

Ảnh hưởng của kỹ thuật xử lý mẫu cấy lên khả năng nhân chồi của ba giống dâu tây (*Fragaria* spp.) in vitro

Effects of explant treatment techniques on shoot multiplication of three strawberry strains (*Fragaria* spp.) in vitro

Hà Thị Tuyết Phượng^{1,*}

¹ Trường Đại học Tiền Giang, 119 Ấp Bắc, Phường 5, Mỹ Tho, Tiền Giang, Việt Nam

Thông tin chung

Ngày nhận bài:

28/02/2020

Ngày nhận kết quả phản biện:

06/05/2020

Ngày chấp nhận đăng:

10/05/2020

Từ khóa:

Dâu tây, in vitro, nhân chồi

Keywords:

In vitro, multiplication, strawberry

Tóm tắt

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu xác định kỹ thuật xử lý mẫu cấy thích hợp cho sự nhân chồi của 3 giống dâu tây. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 2 nhân tố gồm giống dâu tây (giống Mỹ Đá, giống Mỹ Hương, giống dâu Pháp) và nhân tố kỹ thuật xử lý mẫu cấy (để nguyên chồi, cắt hết lá của chồi, cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi) với 3 lần lặp lại. Môi trường nuôi cấy là môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962), bổ sung sucrose (30 g/l), benzyl adenine (0,3 mg/l) và agar (8 g/l). Kết quả thí nghiệm cho thấy kỹ thuật xử lý cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi sẽ mang lại hiệu quả cao nhất trong việc tăng số lượng chồi ở cả 3 giống dâu tây thí nghiệm. Sự nhân chồi của giống dâu Mỹ Hương được đánh giá tốt hơn giống dâu Mỹ Đá và dâu Pháp.

Abstract

The aim of this research to determine suitable explant treatment techniques for shoot multiplication of three strawberry cultivars. The experiment was arranged by Randomized Complete Design (RCD), two factors were strawberry cultivars (My Da cultivar, My Huong cultivar, dau Phap cultivar) and explant treatment techniques (no cutting, leaves cutting, leaves cutting and shoot tip wounding) with three replicates. Culture medium was MS medium (Murashige and Skoog, 1962), supplemented with sucrose (30 g/l), benzyl adenine (0,3 mg/l) and agar (8 g/l). The results of experiment showed that leaves cutting and shoot tip wounding technique would bring the highest efficiency in increasing the number of shoots for all of three strawberry cultivars. Shoot multiplication of My Huong cultivar was the greatest among these three strawberry cultivars..

1. GIỚI THIỆU

Cây dâu tây (*Fragaria* spp.) là loại cây ăn quả giàu dinh dưỡng, rất có lợi cho sức khỏe con người. Toàn thân và quả dâu tây có tính mát, có tác dụng thanh nhiệt. Quả dâu tây cung cấp nhiều

loại chất khoáng như Ca, K, P, Mg, Fe và nhiều vitamin cần thiết cho cơ thể con người như vitamin A, vitamin B và vitamin C. Bên cạnh đó, trong quả dâu tây còn có chất fisetin, có tác dụng chống oxy hóa, giúp bảo vệ tế bào khỏi bị lão

* tác giả liên hệ, hathituyetphuong@tgu.edu.vn, 098 213 7800

hóa [5]. Quả dâu tây còn là nguồn cung cấp ellagic acid, một chất có khả năng hạn chế được bệnh ung thư [7]. Sản phẩm sử dụng từ quả dâu tây rất đa dạng. Ngoài việc được sử dụng ở dạng tươi, quả dâu tây còn được dùng làm rượu vang, mứt, các loại kem, sữa tươi tiệt trùng, tạo hương thơm cho các loại bánh mứt. Do đó, nhu cầu tiêu thụ của quả dâu tây ngày càng được gia tăng. Chính vì vậy, nhu cầu canh tác cây dâu tây ngày càng được mở rộng.

Cây dâu tây thường được nhân giống truyền thống bằng cách tách thân bò và tách cây con từ thân chính. Phương pháp nhân giống này cho hệ số nhân giống không cao, cây con dễ bị nhiễm một số bệnh từ cây mẹ.

Một ứng dụng quan trọng trong nuôi cấy mô là vi nhân giống. Ưu điểm của phương pháp này là tiềm năng sản xuất nhanh, sử dụng rất ít nguồn mẫu ban đầu [3].

Việc nghiên cứu nhân giống cây dâu tây bằng phương pháp vi nhân giống đã được thực hiện nghiên cứu quy trình nhân giống cây dâu tây Mỹ Đá tại Đà Lạt bởi Văn Thị Như Ngọc (2004). Giống dâu tây Mỹ Đá có đặc tính hơi chua. Ngoài ra, nhiều giống dâu tây chất lượng tốt như giống Mỹ Hương (ngọt và thơm), giống dâu Pháp (rất thơm). Tuy nhiên, chúng chưa được nhân giống với số lượng lớn.

Một số nghiên cứu khác như nhân giống cây dâu tây *in vitro* sạch bệnh vi rút xoắn lá và bệnh vi rút vàng mép lá [4], nghiên cứu ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng trong nhân giống *in vitro* cây dâu tây [12]. Nhìn chung, các nghiên cứu này chỉ thực hiện tạo chồi dâu tây từ mô lá, mầm ngủ trên đốt thân rồi chuyển chồi sang giai đoạn tạo rễ mà bỏ qua giai

đoạn nhân chồi. Trong nhân giống cây dâu tây *in vitro*, giai đoạn nhân chồi là rất quan trọng cần được nghiên cứu nhằm gia tăng hệ số nhân giống, cho phép tạo ra số lượng lớn cây giống trong thời gian ngắn.

Việc xử lý mẫu cấy thích hợp giúp gia tăng sự tiếp xúc của mẫu với môi trường nuôi cấy để hấp thu dinh dưỡng tốt hơn; hạn chế sản sinh auxin, hạn chế ưu thế ngọn của thân chính tạo điều kiện cho sự hình thành và phát triển của các chồi phụ. Kỹ thuật xử lý mẫu cấy có vai trò quyết định rất lớn đến sự thành công trong nhân giống *in vitro* nên cần được nghiên cứu.

Vì vậy, nghiên cứu “Ảnh hưởng của kỹ thuật xử lý mẫu cấy lên sự nhân chồi của ba giống dâu tây (*Fragaria* spp.) *in vitro*” được thực hiện nhằm xác định kỹ thuật xử lý mẫu cấy thích hợp giúp nhân nhanh chồi cây dâu tây *in vitro*. Đồng thời cung cấp cơ sở khoa học cho những nghiên cứu để tối ưu hóa các kỹ thuật giúp nhân nhanh giống trên từng loại cây trồng khác nhau.

2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu: Cây dâu tây *in vitro* trong chai thủy tinh có chứa môi trường nuôi cấy của 3 giống dâu tây (giống Mỹ Đá, giống Mỹ Hương và giống dâu Pháp) được nhân giống và lưu giữ tại phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo Giống cây trồng của Viện Sinh học Tây Nguyên. Các chồi dâu tây có chiều cao trung bình 25-30 mm, có từ 4-5 lá phát sinh từ nuôi cấy mô lá cây dâu tây *in vitro* được sử dụng làm nguồn mẫu cho nghiên cứu.

Hóa chất: Các khoáng đa lượng (Merck), khoáng vi lượng (Merck) được dùng để pha môi trường MS (Murashige

and Skoog, 1962); chất điều hòa sinh trưởng benzyl adenine (BA)-(Merck).

2.2. Phương pháp

Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện nhiệt độ phòng $25 \pm 2^\circ\text{C}$, thời gian chiếu sáng 10 giờ/ngày với cường độ 2.500-3.000 lux, ẩm độ trung bình 70-75%.

Môi trường nuôi cấy của thí nghiệm là môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962). Các chất bổ sung: sucrose (30 g/l), benzyl adenine (0,3 mg/l) và agar (8 g/l).

Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH từ 5,7-5,8. 70 ml môi trường được rót vào trong các chai thủy tinh 500 ml và được hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút.

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, hai nhân tố: nhân tố giống dâu tây (giống Mỹ Đá, giống Mỹ Hương, giống dâu Pháp) và nhân tố kỹ thuật xử lý mẫu cây (để nguyên chồi, cắt hết lá của chồi, cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi). Thí nghiệm gồm 9 nghiệm thức, 3 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại là 15 chai, mỗi chai cấy 1 mẫu.

Chọn các chồi dâu tây *in vitro* của ba giống dâu tây thí nghiệm, có chiều cao trung bình cao 25-30 mm, có 4-5 lá. Thực hiện xử lý các chồi dâu tây trước khi cấy vào các chai thủy tinh có chứa môi trường tương ứng với 3 kỹ thuật xử lý mẫu khác nhau:

Kỹ thuật để nguyên chồi hay no cutting: Để nguyên chồi dâu tây và cấy chồi vào chai chứa môi trường.

Kỹ thuật cắt hết lá của chồi hay leaves cutting: Dùng dao cây cắt hết lá của chồi, sau đó cấy chồi vào chai chứa môi trường.

Kỹ thuật cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi hay leaves cutting and shoot tip wounding: Dùng dao cây cắt hết lá và dùng mũi dao cây chích vào đỉnh ngọn chồi (chích 1 lần, chích trực diện vào đỉnh ngọn chồi sao cho thủng đỉnh ngọn chồi), sau đó cấy chồi vào chai chứa môi trường.

Chỉ tiêu theo dõi:

+ Thời gian tạo chồi mới (ngày sau khi cấy): Được ghi nhận khi có khoảng 50% số mẫu phát sinh chồi trên mỗi lần lặp lại (khi có 7-8 mẫu phát sinh chồi trên mỗi lần lặp lại).

+ Tỷ lệ (%) tạo chồi mới:

Tỷ lệ (%) tạo chồi mới = Số mẫu tạo chồi mới/Tổng số mẫu $\times 100$.

+ Số chồi mới tạo (chồi): Được ghi nhận bằng cách đếm số chồi mới (chồi có chiều cao $\geq 5,00$ mm) trên từng mẫu cây của mỗi lần lặp lại.

+ Chiều cao chồi (mm): Được đo từ phần gốc đến chóp lá cao nhất của chồi bằng thước có độ chính xác đến 1 millimet, mỗi lần lặp lại đo 30 chồi.

Ghi nhận chỉ tiêu sau 10 tuần nuôi cấy (trừ chỉ tiêu thời gian phát sinh chồi mới).

Phân tích số liệu

Các số liệu thu thập được tính trung bình và tiến hành phân tích phương sai ANOVA để đánh giá sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Các giá trị trung bình được so sánh bằng phương pháp kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 1% và 5%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của kỹ thuật xử lý mẫu cây lên thời gian tạo chồi mới, số chồi mới tạo thành trong điều kiện *in vitro* của ba giống dâu tây

Thời gian tạo chồi mới

Kết quả ghi nhận sau 10 tuần nuôi cấy cho thấy, cả 9 nghiệm thức đều có khả năng phát sinh chồi mới khi được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung sucrose (30 g/l), benzyl adenine (0,3 mg/l) và agar (8 g/l). Tỷ lệ (%) tạo chồi của tất cả các nghiệm thức là 100%. Tuy nhiên, thời gian tạo chồi mới thay đổi theo từng giống và kỹ thuật xử lý mẫu cấy khác nhau lên mẫu ban đầu trước khi nuôi cấy của 3 giống dâu Mỹ Đá, Mỹ Hương và dâu Pháp (Bảng 1).

Bảng 1. Ảnh hưởng của kỹ thuật xử lý mẫu cấy lên thời gian tạo chồi mới (ngày sau khi cấy) của 3 giống dâu tây

Giống	Kỹ thuật xử lý mẫu cấy			Trung bình
	NC	LC	LCSTW	
Mỹ Đá	15,0cd	13,6e	11,4g	13,3b
Mỹ Hương	14,6de	12,4f	10,7g	12,6b
Dâu Pháp	23,8a	18,3b	15,9c	19,3a
Trung bình	17,8a	14,8b	12,7c	

F(giống) = **

F(kỹ thuật xử lý mẫu cấy) = **

F(tương tác) = **

CV (%) = 5,1

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng 1 cột có cùng mẫu tự theo sau không khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan. NC: để nguyên chồi, LC: cắt hết lá của chồi, LCSTW: cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi.

Kết quả phân tích ở Bảng 1 cho thấy, thời gian tạo chồi mới khác biệt rất có ý nghĩa về thống kê giữa 3 giống dâu tây thí nghiệm. Thời gian tạo chồi mới đạt thấp nhất ở giống Mỹ Hương (12,8 ngày sau khi cấy) và cao nhất là ở giống dâu Pháp (19,3 ngày sau khi cấy).

Kỹ thuật xử lý mẫu cấy ảnh hưởng rất có ý nghĩa lên thời gian tạo chồi mới

của chồi dâu tây được nuôi cấy trong điều kiện *in vitro*. Kỹ thuật cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi cho thời gian tạo chồi mới nhanh nhất (12,7 ngày sau khi cấy) và khác biệt rất có ý nghĩa về thống kê so với thời gian tạo chồi mới của 2 kỹ thuật xử lý mẫu còn lại. Thời gian tạo chồi mới của chồi dâu tây khi để nguyên chồi nuôi cấy là lâu nhất (17,8 ngày sau khi cấy). Qua đó cho thấy, việc thực hiện xử lý mẫu chồi dâu tây trước khi nuôi cấy sẽ giúp thúc đẩy nhanh quá trình phát sinh chồi mới.

Thời gian tạo chồi mới ở các nghiệm thức tương tác giữa giống và kỹ thuật xử lý mẫu cấy khác biệt rất có ý nghĩa về thống kê. Thời gian tạo chồi mới biến thiên trong khoảng từ 10,7-23,8 (ngày sau khi cấy). Đối với dâu tây giống dâu Pháp ứng với kỹ thuật để nguyên chồi là lâu nhất (23,8 ngày sau khi cấy) và khác biệt rất có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Đối với dâu tây giống Mỹ Hương (10,7 ngày sau khi cấy) và giống Mỹ Đá (11,4 ngày sau khi cấy) được xử lý bằng kỹ thuật cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi là tương đương nhau và thấp hơn so với các nghiệm thức còn lại.

Trong 3 kỹ thuật xử lý mẫu, kỹ thuật cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi giúp rút ngắn thời gian phát sinh chồi mới tốt nhất ở cả 3 giống dâu tây. Chính việc cắt hết lá kết hợp với tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi đã góp phần hạn chế ưu thế ngọn của chồi dâu tây một cách tối hảo, qua đó kích thích quá trình phát sinh các chồi bên.

Số chồi mới tạo thành

Kết quả phân tích ở Bảng 2 cho thấy, nhân tố giống và kỹ thuật xử lý mẫu cấy ảnh hưởng rất có ý nghĩa lên số chồi mới tạo thành. Số chồi mới tạo thành từ chồi

dâu tây giống Mỹ Hương đạt cao nhất (16,3 chồi) và khác biệt rất có ý nghĩa về thống kê so với số chồi mới tạo thành từ chồi dâu tây giống Mỹ Đá (12,3 chồi) và giống dâu Pháp (12,7 chồi). Số chồi mới tạo thành từ chồi dâu tây được xử lý bằng kỹ thuật cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi trước khi nuôi cấy là cao nhất (22,2 chồi) và khác biệt rất có ý nghĩa về thống kê so với số chồi mới tạo thành ứng với kỹ thuật cắt hết lá của chồi (14,4 chồi) và để nguyên chồi (4,6 chồi).

Bảng 2. Ảnh hưởng của kỹ thuật xử lý mẫu cây lên số chồi mới tạo thành (chồi) của 3 giống dâu tây

Giống	Kỹ thuật xử lý mẫu cây			Trung bình
	NC	LC	CLSTW	
Mỹ Đá	4,7d	12,2c	19,9b	12,3b
Mỹ Hương	4,7d	18,3b	25,8a	16,3a
Dâu Pháp	4,3d	12,8c	21,0b	12,7b
Trung bình	4,6c	14,4b	22,2a	

F(giống) = **

F(kỹ thuật xử lý mẫu cây) = **

F(tương tác) = *

CV (%) = 12,9

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng 1 cột có cùng mẫu tự theo sau không khác biệt ở mức ý nghĩa 1% và 5% qua phép thử Duncan. Chỉ tiêu ghi nhận sau 10 tuần nuôi cấy. NC: để nguyên chồi, LC: cắt hết lá của chồi, CLSTW: cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi.

Số chồi mới tạo thành ở các nghiệm thức tương tác giữa giống và kỹ thuật xử lý mẫu cây khác biệt có ý nghĩa về thống kê. Số chồi mới tạo thành biến thiên từ 4,3-25,8 (chồi). Số chồi mới tạo thành từ chồi dâu tây của giống dâu Pháp ứng với kỹ thuật để nguyên chồi là thấp nhất (4,3 chồi). Số chồi mới tạo thành từ chồi dâu

tây giống Mỹ Hương ứng với kỹ thuật cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi đạt nhiều nhất (25,8 chồi) và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại.

Kết quả nghiên cứu của thí nghiệm cho thấy kỹ thuật cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi mang lại hiệu quả nhất trong việc tăng số lượng chồi ở cả 3 giống dâu tây.

Trịnh Xuân Vũ và ctv. (1976) cho rằng đỉnh sinh trưởng và lá là nơi sản sinh ra auxin, một nhóm chất điều hòa sinh trưởng không chỉ có tác dụng kích thích sự sinh trưởng của tế bào mà còn được vận chuyển xuống phía dưới, gây kìm hãm sự sinh trưởng của các chồi bên. Do đó, loại bỏ lá và hạn chế việc sản sinh auxin từ đỉnh sinh trưởng thông qua việc cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi sẽ kích thích các mầm bên ở giữa nách lá và thân phát triển thành những chồi mới.

3.2. Ảnh hưởng của kỹ thuật xử lý mẫu cây lên chiều cao của chồi dâu tây trong điều kiện in vitro của ba giống dâu tây

Kết quả phân tích Bảng 3 cho thấy, ảnh hưởng của nhân tố giống và kỹ thuật xử lý mẫu cây rất có ý nghĩa lên chiều cao chồi dâu tây in vitro. Chiều cao chồi của giống dâu Mỹ Đá đạt 31,0 mm, tương đương với chiều cao chồi của giống dâu Mỹ Hương (30,7 mm) nhưng khác biệt rất có ý nghĩa với chiều cao chồi của giống dâu Pháp (26,1 mm). Khả năng vươn chồi của giống dâu Pháp là thấp nhất. Bên cạnh đó, chiều cao của chồi đạt cao nhất khi để nguyên chồi nuôi cấy (32,9 mm) và khác biệt rất có ý nghĩa về thống kê so với sử dụng kỹ thuật cắt hết lá của chồi và kỹ thuật cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi

trước khi nuôi cấy. Việc cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi trước khi nuôi cấy sẽ kích thích phát sinh chồi nhiều hơn chính vì vậy chiều cao chồi (25,1 mm) thấp hơn so với 2 kỹ thuật còn lại.

Bảng 3. Ảnh hưởng của kỹ thuật xử lý mẫu cây lên chiều cao chồi (mm) của 3 giống dâu tây

Giống	Kỹ thuật xử lý mẫu cây			Trung bình
	NC	LC	LCSTW	
Mỹ Đá	34,4a	32,4b	26,2d	31,0a
Mỹ Hương	34,9a	31,6b	25,6d	30,7a
Dâu Pháp	29,4c	25,4d	23,6e	26,1b
Trung bình	32,9a	29,8b	25,1c	

F(giống) = **

F(kỹ thuật xử lý mẫu cây) = **

F(tương tác) = **

CV (%) = 2,8

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng 1 cột có cùng mẫu tự theo sau không khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan. Chỉ tiêu ghi nhận sau 10 tuần nuôi cấy. NC: để nguyên chồi, LC: cắt hết lá của chồi, LCSTW: cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi.

Chiều cao chồi ở các nghiệm thức tương tác giữa giống và kỹ thuật xử lý mẫu cây khác biệt rất có ý nghĩa về thống kê. Chiều cao chồi biến thiên trong khoảng từ 23,6-34,9 mm. Chiều cao chồi của giống Mỹ Hương ứng với kỹ thuật để nguyên chồi đạt (34,9 mm), tương đương với chiều cao chồi của giống Mỹ Đá ứng với kỹ thuật này (34,4 mm) nhưng khác biệt rất có ý nghĩa về thống kê so với chiều cao chồi của các nghiệm thức còn lại. Chiều cao chồi của giống dâu Pháp ứng với kỹ thuật cắt hết lá và tạo vết

thương ở đỉnh ngọn chồi đạt thấp nhất (23,6 mm). Điều này có thể là do giống dâu Pháp sinh trưởng kém hơn 2 giống Mỹ Đá và Mỹ Hương. Theo Eunju and Margaret (2003), kiểu di truyền có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của chồi *in vitro*. Ngoài ra, kỹ thuật cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi đã hạn chế ưu thế ngọn của chồi, kích thích phát sinh nhiều chồi phụ mới hơn so với 2 kỹ thuật còn lại. Tuy nhiên, số lượng chồi phát sinh trên mẫu có tương quan nghịch với chiều cao của chồi do sự cạnh tranh về dinh dưỡng giữa các chồi. Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Trương Thị Diệu Hiền và ctv. (2007) trên cây *Torenia* (*Torenia Fournieri* L.).

Qua kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của kỹ thuật xử lý mẫu cây lên khả năng nhân chồi của cây dâu tây trong điều kiện *in vitro* cho thấy, khả năng nhân chồi của cây dâu tây phụ thuộc vào nhân tố giống, kỹ thuật xử lý mẫu cây và tương tác giữa nhân tố giống với kỹ thuật xử lý mẫu cây. Giống Mỹ Hương có khả năng nhân chồi cao nhất so với giống Mỹ Đá và giống dâu Pháp. Kỹ thuật cắt lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi có hiệu quả tốt nhất cho quá trình nhân chồi của cây dâu tây. Chồi dâu tây của giống Mỹ Hương ứng với kỹ thuật cắt lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi có khả năng nhân chồi cao nhất, chồi xanh, khỏe và đạt độ đồng đều hơn so với các nghiệm thức còn lại (Hình 1).

Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với một số nghiên cứu về ảnh hưởng của nhân tố giống và kỹ thuật xử lý mẫu cây lên khả năng nhân giống *in vitro* của một số loài. Chow *et al.* (1992) cho rằng khả năng nhân giống của bảy giống hoa thủy tiên (*Narcissus*) được cải thiện khi các cụm chồi được cắt ngắn, bỏ hết lá

(severe cutting). Severe cutting có tác dụng loại bỏ ưu thế ngọn đồng thời giúp tăng khả năng tạo chồi và phát triển của lá. Nghiên cứu của Nhut *et al.* (2005) cho thấy các chồi của cây Lan Hải (*Paphiopedilum delenatii*) không có khả năng tái sinh chồi nếu không được gây vết thương. Việc gây vết thương bằng cách cắt hết rễ và dùng vật nhọn chích 3-4 lần vào phần gốc cây con là điều kiện tiên quyết đối với sự hình thành chồi. Các tế bào tại phần bị gây tổn thương có thể đã phản ứng dễ dàng hơn với các tác nhân kích thích có trong môi trường nuôi cấy, qua đó kích thích phân hóa các cơ quan mới, hình thành chồi bất định.



Hình 1. Chồi dâu tây Mỹ Hương sau 10 tuần nuôi cấy ở ba kỹ thuật xử lý mẫu cấy khác nhau

Ghi chú: A: Cụm chồi dâu tây được tạo ứng với kỹ thuật để nguyên chồi; B: Cụm chồi dâu tây được tạo ứng với kỹ thuật cắt hết lá của chồi; C: Cụm chồi dâu tây được tạo ứng với kỹ thuật cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi.

Việc hạn chế tính ưu thế ngọn thường được áp dụng trong ngành sản xuất hoa kiểng và nhân giống *ex vitro* thông qua việc cắt tỉa cành lá, đốn phốt hay đốn đầu. Ngược lại, trong nhân giống *in vitro*, hầu hết các nhà nghiên cứu đều sử dụng các chất điều hòa sinh trưởng cytokinin để giúp hạn chế tính ưu thế ngọn và gia tăng hệ số nhân chồi. Tuy nhiên, nghiên cứu của Eunju and Margaret (2003) cho thấy sự sinh trưởng của các chồi *in vitro* trên môi trường có nồng độ cytokinin cao thường có một số

hiện tượng bất thường như hiện tượng thủy tinh thể, biến dị về kiểu hình. Do đó, nghiên cứu các kỹ thuật xử lý mẫu cấy nhằm giúp hạn chế sử dụng cytokinin nhưng vẫn đảm bảo hiệu quả nhân chồi và chất lượng chồi cũng như chất lượng của cây cấy mô là vấn đề mới, cần được nghiên cứu nhiều hơn nữa trong nhân giống *in vitro*.

4. KẾT LUẬN

Kỹ thuật xử lý cắt hết lá và tạo vết thương ở đỉnh ngọn chồi thích hợp nhất cho sự nhân chồi cây dâu tây *in vitro* của ba giống Mỹ Đá, Mỹ Hương và dâu Pháp. Sử dụng kỹ thuật này trước khi nuôi cấy giúp rút ngắn thời gian tạo chồi và kích thích tạo chồi mới nhiều hơn (nhân nhanh chồi) so với để nguyên chồi và cắt hết lá của chồi.

Giống dâu tây Mỹ Hương có khả năng nhân chồi tốt hơn giống Mỹ Đá và dâu Pháp trong điều kiện thí nghiệm.

LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin chân thành gửi lời cảm ơn tới Giáo sư tiến sĩ Dương Tấn Nhứt, tiến sĩ Bùi Minh Trí đã hướng dẫn và tạo điều kiện về cơ sở vật chất để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Chow Y.N., Selby C. and Harvey B.M.R. (1992). "A simple method for maintaining hight multiplication of *Narcissus* shoot cultures *in vitro*", *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 30, 227-230.
- [2]. Duong Tan Nhut, Phan Thi Thuy Trang, Nguyen Hong Vu et al. (2005). "A wounding method and liquid culture in *Paphiopedilum delenatii* propagation", *Propagation of Ornamental Plant*, 5(3), 158-163.

- [3]. Dương Tấn Nhựt (2007). *Công nghệ sinh học thực vật, quyển 1*, NXB Nông nghiệp, TP. Hồ Chí Minh, 81-97.
- [4]. Dương Tấn Nhựt, Nguyễn Duy, Hà Thị Tuyết Phượng và ctv. (2009). “Ứng dụng kỹ thuật RT-PCR trong chẩn đoán các bệnh virus xoắn lá và vàng mép lá trên cây dâu tây *in vitro*”, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 7(3), 335-340.
- [5]. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương và ctv. (2004). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 618-619.
- [6]. Eunju C. and Margaret R.P. (2003). “Micropropagation of Chinese Redbud (*Cercis yunnanensis*) through axillary bud breaking and induction of adventitious shoots from leaf pieces”, *In Vitro Cellular-Developmental Biology-Plant*, 39, 455-458.
- [7]. Kjersti A., Dag E. and Grete S. (2007). “Characterization of Phenolic Compounds in Strawberry (*Fragaria x annassa*) Fruits by Different HPLC Detectors and Contribution of Individual Compounds to Total Antioxidant Capacity”, *Journal Agric Food Chem*, 55(11), 4395-4406.
- [8]. Murashige T. and Skoog F. (1962). “A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures”, *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497.
- [9]. Sunita Jhajhra, Dashora L.K., Jitendra Singh et al. (2018). “In vitro propagation of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.)”, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(10), 3030-3035.
- [10]. Trịnh Xuân Vũ, Lê Doãn Diên, Nguyễn Đình Nguyên và ctv. (1976). *Sinh lý thực vật*, NXB Nông thôn, 288-293.
- [11]. Trương Thị Diệu Hiền, Phan Đình Kim Thư, Trịnh Thị Lan Anh và ctv. (2007). So sánh khả năng phát sinh chồi bất định từ lá, chồi ngủ và thân cây *Torenia* (*Torenia Fournieri* L.) trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*. *Hội nghị khoa học công nghệ sinh học thực vật trong công tác nhân giống và chọn tạo giống hoa lần I*, Viện khoa học và công nghệ Việt Nam, 15-16/12/2007, NXB Nông nghiệp TP. Hồ Chí Minh, 93-102.
- [12]. Văn Thị Như Ngọc (2004). Nghiên cứu quy trình nhân giống cây dâu tây Mỹ đá (*Fragaria* spp.) tại Đà Lạt. Luận văn Thạc sĩ ngành Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt.