

SỰ PHÁT SINH CƠ QUAN VÀ PHÁT SINH PHÔI VÔ TÍNH Ở CÂY KHOAI LANG (*IPOMOEA BATATAS* L.) TRONG ống NGHIỆM

NGUYỄN SĨ TUẤN *
HỨA MỸ NGỌC **

GIỚI THIỆU

Trên thế giới, khoai lang có mặt ở hơn 100 quốc gia – đa số là các quốc gia đang phát triển. Khoai lang là một trong năm loại cây lương thực chính, giàu tinh bột, khoáng và vitamin. Trở ngại hàng đầu lâu đời trong sản xuất khoai lang là Sùng Hà (*Cuclax formicarius* – Sweetpotato weevil). Tổn thất do sùng hà gây ra rất lớn, tùy vụ và thời tiết, có thể dao động từ 30 – 80% thu hoạch. Giải pháp mà nhiều nước đang theo đuổi để giảm các tổn thất do Sùng Hà ở khoai lang là tạo giống khoai lang kháng sùng hà bằng công nghệ gen (Trần Văn Minh, 2001). Mặt khác, công nghệ trồng khoai lang ngoài đồng ruộng sử dụng nguồn giống *in vitro* sẽ hạn chế tối đa sâu bệnh cho cây khoai lang. Trên thế giới, các công trình nghiên cứu về khoai lang rất nhiều và từ rất sớm. Tuy nhiên, việc sử dụng kết quả nghiên cứu của các công trình này tại Việt Nam là rất khó khăn, do khả năng tái sinh cây *in vitro* phụ thuộc rất nhiều vào giống (Uyển và cộng sự, 1994, Canttlife và cộng sự, 1988). Vi nhân giống khoai lang bằng nuôi cấy đỉnh sinh trưởng (0,1 mm) được tách ra từ các chồi phát sinh từ mầm củ được nghiên cứu từ sớm với rất nhiều công bố (Alconero và cộng sự, 1975; IITA, 1981; McRae, 1981; Moran và cộng sự, 1983; IBPGR, 1987; Zamora và cộng sự, 1993). Khoai lang cũng được nhân giống từ nuôi cấy đốt thân (Moran và cộng sự, 1983). Môi trường căn bản để vi nhân giống khoai lang là môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962) bổ sung thiamin và inositol, với 50 g/l đường (IBPGR, 1987) hoặc 30 g/l (Nair và cộng sự, 1994). BA và NAA thường được sử dụng trong môi trường cảm ứng trong khi môi trường tái sinh ít sử dụng chúng. GA (1 mg/l) cho thấy vai trò rất hiệu quả trong việc tái sinh từ nuôi cấy đỉnh sinh trưởng khi tổ hợp với 1 mg/l IAA và Kinetin (Rey và cộng sự, 1985). Sự phát triển của cây khoai lang *in vitro* được cải thiện dưới các điều kiện vi nhân giống quang tự dưỡng (không bổ sung đường trong môi trường nuôi cấy, cường độ chiếu sáng 100 $\mu\text{M m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PPFD và nồng độ CO_2 cao) (Kozai và cộng sự, 1993). Một quy trình gồm 2 giai đoạn cho thấy hiệu quả hơn để vi nhân giống 27 giống khoai lang đã được công bố. Giai đoạn đầu, các lá được cấy lên môi trường MS có bổ sung 0,1 mg/l 2,4-D và 0,2 mg/l zeatin cho tới khi cuống lá bắt đầu phình lên (2-4 ngày). Giai đoạn thứ hai, chúng được cấy truyền sang môi trường MS có bổ sung 0,8 mg/l zeatin và đạt được tần số tái sinh chồi cao (Desai và cộng sự, 1995). Nghiên cứu đầu tiên về sự phát sinh chồi từ rễ *in vitro* cây khoai lang có lẽ là công bố của Hwang và cộng sự (1983). Theo nghiên cứu này, đầu tiên các đoạn rễ kích thước 2-3 mm được cấy lên môi trường MS biến đổi có bổ sung nồng độ muối khoáng cao, 100 mg/l meo-inositol, 2 mg/l BA, 0,1 mg/l NAA, 30 g/l đường và 10 g/l agar. Sau đó, từ các nốt rễ sẽ tạo mô sẹo và các vùng giống như mô phân sinh để phát triển tiếp thành chồi. Tiếp sau đó, Berlamino đã công bố việc tái sinh chồi từ các nốt rễ khoai lang *in vitro* trên chính

*, ** Cựu sinh viên khoa Công nghệ Sinh học - ĐH Mở TP. HCM

giống Benni Azuma bằng cách nuôi cấy mô lá trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l 2,4-D và 0,1 mg/l BA và thu được tần số tái sinh là 60% với 9 chồi/rễ (Berlamino, 1993). Năm 1995, Pido và cộng sự đã đưa ra 2 môi trường nuôi cấy thích hợp để tái sinh chồi từ rễ *in vitro*, đĩa lá (leaf disc) và đoạn thân là môi trường MS có bổ sung 0,19 mg/l NAA và môi trường B₅ có bổ sung 0,1 mg/l NAA. Một quy trình gồm 2 giai đoạn: đầu tiên, tách lấy cuống lá ủ trong môi trường MS bổ sung 0,2 mg/l 2,4-D trong 3 ngày. Sau đó, chuyển mô sang môi trường thứ hai: môi trường khoáng MS bổ sung 0,02 mg/l TDZ và 2i-P. Kết quả cho thấy sự tái sinh chồi trực tiếp đạt được ở 8 trên 13 giống khảo sát, trong đó giống PI 318846 – 3 có khả năng tái sinh tốt nhất, với tần số tái sinh đạt 77% và 1 đến 3 chồi/cuống lá (Gosukonda và cộng sự, 1995). Thành công đầu tiên về tái sinh khoai lang thông qua mô sẹo được thực hiện bởi Yamaguchi và cộng sự vào năm 1974. Công bố cho thấy sự hình thành mô sẹo từ rễ củ trên môi trường White có bổ sung 1,01 mg/l NAA và tái sinh chồi trên môi trường MS có bổ sung 1 mg/l ABA, 0,02 mg/l kinetin và 0,04 mg/l 2,4-D. Năm 1984, Liu và Cantliffe công bố sự hình thành mô sẹo từ lá, đỉnh chồi, thân và rễ trên môi trường MS có bổ sung 0,5 đến 2 mg/l 2,4-D. Các dạng mô sẹo chắc (compact calli) và xốp (friable calli) được tạo thành. Từ cấu trúc mô sẹo chắc nhô lên các mô phôi khi được chuyển sang môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng thực vật, sau đó phát triển thành cây con. Sự phát sinh phôi soma được thiết lập từ nuôi cấy dịch huyền phù tế bào (Chee và cộng sự, 1988). Việc bổ sung 0,5 mg/l NAA vào môi trường MS có ý nghĩa quan trọng trong việc kích thích mô lá tạo mô sẹo và hình thành rễ (Sheng, 1989). Chee và cộng sự (1990) cho rằng bằng cách giảm nồng độ đường trong môi trường nuôi cấy xuống còn 1,6% cùng với việc bổ sung 2,4-D sẽ tăng cường sự phát triển phôi. Một tần số tái sinh cây cao được thiết lập từ các mô sẹo có nguồn gốc từ các mảnh lá khoai lang *in vitro* nuôi cấy trên môi trường LS có bổ sung 0,5 mg/l 2,4-D, 3 g/l dịch chiết nấm men, 50 g/l đường và chuyển sang môi trường thứ hai gồm khoáng LS có bổ sung 2 mg/l ABA hoặc 2 mg/l AgNO₃ để tái sinh thành cây (Otani và cộng sự, 1996). Một quy trình tái sinh cây trực tiếp gồm 2 giai đoạn cũng đã được công bố bởi Prakash và cộng sự (1996). Các mô cuống lá được nuôi cấy trong môi trường MS có bổ sung 2,4-D trong giai đoạn đầu tiên và TDZ trong giai đoạn thứ hai. Công bố cho thấy khả năng tái sinh cây phụ thuộc vào kiểu di truyền, giai đoạn phát triển và hướng đặt mô cuống lá trên môi trường nuôi cấy. Các kết quả tương tự cũng đã được chứng minh, với nồng độ TDZ dao động từ 0,2 đến 1 mg/l (Fung và Tsey, 1996). Việc thêm 2,5 mg/l ABA vào môi trường MS tăng cường sự phát sinh phôi soma ở khoai lang. Tương tự, 2,4-D ở nồng độ 0,2 mg/l cũng tăng cường sự phát sinh phôi thứ cấp từ phôi sơ cấp (Sheng và cộng sự, 1996). Năm 1997, Liu và cộng sự đã thiết lập thành công một hệ thống hiệu quả qua nuôi cấy dịch huyền phù tế bào có khả năng phát sinh phôi và tái sinh thành cây ở khoai lang bằng cách sử dụng 2,4-D và ABA. Cũng trong năm 1997, Sihachakr đã nghiên cứu thành công hệ thống tái sinh cây khoai lang qua con đường phát sinh phôi. Các nhân tố ảnh hưởng đến việc tạo mô sẹo và hình thành chồi cũng đã được thực hiện. Công bố này đã cung cấp một loại môi trường cải biên trong nghiên cứu tái sinh khoai lang, môi trường SPM (the Standard Sweet Potato Medium). SPM là môi trường MS có bổ sung vitamin Staba, 100 mg/l mgo-inositol, 50 mg/l vitamin C và 30 g/l đường. Kết quả cho thấy trên môi trường SPM có bổ sung tổ hợp của 0,5 mg/l kinetin và 0,1 mg/l 2,4-D, mô tái tạo chồi. Gần đây, một công bố nêu sự tái sinh chồi và hình thành cây từ mô rễ có nguồn gốc *in vitro* bằng cách nuôi cấy các mảnh lá khoai lang trên môi trường khoáng MS có bổ sung 0,05 mg/l 2,4-D, 0,5 mg/l kinetin và 1 mg/l ABA. Trên môi trường này, các rễ bất định (phát sinh từ mô lá *in vitro*) được tạo thành sau 2-3 tuần nuôi cấy và chồi được tái sinh trực tiếp từ các nốt rễ (nodular root) *in vitro*. Công bố này cũng ghi nhận nồng độ 0,2 mg/l NAA có vai trò trong

việc tái sinh chồi từ rễ, mô sẹo và lá (Tuấn và cộng sự, 2005). Tại Việt Nam, chúng tôi chưa tìm thấy bất cứ tài liệu có giá trị công bố nào đề cập về khả năng tái sinh thành cây ở khoai lang thông qua con đường phát sinh phôi soma và phát sinh cơ quan. Chính vì thế, việc nghiên cứu khả năng tái sinh thành cây trực tiếp và gián tiếp từ các bộ phận khác nhau của cây khoai lang, nghiên cứu phương pháp vi nhân giống hiệu quả cây khoai lang tái sinh sẽ cung cấp một quy trình rất có ý nghĩa về mặt khoa học (nghiên cứu chuyển gen) và thực tiễn (sản xuất cây từ nguồn cây nuôi cấy mô). Chính vì những lý do trên, chúng tôi quyết định thực hiện đề tài: "Xây dựng hệ thống tái sinh cây khoai lang qua hai con đường: phát sinh phôi soma và phát sinh cơ quan".

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

VẬT LIỆU Giống khoai lang Benni Azuma *in vitro* 5 tuần tuổi, cao khoảng 4 cm, khỏe mạnh được sử dụng làm vật liệu thí nghiệm. Các đoạn thân (không chứa chồi nách) dài khoảng 0,5 mm. Chọn ngẫu nhiên vị trí đốt là đốt thứ 3 tính từ ngọn cây *in vitro*. Các lá còn cuống ở vị trí từ thứ 2 đến thứ 4 (tính từ ngọn cây xuống) được tách riêng phần lá và cuống để nuôi cấy. Lá được cắt ngang làm đôi và chọn cấy "phần căn bản" của lá (the basal part of leaf). Môi trường nuôi cấy là môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng và đường tùy vào mục đích thí nghiệm.

PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ NAA, nồng độ 2,4-D lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy mô lóng thân, cuống lá và lá khoai lang *in vitro*. Trên môi trường MS, NAA được bổ sung vào ở các nồng độ 0,1 mg/l; 0,2 mg/l; 0,5 mg/l; 1,0 mg/l; 2,0 mg/l. Trên môi trường MS, 2,4-D được bổ sung vào ở các nồng độ 0,1 mg/l; 0,2 mg/l; 0,5 mg/l; 1,0 mg/l; 2,0 mg/l.

Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ 2,4-D và KIN lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy mô lá khoai lang *in vitro*. Trên môi trường MS, bổ sung tổ hợp của 0,5 mg/l KIN với các nồng độ 2,4-D (0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,2).

Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ ABA, tổ hợp 2,4-D và KIN lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy mô lá khoai lang *in vitro*. Trên môi trường MS có bổ sung tổ hợp 2,4-D và KIN với nồng độ tối ưu cho sự phát sinh chồi, các nồng độ ABA (0,5; 1,0; 2,0; 3,0 và 4,0 mg/l) được bổ sung.

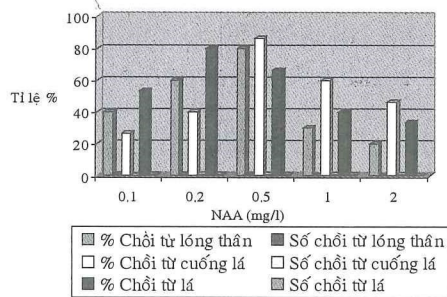
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả ảnh hưởng của nồng độ NAA, nồng độ 2,4-D lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy mô lóng thân, cuống lá và lá khoai lang *in vitro*.

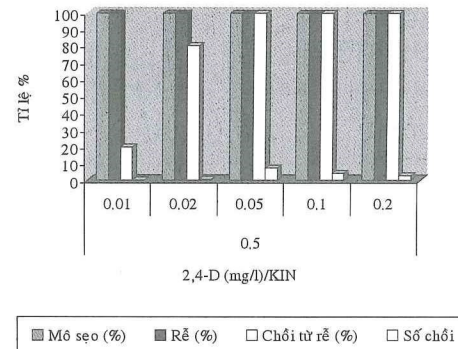
Bảng 1: Ảnh hưởng của nồng độ NAA, nồng độ 2,4-D lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy mô lóng thân, cuống lá và lá khoai lang *in vitro*.

Loại mẫu cây	Chỉ tiêu theo dõi		Mô sẹo (%)	Rễ (%)	Chồi (%)	Số chồi
	Nồng độ chất ĐHSTTV					
	NAA (mg/l)	2,4-D (mg/l)				
Lóng thân	0,1	0	100	100	40	$0,4 \pm 0,50$
	0,2		100	100	60	$0,6 \pm 0,50$
	0,5		100	100	80	$0,8 \pm 0,41$
	1,0		100	100	30	$0,3 \pm 0,48$
	2,0		100	100	20	$0,2 \pm 0,41$
	0	0,1	100	0	0	0
		0,2	100	0	0	0
		0,5	100	0	0	0
		1,0	100	0	0	0
		2,0	100	0	0	0
Cuống lá	0,1	0	100	100	26,7	$0,3 \pm 0,4$
	0,2		100	100	40	$0,4 \pm 0,5$
	0,5		100	100	86,7	$0,9 \pm 0,7$
	1,0		100	100	60	$0,6 \pm 0,5$
	2,0		100	100	46,7	$0,5 \pm 0,5$
	0	0,1	100	0	0	0
		0,2	100	0	0	0
		0,5	100	0	0	0
		1,0	100	0	0	0
		2,0	100	0	0	0
Lá	0,1	0	100	100	53,3	$0,5 \pm 0,5$
	0,2		100	100	80	$0,8 \pm 0,7$
	0,5		100	100	66,67	$0,7 \pm 0,7$
	1,0		100	100	40	$0,4 \pm 0,5$
	2,0		100	100	33,3	$0,3 \pm 0,5$
	0	0,1	100	0	0	0
		0,2	100	0	0	0
		0,5	100	0	0	0
		1,0	100	0	0	0
		2,0	100	0	0	0

Biểu đồ 1: Ảnh hưởng của nồng độ NAA lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy mô lông thân, cuống lá và lá khoai lang *in vitro* sau 45 ngày



Biểu đồ 2: Ảnh hưởng của nồng độ 2,4-D và kinetin lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy mô lá khoai lang *in vitro* sau 45 ngày nuôi cấy



Kết quả thí nghiệm thể hiện trong bảng 1 và biểu đồ 1.

Từ bảng 1 cho thấy 2,4-D chỉ kích thích tạo mô sẹo trong nuôi cấy mô lá, cuống lá và lông thân khoai lang *in vitro*. Từ bảng 1 và biểu đồ 1 cho thấy NAA có vai trò rõ nét trong quá trình phát sinh chồi trực tiếp từ mô lông thân (hình 1e, f), cuống lá và lá (hình 1b, a) khoai lang *in vitro*. Thí nghiệm này cũng cho thấy NAA có khả năng kích thích mô khoai lang phát sinh rễ, trong khi 2,4-D thì không. Đối với mô lông thân và cuống lá, nồng độ 0,5 mg/l NAA thích hợp nhất để mô tái sinh chồi (lần lượt đạt 80% và 86,7%) và số chồi trung bình cũng đạt cao nhất (lần lượt là 0,8 và 0,9 chồi/mô). Biểu đồ 1 và bảng 1 cho thấy khả năng tái sinh chồi và số chồi/mô tăng dần khi nồng độ NAA tăng từ 0,1 mg/l đến 0,5 mg/l và giảm dần khi nồng độ NAA tiếp tục tăng đến 2 mg/l. Có lẽ nồng độ NAA cao (hơn 1 mg/l) gây độc cho mô và phá vỡ sự điều hòa giữa hoocmon nội sinh và ngoại sinh trong mô. Đối với thí nghiệm ở mô cuống lá, kết quả cho thấy tần số tái sinh cao nhất đạt 86,7%, cao hơn kết quả của Gosukonda và cộng sự công bố năm 1995 (77%), mặc dù số chồi/mô thấp hơn (chỉ đạt 0,9 chồi/cuống lá so 1 đến 3 chồi/cuống lá). Đối với mô lông thân, tần số tái sinh cao nhất đạt 80%, cao hơn so công bố của Pido và cộng sự năm 1995 (đạt tần số tái sinh cao nhất là 60%). Tuy nhiên, cả Gosukonda và Pido đều tiến hành trên các giống khoai lang khác với thí nghiệm này. Đối với mô lá, tần số tái sinh đạt cao nhất (80%) trên môi trường MS có bổ sung 0,2 mg/l NAA. Kết quả này cao hơn rất nhiều so với công bố của Pido và cộng sự năm 1995 (chỉ đạt tần số tái sinh 30% với giống Kokei và 50% với giống jewel). Hơn nữa, nghiên cứu của nhóm tác giả Pido mất 60 ngày, lâu hơn thí nghiệm này.

Kết quả ảnh hưởng của nồng độ 2,4-D và KIN lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy mô lá khoai lang *in vitro*.

Bảng 2: Ảnh hưởng của KIN và nồng độ 2,4-D lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy mô lá khoai lang *in vitro*.

Chỉ tiêu theo dõi		Mô sẹo (%)	Rễ (%)	Chồi từ rễ (%)	Số chồi
Nồng độ chất ĐHSTTV					
KIN (mg/l)	2,4-D (mg/l)				
0,5	0,01	100	100	20	0,2 ± 0,4
	0,02	100	100	80	0,8 ± 0,7
	0,05	100	100	100	7,5 ± 1,2
	0,1	100	100	100	4,2 ± 1,1
	0,2	100	100	100	2,7 ± 0,9

Từ bảng 2 và biểu đồ 2 cho thấy tổ hợp của 0,5 mg/l KIN với các nồng độ 2,4-D thấp (dưới 0,2 mg/l) đã điều hòa quá trình phát sinh mô sẹo, rễ và chồi từ nuôi cấy mô lá *in vitro*. Tuy nhiên, trong thí nghiệm này, chồi được tái sinh từ các nốt rễ có nguồn gốc mô lá *in vitro* (hình 1c, d). Kết quả từ bảng 2 và biểu đồ 2 cho thấy tần số tái sinh chồi từ rễ đạt 100%, cao hơn rất nhiều so kết quả của Berlamino công bố năm 1993 cũng chính từ giống khoai lang Benni Azuma. Mặc dù vậy, số chồi/rễ của thí nghiệm này chỉ đạt tối đa 7,5 chồi/rễ so với 9 chồi/rễ mà tác giả Berlamino đã công bố. Kết quả này cũng cao hơn rất nhiều so với chính công bố của chúng tôi năm 2005 (Tuấn và cộng sự, 2005).

Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ ABA, tổ hợp 2,4-D và KIN lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy mô lá khoai lang *in vitro*.

(*) Mỗi lá phát sinh phôi soma và tái sinh thành khoảng 10 – 15 chồi.

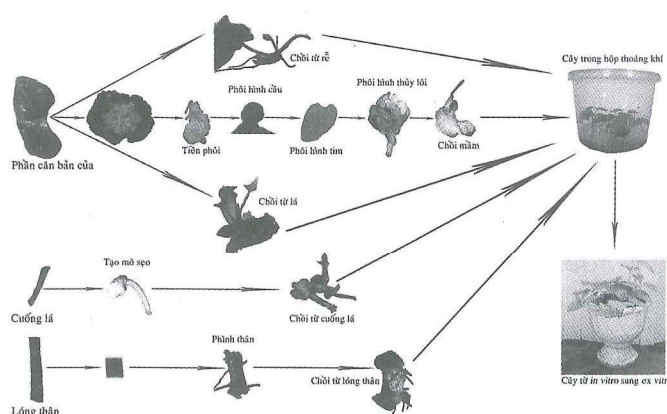
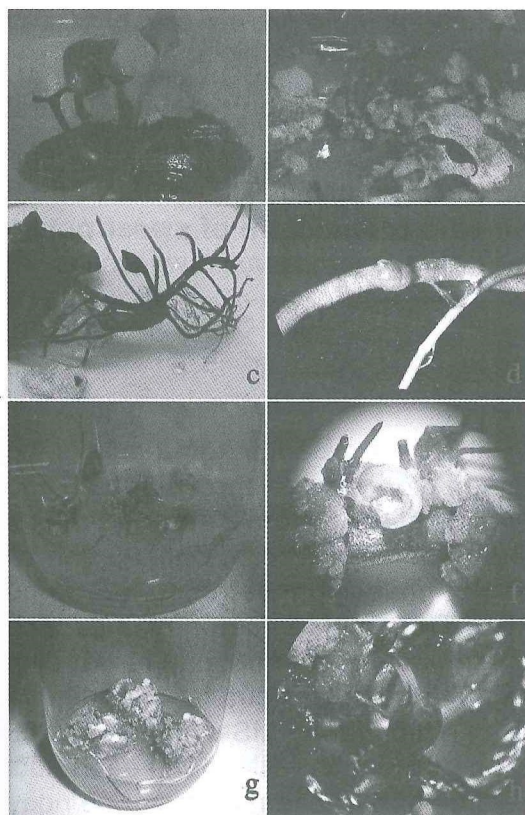
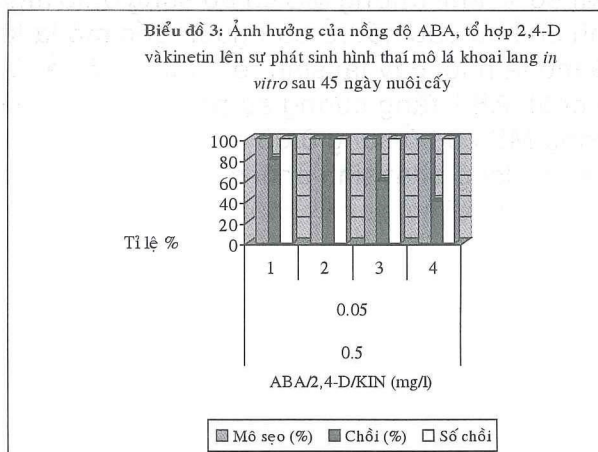
Bảng 3: Ảnh hưởng của KIN nồng độ 2,4-D và ABA lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy mô lóng thân, cuống lá và lá khoai lang *in vitro*.

Chỉ tiêu theo dõi			Mô sẹo (%)	Mô phôi (%)	Chồi (%)	Số chồi
Nồng độ chất ĐHSTTV						
KIN (mg/l)	2,4-D (mg/l)	ABA (mg/l)				
0,5	0,05	0,5	100	26,67	100	Rất nhiều(*)
		1,0	100	80	100	
		2,0	100	100	100	
		3,0	100	60	100	
		4,0	100	40	100	

Từ bảng 3 và biểu đồ 3 cho thấy vai trò của ABA tăng cường sự phát sinh phôi soma ở khoai lang (hình 1g, h). Ở tổ hợp của 0,5 mg/l KIN, 0,05 mg/l 2,4-D và 2 mg/l ABA cho thấy 100% mô lá nuôi cấy có khả năng phát sinh phôi soma. Quá trình phát sinh phôi

soma này trải qua đủ các giai đoạn phát sinh phôi soma: phôi hình cầu – hình tim – hình thủy lôi (hình 2). Tại Việt Nam hiện nay, việc xây dựng một hệ thống tái sinh cây khoai lang thông qua con đường phát sinh phôi – phương thức được nhiều nhà khoa học xem là hiệu quả nhất để chuyển gen (đặc biệt là gen kháng Sùng Hà) vào cây khoai lang vẫn đang là câu hỏi bỏ ngỏ. Do đó, bất cứ quy trình hiệu quả nhằm tái sinh cây khoai lang qua phôi soma nào cũng cần được xem xét tham khảo.

Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy tần số phát sinh phôi soma cao hơn mọi công bố trên thế giới.



Hình 2. Quy trình tái sinh cây khoai lang (*Ipomoea batatas*) qua hệ thống phát sinh phôi soma và phát sinh cơ quan

Hình 1. Ảnh hưởng của các chất ĐHSTTV lên sự phát sinh hình thái từ nuôi cấy các mô cây khoai lang (*Ipomoea batatas* cv. BenniAzuma)

- Chồi tái sinh trực tiếp từ mô lá sau 45 ngày nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 0,2 mg/l NAA
- Chồi tái sinh trực tiếp từ mô củ sau 45 ngày nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA
- Chồi tái sinh trực tiếp từ các nốt rễ có nguồn gốc mô lá sau 45 ngày nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA
- Hình thái chồi từ các nốt rễ - quan sát dưới kính hiển vi soi nổi
- Chồi tái sinh trực tiếp từ mô củ sau 45 ngày nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA
- Hình thái chồi từ củ - quan sát dưới kính hiển vi soi nổi
- Sự phát sinh phôi vô tính từ mô lá sau 45 ngày nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 0,05 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l KIN + 2,0 mg/l ABA
- Hình thái phôi và chồi nảy mầm từ phôi - quan sát dưới kính hiển vi soi nổi

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Môi trường MS có bổ sung NAA ở nồng độ từ 0,5 mg/l trở xuống 0,1 mg/l thích hợp để tái sinh chồi trực tiếp từ mô lá, cuống lá và lóng thân khoai lang *in vitro* sau 45 ngày nuôi cấy. Môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA thích hợp nhất để tái sinh chồi trực tiếp từ mô lóng thân và cuống lá khoai lang *in vitro*. Sau 45 ngày nuôi cấy, 1 lóng thân tái sinh được 0,8 chồi với tần số tái sinh đạt 80% và một cuống lá tái sinh được 0,9 chồi với tần số tái sinh đạt 86,7%. Môi trường MS có bổ sung 0,2 mg/l NAA thích hợp nhất để tái sinh chồi trực tiếp từ mô lá khoai lang *in vitro*. Sau 45 ngày nuôi cấy, một lá tái sinh được 0,8 chồi với tần số tái sinh đạt 80%. Môi trường MS có bổ sung 0,05 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l KIN thích hợp nhất để tái sinh chồi từ các nốt rễ có nguồn gốc mô lá khoai lang *in vitro*. Sau 45 ngày nuôi cấy, 100% mô lá nuôi cấy tái sinh rễ. 100% mô rễ tái sinh chồi. Kết quả là một lá tái sinh được 7,5 chồi. ABA tăng cường sự phát sinh phôi soma ở cây khoai lang nuôi cấy *in vitro*. Môi trường MS có bổ sung 0,05 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l KIN + 2 mg/l ABA thích hợp nhất để mô lá khoai lang phát sinh phôi soma. Sau 45 ngày nuôi cấy, 100% mô lá phát sinh phôi soma, 100% phôi soma nảy mầm thành 10 – 15 chồi

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. NGUYỄN VĂN UYẾN. 1994. **Ứng dụng nuôi cấy mô phục vụ công tác giống cây trồng**. NXB Nông nghiệp.
2. TRẦN VĂN MINH. 2001. **Công nghệ sinh học thực vật**. NXB ĐH Nông Lâm Tp HCM.
3. Murashige T. & Skoog F. 1962. **A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissues**. *Physiol.-Plant* 15. 473–496.
4. Chadha L. K., Ravindran N. P. and Leela S. 2000. **Biotechnology in Horticultural and Plantation Crops**. Malhotra Publishing House. New Delhi. India.
5. Tuan S. N., Mai T. N., Thuy T. T. D., Uyen V. N. and Nhut T. D. 2005. **Shoot regeneration and plant formation derived from *in vitro* root culture of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.)**. *Proceedings of Vietnam – Korea international symposium on Biotechnology and Bio-system engineering*. 174-180.

TÓM TẮT

Việc nghiên cứu hệ thống tái sinh ở giống khoai lang BenniAzuma-một giống khoai lang cao sản, sẽ mở ra một quy trình nhân nhanh giống khoai lang với tần số cao để phục vụ cho các nghiên cứu chuyển gen. Mỗi lá được cắt ngang làm 2 mảnh và được cấy lên môi trường MS có bổ sung ABA, KIN và 2,4-D. Tần số phát sinh phôi vô tính và số chồi trung bình trên mỗi mảnh lá ban đầu đạt cao nhất trên môi trường MS có bổ sung 0,05 mg.l⁻¹ 2,4-D, 0,5 mg.l⁻¹ KIN và 2 mg.l⁻¹ ABA. Trong nghiên cứu này, một cách tiếp cận mới trong nghiên cứu về sự tái sinh và nhân nhanh cây từ nuôi cấy rễ bất định có nguồn gốc mô lá, sự tái sinh chồi trực tiếp từ các phần căn bản của lá, cuống lá và lóng thân được trình bày. Các rễ bất định hình thành trên môi trường MS có bổ sung 0,05 mg.l⁻¹ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) và 0,5 mg.l⁻¹ kinetin (KIN) bằng cách nuôi cấy mảnh lá trong 45 ngày. Các chồi được tái sinh trực tiếp từ các nốt rễ sau 45 ngày

nuôi cấy. Mặt khác, sự tái sinh chồi trực tiếp được thiết lập trên môi trường MS chứa 0,1 tới 0,5 mg.l⁻¹ NAA từ sự nuôi cấy các phần căn bản của lá, cuống lá và lóng thân sau 45 ngày nuôi cấy. Khi chuyển ra vườn ươm, cây sinh trưởng và phát triển mạnh mẽ.

SUMMARY

The study of regenerated system of sweet potato (*Ipomoea batatas* cv. Benniazuma) – the high yield genotype, will be a prospect of rapid micropropagation and supply protocol of high frequency of shoot regeneration for transformation study. Each leaf was horizontally cut into two segments and cultured on MS medium supplemented with ABA, KIN and 2,4 - D. The highest frequencies of somatic embryogenesis and shoot number per original leaf segment were obtained on MS medium supplemented with 0.05 mg.l⁻¹ 2,4-D, 0.5 mg.l⁻¹ KIN and 2 mg.l⁻¹ ABA. In this study, a new approach to sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) regeneration and micropropagation via adventitious roots derived from leaf segments, shoot direct regeneration from the basal part of leaf, petioles and internodes were presented. Adventitious roots were formed on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium containing 0.05 mg.l⁻¹ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) and 0.5 mg.l⁻¹ kinetin (KIN) by culturing leaf segments after 45 days. Shoots were the directly regenerated from nodular roots after 45 days. In the other hand, shoot direct regeneration was established on MS medium supplemented with 0.1 to 0.5 mg.l⁻¹ NAA by culturing the basal part of leaf, petioles and internodes after 45 days. Plantlets derived from adventitious roots showed normal growth and uniform features. When transferred to the nursery, these plantlets grew and developed vigorously.

KEYWORDS

Somatic embryogenesis⁽¹⁾, organogenesis⁽²⁾, the basal part of leaf⁽³⁾, petiole⁽⁴⁾, internode⁽⁵⁾, *Ipomoea batatas*⁽⁶⁾, adventitious root⁽⁷⁾, nodular root⁽⁸⁾, Benniazuma⁽⁹⁾