

# Khảo sát ảnh hưởng của auxin và cytokinin lên sự tái sinh và tăng trưởng chồi ở cây cà chua (*Solanum lycopersicum* L.) trong điều kiện hạn

Trần Thanh Thắng\*, Nguyễn Minh Tuấn, Phan Ngô Hoàng, Trần Thanh Hương



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

## TÓM TẮT

Cà chua là một trong những loại thực phẩm phổ biến và được ưa chuộng trên thế giới. Tuy nhiên, hiện trạng khô hạn đã làm giảm mạnh đến sự phát triển và năng suất của cây cà chua. Do đó, để đáp ứng nhu cầu của thị trường, việc nghiên cứu và phát triển các dòng cây có khả năng chịu hạn là hết sức cần thiết. Trong bài báo này, giống cà chua TN704 được trồng phổ biến ở khu vực Đông Nam Bộ và Đồng bằng sông Cửu Long được chọn để nghiên cứu. Sự phối hợp auxin (IAA, indoleacetic acid) và cytokinin (zeatin) ở các nồng độ khác nhau được khảo sát để xác định môi trường tái sinh chồi hiệu quả. Sau đó, tiến hành thu nhận cây tái sinh từ lá của cây được xử lý hạn trong điều kiện hạn. Khả năng chịu hạn của chồi tái sinh được kiểm tra thông qua việc nuôi cấy trong điều kiện hạn sau hai thế hệ. Các biến đổi sinh lý và sinh hóa trong quá trình đáp ứng với stress hạn của chồi tái sinh được phân tích. Môi trường MS  $\frac{1}{2}$  có bổ sung IAA 0,2 mg/L và zeatin 0,5 mg/L là môi trường hiệu quả cho việc tái sinh chồi từ lá của cây cà chua *in vitro*. Việc tiền xử lý hạn (MS  $\frac{1}{2}$  với mannitol 20 g/L) giúp gia tăng khả năng tạo các chồi tái sinh có khả năng chịu hạn. Các chồi tái sinh ở thế hệ F1 và F2 tăng trưởng tốt hơn trong điều kiện hạn, hàm lượng chlorophyll, carotenoid và proline, cường độ hô hấp, quang hợp, hoạt tính auxin và cytokinin cao hơn so với đối chứng.

**Từ khoá:** Auxin, cà chua, cytokinin, stress hạn, tái sinh chồi, tăng trưởng chồi

## MỞ ĐẦU

Cà chua (*Solanum lycopersicum* L.) là một loại cây thực phẩm quan trọng và phổ biến trên thế giới với diện tích trồng rộng hơn 3,9 triệu ha và sản lượng hàng năm ước tính khoảng 108 triệu tấn<sup>1</sup>. Tuy nhiên, do ảnh hưởng của khô hạn, các giống cà chua thường bị giảm mạnh về tăng trưởng và năng suất. Có nhiều phương pháp để gia tăng khả năng chịu hạn ở cây trồng, trong đó có phương pháp nuôi cấy và chọn dòng tái sinh trong điều kiện stress. Để có thể thu nhận được số lượng lớn cây con có khả năng chịu hạn thì việc xác định môi trường tái sinh hiệu quả là rất cần thiết<sup>2</sup>. Ngoài ra, để gia tăng khả năng hình thành các chồi có khả năng chịu hạn, các yếu tố stress thường được áp dụng bổ sung như tiền xử lý hạn. Phương pháp này đã được áp dụng thành công trên nhiều loài cây trồng như *Allium cepa*, *Chrysanthemum hortorum*, *Triticum durum*<sup>3-5</sup>. Do đó, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khảo sát ảnh hưởng của auxin và cytokinin lên sự tái sinh chồi từ lá, sau đó khảo sát ảnh hưởng của tiền xử lý hạn lên sự tái sinh chồi trong điều kiện hạn và kiểm tra khả năng chịu hạn của chồi tái sinh nhằm tạo các cây *in vitro* có khả năng chịu

hạn.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu

Cây cà chua *in vitro* (giống trồng TN 704) 28 ngày tuổi tăng trưởng trên môi trường MS  $\frac{1}{2}$ .

### Phương pháp

#### Khảo sát ảnh hưởng của sự phối hợp auxin và cytokinin ở các nồng độ khác nhau lên sự tái sinh chồi từ lá

Các lá ở vị trí thứ hai (tính từ chồi ngọn) của cây cà chua *in vitro* 28 ngày tuổi tăng trưởng trên môi trường MS  $\frac{1}{2}$ <sup>6</sup> được cắt lập, dùng dao tạo các vết thương vuông góc với gân chính (mỗi lá tạo 5 vết thương, mỗi vết thương cách nhau 2 mm) và đặt nuôi trong erlen 100 mL chứa 25 mL môi trường MS  $\frac{1}{2}$  có bổ sung IAA và zeatin ở các nồng độ khác nhau:

+ IAA 0,1 mg/L và zeatin ở các nồng độ thay đổi 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25 hay 2,00 mg/L.

+ Zeatin 0,5 mg/L và IAA ở các nồng độ thay đổi 0,05; 0,1 hay 0,2 mg/L.

Khoa Sinh học và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

### Liên hệ

Trần Thanh Thắng, Khoa Sinh học và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Email: trttthang@hcmus.edu.vn

### Lịch sử

- Ngày nhận: 10-5-2021
- Ngày chấp nhận: 15-6-2021
- Ngày đăng: 15-7-2021

DOI: 10.32508/stdjns.v5i3.1063



### Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



**Trích dẫn bài báo này:** Thắng T T, Tuấn N M, Hoàng P N, Hương T T. Khảo sát ảnh hưởng của auxin và cytokinin lên sự tái sinh và tăng trưởng chồi ở cây cà chua (*Solanum lycopersicum* L.) trong điều kiện hạn. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 5(3):1384-1392.

Mẫu cấy được đặt nuôi ở điều kiện ánh sáng  $2000 \pm 200$  lux, nhiệt độ  $27 \pm 2$  °C và độ ẩm  $40 \pm 5$  %. Các nghiệm thức được lặp lại 5 lần, mỗi lần 5 erlen, mỗi erlen 5 mẫu cấy. Sau 28 ngày nuôi cấy, tỉ lệ mẫu tạo chồi, số chồi/mẫu và chiều cao chồi được xác định.

### **Khảo sát ảnh hưởng của tiền xử lý hạn lên sự tái sinh chồi từ lá cây cà chua trong điều kiện hạn**

Lá ở vị trí thứ hai của cây cà chua 28 ngày tuổi tăng trưởng trong điều kiện đối chứng ( $MS \frac{1}{2}$ ) và tiền xử lý hạn ( $MS \frac{1}{2}$  với mannitol 20 g/L) được cô lập, tạo các vết thương vuông góc với gân chính (mỗi lá tạo 5 vết thương, mỗi vết thương cách nhau 2 mm) và đặt nuôi trong erlen 100 mL chứa 25 mL môi trường  $MS \frac{1}{2}$  có bổ sung IAA 0,2 mg/L, zeatin 0,5 mg/L và mannitol 20 g/L (môi trường gây stress hạn ở cây cà chua *in vitro*, số liệu chưa công bố).

Mẫu cấy được đặt nuôi ở điều kiện ánh sáng  $2000 \pm 200$  lux, nhiệt độ  $27 \pm 2$  °C và độ ẩm  $40 \pm 5$  %. Các nghiệm thức được lặp lại 5 lần, mỗi lần 5 erlen, mỗi erlen 5 mẫu cấy. Sau 14 ngày nuôi cấy, tỉ lệ mẫu tạo chồi, số chồi/mẫu và chiều cao chồi được xác định.

### **Khảo sát sự tăng trưởng của các chồi tái sinh từ cây được tiền xử lý hạn trong điều kiện hạn**

Các chồi tái sinh trong điều kiện bình thường và chồi tái sinh trong điều kiện hạn từ cây được tiền xử lý hạn được cô lập với chiều cao 1 cm và cấy vào ống nghiệm chứa 15 mL môi trường  $MS \frac{1}{2}$  với mannitol 20 g/L. Sau 14 ngày nuôi cấy, các chồi phát triển thành cây con với hệ thống lá và rễ đầy đủ. Tiếp tục, cô lập các khúc cắt chồi ngọn (chiều cao 1 cm) từ các cây con này và nuôi cấy trên môi trường  $MS \frac{1}{2}$  với mannitol 20 g/L để quan sát khả năng chống chịu của cây cà chua sau các thế hệ cấy truyền lần 1 (F1) và lần 2 (F2) (mỗi lần cấy chuyển cách nhau 14 ngày). Mẫu cấy được đặt nuôi ở điều kiện ánh sáng  $2000 \pm 200$  lux, nhiệt độ  $27 \pm 2$  °C và độ ẩm  $40 \pm 5$  %. Các nghiệm thức được lặp lại 5 lần, mỗi lần 10 mẫu cấy. Sau mỗi 14 ngày nuôi cấy, chiều cao cây, số lượng lá, diện tích lá (sử dụng phần mềm LIA32<sup>7</sup>), số rễ bất định, chiều dài rễ dài nhất được xác định.

### **Phân tích các chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa**

Lá thứ hai (tính từ chồi ngọn) được sử dụng làm vật liệu cho các phân tích sinh lý và sinh hóa

#### **Xác định hàm lượng chlorophyll và carotenoid**

Hàm lượng chlorophyll a, b, carotenoid trong lá được ly trích và xác định theo phương pháp của Lichtenthaler (1987) nhờ dung dịch ethanol 96 %. Dịch trích

sắc tố được ly tâm với tốc độ 2500 vòng/phút trong 10 phút, sau đó thu dịch nổi và đo mật độ quang bằng máy đo quang phổ (UV-2602, USA) ở các bước sóng 470 nm, 649 nm, 664 nm<sup>8</sup>.

#### **Xác định cường độ quang hợp và hô hấp**

Cường độ quang hợp ( $\mu\text{mol O}_2/\text{cm}^2/\text{giờ}$ ) và hô hấp ( $\mu\text{mol O}_2/\text{g}$  trọng lượng tươi/giờ) được xác định bằng điện cực oxygen dựa trên sự tăng hàm lượng oxygen ở 2000 lux (cường độ quang hợp) hay sự giảm oxygen ở điều kiện tối (cường độ hô hấp) trong buồng đo (LeafLab2, Hansatech, Anh) trong 10 phút ở 27 °C.

#### **Xác định hàm lượng proline**

Proline trong lá được ly trích và xác định theo phương pháp của Paquin và Lechasseur (1979) nhờ dung dịch ethanol 70 %. Dịch trích proline được ly tâm với tốc độ 6000 vòng/phút trong 15 phút, sau đó thu dịch nổi và thực hiện phản ứng màu với thuốc thử ninhydrin 1 % (đun cách thủy 20 phút). Sau đó, dung dịch được để nguội và đo mật độ quang bằng máy đo quang phổ (UV-2602, USA) ở bước sóng 520 nm. Hàm lượng proline trong mẫu được xác định bằng cách so sánh với đường chuẩn proline<sup>9</sup>.

#### **Ly trích và xác định hoạt tính chất điều hòa tăng trưởng thực vật**

Auxin, cytokinin, gibberellin và acid abscisic (ABA) trong lá được ly trích và cô lập bằng cách dùng các dung môi hữu cơ thích hợp và thực hiện sắc ký trên bản mỏng silicagel 60 F254 (mã số 1.05554, Merck), ở nhiệt độ 29 °C với dung môi di chuyển là isopropanol:amon hydroxide:H<sub>2</sub>O (10:1:1). Vị trí của auxin, cytokinin, gibberellin và ABA được phát hiện ở bước sóng UV 254 nm. Sau đó, các chất điều hòa tăng trưởng thực vật được giải hấp bằng hỗn hợp dung môi chloroform:methanol:acetic acid (80:15:5). Hoạt tính các chất điều hòa tăng trưởng thực vật được đo bằng sinh trắc nghiệm: diệp tiêu lúa (*Oryza sativa* L.) cho auxin và acid abscisic, tử diệp dưa leo (*Cucumis sativus* L.) cho cytokinin và cây mầm xà lách (*Lactuca sativa* L.) cho gibberellin<sup>10-12</sup>.

#### **Xử lý thống kê**

Số liệu được phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) dùng cho Window phiên bản 20.0. Sự khác biệt có ý nghĩa 95% của giá trị được thể hiện bởi các mẫu tự kèm theo.

## **KẾT QUẢ**

### **Ảnh hưởng của sự phối hợp auxin và cytokinin ở các nồng độ khác nhau lên sự tái sinh chồi từ lá của cây cà chua *in vitro***

Sau 28 ngày nuôi cấy, tỉ lệ mẫu cấy tạo chồi phụ thuộc vào nồng độ IAA hay zeatin bổ sung vào môi trường

nuôi cấy. Việc bổ sung zeatin 0,5 mg/L cho tỉ lệ mẫu tạo chồi đạt 100 %. Mẫu cấy tăng trưởng trên môi trường MS  $\frac{1}{2}$  có bổ sung zeatin 0,5 mg/L và IAA 0,2 mg/L cho số chồi đạt cao nhất với  $55,75 \pm 5,91$  chồi (Bảng 1, Hình 1).

Vào thời điểm bắt đầu nuôi cấy, các tế bào nhu mô lá có sự sắp xếp tương đối đồng đều (Hình 2A). Sau 8 ngày nuôi cấy, các vùng tế bào có kích thước nhỏ, phân chia mạnh xuất hiện với sự bắt màu hồng đậm khi nhuộm bằng dung dịch đỏ carmin – xanh iod (Hình 2B). Vào ngày thứ 11, các tế bào này tiếp tục phân chia để hình thành vòm mô phân sinh ngọn chồi (Hình 2C) và chồi với sơ khởi lá vào ngày thứ 15 (Hình 2D).

### **Ảnh hưởng của tiền xử lý hạn lên sự tái sinh chồi từ lá của cây cà chua trong điều kiện hạn**

Sau 28 ngày nuôi cấy trong điều kiện hạn, lá của cây cà chua được tiền xử lý hạn cho số lượng chồi tái sinh và chiều cao chồi cao hơn so với lá của cây không được xử lý hạn. Số chồi tái sinh từ lá của cây được tiền xử lý hạn đạt  $18,00 \pm 0,81$  chồi so với  $13,75 \pm 0,05$  chồi ở vật liệu đối chứng (Bảng 2, Hình 3).

### **Sự tăng trưởng của các chồi tái sinh từ cây được tiền xử lý hạn trong điều kiện hạn**

Sau 14 ngày nuôi cấy, chồi tái sinh từ lá của cây được tiền xử lý hạn cho khả năng chịu hạn tốt hơn so với chồi tái sinh từ lá của cây không tiền xử lý hạn. Sau hai thế hệ cấy chuyển, số lá, diện tích lá và số rễ bất định của cây tái sinh được tiền xử lý hạn đều cao hơn so với nghiệm thức không được tiền xử lý (Bảng 3, Hình 4).

### **Các thay đổi sinh lý và sinh hóa**

Sau 14 ngày nuôi cấy trong điều kiện hạn (MS  $\frac{1}{2}$  với mannitol 20 g/L), hàm lượng chlorophyll a, b, carotenoid và proline trong lá của cây cấy chuyển lần 1 (F1) và 2 (F2) đều cao hơn so với cây đối chứng (Hình 5). Tương tự, cường độ hô hấp và cường độ quang hợp của lá ở cây F1 và F2 cũng cao hơn so với cây đối chứng (Hình 6).

Sau 14 ngày nuôi cấy trong điều kiện hạn (MS  $\frac{1}{2}$  với mannitol 20 g/L), hoạt tính auxin và cytokinin trong lá của cây F1 và F2 cao hơn so với cây đối chứng, trong khi đó, hoạt tính gibberellin và ABA không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức (Bảng 4).

### **THẢO LUẬN**

Sự hình thành chồi bất định từ lá cà chua có nguồn gốc từ các tế bào nhu mô lá và trải qua ba giai đoạn: hình thành vùng tế bào có khả năng phân chia mạnh vào

ngày thứ 8, tạo vòm mô phân sinh ngọn chồi vào ngày thứ 11 và sơ khởi chồi vào ngày 15 (Hình 2). Theo Zhao và cộng sự (2021), để cảm ứng quá trình tái sinh chồi bất định từ lá việc bổ sung auxin và cytokinin ngoại sinh là cần thiết vì lá là cơ quan đã phân hóa, các tế bào mô lá cần khử phân hóa để trở về trạng thái có khả năng phân chia mạnh<sup>13</sup>. Thật vậy, khi lá cà chua đặt lên môi trường MS  $\frac{1}{2}$  không được bổ sung auxin và cytokinin thì sự tạo chồi không xảy ra (Bảng 1, Hình 1A). Việc bổ sung auxin kết hợp với cytokinin giúp cảm ứng sự methyl hóa DNA và khởi phát quá trình khử phân hóa<sup>14,15</sup>. Auxin có vai trò khởi phát các quá trình truyền tín hiệu giúp tăng cường tổng hợp protein cần thiết cho sự điều hòa biểu hiện của các gen tham gia trong pha S của chu trình tế bào<sup>16</sup>. Trong khi đó, cytokinin tác động lên sự chuyển pha từ pha G1/S và G2/M trong chu trình tế bào nhờ hoạt hóa tyrosine phosphatase<sup>17</sup>. Sự phân chia tế bào cần có sự đồng bộ giữa pha M và S chính vì vậy nên sự phối hợp giữa auxin và cytokinin là thật sự cần thiết để tái sinh chồi thành công. Tuy nhiên, sự phối hợp này đòi hỏi auxin và cytokinin phải được sử dụng ở nồng độ thích hợp. Kết quả thí nghiệm cho thấy sự phối hợp bổ sung IAA 0,2 mg/L và zeatin 0,5 mg/L vào môi trường nuôi cấy giúp gia tăng tỉ lệ mẫu tạo chồi, số chồi/mẫu và chiều cao chồi (Bảng 1 và Hình 1).

Trong điều kiện hạn, việc sử dụng lá của cây đã được tiền xử lý hạn cho hiệu quả tái sinh chồi cao hơn so với lá của cây đối chứng (Bảng 2, Hình 3). Một số nghiên cứu trên cây lúa mì cũng cho thấy hiệu quả tương tự<sup>18</sup>. Điều này có thể được giải thích thông qua khả năng hình thành hệ thống nhớ ở thực vật khi gặp cùng một loại stress trước đó. Theo Abid và cộng sự (2016), sự tiếp xúc của thực vật với một stress cùng loại trước đó giúp tế bào hình thành một nhóm các protein có khả năng sửa chữa các protein sai hỏng do tác động của stress, được gọi là các protein sốc nhiệt<sup>18</sup>. Trong thời gian cây tăng trưởng trong điều kiện stress lần đầu tiên, các protein sốc nhiệt được hình thành trong tế bào chất và tập hợp thành các phức hợp protein liên kết với các ribosome tự do. Nhờ sự hiện diện của phức hợp này, các cây được tiền xử lý hạn đáp ứng với điều kiện hạn tốt hơn so với cây đối chứng. Một cách giải thích khác cho hiện tượng này liên quan đến quá trình methyl hóa các protein histon là việc tiền xử lý với một stress trước kích thích sự dimethyl hóa H3K4, từ đó hình thành bộ nhớ chuyên biệt giúp thực vật đáp ứng tốt hơn với điều kiện bất lợi sau này<sup>19,20</sup>. Ở thực vật, việc phát sinh các chồi *in vitro* theo phương pháp tiền xử lý là một trong những phương pháp thường được sử dụng để tạo các chồi tạo khả năng thích ứng với stress. Trong quá trình phát sinh chồi cũng có thể tạo ra hàng loạt các biến dị và đây là nguồn cung cấp vật

**Bảng 1:** Ảnh hưởng của sự phối hợp IAA và zeatin ở các nồng độ khác nhau lên sự tái sinh chồi từ lá sau 28 ngày nuôi cấy

Chất điều hòa tăng trưởng thực vật (mg/L)		Tỉ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/ mẫu	Chiều cao chồi (cm)
IAA	Zeatin			
Đối chứng (MS $\frac{1}{2}$ )		-	-	-
0,10	0,25	93,83 ± 4,93 <sup>b</sup>	26,33 ± 2,10 <sup>c</sup>	0,42 ± 0,05 <sup>c</sup>
	0,50	100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	35,00 ± 2,00 <sup>b</sup>	0,61 ± 0,09 <sup>b</sup>
	0,75	90,06 ± 5,51 <sup>b</sup>	25,00 ± 2,00 <sup>c</sup>	0,36 ± 0,04 <sup>c</sup>
	1,00	78,06 ± 5,99 <sup>c</sup>	25,00 ± 2,64 <sup>c</sup>	0,40 ± 0,05 <sup>c</sup>
	1,25	73,87 ± 5,12 <sup>c</sup>	19,00 ± 1,00 <sup>d</sup>	0,39 ± 0,09 <sup>c</sup>
	1,50	63,54 ± 5,50 <sup>d</sup>	8,00 ± 1,73 <sup>e</sup>	0,27 ± 0,02 <sup>d</sup>
	2,00	63,22 ± 5,90 <sup>d</sup>	5,33 ± 1,15 <sup>e</sup>	0,28 ± 0,03 <sup>d</sup>
0,05		100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	30,33 ± 4,16 <sup>b</sup>	0,89 ± 0,14 <sup>a</sup>
0,20	0,50	100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	55,75 ± 5,91 <sup>a</sup>	1,13 ± 0,15 <sup>a</sup>
0,25		100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	37,53 ± 2,10 <sup>b</sup>	0,75 ± 0,05 <sup>a</sup>

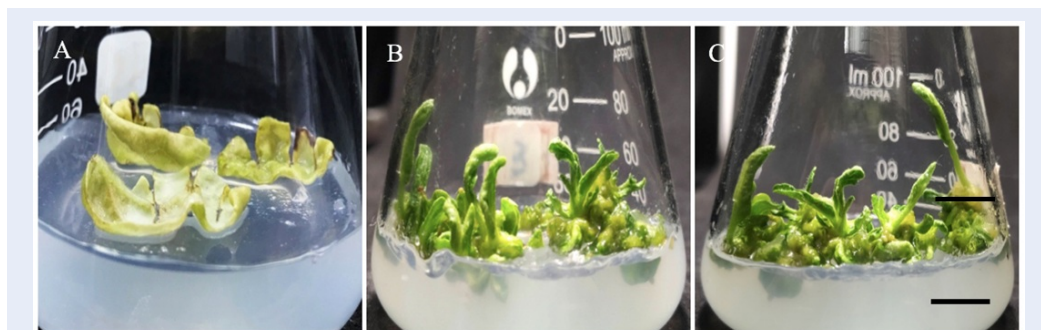
(-), không có sự tái sinh chồi

Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt ở mức  $p \leq 0,05$

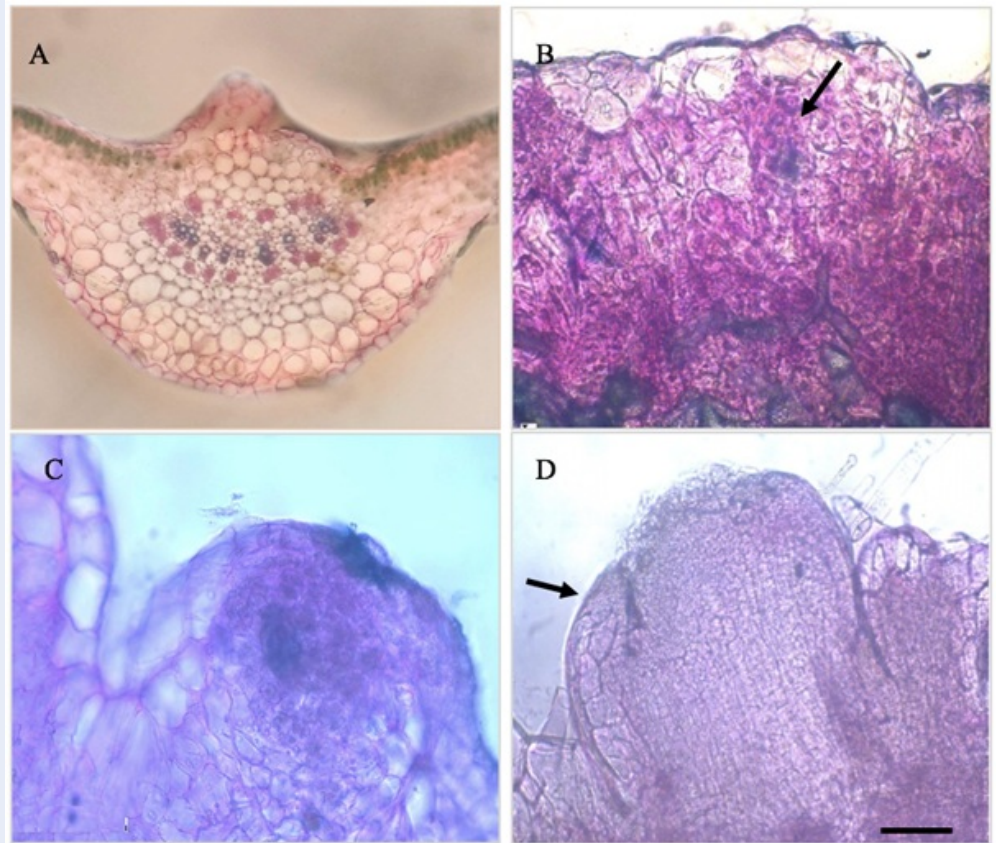
**Bảng 2:** Ảnh hưởng của tiền xử lý hạn lên sự tái sinh chồi từ lá trên môi trường MS  $\frac{1}{2}$  có bổ sung IAA 0,2 mg/L, zeatin 0,5 mg/L và mannitol 20 g/L sau 14 ngày nuôi cấy

Vật liệu	Tỉ lệ tạo chồi (%)	Số chồi tái sinh /mẫu cấy	Chiều cao chồi (cm)
Lá của cây không tiền xử lý hạn	96,00 ± 4,65	7,75 ± 1,05	0,20 ± 0,03
Lá của cây được tiền xử lý hạn	100,00 ± 0,00	18,00 ± 2,81 <sup>*</sup>	0,31 ± 0,02 <sup>*</sup>

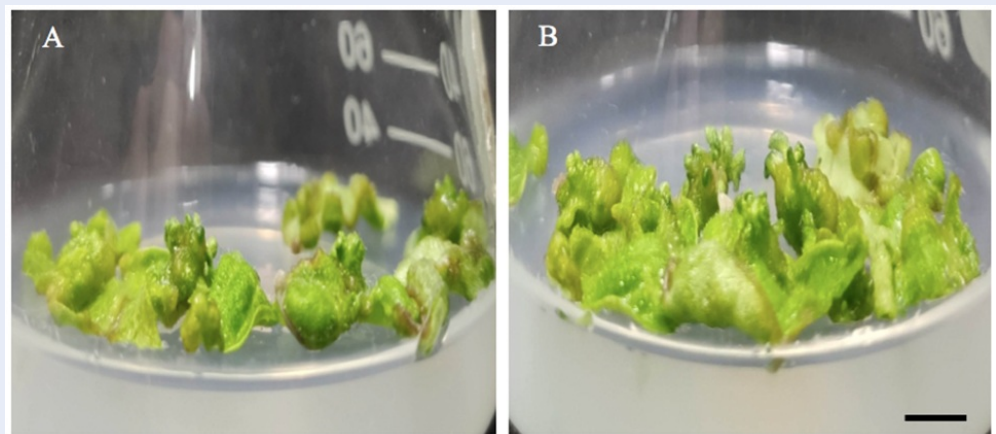
(<sup>\*</sup>), các số trung bình trong cột có sự khác biệt ở mức  $p \leq 0,05$  (T-Test)



**Hình 1:** Ảnh hưởng của sự phối hợp IAA và zeatin ở các nồng độ khác nhau lên sự tái sinh chồi từ lá sau 28 ngày nuôi cấy. Thanh ngang 1 cm. (A) Đối chứng (MS  $\frac{1}{2}$ ); (B) IAA 0,1 mg/L và zeatin 0,5 mg/L; (C) IAA 0,2 mg/L và zeatin 0,5 mg/L.



**Hình 2:** Các biến đổi hình thái trong quá trình phát sinh chồi từ lá cà chua được nuôi cấy trên môi trường MS  $\frac{1}{2}$  có bổ sung IAA 0,2 mg/L và zeatin 0,5 mg/L. Thanh ngang 50  $\mu$ m. (A) Lát cắt ngang gân lá ở ngày 0; (B) Sự hình thành các vùng tế bào đang ở trạng thái phân chia (mũi tên) sau 8 ngày nuôi cấy; (C) Sự hình thành vòm mô phân sinh ngọn chồi sau 11 ngày nuôi cấy; (D) Mô phân sinh ngọn chồi với sơ khởi lá (mũi tên) sau 15 ngày nuôi cấy.



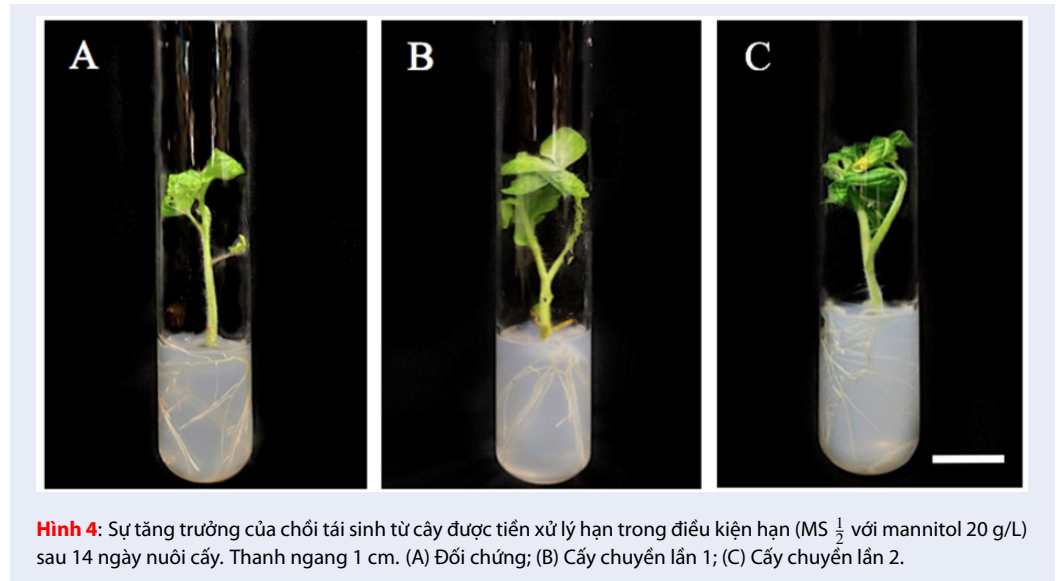
**Hình 3:** Ảnh hưởng của tiền xử lý hạn lên sự tái sinh chồi từ lá trên môi trường MS  $\frac{1}{2}$  với mannitol 20 g/L có bổ sung IAA 0,2 mg/L và zeatin 0,5 mg/L sau 14 ngày nuôi cấy. Thanh ngang 1 cm. (A) Chồi tái sinh từ lá của cây đối chứng (tăng trưởng trên môi trường MS  $\frac{1}{2}$ ) (B) Chồi tái sinh từ lá của cây được tiền xử lý hạn (tăng trưởng trên môi trường MS  $\frac{1}{2}$  với mannitol 20 g/L).

**Bảng 3:** Sự tăng trưởng của chồi tái sinh từ cây được tiến xử lý hạn trong điều kiện hạn ( $MS \frac{1}{2}$  với mannitol 20 g/L) sau 14 ngày nuôi cấy

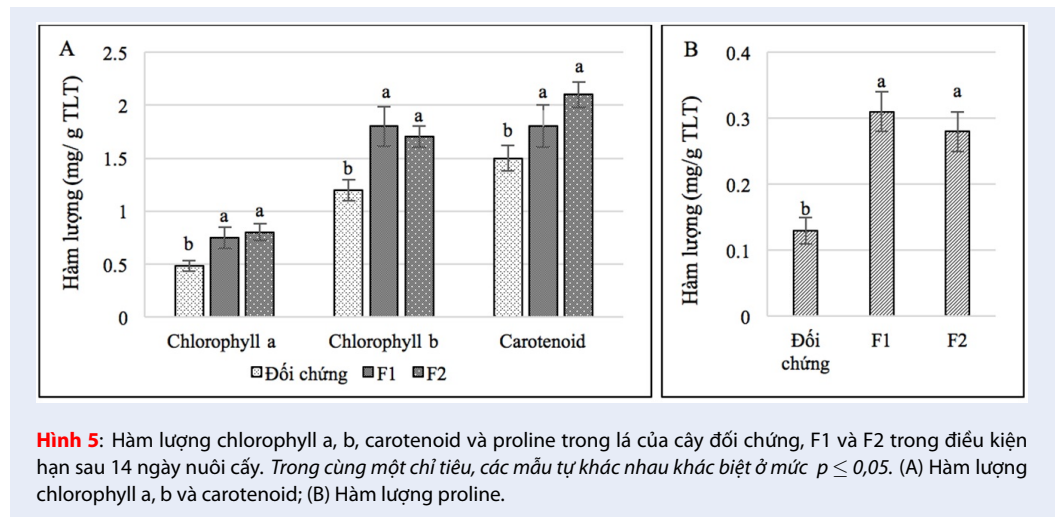
Loại chồi tái sinh từ lá của cây		Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây	Diện tích lá ( $cm^2$ )	Số rễ bất định/cây	Chiều dài rễ dài nhất (cm)
Đối chứng		4,02 ± 0,27 <sup>a</sup>	2,52 ± 0,25 <sup>b</sup>	3,06 ± 0,23 <sup>b</sup>	2,37 ± 0,59 <sup>b</sup>	5,15 ± 0,23 <sup>a</sup>
Tiền xử lý hạn trong điều kiện hạn	F1	4,21 ± 0,28 <sup>a</sup>	3,02 ± 0,38 <sup>a</sup>	5,61 ± 0,45 <sup>a</sup>	3,53 ± 0,10 <sup>a</sup>	5,31 ± 0,14 <sup>a</sup>
	F2	4,15 ± 0,17 <sup>a</sup>	3,90 ± 0,42 <sup>a</sup>	6,08 ± 0,31 <sup>a</sup>	3,23 ± 0,14 <sup>a</sup>	5,31 ± 0,14 <sup>a</sup>

Đối chứng: chồi tái sinh trong điều kiện bình thường

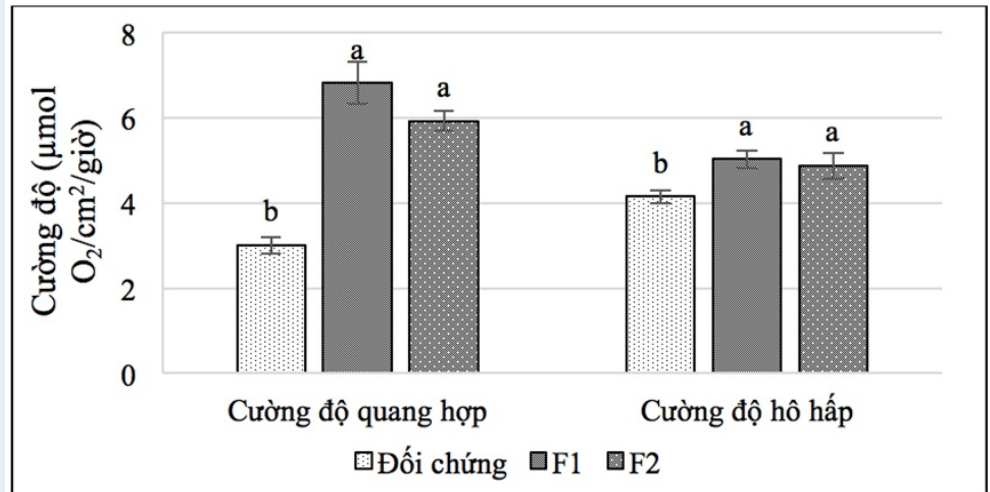
Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt ở mức  $p \leq 0,05$



**Hình 4:** Sự tăng trưởng của chồi tái sinh từ cây được tiến xử lý hạn trong điều kiện hạn ( $MS \frac{1}{2}$  với mannitol 20 g/L) sau 14 ngày nuôi cấy. Thanh ngang 1 cm. (A) Đối chứng; (B) Cây chuyển lần 1; (C) Cây chuyển lần 2.



**Hình 5:** Hàm lượng chlorophyll a, b, carotenoid và proline trong lá của cây đối chứng, F1 và F2 trong điều kiện hạn sau 14 ngày nuôi cấy. Trong cùng một chỉ tiêu, các mẫu tự khác nhau khác biệt ở mức  $p \leq 0,05$ . (A) Hàm lượng chlorophyll a, b và carotenoid; (B) Hàm lượng proline.



**Hình 6:** Cường độ hô hấp và quang hợp của lá từ cây đối chứng, F1 và F2 trong điều kiện hạn sau 14 ngày nuôi cấy. Trong cùng một chỉ tiêu, các mẫu tự khác nhau khác biệt ở mức  $p \leq 0,05$ .

**Bảng 4:** Hoạt tính các chất điều hòa tăng trưởng thực vật ở lá của cây đối chứng, F1 và F2 trong điều kiện hạn sau 14 ngày nuôi cấy

Loại chồi tái sinh từ lá của cây		Hoạt tính các chất điều hòa tăng trưởng thực vật (mg/L)			
		Auxin	Cytokinin	Gibberellin	ABA
Đối chứng		0,42 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,72 ± 0,25 <sup>b</sup>	1,16 ± 0,35 <sup>a</sup>	0,12 ± 0,06 <sup>a</sup>
Tiền xử lý hạn trong điều kiện hạn	F1	0,73 ± 0,09 <sup>a</sup>	2,03 ± 0,37 <sup>a</sup>	1,09 ± 0,23 <sup>a</sup>	0,20 ± 0,09 <sup>a</sup>
	F2	0,88 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,81 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,25 ± 0,52 <sup>a</sup>	0,24 ± 0,05 <sup>a</sup>

Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt ở mức  $p \leq 0,05$

liệu di truyền quan trọng để chọn lọc những dòng cây có khả năng kháng hạn. Theo cách này, nhiều dòng cây có khả năng kháng hạn đã được chọn lọc thành công như ở hành tây<sup>3</sup>, cúc<sup>4</sup>, ngô<sup>21</sup> và lúa<sup>22</sup>. Thật vậy, các chồi tái sinh từ cây được tiền xử lý hạn có khả năng tăng trưởng tốt hơn so với cây không được xử lý hạn (Bảng 3, Hình 3). Sự tăng trưởng tốt của các chồi tái sinh này được duy trì qua hai thế hệ cấy chuyển và được thể hiện thông qua các chỉ tiêu tăng trưởng, sinh lý và sinh hóa. Kết quả phân tích hàm lượng chlorophyll a, b và carotenoid trong lá của cây được tái sinh ở cả hai thế hệ F1 và F2 đều cao hơn so với đối chứng (Hình 5A). Sự gia tăng hàm lượng sắc tố quang hợp có thể giải thích cho sự gia tăng cường độ quang hợp của lá (Hình 6). Ngoài ra, sự gia tăng và duy trì ổn định hàm lượng proline ở lá cây F1 và F2 còn giúp cho cây có thể chống chịu tốt hơn với điều kiện hạn (Hình 5B). Theo Bielach và cộng sự (2017), proline là một chất giúp cân bằng áp suất thẩm thấu và bảo vệ tế bào khỏi tác động của các gốc oxy hóa tự do sinh ra trong điều kiện stress<sup>23</sup>. Không những

vậy, ở cây F1 và F2 còn cho thấy sự ổn định về cường độ hô hấp, hoạt tính auxin và cytokinin trong lá của cây (Bảng 4). Điều này giúp cây có thể tăng trưởng tốt hơn do được cung cấp năng lượng và các chất bổ dưỡng trung gian từ hoạt động hô hấp tế bào. Sự gia tăng hoạt tính auxin và cytokinin trong lá của cây F1 và F2 vừa kích thích sự tăng trưởng của cây vừa kiểm soát sự hình thành các gốc oxy hóa tự do thông qua điều hòa sự biểu hiện của các gen glutaredoxin, peroxidase và glutathione transferase<sup>23</sup>.

## KẾT LUẬN

Môi trường MS  $\frac{1}{2}$  có bổ sung IAA 0,2 mg/L và zeatin 0,5 mg/L thích hợp cho sự tái sinh chồi từ lá của cây cà chua *in vitro*. Việc tiền xử lý hạn (MS  $\frac{1}{2}$  với mannitol 20 g/L) giúp tạo các chồi tái sinh có khả năng chịu hạn. Các chồi tái sinh ở thế hệ F1 và F2 tăng trưởng tốt hơn trong điều kiện hạn, hàm lượng chlorophyll, carotenoid, proline, cường độ hô hấp, quang hợp, hoạt tính auxin và cytokinin trong lá cao hơn so với đối chứng.

## DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

ABA: Acid abscisic  
GA<sub>3</sub>: Gibberellic acid  
IAA: Indol acetic acid  
MS: Murashige and Skoog  
TLT: Trọng lượng tươi

## XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Tác giả khẳng định không có bất cứ xung đột lợi ích nào.

## ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Tác giả Trần Thanh Thắng thực hiện thí nghiệm, phân tích kết quả và viết bản thảo. Tác giả Nguyễn Minh Tuấn thực hành thí nghiệm, thu thập và xử lý số liệu. Tác giả Phan Ngô Hoàng hỗ trợ, đóng góp ý kiến và chỉnh sửa bản thảo. Tác giả Trần Thanh Hương thiết kế thí nghiệm, phân tích, giải thích kết quả và chỉnh sửa bản thảo.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) trong khuôn khổ Đề tài mã số C2019-18-22.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. FAO Statistical Database 2019. FAOSTAT Agriculture data; Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
2. Bidabadi SS, et al. Cellular, molecular, and physiological aspects of in vitro plant regeneration. *Plants*, 9(6), 702. 2020; Available from: <https://doi.org/10.3390/plants9060702>.
3. Plabon AR, et al. In vitro regeneration of Onion (*Allium cepa* L.) genotypes under salt stress condition. *Asian Research Journal of Agriculture*, 34-43. 2021; Available from: <https://doi.org/10.9734/arja/2021/v14i130116>.
4. Al-Taha HA. Impact of osmotic stress peg and sucrose on callus growth and adventitious micro shoots regeneration of (*Chrysanthemum hortorum* Hort cv. Dwarf) in in vitro condition. *Plant Archives*. 2020;20(2):347–352.
5. Ayolié K. In vitro regeneration from immature embryos calli of durum wheat under salinity stress conditions. *Research Journal of Biotechnology*, 15, 9. 2020;.
6. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497. 1962; Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1339-3054.1962.tb08052.x>.
7. Nasahara KN. Vertical integration of leaf area index in a Japanese deciduous broad-leaved forest. *Agricultural and forest meteorology*, 148(6-7), 1136-1146. 2008; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2008.02.011>.
8. Lichtenthaler HK. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*.

- 1987;148:350–382. Available from: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).
9. Paquin R, Lechasseur P. Observations sur une méthode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*. 1979;57(18):1851–1854. Available from: <https://doi.org/10.1139/b79-233>.
10. Việt BT. Tim 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.). *Tạp san khoa học ĐHTH TP.HCM*. 1992;1:155–165.
11. Meidner H. *Class experiments in plant physiology*. Allen & Unwin. 1984;.
12. Yokota T, Murofushi N, & Takahashi N. Extraction, purification, and identification. In *Hormonal Regulation of Development*, Springer, Berlin, Heidelberg. 1980; Available from: [https://doi.org/10.1007/978-3-642-67704-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-642-67704-5_3).
13. Zhao X, et al. Auxin and cytokinin mediated regulation involved in vitro organogenesis of papaya. *Journal of Plant Physiology*. 2021;p. 153405. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153405>.
14. Sun RZ. A role of age-dependent DNA methylation reprogramming in regulating the regeneration capacity of *Boea hygrometrica* leaves. *Functional & integrative genomics*. 2020;20(1):133–149. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10142-019-00701-3>.
15. Mateo-Bonmati E, et al. Epigenetic regulation of auxin homeostasis. *Biomolecules*. 2019;9(10):623. Available from: <https://doi.org/10.3390/biom9100623>.
16. Du M, et al. Rapid auxin-mediated cell expansion. *Annual review of plant biology*. 2020;71:379–402. PMID: 32131604. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-073019-025907>.
17. Shimotohno A. Regulation of the Plant Cell Cycle in Response to Hormones and the Environment. *Annual Review of Plant Biology*. 2021;72. PMID: 33689401. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-080720-103739>.
18. Abid M, et al. Improved tolerance to post-anthesis drought stress by pre-drought priming at vegetative stages in drought-tolerant and-sensitive wheat cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2016;106:218–227. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.003>.
19. Bäurle I. Plant heat adaptation: priming in response to heat stress. *F1000Research*. 2016;5. PMID: 27134736. Available from: <https://doi.org/10.12688/f1000research.7526.1>.
20. Ishihara H, et al. Primed histone demethylation regulates shoot regenerative competency. *Nature communications*. 2019;10(1):1–15. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09386-5>.
21. El-Aref HM. Employment of maize immature embryo culture for improving drought tolerance. In *Proceeding of the 3rd Scientific Conference of Agriculture Sciences, Fac. of Agric., Assiut Univ., Assiut, Egypt*. 2002;.
22. Adkins SW, et al. Somaclonal variation in rice drought tolerance and other agronomic characters. *Australian Journal of Botany*. 1995;43(2):201–209. Available from: <https://doi.org/10.1071/BT9950201>.
23. Bielach A. Plants under stress: involvement of auxin and cytokinin. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(7):1427. PMID: 28677656. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms18071427>.



# Effects of auxin and cytokinin on the regeneration and growth of shoot tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in drought stress

Tran Thanh Thang\*, Nguy Minh Tuan, Phan Ngo Hoang, Tran Thanh Huong



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

## ABSTRACT

Tomato is one of the most popular foods in the world. However, drought stress has strongly decreased the growth and yield of tomatoes. Therefore, the study on drought-tolerant tomatoes is essential. In this paper, tomato cultivar TN704, which is popularly grown in Vietnam's Southeast and Vietnam's Mekong Delta was selected. The combination of auxin (IAA, indoleacetic acid) and cytokinin (zeatin) at different concentrations was investigated to determine the effective regeneration media. Then, the drought pretreatment was applied to obtain drought-tolerant shoots. The drought tolerance of regenerated shoots was checked by culture in the drought stress condition after two generations (F1 and F2). The physiological and biochemical changes of regenerated shoots in the drought stress condition were analyzed. The MS  $\frac{1}{2}$  medium supplemented with 0.2 mg/L IAA and 0.5 mg/L zeatin was the effective medium for *in vitro* shoot regeneration from tomato leaves. The drought pretreatment (MS  $\frac{1}{2}$  with 20 g/L mannitol) increased the number of regenerated shoots which can develop in the drought stress condition. The regenerated shoots in the F1 and F2 generations grew strongly under drought conditions. The content of chlorophyll, carotenoid and proline, the intensity of respiration and photosynthesis, and the activity of auxin and cytokinin in leaves of F1 and F2 plant were higher than the control.

**Key words:** Auxin, cytokinin, drought stress, the growth of shoot, shoot regeneration, tomato

Faculty of Biology and Biotechnology,  
University of Science, VNU-HCM,  
Vietnam

## Correspondence

**Tran Thanh Thang**, Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, VNU-HCM, Vietnam

Email: trtthang@hcmus.edu.vn

## History

- Received: 10-5-2021
- Accepted: 15-6-2021
- Published: 15-7-2021

DOI : 10.32508/stdjns.v5i3.1063



## Copyright

© VNU-HCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



**Cite this article :** Thang T T, Tuan N M, Hoang P N, Huong T T. **Effects of auxin and cytokinin on the regeneration and growth of shoot tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in drought stress.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 5(2):1384-1392.