

Tìm hiểu ảnh hưởng của ánh sáng đỏ đơn sắc trên sự quang hợp và tích lũy phenolic ở lá cây lưỡi răn (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lam)

Lê Anh Tuấn^{1,*}, Phan Ngô Hoang¹, Seon-Ki Kim², Đỗ Thường Kiệt¹



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Cây Lưỡi Răn là một loài thảo mộc bản địa có chứa nhiều hợp chất thứ cấp thuộc nhóm phenolic, được sử dụng trong các bài thuốc y học cổ truyền và công nghệ dược liệu. Phenolic cũng như nhiều hợp chất biến dưỡng sơ cấp khác đều là các dẫn xuất từ sản phẩm của quá trình quang hợp ở thực vật. Trong nghiên cứu này, ánh sáng LED đỏ (660 nm) và ánh sáng huỳnh quang trắng được sử dụng để phân tích ảnh hưởng của các nguồn sáng khác nhau trên quang hợp và tích lũy phenolic ở lá của cây *in vitro* và *ex vitro*. Ánh sáng LED đỏ ($50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$) thúc đẩy sự kéo dài lông thân, nhưng không thay đổi sinh khối của cây *in vitro*. Gia tăng cường độ ánh sáng đỏ (từ 50 lên 100 hoặc $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$), lá của cây *in vitro* bị giảm khả năng nhận ánh sáng tối đa của quang hệ II (F_v/F_m) và tỷ lệ dập tắt huỳnh quang diệp lục tố a theo hướng quang hóa (qP) khi so với cường độ $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$. Tuy nhiên, tỷ lệ dập tắt huỳnh quang diệp lục tố a theo hướng không quang hóa (qN) và tốc độ chuỗi chuyển điện tử quang hợp ở lá vẫn được duy trì. Dưới ánh sáng đỏ ở cường độ $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$, diện tích lá cây *ex vitro*, hàm lượng carotenoid, phản ứng Hill của lục lạp cô lập và hàm lượng đường tổng số ở lá giảm có khác biệt so với lá của cây đối chứng được tăng trưởng dưới ánh sáng trắng. Hàm lượng tinh bột ở lá cây *ex vitro* vẫn được duy trì. Hàm lượng phenolic ở cây *ex vitro* trong điều kiện ánh sáng đỏ cao hơn hẳn so với đối chứng.

Từ khóa: Ánh sáng đỏ, cây Lưỡi Răn, phát huỳnh quang diệp lục tố, phenolic, quang hợp.

¹TT Nghiên cứu Ứng dụng Công nghệ cao trong Nông nghiệp, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

²TT Ứng dụng Công nghệ LED trong Nông – Sinh học, Đại học Quốc gia Chonbuk, Hàn Quốc

Liên hệ

Lê Anh Tuấn, TT Nghiên cứu Ứng dụng Công nghệ cao trong Nông nghiệp, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

Email: latuan@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 16-12-2018
- Ngày chấp nhận: 04-4-2019
- Ngày đăng: 30-6-2019

DOI:

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v3i2.642>



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



MỞ ĐẦU

Tác động của ánh sáng lên thực vật phụ thuộc vào cường độ (số hạt photon) và mức năng lượng ánh sáng (bước sóng). Trong phổ ánh sáng khả kiến, ánh sáng xanh dương và đỏ là hai vùng được diệp lục tố của quang hệ II (PSII) hấp thụ mạnh, do đó ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất quang hợp. Thực vật phải chuyển đổi năng lượng ánh sáng thành hóa năng phục vụ cho sự cố định CO₂. Bên cạnh đó, sự quang tổn hại (photodamage) do ánh sáng dư thừa gây ra luôn là hệ lụy kèm theo và bản thân thực vật có 2 hệ thống “dập tắt” (quenching) các năng lượng dư thừa này: (1) dập tắt theo hướng quang hóa, bằng chính pha sáng với các con đường chuyển điện tử và (2) dập tắt theo hướng không quang hóa, với các sắc tố hấp thụ ánh sáng có mức năng lượng cao¹.

Ánh sáng đỏ, thông qua thể nhận phytochrome trong thực vật, có vai trò tín hiệu trong sự kéo dài lông thân, ra hoa và đáp ứng quang kỳ ở thực vật. Ở cường độ $120 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$, ánh sáng đỏ giúp gia tăng hàm lượng enzyme phenylalanine ammonia lyase (PAL) giúp tăng khả năng chống lại sự xâm nhiễm của vi khuẩn trên cây cà chua². PAL là enzyme chủ chốt trong sự sinh tổng hợp hợp chất phenolic, một nhóm hợp chất biến dưỡng thứ cấp lớn ở thực vật. Các hợp

chất phenolic được xem là một nhóm sắc tố, nhóm các phân tử tín hiệu và là chất chống sự tổn tại của các gốc oxy hóa tự do giúp bảo vệ bộ máy quang hợp thực vật trong điều kiện stress ánh sáng. Ngoài ra, phenolic giúp gia tăng độ bền cơ học của vách tế bào, đóng vai trò như một phytoalexin trong sự đáp ứng với các stress sinh học và phi sinh học³. Ảnh hưởng của ánh sáng đỏ LED đơn sắc trên hàm lượng phenolic đã được nghiên cứu ở một vài cây trồng như xà lách, sâm và lúa⁴⁻⁶.

Các hợp chất phenolic có hàm lượng cao trong cây Lưỡi Răn (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lam), một loài thảo dược được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền⁷. Dịch trích methanol từ cây Lưỡi Răn cho thấy khả năng kháng viêm, kháng khuẩn, kháng oxy hoá, kháng sự tăng trưởng tế bào ung thư gan ở người và tế bào ung thư phổi ở chuột⁸. Nghiên cứu trước đây, khi gia tăng cường độ ánh sáng lên $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$ làm giảm sinh khối khô nhưng tăng tích lũy hợp chất thứ cấp trong cây *in vitro*⁹. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng ánh sáng đèn LED với các đỉnh bước sóng chính xác, như một nguồn sáng nhân tạo, để tìm hiểu ảnh hưởng của ánh sáng đỏ 660 nm trên sự quang hợp và tích lũy phenolic ở lá của cây Lưỡi Răn, nhằm cải tiến phương pháp trồng trọt trong mục đích gia tăng các hợp chất thứ cấp có lợi ở loài cây này.

Trích dẫn bài báo này: Tuấn L A, Hoang P N, Kim S, Kiệt D T. **Tìm hiểu ảnh hưởng của ánh sáng đỏ đơn sắc trên sự quang hợp và tích lũy phenolic ở lá cây lưỡi răn (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lam).** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 3(2):128-135.

VẬT LIỆU PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Cây Lưỡi Rắn (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lam) *in vitro* 10 ngày tuổi với hai cặp lá thật được tăng trưởng từ hạt trên môi trường MS, đường 30 g/L, agar 6 g/L ; tăng trưởng trong điều kiện *in vitro* ở $27 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm $65 \pm 5\%$, dưới ánh sáng huỳnh quang trắng, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày, cường độ ánh sáng $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$.

Cây Lưỡi Rắn *ex vitro* với hai cặp lá thật, tăng trưởng từ hạt trên đất sạch và phân bò (tỷ lệ 3:1). Các cây được trồng trong phòng tăng trưởng ở điều kiện: $27 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm $80 \pm 5\%$, ánh sáng huỳnh quang trắng, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày, cường độ ánh sáng $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$.

Phương pháp

Khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng đỏ LED 660 nm trên sự tăng trưởng cây Lưỡi Rắn *in vitro*

Cây Lưỡi Rắn *in vitro* được đặt nuôi dưới ánh sáng trắng (đèn huỳnh quang, Philips, Hà Lan) hay đèn LED 660 nm (đèn LED, LAFTRC, Hàn Quốc), với cường độ $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$ (được đo bằng máy LI-250A - LI-190R Quantum Sensor, LI-Cor, USA). Sau 4 tuần, chiều cao cây, trọng lượng tươi và trọng lượng khô toàn cây, khả năng nhận ánh sáng tối đa của quang hệ II và tốc độ chuyển điện tử ở cặp lá thứ 5 (tính từ ngọn) được xác định.

Khảo sát ảnh hưởng của cường độ ánh sáng đỏ LED 660 nm trên sự phát huỳnh quang diệp lục tố a (dlt a) ở lá của cây Lưỡi Rắn tăng trưởng *in vitro*

Cây Lưỡi Rắn *in vitro* được đặt dưới ánh sáng đỏ LED ở các cường độ 25, 50, 100 và $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$. Sự phát huỳnh quang diệp lục tố a ở lá thứ 5 (tính từ ngọn) của cây sau 4 tuần chiếu sáng được xác định. Các thí nghiệm trên cây *in vitro* được thực hiện tại Trung tâm Ứng dụng Công nghệ LED trong Nông - Sinh học (LAFTRC), Đại học Quốc gia Chonbuk (Hàn Quốc).

Xử lý ánh sáng đỏ LED 660 nm trên cây Lưỡi Rắn *ex vitro*

Cây Lưỡi Rắn *ex vitro* tăng trưởng dưới ánh sáng trắng hay đèn LED ở cùng cường độ $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$. Diện tích lá, độ mở khẩu và vận tốc quang giải nước; hàm lượng sắc tố, hàm lượng đường, tinh bột và phenolic ở cặp lá thứ 5 (tính từ ngọn) và sinh khối của toàn cây được xác định. Các thí nghiệm trên cây *ex*

vitro được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu Ứng dụng Công nghệ cao trong Nông nghiệp (RCHAA) và PTN Sinh lý thực vật, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM.

Đo sự phát huỳnh quang diệp lục tố a của lá

Sự phát huỳnh quang dlt a ở lá của cây Lưỡi Rắn được ghi nhận bằng đầu dò huỳnh quang của huỳnh quang kế PAM 2500 (Wazl, Germany). Các cây *in vitro* được cho thích nghi trong tối hoàn toàn sau 15 phút bằng kẹp lá DLC-8 (Dark Leaf Clip DLC-8) và cho vào máy trong điều kiện tối và xác định lần lượt hai giá trị huỳnh quang tối thiểu (F_o) sau 1 phút và giá trị huỳnh quang tối đa (F_m) sau 1 chớp sáng $5.700 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$ trong 0,1 giây. Ngay sau đó, mẫu lá được thích nghi sáng 10 phút dưới đúng các điều kiện ánh sáng thí nghiệm (sử dụng kẹp lá Leaf - Clip Holder 2030B). Các giá trị huỳnh quang của mẫu (F), giá trị huỳnh quang cực đại (F_m') sau 1 chớp sáng $5.700 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$ và giá trị huỳnh quang cực tiểu (F_o') trong 5 giây ở ánh sáng đỏ xa (far red, bước sóng 750 nm) lần lượt được ghi nhận theo thời gian. Các giá trị huỳnh quang được tính theo các công thức:

Khả năng nhận ánh sáng tối đa của quang hệ II (PSII) : $F_v/F_m = \frac{F_m - F_o}{F_m}$ (giá trị từ 0 đến 1)

Sự dập tắt huỳnh quang diệp lục tố theo hướng quang hóa: $qP = \frac{F_m' - F}{F_m' - F_o'}$

Sự dập tắt huỳnh quang diệp lục tố theo hướng không quang hóa: $qN = 1 - \frac{F_m' - F_o'}{F_m - F_o}$

Tốc độ chuyển điện tử quang hợp : $ETR = PAR \times ETR - Factor \times P_{PS2}/P_{PPS} \times Y(II)$

(P_{PS2}/P_{PPS} là phần ánh sáng được sử dụng bởi PSII và có giá trị mặc định là 0,5; PAR là cường độ ánh sáng, ETR-Factor là độ hấp thụ ánh sáng và có giá trị là 0,84)¹⁰.

Ly trích và xác định hàm lượng sắc tố

0,5 g mẫu lá được cô lập và ly trích trong acetone (80%) ; dịch trích được đo mật độ quang ở các bước sóng 470, 663 và 646 nm. Hàm lượng diệp lục tố a, b và caroten tổng cộng (mg/g trọng lượng tươi) được tính theo các công thức của Wellburn và cs, 1994¹¹:

Hàm lượng diệp lục tố a (C_a) = $12,21.A_{663} - 2,81.A_{646}$

Hàm lượng diệp lục tố b (C_b) = $20,13.A_{646} - 5,03.A_{663}$

Hàm lượng caroten e tổng cộng $C_{Car} = (1000.A_{470} - 3,27.C_a - 104.C_b)/198$

Trong đó, A_{663} , A_{646} , A_{470} là các chỉ số OD đo được bằng máy quang phổ trong 10 mL dịch chứa sắc tố.

Cô lập lục lạp và đo phản ứng Hill (vận tốc quang giải nước)

Các mẫu lá được nghiền trong hỗn hợp NaCl 0,35 M và Tris 50 mM, pH 8. Hỗn hợp dịch trích được ly tâm 500 vòng/phút (5 phút) và thu dịch nổi. Dịch nổi tiếp tục được ly tâm lần 2 ở 2.000 vòng/phút (5 phút) và thu cặn có chứa lục lạp cô lập. Các thao tác được thực hiện ở nhiệt độ 3 – 5°C, trong tối. Mật độ lục lạp được xác định bằng buồng đếm hồng cầu Neuban. Tốc độ phản ứng Hill được xác định thông qua sự mất màu của 2,6-dichlorophenol indophenol $0,25 \times 10^{-4}$ M (DCIP) trong phản ứng ở bước sóng 600 nm¹².

Xác định diện tích lá

Các lá được chụp hình và phân tích diện tích lá nhờ phần mềm LIA for Win32 (LIA32).

Xác định độ mở khí khẩu

Các lá được quét lên mặt dưới một lớp keo cyanoacrylate (pha trong hỗn hợp dung môi toluene và ethyl acetate) và cố định lên lam. Lớp keo cyanoacrylate in hình bề mặt lá với các khí khẩu. Độ mở của các khí khẩu mặt dưới của lá được tính dựa trên kích thước ngang của tiểu khẩu, được đo bằng chương trình LIA32 (dựa trên trục vi thị kính Leica).

Ly trích và xác định hàm lượng đường tổng số, tinh bột

Các mẫu lá được nghiền trong ethanol tuyệt đối, ly tâm thu dịch nổi; dịch nổi được pha loãng và thực hiện phản ứng màu với phenol và sulfuric acid. Hàm lượng đường (mg/g trọng lượng tươi) được xác định bằng phương pháp đo mật độ quang ở bước sóng 490 nm và dựa theo đường chuẩn sucrose. Phần cặn còn lại được thủy phân bởi perchloric acid, sản phẩm thủy phân được thực hiện phản ứng màu với phenol và sulfuric acid. Hàm lượng đường (mg/g trọng lượng tươi) được xác định bằng phương pháp đo mật độ quang ở bước sóng 490 nm và đường chuẩn glucose¹³.

Xác định hàm lượng phenolic tổng

Phenolic toàn phần trong lá được định lượng bằng phương pháp Folin-Ciocalteu theo nguyên tắc sự khử thuốc thử Folin-Ciocalteu bởi hợp chất phenol trong môi trường kiềm và tạo ra sản phẩm có màu. Hàm lượng phenolic (mg/g trọng lượng tươi) được xác định ở bước sóng 765 nm theo đường chuẩn gallic acid¹⁴.

Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại với 6 mẫu/nghiệm thức. Số liệu ghi nhận từ các thí nghiệm được xử lý thống kê nhờ các phần mềm Microsoft Office Excel

2010 và SPSS 11.5 cho Windows. Sự phân hạng, chia nhóm theo công thức Duncan, T-test, dựa trên những khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$, các giá trị được biểu hiện bằng các mẫu tự khác nhau kèm theo sau số trung bình.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của ánh sáng đỏ LED 660 nm trên quang hợp và tăng trưởng của cây Lưỡi Rắn *in vitro*

Ở cây Lưỡi Rắn *in vitro*, ánh sáng đỏ LED 50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$ giúp kéo dài các lông thân, do đó làm tăng chiều cao cây so với các cây dưới ánh sáng trắng (Bảng 1); kết quả này cũng tương tự công bố trong các nghiên cứu trên cây atiso và dầu tằm^{15,16}. Theo Hong và cs (2012), ánh sáng đỏ thông qua thể nhận tín hiệu phytochrome cảm ứng sự sinh tổng hợp gibberellin và auxin ở lá, các hormone tăng trưởng này giúp gia tăng sự sinh tổng hợp vách tế bào, dẫn đến sự kéo dài trụ hạ diệp ở *Arabidopsis thaliana*¹⁷. Trong khi đó, số lượng cặp lá và sinh khối khô cây Lưỡi Rắn *in vitro* không có sự khác biệt ở cả hai điều kiện ánh sáng trắng và đỏ LED sau 4 tuần nuôi cấy (Bảng 1, Hình 1). Số lượng lá và sinh khối khô là sản phẩm của quá trình cố định CO₂ ở thực vật, các sản phẩm của quá trình quang hợp được tích trữ trong thân và lá có vai trò quan trọng trong tăng trưởng và phát triển của cây ở giai đoạn sau¹⁸. Như vậy, ánh sáng đỏ LED có tác động tương tự như ánh sáng trắng ở cùng cường độ 50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$ đối với sự tăng trưởng của cây Lưỡi Rắn *in vitro* sau 4 tuần nuôi cấy.



Hình 1: Cây Lưỡi Rắn *in vitro* sau 4 tuần tăng trưởng dưới ánh sáng trắng (A) và đỏ LED (B), cường độ ánh sáng 50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giây}$.

Để đánh giá chính xác ảnh hưởng của ánh sáng đỏ LED trên quang hợp ở cây Lưỡi Rắn, các lá của cây *in vitro* được đo sự phát huỳnh quang diệp lục tố. Thông qua phép đo huỳnh quang ở lá đã thích nghi tối, tỷ lệ F_v (độ lệch huỳnh quang)/ F_m (huỳnh quang tối đa)

thể hiện khả năng nhận ánh sáng tối đa (hiệu năng quang hóa tối đa) của trung tâm phản ứng của PSII. Tỷ lệ F_v/F_m thấp ở lá của cây *in vitro* tăng trưởng dưới ánh sáng đỏ LED ($F_v/F_m = 0,68$). Sự suy giảm tỷ lệ này là dấu hiệu tổn hại của PSII, đặc biệt protein D1 nơi đặt cặp phân tử diệp lục tố hoặc do sự mất diệp lục tố ở trung tâm phản ứng¹⁰. Trong khi đó, lá cây Lưỡi Rắn *in vitro* tăng trưởng dưới ánh sáng trắng có tỷ lệ F_v/F_m tương tự cây khỏe mạnh từ 0,7 đến 0,8 (Bảng 1). Theo Hogewoning và cs (2010), tỷ lệ F_v/F_m ở lá cây dưa chuột trồng dưới ánh sáng xanh hoặc đỏ đơn sắc luôn thấp hơn các cây trồng dưới ánh sáng kết hợp¹⁹, hơn nữa ánh sáng đỏ gây hư hại PSII. Sự tổn hại của bộ máy quang hợp dẫn đến tỷ lệ F_v/F_m thấp cũng thấy ở lan hồ điệp tăng trưởng dưới ánh sáng đỏ so với ánh sáng trắng²⁰.

Bên cạnh đó, sự phát huỳnh quang ở những lá đã thích nghi sáng cho biết tốc độ chuyển điện tử quang hợp (ETR) từ quang hệ II sang quang hệ I (PSI), chỉ số này có mối tương quan tuyến tính với sự đồng hóa carbon ở lá thông qua chu trình Calvin¹⁰. Tốc độ chuyển điện tử quang hợp ở lá cây Lưỡi Rắn *in vitro* tăng trưởng dưới ánh sáng đỏ LED không khác biệt so với đối chứng, vì vậy trọng lượng khô của toàn cây không khác biệt giữa hai nghiệm thức này (Bảng 1). Tóm lại, ánh sáng đỏ LED với cường độ $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$ làm hư hại và giảm khả năng nhận ánh sáng của PSII, nhưng sự hư hại này không nhiều nên chưa thể làm giảm ETR và sự tích lũy sinh khối khô ở cây *in vitro*, do đó sự khác biệt về tăng trưởng của cây Lưỡi Rắn dưới hai điều kiện này không rõ rệt.

Trong nghiên cứu trước đây, việc gia tăng cường độ ánh sáng từ 50 lên $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$ làm giảm sinh khối khô của cây Lưỡi Rắn *in vitro*⁹. Dưới ánh sáng đỏ LED, cường độ ánh sáng tăng đã dẫn đến hiện tượng hạ thấp khả năng nhận ánh sáng tối đa của PSII thể hiện qua sự giảm chỉ số F_v/F_m ở lá (Hình 2A), kèm theo đó là sự giảm khả năng dập tắt huỳnh quang diệp lục tố a theo hướng quang hóa (qP) (Hình 2 B). Trong con đường dập tắt huỳnh quang diệp lục tố theo hướng quang hóa, các electron từ nước được nhận bởi PSII và chuyển cho PSI trong thông qua chuỗi chuyển điện tử quang hợp¹, chỉ số này giảm ở lá cây Lưỡi Rắn cho thấy sự dư thừa năng lượng ở các mức cường độ ánh sáng cao và làm giảm hiệu năng sử dụng quang năng cho chuỗi chuyển điện tử quang hợp. Tuy nhiên, với cường độ ánh sáng 100 hay $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$ chưa thể làm thay đổi tốc độ chuyển điện tử quang hợp (Hình 2C), vì năng lượng dư thừa ở PSII còn được dập tắt theo hướng không quang hóa (qN) thông qua sự tỏa nhiệt của lá (Hình 2D). Thông thường, giá trị qN tăng thể hiện sự gia tăng mức độ tỏa nhiệt khi đáp ứng với stress dưới ánh sáng cao. Trong thí nghiệm

này, qN không thay đổi ở các mức thay đổi cường độ ánh sáng, cho thấy chưa có dấu hiệu stress ánh sáng. Tốc độ chuyển điện tử quang hợp (ETR) không thay đổi ở các mức cường độ ánh sáng một lần nữa khẳng định các cường độ ánh sáng được sử dụng trong thí nghiệm chưa đủ để gây stress ánh sáng cây Lưỡi Rắn *in vitro*.

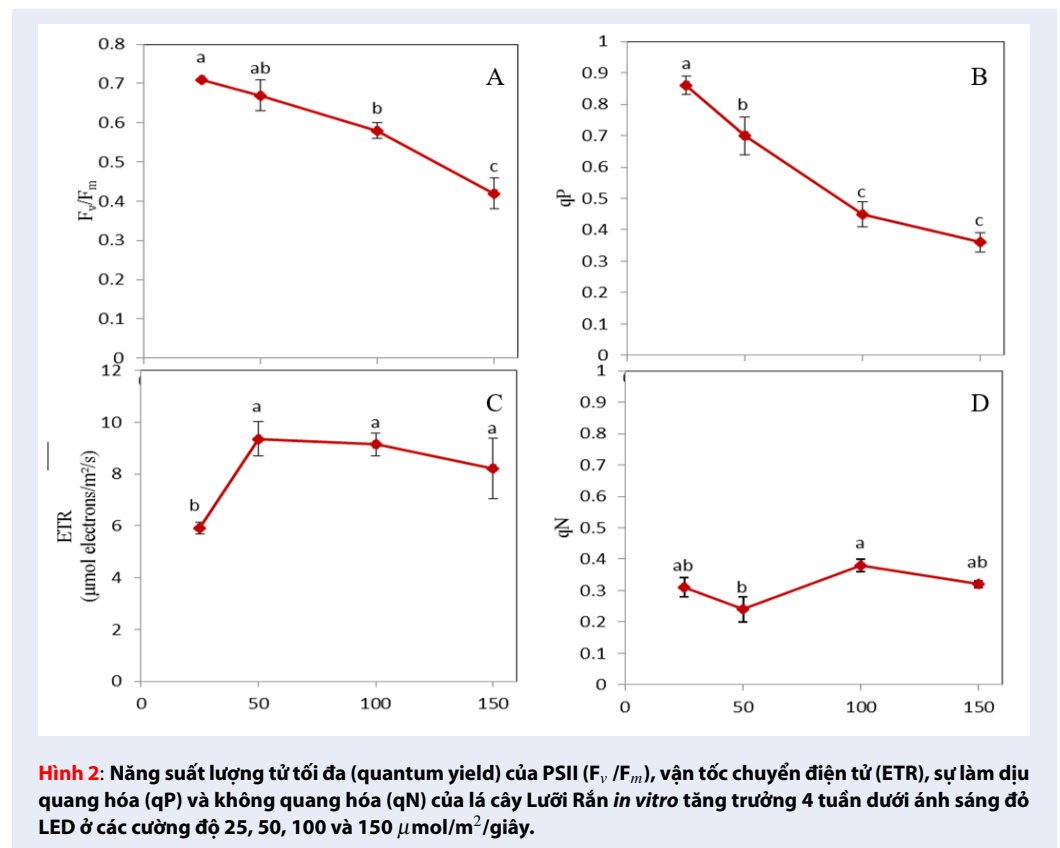
Ảnh hưởng của ánh sáng đỏ LED 660 nm trên khả năng quang hợp, sự tích lũy các hợp chất biến dưỡng sơ cấp và thứ cấp ở lá cây Lưỡi Rắn *ex vitro*

Khi xử lý cây Lưỡi Rắn *ex vitro* với ánh sáng ở cường độ bắt đầu hạ thấp khả năng nhận ánh sáng của PSII ($100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$), các cây tăng trưởng dưới ánh sáng đỏ LED có diện tích và vận tốc quang giải nước ở lá thấp hơn so với đối chứng (Bảng 2). Có lẽ sự tổn hại của PSII là nguyên nhân dẫn đến sự giảm khả năng phóng thích oxygen ở lục lạp cô lập từ lá của cây dưới ánh sáng đỏ LED so với đối chứng. Theo Hu và cs (2016), ánh sáng đỏ có vai trò tín hiệu thay đổi dòng ion K^+ và chất tan từ tế bào khẩu sang các tế bào bảo vệ, do đó gây đóng khí khẩu và Nagendran và Lee, (2014) đã ghi nhận sự đóng khí khẩu khi các cây sống trong điều kiện stress^{2,15}. Tuy nhiên, trong thí nghiệm này, ánh sáng đỏ LED không làm thay đổi độ mở khí khẩu mặt dưới của lá cây Lưỡi Rắn (Bảng 2). Các phân tử diệp lục tố và carotenoid nằm trên phức hợp antenna của quang hệ thống có vai trò thu nhận năng lượng ánh sáng và chuyển cho trung tâm phản ứng, tại đây quang năng được chuyển thành hóa năng thông qua chuỗi chuyển điện tử quang hợp¹. Thông thường dưới các stress quang oxi hóa, sự mất các phân tử diệp lục tố là nguyên nhân dẫn đến giảm tỷ lệ F_v/F_m ¹⁰. Tuy nhiên, hàm lượng diệp lục tố a và b ở lá không có sự khác biệt giữa hai nghiệm thức ánh sáng trắng và đỏ LED (Bảng 3), vậy sự tổn hại của PSII ở lá cây Lưỡi Rắn dưới ánh sáng đỏ LED $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$ không phải do sự giảm số lượng phân tử diệp lục tố. Trong khi đó, hàm lượng carotenoid tổng ở lá cây tăng trưởng dưới ánh sáng đỏ LED ($0,68 \text{ mg/g}$ trọng lượng tươi) thấp hơn 8% so với đối chứng ($0,74 \text{ mg/g}$ trọng lượng tươi) và làm tăng tỷ lệ diệp lục tố trên carotenoid (Bảng 3). Carotenoid đóng vai trò chủ chốt trong sự dập tắt các diệp lục tố bị kích hoạt quá mức khi bị stress ánh sáng cường độ cao thông qua chu trình xanthophyll, giúp giải phóng năng lượng dư thừa của PSII theo con đường không quang hóa¹. Theo Mohanty và cs (2016), ánh sáng đỏ là một tín hiệu trong điều hòa sự sinh tổng hợp carotenoid và sự giảm carotenoid ở lá của cây tăng trưởng dưới ánh sáng đỏ tương tự như ở các cây bị thiếu sáng khi phát triển dưới tán của loài cây khác⁶.

Bảng 1: Chiều cao và trọng lượng khô của toàn cây, hiệu suất lượng tử tối đa (F_v/F_m) và tốc độ chuyển điện tử (ETR) của quang hệ II ở lá cây Lưỡi Rắn *in vitro* sau 4 tuần dưới ánh sáng trắng và đỏ LED 660 nm có cùng cường độ $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$

Ánh sáng	Chiều cao cây (mm)	Trọng lượng khô (mg)	F_v/F_m	ETR ($\mu\text{mol electrons}/\text{m}^2/\text{giờ}$)
Trắng (ĐC)	$60,0 \pm 1,2$	$10,50 \pm 0,1$	$0,75 \pm 0,01$	$12,18 \pm 1,47$
Đỏ	$68,7 \pm 3,8^*$	$10,00 \pm 0,1^{NS}$	$0,68 \pm 0,05^*$	$10,16 \pm 1,36^{NS}$

* Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$, NS không có khác biệt Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng đỏ LED 660 nm trên sự phát huỳnh quang diệp lục tố a ở lá cây Lưỡi Rắn *in vitro*.



Bảng 2: Diện tích lá, độ mở khí khẩu và vận tốc quang giải nước của lục lạp cô lập từ lá cây Lưỡi Rắn *ex vitro* sau 4 tuần dưới ánh sáng trắng hay đỏ LED với cường độ $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{giờ}$

Ánh sáng	Vận tốc quang giải nước (nmol O_2 /triệu lục lạp/phút)	Diện tích lá (cm^2)	Độ mở khí khẩu (μm)
Trắng (ĐC)	$0,443 \pm 0,006$	$1,64 \pm 0,08$	$3,30 \pm 0,08$
Đỏ	$0,384 \pm 0,002^*$	$1,39 \pm 0,05^*$	$3,30 \pm 0,06^{NS}$

* Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$, NS không có khác biệt

Bảng 3: Hàm lượng sắc tố ở lá cây Lưỡi Rắn *ex vitro* sau 4 tuần dưới ánh sáng trắng hay đỏ LED với cường độ 100 $\mu\text{mol/m}^2/\text{giờ}$

Ánh sáng	Hàm lượng sắc tố (mg/g trọng lượng tươi)		
	Dlt a	Dlt b	Carotenoid
Trắng (ĐC)	2,05 ± 0,09	0,54 ± 0,03	0,74 ± 0,03
Đỏ	2,09 ± 0,05 ^{NS}	0,57 ± 0,02 ^{NS}	0,68 ± 0,01 *

* Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$, NS không có khác biệt

Bảng 4: Hàm lượng đường, hàm lượng tinh bột và phenolic tổng ở lá cây Lưỡi Rắn *ex vitro* sau 4 tuần dưới ánh sáng trắng hay đỏ LED với cường độ 100 $\mu\text{mol/m}^2/\text{giờ}$

Ánh sáng	Hàm lượng (mg/g trọng lượng tươi)		
	Tinh bột	Đường	Hàm lượng phenolic
Trắng (ĐC)	80,01 ± 5,45	25,85 ± 3,64	1,56 ± 0,07
Đỏ	78,04 ± 8,20 ^{NS}	17,69 ± 1,45 *	3,50 ± 0,16 *

* Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$, NS không có khác biệt

Kết quả phân tích các hợp chất biến dưỡng cho thấy hàm lượng tinh bột dự trữ ở lá của cây tăng trưởng dưới ánh sáng đỏ LED không đổi so với ánh sáng trắng (Bảng 4), theo đó, hàm lượng đường giảm song song với sự gia tăng tích lũy phenolic ở lá. Hàm lượng phenolic tổng ở cây thích nghi dưới điều kiện ánh sáng đỏ LED đơn sắc đạt $3,50 \pm 0,16$ mg/g trọng lượng tươi, tăng gấp 2,1 lần so với đối chứng. Có lẽ lượng đường giảm đã được chuyển hướng để tích lũy các hợp chất phenolic, sự xuất hiện và gia tăng hợp chất phenolic giúp tăng khả năng thu dọn các gốc oxy hóa tự do được sinh ra trong quá trình đáp ứng với stress quang hóa dưới ánh sáng²¹. Sự gia tăng hàm lượng phenolic khi xử lý ánh sáng đơn sắc cũng được báo cáo tương tự trên cây xà lách⁴. Có thể, ánh sáng đỏ LED là tín hiệu gia tăng sự tổng hợp các hợp chất phenolic ở cây Lưỡi Rắn, đây là cách đáp ứng của cây để thích nghi dưới điều kiện ánh sáng đơn sắc này.

KẾT LUẬN

Ánh sáng đỏ LED 660 nm ở cường độ 50 $\mu\text{mol/m}^2/\text{giờ}$ giúp cây kéo dài lóng thân nhưng không thay đổi sinh khối của cây Lưỡi Rắn *in vitro*. Ở cường độ 100 và 150 $\mu\text{mol/m}^2/\text{giờ}$, ánh sáng đỏ LED 660 nm làm giảm khả năng nhận ánh sáng tối đa (F_v/F_m) và sự dập tắt huỳnh quang theo hướng quang hóa (qP) của quang hệ II. Tuy nhiên, sự dập tắt huỳnh quang theo hướng không quang hóa (qN) và tốc độ chuyển điện tử (ETR) vẫn ở mức ổn định. Cây Lưỡi Rắn *ex vitro* trong ánh sáng đỏ LED ở cường độ 100 $\mu\text{mol/m}^2/\text{giờ}$ có diện tích lá, vận tốc quang giải nước của lục lạp cô lập, hàm lượng carotenoid và đường tổng số ở lá giảm so với cây tăng trưởng dưới ánh sáng trắng. Hàm lượng tinh bột vẫn được duy trì,

đồng thời thúc đẩy sự gia tăng hàm lượng phenolic tổng để hỗ trợ cây đáp ứng với điều kiện chiếu sáng này.

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

DCIP : 2,6-dichlorophenol indophenol 0,25x 10⁻⁴ M
Dlt : diệp lục tố
ETR : vận tốc chuyển điện tử
Fv/Fm : khả năng nhận ánh sáng tối đa của quang hệ II
LED (Light Emitting Diode) : Diode phát quang
PAL : phenylalanine ammonia lyase
PSII : quang hệ II
qP : hướng quang hóa
qN : hướng không quang hóa

TUYÊN BỐ SUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả đồng ý không có bất kì xung đột lợi ích nào liên quan đến các kết quả đã công bố.

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Lê Anh Tuấn và Seon-Ki Kim góp phần thực hiện các thí nghiệm, xử lý các dữ liệu và viết bản thảo. Phan Ngô Hoang và Đỗ Thường Kiệt góp phần thảo luận các kết quả thí nghiệm, sửa bản thảo.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn nguồn kinh phí hỗ trợ từ đề tài cấp trường (mã số T2017-50), Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM. Các thí nghiệm được thực hiện tại TT Nghiên cứu Ứng dụng Công nghệ cao trong Nông nghiệp (RCHAA); Phòng thí nghiệm Sinh lý thực vật, khoa Sinh học – Công nghệ sinh học thuộc Trường Đại học Khoa học Tự

nhiên, ĐHQG-HCM và TT Ứng dụng Công nghệ LED trong Nông-Sinh học thuộc ĐHQG Chonbuk, Hàn Quốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Trang Việt. Sinh lý thực vật đại cương. NXB Đại học Quốc gia TP.HCM, 753 trang (2016).
2. Nagendran R, Lee YH. Green and red light reduces the disease severity by *Pseudomonas cichorii* JBC1 in tomato plants via upregulation of defense-related gene expression. *Phytopathology*. 2015;p. 412–418.
3. Ouzounis T, Rosenqvist E, Ottosen C. Spectral effects of artificial light on plant physiology and secondary metabolism: A review. *Hortscience*. 2015;50(8):1128–1135.
4. Li Q, Kubota C. Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environmental and Experimental Botany*. 2009;67:59–64.
5. Park SY, Lee JG, Cho HS, Seong ES, Kim HY, Yu CY, et al. Metabolite profiling approach for assessing the effects of colored light-emitting diode lighting on the adventitious roots of ginseng (*Panax ginseng* C. A. Mayer). *Plant Omics Journal*. 2013;6:224–230.
6. Mohanty B, Lakshmanan M, Lim SH, Kim JK, Ha SH, Lee DY. Light-specific transcriptional regulation of the accumulation of carotenoids and phenolic compounds in rice leaves. *Plant signaling and behavior*. 2016;11(6):e11848081–e11848084.
7. Sasikumar JM, Maheshu V, Asseervatham SB, Teepica PD. In vitro antioxidant activity of *Hedyotis corymbosa* (L.) Lam. Aerial parts. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*. 2010;47(1):49–52.
8. Norrizah JS, Suhaimi MY, Rohaya A, Roslan NARN. Ursolic acid and oleanolic acid productions in elicited cell suspension cultures of *Hedyotis corymbosa*. *Biotechnology*. 2012;11(4):238–242.
9. Lê Anh Tuấn, Hoàng Thị Thu Thắm, và Phan Ngô Hoàng. Phát triển chồi cây Lưỡi Rắn (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lam) trong điều kiện nuôi cấy in vitro. *Tạp chí Khoa học và Phát triển Khoa học và Công nghệ*. 2015;18(5):75–84.
10. Baker NR. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*. 2008;59:89–113.
11. Wellburn AR. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*. 1994;144(3):307–313.
12. Henselov M, Regecov M, Sovkov A. Isolation of chloroplasts in the *Karwinskia* species and determination of their photochemical activity under in vitro conditions. *Plant, Soil and Environment*. 2004;50(4):149–156.
13. Coombs J, Hind G, Leegood RC, Tieszen LL, Vonshak A. Techniques in bioproductivity and photosynthesis. In: *Measurement of starch and sucrose in leaves*. Pergamon press; 1987. p. 169.
14. Baba SA, Malik SA. Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume. *Journal of Taibah University for Science*. 2015;9:449–454.
15. Hu J, Dai X, Sun G. Morphological and physiological responses of *Morus alba* seedlings under different light qualities. *Notulae Botanicae Horti Agrobotania Cluj - Napoca*. 2016;44(2):382–392.
16. Rabara RC, Behrman G, Timbol T, Rushton PJ. Effect of spectral quality of monochromatic LED lights on the growth of arctic choke seedlings. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8(190):1–9.
17. Hong GJ, Xue XY, Mao YB, Wang LJ, Chen XY. Arabidopsis MYC2 interacts with DELLA proteins in regulating sesquiterpene synthase gene expression. *Plant Cell*. 2012;24:2635–2683.
18. Sultana N, Ikeda T, Ma K. Effect of foliar spray of nutrient solutions on photosynthesis and dry matter accumulation and grain yield in sea water-stresses rice. *Environmental and Experimental Botany*. 2001;p. 129–140.
19. Hogewoning SW, Trouwborst G, Maljaars H, Poorter H, leperen WV, Harbinson J. Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *Journal of Experimental Botany*. 2010;61(11):3107–3117.
20. Ouzounis T, Frett X, Ottosen CO, Rosenqvist E. Spectral effects of LEDs on chlorophyll fluorescence and pigmentation in *Phalaenopsis Vivien* and *Purple Star*. *Physiologia Plantarum*. 2015;154(2):314–327.
21. Spiridon, Bodirlau R, Teaca CA, Bodirlau R, Armatu A. Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano (*Origanum vulgare*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and lemon balm (*Melissa officinalis*) from Romania. *Natural Product Research*. 2011;25(17):1657–1661.

Effect of the red light on the photosynthesis and phenolic accumulation in leaves of *Hedyotis corymbosa* (L.) Lam

Le Anh Tuan^{1,*}, Phan Ngô Hoang¹, Seon-Ki Kim², Do Thuong Kiet¹

ABSTRACT

Hedyotis corymbosa (L.) Lam a native herbaceous species containing many phenolic compounds is used in traditional medicine and medicinal technology. Phenolic acid, as well as many other secondary metabolites are photosynthetic-derived products. In this research, red LEDs (660 nm) and white fluorescent light were used to investigate the effects of different light sources on the photosynthesis and leaf phenolic compound accumulation of *in vitro* and *ex vitro* plants. Red LED (50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$) promoted the stem elongation without changing plant biomass of *in vitro* plants. Increasing red LED intensities (from 50 to 100 or 150 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$) decrease maximum photochemical quantum yield of PS II (F_v/F_m) and coefficient of photochemical fluorescence quenching (qP), but stabilized electron transfer (ETR) and coefficient of non-photochemical fluorescence quenching (qN) of *in vitro* leaves. Under 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ of red LED, *ex vitro* leaf area, carotenoid contents, isolated chloroplast. Hill reaction and total sugar content were significantly reduced in comparison to those parameters from control plants under white light. *Ex vitro* plants' total carbohydrate contents were not statistically different the total leaf phenolic content of *ex vitro* plants under red LED light exposure was much higher than that the of control.

Key words: Chlorophyll fluorescence, *Hedyotis corymbosa* (L.) Lam, phenolic, photosynthesis, red light

¹Research Center for Hi-Tech in Agriculture Applications, University of Science, VNU-HCM

²LED Agri-bio Fusion Technology Research Center, Chonbuk National University, Republic of Korea

Correspondence

Le Anh Tuan, Research Center for Hi-Tech in Agriculture Applications, University of Science, VNU-HCM

Email: latuan@hcmus.edu.vn

History

- Received: 16-12-2018
- Accepted: 04-4-2019
- Published: 30-6-2019

DOI :

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v3i2.642>



Copyright

© VNU-HCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Tuan L A, Hoang P N, Kim S, Kiet D T. **Effect of the red light on the photosynthesis and phenolic accumulation in leaves of *Hedyotis corymbosa* (L.) Lam.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 3(2):128-135.