

EVALUATION OF THE EXPRESSION OF FLOWERING GENES OF CHRYSANTHEMUM FARM (*Chrysanthemum morifolium*) UNDER RED LED ADDITIONAL LIGHTING CONDITION

Hoang Thi Huyen Trang¹, Tran Thi Huyen¹, Nguyen Quang Tru¹, Pham Bich Ngoc^{1*}, Chu Hoang Ha¹, Do Tien Phat¹, Do Thi Gam², Phan Hong Khoi², Nguyen Van Thao², Nguyen Thi Thu², Phan Thi Lan Anh², Nguyen Ba Nam³

¹Institute of Biotechnology - Vietnam Academy of Science and Technology

²Center for High Technology Development - Vietnam Academy of Science and Technology

³High-tech Agricultural Research and Application Institute - Dalat University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 18/5/2021	To prolong the growth period and inhibit the early flowering of commercial chrysanthemums, this study used artificial light sources. In chrysanthemum cultivation, there are two lighting methods: supplemental lighting to prolong the day and flash lighting to break the night. This study helps to select the appropriate light source and additional lighting time to reduce energy costs and increase economic efficiency. Under 660 nm red LED supplement lighting conditions with a lighting time of 1-2 h/night, chrysanthemum plants have the same effect of inhibiting flowering as traditional compact lights. Expression levels of <i>CO</i> , <i>TFL</i> genes were recorded through quantitative RT-PCR with specific primer pairs. In the supplement lighting group, the <i>TFL</i> gene, the gene that inhibits flowering, was expressed 1.27 times more than that, while the expression of <i>CO</i> gene, the gene that induces the buds, was inhibited 0.83 times less than that compared to non-lighting group. This result is a premise for further studies on gene expression evaluation of chrysanthemum varieties in Vietnam.
Revised: 11/6/2021	
Published: 21/6/2021	
KEYWORDS	
Light	
Chrysanthemum Farm	
Gene CO	
Gene TFL	
LED	

ĐÁNH GIÁ SỰ BIỂU HIỆN MỘT SỐ GEN LIÊN QUAN ĐẾN SỰ RA HOA Ở CÂY CÚC FARM (*Chrysanthemum morifolium*) DƯỚI ĐIỀU KIỆN CHIẾU SÁNG BỔ SUNG ÁNH SÁNG LED ĐỎ

Hoàng Thị Huyền Trang¹, Trần Thị Huyền¹, Nguyễn Quang Trữ¹, Phạm Bích Ngọc^{1*}, Chu Hoàng Hà¹, Đỗ Tiên Phát¹, Đỗ Thị Gấm², Phan Hồng Khôi², Nguyễn Văn Thao², Nguyễn Thị Thu², Phan Thị Lan Anh², Nguyễn Bá Nam³

¹Viện Công nghệ sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trung tâm Phát triển công nghệ cao - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Viện nghiên cứu và ứng dụng nông nghiệp công nghệ cao - Trường Đại học Đà Lạt

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 18/5/2021	Đề kéo dài thời gian sinh trưởng và ức chế việc ra hoa sớm của hoa cúc thương phẩm, nghiên cứu đã sử dụng các nguồn sáng nhân tạo. Chiếu sáng trong canh tác hoa cúc, chủ yếu dựa trên hai phương pháp: Chiếu sáng bổ sung kéo dài ngày và dùng ánh sáng để phá đêm. Nghiên cứu này giúp lựa chọn được nguồn sáng và thời gian chiếu sáng bổ sung phù hợp giúp giảm chi phí năng lượng, tăng hiệu quả kinh tế. Dưới điều kiện chiếu sáng LED đỏ 660 nm với thời gian chiếu sáng 1-2 h/1 đêm, cây cúc Farm có được hiệu quả kìm hãm quá trình ra hoa tương đương với đèn compact truyền thống. Mức độ biểu hiện gen <i>CO</i> , <i>TFL</i> được ghi nhận thông qua phản ứng RT-PCR định lượng với các cặp mồi đặc hiệu. Tại nhóm chiếu sáng, gen <i>TFL</i> , gen ức chế quá trình ra hoa có biểu hiện gấp 1,27 lần, trong khi đã gây ức chế sự biểu hiện của gen <i>CO</i> , gen cảm ứng sự hình thành nụ còn 0,83 lần so với đối chứng không chiếu đèn. Kết quả này là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về đánh giá biểu hiện gen của các giống cúc tại Việt Nam.
Ngày hoàn thiện: 11/6/2021	
Ngày đăng: 21/6/2021	
TỪ KHÓA	
Chiếu sáng	
Cúc Farm	
Gen CO	
Gen TFL	
LED	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.4514>

* Corresponding author. Email: pbngoc@ibt.ac.vn

1. Mở đầu

Cúc Farm (gồm Farm vàng, trắng, tím) là loại cây hoa ngày ngắn, sự phân hoá và phát dục của hoa được tác động đồng thời bởi quang chu kỳ và nhiệt độ. Trong quá trình sinh trưởng, phát dục, cần tác dụng phối hợp của độ dài chiếu sáng trong ngày và nhiệt độ ở mức độ nhất định mới để ra hoa, trong đó độ dài chiếu sáng là yếu tố quan trọng hơn, yêu cầu khắt khe hơn. Khi thời gian chiếu sáng kéo dài thì thời gian sinh trưởng của cây hoa cúc dài hơn, thân cao, lá to, chất lượng hoa tăng. Thời gian chiếu sáng ngắn thì sẽ kích thích phân hóa mầm hoa sớm: cây ngắn, chất lượng hoa kém. Thời kỳ để phân hóa mầm hoa tốt nhất là 10 giờ chiếu sáng trên ngày với nhiệt độ là 20 - 25°C. Các phương pháp canh tác cây hoa cúc thường duy trì điều kiện ngày dài ở giai đoạn sinh trưởng của cây, giúp cây đạt chiều cao cây mong muốn trước khi chuyển sang giai đoạn ra hoa [1].

Kỹ thuật phá đêm đang được nghiên cứu ứng dụng ngày một rộng rãi trên nhiều đối tượng thực vật nhằm tăng cường giá trị sản phẩm. Tuy nhiên, có thể thấy rằng nguồn sáng sử dụng trong phá đêm vẫn là một vấn đề cần giải quyết. Bên cạnh đó, mỗi loài cây lại có cơ chế điều khiển quá trình ra hoa khác nhau và yêu cầu những phương án chiếu sáng khác nhau. Vì vậy, việc đánh giá hoạt động của những yếu tố chính kiểm soát quá trình hình thành hoa ở thực vật có thể giúp điều chỉnh và lựa chọn phương án chiếu sáng phù hợp nhất. Quá trình ra hoa chịu sự kiểm soát, điều khiển của nhiều gen và protein chức năng với cơ chế phức tạp. Cho đến nay, cơ chế của quá trình biệt hóa tạo hoa đã và đang dần được làm rõ trên đối tượng cây mô hình *A. thaliana* và một số loài thực vật khác. Các nhóm nghiên cứu đã phát hiện và chứng minh được chức năng của nhiều protein tham gia vào quá trình cảm ứng ra hoa như FT, TFL và COSTANST. Trong tự nhiên, giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng luôn có cơ chế đảm bảo mô phân sinh đỉnh chỉ giữ vai trò duy trì quá trình tăng sinh, không biệt hóa tạo hoa. Một trong những con đường này là dựa trên protein Terminal Flower 1 (TFL1), một protein cạnh tranh với FT và kìm hãm quá trình ra hoa [2]-[4]. Các công bố trước đây đã cho thấy ở thực vật luôn duy trì sự cân bằng của các yếu tố LFY, AP1, FD và TFL1 để đảm bảo quá trình sinh trưởng và quá trình chuyển sang giai đoạn sinh sản là bình thường [5]-[8]. Tuy nhiên, hoạt động của gen FT được điều khiển bởi nhiều yếu tố môi trường, trong đó có ánh sáng, đây là một trong những yếu tố quan trọng đối với quá trình ra hoa phụ thuộc ánh sáng ở thực vật. Ánh sáng có thể điều khiển hoạt động của gen *CO* ở cả mức độ phiên mã và độ bền của protein. Mặc dù những nghiên cứu về hoạt động của gen *CO* trên các đối tượng thực vật ngày ngắn vẫn còn giới hạn, cơ chế này ngày một được làm rõ ở cây dài ngày, một ví dụ điển hình là cây *A. thaliana*. Ở cây *A. thaliana*, các nhà khoa học đã ghi nhận được sự tham gia điều khiển phiên mã gen *CO* của các yếu tố hoạt động theo nhịp sinh học ngày - đêm. Bên cạnh sự tích lũy của mRNA và hàm lượng protein CO vào buổi chiều ở đối tượng cây dài ngày, hoạt động cũng như độ bền của protein đối với ánh sáng cũng quyết định hiệu quả cảm ứng gen mã hóa FT của protein CO vào khoảng thời gian chiều tối [9]. Độ bền của protein CO thay đổi dưới các điều kiện chiếu sáng khác nhau và chất lượng ánh sáng là một yếu tố quan trọng do nó có ảnh hưởng đến hoạt động của protein CO. Protein CO bền hơn dưới ánh sáng xanh và đỏ xa. Ngược lại, độ bền bị suy giảm dưới ánh sáng đỏ và trong điều kiện tối [10].

Trong những năm gần đây, nhóm nghiên cứu Dương Tấn Nhựt và cộng sự đã và đang thực hiện nhiều nghiên cứu khảo sát phản ứng của nhiều loài thực vật có giá trị đối với ánh sáng LED, cũng như khả năng ứng dụng ánh sáng LED trong nhân giống một số loài cây như hoa cúc, Đậu tây, Hồng môn, Sâm Ngọc Linh... [11]-[13]. Bên cạnh đó, còn một số nghiên cứu tại Viện Công nghệ sinh học kết hợp với Trung tâm Phát triển công nghệ cao ứng dụng thành công đèn LED NN vào nhân giống *in vitro* các loại cây trồng có giá trị kinh tế cao tại Tây Nguyên như Sâm dây, cây Lan kim tuyến, cây Cà phê, cây lan Thạch học... [14]-[18]. Những kết quả nghiên cứu về sinh trưởng, sinh lý - sinh hóa và quang hợp trên đã chứng minh rằng những loại cây trên khi nuôi cấy dưới hệ thống đèn LED NN tốt hơn khi so sánh với hệ thống chiếu sáng bằng đèn huỳnh quang. Kết quả đánh giá của Đỗ Thị Gấm và cộng sự (2020) cũng đã cho thấy thành phần tổ hợp các ánh sáng LED đã không những ảnh

hưởng đến sinh trưởng của Lan kim tuyến mà còn ảnh hưởng đến con đường sinh tổng hợp, tích lũy flavonoid trong cây [15].

Dựa trên cơ sở đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá sự biểu hiện một số gen liên quan đến sự ra hoa ở cây cúc farm dưới điều kiện chiếu sáng bổ sung ánh sáng LED đỏ.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu thực vật: Cây cúc Farm khỏe mạnh, có chiều cao đồng đều nhau (8 - 10 cm), không nhiễm nấm, bệnh. Cây cúc được trồng trên luống đất đánh cao 20 - 25 cm; chiều rộng 1,2 m; chiều dài 8 m và khoảng cách cây - cây là 15 cm.

Vật liệu đèn: Các loại đèn LED trong thí nghiệm sử dụng chip LED, công suất đèn 7w là sản phẩm của đề tài mã số TN18/C08 nghiên cứu thiết kế bao gồm: i) Đèn HL 630 7w (ký hiệu HL 630) có bước sóng 550 - 650 nm với đỉnh peak tại 630 nm; ii) Đèn HL 660 7w (HL 660) có bước sóng từ 600 nm đến 700 nm với đỉnh peak tại 660 nm; iii) ĐQ 630 7w (ĐQ 630) có bước sóng từ 600 nm đến 700 nm với đỉnh peak tại 630 nm; iv) ĐQ 660 7w (ĐQ 660) có bước sóng từ 600 nm đến 780 nm với đỉnh peak tại 660 nm; v) Vli 630 7w (Vli 630) có bước sóng từ 600 nm đến 700 nm với đỉnh peak tại 630 nm; vi) Vli 660 7w (Vli 660) có bước sóng từ 600 nm đến 700 nm với đỉnh peak tại 660 nm; Đèn compact 20w (ký hiệu Compact) là loại đèn truyền thống được sử dụng trong chiếu sáng điều khiển quang chu kỳ trên đối tượng hoa cúc tại nhiều khu vực trên toàn quốc làm đối chứng thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Điều kiện xử lý phá đêm

Thí nghiệm được thực hiện tại Viện Nghiên cứu Ứng dụng Nông nghiệp Công nghệ cao, Trường Đại học Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng.

Thời gian thực hiện thí nghiệm: Từ tháng 10/2019 đến tháng 02/2020.

Chúng tôi tiến hành bố trí các thí nghiệm với thời gian chiếu sáng phá đêm 0,5 giờ, 1 giờ và 2 giờ, chiếu sáng bổ sung trong 30 ngày liên tiếp tính từ khi cây bắt đầu bén rễ hồi xanh (sau 7 - 10 ngày trồng) đối với các loại đèn LED và đèn compact (Bảng 1).

Bảng 1. Điều kiện xử lý chiếu sáng

Công thức	Điều kiện xử lý	Thời gian chiếu sáng	Các loại đèn sử dụng
1	0,5 giờ	23.45 - 00.15	1. Đèn LED HL 630, HL 660
2	1 giờ	23.30 - 00.30	2. Đèn LED ĐQ 630, ĐQ 660.
3	2 giờ	23.00 - 01.00	3. Đèn LED Vli 630, Vli 660.
4	ĐC	Đối chứng không chiếu đèn	4. Đèn compact vàng

Phương pháp kiểm tra biểu hiện gen

Áp dụng phương pháp tách Trizol [15],[16] có cải tiến để tách RNA tổng số nhằm đánh giá biểu hiện gen của các mẫu hoa cúc Farm trong các điều kiện chiếu sáng khác nhau. Kiểm tra mẫu RNA thu được trên gel agarose 1%, các mẫu đạt tiêu chuẩn sẽ tiến hành tổng hợp cDNA theo bộ kit RevertAid H Minus Reverse Transcriptase (Thermo Scientific). Sản phẩm của phản ứng này được tiến hành phản ứng RT-PCR với cặp mồi đặc hiệu nhân các gen *CO* và *TFL*.

Phương pháp real-time PCR được thực hiện theo kit SYBGREEN của nhà sản xuất. Thành phần của phản ứng real-time PCR được sử dụng nhân gen Antiflorigenic *TFL* và *CO* theo cặp mồi (3' GCAGCCAGAAGACGTTAACC 5', 5' GAAGATCCTCACAATTAGGCC 3') và (3' CGATGGACTCTATGATGACTTTAC 5', 5' ATAACAAGGGTTTGGTTCGGTTT 3') được thực hiện với hỗn hợp phản ứng 15 µl bao gồm 1 µl cDNA (25 ng/µl); 7 µl H₂O; 7,5 µl SYBR green, 0,5 µl mồi F (50 ng/µl); 0,5 µl mồi R (50 ng/µl). Điều kiện phản ứng như sau: 94°C trong

5 phút; 35 chu kỳ của 94°C 50 giây; 50°C – 60°C (tùy thuộc Tm của môi) 50 giây; 72°C 1 phút 30 giây và bước cuối cùng 72°C trong 5 phút.

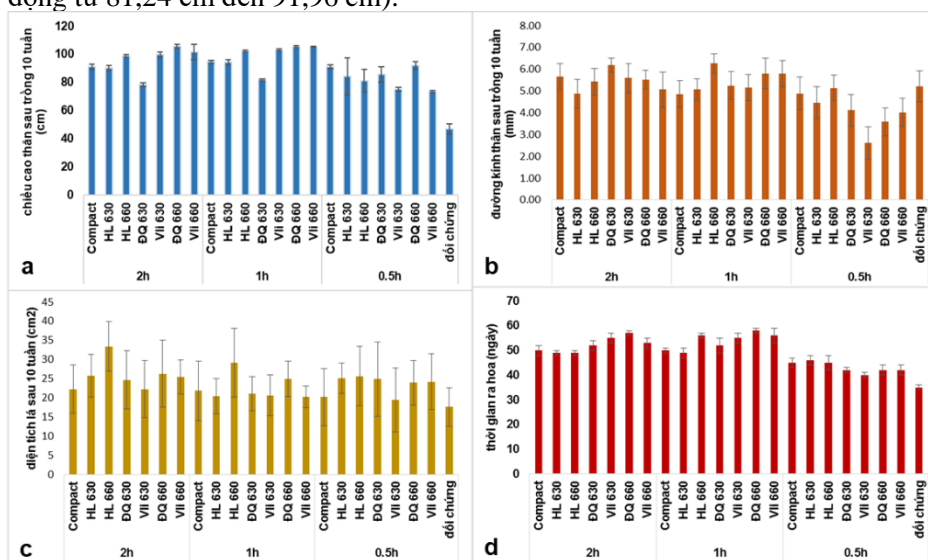
2.3. Xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel theo tham số thống kê. Các giá trị được biểu diễn $\bar{X} \pm \delta$, trong đó: \bar{X} : giá trị trung bình; δ : độ lệch chuẩn

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của phương pháp chiếu sáng phá đêm đến sinh trưởng của cây hoa cúc Farm

Phương pháp chiếu sáng không chỉ ảnh hưởng đến thời gian ra hoa, kích thước nụ hoa, mà còn tác động đến hình thái, chất lượng hoa tạo thành. Qua khảo nghiệm cho thấy, thời gian chiếu sáng có ảnh hưởng lớn đến chiều cao trung bình của cây. Công thức chiếu sáng 30 phút xuất hiện hoa sớm (khoảng 40 đến 46 ngày sau khi trồng, Hình 1) dẫn đến chiều cao cây trung bình (trung bình dao động từ 81,24 cm đến 91,96 cm).



Hình 1. Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng phá đêm đến hình thái của cây cúc Farm: (a) Chiều cao thân, (b) Đường kính thân, (c) Diện tích lá, (d) Thời gian ra hoa

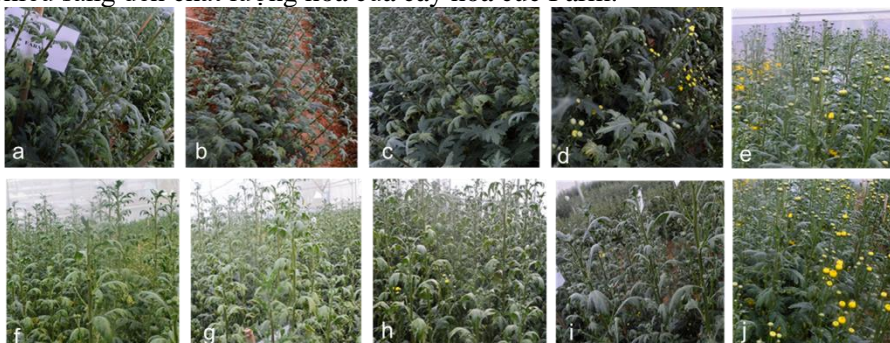
Công thức chiếu sáng 1 giờ cho chiều cao cây lớn nhất (81,78 đến 105,14 cm) (Hình 1a). Tương tự như vậy, với chỉ tiêu đường kính thân ở thời gian chiếu sáng LED 2 giờ là cao nhất trong các điều kiện khảo sát (Hình 1b). Kết quả này cũng đã được Ochiai và cộng sự (2015) ghi nhận khi khảo sát khả năng ứng dụng đèn LED (630 nm, 660 nm, 690 nm và 735 nm) trên 12 giống hoa cúc. Nhóm nghiên cứu chỉ ra, LED 630 nm và 660 nm đều có khả năng kích thích quá trình ra hoa ở các giống hoa cúc khảo sát. Các giống hoa không biệt hóa tạo nụ tại thời điểm 6 tuần sau khi trồng, trong khi hoa cúc trồng dưới đèn LED 690 và 735 nm đều xuất hiện nụ hoa sau khi trồng 3 đến 4 tuần. Chiều cao cây trung bình của các giống cúc dưới điều kiện ánh sáng LED 630 nm đều cao hơn so với các cây sinh trưởng dưới đèn LED 660 nm [18]. Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả của nhóm nghiên cứu tại điều kiện xử lý chiếu sáng bổ sung 1 giờ đối với giống cúc Farm (Hình 2).

Ở các điều kiện xử lý ánh sáng khác nhau cũng ảnh hưởng tới hình thái lá. Kết quả khảo sát cho thấy, mặc dù không có sự sai khác về hình thái lá giữa các thời gian chiếu sáng 1 giờ và 2 giờ, thời gian chiếu sáng 0,5 h có diện tích lá nhỏ nhất trong các lô thí nghiệm (Hình 1c).

Kết quả thu được cho thấy, thời gian chiếu sáng 1 và 2 giờ có sai khác nhưng không đáng kể về thời điểm ra hoa, cũng như hình thái cây, tuy nhiên tại thời điểm 10 tuần sau trồng, chiều cao

cây của các cây sinh trưởng dưới điều kiện chiếu sáng phá đêm 1 giờ dao động 78,28 đến 105,24 cm (Hình 1a) đây là chiều cao gần sát với chiều cao cây hoa cúc thương phẩm tiêu chuẩn.

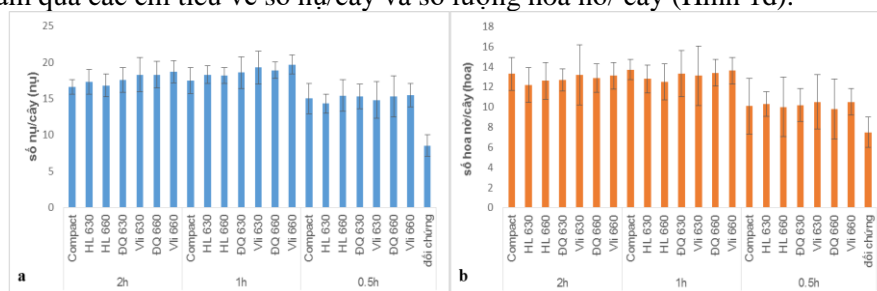
Tác động của thời gian chiếu sáng bổ sung không chỉ ảnh hưởng đến hình thái cây cúc Farm mà còn tác động kéo dài đến giai đoạn ra hoa, nhóm nghiên cứu tiếp tục đánh giá ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng đến chất lượng hoa của cây hoa cúc Farm.



Hình 2. Ảnh hưởng của các kiểu đèn LED đến hình thái của cây hoa cúc Farm khi xử lý chiếu sáng 1 giờ: (a, d) đèn LED HL 630; (b, e) đèn LED HL 660; (c) đèn LED ĐQ 630, (f) đèn LED ĐQ 660; (g) đèn LED Vli 630; (h) đèn LED Vli 660; (i) đèn Compact và (j) ĐC: Lô đối chứng không chiếu đèn

3.2. Ảnh hưởng của phương pháp chiếu sáng phá đêm đến chất lượng hoa của cây hoa cúc Farm

Qua kết quả đánh giá ảnh hưởng của phương pháp chiếu sáng phá đêm đến sinh trưởng của cây cúc thì thời gian chiếu sáng phá đêm 1 giờ và 2 giờ đều có khả năng kìm hãm quá trình ra hoa ở cây hoa cúc Farm. Mặc dù không có sự khác biệt về thời điểm ra hoa giữa hai điều kiện chiếu sáng bổ sung 1 giờ và 2 giờ, kết quả cho thấy thời điểm ra hoa đều chậm hơn so điều kiện chiếu sáng 0,5 giờ từ 10 đến 14 ngày. Đặc biệt, nếu so sánh với lô đối chứng ra hoa tự nhiên, chiếu sáng phá đêm làm chậm quá trình ra hoa từ 20 đến 25 ngày. Phương pháp chiếu sáng không chỉ ảnh hưởng đến thời gian ra hoa của cây hoa cúc Farm mà còn ảnh hưởng đến hình thái hoa thương phẩm qua các chỉ tiêu về số nụ/cây và số lượng hoa nở/cây (Hình 1d).

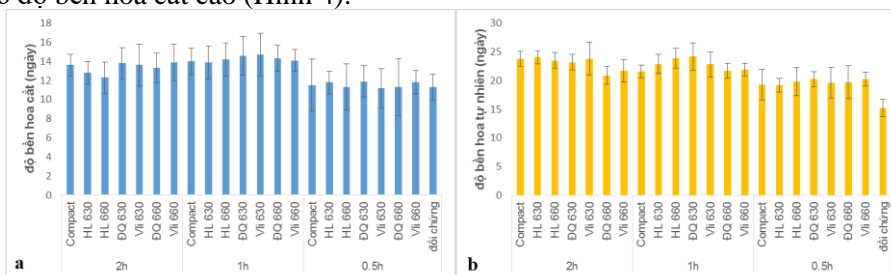


Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng đến chất lượng hoa cúc Farm: (a) Số nụ hoa cúc Farm, (b) Số hoa nở/cây hoa cúc Farm

Có thể thấy thời gian xử lý ánh sáng không chỉ ảnh hưởng đến thời điểm ra hoa mà còn tác động đến số lượng hoa thương phẩm tạo thành trên một cành. Kết quả cho thấy tại thời điểm thu hoạch hoa thương phẩm, lô đối chứng mặc dù có thời gian ra hoa sớm nhưng số nụ/cây cũng như số hoa nở/cây thấp nhất, chất lượng cành hoa thương phẩm không được đảm bảo có thể do quá trình sinh trưởng quá ngắn dẫn đến năng lượng tích lũy không đủ để giúp hoa nở. Kết quả tương tự cũng thu nhận được tại các ô thí nghiệm có thời gian xử lý chiếu sáng 0,5 giờ. Xử lý chiếu sáng 0,5 giờ (23,45 – 00,15) trong 3 tuần có hiệu quả kìm hãm quá trình ra hoa thấp so với hai thời gian xử lý 1 và 2 giờ (Hình 3).

Trong điều kiện tự nhiên có độ dài chiếu sáng trong ngày luôn thấp hơn độ dài chiếu sáng tới hạn của cây hoa cúc cần, các giống cúc xảy ra hiện tượng cây nhanh ra hoa, chiều cao không đạt

tiêu chuẩn, chất lượng hoa kém. Vì vậy, muốn nâng cao chất lượng hoa cúc, đồng thời để điều chỉnh hoa nở theo ý muốn (ngày Lễ, Tết) thì một biện pháp kỹ thuật cần thiết và hiệu quả là chiếu sáng bổ sung hay chiếu sáng quang gián đoạn cho cây hoa cúc [19]. Thí nghiệm được trồng vào thời điểm mùa Đông tại khu vực địa lý có số giờ nắng trong ngày nhỏ hơn 12 tiếng (Thành phố Đà Lạt, tháng 10/2019), do đó độ bền hoa đạt được khá cao từ 11–15 ngày tại công thức chiếu sáng bổ sung 1 và 2 giờ. Bên cạnh đó hầu hết các công thức thí nghiệm có độ bền hoa tự nhiên cao thì cũng có độ bền hoa cắt cao (Hình 4).

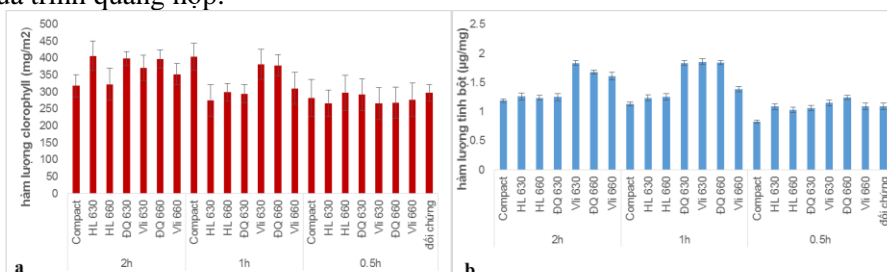


Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng đến độ bền hoa của cây hoa cúc Farm: (a) Độ bền hoa cắt của hoa cúc Farm, (b) Độ bền hoa tự nhiên hoa cúc Farm

Với thời gian chiếu sáng 0,5 giờ (từ 23,45 – 00,15), nụ hoa xuất hiện sớm nhất và thời điểm ra hoa ở các công thức đèn từ 39 đến khoảng 42 ngày sau khi trồng (Hình 1d). Có thể thời gian xử lý chiếu sáng ngắn không đủ ức chế hoạt động của các gen liên quan đến quá trình ra hoa ở cây hoa cúc, đồng thời có thể do chuyển pha từ sinh trưởng sinh dưỡng sang sinh trưởng phát triển sớm nên lượng chất dinh dưỡng tích lũy cần thiết để duy trì bộ bền của hoa còn hạn chế. Do đó, chiếu sáng 0,5 giờ có độ bền hoa không cao.

Mặt khác, thời gian chiếu sáng phá đêm 1 giờ và 2 giờ đều có khả năng kìm hãm quá trình ra hoa cũng như kéo dài giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng ở cây hoa cúc Farm. Mặc dù không có sự khác biệt về thời điểm ra hoa giữa hai điều kiện này, đồng thời thấy thời điểm ra hoa đều chậm hơn so điều kiện chiếu sáng 0,5 giờ từ 10 đến 14 ngày (Hình 1d) nên độ bền hoa cũng vượt trội hơn từ 1 – 3 ngày so với độ bền hoa cắt và từ 3 – 5 ngày so với độ bền hoa tự nhiên. Đặc biệt, nếu so sánh với lô đối chứng ra hoa tự nhiên, chiếu sáng phá đêm làm tăng độ bền hoa từ 5 – 7 ngày.

Không chỉ ảnh hưởng đến hình thái, sinh trưởng, chất lượng hoa tạo thành, dưới các điều kiện chiếu sáng khác nhau cũng tác động đến hàm lượng sắc tố quang hợp và hàm lượng tinh bột tích lũy. Kết quả cho thấy, các cây hoa cúc trồng dưới điều kiện bổ sung ánh sáng 1-2 giờ đều có hàm lượng diệp lục tích lũy cao hơn so với cây sinh trưởng dưới điều kiện bổ sung ánh sáng 0,5 giờ (Hình 5a). Ngoài ra dưới các điều kiện LED thì hàm lượng diệp lục tổng số và hàm lượng tinh bột tích lũy cũng cao hơn so với đèn compact thông qua tăng cường tích lũy các sản phẩm từ quá trình quang hợp.

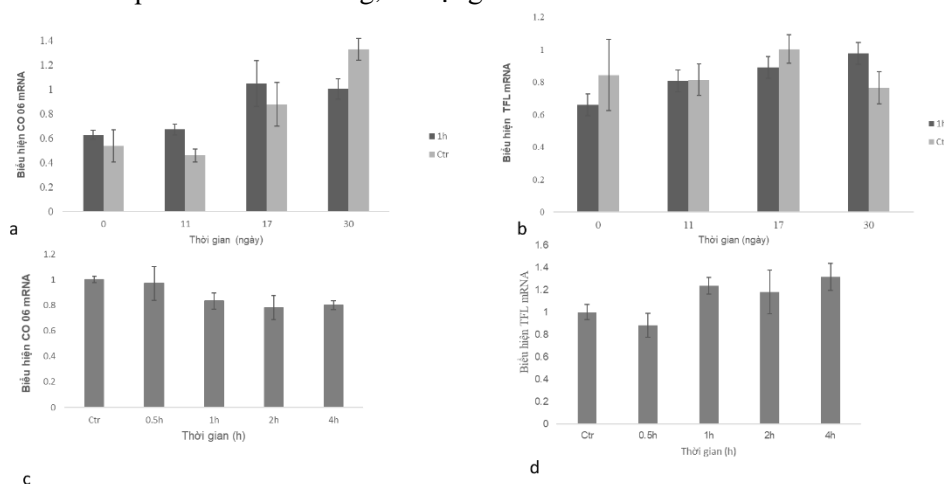


Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng đến chỉ tiêu sinh hóa của cây hoa cúc Farm: (a) Hàm lượng chlorophyll của cây hoa cúc Farm, (b) Hàm lượng tinh bột của cây hoa cúc Farm

Thời điểm sau khi ngắt đèn chiếu sáng bổ sung 4 tuần, cây hoa cúc tại một số công thức đèn đã bắt đầu xuất hiện nụ. Kết quả cho thấy, hàm lượng tinh bột trong thí nghiệm tại điều kiện đối chứng không có đèn là thấp nhất $1,09 \pm 0,05$. Với thời gian chiếu sáng bổ sung 1h lượng tinh bột thu được là cao nhất tại công thức đèn ĐQ 660, Vli 660, ĐQ 630 và Vli 630. Có thể giải thích rằng, trong quá trình cảm ứng tạo hoa lượng tinh bột được sử dụng tối đa hóa nhằm tạo nguồn năng lượng để dự trữ cho quá trình phát triển tạo chồi hoa.

3.3. Ảnh hưởng của phương pháp chiếu sáng phá đêm đến biểu hiện gen của cây hoa cúc Farm

Dựa trên kết quả đánh giá ảnh hưởng của phương pháp chiếu sáng phá đêm đến sinh trưởng của cây hoa cúc tại thời gian chiếu sáng phá đêm, trong các kiểu đèn LED khảo sát, đèn 630 có thời gian ra hoa sớm hơn so với đèn 660. Thời gian chiếu sáng 0,5 giờ không cho hiệu quả phá đêm cao, nụ hoa xuất hiện sớm nhất (40 - 46 ngày) sau khi trồng, sớm hơn so với thời gian chiếu sáng phá đêm 1 giờ và 2 giờ khoảng 7- 12 ngày (Hình 1d). Thời gian xử lý chiếu sáng ngắn có thể không đủ tác động đến các gen điều khiển nhịp sinh học và quá trình ra hoa ở cây hoa cúc. Trong khi đó, thời gian chiếu sáng phá đêm 1 giờ và 2 giờ đều có khả năng làm chậm quá trình ra hoa ở cây hoa cúc Farm. Tuy nhiên, do hiệu quả về mặt kinh tế, chúng tôi lựa chọn thời gian chiếu sáng phá đêm 1 giờ để nghiên cứu sâu hơn mức độ biểu hiện của các gen *CO* và *TFL* ở cây hoa cúc Farm theo quá trình sinh trưởng, sử dụng đèn LED HL660 nm.



Hình 6. Sự biểu hiện của các *CO* và *TFL* liên quan đến quá trình ra hoa ở cúc Farm. (a, c) Mức độ biểu hiện gen *CO*, (b, d) Mức độ biểu hiện gen *TFL*.

Kết quả cho thấy, quá trình chiếu sáng không ảnh hưởng nhiều đến sự biểu hiện của các gen liên quan đến quá trình ra hoa ở giai đoạn đầu chiếu sáng khi cây ở thời kỳ đầu sinh trưởng. Hiệu quả phá đêm được ghi nhận ở giai đoạn muộn. Khi thời gian chiếu sáng từ 1h trở lên đã gây ức chế sự biểu hiện của gen *CO*, gen cảm ứng sự hình thành nụ xuống còn 0,83 lần so với nhóm đối chứng không chiếu đèn (Hình 6a). Ngược lại, với sự biểu hiện của gen *TFL*, gen ức chế quá trình ra hoa. Sự biểu hiện của gen *TFL* ở nhóm đối chứng giảm đi đáng kể, giúp hình thành nụ và hoa. Trong khi ở nhóm được chiếu sáng vẫn duy trì cường độ biểu hiện cao cho gen *TFL*, sự biểu hiện của gen *TFL* ở nhóm chiếu sáng cao gấp 1,27 lần so với nhóm đối chứng.

Thời gian chiếu sáng phá đêm có ảnh hưởng đến sự biểu hiện của các gen liên quan đến quá trình ra hoa ở giống Farm. Hiệu quả phá đêm được ghi nhận khi thời gian chiếu sáng từ 1 giờ trở lên. Kết quả cũng ghi nhận không có sự sai khác đáng kể về sự biểu hiện của các gen liên quan đến quá trình ra hoa, khi thời gian chiếu sáng được tăng từ 1 giờ lên 2 giờ và 4 giờ. Thời gian chiếu sáng từ 1 giờ trở lên đã gây ức chế sự biểu hiện của gen *CO*, gen cảm ứng sự hình thành nụ. Ở lô không chiếu sáng, gen *CO* biểu hiện mạnh hơn đáng kể so với nhóm chiếu sáng từ 1 giờ trở lên (Hình 6a).

4. Kết luận

Đèn LED đỏ có bước sóng 660 nm có hiệu quả kìm hãm thời điểm ra hoa cũng như chất lượng hoa (chiều cao cây, đường kính thân, số lượng hoa...) tương đương với đèn compact, có thể sử dụng thay thế đèn compact trong chiếu sáng phá đêm cây hoa cúc Farm với thời gian xử lý 1 giờ.

Đã xác định được mức độ biểu hiện gen *CO* và *TFL* theo thời gian sinh trưởng ở cây cúc giống Farm. Giai đoạn đầu của quá trình chiếu sáng không ảnh hưởng nhiều đến sự biểu hiện của các gen liên quan đến quá trình ra hoa. Hiệu quả phá đêm được ghi nhận ở giai đoạn muộn. Ở lô không chiếu sáng, gen *CO* biểu hiện mạnh hơn đáng kể so với nhóm chiếu sáng 1 giờ. Ngược lại, sự biểu hiện của gen *TFL* (gen ức chế quá trình ra hoa) ở nhóm đối chứng giảm đi đáng kể, giúp hình thành nụ và hoa. Trong khi ở nhóm được chiếu sáng vẫn duy trì cường độ biểu hiện cao cho gen *TFL*, sự biểu hiện gen *TFL* ở nhóm chiếu sáng cao gấp 1,27 lần so với nhóm đối chứng.

Xác định được thời gian chiếu sáng phá đêm hiệu quả về mặt kinh tế với thời gian chiếu sáng là 1 giờ. Hiệu quả phá đêm được ghi nhận khi thời gian chiếu sáng từ 1 giờ trở lên. Kết quả cũng ghi nhận không có sự sai khác đáng kể về sự biểu hiện của các gen liên quan đến quá trình ra hoa, khi thời gian chiếu sáng được tăng từ 1 giờ lên 2 giờ và 4 giờ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFFERENCES

- [1] F. B. Moura, M. R. da S. Vieira, W. S. Evangelista, L. F. Silva, R. H. Oliveira, A. T. Rocha, and F. B. Costa, "Cultivars, conduction, photoperiodic and quality chrysanthemum in Brazil," *J Hortic For*, vol. 6, pp. 53-57, 2014.
- [2] M. Abe, "FD, a BZIP Protein Mediating Signals from the Floral Pathway Integrator FT at the Shoot Apex," *Science*, vol. 309, no. 5737, pp. 1052-1056, 2005.
- [3] S. Hanano and K. Goto, "Arabidopsis TERMINAL FLOWER1 Is Involved in the Regulation of Flowering Time and Inflorescence Development through Transcriptional Repression," *The Plant Cell*, vol. 23, no. 9, pp. 3172-3184, 2011.
- [4] K. E. Jaeger et al., "Interlocking Feedback Loops Govern the Dynamic Behavior of the Floral Transition in Arabidopsis," *The Plant Cell*, vol. 25, no. 3, pp. 820-833, 2013.
- [5] W. W. Ho and D. Weigel, "Structural Features Determining Flower-Promoting Activity of Arabidopsis FLOWERING LOCUS T.," *The Plant Cell*, vol. 26, no. 2, pp. 552-564, 2014.
- [6] S. J. Liljegren et al., "Interactions among APETALA1, LEAFY, and TERMINAL FLOWER1 Specify Meristem Fate," *The Plant Cell*, vol. 11, no. 6, pp. 1007-1018, 1999.
- [7] N. Nelson and C. F. Yocum, "Structure and function of photosystems I and II," *Annual Review of Plant Biology*, vol. 57, no. 1, pp. 521-565, 2006.
- [8] G. S. Golembeski and T. Imaizumi, "Photoperiodic Regulation of Florigen Function in Arabidopsis thaliana," *The Arabidopsis Book*, vol. 13, no. 13, 2015, Art. no. e0178, doi: <https://doi.org/10.1199/tab.0178>
- [9] F. Valverde, "Photoreceptor Regulation of CONSTANS Protein in Photoperiodic Flowering," *Science*, vol. 303, no. 5660, pp. 1003-1006, 2004.
- [10] T. N. Duong, *Plant Biotechnology: Basic Researches and Application*. Agricultural Publishing House, 2011.
- [11] V. C. Hoang, B. N. Nguyen, C. L. Tran, T. V. Bui, and T. N. Duong, "Effect of LED-lights on growth and saponin accumulation of callus and plantlets of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. in vitro," *Vietnam Journal of Science and Technology*, vol. 50, pp. 475-490, 2012.
- [12] B. N. Nguyen, D. L. Nguyen, and T. N. Duong, "The effect of explant types and LED-lights on the shoot regeneration of Chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* cv. Ramat. cv. "JIMBA") in vitro," *Vietnam Journal of Science and Technology*, vol. 50, pp. 595-606, 2012.
- [13] T. G. Do, H. K. Phan, H. H. Chu, B. N. Pham, K. H. Nguyen, 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*," *Journal of Biotechnology*, vol. 15, no. 1, pp. 97-104, 2017.
- [14] T. G. Do, H. K. Phan, B. N. Pham, K. L. Ly, K. H. Nguyen, T. L. A. Phan, T. T. Nguyen, T. T. H. Nguyen, D. K. Tran, and H. H. Chu, "LED lights promote growth and flavonoid accumulation of *Anoectochilus roxburghii* and are linked to the enhanced expression of several related genes," *Plants*, vol. 9, 2020, Art. no. 1344, doi: <https://doi.org/10.3390/plants9101344>.

-
- [15] T. T. H. Nguyen, T. H. T. Nguyen, B. N. Pham, K. H. Nguyen, and T. G. Do, "Effect of LED light on in vitro growth of *Dendrobium officinale* Kimura et migo," *Proceeding of the National Biotechnology Conference in Hano*, 2018, pp. 1539-1546.
- [16] T. M. Nguyen, T. B. Phan, T. G. Do, H. K. Phan, K. H. Nguyen, B. N. Pham, H. H. Chu, and T. T. B. Ha, "Effects of light emitting diodes – LED on regeneration ability of *Coffea canephora* mediated via somatic embryogenesis," *Journal of Biology*, vol. 38, no. 2, pp. 228-235, 2016.
- [17] K. H. Nguyen, B. N. Pham, T. T. H. Nguyen, T. T. H. Nguyen, T. G. Do, D. H. Le, and H. H. Chu, "Study on the effects of LED light on physiological and morphological characteristics of dang shen (*Codonopsis* sp.) growth in in vitro condition," *Journal of Biology*, vol. 38, no. 2, pp. 220-227, 2016.
- [18] M. Ochiai, Y. Liao, T. Shimazu, Y. Takai, K. Suzuki, S. Yano, and H. Fukui, "Varietal differences in flowering and plant growth under Night-Break treatment with LEDs in 12 *Chrysanthemum* cultivars," *Environ Control Biol.*, vol. 53, pp. 17-22, 2015.
- [19] V. D. Dang, "Study on the effects of propagation method, temperature, light on flowering, quality and efficiency of chrysanthemum production (*Chrysanthemum* sp.) In the Northern Delta," Doctoral thesis in agriculture, University of Agriculture I, Hanoi, 2005.