

TÌM HIỂU SỰ NẤY MẦM CỦA HỘT DÂU TÂY (*FRAGARIA VESCA* L.)

Trần Thị Thanh Vân, Nguyễn Du Sanh
 Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, ĐHQG-HCM

TÓM TẮT: *Dâu tây (Fragaria vesca L.) được nhân giống bằng phương pháp cổ điển là tách thân bò, tách cây con từ thân chính, và nuôi cấy đỉnh sinh trưởng để tạo ra những cây con sạch bệnh. Sự nhân giống bằng hạt ít được lưu ý vì trong tự nhiên hạt dâu tây khó nảy mầm. Nghiên cứu sự nảy mầm của hạt dâu tây còn để cung cấp cây con cho các mục đích nghiên cứu khác như tạo mô sẹo, tạo phôi, tạo cơ quan.*

Mục tiêu của bài báo nhằm trắc nghiệm khả năng nảy mầm của hạt Dâu tây, tìm hiểu cách xử lý giúp hạt nhanh chóng nảy mầm.

Từ khóa: *hạt dâu tây, nảy mầm, vỏ dày*

1. VẬT LIỆU – PHƯƠNG PHÁP

1.1. Vật liệu

Hạt của trái Dâu tây (*Fragaria vesca* L.), chín đỏ thu hái trong vườn tại Tp. Đà Lạt (Lâm đồng).

1.2. Phương pháp

Quan sát hình thái và giải phẫu hạt

- Quan sát hình thái bên ngoài của hạt bằng kính lúp.
 - Cắt hạt theo chiều dọc, nhuộm hai màu và quan sát dưới kính hiển vi quang học ở vật kính X10, X40.

Trắc nghiệm tính sống của phôi: ngâm hạt đã cắt dọc với phẩm tetrazolium chloric ($C_{19}H_{15}ClN_4$) 1% trong tối: phần sống sẽ hiện màu đỏ.

Xác định thành phần dự trữ của hạt

- tinh bột: bằng dung dịch I2KI 1%: tinh bột sẽ có màu xanh dương đậm.
 - protid :bằng dung dịch $CuSO_4$ 5% và NaOH 30%, phần chứa protid sẽ có màu xanh tím.
 - lipid :bằng dung dịch Soudan 1%, phần lipid sẽ có màu đỏ.

Trắc nghiệm khả năng nảy mầm của hạt:

- Để nguyên hạt gieo trên đĩa Petri có lót giấy thấm ẩm.
 - Cắt vỏ hạt ở vị trí rễ mầm chui ra hay phía đối diện, gieo trên đĩa Petri có giấy thấm ẩm.
 Quan sát sự nảy mầm và xác định tỷ lệ nảy mầm bằng cách đếm số lượng hạt nảy mầm trên tổng số hạt trắc nghiệm. Hạt được coi là nảy mầm khi rễ mầm chui ra và trụ hạ diệp kéo dài.

Ảnh hưởng của hoá chất

Acid sulfuric (H_2SO_4)

Ngâm hạt Dâu tây trong dung dịch acid sulfuric ở nồng độ 10% với thời gian lần lượt 2, 3, 5 phút. Rửa sạch lại bằng nước cất 3 lần, đem gieo trên giấy thấm ẩm.

Ngâm hạt trong dung dịch acid sulfuric đậm đặc (98%) với thời gian từ 1 đến 10 phút. Rửa sạch lại bằng nước cất (3 lần) rồi đem gieo trên giấy thấm ẩm.

Sau 10 ngày, quan sát sự nảy mầm và xác định tính sống của phôi. So sánh tỉ lệ nảy mầm và tỉ lệ sống của phôi với hạt không xử lý acid sulfuric (hạt chỉ đem ngâm với nước cất rồi đem gieo trên giấy thấm ẩm).

Với **acid nitric (HNO_3)** cũng thực hiện tương tự như với acid sulfuric nhưng ở các nồng độ 5%, 10%, 15%, 68% (đậm đặc) với thời gian 2, 3, 5, 10 phút tương ứng cho mỗi nồng độ.

Cồn 70o

Hột được rửa bằng nước cất, tiếp theo với cồn 700, lắc đều 1 phút hay 5 phút. Sau đó, hột được đưa vào trong dung dịch hypochloride calcium 1% lắc đều trong 5 phút rồi rửa sạch lại bằng nước cất (3 lần), đem hột gieo trên môi trường MS có khoáng đa lượng giảm 1/2. Các thao tác trên được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Quan sát và ghi nhận sự nảy mầm của hột sau 10 ngày, 30 ngày. Thí nghiệm được thực hiện ở PTN Bộ môn Sinh lý Thực vật Trường ĐH KHTN – ĐHQGTPHCM

2.KẾT QUẢ

2.1.Hình thái và giải phẫu hột

Hột có màu vàng nâu nhạt, vỏ trơn, cứng, chiều dài trung bình của hột là 2mm.

Về cấu trúc hột Đậu tây có lớp vỏ dày bằng cutin; hai tử diệp màu trắng; một phôi tròn, nhỏ (hình).

2.2.Trắc nghiệm tính sống của phôi

Tính sống của phôi Đậu tây giảm dần theo thời gian bảo quản (bảng 1).

Bảng 1.Trắc nghiệm tính sống của phôi

	Mới thu hoạch	Sau 1 tháng	Sau 2 tháng	Sau 3 tháng
Tỷ lệ hột sống(%)	86,3 ± 3,54	82,5 ± 5,45	75,7± 3,24	70, 3 ± 3,81

2.3.Xác định thành phần dự trữ của hột

Hột Đậu tây không chứa tinh bột, chỉ có protid và lipid.

2.4.Trắc nghiệm khả năng nảy mầm của hột khi gieo trên đĩa Petri

Khi gieo hột trên đĩa Petri có giấy thấm ẩm, tỷ lệ nảy mầm của hột để nguyên vỏ thấp hơn rất nhiều so với hột cắt vỏ. Sau 10 ngày thí nghiệm: hột để nguyên hầu như không nảy mầm (1,2%), trong khi hột cắt vỏ cho tỷ lệ nảy mầm cao (80%).

2.5.Ảnh hưởng của hoá chất

Acid nitric

Khi xử lý hột bằng dung dịch acid nitric ở các nồng độ và thời gian khác nhau, hột đều không nảy mầm nhưng tỷ lệ sống của phôi thay đổi theo thời gian xử lý. Hột xử lý với nồng độ và thời gian càng cao sức sống của phôi càng giảm (bảng 2).

Bảng 2.Tỷ lệ nảy mầm và sức sống của hột đậu tây xử lý với acid nitric, quan sát sau 10 ngày

	Thời gian xử lý (phút)				
	Chuẩn	2	3	5	10
% nảy mầm	0	0	0	0	0
% phôi sống với acid nitric 5%	86,2±0,8	86,3±3,5	84,15±4,1	83,35±2,3	75,7±3,1
Acid nitric10%	86,2± 0,8	86± 2,3	86,1± 0,3	74± 2,8	68,8± 3,2
Acid nitric15%	86,2± 0,8	84± 1,3	78,1± 8,3	64± 6,8	52,8± 7,2
Acid nitric 68%	86,2± 0,8	68± 6,1	57,6± 8,9	34± 7,2	12,8± 1,8

Acid sulfuric

Với dung dịch acid sulfuric 10%, hột không nảy mầm, tỷ lệ sống của phôi không thay đổi (86%) trong thời gian xử lý từ 2 đến 5 phút.

Khi xử lý dung dịch acid sulfuric đậm đặc (98%), hột nảy mầm, tỷ lệ nảy mầm tăng theo thời gian xử lý (bảng 3). Xử lý 1 phút tỷ lệ hột nảy mầm là 14,3%, sau 10 phút tỷ lệ nảy mầm là 85%.

Bảng 3. Tỷ lệ nảy mầm và sức sống của hạt dâu tây khi xử lý acid sulfuric đậm đặc (98%) quan sát sau 10 ngày

	Chuẩn	Thời gian xử lý (phút)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tỷ lệ nảy mầm (%)	0	14,3	36	50	62,5	65	65	68,4	69	80	85

Côn

Khi xử lý với côn, hạt dâu tây có đáp ứng khác nhau. Thời gian xử lý 1 phút làm tăng tỉ lệ nảy mầm nhưng tỉ lệ này giảm khi tăng thời gian xử lý (bảng 4).

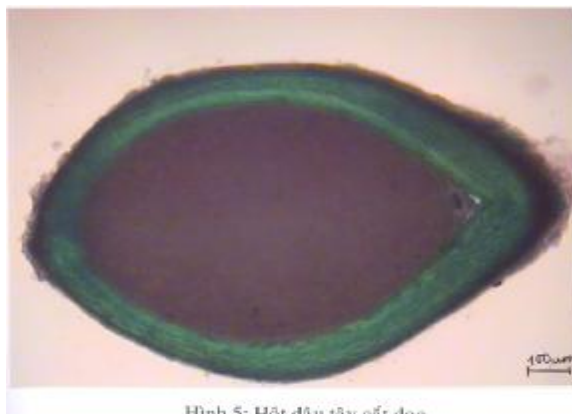
Bảng 4. Tỷ lệ hạt nảy mầm của hạt Dâu tây khi xử lý với côn 70o trong 1 và 5 phút

Thời gian xử lý	Thời gian nảy mầm	Côn 70°	
		1 phút	5 phút
10 ngày		3,54 ± 0,73	1,83 ± 0,13
30 ngày		31,98 ± 6,21	7,67 ± 0,71

Thường thì sau 4 đến 5 ngày, hạt nứt vỏ. Rễ mầm sẽ lú ra sau 9 đến 10 ngày. Từ 10 đến 15 ngày, tử diệp được đưa lên cao. Từ 15 – 20 ngày cây con cao khoảng 1 đến 1,5cm sau 15 đến 20 ngày. Ở ngày thứ 20 đến ngày thứ 30 cây con cao khoảng 2 đến 2,5cm và xuất hiện lá thực (hình).



Hình 9: Hình thái của cây con



Hình 5: Hạt dâu tây cắt dọc

3.THẢO LUẬN

Quan sát hạt Đậu tây cắt dọc nhận thấy vỏ hạt có lớp cutin dày (hình), đây có thể là nguyên nhân làm cho hạt ít thấm nước và oxy dẫn đến hạt chậm nảy mầm. Điều này cũng có thêm sự kiện cho rằng chính lớp vỏ dày của hạt đậu tây đã cản trở quá trình nảy mầm của hạt (El Hamdounie và cs 2001, Hongxiang và cs 2001).

Ở hạt Đậu tây mới thu hoạch, tỷ lệ sống của phôi chỉ đạt 80%, điều này có thể do phôi chưa trưởng thành hay hạt có chứa chất cản. Theo El Hamdounie và cs 2001 khi nghiên cứu một số giống trồng đậu tây khác cũng ghi nhận tương tự và điều này được giải thích do khi đậu tây chín trong hạt có tích lũy chất ức chế tăng trưởng. Hoặc cũng có thể do Đậu tây là quả kép (achene) nên có hạt được thụ tinh trước, hạt được thụ tinh sau nên phôi chưa trưởng thành, thậm chí không được thụ tinh (hạt lép).

Thành phần các chất dự trữ trong hạt Đậu tây được xác định có lipid ngay cả trong vùng vỏ. Các hạt có chứa lipid rất mau chết do lipid dễ bị hư (Harada 1997, Raghavan 2000). Có thể chính điều này làm cho tính sống của phôi Đậu tây giảm dần theo thời gian bảo quản (bảng 1). Còn là một dung môi hữu cơ có thể làm tan lipid. Vỏ hạt Đậu tây cũng tích trữ lipid, vì thế khi xử lý hạt Đậu tây với cồn sẽ làm tăng khả năng nảy mầm của hạt. Tuy nhiên, trong thực nghiệm khi xử lý hạt Đậu tây với cồn trong 1 phút thì tỷ lệ nảy mầm của hạt là 3,54%, sau 5 phút tỷ lệ nảy mầm của hạt chỉ có 1,83% (bảng 4), phải chăng do cồn đã ngấm nhanh vào phôi và gây ảnh hưởng đến phôi khi ngâm hạt trong một thời gian dài?

Đối với những hạt có vỏ dày sẽ ngăn cản sự khuếch tán của nước và oxy vào bên trong hạt, lúc đó phôi không được cung cấp đủ nước cho các hoạt động biến dưỡng dẫn đến cản sự nảy mầm (Harada 1997, Raghavan 2000). Nhiều xử lý cơ học bằng phương pháp rạch vỏ, bóc vỏ hay đập nứt hạt sẽ cho nước thấm vào bên trong, giúp các tế bào trong phôi trương nước và kích thích hạt nảy mầm. Điều này cũng đúng với trường hợp hạt Đậu tây (bảng 3). Khi xử lý hạt Đậu tây với dung dịch acid sulfuric 10% thì hạt không nảy mầm, tỷ lệ sống của phôi không thay đổi theo thời gian xử lý. Trong cùng một thời gian xử lý, nồng độ acid sulfuric càng cao thì sự ảnh hưởng đến vỏ hạt càng lớn. Ở nồng độ đậm đặc, tỷ lệ nảy mầm của hạt đạt 85% sau 10 phút xử lý. Điều này chứng tỏ có thể acid sulfuric có tác dụng làm cháy (mềm) lớp cutin bên ngoài tạo điều kiện giúp hạt dễ thấm nước hơn và hoạt hóa biến dưỡng các thành phần bên trong giúp hạt nảy mầm (El Hamdounie và cs 2001, Hongxiang và cs 2001).

Khi xử lý hạt Đậu tây với dung dịch acid nitric ở các nồng độ qua thời gian xử lý khác nhau nhưng hạt vẫn không nảy mầm dù cơ chế chưa được rõ. Acid nitric dường như có tác động trên tính sống của phôi (bảng 2). Có thể dung dịch acid nitric đã làm xáo trộn biến dưỡng dẫn đến sức sống của phôi bị giảm dù cơ chế chưa được biết rõ.

4.KẾT LUẬN

Qua các thí nghiệm trên có thể kết luận:

- Thành phần dự trữ trong hạt Đậu tây bao gồm protein, lipid.
- Vỏ hạt Đậu tây có lớp cutin dày, có thể là nguyên nhân làm cho hạt chậm nảy mầm.
- Cắt vỏ của hạt Đậu tây cho tỷ lệ nảy mầm (khoảng 80%) cao hơn so với hạt không cắt vỏ (khoảng 1,2%).
- Acid nitric không kích thích nảy mầm ở hạt Đậu tây.
- Xử lý acid sulfuric và cồn kích thích nảy mầm. Với dung dịch acid sulfuric đậm đặc (98%) xử lý trong 10 phút cho tỷ lệ nảy mầm cao (85%).

STUDY ON THE GERMINATION OF STRAWBERRY SEED (*FRAGARIA VESCA* L.)

Tran Thi Thanh Van, Nguyen Du Sanh
University of Natural Sciences, VNU-HCM

ABSTRACT: *Strawberry seed (Fragaria vesca L.) germinated when the seed coat was cut or burned with concentrate sulfuric acid. When strawberry seeds were soaked with the concentrate sulfuric acid solution in 1 minute to 10 minutes, the germinative ratio increased from 14% to 85%. The germinative ratio lightly increased (3%) when the seed were soaking with 70% ethanol in 1 minute. They did not germinate with nitric acid solution and the embryo life was reduced depending the time and the concentration of treatment solution. The strawberry seed had protein and lipid as a storage and a thick coat.*

Keywords: *Fragaria vesca, germination, strawberry seed, thick coat*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. El Hamdounie E.M, Lamarti A., Badoc A., *In vitro Germination of the achenes of Strawberry (Fragaria x ananasa Duch.CVS 'Chandler' and 'Tudla'). Bull. Soc. Phar. Bordeaux* 140 p. 31-42 (2001)
- [2]. Harada J, *Seed Maturation and Control of Dormancy*. In Cellular and Molecular Biology of Plant Seed Development. Edited by Brian A. Larkins and Indra K. Vasil, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 545- 592 (1997).
- [3]. Hongxiang MA, Guihong YU, Weimin WU, Xiulan CHEN, *Effects of Achene in vitro Culture on Seed Germination Percentage of Strawberry*. Jiangsu Journal of Arg. Scie. Vol 17 (2) p. 87-90 (2001)
- [4]. Raghavan V, *Developmental Biology of Flowering Plant*. Springer- Verlag, New York Inc. 292-305 (2000)