

## NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA ÁNH SÁNG ĐƠN SẮC (LED) ĐẾN MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH LÝ VÀ HÌNH THÁI CỦA CÂY SÂM DÂY (*Codonopsis* sp.) NUÔI CÂY *IN VITRO*

Nguyễn Khắc Hưng<sup>1</sup>, Phạm Bích Ngọc<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thu Hiền<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Thúy Hương<sup>1</sup>, Đỗ Thị Gấm<sup>2</sup>, Lê Duy Hùng<sup>3</sup>, Chu Hoàng Hà<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, \*chuhoangha@ibt.ac.vn

<sup>2</sup>Trung tâm phát triển Công nghệ cao, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

<sup>3</sup>Trung tâm ứng dụng Khoa Học và Chuyển giao công Nghệ, tỉnh Kon Tum

**TÓM TẮT:** Sâm dây (*Codonopsis* sp.) là cây thuốc quý được sử dụng phổ biến trong y học dân tộc do có tác dụng nâng cao thể lực, tăng cường khả năng miễn dịch cho cơ thể... Với những dược tính quý hiếm, sâm dây đang bị khai thác cạn kiệt ngoài tự nhiên. Công nghệ chiếu sáng LED đã và đang được sử dụng như nguồn sáng nhân tạo trong các phòng nuôi cấy mô thực vật với nhiều ưu điểm như kích thước nhỏ, tuổi thọ cao, dễ tự động hóa, tiết kiệm năng lượng. Nghiên cứu này được thực hiện với mục đích khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng LED đến khả năng sinh trưởng, một số đặc điểm sinh lý cũng như tỷ lệ tạo rễ ở cây sâm dây nuôi cấy *in vitro*. Kết quả khảo sát cho thấy, ánh sáng đỏ và xanh đơn sắc đều gây ức chế đến quá trình tạo rễ cũng như sinh trưởng của các chồi cây sâm dây. Trong khi đó, chồi sâm dây sinh trưởng dưới điều kiện LED đỏ: xanh (80:20) cho khả năng phát sinh rễ tốt nhất (90% số chồi ra rễ) so với ánh sáng huỳnh quang đối chứng (75% số chồi tạo rễ). Bên cạnh đó, số rễ tạo thành trung bình (2,68 rễ/chồi), chiều dài rễ trung bình (2,21 cm) và chiều cao cây trung bình của chồi sinh trưởng dưới ánh sáng LED đỏ:xanh 80:20 (7,42 cm) đều cao hơn ở ánh sáng đối chứng. Bằng thực nghiệm, chúng tôi nhận thấy kiểu đèn LED 80% LED đỏ (630 nm) kết hợp 20% LED xanh (450 nm) có khả năng ứng dụng trong nuôi cấy *in vitro* cây sâm dây với hiệu quả cảm ứng tạo rễ cao.

*Từ khóa:* *Codonopsis*, ánh sáng đơn sắc, ánh sáng LED, sâm dây, tạo rễ.

### MỞ ĐẦU

Ánh sáng, một trong những yếu tố quan trọng cho sự sinh trưởng và phát triển của thực vật. Ánh sáng tham gia vào nhiều quá trình sinh lý của thực vật, trong đó, có quá trình quang hợp; ngoài ra, còn có quá trình quang phát sinh hình thái, tính hướng sáng. Mức độ ảnh hưởng của yếu tố ánh sáng tới thực vật phụ thuộc vào cường độ, chất lượng và thời gian chiếu sáng [17]. Trong nuôi cấy mô tế bào thực vật, ánh sáng là nhân tố quan trọng đối với sự sinh trưởng, phát triển của cây trong điều kiện *in vitro*. Hiện nay, đèn huỳnh quang được sử dụng chủ yếu trong nuôi cấy *in vitro* thực vật. Tuy nhiên, ánh sáng trắng tạo ra bởi đèn huỳnh quang là một tổ hợp các ánh sáng có bước sóng khác nhau từ 380-800 nm, trong số các bước sóng này có những bước sóng thực vật không có khả năng sử dụng hoặc gây tổn thương đến thực vật [16]. Ngoài ra, đèn huỳnh quang còn có nhược điểm ở chỗ tuổi thọ thấp, tỏa nhiệt trong

thời gian vận hành, chi phí duy trì cao. Do đó, đèn LED với nhiều ưu điểm (kích thước nhỏ, tuổi thọ cao, đặc biệt có thể kiểm soát bước sóng sử dụng) đang được quan tâm nghiên cứu ứng dụng thay thế đèn huỳnh quang trong lĩnh vực vi nhân giống thực vật.

Nhiều loại cây như tiêu, dưa chuột, lúa mạch, lúa mì, đậu tây [2, 3, 9, 15] đã được khảo sát khả năng sinh trưởng dưới điều kiện ánh sáng LED. Kết quả bước đầu cho thấy các mẫu mô nuôi cấy có khả năng sinh trưởng và phát triển dưới điều kiện đèn LED đơn sắc hoặc các LED đơn sắc kết hợp với nhau. Goins et al. (1997) [7] đã thu được cây lúa mì nuôi cấy dưới điều kiện ánh sáng LED đỏ:xanh (kết hợp LED đỏ và 10% ánh đèn huỳnh quang xanh) có khối lượng khô và sản lượng hạt của cây gần với cây nuôi cấy dưới điều kiện ánh sáng trắng. Dương Tấn Nhựt và Nguyễn Bá Nam (2009) [16] cho thấy khả năng sinh trưởng của cây cúc (*Chrysanthemum morifolium* CV.) khi được nuôi

cây dưới điều kiện ánh sáng LED tốt hơn so với ánh sáng huỳnh quang.

Sâm dây hay còn gọi là Đảng sâm (*Codonopsis* sp.) là một loại cây lâu năm, thường sống tại những khu vực núi cao, có khí hậu mát mẻ quanh năm. Rễ cây sâm dây chứa thành phần chủ yếu là saponin. Makoto et al. (2009) [13] đã xác định được thành phần saponin trong sâm dây bao gồm lancemaside A, lancemaside B, lancemaside C, lancemaside E, lancemaside G, foetidissimoside A và aster saponin Hb. Eunji et al. (2014) [6] cho thấy lancemaside A tách chiết từ rễ cây *Codonopsis lanceolata* có khả năng điều khiển cơ chế đáp ứng viêm gián tiếp qua bạch cầu và đại thực bào. Bên cạnh các saponin, rễ *Codonopsis* sp. còn chứa các polysaccharide có dược tính quý trong điều trị một số bệnh ở người tính gây độc đối với các khối u, tăng cường khả năng miễn dịch ở người [23, 24, 27]. Ngoài ra còn có stigmasterol,  $\alpha$ -spinasterol, inulin, fructose, choline, caproic acid, enanthic acid, pinen và các alkaloid [25]. Trong rễ cây sâm dây có chứa nhiều acid amin (khoảng 17 loại), tuy liều lượng không cao nhưng mang đầy đủ các loại acid amin cần thiết cho cơ thể [5].

Những nghiên cứu về cây sâm dây ở trong cũng như ngoài nước chủ yếu tập trung vào phân tích thành phần dược tính, chưa có nghiên cứu nào về tác động của điều kiện chiếu sáng cũng như ảnh hưởng của ánh sáng LED đến sinh trưởng cây sâm dây trong điều kiện *in vitro*. Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục đích khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng LED đến khả năng sinh trưởng và một số đặc điểm sinh lý cũng như tỷ lệ tạo rễ ở *Codonopsis* sp. nuôi cấy *in vitro*.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu chồi *Codonopsis* sp. có chiều cao đồng đều nhau (0,5 cm) do Phòng Công nghệ tế bào thực vật, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp.

**Phương pháp bố trí thí nghiệm:** Các mẫu chồi sâm dây được cấy vào bình tam giác 250 ml chứa 30 ml môi trường cảm ứng phát sinh rễ.

Nuôi cấy mẫu ở nhiệt độ  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , độ ẩm 75-80%. Chiếu sáng bằng hệ thống đèn LED với quang chu kỳ 16 giờ sáng/ngày. Mỗi công thức chiếu sáng khảo sát với 10 bình, mỗi bình cấy 5 chồi. Thời gian nuôi cấy 30 ngày. Sau thời gian theo dõi đánh giá ảnh hưởng của ánh sáng LED đến cây sâm dây qua các chỉ tiêu hình thái và sinh lý. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: tỷ lệ mẫu ra rễ, chiều cao cây, số cặp lá/cây, số rễ/cây, chiều dài rễ và diện tích lá. Một số chỉ tiêu sinh lý theo dõi bao gồm: khối lượng tươi, khối lượng khô và hàm lượng một số sắc tố quang hợp (chlorophyll a (Chl a), chlorophyll b (Chl b), carotenoid tổng số (Car) được xác định theo phương pháp quang phổ của Wellburn (1994) [21].

**Hệ thống đèn LED khảo sát:** sử dụng đèn LED đỏ đơn sắc (có bước sóng 660 nm) và đèn LED xanh đơn sắc (có bước sóng 450 nm) và LED trắng âm. Các công thức đèn thí nghiệm: red (100% LED đỏ), blue (100% LED xanh), BRW1 (71,4% LED đỏ, 14,28% LED xanh, và 14,28% LED trắng), BRW2 (57,1% LED đỏ, 14,28% LED xanh, và 28,57% LED trắng), BR (80% LED đỏ và 20% LED xanh) và đèn huỳnh quang T5 đối chứng. Hệ thống đèn do Trung tâm Phát triển Công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp.

**Phương pháp xử lý số liệu:** mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần số liệu được xử lý với phần mềm Microsoft excell 2007 và Statgraphic XV theo phương pháp Duncan với  $\alpha = 0,05$ .

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Ảnh hưởng của ánh sáng LED đến một số chỉ tiêu sinh lý của cây sâm dây

Các ánh sáng đỏ và xanh đơn sắc có ảnh hưởng đối nghịch nhau lên sự tích lũy các sắc tố quang hợp ở chồi cây sâm dây. Trong khi ánh sáng xanh làm giảm hàm lượng diệp lục tổng số (Chl tổng số) (1,534 mg/g lá) so với ánh sáng trắng (2,029 mg/g lá) thì ánh sáng đỏ đơn sắc có khả năng kích thích sinh tổng hợp diệp lục trong chồi sâm dây (3,323 mg/g lá). Hàm lượng diệp lục tổng số của chồi sâm dây ở hai đèn BRW1 và không có sự khác biệt và cả hai đều thấp hơn so với ánh sáng trắng cũng như ánh sáng đỏ đơn

sắc. Trong khi đó các chồi sâm dây sinh trưởng dưới điều kiện kết hợp ánh sáng đỏ xanh theo tỷ lệ 80:20 có hàm lượng diệp lục tổng số cao nhất đạt 3,674 mg/g lá.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các ánh sáng LED đến một số chỉ tiêu sinh lý ở cây sâm dây

Kí hiệu	Chl a (mg/g)	Chl b (mg/g)	Chl tổng số (mg/g)	Car (mg/g)	Chl a/b	Chl/ Car	Khối lượng tươi (mg)	Khối lượng khô (mg)
White	1,298*	0,731*	2,029*	0,211*	1,77*	9,62*	71,83 <sup>a</sup>	7,32 <sup>b</sup>
Red	1,895	1,428	3,323	0,287	1,33	11,57	52,05 <sup>bc</sup>	8,36 <sup>b</sup>
Blue	1,025	0,509	1,534	0,201	2,01	7,65	40,00 <sup>b</sup>	6,48 <sup>ab</sup>
BRW 1	1,214	0,663	1,877	0,210	1,83	8,94	45,75 <sup>b</sup>	7,06 <sup>b</sup>
BRW 2	1,200	0,667	1,867	0,205	1,80	9,11	49,00 <sup>b</sup>	6,78 <sup>ab</sup>
BR	1,956	1,719	3,674	0,280	1,14	13,09	71,25 <sup>ac</sup>	7,66 <sup>b</sup>

(\*) Kết quả trung bình của 3 lần lặp lại; các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt ở mức  $\alpha = 5\%$ .

Bên cạnh sự ảnh hưởng đến hàm lượng diệp lục tổng số của chồi sâm dây, các ánh sáng LED cũng tác động đến tỷ lệ các sắc tố diệp lục (chlorophyll a và b). Kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy, tỷ số chlorophyll a/b (Chl a/b) ở các chồi sâm dây sinh trưởng dưới các điều kiện ánh sáng khác nhau đều nằm trong khoảng từ 1,13 đến 2,01. Chỉ số chlorophyll a/b có thể cho thấy mức độ chịu bóng của thực vật. Cây có khả năng chịu bóng cao thường sản sinh ra nhiều chlorophyll b hơn và điều này kéo theo giá trị chlorophyll a/b ở các loài cây chịu bóng thường thấp [26]. Bên cạnh đó sự thay đổi tỷ lệ chlorophyll a/b phụ thuộc vào đặc tính của từng loài thực vật [4]. Như vậy, cây sâm dây nuôi cấy mô cũng thể hiện đặc điểm phù hợp với đặc điểm phân bố ở các vùng núi cao, phân bố ở tầng thấp của rừng, dưới các tán cây cao, thu nhận ánh sáng khuếch tán. Tuy nhiên, sự thay đổi về chỉ số chlorophyll a/b cho thấy cơ chế phản ứng lại với sự thay đổi của điều kiện ánh sáng. Sự thay đổi của hàm lượng chlorophyll b có thể dẫn đến sự thay đổi mạnh của chỉ số Chl a/b. Hiện tượng này có thể gây ra bởi sự oxy hóa diệp lục do ánh sáng hoặc cây tự điều chỉnh hàm lượng chlorophyll để có thể đón nhận nhiều năng lượng từ ánh sáng. Để đánh giá bước đầu mức độ gây hại của ánh sáng đến chất diệp lục trong cây sâm dây, chúng tôi tiến hành đánh giá hàm lượng carotenoid tổng số trong mẫu.

Bên cạnh chlorophyll, carotenoid là sắc tố quan trọng trong quá trình quang hợp. Ngoài

chức năng dẫn chuyển năng lượng photon đến chlorophyll, carotenoid còn có vai trò bảo vệ các sắc tố diệp lục khỏi sự quang oxy hóa gây ra bởi ánh sáng và oxy. Mức độ ảnh hưởng bởi quá trình quang oxy hóa lên diệp lục có thể thấy qua tỷ lệ giữa chlorophyll tổng số và carotenoid [8]. Qua bảng 1 có thể thấy, tỷ số chlorophyll tổng số/carotenoid (Chl/Car) thay đổi ở hầu hết các điều kiện thí nghiệm so với đối chứng, tuy nhiên, mức độ sai khác của hàm lượng carotenoid thu được ở các chồi sinh trưởng dưới các ánh sáng khác nhau không lớn. Như vậy, sự khác biệt của chỉ số chlorophyll/carotenoid ở các điều kiện thí nghiệm là do sự thay đổi về hàm lượng chlorophyll tổng số.

Có thể thấy ánh sáng xanh đơn sắc gây ảnh hưởng lớn nhất đến cây sâm dây do có chỉ số Chl/Car thấp nhất (7,65). Hiện tượng này xảy ra có thể do ánh sáng xanh có bước sóng ngắn tương đương với năng lượng photon lớn và có thể gây tổn thương đến hàm lượng diệp lục trong cây sâm dây dẫn đến sự suy giảm của tỷ số Chl/ Car. Trái lại, ánh sáng đỏ và đỏ xanh (tỷ lệ 80:20) với tỷ số Chl/ Car cao nhất lần lượt là 11,57 và 13,09 có mức độ gây hại tới chlorophyll của các chồi cây sinh trưởng dưới hai điều kiện ánh sáng này thấp hơn. Kết hợp với chỉ số carotenoid của các chồi sinh trưởng dưới hai điều kiện ánh sáng này cho thấy hàm lượng carotenoid tăng cao ở hai điều kiện ánh sáng này có thể đóng vai trò tăng cường khả năng thu nhận năng lượng từ các photon ánh

sáng. Chỉ số Chl/Car ở hai ánh sáng BRW1 và BRW 2 tương ứng 8,94 và 9,10 và đều thấp hơn ánh sáng trắng (9,62). Ngoài ra, chỉ số carotenoid và chlorophyll a của hai ánh sáng này đều không sai khác với ánh sáng trắng, do đó sự sai khác phụ thuộc nhiều vào sự thay đổi của hàm lượng chlorophyll b.

Như vậy, kết quả đánh giá bước đầu về hàm lượng các sắc tố quang hợp cũng như tỷ lệ giữa các loại sắc tố cho thấy, ánh sáng đỏ và BR có khả năng tăng các sắc tố quang hợp của chồi sâm dây trong khi các ánh sáng xanh, BRW1 và BRW2 lại có ảnh hưởng tới hàm lượng của các sắc tố này trong cây và khiến cho hàm lượng diệp lục trong các chồi cây đều giảm thấp hơn so với đối chứng.

Sự thay đổi về hàm lượng các sắc tố quang hợp dẫn đến sự thay đổi về trao đổi chất cũng như hàm lượng chất khô tích lũy. Khối lượng khô của ánh sáng đỏ và đỏ: xanh là 8,36 mg và 7,66 mg. Số liệu thống kê cho thấy, khối lượng khô trung bình của các chồi sinh trưởng dưới hai điều kiện ánh sáng này lớn so với đối chứng (7,32 mg) nhưng sự sai khác không có ý nghĩa về mặt thống kê. Trong khi đó, khối lượng khô của các chồi sinh trưởng dưới điều kiện ánh

sáng xanh đơn sắc, BRW1, BRW2 đều thấp hơn so với đối chứng (bảng 1).

### Ảnh hưởng của ánh sáng LED đến hình thái cây sâm dây

*Ảnh hưởng của ánh sáng LED đến hình thái chồi cây sâm dây*

Kết quả sau 30 ngày theo dõi cho thấy, các ánh sáng LED có tác động lớn đến hình thái cây sâm dây ở cả phần thân và phần rễ cây. Ánh sáng xanh (blue) và đỏ đơn sắc (red) có ảnh hưởng trái ngược nhau đến hình thái của chồi cây sâm dây (bảng 1). Trong khi ánh sáng đỏ đơn sắc có khả năng kích thích chiều cao cây (4,54 cm) còn ánh sáng xanh đơn sắc lại gây hiệu ứng cây thấp lùn, các chồi sinh trưởng dưới ánh sáng xanh có chiều cao thấp nhất trong các công thức đèn thí nghiệm (2,22 cm).

Kết hợp các ánh sáng đỏ, xanh và trắng theo các tỷ lệ khác nhau cho thấy, ánh sáng đỏ: xanh kết hợp theo tỷ lệ 80:20 (BR) cho chiều cao cây lớn nhất (7,42 cm). Trong khi đó, các chồi sinh trưởng dưới hai kiểu đèn BRW1 và BRW2 có chiều cao cây lần lượt là 4,15 cm và 4,66 cm. Số liệu thống kê cho thấy chiều cao cây của các chồi sinh trưởng dưới hai điều kiện này không có sai khác so với ánh sáng đỏ đơn sắc.

Bảng 2. Ảnh hưởng của ánh sáng LED đến sinh trưởng cây sâm dây

Kí hiệu	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số cặp lá	Chiều cao cây (cm)	Diện tích lá (cm <sup>2</sup> )	Số rễ/ mẫu	Chiều dài rễ (cm)
White	70	3,57 <sup>*b</sup>	5,48 <sup>*ab</sup>	0,36 <sup>*a</sup>	1,5 <sup>*a</sup>	1,35 <sup>*cd</sup>
Red	33,33	2,8 <sup>a</sup>	4,54 <sup>b</sup>	0,092 <sup>b</sup>	1,2 <sup>a</sup>	0,73 <sup>bc</sup>
Blue	50	3,22 <sup>ab</sup>	2,22 <sup>c</sup>	0,25 <sup>d</sup>	1,25 <sup>a</sup>	0,63 <sup>b</sup>
BRW 1	35	3,28 <sup>ab</sup>	4,15 <sup>b</sup>	0,26 <sup>d</sup>	1,14 <sup>a</sup>	1,46 <sup>cd</sup>
BRW 2	40	3,12 <sup>ab</sup>	4,66 <sup>b</sup>	0,22 <sup>d</sup>	1,62 <sup>a</sup>	1,31 <sup>bcd</sup>
BR	90	3,0 <sup>a</sup>	7,42 <sup>a</sup>	0,27 <sup>d</sup>	2,68 <sup>b</sup>	2,21 <sup>a</sup>

(\*) Ghi chú như bảng 1.

Bên cạnh sự thay đổi về chiều cao chồi, ánh sáng đơn sắc cũng ảnh hưởng tới số cặp lá/cây cũng như diện tích lá sâm dây (hình 1 & 2). Qua bảng 2 có thể thấy, ánh sáng huỳnh quang cho số cặp lá/cây lớn nhất (3,57 cặp lá) và chỉ số này ở ba điều kiện đèn blue, BRW1 và BRW2 không có sự khác biệt. Duy nhất có ánh sáng đỏ (red) (2,8 cặp lá) và ánh sáng đỏ: xanh (BR) (3,0 cặp lá) là có số cặp lá thấp hơn.

Ánh sáng cũng có ảnh hưởng lớn đến diện tích lá cây sâm dây (hình 2). Trong khi diện tích lá của các chồi nuôi cấy dưới ánh sáng xanh có diện tích lá tương đương với chồi cây sinh trưởng dưới ba điều kiện ánh sáng BRW1, BRW2 và BR (bảng 2) còn diện tích lá của các chồi sinh trưởng dưới ánh sáng đỏ chỉ đạt (0,092 cm<sup>2</sup>). Mặc dù diện tích lá của chồi cây sinh trưởng dưới các ánh sáng xanh, BRW1, BRW2 và BR không có sự sai khác nhưng chỉ số diện tích lá ở

các điều kiện ánh sáng này vẫn thấp hơn so với ánh sáng trắng huỳnh quang ( $0,36 \text{ cm}^2$ ).

Ánh sáng tác động tới quá trình sinh trưởng, phát triển và hình thái ở thực vật thông qua điều khiển hoạt động các nhóm gen chức năng. Một trong số đó là nhóm gen mã hóa cho các thụ thể ánh sáng hay chính là các yếu tố phiên mã (Transcription factors-TFs). Đây là nhóm yếu tố

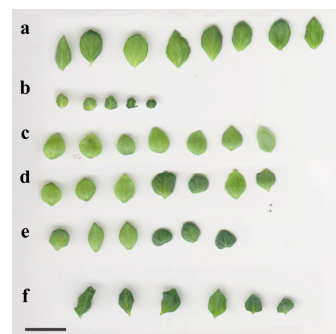


*Hình 1.* Ảnh hưởng của ánh sáng LED đến hình thái cây sâm dây. a: Ánh sáng huỳnh quang đối chứng. b-f: Các ánh sáng LED thí nghiệm: RED, BLUE, BRW1, BRW2 và BR. 1 bar = 1 cm.

Phototropin là một thụ thể cảm ứng của ánh sáng xanh và biểu hiện mạnh khi có sự xuất hiện dải tần bước sóng xanh trong quang phổ ánh sáng [1, 10]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, diện tích lá cây sâm dây bị suy giảm khi nuôi cấy dưới ánh sáng đỏ đơn sắc và thấp hơn rất nhiều so với những mẫu được nuôi cấy dưới các điều kiện ánh sáng có thành phần quang phổ xanh (đèn huỳnh quang T5, blue, BRW1, BRW2 và BR). Kết quả thu được cùng với những công bố trước đây về tác động của ánh sáng xanh và đỏ đến sinh trưởng của nhiều loài thực vật cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa phổ ánh sáng xanh đến sự phát triển tích cực của lá cây [16, 22].

Một số nghiên cứu cho thấy diện tích lá được cải thiện hơn khi nuôi cấy các loài thực vật được khảo sát dưới các điều kiện ánh sáng LED kết hợp so với ánh sáng trắng [12, 15, 16, 19, 22]. Tuy nhiên, kết quả khảo sát trên cây sâm dây cho thấy diện tích lá nuôi cấy dưới các kiểu đèn B, BRW1, BRW2 và BR không có sự khác biệt so với ánh sáng huỳnh quang. Hiện tượng này có thể do sự thiếu hụt về bước sóng

phiên mã tiếp nhận những thông tin từ quang phổ ánh sáng đầu tiên và giữ vai trò quan trọng trong quá trình phát triển của thực vật. Các nghiên cứu gần đây cho thấy, phototropin (một loại TFs ở thực vật) tham gia gián tiếp vào quá trình phát triển của lá thông qua điều khiển các nhóm gen khác [18].



*Hình 2.* Ảnh hưởng của ánh sáng LED đến diện tích lá cây sâm dây. a: Ánh sáng huỳnh quang đối chứng. b-f: Các ánh sáng LED thí nghiệm: RED, BLUE, BRW1, BRW2 và BR. 1 bar = 1 cm.

(đèn LED xanh và BR) cũng như cường độ (đèn BRW1 và BRW2) của một số dải phổ khác trong quang phổ ánh sáng (ánh sáng vàng hay xanh lá cây). Những ánh sáng này tuy không nằm trong dải hấp thụ của thụ thể ánh sáng cũng như các sắc tố quang hợp, nhưng chúng vẫn có ảnh hưởng đến một số quá trình phát triển ở thực vật [11, 20, 22, 28].

#### *Ảnh hưởng của đèn LED đến sự phát triển của rễ ở cây sâm dây*

Ánh sáng không chỉ tác động đến hình thái chồi của cây sâm dây mà còn ảnh hưởng tới quá trình phát triển của rễ cây sâm dây. Các chồi sinh trưởng dưới ánh sáng xanh, đỏ đơn sắc và các ánh sáng BRW1, BRW2 có số rễ tạo thành không có sai khác về mặt thống kê so với các chồi được nuôi cấy dưới ánh sáng trắng (bảng 2). Tuy nhiên, chỉ có số lượng rễ tạo thành ở ánh sáng đỏ: xanh là lớn nhất (2,68 rễ) và có ý nghĩa thống kê so với các ánh sáng còn lại.

Trong khi các điều kiện ánh sáng thử nghiệm không có tác động rõ rệt đến số rễ tạo thành ở các chồi sâm dây thì lại có ảnh hưởng

mạnh đến chiều dài các rễ tạo thành (hình 1b-f). Các chồi được nuôi cấy dưới ánh sáng BR có chiều dài rễ tạo thành lớn nhất (2,21 cm), ánh sáng đỏ và xanh đơn sắc cho các chồi có chiều dài rễ ngắn nhất, tương ứng 0,73 cm và 0,63 cm. Chiều dài rễ ở các ánh sáng BRW1 và BRW2 không có sự khác biệt về mặt thống kê so với ánh sáng trắng (bảng 2). Có thể thấy điều kiện đèn có sự kết hợp 80% LED đỏ và 20% LED xanh có khả năng kích thích tốt nhất cho sự phát triển của rễ cây sâm dây.

Bên cạnh sự phát triển hình thái chồi, điều kiện ánh sáng cũng có tác động lớn đến tỷ lệ ra rễ của các chồi sâm dây. Phần lớn các ánh sáng LED đều làm giảm tỷ lệ ra rễ ở cây sâm dây. Trong khi có 70% số chồi sâm dây ra rễ ở điều kiện ánh sáng trắng đối chứng, chỉ có 33,33% và 50% số chồi ra rễ ở ánh sáng đỏ (red) và ánh sáng xanh đơn sắc (blue). Khi kết hợp các ánh sáng đơn sắc với nhau ở hai điều kiện đèn BRW1 và BRW2, tỷ lệ mẫu ra rễ cũng không được cải thiện. Tỷ lệ mẫu chồi ra rễ ở điều kiện BRW1 chỉ đạt 35% và BRW2 cho tỷ lệ mẫu tạo chồi là 40%. Tuy nhiên, ở điều kiện đèn kết hợp giữa LED đỏ và xanh đơn sắc theo tỷ lệ 80:20, tỷ lệ số chồi tạo rễ lên đến 90% tổng số chồi.

Ảnh hưởng khác nhau của ánh sáng LED đến hình thái cũng như sự phát triển đã được ghi nhận trên nhiều loài thực vật khác nhau. Các nghiên cứu cho thấy ánh sáng đỏ và xanh đơn sắc thường có tác động trái ngược nhau đến hình thái của thực vật. Ánh sáng đỏ đơn sắc thường có tác động kích thích kéo dài thân trong khi ánh sáng xanh đơn sắc lại gây ức chế đến sự phát triển của chồi cây. Bên cạnh đó, sự kết hợp giữa ánh sáng đỏ và xanh ở tỷ lệ thích hợp cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển của thực vật [14, 16, 17, 19]. Trên cây sâm dây, chúng tôi cũng ghi nhận ảnh hưởng tiêu cực của ánh sáng đỏ và xanh đơn sắc đến hình thái cây sâm dây. Trong khi điều kiện ánh sáng đỏ: xanh kết hợp ở tỷ lệ 80:20 cho sự phát triển hình thái của cây sâm dây là tốt hơn cả (hình 1f).

## KẾT LUẬN

Chúng tôi đã lựa chọn được điều kiện ánh sáng LED phù hợp cho sự sinh trưởng của chồi cây sâm dây (*Codonopsis* sp.) (BR: 80% LED

đỏ và 20% LED xanh). Ánh sáng đỏ:xanh kết hợp ở tỷ lệ 80:20 (BR) có khả năng kích thích sự phát triển của chồi trong giai đoạn ra rễ. Tỷ lệ tạo rễ ở các chồi nuôi cấy dưới điều kiện ánh sáng BR lên đến 90% và cao hơn so với ánh sáng trắng đối chứng. Bên cạnh đó, các chồi tạo thành ở ánh sáng này có các chỉ tiêu sinh lý và hình thái tương đương hoặc cao hơn so với ánh sáng trắng, cụ thể chiều trung bình của chồi 7,42 cm; 2,68 rễ tạo thành/mẫu với chiều dài trung bình 2,21 cm. Ngoài ra, hàm lượng các sắc tố quang hợp cũng như khối lượng chất khô tích lũy ở các chồi sinh trưởng dưới kiểu đèn BR đều cao hơn ánh sáng trắng huỳnh quang.

**Lời cảm ơn:** Công trình được thực hiện trong khuôn khổ đề tài cấp nhà nước “Nghiên cứu phát triển công nghệ chiếu sáng LED phục vụ nông nghiệp Tây Nguyên” thuộc chương trình Tây Nguyên 3 “Khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế-xã hội vùng Tây Nguyên”- TN3/C09. Các thí nghiệm được tiến hành có sự dụng trang thiết bị của Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ sinh học.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Atsushi T., Shin-ichiro I., Michio D., Toshinori K., Ken-ichiro S., 2005. Phototropins promote plant growth in response to blue light in low light environments. *Plant Cell*, 17: 1120-1127.
2. Brown C. S., Shuerger A. C., 1993. Growth of pepper, lettuce and cucumber under light emitting diodes. *Plant Physiol.*, 102: 808-813.
3. Bula R. J., Morrow T. W., Tibbitt T. W., Barta D. J., Ignatius R. W., Martin T. S., 1991. Light-emitting diodes as a radiation source for plants. *HortScience*, 26(2): 203 - 205.
4. Beneragama C. K., Goto K., 2010. Chlorophyll *a*: *b* ratio increases under low-light in ‘shade-tolerant’ *Euglena gracilis*. *Trop. Agric. Res.*, 22(1): 12-25.
5. Hoàng Minh Chung, Phạm Xuân Sinh, 2002. Nghiên cứu tác dụng bổ khí của đảng sâm Việt Nam. *Tạp chí Dược Liệu*, 7(4): trang 118-120.

6. Eunji K., Woo S. Y., Ji H. K., Jae G. P., Han G. K., Jaeyoung K., Yong D. H., Ho S. R., Song S. S., Gi H. S., Jae Y. C., 2014. Lancemaside A from *Codonopsis lanceolata* modulates the inflammatory responses mediated by monocytes and macrophages. *Mediators Inflamm.*, Doi:10.1155/2014/405158
7. Goins G. D., Yorio N. C., Sanwo M. M., Brown C. S., 1997. Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under light emitting diodes (LEDs) with or without supplemental blue lighting. *J. Exp. Bot.*, 48: 1407-1413.
8. Hendry G. A. E., Grime J. P., 1993. *Methods in comparative plant ecology.* Chapman & Hall, 252 pages.
9. Hoenecke M. E., Bula R. J., Tibbitts T. W., 1992. Importance of "blue" photon levels for lettuce seeding growth under red light-emitting diodes. *Hortscience*, 27(5): 427 - 430.
10. John M. C., Winslow R. B., 2001. Blue light sensing in higher plant. *J. Bio. Chem.*, 276(15): 114457-11460.
11. Kevin M. F. and Stefanie A. M., 2007. Green light: a signal to slow down or stop. *J. Exp. Bot.*, 58(12): 3099-3111.
12. Kuan-hung L., Meng-yuan H., Wen-dar H., ming-huan H., Zhi-wei Y., Chi-ming Y., 2013. The effects of red, blue, and white light-emitting diodes on the growth, development, and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *capitata*). *Sci. Hortic.*, 150: 86-91.
13. Makoto I., Sanae O., Noriko K., Mitsuyasu U., Yukihiro K., Minoru H., Osamu S., Setsuko S., Masanori K., 2009. Simultaneous determination of seven saponins in the roots of *Codonopsis lanceolata* by liquid chromatography mass spectrometry. *J. Nat. Med.*, 63: 52-57.
14. Moreira D. S. M. H., Debergh P. C., 1997. The effect of light quality on the morphogenesis of *in vitro* cultures of *Azorina vidalii* (Wats.) Feer. *Plant Cell Tissue Org.*, 51: 187-193.
15. Duong Tan Nhut, Takamura T., Watanabe H., Okamoto K. & Tanaka M., 2003. Responses of strawberry plantlets cultured *in vitro* under superbright red and blue light-emitting diodes (LEDs). *Plant Cell Tissue Org.*, 73: 43-52.
16. Dương Tấn Nhựt, Nguyễn Bá Nam, 2009. Ảnh hưởng của hệ thống chiếu sáng đơn sắc lên sự sinh trưởng và phát triển của cây hoa cúc (*Chrysanthemum Morifolium* CV. "Nút") nuôi cấy *in vitro*. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 7(1): 93-100.
17. Dương Tấn Nhựt, 2011. *Công nghệ sinh học thực vật: Nghiên cứu cơ bản và ứng dụng*, NXB Nông nghiệp. 536 trang.
18. Sakamoto K., Briggs W.R., 2002. Cellular and subcellular localization of phototropin 1. *Plant Cell*, 14: 1723-1735.
19. Teresa C. U., Ewa H. F., Adam S., 2007. Effect of light wavelength on *in vitro* organogenesis of a *Cattleya Hybrid*. *Acta. Biol. Crac. Ser. Bot.*, 49(1): 113-118.
20. Tracy A. O. D., Bruce B., 2001. Evidence for yellow light suppression of lettuce growth. *Photochem. Photobiol.*, 73(2): 208-212.
21. Wellburn A R, 1994. The spectral determination of chlorophyll a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.*, 144: 307-313.
22. Xiaoying L., Shirong G., Taotao C., Zhigang X., Tezuka T., 2012. Regulation of the growth and photosynthesis of cherry tomato seedlings by different light irradiations of light emitting diodes (LED). *Afr. J. Biotechnol.*, 11(22): 6169-6177.
23. Xin T., Zhang F., Jiang Q., Chen C., Huang D., Li Y., Shen W., Jin Y., Sui G., 2012. The inhibitory effect of a polysaccharide from *Codonopsis pilosula* on tumor growth and metastasis *in vitro*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 51(5): 788-793.

24. Xu C., Liu Y., Yuan G., Guan M., 2012. The contribution of side chains to antitumor activity of a polysaccharide from *Codonopsis pilosula*. Int. J. Biol. Macromol., 50(4): 891-894.
25. Xu L., 2002. Chinese materia medica: combinations and applications. St Albans, United Kingdom: Donica publishing Ltd. 840 pages.
26. Yamazaki J., Takahisa S., Emiko M., Yasumaro K., 2005. The stoichiometry and antenna size of the two photosystems in marine green algae, *Bryopsis maxima* and *Ulva pertusa*, in relation to the light environment of their natural habitat. J. Exp. Bot., 56 (416): 1517-1523.
27. Yang C., Gou Y., Chen J., An J., Chen W., Hu F., 2013. Structural characterization and antitumor activity of a pectic polysaccharide from *Codonopsis pilosula*. Carbohydr. Polym., 98(1): 886-895.
28. Yhai W. and Kevin M. F., 2013. Contribution of green light to plant growth and development. Am. J. Bot., 100(1): 70-78, Doi: 10.3732/ajb.1200354.

## STUDY ON THE EFFECTS OF LED LIGHT ON PHYSIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF DANG SHEN (*Codonopsis* sp.) GROWTH IN *IN VITRO* CONDITION

Nguyen Khac Hung<sup>1</sup>, Pham Bich Ngoc<sup>1</sup>, Nguyen Thi Thu Hien<sup>1</sup>,  
Nguyen Thi Thuy Huong<sup>1</sup>, Do Thi Gam<sup>2</sup>, Le Duy Hung<sup>3</sup>, Chu Hoang Ha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biotechnology, VAST

<sup>2</sup>Center for High Technology Development, VAST

<sup>3</sup>Kon Tum Center for application and transformation of Technology

### SUMMARY

*Codonopsis* sp. has been widely used in Vietnam's folk medicine for years due to its marvelous characteristics, such as health enhancing, immune promoting etc., Dang shen is naturally being overexploited that could lead it to extinction. LED technology has been applied in micro propagation with various advantages, such as long life, convenient size, easy automated, electric saver and eco-friendly. This research aims to evaluate the effects of distinguished LED categories on the development of Dang shen and to assess the applicable ability of LED in this plant *in vitro* cultivated. The results indicated that different light conditions have manifold effects on plant morphology and physiology. While single wavelength 450 nm (Blue light) and 660 nm (Red light) caused the abnormal development of plant, the combined wavelength type BR (80% Red light: 20% Blue light) resulted in extremely promoting plant growth ability. There was approximate 90% of shoot induced roots after 30 days period cultured under BR LED, in contrast, only 75% in control light condition. Furthermore, the numbers of roots emerged, the roots length and the plant height under BR light conditions were all improved, comparing with other investigated conditions. Our significant outcomes certainly contributed a solution in which LED light, especial combined type (80% red light: 20% blue light) could replace fluorescent in plant cell culture.

*Keywords:* *Codonopsis*, Dang shen, LED light, light emitting diodes, rooting.

*Ngày nhận bài:* 21-9-2015