

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY KHOAI LANG

Vũ Thị Lan^{1*}, Phạm Bích Ngọc²

¹Trường Đại học Khoa học - ĐH Thái Nguyên,

²Viện Công nghệ Sinh học, Viện HLKH và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu về nhân giống *in vitro* một số giống khoai lang Việt Nam. Đầu tiên, các chồi khoai lang được rửa sạch đất cát và khử trùng mẫu bằng cồn 70% trong 45 - 60 giây, tráng nước cất và khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% trong 3 phút và 1,5 phút. Hiệu quả khử trùng đạt cao với tỉ lệ mẫu sống đạt 58%. Môi trường MS bổ sung BAP nồng độ 1,5 mg/l (NB3) hoặc bổ sung kết hợp kinetin 0,5 và 1,0 mg/l với BAP 1,0 mg/l (NK2B2, NK2B2) phù hợp cho tạo đa chồi đối với đoạn thân khoai lang. Các cây con *in vitro* được đưa ra trồng trên giá thể đất có tỉ lệ sống cao (77%), sau 30 ngày cây sinh trưởng và phát triển rất tốt, có hình thái bình thường như các cây đối chứng.

Từ khóa: Đoạn thân, khử trùng, $HgCl_2$ 0,1 %, khoai lang, tái sinh chồi

MỞ ĐẦU

Khoai lang là cây lương thực quan trọng trên thế giới và ở Việt Nam sau lúa, ngô và sắn. Ở Việt Nam, khoai lang được trồng phổ biến khắp các vùng vì không đòi hỏi thâm canh cao mà vẫn có thể cung cấp lượng lớn sinh khối làm lương thực, thực phẩm cho con người và thức ăn cho chăn nuôi. Các giống khoai lang đang trồng ở các vùng chuyên canh chủ yếu là giống địa phương có năng suất và phẩm chất tương đối tốt. Tuy nhiên, phần lớn giống sản xuất do nông dân tự để giống nên bị thoái hoá nghiêm trọng. Vì vậy, việc nhân giống khoai lang bằng nuôi cấy *in vitro* nhằm cung cấp cây giống sạch sâu bệnh, giống trẻ, khoẻ, sinh trưởng phát triển tốt, khôi phục lại năng suất ban đầu của giống là rất cần thiết. Phương thức tái sinh cây khoai lang *in vitro* có thể thông qua sự phát sinh cơ quan trực tiếp hoặc gián tiếp qua mô sẹo. Phương thức tái sinh và nhân giống khoai lang qua sự phát sinh cơ quan trực tiếp có ưu điểm là thời gian nuôi cấy ngắn, môi trường nuôi cấy đơn giản, đặc biệt là hạn chế sự xuất hiện các biến dị soma. Tái sinh trực tiếp ở khoai lang đã được báo cáo thành công từ nguyên liệu là mảnh lá [1, 3, 6, 7] và cuống lá, đốt thân [2, 3].

Bài báo này trình bày các kết quả nghiên cứu về quy trình nhân giống *in vitro* một số giống

khoai lang Việt Nam nhằm mục đích tạo ra nguồn cung ứng giống sạch, chất lượng tốt cho sản xuất và cung cấp nguyên liệu cho các nghiên cứu chuyên gen ở khoai lang.

VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu: Giống khoai lang Chiêm Dâu, Hoàng Long, KBI, KSI do Phòng Công nghệ tế bào thực vật - Viện Công nghệ Sinh học cung cấp.

Phương pháp nghiên cứu:

Phương pháp khử trùng mẫu cấy: Các đoạn dây khoai lang được chọn lọc từ những cây khoai lang cho năng suất và chất lượng tốt đem trồng vào các chậu đất sạch ở điều kiện nhiệt độ, ánh sáng tự nhiên. Khi các mầm chồi có chiều cao dài 15 - 20 cm thì tiến hành thu mẫu. Mẫu được rửa dưới vòi nước chảy cho sạch đất cát, rửa tiếp mẫu bằng xà phòng loãng, rửa sạch xà phòng rồi tráng mẫu bằng nước cất rồi đưa vào buồng nuôi cấy vô trùng. Tiếp tục tráng mẫu bằng cồn 70% trong vòng 45- 60 giây, sau đó rửa sạch bằng nước cất vô trùng, khử trùng tiếp bằng $HgCl_2$ 0,1% với các khoảng thời gian khác nhau để xác định thời gian khử trùng thích hợp nhất cho từng giống khoai lang. Sau mỗi lần khử trùng mẫu được rửa lại nhiều lần bằng nước cất vô trùng (3-4 lần) (Bảng 1). Mẫu cây sau khi khử trùng xong được cắt thành các đoạn nhỏ có kích thước 1 - 1,5 cm chứa từ 1 - 2 đốt (chồi nách) và cấy lên môi trường MS nuôi dưỡng trong

* Tel. 091-4 594230, Email. lanv@tms.edu.vn

điều kiện ánh sáng 12h/ngày, cường độ 3000 lux; nhiệt độ 25- 28 °C và theo dõi sau 4 - tuần nuôi cấy.

Tài sinh chồi từ đoạn thân có chứa nách lá:

Đoạn thân dài khoảng 1 - 2 cm có chứa một đến hai nách lá được cắt từ cây con *in vitro* giống khoai lang KBI khoảng 3 - 4 tuần tuổi, được cấy lên môi trường MS bổ sung sucrose 3%, KCl 2,23 g/l, gelrite 2,5 g/l và bổ sung chất kích thích sinh trưởng với các nồng độ khác nhau: (1) Bổ sung kinetin ở các nồng độ (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 4,0 mg/l); (2) Bổ sung BAP ở các nồng độ (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 4,0 mg/l); (3) Bổ sung tổ hợp kinetin với các nồng độ (0,5; 1,0; 1,5 mg/l) và BAP với các nồng độ (0,25; 0,5; 1,0; 1,5 mg/l. pH môi trường nuôi cấy là 5,8.

Chuyển cây ra vườn ươm: Khi các cây khoai lang *in vitro* được khoảng 4 - 5 tuần tuổi có chiều cao chồi từ 10 - 15 cm, với bộ rễ phát triển mạnh được trồng vào các bầu với ba loại giá thể nghiên cứu gồm đất, cát, đất pha cát. Các bầu cây sau khi trồng được cho vào các túi nilon, nuôi trong phòng nuôi cấy với điều kiện ánh sáng và nhiệt độ như nuôi cấy *in vitro* trong khoảng 2 - 3 tuần. Sau đó các bầu được chuyển ra nhà lưới với ánh sáng khuếch tán, tưới đủ ẩm để cây thích nghi với điều kiện môi trường và sinh trưởng phát triển.

Điều kiện nuôi cấy: Các bình nuôi cấy được đặt trong buồng nuôi cấy, điều kiện ánh sáng khoảng 3000 - 4000 lux, 12h/ngày và nhiệt độ trung bình của buồng nuôi cấy thường là 25°C.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Nghiên cứu hiệu quả khử trùng

Hiệu quả khử trùng của chế độ khử trùng 3 (KT3) tốt hơn so với các chế độ còn lại đối với bốn giống khoai lang nghiên cứu (Bảng

Bảng 1: Các chế độ khử trùng mẫu khoai lang

| Chế độ khử trùng | KT 1 | KT2 | KT3 | KT4 |
|---|--------|--------|----------------|---------|
| Thời gian khử trùng bằng HgCl ₂ 0,1 % lần 1 (phút) | 5 phút | 4 phút | 3 phút | 2 phút |
| Thời gian khử trùng bằng HgCl ₂ 0,1 % lần 2 (phút) | | 2 phút | 1 phút 30 giây | 30 giây |

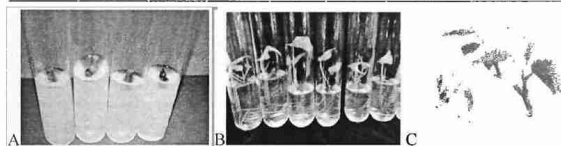
(-) không thực hiện

2). Sau 14 ngày khử trùng và đưa mẫu vào nuôi cấy, tỉ lệ mẫu nhiễm dưới 30% (từ 23 - 30%), tỉ lệ mẫu chết từ 12,5% - 19,23%, tỉ lệ mẫu sống cao dao động từ 57,14% - 58%. Mẫu sau khử trùng vẫn còn xanh, tươi không có hiện tượng bị thâm đen. Sau khoảng gần 1 tuần mới bắt đầu có một số mẫu bị nhiễm khuẩn, nhiễm mốc. Sau 10 - 14 ngày những mẫu còn sống tiếp tục phát triển, tạo rễ và hình thành chồi. Chế độ khử trùng KT1, số lượng mẫu chết đen nhiều do khử trùng lâu (mẫu chết từ 10% - 26,67%), số lượng mẫu nhiễm khuẩn lại vẫn rất cao (39,53% - 62,79%), mẫu phát triển chậm, đối với mẫu còn sống thì có màu hơi thâm. Có thể do khử trùng một lần bằng HgCl₂ 0,1% ở trong 5 phút vẫn chưa loại bỏ hiệu quả các tác nhân nấm, vi khuẩn. Chế độ khử trùng 2 (KT2), tỉ lệ chết rất cao (từ 40% - 55,56%) ở các giống nghiên cứu. Điều này có thể do khử trùng kép với hai khoảng thời gian 4 phút và 2 phút là quá nặng đối với các mẫu khoai lang nghiên cứu. Chế độ KT4 cho tỉ lệ mẫu chết thấp hơn nhưng đồng thời tỉ lệ mẫu nhiễm lại rất cao (từ 48,57% - 63,34%), do vậy mà tỉ lệ sống bị giảm thấp.

Các kết quả thu được cho thấy hiệu quả khử trùng mẫu khoai lang đạt rất thấp, chỉ khoảng 30 - 50%, tùy thuộc vào giống. Hiệu quả vào mẫu thấp đã được báo cáo ở nghiên cứu của Phạm Văn Linh và đtg (2014), với 3 mức thời gian khử trùng khác nhau của 5 giống khoai lang là KCL266, KTB2, Chiêm đầu, KL5, Hoàng Long đều cho kết quả tối ưu đối với HgCl₂ ở nồng độ 0,1%, có tỷ lệ cây sống cao nhất từ 20-30% ứng với thời gian khử trùng là 8 - 10 phút [5]. Điều này có thể do cây khoai lang là loài thân bò, sống bám vào đất nên có nhiều vi khuẩn cộng sinh trong mô dẫn và rất khó để loại bỏ các vi khuẩn này.

Bảng 2. Hiệu quả của chế độ khử trùng các giống khoai lang

| Tên mẫu | Chế độ khử trùng | Số mẫu | Số mẫu nhiễm | Số mẫu chết | Số mẫu sống | Tỉ lệ mẫu nhiễm (%) | Tỉ lệ mẫu chết (%) | Tỉ lệ mẫu sống (%) |
|------------|------------------|--------|--------------|-------------|-------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| Chiêm Dâu | KT1 | 30 | 12 | 8 | 10 | 40,00 | 26,67 | 33,33 |
| | KT2 | 45 | 11 | 25 | 9 | 24,44 | 55,56 | 20,00 |
| | KT3 | 50 | 13 | 8 | 29 | 26,00 | 16,00 | 58,00 |
| | KT4 | 30 | 19 | 1 | 10 | 63,33 | 3,33 | 33,33 |
| Hoàng Long | KT1 | 43 | 27 | 6 | 10 | 62,79 | 13,95 | 23,26 |
| | KT2 | 40 | 15 | 20 | 5 | 37,50 | 50,00 | 12,50 |
| | KT3 | 40 | 12 | 5 | 23 | 30,00 | 12,50 | 57,50 |
| | KT4 | 34 | 19 | 0 | 15 | 55,88 | 0,00 | 44,12 |
| KB1 | KT1 | 43 | 17 | 9 | 17 | 39,53 | 20,93 | 39,53 |
| | KT2 | 50 | 19 | 22 | 9 | 38,00 | 44,00 | 18,00 |
| | KT3 | 52 | 12 | 10 | 30 | 23,08 | 19,23 | 57,69 |
| | KT4 | 25 | 15 | 0 | 10 | 60,00 | 0,00 | 40,00 |
| K51 | KT1 | 50 | 29 | 5 | 16 | 58,00 | 10,00 | 32,00 |
| | KT2 | 50 | 19 | 6 | 25 | 38,00 | 12,00 | 50,00 |
| | KT3 | 42 | 12 | 6 | 24 | 28,57 | 14,29 | 57,14 |
| | KT4 | 35 | 17 | 3 | 15 | 48,57 | 8,57 | 42,86 |

**Hình 1:** Hiệu quả của chế độ khử trùng mẫu

A) mẫu khử trùng cấy lên môi trường MS, B) Chồi tái sinh từ mẫu sạch; C) Cây khoai lang *in vitro*

Ảnh hưởng của BAP và kinetin đến khả năng tái sinh chồi của đoạn thân

Chúng tôi nghiên cứu khả năng tái sinh chồi từ đoạn thân khoai lang *in vitro* trên các môi trường bổ sung các chất kích thích sinh trưởng là BAP và kinetin ở các nồng độ khác nhau: (1) Bổ sung kinetin ở các nồng độ từ 0,5 đến 4,0 mg/l; (2) Bổ sung BAP ở các nồng độ 0,5 đến 4,0 mg/l; (3) Bổ sung tổ hợp kinetin với các nồng độ (0,5; 1,0; 1,5 mg/l) và BAP với các nồng độ (0,25; 0,5; 1,0; 1,5 mg/l) (Bảng 3; Bảng 4; Bảng 5).

Đối với ảnh hưởng của kinetin (Bảng 3): Các môi trường bổ sung kinetin (NK1- NK6) đều cho tỉ lệ tạo chồi đạt cao từ 78,4 đến 100% sau 7 ngày nuôi cấy (bằng hoặc cao hơn so với đối chứng). Bổ sung kinetin đã có hiệu

quả tốt đến khả năng tái sinh chồi của đoạn thân khoai lang, nồng độ có hiệu quả nhất là 2 mg/l (NK4). Các môi trường bổ sung kinetin từ 1,0 đến 2,5 mg/l (NK2-NK5) đều cho tỉ lệ tạo chồi cao trên 90% sau 7 ngày và 100% sau 15 ngày nuôi cấy. Khả năng nhân chồi của các mẫu nuôi cấy trên các môi trường nghiên cứu cũng đều cao hơn so với đối chứng (>1,0 chồi/mẫu). Trong đó, môi trường NK4 cho hiệu quả nhân chồi tốt nhất (số chồi/mẫu đạt 1,38), các môi trường NK2 đến NK5 có số chồi đạt từ 1,08 đến 1,36. Hai môi trường NK1 và NK6 có tỉ lệ tạo chồi và số chồi đạt thấp hơn cả so với các môi trường NK2 đến NK5. Trên các môi trường này, chồi tạo thành thường nhỏ và ngắn, chiều cao kéo dài chậm so với các chồi ở môi trường đối chứng.

Bảng 3: Ảnh hưởng của kinetin đến khả năng tạo chồi của đoạn thân khoai lang

| Môi trường | Kinetin | Số mẫu | 7 ngày | | 15 ngày | |
|------------|---------|--------|--------------------|-------------|--------------------|-------------|
| | | | Tỉ lệ tạo chồi (%) | Số chồi/mẫu | Tỉ lệ tạo chồi (%) | Số chồi/mẫu |
| ĐC | 0 | 30 | 77,8 ± 0,07 | 1,0 ± 0,0 | 77,8 ± 0,07 | 1,0 ± 0,0 |
| NK1 | 0,5 | 30 | 78,4 ± 1,1 | 1,10 ± 0,12 | 78,4 ± 1,2 | 1,10 ± 0,12 |
| NK2 | 1,0 | 30 | 92,3 ± 1,0 | 1,08 ± 0,05 | 100,0 ± 0,0 | 1,08 ± 0,05 |
| NK3 | 1,5 | 30 | 100,0 ± 0,0 | 1,25 ± 0,23 | 100,0 ± 0,0 | 1,31 ± 0,22 |
| NK4 | 2,0 | 30 | 92,8 ± 2,5 | 1,32 ± 0,20 | 100,0 ± 0,0 | 1,48 ± 0,18 |
| NK5 | 2,5 | 30 | 94,3 ± 9,81 | 1,22 ± 0,15 | 100,0 ± 0,0 | 1,36 ± 0,27 |
| NK6 | 4,0 | 30 | 80,0 ± 1,5 | 1,12 ± 0,14 | 80,0 ± 1,5 | 1,20 ± 0,17 |

BAP có ảnh hưởng rất rõ rệt đến khả năng tái sinh chồi từ đoạn thân của cây khoai lang. Trên các môi trường nghiên cứu, tỉ lệ tạo chồi và hệ số nhân chồi đều tăng rõ rệt so với đối chứng (Bảng 4). Tỉ lệ tạo chồi đều đạt cao, trên 90% (trừ môi trường bổ sung BAP 4 mg/l). Hiệu quả tái sinh chồi tăng dần khi bổ sung BAP từ 0,5 mg/l đến 2,0 mg/l (số chồi/mẫu tăng từ 1,28 đến 1,90) và giảm dần khi bổ sung BAP ở nồng độ cao hơn 2,0 mg/l (chỉ đạt 1,50 chồi/mẫu ở nồng độ BAP 4 mg/l). Tỉ lệ tạo chồi và khả năng tái sinh đa chồi trên các môi trường bổ sung BAP cũng tốt hơn so với các môi trường bổ sung kinetin riêng rẽ. Trong các môi trường bổ sung BAP, môi trường NB3 (1,5 mg/l BAP) cho hiệu quả tốt nhất, sau 15 ngày nuôi cấy tỉ lệ tạo chồi đạt 100%, số chồi/mẫu đạt 1,90. Chồi tạo thành phát triển tốt về chiều cao, thân chồi mập, có lá dày, xanh đậm.

Chúng tôi tiếp tục tiến hành các thí nghiệm nuôi cấy các đoạn thân chứa nách lá trên các môi trường MS có bổ sung tổ hợp kinetin và BAP với các nồng độ khác nhau. Kết quả thu được cho thấy các môi trường nghiên cứu đều có hiệu quả kích thích tạo chồi tăng rõ rệt so với đối chứng, hầu hết các môi trường đều có tỉ lệ tạo chồi cao (> 90%) và có sự tạo đa chồi (Bảng 5). Nhóm các môi trường bổ sung 0,5 mg/l kinetin và BAP với các nồng độ từ 0,5 đến 1,5 mg/l (NKB1 - NKB3) cho tỉ lệ tạo chồi rất cao (tỉ lệ mẫu tạo chồi đều đạt 100% sau 15 ngày nuôi cấy). Trong đó, môi trường NKB2 có hiệu quả tạo đa chồi tốt nhất (số chồi/mẫu đạt 2,43) so với hai môi trường NKB1 và NKB3 (chỉ đạt lần lượt 1,16 và 1,33 chồi/mẫu). Tương tự, nhóm môi trường bổ sung 1,0 mg/l kinetin và các nồng độ BAP từ

0,25 đến 1,0 mg/l (NK2B0 - NK2B2) cũng có hiệu quả tái sinh chồi tốt. Sau 7 ngày tỉ lệ mẫu tạo chồi đã đạt cao (> 96%), sau 15 ngày đạt từ 96,43% - 100%. Trong đó, môi trường NK2B2 có hiệu quả tạo chồi tốt nhất (đạt 1,92 chồi/mẫu). Môi trường bổ sung 1,5 mg/l kinetin và BAP các nồng độ 0,25 đến 1,0 mg/l (NK3B0 - NK3B2) cũng cho khả năng tạo chồi tốt. Tỉ lệ tạo chồi sau 15 ngày đạt trên 91% đến 100%, số chồi/mẫu đạt 1,23 đến 1,90, cao nhất ở môi trường NK3B2 là 1,90 chồi/mẫu.

Từ các kết quả nghiên cứu ở trên chúng tôi cho rằng bổ sung BAP nồng độ 1,5 mg/l (NB3) hoặc bổ sung kết hợp kinetin 0,5 - 1,0 mg/l với BAP 1,0 mg/l (NKB2, NK2B2) phù hợp cho kích thích khả năng tạo đa chồi đối với đoạn thân khoai lang. Điều này khẳng định rằng bổ sung tổ hợp kinetin và BAP là có hiệu quả tốt cho tạo chồi ở khoai lang và có thể nhân chồi khoai lang với các đoạn thân có chứa một hoặc hai nách lá. Các chồi sau khoảng 2 - 3 tuần được tách ra và cấy chuyển lên môi trường MS sẽ thuận lợi cho kéo dài chồi và tạo cây hoàn chỉnh. Kết quả này cao hơn so với kết quả nghiên cứu trước đây của chúng tôi khi nhân chồi từ đoạn thân trên môi trường CKB2 là môi trường MS bổ sung nước dừa 10 %, kinetin 0,5 mg/l, BAP 1 mg/l với tỉ lệ tạo chồi 96% và số chồi/mẫu là 1,53 [4]. Ngoài ra, theo Phạm Văn Linh và đtg, môi trường nhân nhanh thích hợp đối với 6 giống khoai lang khác nhau cũng rất khác nhau, trong đó giống KBI thích hợp với chất kích thích sinh trưởng GA₃ (1ppm) kết hợp với IAA (2ppm). Tuy nhiên, nhóm tác giả không công bố số liệu cụ thể về các chỉ tiêu nghiên cứu đạt được [5].

Bảng 4: Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tạo chồi của đoạn thân khoai lang

| Môi trường | BAP (mg/l) | Số mẫu | 7 ngày | | 15 ngày | |
|------------|------------|--------|--------------------|-------------|--------------------|-------------|
| | | | Tỉ lệ tạo chồi (%) | Số chồi/mẫu | Tỉ lệ tạo chồi (%) | Số chồi/mẫu |
| ĐC | 0 | 30 | 93,33 ± 5,77 | 1,03 ± 0,57 | 93,33 ± 5,77 | 1,03 ± 0,57 |
| NB1 | 0,5 | 30 | 94,4 ± 1,9 | 1,18 ± 0,15 | 100,0 ± 0,0 | 1,28 ± 0,22 |
| NB2 | 1,0 | 30 | 90,2 ± 1,9 | 1,23 ± 0,15 | 98,8 ± 1,75 | 1,85 ± 0,25 |
| NB3 | 1,5 | 30 | 96,67 ± 5,77 | 1,37 ± 0,33 | 100,0 ± 0,0 | 1,90 ± 0,35 |
| NB4 | 2,0 | 30 | 94,4 ± 1,9 | 1,29 ± 0,23 | 100,0 ± 0,0 | 1,72 ± 0,18 |
| NB5 | 4,0 | 30 | 77,8 ± 1,2 | 1,00 ± 0,10 | 77,8 ± 1,2 | 1,50 ± 0,15 |

Bảng 5: Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và kinetin đến khả năng tạo chồi của đoạn thân khoai lang

| Môi trường | Kinetin (mg/l) | BAP (mg/l) | Số mẫu | 7 ngày | | 15 ngày | |
|------------|----------------|------------|--------|--------------------|-------------|--------------------|-------------|
| | | | | Tỉ lệ tạo chồi (%) | Số chồi/mẫu | Tỉ lệ tạo chồi (%) | Số chồi/mẫu |
| ĐC | 0 | 0 | 30 | 89,8 ± 0,08 | 1,0 ± 0,0 | 89,8 ± 0,08 | 1,0 ± 0,0 |
| NKB1 | 0,5 | 0,5 | 30 | 91,7 ± 2,9 | 1,08 ± 0,10 | 100,0 ± 0,0 | 1,16 ± 0,12 |
| NKB2 | 0,5 | 1,0 | 30 | 95,7 ± 2,2 | 1,43 ± 0,14 | 100 ± 1,2 | 2,43 ± 0,30 |
| NKB3 | 0,5 | 1,5 | 30 | 92,0 ± 2,9 | 1,09 ± 0,25 | 100,0 ± 0,0 | 1,33 ± 0,20 |
| NK2B0 | 1,0 | 0,25 | 30 | 96,0 ± 5,29 | 1,39 ± 0,21 | 96,43 ± 7,15 | 1,62 ± 0,25 |
| NK2B1 | 1,0 | 0,5 | 30 | 96,67 ± 5,77 | 1,47 ± 0,20 | 100,0 ± 0,0 | 1,76 ± 0,46 |
| NK2B2 | 1,0 | 1,0 | 30 | 96,33 ± 6,35 | 1,57 ± 0,18 | 100,0 ± 0,0 | 2,12 ± 0,41 |
| NK3B0 | 1,5 | 0,25 | 30 | 96,67 ± 5,77 | 1,15 ± 0,11 | 100,0 ± 0,0 | 1,23 ± 0,15 |
| NK3B1 | 1,5 | 0,5 | 30 | 91,67 ± 7,64 | 1,11 ± 0,07 | 91,67 ± 7,64 | 1,36 ± 0,22 |
| NK3B2 | 1,5 | 1,0 | 30 | 93,33 ± 7,02 | 1,33 ± 0,15 | 100,0 ± 0,0 | 2,0 ± 0,41 |

**Hình 2:** Nhân giống khoai lang in vitro

A) Chồi tái sinh trên môi trường bổ sung kinetin và BAP; B) Cây in vitro hoàn chỉnh, C) Cây trồng ở bầu đất; D) Cây trồng trong chậu ở vườn ươm

Lựa chọn giá thể thích hợp cho cây ở vườn ươm

Bảng 6: Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sống của cây khoai lang in vitro

| Giá thể | Số cây trồng | Số cây sống | Tỉ lệ (%) |
|------------------|--------------|--------------|-----------|
| Đất | 30 | 23 ± 2,65 | 77 |
| Cát | 25 | 18,33 ± 2,08 | 73 |
| 50% Đất: 50% Cát | 25 | 18,67 ± 1,53 | 75 |

Để đưa các cây con in vitro ra trồng trong điều kiện tự nhiên, chúng cần được huấn luyện và thích nghi dần với môi trường mới thông qua giai đoạn phát triển trên giá thể trong điều kiện nhà lưới hay vườn ươm. Kết quả cho thấy cây khoai lang in vitro có khả năng sống sót khá cao trên các giá thể nghiên cứu là đất, cát và 50% đất và 50% cát (từ 73 - 77%). Điều này có thể khoai lang là loại cây

không kén đất hay giá thể trồng và dễ dàng thích ứng với môi trường. Trong đó, giá thể đất trồng cây tỏ ra rất phù hợp cho sinh trưởng và phát triển của khoai lang. Tỉ lệ sống cao nhất, đạt 77% sau 30 ngày. Các cây khoai lang nuôi cấy mô khi đưa ra vườn ươm trồng thử nghiệm sinh trưởng và phát triển rất tốt, có hình thái bình thường như các cây đối chứng (Bảng 6).

KẾT LUẬN

Đoạn thân khoai lang *in vitro* được khử trùng mẫu bằng cồn 70% trong khoảng 60 giây, khử trùng kép bằng $HgCl_2$ 0,1% trong 3 phút và 1,5 phút (chế độ KT3); Môi trường nhân chồi khoai lang từ đoạn thân là môi trường MS bổ sung BAP nồng độ 1,5 mg/l (NB3) hoặc bổ sung kết hợp kinetin 0,5 và -1,0 mg/l với BAP 1,0 mg/l (NKB2, NK2B2). Giá thể phù hợp cho ra cây ở vườn ươm là đất. Các cây con *in vitro* được đưa ra trồng trên giá thể đất ở giai đoạn vườn ươm có tỉ lệ sống cao (77%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dessai AP, Gosukonda RM, Blay E, Dumenyo CK, Medina-Bolivar F, Prakash CS, (1995), "Plant regeneration of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) from leaf explants in vitro using a two stage protocol", *Sci Hort* 62, 217-224.
2. Gong Y, Gao F, Tang K, (2004), "In vitro high frequency direct root and shoot regeneration in sweet potato using the ethylene inhibitor silver nitrate", *South Afr J of Botany*, 71, (1), 110-113.

3. González RG, Sánchez DS, Campos JM, Vázquez EP, Guerra ZZ, Quesada AL, Valdivia RM, González MG, (1999), "Plant regeneration from leaf and stem explants from two sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam) cultivars", *Biocologia Aplicada*, 16, (1), 11 - 14
4. Vũ Thị Lan, Cao Diễm Mí, Phạm Bích Ngọc, Chu Hoàng Hà, Lê Trần Bình, (2013), "Sự tái sinh đa chồi trực tiếp từ các nguồn nguyên liệu khác nhau của giống khoai lang KBI", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Thái Nguyên* 111, (11), 69-74.
5. Phạm Văn Linh, Nguyễn Đức Anh, Trần Thị Quỳnh Nga, (2014), "Kết quả nhân nhanh giống khoai lang bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro*", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nghệ An*, (7), 1-5.
6. Liu JR and Cantliffe DJ, (1984), "Organogenesis and plant regeneration in tissue cultures of sweet potato (*Ipomoea batatas* Pour)", *Plant Cell Rep*, 3, 112-115.
7. Triqui ZEA, Guedira A, Chlyah A, Chlyah H, Souvannavong V, Haicour R, Sihachakr D, (2008), "Effect of genotype, gelling agent, and auxin on the induction of somatic embryogenesis in sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.)", *C R Biol*, 331, (3), 198-205.

SUMMARY

STUDY ON *IN VITRO* PROPAGATION OF SWEET POTATO

Vũ Thị Lan^{1*}, Phạm Bích Ngọc²

¹College of Science, Thai Nguyen University,

²Institute of Biotechnology, VAST

This paper presents the results of research on the process of *in vitro* propagation some sweet potatoes Vietnam. First, the sweet potato shoots were washed and sterilized with 70% alcohol in 45 - 60 seconds; Second, these were washed with sterilized water and sterilized double with 0.1% $HgCl_2$ for 3 minutes and 1.5 minutes. The percent of disinfected samples and survival were high, reaching 58%. MS medium supplemented BAP concentration of 1.5 mg/l (NB3) or complementary combination kinetin 0.5 -1.0 mg/l with BAP 1.0 mg/l (NKB2, NK2B2) suitable to create multiple buds for sweet potato stem internodes. The seedlings are grown on soil with a high survival rate (77%), plant growth and development is very good after 30 days of with normal morphology as the control plants.

Key words: Sweet potato, shoot regeneration, stem internode, $HgCl_2$ 0,1 %, sterilization

Ngày nhận bài: 25/3/2015; Ngày phân biên: 16/4/2015; Ngày duyệt đăng: 30/7/2015

Phân biên khoa học: TS. Hoàng Thị Thu Yến - Trường Đại học Khoa học - ĐHTN

* Tel: 0914 504250. Email: lanvt@tnus.edu.vn