

BÀI TÓNG QUAN

ĐÈN LED (LIGHT-EMITTING DIODE) - NGUỒN SÁNG NHÂN TẠO TRONG NUÔI CẤY MÔ TẾ BÀO THỰC VẬT

Dương Tấn Nhựt, Nguyễn Bá Nam

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

Ngày nhận bài: 20.7.2014

Ngày nhận đăng: 30.8.2014

TÓM TẮT

Ánh sáng là nhân tố quan trọng điều hòa sự sinh trưởng và phát triển của thực vật. Thực vật sử dụng ánh sáng như nguồn năng lượng để tổng hợp các hợp chất hữu cơ qua quá trình quang hợp, hay sử dụng ánh sáng như nguồn thông tin cho các chương trình quang chu kỳ, quang hướng động và quang phát sinh hình thái. Những đáp ứng này phụ thuộc vào cường độ, chất lượng ánh sáng (bước sóng), thời gian chiếu sáng và quang kỳ chiếu sáng. Vì vậy, có thể sử dụng ánh sáng nhân tạo để kiểm soát sự sinh trưởng và phát triển thực vật trong nhà kính và trong *in vitro*. Nhìn chung, đèn huỳnh quang là nguồn chiếu sáng chính trong nhân giống vô tính thực vật. Tuy nhiên, nguồn sáng này phát ra bước sóng từ 350 đến 750 nm, trong đó, có nhiều bước sóng không có lợi cho sự sinh trưởng của thực vật. Ngoài ra, đèn huỳnh quang còn tỏa nhiệt trong quá trình thấp sáng nên cần một lượng điện năng để làm mát phòng nuôi cấy. Đèn LED đã được chứng minh như nguồn sáng hiệu quả cho các phòng thí nghiệm nghiên cứu cây trồng hoặc các hệ thống hỗ trợ tái sinh sinh học. Sử dụng đèn LED có thể chọn được bước sóng phù hợp với sự sinh trưởng và phát triển của thực vật, qua đó có thể nâng cao năng suất sinh học một cách tối đa. Đã có một số lượng lớn các nghiên cứu ứng dụng chiếu sáng LED trên thực vật. Các nghiên cứu tập trung đến sinh lý, sinh hóa cây trồng như kéo dài thân, tái sinh chồi bên, chồi bất định, hình thành phôi vô tính, tổng hợp các hợp chất thứ cấp dưới hệ thống chiếu sáng LED. Trong bài tổng quan này sẽ khái quát lịch sử ra đời và quá trình phát triển cũng như ứng dụng của đèn LED trong nuôi cấy mô tế bào thực vật và canh tác cây trồng.

Từ khóa: LED, nhân giống vô tính, phát sinh hình thái, quang hợp, sinh trưởng và phát triển

GIỚI THIỆU

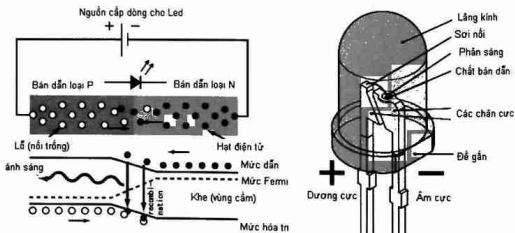
Ánh sáng là yếu tố quan trọng trong sự sinh trưởng của thực vật: ánh sáng tác động đến quá trình quang hợp, quang phát sinh hình thái và đáp ứng hướng sáng. Sự đáp ứng này phụ thuộc vào cường độ ánh sáng, chất lượng ánh sáng và thời gian chiếu sáng. Việc nắm vững tác động của ánh sáng đến quá trình sinh lý thực vật có thể điều khiển được sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng trong nhà kính cũng như trong điều kiện *in vitro*. Tuy nhiên, năng lượng phục vụ cho quá trình thấp sáng chiếm đến 65% và làm mát chiếm đến 25% trong tổng năng lượng của một quy trình nhân giống. Vì vậy, một trong những vấn đề cần thiết để thiết lập một quy trình công nghệ nuôi cấy mô tối ưu và tiết kiệm chi phí, chính là làm thế nào để cải tiến hệ thống chiếu sáng mà vẫn đảm bảo sự sinh trưởng và phát triển bình thường của thực vật, trong khi đó, chi phí cho

nguồn điện năng là thấp nhất. Tuy nhiên, các nghiên cứu trong nước về lĩnh vực nuôi cấy mô hiện nay chủ yếu tập trung vào nghiên cứu ảnh hưởng của các phytohormone trong quá trình phát sinh hình thái hay sinh trưởng và phát triển của thực vật mà chưa đi sâu tìm hiểu vai trò của ánh sáng trong vi nhân giống, đặc biệt là nguồn chiếu sáng từ đèn LED (Light-emitting diode). Đèn LED cho phép kiểm soát thành phần quang phổ và điều chỉnh cường độ chiếu sáng, ngoài ra có thể mô phỏng những thay đổi tương ứng với cường độ ánh sáng mặt trời trong ngày. Chúng có khả năng tạo ra cường độ ánh sáng cao với lượng bức xạ nhiệt thấp và tuổi thọ có thể lên đến nhiều năm. Không giống như bóng đèn sợi đốt hay đèn huỳnh quang chứa các điện cực có thể gây nổ nên phải thay định kỳ. Đèn LED có cấu trúc đặc nên an toàn khi sử dụng. Sự phát triển nhanh chóng của công nghệ quang điện tử kể từ giữa những năm 1980 đã cải thiện đáng kể hiệu quả và độ sáng của

đèn LED. Đèn LED từ lâu đã được đề xuất như nguồn chiếu sáng chủ yếu cho các phòng thí nghiệm nghiên cứu cây trồng hoặc các hệ thống hỗ trợ tái sinh sinh học. Chi phí năng lượng ngày càng tăng cao làm cho việc sử dụng đèn LED trong nông nghiệp ngày càng được mở rộng. Đèn LED đã mở ra triển vọng mới cho việc tối ưu hóa chuyển đổi năng lượng của hệ thống chiếu sáng trong phòng nuôi cấy mô hay trong nhà kính, điều đó có nghĩa năng lượng sẽ được sử dụng hiệu quả hơn khi cây trồng sinh trưởng dưới đèn LED thay vì đèn huỳnh quang truyền thống. Ưu điểm này có được là nhờ cấu tạo và cách thức chuyển đổi năng lượng điện thành năng lượng ánh sáng đặc biệt của đèn LED. Hàng loạt các công bố ứng dụng đèn LED ở các giai đoạn khác nhau trong quá trình nhân giống trên nhiều đối tượng cây trồng khác nhau: Địa lan (Tanaka *et al.*, 1998); Địa hoàng (Hahn *et al.*, 2000); Chuối, Bạch đàn, Dầu tây, Lan ý, Hồ điệp (Nhut, 2002); Lily (Lian *et al.*, 2002); Cúc (Kim *et al.*, 2004); Nho (Heo *et al.*, 2006); *Doritaenopsis* (Shin *et al.*, 2008); Bông vải (Li *et al.*, 2010)... Các nghiên cứu đều cho thấy đèn LED có tiềm năng thay thế đèn huỳnh quang như nguồn sáng nhân tạo trong vi nhân giống cây trồng và các ứng dụng khác trong nông nghiệp. Bài tổng quan này sẽ cung cấp những thông tin khái quát về lịch sử phát triển, cấu trúc và nguyên tắc hoạt động của đèn LED cũng như các nghiên cứu ứng dụng của đèn LED trong lĩnh vực nông nghiệp nói chung và vi nhân giống nói riêng.

CẤU TẠO, NGUYÊN TẮC HOẠT ĐỘNG VÀ LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN CỦA ĐÈN LED

Đèn LED được cấu tạo từ hai khối bán dẫn. Một khối chứa các điện tử điện tích âm (n-type) và khối còn lại mang điện tích dương (p-type). Khối bán dẫn loại p chứa nhiều lỗ trống tự do mang điện tích dương nên khi ghép với khối bán dẫn n (chứa các điện tử tự do) thì các lỗ trống này có xu hướng chuyển động khuếch tán sang khối n. Cùng lúc khối p lại nhận thêm các điện tử (điện tích âm) từ khối n chuyển sang. Kết quả là khối p tích điện âm (thiếu hụt lỗ trống và dư thừa điện tử) trong khi khối n tích điện dương (thiếu hụt điện tử và dư thừa lỗ trống). Ở biên giới hai bên mặt tiếp giáp, một số điện tử bị lỗ trống thu hút và khi chúng tiếp lại gần nhau, chúng có xu hướng kết hợp với nhau tạo thành các nguyên tử trung hòa. Quá trình này có thể giải phóng năng lượng dưới dạng ánh sáng (hay các bức xạ điện từ có bước sóng gần đó) (Hình 1). Sự tích điện âm bên khối p và dương bên khối n hình thành một điện áp gọi là điện áp tiếp xúc. Điện trường sinh ra bởi điện áp có hướng từ khối n đến khối p nên cản trở chuyển động khuếch tán và như vậy sau một thời gian kể từ lúc ghép 2 khối bán dẫn với nhau thì quá trình chuyển động khuếch tán chấm dứt và tồn tại điện áp tiếp xúc. Lúc này ta nói điện áp tiếp xúc p-n ở trạng thái cân bằng. Điện áp tiếp xúc ở trạng thái cân bằng khoảng 0,6V đối với vật liệu làm bằng bán dẫn Si và khoảng 0,3V đối với vật liệu làm bằng bán dẫn Ga.



Hình 1. Sự chuyển dời của hạt điện tử và lỗ qua mối nối PN và hình dạng của LED (http://en.wikipedia.org/wiki/Light-emitting_diode)

Chất bán dẫn là thành phần quan trọng của đèn LED. Nhưng ánh sáng phát ra từ đèn LED còn phụ thuộc vào khung dẫn được đặt giữa hai khối bán dẫn

và lớp vỏ bảo vệ khối bán dẫn. Sự phát triển của đèn LED được bắt đầu với vật liệu chất bán dẫn là gallium arsenide phát ra vùng ánh sáng hồng ngoại

và ánh sáng đỏ. Với những bước tiến của khoa học đã sản xuất ra những chất bán dẫn có thể tạo ra được ánh sáng có bước sóng ngắn hơn và ánh sáng có màu sắc đa dạng hơn. Henry Josef Round báo cáo đầu tiên về đèn LED vào năm 1907 (Round, 1907). Tuy nhiên, nghiên cứu của Round đã bị lãng quên trong nhiều thập kỷ cho đến khi chúng được cải tiến và ứng dụng lần đầu tiên bởi Nick Holonyak vào năm 1962. Loại đèn LED này đã được thương mại hóa trong những năm thập niên 60 của thế kỷ XX. Vật liệu chất bán dẫn GaAsP cấu tạo nên đèn LED là sự kết hợp của ba chất: Gallium, arsenic và phosphorus, tạo ra được ánh sáng đỏ với bước sóng là 655 nm, mức độ sáng vào khoảng 1 – 10 mcd ở 20mA. Khi cường độ ánh sáng thấp, đèn LED chủ yếu được sử dụng trong đèn báo các chỉ số. Sau vật liệu GaAsP thì GaP (gallium phosphide) tạo ra ánh sáng LED đỏ được phát triển. Ưu điểm của vật liệu này là có thể tạo ra được ánh sáng có cường độ cao hơn với cường độ dòng điện thấp. Công nghệ chế tạo đèn LED thật sự bùng nổ trong những năm thập niên 70 của thế kỷ XX. Nhiều vật liệu bán dẫn được tạo ra có thể phát ra những ánh sáng có màu sắc hay bước sóng khác nhau. Các vật liệu phổ biến nhất là GaP phát ra màu đỏ và xanh lá cây, GaAsP phát ra màu cam, đỏ và vàng. Các xu thế hướng tới nhiều ứng dụng thực tế (như máy tính, đồng hồ kỹ thuật số và các máy kiểm tra thiết bị) cũng bắt đầu phát triển. Các kỹ thuật chế tạo vật liệu ngày càng được cải tiến, cường độ ánh sáng phát ra càng gia tăng và đèn LED được sử dụng cho mục đích thấp sáng. Trong những năm 1980 một loại vật liệu mới ra đời, GaAlAs (gallium aluminum arsenide) đã được phát triển. Công nghệ GaAlAs tạo đèn LED cung cấp hiệu suất cao hơn trước đây. Điện năng yêu cầu rất thấp vì vậy có thể tiết kiệm được lượng điện năng tiêu thụ. Đèn LED có thể dùng cho các bảng hiệu hay thông báo vì dễ dàng thiết kế được mạch điện và ghép lại với các hình dạng bất kỳ từ chúng. Ngoài ra, đèn LED đã được ứng dụng trong thiết kế mã vạch, máy quét, hệ thống cấp quang truyền dữ liệu và trang thiết bị trong y tế. Trong giai đoạn này, sự cải thiện chất lượng tinh thể bao bên ngoài cho phép đèn LED phát ra ánh sáng màu vàng, xanh lá cây, da cam... và thay đổi các thông số của khung dẫn để nâng cao độ sáng hiệu quả nhưng các cấu trúc cơ bản của vật liệu bán dẫn vẫn không thay đổi.

Diode laser phát ra ánh sáng trong vùng quang phổ nhìn thấy đã được thương mại hóa ở những năm cuối của thập kỷ 80. Các nhà thiết kế đã sử dụng kỹ thuật tương tự sản xuất đèn LED có độ bền và cường độ ánh sáng cao. Điều này đã làm phát triển chất bán dẫn mới là InGaAlP (indium gallium aluminum

phosphide). Thông qua quá trình điều chỉnh khe hở khung dẫn năng lượng, vật liệu InGaAlP có thể tạo ra ánh sáng với các màu sắc khác nhau như vàng, xanh lá cây, đỏ... Tuy nhiên, trong thời gian này, đèn LED phát ra ánh sáng xanh dương vẫn chưa được tạo ra. Mãi đến năm 1993, Shuji Nakamura thuộc công ty hóa chất Nichia Nhật Bản đã lần đầu tiên giới thiệu đèn LED phát ra ánh sáng xanh. Với phát minh trên, ông cùng với hai nhà khoa học khác là Isamu Akasaki và Hiroshi Amano đã đoạt giải thưởng Nobel vật lý năm 2014 (http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/2014/). Công nghệ chế tạo đèn LED xanh dương gặp rất nhiều khó khăn trong nâng cao dòng photo phát ra và chúng tương đối hơi nhạy cảm với mắt người. Ánh sáng xanh dương cùng với ánh sáng đỏ và xanh lá cây là ba màu cơ bản, sự kết hợp đúng cách từ chúng có thể tạo ra được màu trắng và tất cả các màu còn lại. Quá trình này đòi hỏi sự thiết kế các mạch điện rất phức tạp kể cả phần cứng lẫn phần mềm điều khiển. Vật liệu để tạo ra ánh sáng xanh dương là GaN (gallium nitride) và SiC (silicon carbide). Đèn LED xanh đã trở nên có giá trị để trong các ứng dụng mới bao gồm các sản phẩm viễn thông, thiết bị điều khiển giao thông, đèn ô tô... Ngay cả, tivi LED có thể sớm được thương mại hóa

Khi so sánh tuổi thọ đèn sợi đốt (1.000 giờ), đèn huỳnh quang (8.000 giờ), đèn LED có tuổi thọ dài rất đáng kể lên đến 100.000 giờ. Ngoài tuổi thọ dài, đèn LED còn có nhiều ưu điểm hơn các nguồn chiếu sáng thông thường như kích thước nhỏ, phát ra bước sóng cụ thể, phát nhiệt thấp, điều chỉnh được cường độ ánh sáng và chất lượng chiếu sáng, tiêu thụ điện năng thấp... Với những lợi thế trên, đèn LED ngày càng được ứng dụng rộng rãi hơn trong nông nghiệp, hỗ trợ tăng trưởng thực vật trong môi trường có kiểm soát như phòng nuôi cấy mô và buồng sinh trưởng (Growth chamber) Sử dụng cấu trúc bán dẫn phát quang có thể tiết kiệm điện năng đến 11% và giảm lượng khí thải CO₂ từ 261 – 348 triệu tấn vào năm 2020 (Tsao, 2004).

Tùy vào các nguồn cấu tạo chất bán dẫn mà quyết định đến bước sóng của đèn LED (Bảng 1). Ví dụ: Aluminum gallium arsenide (AlGaAs) phát ra tia đỏ và tia hồng ngoại; aluminum gallium phosphide (AlGaP) – tia xanh lá cây; aluminum gallium indium phosphide (AlGaInP) – tia cam, vàng và xanh lá cây; gallium arsenide phosphide (GaAsP) – tia đỏ, cam và vàng; indium gallium nitride (InGaN) – gần tia UV, xanh dương; silicon carbide (SiC) – xanh dương; sapphire (Al₂O₃) – xanh dương; zinc selenide (ZnSe) – xanh dương; diamond (C) – tia UV (Steigerwald, 2002).

sinh trưởng được chiếu sáng bởi đèn LED so với một đèn hồ quang xenon. Các phản ứng quang đồng hóa CO₂ dưới các đèn LED và đèn hồ quang xenon là như nhau. Quá trình quang hợp khác biệt không có ý nghĩa giữa ánh sáng trắng và ánh sáng đỏ trong điều kiện CO₂ ở nồng độ cao. Kết quả cho thấy, quang hợp bao gồm cả vận chuyển điện tử, trao đổi chất carbon và khí thải ra sẽ được nghiên cứu hiệu quả và chính xác với độ tin cậy cao khi sử dụng đèn LED.

Okamoto và đồng tác giả (1997) đã nghiên cứu ảnh hưởng của cường độ ánh sáng (PPFD) từ các tỷ lệ khác nhau giữa ánh sáng đỏ và xanh đến sự sinh trưởng và phát sinh hình thái của cây Rau diếp. Kết quả cho thấy chiếu cao cây giảm khi PPFD của ánh sáng xanh gia tăng. Các nghiên cứu cũng đã xác định được mối quan hệ giữa PPFD với việc tăng chiều cao, khối lượng khô rễ thân và toàn bộ cây Rau diếp.

ĐÈN LED VÀ NUÔI CÂY MÔ TẾ BÀO THỰC VẬT

Nuôi cấy mô là sự phát triển của các mô thực vật hoặc các tế bào trong một môi trường có kiểm soát (một môi trường sinh trưởng lý tưởng, nơi được vô trùng với vi sinh vật và các chất ô nhiễm khác), được sử dụng rộng rãi trong khoa học thực vật và một số ứng dụng thương mại. Môi trường được kiểm soát cho nuôi cấy mô tế bào thực vật thường không khí được lọc, nhiệt độ ổn định, nguồn ánh sáng ổn định, và các môi trường nuôi cấy trở thành công thức (chúng hạn như dung dịch nuôi cấy hoặc môi trường thạch). Vì nhân giống, một hình thức nuôi cấy mô thực vật, được sử dụng rộng rãi trong lâm nghiệp và trồng hoa. Nó cũng được sử dụng cho các loài cây quý hiếm hoặc có nguy cơ tuyệt chủng bảo tồn. Các ứng dụng khác của vi nhân giống bao gồm: (1) Thử nghiệm ngăn chặn các nghiên cứu xây dựng, biến đổi và tái sinh thực vật chuyển gene. (2) Lai tạo và tái sinh các loài xa có liên quan. (3) Sàng lọc các tế bào có đặc điểm tốt (ví dụ: chịu được hoặc kháng thuốc diệt cỏ). (4) Cứu phôi (Phôi thường chết khi xảy ra hiện tượng lai xa liên quan đến loài và nuôi cấy mô tế bào thực vật có thể khắc phục được vấn đề này). (5) Sinh trưởng nhanh của tế bào thực vật trong bioreactor nuôi cấy lỏng như là nguồn sản xuất chất thứ cấp (Tái tổ hợp protein được sử dụng như được sinh học). (6) Đa bội hóa cây trồng như một phương pháp nhanh trong chương trình chọn giống (Thường sử dụng colchicine trong đa bội hóa nhiễm sắc thể).

Nuôi cấy mô và các ngành công nghiệp nhân giống từ lâu đã được sử dụng nguồn ánh sáng nhân

tạo cho sản xuất. Những nguồn ánh sáng bao gồm huỳnh quang (TFL), đèn sodium cao áp (HPS), kim loại bóng đèn halogen (MHL) và đèn sợi đốt v.v... Trong số đó, TFL đã được phổ biến nhất trong ngành công nghiệp phòng nuôi cấy mô. Tuy nhiên, việc sử dụng của TFL tiêu thụ 65% tổng số điện trong một phòng thí nghiệm nuôi cấy mô, đó là chi phí cao nhất. Kết quả là, các ngành công nghiệp liên tục tìm kiếm các nguồn ánh sáng hiệu quả hơn. Sự phát triển của LED độ sáng cao là một nguồn ánh sáng đầy hứa hẹn cho sự phát triển của thực vật trong môi trường được kiểm soát.

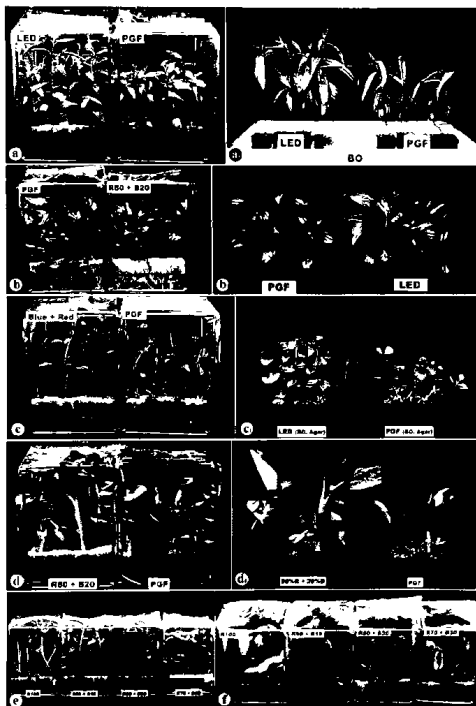
Trong những năm gần đây, với các kỹ thuật cải tiến của đèn LED, một số lượng lớn các công bố thực hiện trên nhiều đối tượng thực vật khác nhau để chứng minh đèn LED sẽ trở thành nguồn chiếu sáng trong các phòng nuôi cấy mô. Các công bố đều tập trung nghiên cứu ảnh hưởng của đèn LED đơn lẻ hay kết hợp lên sự sinh trưởng và phát sinh hình thái của cây trồng. Sự gia tăng các chỉ tiêu sinh trưởng như khối lượng tươi, khối lượng khô được ghi nhận khi cây nuôi cấy dưới điều kiện chiếu sáng LED xanh và LED đỏ kết hợp tốt hơn so với LED đơn lẻ (Nhut, 2002; Lian *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004; Poudel *et al.*, 2008; Shin *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2010). Khối lượng tươi và khô của cây bông vải cao nhất khi được nuôi cấy dưới điều kiện LED xanh và LED đỏ kết hợp với tỉ lệ 1:1. Kết quả tương tự được ghi nhận trên đối tượng cây Cúc trong nghiên cứu của Kim và đồng tác giả (2004).

Hahn và đồng tác giả (2000) đã báo cáo rằng tốc độ quang hợp của cây Địa hoàng nuôi cấy *in vitro* là rất cao dưới hệ thống LED hỗn hợp (50% LED đỏ và 50% LED xanh) hoặc dưới đèn huỳnh quang, trong khi đó cây con nuôi cấy dưới hệ thống LED xanh hoặc LED đỏ có tốc độ quang hợp rất thấp. Cường độ photon cao của LED xanh, đỏ và đỏ dải bước sóng đặc trưng của chúng làm cho hệ thống đèn mới này mang lại nhiều thuận lợi.

Các loại cây con Dâu Tây, Bạch Đàn, Địa Lan, Hồ Diệp và Chuối có thân kéo dài dưới hệ thống LED đỏ, còn cây Lan Ý lại tăng trưởng bình thường ở điều kiện này. Những cây con có thân được kéo dài dưới hệ thống LED đỏ thường mảnh, lá hơi vàng, có lượng chlorophyll ít hơn, tốc độ quang hợp, khối lượng tươi của thân và rễ cũng thấp hơn so với những cây được nuôi dưới hệ thống LED kết hợp đỏ và xanh (Nhut, 2002) (Hình 2). Phản ứng của cây con được nuôi cấy với tỷ lệ ánh sáng đỏ và xanh khác

nhau đã được xem xét trên qui mô thương mại. Phản ứng này tùy thuộc vào loài thực vật, yêu cầu được đặt ra của các nghiên cứu này là tỷ lệ ánh sáng xanh/đỏ thích hợp nhất cho mỗi loại cây trồng. Công việc này đóng vai trò quyết định trong việc xác định chi tiết nhu cầu ánh

sáng xanh/đỏ. Nhiều nghiên cứu đã nỗ lực tìm ra vai trò của việc kết hợp ánh sáng xanh và đỏ nhưng vẫn chưa làm rõ được chi tiết chất lượng ánh sáng. Mặc dù, tác động riêng rẽ của từng loại ánh sáng đã được nghiên cứu khá kỹ.



Hình 2. Sinh trưởng của một số loại cây trồng ở giai đoạn *in vitro* dưới hệ thống chiếu sáng LED và sinh trưởng tiếp theo của chúng ở giai đoạn vườn ươm. a,a1. cây Bạch đàn; b,b1. cây Lan ý; c,c1. cây Dâu tằm; d,d1. cây Chuối; e. cây Địa lan; f. cây Hồ điệp (Nhut, 2002) (R- LED đỏ, B. LED xanh; PGF-Plant growth fluorescent; cây sinh trưởng dưới ánh sáng huỳnh quang).

Ánh sáng đỏ đã được nghiên cứu như một tác nhân tác động đến sự phát triển của cây trồng thông qua kiểm soát cân bằng hoạt động của quá trình tổng hợp các phytohormone. Kích hoạt các sắc tố đỏ và đỏ xa bằng ánh sáng đỏ đồng nghĩa với việc kích hoạt các hệ thống enzyme oxy hóa chuyển đổi các cofactor như naringenin, apigenin và các dẫn xuất kaempferol trong quá trình tổng hợp IAA oxidase, enzyme này có vai trò giúp cân bằng nồng độ IAA trong cơ thể thực vật (Mumford *et al.*, 1961). Các nghiên cứu hiện nay cho thấy dưới ánh sáng LED đỏ, các chồi và chiều dài đốt thân đều kéo dài ở nhiều loài thực vật như nghiên cứu của Kim và đồng tác giả trên đối tượng cây Cúc (Kim *et al.*, 2004), *Azorella vidalii* (Wats.) Feer (Moreira da Silva, Debergh, 1997). Tuy nhiên, ở một vài nghiên cứu, ánh sáng đỏ tỏ ra không phù hợp với sự kéo dài thân. Hahn và đồng tác giả (2000) báo cáo hiệu ứng ngược lại của ánh sáng đỏ đối với sự tăng trưởng của cây Địa hoàng. Dưới vùng ánh sáng đỏ cây Địa hoàng không những không kéo dài thân mà khối lượng tươi và tốc độ quang hợp cũng thấp hơn so với dưới các điều kiện chiếu sáng LED xanh. Kết quả trên cho thấy, tùy các loài thực vật khác nhau mà phản ứng của chúng với từng loại ánh sáng sẽ khác nhau. Tennesen và đồng tác giả (1994) cũng cho rằng ánh sáng đỏ gây mất cân bằng phản phối năng lượng ánh sáng cho hệ thống quang hóa I và II, do đó ức chế sự phát triển của cây. Ưu thế sự phát triển của chồi được quan sát dưới ánh sáng đỏ ở thực vật có hoa thân thảo như cây cúc Vạn thọ và cây Salvia (Heo *et al.*, 2002). Trong khi đó, ánh sáng xanh lại có tác động ngược lại. Ưu thế sự tăng trưởng bằng ánh sáng xanh đã được báo cáo trên nhiều đối tượng khác nhau. Moreira da Silva và Degergh (1997) chỉ ra rằng chiếu đỏ và chiếu dài đốt thân của cây *A. vidalii* (Wats.) Feer bị ngăn khi sinh trưởng dưới vùng ánh sáng xanh dương. Ánh sáng xanh làm ức chế tăng trưởng và những thay đổi trong hình thái giai phẫu thân và lá ở cây Tiều nuôi cấy *in vitro* (Schuerger *et al.*, 1997). Mortensen và Stromme (1987) cũng quan sát thấy sự ức chế tăng trưởng dưới ánh sáng xanh ở nhiều loại cây trồng trong nhà kính. Trong khi đó, Kraepiel và Mipiniac (1997) nhấn mạnh tầm quan trọng của ánh sáng xanh trong việc đóng mở khí khổng. Ánh sáng màu xanh có vai trò trong sự hình thành diệp lục ở thực vật (Akoyunoglou, Anni (1984). Ngoài ra, nó còn ảnh hưởng tích cực trong biểu hiện hoạt động của gene ở cả trong nhện lẫn gene ở lập thể và trong quá trình phát triển bộ máy quang hợp ở tế bào thực vật (Richter, Wessel, 1985). Topchiy và đồng tác giả (2005) báo cáo rằng sự khác biệt trong quang phổ bức xạ ánh hưởng đến chất lượng các thành phần của protein tham gia cấu tạo sắc tố và bộ

máy quang hợp. Tuy nhiên, Chee (1986) lại báo cáo số lượng chồi đạt cao nhất khi giống Nhò không hạ phát triển dưới ánh sáng xanh. Đường như sự kích thích hay ức chế chiều dài chồi giữa các tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh thì phụ thuộc vào phytochrome và các thụ quan ánh sáng khác ở các loài khác nhau (Kim *et al.*, 2004). Một số trường hợp, sự sinh trưởng thực vật tốt nhất với 10% ánh sáng LED xanh được bổ sung, trong khi đó, một số trường hợp khác tỷ lệ LED xanh phải chiếm tới 30% khi kết hợp với ánh sáng LED đỏ (Nhut, Nam, 2010). Tỷ lệ xanh/đỏ khác nhau ảnh hưởng khác nhau đến phát sinh hình thái chồi ở cây Hồng môn, phần trăm tái sinh chồi cao nhất khi tỷ lệ ánh sáng LED đỏ nhiều hơn xanh, nhưng số chồi hình thành nhiều nhất khi tỷ lệ LED xanh nhiều hơn đỏ (Budiartha, 2010). Đáp ứng khác nhau của phôi sinh đường dưới các bước sóng LED khác nhau ở các loài thông cũng được nghiên cứu. Bước sóng đỏ ảnh hưởng tích cực đối với khả năng nảy mầm ở 3 loài thông được nghiên cứu (Merkle *et al.*, 2005). Sự kết hợp giữa LED đỏ và đỏ xa kích thích sự hình thành phôi ở loài *Doritaenopsis* nhưng vẫn giữ hiện tượng nội phân ở mức thấp (Park *et al.*, 2010). Quang phổ của ánh sáng LED cũng ảnh hưởng đến sự tái sinh từ vảy củ của cây *Lilium oriental hybrid* "Pesarò". Số lượng củ thu được cao nhất trong điều kiện tối và ánh sáng LED bổ sung riêng lẻ. Sự kết hợp giữa LED xanh và LED đỏ kích thích sự gia tăng kích thước, khối lượng tươi và khô của củ (Lian *et al.*, 2002). Ánh sáng LED đỏ kết hợp với LED xanh cũng làm tăng sự hình thành PLB của lan Hồ điệp (Nhut *et al.*, 2006). Ở cây Địa lan, số lượng PLB hình thành cao nhất dưới tỷ lệ 25% LED đỏ kết hợp với 75% LED xanh (Huan, Tanaka, 2004). Ánh sáng LED xanh được cho là điều kiện tốt nhất cho sự hình thành chồi từ PLB của cây *Dendrobium officinale* nuôi cấy *in vitro* (Lin *et al.*, 2010). Vai trò của chất lượng ánh sáng đối với quá trình phát sinh hình thái thực vật vẫn chưa được rõ ràng, nó phụ thuộc vào độ dài bước sóng phát ra, loại cây trồng được nghiên cứu, các giai đoạn phát triển của thực vật và điều kiện môi trường nuôi cấy như cường độ ánh sáng (Anzelika *et al.*, 2008), thành phần môi trường (Schuerger *et al.*, 1997) hay điều kiện thoáng khí (Hahn *et al.*, 2000).

Hàm lượng chlorophyll ở các mẫu cây dưới các điều kiện chiếu sáng LED khác nhau sẽ khác nhau. Vài nghiên cứu cho thấy ánh sáng LED xanh là điều kiện tốt cho quá trình hình thành chlorophyll, nhưng LED đỏ lại có tác dụng ngược lại (Tanaka *et al.*, 1998; Li *et al.*, 2010), trong khi đó, β -carotene hình thành dưới ánh sáng LED đỏ (Wu *et al.*, 2007) và carotenoids được cảm ứng bởi LED xanh và ánh sáng

huỳnh quang (Shin *et al.*, 2008). Kim và đồng tác giả (2004) nhấn mạnh vai trò của ánh sáng xanh đến sự hình thành chlorophyll và sự phát triển của lục lạp ở cây Cúc nuôi cấy.

Chất lượng ánh sáng ảnh hưởng đến hàm lượng sucrose, tinh bột, đường hòa tan và tốc độ quang hợp của các mẫu cây nuôi cấy *in vitro* cũng được nghiên cứu. Sự gia tăng hàm lượng sucrose, tinh bột và đường hòa tan trong cây Bông vại được nuôi cấy dưới ánh sáng LED đỏ (Li *et al.*, 2010), trong khi đó sự kết hợp giữa LED xanh và LED đỏ lại hiệu quả ở cây Nho (Heo *et al.*, 2006) và *Doritaenopsis* (Shin *et al.*, 2008). Điều hòa trao đổi carbohydrate bởi ánh sáng đã được báo cáo bởi Kowallik, 1982. Ánh sáng đỏ nhiều khả năng ngăn cản sự vận chuyển sản phẩm của quang hợp và vì thế có sự gia tăng hàm lượng tinh bột ở lá (Soebo *et al.*, 1995). Goins và đồng tác giả (1997) cho thấy có sự gia tăng tốc độ quang hợp và hoạt động của khí khổng của lá Lúa mỳ dưới điều kiện LED đỏ và LED xanh kết hợp.

Quá trình ra rễ *in vitro* cũng ảnh hưởng bởi đèn LED. Rễ cây Hồng môn hình thành nhiều nhất dưới điều kiện tỉ lệ LED đỏ kết hợp với LED xanh (Budiarto, 2010). Ảnh hưởng của ánh sáng đỏ đến quá trình hình thành rễ của chồi phụ thuộc vào kiểu gen và giá thể nuôi cấy. Rễ *Doritaenopsis* hình thành nhiều dưới LED xanh và ngăn cản sự hình thành rễ dưới LED đỏ (Shin *et al.*, 2008). Chất lượng ánh sáng có thể thúc đẩy sự phát triển của rễ giúp rút ngắn thời gian nuôi cấy và giảm giá thành cây giống. Đó cũng chính là lý do hệ thống chiếu sáng LED có thể cũng được sử dụng ở giai đoạn ra rễ trong quá trình vi nhân giống. Hệ thống chiếu sáng LED còn được sử dụng trong quá trình nảy mầm và phát triển của cây con *in vitro*. Hạt của cây *Bletilla ochracea* đạt tỉ lệ nảy mầm cao nhất với tỉ lệ 74% với LED xanh lá cây và LED vàng (Godo *et al.*, 2011). Bước sóng từ 590 nm đến 625 nm là điều kiện tốt nhất để hình thành thân rễ của cây *Bletilla ochracea*. Sau 3 tháng nuôi cấy, diện tích lá mở rộng dưới LED trắng và LED xanh, trong khi đó, LED xanh lá cây, vàng và đỏ lại có ảnh hưởng ngược lại.

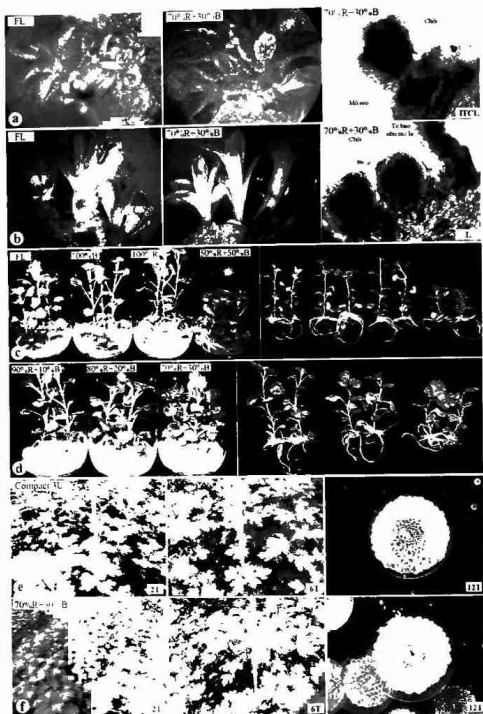
Ngoài các chương trình phát sinh hình thái trên, đèn LED còn ứng dụng trong nghiên cứu đến quá trình ra hoa ở thực vật. Ánh sáng xanh, đỏ + đỏ xa, xanh - đỏ xa của đèn LED kích thích sự hình thành hoa *in vitro* của cây Bát tiên nhưng nếu sử dụng LED đỏ riêng lẻ lại làm giảm phần trăm hình thành hoa. Hơn nữa với các điều kiện LED xanh, đỏ, xanh + đỏ xa làm trì hoãn quá trình ra hoa. Tỉ lệ hình thành hoa cao nhất (90%), số hoa hình thành trên mỗi

cây, tỉ lệ hoa trưởng thành và nở sớm được ghi nhận dưới điều kiện đèn huỳnh quang. Điều này cho thấy, ánh sáng LED có vai trò trong quá trình ra hoa ở các loài cây ra hoa bất định những loài mà không cần các tín hiệu cảm ứng ra hoa (Dewir *et al.*, 2006).

Quá trình thích nghi là bước cuối cùng trong vi nhân giống. Trong quá trình này, cây phải thích nghi với những điều kiện môi trường mới trong nhà kính hoặc ngoài đồng ruộng. Trạng thái cuối cùng của cây nuôi cấy mô là phải thích nghi tốt với điều kiện *ex vitro*. Sự sinh trưởng tốt ở giai đoạn *in vitro* dưới tỉ lệ chiếu sáng 80% LED đỏ kết hợp với 20% LED xanh giúp cây Lan ý sinh trưởng tốt ngoài vườn ươm (Nhut *et al.*, 2005), điều đó tương tự như cây Dầu tày sinh trưởng *in vitro* dưới điều kiện 70% LED đỏ kết hợp với 30% LED xanh (Nhut *et al.*, 2003).

Vai trò của ánh sáng đơn sắc trong vi nhân giống đã được nghiên cứu nhiều trên thế giới. Ở Việt Nam thì nguồn sáng này chưa được chú trọng. Từ năm 2002 đến nay, Dương Tấn Nhựt và đồng tác giả đã ứng dụng thành công hệ thống phát sáng LED trên một số loại cây trồng như Cúc, sâm Ngọc linh, Thu hải đường... Những cây trồng nuôi cấy dưới hệ thống đèn LED không những sự sinh trưởng và phát triển tốt ở điều kiện *in vitro*, mà còn cả ở điều kiện *ex vitro*. Những nghiên cứu về giải phẫu học, quang hợp cũng chứng minh rằng những cây nuôi cấy dưới hệ thống LED thì tốt hơn khi so sánh với hệ thống chiếu sáng bằng đèn neon (Dương Tấn Nhựt, 2010).

Lê Thế Biên và đồng tác giả (2013) đã cho thấy chồi Thu hải đường tái sinh từ lớp mỏng tế bào tốt nhất dưới tỉ lệ 80% LED đỏ kết hợp với 20% LED xanh. Trong khi đó, dưới điều kiện 70% LED đỏ kết hợp với 30% LED xanh cho hiệu quả trong quá trình tái sinh chồi từ lá và lớp mỏng tế bào từ thân của cây Cúc (Hình 3a,b) (Nguyễn Bá Nam *et al.*, 2012). Hoàng Văn Cường và đồng tác giả (2012) đã khảo sát sự sinh trưởng và tích lũy các hợp chất saponin dưới 6 điều kiện chiếu sáng khác nhau: 100% ánh sáng xanh, 100% ánh sáng đỏ, ánh sáng xanh và ánh sáng đỏ kết hợp với tỉ lệ 50:50, 30:70, 20:80, ánh sáng huỳnh quang được sử dụng làm đối chứng. Kết quả cho thấy khối lượng tươi và khối lượng khô của mô sẹo thu được là cao nhất (tương ứng 0,274 và 0,030g) khi các mẫu lá được nuôi cấy dưới ánh sáng ánh sáng xanh và ánh sáng đỏ kết hợp với tỉ lệ 50:50. Quá trình tăng sinh mô sẹo hiệu quả nhất khi các mô sẹo được nuôi cấy dưới điều kiện chiếu sáng là ánh sáng xanh và ánh sáng đỏ kết hợp với tỉ lệ 50:50, với khối lượng tươi và khối lượng khô của mô sẹo là lớn nhất (tương ứng 0,748 và 0,064g).



Hình 3. Hệ thống chiếu sáng LED trong nhân giống cây hoa Cúc qua các giai đoạn phát triển. a, b: giai đoạn tái sinh chồi và hình thái giải phẫu từ lớp mỏng tế bào thân cắt dọc (a) và từ lá (b); c, d: sinh trưởng của cây Cúc trong giai đoạn *in vitro*; e, f: sinh trưởng và phát triển của cây Cúc trong nhà kính dưới điều kiện chiếu sáng bổ sung bằng đèn compact 3U và đèn LED (Nam *et al.*, 2012, 2014; Nhựt, Nam, 2009) (FL-Flourescent lamp đèn huỳnh quang, T: tuần, R: LED đỏ; B: LED xanh).

Ánh sáng xanh và ánh sáng đỏ kết hợp với tỉ lệ 50:50 cũng là nguồn sáng thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và phát triển của cây sâm Ngọc Linh nuôi

cây *in vitro*, tuy nhiên, kết quả phân tích sắc ký lỏng cao áp cho thấy, Các cây được nuôi cấy dưới ánh sáng huỳnh quang cho sự tích lũy saponin là cao

nhất (0,2422% Rb1 và 0,7081% MR2). Ngoài những nghiên cứu tái sinh và tích lũy hợp chất thứ cấp, sự sinh trưởng và phát triển dưới ánh sáng LED đỏ và xanh cũng được thực hiện. Dương Tấn Nhựt và Nguyễn Bá Nam (2009) chỉ ra rằng, chồi Cúc phát triển tốt nhất dưới điều kiện chiếu sáng 90% ánh sáng LED đỏ kết hợp với 10% ánh sáng LED xanh và cho khối lượng tươi và số lá lớn nhất so với các điều kiện chiếu sáng còn lại. Những cây Cúc có nguồn gốc từ hệ thống chiếu sáng 90% ánh sáng LED đỏ kết hợp với 10% ánh sáng LED xanh có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt nhất ở điều kiện vườn ươm so với những cây từ các hệ thống chiếu sáng còn lại (Hình 3c,d). Gần đây, Nguyễn Thanh Sang và đồng tác giả (2014) đã nghiên cứu tác động của các điều kiện chiếu sáng khác nhau đến sự nhân chồi; sinh trưởng, phát triển và tổng hợp chlorophyll a và b của cây cúc *in vitro*. Các đốt thân và các chồi đỉnh cúc được nuôi cấy dưới các điều kiện chiếu sáng khác nhau bao gồm LED đỏ, LED xanh, LED vàng, LED xanh lá cây, LED trắng và LED đỏ kết hợp với LED xanh theo nhiều tỷ lệ khác nhau (10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20 và 90:10). Kết quả thu được sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường nhân chồi cho thấy, chiều dài lá, chiều rộng lá, khối lượng tươi và khối lượng khô của chồi đạt tốt nhất ở 50% LED đỏ và 50% LED xanh. Sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường tạo cây cho thấy, khối lượng tươi, khối lượng khô, chiều dài lá và chiều rộng lá của cây đạt tốt nhất ở 70% LED đỏ và 30% LED xanh. Bên cạnh đó, hàm lượng chlorophyll a ($29,20 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) và chlorophyll b ($14,57 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) của cây đạt cao nhất ở 70% LED đỏ và 30% LED xanh. Đèn LED đã được sử dụng trong phòng thí nghiệm từ rất sớm tuy nhiên việc ứng dụng ở giai đoạn vườn ươm còn rất hạn chế. Năm 2014, Nguyễn Bá Nam và đồng tác giả đã sử dụng đèn LED để bổ sung chiếu sáng vào ban đêm để nghiên cứu ảnh hưởng của chúng đến sự sinh trưởng và phát triển của các giống Cúc “Đóa vàng”, “Sapphire” và “Kim cương” được trồng trong nhà kính. Đèn compact 3U được sử dụng làm nghiệm thức đối chứng. Kết quả cho thấy, tỉ lệ 70% LED đỏ kết hợp với 30% LED xanh phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cây Cúc giống Sapphire và Kim cương, trong khi đó, tỉ lệ 60% LED đỏ kết hợp với 40% LED xanh phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cây Cúc giống Đóa vàng. Kết quả này có thể khẳng định, đèn LED thích hợp để thay thế đèn compact 3U trong việc chiếu sáng cây Cúc trồng trong nhà kính (Hình 3e,f). Tuy nhiên, đây chỉ là bước đầu trong việc ứng dụng LED ở điều kiện đồng ruộng cần có nhiều nghiên cứu để chứng minh hiệu quả của hệ thống chiếu sáng LED trong nông nghiệp.

MỘT SỐ ỨNG DỤNG KHÁC CỦA ĐÈN LED TRONG CÁC LĨNH VỰC NÔNG NGHIỆP KHÁC

Nông nghiệp trong không gian

Thực vật là nguồn lựa chọn duy nhất có thể tạo ra đủ lương thực, nước và oxy giúp cho các nhà thám hiểm tự cung cấp trên các trạm không gian, tàu vũ trụ để chinh phục mặt trăng, sao hỏa và xa hơn nữa. Để sử dụng được thực vật, phải có nguồn chiếu sáng. Tiêu chuẩn của nguồn chiếu sáng sử dụng trong nông nghiệp và nhà kính hoặc buồng sinh trưởng trên trái đất không thể sử dụng trên các tàu vũ trụ. Trong khi đó, đoàn thám hiểm phải làm việc bên ngoài quỹ đạo trái đất trong vài năm, việc nuôi trồng thực vật trong không đã được tính đến và đèn LED với các ưu điểm: an toàn, khối lượng nhỏ, bước sóng đặc trưng, tuổi thọ cao... từ lâu đã được đề xuất như là nguồn chiếu sáng chính cho các phòng nghiên cứu nuôi trồng thực vật trong không gian (Bula *et al.*, 1991).

Đèn LED hồng ngoại thường được sử dụng trong điều khiển từ xa các thiết bị khác. Johnson và đồng tác giả (1996) đã sử dụng loại đèn này trong nuôi cấy cây Yến mạch (*Avena sativa* cv. Seger). Đã có sự khác biệt của hạt giống nảy mầm về tăng trưởng và đáp ứng trọng trường khi được chiếu sáng bằng đèn LED hồng ngoại với điều kiện trong tối ở cùng nhiệt độ. Nghiên cứu này đã cho thấy cây Yến mạch có thể sinh trưởng bình thường trong điều kiện chiếu sáng đèn LED hồng ngoại. Thông qua kết quả trên các nhà nghiên cứu đã mở rộng trên các đối tượng khác và phạm vi quy định của các loại bước sóng tham gia vào lực hấp dẫn bức xạ tác động đến sự phát triển bình thường của cây trồng như các bước sóng vùng ngoài hồng ngoại của quang phổ.

Goin và đồng tác giả (1997) đã nghiên cứu sự phát triển của cây Lúa mì dưới điều kiện LED đỏ, so sánh với điều kiện ánh sáng trắng và ánh sáng LED đỏ bổ sung ánh sáng đèn huỳnh quang xanh. Kết quả cho thấy, trồng Lúa mì dưới đèn LED đỏ sinh trưởng kém, năng suất hạt giống thấp hơn so với dưới điều kiện ánh sáng trắng. Nhưng khi bổ sung 10% ánh sáng huỳnh quang xanh thì chất lượng hạt giống và trọng lượng khô của chồi đạt cao nhất so với các điều kiện chiếu sáng còn lại.

Nhóm nghiên cứu của Goin cũng đã tiếp tục nghiên cứu sự sinh trưởng của Rau diếp và Củ cải dưới hệ thống chiếu sáng đèn LED xanh và đỏ kết hợp. Các nhà nghiên cứu hy vọng các nhà du hành vũ trụ có thể thu hoạch rau sống, các loại thảo mộc và rau quả trên các trạm không gian.

Nuôi cấy tảo

Algaculture, là hình thức nuôi trồng các loài Tảo, tạo một nguồn nguyên liệu lớn được sử dụng trong các ngành nhựa sinh học, dược phẩm, nhiên liệu tảo, kiểm soát ô nhiễm, cũng như thuốc nhuộm và chất màu. Algaculture cũng cung cấp nguồn thực phẩm hy vọng trong tương lai.

Tảo có thể được trồng trong photobioreactor (PBR), một bioreactor trong đó kết hợp một số loại nguồn sáng. PBR là một hệ thống khép kín, trái ngược với một bể hoặc ao mở. Tất cả các chất dinh dưỡng thiết yếu phải được đưa vào hệ thống để cho phép tảo phát triển và sinh trưởng. PBR kéo dài giai đoạn sinh trưởng và cho phép nuôi trồng với nhiều loài tảo. Khi tảo phát triển, sản phẩm tảo dư thừa sẽ tràn ra và được thu hoạch. Matthijs và đồng tác giả (1996) đã sử dụng đèn LED làm nguồn sáng duy nhất trong nuôi cấy Tảo xanh (*Chlorella pyrenoidosa*). Nghiên cứu đã tìm thấy ánh sáng của đèn LED giúp tảo sinh trưởng một cách tối đa. Nghiên cứu này cũng kết luận, việc sử dụng đèn LED nhấp nháy (có nghĩa là ánh sáng không liên tục) trong nuôi cấy Tảo có thể tiết kiệm năng lượng so với nguồn ánh sáng huỳnh quang. Một lợi thế nữa là năng lượng thất thoát nhiệt nhỏ hơn nhiều. Trong khi đó, việc kết hợp ánh sáng xanh với ánh sáng LED màu đỏ không thay đổi các thuộc tính tăng trưởng. Để tận dụng lợi thế về tiềm năng công nghệ sinh học từ Tảo, Lee và Palsson (1994) đã tính toán giá trị lý thuyết cần thiết của khối lượng không khí và cường độ ánh sáng trong nuôi cấy tảo với mật độ cao dưới ánh sáng đơn sắc 680 nm từ các đèn LED như ánh sáng nguồn chính. Nhóm tác giả cũng đã thiết kế một PBR mẫu thử nghiệm dựa trên những tính toán này. Sử dụng dòng hồi lưu cung cấp môi trường mới, các nhà nghiên cứu đã đạt được nồng độ tế bào là 2×10^9 tế bào/ml (hơn 6,6%, v/v), tế bào tăng gấp đôi với thời gian dưới 12 h, và tốc độ sản xuất oxy cao hơn 10 mmol oxygen/l trong 1 giờ nuôi cấy. Nghiên cứu này chỉ ra rằng sự phát triển hệ thống chiếu sáng LED trong nuôi Tảo mang lại hiệu quả kinh tế đáng kể. Một nghiên cứu khác của nuôi cấy Tảo thông qua đèn LED được thực hiện bởi Nedbal và đồng tác giả (1996). Nghiên cứu này chỉ rõ tác động biến đổi trên một loạt các loại Tảo trong nuôi cấy lỏng bằng cách sử dụng các dãy đèn LED màu đỏ cung cấp ánh sáng không liên tục. Kết quả xác nhận rằng tốc độ tăng trưởng trong ánh sáng không liên tục cao hơn ánh sáng liên tục trong điều kiện nuôi cấy tương đương.

Giảm bệnh cây trồng

Schuerger và Brown (1994) đã sử dụng các dãy LED với quang phổ khác nhau để xác định ảnh hưởng của ánh sáng đến sự phát triển của virus khảm Cà chua (ToMV) trong ớt và bệnh phấn trắng trên Dưa chuột. Nghiên cứu này chứng minh chất lượng quang phổ có thể làm giảm bệnh hại và có thể trở thành chương trình hữu ích trong quản lý dịch bệnh tổng hợp.

KẾT LUẬN

LED là nguồn ánh sáng đầu tiên có thể cung cấp ánh sáng có khả năng kiểm soát đúng thành phần quang phổ và bước sóng phù hợp với tế bào nhận kích thích ánh sáng nhằm điều khiển sự phát sinh hình thái thực vật theo ý muốn trong quá trình nuôi cấy. Chúng có thể dễ dàng tích hợp vào hệ thống điều khiển kỹ thuật số, tạo điều kiện thuận lợi cho các chương trình chiếu sáng phức tạp như thay đổi thành phần quang phổ trong quang chu kỳ hoặc với giai đoạn phát triển cây trồng. Đèn LED không chứa thủy ngân. Chúng an toàn hơn trong hoạt động so với các loại đèn hiện nay vì không dùng thủy tinh làm vỏ bọc và chịu được nhiệt độ cao.

Trong khi quá trình quang hợp không đòi hỏi ánh sáng liên tục và quang phổ đầy đủ, đèn LED có thể cung cấp photon với bước sóng cụ thể và linh hoạt trong điều khiển. Như vậy, cơ chế quang hợp cùng với các đặc tính của đèn LED tạo thành hai cách tiết kiệm năng lượng (cắt phần đoạn phổ không cần thiết và tắt ánh sáng định kỳ). Điều này không dễ dàng đạt được với các nguồn sáng khác.

Bài viết này đánh giá tổng quát các ứng dụng của đèn LED trong nuôi cấy mô tế bào thực vật và canh tác cây trồng. Các nghiên cứu này mở đường cho những nghiên cứu trên các loài khác nhau, cũng có kết luận đèn LED đủ điều kiện để thay thế các thiết bị chiếu sáng khác trong nghiên cứu nông nghiệp. Với năng lượng có thể tiết kiệm, LED trở thành phương án lựa chọn tốt nhất cho thiết bị chiếu sáng trong phòng nuôi cấy và nhà kính quy mô lớn.

Lời cảm ơn: Các tác giả xin chân thành cảm ơn Quỹ Phát triển Khoa học Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED - 106.16-2012.32) và Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (TN3/C09, Dự án sản xuất thử nghiệm Sâm Ngọc Linh) đã tài trợ cho chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Akoyunoglou G, Anni H (1984) Blue light effect on chloroplast development in higher plants. In Senger H, ed. *Blue light effects in biological systems*. Springer-Verlag, Berlin: 397-406.

Anzelika K, Renata MC, Stase D, Silva Z, Genadij K, Gintautas T, Pavelas D, Arturas Z (2008) *In vitro* culture of *Chrysanthemum* plantlets using light-emitting diodes. *Cent Eur J Biol* 3: 161-167.

Budiarto K (2010) Spectral quality affects morphogenesis on *Anthurium* plantlet during *in vitro* culture. *Agrivita* 32: 234-240.

Bula RJ, Morrow RC, Tibbitts TW, Ignatius RW, Martin TS, Barta DJ (1991) Light-emitting diodes as a radiation source for plants. *HortScience* 26: 203-205.

Chee R (1986) *In vitro* culture of *Vitis*: the effects of light spectrum, manganese sulfate and potassium iodide on morphogenesis. *Plant Cell Tiss Org* 1: 121-134.

Dewir YH, Chakraborty D, Hahn EJ, Paek KY (2006) Flowering of *Euphorbia milii* plantlets *in vitro* as affected by paclobutrazol, light emitting diodes (LEDs). *Acta Hort* 764: 169-173.

Dương Tấn Nhứt (2010). *Một số phương pháp, hệ thống mới trong nghiên cứu công nghệ sinh học thực vật*. NXB Nông Nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh.

Dương Tấn Nhứt, 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*. *Tap chí Công nghệ Sinh học* 7(1): 93-100.

Efremov AA, Bochkareva NI, Gorbunov RI, Lavrinovich DA., Rebane YT, Tarkhin DV, Shreter YG (2006) Effect of the joule heating on the quantum efficiency and choice of thermal conditions for high-power blue InGaN/GaN LEDs. *Semiconductors* 40 (5): 605-610.

Godo T, Fujiwara K, Guan K, Miyoshi K (2011) Effect of wavelength of LED-light on *in vitro* asymptotic germination and seedling growth of *Bletilla ochracea* Schltr. (Orchidaceae). *Plant Biotechnol* 28: 397-400.

Goins GD, Yorio NC, Sanwo MM, Brown CS (1997) Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LED) with and without supplemental blue lighting. *J Exp Bot* 48: 1407-1413.

Hahn EJ, Kozai T, Paek KY (2000) Blue and red light-emitting diodes with or without sucrose and ventilation affects *in vitro* growth of *Rehmannia glutinosa* plantlets. *J Plant Biol* 43: 247-250.

Heo J, Lee C, Chakraborty D, Paek KY (2002) Growth by monochromatic or mixture radiation provided by a light-

emitting diode (LED). *Plant Growth Reg* 38: 225-230

Hoàng Văn Cường, Nguyễn Bá Nam, Trần Công Luân, Bùi Thế Vinh, Dương Tấn Nhứt (2012) Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc lên sự sinh trưởng và khả năng tích lũy hoạt chất saponin thông qua nuôi cấy mô sẹo và cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) *in vitro*. *Tap chí Khoa học và Công nghệ* 50(4): 475-490.

Hoenecke ME, Bula RJ, Tibbitts TW (1992) Importance of 'blue' photon levels for lettuce seedlings grow under red light-emitting diodes. *HortScience* 27: 427-430.

http://en.wikipedia.org/wiki/Light-emitting_diode

http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/2014/

Huan LVI, Tanaka M (2004) Effects of red and blue light-emitting diodes on callus induction, callus proliferation and protocorm like body formation from callus in *Cymbidium* orchid. *Environ Control Biol* 42: 57-64.

Johnson CF, Brown CS, Wheeler RM, Sager JC, Chapman DK, Deitzer GF (1996) Infrared light-emitting diode radiation causes gravitropic and morphological effects in dark-grown oat seedlings. *Photochem Photobiol* 63: 238-242.

Kim SJ, Hahn EJ, Heo JW, Paek KY (2004) Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of *Chrysanthemum* plantlets *in vitro*. *Sci Hort* 101: 143-151.

Kowallik W (1982) Blue light effects on respiration. *Plant Physiol* 33: 51-72.

Kraepiel Y, Mipiniac E (1997) Photomorphogenesis and phytohormones *Plant Cell Environ* 20: 807-812.

Lê Thế Biên, Nguyễn Bá Nam, Ngô Thanh Tài, Hoàng Văn Cường, Dương Tấn Nhứt (2013) Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc và loại mẫu đến cảm ứng tái sinh chồi từ lớp mỏng tế bào cây Thu hải đường (*Begonia* sp.). *Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc 2013, Hà Nội*: 701-705.

Lee CG, Palsson B (1994) High-density algal photobioreactors using light-emitting diodes. *Biotechnol Bioeng* 44: 1161-1167.

Li H, Xu Z, Tang C (2010) Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plantlets *in vitro*. *Plant Cell Tiss Org* 103: 155-163.

Lian ML, Murthy HN, Paek KY (2002) Effect of light-emitting diodes (LEDs) on the *in vitro* induction and growth of bulblets of *Lilium* oriental hybrid 'Pesaro'. *Sci Hort* 94: 365-370.

Lin Y, Li J, Li B, He T, Chun Z (2010) Effects of light quality on growth and development of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale* *in vitro*. *Plant Cell Tissue Org* 105: 329-335.

Mathijs HCP, Balke H, Van Hes UM, Kroon BMA, Mur LR, Binot KA (1996) Application of light-emitting diodes in bioreactors: flashing light effects and energy economy

in Algal culture (*Chlorella pyrenoidosa*). *Biotechnol Bioeng* 50: 98-107.

Merkle SA, Montello PM, Xia X, Upchurch BL, Smith DR (2005) Light quality treatments enhance somatic seedling production in three southern pine species *Tree Physiol* 26: 187-194.

Morcia da Silva MH, Debergh PC (1997) The effect of light quality on the morphogenesis of *in vitro* cultures of *Azorella vialii* (Wats.) Feer. *Plant Cell Tiss Org* 51: 187-193.

Mortensen L, Stromme E (1987) Effects of light quality on some greenhouse crops. *Sci Hort* 33: 27-36.

Mumford FE, Smith DH, Castle JE, (1961) An inhibitor of indole acetic acid oxidase from pea tips. *Plant Physiol* 36: 724-752.

Nedbal L, Tichy V, Xiong F, Grobelaar JU (1996) Microscopic green algae and cyanobacteria in high-frequency intermittent light. *J Appl Phys* 8: 325-333.

Nguyễn Bá Nam, Lê Thị Thanh, Lê Thị Thanh Trà, Vũ Quốc Luân, Nguyễn Đình Lâm, Dương Tấn Nhựt (2014) Ảnh hưởng của ánh sáng đèn LED bổ sung vào ban đêm lên sự sinh trưởng và phát triển trên ba giống Cúc (Đóa vàng, Sapphire và Kim cương) được trồng trong nhà kính. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 52 (3): 311-328.

Nguyễn Bá Nam, Nguyễn Đình Lâm, Dương Tấn Nhựt (2012) Ảnh hưởng của loại mẫu cây và hệ thống chiếu sáng đơn sắc lên khả năng tái sinh chồi cây hoa Cúc (*Chrysanthemum morifolium* Ramat. cv. "Jimba") nuôi cấy *in vitro*. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 50(6): 595-606.

Nguyễn Thanh Sang, Nguyễn Bá Nam, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Phúc Huy, Nguyễn Thị Kim Loan, Nguyễn Ngọc Thảo, Vũ Đức Trung, Nguyễn Văn An, Trần Thị Minh Loan, Nguyễn Văn Kết, Dương Tấn Nhựt (2014) Sinh trưởng, phát triển và hàm lượng chlorophyll trong chồi cây Cúc (*Chrysanthemum morifolium* ramat. cv. "jimba") nuôi cấy *in vitro* dưới ánh sáng LED *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 12(2): 339-347.

Nhut DT (2002) *In vitro* growth and physiological aspects of some horticultural plantlets cultured under red and blue light-emitting diodes (LEDs). *Doctoral thesis*. Kagawa University. Japan.

Nhut DT, Nam NB (2010) Light emitting diodes (LEDs). an artificial lighting source for biological studies. In: *The Third International Conference on the Development of Biomedical Engineering in Vietnam IFMBE Proceedings* 27: 134-139.

Nhut DT, Takamura T, Watanabe H, Okamoto K, Tanaka M (2003) Responses of strawberry plantlets cultured *in vitro* under superbright red and blue light-emitting diodes (LED). *Plant Cell Tissue Org* 73: 43-52.

Nhut DT, Takamura T, Watanabe H, Okamoto K, Tanaka M (2005) Artificial light source using light-emitting diodes (LEDs) in the efficient micropropagation of *Spathiphyllum* plantlets. *Acta Hort* 692: 137-142.

Nhut TD, Loan PTL, Thao PTL, Suong TTN, Lien H (2006) Effects of some artificial lighting sources on the photomorphogenesis of callus induced embryo and the plantlet regeneration of *Phalaenopsis amabilis* and its applications in micropropagation. In: *Proceedings of International Workshop on Agricultural Biotechnology* 20-21.

Okamoto K, Yanagi T, Kondo S (1997) Growth and morphogenesis of lettuce seedlings raised under different combinations of red and blue light *Acta Hort* 435: 149-157.

Park SY, Edward YC, Paek KY (2010) Endoreduplication in *Phalaenopsis* is affected by light quality from light-emitting diodes during somatic embryogenesis. *Plant Biotechnol Rep* 4: 303-309.

Pawson SM, Bader MKF (2014) LED lighting increases the ecological impact of light pollution irrespective of color temperature. *Ecol Appl* 24(7): 1561-1568.

Pinho P, Moisio O, Tetri E, Halonen L (2004) Photobiological aspects of crop plants grown under light emitting diodes," in *Proceedings of the CIE Symposium 04, LED Light Sources: Physical Measurements and Visual and Photobiological Assessment* - Tokyo, Japan, CIE 026: 71-74.

Poudel PR, Kataoka I, Mochioka R (2008) Effect of red- and blue-light-emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes. *Plant Cell Tiss Org* 92: 147-153.

Richter G, Wessel K (1985) Red light inhibits blue-induced chloroplast development in cultured plant cells at the mRNA level. *Plant Mol Biol* 5: 175-182.

Round HJ (1907) Discovery of electroluminescence - blue light emission from Silicon Carbide (SiC) *Electron World* 19: 309

Schuerger AC, Brown CS (1994) Spectral quality may be used to alter plant disease development in CELSS. *Adv Spa Res* 14: 395-398.

Schuerger AC, Brown CS, Stryjewski EC (1997) Anatomical features of pepper plants (*Capsum annuum* L.) grown under red light emitting diodes supplemented with blue or far-red light. *Ann Bot* 79: 273-282.

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.

Soebo A, Krekling T, Appelgren M (1995) Light quality effects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro* *Plant Cell Tissue Org* 41: 177-185.

Steigerwald DA, Bhat JC, Collins D, Fletcher RM, Holcomb MO, Ludowise MJ, Martin PS, Rudaz SL (2002) Illumination with solid state lighting technology, *IEEE Journal on Selected Topics in Quantum Electronics* 8: 310-320.

Tanaka M, Takamura T, Watanabe H, Endo M, Yanagi T, Okamoto K (1998) *In vitro* growth of *Cymbidium* plantlets cultured under super bright and blue light emitting diodes (LEDs). *J Hort Sci Biotechnol* 73: 39-44.

Tennessen DJ, Bula RJ, Sharkey TD (1995) Efficiency of photosynthesis in continuous and pulsed light emitting diode irradiation. *Photo Res* 44: 261-269.

Tennessen DJ, Singaas EL, Sharkey TD (1994) Light-emitting diodes as a light source for photosynthesis research. *Photo Res* 39: 85-92.

Topchiy NM, Sytnik SK, Syvash OO, Zolotareva OK (2005) The effect of additional red irradiation on the photosynthetic apparatus of *Pisum sativum*. *Photosynthetica*, 43: 451-456.

Tsao JY (2004) Solid-state lighting: lamps, chips, and materials for tomorrow. *Circuits and Devices Magazine, IEEE Journal on Selected Topics in Quantum Electronics* 20: 28-37.

Wu MC, Hou CY, Jiang CM, Wang YT, Wang CY, Chen HH, Chan HM (2007) A novel approach of LED light radiation improves the antioxidant activity of pea seedlings. *Food Chem* 101: 1753-1758.

Heo, JW, Shin KS, Kim SK, Paek KY (2006). Light quality affects *in vitro* growth of grape 'Teiki 5BB7'. *J Plant Biol*, 49, 276-280.

LIGHT-EMITTING DIODES (LEDs): AN ARTIFICIAL LIGHTING SOURCE FOR PLANT TISSUE CULTURE

Duong Tan Nhut, Nguyen Ba Nam

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

SUMMARY

Light is one of the most important factors in the regulation of plant growth and development. Green plants, which convert light into chemical energy via the process of photosynthesis, use light as a source of information for photoperiodism (night/day length), phototropism (light direction), and photomorphogenesis (light quantity and quality). These responses depend on the photon flux density (PPFD), light quality, duration and photoperiod. Therefore, plant growth could be controlled by artificial light in the greenhouse and *in vitro*. Tissue culture and growth rooms have long been using artificial lighting sources, including fluorescent lamps, high pressure sodium lamps, metal halide lamps, and incandescent lamps, etc. Among these, fluorescent lamps have been the most popular in tissue culture rooms. However, these lights have a wide range of wavelengths, from 350 to 750 nm. Such a wide range of wavelengths appears to be unnecessary and are of low quality for promoting plant growth, and the system consumes a lot of electrical power while generating heat in a tissue culture laboratory. Thus, there is a need for an efficient lighting source to improve the production efficiency, reduce costs, and improve the quality of the micropropagated plants. Light emitting diodes (LEDs) have been demonstrated to be an artificial flexible lighting source which has significant effects on biological processes. Using LEDs can choose suitable wavelengths with the growth and development of plants, thereby increasing the maximum yield of plants. Numerous studies have been conducted in order to investigate the effects of LEDs on plants, which have led to many satisfactory results. Various morphological, anatomical, and physiological attributes such as shoot elongation, axillary shoot formation, somatic embryo induction, rhizogenesis, and leaf anatomy, accumulation of secondary metabolites and photosynthetic abilities of plants grown *in vitro* have found to be regulated by spectral properties of LEDs. The potentials of LED as an effective light source for indoor agricultural production have been explored to a great extent. This paper provides a brief development history of LEDs and a broad base review on LED applications in plant tissue culture and indoor plant cultivation.

Keywords: Growth and development, light-emitting diodes, micropropagation, orphogenesis, photosynthesis.