

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ TỚI NUÔI CÂY *IN VITRO* GIỐNG KHOAI TÂY MARABEL (*Solanum tuberosum*. L)

Nguyễn Duy Phương^{1*}, Nguyễn Văn Cửu¹, Ngô Thị Vân Anh¹, Phạm Xuân Hội¹

¹Bộ môn Bệnh học phân tử, Viện Di truyền Nông nghiệp

*Email: phuongnd.bio@gmail.com

TÓM TẮT

Khoai tây (*Solanum tuberosum* L.) là loại cây trồng quan trọng ở nhiều quốc gia trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Chọn giống khoai tây bằng các phương pháp lai truyền thống thường gặp nhiều khó khăn do sự phức tạp của hệ gen khoai tây. Các phương pháp chọn giống chính xác như: Chuyển gen hay chỉnh sửa gen, mặc dù có nhiều ưu điểm nhưng lại phụ thuộc rất lớn vào quy trình nuôi cấy *in vitro* và tái sinh chồi. Giống khoai tây Marabel có một số đặc tính vượt trội nên rất được ưu chuộng trong sản xuất, tuy nhiên các nghiên cứu về nuôi cấy *in vitro* giống này chưa nhiều. Nghiên cứu đã đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố quan trọng lên khả năng tạo mô sẹo của giống khoai tây Marabel và xác định môi trường nuôi cấy tối ưu chứa 2,4-D 1,0 mg/L và Zeatin 1,0 mg/L với hiệu suất đạt 90%. Tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi của giống khoai tây Marabel đạt 31,7% trên môi trường nuôi cấy sử dụng kết hợp Zeatin 1,0 mg/L, NAA 0,1 mg/L. Các kết quả đạt được là tiền đề quan trọng cho việc nghiên cứu quy trình chuyển gen và chỉnh sửa gen cho giống khoai tây Marabel trong tương lai.

Từ khóa: *In vitro*, khoai tây, Marabel, nuôi cấy mô.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khoai tây (*Solanum tuberosum* L.) là cây trồng quan trọng thứ tư trên thế giới, với khoảng 378 triệu tấn được sản xuất hàng năm. Khoai tây được sử dụng làm thực phẩm, công nghiệp chế biến, sản xuất năng lượng sinh học, làm nguyên liệu thô trong ngành công nghiệp giấy, dệt, mỹ phẩm, chất kết dính và nhựa... [1]. Chính vì vậy, chọn giống khoai tây có năng suất, chất lượng tốt luôn là vấn đề được quan tâm của khoa học cây trồng.

Chọn giống khoai tây có thể được thực hiện bằng cả phương pháp thông thường và ứng dụng công nghệ sinh học. Do hầu hết các giống khoai tây có bộ gen tứ bội, mức độ dị hợp tử cao và nền di truyền hẹp nên việc nhân giống theo phương pháp truyền thống gặp nhiều thách thức. Chuyển gen là phương pháp thay thế hiệu quả, cho phép đưa các gen quan tâm vào các giống thương mại mà không làm thay đổi các tổ hợp alen đặc trưng của giống gốc [1]. Gần đây, sự ra đời của các “kỹ thuật chọn giống mới” (New Breeding

Techniques) đã cho phép các nhà chọn giống phân tử tạo ra các sửa đổi chính xác trong hệ gen để cải tiến tính trạng khoai tây, trong khi giảm thiểu được các tác động phụ khác [2].

Đối với phương pháp chuyển gen hay chỉnh sửa gen trên thực vật, quy trình nuôi cấy *in vitro* hiệu suất cao là một trong những điều kiện tiên quyết đảm bảo sự thành công [2]. Marabel là giống khoai tây rất được ưa chuộng trong sản xuất, với nhiều đặc tính quý như: Dễ sản xuất, thích ứng rộng, năng suất cao, chất lượng tốt (vị đậm và ngon). Tuy nhiên, cho tới nay, hầu như chưa có nghiên cứu nào về nuôi cấy *in vitro* giống khoai tây này, đặc biệt là về quy trình nuôi cấy mô sẹo phục vụ mục đích chuyển gen.

Chính vì vậy, nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố tới quá trình nuôi cấy *in vitro* tạo mô sẹo và khảo sát khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo cho giống khoai tây Marabel là rất cần thiết, làm tiền đề cho các nghiên cứu cải tiến tính trạng bằng kỹ thuật di truyền sau này.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Giống khoai tây Marabel được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây, Rau và Hoa.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Khảo sát loại vật liệu tạo mô sẹo khoai tây

Mảnh lá và đoạn thân được cắt từ cây khoai tây nuôi cấy *in vitro* 14 ngày tuổi (chiều cao 7 - 10 cm) và được đặt trên môi trường nuôi cấy tạo mô sẹo (muối MS, 2,4-D 0,5 mg/L, Zeatin 0,5 mg/L, sucrose 30 g/L, Myo-inositol 100 mg/L, agar 10 g/L). Mẫu được nuôi cấy ở nhiệt độ $26 \pm 2^\circ\text{C}$, trong điều kiện tối hoàn toàn. Mẫu được cấy chuyển sang môi trường mới (cùng thành phần) sau mỗi 2 tuần. Sau 2 - 3 tuần nuôi cấy, tỉ lệ mẫu tạo mô sẹo được tính theo công thức: $\text{Tỉ lệ mẫu tạo mô sẹo (\%)} = (\text{Số mẫu tạo mô sẹo} / \Sigma \text{số mẫu cấy}) * 100\%$. Thí nghiệm được thực hiện với tối thiểu 30 mẫu/thí nghiệm, lặp lại 3 lần.

2.2.2. Khảo sát nồng độ 2,4-D và Zeatin trong môi trường nuôi cấy *in vitro* tạo mô sẹo khoai tây

Bảng 1. Công thức thành phần [2,4-D : Zeatin] trong môi trường nuôi cấy tạo mô sẹo khoai tây

Tên công thức	Thành phần	
	2,4-D (mg/L)	Zeatin (mg/L)
T1	1,0	0,5
T2	0,5	1,0
T3	1,0	1,0

Đoạn thân được cắt từ cây khoai tây nuôi cấy *in vitro* 14 ngày tuổi (chiều cao 7 - 10 cm) và được đặt trên môi trường nuôi cấy tạo mô sẹo (muối MS, sucrose 30 g/L, Myo-inositol 100 mg/L, agar 10 g/L) được bổ sung hormone khác nhau. Đối với thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của 2,4-D hay Zeatin, hormone được bổ sung vào môi trường nuôi cấy với các nồng độ lần lượt 0,5 mg/L; 1,0 mg/L; 1,5 mg/L và 2,0 mg/L. Đối với thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của tổ hợp [NAA : Zeatin], hormone được bổ sung vào môi trường nuôi cấy theo các tỉ lệ khác nhau (Bảng). Mẫu được nuôi cấy ở nhiệt độ $26 \pm 2^\circ\text{C}$, trong điều kiện tối hoàn toàn. Mẫu được cấy chuyển sang môi trường mới

(cùng thành phần) sau 2 tuần. Sau 2 - 3 tuần nuôi cấy, tỉ lệ mẫu tạo mô sẹo được tính theo công thức: $\text{Tỉ lệ mẫu tạo mô sẹo (\%)} = (\text{Số mẫu tạo mô sẹo} / \Sigma \text{số mẫu cấy}) * 100\%$. Thí nghiệm được thực hiện với tối thiểu 30 mẫu/thí nghiệm, lặp lại 3 lần.

2.2.3. Tái sinh chồi từ mô sẹo khoai tây

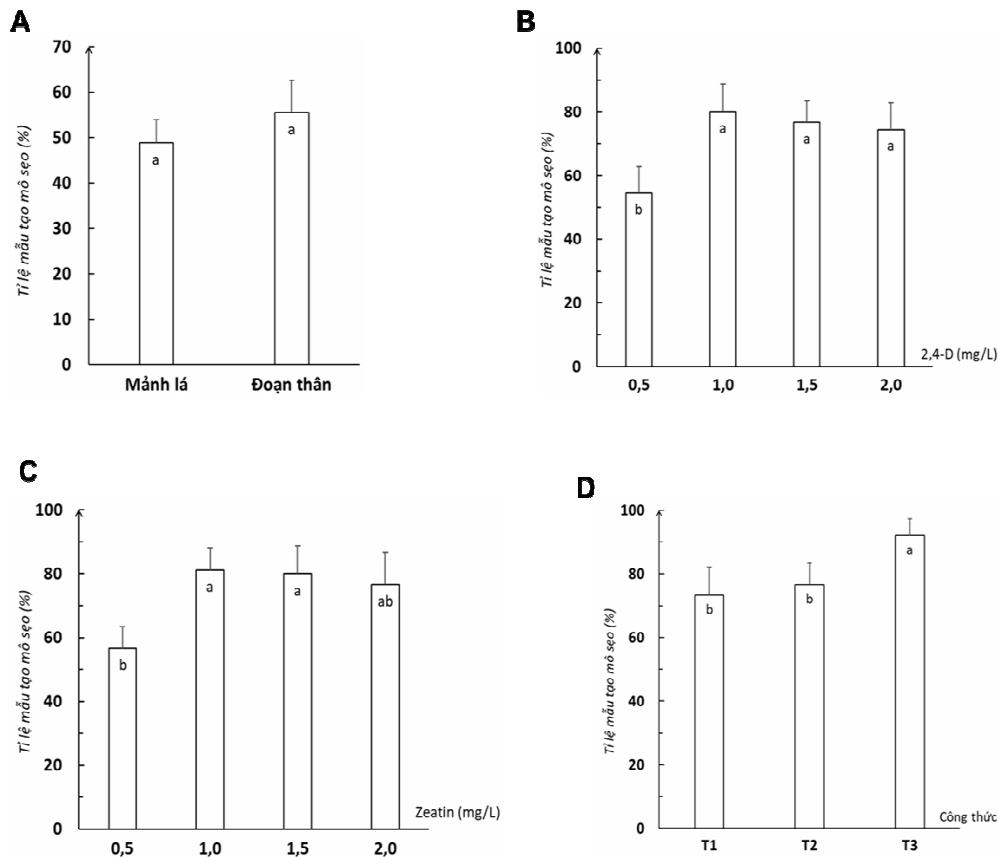
Quy trình tái sinh chồi *in vitro* từ mô sẹo khoai tây được xây dựng dựa trên một số công bố trước đây [3 - 5]. Mẫu mô sẹo được nuôi cấy trên môi trường tái sinh chồi (muối MS, sucrose 30 g/L, Zeatin 1,0 mg/L, NAA 0,1 mg/L, Myo-inositol 100 mg/L, agar 10 g/L). Mẫu được nuôi cấy ở nhiệt độ $26 \pm 2^\circ\text{C}$, trong điều kiện chiếu sáng 16 giờ/ngày. Mẫu được cấy chuyển sang môi trường mới (cùng thành phần) sau mỗi 2 tuần. Sau 4 - 5 tuần nuôi cấy, tỉ lệ mẫu tái sinh (%) và tỉ lệ chồi/mô sẹo được ghi lại. Thí nghiệm được thực hiện tối thiểu 100 mẫu/thí nghiệm, lặp lại 3 lần.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của loại mẫu đến khả năng tạo mô sẹo của giống khoai tây Marabel

Mô sẹo khoai tây có thể được tạo từ nhiều loại vật liệu khác nhau, bao gồm cả mảnh lá, mắt mầm [6], đoạn thân [7]. Trong nghiên cứu này, để phù hợp với nguồn vật liệu đã có (cây khoai tây nuôi cấy *in vitro*), hai loại vật liệu là mảnh lá và đoạn thân đã được khảo sát để xác định khả năng tạo mô sẹo của giống khoai tây Marabel. Mẫu mảnh lá và đoạn thân sau 2 tuần nuôi cấy trên môi trường tạo mô sẹo đều tạo mô sẹo. Tỉ lệ mô sẹo thu được khá cao và không có sự khác biệt đáng kể giữa 2 lô thí nghiệm sử dụng 2 loại vật liệu khác nhau (Hình 1A), đạt trung bình từ 53 - 63%. Điều này cho thấy, khả năng tạo mô sẹo của khoai tây không phụ thuộc nhiều vào loại mẫu nuôi cấy. Nhận định này cũng phù hợp với công bố của Ahmet và Sezai (2015) [6] khi nghiên cứu khả năng tạo mô sẹo từ mảnh lá và mắt mầm.

Như vậy, để tạo mô sẹo cho giống khoai tây Marabel, mảnh lá và đoạn thân của cây khoai tây nuôi cấy *in vitro* đều có thể sử dụng. Tuy nhiên, với thực tế các mẫu chồi khoai tây nuôi cấy *in vitro* có nhiều lá, sử dụng mảnh lá làm vật liệu phù hợp hơn trong các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng tạo mô sẹo khoai tây

Ghi chú: Giống khoai tây Marabel được nuôi cấy in vitro tạo mô sẹo. (A) Các loại vật liệu khác nhau (mảnh lá, đoạn thân) được sử dụng cho nuôi cấy. (B) Nuôi cấy tạo mô sẹo trên môi trường bổ sung 2,4-D có nồng độ khác nhau (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L). (C) Nuôi cấy tạo mô sẹo trên môi trường bổ sung Zeatin có nồng độ khác nhau (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L). (D) Nuôi cấy tạo mô sẹo trên môi trường bổ sung tổ hợp 2,4-D: Zeatin theo 3 công thức (T1, T2, T3). Giá trị trên đồ thị là tỉ lệ tạo mô sẹo trung bình của 3 lần thí nghiệm. Các chữ cái giống nhau trên cột thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê giữa các giá trị trung bình trong cùng một giống ($\alpha = 0,05$). Thanh bar thể hiện giá trị độ lệch chuẩn.

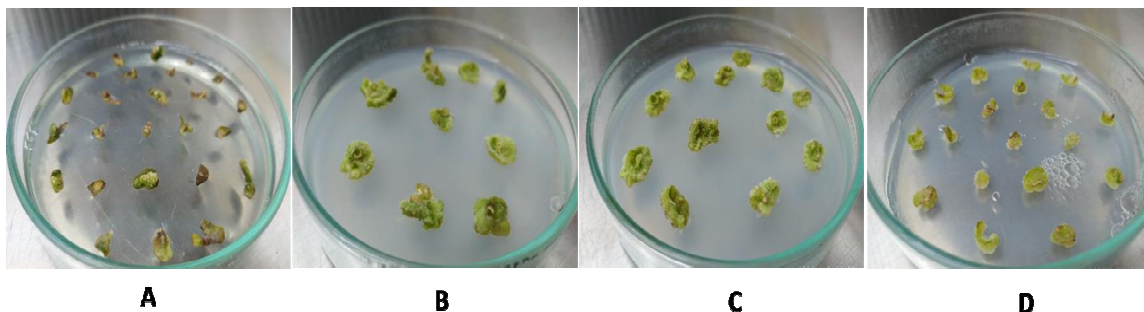
3.2. Ảnh hưởng của 2,4-D đến khả năng tạo mô sẹo của khoai tây

Hiệu suất tạo mô sẹo phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm cả kiểu gen, thành phần môi trường nuôi cấy và sự kết hợp các loại hormone với nồng độ thích hợp trong môi trường nuôi cấy [7]. Một số nghiên cứu đã thực hiện tạo mô sẹo trên các giống khoai tây, nhưng chưa có công bố nào về giống khoai tây Marabel. Vì vậy, thí nghiệm này được thực hiện để đánh giá ảnh hưởng của 2,4-D với các nồng độ khác nhau đến hiệu suất tạo mô sẹo của giống khoai tây này.

Kết quả quan sát cho thấy, mẫu nuôi cấy có phản ứng tạo mô sẹo trên tất cả các môi trường được thử nghiệm (tỉ lệ mô sẹo trung bình > 50%) (Hình 1B). Về hình thái (Hình 2), hầu hết các mô sẹo có màu trắng lục hoặc xanh lục; mặc dù cũng xuất hiện một số mô sẹo có màu trắng hơi vàng, xanh lục vàng và vàng. Đa số mô sẹo hình thành có kiểu cấu trúc đặc nhưng mềm, dễ vỡ. Sự hình thành mô sẹo xảy ra ở các cạnh cắt của mẫu, sau đó mở rộng mô sẹo để dần dần bao phủ toàn bộ mẫu (Hình 2). So sánh về tỉ lệ mẫu tạo mô sẹo cho thấy, môi trường được bổ sung 2,4-D với nồng độ thấp (0,5 mg/L) cho phản ứng tạo mô sẹo và tốc độ tăng

sinh mô sẹo thấp nhất. Ba thí nghiệm sử dụng 2,4-D có nồng độ cao hơn (1,0 mg/L, 1,5 mg/L và 2,0 mg/L) có tỉ lệ tạo mô sẹo cao hơn rõ rệt so với môi

trường có 2,4-D 0,5 mg/L; tuy nhiên, sự khác biệt giữa các nồng độ 2,4-D này không có ý nghĩa thống kê (Hình 1B).



Hình 2. Tạo mô sẹo khoai tây trên môi trường có bổ sung 2,4-D

Ghi chú: Mảnh lá non của giống khoai tây Marabel (E-H) được nuôi cấy trên môi trường tạo mô sẹo có bổ sung 2,4-D 0,5 mg/L (A), 1,0 mg/L (B), 1,5 mg/L (C) và 2,0 mg/L (D). Hình ảnh được ghi lại sau 14 ngày nuôi cấy.

Nghiên cứu của Abd Elaleem và cs (2009) đã gợi ý rằng, phản ứng tạo mô sẹo tốt nhất của khoai tây, đạt được khi bổ sung 2,4-D 3,0 mg/L [8]. Trong khi đó, nghiên cứu của Al-Hussaini và cs (2015) thu được tỉ lệ tạo mô sẹo cao nhất với môi trường bổ sung 2,4-D 2,0 mg/L (từ 11,1 - 88,9%, tùy từng giống) [7]. Trong nghiên cứu này, kết quả thu được cho thấy, phản ứng tạo mô sẹo của giống khoai tây Marabel cũng không thay đổi khi bổ sung 2,4-D từ 1,0 - 2,0 mg/L. Điều này khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Khalafalla và cs (2010), trong đó thu được tỉ lệ tạo mô sẹo cao nhất (100%) trên môi trường có bổ sung 2,4-D từ 2,0 - 5,0 mg/L [9]. Để giảm thiểu chi phí, công thức môi trường bổ sung 2,4-D 1,0 mg/L đã được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của Zeatin đến khả năng tạo mô sẹo của khoai tây

Đối với các nghiên cứu tạo mô sẹo khoai tây, bên cạnh 2,4-D là hormone phổ biến nhất được sử dụng, một vài loại hormone thuộc nhóm cytokinin như Zeatin, BAP [7], Thidiazuron [8] cũng có thể sử dụng. Trong thí nghiệm này, hiệu quả kích thích phản ứng tạo mô sẹo của Zeatin với các nồng độ khác nhau trên giống khoai tây Marabel đã được đánh giá. Số liệu quan sát mô sẹo hình thành sau 3 tuần nuôi cấy (Hình 1C) cho thấy, môi trường bổ sung Zeatin 0,5 mg/L có tỉ lệ tạo mô sẹo thấp nhất (56,7%). Trong khi đó, các môi trường bổ

sung Zeatin 1,0 - 2,0 mg/L không có sự khác biệt về mặt thống kê, tỉ lệ mô sẹo cao nhất quan sát được ở môi trường có Zeatin 1,0 mg/L.

Như vậy, nồng độ Zeatin tối ưu có thể bổ sung vào môi trường tạo mô sẹo cho giống khoai tây Marabel có thể từ 1,0 - 2,0 mg/L. Tuy nhiên, để đảm bảo hiệu quả về chi phí, công thức Zeatin 1,0 mg/L đã được lựa chọn cho các phân tích tiếp theo

3.4. Ảnh hưởng của tổ hợp [2,4-D : Zeatin] đến khả năng tạo mô sẹo của khoai tây

Trong các nghiên cứu tạo mô sẹo thực vật, việc kết hợp auxin và cytokinin với tỉ lệ thích hợp có thể kích thích phản ứng tạo mô sẹo tốt hơn. Trong phạm vi thí nghiệm này, 3 công thức kết hợp [2,4-D : Zeatin] đã được khảo sát để xác định thành phần môi trường tối ưu nuôi cấy tạo mô sẹo cho giống khoai tây Marabel. Sau 3 tuần nuôi cấy, quan sát sự hình thành mô sẹo trên các môi trường (Hình 1D) cho thấy, tỉ lệ mẫu tạo mô sẹo cao nhất quan sát được ở công thức môi trường T3 (90,0%). Đối với 2 công thức còn lại, số lượng mẫu tạo mô sẹo khác nhau không đáng kể (tỉ lệ trung bình từ 72,2 - 76,7%). So với việc bổ sung đơn chất 2,4-D hay Zeatin, hiệu suất tạo mô sẹo đã được cải thiện khoảng ~ 10%.

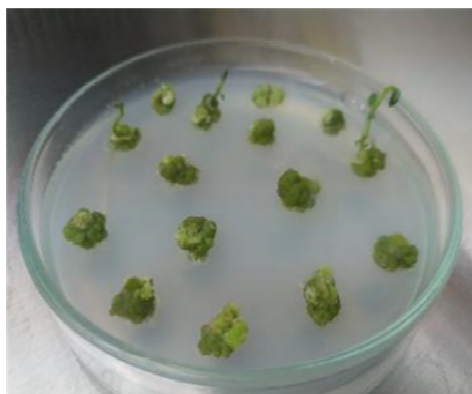
Trong hầu hết các nghiên cứu tạo mô sẹo khoai tây từ mảnh lá trước đây, hiệu suất tạo mô sẹo được công bố thường khá cao, tùy thuộc vào từng giống. Ví dụ, hiệu suất tạo mô sẹo của 3

giống khoai tây: Caspar, Pasinler và Granola là 87,5% [6]; Diamant, Burren, Riviera và Desiree là 100% [7, 8, 10], Provento là 88,9% [7]. Tuy nhiên, cũng có những giống khoai tây có hiệu suất tạo mô sẹo khá thấp, như giống Arnova chỉ đạt 27,8% [7].

Hai giống khoai tây được khảo sát trong nghiên cứu này đều có phản ứng tạo mô sẹo tốt trên môi trường đã tối ưu (> 90%). Hơn nữa, một số nghiên cứu đã chứng minh việc sử dụng đơn chất hormone sinh trưởng vẫn cho hiệu quả tạo mô sẹo tối ưu [8, 10]. Ngược lại, nghiên cứu trên các giống khoai tây khác lại thu được tỉ lệ tạo mô sẹo cao hơn khi sử dụng kết hợp auxin và cytokinin [6, 7]. Điều này cũng tương đồng với kết quả thu được trong nghiên cứu này, khi sử dụng kết hợp [2,4-D : Zeatin] đã cho hiệu suất tạo mô sẹo được cải thiện so với sử dụng đơn chất.

3.5. Khảo sát khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo của giống khoai tây Marabel

Việc tái sinh chồi là bước rất quan trọng trong quy trình nuôi cấy tế bào và mô *in vitro* để chuyển gen cây trồng. Quy trình tái sinh cây khoai tây đã có nhiều tiến bộ trong 2 thập kỉ qua. Cho đến nay, rất nhiều nghiên cứu đã thực hiện tái sinh thành công cây *in vitro* thành công từ các loại mẫu cấy của các cơ quan và mô khác nhau của khoai tây như lá, thân, đĩa củ và phôi non... [11]. Thí nghiệm này được tiến hành nhằm đánh giá khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo của giống khoai tây Marabel (Hình 3). Kết quả thu được (Bảng 2) sau 4 tuần nuôi cấy cho thấy, tỉ lệ mô sẹo tái sinh đạt 31,7%. Bên cạnh đó, số chồi/mô sẹo thu được trên môi trường nuôi cấy đạt 1,9.



Hình 3. Tái sinh chồi từ mô sẹo khoai tây

Ghi chú: Chồi được tái sinh từ mô sẹo của giống khoai tây Marabel trên môi trường nuôi cấy in vitro. Hình ảnh được ghi lại sau 14 ngày nuôi cấy mô sẹo.

Bảng 1. Khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo của giống khoai tây Marabel

Loại mẫu	Tổng số	Tỉ lệ (%)
Mô sẹo	413	100
Mô sẹo tái sinh chồi	128	31,7
Số chồi	229	-

Yasmin và cs (2003) đã báo cáo hiệu suất tái sinh chồi từ mô sẹo đạt tới 80% và 16 chồi/mô sẹo đối với giống khoai tây Cardinal [12]. Trong khi đó, Sajid (2010) lại xác định sự kết hợp của NAA và TDZ là sự lựa chọn tốt nhất để đạt được tỷ lệ tái sinh cao nhất ở các giống khoai tây Cardinal và Desiree [13]. Tương tự, Abd Elaleem và cs (2009)

cũng công bố hiệu quả tái sinh chồi từ mô sẹo giống khoai tây Diamant khi sử dụng TDZ đạt tới 81% và số lượng chồi/mô sẹo đạt 3,4 chồi [8]. Al-Hussaini và cs (2015) đã xác định hiệu suất tái sinh chồi của các giống Burren Provento, Riviera và Arnova đạt lần lượt 66,67%, 83,33%, 100% và 25%; số chồi/mô sẹo đạt trung bình từ 1 - 5,92; tuy nhiên, mỗi giống được nuôi cấy với một công thức môi trường tái sinh khác nhau [7].

Trong nghiên cứu này, hiệu suất tái sinh chồi của giống khoai tây Marabel đạt 31,7%. Sự khác biệt về tỉ lệ tái sinh chồi giữa các nghiên cứu có thể do sự khác biệt về bản chất di truyền của giống thành phần hoặc do thành phần môi trường

tái sinh. Sự kết hợp của các chất điều hòa sinh trưởng cytokinin và auxin là yêu cầu thiết yếu để kích thích sự hình thành chồi từ mô sẹo [7]. Sự biểu hiện của nhiều gen liên quan tới các quá trình biệt hóa và phân chia tế bào có thể bị thay đổi rõ rệt để đáp ứng với cytokinin và các chất kích thích bổ sung như auxin [14], dẫn tới kích hoạt sự phân chia tế bào ở mô phân sinh và làm thay đổi tính đàn hồi của thành tế bào [7]; hệ quả cuối cùng là tế bào biểu hiện mức độ tái sinh khác nhau.

4. KẾT LUẬN

Hiệu suất tạo mô sẹo của giống khoai tây Marabel chịu ảnh hưởng chủ yếu bởi thành phần hormone trong môi trường nuôi cấy, bao gồm 2,4-D và Zeatin. Thành phần môi trường tạo mô sẹo tối ưu sử dụng 2,4-D 1,0 mg/L, Zeatin 1,0 mg/L; đạt hiệu suất 90,0%. Giống khoai tây Marabel có tỉ lệ mô sẹo tái sinh chồi đạt 31,7%.

LỜI CẢM ƠN

*Nghiên cứu thuộc Nhiệm vụ thường xuyên Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Tế bào thực vật năm 2023 “Nghiên cứu xây dựng quy trình chuyển hệ thống chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 vào cây Mía (*Saccharum officinarum* L.), Khoai tây (*Solanum tuberosum*) và Bạch đàn (*Eucalyptus*)”. Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nahirñak V., Almasia N. I., González M. N., Massa G. A., Décima Oneto C. A., Feingold S. E., Hopp H. E., Vazquez Rovere C. (2022). State of the art of genetic engineering in potato: From the first report to its future potential. *Front. Plant Sci.*, 12: 768233.
2. Razzaq A., Saleem F., Kanwa, M., Mustafa G., Yousaf S., Imran Arshad H. M., Hameed M. K., Khan M. S., Joyia F. A. (2019) Modern trends in plant genome editing: An inclusive review of the CRISPR/Cas9 toolbox. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(16): 40 - 45.
3. Gustafson V., Mallubhotla S., MacDonnell J., Sanyal-Bagchi M., Chakravarty B., Wang-Pruski G., Rothwell C., Audy P., DeKoeyer D., Siahbazi M., Flinn B., Regan S. (2006). Transformation and plant regeneration from leaf explants of *Solanum*

tuberosum L. cv. “Shepody”. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 85: 361 - 366.

4. Heeres P., Schippers-Rozenboom M., Jacobsen E., Visser R. (2006). Transformation of a large number of potato varieties: genotype-dependent variation in efficiency and somaclonal variability, *Euphytica*, 124: 13 - 22.

5. Ducreux L. J. M., Morris W. L., Taylor M. A., Millam S. (2005). *Agrobacterium*-mediated transformation of *Solanum phureja*, *Plant Cell Reports*, 24: 10 - 14.

6. Ahmet M. K., Sezai E. (2015). Callus induction, shoot proliferation and root regeneration of potato (*Solanum tuberosum* L.) stem node and leaf explants under long-day conditions, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29: 6, 1075 - 1084.

7. Al-Hussaini Z. A., Yousif S. H. A., Al-Ajeely S. A. (2015). Effect of different medium on callus induction and regeneration in potato cultivars. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 4(5): 856 - 865.

8. Abd Elaleem K., Modawi R. & Khalafalla M. (2009). Effect of plant growth regulators on callus induction and plant regeneration in tuber segment culture of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Diamant. *African Journal of Biotechnology*, 8: 2529 - 2534.

9. Khalafalla M., Abd Elaleem K., Modawi R. (2010). Callus formation and organogenesis of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Almera. *J. Phytol.*, 2: 40 - 46.

10. Qureshi M. A., Ahmad R., Ahmed B., Khan T. U. and Yasin M. (2023). Effect of growth regulators on callus induction and plant regeneration in potato (*Solanum tuberosum* L.) explants. *Sarhad Journal of Agriculture*, 39(1): 140 - 146.

11. Mutasim M. K., Khadiga G. A. E., Rasheid S. M. (2010). Callus formation and organogenesis of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Almera. *Journal of Phytology*, 2(5): 40 - 46.

12. Yasmin S., Nasiruddin K., Begum R., Talukder S. (2003). Regeneration and establishment of potato plantlet through callus

formation with BAP and NAA. *Asian J Plant Sci.*, 2: 936 - 940.

13. Sajid A. S. (2010). Biochemical characterization *in vitro* salt tolerant lines and regenerated plant of potato *Solanum tuberosum* L.

PhD thesis. Department of Botany, University of the Punjab, Lahore, Pakistan.

14. Schmülling T., Schäfer S. and Romanov G. (1997). Cytokinins as regulators of gene expression. *Physiol Plant*, 100: 505 - 519.

**OPTIMIZATION OF *IN VITRO* CULTURE MEDIUM COMPOSITION FOR POTATO
(*Solanum tuberosum* L.) CV. MARABEL**

Nguyen Duy Phuong¹, Nguyen Van Cuu¹, Ngo Thi Van Anh¹, Pham Xuan Hoi¹

¹*Department of Molecular Pathology, Agricultural Genetics Institute*

Summary

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is a globally significant crop, including in Vietnam. Traditional breeding methods for potatoes are often challenging due to the complexity of the potato genome. While precision breeding techniques like gene transformation and editing offer advantages, they heavily rely on efficient *in vitro* culture and shoot regeneration processes. The Marabel potato variety, popular in production for its outstanding characteristics, has been understudied in terms of *in vitro* culture. This study investigated key factors influencing callus formation in Marabel potatoes and determined an optimal culture medium containing 2,4-D (1.0 mg/L) and Zeatin (1.0 mg/L), achieving 90% efficiency. Shoot regeneration from callus reached 31.7% using a medium combining Zeatin (1.0 mg/L) and NAA (0.1 mg/L). These findings provide a crucial foundation for future gene transfer and editing research in the Marabel potato variety.

Keywords: *In vitro*, Marabel, potato, tissue culture.

Ngày nhận bài: 10/9/2024

Ngày chuyển phản biện: 01/11/2024

Ngày thông qua phản biện: 19/11/2024

Ngày duyệt đăng: 10/3/2025