



DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.024

ỨNG DỤNG ĐÈN LED TRONG VI NHÂN GIỐNG CÂY GỪNG (*Zingiber officinale* ROSC.)

Trần Thị Mỹ Trâm¹, Nguyễn Thị Thu Hằng¹, Đỗ Đăng Giáp¹, Nguyễn Thị Huyền Trang¹, Trịnh Thị Hương², Trần Thị Thanh Hiền³ và Trần Trọng Tuấn^{1*}

¹Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh

³Khoa Sinh học - Công nghệ Sinh học, Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trần Trọng Tuấn (email: trantrongtuan.com@gmail.com)

ABSTRACT

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/11/2018

Ngày nhận bài sửa: 05/03/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

Title:

The application of LED lamps (light emitting diode) in the micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc)

Từ khóa:

Ánh sáng đơn sắc, đèn LED, đèn huỳnh quang, gừng, hàm lượng khoáng, môi trường SH

Keywords:

Ginger, LED lamps, monochrome fluorescent lamps, SH medium, *Zingiber officinale* Rosc

Currently, fluorescent lamps are often used as lighting systems in the tissue culture. These lamps consumed a lot of power. Recently, the use of LED lamp systems for planting was being noticed because LEDs were more conducive to tissue culture and less power consumption. In this study, the effects of mineral content, sugar concentration and monochromatic light on ginger's growth were investigated. The results showed that ginger plant cultured in SH medium (Schenk and Hildebrandt, 1972) had higher height and diameter than in other media. The experiment using different sugar concentration, explants get the best growth when they were cultured in medium supplemented with 30 g/l sucrose. The next experiment, explants were placed in different types of light sources including, red LED, blue LED, or combination of red with blue light in 9: 1; 8: 2; 7: 3; 6: 4; 5: 5 ratios, fluorescent lamps, red fluorescent lamps, blue fluorescent lamps. The results showed that the red LED was suitable for the growth of ginger. The plant height (4.55 cm), leaf area (2.66 mm²) and root diameter (3.83 mm) was significantly higher than that of the other treatments. In the nursery, plants under cultivation of red LED were good growth and a survival plantlet ratio obtained over 96%.

TÓM TẮT

Trong nuôi cấy mô hiện nay, hệ thống chiếu sáng thường được sử dụng là đèn huỳnh quang. Loại đèn này tiêu tốn rất nhiều điện năng. Gần đây việc sử dụng hệ thống đèn LED cho cây trồng đang được chú ý đến do LED có nhiều thuận lợi cho việc nuôi cấy mô và tiêu hao ít điện năng. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của hàm lượng khoáng, nồng độ đường và ánh sáng đơn sắc lên sự sinh trưởng của cây gừng được khảo sát. Kết quả cho thấy mẫu cây trên môi trường SH có chiều cao và đường kính thân củ cao hơn các môi trường còn lại. Ở nghiệm thức sử dụng các nồng độ đường khác nhau, mẫu cây được nuôi cấy ở nồng độ đường 30 g/L có sự sinh trưởng tốt nhất. Ở nghiệm thực tiếp theo, các mẫu được đặt dưới các loại nguồn sáng khác nhau như LED đỏ và LED xanh theo các tỉ lệ khác nhau 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, và đèn huỳnh quang đỏ, đèn huỳnh quang xanh, đèn huỳnh quang trắng. Kết quả cho thấy đèn LED đỏ thích hợp cho sự sinh trưởng của cây gừng. Cây có chiều cao (4,55 cm), diện tích lá (2,66 mm²), đường kính thân củ (3,83 mm) cao hơn đáng kể so với nghiệm thức còn lại. Khi đưa ra vườn ương cây con dưới ánh sáng LED đỏ tiếp tục sinh trưởng phát triển tốt và có tỷ lệ cây sống đạt trên 96%.

Trích dẫn: Trần Thị Mỹ Trâm, Nguyễn Thị Thu Hằng, Đỗ Đăng Giáp, Nguyễn Thị Huyền Trang, Trịnh Thị Hương, Trần Thị Thanh Hiền và Trần Trọng Tuấn, 2019. Ứng dụng đèn led trong vi nhân giống cây gừng (*Zingiber officinale* Rosc.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(1): 182-190.

1 GIỚI THIỆU

Gừng là một gia vị rất quen thuộc và hầu như lúc nào cũng hiện diện ở ngăn bếp của các bà nội trợ. Gừng không những thêm hương vị cho món ăn, mà còn giúp cơ thể tiêu hóa và hấp thụ thức ăn dễ dàng. Ngoài ra, gừng còn là một vị thuốc quý trong kho tàng y học dân gian mà mỗi người có thể vận dụng để tự chữa bệnh cho mình. Trong củ gừng có 2 – 3% tinh dầu, ngoài ra còn có chất nhựa (5%), chất béo (3,7%), tinh bột và chất cay. Các chất trong gừng có tác dụng hạ nhiệt, giảm đau, giảm ho, chống viêm, chống nôn, chống loét, tăng vận chuyển trong đường tiêu hoá và có hoạt tính miễn dịch... Cây gừng được trồng phổ biến ở các vùng nhiệt đới, thuộc loài cây ưa sáng, không chịu ngập úng, nhu cầu dinh dưỡng cao.

Nhiều hệ thống đèn chiếu sáng đã được nghiên cứu sử dụng trong nuôi cấy mô thực vật như: đèn huỳnh quang, đèn halogen, đèn natri, đèn nóng sáng... Trong đó, đèn huỳnh quang thường được sử dụng nhất. Những loại đèn huỳnh quang này được sản xuất để phục vụ mục đích chiếu sáng cho con người. Tất cả loại đèn huỳnh quang đều phát nhiệt, vì vậy một hệ thống điện làm mát phòng nuôi cấy để ổn định nhiệt là rất cần thiết. Điều này dẫn đến việc tiêu tốn rất nhiều điện năng cho việc thắp sáng phòng nuôi cấy mô cũng như là làm mát phòng nuôi. Do đó, việc phát triển những hệ thống ánh sáng có ảnh hưởng rất lớn đến phòng nuôi cấy và mang lại lợi ích đáng kể trong việc giảm giá thành cây *in vitro*. Gần đây việc sử dụng đèn LED cho vi nhân giống cũng đang được chú ý. Với các ưu điểm như tiêu thụ năng lượng thấp, tuổi thọ cao, có nhiều dải màu, không phát ra tia UV, phát rất ít tia hồng ngoại, kích thước nhỏ dễ thay đổi trong thiết kế... đèn LED có thể thay thế dần các nguồn chiếu sáng khác trong vi nhân giống.

Đã có một số nghiên cứu về tác động của đèn LED lên một số loại cây như: tiêu, dưa chuột, lúa mạch, lúa mì (Bula *et al.*, 1991; Hoenecke *et al.*, 1992; Brown and Schuerger, 1993; Yanagi and Okamoto, 1993; Okamoto and Yanagi, 1994), cây khoai tây (Miyashita *et al.*, 1994), địa lan (Tanaka *et al.*, 1998), dâu tây, chuối (Nhut, 2002) kết quả cho thấy hầu hết các cây đều sinh trưởng tốt dưới đèn LED.

Với những lý do trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm ra điều kiện chiếu sáng thích hợp giúp cho quá trình nuôi cấy *in vitro* cây gừng đạt hiệu quả cao, giảm chi phí sản xuất, tăng khả năng sống sót của cây *in vitro* khi đưa ra vườn ươm.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

Cây gừng *in vitro* được nuôi cấy tại phòng thí nghiệm Công nghệ Tế bào Thực vật (Viện Sinh học Nhiệt đới) là nguyên liệu được sử dụng để thực hiện nghiên cứu này.

Các mẫu cây *in vitro* được nuôi trên môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962) có bổ sung 30 g/l sucrose, 8 g/l agar và không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng thực vật.

2.2 Môi trường nuôi cấy

Môi trường được sử dụng để tiến hành cấy mẫu nghiên cứu là các môi trường khoáng như: MS (Murashige and Skoog, 1962); SH (Schenk and Hildebrandt, 1972); ½MS (môi trường MS có nồng độ khoáng đa lượng giảm đi ½), 8 g/l agar. Môi trường được điều chỉnh về pH = 5,8 (bằng NaOH hay HCl), hấp khử trùng ở 121°C, 1 atm trong 20 phút.

2.3 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của môi trường khoáng đa lượng đến sự sinh trưởng của cây gừng trong điều kiện *in vitro*

Chồi có chiều cao 1,5 cm được cấy vào bình thủy tinh 500 mL (chứa 65 mL môi trường nuôi cấy) với các loại môi trường nuôi cấy khác nhau như: MS, SH và ½MS. Mỗi nghiệm thức được thử nghiệm trên 5 mẫu, lặp lại 3 lần.

Chỉ tiêu theo dõi: Sau 4 tuần nuôi cấy tiến hành lấy số liệu các chỉ tiêu: số lá/mẫu cấy, số chồi/mẫu cấy, chiều dài thân, đường kính thân củ, khối lượng tươi và khối lượng khô cây con hoàn chỉnh.

Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ đường đến sự sinh trưởng của cây gừng trong điều kiện *in vitro*

Chồi có chiều cao 1,5 cm được cấy vào bình thủy tinh 500 mL (chứa 65 mL môi trường nuôi cấy) với môi trường SH có bổ sung đường với các nồng độ khác nhau (0, 10, 20, 30 g/L). Mỗi bình cấy thử nghiệm trên 5 mẫu, lặp lại 3 lần.

Chỉ tiêu theo dõi: Sau 4 tuần nuôi cấy tiến hành lấy số liệu các chỉ tiêu: số lá/mẫu cấy, số chồi/mẫu cấy, chiều dài thân, đường kính thân củ, khối lượng tươi và khối lượng khô cây con hoàn chỉnh.

Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của hệ thống ánh sáng đơn sắc đến sự sinh trưởng và phát triển của cây Gừng trong điều kiện *in vitro*

Chồi có chiều cao 1,5 cm được cấy vào bình thủy tinh 500 mL (chứa 65 mL môi trường nuôi cấy) với môi trường SH có bổ sung đường nồng độ 30 g/L.

Sau đó, cây *in vitro* được nuôi ở các điều kiện ánh sáng khác nhau:

Hệ thống đèn LED panel được thiết kế dựa vào sự kết hợp giữa bóng đèn LED xanh (LX) có bước sóng 450 - 470 nm và bóng LED đỏ (LĐ) có bước sóng 650 - 665 nm trên một bảng mạch có kích thước 10 - 50 cm. Mỗi bảng mạch gồm 480 bóng LED, tỷ lệ kết hợp giữa LED đỏ và LED xanh phụ thuộc vào số bóng kết hợp giữa các loại đèn LED. Đèn huỳnh quang (HQ) làm đối chứng.

- Điều kiện 1: Nuôi trong phòng sáng 30 ngày với điều kiện 100% LED đỏ.
- Điều kiện 2: Nuôi trong phòng sáng 30 ngày với điều kiện 100% LED xanh.
- Điều kiện 3: Nuôi trong phòng sáng 30 ngày với điều kiện 90% LED đỏ : 10% LED xanh.
- Điều kiện 4: Nuôi trong phòng sáng 30 ngày với điều kiện 80% LED đỏ : 20% LED xanh.
- Điều kiện 5: Nuôi trong phòng sáng 30 ngày với điều kiện 70% LED đỏ : 30% LED xanh.
- Điều kiện 6: Nuôi trong phòng sáng 30 ngày với điều kiện 50% LED đỏ : 50% LED xanh.
- Điều kiện 7: Nuôi trong phòng sáng 30 ngày với điều kiện đèn huỳnh quang đỏ (HQ đỏ) (Trung Quốc).
- Điều kiện 8: Nuôi trong phòng sáng 30 ngày với điều kiện đèn huỳnh quang xanh (HQ xanh) (Trung Quốc).

- Điều kiện 9: Nuôi trong phòng sáng 30 ngày với điều kiện đèn huỳnh quang trắng (HQ trắng) (Philip, 36W, 1,2 m).

Chỉ tiêu theo dõi: Các chỉ tiêu được theo dõi sau 30 ngày nuôi cấy, bao gồm: Số lá, diện tích lá, số chồi, chiều cao chồi, trọng lượng tươi, hàm lượng chlorophyll

Thí nghiệm 4: Khảo sát sự sinh trưởng và phát triển của cây gừng khi đưa ra vườn ươm

Cách tiến hành: Cây *in vitro* sau 30 ngày nuôi cấy trên các loại nguồn sáng nhân tạo khác nhau sẽ được đưa ra vườn ươm.

Chỉ tiêu theo dõi: Các chỉ tiêu được theo dõi sau 10, 20, 30 ngày trồng ngoài vườn ươm, bao gồm: Chiều cao cây, diện tích lá, hàm lượng chlorophyll, tỷ lệ cây sống.

2.4 Phương pháp

Phương pháp đo chlorophyll (Arnon, 1949)

Mỗi nghiệm thức lấy 3 mẫu, mỗi mẫu cân 25 mg lá và cắt nhuyễn. Cho từng mẫu lá vào ống nghiệm, sau đó cho vào ống nghiệm 10 mL acetone 80%. Đậy kín ống nghiệm, bọc giấy bạc xung quanh ống nghiệm, đặt vào chỗ tối trong 3 ngày.

Sau 3 ngày, tiến hành đo mật độ quang từng ống nghiệm của từng nghiệm thức ở 2 phổ hấp thụ 645 nm và 663 nm bằng máy đo UV vis.

Hàm lượng chlorophyll a (Chla) và chlorophyll b (Chlb) được tính theo công thức sau:

$$\text{Chl a} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g lá}} \right) = \frac{((12,7 \times \text{Abs}663) - (2,6 \times \text{Abs}645)) \times 10 \text{ ml acetone } 80\%}{\text{mg A (trọng lượng mẫu)}}$$

$$\text{Chl b} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g lá}} \right) = \frac{((22,9 \times \text{Abs}645) - (4,68 \times \text{Abs}663)) \times 10 \text{ ml acetone } 80\%}{\text{mg A (trọng lượng mẫu)}}$$

Tổng chlorophyll = Chla + Chlb (mg/g lá)

Tỷ lệ Chlorophyll a/b = Chla/Chlb

Phương pháp tính khối lượng tươi, khối lượng khô trung bình

Khối lượng tươi trung bình (g) = Tổng khối lượng tươi của các mẫu cây/số mẫu cây

Khối lượng khô trung bình (g) = Tổng khối lượng khô của các mẫu cây/số mẫu cây

Đường kính thân củ: Các mẫu cây *in vitro* sau thời gian nuôi cấy thì vị trí cổ rễ có sự phình to tạo nên những củ *in vitro*. Những củ *in vitro* này được cắt lớp ngang ở vị trí giữa củ. Sau đó, đo đường kính mẫu cắt ngang của thân củ.

2.5 Phân tích thống kê

Số liệu thô được thống kê và xử lý bằng phần mềm Excel và SPSS 16.0 theo phương pháp Duncan (Duncan, 1955) với độ tin cậy $p \leq 0,05$.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của môi trường khoáng đa lượng lên sự sinh trưởng của cây gừng *in vitro*

Hiện nay có nhiều loại môi trường dinh dưỡng khác nhau phục vụ cho công tác nuôi cấy mô. Trong đó, môi trường khoáng MS được sử dụng phổ biến nhất do hàm lượng dinh dưỡng cao, đáp ứng đủ nhu cầu dinh dưỡng cho cây *in vitro*. Tuy nhiên, tùy thuộc vào từng loại cây mà môi trường nuôi cấy có thể thay đổi linh hoạt. Việc khảo sát các môi trường khoáng khác nhau nhằm mục tiêu chọn ra môi

trường thích hợp nhất cho quá trình sinh trưởng của cây gừng *in vitro* và mang lại hiệu quả kinh tế. Trong

thí nghiệm này môi trường khoáng được lựa chọn để khảo sát là môi trường MS, môi trường SH, ½ MS.

Bảng 1: Ảnh hưởng của môi trường khoáng đa lượng lên sự sinh trưởng của cây gừng sau 4 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	Số lá	Chiều cao (cm)	Đường kính thân củ (mm)	Khối lượng tươi trung bình(g)	Khối lượng khô trung bình (g)	Số chồi
SH	5,25	2,88 ^a	4,56	0,48	0,034	1,83
MS	6,75	2,52 ^b	4,02	0,53	0,038	2,08
1/2MS	6,33	2,33 ^b	4,48	0,43	0,032	1,91
F	ns	*	ns	ns	ns	ns

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*); ns: không khác biệt ý nghĩa thống kê

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy cây gừng được nuôi trên 3 loại môi trường khoáng không có sự khác biệt về mặt thống kê ở các chỉ tiêu như số lá, đường kính thân củ, trọng lượng tươi, trọng lượng khô, số chồi. Tuy nhiên, chiều cao cây ở 3 môi trường khoáng có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Kết quả cho thấy các mẫu cây được nuôi trên môi trường SH đạt chiều cao tốt nhất (2,88 cm) và chiều cao trung bình của mẫu cây thấp nhất ở môi trường ½ MS (2,33 cm).

Ảnh hưởng của nồng độ đường lên sự sinh trưởng của cây gừng *in vitro*

Vai trò quan trọng của đường cũng được quan sát thấy ở nhiều loài khác như *Passiflora* (Scorza and Janick, 1980), *Murraya paniculata* (Jumin and Nito, 1995), cây khoai tây (Wareh *et al.*, 1989), *Gentiana triflora* (Zhang and Leung, 2000). Vai trò quan trọng của đường cũng được quan sát thấy trong thí nghiệm này.

Bảng 2: Ảnh hưởng của nồng độ đường đến sự sinh trưởng của cây gừng sau 4 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	Sucrose (g/l)	Số lá	Chiều cao (cm)	Đường kính thân củ (mm)	Khối lượng tươi trung bình (g)	Khối lượng khô trung bình (g)	Số chồi
SH0	0	1,73 ^d	1,77 ^b	2,37 ^d	0,13 ^d	0,019 ^d	1,06 ^d
SH10	10	5,4 ^c	3,16 ^a	3,44 ^c	0,30 ^c	0,023 ^c	1,86 ^c
SH20	20	7,06 ^b	3,18 ^a	5,11 ^b	0,60 ^{ab}	0,048 ^{ab}	2,40 ^{ab}
SH30	30	8,53 ^a	3,34 ^a	5,59 ^a	0,66 ^a	0,055 ^a	2,60 ^a
F		*	*	*	*	*	*

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*)

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy mẫu cây được nuôi cấy ở môi trường khoáng SH có bổ sung 30 g/L đường sucrose đạt số lượng lá và chồi nhiều nhất. Số lá đạt được là 8,53 lá và số chồi là 2,60 chồi. Trong khi đó ở nghiệm thức đối chứng môi trường không bổ sung đường cho số lượng lá và chồi ít nhất. Ở chỉ tiêu chiều cao cây và đường kính thân củ, các mẫu chồi được nuôi cấy trên môi trường khoáng SH với nồng độ đường 30 g/l cũng đạt chỉ tiêu tăng trưởng cao nhất, với chiều cao là 3,34 cm và đường kính thân củ là 5,59 mm cao hơn so với nghiệm thức đối chứng (khi chiều cao là 1,77 cm và đường kính thân củ là 2,37 mm).

Ở nghiệm thức đối chứng không bổ sung đường, kết quả ở Bảng 2 cho thấy cây vẫn sống nhưng sinh trưởng chậm thể hiện qua các chỉ tiêu theo dõi đều cho kết quả thấp. Khi nồng độ đường tăng lên thì khối lượng tươi và khối lượng khô cũng tăng theo, đạt cao nhất ở môi trường SH có bổ sung đường 30 g/L. Khối lượng tươi đạt được là 0,66 g, khối lượng khô là 0,055 g và cao hơn rất nhiều so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung đường. Như vậy, môi trường SH có bổ sung 30 g/L đường sucrose là thích hợp nhất cho sự phát triển của cây gừng.



Hình 1: Ảnh hưởng của nồng độ đường đến sự tăng trưởng của cây gừng sau 4 tuần nuôi cấy

Ảnh hưởng của hệ thống ánh sáng đèn đơn sắc đến sự sinh trưởng của cây gừng *in vitro*

Ánh sáng là một nhân tố quan trọng trong quá trình sinh trưởng của thực vật nuôi cấy mô. Hiện nay, ánh sáng trắng (phổ ánh sáng từ khoảng 200 nm đến 800 nm) của đèn huỳnh quang được sử dụng phổ biến nhất trong các phòng thí nghiệm nuôi cấy mô. Ánh sáng đơn sắc từ đèn LED cũng đã và đang được nghiên cứu làm nguồn sáng trong nhân giống thực vật. Nhut (2002) đã chứng minh khi nuôi cấy cây chuối *Cavendish* ở điều kiện chiếu sáng có 80% LED đỏ : 20% LED xanh cho kết quả tốt nhất.

Sau 30 ngày, số liệu ở các chỉ tiêu đã có sự khác biệt rõ rệt, ngoại trừ chỉ tiêu số chồi không có sự khác biệt ở tất cả các nghiệm thức. Kết quả ở Bảng 3 cho thấy ánh sáng đỏ từ đèn HQ đỏ và 100% LED đỏ có ảnh hưởng tốt nhất đến sự sinh trưởng và phát triển của cây gừng. 100% LED đỏ cho số liệu cao nhất và khác biệt có ý nghĩa ở các chỉ tiêu chiều cao chồi, diện tích lá và đường kính thân củ so với các nghiệm thức khác. Các mẫu cây ở nghiệm thức này

phát triển chiều cao chồi rất mạnh đạt 4,55 cm, diện tích lá lớn 2,66 mm² và cho đường kính thân củ tốt nhất 3,83 mm. Ở chỉ tiêu số lá và trọng lượng tươi nghiệm thức sử dụng đèn HQ đỏ cho số liệu cao nhất, tiếp theo là nghiệm thức 100% LED.

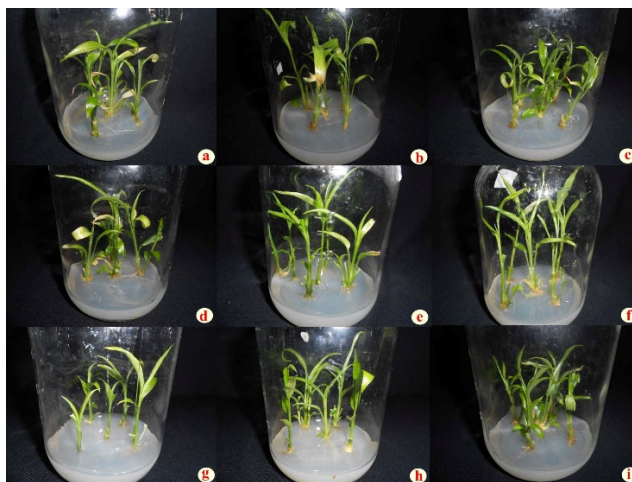
Các mẫu cây và số liệu cho thấy 100% LED đỏ có ảnh hưởng tốt đến sự phát triển chiều cao chồi gừng. Khi nghiên cứu trên cây dâu tây và cây cúc, Dương Tấn Nhựt (2001) cũng đã báo cáo cho thấy khi các mẫu cây đặt dưới 100% LED đỏ có chiều cao cao hơn so với các điều kiện chiếu sáng khác.

Tanaka *et al.* (1998) cho rằng sự phát triển lá, hàm lượng diệp lục tố, trọng lượng tươi chịu sự ảnh hưởng của LED. Theo đó đèn LED đỏ thúc đẩy sự tăng trưởng của lá nhưng làm giảm hàm lượng diệp lục tố. Trong thí nghiệm này, khi mẫu cây gừng được nuôi trong điều kiện chiếu sáng là 100% LED đỏ có diện tích lá lớn, trọng lượng tươi cao sau 30 ngày nhưng hàm lượng chlorophyll tổng lại không cao, chỉ đạt 1,59 so với nghiệm thức cao nhất là 2,19.

Bảng 3: Số liệu thu được sau 30 ngày nuôi cấy trên các nguồn sáng khác nhau

Nghiệm thức	Số lá	Số chồi	Chiều cao chồi (cm)	Khối lượng tươi trung bình (g)	Diện tích lá (mm ²)	Chl tổng số	Tỷ lệ Chl a/b	Đường kính thân củ (mm)
9LĐ:1LX	1,47 ^{dc}	1,33	3,31 ^{bc}	0,31 ^b	1,27 ^{cd}	1,31 ^b	2,43	2,40 ^{bc}
8LĐ:2LX	1,77 ^{cde}	1,20	4,20 ^{ab}	0,28 ^b	1,74 ^{bc}	1,10 ^b	2,19	1,70 ^c
7LĐ:3LX	1,05 ^e	1,60	2,75 ^c	0,27 ^b	1,41 ^{cd}	1,44 ^b	1,78	1,65 ^c
5LĐ:5LX	1,80 ^{cde}	1,06	3,18 ^{bc}	0,28 ^b	2,66 ^a	1,66 ^{ab}	2,38	1,74 ^c
100% LX	2,49 ^{bc}	1,60	3,55 ^{abc}	0,54 ^{ab}	2,19 ^{ab}	1,01 ^b	2,48	3,44 ^{ab}
100% LĐ	3,00 ^b	1,47	4,55 ^a	0,63 ^{ab}	2,66 ^a	1,59 ^{ab}	2,60	3,83 ^a
HQ xanh	2,93 ^b	1,20	3,26 ^{bc}	0,36 ^{ab}	1,23 ^{cd}	1,30 ^b	2,44	2,14 ^{bc}
HQ đỏ	3,46 ^a	1,67	3,00 ^{bc}	0,73 ^a	1,63 ^{bc}	2,19 ^a	2,39	2,97 ^{abc}
HQ trắng	2,00 ^{cd}	1,20	2,58 ^c	0,24 ^b	0,75 ^d	1,27 ^b	2,61	1,91 ^c
F	*	ns	*	*	*	*	ns	*

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*); ns: không khác biệt ý nghĩa thống kê; LĐ: LED đỏ; LX: LED xanh; HQ: đèn huỳnh quang



Hình 2: Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng khác nhau lên cây gừng sau 30 ngày nuôi cấy *in vitro*

a: 90% LED đỏ : 10% LED xanh; b: 80% LED đỏ : 20% LED xanh; c: 70% LED đỏ : 30% LED xanh f: 100% LED đỏ; d: 50% LED đỏ : 50% LED xanh; e: 100% LED xanh; g: Huỳnh quang xanh; h: Huỳnh quang đỏ; i: Huỳnh quang trắng

Sự sinh trưởng của cây gừng khi đưa ra vườn ươm

Cây con *in vitro* khi đã phát triển hoàn chỉnh có đầy đủ thân, lá và rễ sẽ được chuyển ra vườn ươm. Đây là một trong những giai đoạn khó nhất trong kỹ thuật nhân giống vô tính bằng nuôi cấy mô. Cây *in vitro* được nuôi cấy trong điều kiện ổn định về dinh

dưỡng, ánh sáng, nhiệt độ, ẩm độ... nên khi chuyển ra vườn với các điều kiện tự nhiên hoàn toàn khác hẳn như dinh dưỡng thấp, ánh sáng có cường độ mạnh, nhiệt độ cao, ẩm độ thấp... cây con sẽ khó thích nghi, dễ mất nước và mau bị héo. Sau 10 ngày ra vườn ươm, sự khác biệt rõ rệt nhất của cây Gừng ở các điều kiện chiếu sáng khác nhau có thể nhận thấy được đó là số cây chết.

Bảng 4: Số liệu thu được sau 10 ngày trồng ra vườn ươm

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Diện tích lá (mm ²)	Chl tổng số	Tỷ lệ Chl a/b	Tỷ lệ sống (%)
9LĐ:1LX	3,33 ^{de}	1,12 ^c	1,58 ^b	2,41	50,0
8LĐ:2LX	3,73 ^c	1,82 ^{ab}	1,42 ^b	2,40	25,0
7LĐ:3LX	3,40 ^{de}	1,29 ^{bc}	1,39 ^b	2,56	57,5
5LĐ:5LX	4,27 ^b	1,74 ^{ab}	1,50 ^b	2,46	45,0
100% LX	3,53 ^{cd}	1,34 ^{bc}	1,40 ^b	2,41	96,1
100% LĐ	4,67 ^a	1,96 ^a	1,3 ^b	2,48	96,9
HQ xanh	2,67 ^f	1,54 ^{abc}	1,33 ^b	2,54	96,7
HQ đỏ	3,33 ^{de}	1,37 ^{abc}	2,65 ^a	2,31	96,1
HQ trắng	3,20 ^e	1,62 ^{abc}	1,12 ^b	3,58	57,4
F	*	*	*	ns	

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*); ns: không khác biệt ý nghĩa thống kê; LĐ: LED đỏ; LX: LED xanh; HQ: đèn huỳnh quang

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy cây đạt tỷ lệ sống cao ở 4 nguồn sáng 100% LX, 100% LĐ, HQ xanh, HQ đỏ. Bốn nguồn sáng trên có tỷ lệ sống tương đương nhau khoảng 96% trong đó 100% LĐ có tỷ lệ sống cao nhất 96,9%. Trong các nguồn sáng còn lại đến 8LĐ:2LX có số cây con khi đưa ra vườn ươm chết nhiều nhất, tỷ lệ sống chỉ đạt 25%. Nguồn sáng 100% LĐ ngoài tỷ lệ sống cao, cây con còn có sự sinh trưởng và phát triển tốt khi cây có chiều cao tốt và diện tích lá to nhất. Chiều cao đạt 4,67 cm, diện

tích lá là 1,96 mm² trong khi nghiệm thức đối chứng HQ trắng chiều cao cây là 3,2 cm và diện tích lá là 1,62 mm². Các cây con ở nguồn sáng HQ đỏ có chlorophyll tổng cao hơn rất nhiều so với các nghiệm thức còn lại. Tổng chlorophyll là 2,65 trong khi nghiệm thức đối chứng chỉ là 1,12. Điều này chứng tỏ ở bước đầu khi đưa ra vườn ươm cây ở HQ đỏ có sự thích ứng nhanh nhất đối với việc tiếp nhận ánh sáng tự nhiên. Tỷ lệ chlorophyll a/b không có nhiều khác biệt ở tất cả các nghiệm thức.

Sau 20 ngày, Bảng 5 cho thấy tỷ lệ cây sống ở các nghiệm thức 9LĐ:1LX, 5LĐ:5LX, HQ trắng tiếp tục giảm trong khi đó ở các nghiệm thức còn lại

không thấy xuất hiện cây chết. Cây ở nguồn sáng 100% LĐ vẫn phát triển tốt nhất.

Bảng 5: Số liệu thu được sau 20 ngày trồng ra vườn ươm

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Diện tích lá (mm ²)	Chl tổng số	Tỷ lệ Chl a/b	Tỷ lệ sống (%)
9LĐ:1LX	3,53 ^c	1,94 ^{cde}	1,34 ^c	2,10 ^d	40,0
8LĐ:2LX	3,93 ^d	1,37 ^e	1,81 ^{bc}	2,33 ^{bcd}	25,0
7LĐ:3LX	3,60 ^e	1,57 ^{de}	1,31 ^c	2,03 ^d	57,5
5LĐ:5LX	4,40 ^c	2,71 ^c	2,56 ^a	2,49 ^{bc}	40,0
100% LX	4,27 ^c	2,42 ^{cd}	1,41 ^{bc}	2,58 ^{abc}	96,1
100% LĐ	6,40 ^a	5,44 ^a	2,12 ^{ab}	2,89 ^a	96,9
HQ xanh	4,13 ^{cd}	4,04 ^b	1,75 ^{bc}	2,68 ^{ab}	96,7
HQ đỏ	4,87 ^b	4,46 ^b	2,16 ^{ab}	2,55 ^{abc}	96,1
HQ trắng	3,33 ^e	1,73 ^{de}	2,22 ^{ab}	2,28 ^{cd}	50,0
F	*	*	*	*	

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*); LĐ: LED đỏ; LX: LED xanh; HQ: đèn huỳnh quang

Sau 30 ngày ra vườn ươm, không còn xuất hiện cây chết ở 4 nghiệm thức có tỷ lệ sống cao nhất là 100% LX, 100% LĐ, HQ xanh, HQ đỏ, cây sinh trưởng và phát triển tốt. Đặc biệt cây ở nghiệm thức 100% LĐ đạt chiều cao cây cũng như diện tích lá cao hơn so với các nghiệm thức khác. Bảng 6 cho thấy chiều cao cây đo được là 6,22 cm, diện tích lá là 4,89 mm² ở nguồn sáng 100% LĐ. Trong khi đó ở tất cả các nghiệm thức còn lại vẫn còn xuất hiện cây chết và tỷ lệ cây sống thấp nhất ở đèn 8LĐ:2LX với 25%. Hàm lượng chlorophyll tổng đạt cao nhất ở 100% LĐ (1,92 mg/g lá), ngược lại nghiệm thức đối chứng là thấp nhất (đạt 1,4 mg/g lá). Tổng

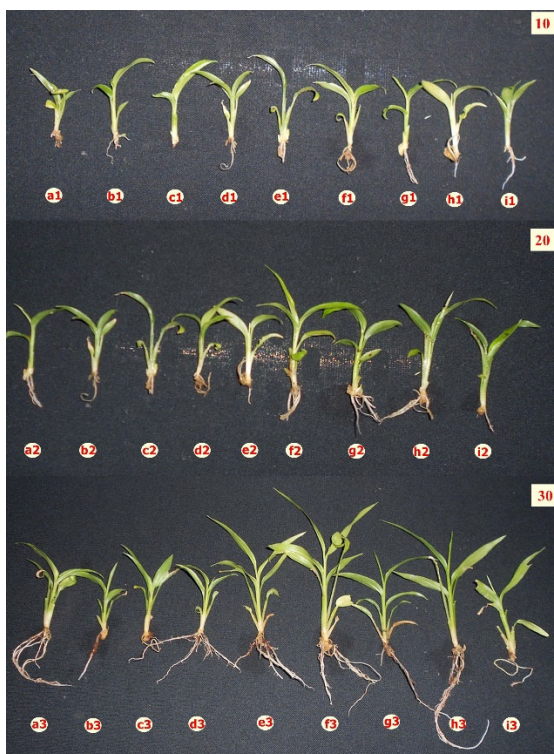
chlorophyll ở 100% LĐ cao đã chứng tỏ sau 30 ngày ra vườn ươm cây con ở nguồn sáng này tiếp nhận rất tốt ánh sáng từ mặt trời, điều này đã giúp cây thích nghi rất tốt với điều kiện vườn ươm và khả năng sinh trưởng và phát triển tốt hơn những nghiệm thức khác.

Khi đưa ra vườn ươm cây con ở nghiệm thức 100% LĐ không những có tỷ lệ sống rất cao mà cây còn sinh trưởng và phát triển tốt nhất khi có chiều cao cây cũng như diện tích lá vượt trội so với các nghiệm thức còn lại.

Bảng 6. Số liệu thu được sau 30 ngày trồng ra vườn ươm

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Diện tích lá (mm ²)	Chl tổng số	Tỷ lệ Chl a/b	Tỷ lệ sống (%)
9LĐ:1LX	4,40 ^c	2,31 ^d	1,01 ^b	2,86 ^{bc}	32,5
8LĐ:2LX	4,01 ^c	1,96 ^{de}	1,37 ^b	3,22 ^a	25,0
7LĐ:3LX	4,27 ^c	1,91 ^{de}	1,23 ^b	2,68 ^{bc}	37,5
5LĐ:5LX	4,53 ^c	2,26 ^{de}	1,31 ^b	2,88 ^{ab}	30,0
100% LX	4,67 ^c	4,06 ^b	1,11 ^b	2,93 ^{bc}	96,1
100% LĐ	6,22 ^a	4,89 ^a	1,92 ^a	2,80 ^{bc}	96,9
HQ xanh	4,33 ^c	3,17 ^c	1,39 ^b	2,68 ^c	96,7
HQ đỏ	5,33 ^b	3,90 ^b	1,16 ^b	2,95 ^{bc}	96,1
HQ trắng	4,47 ^c	1,77 ^e	1,40 ^b	2,85 ^b	29,7
F	*	*	*	*	

Trong cùng một cột, những số có chữ theo sau khác nhau thì có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% (*); LĐ: LED đỏ; LX: LED xanh; HQ: đèn huỳnh quang



Hình 3: Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng khác nhau lên cây gừng sau 10, 20, 30 ngày đưa ra vườn ươm

a1, a2, a3: 90% LED đỏ : 10% LED xanh; b1, b2, b3: 80% LED đỏ : 20% LED xanh; g1, g2, g3: Huỳnh quang xanh; c1, c2, c3: 70% LED đỏ : 30% LED xanh; d1, d2, d3: 50% LED đỏ : 50% LED xanh; e1, e2, e3: 100% LED xanh; f1, f2, f3: 100% LED đỏ; h1, h2, h3: Huỳnh quang đỏ; i1, i2, i3: Huỳnh quang trắng;

4 KẾT LUẬN

Môi trường SH có bổ sung 30 g/L sucrose là thích hợp nhất đối với cây gừng. Hệ thống chiếu sáng với 100% LED đỏ ảnh hưởng tốt đến quá trình sinh trưởng của cây gừng *in vitro*, chiều cao cây, diện tích lá lớn và đường kính thân củ cao hơn các nghiệm thức còn lại. Khi đưa ra vườn ươm, cây con có nguồn gốc từ cây *in vitro* được chiếu sáng với 100% LED đỏ có sự sinh trưởng tốt và đạt tỷ lệ sống cao trên 96%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*. 24: 1-15.

Brown, C.S. and Shuerger, A.C., 1993. Growth of pepper, lettuce and cucumber under light - emitting diodes. *Plant Physiol*. 102: 808-813.

Bula, R.J., Morrow, T.W., Tibbitt, T.W., Barta, D.J., Ignatius, R.W. and Martin, T.S., 1991. Light - emitting diodes as a radiation source for plants. *Horticulturae Scientia*. 26: 203-205.

Duncan, D.B., 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*. 11(1): 1-5.

Dương Tấn Nhựt, 2010. Một số phương pháp, hệ thống mới trong nghiên cứu công nghệ sinh học thực vật. NXB Nông Nghiệp. TP. HCM, 342 trang.

Hoenecke, M.E., Bula, R.J. and Tibbitts, T.W., 1992. Importance of "blue" photon levels for lettuce seeding growth under red light-emitting diodes. *Horticulturae Scientia*. 27: 427-430.

Jumin, H.B. and Nito, N., 1995. Embryogenic protoplast cultures of orange jessamine (*Murraya paniculata*) and their regeneration on plant flowering *in vitro*. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 41: 277-279.

Miyashita, Y., Kimura, Y., Kitaya, Y. and Kozai, T., 1994. Effects of red light on the growth and morphology of Potato plantlets *in vitro*: Using light-emitting diodes (LEDs) as a light source for micropropagation. *Acta Hort*. 393: 189-194.

Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15: 473-497.

Nhut, D.T., 2002. *In vitro* growth and physiological aspects of some horticultural plantlets cultured under red and blue light - emitting diodes (LEDs). Ph.D Thesis, Kagawa Univ., Japan: 1-4: 163-172.

- Okamoto, K., and Yanagi, T., 1994. Development of light source for the plant growth using blue and red superbright LEDs. Shikohu - Section point Convention Record of the Insitute of Electrical and Related Engineers: 109.
- Schenck, R.U. and Hildebrandt, A.C., 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell culture. Can J Bot. 50: 199-204.
- Scorza, R., Janick, J., 1980. In vitro flowering of *Passiflora suberosa* L. J Am Soc Hort Sci. 105: 982-997.
- Tanaka, M., Takamura, T., Watanabe, H., Endo, M., Yanagi, T. and Okamoto, M., 1998. In vitro growth of *Cymbidium* plantlets cultured under superbright red and blue light – emitting diodes (LEDs). J Hort Sci Biotech. 73: 39-44.
- Wareh, H.A., Trolinder, N.L., Gooding, J.R., 1989. Callus initiation, shoot regeneration, and micropropagation of three potato cultivars. Hortsci. 24(4): 680-682.
- Yanagi, T. and Okamoto, K., 1993. Utilization of super light – emitting diodes as artificial light source for plant growth. Extended Abstr Annu Meet Jap Soc Hort Sci. 62(2): 374-375.
- Zhang, Z., Leung, D.W.M., 2000. A comparison of in vitro and in vivo flowering in *Gentian*. Plant Cell, Tissue Organ Culture. 63(3): 223-226.