

# ẢNH HƯỞNG CỦA BÌNH NUÔI, THẾ HỆ CÂY VÀ THIOSULFAT BẠC ĐẾN SINH TRƯỞNG, HỆ SỐ NHÂN VÀ CHẤT LƯỢNG CÂY KHOAI TÂY *IN VITRO*

## Effects of culture containers, plant generation and silver thiosulphate on the growth, multiplication rate and quality of *in vitro* potato plants

Nguyễn Thị Sơn<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Hương<sup>1</sup>, Trần Thị Thanh Minh<sup>1</sup>

### SUMMARY

The disease-free *in vitro* materials of two potato cultivars, Mariella and Diamant were used for culture in plastic box, nylon bag, Erlen-meyer flask and cylinder flask. The *in vitro* plants cultured using different types of containers resulted in similar growth to that cultured in Erlen-meyer flasks. The use of cylinder flasks reduced remarkably the cost of production. It was also found that the growth, development, of the plants decreased with time of subculture, particularly after the 7th subculture. Adding silver thiosulfate at the concentration of 1-1,5 ppm to the culture medium could improve the plant quality, especially increasing the leaf area from 2,95 to 3,78 times in comparison with the control.

**Key words:** Plastic box, nylon bag, triangle flask, cylinder flask, silver thiosulfate

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, trong nhân nhanh *in vitro* cây khoai tây đang có những vấn đề cần giải quyết nhằm nâng cao hệ số nhân, chất lượng cây và giảm giá thành sản xuất. Đã có nhiều nghiên cứu cải tiến quá trình nhân nhanh *in vitro* như thay đổi thể tích bình nuôi, loại bình nuôi, túi nilon (polyethylene) trong nuôi cấy hoa Bi bi (Nguyễn Quốc Thiện & cs, 2003) hoặc thay đổi hàm lượng nước dừa, nền môi trường nuôi cấy, để tăng cường chất lượng hàng loạt cây cấy mô như cây dưa, lan, khoai tây (Nguyễn Quang Thạch & cs, 1991). Hiện tượng giảm sinh trưởng, giảm hệ số nhân, tạo biến dị trong nuôi cấy mô khi nhân quá nhiều lần đã được nhiều tác giả đề cập trong nhân giống dưa và cây lan...(Nguyễn Quang Thạch & cs, 2003; Đinh Trường Sơn & cs, 2003). Với mục đích góp phần hoàn thiện quy trình nhân nhanh *in vitro* cây khoai tây, nghiên cứu này tập trung tìm hiểu ảnh hưởng của dụng cụ nuôi, thế hệ cây và thiosulfat bạc đến sinh trưởng, hệ số nhân và chất lượng cây khoai tây *in vitro*.

### 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sử dụng 2 giống khoai tây Diamant và Mariella *in vitro* sạch bệnh làm vật liệu nuôi cấy và các loại dụng cụ nuôi cấy: hộp nhựa, túi nilon, bình tam giác, bình trụ.

Sử dụng phương pháp nhân giống vô tính trong phòng thí nghiệm: Cây khoai tây được cắt thành nhiều đoạn có 1- 2 nách lá, sau đó cấy vào môi trường MS + 10% nước dừa đã được vô trùng.

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên gồm 4 công thức tương ứng với 4 loại bình nuôi cấy, 3 lần lặp lại, mỗi lần nhắc lại 30 mẫu. Tiến hành thí nghiệm cấy chuyển liên tục qua các thế hệ trên cùng nền môi trường nuôi cấy, trong 3 tuần nuôi cấy.

Bổ sung chất kháng ethylen (Thiosulfat bạc) vào môi trường nuôi cấy với các nồng độ: 0,5ppm; 1ppm; 1,5ppm, trên 2 giống khoai tây Diamant và Mariella, sau đó tiến hành theo dõi các chỉ tiêu

<sup>1</sup> Viện Sinh học Nông nghiệp – Trường ĐHNHI

sinh trưởng phát triển của 2 giống khoai tây này (chiều cao cây, số lá/cây, hệ số nhân chồi, diện tích lá, tình trạng chồi).

Số liệu được xử lý thống kê theo chương trình IRRISTAT.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Sự sinh trưởng phát triển của cây khoai tây *in vitro* trong các loại dụng cụ nuôi cấy khác nhau được thể hiện trên bảng 1 cho thấy: khả năng sử dụng hộp nhựa, bình trụ để nuôi cây là hoàn toàn có thể được vì sự sai khác giữa các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển của cây *in vitro* khi nuôi cấy trong 2 loại dụng cụ trên so với cây được nuôi cấy trong bình tam giác không khác nhau đáng kể ( $P < 0,05$ ), chiều cao cây được nuôi trong bình trụ và hộp nhựa chỉ kém hơn trong bình tam giác từ 0,06-0,39cm và về khối lượng cây tương ứng chỉ kém 0,01- 0,02 g.

**Bảng 1. Ảnh hưởng của bình nuôi cấy đến sinh trưởng phát triển của cây khoai tây *in vitro* (sau 3 tuần nuôi cấy) (giống Diamant)**

Công thức thí nghiệm	Các chỉ tiêu theo dõi				Ghi chú
	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây(lá)	Khối lượng tươi của cây (g)	Hệ số nhân chồi	
Bình tam giác	5,45 c	6,73	0,24 c	1,10	chồi mập, lá xanh
Túi nilon	4,86 a	5,98	0,18 a	1,00	chồi nhỏ, lá hơi vàng
Hộp nhựa	5,06 b	6,08	0,22 b	1,08	chồi mập, lá xanh
Bình trụ	5,39 c	6,62	0,23 bc	1,09	chồi mập, lá xanh
CV(%)	1,8		4,9		
LSD (0,05)	0,175		0,02		

Khi nuôi cấy cây trong túi nilon cây vẫn có khả năng sinh trưởng, phát triển. Tuy nhiên, tốc độ tăng trưởng chậm, các chỉ tiêu theo dõi đều thấp hơn các công thức khác. Có thể sử dụng trong trường hợp nuôi cấy để ra cây ở bồn mạ vì thao tác dễ dàng, tránh làm dập nát cây.

**Bảng 2. Một số yếu tố liên quan đến hiệu quả kinh tế dụng cụ bình cấy**

Bình nuôi cấy	Giá thành dụng cụ bình cấy (đ)	Lượng MT trên bình cấy (ml)	Số cây tối đa trên bình cấy	Khấu hao sau 1 năm sử dụng bình cấy (%)	Diện tích chiếm chỗ/ giàn	Chi phí môi trường/ cây (đ)
Bình tam giác	8000	60	12	17	112	7,5
Túi nilon	30	50	8	100	85	11,3
Hộp nhựa	1500	70	15	65	132	7,2
Bình trụ	1200	50	12	15	170	6,0

Ghi chú: Giá thành 1lít môi trường MS là 1800-2000 đồng

Phân tích các yếu tố liên quan đến hiệu quả của việc sử dụng các dụng cụ khác nhau trong thí nghiệm này (bảng 2) cho thấy: với giá 8000 đồng/ bình, chi phí môi trường là 7,5 (đ/cây) và diện tích chiếm chỗ khá lớn, sử dụng bình tam giác sẽ nâng cao giá thành cây giống do phải đầu tư ban đầu lớn, trong khi đó với giá 1200 đồng/bình (rẻ hơn 6 lần so với bình tam giác) thì việc sử dụng bình trụ đem lại hiệu quả kinh tế cao hơn với chi phí môi trường thấp, diện tích chiếm chỗ lớn hơn.

**Bảng 3. Ảnh hưởng số lần cấy chuyển đến sinh trưởng phát triển của cây khoai tây Diamant *in vitro* (sau 3 tuần nuôi cấy)**

CTTN	Các chỉ tiêu theo dõi				
	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây (lá)	Khối lượng tươi của cây (g)	Hệ số nhân chồi	Tình trạng chồi
G <sub>0</sub>	6,46	7,00	0,22	1,05	++
G <sub>1</sub>	6,50	7,20	0,22	1,06	++
G <sub>2</sub>	7,62	7,64	0,27	1,10	+++
G <sub>3</sub>	7,71	7,60	0,27	1,12	+++
G <sub>4</sub>	6,52	7,48	0,26	1,10	+++
G <sub>5</sub>	6,30	7,34	0,22	1,08	++
G <sub>6</sub>	6,16	7,20	0,21	1,08	++
G <sub>7</sub>	5,91	6,94	0,19	1,07	++
G <sub>8</sub>	5,90	6,90	0,19	1,07	++
G <sub>9</sub>	5,87	6,88	0,17	1,05	++
G <sub>10</sub>	5,86	6,80	0,16	1,03	+
CV(%)	4,00	2,60	6,40		
LSD (0,05)	0,449	0,320			

Ghi chú: G<sub>0</sub>: Thế hệ cây đầu tiên tạo từ mầm củ *in vitro*

G<sub>1</sub> - G<sub>10</sub>: Cây cấy chuyển liên tục từ thế hệ thứ nhất đến thế hệ thứ 10

+ : Chồi gầy, lá nhỏ, kém xanh

++: Chồi vừa, lá xanh

+++: Chồi mập, lá dày, xanh đậm

Kết quả ở bảng 3 cho thấy: khi tiến hành cấy chuyển cây khoai tây từ thế hệ G<sub>0</sub> đến thế hệ G<sub>10</sub>, các thế hệ G<sub>2</sub> và G<sub>4</sub> có chỉ tiêu sinh trưởng và hệ số nhân đạt cao nhất (chiều cao cây đạt 7,62; 7,71 và 6,52 cm/cây, số lá đạt 7,64; 7,60 và 7,48 lá/cây, hệ số nhân đạt từ 1,1 - 1,12). Các thế hệ tiếp theo từ G<sub>5</sub> - G<sub>10</sub> sinh trưởng bắt đầu giảm, đặc biệt từ thế hệ thứ 7 trở đi, cũng tương tự như cây nuôi cấy mô dứa và phong lan, đặc biệt là dứa, sau 4-5 lần cấy chuyển đã xuất hiện hiện tượng biến dị (Nguyễn Quang Thạch & cs, 2003; Nguyễn Trường Sơn & cs, 2003). Do vậy, cây khoai tây *in vitro* chỉ nên cấy chuyển đến lần thứ 3 và 4, cây trẻ sinh lý, có khả năng sinh trưởng tốt.

Hiện tượng cây gầy, yếu, lá nhỏ làm giảm sức sinh trưởng của cây xuất hiện trong quá trình cấy chuyển liên tục, có thể do sự sản sinh ethylen trong quá trình nuôi cấy, gây nên hiện tượng già hoá cây, cây sinh trưởng kém. Số liệu trên bảng 4 và bảng 5 cho thấy việc bổ sung chất kháng ethylen (Thiosulfat bạc) vào môi trường nuôi cấy đã khắc phục được hiện tượng nói trên.

**Bảng 4. Ảnh hưởng của hàm lượng chất kháng ethylen tới sự sinh trưởng phát triển của cây khoai tây Diamant *in vitro* (sau 3 tuần nuôi cấy)**

CTTN	Các chỉ tiêu theo dõi				
	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây (lá)	Hệ số nhân chồi	Diện tích lá (%)	Trạng thái chồi
MS (ĐC)	7,20	7,80	1,07	100,0	+
MS+0,5ppm	6,70	7,47	1,08	187,5	++
MS+1,0ppm	6,30	7,29	1,09	287,5	++
MS+1,5ppm	5,40	7,01	1,12	337,5	+++
CV(%)	2,3			3,2	
LSD (0,05)	0,275			0,038	

Ghi chú: + : chồi gầy yếu, đốt dài, lá nhỏ, màu xanh nhạt

++: chồi trung bình

+++: chồi mập, lá to, đốt thân ngắn, xanh đậm

**Bảng 5. Ảnh hưởng của hàm lượng chất kháng ethylen tới sự sinh trưởng phát triển của cây khoai tây Mariella in vitro (sau 3 tuần nuôi cấy)**

Công thức	Chiều cao cây(cm)	Số lá/cây(lá)	Hệ số nhân chồi	Diện tích lá (%)	Trạng thái chồi
MS (ĐC)	7,50	7,54	1,08	100	+
MS+0,5ppm	7,47	7,55	1,10	213	++
MS+1,0ppm	7,40	7,24	1,08	295	++
MS+1,5ppm	6,77	6,87	1,10	378	+++
CV%	2,2				
LSD0,05	0,307				

Bổ sung thiosulfat bạc vào môi trường nuôi cấy đã làm thay đổi sức sinh trưởng phát triển của cây khoai tây trên cả 2 giống Diamant và Mariella, đặc biệt là diện tích lá và trạng thái chồi có sự khác nhau rõ rệt. Diện tích lá ở các công thức có bổ sung thiosulfat bạc tăng lên so với công thức đối chứng (tăng từ 213 đến 378% so với 100% ở công thức đối chứng) và những công thức có bổ sung chất kháng ethylen chồi khoai mậ, lá khoai to, xanh đậm so với trạng thái chồi yếu, mảnh, lá nhỏ kém xanh, đốt thân dài ở công thức đối chứng. Như vậy, việc bổ sung chất kháng ethylen vào môi trường nuôi cấy có hiệu quả làm tăng diện tích lá, cây sinh trưởng tốt, làm trẻ hoá cây.

#### 4. KẾT LUẬN

Có thể sử dụng các loại bình tam giác, bình trụ, hộp nhựa, túi nilon để nuôi cấy cây khoai tây. Trong đó bình tam giác cho cây sinh trưởng, phát triển tốt nhất và bình trụ làm giảm giá thành cây giống.

Cây khoai tây nhân *in vitro* qua nhiều thế hệ cấy chuyển có xu hướng giảm sinh trưởng, phát triển. Và trạng thái cây cấy chuyển từ lần thứ 2 đến lần 4 cây sinh trưởng phát triển tốt nhất.

Bổ sung thiosulfat bạc ở nồng độ 1-1,5ppm vào môi trường nuôi cấy có tác dụng tăng chất lượng cây, đặc biệt làm tăng diện tích lá của cây lên từ 2,95 – 3,78 lần so với đối chứng.

#### Tài liệu tham khảo

- Nguyễn Quốc Thiện, Phạm Thị Bích Thủy, Phạm Thị Nhung, Vũ Quốc Luận, Nguyễn Trí Minh, Dương Tấn Nhật (2003). *Ảnh hưởng của nuôi cấy thoáng khí lên sự sinh trưởng và phát triển của cây hoa bí nuôi cấy in vitro*. Báo cáo khoa học. Hội nghị CNSH toàn quốc, Hà Nội. NXB khoa học và kỹ thuật, tr. 992 – 996.
- Nguyễn Quang Thạch, Hoàng Minh Tấn, Mai Thị Tân và cộng sự (1991). *Xây dựng mô hình sản xuất giống khoai tây có chất lượng cao bắt nguồn từ nuôi cấy in vitro*. Thông báo khoa học của các trường đại học. Chuyên đề sinh học nông nghiệp. Nxb Nông nghiệp, tr. 67-72.
- Nguyễn Quang Thạch, Nguyễn Thị Lý Anh, Hoàng Thị Nga, Nguyễn Xuân Trường, Đỗ Năng Vịnh (2003). *Nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống và nuôi trồng phong lan Phalaenopsis (lan Hồ điệp)*. Báo cáo khoa học. Hội nghị CNSH toàn quốc Hà Nội. Nxb khoa học và kỹ thuật, tr. 850- 855.
- Đình Trường Sơn, Nguyễn Quang Thạch, Nguyễn Thị Nhẫn, Nguyễn Khắc Thái Sơn, Nguyễn Thị Hương (2003). *Nghiên cứu cải tiến và xây dựng quy trình sản xuất giống dứa Cayenne bắt nguồn từ nuôi cấy mô*. Báo cáo khoa học. Hội nghị CNSH toàn quốc, Hà Nội. Nxb Khoa học và kỹ thuật, tr. 799 - 804.