

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC LOẠI ĐÈN LED KHÁC NHAU LÊN SỰ SINH TRƯỞNG LAN *Dendrobium Caesar white* IN VITRO

Huỳnh Hữu Đức*, Nguyễn Hoàng Cẩm Tú, Nguyễn Hoàng Duy Linh, Nguyễn Thị Từ Vy, Nguyễn Thị Xuân Hiền, Nguyễn Trường Giang, Lâm Vỹ Nguyên, Dương Hoa Xô

Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Hiện nay, việc nhân giống *in vitro* thường sử dụng đèn huỳnh quang là nguồn sáng chính trong nhân giống và cho hiệu quả nhất định. Tuy nhiên, khi sử dụng nguồn sáng này trong nhân giống sẽ gặp một số nhược điểm như nhiệt lượng cao, tiêu tốn nhiều điện năng, tuổi thọ thấp sẽ nâng cao chi phí sản xuất dẫn đến làm giảm hiệu quả trong sản xuất. Đồng thời, trong nhân giống *in vitro*, đối với từng giai đoạn sinh trưởng khác nhau và giống cây khác nhau sẽ có nhu cầu ánh sáng cụ thể, trong khi đó ánh sáng huỳnh quang có những phổ không cần thiết. Việc hướng đến sử dụng đèn LED nhằm khắc phục một số nhược điểm trên, nâng cao hiệu quả sử dụng nguồn sáng, nâng cao phẩm chất cây con, giảm chi phí sản xuất, nâng cao hiệu quả sản xuất rất cần thiết. Trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá ảnh hưởng của các loại đèn LED khác nhau và tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương lên sự tái sinh chồi, nhân chồi *in vitro* và tạo cây hoàn chỉnh giống lan *Dendrobium Caesar white*. Kết quả cho thấy tỉ lệ đèn LED 70% đỏ - 30% xanh dương và đèn LED màu Nhật thích hợp cho quá trình nhân chồi và tái sinh chồi *in vitro* trên giống *Dendrobium* với số chồi trung bình/chồi tương ứng là 7,5 chồi/mẫu và 8,5 chồi/mẫu. Tỷ lệ của đèn LED 100% đỏ và LED màu Hàn Quốc phù hợp cho tái sinh cây *in vitro* hoàn chỉnh trên giống *Dendrobium Caesar white* với chiều cao cây và số rễ tương ứng 61,39 mm/cây và 14,64 rễ/cây; 63,19 mm/cây và 11,33 rễ/cây. Kết quả trên cho thấy việc sử dụng đèn LED thích hợp trong từng giai đoạn sẽ nâng cao hiệu quả nhân giống cũng như chất lượng giống.

Từ khóa: Đèn huỳnh quang, đèn LED, lan Hoàng thảo, nhân giống *in vitro*.

MỞ ĐẦU

Ánh sáng ảnh hưởng rất lớn lên sự quang hợp, phát sinh hình thái ở thực vật thông qua các quang thụ thể. Thực vật bậc cao có ít nhất ba loại quang thụ thể (photoreceptor) có độ hấp thụ chọn lọc với các ánh sáng quang phổ khác nhau, điều hòa sự phát sinh hình thái, đó là: Phytochrome (650 - 680 nm; ánh sáng đỏ/đỏ xa), các thụ thể nhận ánh sáng xanh gồm cryptochrome (340 - 520 nm; ánh sáng xanh UV-A), phototropin, thụ thể hấp thụ tia cực tím UV - B (290 - 350 nm) và UV-A (Morrow, 2008; Pati, 2014). Sự chiếu sáng có ảnh hưởng lên sự sinh trưởng của tế bào, mô thực vật và sự sinh tổng hợp chất biến dưỡng sơ cấp và thứ cấp, chúng tăng theo cường độ chiếu sáng. Hiện tượng bão hòa ánh sáng xuất hiện sau khi cường độ chiếu sáng đạt đến điểm bão hòa ánh sáng và có khác nhau giữa các loài khác nhau (Dương Tấn Nhật, Nguyễn Bá Nam, 2014). Sự phân phối phổ ánh sáng, quang kỳ và hướng chiếu sáng đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng của thực vật nuôi cấy mô. Sự phát sinh hình thái do ánh sáng (sự nảy mầm, sự kéo dài đốt thân...) xảy ra ở những dải bước sóng từ 400 - 500 nm (xanh lục), 600 - 700 nm (đỏ) và 700 - 800 nm (đỏ xa) (Ammirato, 1986; Debergh *et al.*, 1992; Silva *et al.*, 2014). Ánh sáng ảnh hưởng đến quá trình tạo rễ và chồi bất định của mẫu cấy *in vitro*. Cường độ ánh sáng thấp thích hợp cho quá trình tạo rễ, ánh sáng đỏ cam thích hợp cho sự ra rễ hơn ánh sáng xanh da trời. Sự phát sinh hình thái (chiều cao, hình dáng...), sự tăng trưởng chồi ở thực vật bị ảnh hưởng bởi các nhân tố của môi trường như nhiệt độ, CO₂, chất dinh dưỡng, chất lượng ánh sáng, thời gian và cường độ chiếu sáng (Debergh *et al.*, 1992). Cường độ và sự phân phối dải năng lượng như ánh sáng xanh, đỏ và đỏ xa phát ra từ đèn ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của chồi, cây *in vitro*. Thực vật rất nhạy cảm với các điều kiện ánh sáng, vì vậy sự tăng trưởng và phát triển ở chồi, cây *in vitro* có thể điều khiển bằng ánh sáng LED.

Họ Lan hay họ Phong Lan (danh pháp khoa học: Orchidaceae) là một họ thực vật có hoa, thuộc bộ Măng tây (Asparagales), lớp thực vật một lá mầm. Đây là một trong những họ lớn nhất của thực vật, và phân bố nhiều nơi trên thế giới, nhưng tập trung chủ yếu ở vùng nhiệt đới (Dressler, 1993). Theo thống kê của vườn thực vật hoàng gia Kew, họ Lan gồm 880 chi và gần 22.000 loài được chấp nhận, nhưng số lượng chính xác vẫn chưa được xác định rõ, có thể nhiều tới 25.000 loài. Số lượng loài Lan cao gấp 4 lần số lượng loài động vật có vú hay hơn 2 lần số lượng loài chim. Lan chiếm khoảng 6 - 11% số lượng loài thực vật có hoa (Chase, 2005). Bên cạnh đó, khoảng 800 loài Lan mới được bổ sung thêm mỗi năm. Trong họ Lan, các chi lớn nhất là *Bulbophyllum* (khoảng 2.000 loài), *Epidendrum* (khoảng 1.500 loài), *Dendrobium* (khoảng 1.400 loài) và *Pleurothallis* (khoảng 1.000 loài). Orchidaceae phân bố rộng khắp trên thế giới, chúng có thể có mặt trong mọi môi trường sống ngoại trừ các sa mạc và sông băng. Các loài này phần lớn được tìm thấy ở khu vực nhiệt đới, chủ yếu là châu Á, Nam Mỹ và Trung Mỹ. Ở các vĩ độ cao hơn vùng Bắc cực, ở miền Nam Patagonia... cũng đã tìm thấy chúng. Orchidaceae phân bố rộng khắp như: châu Đại Dương 50 - 70 chi, châu Âu và ôn đới châu Á 40 - 60 chi, Bắc Mỹ 20- 25 chi, Bắc Mỹ 20 - 25 chi (De *et al.*, 2011).

Hiện nay, đa số các phòng nuôi cấy mô thực vật đều sử dụng đèn huỳnh quang là nguồn chiếu sáng chính trong nhân giống và cho hiệu quả nhất định. Tuy nhiên, khi sử dụng nguồn sáng này trong nhân giống sẽ gặp một số nhược điểm như nhiệt lượng cao, tiêu tốn nhiều điện năng, tuổi thọ thấp sẽ nâng cao chi phí sản xuất dẫn đến làm giảm hiệu quả trong sản xuất. Đồng thời, trong nhân giống *in vitro*, đối với từng giai đoạn sinh trưởng khác nhau và giống cây khác nhau sẽ có nhu cầu ánh sáng cụ thể trong khi đó ánh sáng huỳnh quang có những phổ không cần thiết. Trong khi đó, những nghiên cứu gần đây cho thấy việc sử dụng đèn LED trong nhân giống *in vitro* có hiệu quả nhất định cho một số giống cây (dâu tằm, đồng tiền, hoa chuông, *Dendrobium*). Do đó, việc hướng đến sử dụng đèn LED nhằm khắc phục một số nhược điểm trên, nâng cao hiệu quả sử dụng nguồn sáng, nâng cao phẩm chất cây con, giảm chi phí sản xuất. Để cải thiện chất lượng giống, giảm chi phí sản xuất, nâng cao hiệu quả sản xuất cần thiết phải xác định loại đèn LED phù hợp cho từng giai đoạn phát triển, từng loại cây là rất cần thiết.

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh khác nhau và các loại đèn thương mại khác nhau được tiến hành nhằm phân tích đánh giá các ưu, nhược điểm của từng loại cho sự tăng trưởng và phát triển của các giống lan *Dendrobium in vitro*.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Chồi đơn và cụm chồi lan hoàng thảo (*Dendrobium Caesar white*) *in vitro* có kích thước đồng nhất.

Phương pháp

Khảo sát ảnh hưởng của các loại đèn LED khác nhau và tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương lên sự tái sinh chồi và nhân chồi *in vitro*

Chồi đơn hoặc cụm chồi của *Dendrobium Caesar white* có kích thước và độ tuổi đồng nhất được sử dụng cho quá trình tái sinh chồi và nhân nhanh chồi. Mẫu cấy được cấy trên môi trường MS bổ sung 30g/L sucrose; 0,5 g/L peptone; 0,1 g/L inositol; 0,02 g/L glycine; 0,5 g/L PVP; 7 g/L agar; 1 mg/L BA; 0,5 mg/L NAA; 50 ml/L nước dừa; 100 g/L chuối, pH = 5,5. Thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày, độ ẩm của phòng nuôi 70 - 80%, nhiệt độ phòng nuôi 25 ± 3 °C với các loại đèn LED khác nhau và tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương khác nhau (bảng 1, 2). Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 10 nghiệm thức, với 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 5 bình, mỗi bình 6 mẫu cấy. Đánh giá khả năng tăng trưởng sau 6 tuần nuôi cấy với các chỉ tiêu số chồi/mẫu, tỷ lệ mẫu tạo chồi, trọng lượng tươi, trọng lượng khô, hàm lượng Chlorophyll.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương khác nhau lên sự tái sinh chồi và nhân chồi *in vitro*

TT	Nghiệm thức	Loại đèn	Cường độ ánh sáng $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$
1	HQ	Đèn huỳnh quang (Điện quang)	20 ± 2
2	100%R	Đèn LED 100% Đỏ	24 ± 2
3	100%B	Đèn LED 100% Xanh dương	24 ± 2
4	60%R-40%B	Đèn LED 60% Đỏ + 40% Xanh dương	24 ± 2
5	70%R-30%B	Đèn LED 70% Đỏ + 30% Xanh dương	24 ± 2
6	80%R-20%B	Đèn LED 80% Đỏ + 20% Xanh dương	24 ± 2

Chú thích: Các loại đèn LED được cung cấp bởi công ty Rạng Đông, cường độ ánh sáng được xác định bằng máy đo Hatidar.

Bảng 2. Bố trí thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của các loại đèn huỳnh quang, LED trắng và LED màu lên sự tái sinh chồi và nhân chồi *in vitro*

TT	Nghiệm thức	Loại đèn	Cường độ ánh sáng $(\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s})$
1	HQ 1	Đèn huỳnh quang Điện Quang	20 ± 2
2	HQ 2	Đèn huỳnh quang Điện Quang	40 ± 2
3	MC 1	Đèn huỳnh quang có máng chụp	50 ± 2
4	MC 2	Đèn huỳnh quang có máng chụp	60 ± 2
5	LMHQ 1	Đèn LED màu-Hàn Quốc	25 ± 2
6	LMHQ 2	Đèn LED màu-Hàn Quốc	50 ± 2
7	LMN 1	Đèn LED màu -Nhật	35 ± 2
8	LMN 2	Đèn LED màu -Nhật	65 ± 2
9	LTHQ 1	Đèn LED trắng -Hàn Quốc	20 ± 2
10	LTHQ 2	Đèn LED trắng -Hàn Quốc	40 ± 2
11	LT 1	Đèn LED trắng-Rạng Đông	30 ± 2
12	LT 2	Đèn LED trắng-Rạng Đông	50 ± 2

Chú thích: Các loại đèn LED trên là đèn thương mại sử dụng trong nuôi cấy mô, cường độ ánh sáng được xác định xác định thực tế bằng máy đo Hatidar.

Khảo sát ảnh hưởng của các loại đèn LED khác nhau và tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương lên sự tạo cây hoàn chỉnh

Chồi đơn của *Dendrobium Caesar white* có kích thước và độ tuổi đồng nhất được sử dụng cho quá trình tạo cây hoàn chỉnh. Mẫu cấy được cấy trên môi trường MS bổ sung 30 g/L sucrose; 0,5 g/L peptone; 0,1 g/L inositol; 0,02 g/L glycine; 0,5 g/L PVP; 7 g/L agar; 0,5 mg/L BA; 0,1 mg/L NAA; 50 ml/L nước dừa; 100 g/L chuối, pH = 5,5. Thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày độ ẩm của phòng nuôi 70 - 80%, nhiệt độ phòng nuôi 25 ± 3° C với các loại đèn LED khác nhau và tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương khác nhau (bảng 1, 2). Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 10 nghiệm thức, với 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 5 bình, mỗi bình 6 mẫu cấy. Đánh giá khả năng tăng trưởng, phát triển sau 8 tuần nuôi cấy với các chỉ tiêu chiều cao cây, chiều dài rễ, số lượng rễ/mẫu, số lá/cây, hàm lượng chlorophyll, trọng lượng tươi, trọng lượng khô. Hàm lượng chlorophyll được xác định bằng phương pháp huỳnh quang. Mỗi nghiệm thức 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 3 mẫu. Cân 25 mg mẫu, cắt nhỏ mẫu cho vào ống nghiệm chứa 10 ml acetone 80%, đậy kín và đặt trong tối ở nhiệt độ phòng trong 72 giờ. Sau 72 giờ, tiến hành đo mật độ quang của các mẫu với bước sóng 645 nm và 663 nm bằng máy đo quang phổ. Số liệu được phân tích và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và Minitab 17.0

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Khảo sát ảnh hưởng của các loại đèn LED khác nhau và tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương lên sự tái sinh chồi và nhân chồi *in vitro*

Chất lượng của ánh sáng, loại ánh sáng ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng và phát triển của mẫu cấy *in vitro* thông qua quá trình quang hợp, tổng hợp protein, flavonoid và qua phát sinh hình thái (Silva *et al.*, 2014). Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện và chứng minh rằng việc phối hợp đèn led xanh/đỏ làm tăng khả năng sinh trưởng chồi cho nhiều loại cây khác nhau, mỗi loại cây khác nhau thích nghi với sự phối hợp tỷ lệ xanh/đỏ khác nhau. Sau 6 tuần đánh giá ảnh hưởng của các loại đèn LED khác nhau và tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương lên sự tái sinh chồi và nhân chồi *in vitro* lan *Dendrobium Caesar white* cho kết quả như sau:

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương khác nhau lên sự tái sinh chồi và nhân chồi *in vitro* của lan *Dendrobium Caesar white*

Nghiệm thức	Số chồi (chồi/mẫu)	Số lá (lá/mẫu)	Chiều cao (mm)	Trọng lượng tươi (mg)	Trọng lượng khô (mg)	Hàm lượng chất khô (%)
HQ	5,91 ^d	18,07 ^b	15,94 ^c	970,0 ^c	42,8 ^c	4,41 ^d
100%B	5,89 ^d	17,72 ^b	15,41 ^c	1362,7 ^a	83,1 ^a	6,09 ^b
100%R	6,87 ^b	21,70 ^a	19,94 ^a	848,3 ^d	52,4 ^b	6,18 ^b
80%R-20%B	7,07 ^b	20,09 ^{ab}	18,02 ^b	1333,6 ^b	83,1 ^a	6,23 ^b
70%R-30%B	7,50^a	22,13^a	17,19^b	720,7^e	41,9^c	5,81^c
60%R-40%B	6,41 ^c	18,91 ^b	15,91 ^c	647,7 ^f	42,3 ^c	6,53 ^a
CV(%)	4,83	10,83	4,30	29,27	32,84	12,84

Chú thích: Các chữ cái: a, b, c, d... trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê theo trắc nghiệm phân hạng Duncan's test với độ tin cậy P ≤ 0,05.



Hình 1. Mẫu chồi lan *Dendrobium Caesar white* ở các tỉ lệ ánh sáng đỏ - xanh dương sau 6 tuần nuôi cấy

Kết quả nghiên cứu cho thấy đèn LED có tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương khác nhau tác động đến quá trình tái sinh chồi và nhân nhanh chồi lan *Dendrobium Caesar white* khác nhau. Đèn LED có tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương là 70%R-30%B có hiệu quả trong quá trình tái sinh chồi và nhân nhanh chồi với số chồi trung bình/mẫu là 7,5 chồi/mẫu, số lá trung bình/mẫu là 22,13 lá/mẫu, chồi có kích thước đồng đều. Trọng lượng tươi của mẫu thí nghiệm sử dụng đèn LED có tỷ lệ ánh sáng 70%R-30%B thấp hơn các nghiệm thức còn lại với 720,7

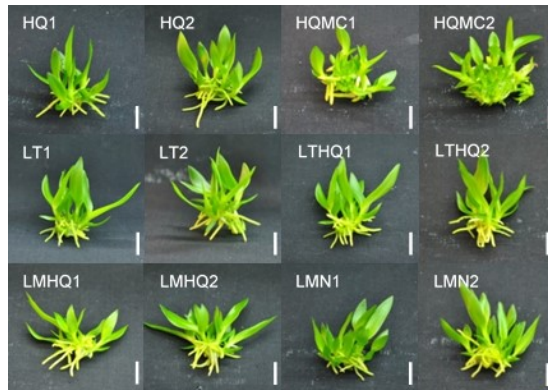
CÔNG NGHỆ TẾ BÀO

mg/mẫu. Điều này cho thấy trong giai đoạn tái sinh chồi, nhân nhanh chồi sử dụng tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương là 70% R - 30% B có hiệu quả trên lan *Dendrobium Caesar white*.

Bảng 4. Ảnh hưởng của các loại đèn huỳnh quang, LED trắng và LED màu lên sự tái sinh chồi và nhân chồi *in vitro* của lan *Dendrobium Caesar white*

Nghiệm thức	Số chồi (chồi/mẫu)	Số lá (lá/mẫu)	Chiều cao (mm)	Trọng lượng tươi (mg)	Trọng lượng khô (mg)	Hàm lượng chất khô (%)
HQ 1	5,91 ^e	18,07 ^f	20,80 ^{de}	970,0 ^f	42,8 ^g	4,41 ⁱ
HQ 2	6,41 ^{de}	19,78 ^{ed}	22,13 ^{bc}	1073,9 ^e	47,4 ^{fg}	4,41 ⁱ
LT 1	6,61 ^{cd}	20,42 ^{cde}	21,96 ^{bcd}	1718,4 ^b	75,1 ^c	4,37 ^k
LT 2	6,98 ^{cd}	21,24 ^{cde}	22,89 ^{ab}	1045,8 ^e	51,6 ^f	4,93 ^f
MC 1	6,98 ^{cd}	21,48 ^c	17,69 ^g	1710,7 ^b	102,3 ^a	5,98 ^a
MC 2	7,93 ^{ab}	23,41 ^{ab}	18,72 ^{fg}	1823,9 ^a	102,5 ^a	5,62 ^b
LTHQ 1	6,76 ^{cd}	19,63 ^{ef}	22,78 ^b	1476,6 ^{cd}	59,7 ^d	4,04 ^l
LTHQ 2	7,20 ^c	21,20 ^{cde}	23,96 ^a	1232,4 ^d	56,1 ^{de}	4,55 ^h
LMHQ 1	6,78 ^{cd}	20,53 ^{cde}	18,48 ^g	1021,2 ^e	53,6 ^{ef}	5,25 ^e
LMHQ 2	7,26 ^{bc}	21,91 ^{bc}	19,72 ^{ef}	1373,1 ^{cd}	72,9 ^c	5,31 ^d
LMN 1	6,93 ^{cd}	21,35 ^{cd}	21,50 ^{cd}	1669,2 ^c	93,0 ^b	5,57 ^c
LMN 2	8,50^a	24,20^a	22,28^{bc}	1834,0^a	83,9^{bc}	4,57^g
CV(%)	8,03	6,20	4,51	23,69	30,47	12,5

Chú thích: Các chữ cái: a, b, c, d... trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê theo trắc nghiệm phân hạng Duncan's test với độ tin cậy $P \leq 0,05$.



Hình 2. Mẫu chồi lan *Dendrobium Caesar white* ở các loại đèn và cường độ khác nhau sau 6 tuần nuôi cấy

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các loại đèn khác nhau lên quá trình tái sinh chồi và nhân nhanh chồi trên lan *Dendrobium Caesar white* cho thấy các loại đèn khác nhau có hiệu quả khác nhau. Trong nghiên cứu sử dụng 6 loại đèn khác nhau, mỗi loại đèn sử dụng 2 cường độ khác nhau cho thấy đèn LED màu có nguồn gốc từ Nhật có tỷ lệ ánh sáng 70% Đ - 30%B cho hiệu quả trong quá trình tái sinh chồi và nhân nhanh chồi với 8,5 chồi/mẫu, 24 lá/mẫu, chiều cao trung bình của chồi, trọng lượng tươi, trọng lượng khô cao hơn hoặc bằng các nghiệm thức còn lại. Chồi sinh trưởng và phát triển tốt, chồi đồng đều và có hình thành rễ.

Khảo sát ảnh hưởng của các loại đèn LED khác nhau và tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương lên sự tạo cây hoàn chỉnh

Sự phân phối phổ ánh sáng, quang kỳ và hướng chiếu sáng đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng của thực vật nuôi cấy mô. Sự phát sinh hình thái do ánh sáng (sự nảy mầm, sự kéo dài đốt thân...) xảy ra ở những dải bước sóng từ 400 - 500 nm (xanh lục), 600 - 700 nm (đỏ) và 700 - 800 nm (đỏ xa). Ánh sáng góp phần vào việc tạo rễ và chồi bất định của đoạn cắt. Chỉ cần cường độ ánh sáng thấp cho quá trình tạo rễ, vì cường độ ánh sáng cao quá sẽ ngăn cản sự tạo rễ. Đối với một số loài, quang kỳ có thể ảnh hưởng đến sự tạo rễ. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các loại đèn, tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương lên sự tái sinh rễ của lan *Dendrobium Caesar white* sau 8 tuần nuôi cấy cho thấy:

Bảng 3. Ảnh hưởng của các loại đèn huỳnh quang, LED trắng và LED màu lên sự tạo cây *in vitro* của lan *Dendrobium Caesar white*

Nghiệm thức	Số lá (lá/mẫu)	Chiều cao (mm)	Số rễ (rễ/mẫu)	Chiều dài rễ (mm)	Chi a (mg/g lá)	Chi b (mg/g lá)	Tổng Chlorophyll (a+b) (mg/g lá)	TLT (g)	TLK (g)	Hàm lượng chất khô (%)
HQ	5,11 ^e	55,06 ^a	8,79 ^e	20,96 ^b	2,95 ^a	1,63 ^{ab}	4,57 ^{ab}	1,02 ^d	0,06 ^d	5,39 ^d
100%R	6,38^d	61,39^a	14,64^a	23,75^a	2,07^c	1,32^c	3,39^d	1,82^a	0,10^a	5,40^{cd}
80%R-20%B	6,57 ^{cd}	56,36 ^{ab}	13,49 ^b	21,08 ^b	2,64 ^b	1,50 ^b	4,14 ^c	1,58 ^b	0,09 ^{ab}	5,69 ^c
70%R-30%B	6,75 ^{bc}	50,06 ^{cd}	12,02 ^c	19,43 ^{bc}	2,94 ^a	1,52 ^b	4,46 ^{bc}	1,34 ^c	0,09 ^{ab}	6,42 ^b
60%R-40%B	6,90 ^{ab}	46,83 ^{de}	11,12 ^d	17,76 ^{cd}	3,03 ^a	1,61 ^{ab}	4,64 ^{ab}	1,20 ^{cd}	0,08 ^{bc}	6,68 ^a
100B	7,04 ^a	41,90 ^e	9,14 ^e	15,15 ^d	3,11 ^a	1,73 ^a	4,84 ^a	1,15 ^d	0,08 ^{bc}	6,64 ^{ab}
CV(%)	3,16	10,10	6,51	12,30	7,84		4,04	22,08	16,4	10,13

Chú thích: Các chữ cái: a, b, c, d... trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê theo trắc nghiệm phân hạng Duncan's test với độ tin cậy $P \leq 0,05$.



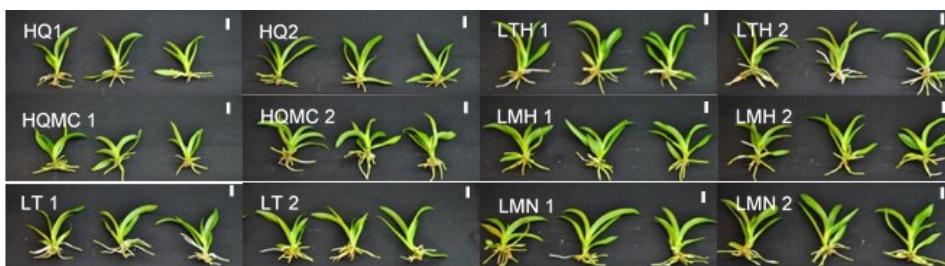
Hình 3. Cây *in vitro* lan *Dendrobium Caesar white* phát triển trên các loại đèn LED có tỷ lệ ánh sáng đỏ - xanh dương khác nhau sau 8 tuần nuôi cấy

Sau 8 tuần nuôi cấy sử dụng các loại đèn LED có tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương khác nhau cho thấy nghiệm thức sử dụng đèn LED có tỷ lệ ánh sáng 100%R cho hiệu quả tái sinh rễ tốt nhất so với các nghiệm thức còn lại với số rễ trung bình 14,64 rễ/cây, chiều dài rễ 23,75 mm/rễ, chiều cao cây đạt 61,39 mm/cây. Trọng lượng tươi, trọng lượng khô và hàm lượng chất khô cao hơn với các nghiệm thức khác cây sinh trưởng và phát triển tốt. Hàm lượng chlorophyll a, chlorophyll b, hàm lượng chlorophyll tổng lần lượt là 2,07 mg/g lá, 1,32 mg/g lá, 3,39 mg/g lá thấp hơn so với các nghiệm thức khác điều này cho thấy ảnh hưởng của ánh sáng đỏ lên quá trình tổng hợp chlorophyll trong lá. Các nghiên cứu khác cho thấy ánh sáng đỏ thúc đẩy sự phát triển của lá nhưng làm giảm hàm lượng chlorophyll.

Bảng 4. Ảnh hưởng của các loại đèn huỳnh quang, LED trắng và LED màu lên sự tái sinh cây *in vitro* của lan *Dendrobium Caesar white*

Nghiệm thức	Số lá (lá/cây)	Chiều cao (mm)	Số rễ (rễ/cây)	Chiều dài rễ (mm)	Chi a (mg/g lá)	Chi b (mg/g lá)	Tổng Chlorophyll (a+b) (mg/g lá)	TLT (g)	TLK (g)	Hàm lượng chất khô (%)
HQ1	5,23 ^g	61,97 ^d	8,87 ^e	21,98 ^e	3,53	1,98	5,51 ^a	1,02 ^g	0,06 ^f	5,39 ^{fg}
HQ2	5,45 ^{efg}	63,95 ^{bcd}	9,78 ^{de}	23,45 ^{cde}	3,44	1,92	5,36 ^{ab}	1,12 ^f	0,06 ^f	5,36 ^g
MC1	5,57 ^{ef}	55,63 ^e	8,48 ^e	23,74 ^{bcd}	3,23	1,87	5,09 ^{abc}	1,15 ^f	0,06 ^f	5,30 ^g
MC2	5,88 ^{bc}	51,81 ^f	8,93 ^e	24,87 ^{abcd}	2,77	1,49	4,26 ^e	1,34 ^{cd}	0,09 ^{bc}	6,42 ^{bc}
LT1	5,30 ^{fg}	63,78 ^{bcd}	9,35 ^{de}	25,37 ^{abcd}	3,11	1,71	4,81 ^{cd}	1,14 ^f	0,07 ^{df}	6,05 ^d
LT2	5,45 ^{efg}	66,67 ^{ab}	9,95 ^{cde}	26,60 ^a	2,90	1,69	4,59 ^{cde}	1,18 ^{ef}	0,07 ^{df}	6,02 ^{de}
LTHQ1	5,53 ^{ef}	65,90 ^{abc}	9,92 ^{cde}	25,98 ^{abc}	3,11	1,74	4,84 ^{bcd}	1,24 ^{de}	0,08 ^{cd}	6,21 ^c
LTHQ2	5,67 ^{de}	67,88 ^a	10,70 ^{cd}	26,63 ^a	3,02	1,75	4,77 ^{cde}	1,78 ^{cb}	0,12 ^a	6,07 ^d
LMHQ1	5,65 ^{de}	61,78 ^d	10,70 ^{cd}	23,02 ^{de}	3,22	1,73	4,96 ^{bcd}	1,26 ^{de}	0,07 ^d	5,56 ^{ef}
LMHQ2	5,95 ^{bc}	63,19 ^{cd}	11,33 ^{bc}	24,71 ^{abcd}	2,84	1,65	4,50 ^{de}	1,34 ^{cd}	0,09 ^{bc}	6,79 ^a
LMN1	6,17^b	67,68^a	12,65^{ab}	25,37^{abcd}	2,34	1,34	3,68^f	1,83^b	0,10^{bc}	5,63^{ef}
LMN2	6,45^a	69,33^a	13,52^a	26,33^{ab}	2,19	1,30	3,50^f	1,94^a	0,11^{ab}	5,82^{de}
CV(%)	4,05	4,65	12,18	9,06			10,54	22,76	24,95	7,82

Chú thích: Các chữ cái: a, b, c, d... trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê theo trắc nghiệm phân hạng Duncan's test với độ tin cậy $P \leq 0,05$.



Hình 4. Cây *in vitro* lan *Dendrobium Caesar white* phát triển trên các loại đèn và cường độ ánh sáng khác nhau sau 8 tuần nuôi cấy

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các loại đèn khác nhau lên quá trình tái sinh rễ trên lan *Dendrobium Caesar white* sau 8 tuần nuôi cấy cho thấy giữa các loại đèn khác nhau ảnh hưởng đến quá trình tái sinh rễ, tăng trưởng và phát triển chồi cây. Loại đèn LED màu có tỷ lệ ánh sáng 70%R - 30%B sử dụng 1 dây và 2 dây tác động tốt đến quá trình tái sinh rễ và chất lượng của cây con *in vitro* với số rễ trung bình tương ứng là 12,65 và 13,52 rễ/cây, chiều dài rễ đạt 25,37 và 26,33 mm/rễ, chiều cao cây đạt 67,68 và 69,33 mm/cây, số lá trung bình/cây đạt 6,17 và 6,45 lá/cây. Trong lượng tươi và trọng lượng khô của cây có sự khác biệt so với các nghiệm thức còn lại. Hàm lượng chlorophyll a, chlorophyll b, hàm lượng chlorophyll tổng lần lượt là 2,34 và 2,19 mg/g lá, 1,34 và 1,3 mg/g lá, 3,68 và 3,5 mg/g lá thấp hơn so với các nghiệm thức khác do ảnh hưởng của ánh sáng đỏ.

Từ các số liệu thu được cho thấy, khi sử dụng đèn LED sự phát triển và hàm lượng chất trong mẫu tăng lên. Đèn LED đỏ thích hợp dùng khi muốn tăng trọng lượng mẫu, đèn LED xanh lại thích hợp khi muốn tăng số lá hay hàm lượng chất có trong mẫu. Nhìn chung, dùng đèn LED xanh dương riêng hoặc đèn LED đỏ riêng đều cho những phát triển vượt trội nhưng muốn mẫu phát triển đồng đều thì phải có sự kết hợp giữa cả LED xanh dương và LED đỏ. Việc sử dụng tỉ lệ đèn LED đỏ/xanh dương và đèn LED đỏ cho khả năng nhân chồi và các chỉ tiêu theo dõi đều có phần cao hơn so với sử dụng đèn huỳnh quang. Một số nghiên cứu trước đây cung cấp cho thấy khi sử dụng đèn LED trong nhân giống *in vitro* có hiệu quả hơn việc sử dụng đèn huỳnh quang. Mengxi và đồng tác giả (2011) cho thấy quang phổ khác nhau ảnh hưởng đến quá trình cảm ứng tạo PLBs, tạo rễ, tái sinh cơ quan đối với lan hài. Ở điều kiện sử dụng ánh sáng đỏ cho tỷ lệ tạo PLBs, trọng lượng tươi, hệ số nhân giống, chiều dài rễ cao hơn so với các loại đèn còn lại. Shin và đồng tác giả (2008), cho thấy trọng lượng tươi, khô của lá, rễ tăng khi sử dụng điều kiện chiếu sáng với ánh sáng kết hợp giữa ánh sáng đỏ và xanh trên *Doritaenopsis in vitro*. Ở điều kiện chỉ có ánh sáng xanh cây sẽ phát triển một cách tối ưu hơn. Chiều dài lá phát triển tốt nhất ở điều kiện ánh sáng đỏ. Tuy nhiên hiệu quả hơn khi sử dụng kết hợp giữa hai loại ánh sáng đỏ và xanh. Hàm lượng chlorophyll a và chlorophyll b tăng khi nuôi cấy dưới điều kiện sử dụng ánh sáng đỏ và xanh kết hợp. Theo Lian và đồng tác giả (2002) cho thấy việc tái sinh cây và kích thích sự sinh trưởng tốt ở điều kiện chiếu sáng bằng ánh sáng đỏ, xanh và sự kết hợp giữa ánh sáng đỏ và xanh. Theo Tanaka và đồng tác giả (1998), đèn LED đỏ sẽ kích thích mẫu cây phát triển mạnh hơn và to hơn nhưng lại giảm các hoạt chất trong cây cụ thể là chlorophyll a và b; ngược lại đèn LED xanh sẽ làm tăng hàm lượng hoạt chất có trong cây nhưng tác dụng kích thích mẫu lớn hơn không bằng so với đèn LED đỏ. Kết quả trên cho thấy việc sử dụng đèn LED trong nhân giống *in vitro* có hiệu quả nhất định trong nhân giống *in vitro* lan *Dendrobium*. Từ đó, việc hướng đến sử dụng đèn LED trong nhân giống *in vitro* nhằm khắc phục một số nhược điểm, nâng cao hiệu quả sử dụng nguồn sáng, nâng cao phẩm chất cây con, giảm chi phí sản xuất, cải thiện chất lượng giống, giảm chi phí sản xuất, nâng cao hiệu quả sản xuất.

KẾT LUẬN

Tỉ lệ đèn LED 70% đỏ - 30% xanh dương và đèn LED màu Nhật phù hợp cho nhân chồi và tái sinh chồi *in vitro* cây lan *Dendrobium Caesar white* với kích thước mẫu cao, nhiều lá, rễ dài. Tỉ lệ của đèn LED đỏ - xanh dương ở tỉ lệ 100%R và đèn LED màu Hàn Quốc phù hợp cho tái sinh cây lan *in vitro* với số lá, chiều cao, trọng lượng mẫu và hàm lượng chlorophyll cao.

Lời cảm ơn: Các tác giả xin chân thành cảm ơn Trung tâm Công nghệ sinh học Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ một phần kinh phí và cơ sở vật chất để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ammirato PV (1986). Organizational events during somatic embryogenesis. *Plant Biol* 3: 57-81.
- De HK, Jacquemyn H, Van GS, Roldán RI, Vandepitte K, Leus L, Honnay O (2011). Patterns of hybridization between diploid and derived allotetraploid species of *Dactylophiza* (Orchidaceae) co-occurring in Belgium. *Am J Bot* 98: 946-955.
- Debergh P, Aitken CJ, Cohen D, Grout B, Von AS, Zimmerman R, Ziv M (1992). Reconsideration of the term 'vitrification' as used in micropropagation. *Plant Cell* 30: 135-140.
- Dressler RL (1993). Phylogeny and classification of the orchid family. *Camb Univ Press*.

- Dương Tấn Nhật, Nguyễn Bá Nam (2014). Đèn LED (Light-Emitting diode)-Nguồn sáng nhân tạo trong nuôi cấy mô thực vật. *J Biotechnol* 12: 393-407.
- Lian ML, Murthy H, Paek KY (2002). Effects of light emitting diodes (LEDs) on the *in vitro* induction and growth of bulblets of *Lilium oriental* hybrid 'Pesaro'. *Sci Horti* 94: 365-370.
- Mengxi L, Zhigang X, Yang Y, Yijie F (2011). Effects of different spectral lights on *Oncidium* PLBs induction, proliferation, and plant regeneration. *Plant Cell* 106: 1-10.
- Morrow RC (2008). LED lighting in horticulture. *Hort Sci* 43: 1947-1950.
- Pati R (2014). Use of LED lights in Plant Tissue Culture and Greenhouse Industry.
- Shin KS, Murthy HN, Heo JW, Hahn EJ, Paek KY (2008). The effect of light quality on the growth and development of *in vitro* cultured *Doritaenopsis* plants. *Acta Physiol Plant* 30: 339-343.
- Silva MM, De OAL, Oliveira FRA, Gouveia NAS, Camara TJ, Willadino LG (2014). Effect of blue/red LED light combination on growth and morphogenesis of *Saccharum officinarum* plantlets *in vitro*. *Int Soc Opt Photon* 12: 89471-89478.
- Tanaka M, Takamura T, Watanabe H, Endo M, Yanagi T, Okamoto K (1998). *In vitro* growth of *Cymbidium* plantlets cultured under superbright red and blue light-emitting diodes (LEDs). *J Horticult Sci Biotechnol* 73: 39-44.

EFFECTS OF DIFFERENT LED LIGHTS ON DEVELOPMENT OF *Dendrobium* Caesar white *IN VITRO*

Huynh Huu Duc*, Nguyen Hoang Cam Tu, Nguyen Hoang Duy Linh, Nguyen Thi Tu Vy, Nguyen Thi Xuan Hien, Nguyen Truong Giang, Lam Vy Nguyễn, Duong Hoa Xo

Division of crop experiments, Biotechnology Center of Ho Chi Minh City

SUMMARY

Nowadays, fluorescent lamps have been used as lighting sources for *in vitro* propagation with a certain efficiency. However, there are some disadvantages of these lights such as high heat, power consumption, low life expectancy that can increase the production costs and reduce the efficiency of the whole production process. For a micropropagation process, different growth stages and species need their own specific light qualities and quantities while fluorescent light has only one spectrum. For these reasons, using LED lights can overcome some disadvantages of the fluorescence lights, can improve the efficiency of light using, plant quality, and also reduce the production costs. In this research, different types of LEDs and red/blue LEDs were tested on *Dendrobium* Caesar white orchid for shoot multiplication, rooting capacity. The results showed that the 70%red - 30%blue LED light and the Japanese combined LED light were suitable for the shoot multiplication of the orchids with the average number of shoots was 7.5 shoots/samples and 8.5 shoots/sample, respectively. For the rooting stage, the results showed that the 100%red and the Korean combined LED lights are suitable for rooting stage of these plants with plant height and root number reached 61,39 mm/plant and 14,64 roots/plant; 63,19 mm/plant và 11,33 roots/plant, respectively. These results indicated that using LED lights with proper properties for each growing stage can improve the propagation efficiency and plant quality in micropropagation of *Dendrobium* orchids.

Keywords: Fluorescence lights, LED lights, *Dendrobium*, micropropagation.

* Author for correspondence: Tel: +84-967137046; Email: huuduchuynh82@gmail.com