

HIỆU QUẢ CỦA BENZYL ADENINE (BA) VÀ NAPHTHALENE ACETIC ACID (NAA) TRÊN SỰ TẠO MÔ SẸO VÀ TÁI SINH CHỒI Ở CÂY CÀ CHUA (*LYCOPERSICON ESCULENTUM* L.)

Lê Hồng Giang¹ và Đặng Thị Thúy Vân

¹ Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 30/12/2013

Ngày chấp nhận: 28/04/2014

Title:

Effects of Benzyl adenine (BA) and Naphthalene acetic acid (NAA) on the callus induction and shoot regeneration of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.)

Từ khóa:

Benzyl adenine, naphthalene acetic acid, mô sẹo, tái sinh chồi, cây cà chua

Keywords:

Benzyl adenine, naphthalene acetic acid, callus, shoot regeneration, tomato

ABSTRACT

Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) is an important crop grown throughout the world because it is highly valuable and nutritious. The aim of this study is to determine the concentrations of benzyl adenine and naphthalene acetic acid which are effective for callus induction and shoot regeneration from shoot tip and young leaf explants of tomato. The results show that in shoot tip explants, MS medium supplemented with BA 0.5 and 2 mg/l alone or in combination with NAA 0.25 mg/l obtained callus induction at the maximal rate (100%). Callus had a high ability in shoot regeneration (95%) after 7 weeks cultured on medium used only BA at 1 mg/l. This medium also gave the number of shoots, shoot height and number of leaves at high values with 5 shoots, 4.7 cm and 2.6 leaves, respectively. To young leaf explants, using BA 0.5 or 1 mg/l in combination with NAA 0.25 mg/l or BA 2 mg/l alone gave callus induction rate at 100%. The medium added BA 1 mg/l alone showed shoot regeneration from callus with the rate of 88.9%. The number of shoots, shoot height and number of leaves also achieved with high values at this concentration.

TÓM TẮT

Cà chua (*Lycopersicon esculentum* L.) là loại cây trồng quan trọng được trồng khắp nơi trên thế giới vì có rất nhiều dinh dưỡng và giá trị cao. Mục đích của nghiên cứu này là xác định nồng độ của benzyl adenin và naphthalene acetic acid thích hợp cho sự tạo mô sẹo và tái sinh chồi từ chồi đỉnh và lá non của cây cà chua. Kết quả thí nghiệm cho thấy ở mẫu cây chồi đỉnh, môi trường MS bổ sung BA 0,5 và 1 mg/l đơn hay kết hợp với NAA 0,25 mg/l cho sự tạo mô sẹo với tỷ lệ tối đa 100%. Mô sẹo có khả năng tái sinh chồi cao với 95% ở 7 tuần sau khi cấy trên môi trường chỉ sử dụng BA nồng độ 1 mg/l. Môi trường này cũng cho số chồi, chiều cao và số lá cao nhất, tương ứng là 5 chồi, 4,7 cm và 2,6 lá. Đối với mẫu cây lá non, sử dụng BA 0,5 hoặc 1 mg/l kết hợp với NAA 0,25 mg/l hoặc BA 2 mg/l đơn cho tỷ lệ tạo mô sẹo 100%. Môi trường BA 1 mg/l đơn cho sự tái sinh chồi từ mô sẹo với tỷ lệ 88,9%. Số chồi, chiều cao chồi và số lá cũng đạt các giá trị cao ở nồng độ này.

1 GIỚI THIỆU

Cà chua (*Lycopersicon esculentum* L.) là một loại rau quả quan trọng trên thế giới (Abu-El-Heba *et al.*, 2008). Theo Garvey & Hewitt (1991), Leonardi *et al.*, (2000), cà chua được đánh giá là rất giàu giá trị dinh dưỡng, đặc biệt là các loại vitamin (A, B1, B2, C) và khoáng chất (K, Ca, P và

S). Tuy nhiên, đa số các giống cà chua được canh tác hiện nay là nhập nội. Chúng ta chưa có cơ sở tạo giống cà chua nào, trong khi nhu cầu về giống cà chua mới thì rất cao. Hằng năm, nhà nước phải tốn nhiều ngoại tệ để nhập giống. Vì vậy, việc tạo ra một kỹ thuật tạo giống mới và dần dần thay thế các giống nhập nội là rất cấp thiết. Trong kỹ thuật

tạo dòng/giống đột biến thông qua phương pháp nuôi cấy mô, sự nghiên cứu về tạo mô sẹo và tái sinh chồi là rất cần thiết để cung cấp nguồn vật liệu cho xử lý và tái sinh cây biến dị. Do đó, đề tài “Hiệu quả của benzyl adenine (BA) và naphthalene acetic acid (NAA) trên sự tạo mô sẹo và tái sinh chồi cây cà chua (*Lycopersicon esculentum* L.)” được thực hiện nhằm mục tiêu xác định nồng độ BA và NAA thích hợp cho sự tạo mô sẹo và tái sinh chồi từ hai nguồn mẫu cây là chồi đỉnh và lá non để cung cấp vật liệu cho các nghiên cứu tiếp theo về tạo dòng biến dị trên cây cà chua, làm cơ sở cho công tác cải thiện giống.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

Chồi đỉnh và lá non của cây con gieo từ hạt *in vitro* giống Nicola F1 TN538 của công ty Trang Nông được nuôi cấy tại Phòng Cây mô, Bộ môn Sinh lý Sinh hóa, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

Chuẩn bị vật liệu: Cây con *in vitro* 20 ngày tuổi được gieo từ hạt trên môi trường MS trong điều kiện tối 5 ngày được phân lập chồi đỉnh có kích thước 0,5-1 mm. Lá non được thu từ chồi của cây con sau khi chuyển sang môi trường mới 2 tuần có kích thước 1x0,5 cm được sử dụng cho thí nghiệm.

2.1.1 Môi trường nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy là môi trường đa vi lượng theo Murashige và Skoog (1962), ký hiệu là MS, có bổ sung đường sucrose (30 g/l), agar (8,0 g/l), các loại vitamin là thiamin (1 mg/l), nicotinic acid (1 mg/l), pyridoxin (1 mg/l), chất điều hòa sinh trưởng thực vật là BA và NAA. Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH = 5,8 và được hấp khử trùng ở 121°C, áp suất 1 atm trong 20 phút.

2.1.2 Điều kiện nuôi cấy

Mẫu nuôi cấy được đặt trong Phòng Cây mô, Bộ môn Sinh lý Sinh hóa, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, có điều kiện nhiệt độ $26 \pm 2^\circ\text{C}$, cường độ ánh sáng 1.500 lux và thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày.

2.1.3 Bố trí thí nghiệm

a. *Thí nghiệm 1: Hiệu quả của BA và NAA trên sự tạo mô sẹo và tái sinh chồi từ chồi đỉnh cây cà chua*

Chồi đỉnh cây cà chua được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA và NAA với các nồng độ khác nhau. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên 2 nhân tố, gồm 8 nghiệm thức với 4 mức độ BA (0; 0,5; 1; 2 mg/l) và 2 mức độ NAA (0; 0,25 mg/l). Mỗi nghiệm thức lặp lại 5 lần, mỗi lần 1 keo, mỗi keo chứa 4 mẫu.

Chỉ tiêu theo dõi:

- Tỷ lệ tạo mô sẹo (%): Tổng số mẫu tạo mô sẹo/tổng số mẫu cấy, mô sẹo được ghi nhận khi mô sẹo đạt kích thước 3 mm.

- Tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi (%): Tổng số mẫu mô sẹo tái sinh chồi/tổng số mẫu cấy, cụm chồi được ghi nhận khi có lá hình thành.

- Số chồi.

- Chiều cao chồi (cm): Được lấy từ phần gốc của chồi đến phần đỉnh của chồi.

- Số lá: Được ghi nhận khi lá có kích thước từ 3 mm trở lên.

Thời gian lấy chỉ tiêu: 1 lần/tuần trong thời gian 7 tuần.

b. *Thí nghiệm 2: Hiệu quả của BA và NAA trên sự tạo mô sẹo và tái sinh chồi từ lá non cây cà chua*

Lá non của cây cà chua được tạo vết thương bằng cách dùng dao mũi nhọn rọc ngang nhiều vết trên bề mặt, sau đó được cấy trên môi trường MS có bổ sung các nồng độ BA và NAA khác nhau. Mẫu lá được đặt úp xuống bề mặt môi trường nuôi cấy. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên 2 nhân tố, gồm 8 nghiệm thức với 4 mức độ BA (0; 0,5; 1; 2 mg/l) và 2 mức độ NAA (0; 0,25 mg/l). Mỗi nghiệm thức lặp lại 5 lần, mỗi lần 1 keo, mỗi keo chứa 3 mẫu.

Chỉ tiêu theo dõi: Tương tự như thí nghiệm 1.

2.1.4 Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và thống kê bằng chương trình SPSS ver. 16, kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 1% và 5%.

Các số liệu là tỷ lệ phần trăm biến động từ 0-100% được chuyển đổi sang dạng $\text{Arcsin}\sqrt{x}$ (Gomez và Gomez, 1984).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hiệu quả của BA và NAA trên sự tạo mô sẹo và tái sinh chồi từ chồi đỉnh cây cà chua

3.1.1 Tỷ lệ tạo mô sẹo

Chồi đỉnh của cây cà chua khi nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung BA và NAA có sự hình thành mô sẹo. Tỷ lệ tạo sẹo đạt tối đa tại thời điểm 5 tuần sau khi cấy (TSKC) và không gia tăng sau 7 tuần nuôi cấy. Các nồng độ BA khác nhau đã có tác động lên sự hình thành mô sẹo, trong đó nồng độ BA 0,5 và 1 mg/l cho tỷ lệ tạo mô sẹo 100%, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với BA 2 mg/l (85%) và nồng độ đối chứng không có sự hình

thành mô sẹo. NAA bổ sung vào môi trường ở nồng độ 0,25 mg/l đã không có ảnh hưởng lên sự tạo mô sẹo (Bảng 1).

Bảng 1: Hiệu quả của BA và NAA trên tỷ lệ tạo mô sẹo (%) ở 5 và 7 tuần sau khi cấy

Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)		Trung bình
	0	0,25	
0	0,0	0,0	0,0 c
0,5	100	100	100 a
1	100	100	100 a
2	90,0	80,0	85,0 b
Trung bình	72,5	70,0	
F_{BA}			**
F_{NAA}			ns
$F_{BA \times F_{NAA}}$			ns
CV (%)			15,2

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan (ns): Khác biệt không có ý nghĩa thống kê. (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

Như vậy, môi trường MS bổ sung BA từ 0,5-2 mg/l đơn hoặc kết hợp với NAA 0,25 mg/l đều cho hiệu quả trên sự tạo mô sẹo từ mẫu cây chồi đỉnh của cây cà chua. Theo Nguyễn Đức Lượng và Lê Thị Thủy Tiên (2002), đa số mẫu cây thuộc nhóm song tử điệp không có khả năng tạo mô sẹo trong môi trường chỉ có auxin mà cần phải có sự phối hợp của auxin và cytokinin. Kết quả cho thấy sự tạo mô sẹo trên cây cà chua có thể sử dụng kết hợp BA và NAA hoặc chỉ bổ sung BA cũng có sự hình

thành mô sẹo.

3.1.2 Tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi

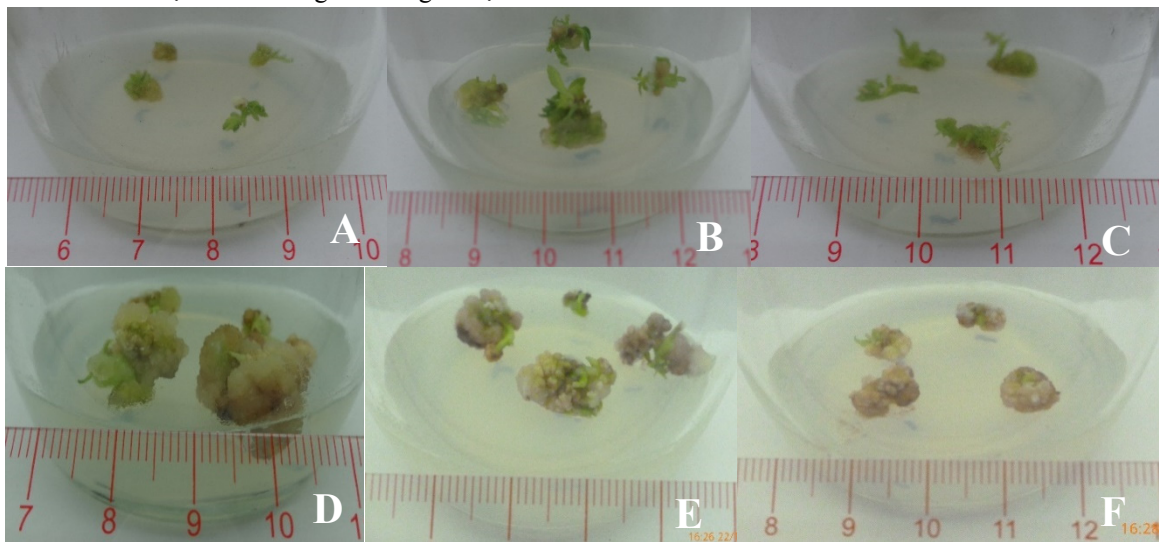
Trong thí nghiệm này, mô sẹo có sự tái sinh chồi trên cùng môi trường tạo mô sẹo.

Bảng 2: Hiệu quả của BA và NAA trên tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi (%) ở 7 tuần sau khi cấy

Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)		Trung bình
	0	0,25	
0	0,0 d	0,0 d	0,0 c
0,5	70,0 b	0,0 d	32,0 b
1	95,0 a	0,0 d	47,5 a
2	45,0 c	0,0 d	22,5 b
Trung bình	52,5 a	0,0 b	
F_{BA}			**
F_{NAA}			**
$F_{BA \times F_{NAA}}$			**
CV (%)			45,2

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

Kết quả Bảng 2 cho thấy, ở 7 TSKC, mô sẹo tái sinh chồi trên môi trường chỉ bổ sung BA, trong đó nồng độ BA 1 mg/l cho tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi cao nhất với 95%, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với BA 0,5 và 2 mg/l và các nghiệm thức khác ở mức ý nghĩa 1% (Hình 1A, B, C). NAA bổ sung 0,25 mg/l vào môi trường nuôi cấy không cho hiệu quả tái sinh chồi so với môi trường không có NAA (đạt 52,5%) (Hình 1D, E, F).



Hình 1: Mô sẹo chồi đỉnh tái sinh chồi trên môi trường MS bổ sung BA 0,5 mg/l (A), BA 1 mg/l (B), BA 2 mg/l (C) và mô sẹo không tái sinh chồi trên môi trường MS bổ sung BA 0,5 mg/l + NAA 0,25 mg/l (D), BA 1 mg/l + NAA 0,25 mg/l (E), BA 2 mg/l + NAA 0,25 mg/l (F)

3.1.3 Số chồi

Số chồi tái sinh từ mô sẹo đạt cao nhất ở nghiệm thức BA 1 mg/l (5,0 chồi), khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% so với nghiệm thức BA 0,5 mg/l (2,6 chồi) và BA 2 mg/l (1,7 chồi) (Bảng 3).

Bảng 3: Hiệu quả của BA và NAA trên số chồi ở 7 tuần sau khi cấy

Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)		Trung bình
	0	0,25	
0	0,0 d	0,0 d	0,0 d
0,5	2,6 b	0,0 d	1,3 b
1	5,0 a	0,0 d	2,5 a
2	1,7 c	0,0 d	0,9 c
Trung bình	2,3 a	0,0 b	
F _{BA}			**
F _{NAA}			**
F _{BA x F_{NAA}}			**
CV (%)			28,1

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

3.1.4 Chiều cao chồi

Về chiều cao chồi, kết quả Bảng 4 cho thấy, nồng độ BA 1 mg/l cũng cho hiệu quả với chiều cao đạt cao nhất là 4,7 cm, có khác biệt so với 2 nghiệm thức còn lại.

Bảng 4: Hiệu quả của BA và NAA trên chiều cao chồi (cm) ở 7 tuần sau khi cấy

Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)		Trung bình
	0	0,25	
0	0,0 c	0,0 c	0,00 c
0,5	3,6 b	0,0 c	1,8 b
1	4,7 a	0,0 c	2,4 a
2	4,0 b	0,0 c	2,0 ab
Trung bình	3,1 a	0,0 b	
F _{BA}			**
F _{NAA}			**
F _{BA x F_{NAA}}			**
CV (%)			27,6

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

3.1.5 Số lá

Kết quả Bảng 5 cũng cho thấy số lá của chồi cũng đạt cao nhất ở nghiệm thức BA 1 mg/l (2,6 lá).

Bảng 5: Hiệu quả của BA và NAA trên số lá của chồi ở 7 tuần sau khi cấy

Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)		Trung bình
	0	0,25	
0	0,0 c	0,0 c	0,0 c
0,5	1,7 b	0,0 c	0,9 b
1	2,6 a	0,0 c	1,3 a
2	1,9 b	0,0 c	1,0 ab
Trung bình	1,6 a	0,0 b	
F _{BA}			**
F _{NAA}			**
F _{BA x F_{NAA}}			**
CV (%)			46,2

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

Kết quả thí nghiệm cho thấy môi trường MS bổ sung BA 0,5 và 1 mg/l đơn hay kết hợp với NAA 0,25 mg/l cho sự tạo mô sẹo với tỷ lệ tối đa 100%. Trên cây cà chua, Ishfaq *et al.* (2012) sử dụng BAP trong môi trường nuôi cấy mô sẹo của đỉnh sinh trưởng cho thấy nồng độ 2,22 μM cho sự tạo mô sẹo tốt nhất. Cũng theo Davis *et al.* (1994) và Soniya *et al.* (2001), tỷ lệ tạo mô sẹo cao nhất trong môi trường có 2,75 μM BAP. Về khả năng tái sinh chồi thì môi trường bổ sung BA 1 mg/l cho tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi cao nhất với 95% ở 7 TSKC. Số chồi, chiều cao và số lá của chồi cũng đạt giá trị cao nhất ở nghiệm thức này (trung ứng là 5 chồi, chiều cao 4,7 cm và số lá là 2,6 lá). Bên cạnh đó, môi trường bổ sung NAA 0,25 mg/l có sự tạo chồi trực tiếp với tỷ lệ 100% (Hình 2). Các chồi này phát triển hoàn chỉnh và có sự hình thành rễ 100%. Chồi ở thời điểm 7 TSKC có chiều cao khoảng 30 mm, số lá trung bình là 7 lá. Như vậy, việc bổ sung BA 1 mg/l vào môi trường nuôi cấy đã có hiệu quả trên sự tái sinh chồi từ mô sẹo của cây cà chua.



Hình 2: Sự tạo chồi trực tiếp từ mẫu cây chồi đỉnh trên môi trường MS + NAA 0,25 mg/l

3.2 Hiệu quả của BA và NAA trên sự tạo mô sẹo và tái sinh chồi từ lá non cây cà chua

3.2.1 Tỷ lệ tạo mô sẹo

Ở 5 TSKC, tỷ lệ tạo mô sẹo đạt tối ưu 100% ở một số nghiệm thức như BA 2 mg/l hoặc BA 0,5 và 1 mg/l kết hợp với NAA 0,25 mg/l, tuy nhiên giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê. NAA không có ảnh hưởng đến sự tạo mô sẹo từ lá non cây cà chua, trong khi đó sự bổ sung BA vào môi trường lại có ảnh hưởng (tỷ lệ tạo mô sẹo trung bình đạt từ 91,7 đến 97,2% so với đối chứng là 0%). Tỷ lệ tạo mô sẹo ở các nghiệm thức không có sự gia tăng khi nuôi cấy đến 7 tuần (Bảng 6).

Bảng 6: Hiệu quả của BA và NAA trên tỷ lệ tạo mô sẹo (%) từ lá non cây cà chua ở 5 và 7 tuần sau khi cấy

Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)		Trung bình
	0	0,25	
0	0,0	0,0	0,0 b
0,5	83,3	100	91,7 a
1	94,4	100	97,2 a
2	100	94,4	97,2 a
Trung bình	69,5	73,6	
F _{BA}			**
F _{NAA}			ns
F _{BA} x F _{NAA}			ns
CV (%)			19,5

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan (ns): Khác biệt không có ý nghĩa thống kê. (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

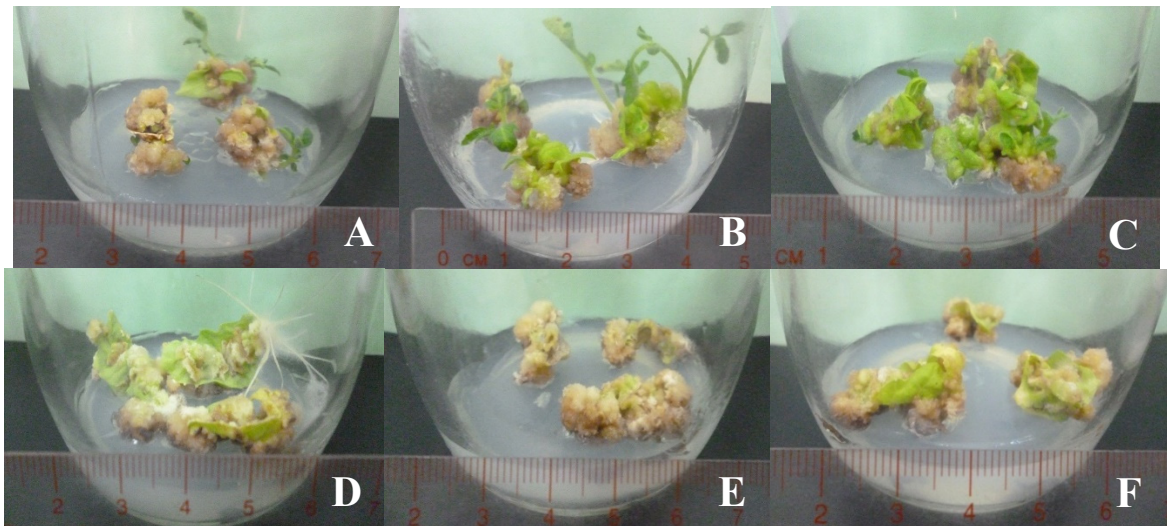
3.2.2 Tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi

Theo kết quả Bảng 7, tại thời điểm 7 TSKC, chỉ có các nghiệm thức bổ sung BA từ 0,5 đến 1 mg/l có hiệu quả tái sinh chồi từ mô sẹo, trong đó nồng độ BA 1 mg/l cho kết quả cao với 88,9%, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với 2 nồng độ còn lại (Hình 3A, B, C). Mô sẹo nuôi cấy trên môi trường có sự kết hợp giữa BA và NAA không cho sự tái sinh chồi (Hình 3D, E, F). Kết quả cho thấy nồng độ NAA 0,25 mg/l bổ sung vào môi trường nuôi cấy không có hiệu quả trên sự tái sinh chồi, so với nồng độ NAA 0 mg/l cho tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi là 62,5%, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%.

Bảng 7: Hiệu quả của BA và NAA trên tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi (%) ở 7 tuần sau khi cấy

Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)		Trung bình
	0	0,25	
0	0,0 b	0,0 b	0,0 b
0,5	77,7 a	0,0 b	38,9 a
1	88,9 a	0,0 b	44,5 a
2	83,3 a	0,0 b	41,7 a
Trung bình	62,5 a	0,0 b	
F _{BA}			**
F _{NAA}			**
F _{BA} x F _{NAA}			**
CV (%)			55,5

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%



Hình 3: Mô sẹo lá non tái sinh chồi trên môi trường MS bổ sung BA 0,5 mg/l (A), BA 1 mg/l (B), BA 2 mg/l (C) và mô sẹo không tái sinh chồi trên môi trường MS bổ sung BA 0,5 mg/l + NAA 0,25 mg/l (D), BA 1 mg/l + NAA 0,25 mg/l (E), BA 2 mg/l + NAA 0,25 mg/l (F)

3.2.3 Số chồi

Về số chồi tái sinh từ mô sẹo, kết quả Bảng 8 cho thấy, môi trường bổ sung BA 0,5 và 1 mg/l cho số chồi cao nhất ở 7 TSKC là 3,4 và 3,9 chồi, hai nồng độ này khác biệt không có ý nghĩa thống kê nhưng khác biệt so với nghiệm thức BA 2 mg/l (cho số chồi thấp nhất, chỉ đạt 2,4 chồi).

Bảng 8: Hiệu quả của BA và NAA trên số chồi ở 7 tuần sau khi cấy

Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)		Trung bình
	0	0,25	
0	0,0 c	0,0 c	0,0 c
0,5	3,4 a	0,0 c	1,7 ab
1	3,9 a	0,0 c	1,9 a
2	2,4 b	0,0 c	1,2 b
Trung bình	2,4 a	0,0 b	
F _{BA}			**
F _{NAA}			**
F _{BA} x F _{NAA}			**
CV (%)			50,9

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

3.2.4 Chiều cao chồi

Ở 7 TSKC, chiều cao chồi đạt cao nhất từ 7,5-8,8 cm ở nồng độ BA 0,5 và 1 mg/l. Nồng độ BA cao 2 mg/l không cho hiệu quả trên chiều cao chồi, chỉ đạt 4,64 cm (Bảng 9).

Bảng 9: Hiệu quả của BA và NAA trên chiều cao chồi (cm) ở 7 tuần sau khi cấy

Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)		Trung bình
	0	0,25	
0	0,0 c	0,0 c	0,0 c
0,5	7,5 a	0,0 c	3,8 a
1	8,8 a	0,0 c	4,4 a
2	4,6 b	0,0 c	2,3 b
Trung bình	5,2 a	0,0 b	
F _{BA}			**
F _{NAA}			**
F _{BA} x F _{NAA}			**
CV (%)			51,7

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

3.2.5 Số lá

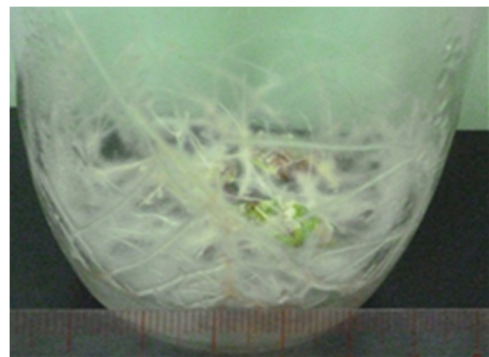
Kết quả cũng ghi nhận được, sau 3 tuần nuôi cấy, mô lá non ở môi trường MS có NAA 0,25 mg/l không có sự hình thành mô sẹo hay mô sẹo tái sinh chồi mà có sự tạo rễ trực tiếp trên lá với tỷ lệ

tạo rễ 100% (Hình 4). Đến thời điểm 7 TSKC, ngoài nghiệm thức có nồng độ NAA 0,25 mg/l, nghiệm thức BA 0,5 kết hợp với NAA 0,25 mg/l cũng có sự hình thành rễ trên lá.

Bảng 10 : cũng cho thấy số lá của chồi cũng đạt cao nhất ở nồng độ BA 0,5 và 1 mg/l, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% so với BA 2 mg/l

Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)		Trung bình
	0	0,25	
0	0,0 c	0,0 c	0,0 b
0,5	3,4 a	0,0 c	1,7 a
1	3,1 ab	0,0 c	1,6 a
2	2,7 b	0,0 c	1,4 a
Trung bình	2,3 a	0,0 b	
F _{BA}			**
F _{NAA}			**
F _{BA} x F _{NAA}			**
CV (%)			41,7

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%



Hình 4: Sự tạo rễ trực tiếp từ mẫu cây lá non trên môi trường MS + NAA 0,25 mg/l

Qua kết quả thí nghiệm ta thấy đối với mẫu cây là lá non, môi trường có bổ sung BA nồng độ từ 0,5-2 mg/l cũng cho hiệu quả trên sự hình thành mô sẹo khi sử dụng đơn hoặc kết hợp với NAA 0,25 mg/l. Về khả năng tái sinh chồi thì chỉ mô sẹo nuôi cấy trên môi trường BA 0,5-2 mg/l mới cho hiệu quả, với tỷ lệ tái sinh chồi từ 77,7 đến 88,9%. Các chỉ tiêu về số chồi, chiều cao chồi và số lá đạt giá trị cao ở BA nồng độ thấp là 0,5 và 1 mg/l. Như đã thảo luận ở các phần trên, sự sử dụng BA đơn hoặc kết hợp với NAA cũng đã có hiệu quả trên sự tạo mô sẹo từ lá non cây cà chua và các nồng độ BA đơn đã có hiệu quả tái sinh chồi từ mô sẹo. Theo George (1993), cytokinin là nhóm chất điều hòa sinh trưởng đóng vai trò quan trọng trong sự

tạo chồi bên của cây nuôi cấy mô. Chính vì vậy, mà BA, chất thuộc nhóm cytokinin có hiệu quả cao, thường được sử dụng phổ biến trong nhiều môi trường tái sinh và nuôi cấy chồi.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

– Mẫu cây chồi đỉnh: Môi trường MS bổ sung BA 1 mg/l thích hợp cho sự tạo mô sẹo tái sinh chồi với tỷ lệ cao nhất là 95%, số chồi, chiều cao và số lá của chồi cũng đạt các giá trị tốt nhất ở 7 tuần sau khi cấy.

– Mẫu cây lá non: Môi trường MS bổ sung BA 1 mg/l có khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo với tỷ lệ 88,9%; số chồi, chiều cao chồi và số lá đạt tương ứng là 3,9 chồi, 8,8 cm và 3,1 lá ở 7 tuần sau khi cấy.

4.2 Đề xuất

– Sử dụng môi trường MS bổ sung BA 1 mg/l để tạo mô sẹo tái sinh chồi từ mẫu cây chồi đỉnh hoặc lá non cây cà chua.

– Tiếp tục nghiên cứu môi trường thích hợp cho sự tạo rễ của chồi và thuần dưỡng cây con trong nhà lưới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abu-El-Heba, G.A, G.M. Hussein and N.A. Abdalla. 2008. A rapid and efficient tomato regeneration and transformation system. *Agric. For. Res.* 58: 103-110.
2. Davis, D. G., K. A. Breiland, D. S. Frear and G. A. Secor. 1994. Callus initiation and regeneration of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) cultivars with different sensitivities to metribuzin. *Plant Growth Regulator society of America Quarterly* 22: 65-73.

3. Garvey, T. and J. Hewitt. 1991. Starch, vitamins and minerals accumulation in two accessions of *cheesmanni*. *J. of the Am. S. for Hort. Sci.* 46: 381-396.
4. George E. F.. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture*, part 1. The technology 2nd Edition, Exgetics Limited, England.
5. Gomez, Kwanchai A. and Arturo A. Gomez. 1984. *Statistical procedures for agricultural research*, 2nd Edition. John Wiley & Sons, Inc., pp. 306-308.
6. Ishfaq, M., I. A. Nasir, N. Mahmood, and M. Saleem. 2012. *In vitro* induction of mutation in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Cv. Roma by using chemical mutagens. *Pak. J. Bot.* 44: 311-314.
7. Leonardi, C., P. Leonardi, F. Ambrosino, T. Esposito and V. Fogliano. 2000. Antioxidative activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes. *J. of Agri. and F. Chem.*, p. 4723-4727.
8. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15: 473-497.
9. Nguyễn Đức Lượng và Lê Thị Thủy Tiên. 2002. *Công nghệ tế bào*. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia TP Hồ Chí Minh.
10. Soniya, E. V., N. S. Banerjee and M. R. Das. 2001. Genetic analysis of somaclonal variation among callus derived plants of tomato. *Current Science.* 80: 1213-1215.