Effects of organic homogenates on shoot induction and the potential replacement of agar with inorganic substrates during *in vitro* rooting of Son La chrysanthemum (*Chrysanthemum* sp.)

Kiet C. Nguyen*, Truc T. T. Le, Thien N. T. Le, Mi K. T. Cao, Huy C. Lam, Trang T. Le, Tram T. T. Ngo, & Hoang V. Vo

Faculty of Agronomy, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: November 03, 2025
Revised: January 06, 2026
Accepted: January 16, 2026

Keywords

BAP
Perlite
Potato
Son La chrysanthemum
Tissue culture

***Corresponding author**

Nguyen Cao Kiet
Email:
kiet.nguyencao@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Son La heirloom chrysanthemum (*Chrysanthemum* sp.) is a woody ornamental plant with a bushy growth habit, possessing high ornamental and economic value, and is suitable for pot cultivation and bonsai shaping. However, conventional propagation methods for this cultivar are limited in terms of multiplication rate and plantlet quality. This study aimed to induce *in vitro* shoot proliferation and rooting of Son La heirloom chrysanthemum and to evaluate the potential replacement of agar with several inorganic materials during the rooting stage. The experiment was conducted on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 30 g/L sucrose through two stages. In the shoot proliferation stage, stem segments were cultured on MS medium solidified with 8 g/L agar under four treatments: 6-benzylaminopurine (BAP) at 1.5 mg/L, potato extract 10% (w/v), carrot extract 10% (w/v), and coconut water 10% (v/v). After 42 days of culture, the medium supplemented with BAP at 1.5 mg/L produced the highest number of shoots and leaves (5.01 shoots per explant and 33.3 leaves per explant), whereas coconut water at 10% significantly enhanced shoot height (4.62 cm). In the rooting stage, *in vitro* stem segments were cultured on agar 8 g/L (control) and on inorganic substrates including red lava, black lava, masato, and perlite (30 g per vessel combined with 30 mL liquid MS medium supplemented with 1 mg/L IBA). After 42 days, perlite achieved a rooting percentage of 93%, comparable to agar, while producing significantly longer roots (8.45 cm). Overall, perlite shows strong potential as an alternative to agar in the *in vitro* rooting stage of Son La heirloom chrysanthemum, contributing to improved plantlet quality for production purposes.

Cited as: Nguyen, K. C., Le, T. T. T., Le, T. N. T., Cao, M. K. T., Lam, H. C., Le, T. T., Ngo, T. T. T., & Vo, H. V. (2026). Effects of organic homogenates on shoot induction and the potential replacement of agar with inorganic substrates during in vitro rooting of Son La chrysanthemum (*Chrysanthemum* sp.). *The Journal of Agriculture and Development* 25(5), 32-42.

Ảnh hưởng của dịch nghiền hữu cơ đến cảm ứng tạo chồi và khả năng thay thế agar bằng một số vật liệu vô cơ ở giai đoạn tạo rễ của cây cúc cổ Sơn La (*Chrysanthemum* sp.)

Nguyễn Cao Kiệt*, Lê Thị Thanh Trúc, Lê Thị Ngọc Thiện, Cao Thị Kiều Mi, Lâm Cao Huy, Lê Thùy Trang, Ngô Thị Thùy Trâm & Võ Văn Hoàng

Khoa Nông Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 03/11/2025
Ngày chỉnh sửa: 06/01/2026
Ngày chấp nhận: 16/01/2026

Từ khóa

BAP
Cúc cổ Sơn La
Khoai tây
Nuôi cấy mô
Perlite

***Tác giả liên hệ**

Nguyễn Cao Kiệt
Email:
kiet.nguyencao@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Cúc cổ Sơn La (*Chrysanthemum* sp.) là giống hoa cảnh thân gỗ, dạng bụi, có giá trị cao về cảnh quan và kinh tế, phù hợp trồng chậu và tạo dáng bonsai. Tuy nhiên, phương pháp nhân giống truyền thống của giống này còn hạn chế về hệ số nhân và chất lượng cây giống. Nghiên cứu được thực hiện nhằm nhân chồi, tạo rễ *in vitro* cho cây cúc cổ Sơn La và đánh giá khả năng thay thế agar bằng một số vật liệu vô cơ trong giai đoạn tạo rễ. Thí nghiệm được tiến hành trên môi trường MS (Murashige và Skoog) bổ sung 30 g/L sucrose qua hai giai đoạn. Ở giai đoạn nhân chồi, các đoạn thân được nuôi cấy trên môi trường MS có agar 8 g/L với bốn nghiệm thức gồm BAP 1,5 mg/L, dịch nghiền khoai tây 10% (w/v), dịch nghiền cà rốt 10% (w/v) và nước dừa 10% (v/v). Sau 42 ngày nuôi cấy, môi trường bổ sung 6-benzylaminopurine (BAP) 1,5 mg/L cho số chồi và số lá cao nhất (5,01 chồi/mẫu và 33,3 lá/mẫu), trong khi nước dừa 10% cải thiện đáng kể chiều cao chồi (4,62 cm). Ở giai đoạn tạo rễ, các đoạn thân cúc cổ Sơn La *in vitro* được cấy trên agar 8 g/L (đối chứng) và các vật liệu vô cơ gồm lava đỏ, lava đen, masato và perlite (30 g/bình kết hợp 30 mL môi trường lỏng MS bổ sung 1 mg/L IBA). Sau 42 ngày, perlite cho tỷ lệ ra rễ 93%, tương đương agar, đồng thời đạt chiều dài rễ lớn hơn (8,45 cm). Nhìn chung, perlite có tiềm năng thay thế agar trong giai đoạn tạo rễ *in vitro* cúc cổ Sơn La, góp phần nâng cao chất lượng cây con phục vụ sản xuất.

1. Đặt Vấn Đề

Với đặc điểm sinh trưởng thân gỗ và hình thái độc đáo, cúc cổ Sơn La (*Chrysanthemum* sp.) được đánh giá cao trong trang trí cảnh quan, đặc biệt là tạo hình bonsai, đồng thời là vật liệu di truyền quý cần được bảo tồn gắn với định hướng phát triển thương mại. Tuy nhiên, nhân giống bằng giâm cành còn hạn chế do hệ số nhân chồi thấp, nguy cơ nhiễm bệnh và thời gian sản xuất kéo dài (Eisa & ctv., 2022). Nuôi cấy mô *in vitro* đã chứng minh hiệu quả trong nhân giống hoa cúc (Chen & ctv., 2024; Firgiyanto & ctv., 2024), trong đó cytokinin như 6-benzylaminopurine (BAP) đóng vai trò quan trọng trong kích thích phân hóa chồi (Chen & ctv., 2024). Các phụ gia hữu cơ như dịch nghiền khoai tây, cà rốt và nước dừa cũng có thể cải thiện sinh trưởng mô cấy nhờ chứa vitamin và hợp chất tương tự hormone (Mehbub & ctv., 2022). Ngoài ra, những giá thể vô cơ có cấu trúc thông thoáng như perlite được ghi nhận giúp tăng phát triển rễ và khắc phục hạn chế yếm khí của agar (Clapa & Fira, 2008; Mehbub & ctv., 2022).

Nghiên cứu này nhằm xác định loại phụ gia hữu cơ thích hợp ở giai đoạn nhân chồi và đánh giá khả năng thay thế agar bằng một số vật liệu vô cơ trong giai đoạn tạo rễ, hướng đến hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* giống cúc cổ Sơn La, phục vụ chuyển giao vào sản xuất thương mại.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 5/2025 đến tháng 8/2025 tại Phòng thí nghiệm nuôi cấy mô, Khu thực nghiệm Bộ môn Sinh lý - Sinh hóa, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.

Đối tượng nghiên cứu là cây cúc cổ Sơn La (*Chrysanthemum* sp.) được nuôi cấy và lưu giữ tại khu thực nghiệm của Bộ môn.

2.2. Thiết kế thí nghiệm

2.2.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của BAP và các phụ gia hữu cơ đến khả năng sinh trưởng của đoạn thân in vitro cúc cổ Sơn La

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với một yếu tố là loại phụ gia, gồm 4 nghiệm thức: BAP 1,5 mg/L, dịch nghiền khoai tây 10% (w/v), dịch nghiền cà rốt 10% (w/v) và nước dừa 10% (v/v) (Tran & ctv., 2023; Nguyen, 2024). Mỗi nghiệm thức có 3 lần lặp lại; mỗi lần gồm 5 bình, mỗi bình cấy 3 mẫu (tổng 60 bình, 180 mẫu). Môi trường nuôi cấy sử dụng Murashige and Skoog (MS) bổ sung 30 g/L sucrose và 8 g/L agar, phân phối 50 mL/bình.

2.2.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của vật liệu vô cơ đến khả năng ra rễ của đoạn thân in vitro cúc cổ Sơn La

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với một yếu tố là loại vật liệu vô cơ, gồm 5 nghiệm thức: agar 8 g/L (đối chứng), lava đỏ, lava đen, masato và perlite (30 g/bình). Hàm lượng agar và vật liệu vô cơ được xác định qua khảo sát sơ bộ nhằm đảm bảo độ đông đặc, độ ẩm và thông khí phù hợp cho sự hình thành rễ *in vitro*. Mỗi nghiệm thức có 3 lần lặp lại; mỗi lần gồm 5 bình, mỗi bình cấy 3 mẫu (tổng 75 bình, 225 mẫu). Môi trường nuôi cấy sử dụng Murashige and Skoog (MS) bổ sung 30 g/L sucrose và 1 mg/L Indole-3-butyric acid (IBA), phân phối 30 mL/bình.

2.3. Phương pháp thí nghiệm

Các bước nghiên cứu được thực hiện theo quy trình nuôi cấy mô và vi nhân giống cây trồng

của Trigiano & Gray (2011), có điều chỉnh phù hợp với cây cúc cổ Sơn La.

Ở thí nghiệm 1, mẫu cấy là cây 3 tuần tuổi (cao 2 - 2,5 cm), sinh trưởng đồng đều, được cắt bỏ rễ và lá, sau đó chia thành đoạn thân dài 1 - 1,5 cm trước khi cấy. Dịch nghiền khoai tây và cà rốt được chuẩn bị bằng cách rửa sạch, gọt vỏ, cắt nhỏ, xay nhuyễn với nước cất vô trùng, đạt nồng độ 10% (w/v) và lọc qua vải mịn; nước dừa được thu từ quả tươi, lọc qua vải mịn và bổ sung ở nồng độ 10% (v/v). Các phụ gia được bổ sung trực tiếp vào môi trường MS trước khi hấp tiệt trùng (121°C, 15 phút). Mẫu được cấy trên môi trường MS bổ sung 30 g/L sucrose và 8 g/L agar kết hợp với BAP 1,5 mg/L hoặc các phụ gia hữu cơ tương ứng.

Ở thí nghiệm 2, mẫu cấy là đoạn thân dài 2 - 2,5 cm từ cây 3 tuần tuổi. Các vật liệu vô cơ (lava đỏ, lava đen, masato và perlite) được sàng kích thước 2 - 4 mm, rửa sạch, tráng nước cất và để ráo trước khi sử dụng. Mỗi bình chứa 30 g vật liệu và 30 mL môi trường MS bổ sung 30 g/L sucrose và 1 mg/L IBA, sau đó hấp tiệt trùng ở 121°C trong 15 phút. Agar 8 g/L được sử dụng làm đối chứng và được thay thế hoàn toàn bằng các vật liệu vô cơ trong các nghiệm thức tương ứng. Thể tích môi trường 30 mL được xác định qua khảo sát sơ bộ nhằm đảm bảo độ ẩm cần thiết, thông khí tốt cho rễ và điều kiện so sánh đồng nhất giữa các nghiệm thức trước bố trí thí nghiệm.

2.4. Chỉ tiêu theo dõi

2.4.1. Thí nghiệm 1

Các chỉ tiêu của thí nghiệm 1 được theo dõi 7 ngày/lần trong suốt 42 ngày bao gồm:

Số chồi/mẫu (chồi): Đếm tổng số chồi phát sinh trên mỗi mẫu cấy.

Chiều cao mẫu cấy (cm): Đo chiều cao chồi tính từ mặt môi trường đến điểm cao nhất của chồi.

Số lá/mẫu (lá): Đếm tổng số lá có chiều dài ≥ 0,5 cm trên mỗi mẫu cấy.

Đường kính mẫu cấy (cm): Đo đường kính của cụm chồi tại vị trí lớn nhất của mẫu cấy; chỉ được xác định tại thời điểm 42 NSC nhằm tránh ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng của mẫu cấy trong các lần theo dõi trước đó.

2.4.2. Thí nghiệm 2

Các chỉ tiêu của thí nghiệm 2 được theo dõi một lần tại thời điểm 42 ngày sau cấy (NSC) bao gồm:

Số rễ/cây (rễ): Đếm tổng số rễ phát sinh trên mỗi mẫu cấy.

Chiều dài rễ (cm): Đo chiều dài rễ lớn nhất của mỗi mẫu từ vị trí gốc rễ đến đầu rễ.

Tỷ lệ ra rễ (%): Tính phần trăm số mẫu hình thành rễ trên tổng số mẫu cấy của từng nghiệm thức.

2.5. Điều kiện phòng thí nghiệm

Mẫu được nuôi cấy ở 25 ± 1°C, độ ẩm tương đối 70 – 80%. Cả hai thí nghiệm được bố trí dưới ánh sáng 37 ± 9,25 µmol/m² trong 1 giây với chu kỳ chiếu sáng 12 giờ/ngày.

2.6. Xử lý số liệu

Dữ liệu được lưu trữ bằng Excel 2010, R (phiên bản 4.2.3) được sử dụng để thực hiện bảng ANOVA và trắc nghiệm phân hạng bằng Duncan ở a = 0,05 hoặc a = 0,01. Các số liệu về số chồi ở 14 NSC ở thí nghiệm 1 đã được chuyển đổi bằng công thức trước khi phân tích thống kê (Gomez & Gomez, 1984).

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Ảnh hưởng của BAP, dịch nghiền khoai tây, dịch nghiền cà rốt và nước dừa khả năng sinh trưởng của đoạn thân cúc cổ Sơn La *in vitro*

6-benzylaminopurine là cytokinin tổng hợp thường được sử dụng trong nuôi cấy mô nhằm kích thích phân chia tế bào và nhân chồi *in vitro*. Bên cạnh đó, việc bổ sung nước dừa và các phụ gia hữu cơ tự nhiên như dịch nghiền khoai tây và cà rốt giúp cung cấp vitamin và các chất điều hòa sinh trưởng tự nhiên cho mẫu cấy (Trigiano & Gray, 2011; Firgiyanto & ctv., 2024).



Hình 1. Chồi cúc cổ Sơn La trên môi trường bổ sung các dịch nghiền hữu cơ. Môi trường MS (Murashige và Skoog) bổ sung (a): BAP (6-benzylaminopurine); (b): dịch nghiền khoai tây; (c): dịch nghiền cà rốt; (d): nước dừa.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BAP (6-benzylaminopurine), dịch nghiền khoai tây, dịch nghiền cà rốt và nước dừa đến số chồi (chồi/mẫu) cúc cổ Sơn La *in vitro*

Môi trường	7 NSC	14 NSC	21 NSC	28 NSC	35 NSC	42 NSC
BAP	0	0,69^{a}	2,11^{a}	2,36^{a}	5,78^{a}	6,01^{a}
Dịch nghiền khoai tây	0	0,11^{b}	0,24^{b}	0,36^{b}	0,31^{b}	0,51^{b}
Dịch nghiền cà rốt	0	0,24^{b}	0,33^{b}	0,40^{b}	0,40^{b}	0,58^{b}
Nước dừa	0	0,13^{b}	0,44^{b}	0,33^{b}	0,82^{b}	0,87^{b}
CV (%)	-	8,8	53,49	29,39	23,07	27,39
$F_{tính}$	-	9,89**	13,50**	46,51***	117,90***	62,96***

*NSC: ngày sau cấy. Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký tự theo sau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa trong thống kê; **: khác biệt ở mức ý nghĩa a = 0,01; ***: sự khác biệt có ý nghĩa với α = 0,001.*

Dựa trên kết quả Bảng 1 qua các thời điểm theo dõi, số chồi ở các môi trường có bổ sung các nhóm chất tại thời điểm 7 NSC đều chưa hình thành, trong khi đó số chồi/mẫu giữa các nghiệm thức với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (14 - 21 NSC: $P < 0,01$; 28 - 42 NSC: $P < 0,001$). Số chồi tăng dần theo thời gian và nghiệm thức bổ sung BAP 1,5 mg/L luôn đạt giá trị cao, từ 0,69 chồi tại 14 NSC lên 6,01 chồi/mẫu ở 42 NSC (Hình 1). Điều này phù hợp với vai trò của cytokinin tổng hợp trong việc kích hoạt phân chia tế bào và điều hòa sự hình thành chồi bất định (Hussain & ctv., 2025). Ngược lại, các nghiệm thức bổ sung phụ gia hữu cơ như khoai tây, cà rốt và nước dừa chỉ đạt 0,51 - 0,87 chồi/mẫu ở 42 NSC. Các nguồn này cung cấp carbohydrate, vitamin và hợp chất điều hòa sinh trưởng tự nhiên giúp duy trì sức sống mô cấy nhưng hiệu quả cảm ứng chồi vẫn hạn chế hơn so với BAP (Firgiyanto & ctv., 2024). Nước dừa 10% cho số chồi cao hơn hai phụ gia còn lại, có thể do nước dừa chứa cytokinin tự nhiên, trong đó có zeatin, giúp kích thích phân chia và kéo dài tế bào chồi (Yong & ctv., 2009). Một số chỉ tiêu có CV cao (khoảng 53%), chủ yếu do sự khác biệt nhỏ giữa các đoạn thân khi cắt (về chiều dài và số mắt nách) làm khả năng phát triển chồi không đồng đều. Ở giai đoạn đầu nuôi cấy, khi số chồi còn ít, chỉ cần một vài mẫu sinh trưởng mạnh cũng có thể làm tăng mức độ biến động. Sai khác giữa các nghiệm thức vẫn được khẳng định bằng phân tích thống kê, do đó kết quả so sánh có độ tin cậy.

Qua đó cho thấy BAP vẫn là yếu tố then chốt trong việc nâng cao hệ số nhân chồi ở giai đoạn đầu quy trình nhân giống *in vitro* giống cúc cổ Sơn La.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP (6-benzylaminopurine), dịch nghiền khoai tây, dịch nghiền cà rốt và nước dừa đến số lá (lá/mẫu) cây cúc cổ Sơn La *in vitro*

Môi trường	7 NSC	14 NSC	21 NSC	28 NSC	35 NSC	42 NSC
BAP	0	2,02	5,28	11,35	16,23^{a}	33,30^{a}
Dịch nghiền khoai tây	0	3,02	6,38	8,99	10,72^{b}	16,49^{b}
Dịch nghiền cà rốt	0	3,20	5,87	8,96	11,28^{b}	14,72^{b}
Nước dừa	0	3,31	8,00	11,33	14,02^{ab}	18,73^{b}
CV (%)	-	18,03	15,51	16,70	13,55	18,11
$F_{tính}$	-	3,85^{ns}	4,01^{ns}	19,50^{ns}	6,27*	15,22**

*NSC: ngày sau cấy. Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký tự theo sau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa trong thống kê; ns: khác biệt không có ý nghĩa; *: khác biệt ở mức ý nghĩa a = 0,05; **: khác biệt ở mức ý nghĩa a = 0,01.*

Kết quả từ Bảng 2 cho thấy ở thời điểm 7 NSC, số lá chưa hình thành ở các mẫu thí nghiệm. Trái lại, tại các thời điểm 14, 21 và 28 NSC, số lá/mẫu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức, cho thấy ảnh hưởng của các nhóm chất bổ sung vào môi trường nuôi cấy chưa biểu hiện rõ ở giai đoạn đầu. Đến 35 NSC, sự khác biệt về số lá bắt đầu xuất hiện ($P < 0,05$) và trở nên rõ rệt hơn tại 42 NSC ($P < 0,01$). Ở cả hai thời điểm này, môi trường bổ sung BAP 1,5 mg/L cho số lá cao nhất, đạt 33,30 lá/mẫu tại 42 NSC, phù hợp với cơ chế cytokinin thúc đẩy phân chia tế bào và phát triển lá (Girsang & ctv., 2019). Các nghiệm thức bổ sung phụ gia hữu cơ cho số lá thấp hơn BAP. Tuy nhiên, nước dừa 10% vẫn đạt giá trị cao nhất trong nhóm này

(18,73 lá/mẫu), cho thấy nguồn dinh dưỡng phức hợp trong nước dừa giúp duy trì trạng thái sinh trưởng tốt của mẫu cấy ở giai đoạn phát triển lá ban đầu, dù hiệu quả cảm ứng chồi vẫn kém hơn cytokinin tổng hợp, vốn có tác động mạnh và ổn định hơn đến quá trình phân hóa chồi *in vitro* (Yong & ctv., 2009; Eisa & ctv., 2022; Firgiyanto & ctv., 2024).

Kết quả cho thấy BAP 1,5 mg/L chỉ thể hiện ưu thế rõ rệt về số lá từ sau 35 NSC, qua đó góp phần nâng cao hệ số nhân chồi ở giống cúc cổ Sơn La *in vitro*.

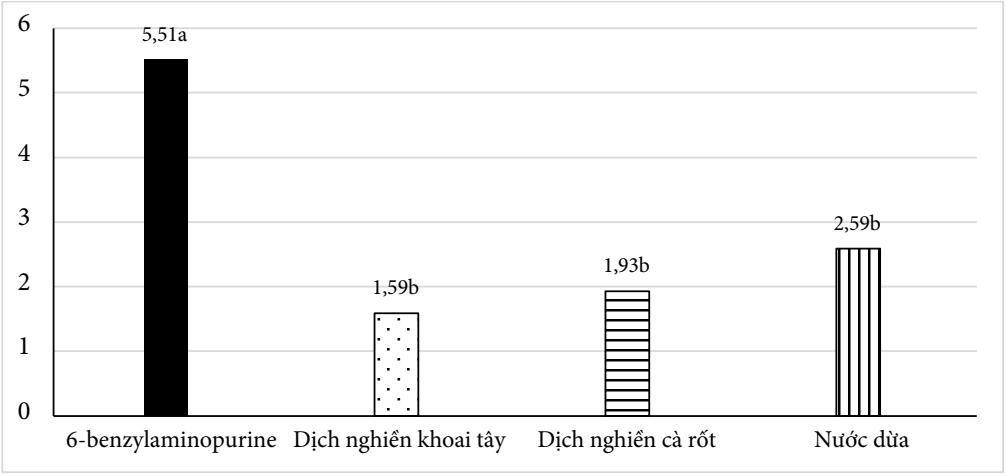
Hệ số biến động (CV) ở một số thời điểm còn cao, có thể do mức độ không đồng nhất hoàn toàn giữa các mẫu chồi ban đầu, phản ánh biến thiên sinh học tự nhiên thường gặp trong nuôi cấy mô hoa cúc. Các sai khác giữa các nghiệm thức vẫn được khẳng định bằng kiểm định thống kê, qua đó đảm bảo độ tin cậy của kết quả.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BAP (6-benzylaminopurine), dịch nghiền khoai tây, dịch nghiền cà rốt và nước dừa đến chiều cao cây (cm) cúc cổ Sơn La *in vitro*

Môi trường	7 NSC	14 NSC	21 NSC	28 NSC	35 NSC	42 NSC
BAP	1,31	1,82	$1,83^{c}$	$1,96^{b}$	$1,98^{d}$	$2,33^{c}$
Dịch nghiền khoai tây	1,44	1,66	$2,07^{bc}$	$2,09^{b}$	$2,46^{c}$	$2,87^{bc}$
Dịch nghiền cà rốt	1,48	1,77	$2,34^{ab}$	$2,60^{a}$	$2,94^{b}$	$3,90^{ab}$
Nước dừa	1,28	1,84	$2,52^{a}$	$2,74^{a}$	$3,63^{a}$	$4,62^{a}$
CV (%)	9,95	6,11	6,20	6,22	5,64	12,22
$F_{tính}$	$1,44^{ns}$	$1,66^{ns}$	15,09**	20,48***	62.03***	17,93***

*NSC: ngày sau cấy. Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký tự theo sau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa trong thống kê; ns: khác biệt không có ý nghĩa; **: khác biệt ở mức ý nghĩa a = 0,01; ***: sự khác biệt có ý nghĩa với α = 0,001.*

Các số liệu ở Bảng 3 cho thấy tại các thời điểm 7 và 14 NSC, chiều cao chồi có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức (ns), phản ánh ảnh hưởng của các nhóm chất bổ sung chưa được biểu hiện rõ ở giai đoạn đầu. Từ 21 NSC, chiều cao chồi bắt đầu có sự khác biệt đáng kể ($P < 0,01$), và mức khác biệt tăng mạnh từ 28 đến 42 NSC ($P < 0,001$). Trong suốt giai đoạn theo dõi, nghiệm thức bổ sung nước dừa 10% cho chiều cao chồi lớn nhất, đạt 4,62 cm tại 42 NSC. Mặc dù BAP 1,5 mg/L cho số chồi và số lá cao hơn, nhưng lại hạn chế mạnh sự kéo dài thân từ 28 NSC trở đi, phù hợp với đặc tính cytokinin tổng hợp ở nồng độ cố định thường ức chế kéo dài chồi (Khan & ctv., 2021). Ngược lại, nước dừa ở nồng độ 10% cho hiệu quả rõ rệt trong kích thích kéo dài chồi, mẫu cấy được bổ sung dịch nghiền cà rốt cũng cho chiều cao chồi không khác biệt có ý nghĩa thống kê, cho thấy cả hai phụ gia hữu cơ đều có khả năng hỗ trợ sinh trưởng chồi *in vitro*. Tuy nhiên, nước dừa với thành phần dinh dưỡng phức hợp, bao gồm đường, vitamin, amino acid và các cytokinin tự nhiên, được ghi nhận là giúp duy trì trạng thái sinh trưởng ổn định và cải thiện chất lượng chồi, do đó được xem là phù hợp hơn cho giai đoạn nhân nhanh (Yong & ctv., 2009; Firgiyanto & ctv., 2024).

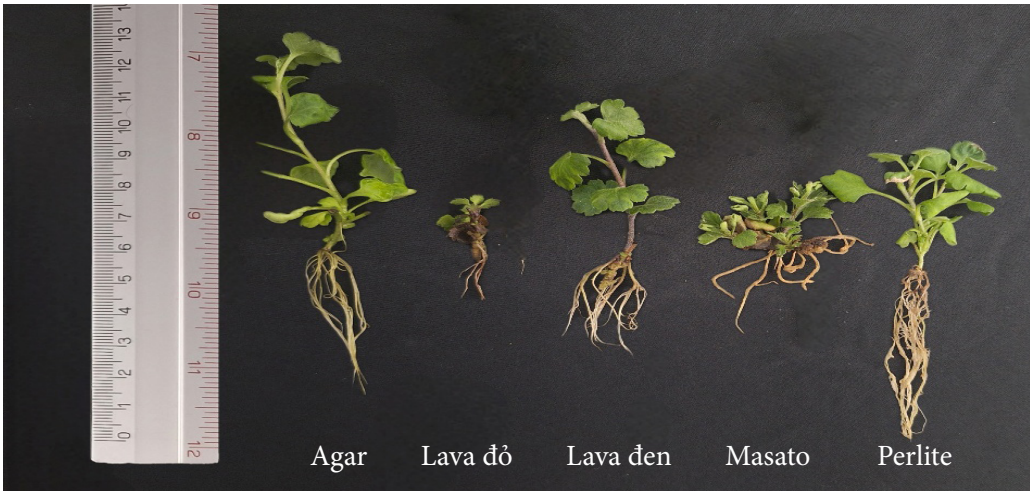


Hình 2. Đường kính mẫu (mm) cúc cổ Sơn La trên môi trường bổ sung các loại dịch nghiền hữu cơ.

Dựa trên kết quả Hình 2, tại 42 NSC, đường kính mẫu cấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($P < 0,001$). Môi trường bổ sung 1,5 mg/L BAP tạo ra mẫu cấy có đường kính lớn nhất (5,51 mm), phản ánh khả năng kích thích phân chia tế bào mạnh của cytokinin tổng hợp, tăng độ dày mô và sinh khối chồi (Girsang & ctv., 2019). Các phụ gia hữu cơ cho đường kính thấp hơn; nước dừa 10% đạt mức cao nhất trong nhóm này (2,59 mm), thể hiện sự hỗ trợ nhất định đối với phát triển mô và độ cứng của chồi, nhưng hoạt tính điều hòa sinh trưởng vẫn kém hơn BAP.

Nước dừa 10% có tác động tích cực đến tăng trưởng đường kính mẫu cấy, song không thể thay thế hoàn toàn cytokinin tổng hợp ở giai đoạn nhân nhanh *in vitro*. Kết quả có CV tương đối cao chỉ ra rằng cần tối ưu thêm sự đồng nhất trong kích thước chồi đầu vào ở các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của một số vật liệu vô cơ agar, lava đen, lava đỏ, masato và perlite đến khả năng tạo rễ đối với cây cúc cổ Sơn La *in vitro*



Hình 3. Cây cúc cổ Sơn La trên các môi trường thay thế agar bằng các vật liệu vô cơ khác.

Bảng 4. Ảnh hưởng của một số vật liệu vô cơ đến khả năng tạo rễ đối với cây cúc cổ Sơn La *in vitro*

Môi trường	Số rễ (rễ/cây)	Chiều dài rễ (cm)	Tỉ lệ ra rễ (%)
Agar (ĐC)	6,96[a]	7,67[a]	93[a]
Lava đỏ	0,94[c]	1,52[b]	45[c]
Lava đen	2,98[bc]	4,09[b]	69[b]
Masato	4,15[b]	2,48[b]	56[b]
Perlite	4,47[b]	8,45[a]	93[a]
CV (%)	21,9	24,9	26,7
$F_{tính}$	19,9***	28,6***	3,97*

Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký tự theo sau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa trong thống kê; *: khác biệt ở mức ý nghĩa a = 0,05; ***: sự khác biệt có ý nghĩa với α = 0,001.

Bảng 4 cho thấy giá thể ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng hình thành và phát triển rễ *in vitro* của giống cúc cổ Sơn La. Các mẫu nuôi cấy trên agar và perlite đều đạt tỷ lệ ra rễ cao nhất (93%), cho thấy hai vật liệu này đáp ứng tốt các điều kiện cơ bản cho khởi phát rễ, bao gồm độ ẩm thích hợp và môi trường ổn định cho sự phân chia tế bào rễ (Trigiano & Gray, 2011; Mehbub & ctv., 2022). Tuy nhiên, perlite cho chiều dài rễ lớn hơn có ý nghĩa thống kê so với agar, chứng tỏ vật liệu này không chỉ hỗ trợ hình thành rễ mà còn thúc đẩy hiệu quả sự kéo dài rễ. Điều này có thể liên quan đến cấu trúc xốp, nhẹ và khả năng thoáng khí cao của perlite, giúp tăng cường khuếch tán oxy đến vùng rễ, từ đó cải thiện hô hấp rễ và hoạt động tại chóp rễ (Clapa & Fira, 2008; Clapa & ctv., 2013). Ngược lại, lava đỏ, lava đen và masato với cấu trúc cứng làm giảm mức độ tiếp xúc giữa rễ và môi trường, dẫn đến sự phân bố ẩm và oxy kém đồng đều, qua đó hạn chế sự kéo dài rễ (Jesionek & ctv., 2016). Nhìn chung, kết quả phù hợp với các nghiên cứu trước đây, khẳng định vai trò quyết định của đặc tính vật lý của vật liệu vô cơ, đặc biệt là khả năng thông khí và giữ ẩm, đối với sự phát triển hệ rễ cây cúc *in vitro* (Eisa & ctv., 2022; Chen & ctv., 2024).

Hệ số biến động tương đối cao ở các nghiệm thức dùng vật liệu vô cơ ngoài agar cho thấy mức độ không đồng nhất trong tiếp xúc rễ - giá thể. Mặc dù các sai khác giữa các nghiệm thức vẫn được khẳng định bằng kiểm định thống kê, chứng minh rằng perlite thể hiện ưu thế rõ rệt về chất lượng rễ và có tiềm năng thay thế agar trong giai đoạn tạo rễ, đặc biệt khi hướng đến quy trình vi nhân giống quy mô lớn và chuyển giao vào sản xuất (Hình 3).

Hiệu quả của perlite trong tạo rễ *in vitro* có thể thuận lợi cho việc kết hợp trực tiếp với quy trình ex vitro. Kết quả nghiên cứu góp phần rút ngắn thời gian sản xuất giống trong sản xuất quy mô công nghiệp (Clapa & ctv., 2013).

4. Kết Luận

Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L BAP giúp tăng hệ số nhân chồi và phát triển lá có ý nghĩa thống kê, trong khi nước dừa 10% cải thiện đáng kể chiều cao chồi. Ở giai đoạn tạo rễ, perlite 30 g/bình cho chiều dài rễ vượt trội và tỷ lệ ra rễ

tương đương agar, thể hiện hiệu quả rõ rệt của perlite trong quá trình hình thành rễ. Trên cơ sở đó, perlite được đề nghị sử dụng như vật liệu thay thế agar trong giai đoạn tạo rễ nhằm nâng cao hiệu quả trong sản xuất cây giống *in vitro* cúc cổ Sơn La.

Lời Cam Đoan

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của nhóm tác giả. Dữ liệu và kết quả trình bày trong nghiên cứu này là trung thực và chưa từng được công bố trên bất kỳ tạp chí nào khác. Một phần nghiên cứu đã được công bố dưới dạng tóm tắt và poster tại Hội nghị khoa học toàn quốc về Công nghệ sinh học 2025 và Hội thảo nghiên cứu khoa học sinh viên 2025.

Lời Cảm Ơn

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ về cơ sở vật chất để thực hiện nghiên cứu của Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

Chen, Q., Gao, K., Pan, B., Wang, Y., Chen, L., Yu, J., Wang, L., Fan, Y., Li, H., & Huang, C. (2024). Construction of optimal regeneration system for *Chrysanthemum* '11-C-2' stem segment with buds. *Plants* 13(17), 2403. https://doi.org/10.3390/plants13172403.

Clapa, D., & Fira, A. (2008). The use of perlite as support in liquid media for the in vitro rooting of some horticultural species. *Bulletin UASVM Horticulture* 65(1), 460-463.

Clapa, D., Fira, A., & Joshee, N. (2013). An efficient ex vitro rooting and acclimatization method for horticultural plants using float hydroculture. *HortScience 48*(9), 1159-1167.

Eisa, E. A., Tilly-Mándy, A., Honfi, P., Al-Selwey, W. A., & Gururani, M. A. (2022). Chrysanthemum: A comprehensive review on recent developments on *in vitro* regeneration. *Biology* 11(12), 1774. https://doi.org/10.3390/biology11121774.

Firgiyanto, R., Rohman, F., Sjamsijah, N., Prasetyo, H., & Siswadi, E. (2024). *In vitro* growth of different chrysanthemum cultivars on Murashige and Skoog medium modified with some organic additives. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 1338(1), 012006. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1338/1/012006.

Girsang, R., Armaniar., & Refnizuida. (2019). *In vitro* propagation of *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum indicum* L.) with benzyl amino purine and naphthalene acetic acid supplementation. *International Journal of Advanced Research 7*(11), 361-366. https://doi.org/10.21474/IJAR01/10016.

Gomez, K. A. & Gomez, A. A. (1984). *Statistical procedures for agricultural research* (2nd ed.). New York, USA: John Wiley and Sons.

Hussain, S., Chang, J., Li, J., Chen, L., Ahmad, S., Song, Z., Zhang, B., & Chen, X. (2025). Multifunctional role of cytokinin in horticultural crops. *International Journal of Molecular Sciences 26*(3), 1037. https://doi.org/10.3390/ijms26031037.

Jesionek, A., Kokotkiewicz, A., Włodarska, P., Filipowicz, N., Bogdan, A., Szreniawa-Sztajnert, A., Zabiegała, B., Buciński, A., & Łuczkiewicz, M. (2016). *In vitro* propagation of Rhododendron tomentosum – an endangered essential oil bearing plant from peatland. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 58(2), 29-43. https://doi.org/10.1515/abcsb-2016-0019.

Khan, A., Bashir, A., Erum, S., Khatak, J. Z. K., & Muhammad, A. (2021). Effects of 6-benzylaminopurine and indole-3-acetic acid on growth and root development of banana explants in micropropagation. *Sarhad Journal of Agriculture 37*(1), 9-13. https://doi.org/10.17582/journal.sja/2021/37.1.9.13.

Mehbub, H., Akter, A., Akter, M. A., Mandal, M. S. H., Hoque, M. A., Tuleja, M., & Mehraj,

H. (2022). Tissue culture in ornamentals: Cultivation factors, propagation techniques, and its application. *Plants* 11(23), 3208. https://doi.org/10.3390/plants11233208.

Nguyen, T. A. (2024). *In vitro mutation induction in Son La ancient chrysanthemum (Chrysanthemum sp. "Cuc Son La")* (Unpublished Bachelor's thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.

Tran, N. C., Chat, N., Y, D. N., Tran, L. Q., & Binh, T. T. K. (2023). Effects of organic extracts on *in vitro* shoot and root formation of *Anoectochilus setaceus* Blume. *Journal of Agriculture and Rural Development* 2, 53-60.

Trigiano, R. N., & Gray, D. J. (Eds.). (2011). *Plant tissue culture, development, and biotechnology*. Florida, USA: CRC Press.

Yong, J. W. H., Ge, L., Ng, Y. F., & Tan, S. N. (2009). The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Molecules 14*(12), 5144-5164. https://doi.org/10.3390/molecules14125144.