

KHẢ NĂNG CHỊU MẤT NƯỚC VÀ TÁI SINH CỦA MÔ SỢ Ở CÂY ĐẬU XANH - *Vigna radiata* (L.) Wilczek

Nguyễn Vũ Thanh Thanh*, Chu Hoàng Mậu

Đại học Thái Nguyên, (*) thanhthanhhdhkhntn@gmail.com

TÓM TẮT: Bài báo này công bố kết quả chọn dòng chịu hạn và môi trường thích hợp cho tạo mô sẹo, tái sinh chồi, hình thành rễ, tạo cây hoàn chỉnh của 8 giống đậu xanh nghiên cứu. Tám giống đậu xanh này đều có khả năng chịu hạn ở mức độ mô sẹo và có biểu hiện khác nhau giữa các giống. Môi trường thích hợp cho tạo mô sẹo của phôi đậu xanh là môi trường MS có bổ sung 2,4D với nồng độ 10 mg/l (đối với các giống VN93-1; VN99-3; VC1973A; VC3902A; VC6148; VC6372; VC2768A) còn giống đậu xanh ĐX06 thích hợp với nồng độ là 11 mg/l. Môi trường MS có bổ sung BAP với nồng độ 3 mg/l là tốt nhất cho sự tạo chồi, môi trường MS bổ sung GA3 với nồng độ 1,5 mg/l là tốt nhất cho kéo dài chồi ở đậu xanh của 8 giống đậu xanh nghiên cứu. Môi trường thích hợp cho tạo rễ và cây hoàn chỉnh là môi trường MS có bổ sung α -NAA với nồng độ 0,3 mg/l. Kết quả thí nghiệm xử lý mô sẹo bằng thổi khô đã thu được 289 dòng mô chịu mất nước và 715 dòng cây xanh của 8 giống đậu xanh nghiên cứu.

Từ khóa: Chồi, đậu xanh, mô sẹo, rễ, tái sinh.

MỞ ĐẦU

Cây đậu xanh - *Vigna radiata* (L.) Wilczek là cây trồng quan trọng, nó vừa là một mặt hàng nông sản xuất khẩu có giá trị, vừa là nguồn thức ăn cho người và vật nuôi. Không những thế, trồng cây đậu xanh còn có tác dụng chống xói mòn và cải tạo đất. Ở Việt Nam, do nhiều nguyên nhân khác nhau nên từ trước tới nay, đậu xanh được trồng chưa nhiều, chủ yếu là xen canh, luân canh tăng vụ. Chương trình chọn tạo giống đậu xanh ở nước ta hiện nay là hướng tới mục tiêu tạo giống đậu xanh có năng suất cao, sinh trưởng mạnh, thời gian sinh trưởng ngắn, có khả năng chống chịu tốt... Một trong các kỹ thuật được quan tâm ứng dụng vào chọn giống đậu xanh là sử dụng công nghệ tế bào thực vật và xây dựng hệ thống tái sinh phục vụ chuyển gen nhằm cải tiến, nâng cao khả năng chống chịu của cây đậu xanh. Việc nghiên cứu chuyển gen ở cây đậu xanh khó có thể thực hiện và thành công nếu không tiến hành việc tái sinh cây đậu xanh. Năm 2005, Rudrabhatla et al. [3] đã tổng hợp các kết quả nghiên cứu phát triển kỹ thuật tái sinh ở cây một lá mầm và cây hai lá mầm, sự tái sinh cây được thực hiện bằng nuôi cấy *in vitro* từ phôi soma hoặc từ một bộ phận khác độc lập trên cơ thể và điều đó còn phụ thuộc vào gen của mỗi giống. Kaviraj et al. (2006) [2] đã sử dụng 2,4D để tạo mô sẹo từ lá sơ cấp của đậu xanh và kết quả là khi sử dụng 2,4D với nồng độ 10 mg/l tỷ lệ tạo mô sẹo là

100%. Ngoài sử dụng 2,4D bổ sung vào môi trường tạo mô sẹo, các tác giả còn sử dụng α -NAA kết hợp với kinetin, BAP để tái sinh cây và tạo cây hoàn chỉnh ở đậu xanh [2]. Ignacimuthu et al. (1999) [1] sử dụng BAP và α -NAA để tạo chồi từ cuống tử điệp của đậu xanh sau 15 ngày nuôi cấy. Khả năng tái sinh cây chịu ảnh hưởng lớn bởi thành phần và nồng độ các chất kích thích sinh trưởng thực vật được bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Cho đến nay, kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật đã được ứng dụng rộng rãi trong lĩnh vực chọn dòng tế bào, đặc biệt là chọn dòng chống chịu stress môi trường. Bằng phương pháp thổi khô mô sẹo lúa, Đình Thị Phòng và nnk. (2001) [1] đã chọn tạo được 3 giống lúa DR1, DR2, DR3 cho năng suất cao, ổn định, có khả năng chịu hạn, chịu lạnh hơn hẳn giống gốc. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả tái sinh cây đậu xanh từ mô sẹo và khả năng chịu mất nước của các dòng đậu xanh chọn lọc nhằm xác định được môi trường tái sinh cây đậu xanh từ mô sẹo và tuyển chọn được các dòng đậu xanh chịu hạn có nguồn gốc từ mô sẹo chịu mất nước.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu thực vật

Tám giống đậu xanh do Bộ môn Hệ thống canh tác của Viện Nghiên cứu ngô cung cấp được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu là: VN93-1; VN99-1; VC1973A; VC3902A; VC6148;

VC6372; VC2768A và ĐX06.

Phương pháp

Khử trùng hạt

Hạt đậu xanh được rửa bằng nước máy, sau đó rửa sạch bằng xà phòng, tráng lại nhiều lần bằng nước cất sau đó khử trùng trong điều kiện vô trùng bằng cồn 70% trong thời gian 1 phút, tráng lại bằng nước cất khử trùng 1 đến 2 lần, thêm dung dịch javen 60%, lắc đều trong 20-25 phút, sau đó rửa bằng nước cất khử trùng 3 lần.

Tạo mô sẹo

Hạt đậu xanh đã khử trùng được tách bỏ lớp vỏ và phần nội nhũ, thu phôi đặt lên môi trường MS cơ bản có bổ sung 2,4D nồng độ từ 3-13 mg/l, saccharose 3%, agar 0,9%, pH 5,8. Nuôi 1 tuần trong tối và 3 ngày dưới ánh sáng đèn phòng nuôi cấy với cường độ 2000 lux, thời gian chiếu sáng 10/24 giờ, nhiệt độ 25°C ± 1°C.

Đánh giá tỷ lệ tạo mô sẹo theo công thức:

$$C_i = \frac{N_{cp}}{N_t} (\%).$$

Trong đó, N_{cp} là số hạt tạo mô sẹo; N_t là tổng số hạt nuôi cấy; C_i là tỷ lệ tạo mô sẹo (%).

Đánh giá tốc độ phát triển của mô sẹo của các giống thông qua chỉ số tăng trưởng của khối mô sẹo thu được sau 10 ngày nuôi cấy.

Tái sinh cây

Mô sẹo phôi thu được từ môi trường tốt nhất được cấy chuyển sang môi trường tái sinh cây trên nền MS cơ bản, bổ sung BAP (1,5 mg/l; 2,0 mg/l; 2,5 mg/l; 3 mg/l; 3,5 mg/l). Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành trên 30 mô, lặp lại 3 lần. Kết quả được đánh giá sau 10 đến 15 ngày cấy chuyển.

Đánh giá tỉ lệ tái sinh theo công thức:

$$R_c = \frac{N_r}{N_{sv}} (\%).$$

Trong đó, R_c là khả năng tái sinh cây (%); N_r là tổng số mô tái sinh cây; N_{sv} là tổng số mô nuôi cấy.

Kéo dài chồi đậu xanh

Môi trường kéo dài chồi là môi trường MS cơ bản bổ sung GA3 với nồng độ (0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l); pH 5,7. Đánh giá khả năng kéo dài chồi của cây sau 10 ngày cấy

chuyển. Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành trên 30 chồi và lặp lại 3 lần.

Tạo cây hoàn chỉnh

Môi trường ra rễ là môi trường MS cơ bản bổ sung α -NAA (0,2 mg/l; 0,3 mg/l; 0,4 mg/l); pH 5,6. Mỗi bình cấy từ 2-3 chồi. Đánh giá khả năng hình thành và phát triển rễ của cây tái sinh sau 3 tuần và 4 tuần.

Phương pháp xử lý mô sẹo bằng thổi khô

Mô sẹo phôi đậu xanh sau 10 ngày nuôi cấy được thổi khô bằng luồng khí vô trùng của buồng cấy ở các ngưỡng thời gian khác nhau, từ 3, 5, 7, 9 giờ. Xác định độ mất nước của mô sẹo sau 3, 5, 7, 9 giờ xử lý.

Độ mất nước của mô sẹo phôi đậu xanh sau khi xử lý bằng thổi khô được tính theo công

$$\text{thức: } W_L = \frac{W_f - W_d}{W_f} (\%).$$

Trong đó, W_L là độ mất nước (%); W_f là khối lượng mô tươi (mg); W_d là khối lượng mô sau thổi khô (mg).

Chọn lọc mô sẹo sống sót sau khi xử lý bằng thổi khô và tái sinh cây

Cây mô sẹo sau khi xử lý mất nước bằng thổi khô lên môi trường tái sinh cây. Tỷ lệ sống sót của mô sẹo được đánh giá 15 ngày thổi khô

$$\text{được tính theo công thức: } S_v = \frac{N_{sv}}{N_t} (\%).$$

Trong đó, S_v là tỷ lệ mô sống sót (%); N_{sv} là số mô sống sót; N_t là tổng số mô xử lý.

$$\text{Tỷ lệ tái sinh cây: } R_c = \frac{N_r}{N_{sv}} (\%).$$

Trong đó, R_c là khả năng tái sinh cây (%); N_r là số mô tái sinh cây; N_{sv} là số mô sống sót.

Tạo cây hoàn chỉnh từ mô sẹo chọn lọc

Các chồi đậu xanh được tách thành một dòng cây và cấy chuyển trên môi trường tạo cây hoàn chỉnh. Nuôi 4 tuần dưới ánh sáng đèn neon trong phòng nuôi cấy với cường độ 2000 lux, thời gian chiếu sáng 10/24 giờ, nhiệt độ phòng nuôi 25°C ± 1°C. Môi trường tạo cây hoàn chỉnh: MS cơ bản bổ sung α -NAA: 0,3 mg/l; pH 5,6.

Phương pháp xử lý kết quả và tính toán số liệu

Mỗi thí nghiệm được nhắc lại 3 lần. Các số liệu được xử lý trên máy vi tính bằng phần mềm Excel.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của nồng độ 2,4D đến khả năng tạo mô sẹo từ phôi đậu xanh

Phôi đậu xanh sau khi khử trùng được cấy lên môi trường MS cơ bản bổ sung 2,4D với nồng độ khác nhau. Theo dõi khả năng hình thành mô sẹo sau 10 ngày nuôi cấy, chúng tôi thu được kết quả ở bảng 1.

Các kết quả thí nghiệm trong bảng 1 và các bảng còn lại đều được xử lý thống kê theo tiêu chuẩn phi tham số của Kruskal và Wallis cho thấy $\chi_m^2 > \chi_{0,05}^2$ nên các mẫu nghiên cứu thực sự

khác nhau có ý nghĩa. Kết quả bảng 1 cho thấy, trên các loại môi trường có bổ sung 2,4D với nồng độ khác nhau và giống đậu xanh khác nhau, phôi đậu xanh đều có khả năng tạo mô sẹo sau 10 ngày nuôi cấy. Môi trường bổ sung 2,4D với nồng độ 11 mg/l là thích hợp nhất cho khả năng tạo mô sẹo của phôi giống đậu xanh ĐX06, tỉ lệ mô sẹo đạt cao nhất là 100%. Với nồng độ cao hơn 11 mg/l khả năng tạo mô sẹo của phôi đậu xanh bắt đầu giảm. Qua thực nghiệm chúng tôi nhận thấy, những mô có màu vàng trắng, mô sẹo cứng và khô có khả năng tái sinh cao hơn so với những mô có màu nâu đen, mô sẹo mỏng nước. Khả năng tạo mô sẹo phụ thuộc vào kiểu gen của từng giống. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nhận được của Kaviraj et al. (2006) [2].

Bảng 1. Khả năng tạo mô sẹo của các giống đậu xanh (%)

Nồng độ 2,4D (mg/l)	VN 93-1	VN 99-3	VC 1973A	ĐX 06	VC 3902A	VC 6148	VC 6372	VC 2768A
3	85,17	86,50	80,15	81,05	87,15	82,05	87,05	81,15
4	86,09	86,29	83,25	81,15	86,90	83,50	86,90	81,25
5	86,34	87,30	86,32	86,35	87,30	87,10	87,10	85,35
6	89,21	87,20	86,30	87,50	87,90	87,50	87,60	84,50
7	92,72	91,02	87,15	89,55	90,20	88,55	90,25	89,55
8	95,23	91,20	93,10	94,10	91,90	94,20	91,05	90,10
9	96,37	93,07	97,05	95,05	94,07	94,50	92,10	92,05
10	99,14	98,10	99,20	97,50	98,50	97,10	99,50	95,50
11	94,14	97,23	96,23	100,0	96,03	96,00	96,03	92,00
12	94,04	92,05	84,10	84,10	92,15	84,10	90,15	85,10
13	82,03	80,80	79,50	79,50	82,50	79,30	83,50	83,50

Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tái sinh cây từ mô sẹo phôi đậu xanh

Mô sẹo thu được của các giống đậu xanh được chia thành những khối mô nhỏ có kích thước khoảng 3×3 mm, cấy trên môi trường MS cơ bản có chứa BAP với nồng độ khác nhau (2 mg/l; 3 mg/l; 4 mg/l). Kết quả thể hiện ở bảng 2.

Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của nồng độ BAP tới khả năng tái sinh cây từ mô sẹo phôi đậu xanh cho thấy, tỉ lệ tái sinh cây thấp nhất trên môi trường có nồng độ BAP 2 mg/l (60% - 66%) và cao nhất khi nồng độ BAP là 3 mg/l (77,3% - 98,6%). Bổ sung nồng độ BAP cao hơn (4 mg/l) không làm tăng tỷ lệ tái sinh ở cây đậu xanh mà còn giảm tỷ lệ tái sinh (60,5% - 64,0%).

Tỷ lệ tái sinh cao nhất ở giống VN93-1 (98,6% sau 10 ngày, 99,0% sau 15 ngày), giống VC6148 có tỷ lệ tái sinh thấp nhất (75,8% sau 10 ngày, 77% sau 15 ngày). Sự khác nhau này cho thấy, cùng điều kiện môi trường nuôi cấy các giống khác nhau (kiểu di truyền khác nhau) khả năng tái sinh cũng khác nhau. Từ kết quả nghiên cứu chúng tôi nhận thấy nồng độ BAP 3 mg/l là tốt nhất cho sự tái sinh của 8 giống đậu xanh được nghiên cứu.

Ảnh hưởng của GA3 đến khả năng kéo dài chồi của đậu xanh

Khi chồi đạt chiều cao 2-2,5 cm được cấy chuyển sang môi trường kéo dài chồi có bổ sung GA3 với nồng độ (mg/l): 0,5; 1; 1,5 và 2.

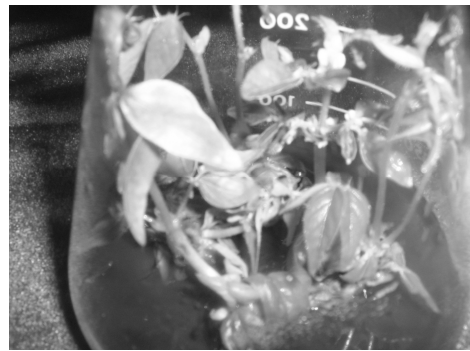
Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh cây từ mô sẹo phôi đậu xanh (%)

C1	VN 93-1	VN 99-3	VC 1973A	ĐX 06	VC 3902A	VC 6148	VC 6372	VC 2768A
Sau 10 ngày								
2	60,2 ± 2,5	61,0 ± 3,5	66,0 ± 2,5	63,0 ± 4,0	60,0 ± 1,5	63,0 ± 5,0	65,0 ± 1,5	60,0 ± 4,1
3	98,6 ± 1,2	88,0 ± 2,1	77,3 ± 1,1	87,0 ± 2,4	77,5 ± 2,5	75,8 ± 1,5	82,7 ± 2,5	86,8 ± 2,5
4	63,3 ± 1,5	64,0 ± 2,0	62,0 ± 3,5	63,0 ± 1,5	61,5 ± 1,5	60,5 ± 4,5	61,5 ± 4,0	63,1 ± 2,5
Sau 15 ngày								
2	65,2 ± 1,5	66,0 ± 3,0	67,0 ± 2,1	63,5 ± 3,5	62,0 ± 1,0	66,0 ± 1,0	67,0 ± 1,8	66,0 ± 3,8
3	99,0 ± 1,0	90,0 ± 1,9	78,0 ± 1,2	88,0 ± 1,8	78,5 ± 1,5	77,0 ± 1,5	84,7 ± 2,5	87,0 ± 2,5
4	65,5 ± 2,5	66,0 ± 2,8	63,0 ± 2,5	64,0 ± 1,5	65,0 ± 1,5	63,0 ± 2,5	63,5 ± 3,0	64,1 ± 1,5

C1. Nồng độ BAP (mg/l).



Hình 1. Hình ảnh tái sinh đậu xanh trên môi trường bổ sung 3 mg/l BAP ở giống VN93-1



Hình 2. Hình ảnh kéo dài chồi đậu xanh trên môi trường bổ sung GA3

Kết quả cho thấy, sau 10 ngày cấy chuyển sang môi trường kéo dài chồi có bổ sung GA3 với nồng độ khác nhau đều làm cho chồi của đậu xanh dài ra. Nhưng môi trường bổ sung GA3 với nồng độ 1,5 mg/l làm cho chồi đậu xanh được kéo dài và mập nhất, còn nồng độ GA3 2 mg/l chồi kéo dài nhanh nhất nhưng cây yếu và sau một thời gian thì bị héo ngọn. Hiện nay, chưa thấy nghiên cứu nào nói về môi trường kéo dài chồi ở đậu xanh có sử dụng GA3, vì vậy, từ kết quả thu được ở trên chúng tôi cho rằng nồng độ GA3 1,5 mg/l là tốt nhất cho kéo dài chồi ở đậu xanh.

Khả năng ra rễ và tạo cây hoàn chỉnh

Để tạo rễ cây tái sinh chuẩn bị cho việc đưa cây ra đồng ruộng, chúng tôi đã nghiên cứu môi trường ra rễ cây đậu xanh nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản bổ sung α-NAA với các nồng độ khác nhau. Theo dõi khả năng tạo rễ của các cây tái sinh sau 3 tuần và 5 tuần cấy chuyển,

chúng tôi thu được kết quả như sau: α-NAA có nồng độ 0,3 mg/l là môi trường thích hợp nhất cho sự ra rễ của đậu xanh, ở môi trường này tỷ lệ tạo ra rễ cao nhất (trên 90%) và chiều dài rễ cũng cao nhất (bảng 3).

Từ kết quả thu được cho thấy, ngoài việc sử dụng BAP để tạo rễ ở đậu xanh [6] và sử dụng IAA kết hợp với α-NAA [1], chúng tôi chỉ sử dụng α-NAA bổ sung vào môi trường tạo rễ, kết quả tạo rễ có tỷ lệ cũng cao (trên 90%).

Mức độ mất nước và khả năng chịu mất nước của mô sẹo dưới tác động của thổi khô

Mức độ mất nước của mô sẹo phôi đậu xanh dưới tác động của thổi khô

Để xác định ngưỡng chịu hạn của mô sẹo, chúng tôi chọn kỹ thuật thổi khô để xử lý mô sẹo. Trong thí nghiệm này, thổi khô bằng luồng khí vô trùng ở các ngưỡng thời gian là 3, 5, 7, 9 ngày. Kết quả thể hiện trong bảng 4.

Bảng 3. Ảnh hưởng của α -NAA tới khả năng ra rễ của cây tái sinh từ mô sẹo phôi đậu xanh

C2	VN 93-1	VC 99-3	VC 1973A	ĐX 06	VC 3902A	VC 6148	VC 6372	VC 2768A
Sau 3 tuần								
0,2	75,67 ± 4,5	71,0 ± 3,0	68,7 ± 4,3	68,7 ± 4,3	60,5 ± 4,5	63,0 ± 4,0	66,5 ± 3,5	65,0 ± 2,5
0,3	98,6 ± 1,4	97,0 ± 1,1	97,0 ± 1,4	97,0 ± 1,4	97,5 ± 2,5	97,5 ± 1,5	94,7 ± 2,5	96,8 ± 2,0
0,4	72,3 ± 2,7	64,0 ± 4,0	64,0 ± 2,5	64,0 ± 2,5	61,0 ± 1,5	60,5 ± 2,5	61,5 ± 4,5	63,1 ± 5,0
Sau 5 tuần								
0,2	85,5 ± 1,5	76,0 ± 3,0	68,7 ± 4,3	73,5 ± 3,5	68,0 ± 1,0	69,0 ± 1,0	70,0 ± 1,5	76,0 ± 3,8
0,3	99,0 ± 1,0	98,0 ± 1,9	97,0 ± 1,4	98,0 ± 1,8	98,5 ± 1,5	98,0 ± 1,5	94,7 ± 2,5	97,0 ± 2,5
0,4	65,5 ± 2,5	66,0 ± 2,0	64,0 ± 2,5	64,0 ± 1,5	65,0 ± 1,5	63,0 ± 2,5	63,5 ± 3,0	64,5 ± 1,5

C2. Nồng độ α -NAA; tỷ lệ ra rễ của đậu xanh = số chồi ra rễ/tổng số chồi cây chuyển (%).

Bảng 4. Độ mất nước của mô sẹo phôi đậu xanh sau khi xử lý bằng thời khô (% khối lượng tươi)

Thời gian thời khô (giờ)	VN 93-1	VN 99-3	VC 1973A	ĐX 06	VC 3902A	VC 6148	VC 6372	VC 2768A
3	48,84	50,00	70,60	62,15	50,28	64,18	60,22	57,29
5	65,22	65,86	79,05	73,92	69,86	73,92	72,28	69,26
7	85,75	82,38	81,44	82,53	85,38	82,53	76,29	84,26
9	87,79	89,67	83,19	85,99	86,67	85,99	81,68	85,65

Độ mất nước của mô tăng theo thời gian thời khô ở tất cả các giống. Sau 3 giờ đến 5 giờ thời khô, mức độ mất nước ở giống VC1973A là cao nhất (70,60-79,05% khối lượng tươi), sau đó là giống VC6148 (64,18-73,92% khối lượng tươi), giống VN93-1 có mức độ mất nước thấp nhất (48,84%-65,22% khối lượng tươi). Ở các

ngưỡng thời khô 7 giờ, 9 giờ độ mất nước của mô tăng dần. Mức độ mất nước giữa các giống có sự khác nhau chút ít. Kết quả của chúng tôi phù hợp với nhận xét của các tác giả khi chọn dòng tế bào chịu thời khô ở lúa [5].

Khả năng chịu mất nước của mô sẹo phôi đậu xanh sau khi xử lý bằng thời khô

Bảng 5. Tỷ lệ sống sót (%) của mô sẹo phôi đậu xanh sau thời khô 1 tuần nuôi phục hồi

Thời gian thời khô (giờ)	Tỷ lệ sống sót của mô sẹo phôi đậu xanh sau thời khô 1 tuần							
	VN 93-1	VN 99-3	VC 1973A	ĐX 06	VC 3902A	VC 6148	VC 6372	VC 2768A
3	100,0	96,29	85,00	95,00	96,00	92,00	92,40	95,38
5	100,0	88,00	75,00	91,00	92,00	68,00	85,83	90,20
7	96,43	80,00	42,86	64,38	65,38	44,82	76,43	72,18
9	88,00	44,00	23,80	50,00	51,00	34,61	66,35	55,78

Tỷ lệ sống sót của mô sẹo phôi đậu xanh được đánh giá sau khi nuôi phục hồi 1 tuần. Quan sát khả năng phục hồi mô sẹo phôi đậu xanh sau khi xử lý bằng thời khô được cấy lên môi trường tái sinh chúng tôi nhận thấy, sau 2-3 ngày những mô sẹo sống sót đã hút nước và sinh trưởng bình thường. Tỷ lệ sống sót của mô sẹo tỷ lệ nghịch với thời gian xử lý (bảng 5).

Sau 3, 5, 7, 9 giờ thời khô, tỷ lệ mô sẹo phôi đậu xanh sống sót của giống VN93-1 đạt lớn nhất và cuối cùng là giống VC1973A có tỷ lệ mô sẹo sống sót thấp nhất, sau 9 giờ thời khô chỉ còn 23,80%. Như vậy, cùng một mức độ mất nước như nhau nhưng khả năng chịu mất nước của mô sẹo có sự khác nhau rõ rệt giữa các giống nghiên cứu.

Khả năng tái sinh cây từ mô sẹo phôi đậu xanh sống sót sau khi xử lý bằng thời khô

Ở ngưỡng xử lý bằng thời khô 3 giờ, 8 giống đậu xanh đều có khả năng tái sinh cao và thời

gian xử lý càng lâu thì tỷ lệ tái sinh càng giảm. Giống có tỷ lệ tái sinh cao nhất là giống VN93-1, giống VC1973A có tỷ lệ tái sinh thấp nhất ở các ngưỡng thời gian xử lý (bảng 6).

Bảng 6. Khả năng tái sinh cây từ mô sẹo phôi đậu xanh sống sót sau khi xử lý bằng thời khô

Thời gian thời khô (giờ)	Tỷ lệ tái sinh của mô sẹo phôi đậu xanh sau khi thời khô (%)							
	VN 93-1	VN 99-3	VC 1973A	ĐX 06	VC 3902A	VC 6148	VC 6372	VC 2768A
3	96,4	88,1	85,5	87,8	89,8	95,0	85,6	89,5
5	87,2	84,7	66,9	84,4	82,0	83,0	67,7	70,6
7	80,6	79,6	50,1	79,0	74,7	76,0	52,2	50,7
9	20,0	15,7	10,5	17,3	20,2	16,3	10,7	12,8

Từ kết quả thí nghiệm xử lý mô sẹo bằng thời khô, chúng tôi đã thu được 289 dòng mô chịu mất nước của 8 giống đậu xanh và 715 dòng cây xanh. Đây là nguồn vật liệu phong phú cho chọn dòng chịu hạn ở cây đậu xanh tái sinh từ mô sẹo chịu mất nước.

KẾT LUẬN

Môi trường thích hợp nhất cho tạo mô sẹo của phôi đậu xanh là môi trường MS có bổ sung 10 mg/l 2,4D đối với các giống VN93-1; VN99-3; VC1973A; VC3902A; VC6148; VC6372; VC2768A. Còn giống đậu xanh ĐX06 thích hợp với môi trường có nồng độ là 11 mg/l 2,4D. Tỷ lệ tái sinh, số chồi trung bình và kích thước chồi cao nhất (77,3-98,6%) trên môi trường MS có bổ sung BAP với nồng độ 3 mg/l. Môi trường thích hợp cho tạo cây hoàn chỉnh là môi trường MS có bổ sung 0,3 mg/l α -NAA. Cả 8 giống đậu xanh nghiên cứu đều có khả năng chịu hạn ở mức độ mô sẹo và có biểu hiện khác nhau giữa các giống. Đã thu được 289 dòng mô chịu mất nước và 715 dòng cây xanh của 8 giống đậu xanh nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ignacimuthu S. and Franklin G., 1999. Regeneration of plantlets from cotyledon and embryonal axis explants of *Vigna mungo* L. Hepper. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 55: 75-78.

- Kaviraj C. P., Kiran G., Venugopan R. B., Kavi Kishor P. B., Srinath R., 2006. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cotyledorary explants of green gram (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) - A recalcitrant grain legume. In vitro Cell Der Biol Plant, 42: 134-138.
- Rudrabhatla S., Siva C., Madasamy P., Shulu Z., Diao A., Wissam A. A. and Stephen G., 2005. Obpc symposium: Maize 2004 & beyond-plant regeneration, gene discovery, and genetic engineering of plants for crop improvement. In Vitro Cell Dev Biol Plant, 41: 411-423.
- Đinh Thị Phòng, 2001. Nghiên cứu khả năng chịu hạn và chọn dòng chịu hạn ở lúa bằng công nghệ tế bào thực vật. Luận án Tiến sĩ Sinh học, Viện Công nghệ sinh học, Hà Nội, 137 trang.
- Nguyễn Thị Tâm, 2004. Nghiên cứu khả năng chịu nóng và chọn dòng chịu nóng ở lúa bằng công nghệ tế bào thực vật. Luận án Tiến sĩ Sinh học, Hà Nội, 129 trang.
- Mai Trường, Nguyễn Hữu Hổ, Lê Tấn Đức, Nguyễn Văn Uyên, 2001. Nghiên cứu hệ thống tái sinh và chuyển gen ở cây đậu xanh (*Vigna radiata* L.). Phần I: Hệ thống tái sinh cây đậu xanh từ cuống tử diệp nuôi cấy invitro. Tạp chí Sinh học, 23(1): 33-35.

**REGENERATION OF *Vigna radiata* (L.) Wilczek VIA CALLUS
AND ABILITY FOR WATER STRESS TOLERANCE OF CALLUS LINES**

Nguyen Vu Thanh Thanh, Chu Hoang Mau

Thai Nguyen University

SUMMARY

In this paper, we present results on plant regeneration in mungbean and drought tolerance at callus level of eight mungbean cultivars (VN93-1; VN99-3; VC1973A; VC3902A; VC6148; VC6372; VC2768A, ĐX06). *Vigna radiata* (L.) Wilczek were regenerated via callus. The calli were formed from embryos on callus induction medium (MS+10 mg/l 2,4D for VN93-1; VN99-3; VC1973A; VC3902A; VC6148; VC6372; VC2768A or MS+11 mg/l 2,4D for ĐX06). The formed calli were transferred onto shoots regeneration medium. MS medium added with 3 mg/l BAP was most suitable for shoot regeneration. Rate of shoot regeneration was from 77.3% to 98.6%. The MS medium added with 0.3 mg/l α -NAA gave the highest rate of root and plant formation. 289 dehydration-tolerant callus lines and 715 plant lines have been generated.

Keywords: *Vigna radiata*, callus, regeneration, roots, shoots.

Ngày nhận bài: 31-1-2012