tạo độ thông thoáng hơn so với các loại giá thể còn lại để bộ rễ cây cúc hoa vàng *in vitro* có thể thích nghi và phát triển khi ra ngôi, điều này cũng được ghi nhận trong nghiên cứu trước đây [4]. Trong đó, ở công thức giá thể phối trộn vermiculite + perlite, rễ cây con ra ngôi có khả năng kéo dài tốt hơn với chiều dài rễ là 22,42 cm. Tuy nhiên, đây là các giá thể trợ với hàm lượng dinh dưỡng rất thấp dẫn tới sinh trưởng của cây cúc hoa vàng ở giai đoạn sau sẽ chậm hơn so với giá thể nhiều dinh dưỡng (TN1 và TN2). Do vậy, để đảm bảo tỉ lệ sống cao khi ra cây cúc hoa vàng *in vitro*, chúng tôi khuyến cáo sử dụng giá thể TN3 kết hợp với việc bổ sung thêm dinh dưỡng dạng dung dịch khi cây con đã thích nghi và ra lá mới nhằm kích thích sinh trưởng của cây cúc hoa vàng *in vitro* tại vườn ươm.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã đánh giá và lựa chọn được một số điều kiện phù hợp trong quy trình nhân giống cúc hoa vàng *in vitro* phục vụ định hướng sản xuất. Trong đó, cường độ chiếu sáng LED phù hợp trong nhân giống cúc hoa vàng *in vitro* là 2000 lux (với mật độ quang $32,07 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$); môi trường thích hợp để nhân nhanh cây giống cúc hoa *in vitro* là MS bổ sung 0,4 mg/L BAP và 0,1 mg/L kinetin, với hệ số nhân chồi đạt 9,51 chồi sau 30 ngày nuôi cấy; môi trường $\frac{1}{2}$ MS bổ sung 30 g/L sucrose phù hợp để tạo cây con hoàn chỉnh; giá thể vermiculite kết hợp perlite đảm bảo khả năng thích nghi và sống sót cao khi ra ngôi cây cúc hoa vàng *in vitro* trong điều kiện vườn ươm.

Lời cảm ơn

Kính phí hỗ trợ cho nghiên cứu này từ đề tài “Nghiên cứu ứng dụng tiến bộ công nghệ nuôi cấy mô và chiếu sáng LED nhằm tăng cường sinh trưởng, phát triển và hàm lượng các hoạt chất sinh học của Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.)”; Mã số đề tài: ĐL0000.06/24-26.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] S. M. Alsoufi, Z. S. Ahmed, and A. M. Salim, "The efficiency of interaction between cytokines and auxins in Micropropagation of *Chrysanthemum* plant (*Chrysanthemum indicum* L.)," In *Proc. The 2nd Virtual International Scientific Agricultural Conference*, In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, vol. 735, 2021, Art. no. 012048, doi: 10.1088/1755-1315/735/1/012048.
- [2] G. R. Rout and P. Das, "Recent trends in the biotechnology of *Chrysanthemum*: A critical review," *Scientia Horticulturae*, vol. 69, no. 55, pp. 239–257, 1997.
- [3] C. Catalano, F. Carimi, A. Motisi, L. Abbate, M. Sarno, and A. Carrubba, "Long-Term field evaluation of conventional vs. micropropagated plants of *Chrysanthemum cinerariifolium*," *Agronomy*, vol. 12, no. 11, 2022, doi: 10.3390/agronomy12112756.
- [4] R. K. Kumar, K. P. Singh, and D. V. S. Raju, "Effect of different strains of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on macro and micro nutrient uptake in Micropropagated *Chrysanthemum* Plantlets," *Vegetas*, vol. 28, no. 2, pp. 47–54, 2015.
- [5] N. Miler, J. Iwona, S. Jakubowski, and J. Winiecki, "Ovaries of *Chrysanthemum* irradiated with high-energy photons and high-energy electrons can regenerate plants with novel traits," *Agronomy*, vol. 11, no. 6, 2021, doi: 10.3390/agronomy11061111.
- [6] A. Zafarullah, S. Ilyas, S. Naz, F. Aslam, and F. Manzoor, "Effect of culture media and growth regulators on *In vitro* propagation of *Chrysanthemum Indicum* L.," *Pakistan Journal of Science*, vol. 65, no. 4, pp. 462–466, 2013.
- [7] X. H. Phan, N. T. V. Truong, T. P. H. Nguyen, T. T. H. Nguyen, and V. K. Dinh, "In vitro propagation and growth of ex vitro *chrysanthemum indicum* L. in Da Lat - Lam Dong," (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Biotechnology*, vol. 19, no. 1, pp. 175–184, 2021.
- [8] K. S. Shin, N. M. Hosakatte, J. W. Heo, E. J. Hahn, and K. Y. Paek, "The effect of light quality on the growth and development of *in vitro* cultured doritaenopsis plants," *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 30, no. 3, pp. 339–343, 2008.
- [9] T. G. Do, H. H. Chu, B. N. Pham, K. H. Nguyen, H. K. Phan, T. T. B. Ha, N. C. Nguyen, T. N. Luong, and T. T. B. Nguyen, "Effect of led light on in vitro growth and development of *Anoectochilus roxburghii*," (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Biotechnology*, vol. 15, no. 1, pp. 97–104, 2017.
- [10] N. Ahmad, B. H. Abbasi, H. Fazal, M. A. Khan, and M. S. Afridi, "Effect of reverse photoperiod on *in vitro* regeneration and piperine production in *Piper nigrum* L.," *Comptes Rendus Biologies*, vol. 337, no. 1, pp. 19–28, 2014.
- [11] T. Murashige and F. Skoog, "A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures," *Physiol Plant*, vol. 15, pp. 473–497, 1962.
- [12] V. Cavallaro, A. Pellegrino, R. Muleo, and I. Forgiione, "Light and plant growth regulators on *in vitro* proliferation," *Plants (Basel)*, vol. 11, no. 7, 2022, Art. no. 844.
- [13] K. Anželika, M. C. Renata, D. Stasė, Z. Silva, K. Genadij, T. Gintautas, D. Pavelas, and Z. Artūras, "In vitro culture of *Chrysanthemum* plantlets using light-emitting diodes," *Central European Journal of Biology*, vol. 3, pp. 161–167, 2008.

- [14] N. Miler, D. Kulus, A. Woźny, D. Rymarz, M. Hajzer, K. Wierzbowski, R. Nelke, and L. Szeffs, "Application of wide-spectrum light-emitting diodes in micropropagation of popular ornamental plant species: a study on plant quality and cost reduction," *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, vol. 55, no. 1, pp. 99–108, 2019.
- [15] V. V. Nguyen, "Study on application of thin cell layer culture for in vitro propagation of *Chrysanthemum indicum* L.," (in Vietnamese), *Journal of Forestry Science and Technology*, vol. 5, pp. 37–42, 2017.
- [16] M. Liao, Y. Pu, X. Wu, C. Ma, W. Wang, and S. Dai, "Establishment of regeneration system of *Chrysanthemum indicum* in Pingtan with various ligulate floret form," *Chinese Bulletin of Botany*, vol. 58, no. 3, pp. 449–460, 2023.
- [17] X. T. Nguyen, S. T. Dinh, H. T. Phan, G. T. Dinh, H. T. Nguyen, and S. H. Vu, "Effect of different medium factors on in vitro shoot multiplication of *Polygonatum kingianum*," (in Vietnamese), *Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology*, vol. 7, no. 128, pp. 24–29, 2021.
- [18] S. T. Dinh, H. H. Bui, H. N. Nguyen, T. P. Ninh, N. K. Pham, T. T. T. Dang, T. L. H. Nguyen, and T. H. Nguyen, "Establishment of *in vitro* Propagation Protocol for Baikal Skullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi.)," (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, vol. 19, no. 3, pp. 301–310, 2021.
- [19] N. P. Lam, B. V. Nguyen, and T. T. N. Do, "Effects of light intensity and sucrose concentration in agar gelled MS medium on shoot formation of seedless watermelon (*Citrullus vulgaris* Schard.) *in vitro*," (in Vietnamese), *CTU Journal of Science*, vol. 4, pp. 1–8, 2005.
- [20] H. T. Hartmann, D. E. Kester, F. T. Davies, and R. L. Geneve, *Plant Propagation Principles and Practices*, 7th ed., Perntice Hall. Inc., New Jersey, USA, 2002.
- [21] X. H. Phan, T. N. Huynh, and T. P. H. Nguyen, "Study on *In vitro* propagation of *Hibiscus sagittifolius* Kurz through stem node culture," (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Agriculture Sciences*, vol. 15, no. 5, pp. 664–672, 2017.

PHỤ LỤC

Bảng PL01. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến số lượng và kích thước hoa của cây Cúc hoa vàng

Công thức	Số lượng nụ (nụ)	Số lượng hoa (hoa)	Đường kính hoa (hoa)	Khối lượng hoa tươi (g)	Khối lượng hoa khô (g)
NT	96,72 ± 22,06 ^a	232,44 ± 21,50 ^d	19,27 ± 0,28 ^{ab}	66,97 ± 6,97 ^a	9,24 ± 0,73 ^a
RB11	70,19 ± 22,85 ^a	145,06 ± 20,07 ^{abc}	18,84 ± 0,20 ^{ab}	62,96 ± 8,51 ^a	10,53 ± 1,55 ^{ab}
RB73	93,39 ± 10,09 ^a	84,78 ± 13,52 ^a	20,85 ± 0,26 ^c	51,19 ± 8,99 ^a	7,47 ± 1,41 ^a
RB91	41,76 ± 10,45 ^a	126,94 ± 14,48 ^{ab}	20,54 ± 0,31 ^c	61,03 ± 7,47 ^a	9,34 ± 1,27 ^a
RBF721	37,94 ± 5,78 ^a	207,88 ± 19,84 ^{cd}	19,78 ± 0,29 ^{bc}	78,44 ± 10,06 ^a	14,97 ± 1,58 ^b
WL	46,69 ± 7,47 ^a	162,75 ± 22,80 ^{bcd}	18,47 ± 0,27 ^a	59,34 ± 7,22 ^a	11,72 ± 1,25 ^{ab}

Chú thích: NT- không chiếu sáng bổ sung; RB11- chiếu sáng red:blue=50:50; RB73- chiếu sáng red:blue=70:30; RB91- chiếu sáng red:blue=90:10; RBF721- chiếu sáng red:blue:farred=70:20:10; WL- chiếu sáng LED trắng; phân tích thống kê được thực hiện theo phương pháp phân tích ANOVA một chiều và kiểm định bằng phép thử Duncan (n=18); Trong mỗi cột giá trị, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở p<0,05.

Bảng PL02. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến thành phần sắc tố trên lá của cây Cúc hoa vàng

Công thức	Chl a (µg/g lá tươi)	Chl b (µg/g lá tươi)	Tỉ lệ chl a/b	Chl tổng số (µg/g lá tươi)
NT	20,55 ± 1,20 ^a	9,17 ± 0,71 ^a	2,29 ± 0,05 ^a	29,71 ± 1,90 ^a
RB11	20,11 ± 1,10 ^a	8,50 ± 0,63 ^a	2,41 ± 0,04 ^a	28,60 ± 1,71 ^a
RB73	21,77 ± 0,95 ^a	9,27 ± 0,40 ^a	2,34 ± 0,04 ^a	31,03 ± 1,33 ^a
RB91	21,98 ± 1,03 ^a	9,41 ± 0,53 ^a	2,37 ± 0,04 ^a	31,38 ± 1,56 ^a
RBF721	21,11 ± 0,76 ^a	8,64 ± 0,45 ^a	2,47 ± 0,04 ^a	29,74 ± 1,21 ^a
WL	22,50 ± 0,87 ^a	8,44 ± 0,47 ^a	2,77 ± 0,16 ^a	30,93 ± 1,19 ^a

Chú thích: NT- không chiếu sáng bổ sung; RB11- chiếu sáng red:blue=50:50; RB73- chiếu sáng red:blue=70:30; RB91- chiếu sáng red:blue=90:10; RBF721- chiếu sáng red:blue:farred=70:20:10; WL- chiếu sáng LED trắng; phân tích thống kê được thực hiện theo phương pháp phân tích ANOVA một chiều và kiểm định bằng phép thử Duncan (n=18); Trong mỗi cột giá trị, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở p<0,05.

Bảng PL03. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến tích lũy một số hợp chất thứ cấp trong lá của Cúc hoa vàng

Công thức	Flavonoid trên lá (mgRE/100 mg DW)	Phenolic trên lá (mg GAE/100 mg DW)
NT	7,75 ± 0,36 ^a	6,62 ± 0,98 ^a
RB11	7,91 ± 0,83 ^a	7,63 ± 0,95 ^a
RB73	9,97 ± 1,78 ^a	7,15 ± 0,58 ^a
RB91	8,83 ± 0,82 ^a	5,96 ± 0,31 ^a
RBF721	9,71 ± 1,09 ^a	6,55 ± 0,37 ^a
WL	9,60 ± 0,87 ^a	6,12 ± 0,41 ^a

Chú thích: NT- không chiếu sáng bổ sung; RB11- chiếu sáng red:blue=50:50; RB73- chiếu sáng red:blue=70:30; RB91- chiếu sáng red:blue=90:10; RBF721- chiếu sáng red:blue:farred=70:20:10; WL- chiếu sáng LED trắng; phân tích thống kê được thực hiện theo phương pháp phân tích ANOVA một chiều và kiểm định bằng phép thử Duncan (n=18); Trong mỗi cột giá trị, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở p<0,05.

Bảng PL04. Tác động của chiếu sáng LED bổ sung đến tích lũy một số hợp chất thứ cấp trong hoa của Cúc hoa vàng

Công thức	Flavonoid trên hoa (mgRE/100 mg DW)	Phenolic trên hoa (mg GAE/100 mg DW)	Carotenoid trên hoa (mg/g DW)
NT	6,69 ± 0,38 ^a	8,55 ± 0,33 ^a	172,65 ± 15,99 ^a
RB11	6,03 ± 0,27 ^a	6,55 ± 0,53 ^a	154,76 ± 15,83 ^a
RB73	6,32 ± 0,30 ^a	7,15 ± 0,52 ^a	273,02 ± 29,18 ^b
RB91	5,06 ± 0,30 ^a	6,84 ± 0,79 ^a	191,25 ± 19,87 ^a
RBF721	5,78 ± 0,70 ^a	8,25 ± 0,58 ^a	132,51 ± 6,29 ^a
WL	5,43 ± 0,30 ^a	6,78 ± 0,56 ^a	162,65 ± 14,72 ^a

Chú thích: NT- không chiếu sáng bổ sung; RB11- chiếu sáng red:blue=50:50; RB73- chiếu sáng red:blue=70:30; RB91- chiếu sáng red:blue=90:10; RBF721- chiếu sáng red:blue:farred=70:20:10; WL- chiếu sáng LED trắng; phân tích thống kê được thực hiện theo phương pháp phân tích ANOVA một chiều và kiểm định bằng phép thử Duncan (n=18); Trong mỗi cột giá trị, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở p<0,05.