

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA HỆ THỐNG CHIẾU SÁNG ĐƠN SẮC ĐẾN QUÁ TRÌNH NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY HOA CHUÔNG (*Sinningia speciosa*)

Trần Ngọc Truôi¹, Nguyễn Đăng Nhật¹, Nguyễn Văn Đức²,
Trần Thị Triều Hà², Nguyễn Tiến Long³, Lê Thị Thu Hằng²

¹Khoa Cơ bản, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế,

²Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế,

³Phòng Sau Đại học, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

Liên hệ email: tranngoctrui@huaf.edu.vn

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng hệ thống chiếu sáng đơn sắc với hai loại đèn LED: Ánh sáng đơn sắc đỏ có bước sóng 650 nm (R), ánh sáng đơn sắc xanh có bước sóng 450 nm (B), kết hợp ánh sáng đơn sắc đỏ và ánh sáng đơn sắc xanh theo các tỷ lệ khác nhau cho quy trình nhân giống vô tính *in vitro* cây hoa chuông, nhằm tìm ra được nguồn chiếu sáng đơn sắc phù hợp với từng giai đoạn trong quy trình nhân giống, để nâng cao chất lượng cây giống và hạ giá thành trong sản xuất thương mại ở quy mô lớn. Kết quả thu được cho thấy: trong quy trình nhân giống *in vitro* cây hoa chuông, hệ thống chiếu sáng đơn sắc sử dụng đèn LED tỏ ra vượt trội hơn so với sử dụng đèn huỳnh quang. Giai đoạn tái sinh chồi từ mô lá dưới điều kiện chiếu sáng sử dụng đèn LED kết hợp tỷ lệ 70% R + 30% B cho tỷ lệ mẫu tái sinh chồi, số chồi/mẫu đạt giá trị cao nhất lần lượt là: 75,33%; 1,96 chồi. Sử dụng ánh sáng đơn sắc đèn LED tỷ lệ 80% R + 20% B thích hợp nhất cho quá trình nhân nhanh chồi với hệ số nhân chồi đạt được là 7,87 lần, chiều cao chồi là 1,95 cm. Giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh, sử dụng ánh sáng đơn sắc đèn LED tỷ lệ 70% R + 30% B là thích hợp nhất. Chiều cao cây đạt được là 7,54 cm, số lá 6,80 lá, số rễ 6,13 rễ, chiều dài rễ 2,07 cm, khối lượng tươi 1,24 g/cây. Cây giống hoa chuông *in vitro* được nuôi cấy dưới điều kiện chiếu sáng đơn sắc LED tỷ lệ 70% R + 30% B khi đưa ra trồng ở giai đoạn vườn ươm thích nghi rất tốt với điều kiện tự nhiên. Tỷ lệ sống đạt 96,67%, thời gian ra rễ sau trồng 5 ngày.

Từ khóa: Ánh sáng đơn sắc, hoa chuông, nhân giống *in vitro*

Nhận bài: 19/05/2017

Hoàn thành phản biện: 13/06/2017

Chấp nhận bài: 16/06/2017

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa chuông (*Sinningia speciosa*), thuộc họ *Gesneriaceae*, bộ *Lamiales*, có nguồn gốc từ Brazil. Nhờ sự đa dạng màu sắc, kiểu dáng hoa và có hương thơm quyến rũ. Hoa chuông đã trở thành một trong những loài hoa nhập nội có giá trị, đáp ứng được xu hướng ưa thích các loài hoa mới lạ của người chơi hoa và sự quan tâm của người trồng hoa. Để thương mại hóa loại cây trồng này và đáp ứng nhu cầu cây giống ngày càng tăng, kỹ thuật nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật đã được ứng dụng. Nghiên cứu vi nhân giống đối tượng này, được thực hiện bởi nhiều tác giả trong và ngoài nước, nhằm mục đích tăng hệ số nhân cây giống, nâng cao chất lượng cây giống *in vitro*, hạ giá thành sản phẩm, cải thiện hiệu quả kỹ thuật phòng nuôi. Tuy nhiên, hầu hết các quy trình nhân giống lượng

điện năng tiêu thụ thường là yếu tố chính quyết định giá thành cây giống, chi phí điện năng chiếm đến 19% giá thành mỗi cây giống (Tomar và cs., 2013). Do vậy, việc nghiên cứu để giảm điện năng tiêu thụ, cải thiện chất lượng cây giống luôn là mục tiêu cho các nhà nghiên cứu, nhà sản xuất giống cây trồng hiện nay.

Chất lượng của ánh sáng ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của mẫu cây thông qua quá trình quang hợp, tổng hợp protein, flavonoid và quang phát sinh hình thái (Teresa và cs., 2007). Hiện nay, đèn neon là nguồn chiếu sáng chính được sử dụng trong các phòng nuôi cấy mô thực vật. Tuy nhiên, nguồn chiếu sáng này là sự phối trộn của nhiều vùng quang phổ có bước sóng từ 380 nm đến 800 nm, trong đó có những vùng bước sóng ngắn không có lợi cho sự sinh trưởng của thực vật, có một số phổ ánh sáng không cần thiết (Dương Tấn Nhựt và Nguyễn Bá Nam, 2009). Hơn nữa, đèn huỳnh quang có tuổi thọ thấp, tiêu tốn nhiều điện năng và phát nhiệt trong quá trình thấp sáng (Nguyễn Khắc Hưng và cs., 2016) nên phải tiêu tốn thêm lượng điện năng làm mát để ổn định nhiệt độ trong phòng nuôi cấy. Vì vậy, sự phát triển hệ thống chiếu sáng mới nhằm hạn chế được các nhược điểm trên sẽ mang lại những lợi ích đáng kể trong vi nhân giống thực vật. Một số nguồn chiếu sáng đang được nghiên cứu để sử dụng thay thế đèn neon là: đèn compact, đèn LED. Trong đó, nguồn chiếu sáng đơn sắc (LED - Light emitting diodes) đang rất được chú trọng bởi: Kích thước và thể tích nhỏ, tuổi thọ cao và vùng quang phổ được kiểm soát. Nhiều kết quả nghiên cứu về đèn LED (Tanaka và Sakanishi, 1980; Goins và cs., 1997; Lian và cs., 2002, Nhut, 2002; Nam và cs., 2012) cho thấy: ánh sáng đơn sắc đỏ, ánh sáng đơn sắc xanh hoặc sự phối hợp giữa ánh sáng đỏ và xanh có tác dụng kích thích sinh trưởng, tăng chất lượng cây giống... Tuy nhiên, đối với từng loại cây trồng và ở từng giai đoạn sinh trưởng của cây thì phản ứng với các điều kiện chiếu sáng là hoàn toàn khác nhau.

Xuất phát từ những vấn đề trên, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: “Nghiên cứu ảnh hưởng của hệ thống chiếu sáng đơn sắc đến quá trình nhân giống *in vitro* cây hoa chuông (*Sinningia speciosa*)”.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống hoa chuông màu đỏ, cánh kép có nguồn gốc từ Brazil do phòng thí nghiệm Nuôi cấy mô tế bào thực vật, khoa Nông học - Trường Đại học Nông Lâm – Đại học Huế cung cấp.

- Hệ thống chiếu sáng: Hệ thống chiếu sáng đơn sắc với hai loại đèn LED, ánh sáng đơn sắc đỏ có bước sóng 650 nm (R), ánh sáng đơn sắc xanh có bước sóng 450 nm (B) (Janick, 2015), kết hợp ánh sáng đơn sắc đỏ và ánh sáng đơn sắc xanh theo các tỷ lệ khác nhau. Ánh sáng đèn huỳnh quang (đối chứng).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Toàn bộ thí nghiệm gồm 7 công thức, được thực hiện ở 2 giai đoạn:

Công thức 1: Đối chứng

Công thức 2: 100% (R)

Công thức 3: 90% (R): 10% (B)

Công thức 4: 80% (R): 20% (B)

Công thức 5: 70% (R) : 30% (B)

Công thức 6: 50% (R) : 50% (B)

Công thức 7: 100% (B)

* *Giai đoạn 1*: Thực hiện trong phòng thí nghiệm với điều kiện nhân tạo, nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, cường độ ánh sáng 1.000 lux (ánh sáng đèn LED) và 2.500 lux (ánh sáng đèn huỳnh quang), thời gian chiếu sáng 14/10 giờ (sáng/tối). Thành phần môi trường nuôi cấy áp dụng theo Lê Thị Thu Hằng và cs. (2013): Thí nghiệm tái sinh chồi: sử dụng mẫu cây (mô lá) có nguồn gốc từ chồi *in vitro*. Cặp lá ở vị trí thứ 2 (từ ngọn xuống) của chồi *in vitro* được dùng làm nguyên liệu để tái sinh cây trong hệ thống chiếu sáng đơn sắc khác nhau. Các lá này được cắt thành 2 - 3 mảnh (1 cm^2), cấy trên môi MS có bổ sung 1 mg/l BA, 0,02 mg/l NAA 30 g/l sucrose, 6,5 g/l agar; Thí nghiệm nhân nhanh: các chồi hoa chuông *in vitro* có kích thước 1 cm được sử dụng để nuôi cấy trên môi MS có bổ sung 0,5 mg/l BA, 30g/l sucrose, 6,5 g/l agar trong hệ thống chiếu sáng đơn sắc khác nhau; Thí nghiệm tạo cây hoàn chỉnh: các chồi hoa chuông *in vitro* có kích thước 3 cm được sử dụng để cấy trên môi MS có bổ sung 0,3 mg/l NAA, 30g/l sucrose và 6,5g/l agar trong hệ thống chiếu sáng đơn sắc khác nhau.

* *Giai đoạn 2*: Thực hiện ngoài vườn ươm với điều kiện được che mưa hoàn toàn, sử dụng lưới đen để giảm cường độ ánh sáng. Cây giống hoa chuông *in vitro* có đủ thân rễ lá được tạo ra từ hệ thống chiếu sáng đèn LED và hệ thống chiếu sáng đèn huỳnh quang, rửa sạch agar, để ráo nước trước khi ươm trồng. Giá thể trồng: Cát đen mịn được phơi khô và xử lý nguồn bệnh bằng Vicarben với liều lượng 3 ml/8 lít nước, phun đảm bảo độ ẩm đạt 60 - 65%, phủ nilon và ủ trong 7 ngày. Cây giống được ươm trên khay xốp có 84 lỗ/khay. Chỉ tiêu theo dõi: Số mẫu tái sinh, số chồi/mẫu, chiều cao chồi, số lượng chồi, số lá, khối lượng cây, số rễ, chiều dài rễ, chất lượng cây. Các chỉ tiêu nghiên cứu được theo dõi thường xuyên 7 ngày 1 lần. Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), 3 lần lặp lại, mỗi công thức theo dõi 30 mẫu.

Các thí nghiệm được thực hiện từ tháng 8/2016 đến tháng 3/2017 tại phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tế bào, Bộ môn Di truyền - Giống, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế. Các số liệu được xử lý trên phần mềm Microsoft Excel và phần mềm Statistis 9.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng khác nhau đến quá trình tái sinh chồi mô lá cây hoa chuông *in vitro*

Ánh sáng cung cấp năng lượng cho quang hợp và điều hòa nhiều nhân tố cần thiết cho sự phát triển của thực vật (Hoàng Minh Tấn và cs., 2006). Trong nhân giống *in vitro*, sự hình thành chồi bất định và tạo cây con *in vitro* chịu ảnh hưởng rất lớn bởi các nguồn chiếu sáng khác nhau. Thực vật dưới ánh sáng đỏ sẽ được cảm ứng bằng cách phân hóa lục lạp, kéo dài thân... còn ánh sáng xanh sẽ được cảm ứng bằng cách sinh tổng hợp các sắc tố và ức chế kéo dài thân.

Nghiên cứu xác định ảnh hưởng của các nguồn chiếu sáng đơn sắc đỏ, đơn sắc xanh và kết hợp chúng theo tỷ lệ khác nhau, đến khả năng tái sinh chồi của các mẫu cây là mô lá theo các công thức trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng khác nhau tới khả năng tái sinh chồi của mô lá cây hoa chuông *in vitro*

(Sau 8 tuần nuôi cấy)

Công thức	Thời gian tái sinh (ngày)	Tỷ lệ mẫu tái sinh (%)	Số chồi/mẫu (chồi)	Chất lượng chồi
Đối chứng	32	53,33 ^d	1,34 ^c	++
100% R	35	36,67 ^e	1,28 ^c	+
90% R + 10% B	35	60,00 ^c	1,43 ^{bc}	+
80% R + 20% B	28	63,33 ^c	1,53 ^{bc}	+++
70% R + 30% B	26	75,33 ^a	1,96 ^a	+++
50% R + 50% B	28	70,00 ^b	1,63 ^b	+++
100% B	30	62,67 ^c	1,46 ^{bc}	++
LSD _{0,05}		4,85	0,29	

Ghi chú: a, b, c... sự sai khác có ý nghĩa giữa các công thức về mặt thống kê ở mức $\alpha = 0,05$

+++ chồi khỏe, cứng cáp; ++ chồi bình thường; + chồi yếu, sinh trưởng kém

Số liệu bảng 1 cho thấy: chất lượng ánh sáng có ảnh hưởng đáng kể đến thời gian tái sinh chồi, tỷ lệ mẫu tái sinh và số chồi/mẫu. Cụ thể, ở công thức 70% R + 30% B có thời gian tái sinh chồi ngắn nhất là 26 ngày, ít hơn so với đối chứng 6 ngày. Cũng ở công thức này, các chỉ tiêu như tỷ lệ mẫu tái sinh; số chồi/mẫu đều cao hơn so với đối chứng và các công thức khác: tỷ lệ mẫu tái sinh đạt 75,33% (cao hơn đối chứng 22%), số chồi/mẫu 1,96 chồi (cao hơn so với đối chứng 0,62 chồi). Các chồi mới được tạo ra đều mập mạp, lá dày xanh đậm và có hình dáng điển hình không bị biến dạng. Kế đến là hai công thức 80% R + 20% B và 50% R + 50% B. Công thức sử dụng đơn lẻ ánh sáng đơn sắc đỏ hoặc ánh sáng đơn sắc xanh không có tác dụng tới khả năng tái sinh chồi của mô lá cây hoa chuông *in vitro*. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Nhut và cs. (2003), khi nuôi cấy *in vitro* cây dâu tây dưới hệ thống chiếu sáng đèn LED (tăng trưởng tốt nhất ở điều kiện 70% R + 30% B). Một số nghiên cứu khác của Nhut (2002), Tanaka và Sakanishi (1980) khi nuôi cấy *in vitro* cây chuối, *Phalaenopsis*, *Eucalyptus citriodora* tăng trưởng tốt nhất dưới điều kiện chiếu sáng 80% R + 20% B. Trong sự hình thành chồi bất định và cây con *in vitro* của các cây *Torenia*, Cát tường, Dâu tây và Địa lan, thích hợp với sự kết hợp giữa hai nguồn ánh sáng đèn LED đỏ và đèn LED xanh với tỷ lệ 70% R + 30% B, đồng thời tỷ lệ ánh sáng này cũng kích thích cho cây con *in vitro* tăng trưởng chiều cao, khỏe mạnh, lá màu xanh đậm do tổng hợp nhiều chlorophyll. Điều này cũng phù hợp với những nghiên cứu của Goins và cs. (1997) cho rằng, sự kết hợp ánh sáng của đèn LED đỏ và đèn LED xanh làm tăng khả năng sinh trưởng, phát triển và gia tăng tốc độ quang hợp của cây *in vitro*.

3.2. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng khác nhau đến quá trình nhân nhanh chồi hoa chuông *in vitro*

Nâng cao chất lượng cây giống và hạ giá thành trong sản xuất thương mại luôn là mục tiêu cần nghiên cứu cải tiến của các quy trình nhân giống *in vitro* các loại cây trồng.

Trong giai đoạn này, cần phải đáp ứng các yêu cầu về dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy để làm tăng số lượng chồi có chất lượng tốt, trong thời gian ngắn để tạo ra nhiều cây giống khỏe, đồng nhất về mặt di truyền, sinh trưởng và phát triển tốt, mang những đặc điểm hoàn toàn giống với cá thể mẹ (Nguyễn Đức Thành, 2000). Ở thí nghiệm này, chúng tôi sử dụng các chồi *in vitro* có kích thước 1 cm được nuôi cấy trên môi trường nhân nhanh (MS có

bổ sung 1 mg/l BA, 0,02 mg/l NAA 30g/l sucrose, 6,5 g/l agar) trong các điều kiện chiếu sáng khác nhau, nhằm đánh giá khả năng tăng hệ số nhân chồi *in vitro* của cây hoa chuông. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng đến hệ số nhân và chiều cao chồi trong quá trình nhân nhanh

(Sau 6 tuần nuôi cấy)

Công thức	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
Đối chứng	5,77 ^c	1,8 ^c	++
100% R	4,70 ^d	3,53 ^a	+
90% R + 10% B	4,63 ^d	2,29 ^b	+
80% R + 20% B	7,87 ^a	1,95 ^c	+++
70% R + 30% B	6,91 ^b	1,79 ^c	+++
50% R + 50% B	5,74 ^c	1,57 ^d	+++
100% B	3,57 ^e	1,25 ^e	++
<i>LSD</i> _{0,05}	0,35	0,21	

Ghi chú: a, b, c... sự sai khác có ý nghĩa giữa các công thức về mặt thống kê ở mức $\alpha = 0,05$

+++ chồi khỏe, cứng cáp; ++ chồi bình thường; + chồi yếu, sinh trưởng kém

Kết quả thu được ở bảng 2 cho thấy: sau 8 tuần nuôi cấy các chồi *in vitro* sinh trưởng phát triển dưới điều kiện chiếu sáng đèn LED đỏ và đèn LED xanh phối hợp với nhau theo tỷ lệ 80% R + 20% B tốt hơn so với các điều kiện chiếu sáng khác. Các chỉ tiêu quan trọng thu được như, hệ số nhân chồi, chiều cao chồi đều đạt giá trị cao nhất lần lượt là 6,87 lần và 1,95 cm (bảng 2). Ngoài ra, các chồi *in vitro* được tạo ra dưới điều kiện chiếu sáng này có hình dạng chồi điển hình, lá có màu xanh đậm, bề mặt lá có nhiều lông tơ. Trong thí nghiệm này, ánh sáng đèn LED đỏ tác động lên sự kéo dài chiều cao chồi *in vitro* cây hoa chuông. Tỷ lệ LED đỏ càng cao trong các điều kiện chiếu sáng thì chiều cao chồi càng lớn. Chiều cao chồi đạt giá trị lớn nhất là 3,53 cm dưới điều kiện chiếu sáng 100% LED đỏ, kế đến là 2,29 cm dưới điều kiện chiếu sáng 90% LED đỏ... và cuối cùng là 50% LED đỏ 1,57 cm. Trong khi đó, ánh sáng LED xanh ức chế chiều cao chồi, hệ số nhân thu được chỉ đạt giá trị thấp nhất 3,57 lần, khả năng quang hợp của cây kém lá có màu xanh nhạt, phiến lá uốn cong, cây sinh trưởng kém. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với Nguyễn Bá Nam và cs. (2012) khi nghiên cứu ảnh hưởng của hệ thống chiếu sáng đơn sắc đến sự sinh trưởng và phát triển của cây hoa đồng tiền nuôi cấy *in vitro*.

Nhìn chung, các nghiên cứu về hệ thống chiếu sáng đơn sắc LED cho thực vật nuôi cấy *in vitro* đều cho rằng, sự sinh trưởng và phát triển có thể được thúc đẩy bằng cách gia tăng tốc độ quang hợp ở thực vật dưới vùng quang phổ là đỉnh hấp thụ các sắc tố quang hợp, vùng quang phổ này thường là giao thoa giữa hai ánh sáng đơn sắc xanh (bước sóng 450 nm) và ánh sáng đơn sắc đỏ (bước sóng 650 nm). Tanaka và cs. (1998) chỉ ra trọng lượng tươi và khô của mẫu cây Địa lan tăng khi nuôi cấy dưới vùng ánh sáng LED đỏ và LED xanh kết hợp. Củ lily có kích thước lớn nhất khi nuôi cấy dưới vùng ánh sáng 50% LED đỏ + 50% LED xanh (Lian và cs., 2002).

3.3. Ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng khác nhau đến quá trình tạo cây hoàn chỉnh

Giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh trong nuôi cấy *in vitro* là giai đoạn rất quan trọng, có ảnh hưởng rất lớn đến khả năng sống và thích nghi của cây trong giai đoạn đưa cây ra ngoài vườn ươm. Cây giống trước khi đưa ra ngoài vườn ươm phải đạt tiêu chuẩn về chiều cao, số lá, số rễ, cây khỏe và cứng cáp.

Các chồi *in vitro* được hình thành ở giai đoạn nhân nhanh có hình dáng một cụm chồi (gồm nhiều chồi/góc). Các chồi được tách ra đơn lẻ, có kích thước tương đối đồng đều 3 cm/chồi và cấy vào môi trường MS có bổ sung 0,3 mg/l NAA, 30g/l sucrose, 6,5g/l agar trong hệ thống chiếu sáng đơn sắc khác nhau, nhằm xác định điều kiện chiếu sáng tối ưu để tạo cho cây giống *in vitro* có bộ rễ hoàn chỉnh, cây khỏe sẵn sàng đưa ra vườn ươm. Kết quả thu được trình ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng đến khả năng tạo cây hoàn chỉnh *in vitro*

(Sau 4 tuần nuôi cấy)

Công thức	Chiều cao (cm)	Số lá (lá)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng tươi (g)	Chất lượng cây
Đối chứng	5,80 ^c	5,87 ^c	5,23 ^{ab}	1,64 ^c	0,77 ^c	++
100% R	8,77 ^a	5.18 ^d	3.96 ^{bc}	0,73 ^d	0,67 ^c	+
90% R + 10% B	8,42 ^a	6,13 ^{bc}	5,63 ^a	2,28 ^a	1,12 ^a	++
80% R + 20% B	7,71 ^b	6,53 ^{ab}	6,27 ^a	2,11 ^{ab}	1,16 ^a	+++
70% R + 30% B	7,54 ^b	6,80 ^a	6,13 ^a	2,07 ^{ab}	1,24 ^a	+++
50% R + 50% B	5,32 ^c	5,98 ^c	5,83 ^a	2,11 ^{ab}	0,93 ^b	++
100% B	3,49 ^d	5,72 ^c	3,37 ^c	1,90 ^{bc}	0,76 ^c	+
LSD _{0,05}	0,37	0,49	1,36	0,31	0,13	

Ghi chú: a, b, c... sự sai khác có ý nghĩa giữa các công thức về mặt thống kê ở mức $\alpha = 0,05$

+++ Cây khỏe, cứng cáp, nhiều rễ; ++ cây bình thường; + cây sinh trưởng kém, ít rễ

Bảng 3 cho thấy: ánh sáng LED đỏ và LED xanh kết hợp với nhau có thể cải thiện khả năng sinh trưởng, phát triển của chồi hoa chuông *in vitro*. Dưới điều kiện chiếu sáng 80% R + 20% B và 70% R + 30% B các chỉ tiêu sinh trưởng thu được hầu như không có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức $\alpha = 0,05$ và đều vượt trội hơn so với các tỷ lệ chiếu sáng khác (bảng 3). Dưới điều kiện chiếu sáng phù hợp, cây giống *in vitro* thu được đều đạt chất lượng tốt: cây khỏe, cứng cáp, rễ nhiều. Ở công thức sử dụng 100% R, chiều cao cây đạt giá trị lớn nhất 8,77 cm. Tuy chiều cao vượt trội hơn so với đối chứng và các công thức khác nhưng chiều dài rễ và khối lượng tươi lại thấp, các đốt thân kéo dài, lá nhỏ, cây yếu ớt. Như vậy, có thể thấy ánh sáng LED đỏ kích thích phát triển chiều cao cây *in vitro* nhưng không làm tăng khả năng quang hợp tích lũy vật chất tạo tiền đề để cây sinh trưởng tốt. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Bá Nam và cs. (2012). Công thức sử dụng 100% B cây hoa chuông *in vitro* sinh trưởng phát triển kém, các chỉ tiêu sinh trưởng thu được hầu như đều thấp hơn so với công thức đối chứng và các công thức khác (bảng 3). Nghiên cứu của Hahn và cs. (2000) đã chỉ ra rằng, tốc độ quang hợp của cây *Rehmanniaglutinose* nuôi cấy *in*

vitro rất cao dưới hệ thống chiếu sáng LED hỗn hợp (50% R + 50% B), trong khi đó dưới hệ thống chỉ có LED đỏ hoặc LED xanh có tốc độ quang hợp rất thấp.

3.4. Đánh giá khả năng sinh trưởng của cây hoa chuông *in vitro* có nguồn gốc từ hệ thống chiếu sáng đơn sắc ở giai đoạn vườn ươm

Giai đoạn chuyển cây *in vitro* từ phòng thí nghiệm (điều kiện nhân tạo) ra vườn ươm (điều kiện tự nhiên) thường gặp rất nhiều khó khăn như: tỷ lệ cây sống thấp, cây sinh trưởng kém và sâu bệnh hại tấn công... Nguyên nhân chủ yếu là do cây *in vitro* đưa ra vườn ươm rất mẫn cảm với môi trường, bộ rễ còn non yếu, điều kiện thời tiết khắc nghiệt và khâu xử lý giá thể trước khi trồng chưa phù hợp (Salvador và Minami, 2008). Vì vậy, cần chú ý các điều kiện về độ ẩm, nhiệt độ, sâu bệnh hại... để đảm bảo cây giống *in vitro* sinh trưởng phát triển tốt. Sau khi đưa cây ra vườn, chúng tôi tiến hành theo dõi và thu được kết quả trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Thời gian sinh trưởng và tỷ lệ sống của cây hoa chuông *in vitro* nuôi ở các điều kiện chiếu sáng khác nhau ở giai đoạn vườn ươm

Công thức	Tỷ lệ sống (%)	Ngày ra rễ mới (ngày)	Ngày ra lá mới (ngày)	Số lá (lá)	Chiều cao cây (cm)	Khối lượng tươi (g)
Đối chứng	90,00	7	12	7,86	6,12	1,64
70% R + 30% B	96,67	5	7	8,12	8,29	2,23

Bảng 4 cho thấy, cây giống hoa chuông nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện chiếu sáng khác nhau, khi đưa ra trồng ngoài vườn ươm khả năng thích nghi với điều kiện tự nhiên hoàn toàn khác nhau. Cây giống *in vitro* được tạo ra dưới hệ thống chiếu sáng đèn LED với tỷ lệ 70% R + 30% B có tỷ lệ cây sống đạt 96,67%, các chỉ tiêu sinh trưởng thu được ở giai đoạn vườn ươm đều vượt trội hơn so với nuôi cấy dưới điều kiện chiếu sáng đèn huỳnh quang.

4. KẾT LUẬN

Trong quy trình nhân giống *in vitro* cây hoa chuông, hệ thống chiếu sáng đơn sắc sử dụng đèn LED cho kết quả vượt trội hơn so với sử dụng đèn huỳnh quang.

Giai đoạn tái sinh chồi từ mô lá dưới điều kiện chiếu sáng sử dụng đèn LED kết hợp tỷ lệ 70% R + 30% B cho tỷ lệ mẫu tái sinh chồi, số chồi/mẫu, đạt giá trị cao nhất lần lượt là: 75,33%; 1,96 chồi.

Giai đoạn nhân nhanh chồi *in vitro* sử dụng ánh sáng đơn sắc đèn LED tỷ lệ 80% R + 20% B thích hợp nhất cho quá trình nhân nhanh chồi. Hệ số nhân chồi đạt được là 7,87 lần, chiều cao chồi là 1,95 cm.

Giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh, sử dụng ánh sáng đơn sắc đèn LED tỷ lệ 70% R + 30% B là thích hợp nhất. Chiều cao cây đạt được là 7,54 cm, số lá 6,80 lá, số rễ 6,13 rễ, chiều dài rễ 2,07 cm, khối lượng tươi 1,24 g/cây.

Cây giống hoa chuông *in vitro* được nuôi cấy dưới điều kiện chiếu sáng đơn sắc LED tỷ lệ 70% R + 30% B khi đưa ra trồng ở giai đoạn vườn ươm thích nghi rất tốt với điều kiện tự nhiên. Tỷ lệ sống đạt 96,67%, thời gian ra rễ sau trồng 5 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

- Lã Thị Thu Hằng, Trần Văn Minh, Nguyễn Minh Hiếu, Trần Thị Thu Hà, Lê Thị Khánh, (2013). Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống cây hoa chuông (*Sinningia speciosa*) in vitro, *Tạp chí nông nghiệp phát triển nông thôn tháng 6 – 2013*, 102-107.
- Nguyễn Khắc Hưng, Phạm Bích Ngọc, Nguyễn Thị Thu Hiền, Nguyễn Thị Thúy Hương, Đỗ Thị Gấm, Lê Duy Hùng, Chu Hoàng Hà, (2016). *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 cấy in vitro*. *Tạp chí sinh học*, 38(2): 220-227.
- Nguyễn Bá Nam, Nguyễn Thị Kim Yến, Dương Tấn Nhựt, (2012). Ảnh hưởng của hệ thống chiếu sáng đơn sắc lên sự sinh trưởng và phát triển của cây hoa đồng tiền (*Gerbera Jamesonii*) nuôi cấy in vitro. *Tạp chí Công nghệ sinh học*, 10A(4A), 943-951.
- Dương Tấn Nhựt và 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.
- Hoàng Minh Tấn, Nguyễn Quang Thạch, Vũ Quang Sáng, (2006). *Giáo trình Sinh lý thực vật*. Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội.
- Nguyễn Đức Thành, (2000). *Nuôi cấy mô tế bào thực vật - Nghiên cứu ứng dụng*. Hà Nội: Nhà xuất bản Nông nghiệp,

Tài liệu tiếng nước ngoài

- Goins G. D, Yorio N. C, Sanwo M. M and Brown C. S., (1997). Photomorphogenesis, photosynthesis and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue light. *J Exp Bot*, 48, 1407-1413.
- Hahn E. J, Kozai T, Paek K. Y., (2000). Blue and red light-emitting with or without sucrose and ventilation affects in vitro growth of *Rehmannia glutinosa* plantlets. *J Plant Biol*, 43, 247-250.
- Janick J., (2015). Properties of LEDs. *Horticultural review* 43: 6-10. A John Wiley & Sons, Inc. Publication.
- Lian M. L, Murthy H. H and Paek K. Y., (2002). Effects of light emitting diodes (LEDs) on the in vitro induction and growth of bulblets of liliium oriental hybrid 'Pesaro'. *Sci Hortic*, 94, 365-370.
- Nhut D. T., (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.
- Nhut D. T, Takamura T, Watanabebright H, Okamoto K, Tanaka M., (2003). Responses of strawberry plantlets cultured in vitro under superbright red and blue light emitting diodes (LEDs). *Plant Cell Tiss Org Cult*, 73, 43-52.
- Salvador, E. D., K. Minami, (2008). *Evaluation of different substrates on gloxinia (sinningia speciosa lood. hiern.) growth*, *International Symposium on Growing Media*. Retrived from: http://www.actahort.org/books/779/779_71.htm).
- Tanaka M, Sakanishi Y., (1980). *Clonal propagation of Phalaenopsis through tissue culture*, In: *Tanaka M, Saito K, eds*. Proceedings of the 9th world orchid conference Tokyo, Japan: 215.
- Tanaka M, Takamura T, Watanabe H, Endo M, Panagi T, Okamoto K., (1998). in vitro growth of *Cymbidium* plantlets cultured under superbright red and blue light - emitting diodes. *Jhortic Sci Biotech*, 73, 39-44.
- Teresa C. B, EWA H and ADAM S., (2007). *Effect of light wavelength on in vitro organogenesis of a cattleya hybrid*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 49/1, 113-118.
- Tomar U. K, Usha Negi, A.K. Sinha, Dantu P.K., (2013). *An Overview of the Economic Factors Influencing Micropropagation*. Forest Genetics and Plant Breeding Division, Arid Forest Research Institute, New Pali Road, P.O. Krishi Mandi, Jodhpur 342 005, Rajasthan, India.

EFFECTS OF LIGHT EMITTING DIODES SYSTEM ON THE *IN VITRO* MULTIPLICATION OF GLOXINIA (*Sinningia speciosa*)

Tran Ngoc Truoi¹, Nguyễn Dang Nhat¹, Nguyen Van Duc²,
Tran Thi Trieu Ha², Nguyen Tien Long³, La Thi Thu Hang²

¹Faculty of Basic Science, University of Agriculture and Forestry, Hue University

²Faculty of Agronomy, University of Agriculture and Forestry, Hue University

³Post-Graduate Training Department, University of Agriculture and Forestry, Hue University

Contact email: tranngoctrui@huaf.edu.vn

ABSTRACT

This study was conducted to find the effects of light emitting diodes (LED) system on the *in vitro* multiplication of gloxinia (*Sinningia speciosa* (G. Lodd.) Hiern). The red monochromatic light with a wavelength of 650 nm (R), the blue monochromatic light with a wavelength of 450 nm (B) and the combination of red monochromatic light and blue monochromatic light at different rates were used to find the suitable monochromatic light source for each stage of the *in vitro* multiplication of gloxinia. The study results show that the shoot regeneration stage from leaf callus under lighting condition using 70% R + 30% B of LED has the highest percentage of shoot regeneration (75.33%) and the number of shoots/samples (1.96), respectively. In the shoot multiplication stage, the suitable lighting condition using 80% R + 20% B of LED has the highest of shoot multiplication (7.87 times) and the height of shoots (1.95 cm/shoot). The combination of 70% R + 30% B of LED is the most suitable lighting condition in the root generation stage with the average plant height is 7.54 cm. The average number of leaves are 6.80 leaves/plant and average root is 6.13 roots/plant, the average of root length is 2.07 cm and the average fresh weight is 1.24 g/plant. In the nursery stage, the *in vitro* gloxinia plant is growing in the 70% R + 30% B of LED lighting conditions which has the highest survival rate (96.67%) and root emerge after five days planting.

Key words: Monochromatic light, gloxinia, *in vitro* multiplication

Received: May 19, 2017

Reviewed: June 13, 2017

Accepted: June 16, 2017

