

## MỤC LỤC

MỤC LỤC .....	1
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT.....	4
DANH MỤC HÌNH ẢNH.....	5
DANH MỤC BẢNG BIỂU .....	7
MỞ ĐẦU .....	8
MỤC TIÊU VÀ NỘI DUNG.....	10
PHẦN I: TỔNG QUAN TÀI LIỆU .....	11
I.1. Phát sinh hình thái, phát sinh cơ quan và quang phát sinh hình thái ở thực vật .....	11
I.1.1. Phát sinh hình thái.....	11
I.1.2. Sự phát sinh cơ quan và các yếu tố ảnh hưởng.....	12
I.1.3. Quang phát sinh hình thái .....	13
<i>I.1.3.1. Phytochrome – thụ quan ánh sáng đỏ và đỏ xa ở thực vật.....</i>	<i>14</i>
<i>I.1.3.2. Các thụ quan ánh sáng xanh dương ở thực vật .....</i>	<i>15</i>
<i>I.1.3.3. Các thụ quan tia cực tím (UV receptor) ở thực vật .....</i>	<i>17</i>
I.2. Tác động của ánh sáng .....	17
I.2.1. Ánh sáng với sự sống .....	18
I.2.2. Vai trò của ánh sáng đối với thực vật.....	19
<i>I.2.2.1. Vai trò của ánh sáng trong quang hợp ở thực vật .....</i>	<i>19</i>
<i>I.2.2.2. Vai trò của ánh sáng lên quá trình sinh trưởng và phát triển thực vật .....</i>	<i>21</i>

<i>I.2.2.3. Vai trò của nhân tố ánh sáng trong vi nhân giống</i> .....	26
<b>I.2.3. Một số nguồn chiếu sáng nhân tạo được sử dụng trong nuôi cấy mô thực vật</b> .....	28
<i>I.2.3.1. Một số thiết bị tạo nguồn sáng nhân tạo hiện nay</i> .....	28
<i>I.2.3.2. Một số nguồn sáng được sử dụng cho nuôi cấy mô thực vật</i> .....	28
<b>I.2.4. Những thành tựu đạt được trên thế giới khi sử dụng các nguồn sáng nhân tạo khác nhau trong nuôi cấy mô</b> .....	32
<b>I.3. Tổng quan về đối tượng nghiên cứu</b> .....	34
<b>I.3.1. Cây hoa cúc</b> .....	34
<i>I.3.1.1. Nguồn gốc và phân bố</i> .....	34
<i>I.3.1.2. Đặc điểm thực vật</i> .....	34
<b>I.3.2. Cây lan Hồ điệp (Phalaenopsis)</b> .....	35
<i>I.3.2.1. Nguồn gốc – phân bố</i> .....	35
<i>I.3.2.2. Đặc điểm thực vật</i> .....	36
<b>I.3.3. IC điều khiển AT89C51 dùng trong lập trình điều khiển hệ thống LED</b> .	37
<b>PHẦN II: THIẾT KẾ VÀ LẮP ĐẶT CÁC HỆ CHIẾU SÁNG ĐƠN SẮC</b> ....	41
<b>II.1. Chọn loại LED, thiết kế các hệ chiếu sáng đơn sắc</b> .....	41
<b>II.1.1. Chọn loại LED</b> .....	41
<b>II.1.2. Thiết kế các hệ chiếu sáng đơn sắc</b> .....	44
<b>II.2. Chế tạo các hệ thống điều khiển</b> .....	47
<b>II.2.1. Thiết kế phần cứng điều khiển</b> .....	47
<b>II.2.2. Lập trình cho CHIP để điều khiển cường độ chiếu sáng</b> .....	50

II.2.3. Hiệu chỉnh.....	53
PHẦN III: THỬ NGHIỆM KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA ÁNH SÁNG ĐƠN SẮC LÊN SỰ PHÁT SINH CHỒI <i>IN VITRO</i> .....	57
III.1. Ảnh hưởng của các chế độ chiếu sáng đơn sắc lên sự phát sinh chồi <i>in vitro</i> cây hoa cúc.....	57
III.2. Ảnh hưởng của các chế độ chiếu sáng đơn sắc lên sự phát sinh chồi <i>in vitro</i> cây lan hồ điệp.....	62
PHẦN IV: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	69
IV.1. Kết luận .....	69
IV.2. Kiến nghị .....	70
BÁO CÁO TÀI CHÍNH.....	71
TÀI LIỆU THAM KHẢO .....	71
PHỤ LỤC .....	79

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

- BAP : 6-Benzylaminopurine  
FL : Đèn neon  
L1 : Cường độ 1100lux  
L2 : Cường độ 750lux  
L3 : Cường độ 400lux  
MS : Murashige và Skoog (1962)  
NAA : Acid  $\alpha$ -naphthaleneacetic  
PLB : Protocorm-like body  
PPFD : Cường độ dòng photon quang hợp  
R:Fr : Tỷ lệ bức xạ đỏ: đỏ xa  
R10 : 100% ánh sáng đỏ - 0% ánh sáng xanh  
R9 : 90% ánh sáng đỏ - 10% ánh sáng xanh  
R8 : 80% ánh sáng đỏ - 20% ánh sáng xanh  
R7 : 70% ánh sáng đỏ - 30% ánh sáng xanh  
R6 : 60% ánh sáng đỏ - 40% ánh sáng xanh  
R5 : 50% ánh sáng đỏ - 50% ánh sáng xanh  
R4 : 40% ánh sáng đỏ - 60% ánh sáng xanh  
R3 : 30% ánh sáng đỏ - 70% ánh sáng xanh  
R2 : 20% ánh sáng đỏ - 80% ánh sáng xanh  
R1 : 10% ánh sáng đỏ - 90% ánh sáng xanh  
R0 : 0% ánh sáng đỏ - 100% ánh sáng xanh  
%B : % ánh sáng xanh  
%R : % ánh sáng đỏ

## DANH MỤC HÌNH ẢNH

<i>Hình I.1:</i> Sắc tố quang hợp và trung tâm phản ứng (diệp lục tố a).....	19
<i>Hình I.2:</i> Chuỗi chuyền điện tử của quá trình quang hợp tại lớp màng thylakoid .....	20
<i>Hình I.3:</i> Chu trình Calvin.....	20
<i>Hình I.4:</i> Sự hấp thu các bước sóng ánh sáng bởi các loại sắc tố quang hợp và cường độ quang hợp ở thực vật. ....	21
<i>Hình I.5:</i> Ruộng trồng hoa cúc và một số dạng hoa cúc .....	35
<i>Hình I.6:</i> Vườn trồng lan hồ điệp (làng hoa Sa Đéc – nguồn internet).....	37
<i>Hình I.7:</i> Sơ đồ khối của AT89C51 .....	38
<i>Hình I.8:</i> Sơ đồ chân của AT89C51 .....	38
<i>Hình II.1:</i> Khảo sát cường độ chiếu sáng một vài loại đèn LED .....	43
<i>Hình II.2:</i> Hình ảnh và thông số của LED xanh và LED đỏ được chọn .....	44
<i>Hình II.3:</i> Hình ảnh mô tả cách sắp xếp hệ phối trộn LED xanh và LED đỏ ....	45
<i>Hình II.4:</i> Lắp một hệ đèn LED: a. mặt phía sau LED; b. mặt mắc LED.....	47
<i>Hình II.5:</i> Sơ đồ nguyên lý điều khiển cường độ sáng cho LED .....	48
<i>Hình II.6:</i> Mạch cấp nguồn cho LED.....	49
<i>Hình II.7:</i> Bo mạch in .....	49
<i>Hình II.8:</i> IC điều khiển AT89C51.....	51
<i>Hình II.9:</i> Bộ kết nối nạp IC điều khiển AT89C51.....	51
<i>Hình II.10:</i> Hệ thống điều khiển cho hệ LED thử nghiệm.....	54

<i>Hình II.11:</i> 11 hệ LED được gắn trên kệ nuôi cây <i>in vitro</i> phục vụ cho thử nghiệm (đã tháo một phần vải đen để quan sát).....	55
<i>Hình III.1:</i> Các mẫu cấy được nuôi dưới các tỉ lệ phối trộn ánh sáng khác nhau .....	57
<i>Hình III.2:</i> Minh họa ảnh hưởng của các cường độ chiếu sáng khác nhau trên cùng 1 tỉ lệ phối trộn.....	61
<i>Hình III.3:</i> Hình thái chồi cây hoa cúc <i>in vitro</i> ở các tỉ lệ phối trộn khác nhau tại 3 cường độ chiếu sáng 1100lux, 750lux và 400lux.....	61
<i>Hình III.4:</i> Hình thái chồi cây lan hồ điệp <i>in vitro</i> ở các tỉ lệ phối trộn khác nhau tại 3 cường độ chiếu sáng 1100lux, 750lux và 400lux.....	66
<i>Hình III.5:</i> Hình thái chồi ở các cường độ chiếu sáng khác nhau trên cùng 1 tỉ lệ phối trộn .....	67
<i>Hình III.6:</i> Hình thái lá của chồi cây lan hồ điệp <i>in vitro</i> ở các tỉ lệ phối trộn...	67

## DANH MỤC BẢNG BIỂU

<i>Bảng I.1:</i> Tác động của ánh sáng lên thực vật .....	22
<i>Bảng I.2:</i> Ảnh hưởng của các bước sóng ánh sáng khác nhau lên thực vật.....	23
<i>Bảng I.3:</i> Tỷ lệ bức xạ R:Fr ở các loại môi trường khác nhau (Holmes, 1984; Smith, 1982; Morgan và Smith, 1981) .....	25
<i>Bảng II.1:</i> Cường độ ánh sáng khi bố trí LED ở các khoảng cách khác nhau trên 1 hàng thẳng (đo trực diện tại điểm đầu dưới hàng LED ở khoảng cách 25 cm) .....	46
<i>Bảng II.2:</i> Cường độ ánh sáng thực nghiệm ở 11 chế độ phối trộn tại 3 mức cường độ khảo sát .....	54
<i>Bảng III.1:</i> Hệ số phát sinh chồi, chiều cao và đặc điểm hình thái chồi cây hoa cúc <i>in vitro</i> trong điều kiện ánh sáng khác nhau sau 4 tuần.....	58
<i>Biểu đồ III.1:</i> Ảnh hưởng của các tỷ lệ phối trộn ánh sáng tại 3 cường độ L1: 1100lux, L2: 750lux và L3: 400lux lên chiều cao cụm chồi cây hoa cúc <i>in vitro</i> . .....	59
<i>Bảng III.2:</i> Hệ số phát sinh chồi và đặc điểm hình thái chồi cây lan hồ điệp <i>in vitro</i> trong điều kiện ánh sáng khác nhau sau 9 tuần .....	63
<i>Biểu đồ III.2:</i> Ảnh hưởng của các tỷ lệ phối trộn ánh sáng ở 3 cường độ 1100lux (L1), 750lux (L2) và 400lux (L3) lên hệ số phát chồi lan hồ điệp <i>in vitro</i> .....	64

## MỞ ĐẦU

Trong tự nhiên, ánh sáng mặt trời là một nguồn năng lượng cực kỳ quan trọng không thể thiếu được, nó cung cấp sự sống cho hầu hết các sinh vật. Mà trong đó, phần lớn thực vật xanh là sinh vật đầu tiên thụ hưởng được nguồn năng lượng vô tận này. Trong ngành công nghiệp vi nhân giống nói chung và công nghệ nuôi cấy mô thực vật *in vitro* nói riêng ánh sáng cũng là một trong những yếu tố rất quan trọng. Việc tìm ra giải pháp tốt nhất về nguồn sáng nhằm nâng cao chất lượng cây giống cũng như hạ giá thành sản phẩm cây trồng cũng đang được quan tâm hàng đầu.

Trước đây, người ta thường sử dụng đèn huỳnh quang trong nuôi cấy mô, mà đèn huỳnh quang thì chủ yếu lại được sử dụng cho sinh hoạt của con người. Ánh sáng đèn huỳnh quang là sự phối trộn của nhiều vùng quang phổ từ những vùng ánh sáng có bước sóng ngắn 320 nm đến bước sóng dài 800 nm. Có những vùng bước sóng ngắn không có lợi cho sự sinh trưởng và phát triển của thực vật. Trong thời gian gần đây, nhiều nhà nghiên cứu rất quan tâm đến việc sử dụng các nguồn ánh sáng nhân tạo (đèn compact, đèn LED...) tiết kiệm điện trong nuôi cấy mô và đã đạt được nhiều thành tựu đáng kể, trong đó đặc biệt là nguồn chiếu sáng đơn sắc từ LED (Light-emitting diode) đang được quan tâm. LED có nhiều ưu điểm hơn với kích thước nhỏ, thể tích nhỏ, tuổi thọ cao, vùng quang phổ có thể kiểm soát được, ít hao tổn điện năng và ít tỏa nhiệt. Trong khi đó, đèn huỳnh quang trong nuôi cấy mô chiếm nhiều không gian, tuổi thọ thấp, có những vùng quang phổ không cần thiết, tiêu tốn nhiều điện năng và tạo ra một nhiệt lượng cao trong phòng nuôi cấy, do đó chúng ta phải tốn thêm một lượng điện năng đáng kể để điều hòa nhiệt độ trong phòng. Hiện nay, các phòng nuôi cấy mô được xây dựng ngày càng nhiều từ các viện, trường, trung tâm nghiên cứu cho đến các cơ sở sản xuất tư nhân và nước ngoài với chi phí đầu tư



rất cao. Trong đó, xây dựng cơ sở vật chất, lao động, năng lượng chiếu sáng và hệ thống điều hòa nhiệt độ chiếm khoảng 40 – 60% chi phí sản xuất, mà phương án giảm giá thành lại có giới hạn. Hệ thống chiếu sáng được dùng hầu hết trong các phòng vi nhân giống hiện đang sử dụng là hệ thống đèn huỳnh quang với nhiều nhược điểm như đã trình bày trên. Nâng cao chất lượng cây giống đồng thời giảm giá thành sản xuất là mục tiêu hàng đầu mà các phòng thí nghiệm vi nhân giống đang hướng tới. Việc sử dụng ánh sáng đơn sắc trong nuôi cấy *in vitro* có thể khắc phục được các nhược điểm mà hệ thống chiếu sáng truyền thống đang gặp phải. Hơn nữa, theo nhiều tài liệu nghiên cứu đã công bố thì hệ thống chiếu sáng đơn sắc còn có thể cải thiện được chất lượng cây trồng, có nhiều ưu thế hơn đến sự sinh trưởng, phát triển và các phản ứng sinh lý tích cực đối với nhiều loại cây trồng khác nhau.

Với những ưu điểm trên đèn LED hoàn toàn có thể thay thế cho đèn huỳnh quang trong nuôi cấy mô thực vật. Xuất phát từ mong muốn chung là nâng cao chất lượng, giảm chi phí cây giống trong nuôi cấy *in vitro* và nhu cầu có được một hệ thiết bị đáp ứng các tính năng: cho phép điều chỉnh các tiêu chí về tỷ lệ phối trộn ánh sáng, cường độ và thời gian chiếu sáng để khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc lên hiệu quả nuôi cấy mô nói riêng, căn cứ vào năng lực nghiên cứu của Trung tâm nhóm nghiên cứu tiến hành đề xuất nhiệm vụ: “***Xây dựng hệ thử nghiệm ảnh hưởng của việc phối hợp ánh sáng đơn sắc lên hiệu quả nuôi cấy in vitro***” để có được công cụ nghiên cứu và phát triển các quy trình nhân giống *in vitro* hiệu quả ứng dụng cho hoạt động chọn tạo giống bức xạ của Trung tâm và ứng dụng mở rộng ra các hệ thống nuôi cấy quy mô sản xuất.

## MỤC TIÊU VÀ NỘI DUNG

### **Mục tiêu của nhiệm vụ:**

Xây dựng được hệ thiết bị thử nghiệm hiệu quả sử dụng ánh sáng đơn sắc từ đèn LED trong nuôi cấy *in vitro* thực vật, từ đó có thể mở rộng sử dụng đèn LED thay thế cho đèn huỳnh quang trong hệ thống nuôi cấy *in vitro* thực vật phục vụ cho hoạt động chọn tạo giống bức xạ của Trung tâm và ứng dụng các kết quả thử nghiệm vào thực tiễn sản xuất.

### **Nội dung đăng ký thực hiện:**

Nhiệm vụ được đề xuất tiến hành trong 2 năm (2013 – 2014), trong đó năm 2013 đã được phê duyệt với các nội dung sau:

***Nội dung 1:*** Thiết kế lắp đặt hệ thống chiếu sáng đơn sắc, gồm 2 nội dung:

1. Chọn loại LED, thiết kế các hệ chiếu sáng đơn sắc.
2. Chế tạo các hệ thống điều khiển.

***Nội dung 2:*** Khảo sát ảnh hưởng của các hệ đơn sắc lên sự phát triển của 2 loại cây *in vitro* giai đoạn nhân nhanh gồm: cây hoa cúc, lan hồ điệp; gồm 2 nội dung:

1. Ảnh hưởng của các chế độ chiếu sáng đơn sắc lên sự phát sinh chồi *in vitro* cây hoa cúc.
2. Ảnh hưởng của các chế độ chiếu sáng đơn sắc lên sự phát sinh chồi *in vitro* cây lan hồ điệp.

## PHẦN I: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### I.1. Phát sinh hình thái, phát sinh cơ quan và quang phát sinh hình thái ở thực vật

#### I.1.1. Phát sinh hình thái

Phát sinh hình thái là sự phát triển của cơ thể thực vật: tế bào, mô và cơ quan theo thời gian, từ lúc khởi đầu cho đến lúc trưởng thành để hoàn tất chu trình phát triển. Bao gồm các quá trình: phát sinh mô (histogenesis), phát sinh cơ quan (organogenesis) và phát sinh phôi (embryogenesis).

Sự phát sinh hình thái là một quá trình sinh học do một cơ quan phát triển hình dạng của nó. Tuy nhiên, phát sinh hình thái là kết quả của mối tương tác giữa những con đường hóa sinh và được xác định bằng cách cân bằng nhiều hệ thống. Sự khảo sát được thực hiện trên nhiễm sắc thể, chloroplast hay ti thể, sự thực hiện các thực nghiệm được xác định qua việc kết hợp hệ thống di truyền và những kích thích môi trường. Những hệ thống phát sinh hình thái phụ thuộc vào loại hoạt động: phân chia và sinh trưởng tế bào, những hoạt động cảm ứng và xác định. Quá trình phát sinh hình thái đã được nghiên cứu vào đầu thập niên 1900 với lý thuyết của Haberlandt là có thể tái sinh thành cây hoàn chỉnh từ tế bào sinh dưỡng. Với những bước tiến về vi nhân giống và kỹ thuật di truyền, đã có hàng trăm loài thực vật được nuôi cấy thành công trên nhiều loại mô khác nhau và phát sinh hình thái. Có nhiều loài thực vật khó nuôi cấy, không hình thành rễ, chồi trong nhiều điều kiện nuôi cấy khác nhau. Việc phát triển các mô hình nuôi cấy tái sinh thành công ở những loài thực vật khó tái sinh sẽ hữu ích trong việc nâng cao tầm hiểu biết của chúng ta về những cơ chế cơ bản điều khiển phát sinh hình thái. Hầu hết những tế bào thực vật đều có tính toàn thể, hay khả năng tái sinh thành cây hoàn chỉnh. Tuy nhiên, sự thể hiện đặc tính này

có giới hạn một cách tương đối ở những tế bào như là những vùng mô phân sinh. Đây là những vùng tế bào có đầy đủ khả năng phát sinh hình thái: có khả năng thích ứng với môi trường nuôi cấy trong biệt hóa chồi, rễ hay phôi. Như vậy, để tái sinh cây, mô nuôi cấy cần phải có những vùng mô phân sinh hay có những tế bào có khả năng chuyển hóa thành những vùng mô phân sinh. Vùng mô phân sinh được phát hiện trong khối mô sẹo khi nó được phát sinh trực tiếp bằng cách phân bào là những cụm nhỏ có cấu trúc chặt, có hai cực, tế bào có màng mỏng với nhân điển hình, tế bào chất đậm đặc và có không bào nhỏ. Như mô đỉnh sinh trưởng và phôi chưa chín thuần thực có chứa nhiều tế bào với hình dạng tương tự và những loài này có khả năng phản ứng với môi trường nuôi cấy có hormone.

### **I.1.2. Sự phát sinh cơ quan và các yếu tố ảnh hưởng**

Mặc dù sự phát sinh cơ quan đã được ghi nhận từ rất lâu, nhưng cho đến nay, cơ chế của nó vẫn chưa được hiểu biết thấu đáo. Rễ, chồi và hoa là những cơ quan có thể phát sinh từ nuôi cấy mô. Phôi không được xem là một cơ quan do nó không có hệ thống mạch liền với cây mẹ. Phát sinh cơ quan là quá trình các tế bào và mô tạo ra cấu trúc một cực, cực chồi hoặc cực rễ. Đây là một quá trình liên quan đến sự tăng sinh và sự phân hóa tế bào, phụ thuộc vào thành phần và hàm lượng của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật khác nhau. Phát sinh cơ quan có thể xảy ra ở hai con đường: phát sinh cơ quan trực tiếp và phát sinh cơ quan gián tiếp thông qua mô sẹo. Khi thêm auxin vào môi trường giúp mô cấy tạo rễ, đồng thời ức chế tạo chồi và ảnh hưởng ức chế này có thể được đảo ngược bằng cách thêm vào cả đường và phosphate hữu cơ. Nghiên cứu này của Skoog và cộng sự dẫn đến một giả thuyết rằng sự phát sinh cơ quan được điều khiển bởi sự cân bằng giữa cytokinin và auxin. Cơ chế điều hòa phát sinh

cơ quan có thể được thấy rõ bằng cách nuôi cấy những lớp mỏng chỉ gồm vài lớp tế bào biểu bì và dưới biểu bì [36]. Trong đó, chồi phát hoa, chồi sinh dưỡng và rễ hình thành từ lớp cắt mỏng của một số loài khác nhau bằng cách điều khiển tỉ lệ auxin/cytokinin, nguồn cung cấp carbon và điều kiện môi trường. Rễ hình thành trong môi trường có NAA và Zeatin, còn sự hình thành chồi trong môi trường có Zeatin hoặc BA mà không có auxin. Ngoài tỉ lệ auxin/cytokinin, một số yếu tố khác cũng được xác định là có ảnh hưởng đến sự phát sinh cơ quan. Các chất có hoạt tính gibberelin thường có khuynh hướng cản sự hình thành chồi và rễ, có thể do việc ức chế sự tổng hợp tinh bột. Etylen được cho là có khả năng thúc đẩy sự phát sinh chồi. Đường thêm vào môi trường là nguồn cung cấp năng lượng hô hấp cho tế bào thông qua con đường thẩm thấu. Áp lực thẩm thấu nhẹ sẽ tạm thời tạo ra một số biến đổi sinh hóa, dẫn đến sự thay đổi tăng trưởng và phát sinh hình thái mô sẹo.

### **I.1.3. Quang phát sinh hình thái**

Thực vật có thể bị tác động bởi ánh sáng trực tiếp, chất lượng ánh sáng, cường độ ánh sáng và quang kỳ. Ánh sáng gây ra tính hướng ánh sáng, quang phát sinh hình thái, sự phân hóa lục lạp và các phản ứng khác của thực vật như sự ra hoa và sự nảy mầm.

Quang phát sinh hình thái được định nghĩa là những thay đổi về hình dạng và chức năng của một cơ quan dưới đáp ứng những thay đổi trong môi trường chiếu sáng. Quang phát sinh hình thái (sinh trưởng dưới ánh sáng) bao gồm sự phân hóa các lục lạp được phân hóa, tích tụ các chất diệp lục (chlorophyll) và phát triển lá. Quá trình phát sinh hình thái có thể được cảm ứng bởi ánh sáng đỏ (600 - 680nm), đỏ xa (trên 730 nm) và ánh sáng xanh (430-500 nm). Ánh sáng có ảnh hưởng rất lớn lên sự quang phát sinh hình thái ở thực vật

thông qua các quang thụ quan của thực vật. Thực vật bậc cao có ít nhất ba loại quang thụ thể (photoreceptor) có độ hấp thu chọn lọc với các ánh sáng quang phổ khác nhau, điều hòa sự phát sinh hình thái, đó là:

- Phytochrome (650 - 680 nm; ánh sáng đỏ/đỏ xa).
- Các thụ quan nhận ánh sáng xanh gồm cryptochrome (340 – 520 nm; ánh sáng xanh UV – A), phototropin.
- Thụ quan hấp thu tia cực tím UV – B (290 – 350 nm) và UV – A.

#### ***1.1.3.1. Phytochrome – thụ quan ánh sáng đỏ và đỏ xa ở thực vật***

Phytochrome là một homodimer, trong đó mỗi phân tử protein xác định có trọng lượng khoảng 125 kDa với 1128 amino acid, nối với một phân tử hấp thu ánh sáng khác (rhodopsin). Ở thực vật có 5 phytochrome là PhyA, PhyB, PhyC, PhyD và PhyE với chức năng riêng biệt khác nhau. Các phytochrome khác nhau cũng hấp thu tốt nhất các phổ (bước sóng) khác nhau.

*Các phytochrome hiện diện trong hai dạng có thể chuyển đổi qua lại:*

- PR khi nó hấp thu ánh sáng đỏ (R; 660 nm).
- PFR khi nó hấp thu ánh sáng đỏ xa (FR; 730 nm).

*Có các mối quan hệ sau:*

- PR hấp thu ánh sáng đỏ chuyển đổi thành PFR.
- PFR hấp thu ánh sáng đỏ xa chuyển thành PR.
- Trong tối, PFR chuyển ngay thành PR.

Ánh sáng mặt trời giàu tia đỏ (660 nm) hơn tia đỏ xa (730 nm), do vậy khi mặt trời lặn tất cả phytochrome ở dạng PFR, đây là dạng hoạt động mang tính sinh lý học, có thể ảnh hưởng đến hoạt tính của các enzyme và sự biểu hiện gene [39]. Trong suốt ban đêm, PFR phần lớn chuyển thành PR và một phần bị

phá hủy. Không thể tách riêng được hai dạng PR và PFR. Trong 100% ánh sáng đỏ có 85% PFR và 100% ánh sáng đỏ xa có 97% PR. Tỷ lệ cân bằng đỏ/đỏ xa được gọi là trạng thái quang cân bằng (photoationary).

#### *Chức năng của phytochrome*

Phytochrome có chức năng trong các đáp ứng ánh sáng và quang kỳ của thực vật: phân hóa lục lạp từ proplastid, nảy mầm hạt, kéo dài thân và ra hoa. Phytochrome là nhân tố trung gian trong sự đáp ứng ức chế kéo dài trục hạ diệp của ánh sáng xanh. Nó có thể tham gia vào quá trình truyền tín hiệu của cry1. Tuy nhiên, sự ức chế kéo dài trục hạ diệp phụ thuộc cry1 có thể độc lập với phytochrome. Khi đó PhyA có thể hoạt động như một thụ quan của ánh sáng xanh, điều khiển quá trình mở rộng lá mầm dưới sự cảm ứng của ánh sáng xanh.

#### *Kiểm soát sự biểu hiện gene bởi ánh sáng*

Phytochrome kiểm soát sự phiên mã một số gene bao gồm tiểu phần nhỏ rubisco, protein gắn kết với chlorophyll a hay b và enzyme ly giải phenylalanine ammonia. Dưới ánh sáng đỏ, tốc độ phiên mã của tiểu phần nhỏ rubisco có thể tăng lên 20 lần.

#### ***1.1.3.2. Các thụ quan ánh sáng xanh dương ở thực vật***

##### ✓ **Cryptochrome**

Cryptochrome hiện diện trong hầu hết các cơ thể eukaryote bậc cao (thực vật, động vật và người) với sự đa dạng về số lượng và kiểu loại. Ở thực vật nó hiện diện trong cây hai lá mầm, cây một lá mầm, dương xỉ, rêu và tảo.

#### *Cấu tạo và đặc tính của cryptochrome*

Hầu hết các cryptochrome thực vật là các protein 70 – 80 kDa. Cryptochrome là một flavoprotein của nhân, khác với phytochrome được chuyển đến nhân do áp lực của ánh sáng, được xác định bởi phổ hoạt động của nó, là thụ quan ánh sáng xanh giống như photolyase, một enzyme có chức năng sửa chữa sai hỏng DNA dưới tác dụng ánh sáng [13].

#### *Chức năng của cryptochrome*

Cryptochrome không có hoạt tính sinh hóa, nhưng sự biểu hiện của gene cryptochrome lại được điều hòa bởi ánh sáng bằng các cơ chế khác nhau từ sự phiên mã cho đến sự thoái hóa. Chức năng của cryptochrome trong sự phát sinh hình thái thực vật chồng lấp với hầu hết các chức năng của phytochrome (như ở *Arabidopsis*). Vai trò của cryptochrome ở *Arabidopsis* được thể hiện trong điều khiển phản vàng hóa, biểu hiện gene và ra hoa theo quang kỳ được biểu diễn bởi cả cryptochrome và phytochrome, lần lượt đóng vai trò khởi đầu trong đáp ứng với ánh sáng xanh/UV – A và ánh sáng đỏ/đỏ xa.

#### ✓ Phototropin

Cho đến nay, phototropin đã được xác định ở nhiều loài thực vật khác nhau, từ loài tảo xanh *Chlamydomonas reinhardtii* cho đến các loài thực vật bậc cao hơn [14].

#### *Đặc điểm chung của phototropin*

Phototropin ban đầu được biết đến như một protein liên kết với màng sinh chất có trọng lượng 120 kDa, có thể cảm ứng quá trình phosphoryl hóa bởi ánh sáng xanh ở cây con *Arabidopsis thaliana* [12].

#### *Chức năng của phototropin*



Phototropin được xem là một họ quang thụ quan flavoprotein mới, điều khiển không chỉ sự quang hướng động ở thực vật, mà còn có vai trò quan trọng khác như: sự tích lũy lục lạp [32], sự mở khí khổng [20] và ức chế nhanh việc khởi đầu sinh trưởng trụ hạ diệp ở cây *Arabidopsis* và chu trình sinh sản ở *Chlamydomonas* [17].

### ***1.1.3.3. Các thụ quan tia cực tím (UV receptor) ở thực vật***

Tia cực tím làm tổn thương các tế bào thực vật, do vậy các tế bào tổng hợp các chất bảo vệ như flavonoid trong biểu bì và lớp siêu dính trong cutin. Những đáp ứng này được kích thích bởi tia UV – B, tia này không được nhận biết bởi một chromophore thật. Thay vào đó, tiểu phần D2 của quang hệ thống II (PSII) hấp thụ và bị phá hủy bởi UV – B, các chu trình này được cảm ứng bởi các sản phẩm thoái hóa. Chất bảo vệ flavonoid có màu vàng (flava Lat), do đó hầu hết chúng hấp thụ ánh sáng (gồm cả tia xanh xa như UV). Flavonoid là chất chống oxy hóa (như vitamin A, C và E), thu gom các gốc tự do.

## **I.2. Tác động của ánh sáng**

Ánh sáng là từ phổ thông dùng để chỉ các bức xạ điện từ có bước sóng nằm trong vùng quang phổ nhìn thấy được bằng mắt thường (tức là từ khoảng 380 nm đến 720 nm). Giống như mọi bức xạ điện từ, ánh sáng có thể được mô tả như những đợt sóng hạt chuyển động gọi là photon. Ánh sáng do mặt trời tạo ra còn được gọi là *ánh nắng* (hay còn gọi là ánh sáng trắng bao gồm nhiều ánh sáng đơn sắc biến thiên liên tục từ đỏ đến tím). Ánh sáng có hai tính chất là sóng và hạt. Ánh sáng mặt trời là một dạng năng lượng (quang năng) thường được gọi là bức xạ hay năng lượng điện từ. Năng lượng điện từ du hành trong không gian ở dạng sóng. Khoảng cách giữa hai đỉnh sóng kề nhau được gọi là độ dài sóng. Dãy sóng điện từ đầy đủ được gọi là phổ điện từ. Mắt người có thể

phân biệt được các màu khi chiếu ánh sáng qua lăng kính hay khi nhìn cầu vồng, đó là các màu: đỏ, cam, vàng, lục, lam, chàm, tím (theo độ dài sóng giảm dần, tức năng lượng tăng dần). Ánh sáng mặt trời giống như một làn mưa photon có độ dài sóng khác nhau, mà mắt người chỉ nhìn thấy được một vùng hẹp. Năng lượng ánh sáng tỉ lệ nghịch với độ dài sóng. Trong các phản ứng quang hóa, mỗi phân tử (của một chất) nhận một photon, để chuyển sang trạng thái kích hoạt và tham gia vào phản ứng [4]. Khi ánh sáng mặt trời chiếu lên lá cây, chỉ có ánh sáng ở vài độ dài sóng được hấp thu (như ánh sáng đỏ) và dùng trong quang hợp, trong khi ánh sáng của các độ dài sóng khác (như ánh sáng lục) phản chiếu hay truyền qua lá. Như vậy, chính ánh sáng thấy được dẫn các phản ứng sáng của quang hợp và quang hợp chỉ sử dụng vài thành phần (độ dài sóng hay màu) của ánh sáng thấy được. Ta không thể thấy ánh sáng ở các độ dài sóng bị các sắc tố hấp thu, ví dụ màu lục của lá cây là do ánh sáng lục được truyền suốt hay phản chiếu (không được hấp thu và do đó không sử dụng được cho quang hợp).

### **I.2.1. Ánh sáng với sự sống**

Ánh sáng có vai trò rất quan trọng đối với những vấn đề về vật chất và tinh thần của con người. Ánh sáng tương tác với những quá trình sinh học qua nhiều hình thức khác nhau, có thể chia thành 3 phạm trù chính:

- Thứ nhất, nó có thể gây hoại tử tế bào hay cơ quan.
- Thứ hai, ánh sáng là môi trường mà cơ quan sinh vật có thể nhận thông tin từ môi trường xung quanh; hơn nữa, ánh sáng là một nhân tố môi trường duy nhất điều khiển nhịp sinh học ở cả động vật và thực vật.
- Thứ ba, thực vật sử dụng ánh sáng trực tiếp cho sản xuất sinh khối.

Như vậy, thông qua quá trình quang hợp, ánh sáng như là một nguồn khai sinh tất cả các dạng năng lượng sinh học [14].

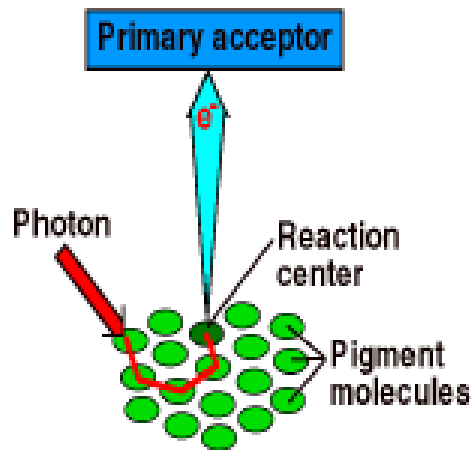
## I.2.2. Vai trò của ánh sáng đối với thực vật

### I.2.2.1. Vai trò của ánh sáng trong quang hợp ở thực vật

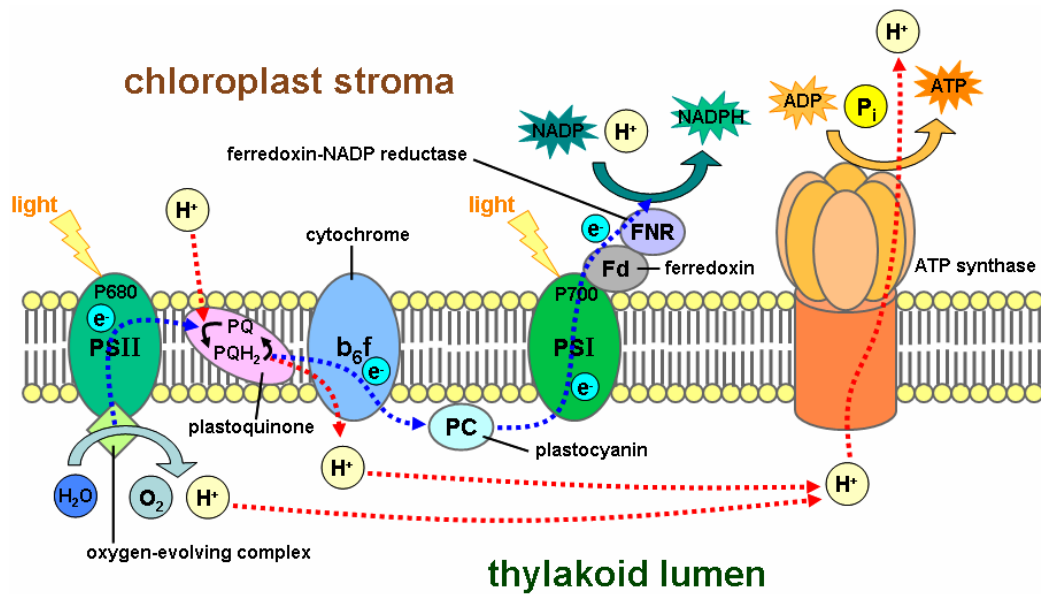
Sự sống trên trái đất phụ thuộc vào ánh sáng mặt trời bởi ánh sáng là điều kiện cho quá trình quang hợp xảy ra. Mọi sự sống trên trái đất không thể tách rời quá trình này. Thuật ngữ quang hợp chỉ rõ hai giai đoạn:

- Quang (photo): có nghĩa là ánh sáng, chỉ giai đoạn cần ánh sáng.
- Hợp (synthesis): có nghĩa là đặt chung lại với nhau, chỉ sự tổng hợp đường (nhờ chu trình Calvin).

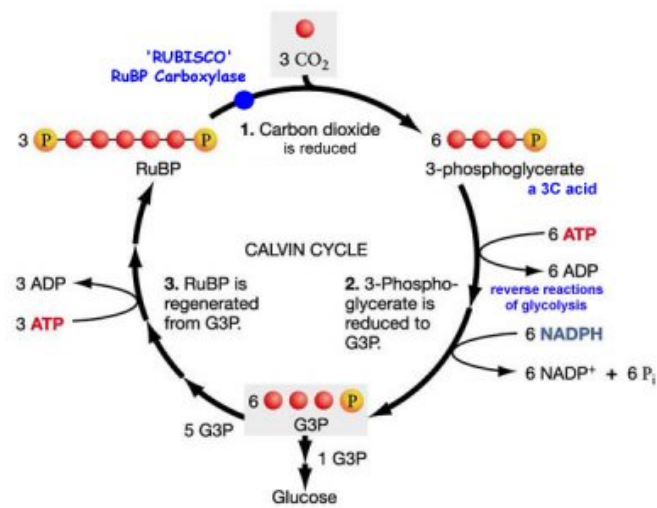
Ngày nay, chúng ta biết đến quang hợp là quá trình giúp thực vật dùng năng lượng ánh sáng để tạo glucose và phóng thích oxygen từ carbon dioxide và nước .



Hình 1.1: Sắc tố quang hợp và trung tâm phản ứng (diệp lục tố a)



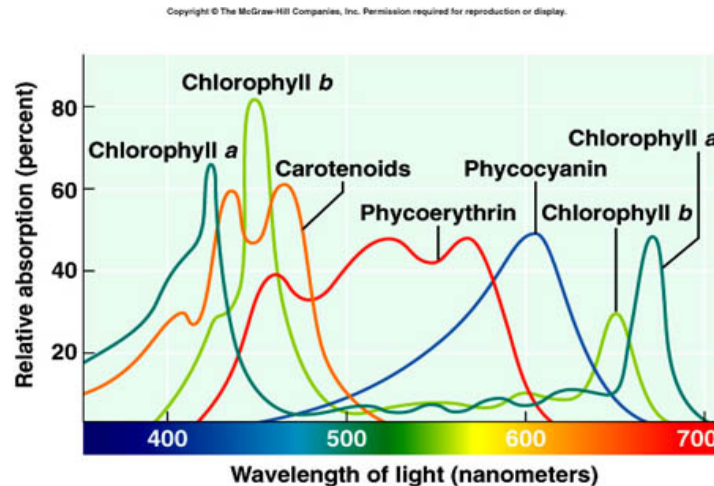
Hình 1.2: Chuỗi chuyền điện tử của quá trình quang hợp tại lớp màng thylakoid



Hình 1.3: Chu trình Calvin

Các bước sóng ánh sáng được sử dụng trong quang hợp chỉ là một phần nhỏ của toàn bộ quang phổ điện từ. Ở thực vật bậc cao, ánh sáng đỏ, tím, xanh điều khiển quá trình quang hợp hiệu quả nhất. Những màu này nằm trong vùng ánh sáng khả kiến có bước sóng trong khoảng từ 380 đến 750 nm. Khả năng

kích thích các electron của ánh sáng liên quan đến bước sóng hơn là cường độ của chùm sáng. Chỉ có một phần nhỏ ánh sáng được thực vật thực sự hấp thu.



*Hình 1.4:* Sự hấp thu các bước sóng ánh sáng bởi các loại sắc tố quang hợp và cường độ quang hợp ở thực vật

### ***1.2.2.2. Vai trò của ánh sáng lên quá trình sinh trưởng và phát triển thực vật***

Nhiều đặc tính về phát triển hình thái của thực vật *ex vitro* bị ảnh hưởng bởi các điều kiện môi trường như ánh sáng (về chất lượng, cường độ, thời gian và hướng chiếu sáng), nhiệt độ, thành phần khí ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4$ ), thành phần môi trường [22]. Năng lượng bức xạ có những ảnh hưởng quan trọng lên hình thái và hoạt động của thực vật bao gồm sự phát triển khả năng quang hợp, tham gia vào nhịp nội sinh và định hướng về không gian và thời gian. Vai trò khác nhau của ánh sáng lên sự sinh trưởng và phát triển của thực vật được tóm tắt trong bảng 1.1. Sự chiếu sáng có ảnh hưởng lên sự sinh trưởng của tế bào, mô thực vật và sự sinh tổng hợp chất biến dưỡng sơ cấp và thứ cấp [29]. Chúng tăng theo cường độ chiếu sáng và hiện tượng bão hòa ánh sáng xuất hiện sau khi cường độ chiếu sáng đạt đến điểm bão hòa ánh sáng, khác nhau từ loài này đến loài khác [42].

Bảng I.1: Tác động của ánh sáng lên thực vật

<b>Dạng hoạt động</b>	<b>Đáp ứng</b>	<b>Ví dụ</b>
Sản xuất sinh khối	Quang hợp	Vi khuẩn hay thực vật xanh
Định hướng trong không gian	Tính hướng sáng và hướng quang động	Tảo di động và vi khuẩn
	Quang kích thích	Thực vật (không di động), nấm
	Tính hướng dương	Thu nhận ánh sáng bởi lá và hoa
	Ảnh hưởng do bóng râm	Sự phát triển của thân và lá
Định hướng theo thời gian	Tính hướng nơi râm, mát	Sự phát triển của rễ
	Nhịp thời gian	Nhiều hoạt động trao đổi chất, phân chia tế bào và phát triển, mở khí khổng.
Định hình dạng	Quang kỳ	Sự nở hoa, cảm ứng ngủ, sự rụng lá, sự tạo ống tràng hoa, thân hành củ và thân bò
	Tạo màu xanh	Tổng hợp sắc tố và phát triển lục lạp
	Những ảnh hưởng lên sự phát triển	Sự phát triển cuống, sự mở rộng lá, dạng nhánh và sự phát triển rễ

Sự chiếu sáng với cường độ ánh sáng và chất lượng phổ ánh sáng khác nhau có tác động đáng kể lên sự sinh trưởng của mô sẹo của *Cistanche deserticola* và sự sinh tổng hợp phenylethanoid glycosides [29] – một thành phần có vai trò quan trọng trong việc ổn định chức năng sinh sản, tiếp nhận các

gốc oxygen tự do và chống lão hóa do sự biến đổi hoạt tính của phenylalanine ammonia lyase (PAL), enzyme then chốt xúc tác cho sự bố trí cố định trong không gian, kháng, khử nhóm ammonia từ cả phenylalanine và tyrosine để tạo ra cinamic acid và các tiền chất của nó [29].

✓ *Cường độ ánh sáng*

Cường độ ánh sáng từ 1000 – 2500 lux được dùng phổ biến cho nuôi cấy nhiều loại mô. Với cường độ ánh sáng lớn hơn thì sinh trưởng của chồi chậm lại nhưng thúc đẩy quá trình tạo rễ. Theo Ammirato (1987), ánh sáng tham gia vào sự phát sinh và phát triển của phôi soma. Ánh sáng ở cường độ cao gây nên sự sinh trưởng của mô sẹo, ở cường độ trung bình kích thích tạo chồi; ngoài ra, ở cường độ thấp sẽ gia tăng chiều cao và có màu xanh đậm [5].

✓ *Quang phổ ánh sáng*

Vấn đề quang phổ ánh sáng đã được nhiều tác giả nghiên cứu. Ảnh hưởng của ánh sáng ở các bước sóng khác nhau được trình bày tóm tắt trong bảng 1.2.

*Bảng 1.2: Ảnh hưởng của các bước sóng ánh sáng khác nhau lên thực vật*

<i>Loại ánh sáng</i>	<i>Ký hiệu</i>	<i>Bước sóng nm</i>	<i>Tác động</i>
Hồng ngoại	IR – A	1400 800	Không có ảnh hưởng đặc biệt nhưng có tác động lên thực vật
Ánh sáng khả kiến	Đỏ	780 760 700	Kéo dài thực vật Nảy mầm (730 nm)
		Da cam	640 610

			Nảy mầm (660 nm) Mở lá Hình thành nụ hoa	
	Vàng	590 570	Quang hợp	
	Xanh lá cây	510	Được hấp thu bởi sắc tố vàng	Tính hướng sáng
	Xanh dương	500 450		
	Tím	400		
Cực tím	UV – A	380 315	Chiều cao cây Độ dày lá Kích thích sắc tố	
	UV – B	280	Không tốt cho quang hợp (ở cường độ cao); làm tổn thương các mô thực vật	
	UV – C	100	Cây chết ngay lập tức	

+ *Ánh sáng trắng*

Ánh sáng trắng là tổng hợp của các loại ánh sáng có bước sóng khác nhau (400 – 800 nm), thích hợp cho nhiều loại đáp ứng của thực vật. Trong nuôi cấy dịch huyền phù của *Perilla frutescens*, sự chiếu ánh sáng trắng với cường độ 27,2 W.m<sup>-2</sup> trong suốt thời gian nuôi cấy rất hiệu quả và lượng anthocyanin được tạo ra cao gấp hai lần so với không chiếu sáng [42]. Ánh sáng trắng tăng cường sự sinh trưởng của chồi cây *Artemisia annua* L. và làm tăng hàm lượng artemisinin của nó. Trong điều kiện tối, chồi không sinh trưởng và artemisinin không tạo ra [23].



+ *Ánh sáng đỏ (700-780 nm)/đỏ xa (trên 750 nm):*

*Kéo dài rễ:*

Trong nuôi cấy lông rễ của *Artemisia annua* L., sinh khối lông rễ và hàm lượng artemisia dưới ánh sáng đỏ cao hơn 17 đến 67% so với dưới ánh sáng trắng [40].

*Kéo dài lông thân:*

Tỉ lệ bức xạ tia đỏ: đỏ xa (R:Fr) có ảnh hưởng đến sự kéo dài lông thân ở thực vật [21]. Người ta có thể tính tỉ lệ bức xạ R:Fr trong các môi trường khác nhau dựa trên sự hấp thu các sắc tố quang hợp (bảng 1.3).

*Bảng 1.3: Tỉ lệ bức xạ R:Fr ở các loại môi trường khác nhau [16]*

<i>Loại ánh sáng/ môi trường</i>		<i>Tỉ lệ R:Fr</i>
Ánh sáng tự nhiên	Ánh sáng ban ngày	1,19
	Ánh sáng xế chiều	0,7 – 0,9
Ánh sáng nhân tạo	Ánh sáng đèn sợi đốt	0,7
	Ánh sáng đèn huỳnh quang	13,5
Nước (độ sâu 1m)	Có than bùn	17,2 <sup>a</sup>
	Có đá vôi	1,2 <sup>a</sup>
Tán che	Lúa mì	0,2 – 0,5
	Củ cải đường	0,03 – 0,04
	Rừng thay lá (sồi)	0,36 – 0,9
	Rừng tùng bách	0,15 – 0,76
	Rừng nhiệt đới	0,22 – 0,8

+ *Ánh sáng xanh:*

*Thúc đẩy sự sinh trưởng của mô sẹo:*

Mô sẹo được nuôi cấy dưới ánh sáng xanh 435 nm cho nhiều sinh khối (18,4 g DW/l) và PeG (2,4 g/l) nhất, lần lượt cao hơn 19 và 41% so với khi nuôi cấy dưới ánh sáng trắng. Điều này được giải thích do hoạt tính của PAL trong mô sẹo được nuôi cấy dưới ánh sáng xanh cao hơn so với dưới ánh sáng trắng trong toàn bộ thời gian nuôi cấy [29].

#### *Ức chế sự kéo dài thân:*

Việc chiếu ánh sáng xanh liên tục trong nuôi cấy cây Diếp cá *Lactuca sativa* L. trong môi trường nước làm giảm đáng kể sự kéo dài trục hạ diệp so với việc chiếu ánh sáng đỏ [38]. Ánh sáng xanh tăng cũng làm giảm chiều cao của *Antirrhinum* [19].

#### + *Ánh sáng xanh lục và tia UV gần:*

Bước sóng UV gần (200 – 380 nm) và xanh lục có khả năng kìm hãm sự sinh trưởng của thực vật do tác động đến quang hợp và sự phát triển bình thường của cây. Ngược lại khi loại bỏ một cách có chọn lọc các tia UV gần và xanh lục từ ánh sáng trắng sẽ tăng cường sinh trưởng cho cây [Internet].

#### ***1.2.2.3. Vai trò của nhân tố ánh sáng trong vi nhân giống***

Cường độ ánh sáng mà thực vật sử dụng trong phản ứng quang hợp có bước sóng từ 400 – 700 nm, với đỉnh từ 660 – 680 nm. Sự phát sinh hình thái do ánh sáng (sự nảy mầm, sự kéo dài đốt thân...) xảy ra ở những dải bước sóng từ 400 – 500 nm (xanh lục), 600 – 700 nm (đỏ) và 700 – 800 nm (đỏ xa). Đơn vị đo cường độ sáng trong các nghiên cứu về thực vật là dòng photon quang hợp (photosynthetic photon flux – PPF), tính bằng  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  hay còn dùng đơn vị lux.

Sự phân phối phổ ánh sáng, quang kỳ và hướng chiếu sáng cũng đóng vai trò 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 (đi-ốt phát quang) cũng đã và đang được nghiên cứu làm nguồn sáng trong nhân giống thực vật. Sử dụng ánh sáng đơn sắc đỏ (600 – 700 nm) hoặc đỏ xa (700 – 800 nm) hoặc kết hợp với xanh lam của đèn LED làm cây tăng trưởng rất tốt và tiết kiệm điện năng hơn so với dùng đèn huỳnh quang.

Một trong những yếu tố của môi trường ảnh hưởng lên quá trình tạo rễ của mẫu cây là ánh sáng. Ánh sáng góp phần vào việc tạo rễ và chồi bất định của đoạn cắt. Chỉ cần cường độ ánh sáng thấp cho quá trình tạo rễ, vì cường độ ánh sáng cao quá sẽ ngăn cản sự tạo rễ. Đối với một số loài, quang kỳ có thể ảnh hưởng đến sự tạo rễ. Chất lượng ánh sáng cũng ảnh hưởng đến sự ra rễ. Ánh sáng đỏ cam thích hợp cho sự ra rễ hơn ánh sáng xanh da trời.

Sự phát sinh hình thái thực vật bị ảnh hưởng bởi các nhân tố của môi trường như nhiệt độ, CO<sub>2</sub>, chất dinh dưỡng, chất lượng ánh sáng, thời gian và cường độ chiếu sáng. Những nhân tố này ảnh hưởng đến sự tăng trưởng chồi và phát sinh hình thái bên cạnh vai trò của nó trong quang hợp [18]. Debergh và cộng sự (1992) và Ziv (1991) đã chứng minh rằng cường độ chiếu sáng có tác dụng điều hòa kích thước lá và thân cũng như con đường phát sinh hình thái đồng thời ảnh hưởng đến sự hình thành sắc tố và thủy tinh thể của cây con. Chất lượng ánh sáng có ảnh hưởng quan trọng trên một số đặc tính hình thái như sự kéo dài ở cây Cúc và cây Cà chua [27], sự hình thành chồi bất định ở cây Nho

[11], hình thái giải phẫu lá và kích thước lá ở cây Phong [35] và sự phát sinh rễ giả ở cây lê [7].

### **I.2.3. Một số nguồn chiếu sáng nhân tạo được sử dụng trong nuôi cấy mô thực vật**

#### ***I.2.3.1. Một số thiết bị tạo nguồn sáng nhân tạo hiện nay***

Năm 1870, bóng điện dây tóc nóng sáng đầu tiên ra đời trên thế giới bởi Edison. Đến nay, các nguồn sáng nhân tạo đã phát triển không ngừng về số lượng, chất lượng, thể loại, cũng như kiểu dáng, gồm các nguồn bức xạ nhiệt và phóng điện tử.

Có thể phân làm 3 loại chính là đèn sợi đốt, đèn huỳnh quang và đèn phát quang. Trong các nguồn chiếu sáng nhân tạo hiện nay, 6 nguồn sáng chủ yếu được sử dụng cho thực vật là: đèn nóng sáng (incandescent lamp), đèn huỳnh quang thủy ngân cao áp (high pressure mercury fluorescent lamp), đèn thủy ngân không cần ballast (self-ballasted mercury lamp), đèn halogen kim loại (metal halide lamp), đèn natri cao áp (high pressure sodium lamp) và đèn huỳnh quang (fluorescent lamp). Ngoài ra, đèn xenon (xenon lamp) và đèn natri cao áp (low pressure sodium lamp) cũng được sử dụng trong nghiên cứu [33].

#### ***I.2.3.2. Một số nguồn sáng được sử dụng cho nuôi cấy mô thực vật***

Hiện nay, một số loại nguồn sáng nhân tạo tiết kiệm điện năng được hứa hẹn sử dụng trong nông nghiệp do đem lại hiệu quả tích cực trên nhiều phương diện.

*a) Đèn phóng điện vô cực/ Đèn vi sóng (Electrodeless discharge lamp/ Microwave – powered lamp)*

Hiện nay, đèn vi sóng mới chỉ được dùng cho đèn cực tím trong quá trình khắc quang. Trong tương lai, đèn vi sóng hứa hẹn phát triển rộng rãi cho trồng trọt. Tuy nhiên, chi phí sản xuất và tuổi thọ của bóng điện tử là những vấn đề cần quan tâm khi sử dụng loại đèn này trong sản xuất nông nghiệp.

*b) Đèn đi-ốt laser (Laser diode device, LD)*

Đi-ốt laser là những bán dẫn, được sử dụng trong máy in laser, máy sao chép (photocopier), đĩa CD và CD – ROM. Việc kết hợp ánh sáng LD đỏ và xanh dương đem lại hiệu quả cao xét về mặt chi phí sản xuất.

*c) Đèn đi-ốt phát quang (light – emitting diodes)*

Đi-ốt phát quang (LED) là nguồn sáng bán dẫn, sẽ cung cấp lượng ánh sáng đơn sắc (1/2 chiều rộng dài sóng khoảng 30 nm) khi có dòng điện một chiều chạy qua nó. LED đầu tiên được phát minh bởi Texas Instrument vào năm 1960. Tại thời điểm đó cường độ sáng của LED còn rất thấp và chỉ có ánh sáng đơn sắc đỏ. Sau này cường độ sáng của LED đã tăng lên rất nhiều và biên độ dải màu cũng tăng theo (đỏ, cam, vàng, xanh lá, xanh dương, trắng...). Đến những năm cuối thế kỷ 20 và đầu thế kỷ 21, đèn LED tạo nên một cuộc cách mạng nhanh chóng, đem lại nhiều tiện dụng cho các thiết bị kỹ thuật số và một dãy các thiết bị mới đa chức năng, như tín hiệu ra vào, đèn nổi, đèn giao thông, đèn vòm, đèn tường, đèn dưới nước, đèn ngoài trời. Trong những năm gần đây, LED mới thực sự được quan tâm như là một nguồn bức xạ cho thực vật do tiềm năng ứng dụng thương mại của nó rất lớn [28].

✓ *Đặc tính của LED*

LED là chất bán dẫn ở trạng thái đặc. Sự phát quang của LED được tạo ra khi tinh thể chất bán dẫn được kích thích để trực tiếp tạo ra ánh sáng nhìn thấy được ở dãy bước sóng mong muốn (màu). Tùy chất liệu bán dẫn của p và n,

LED có thể phát ra ánh sáng có màu khác nhau gồm trắng, xanh đậm, xanh lơ, xanh lục, vàng, hồng phách, cam, đỏ, đỏ tươi và đỏ thẫm. Đèn LED sáng bình thường thì dòng qua nó từ 10 mA đến 20 mA và áp từ 1,8 V đến 3,6 V tùy thuộc theo dải màu mà LED phát sáng.

✓ *Ưu điểm của LED*

LED đem lại nhiều lợi ích trên các phương diện như sau:

*Năng suất năng lượng:* LED có năng suất cao, do đó năng lượng tiêu thụ bởi LED nhỏ, giúp cho việc nhân giống có chi phí hiệu quả và tiết kiệm.

*Tuổi thọ:* LED có tuổi thọ cao, từ 6.000 – 100.000 giờ.

*Dải màu:* LED có nhiều các dải màu, gồm cả các ánh sáng trắng. Ánh sáng trắng cũng có thể được tạo ra khi hòa trộn LED màu đỏ, xanh lơ và xanh lục. Thay vào đó, thông qua việc kết hợp một cách sáng tạo các LED có màu sắc khác nhau, ảnh hưởng thay đổi màu có thể tạo ra từ một vật cố định đơn giản nhờ sự hoạt hóa động lực của các phần khác nhau của LED.

*Không phát ra tia UV và phát rất ít tia hồng ngoại:* LED không tạo ra tia UV, tạo rất ít nhiệt, vì vậy là đối tượng phát sáng lý tưởng. Ánh sáng LED không gây chói, mỏi mắt. Do tiêu hao nhiệt rất ít, LED hầu như không làm nóng môi trường xung quanh, do đó giảm nhu cầu sử dụng hệ thống làm lạnh để tạo điều kiện cho cây sinh trưởng.

*Độ bền:* Đèn LED có độ bền rất cao vì nó không có dây tóc nên ít bị hư hỏng do va chạm và dao động.

*Kích thước nhỏ và dễ thay đổi linh hoạt trong thiết kế:* Một LED đơn lẻ rất nhỏ và tạo ra ít ánh sáng toàn bộ. Tuy vậy, điểm yếu này thực sự là thế mạnh của nó. Các LED có thể gắn với nhau thành bất cứ hình dạng nào tạo nên một loạt

kiện lumen mong muốn. Thêm nữa, LED có thể thu nhỏ hỗn hợp ánh sáng; kiểm soát sự phân phối ánh sáng nhờ các thấu kính epoxy, đơn giản hóa cấu trúc của hệ đèn LED. Một thiết bị kiểm soát có thể được gắn với phức hợp LED để làm mờ một cách chọn lọc các đèn LED độc lập, dẫn đến việc kiểm soát phân phối động lực, lượng và màu của ánh sáng.

*Các lợi ích khác:* Ánh sáng tức thời; dễ dàng làm mờ đi; khởi động êm; nguồn cung cấp điện có điện thế thấp (tăng độ an toàn).

✓ *Nhược điểm của đèn LED*

Ít sự lựa chọn, chất lượng ánh sáng, tiêu chuẩn hóa sản phẩm, giá thành cao.

✓ *Tác dụng của LED trong nhân giống vô tính thực vật*

Ngoài việc được sử dụng rộng rãi trong các thiết bị, LED cũng được ứng dụng trong các nghiên cứu nông nghiệp [41]. Việc sử dụng đi-ốt phát quang như một nguồn bức xạ cho thực vật được đặc biệt chú trọng trong những năm gần đây do tiềm năng của nó trong ứng dụng thương mại rất lớn. Hệ thống bức xạ LED toàn phần có một số lợi điểm vượt trội so với những hệ thống chiếu sáng hiện đang được sử dụng rộng rãi trong nuôi cấy mô [28]. Sự phát sáng cực đại của LED đỏ và xanh với độ dài sóng thích hợp tạo hiệu quả quang hợp tối đa. LED là nguồn sáng có tuổi thọ dài, dễ thay đổi do đó góp phần giảm chi phí cho thí nghiệm. LED sinh nhiệt ít do đó giảm thiểu nhu cầu sử dụng hệ thống làm lạnh trong việc tạo điều kiện thuận lợi cho nhân giống vô tính thương mại với chi phí hiệu quả. Do có độ dài sóng đặc biệt và phổ hẹp nên gần đây LED được dùng trong nhiều lĩnh vực nghiên cứu quang sinh học như tổng hợp chlorophyll, quang hợp và phát sinh hình thái [15]. LED đỏ có thể được ứng dụng cho thực tiễn vi nhân giống do sự phát photon cao cũng như giá thành

thấp khi so sánh đèn với LED có màu khác. Sự kết hợp giữa các đèn LED có màu sắc khác nhau có thể tạo ra ánh sáng thích hợp cho quá trình quang hợp.

#### **I.2.4. Những thành tựu đạt được trên thế giới khi sử dụng các nguồn sáng nhân tạo khác nhau trong nuôi cấy mô**

Sự khác nhau về quang phổ giữa các loại đèn có vai trò quan trọng khi được sử dụng trong các phòng nuôi cấy *in vitro* thay thế ánh sáng tự nhiên [25]. Trong điều kiện hạn chế ánh sáng tự nhiên thì sự phân phối quang phổ không cân bằng hay hạn chế sẽ ảnh hưởng đến hình thái của cây và đèn có quang phổ rộng như các đèn huỳnh quang thường được sử dụng nhiều hơn [35]. Ánh sáng đèn huỳnh quang hầu như rất hữu ích cho sự nảy mầm của cây con từ hạt cũng như cho việc kích thích sự tăng trưởng cây. Tuy nhiên, ánh sáng đèn huỳnh quang hiếm khi được dùng như nguồn ánh sáng bổ sung trong nhà kính.

Tác động về sinh lý học của các dạng ánh sáng khác nhau và phổ đặc trưng của chúng cũng là các nhân tố đáng quan tâm. Nhìn chung, môi trường với tỉ lệ tia đỏ:đỏ xa (R:Fr) thấp, chẳng hạn như dưới vòm lá, có chiều hướng điều khiển sự kéo dài thân, trong khi tỉ lệ R:Fr cao lại cản trở việc này [26]. Ánh sáng đỏ xa có một số ảnh hưởng không mong muốn lên hình thái thực vật, bao gồm sự kéo dài thân và cản trở sự phân nhánh [24]. Các đèn sợi đốt, có tỉ lệ R:Fr thấp, thường dẫn tới sự kéo dài cuống; trong khi đèn huỳnh quang, với tỉ lệ R:Fr cao, lại tạo những cây thấp và chắc [31].

Các nghiên cứu của Wheeler cùng cộng sự (1991) cho thấy có sự giảm chiều dài thân của cây Đậu nành (*Glycine max* Merrill.) khi cung cấp ánh sáng xanh. Grimstad (1991) so sánh hiệu quả tương đối của 6 loại đèn huỳnh quang khác nhau lên sự tăng trưởng và phát triển của cây Rau diếp trong phòng nuôi cấy *in vitro* thì thấy rằng có sự khác biệt đáng kể về trọng lượng khô, sự tạo lá;



tuy nhiên, trong nhà kính thì sự khác biệt này không đáng kể và hầu như không có khác biệt về sự phát triển của cây trồng. Trọng lượng khô cao nhất liên quan tới các nguồn đèn phát ra nhiều ánh sáng xanh, đỏ cũng như đỏ xa. Các cây trồng dưới các đèn này có hàm lượng chlorophyll trong lá cao. Chiều sáng đang là mục tiêu đòi hỏi phải được nghiên cứu sâu thêm cả trên sự phát triển của thực vật và chi phí sản xuất cây giống sao cho hiệu quả để chọn ra những hệ thống chiếu sáng thích hợp [22].

Murakami và cộng sự (1991) khi khảo sát tỉ lệ dòng ánh sáng đỏ/đỏ xa thì nhận thấy nó thích hợp để sử dụng như thước đo trong sự kiểm soát hình thái sự phát triển của thực vật dưới các điều kiện ánh sáng nhân tạo khác nhau. Tỉ lệ 600 – 700/700 – 800 nm là một nguồn sóng chuẩn mực dùng để nghiên cứu các đặc tính phát sinh hình thái. Hình dạng thực vật và đặc tính hình thái tương tự nhau dù có sự phân phối phổ ánh sáng khác nhau.

Kiểm soát sự kéo dài thân của cây là một kỹ thuật quan trọng trong vi nhân giống. Sự kéo dài thân của cây bị ảnh hưởng bởi các nhân tố như chất lượng ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm và chất điều hoà sinh trưởng ngoại sinh. Khi xử lý ánh sáng trắng kết hợp ánh sáng đỏ và ánh sáng trắng với ánh sáng đỏ xa, chiều dài chồi, trọng lượng tươi, đường kính thân và tỉ lệ trọng lượng rễ/chồi lớn hơn so với xử lý chỉ với ánh sáng trắng.

Chất lượng ánh sáng có ảnh hưởng đáng kể lên sự phát triển và phát sinh hình thái ở cây *in vitro* và *ex*. Morgan và Smith (1976) thấy rằng có mối quan hệ trực tiếp giữa sự cân bằng photon ánh sáng trên sắc tố và sự kéo dài thân ở thực vật. Appelgren (1991) thấy rằng ứng dụng ánh sáng đỏ trên đối tượng *Pelargonium* kích thích đáng kể sự kéo dài thân, trong khi ánh sáng trắng ức

ché mạnh việc này. Điều khiển sự phát triển, phát sinh hình thái bằng cách thay đổi chất lượng ánh sáng là một kỹ thuật quan trọng trong vi nhân giống [22].

### **I.3. Tổng quan về đối tượng nghiên cứu**

#### **I.3.1. Cây hoa cúc**

##### ***I.3.1.1. Nguồn gốc và phân bố***

Họ cúc thuộc:

- Giới: thực vật
- Ngành: Magnoliophyta (Angiospermae) - Ngọc Lan (hạt kín)
- Lớp: Magnoliopsida (Dicotyledonea) - Ngọc Lan (hai lá mầm)
- Bộ: Asterales (cúc)
- Họ: Asteraceae

Trong họ cúc có nhiều phân họ và chi khác nhau, trong đó chi *Chrysanthemum* được trồng phổ biến như một loài hoa trồng chậu hay hoa cắt cành. Hoa cúc là một loài hoa cắt cành phổ biến trên toàn thế giới, nó đa dạng về màu sắc và có hàng ngàn kiểu dáng khác nhau. Đa số hoa cúc thích hợp với điều kiện khí hậu ôn hoà, mát mẻ, lượng mưa đầy đủ, nhất là những hoa được nhập từ vùng ôn đới. Với nhiệt độ trên 25<sup>0</sup>C, cúc sinh trưởng và phát triển kém.

##### ***I.3.1.2. Đặc điểm thực vật***

Rễ - Cúc có hệ rễ chùm, mọc cạn, theo chiều ngang, đâm sâu khoảng 10-20 cm, rễ cúc có kích thước khá đều nhau, với số lượng rễ lớn, nên khả năng hút nước và chất dinh dưỡng rất mạnh. Do cúc được nhân giống bằng phương pháp vô tính, nên rễ mọc ngang từ các mấu thân ở gần mặt đất.

Thân - Thân hoa cúc là thân thảo nhỏ, nhiều đốt, mọng nước, giòn, dễ gãy. Trên thân non một số loài có phủ một lớp lông tơ. Một số loài có dạng thân bò. Chiều cao thân tùy loài. Nhưng đa số các giống nhập có thân to, thẳng, giòn. Còn các giống nội địa có thân nhỏ, mảnh, cong.

Lá - Lá cúc thuộc loại lá đơn, không có lá kèm, mọc so le. Bản lá có xẻ thùy hình lông chim. Phiến lá mỏng, mặt dưới có phủ một lớp lông tơ, mặt trên nhẵn. Gân lá hình mạng. Mỗi cây có khoảng 30 – 50 lá.

Hoa, quả - Hoa cúc về cơ bản là hoa lưỡng tính. Hoa cúc có nhiều màu sắc khác nhau, thích nghi với thụ phấn nhờ sâu bọ. Hoa nhỏ, sít nhau và luôn luôn tập hợp thành cụm hoa đầu, để một sâu bọ thụ phấn được cho nhiều hoa cùng một lúc. Để hoa lồi lên. Hoa ở giữa là hoa hình ống, hoa ở ngoài là hoa thìa lìa giả. Ở cúc, quả là quả bế. Chỉ có một hạt mầm nằm trong khoang của quả và đôi khi dính với vỏ quả. Vỏ hạt rất mỏng, phôi lớn và thẳng không có nội nhũ. Quả phát tán nhờ gió và động vật.



Hình 1.5: Ruộng trồng hoa cúc và một số dạng hoa cúc

### **I.3.2. Cây lan Hồ điệp (Phalaenopsis)**

#### ***I.3.2.1. Nguồn gốc – phân bố***

- Giới : Plantae

- Ngành : Magnoliophyta
- Lớp : Liliidae
- Bộ : Orchidales
- Họ : Orchidaceae
- Chi : Phalaenopsis
- Loài : Phalaenopsis ambilis

Chi Phalaenopsis xuất hiện từ tiếng Hi Lạp: “Phalaina” (con bướm đêm) và opsis (trông giống như), nghĩa là một loài lan có hình dáng giống như con bướm. Chi Phalaenopsis có 21 loài phát sinh, ưa nóng có ở bán đảo Malaysia, Indonesia, Philippin, các tỉnh phía Đông Ấn Độ và châu Úc. Chúng sống trên cây hoặc trên đá, nơi có khí hậu nóng ẩm, độ cao trên 2000m. Lan Hồ điệp có màu sắc phong phú, từ màu trắng, hồng, đỏ, tím, vàng, đến các loại Hồ điệp có sọc nằm ngang hoặc thẳng đứng, hoặc có đốm to hay nhỏ v.v.. Giống Hồ điệp càng ngày càng lai tạo ra rất nhiều. Cây có thể mọc ở xứ nhiệt đới và đồi núi cao 2000m nên vừa chịu khí hậu nóng ẩm lại vừa chịu khí hậu mát, nhiệt độ trung bình từ 20°C đến 30°C.

Ở Việt Nam chúng ta có thể bắt gặp một số loài lan Hồ điệp trong các khu rừng như: P. coenu, P. manni, P. parishii, P. pulcherrima, P. chibae, P. fuscata, P. gibbo.

#### ***1.3.2.2. Đặc điểm thực vật***

Lan Hồ điệp rất đa dạng về mặt di truyền, nhưng chúng đều có những đặc tính chung về cấu tạo của cơ quan dinh dưỡng và cơ quan sinh sản. Lan Hồ điệp là loại cây đơn thân, không có giả hành, được tạo ra bởi một đỉnh sinh trưởng hoạt động liên tục. Mỗi cây có từ 3 – 15 lá, lá đơn nguyên, dày, không cuống và

có bẹ, dạng bầu dục, màu xanh bóng, đậm và nhẵn. Thân và rễ không có mạch. Lan Hồ điệp có rễ khí sinh phát triển mạnh, màu lục, phía ngoài có một lớp bao xốp dày gọi là mang bao có tác dụng dự trữ nước và bảo vệ rễ khỏi bị khô. Phát hoa hình thành ở nách lá, hoa mọc thành cụm đối xứng 2 bên. Cả cành hoa nở liên tiếp hơn nửa năm, trung bình một phát hoa cho từ 7 – 15 hoa. Quả của lan Hồ điệp thuộc loại quả nang, mở bằng các khe nứt dọc theo 2 bên đường của giá noãn. Quả lan chứa rất nhiều hạt, tùy thuộc vào giống mà hạt có thể từ vài trăm đến vài ngàn hạt.



Hình 1.6: Vườn trồng lan hồ điệp (làng hoa Sa Đéc – nguồn internet)

### **I.3.3. IC điều khiển AT89C51 dùng trong lập trình điều khiển hệ thống LED**

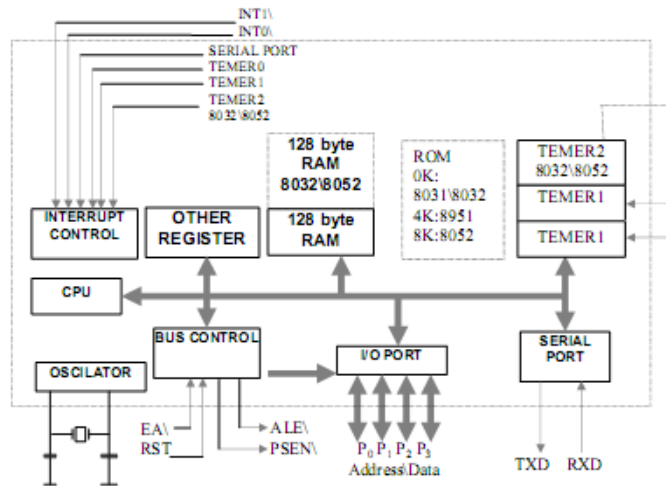
AT89C51 là một vi điều khiển 8 bit, chế tạo theo công nghệ CMOS chất lượng cao, công suất thấp với 4 KB PEROM (Flash Programeable and erasable read only memory).

Các đặc điểm của 8951 được tóm tắt như sau:

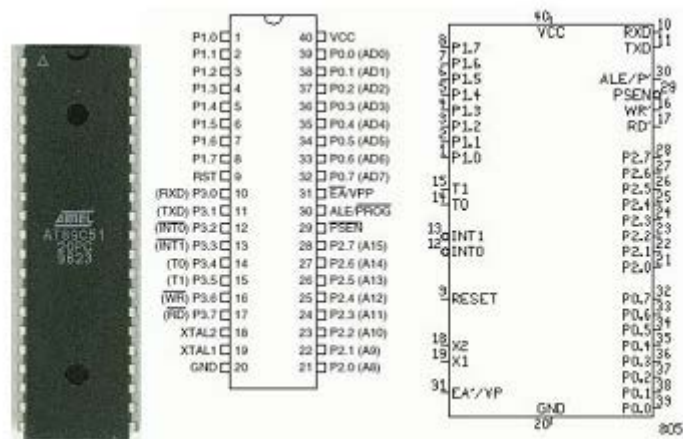
- 4KB bộ nhớ, có khả năng ghi xóa tới 1000 chu kỳ
- Tần số hoạt động từ 0 Hz đến 24 MHz
- 3 mức khóa bộ nhớ lập trình
- 2 bộ Timer/Counter 16 bit
- 128 Byte RAM nội

- 4 Port xuất/nhập (I/O) 8 bit
- Giao tiếp nối tiếp
- 64 KB vùng nhớ mã ngoài
- 64 KB vùng nhớ dữ liệu ngoài
- Xử lý Boolean (hoạt động trên bit đơn)
- 210 vị trí nhớ có thể định vị bit
- 4 $\mu$ s cho hoạt động nhân hoặc chia

a) Sơ đồ khối và sơ đồ chân của AT89C51



Hình 1.7: Sơ đồ khối của AT89C51



Hình 1.8: Sơ đồ chân của AT89C51

*b) Chức năng các chân của AT89C51*

- Port 0 (P0.0 – P0.7 hay chân 32 – 39): Ngoài chức năng xuất nhập ra, port 0 còn là bus đa hợp dữ liệu và địa chỉ (AD0 – AD7), chức năng này sẽ được sử dụng khi AT89C51 giao tiếp với thiết bị ngoài có kiến trúc bus.
- Port 1 (P1.0 – P1.7 hay chân 1 – 8): có chức năng xuất nhập theo bit và byte. Ngoài ra, 3 chân P1.5, P1.6, P1.7 được dùng để nạp ROM theo chuẩn ISP, 2 chân P1.0 và P1.1 được dùng cho bộ Timer 2.
- Port 2 (P2.0 – P2.7 hay chân 21 – 28): là một port có công dụng kép. Là đường xuất nhập hoặc là byte cao của bus địa chỉ đối với các thiết kế dùng bộ nhớ mở rộng.
- Port 3 (P3.0 – P3.7 hay chân 10 – 17): mỗi chân trên port 3 ngoài chức năng xuất nhập ra còn có một số chức năng đặc biệt sau:

<b>Pin (chân)</b>	<b>Tên</b>	<b>Chức năng</b>
P3.0	RXD	Dữ liệu nhận cho port nối tiếp
P3.1	TXD	Dữ liệu truyền cho port nối tiếp
P3.2	INT0	Ngắt bên ngoài 0
P3.3	INT1	Ngắt bên ngoài 1
P3.4	T0	Ngõ vào của Timer/Counter 0
P3.5	T1	Ngõ vào của Timer/Counter 1
P3.6	WR	Xung ghi bộ nhớ dữ liệu ngoài
P3.7	RD	Xung đọc bộ nhớ dữ liệu ngoài

- RST (Reset – chân 9): mức tích cực của chân này là mức 1, để reset ta phải đưa mức 1 (5V) đến chân này với thời gian tối thiểu 2 chu kỳ máy (tương đương  $2\mu\text{s}$  đối với thạch anh 12MHz).

- XTAL 1, XTAL 2: AT89S52 có một bộ dao động trên chip, nó thường được nối với một bộ dao động thạch anh có tần số lớn nhất là 33MHz, thông thường là 12MHz.
- EA (External Access): EA thường được mắc lên mức cao (+5V) hoặc mức thấp (GND). Nếu ở mức cao, bộ vi điều khiển thi hành chương trình từ ROM nội. Nếu ở mức thấp, chương trình chỉ được thi hành từ bộ nhớ mở rộng.
- ALE (Address Latch Enable): ALE là tín hiệu để chốt địa chỉ vào một thanh ghi bên ngoài trong nửa đầu của chu kỳ bộ nhớ. Sau đó các đường port 0 dùng để xuất hoặc nhập dữ liệu trong nửa chu kỳ sau của bộ nhớ.
- PSEN (Program Store Enable): PSEN là tín hiệu điều khiển để cho phép bộ nhớ chương trình mở rộng và thường được nối với đến chân /OE (Output Enable) của một EPROM để cho phép đọc các bytes mã lệnh. PSEN sẽ ở mức thấp trong thời gian đọc lệnh. Các mã nhị phân của chương trình được đọc từ EPROM qua Bus và được chốt vào thanh ghi lệnh của bộ vi điều khiển để giải mã lệnh. Khi thi hành chương trình trong ROM nội, PSEN sẽ ở mức thụ động (mức cao).
- Vcc, GND: AT89S52 dùng nguồn một chiều có dải điện áp từ 4V – 5.5V được cấp qua chân 40 (Vcc) và chân 20 (GND).



## **PHẦN II: THIẾT KẾ VÀ LẮP ĐẶT CÁC HỆ CHIẾU SÁNG ĐƠN SẮC**

### **II.1. Chọn loại LED, thiết kế các hệ chiếu sáng đơn sắc**

#### **II.1.1. Chọn loại LED**

Thực vật quang hợp ở ánh sáng có bước sóng từ 400 – 730 nm (đỉnh điểm là 660 – 680 nm), bộ phận đảm nhận vai trò này chính là lá cây. Ở thực vật bậc cao lá cây quang hợp được do trên lá có 2 loại diệp lục là: diệp lục a (chlorophyll a) và diệp lục b (chlorophyll b):

- Chlorophyll b hấp thu ánh sáng ở bước sóng 460 - 480 nm (giữa vùng quang phổ vàng và lam)
- Chlorophyll a hấp thu ánh sáng ở quanh bước sóng 680 nm.
- Ở các thực vật khác nhau, tỷ lệ giữa hai loại diệp lục a và b cũng như số lượng của chúng trên một đơn vị diện tích lá là khác nhau.

Qua nhiều nghiên cứu các nhà khoa học đã chứng minh được rằng thực vật có khả năng quang hợp ở cường độ ánh sáng yếu chỉ khoảng vài chục lux tương đương ánh sáng buổi chiều tối hoặc ánh sáng đêm trăng....Trong nuôi cấy mô thực vật ở giai đoạn nhân chồi cũng như giai đoạn nhân cây, thông thường người ta sử dụng cường độ ánh sáng với cường độ từ 1700 – 2500 lux của đèn huỳnh quang.

Qua khảo sát các loại LED có trên thị trường, điện thế khuyến cáo sử dụng cho hai loại LED xanh và LED đỏ không tương đương nhau để đạt cùng cường độ chiếu sáng và cường độ chiếu sáng của các loại LED phụ thuộc vào hiệu điện thế đầu vào. Mặt khác, bước sóng ánh sáng của nhiều loại LED thương mại không được chỉ rõ mà chỉ ghi theo màu sắc, góc chiếu sáng thường hẹp và biến thiên lớn.

Từ các căn cứ trên và yêu cầu thực tế sử dụng, nhóm thực hiện nhiệm vụ đưa ra yêu cầu đối với hai dạng LED xanh và đỏ để chọn bố trí thí nghiệm như sau:

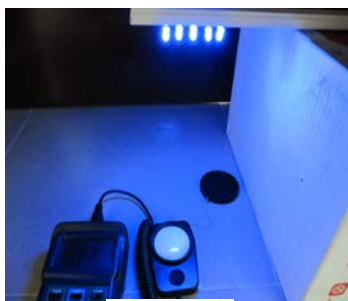
- Về bước sóng ánh sáng: được chỉ rõ và phù hợp với yêu cầu
- Cường độ phụ thuộc vào điện thế nhưng bước sóng khi chiếu sáng ở các điện thế khác nhau không thay đổi vượt mức cho phép.
- Góc chiếu sáng đồng nhất

Qua tìm hiểu và khảo sát một số loại LED có bán trên thị trường nhóm nghiên cứu xác định:

Với vài loại LED oval bán trên thị trường (cũng được gọi là LED siêu sáng), nhóm nghiên cứu đã sưu tầm về và tiến hành đo xác định cường độ chiếu sáng. Khi kết hợp 5 LED của từng loại LED oval trên đường thẳng, khoảng cách 1 cm, dùng quang kế đo trực diện ở khoảng cách 25cm, kết quả cường độ chiếu sáng của những loại này rất thấp chỉ có thể phát ra ánh sáng từ 9 – 11 lux, góc chiếu hẹp (thường 15 – 30°) theo tính toán khi kết hợp trên panel khoảng cách giữa các đèn 1cm cũng không thể tạo ra ánh sáng chiếu có cường độ 1100lux.



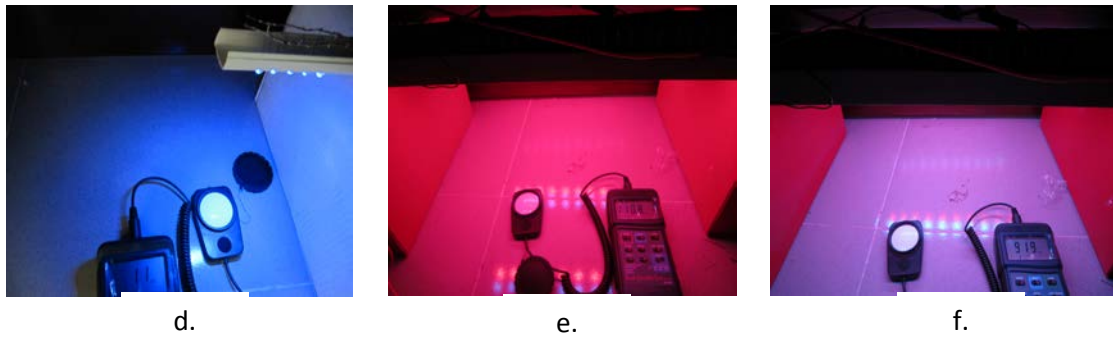
a.



b.



c.



*Hình II.1:* Khảo sát cường độ chiếu sáng một vài loại đèn LED: b – LED oval xanh; C – LED oval đỏ; d – LED oval ngắn xanh; e,f- LED siêu sáng của công ty Shenzheng Hanhua (Trung Quốc) .

Hơn nữa các loại đèn oval bán trên thị trường dùng chủ yếu cho mục đích làm đèn quảng cáo, nhà cung cấp thường ghi không đủ các thông số, quan trọng nhất là thông số bước sóng ánh sáng do đèn phát ra (tại điều kiện thực tế nhóm nghiên cứu chưa có thiết bị đo bước sóng để xác định bước sóng chính xác của các loại này).

Trong quá trình khảo sát, nhóm nghiên cứu thấy được 2 loại LED siêu sáng đẹt có thông số bước sóng cụ thể của nhà sản xuất, có cường độ chiếu sáng cao (khi kết hợp ở khoảng cách 3 – 4 cm dạng hàng đơn có thể đáp ứng cường độ xấp xỉ 1100lux tại các điểm trong mặt phẳng cần chiếu sáng 36 x 50 cm đáp ứng yêu cầu của nhóm đặt ra, đó là hai loại LED siêu sáng xanh và đỏ của công ty Shenzheng Hanhua (Trung Quốc) với các thông số:

LED xanh	LED đỏ
Công suất: 3W	Công suất: 3W
Hiệu điện thế: 3,6 – 3,8V	Hiệu điện thế: 2,4 – 2,6V
Cường độ dòng điện: 700mA	Cường độ dòng điện: 700mA

Cường độ sáng: 45 – 50lm

Bước sóng: 470 – 475nm



Cường độ sáng: 80 – 90lm

Bước sóng: 660 – 665nm



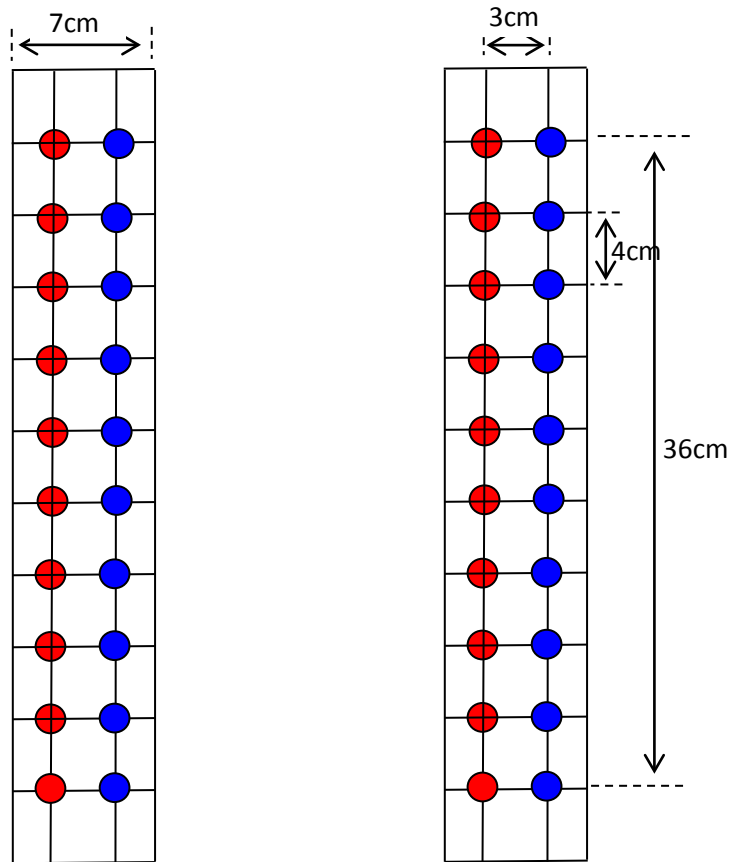
*Hình II.2:* Hình ảnh và thông số của LED xanh và LED đỏ được chọn

Nhóm nghiên cứu đã quyết định chọn loại đèn này cho mục đích thí nghiệm và xây dựng hệ chiếu sáng đơn sắc.

### II.1.2. Thiết kế các hệ chiếu sáng đơn sắc

Theo yêu cầu nhóm nghiên cứu đặt ra thì hệ chiếu sáng phối trộn ánh sáng đơn sắc cần được thiết kế sao cho: có thể đáp ứng được cường độ chiếu sáng tối đa xấp xỉ 1100lux và tương đối đồng đều giữa các điểm trong mặt phẳng cần chiếu sáng 36 x 50 cm;

LED khi phát ra ánh sáng chiếu trên bề mặt dạng hình tròn. Có nhiều cách mắc kết hợp nhiều đèn khác nhau để tăng cường độ chiếu sáng trên 01 diện tích bề mặt. Qua tham khảo một số hệ LED sử dụng cho nuôi trồng thực vật *ex vitro* và *in vitro* cũng như khảo sát thực tế, nhóm nghiên cứu chọn kiểu bố trí như sau:



*Hình II.3:* Hình ảnh mô tả cách sắp xếp hệ phối trộn LED xanh và LED đỏ

LED được ráp thành 2 hàng: một hàng xanh và một hàng đỏ trên 01 máng, sử dụng 2 máng đặt song song (mỗi máng là một nguồn sáng kết hợp của ánh sáng LED xanh và LED đỏ).

Với cấu hình này, cường độ chiếu sáng tại điểm đầu và điểm cuối của máng sẽ có giá trị thấp nhất so với các điểm còn lại dưới máng. Để xác định khoảng cách giữa các LED mắc trên hàng thẳng thích hợp, nhóm nghiên cứu tiến hành bố trí thử thành hàng từng loại LED, dịch chuyển các khoảng cách của các LED trên hàng và cho sáng ở mức tối đa, đo cường độ sáng phát ra khi đèn hoạt động (đo trực diện tại điểm đầu dưới hàng LED ở khoảng cách 25 cm).

*Bảng II.1:* Cường độ ánh sáng khi bố trí LED ở các khoảng cách khác nhau trên 1 hàng thẳng (đo trực diện tại điểm đầu dưới hàng LED ở khoảng cách 25 cm)

	Khoảng cách giữa các LED trên đường thẳng		
	2cm	3m	4cm
Cường độ chiếu sáng của LED xanh	2833 lux	1561 lux	1211 lux
Cường độ chiếu sáng của LED đỏ	2652lux	1497 lux	1096 lux

Căn cứ vào bảng số liệu đã thực nghiệm nhóm thực hiện nhận thấy với khoảng cách giữa các đèn 4 cm (cường độ chiếu sáng lớn nhất tại điểm đầu của hàng LED có thể đạt 1100lux).

Khảo sát dịch chuyển khoảng cách giữa 2 máng, tiến hành đo cường độ chiếu sáng chúng tôi xác định khoảng cách giữa 2 hàng LED cùng bước sóng là 24 cm thích hợp với khoảng diện tích 36 x 50 cm để có thể nuôi cây.

Để có thể mắc LED như hình II.3 dễ dàng nhóm thực hiện nhận thấy tôn mỏng dạng 0,2mm là thích hợp cho việc làm giá đỡ (sử dụng giống như panel gắn LED). Các tấm tôn được uốn thành dạng hình máng có kích thước: 0,7 x 60 x 3cm, được khoan lỗ đường kính 6mm sao cho khi đặt LED lên vừa đủ để bóng nhô ra ngoài, khoảng cách giữa các lỗ khoan trên 01 hàng là 4cm, giữa hàng LED xanh và đỏ trên 01 máng là 3cm. Vì tôn là loại mỏng 0,2mm, góc chiếu của đèn là  $120^0$  do vậy khi đặt LED vào cũng không thể làm ảnh hưởng đến góc chiếu của chúng. Qua tính toán chúng tôi thấy rằng mắc nối tiếp 10 đèn LED đỏ, 7 đèn xanh thì có thể sử dụng nguồn 24V cung cấp; như vậy trên 01 hệ có bề mặt cần chiếu sáng với kích thước 36 x 50cm sẽ gồm:

- 2 nhánh LED đỏ mắc song song (mỗi nhánh 10 LED mắc nối tiếp), cường độ dòng điện tối đa sử dụng cho 2 nhánh này là 1400mA
- 3 nhánh LED xanh mắc song song (mỗi nhánh 7 LED mắc nối tiếp), cường độ dòng điện tối đa sử dụng cho 3 nhánh LED này là 2100mA
- Tổng cường độ dòng điện sử dụng cho cả hệ ở mức tối đa là 3500 mA. Khi đó có thể sử dụng 01 nguồn DC 24V – 10A để cấp điện cho hoạt động của 2 hệ, cách làm này cho phép tiết kiệm chi phí hơn.



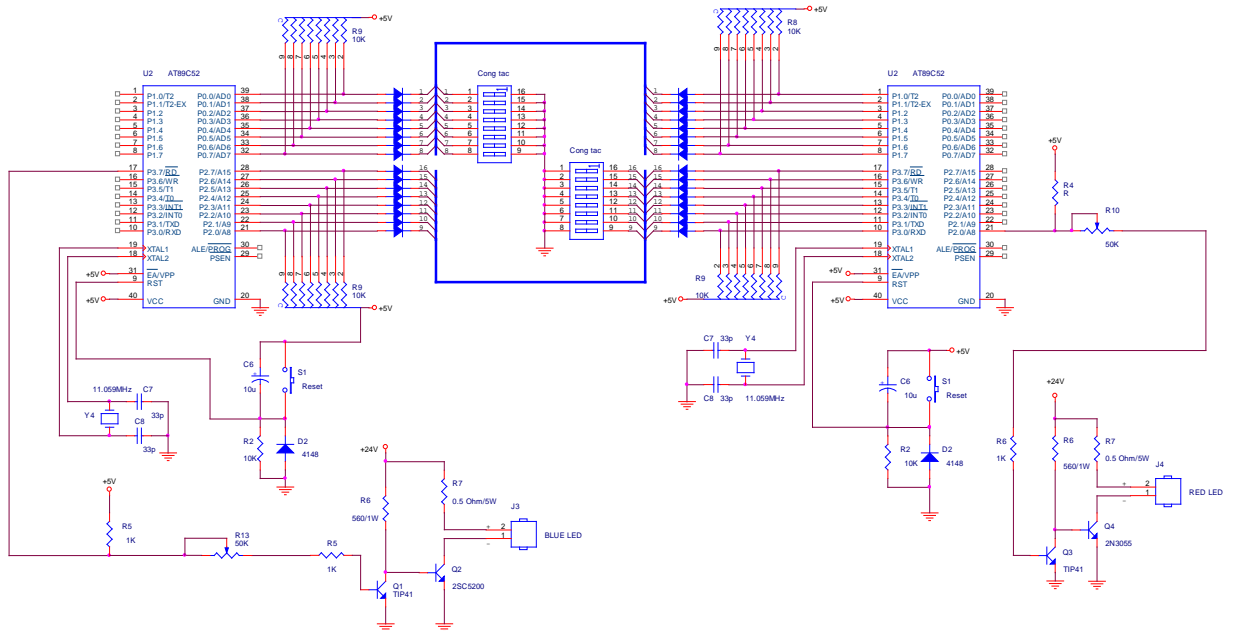
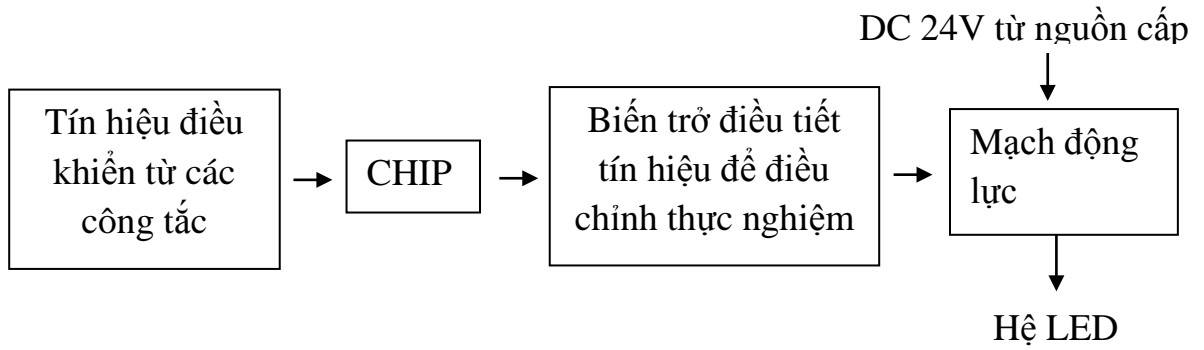
*Hình II.4: Lắp một hệ đèn LED: a. mặt phía sau LED; b. mặt mắc LED*

## **II.2. Chế tạo các hệ thống điều khiển**

### **II.2.1. Thiết kế phần cứng điều khiển**

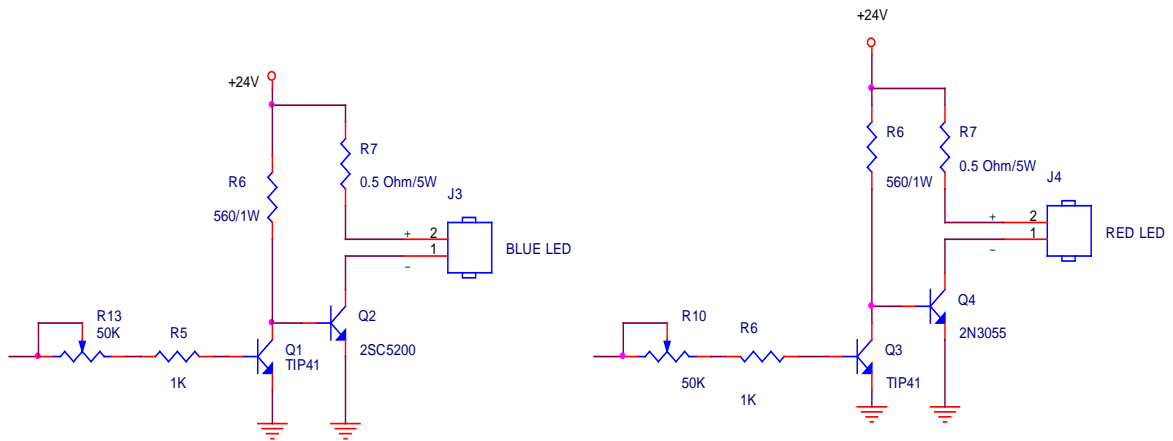
Để duy trì sự ổn định của mạch và có thể thay đổi cường độ chiếu sáng cho hệ đèn LED, đáp ứng nhu cầu cơ động khi cần tách riêng LED xanh và LED đỏ, nhóm nghiên cứu sử dụng mạch điều khiển gồm 2 IC điều khiển họ AT89C51 để điều khiển tần số đóng, mở cho Transistor công suất 2N3055/2SC5200 cung cấp điện cho hệ LED, mỗi IC điều khiển cường độ chiếu sáng cho một loại LED. IC điều khiển được lập trình để xuất ra các dải tần số khác nhau thông qua việc nhận tín hiệu từ các công tắc của bảng điều khiển.

Sơ đồ khối thiết kế mạch điều khiển (phần cứng điều khiển) như sau:



Hình II.5: Sơ đồ nguyên lý điều khiển cường độ sáng cho LED

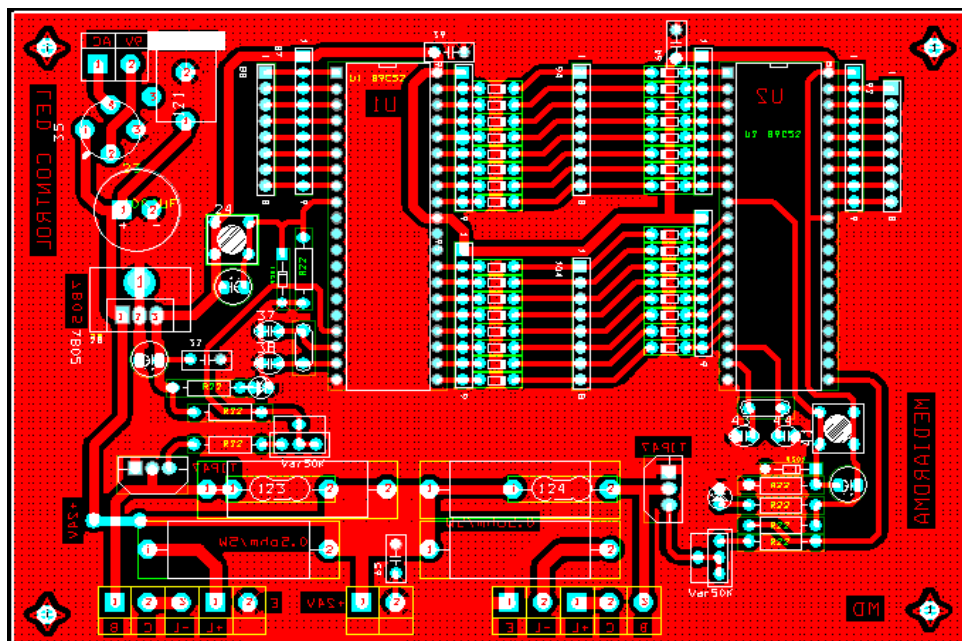




*Hình II.6: Mạch cấp nguồn cho LED*

R13 và R10 được dùng để điều chỉnh cường độ sáng cho LED. Ngoài chức năng cấp nguồn, mạch còn có chức năng bảo vệ cho LED tránh bị bão hòa. Các biến trở R13 và R10 còn giúp cho quá trình hiệu chỉnh việc điều khiển các cường độ chiếu sáng được dễ hơn.

Bảng mạch điều khiển được đưa ra trong hình dưới.



*Hình II.7: Bo mạch in*

## II.2.2. Lập trình cho CHIP để điều khiển cường độ chiếu sáng

Căn cứ để lập trình:

Dựa vào yêu cầu thực tế bài toán: có thể điều khiển cường độ chiếu sáng và tỉ lệ phối trộn ánh sáng.

Dựa vào nguyên lý thiết kế phần cứng điều khiển.

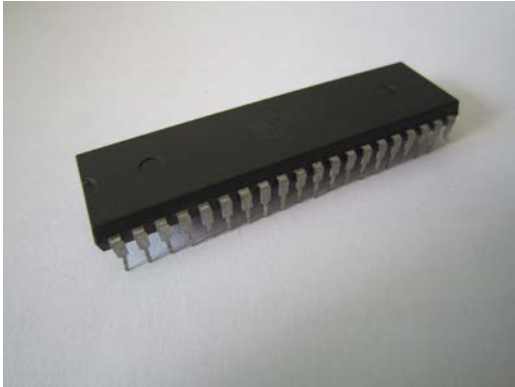
Điều khiển cường độ chiếu sáng thông qua đặc điểm xung xuất ra từ vi điều khiển, cụ thể ở đây là thời gian duy trì ở mức cao ( $t_1$ ) và mức thấp ( $t_0$ ) của tín hiệu xuất ra. Sở dĩ lập trình như vậy là do sự thay đổi tỷ lệ thời gian duy trì ở mức thấp ( $t_0$ ) so với tổng thời gian chiếu sáng ( $t_1+t_0$ ) là tuyến tính với cường độ dòng điện cấp cho LED để hoạt động.

Đã tiến hành lập 2 chương trình điều khiển cho hoạt động của LED xanh và đỏ, mỗi chương trình gồm 55 tỷ lệ  $t_0/(t_1+t_0)$  tương ứng với 11 chế độ chiếu sáng từ 0, 10, 20...90 và 100% ở 5 mức cường độ là 400, 575, 750, 925 và 1100lux theo yêu cầu của bài toán.

Hai chương trình nói trên được thiết lập để đáp ứng cho việc khi kích hoạt 1 trong số 11 công tắc điều khiển tỷ lệ phối trộn ánh sáng cùng với 1 trong 5 công tắc điều khiển mức cường độ chiếu sáng thì 2 chip sẽ hoạt động đồng thời đáp ứng cho yêu cầu chiếu sáng mong muốn. Ví dụ:

- + 50% ánh sáng xanh + 50% ánh sáng đỏ, tổng cường độ chiếu sáng là 400lux thì chỉ cần bấm công tắc điều khiển tỷ lệ phối trộn ánh sáng R5 và công tắc quy định mức cường độ chiếu sáng L3.
- + 90% ánh sáng xanh + 10% ánh sáng đỏ, tổng cường độ chiếu sáng là 1100lux thì chỉ cần bấm công tắc điều khiển tỷ lệ phối trộn ánh sáng R1 và công tắc quy định mức cường độ chiếu sáng L1.

Tiến hành lập trình bằng phần mềm Keil C, nạp cho vi điều khiển AT89C51 của hãng Atmel bằng bộ nạp tín hiệu chip 89 Series Device Programmer – USB với phần mềm Little Programmer Version Gold.

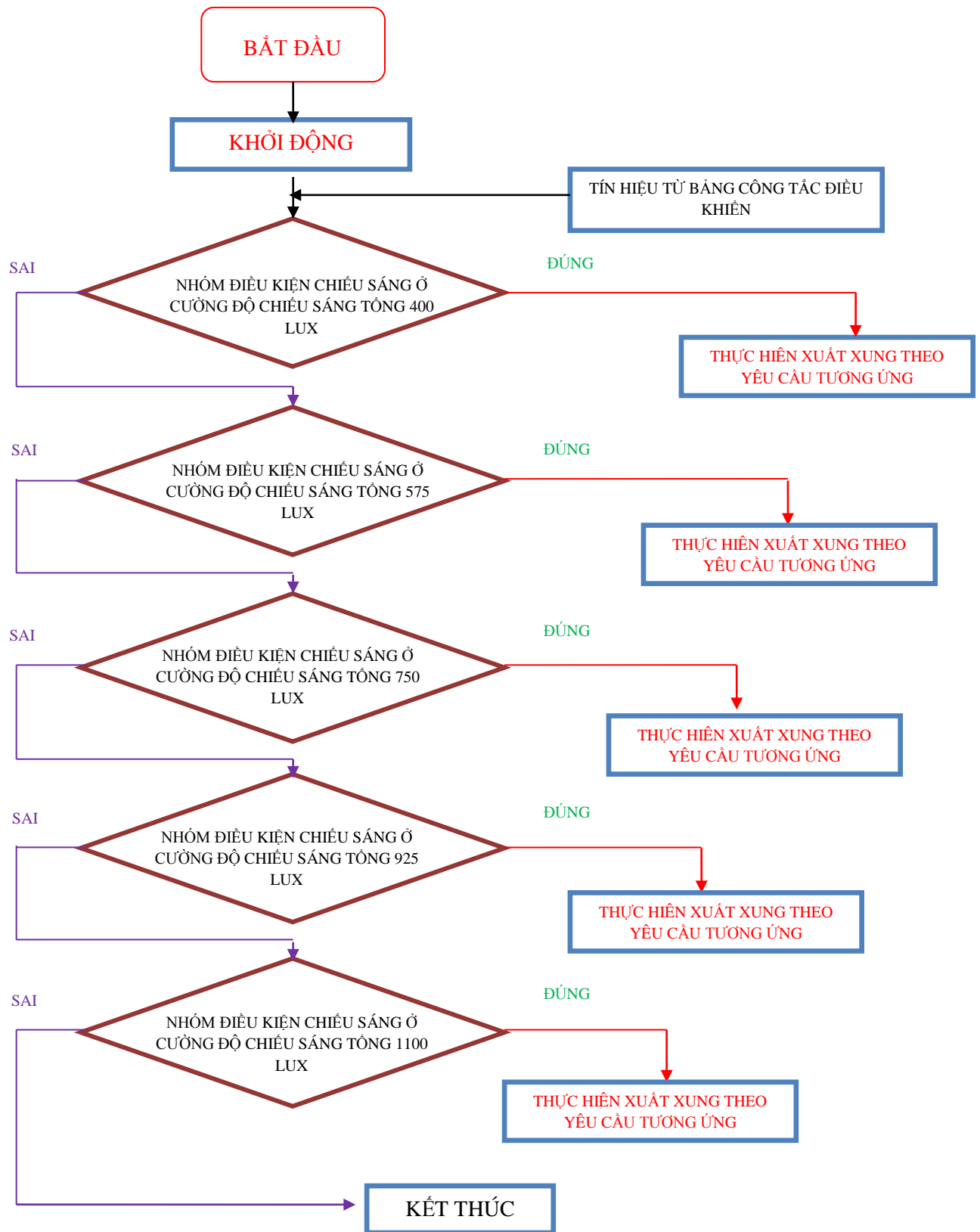


*Hình II.8:* IC điều khiển AT89C51



*Hình II.9:* Bộ kết nối nạp IC điều khiển AT89C51

Lưu đồ thuật toán:



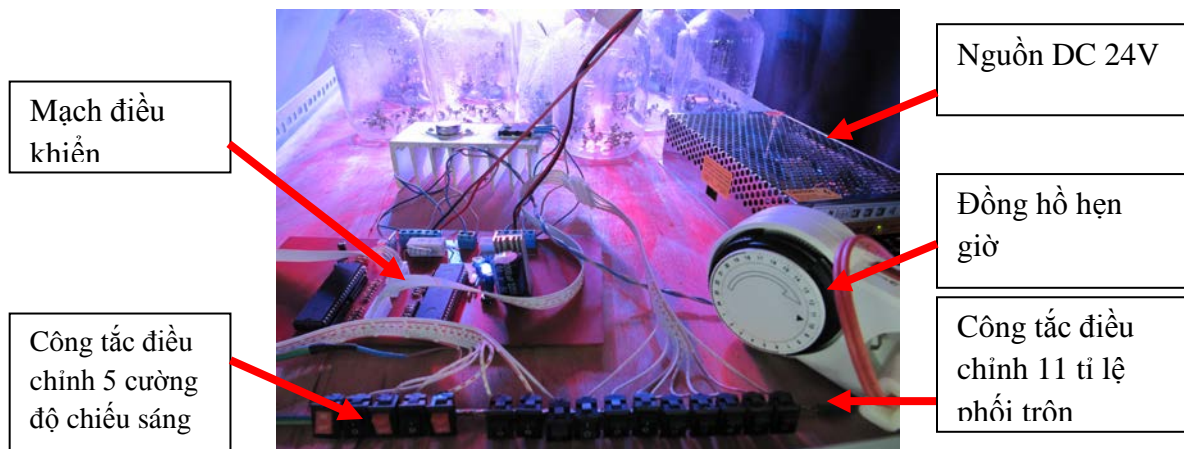
### II.2.3. Hiệu chỉnh

Bởi hiệu điện thế yêu cầu cho hai loại LED là khác nhau, CHIP điều khiển của chúng là độc lập, mặt khác việc hoạt động của LED là phụ thuộc vào nhiều yếu tố bên ngoài như nhiệt độ, tính chất hoạt động của các linh kiện điện tử..., sau khi thiết kế hệ LED, mạch điều khiển và lập trình cho các vi điều khiển, tiến hành hiệu chỉnh hoạt động của toàn hệ thống theo phương thức sau:

- + Đo đạc thực nghiệm để xác định các giá trị thực tế khi điều khiển các tỉ lệ ánh sáng bằng cách hiệu chỉnh đồng bộ cường độ chiếu sáng hai giàn đèn xanh, đỏ bằng điều chỉnh trở kháng của biến trở.

- + Dựa trên các giá trị ghi nhận thực nghiệm, hiệu chỉnh từng chế độ chiếu sáng riêng rẽ mỗi chế độ trong số 55 chế độ chiếu sáng của từng giàn đèn riêng rẽ thông qua tính toán tương quan tuyến tính giữa  $t0 / (t1+t0)$  với cường độ ánh sáng và điều chỉnh giá trị này trong chương trình điều khiển. Bước hiệu chỉnh này lặp lại nhiều lần để giảm dần chênh lệch giữa giá trị cường độ chiếu sáng mong muốn và ghi nhận thực nghiệm (xem ở phụ lục 2).

Qua quá trình thực nghiệm và hiệu chỉnh chúng tôi đã tạo ra được 01 hệ thống điều khiển gồm: mạch điều khiển, lập trình CHIP điều khiển các tỉ lệ phối trộn ánh sáng theo 5 mức cường độ chiếu sáng khác nhau, công tắc điều khiển: bật tắt theo các chế độ đã xác định. Công tắc điều khiển gồm 2 phần: 5 công tắc bên trái là 5 chế độ: 1100lux, 925lux, 750lux, 575lux, 400lux; 11 công tắc bên phải là 11 tỉ lệ phối trộn: 100% đỏ - 0% xanh, 90%đỏ - 10% xanh, ..., 0% đỏ - 100% xanh.



Hình II.10: Hệ thống điều khiển cho hệ LED thử nghiệm

Sau khi lắp đặt 01 hệ mẫu ban đầu, nhóm nghiên cứu tiến hành đo cường độ chiếu sáng để hiệu chỉnh lại tần số xuất xung ( $t_0$  và  $t_1$ ).

Bảng II.2: Cường độ ánh sáng thực nghiệm ở 11 chế độ phối trộn tại 3 mức cường độ khảo sát

Tỉ lệ phối trộn	L3			L2			L1		
	Đỏ	Xanh	Phối	Đỏ	Xanh	Phối	Đỏ	Xanh	Phối
<b>R10</b>	402	0	402	752	0	752	1105	0	1105
<b>R9</b>	362	39	401	677	76	753	999	112	1111
<b>R8</b>	320	80	400	602	150	752	889	222	1111
<b>R7</b>	280	120	400	528	227	755	776	333	1109
<b>R6</b>	242	159	401	452	300	752	668	439	1107
<b>R5</b>	199	200	399	377	374	751	556	551	1107
<b>R4</b>	160	239	399	301	447	748	446	661	1107
<b>R3</b>	120	281	401	227	521	748	335	767	1102
<b>R2</b>	80	320	400	151	594	745	223	879	1102
<b>R1</b>	40	358	398	75	671	746	111	991	1102
<b>R0</b>	0	398	398	0	748	748	0	1100	1100

Từ bảng số liệu chúng tôi có thể rút ra kết luận ban đầu: Hệ chiếu sáng bằng ánh sáng đơn sắc thiết lập được về cơ bản đã đáp ứng được việc điều khiển các tỉ lệ phối trộn ánh sáng ở 3 mức cường độ chiếu khác nhau.

### II.3. Lắp đặt các hệ chiếu sáng đơn sắc

Từ hệ mẫu ban đầu, nhóm nghiên cứu đã tiến hành lắp đặt và hiệu chỉnh 10 hệ LED tương tự để phục vụ cho việc thử nghiệm, mỗi hệ như thế đều có khả năng hoạt động độc lập ở mức cường độ và tỷ lệ phối trộn tùy chọn. Khi đưa vào thực nghiệm theo như đăng ký nhiệm vụ, mỗi hệ sẽ hoạt động ở một tỉ lệ phối trộn ánh sáng khác nhau theo yêu cầu. Để thuận tiện cho bố trí thực nghiệm nuôi cây, nhóm nghiên cứu sử dụng tấm vải đen che chắn xung quanh mỗi không gian chiếu sáng của từng hệ LED để đảm bảo không gian này chỉ nhận ánh sáng từ các LED của chính nó, hạn chế sự sai lệch kết quả thí nghiệm.



Từ trên  
xuống:  
100%  
đỏ - 0%  
xanh;  
90% đỏ  
- 10%  
xanh; ...  
50% đỏ  
- 50%  
xanh



Từ trên  
xuống:  
0% đỏ -  
100%  
xanh;  
10% đỏ  
- 90%  
xanh; ...  
40% đỏ  
- 60%  
xanh

*Hình II.11:* 11 hệ LED được gắn trên kệ nuôi cây in vitro phục vụ cho thử nghiệm (đã tháo một phần vải đen để quan sát)

11 hệ chiếu sáng LED được mắc trên 11 kệ là tương ứng với 11 tỉ lệ phối trộn ánh sáng khác nhau (100% đỏ - 0% xanh; 90% đỏ - 10% xanh ... 10% đỏ -

90 xanh; 0% đỏ - 100% xanh). Nhóm nghiên cứu đặt chế độ 11 hệ này ở mức cường độ chiếu sáng cao nhất ~ 1100lux trên mỗi giàn, dùng quang kế xác định cường độ ánh sáng ở các vùng lân cận khu vực chiếu sáng chính của hệ thử nghiệm (36cm x 50cm) để xác định vùng có cường độ chiếu ~ 750lux; ~ 400lux phục vụ cho bố trí thí nghiệm nuôi cây ở hai mức cường độ chiếu sáng này.



### PHẦN III: THỬ NGHIỆM KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA ÁNH SÁNG ĐƠN SẮC LÊN SỰ PHÁT SINH CHỒI *IN VITRO*

#### III.1. Ảnh hưởng của các chế độ chiếu sáng đơn sắc lên sự phát sinh chồi *in vitro* cây hoa cúc

Nhằm mục đích khảo sát ảnh hưởng của các tỉ lệ chiếu sáng, cường độ chiếu sáng lên sự phát sinh chồi cây hoa cúc *in vitro*, thí nghiệm được bố trí như sau:

Các đốt thân của cây hoa cúc *in vitro* “Farm trắng” được cấy trên môi trường tạo chồi (theo qui trình đã có của Trung tâm Ứng dụng kỹ thuật hạt nhân trong công nghiệp) như sau: Môi trường nền MS bổ sung 0,3mg/l BAP, 30g/l Saccharose, 7g/l Agar, điều chỉnh pH về mức 5,8. Số lượng mẫu/lô thí nghiệm: 30 mẫu/2 bịch môi trường. Các bịch cấy sau cấy được đặt trên 34 vùng có cường độ chiếu sáng và tỉ lệ phối trộn ánh sáng đã xác định tương ứng với 11 tỷ lệ phối trộn ánh sáng tại 3 mức cường độ chiếu 400, 750, 1100 lux và ánh sáng huỳnh quang (đối chứng). Mỗi lô thí nghiệm lặp lại 3 lần, các chỉ tiêu theo dõi để đánh giá ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc lên sự phát sinh chồi *in vitro* cây hoa cúc sau 4 tuần gồm: hệ số phát chồi, chiều cao chồi, hình thái chồi.

Số liệu được xử lý bằng Phần mềm Exel 2007.

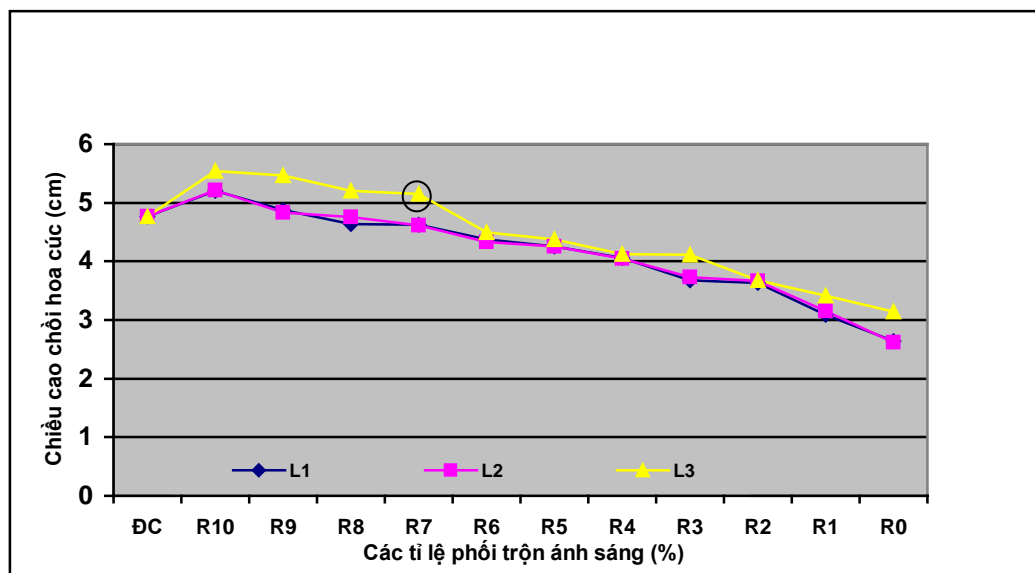


Hình III.1: Các mẫu cây được nuôi dưới các tỉ lệ phối trộn ánh sáng khác nhau

Bảng III.1: Hệ số phát sinh chồi, chiều cao và đặc điểm hình thái chồi cây hoa cúc *in vitro* trong điều kiện ánh sáng khác nhau sau 4 tuần

Lô thí nghiệm	Hệ số chồi	Chiều cao	Hình thái chồi	
<b>Đối chứng</b>	2,09 ± 0,28	<b>4,77 ± 0,08</b>	Thân chồi trung bình; lá và thân màu xanh đậm	
<b>L1</b>	<b>R10</b>	2,07 ± 0,20	<b>5,20 ± 0,14</b>	Thân chồi nhỏ; lá và thân màu xanh lợt (chồi yếu)
	<b>R9</b>	2,00 ± 0,13	<b>4,88 ± 0,10</b>	Thân chồi, màu lá và thân gần với mẫu đối chứng
	<b>R8</b>	2,03 ± 0,17	4,64 ± 0,10	Giống với đặc điểm mẫu đối chứng
	<b>R7</b>	2,03 ± 0,23	4,62 ± 0,15	
	<b>R6</b>	2,07 ± 0,24	4,38 ± 0,13	
	<b>R5</b>	2,02 ± 0,20	4,26 ± 0,14	
	<b>R4</b>	2,09 ± 0,24	4,06 ± 0,09	
	<b>R3</b>	2,04 ± 0,13	3,68 ± 0,08	Thân chồi mập, lùn; lá dày xanh rất đậm
	<b>R2</b>	1,98 ± 0,09	3,63 ± 0,11	
	<b>R1</b>	2,07 ± 0,15	3,09 ± 0,10	
<b>R0</b>	1,98 ± 0,16	2,64 ± 0,07		
<b>L2</b>	<b>R10</b>	1,99 ± 0,17	<b>5,21 ± 0,06</b>	Thân chồi nhỏ; lá và thân màu xanh lợt (chồi yếu)
	<b>R9</b>	2,00 ± 0,16	<b>4,83 ± 0,05</b>	Thân chồi, màu lá và thân gần với mẫu đối chứng
	<b>R8</b>	2,02 ± 0,22	<b>4,76 ± 0,08</b>	Giống với đặc điểm mẫu đối chứng
	<b>R7</b>	2,04 ± 0,18	4,61 ± 0,10	
	<b>R6</b>	2,03 ± 0,23	4,33 ± 0,07	
	<b>R5</b>	2,04 ± 0,13	4,26 ± 0,10	
	<b>R4</b>	2,06 ± 0,19	4,05 ± 0,09	Thân chồi mập, lùn; lá dày xanh rất đậm
	<b>R3</b>	2,04 ± 0,16	3,73 ± 0,09	
	<b>R2</b>	2,03 ± 0,14	3,67 ± 0,10	
	<b>R1</b>	2,04 ± 0,16	3,15 ± 0,07	
<b>R0</b>	1,98 ± 0,13	2,62 ± 0,05		
<b>L3</b>	<b>R10</b>	2,07 ± 0,22	<b>5,54 ± 0,11</b>	Thân chồi nhỏ; lá và thân

<b>R9</b>	1,98 ± 0,11	<b>5,47 ± 0,08</b>	màu xanh lọt (chồi yếu)
<b>R8</b>	2,06 ± 0,23	<b>5,20 ± 0,09</b>	
<b>R7</b>	<b>2,06 ± 0,17</b>	<b>5,15 ± 0,10</b>	Thân chồi, màu lá và thân gần với mẫu đối chứng
<b>R6</b>	2,11 ± 0,19	4,50 ± 0,13	Giống với đặc điểm mẫu đối chứng
<b>R5</b>	2,07 ± 0,20	4,37 ± 0,09	
<b>R4</b>	2,07 ± 0,15	4,12 ± 0,08	
<b>R3</b>	2,07 ± 0,13	4,11 ± 0,06	
<b>R2</b>	2,09 ± 0,17	3,68 ± 0,14	Thân chồi mập, lùn; lá dày xanh rất đậm
<b>R1</b>	1,98 ± 0,13	3,42 ± 0,07	
<b>R0</b>	1,96 ± 0,16	3,14 ± 0,08	



*Biểu đồ III.1: Ảnh hưởng của các tỉ lệ phối trộn ánh sáng tại 3 cường độ L1: 1100 lux, L2: 750 lux và L3: 400 lux lên chiều cao chum chồi cây hoa cúc *in vitro*.*

Từ bảng kết quả thí nghiệm và đồ thị biểu diễn, chúng tôi nhận thấy rằng:

- Chế độ chiếu sáng bằng ánh sáng đơn sắc không ảnh hưởng tới hệ số nhân chồi của cây hoa cúc, điều này phù hợp với kết quả xử lý thống kê ( $F < F_{crit}$ ) đối với khảo sát ảnh hưởng riêng từng yếu tố: mức cường độ chiếu

sáng và tỷ lệ phối trộn ánh sáng cũng như tổ hợp chung của hai yếu tố này. Có thể do: ánh sáng chủ yếu tác động lên quá trình quang hợp mà quá trình này không ảnh hưởng nhiều đến sự phát sinh chồi.

- Chiều cao chồi: với cùng một cường độ chiếu sáng đơn sắc, ở các tỉ lệ chiếu sáng khác nhau thì chiều cao của chồi cây hoa cúc có sự khác biệt rõ ràng, xu hướng chung là tỷ lệ ánh sáng xanh càng cao thì chiều cao chồi càng giảm. Kết quả mà nhóm thực hiện nhiệm vụ có được cũng phù hợp với kết quả của Appelgen (1991) khi nuôi cấy cây Quỳ thiên trúc *Pelargonium*: ở ánh sáng đỏ làm tăng chiều cao thân chồi, trong khi ánh sáng xanh lại có tác dụng ức chế.

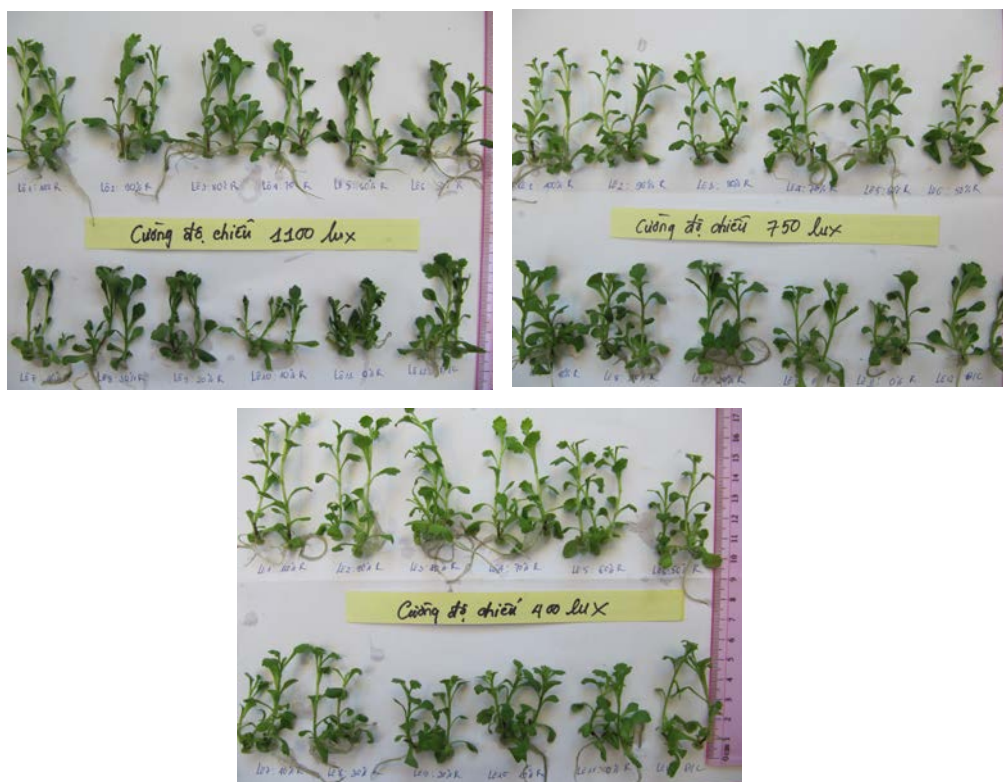
Ở các tổ hợp chiếu sáng có tỷ lệ ánh sáng đỏ cao: L3-R10, L3-R9, L3-R8, L3-R7, L1-R10, L1-R9, L2-R10, chồi hình thành có chiều cao trung bình lớn hơn so với đối chứng. Chiều cao chồi khi sử dụng mức chiếu sáng đơn sắc 400 lux luôn cao hơn khi dùng cường độ 1100lux và 750lux ở hầu hết tỷ lệ phối trộn tương ứng. Không có sự khác biệt về chiều cao chồi giữa hai cường độ 1100lux và 750lux ở các tỷ lệ phối trộn ánh sáng.

Một quy luật khác có thể được nhận ra là ở tất cả các cường độ chiếu sáng, khi tăng tỉ lệ ánh sáng đỏ thì đi kèm với xu hướng tăng chiều cao chồi là các đặc điểm: đốt thân dài, màu sắc chồi và lá nhạt dần; khi tăng tỉ lệ ánh sáng xanh thì đi kèm với xu hướng giảm chiều cao chồi là các đặc điểm: đốt thân ngắn và chồi xanh đậm dần. Trong nuôi cấy *in vitro*, chiều cao chồi không là yếu tố duy nhất để xác định chất lượng chồi tạo ra, mà bên cạnh đó còn có hình thái khác của chồi. Khi kết hợp các yếu tố chiều cao và đặc điểm hình thái khác của chồi hình thành thì có thể nhận thấy sự kết hợp giữa hai nguồn ánh sáng đỏ và xanh với tỉ lệ 70% đỏ - 30% tại mức cường độ 400 lux. Kết quả này cũng gần với kết quả nghiên cứu của Miyashita và cộng sự (1995) vốn chỉ ra rằng tỉ lệ ánh sáng đỏ cao có ảnh hưởng lên sự tăng trưởng và phát sinh hình thái của

cây Khoai tây và đề nghị sử dụng thử nghiệm LED như một nguồn sáng cho nuôi cấy mô.



Hình III.2: Minh họa ảnh hưởng của các cường độ chiếu sáng khác nhau trên cùng 1 tỉ lệ phối trộn



Hình III.3: Hình thái chồi cây hoa cúc *in vitro* ở các tỉ lệ phối trộn khác nhau tại 3 cường độ chiếu sáng 1100lux, 750lux và 400lux

### **III.2. Ảnh hưởng của các chế độ chiếu sáng đơn sắc lên sự phát sinh chồi *in vitro* cây lan hồ điệp**

Nhằm mục đích khảo sát ảnh hưởng của các tỉ lệ chiếu sáng, cường độ chiếu sáng lên sự hình thành chồi cây lan hồ điệp *in vitro*, thí nghiệm được bố trí như sau:

Các chồi nhỏ cây lan hồ điệp mới hình thành từ PLB (Protocorm Like Body) được cấy trên môi trường tạo chồi (theo qui trình đang có của Trung tâm Ứng dụng kỹ thuật hạt nhân trong công nghiệp) như sau: Môi trường nền có thành phần đa lượng của môi trường VW (Vaccin and Went), vi lượng và vitamin của môi trường MS được bổ sung nước dừa 10%, khoai tây, cà rốt: 30g/l mỗi loại, cao nấm men: 1g/l, than hoạt tính: 0,5g/l, BAP: 0,5g/l, Saccharose: 20 g/l, điều chỉnh pH về mức 5,7.

Số lượng mẫu/lô thí nghiệm: 30 mẫu/ 3 chai môi trường. Các chai cây sau cấy được đặt trên 34 vùng có cường độ chiếu sáng và tỉ lệ phối trộn ánh sáng đã xác định tương ứng với 11 tỷ lệ phối trộn ánh sáng tại 3 mức cường độ chiếu 400, 750, 1100 lux và ánh sáng huỳnh quang (đối chứng).

Mỗi lô thí nghiệm lặp lại 3 lần, chỉ tiêu theo dõi sau 9 tuần: hệ số phát sinh chồi, hình thái chồi.

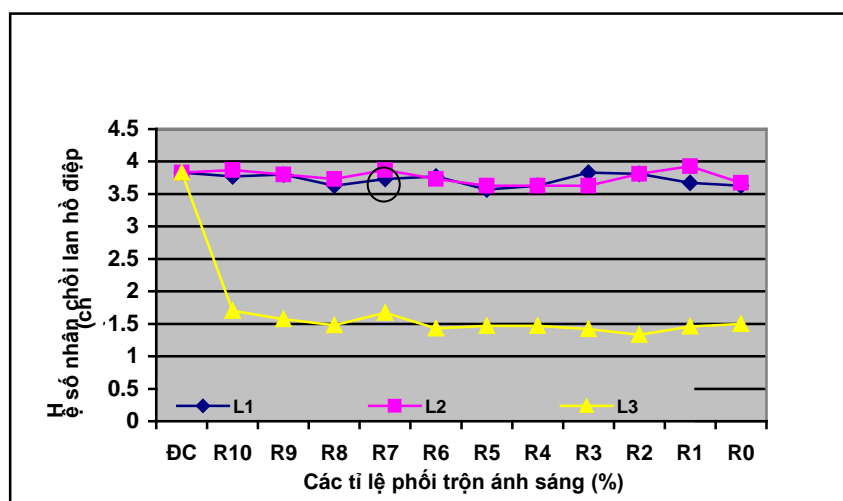
Số liệu được xử lý bằng Phần mềm Exel 2007.

Kết quả thí nghiệm sau 9 tuần nuôi cây trong điều kiện ánh sáng thí nghiệm như sau:

Bảng III.2: Hệ số phát sinh chồi và đặc điểm hình thái chồi cây lan hồ điệp *in vitro* trong điều kiện ánh sáng khác nhau sau 9 tuần

Lô thí nghiệm		Hệ số chồi	Hình thái chồi
<b>Đối chứng</b>		<b>3,83 ± 1,06</b>	Lá và thân màu xanh đậm
<b>L1</b>	<b>R10</b>	3,77 ± 0,92	Lá và thân màu xanh lợt (chồi yếu)
	<b>R9</b>	3,80 ± 0,88	
	<b>R8</b>	3,63 ± 0,81	Giống với đặc điểm mẫu đối chứng
	<b>R7</b>	3,73 ± 0,83	
	<b>R6</b>	3,77 ± 0,72	
	<b>R5</b>	3,57 ± 0,77	
	<b>R4</b>	3,63 ± 0,66	Lá dày xanh rất đậm
	<b>R3</b>	<b>3,83 ± 0,75</b>	
	<b>R2</b>	3,81 ± 0,87	
	<b>R1</b>	3,67 ± 0,94	Lá rất dày và có màu xanh đen
<b>R0</b>	3,63 ± 0,84		
<b>L2</b>	<b>R10</b>	<b>3,87 ± 1,04</b>	Lá và thân màu xanh lợt (chồi yếu)
	<b>R9</b>	3,80 ± 0,81	Giống với đặc điểm mẫu đối chứng
	<b>R8</b>	3,73 ± 0,94	
	<b>R7</b>	<b>3,87 ± 0,88</b>	
	<b>R6</b>	3,73 ± 0,60	
	<b>R5</b>	3,63 ± 0,84	Lá dày xanh rất đậm
	<b>R4</b>	3,63 ± 0,86	
	<b>R3</b>	3,63 ± 0,81	
	<b>R2</b>	3,81 ± 0,81	
	<b>R1</b>	<b>3,93 ± 0,92</b>	Lá rất dày và có màu xanh đen
<b>R0</b>	3,67 ± 0,83		
<b>L3</b>	<b>R10</b>	1,70 ± 0,68	Lá và thân màu xanh lợt (chồi yếu)
	<b>R9</b>	1,57 ± 0,63	
	<b>R8</b>	1,48 ± 0,50	
	<b>R7</b>	1,67 ± 0,43	Giống với đặc điểm mẫu đối chứng
	<b>R6</b>	1,43 ± 0,47	

	<b>R5</b>	1,47 ± 0,50	Lá dày xanh rất đậm
	<b>R4</b>	1,47 ± 0,50	
	<b>R3</b>	1,42 ± 0,45	
	<b>R2</b>	1,33 ± 0,40	
	<b>R1</b>	1,46 ± 0,63	
	<b>R0</b>	1,50 ± 0,54	



*Biểu đồ III.2:* Ảnh hưởng của các tỉ lệ phối trộn ánh sáng ở 3 cường độ 1100 lux (L1), 750 lux (L2) và 400 lux (L3) lên hệ số phát chồi lan hồ điệp *in vitro*

Từ bảng kết quả thí nghiệm và biểu đồ biểu diễn, chúng tôi nhận thấy rằng:

- Cường độ chiếu sáng bằng ánh sáng đơn sắc có ảnh hưởng rõ tới hệ số nhân chồi của cây lan hồ điệp khi so sánh giữa mức cường độ 400lux với các mức còn lại và đối chứng. Ở đây có sự khác biệt so với cây hoa cúc và được quyết định bởi bản chất loài. Điều này phù hợp với kết quả xử lý thống kê ( $F > F_{crit}$ ) đối với khảo sát ảnh hưởng riêng từng yếu tố: mức cường độ chiếu sáng và tỷ lệ phối trộn ánh sáng cũng như tổ hợp chung của hai yếu tố này.



Tuy nhiên khi xử lý số liệu mà không tính đến các kết quả ở các lô thí nghiệm ở mức chiếu sáng 400lux thì cường độ chiếu sáng bằng ánh sáng đơn sắc không ảnh hưởng đến hệ số phát sinh chồi, kết quả tính toán cho thấy  $F < F_{crit}$  đối với khảo sát ảnh hưởng riêng và tổ hợp các yếu tố mức cường độ chiếu sáng và tỷ lệ phối trộn ánh sáng (xem ở phụ lục 3). Trong trường hợp này thì lại tương tự với đối tượng hoa cúc.

Ở cùng một cường độ chiếu sáng, có thể nhận thấy không có sự chênh lệch nhiều giữa các tỷ lệ phối trộn ánh sáng về hệ số phát sinh chồi và không có quy luật tăng giảm tuyến tính. Hệ số phát sinh chồi gần như tương đương nhau giữa các tổ hợp chiếu sáng sử dụng ánh sáng đơn sắc ở cường độ 750, 1000 lux và đối chứng, trong khi ở cường độ 400lux thì thấp hẳn (khoảng 3,6 – 3,9 so với khoảng 1,3 - 1,7).

Có thể được nhận ra là ở tất cả các cường độ chiếu sáng, khi tăng tỉ lệ ánh sáng đỏ trong các tỉ lệ phối trộn thì màu sắc chồi và lá lợt dần; khi tăng tỉ lệ ánh sáng xanh thì chồi xanh đậm dần. Ở mức cường độ cao 750 và 1100 lux, các chế độ chiếu sáng có tỷ lệ ánh sáng xanh cao R0, R1 thì chồi hình thành có màu xanh đen, phiến lá dày gần như dị dạng. Độ đậm màu và độ dày lá giảm dần khi tỷ lệ ánh sáng đỏ tăng lên, đến các tỷ lệ phối trộn R5 – R8 thì tương tự với đối chứng, từ R9 trở lên thì có hiện tượng lá nhạt màu so với đối chứng. Ở mức cường độ 400 lux thì không xuất hiện hiện tượng lá xanh đen và gần như dị dạng nhưng ở các tỷ lệ phối trộn R0 – R3 thì lá vẫn dày và đậm hơn đối chứng, ở các tỷ lệ phối trộn R4 – R7 thì độ dày và màu sắc lá tương tự đối chứng và màu xanh nhạt xuất hiện khi tỷ lệ ánh sáng đỏ cao lên (R8 – R10).

Trong nuôi cấy tạo chồi *in vitro*, hệ số phát sinh chồi là yếu tố quan trọng nhất, tuy nhiên chất lượng chồi tạo ra cũng là yếu tố quan trọng không kém,

chất lượng chồi sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến sự phát triển, chất lượng cây con hình thành từ chồi đó. Chất lượng của chồi có thể đánh giá bằng các thông số đo đạc được hay cũng có thể bằng quan sát hình thái. Trong trường hợp lan Hồ điệp thì màu sắc thân và lá có thể xem là một chỉ tiêu để đánh giá chất lượng chồi khi mà nó thể hiện mức độ tích lũy diệp lục. Bởi như đã trình bày trên, hệ số phát sinh chồi gần như không có sự khác biệt giữa các lô thí nghiệm có cường độ chiếu sáng 750 – 1100 lux và lô đối chứng trong khi ở cường độ chiếu sáng 400 lux thì thấp hơn hẳn nên nhóm nghiên cứu chủ yếu dựa vào hình thái chồi để đánh giá chế độ chiếu sáng đơn sắc phù hợp cho giai đoạn phát sinh chồi *in vitro* cây lan hồ điệp. Qua so sánh, chúng tôi nhận thấy rằng sự kết hợp giữa hai nguồn ánh sáng đỏ và xanh ở các tỉ lệ phối trộn R5-R8 tại cả hai mức cường độ 750 và 1100 lux đều phù hợp, tuy nhiên khi xét kết hợp thêm với yếu tố hiệu quả sử dụng năng lượng (chiếu sáng 750lux tiêu tốn ít điện hơn chiếu sáng 1100 lux) cũng như nhận thấy tổ hợp chiếu sáng L2-R7 là duy nhất có hệ số phát sinh chồi cao hơn đối chứng (dù không nhiều) mà lá vẫn có hình thái bình thường, nhóm nghiên cứu chọn tổ hợp này là phù hợp nhất để nuôi cây lan hồ điệp giai đoạn phát sinh chồi bằng ánh sáng đơn sắc.



Hình III.4: Hình thái chồi cây lan hồ điệp *in vitro* ở các tỉ lệ phối trộn khác nhau tại 3 cường độ chiếu sáng 1100lux, 750lux và 400lux



Hình III.5: Hình thái chồi ở các cường độ chiếu sáng khác nhau trên cùng 1 tỉ lệ phối trộn



Hình III.6: Hình thái lá của chồi cây lan hồ điệp *in vitro* ở các tỉ lệ phối trộn khác nhau

Từ các kết quả thu được về khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc lên quá trình phát sinh chồi cây hoa cúc và cây lan hồ điệp, nhóm nghiên cứu nhận thấy:

– Có sự đồng nhất về kết quả ảnh hưởng ánh sáng đơn sắc lên quá trình phát sinh chồi giữa cây hoa cúc và cây lan hồ điệp về mặt tỉ lệ phối trộn ánh sáng: đều cho màu sắc cây nhạt dần do tỉ lệ điệp lục thấp đi và ở tỉ lệ phối trộn R7 là phù hợp nhất cho phát sinh chồi khi sử dụng ánh sáng đơn sắc trong nuôi

cây. Tuy vậy, ở cây lan Hồ điệp thì có xu hướng cần cường độ chiếu sáng cao hơn (750 – 1100lux) so với cây hoa cúc (400lux). Điều này có thể lý giải như sau: đối tượng hoa cúc sử dụng trong thí nghiệm có nguồn gốc từ châu Âu (Hà Lan), vốn được thuần hóa và trồng ở những nơi có cường độ ánh sáng tự nhiên không cao, trong khi Lan Hồ điệp có nguồn gốc nhiệt đới và Á nhiệt đới vốn sống trong điều kiện có cường độ chiếu sáng tự nhiên cao. Tính bảo thủ về ánh sáng của hai loài này đã được thể hiện trong thí nghiệm. Kết quả này góp phần bổ sung vào luận điểm chung: ảnh hưởng của ánh sáng nói chung, các chế độ chiếu sáng bằng ánh sáng đơn sắc nói riêng lên mỗi đối tượng thực vật là khác nhau.

– Xu hướng chung khi sử dụng ánh sáng đơn sắc để nuôi cấy *in vitro* là chiều cao cây giảm đi, màu sắc thân lá (mức độ tích lũy diệp lục) tăng lên khi tỷ lệ ánh sáng xanh tăng.

– Đối với cả hoa cúc và lan hồ điệp, tỷ lệ phối trộn 70% ánh sáng đỏ, 30% ánh sáng xanh là phù hợp cho giai đoạn phát sinh chồi *in vitro*, tuy nhiên không tốt hơn nhiều so với ánh sáng huỳnh quang. Có lẽ với các loại cây khi nuôi cấy *in vitro* hệ số nhân chồi, chiều cao, hình thái chồi tạo ra phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau trong đó quan trọng nhất là nồng độ chất kích thích sinh trưởng. Ở giai đoạn này vai trò của ánh sáng không thể hiện rõ, chỉ cần đủ ánh sáng để đảm bảo quang hợp.

## PHẦN IV: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### IV.1. Kết luận

1. Dựa trên tham khảo các tài liệu, tìm hiểu cơ sở lý thuyết kết hợp với quá trình thực nghiệm, nhóm nghiên cứu đã xây dựng được 11 hệ chiếu sáng phối hợp ánh sáng đơn sắc từ 2 loại LED siêu sáng xanh và đỏ phục vụ cho các thử nghiệm với các đặc điểm như sau:

- + Các LED được bố trí trên các giàn nuôi cây thành hệ chiếu sáng cho diện tích thí nghiệm 54 x 36cm;

- + Có thể điều khiển được tương đối chính xác 3 cường độ chiếu sáng và 11 tỉ lệ phối trộn các ánh sáng đơn sắc có các bước sóng 660-665nm và 470-475nm và thời gian chiếu sáng một cách đơn giản.

- + Mỗi hệ có thể hoạt động độc lập hoặc có thể phối hợp với nhau để phục vụ cho các thực nghiệm.

2. Thông qua các thử nghiệm hoạt động của các hệ chiếu sáng xây dựng được trên hai đối tượng cây hoa cúc và lan hồ điệp, kết quả cho thấy dưới các điều kiện chiếu sáng khác nhau trong giai đoạn phát sinh chồi thì các loại cây sẽ có những đáp ứng khác nhau về hệ số nhân chồi, phát sinh hình thái và phát triển trong vi nhân giống cây trồng. Do đó, tùy vào từng loại cây và mục đích nghiên cứu mà ta có thể chọn tỉ lệ ánh sáng thích hợp. Đối với cây hoa cúc thì tỉ lệ chiếu sáng 70% đỏ - 30% ánh sáng xanh ở mức cường độ chiếu sáng 400 lux là phù hợp; với lan hồ điệp thì tỉ lệ chiếu sáng 70% đỏ - 30% ánh sáng xanh ở mức cường độ chiếu sáng 750 lux là phù hợp. Nhìn chung, các kết quả thử nghiệm bằng hệ LED xây dựng này cũng giống với các nghiên cứu của các nhà khoa học trong và ngoài nước đi trước đã nghiên cứu về ánh sáng đơn sắc. Do

vậy, chúng tôi có thể kết luận rằng các hệ LED đã xây dựng đáp ứng được yêu cầu của nhiệm vụ phục vụ cho quá trình thử nghiệm nhân cây *in vitro*.

#### **IV.2. Kiến nghị**

Trong thời gian tới, chúng tôi đề nghị tiếp tục khảo sát thêm các quá trình sinh trưởng, phát triển và phát sinh hình thái trên 2 đối tượng cây hoa cúc và cây lan hồ điệp giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh dưới tác động của các tỉ lệ phối trộn và cường độ chiếu sáng khác nhau nhằm:

+ Xác định tỉ lệ phối trộn ở cường độ nào là thích hợp nhất cho giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh (hình thái *in vitro*, tỉ lệ sống ngoài vườn ươm) cũng chính là giai đoạn mà về lý thuyết cường độ chiếu sáng và tỷ lệ phối trộn ánh sáng đơn sắc ảnh hưởng rõ nhất lên sự sinh trưởng của cây;

+ Tính toán lượng điện tiêu thụ so với sử dụng đèn huỳnh quang ở tỉ lệ phối trộn và cường độ chiếu sáng bằng ánh sáng đơn sắc thích hợp xác định được.

+ Đưa ra kết luận về ưu, nhược điểm của việc sử dụng các hệ ánh sáng đơn sắc so với đèn huỳnh quang trong nuôi cấy *in vitro*.

## BÁO CÁO TÀI CHÍNH

### 1. Kinh phí được cấp

a) Tiến độ cấp kinh phí

<i>Số TT</i>	<i>Kinh phí được cấp</i>	
	<i>Thời gian (năm)</i>	<i>Kinh phí (đ)</i>
1	2013	100.000.000
<b>Tổng cộng</b>		<b>100.000.000</b>

b) Các khoản kinh phí theo thuyết minh được duyệt :

<i>Số TT</i>	<i>Khoản chi</i>	<i>Số tiền (đ)</i>
1	Thuê khoán chuyên môn	21.000.000
2	Vật tư, thiết bị, máy móc, nguyên liệu, năng lượng	63.700.000
3	Chi khác	15.300.000
<b>Tổng cộng</b>		<b>100.000.000</b>

### 2. Tình hình sử dụng kinh phí

a) Tình hình sử dụng kinh phí theo năm

<i>Số TT</i>	<i>Nội dung các khoản chi</i>	<i>Tình hình sử dụng kinh phí (đ)</i>
1	Năm 2013	80.695.000
2	Năm 2014	19.305.000
<b>Tổng cộng</b>		<b>100.000.000</b>

b) Tình hình sử dụng kinh phí theo từng hạng mục và tiến độ

<i>STT</i>	<i>Nội dung khoản chi</i>	<i>Năm 2013</i>	<i>Năm 2014</i>	<i>Tổng Cộng (đ)</i>
1	Thuê khoán chuyên môn	14.000.000	5.000.000	<b>19.000.000</b>
2	Vật tư, thiết bị, máy móc, nguyên liệu, năng lượng	46.585.000	12.655.000	<b>59.240.000</b>
3	Chi khác	12.190.000	1.650.000	<b>13.840.000</b>
<b>Tổng cộng</b>				<b>92.080.000</b>

c) Kinh phí tiết kiệm: **7.920.000đ**



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### TÀI LIỆU TRONG NƯỚC

1. Võ Thị Bạch Mai (2004). Sự phát triển chồi và rễ. NXB Đại học Quốc gia TP.HCM.
2. 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), pp: 93-100.
3. Bùi Trang Việt (2002). Sinh lý thực vật đại cương. Phần II - Phát triển. NXB Đại học Quốc gia TP.HCM.
4. Bùi Trang Việt (2005). Sinh học tế bào. NXB Đại học Quốc gia TP.HCM.

### TÀI LIỆU NƯỚC NGOÀI

5. Ammirato P.V. (1987), “Organization events during somatic embryogenesis”, In: Green C.E., Somer D.A., Hacket W.P., Biesboer D.D., eds., Plant Tiss. Cell Cult., pp: 57-81.
6. Baraldi R., Bertazza G., Bogino J., Luna V., Bottini R. (1995), “The effects of light quality in *Prunus cerasus* II. Changes in hormone levels in plants grown under different light conditions”, Phytochem. Photobiol., 62, pp: 800-803.

7. Bertazza G., Baradil R., Predieri S. (1995), "Light effects on *in vitro* rooting of pear cultivars of different rhizogenic ability", *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 41, pp: 139-143.
8. Brigg W.R., Beck C.F., Cashmore A.R., Christie J.M., Hughes J., Jarillo J.A., Kagawa T., Kanegae H., Liscum E., Nagatani A., Okada K., Salomon M., Rudiger W., Sakai T., Takano M., Wada M., Watson J.C. (2001), "The phototropin family of photoreceptors", *Plant Cell*, 13, pp: 993-997.
9. Bula R.J., Morrow T.W., Tibbitt T.W., Barta D.J., Ignatius R.W., Martin T.S. (1991), "Light-emitting diodes as a radiation source for plants", *Hort. Sci.*, 26, pp: 203-205.
10. Chee R. (1986), "*In vitro* culture of *Vitis*: the effects of light spectrum, maganese and potassium iodide on morphogenesis", *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 7, pp: 121-134.
11. Chee R., Pool R.M. (1989), "Morphogenesis responses to propagule trimming, spectral irradiation and photoperiod of grapevine shoots recultured *in vitro*", *Hort. Sci.*, 44, pp: 350-354.
12. Gällagher S., Short T.W, Ray P.M., Pratt L.H., Briggs W.R. (1988) "Light-mediated changes in two proteins founds associated with plasma membrane fractions from pea stem sections", *Proc. Natl Acad., USA* 85, pp: 8003-8007.
13. Gressel J. (1979), "Blue light photoreception", *Photochem. Photobiol.*, 30, pp: 749-754.
14. Hart J.W. (1988), "Light and plant growth", Unwin Hyman, London, 204.

15. Hoenecke M.E., Bula R.J., Tibbitts T.W. (1992), "Importance of "blue" photon levels for lettuce seeding growth under red light-emitting diodes", Hort. Sci., 27, pp: 427-430.
16. Homles M.G. (1984), "Light sources: Techniques in photomorphogenesis". Academic Press., London, pp: 43-80.
17. Huang K., Beck C.F. (2003), "Phototropin is the blue light receptor that controls multiple steps in the sexual life cycle of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, pp: 6369 - 6274.
18. Hughes K.W. (1981), "In vitro ecology: exogenous factors affecting growth and morphogenesis in plant culture systems", Environ. Exp. Bot., 21, pp: 281-288.
19. Khattak A.M., Simon P. (2004), "Light quality and temperature effects on *Antirrhinum* growth and development", J. Zhejiang Univ. Sci., 6, pp: 119-124.
20. Kinoshita T., Doi M., Suetsugu N., Kagawa T., Wada M., Shimayaki K. (2001), "Phot1 and phot2 mediate blue light regulation of stomatal opening", Nature, 414, pp: 656-660.
21. Klein W.H. (1969), "Spectral distribution and its control of plant growth and development", Progress report on AEC Research Project – Contract AT (30 - 1) 2373. Radiation Biology Laboratory, Smithsonian Institution.
22. Kozai T., Fujawara K., Hayashi M., Aitken-Christie J. (1992), "The *in vitro* environment and its control in micropropagation", In: Kubota K., Kozai T., eds., Transplant production systems, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp: 247-252.

23. Liu C.Z., Wang Y.C., Kang X.Z., Ouyang F. (1999), "Investigation of light, temperature and cultivated modes on growth and artemisinin synthesis of *Artemisia annua* L. shoots", *Acta. Phytophys. Sin.*, 25, pp: 105-109.
24. Moe R., Heins R. (1990), "Control of plant morphogenesis and flowering by light quality and temperature", *Acta Hort*, 272, pp: 81-89.
25. Moe, R. (1997), "Physiology aspects of supplementary lighting in horticulture", *Acta Hort*, 418, 17-24.
26. Morgan D.C., Smith H. (1981), "Non – photosynthesis responses to light quality", *Plan Physiol.*, pp: 109-134.
27. Mortensen L.M., Stromme E. (1987), "Effects of light quality on some greenhouse crops", *Sci. Hort.*, 33, pp: 27-36.
28. 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, pp: 1-4, 163-172.
29. Ouyang J., Wang X., Zhao B., Wang Y. (2003), "Light intensity and spectral quality influencing the callus growth of *Cistanche deserticola* and biosynthesis of phenylethanoid glycosides", *Plant Sci.*, 165, pp: 657-661.
30. Pierik R.L.M. (1987), "*In vitro* culture of higher plants", Martinus Nijhoff, Dordrecht, pp: 45-82.
31. Rajapakse N.C., Young R.E., McMahon M.J., Oi R. (1999), "Plant height control by photoselective filters: current status and future prospects", *HortTech.*, 9, pp: 618-624.

32. Sakai T., Kagawa T., Kasahara M., Swart T.E., Christie J.M., Briggs W.R., Wada M., Okada K. (2001), "Arabidopsis *nph1* and *npl1*: blue light receptors that mediate both phototropism and chloroplast relocation", Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 98, 6969-6974.
33. Shinji T. (1998). Effects of various radiant sources on plant growth. Light Source Division. Iwasako Electric Co. Japan.
34. Smith H. (1982), "Light quality, photoreception, and plant strategy", Ann. Rev. Plant Physiol. Plan Mol. Biol., 33, pp: 177-185.
35. Soebo A., Krekling T., Appelgren M. (1995), "Light quality effects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*", Plant Cell Tiss. Org. Cult., 41, pp: 177-185.
36. Tran Thanh Van K. (1980), "Control of morphogenesis by inherent and exogenously applied factors in thin cell layer", International Review Cytology, 32, pp: 291-311.
37. Vince-Prue D., Canham A.E. (1983), "Horticultural significance of photomorphogenesis", In: Shropshire W., Mohr, eds., Photomorphogenesis, Springer-Verlag, Heidelberg, pp: 518-544.
38. Volmaro C., Pontin M., Luna V., Baraldi R. (1998), "Blue light control of hypocotyl elongation in etiolated seedlings of *Lactuca sativa* (L.) cv. Grand Rapids related to exogenous growth regulators and endogenous IAA, GA3, and abscisic acid", Plant Growth Regul., 26, pp: 165-173.

39. Wang W.R., Wang Y.D., Ouyang G.C., Xue Y.L. (1991), “Effects of light quality on differentiation and its related enzymes in callus of cucumber and tomato”, *Acta. Phytophys. Sin.*, 17, pp: 118-124.
40. Wang W.R., Zhang H.X., Zhao B., Zuan X.F. (2001), “Improved growth of *Artemisia annua* L. hairy roots and artemisinin production under red light conditions”, *Biotechnol. Lett.*, 23, pp: 1971-1973.
41. Yanagi T., Okamoto K. (1993), “Utilization of super light – emitting diodes as artificial light source for plant growth”, *Ext. Abstr. Annu. Meet. Jap. Soc. Hort. Sci.*, pp: 374-375.
42. Zhong J.J., Seki T., Kinoshita S.I., Yoshida T. (1991), “Effect of light irradiance on anthocyanin production by suspended culture of *Perilla frutescens*”, *Biotechnol. Bioeng.*, 38, pp: 653-658.

#### TÀI LIỆU INTERNET

43. <http://Www.Hanhualed.com/>
44. <http://www.ledssuperbright.com/>
45. <http://ledz.com/>
46. [http://www.nichia.co.jp/en/about\\_nichia/index.html/](http://www.nichia.co.jp/en/about_nichia/index.html/)

## PHỤ LỤC

### Phụ lục 1

Thành phần môi trường khoáng :

- Môi trường MS được sử dụng trong thí nghiệm nuôi cấy *in vitro* cúc Farm tím (*Chrysanthemum* sp.)

Thành phần	Dạng sử dụng	Nồng độ (mg/l)
Khoáng đa lượng (Macro MS)	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
	KNO <sub>3</sub>	1900
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370
	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440
Khoáng vi lượng (Micro MS)	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2
	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22,3
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025
	ZnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	8,6
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25
	KI	0,83
Fe_EDTA	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27,8
	Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	37,3
Vitamine	Myo-Isositol	100
	Nicotinic acid	0,5
	Thiamine-HCl (B <sub>1</sub> )	0,1
	Glycine	2
	Pyridoxine-HCl (B <sub>6</sub> )	0,5

- Đa lượng VW (Vaccin and Went) sử dụng trong nuôi cấy lan hồ điệp:

Thành phần	Dạng sử dụng	Nồng độ (mg/l)
Khoáng đa lượng VW (Vaccin and Went)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	200
	$\text{KNO}_3$	525
	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	250
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500



## Phụ lục 2

Kết quả hiệu chỉnh hệ đèn LED:

- Kết quả hiệu chỉnh LED xanh:

STT	Tỉ lệ %	CD1 (min = 400 lux)			CD 2			CD3			CD4			CD5 (Max = 1100lux)		
		Kq đo	Kq lý thuyết	Sai lệch	Kq đo	Kq lý thuyết	Sai lệch	Kq đo	Kq lý thuyết	Sai lệch	Kq đo	Kq lý thuyết	Sai lệch	Kq đo	Kq lý thuyết	Sai lệch
1	100%Blue	396	396	0	570	570	0	756	756	0	935	935	0	1118	1118	0
2	90%Blue	357	356,4	0,6	517	513	4	673	680,4	-7,4	837	841,5	-4,5	1007	1006,2	0,8
3	80%Blue	316	316,8	-0,8	456	456	0	600	604,8	-4,8	741	748	-7	889	894,4	-5,4
4	70%Blue	277	277,2	-0,2	396	399	-3	525	529,2	-4,2	645	654,5	-9,5	778	782,6	-4,6
5	60%Blue	238	237,6	0,4	344	342	2	451	453,6	-2,6	552	561	-9	662	670,8	-8,8
6	50%Blue	199	198	1	285	285	0	372	378	-6	457	467,5	-10,5	553	559	-6
7	40%Blue	161	158,4	2,6	233	228	5	299	302,4	-3,4	372	374	-2	440	447,2	-7,2
8	30%Blue	122	118,8	3,2	174	171	3	227	226,8	0,2	278	280,5	-2,5	333	335,4	-2,4
9	20%Blue	84	79,2	4,8	116	114	2	156	151,2	4,8	188	187	1	222	223,6	-1,6
10	10%Blue	45	39,6	5,4	64	57	7	78	75,6	2,4	97	93,5	3,5	117	111,8	5,2
11	0%Blue	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

- Kết quả hiệu chỉnh LED đỏ:

STT	Tỉ lệ %	CD1 (min = 400 lux)			CD 2 (575 LUX)			CD3 (750 LUX)			CD4 (925 LUX)			CD5 (Max = 1100lux)		
		<i>Kq đo</i>	<i>Kq lý thuyết</i>	<i>Sai lệch</i>	<i>Kq đo</i>	<i>Kq lý thuyết</i>	<i>Sai lệch</i>	<i>Kq đo</i>	<i>Kq lý thuyết</i>	<i>Sai lệch</i>	<i>Kq đo</i>	<i>Kq lý thuyết</i>	<i>Sai lệch</i>	<i>Kq đo</i>	<i>Kq lý thuyết</i>	<i>Sai lệch</i>
1	100%Red	<b>398</b>	398	0	<b>572</b>	572	0	<b>748</b>	748	0	<b>929</b>	929	0	<b>1100</b>	1100	0
2	90%Red	<b>358</b>	358,2	-0,2	<b>512</b>	514,8	-2,8	<b>671</b>	673,2	-2,2	<b>834</b>	836,1	-2,1	<b>987</b>	990	-3
3	80%Red	<b>320</b>	318,4	1,6	<b>456</b>	457,6	-1,6	<b>594</b>	598,4	-4,4	<b>742</b>	743,2	-1,2	<b>875</b>	880	-5
4	70%Red	<b>281</b>	278,6	2,4	<b>403</b>	400,4	2,6	<b>520</b>	523,6	-3,6	<b>638</b>	650,3	-12,3	<b>767</b>	770	-3
5	60%Red	<b>239</b>	238,8	0,2	<b>344</b>	343,2	0,8	<b>447</b>	448,8	-1,8	<b>556</b>	557,4	-1,4	<b>661</b>	660	1
6	50%Red	<b>200</b>	199	1	<b>287</b>	286	1	<b>374</b>	374	0	<b>457</b>	464,5	-7,5	<b>551</b>	550	1
7	40%Red	<b>159</b>	159,2	-0,2	<b>229</b>	228,8	0,2	<b>300</b>	299,2	0,8	<b>371</b>	371,6	-0,6	<b>439</b>	440	-1
8	30%Red	<b>120</b>	119,4	0,6	<b>171</b>	171,6	-0,6	<b>227</b>	224,4	2,6	<b>277</b>	278,7	-1,7	<b>333</b>	330	3
9	20%Red	<b>80</b>	79,6	0,4	<b>115</b>	114,4	0,6	<b>150</b>	149,6	0,4	<b>186</b>	185,8	0,2	<b>222</b>	220	2
10	10%Red	<b>39</b>	39,8	-0,8	<b>58</b>	57,2	0,8	<b>76</b>	74,8	1,2	<b>93</b>	92,9	0,1	<b>112</b>	110	2
11	0%Red	<b>0</b>	0	0	<b>0</b>	0	0	<b>0</b>	0	0	<b>0</b>	0	0	<b>0</b>	0	0

### Phụ lục 3

#### Xử lý thông kê bằng data analysis trong excel 2007

#### - Hệ số phát sinh chồi cây hoa cúc *in vitro*

Anova: Two-Factor With Replication

SUMMARY	R10	R9	R8	R7	R6	R5	R4	R3	R2	R1	R0	DC	Total
<i>L1</i>													
Count	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	1080
Sum	186	180	183	183	186	182	188	184	178	186	178	188	2202
Average	2,066667	2	2,033333	2,033333	2,066667	2,022222	2,088889	2,044444	1,977778	2,066667	1,977778	2,088889	2,038889
Variance	0,197753	0,134831	0,167416	0,234831	0,242697	0,201748	0,239201	0,132834	0,089388	0,152809	0,156804	0,284145	0,185697
<i>L2</i>													
Count	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	1080
Sum	179	180	182	184	183	184	185	184	183	184	178	188	2194
Average	1,988889	2	2,022222	2,044444	2,033333	2,044444	2,055556	2,044444	2,033333	2,044444	1,977778	2,088889	2,031481
Variance	0,168414	0,157303	0,22422	0,177778	0,234831	0,132834	0,18789	0,155306	0,144944	0,155306	0,134332	0,284145	0,178804
<i>L3</i>													
Count	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	1080
Sum	186	178	185	185	190	186	186	186	188	178	176	188	2212
Average	2,066667	1,977778	2,055556	2,055556	2,111111	2,066667	2,066667	2,066667	2,088889	1,977778	1,955556	2,088889	2,048148
Variance	0,220225	0,111186	0,232834	0,165418	0,189763	0,197753	0,152809	0,130337	0,171785	0,134332	0,155306	0,284145	0,179329
<i>Total</i>													
Count	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	
Sum	551	538	550	552	559	552	559	554	549	548	532	564	
Average	2,040741	1,992593	2,037037	2,044444	2,07037	2,044444	2,07037	2,051852	2,033333	2,02963	1,97037	2,088889	
Variance	0,19536	0,133774	0,206802	0,191326	0,221795	0,176456	0,192056	0,138565	0,136431	0,147818	0,147818	0,282032	

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Sample	0,150617	2	0,075309	0,414649	0,660608	2,998535
Columns	3,150617	11	0,28642	1,577026	0,098629	1,79163
Interaction	1,730864	22	0,078676	0,433188	0,989977	1,545371
Within	581,9111	3204	0,18162			
Total	586,9432	3239				

## - Chiều cao chồi cây hoa cúc *in vitro*

Anova: Two-Factor With Replication

SUMMARY	R10	R9	R8	R7	R6	R5	R4	R3	R2	R1	R0	DC	Total
<i>L1</i>													
Count	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	1080
Sum	467,7	439,5	417,9	415,9	394	383,7	365	330,9	326,8	278,1	237,5	429,1	4486,1
Average	5,196667	4,883333	4,643333	4,621111	4,377778	4,263333	4,055556	3,676667	3,631111	3,09	2,638889	4,767778	4,153796
Variance	0,142348	0,099157	0,106303	0,149549	0,134107	0,138528	0,09171	0,081584	0,108909	0,103157	0,067797	0,076591	0,645546
<i>L2</i>													
Count	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	1080
Sum	469,1	435,1	428,2	414,9	389,9	383,4	364,9	336	330,3	283,4	235,7	429,1	4500
Average	5,212222	4,834444	4,757778	4,61	4,332222	4,26	4,054444	3,733333	3,67	3,148889	2,618889	4,767778	4,166667
Variance	0,061534	0,052396	0,077074	0,100461	0,069175	0,101528	0,087677	0,087865	0,099652	0,074886	0,050538	0,076591	0,608063
<i>L3</i>													
Count	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	1080
Sum	498,2	492,1	467,6	463,1	405	393,5	370,4	369,7	331,6	307,8	282,5	429,1	4810,6
Average	5,535556	5,467778	5,195556	5,145556	4,5	4,372222	4,115556	4,107778	3,684444	3,42	3,138889	4,767778	4,454259

Variance	0,107036	0,079062	0,093688	0,101834	0,129213	0,093939	0,080429	0,061849	0,144474	0,07173	0,077909	0,076591	0,672586
----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	---------	----------	----------	----------

*Total*

Count	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270
Sum	1435	1366,7	1313,7	1293,9	1188,9	1160,6	1100,3	1036,6	988,7	869,3	755,7	1287,3	
Average	5,314815	5,061852	4,865556	4,792222	4,403333	4,298519	4,075185	3,839259	3,661852	3,21963	2,798889	4,767778	
Variance	0,127363	0,159394	0,148512	0,179084	0,115045	0,113232	0,08678	0,113249	0,117313	0,103368	0,12301	0,076021	

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Sample	62,33513	2	31,16756	334,2493	1,4E-132	2,998535
Columns	1747,322	11	158,8475	1703,523	0	1,79163
Interaction	32,28072	22	1,467306	15,73578	1,08E-56	1,545371
Within	298,7617	3204	0,093246			
Total	2140,7	3239				

- Hệ số phát sinh chồi cây lan hồ điệp *in vitro*

Anova: Two-Factor With Replication

SUMMARY	R10	R9	R8	R7	R6	R5	R4	R3	R2	R1	R0	DC	Total
<i>L1</i>													
Count	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	1080
Sum	339	342	327	336	339	321	327	345	343	330	327	345	4021
Average	3,766667	3,8	3,633333	3,733333	3,766667	3,566667	3,633333	3,833333	3,811111	3,666667	3,633333	3,833333	3,723148
Variance	0,922472	0,880899	0,819101	0,826966	0,720225	0,765169	0,661798	0,747191	0,874032	0,94382	0,841573	1,061798	0,838018
<i>L2</i>													

Count	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	1080
Sum	348	342	336	348	336	327	327	327	343	354	330	345	4063
Average	3,866667	3,8	3,733333	3,866667	3,733333	3,633333	3,633333	3,633333	3,811111	3,933333	3,666667	3,833333	3,762037
Variance	1,038202	0,813483	0,939326	0,880899	0,602247	0,841573	0,864045	0,976404	0,806617	0,916854	0,831461	1,061798	0,882153

*L3*

Count	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	1080
Sum	153	141	133	132	129	132	132	128	120	131	135	345	1811
Average	1,7	1,566667	1,477778	1,466667	1,433333	1,466667	1,466667	1,422222	1,333333	1,455556	1,5	3,833333	1,676852
Variance	0,68427	0,630337	0,499501	0,431461	0,473034	0,498876	0,498876	0,448939	0,404494	0,632834	0,544944	1,061798	0,991864

*Total*

Count	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270
Sum	840	825	796	816	804	780	786	800	806	815	792	1035
Average	3,111111	3,055556	2,948148	3,022222	2,977778	2,888889	2,911111	2,962963	2,985185	3,018519	2,933333	3,833333
Variance	1,876084	1,88166	1,833733	1,925155	1,791326	1,712515	1,716976	1,916839	2,059259	2,062853	1,765056	1,053903

**ANOVA**

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Sample	3073,262	2	1536,631	2015,451	0	2,998535
Columns	190,396	11	17,30873	22,70219	2,35E-45	1,79163
Interaction	293,079	22	13,32177	17,47289	9,8E-64	1,545371
Within	2442,811	3204	0,762425			
<b>Total</b>	<b>5999,548</b>	<b>3239</b>				

- Hệ số phát sinh chồi cây lan hồ điệp *in vitro*: so sánh 2 cường độ 1100 lux và 750 lux

Anova: Two-Factor With Replication

SUMMARY	R10	R9	R8	R7	R6	R5	R4	R3	R2	R1	R0	DC	Total
<i>L1</i>													
Count	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	1080
Sum	339	342	327	336	339	321	327	345	343	330	327	345	4021
Average	3,766667	3,8	3,633333	3,733333	3,766667	3,566667	3,633333	3,833333	3,811111	3,666667	3,633333	3,833333	3,723148
Variance	0,922472	0,880899	0,819101	0,826966	0,720225	0,765169	0,661798	0,747191	0,874032	0,94382	0,841573	1,061798	0,838018
<i>L2</i>													
Count	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	1080
Sum	348	342	336	348	336	327	327	327	343	354	330	345	4063
Average	3,866667	3,8	3,733333	3,866667	3,733333	3,633333	3,633333	3,633333	3,811111	3,933333	3,666667	3,833333	3,762037
Variance	1,038202	0,813483	0,939326	0,880899	0,602247	0,841573	0,864045	0,976404	0,806617	0,916854	0,831461	1,061798	0,882153
<i>Total</i>													
Count	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	
Sum	687	684	663	684	675	648	654	672	686	684	657	690	
Average	3,816667	3,8	3,683333	3,8	3,75	3,6	3,633333	3,733333	3,811111	3,8	3,65	3,833333	
Variance	0,977374	0,842458	0,876816	0,853631	0,657821	0,8	0,758659	0,867039	0,83563	0,943017	0,832123	1,055866	

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Sample	0,816667	1	0,816667	0,949707	0,329904	3,845816
Columns	13,1037	11	1,191246	1,385307	0,17281	1,793122
Interaction	6,183333	11	0,562121	0,653694	0,78319	1,793122
Within	1836,778	2136	0,859915			
Total	1856,881	2159				

## Phụ lục 4:

### Chương trình lập trình điều khiển hệ LED

```
#include <AT89X52.H>
#include <stdio.h>
#include <string.h>
#include <stdlib.h>
#include <absacc.h>
#include <intrins.h>
#define CR 0x0D
//*****
sbit LED = P2^0;
sbit ON1 = P1^0;
sbit ON2 = P1^1;
sbit ON3 = P1^2;
sbit ON4 = P1^3;
sbit ON5 = P1^4;
sbit ON6 = P1^5;
sbit ON7 = P1^6;
sbit ON8 = P1^7;
sbit ON9 = P0^0;
sbit ON10 = P0^1;
sbit ON11 = P0^2;

sbit CHEDO_1 = P0^3;
sbit CHEDO_2 = P0^4;
sbit CHEDO_3 = P0^5;
sbit CHEDO_4 = P0^6;
sbit CHEDO_5 = P0^7;
//*****
***

void delay_ms(unsigned int ms)
{
    unsigned int x,y;
    for (x=0;x<=ms;x++)for(y=0;y<=48;y++);
}

//*****
***

void Initialization()
{
    LED = 1;
    ON1 = 1;
    ON2 = 1;
    ON3 = 1;
```



```

ON4 = 1;
ON5 = 1;
ON6 = 1;
ON7 = 1;
ON8 = 1;
ON9 = 1;
ON10 = 1;
ON11 = 1;

CHEDO_1 = 1;
CHEDO_3 = 1;
CHEDO_5 = 1;
////////////////////////////////////
TMOD=0x51;// Timer0 mode 1 as Timer , Timer1 mode1 as counter
T2CON=0x34; // Setup Timer2 in mode of baud rate generator
RCAP2H=0xFF; // Baudrate at 9600 BPS
RCAP2L=0xD9;
SCON=0x52; // Setup serial port control
RI = 0;
}
////////////////////////////////////
void modality1()
{
    LED = 1;
}
////////////////////////////////////
void modality2()
{
    LED = 0;
    delay_ms(1);
    LED = 1;
    delay_ms(26.5);
}
////////////////////////////////////
void modality3()
{
    LED = 0;
    delay_ms(2);
    LED = 1;
    delay_ms(25.5);
}
////////////////////////////////////
void modality4()
{
    LED = 0;
    delay_ms(3);
}

```

```
        LED = 1;
        delay_ms(24.5);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality5()
{
        LED = 0;
        delay_ms(4);
        LED = 1;
        delay_ms(23.5);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality6()
{
        LED = 0;
        delay_ms(5);
        LED = 1;
        delay_ms(22.5);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality7()
{
        LED = 0;
        delay_ms(6);
        LED = 1;
        delay_ms(21.5);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality8()
{
        LED = 0;
        delay_ms(7);
        LED = 1;
        delay_ms(20.5);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality9()
{
        LED = 0;
        delay_ms(8);
        LED = 1;
        delay_ms(19.5);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality10()
{
```

```

        LED = 0;
        delay_ms(9);
        LED = 1;
        delay_ms(18.5);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality11()
{
        LED = 0;
        delay_ms(10);
        LED = 1;
        delay_ms(17.5);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality1b()
{
        LED = 1;
    }
    //////////////////////////////////////
void modality2b()
{
        LED = 0;
        delay_ms(1.875);
        LED = 1;
        delay_ms(25.625);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality3b()
{
        LED = 0;
        delay_ms(3.75);
        LED = 1;
        delay_ms(23.75);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality4b()
{
        LED = 0;
        delay_ms(5.625);
        LED = 1;
        delay_ms(21.875);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality5b()
{
        LED = 0;
        delay_ms(7.5);
    }

```

```

        LED = 1;
        delay_ms(20);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality6b()
{
        LED = 0;
        delay_ms(9.375);
        LED = 1;
        delay_ms(18.125);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality7b()
{
        LED = 0;
        delay_ms(11.25);
        LED = 1;
        delay_ms(16.25);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality8b()
{
        LED = 0;
        delay_ms(13.125);
        LED = 1;
        delay_ms(14.375);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality9b()
{
        LED = 0;
        delay_ms(15);
        LED = 1;
        delay_ms(12.5);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality10b()
{
        LED = 0;
        delay_ms(16.875);
        LED = 1;
        delay_ms(10.625);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality11b()
{
        LED = 0;

```

```

        delay_ms(18.75);
        LED = 1;
        delay_ms(8.75);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality1d()
{
        LED = 1;

    }
    //////////////////////////////////////
void modality2d()
{
        LED = 0;
        delay_ms(2.75);
        LED = 1;
        delay_ms(24.75);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality3d()
{
        LED = 0;
        delay_ms(5.5);
        LED = 1;
        delay_ms(22);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality4d()
{
        LED = 0;
        delay_ms(8.25);
        LED = 1;
        delay_ms(19.25);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality5d()
{
        LED = 0;
        delay_ms(11);
        LED = 1;
        delay_ms(16.5);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality6d()
{
        LED = 0;
        delay_ms(13.75);
    }

```

```

        LED = 1;
        delay_ms(13.75);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality7d()
{
        LED = 0;
        delay_ms(16.5);
        LED = 1;
        delay_ms(11);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality8d()
{
        LED = 0;
        delay_ms(19.25);
        LED = 1;
        delay_ms(8.25);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality9d()
{
        LED = 0;
        delay_ms(22);
        LED = 1;
        delay_ms(5.5);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality10d()
{
        LED = 0;
        delay_ms(24.75);
        LED = 1;
        delay_ms(2.75);
    }
    //////////////////////////////////////
void modality11d()
{
        LED = 0;
        delay_ms(27.5);
        LED = 1;
        delay_ms(0);
    }
    //*****
void main (void)
{

```

```

Initialization();
while(1)
{
    if ((CHEDO_1 == 0)&&(ON1 == 0)){modality1();}
    if ((CHEDO_1 == 0)&&(ON2 == 0)){modality2();}
    if ((CHEDO_1 == 0)&&(ON3 == 0){modality3();}
    if ((CHEDO_1 == 0)&&(ON4 == 0){modality4();}
    if ((CHEDO_1 == 0)&&(ON5 == 0){modality5();}
    if ((CHEDO_1 == 0)&&(ON6 == 0){modality6();}
    if ((CHEDO_1 == 0)&&(ON7 == 0){modality7();}
    if ((CHEDO_1 == 0)&&(ON8 == 0){modality8();}
    if ((CHEDO_1 == 0)&&(ON9 == 0){modality9();}
    if ((CHEDO_1 == 0)&&(ON10 == 0){modality10();}
    if ((CHEDO_1 == 0)&&(ON11 == 0){modality11();}
    if ((CHEDO_3 == 0)&&(ON1 == 0){modality1b();}
    if ((CHEDO_3 == 0)&&(ON2 == 0){modality2b();}
    if ((CHEDO_3 == 0)&&(ON3 == 0){modality3b();}
    if ((CHEDO_3 == 0)&&(ON4 == 0){modality4b();}
    if ((CHEDO_3 == 0)&&(ON5 == 0){modality5b();}
    if ((CHEDO_3 == 0)&&(ON6 == 0){modality6b();}
    if ((CHEDO_3 == 0)&&(ON7 == 0){modality7b();}
    if ((CHEDO_3 == 0)&&(ON8 == 0){modality8b();}
    if ((CHEDO_3 == 0)&&(ON9 == 0){modality9b();}
    if ((CHEDO_3 == 0)&&(ON10 == 0){modality10b();}
    if ((CHEDO_3 == 0)&&(ON11 == 0){modality11b();}
    if ((CHEDO_5 == 0)&&(ON1 == 0){modality1d();}
    if ((CHEDO_5 == 0)&&(ON2 == 0){modality2d();}
    if ((CHEDO_5 == 0)&&(ON3 == 0){modality3d();}
    if ((CHEDO_5 == 0)&&(ON4 == 0){modality4d();}
    if ((CHEDO_5 == 0)&&(ON5 == 0){modality5d();}
    if ((CHEDO_5 == 0)&&(ON6 == 0){modality6d();}
    if ((CHEDO_5 == 0)&&(ON7 == 0){modality7d();}
    if ((CHEDO_5 == 0)&&(ON8 == 0){modality8d();}
    if ((CHEDO_5 == 0)&&(ON9 == 0) {modality9d();}
    if ((CHEDO_5 == 0)&&(ON10 == 0){modality10d();}
    if ((CHEDO_5 == 0)&&(ON11 == 0){modality11d();}
}

```