

# NGHIÊN CỨU TÁC ĐỘNG CỦA ÁNH SÁNG ĐÈN LED LÊN KHẢ NĂNG TĂNG SINH MÔ SEO VÀ SỰ HÌNH THÀNH CÂY HOÀN CHỈNH TỪ PHÔI VÔ TÍNH CÂY SÂM NGỌC LINH (*PANAX VIETNAMENSIS* HA ET GRUSHV.)

Ngô Thanh Tài, Nguyễn Bá Nam, Hồ Thanh Tâm, Hà Thị Mỹ Ngân, Dương Tấn Nhựt\*

Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

## TÓM TẮT

Công nghệ chế tạo đèn LED đã phát triển một cách nhanh chóng trong thời gian gần đây. Từ đó, chúng trở thành công cụ hữu ích cho những nghiên cứu tìm hiểu tác động của quang phổ đến sự sinh trưởng và phát triển của thực vật. Trong nghiên cứu này, tác động của ánh sáng đèn LED (LED xanh dương, xanh lá cây, vàng, đỏ, trắng) và sự kết hợp giữa LED đỏ với LED xanh dương lên khả năng tăng sinh mô sẹo và sự hình thành cây con từ phôi cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) được thực hiện. Kết quả cho thấy, điều kiện chiếu sáng khác nhau ảnh hưởng không giống nhau đến các giai đoạn phát triển của mẫu cây. Ở giai đoạn tăng sinh mô sẹo, với mẫu cây ban đầu có trọng lượng khoảng 70,00 mg, sau 3 tháng nuôi cấy, mô sẹo đã tăng trọng lượng đến 1197 mg dưới điều kiện 100% LED vàng lớn hơn so với nghiệm thức đối chứng sử dụng đèn neon (0,763 g). Tuy nhiên, sự phối hợp giữa ánh sáng LED đỏ và xanh dương (60% LED đỏ + 40% LED xanh dương) tỏ ra phù hợp ở giai đoạn hình thành cây con từ phôi, với 11,21 cây/mẫu, trọng lượng tươi cụm chồi là 1147 mg và chiều cao trung bình là 3,1 cm cao hơn khi so sánh các chỉ tiêu này với các điều kiện chiếu sáng khác.

Từ khóa: đèn LED, mô sẹo, phôi vô tính, quang phổ, sâm Ngọc Linh

## MỞ ĐẦU

Cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) thuộc chi *Panax*, họ Araliaceae. Sâm Ngọc Linh là một loại sâm quý không chỉ riêng đối với Việt Nam mà của cả thế giới, bởi lẽ trong sâm Ngọc Linh có hàm lượng saponin khá cao, đặc biệt là nhóm dammaran với các hợp chất saponin đại diện chính là MR<sub>2</sub>, G-Bb<sub>1</sub> và G-Rg<sub>1</sub> (Luận, 2003). Tuy nhiên, các nghiên cứu ở nước ta về loài sâm này hiện nay phần lớn là phân tích thành phần saponin và tác dụng dược lý của nó. Điển hình như nghiên cứu của Dương Tấn Nhựt và đồng tác giả (2006), khảo sát môi trường nhân nhanh sinh khối mô sẹo, chồi, rễ bất định và bước đầu định lượng saponin trong sinh khối sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*.

Hơn nữa, tác động về sinh lý học của các dạng ánh sáng khác nhau và phổ đặc trưng của chúng cũng là các nhân tố đáng được quan tâm. Sự phân phối phổ ánh sáng, quang kỳ và hướng chiếu sáng cũng đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng của thực vật nuôi cấy mô. Hiện nay, ánh sáng đèn huỳnh quang được sử dụng phổ biến nhất trong các phòng thí nghiệm nuôi cấy mô. Ánh sáng đơn sắc từ đèn LED (đi-ốt phát quang) cũng đã và đang được nghiên cứu làm nguồn sáng trong nhân giống thực vật. So với đèn huỳnh quang thì đèn LED có nhiều ưu điểm hơn: kích thước và thể tích nhỏ, tuổi thọ cao và vùng quang phổ được kiểm soát (Bula *et al.*, 1991). Những nghiên cứu về đèn LED trên đối tượng cấy mô sâm Ngọc Linh hiện nay là rất hạn chế. Hoàng Văn Cường và đồng tác giả (2012), nghiên cứu ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc lên sự sinh trưởng và khả năng tích lũy hoạt chất saponin thông qua nuôi cấy mô sẹo và cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) *in vitro*, nghiên cứu này chỉ ra sự phối hợp giữa một vài tỷ lệ của ánh sáng LED đỏ và LED xanh. Tuy nhiên chưa có báo cáo nào về tác động của các loại phổ ánh sáng LED khác (LED vàng, LED xanh lá cây, LED trắng) lên cây sâm Ngọc Linh. Trong nghiên cứu này, tác động của ánh sáng đèn huỳnh quang, 3U, các loại đèn LED (LED xanh dương, xanh lá cây, vàng, đỏ, trắng và sự kết hợp giữa LED đỏ với LED xanh dương với các tỷ lệ: 90% đỏ + 10% xanh; 80% đỏ + 20% xanh; 70% đỏ + 30% xanh; 60% đỏ + 40% xanh, 50% đỏ + 50% xanh; 40% đỏ + 60% xanh; 30% đỏ + 70% xanh; 20% đỏ + 80% xanh; 10% đỏ + 90% xanh) và điều kiện tối hoàn toàn lên khả năng tăng sinh mô sẹo và sự hình thành cây hoàn chỉnh từ phôi vô tính cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) được thực hiện nhằm tìm ra điều kiện chiếu sáng thích hợp phục vụ cho công tác nhân giống cây được liệu quý này.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu

Nguồn mẫu thực vật được sử dụng trong thí nghiệm là mô sẹo màu trắng sáng có kích thước khoảng 0,5 x 0,5 cm, trọng lượng khoảng 70,00 mg và cụm phôi vô tính 2 tháng tuổi được hình thành từ mô sẹo xấp xỉ có trọng lượng khoảng 30,00 mg của cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*.

### Môi trường nuôi cấy

Thí nghiệm tăng sinh mô sẹo sử dụng môi trường khoáng SH có bổ sung 0,2 mg/l TDZ (thidiazuron), 1,0 mg/l 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid), 30 g/l sucrose, 9 g/l agar (Hoàng Văn Cường *et al.*, 2012).

Môi trường sử dụng trong thí nghiệm tạo cây hoàn chỉnh: môi trường SH có bổ sung 1 mg/l BA (6-benzyladenine), 0,5 mg/l NAA (1-naphthaleneacetic acid), 30 g/l sucrose, 9 g/l agar (Hoàng Văn Cường *et al.*, 2012). Tất cả môi trường được điều chỉnh về pH = 5,7 - 5,8 trước khi hấp khử trùng ở 121°C, 1 atm trong 30 phút.

### Điều kiện chiếu sáng

FL: ánh sáng huỳnh quang (đối chứng); 3U: ánh sáng đèn compact 3U; R: 100% ánh sáng LED đỏ; B: 100% ánh sáng LED xanh dương; Y: 100% ánh sáng LED vàng; G: 100% ánh sáng LED xanh lá cây; W: 100% ánh sáng LED trắng; 9R + 1B: 90% ánh sáng LED đỏ + 10% ánh sáng LED xanh dương; 8R + 2B: 80% ánh sáng LED đỏ + 20% ánh sáng LED

xanh dương; 7R + 3B: 70% ánh sáng LED đỏ + 30% ánh sáng LED xanh dương; 6R + 4B: 60% ánh sáng LED đỏ + 40% ánh sáng LED xanh dương; 5R + 5B: 50% ánh sáng LED đỏ + 50% ánh sáng LED xanh dương; 4R + 6B: 40% ánh sáng LED đỏ + 60% ánh sáng LED xanh dương; 3R + 7B: 30% ánh sáng LED đỏ + 70% ánh sáng LED xanh dương; 2R + 8B: 20% ánh sáng LED đỏ + 80% ánh sáng LED xanh dương; 1R+9B: 10% ánh sáng LED đỏ + 90% ánh sáng LED xanh dương; D: điều kiện tối hoàn toàn.

Mẫu cây được đặt dưới các điều kiện chiếu sáng khác nhau với thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày, cường độ chiếu sáng 40 – 45  $\mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , độ ẩm được duy trì ở 55 – 60%. Đối với các thí nghiệm trong điều kiện tối thì các bình nuôi cây được đặt vào buồng tối.

#### Phương pháp

##### Khảo sát ảnh hưởng các loại ánh sáng LED khác nhau lên sự tăng sinh mô sẹo cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*

Mô sẹo thu được cất thành những mẫu có kích thước khoảng  $0,5 \times 0,5 \text{ cm}$  và cấy lên môi trường SH có bổ sung 1,0 mg/l 2,4-D, 0,2 mg/l TDZ, 30 g/l sucrose, 9 g/l agar. Các bình nuôi cấy sau đó được đặt dưới các điều kiện chiếu sáng khác nhau (FL; 3U; R; B; Y; G; W; D; 9R + 1B; 8R + 2B; 7R + 3B; 6R + 4B; 5R + 5B; 4R + 6B; 3R + 7B; 2R + 8B; 1R + 9B) trong 12 tuần. Mục đích của thí nghiệm là tìm ra loại ánh sáng thích hợp cho quá trình tăng sinh mô sẹo sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*.

##### Khảo sát ảnh hưởng các loại ánh sáng LED khác nhau lên sự hình thành cây hoàn chỉnh từ phôi vô tính cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*

Cụm phôi vô tính có trọng lượng 30,00 mg được cấy trên môi trường SH có bổ sung 1 mg/l BA (6-benzyladenine), 0,5 mg/l NAA (1-naphthaleneacetic acid), 30 g/l sucrose, 9 g/l agar. Các bình nuôi cấy sau đó được đặt dưới các điều kiện chiếu sáng khác nhau (FL; 3U; R; B; Y; G; W; D; 9R + 1B; 8R + 2B; 7R + 3B; 6R + 4B; 5R + 5B; 4R + 6B; 3R + 7B; 2R + 8B; 1R + 9B) trong 12 tuần. Mục đích của thí nghiệm là tìm ra loại ánh sáng thích hợp cho sự hình thành cây hoàn chỉnh từ phôi vô tính cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*.

#### Chỉ tiêu theo dõi

Thí nghiệm tăng sinh mô sẹo: trọng lượng tươi, trọng lượng khô.

Thí nghiệm sự hình thành cây hoàn chỉnh từ phôi vô tính: trọng lượng tươi, trọng lượng khô, chiều cao, số cây/mẫu.

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi nghiệm thử cấy 10 bình. Các số liệu được ghi nhận sau 12 tuần nuôi cấy và được xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0 theo phép thử Duncan với  $\alpha = 0,05$ .

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Kết quả

##### Khảo sát ảnh hưởng các loại ánh sáng LED khác nhau lên sự tăng sinh mô sẹo cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*

Các mô sẹo được cấy chuyển sang môi trường tăng sinh và được nuôi cấy dưới các điều kiện chiếu sáng LED khác nhau, cho thấy các loại ánh sáng khác nhau đã có vai trò khác nhau trong việc kích thích sự tăng sinh của mô sẹo sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro* sau 12 tuần nuôi cấy (Bảng 1).

**Bảng 1. Ảnh hưởng của các loại ánh sáng LED khác nhau lên sự tăng sinh mô sẹo cây sâm Ngọc Linh *in vitro* sau 12 tuần nuôi cấy**

Nghiệm thức	Trọng lượng tươi (mg)	Trọng lượng khô (mg)
FL	763 <sup>cd</sup>	66,1 <sup>f</sup>
3U	640 <sup>de</sup>	46,6 <sup>g</sup>
R	287 <sup>d</sup>	21,6 <sup>g</sup>
B	730 <sup>cd</sup>	67,3 <sup>bc</sup>
Y	1197 <sup>a</sup>	91,7 <sup>a</sup>
G	823 <sup>bc</sup>	63,3 <sup>cd</sup>
W	606 <sup>de</sup>	56,6 <sup>de</sup>
D	771 <sup>bc</sup>	64,5 <sup>f</sup>
9R + 1B	370 <sup>g</sup>	28,4 <sup>h</sup>
8R + 2B	602 <sup>de</sup>	40,5 <sup>gh</sup>
7R + 3B	888 <sup>b</sup>	60,3 <sup>bc</sup>
6R + 4B	930 <sup>b</sup>	79,0 <sup>b</sup>
5R + 5B	525 <sup>ef</sup>	51,7 <sup>ef</sup>
4R + 6B	480 <sup>ef</sup>	41,8 <sup>gh</sup>
3R + 7B	370 <sup>g</sup>	33,5 <sup>hi</sup>
2R + 8B	422 <sup>g</sup>	33,7 <sup>hi</sup>
1R + 9B	510 <sup>ef</sup>	39,0 <sup>gh</sup>

\*Các chữ cái khác nhau (a,b,...) trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở  $\alpha = 0,05$  (Duncan's test)

Trong nghiên cứu này sự tăng sinh của mô sẹo sẫm Ngọc Linh *in vitro* tốt nhất khi nuôi cấy dưới ánh sáng LED vàng với trọng lượng tươi và trọng lượng khô của mô sẹo thu được là cao nhất (tương ứng với 1197 mg và 91,7 mg), cao hơn nghiệm thức đối chứng FL (763 mg và 66,1 mg). Riêng ở nghiệm thức 100% ánh sáng LED đỏ không thúc đẩy sự tăng sinh của mô sẹo, với trọng lượng tươi và khô của mô sẹo là thấp nhất (tương ứng với 287 mg và 21,6 mg). Ngoài ra, khi kết hợp đèn LED đỏ và LED xanh với tỷ lệ 6R + 4B chúng tôi nhận thấy tỷ lệ này kích thích sự tăng sinh của mô sẹo với trọng lượng tươi và trọng lượng khô (930 mg và 79,0 mg) cao hơn so với đối chứng nhưng vẫn thấp hơn khi chỉ sử dụng ánh sáng LED vàng. Kết quả nghiên cứu này cho thấy ánh sáng LED vàng là thích hợp nhất cho quá trình tăng sinh mô sẹo cây sẫm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*.

**Khảo sát ảnh hưởng các loại ánh sáng LED khác nhau lên sự hình thành cây hoàn chỉnh từ phôi vô tính của sẫm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro***

**Bảng 2.** Ảnh hưởng các loại ánh sáng LED khác nhau lên sự hình thành cây hoàn chỉnh từ phôi vô tính sẫm Ngọc Linh *in vitro* sau 12 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	Trọng lượng tươi (mg)	Trọng lượng khô (mg)	Chiều cao cây (cm)	Số cây/mẫu
FL	505 <sup>de</sup>	49 <sup>cd</sup>	1,88 <sup>c</sup>	5,83 <sup>de</sup>
3U	546 <sup>de</sup>	51 <sup>cd</sup>	1,78 <sup>c</sup>	6,503 <sup>d</sup>
R	565 <sup>de</sup>	55 <sup>cd</sup>	2,43 <sup>b</sup>	4,83 <sup>de</sup>
B	288 <sup>h</sup>	28 <sup>gh</sup>	1,15 <sup>ef</sup>	4,50 <sup>de</sup>
Y	244 <sup>f</sup>	27 <sup>gh</sup>	0,91 <sup>f</sup>	4,43 <sup>de</sup>
G	240 <sup>f</sup>	25 <sup>hi</sup>	1,15 <sup>ef</sup>	4,17 <sup>de</sup>
W	320 <sup>h</sup>	33 <sup>g</sup>	1,52 <sup>d</sup>	5,50 <sup>de</sup>
D	206 <sup>f</sup>	20 <sup>h</sup>	1,10 <sup>ef</sup>	3,67 <sup>h</sup>
9R + 1B	368 <sup>gh</sup>	34 <sup>g</sup>	1,92 <sup>c</sup>	5,00 <sup>de</sup>
8R + 2B	673 <sup>bc</sup>	60 <sup>c</sup>	1,5 <sup>d</sup>	7,67 <sup>c</sup>
7R + 3B	778 <sup>b</sup>	74 <sup>b</sup>	1,35 <sup>de</sup>	9,50 <sup>b</sup>
6R + 4B	1147 <sup>a</sup>	127 <sup>a</sup>	3,1 <sup>a</sup>	11,21 <sup>a</sup>
5R + 5B	598 <sup>de</sup>	56 <sup>c</sup>	1,8 <sup>c</sup>	7,67 <sup>c</sup>
4R + 6B	380 <sup>g</sup>	38 <sup>ef</sup>	1,32 <sup>de</sup>	5,83 <sup>de</sup>
3R + 7B	422 <sup>ef</sup>	45 <sup>de</sup>	1,94 <sup>b</sup>	6,20 <sup>d</sup>
2R + 8B	421 <sup>ef</sup>	43 <sup>de</sup>	1,98 <sup>b</sup>	6,33 <sup>d</sup>
1R + 9B	430 <sup>ef</sup>	38 <sup>ef</sup>	1,38 <sup>d</sup>	5,00 <sup>de</sup>

\*Các chữ cái khác nhau (a,b,...) trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở  $\alpha = 0.05$  (Duncan's test).

Cụm phôi vô tính có khối lượng khoảng 30,00 mg được cấy trên môi trường tạo cây hoàn chỉnh và được nuôi cấy dưới các điều kiện chiếu sáng LED khác nhau. Kết quả sau 12 tuần nuôi cấy cho thấy các loại ánh sáng khác nhau cũng ảnh hưởng đến sự hình thành cây hoàn chỉnh từ phôi vô tính cây sẫm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro* (Bảng 2). Trong nghiên cứu này sự hình thành cây hoàn chỉnh từ phôi vô tính cây sẫm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro* là cao nhất khi nuôi cấy dưới điều kiện chiếu sáng là 6R + 4B (60% LED đỏ + 40% LED xanh dương) với các chỉ tiêu theo dõi như trọng lượng tươi, trọng lượng khô, chiều cao cây, số cây/mẫu thu được là cao nhất (tương ứng với 1147 mg, 127 mg, 3,1 cm và 11,21 cây/mẫu) cao hơn nhiều so với nghiệm thức đối chứng FL (505 mg, 49 mg, 1,88 cm, 5,83 cây). Sự phát triển của phôi cần có ánh sáng nên khi nuôi cấy trong điều kiện tối (D) ức chế sự sinh trưởng của phôi với các chỉ tiêu theo dõi là thấp nhất (tương ứng với 206 mg, 20 mg, 1,10 cm, 3,67 cây/mẫu), nghiệm thức D chiều cao cây cao hơn so với nghiệm thức Y (100% ánh sáng vàng) nhưng hình thái cây không có diệp lục tố, cây cao nhưng yếu ớt. Nghiệm thức D không có sự tác động của ánh sáng nên hầu hết các chỉ tiêu theo dõi của nghiệm thức là rất thấp. Như vậy, sự kết hợp giữa đèn LED đỏ và LED xanh với tỷ lệ 6R + 4B là thích hợp nhất cho sự hình thành cây. Trong khi đó, đèn LED vàng và LED xanh là cây lại ức chế sự hình thành cây hoàn chỉnh từ phôi vô tính sẫm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*.

### Thảo luận

Ánh sáng điều khiển sự sinh trưởng và phát triển của thực vật thông qua hai con đường: quang hợp và quang phát sinh hình thái. Ở các mô nuôi cấy, có ba yếu tố ánh sáng tác động đến sự sinh trưởng, phát sinh hình thái là bước sóng, cường độ và thời gian chiếu sáng. Trong nghiên cứu này chúng tôi nhận thấy ở nghiệm thức Y (100% ánh sáng vàng) với bước sóng là 570 - 590 nm ảnh hưởng đáng kể đến khả năng tăng sinh mô sẹo với trọng lượng tươi (1197 mg) và trọng lượng khô (91,7 mg) là cao hơn so với nghiệm thức đối chứng (FL) và các nghiệm thức còn lại (Hình 1A). Chiếu sáng với cường độ ánh sáng và chất lượng phổ ánh sáng khác nhau có tác động khác nhau lên sự tăng sinh của mô sẹo của *Cistanche deserticola* và sự sinh tổng hợp phenylethanoid glycosides - một thành phần có vai trò quan trọng trong việc ổn định chức năng phân chia tế bào (Ouyang *et al.*, 2003). Soni và đồng tác giả (1996), chỉ ra rằng ánh sáng vàng thúc đẩy sự hình thành mô sẹo và chồi từ mẫu lá cây *Vigna acatitifolia* cao hơn so với đối chứng là ánh sáng trắng, trong khi ánh sáng đỏ lại ức chế sự hình thành mô sẹo và rễ. Tuy nhiên, ánh sáng vàng lại ức chế sự sinh trưởng của chồi hơn so với ánh sáng đỏ. Theo Miller và Zalewska (2006), ánh sáng vàng cũng ức chế sự sinh trưởng của chồi so với đối chứng là đèn huỳnh quang nhưng ánh sáng xanh là cây lại thúc đẩy sự phát triển cây *Chrysanthemum* nuôi cấy *in vitro*. Chỉ số tăng trưởng của mô sẹo và dịch treo tế bào cây thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) trong điều kiện tối thì cao hơn khi nuôi cấy dưới điều kiện chiếu sáng huỳnh quang, nhưng sự tăng hợp taxol ở điều kiện chiếu sáng thì cao hơn trong tối (Lê Thị Thủy Tiên *et al.*, 2010). Sự phát sinh phôi vô tính của Lan hồ điệp từ mô sẹo bị ức chế khi nuôi cấy dưới đèn LED đỏ và LED xanh (Nguyễn Bá Nam *et al.*, 2012). Như vậy, điều kiện chiếu sáng khác nhau sẽ có những tác động không giống nhau lên các giai đoạn phát triển của mẫu cấy.

Ánh sáng có ảnh hưởng rất lớn lên quang phát sinh hình thái ở thực vật thông qua các quang thụ cảm, các loại quang thụ thể (photoreceptor) này có độ hấp thụ chọn lọc với các ánh sáng quang phổ khác nhau trong việc điều hòa sự phát sinh hình thái. Ánh sáng vàng từ ức chế sự sinh trưởng của một số loại cây trồng như *Chrysanthemum*, *Vigna acutilifolia* nhưng lại thúc đẩy sự hình thành mô sẹo, chồi cây *Vigna acutilifolia* và tăng sinh mô sẹo của cây sâm Ngọc Linh. Ánh sáng LED xanh dương kết hợp LED đỏ thúc đẩy sự khởi tạo và tăng sinh mô sẹo cây sâm Ngọc Linh (Hoàng Văn Cường *et al.*, 2012). Trong nghiên cứu này ánh sáng LED đỏ và LED xanh kết hợp với tỷ lệ 6R + 4B tác động tích cực lên khả năng tăng sinh mô sẹo. Đây cũng một khám phá mới trong nghiên cứu tác động của ánh sáng LED đỏ và LED xanh dương lên khả năng tăng sinh mô sẹo cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*. Hiện nay chưa có báo cáo nào về sự ảnh hưởng của ánh sáng LED vàng, LED xanh lá cây, LED trắng lên khả năng tăng sinh mô sẹo cây sâm Ngọc Linh. Từ kết quả thu được cho thấy sự tăng sinh của mô sẹo cây sâm Ngọc Linh đạt hiệu quả tốt nhất khi nuôi cấy dưới đèn LED vàng. Tuy nhiên, ánh sáng LED xanh lá cây cũng tác động tích cực lên sự tăng sinh của mẫu cây với trọng lượng tươi và trọng lượng khô (823 mg và 63 mg) các hơn 3 lần so với đèn LED đỏ (287 mg và 21,6 mg). Ngoài tác động của ánh sáng LED xanh kết hợp với LED đỏ thì tác động của ánh sáng LED vàng và LED xanh lá cây lên khả năng tăng sinh mô sẹo là một khám phá mới trong nghiên cứu này.

Các nghiên cứu trước đây có gắng tìm ra mối quan hệ giữa tỷ lệ ánh sáng đỏ và xanh phù hợp với sự phát triển của thực vật, nhưng vẫn chưa được xác định rõ ràng. Ánh sáng đỏ quan trọng cho sự kéo dài thân và chồi, đáp ứng phytochrome và thay đổi cấu trúc giải phẫu của cây. Trong khi đó, ánh sáng xanh lại có vai trò quan trọng trong quá trình tổng hợp chlorophyll, sự mở của khí khổng, tổng hợp các enzyme, sự trưởng thành của lục lạp và quá trình quang hợp.

Chọn lọc ra nguồn chiếu sáng LED thích hợp cho sự hình thành cây con từ phôi vô tính cây sâm Ngọc Linh là một nghiên cứu mới và quan trọng trong báo cáo này. Kết quả trong nghiên cứu cho thấy trọng lượng tươi, trọng lượng khô, chiều cao cây, số cây/mẫu cao nhất khi được nuôi cấy dưới tỷ lệ ánh sáng LED đỏ + LED xanh dương là 6R + 4B (Bảng 2, Hình 1B). Trong khi đó, ánh sáng LED vàng và LED xanh lá cây lại ức chế sự hình thành cây hoàn chỉnh từ phôi vô tính cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*. So với ánh sáng LED vàng (Y) và LED xanh lá cây (G) thì ánh sáng đèn huỳnh quang (FL) cũng có tác động đáng kể nhưng vẫn còn thấp hơn rất nhiều so với ánh sáng LED đỏ kết hợp với LED xanh dương với tỷ lệ 6R + 4B (Bảng 2). Ánh sáng LED đỏ và LED xanh với tỷ lệ thích hợp có tác động thúc đẩy sự sinh trưởng và phát triển của một số loại cây trồng như Địa lan, Dâu tây (7R + 3B), Chuối, Bạch đàn, Lan ý, Lan hài (8R + 2B) (Nhut, 2002; Tanaka, Sakanishi, 1980). Như vậy, tùy vào từng giai đoạn phát triển của mẫu cây mà chúng ta phối hợp tỷ lệ của đèn LED xanh dương và LED đỏ sao cho sự sinh trưởng và phát triển của cây là tốt nhất.



Hình 1. A. Sự tăng sinh mô sẹo sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro* dưới các điều kiện chiếu sáng khác nhau sau 12 tuần nuôi cấy. B. Sự hình thành cây hoàn chỉnh từ phôi vô tính sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro* dưới các điều kiện chiếu sáng khác nhau sau 12 tuần nuôi cấy. a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub>. Mô sẹo tăng sinh dưới các điều kiện chiếu sáng FL, 3U, W, D, G, Y (từ trái qua phải), b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>. Mô sẹo tăng sinh dưới các điều kiện chiếu sáng B, 1R + 2B, 2R + 8B, 3R + 7B, 4R + 6B, 5R + 5B (từ trái qua phải); c<sub>1</sub>, c<sub>2</sub>. Mô sẹo tăng sinh dưới các điều kiện chiếu sáng R, 9R + 1B, 8R + 2B, 7R + 3B, 6R + 4B, 5R + 5B (từ trái qua phải).

Trong nghiên cứu này chúng tôi tìm hiểu mối quan hệ giữa ánh sáng LED đỏ và LED xanh dương đến sự hình thành cây hoàn chỉnh. Qua quá trình nghiên cứu chúng tôi nhận thấy sự hình thành cây con cây sâm Ngọc Linh cũng bị ức chế khi nuôi cấy dưới ánh sáng LED xanh dương (Hình 1B). Tuy nhiên, khi nuôi cấy dưới 100% ánh sáng LED đỏ nhưng không có sự bổ sung ánh sáng xanh thì ức chế số lượng cây hình thành (4,83 cây/mẫu). Mặc dù, kết quả về chiều cao cây (2,43 cm) tốt hơn so với các nghiệm thức còn lại (ngoại trừ nghiệm thức tốt nhất là 6R + 4B). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Bá Nam và đồng tác giả (2012), sự tái sinh cây con từ phôi vô tính Lan hồ điệp bị ức chế khi nuôi cấy dưới 100% LED xanh và compact 1U màu xanh lục, sự kéo dài lá cao nhất khi nuôi cấy dưới 100% LED đỏ. Khi bổ sung ánh sáng đỏ mà không có bổ sung ánh sáng xanh, cây con tái sinh thường có biểu hiện bất thường (như khi mẫu bất thường, xuất hiện thùy tinh thể...) (Nhut, 2002). Trong nghiên cứu này chúng tôi cũng nhận thấy khi kết hợp ánh sáng LED đỏ và LED xanh với tỷ lệ 6R + 4B cũng thúc đẩy sự tăng sinh của mô sẹo cây sâm Ngọc Linh.

Nhìn chung, các nghiên cứu thừa nhận sự kết hợp giữa LED đỏ và LED xanh dường như tăng khả năng sinh trưởng và phát triển, gia tăng tốc độ quang hợp của cây (Golins *et al.*, 1997). Tóm lại, sự hình thành cây từ phôi vô tính đạt hiệu quả cao nhất khi nuôi cấy dưới đèn LED xanh và LED đỏ với tỷ lệ 6R + 4B với các chỉ tiêu theo dõi về trọng lượng tươi, trọng lượng khô, chiều cao cây, số cây/mẫu là tốt nhất. Tiếp theo là tỷ lệ 7R + 3B và thấp nhất là nghiệm thức G (ánh sáng LED xanh lá cây). Kết hợp kỹ thuật tạo phôi với việc xử lý ánh sáng thích hợp sẽ đem lại hiệu quả tốt cho mục đích nhân giống cây sâm Ngọc Linh có chất lượng tốt trong thời gian ngắn nhằm đảm bảo công tác bảo tồn và phát triển loại được liệu quý hiếm này.

## KẾT LUẬN

Kết quả của nghiên cứu cho thấy việc lựa chọn nguồn ánh sáng thích hợp trong từng giai đoạn nuôi cấy khác nhau là điều cần phải quan tâm trong việc nhân giống cũng như thu nhận sinh khối cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*. Mô sẹo tăng sinh cao nhất khi được nuôi cấy dưới ánh sáng đèn LED vàng. Ngoài ra, ánh sáng LED xanh lá cây cũng có tác động tích cực lên khả năng tăng sinh mô sẹo. Trong khi đó, ánh sáng đèn LED đỏ và LED xanh được kết hợp với tỷ lệ 6R + 4B thích hợp cho sự hình thành cây con từ phôi vô tính cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*.

## Lời cảm ơn

Các tác giả xin chân thành cảm ơn Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (Nafosted) và Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã hỗ trợ kinh phí cho đề tài nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bula RJ, Morrow RC, Tibbitts TW, Ignatius RW, Martin TS, Barta D (1991) Light-emitting diodes as a radiation source of plants. *Hort Sci*, 26: 203
- Golins GD, Yorio NC, Sarwo M, Brow CS (1997) Photomorphogenesis photosynthesis, and seed of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplement blue lighting. *Acta Physiol Plantarum*, 30: 507.
- Hoàng Văn Cường, Nguyễn Bá Nam, Trần Công Luận, Bùi Thế Vinh, Dương Tân Nhứt (2012) Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc lên sự sinh trưởng và khả năng tích lũy hoạt chất saponin thông qua nuôi cấy mô sẹo và cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) *in vitro*. *Tạp chí Khoa Học và Công Nghệ*, 50 (4): 475-491.
- Lê Thị Thủy Tiên, Bùi Trang Việt, Nguyễn Đức Lương (2010) Khảo sát vài yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh tổng hợp taxol của các hệ thống tế bào *Taxus Wallichiana Zucc in vitro*. *Tạp chí Phát triển Khoa Học và Công Nghệ*, 13 (T3): 67-77.
- Miér N, Zalewska M (2006) The influence of light colour on micropropagation of Chrysanthemum. Färi MG, Holb I, Bisztray GD, eds. *Proc V<sup>th</sup> SI in vitro culture and Hort, Breeding. Acta Hort*: 725.
- Nguyễn Bá Nam, Lý Thị Phương Loan, Trịnh Thị Hương, Dương Tân Nhứt (2012) Ảnh hưởng một số nguồn chiếu sáng nhân tạo lên quá trình phát sinh phôi vô tính và tái sinh cây Lan hồ điệp (*Phalaenopsis amabilis*). *Tạp chí công nghệ sinh học*, 10 (4A): 923-931.
- Nhứt DT (2002) *In vitro* growth and physiological aspects of some horticultural plantlets cultured under red and blue light-emitting diodes (LEDs) Doctoral thesis, Kagawa University, Japan.
- Nhứt DT, Huy BN, Phong PT, Hai NT, Luan TC (2006) Primary study on multiplication of adventitious root of *Panax vietnamensis* - a valuable material source of saponin isolation. *Biotechnol Agron Plant Ptot*: 118-121.
- Ouyang J, Wang X, Zhao B, Yuan X, Wang Y (2003) Effects of rare earth elements on the growth of *Cistanche deserticola* cells and the production of phenylethanoid glycosides. *J Biotechnol*, 102 (2): 129-34
- Soni J, Swamkar PL (1996) Morphogenetics and biochemical variations under different spectral light in leaf cultures of *Vigna aconitifolia*. *J Phyto Res*, 9 (1): 89-93.
- Tanaka M, Sakamishi Y (1980) Clonal propagation of *Phalaenopsis* through tissue culture. Tanaka M, Saito K, eds. *Proceedings of the 19th world orchid conference Tokyo, Japan*. 215.
- Trần Công Luận (2003) Kết quả nghiên cứu về hóa học sâm Việt Nam *Hội thảo bảo tồn và phát triển sâm Ngọc Linh tại tỉnh Quảng Nam*: 62-75.

## EFFECTS OF LIGHT-EMITTING DIOEDS (LEDS) ON THE CALLUS GROWTH AND PLANT REGENERATION FROM SOMATIC EMBRYO CULTURES OF PANAX VIETNAMENSIS HA ET GRUSHV

Ngo Thanh Tai, Nguyen Ba Nam, Ho Thanh Tam, Ha Thi My Ngan, Duong Tan Nhut\*

Tay Nguyen Institute for Scientific Research, Vietnam Academy of Science and Technology

### SUMMARY

Light-emitting diodes (LEDs) are a rapidly-developing technology for plant growth lighting and have become a powerful tool for understanding the spectral effects of light on plants. A thorough understanding of this effect is essential to the development of light sources for optimal plant morphogenesis, growth and development. In this study, we report the photobiological effect of five types of LEDs (blue, green, yellow, red and white LEDs) and red LEDs combined with blue LEDs (90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 % red LEDs plus 10, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90% blue LEDs, respectively) on callus growth and plantlet regeneration from somatic embryo cultures of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. The results of the study indicated that there were significant differences between the responses of explants placed under different lighting conditions. Data showed that the best callus growth with the fresh weight was increased from 70.00 mg to 1197 mg under yellow LEDs after three months of culture. The combination of red LEDs and blue LEDs (60% red LEDs + 40% blue LEDs) was revealed to be the most suitable lighting condition for plant regeneration from somatic embryos (11.21 plantlets/explant, bud fresh weight of 1147 mg, and average plant height of 3.1 cm).

**Keywords:** callus, LEDs light, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv., somatic embryogenesis, spectrum.

\*Author for correspondence: Tel. +84-63-3631056; Fax +84-63-3631028, E-mail. duongtanhnut@gmail.com