

# Khả năng tập chống chịu hạn hán của khoai tây (*Solanum tuberosum* L.) giống Diamant trên môi trường có bổ sung sorbitol

Lê Quỳnh Mai, Phùng Thị Thu Hương\*

Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 16 tháng 8 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 20 tháng 9 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 10 năm 2017

**Tóm tắt:** Khoai tây (*Solanum tuberosum* L.) là một trong các loại cây lương thực quan trọng nhất thế giới, xếp thứ tư về sản lượng. Biến đổi khí hậu, đặc biệt là hạn hán và nước biển dâng, tác động lớn đến sản lượng cây lương thực, trong đó có cây khoai tây. Nhiều nghiên cứu cho thấy một số loài thực vật có khả năng tập chống chịu với các điều kiện bất lợi từ môi trường. Trong nghiên cứu này, tính tập chống chịu hạn hán, khả năng chống chịu tốt hơn với mức hạn cao sau khi được tiếp xúc với mức hạn thấp, được đánh giá trên khoai tây giống Diamant. Các chồi khoai tây nuôi cấy mô (*in vitro*) được tiếp xúc môi trường bổ sung sorbitol ở các nồng độ khác nhau trong 7 ngày để tạo tính chống chịu hạn. Sau đó, khả năng chịu hạn nhân tạo của các chồi sẽ được đánh giá sau 14 ngày và sau 28 ngày từ khi chuyển sang các môi trường có nồng độ sorbitol cao hơn. Kết quả bước đầu cho thấy, những cây khoai tây tiếp xúc với hạn nhẹ ở môi trường bổ sung sorbitol mức 50 mM tăng khả năng chống chịu tốt nhất ở giai đoạn sau. Các mẫu khoai tây Diamant đã qua tập chống chịu đều có chồi cao hơn, ít bị giảm trọng lượng tươi và trọng lượng khô hơn, sinh thêm nhiều chồi mới và lá mới hơn, và cũng tích lũy nhiều chlorophyll hơn các cây chưa được tập chịu hạn.

**Từ khoá:** Tính tập chống chịu, khoai tây, *Solanum tuberosum*, hạn, sorbitol.

## 1. Đặt vấn đề

Trong sản xuất nông nghiệp, khoai tây là cây lương thực phổ biến có giá trị dinh dưỡng cao, đứng thứ 4 trên thế giới về mặt sản lượng tươi sau lúa mì, gạo và ngô, chiếm 50% tổng sản lượng cây có củ (FAO, 2015). Tuy nhiên, sản lượng khoai tây bị suy giảm đáng kể trước những ảnh hưởng phức tạp của biến đổi khí hậu, trong đó có yếu tố hạn hán.

Hạn thường tác động đến sinh trưởng, năng suất của cây, làm giảm hàm lượng sắc tố của lá, giảm hoạt động quang hợp của lục lạp. Cây bị hạn, tính toàn vẹn của màng tế bào bị đe dọa do áp suất thẩm thấu nội bào bị ảnh hưởng [1]. Khi đối mặt với hạn, thực vật tăng cường tích lũy các chất điều chỉnh áp suất thẩm thấu nội bào như proline, một số loại hydrocarbon tan, glycine betaine và các chất tan khác để hỗ trợ hấp thu nước. Sự tích lũy proline khi gặp điều kiện bất lợi được coi là chỉ thị cho khả năng chống chịu của thực vật [2, 3]. Bên cạnh khả năng chống chịu (tolerance), nhiều nghiên cứu

\*Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-1689755825.

Email: thuhuong825@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4633>

cho thấy một số loài thực vật có khả năng tập chống chịu (acclimation) trước các điều kiện bất lợi từ môi trường [3, 4]. Theo đó, tập chống chịu hạn là khả năng tăng cường tính chống chịu hạn hán sau khi được tiếp xúc với điều kiện hạn ở mức nhỏ và vừa.

Ở Việt Nam, các nghiên cứu về khoai tây tập trung chủ yếu vào chọn giống, lai tạo giống và tính kháng với một số loại bệnh vi khuẩn virus, hầu như chưa có nghiên cứu nào về cơ chế tập chống chịu của khoai tây trước các điều kiện bất lợi phi sinh học [5]. Khoai tây (*Solanum tuberosum* L.) giống Diamant được nhập nội từ Hà Lan, giống đã được khảo nghiệm từ năm 2000, được đánh giá là có khả năng chống chịu sâu bệnh khá, ít nhiễm mốc sương, năng suất tốt và cho củ chất lượng cao. Trong nghiên cứu này, tính tập chống chịu hạn hán được đánh giá trên khoai tây giống Diamant trong điều kiện hạn nhân tạo *in vitro*.

## 2. Đối tượng và phương pháp

### 2.1. Đối tượng

Đối tượng của nghiên cứu là cây khoai tây *S. tuberosum* giống Diamant nuôi cấy mô tại Phòng thí nghiệm Nuôi cấy mô Thực vật và Vi tảo, Trung tâm Khoa học Sự sống, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

### 2.2. Phương pháp

#### 2.2.1. Phương pháp nuôi cấy và xử lý tập chống chịu

Nuôi cấy đoạn thân cây con khoai tây (chiều dài 1.5 cm, mang 2 lá) trên môi trường khoáng cơ bản Murashige & Skoog (MS, 1962), có bổ sung 1 mg/l IBA + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar, trong vòng 2 tháng. Nhiệt độ nuôi

cây  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , chế độ chiếu sáng 16 giờ/ngày với cường độ chiếu sáng 2500 lux.

Sau 2 tháng, cây con *in vitro* vẫn đang ở giai đoạn sinh trưởng, đem nuôi cấy đoạn thân cây con trong môi trường MS có bổ sung 0 mM, 50 mM, 100 mM, 200 mM sorbitol; tương ứng với môi trường đối chứng (MS) và các môi trường với mức hạn tăng dần. Sau 7 ngày sẽ đánh giá ảnh hưởng của mức hạn lên chồi khoai tây.

#### 2.2.2. Đánh giá tác động của tập chống chịu trong điều kiện hạn gia tăng

Sau 7 ngày tiếp xúc với môi trường hạn, cây con coi như đã được tập làm quen với điều kiện hạn hán. Chồi cây được chuyển sang nuôi cấy trong các môi trường có hàm lượng sorbitol tương đương và cao hơn so với mức hạn trước đó (Hình 1). Sau 14 ngày và 28 ngày sẽ đánh giá khả năng tập chống chịu hạn của cây Diamant *in vitro* thông qua so sánh một số chỉ tiêu sinh lý giữa cây đã qua tập chống chịu và cây chưa qua tập chống chịu ở mỗi mức độ hạn.



Hình 1. Sơ đồ chuyển môi trường nuôi cấy.

$$\frac{\text{Số lá mới sinh trung bình}}{\text{cây}} = \frac{\text{Tổng số lá mới sinh}}{\text{Tổng số cây}}$$

$$\frac{\text{Số chồi mới sinh trung bình}}{\text{cây}} = \frac{\text{Tổng số chồi mới sinh}}{\text{Tổng số cây}}$$

Trọng lượng tươi (TLT) được xác định bằng cách cân mẫu bao gồm cả thân, lá và rễ.

Sau đó, mẫu được sấy ở 38 °C trong 72 h và được xác định trọng lượng khô (TLK).

### 2.2.3. Xác định hàm lượng Chlorophyll

Chlorophyll (Chl.) từ mô lá được chiết trong dung môi acetone 80% và được đo độ hấp thụ ở các bước sóng 646 nm và 664 nm ( $A_{646}$  và  $A_{664}$ ).

Hàm lượng Chl<sub>a</sub> và Chl<sub>b</sub> được tính theo công thức của Porra, 2006 [6].

$$\text{Chl}_a (\mu\text{g/ml}) = 12.7 \times A_{664} - 2.69 \times A_{646}$$

$$\text{Chl}_b (\mu\text{g/ml}) = 22.9 \times A_{646} - 4.68 \times A_{664}$$

### 2.4. Xác định hàm lượng proline

Hàm lượng proline được xác định dựa theo phương pháp so màu của Bates và cs., 1973 [7] có cải tiến. Dịch chiết proline từ 50 mg mẫu thân và lá khoai tây được đo độ hấp thụ ở bước sóng 520 nm với đối chứng là toluene. Hàm lượng proline được tính dựa vào đường chuẩn là tương quan độ hấp thụ  $A_{520}$  của các dung dịch L-proline (Merck) pha ở các nồng độ 0, 25, 50, 75, 100  $\mu\text{M}$  biết trước.

Đường chuẩn:  $Y = 0.007x - 0.001$  có  $R^2 = 0.993$

Trong đó x là nồng độ proline ( $\mu\text{M}$ ), Y là giá trị  $A_{520}$

### 2.5. Xử lý số liệu

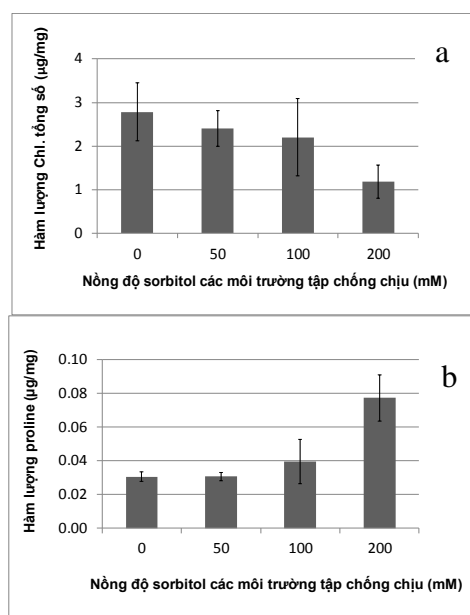
Các kết quả được tính bằng trung bình của 3 lần lặp lại thí nghiệm và sai số được tính bằng hàm STDEV trên Excel.

## 3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

### 3.1. Ảnh hưởng của các mức hạn đến chồi khoai tây Diamant nuôi cấy in vitro

Sau 7 ngày tiếp xúc với điều kiện hạn, cây con bị chậm sinh trưởng: nảy chồi kém hơn và chồi nhỏ hơn trong môi trường không có sorbitol. TLT và TLK của các mẫu khi tiếp xúc hạn cũng giảm khi gia tăng mức hạn, đặc biệt TLT giảm nhanh (số liệu không được trình bày).

Những cây con tiếp xúc với mức hạn càng cao thì có hàm lượng Chl. tổng số trong mô lá càng thấp (Hình 2a). Ngược lại, hàm lượng proline có chiều hướng tăng ở các cây tiếp xúc hạn (Hình 2b), cao nhất ở các cây trong môi trường bổ sung 200 mM sorbitol: gấp 3.1 lần ở cây không tiếp xúc hạn. Như vậy sau 7 ngày các mẫu khoai tây nuôi cấy đã có những đáp ứng nhất định ở cả mức độ phân tử, tế bào và cơ thể trước điều kiện hạn nhân tạo. Kết quả cũng phù hợp với nghiên cứu về ảnh hưởng của hạn trên cây con khoai tây giống Hồng Hà 7 [5].



Hình 2. Hàm lượng Chl. và proline của các mẫu khoai tây sau 7 ngày tiếp xúc hạn.

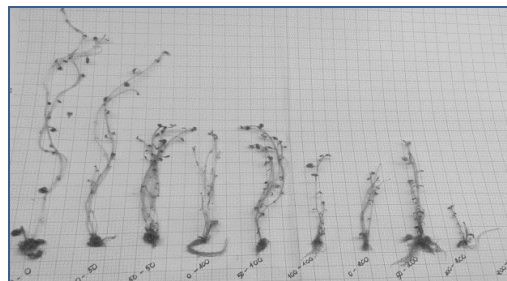
### 3.2. Đánh giá tính tập chống chịu hạn

Về mặt hình thái, các chồi khoai tây Diamant sau giai đoạn tập chống chịu hạn khi chuyển sang môi trường hạn giai đoạn 2 đều có xu hướng phát triển hình thái tốt hơn cây chưa qua tập chống chịu. Trong mỗi nhóm xử lý hạn giai đoạn 2, các chồi đã qua tập chống chịu mức hạn 50 mM sorbitol đều có hình thái tốt nhất với thân mập hơn, cứng cáp hơn lá thẫm hơn (Hình 3). Các số liệu sinh lý sinh hóa sẽ giúp so sánh cụ thể hơn giữa cây tập chống chịu và cây đối chứng trong từng nhóm môi trường.

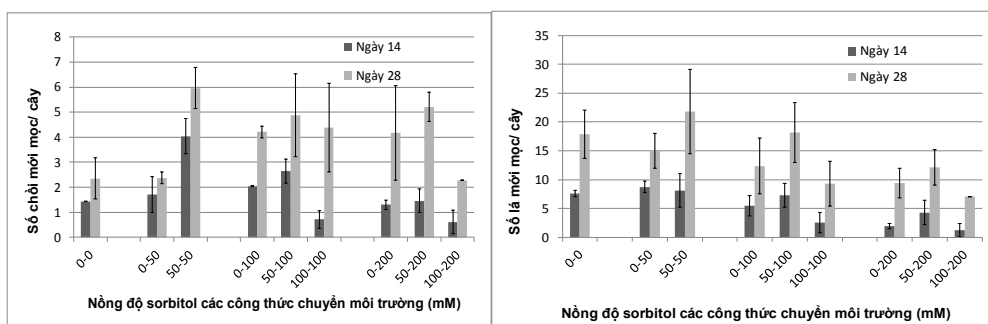
### 3.2.1. Giai đoạn tập chịu hạn giúp cây tăng khả năng sinh chồi, sinh lá mới

Từ đánh giá hình thái có thể thấy ở môi trường có bổ sung sorbitol giai đoạn 2, các mẫu chưa qua tập chống chịu đều giảm khả năng kéo dài chồi. Mặt khác, số chồi mới lại thể hiện sự tăng nhẹ ở các cây tiếp xúc hạn giai đoạn 2 so với cây đối chứng (0-0). Có thể thấy rõ chồi khoai tây trong môi trường tập chống chịu mức 50 mM sorbitol khi tiếp tục chịu mức hạn tương đương 50 mM cho số chồi mới (5.96 chồi) và cả số lá mới (22 lá) là cao nhất (Hình 4). Ở các môi trường hạn cấp 2 là 100 mM và 200 mM sorbitol các mẫu đã qua tập chống chịu mức 50 mM sorbitol cũng cho giá trị cao nhất về số chồi mới và lá mới. Các mẫu đã qua tập chống chịu mức 100 mM không cho thấy khả năng

phát sinh chồi mới, lá mới cao hơn mà thậm chí còn thấp hơn đối chứng trong cùng nhóm.



Hình 3. Khoai tây nuôi cấy trên môi trường không bổ sung (0 mM) và các môi trường có bổ sung sorbitol (50 mM, 100 mM và 200 mM) sang các môi trường hạn giai đoạn 2.



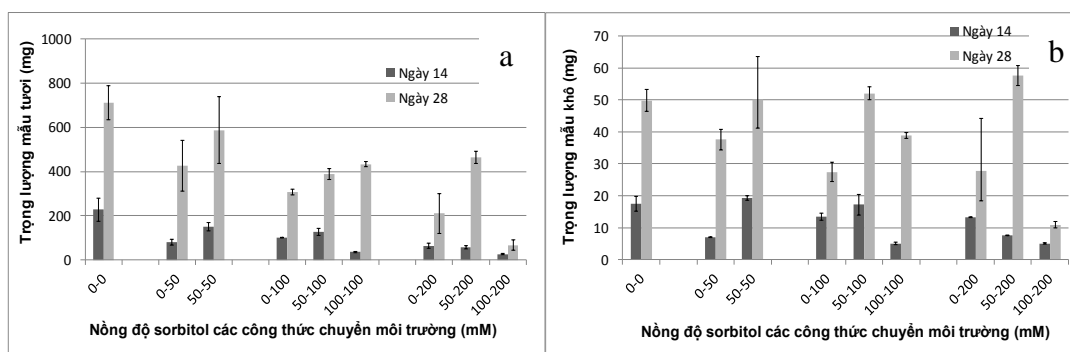
Hình 4. Số chồi và số lá của Khoai tây Diamant cây chuyển sang môi trường hạn giai đoạn 2 sau khi tập chống chịu (đánh giá sau 14 ngày và sau 28 ngày).

Số lá tăng nhanh trong giai đoạn sau của quá trình chống chịu. Từ thời điểm 14 ngày đến 28 ngày sau khi chuyển tiếp sang môi trường hạn 50 mM sorbitol, mẫu cây được tập chống chịu mức 50 mM có số lá tăng lên gấp 2.75 lần, cây chưa qua tập chống chịu chỉ tăng 1.87 lần. (Số lá mới của cây đối chứng (0-0) tăng 2.40 lần).

### 3.2.2. Khoai tây Diamant đã qua tập chống chịu hạn có khả năng giảm sự hao hụt trọng lượng

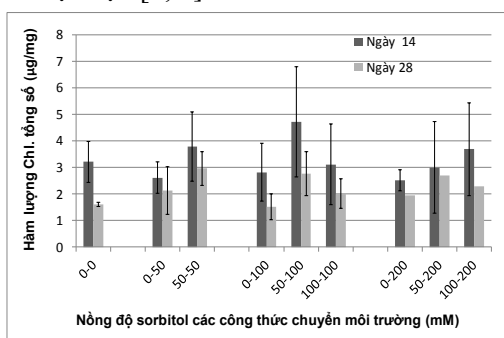
Trọng lượng tươi của thực vật nói chung đều bị ảnh hưởng lớn bởi hạn. Trong trường hợp này hàm lượng sorbitol cao trong môi trường nuôi cấy sẽ gây áp suất thẩm thấu cao và

cạnh tranh gây hạn sinh lý cho các chồi khoai tây. TLT (Hình 5a) thể hiện sự sụt giảm nghiêm trọng tỉ lệ với mức hạn gia tăng thể hiện ở các công thức 0-50, 0-100 và 0-200 khi so sánh với 0-0. Nhưng rõ ràng là giai đoạn tập chống chịu đã giúp các chồi khoai tây Diamant hạn chế sự giảm TLT qua so sánh giữa công thức 50-50 và 0-50 hay 50-100 và 0-100 từ sau 14 ngày đến sau 28 ngày TLT đều cao hơn. Đối với các công thức khác như 100-100 so với 0-100 và 50-200 so với 0-200 thì mặc dù sau 14 ngày TLT vẫn thấp hơn nhưng sau 28 ngày TLT đã đạt cao hơn đối chứng cùng nhóm. Tuy vậy, không có công thức chuyển môi trường nào có mức TLT cao hơn đối chứng chung 0-0.



Hình 5. Trọng lượng tươi và trọng lượng khô của Khoai tây Diamant cây chuyển sang môi trường hạn giai đoạn 2 sau khi tập chống chịu (đánh giá sau 14 ngày và sau 28 ngày)

Trong khi đó, trọng lượng khô của các mẫu đã qua tập chống chịu cũng thể hiện sự gia tăng tích lũy chất khô so với mẫu chưa qua tập chống chịu trong mỗi nhóm (Hình 5b) như TL. Nhưng TLK của các mẫu đã qua tập chống chịu mức 50 mM là 50-50, 50-100 và 50-200 đều có tích lũy chất khô cao hơn mức TLK của đối chứng nuôi cấy trong môi trường bình thường (0-0). Sự tích lũy chất khô có vai trò quan trọng trong giúp cây duy trì áp suất thẩm thấu cao và tăng khả năng chống chịu trước điều kiện hạn [3, 5].



Hình 6. Hàm lượng Chlorophyll của khoai tây Diamant cây chuyển sang môi trường hạn giai đoạn 2 sau khi tập chống chịu (đánh giá sau 14 ngày và sau 28 ngày).

### 3.2.3. Hàm lượng Chlorophyll tổng số

Sự thiếu nước ảnh hưởng đến sự đóng mở khí khổng và khiến quang hợp của cây bị ảnh hưởng. Hàm lượng Chl. là một trong các chỉ số thể hiện khả năng quang hợp của cây. Trong

nghiên cứu này, hàm lượng Chl. giảm ngay sau 14 ngày khoai tây Diamant tiếp xúc với hạn tuy nhiên các mức hạn 50 mM, 100 mM hay 200 mM sorbitol có sự khác biệt về hàm lượng Chl. không nhiều. Sau 28 ngày chuyển sang môi trường hạn giai đoạn 2, hàm lượng Chl. đều giảm hơn so với mốc 14 ngày. Mặc dù vậy, các mẫu đã qua tiếp xúc hạn vẫn thể hiện khả năng sinh tổng hợp nhiều Chl. hơn so với các mẫu chưa được tập chống chịu trong cùng nhóm cả ở 14 ngày và 28 ngày.

## 4. Kết luận

Điều kiện hạn được thiết lập bằng sorbitol trong môi trường nuôi cấy khoai tây *S. tuberosum* giống Diamant *in vitro* làm giảm sinh trưởng của cây nhưng làm tăng hàm lượng proline lên đáng kể. Tiếp đó trong lần chịu hạn tiếp sau, các chồi đã qua tập chống chịu hạn đặc biệt ở mức 50 mM sorbitol có khả năng sinh trưởng tốt hơn các mẫu chưa được tiếp xúc hạn trước đó.

## Lời cảm ơn

Tác giả bài báo xin chân thành cảm ơn ThS. Vũ Thị Hoa Phượng, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên đã giúp đỡ trong quá trình bố trí thí nghiệm. Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.06-2012.14.

### Tài liệu tham khảo

- [1] Blum A., Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential - are they compatible, dissonant, or mutually exclusive, *Crop and Pasture Science*, 56, 11 (2005) 1159-1168.
- [2] Mienie A. and De Ronde J., A comparison of drought stress and heat stress in the leaves and tubers of 12 potato cultivars, *South African Journal of Science*, 104, 3-4 (2008) 156-159.
- [3] Tuteja N. and Sarvajeet S.G., *Plant acclimation to environmental stress*, Springer Science & Business Media, USA, 2012
- [4] Etehadnia M., Waterer D., De Jong H. and Tanino K.K., Scion and rootstock effects on ABA-mediated plant growth regulation and salt tolerance of acclimated and unacclimated potato genotypes, *Journal of Plant Growth Regulation*, 27, 2 (2008) 125-140.
- [5] Quynh Le, Hoa Phuong Thi Vu, Trang Thi Ngo, Hong Van Thi Nguyen, Thanh Trung Nguyen, Osmotic stress acclimation of potato (*Solanum tuberosum* L.) HH7 variety seedlings induced by germination in sorbitol containing medium in-vitro. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences - Sec. B*, Vol. 7, No. 2 (2017) 484-497.
- [6] Porra R. J., Spectrometric Assays for plants, algal and bacterial chlorophyll, *Advances in Photosynthesis and respiration*, 25 (2006) 95-107.
- [7] Bates LS., Rapid determination of free protein for water-stress studies, *Plant Soil*, 39 (1973) 205-207

## The Drought Acclimation Ability of *in vitro* potato (*Solanum tuberosum* L.) Diamant Variety Cultured in Sorbitol Supplementing Medium

Le Quynh Mai, Phung Thi Thu Huong

*Faculty of Biology, VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam*

**Abstract:** Potato is the fourth most important crop in the world after rice, wheat and corn. Climate change, specially sea level rising and drought significantly reduce yield of crops, including potato. Many researches showed that some plant species have ability to acclimate to environment stresses. In this study, the drought acclimation, the increasing of drought tolerance in plant achieved after a period of time exposed to the lower level of drought stress, was evaluated on *in vitro* potato Diamant variety explants. The shoots of potato were grown on medium containing different concentrations of sorbitol for 7 days to be considered as drought acclimation explants. Then the explants were transferred to media with higher sorbitol concentrations for further 14 to 28 days. Preliminary results showed that 50 mM sorbitol in acclimation time seem increase drought tolerance of potato Diamant variety better than other tested concentrations. In comparison with non-acclimation explants, the acclimation explants had higher shoots, reduced less fresh and dry weight, increased more new shoots and new leaves and also accumulated chlorophyll contents.

**Keywords:** Acclimation, potato, *Solanum tuberosum*, drought, sorbitol.