

# **SỰ THU NHẬN PHÔI THỂ HỆ TỪ TẾ BÀO LÁ KHOAI TÂY (*SOLANUM TUBEROSUM* L)**

**Nguyễn Thị Huệ - Bùi Trang Việt**  
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên  
(Bài nhận ngày 24/06/1999)

**TÓM TẮT:** Mô sẹo được hình thành từ lá cây khoai tây *Solanum tuberosum* 3 -4 tuần tuổi trên môi trường MS cơ bản có bổ sung NAA 2mg/l và BA 0,5 mg/l. Mục tiêu của đề tài là thu nhận phôi thể hệ của khoai tây *Solanum tuberosum* AVRDC<sub>1297.19</sub> qua sự thành lập mô sẹo, và xác định những đặc tính hình thái và sinh lý liên quan với quá trình hình thành phôi. Các phôi thể hệ bắt đầu xuất hiện sau 1 tuần trên môi trường MS có bổ sung zeatin 2mg/l và sau đó chuyển sang môi trường không có chất điều hòa tăng trưởng thực vật. Vai trò của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật auxin và cytokinin (zeatin, kinetin và benzyladenin) trong quá trình sinh phôi ở *Solanum tuberosum* được nghiên cứu.

**Từ khóa:** Phôi thể hệ, mô sẹo, chất điều hòa tăng trưởng thực vật, *Solanum tuberosum* L.

## **MỞ ĐẦU**

Sự sinh phôi thể hệ là quá trình tạo phôi từ các tế bào cơ thể thực vật với các môi trường nhân tạo đặc biệt. Bài này chúng tôi trình bày phương pháp thu nhận phôi thể hệ từ các tế bào lá khoai tây *Solanum tuberosum*, qua giai đoạn tạo mô sẹo, từ đó tìm hiểu thêm về vai trò của auxin và cytokinin trong quá trình sinh phôi thể hệ.

## **VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP**

### ***Vật liệu thực vật***

Các mô sẹo từ lá các cây khoai tây dòng AVRDC<sub>1297.19</sub> trong ống nghiệm tạo thành sau 2 tuần đặt lá trên môi trường MS có bổ sung NAA 2mg/l và BA 0,5mg/l (Lê Thị Thủy Tiên 1997)[2] được sử dụng trong các thí nghiệm tạo phôi.

### ***Phương pháp***

Mô sẹo được đặt trên môi trường MS (Murashige and Skoog 1962)[3] với sacaroz 30g/l, agar 6,5g/l, có hoặc không có bổ sung các chất điều hòa tăng trưởng thực vật theo các nghiệm thức sau: Mô sẹo được đặt trên môi trường MS liên tục (3 tuần) (nghiệm thức 1) hoặc môi trường MS có bổ sung BA 2mg/l (nghiệm thức 2), Kinetin 4mg/l (nghiệm thức 3), Zeatin 2mg/l (nghiệm thức 4) trong một tuần, sau đó chuyển sang môi trường MS không có chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong 2 tuần nữa trước khi quan sát kết quả. Sự nuôi cấy được thực hiện trong điều kiện 16 giờ chiếu sáng/ngày, ánh sáng 3500 ± 200 lux, nhiệt độ 20 ± 2<sup>o</sup>C, ẩm độ 61%.

Sau 3 tuần nuôi cấy, số cây con được quan sát trên mô sẹo và được tính khi các chồi cao từ 0,5cm - 1cm và các rễ dài từ 0,1 - 3cm. Kết quả được tính là tỉ lệ phần trăm (%) mẫu cấy cho cây con.

Các lát cắt qua khối mô sẹo được quan sát dưới kính hiển vi quang học sau sự nhuộm 2 màu (đỏ carmin và xanh iod).

Hoạt tính của auxin và cytokinin trong khối mô được xác định (theo Bùi Trang Việt 1992)[1].

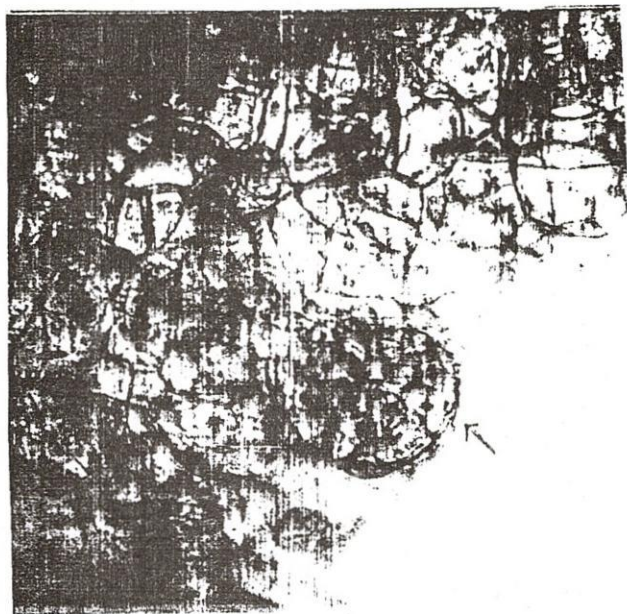
## **KẾT QUẢ**

Cây con xuất hiện và phát triển tốt trên môi trường MS sau 3 tuần nuôi cấy (Ảnh 1) nhưng tỉ lệ rất thấp (10%). Trên môi trường có bổ sung zeatin 2mg/l sau 1 tuần chuyển sang môi trường không có chất điều hòa tăng trưởng thực vật cây con xuất hiện sau 3 tuần với tỉ lệ rất cao (100%). Trên các nghiệm thức còn lại không thấy có sự xuất hiện của cây con (Bảng 1).



**Ảnh 1:** Cây con tạo thành từ mô sẹo lá Khoai tây.

Kết quả giải phẫu khối mô sẹo trên môi trường có bổ sung zeatin 2mg/l cho thấy sau 5 ngày nuôi cấy đã có sự tạo thành các tiền phôi với 4 tầng tế bào. Sau 10 ngày, các phôi hình cầu được tạo thành một cách đặc trưng với lớp biểu bì rõ nét (Ảnh 2). Các phôi tiếp tục phát triển các cực chồi và cực rễ để tạo thành cây hoàn chỉnh quan sát được sau 3 tuần nuôi cấy (Ảnh 3).



**Ảnh 2:** Phôi hình cầu với biểu bì rõ nét và một dây treo, được hình thành từ mô sẹo trên môi trường có bổ sung ze 2mg/l (thí nghiệm thứ 4).



**Ảnh 3:** Phôi trưởng thành từ thí nghiệm thứ 4, với sự phân cực chồi và rễ rất rõ nét.

**Bảng 1:** Các biểu hiện của mô sẹo trên các môi trường có auxin giảm dần và cytokinin tăng sau 2 tuần nuôi cấy.

Nghiệm thức	% mẫu cho rễ	Chiều dài rễ (cm)	% mẫu cấy cho cây con
1	100	3,87 ± 0,92	10
2	100	3,56 ± 0,41	0
3	43	1,25 ± 0,32	0
4	8	1,12 ± 0,06	100

**Hoạt tính của auxin và cytokinin trong quá trình hình thành phôi**

Auxin trong mô cấy giảm rất mạnh trong môi trường có bổ sung zeatin 2mg/l (Nghiệm thức 2). Ngược lại cytokinin tăng cao cho tới 3 tuần nuôi cấy trên môi trường có zeatin, trong khi giảm trên môi trường có bổ sung BA (Bảng 2 và 3).

**Bảng 2:** Hoạt tính của auxin trong mô sẹo trên các nghiệm thức khác nhau

Thời gian (tuần)	Hoạt tính auxin trong mô cấy (mg/l)			
	Nghiệm thức 1	Nghiệm thức 2	Nghiệm thức 3	Nghiệm thức 4
0	3,36 ± 0,15	3,36 ± 0,15	3,36 ± 0,15	3,36 ± 0,15
1	2,21 ± 0,25	1,57 ± 0,19	2,69 ± 0,15	2,65 ± 0,25
2	1,38 ± 0,31	0,85 ± 0,17	1,84 ± 0,12	2,56 ± 0,54
3	0,88 ± 0,31	0,71 ± 0,14	1,64 ± 0,30	2,96 ± 0,22

**Bảng 3:** Hoạt tính của cyt trong mô sẹo trên các nghiệm thức khác nhau

Thời gian (tuần)	Hoạt tính cytokinin trong mô cấy (mg/l)			
	Nghiệm thức 1	Nghiệm thức 2	Nghiệm thức 3	Nghiệm thức 4
0	1,65 ± 0,08	1,65 ± 0,08	1,65 ± 0,08	1,65 ± 0,08
1	0,98 ± 0,07	1,98 ± 0,15	0,97 ± 0,12	1,76 ± 0,14
2	0,75 ± 0,15	2,07 ± 0,16	0,73 ± 0,18	1,99 ± 0,21
3	0,51 ± 0,12	2,31 ± 0,18	0,56 ± 0,12	1,91 ± 0,22

**THẢO LUẬN**

Auxin có tác dụng cảm ứng sự tạo các tế bào có khả năng sinh phôi trong mô sẹo, nhưng lại cản sự hình thành phôi ở các giai đoạn sau. Do đó sự giảm auxin trong các môi trường nuôi cấy cần thiết cho sự sinh phôi thể hệ (Rock and Quatrano 1995)[5]. Tuy nhiên, trong các thí nghiệm được trình bày sự giảm auxin chưa đủ cho

sự phát triển bình thường của phôi mà cần phải kết hợp với sự gia tăng cytokinin (Reynolds 1986; Sihachakr and Ducreux 1987)[4][6]. Thật vậy, sự nuôi cấy mô sẹo trên môi trường MS (loại auxin) chỉ cho phép thu nhận phôi thể hệ với tỉ lệ rất thấp (10%) so với trên môi trường có zeatin 2mg/l (Bảng 1).

Sự hấp thu cytokinin ngoại sinh vào mô sẹo có vai trò quan trọng cho sự sinh phôi. Hàm lượng cytokinin trong mô cấy cao hơn trên môi trường có zeatin 2mg/l so với trên môi trường BA có lẽ do mô cấy hấp thu zeatin tốt hơn BA từ đó gây nên hiệu ứng tạo phôi tốt hơn.

Sau cùng không thể loại trừ tính chuyên biệt của cyt trong sự sinh phôi thể hệ từ lá khoai tây. Trên môi trường có bổ sung kinetin hoạt tính cytokinin cũng gia tăng trong mô cấy nhưng không có sự xuất hiện phôi. Như vậy, phải chăng chỉ có zeatin gây nên hiệu ứng sinh phôi cho mô sẹo lá khoai tây, trong khi BA và kinetin không có hiệu ứng này.

Tóm lại, sự sinh phôi thể hệ từ mô sẹo lá khoai tây cần giảm auxin trong môi trường nuôi cấy và kết hợp lượng zeatin thích hợp.

#### THE OBTAINMENT OF SOMATIC EMBRYOS OF SOLANUM TUBEROSUM

Nguyen Thi Hue - Bui Trang Viet

**ABSTRACT:** Callus was initiated from leaves taken from 3 - 4 week - old plantlets of *Solanum tuberosum* AVRDC<sub>1297.19</sub>, on a MS basal medium supplemented with 2mg/l NAA and 0,5mg/l BA. The aim of this work was to obtain somatic embryos of *Solanum tuberosum* AVRDC<sub>1297.19</sub> through callus formation and identify the main histological and physiology characteristics associated with embryogenesis. Somatic embryos should begin to appear after 1-week passage on a MS medium supplemented with 2mg/l zeatin and then on a hormon free medium.

The role of the plant regulators auxin and cytokinins (zeatin, kinetin and benzyladenin) on embryogenesis of *Solanum tuberosum* has been studied.

**Key words:** Somatic embryo, callus, plant growth regulators, *Solanum tuberosum* L.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] BÙI TRANG VIỆT. Tìm hiểu hoạt động của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật thiên nhiên trong hiện tượng rụng "bông" và "trái non" Tiêu, *Piper nigrum* L. Tập san khoa học ĐH Tổng Hợp TP. Hồ Chí Minh, số 1: 155-165 (1992).
- [2] LÊ THỊ THỦY TIÊN. Tìm hiểu vài biến đổi hình thái và sinh lý trong quá trình hình thành mô sẹo từ lá và chồi trên củ khoai tây *Solanum tuberosum* L. Luận văn Thạc sĩ Khoa học Sinh học, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên (1997).
- [3] MURASHIGE T. AND SKOOG F.. A revised medium for rapid growth and bioassay with *Tobacco* culture. *Physiol Plant*. 15: 473- 497 (1962).

[4] REYNOLDS T. L.. Somatic embryogenesis and organogenesis from callus cultures of *Solanum carolinense*. *amer. J. Bot.* 73 (6) : 914 -918 (1986).

[5] ROCK C.D. AND QUATRANO R.S.. The role of hormones during seed development. *In: Plant Hormones*. Edited by Davies P.J.. Published by Kluwer Academic, 832p (1995).

[6] SIHACHAKR D. AND DUCREUX G.. Cultural behavior of protoplasts from different organs of egg plant (*Solanum melongena* L.), and plant regeneration. *Plant cell tissue and organ culture* 11: 179 – 188 (1987).

### **Cảm ơn**

*Các tác giả chân thành cảm ơn Viện Sinh học nhiệt đới TP HCM và Trạm nghiên cứu cây thực phẩm Đà Lạt đã tặng các vật liệu thực vật cho khảo cứu này.*