

BƯỚC ĐẦU NHÂN GIỐNG CÂY DÂU TÂY NEW ZEALAND *Fragaria ananasa* L. TỪ HẠT

NGUYỄN TRẦN ĐÔNG PHƯƠNG

Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh – nguyentrandongphuong@gmail.com

BÙI THỊ THU HẰNG

Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh – buithithuhang94@gmail.com

(Ngày nhận: 09/08/2016; Ngày nhận lại: 09/09/2016; Ngày duyệt đăng: 06/12/2016)

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhân chồi *in vitro* cây Dâu tây từ hạt trong các môi trường MS có bổ sung một trong các loại cytokinin ở nồng độ khác nhau như BA (0,2-1,2 mg/L), 2-ip (0,2-1,2 mg/L) hoặc kinetin (0,2-1,2 mg/L). Sau khi tạo ra, chồi được chuyển sang môi trường tạo rễ MS ½ đa lượng có bổ sung IAA 0,5 mg/L và than hoạt tính 2,0 g/L *in vitro* hoặc phân bón Kelp (0-1,5 %) *ex vitro*. Kết quả nghiên cứu bước đầu này cho thấy môi trường thích hợp tạo cụm chồi từ cây con là môi trường MS bổ sung BA 0,6 mg/L; tạo rễ từ chồi ở điều kiện *in vitro* bằng MS bổ sung than hoạt tính 2,0 g/L và IAA 0,5 mg/L hoặc tạo rễ từ chồi ở điều kiện *ex vitro* bằng phân bón Kelp 0,5 %.

Từ khóa: Dâu tây New Zealand; *in vitro*; cytokinin; phân bón Kelp; *ex vitro*.

Initial micropropagation strawberry *Fragaria annanina* L. from seed

ABSTRACT

In this study, we propagate shoots of *Fragaria ananassa* L. *in vitro* from seed by some kinds of cytokinin including BA (0.2-1.2 mg/L) or 2-ip (0.2-1.2 mg/L) or kinetin (0.2-1.2 mg/L). After 4 weeks, shoots are changed into root medium as MS ½ with IAA 0.5 mg/L and activated carbon 2.0 g/L *in vitro* or Kelp fertilizer (0-1.5 %) *ex vitro*. The maximum number of shoots is obtained in the basal MS supplemented with BA 0.6 mg/L. In *in vitro* culture, formation of roots are grown on MS ½ with IAA 0.5 mg/L, activated carbon 2.0 g/L. In *ex vitro* culture, formation of roots are the best on Kelp fertilizer 0,5%.

Keywords: *Fragaria ananassa* L.; *in vitro*; cytokinin; Kelp fertilizer; *ex vitro*.

1. Mở đầu

Cây Dâu tây *Fragaria ananassa* L. thuộc họ hoa hồng Rosaceae được trồng nhiều tại Đà Lạt và trở thành loại cây ăn quả đặc sản của vùng này. Quả Dâu tây được xếp vào loại thực phẩm tốt cho sức khỏe, chứa nhiều vitamin C, nguồn chất xơ, iod tốt cho cơ thể, có lợi cho hệ tiêu hóa, giúp giảm cholesterol và chứa các hợp chất chống oxy hóa làm chậm quá trình lão hóa, giữ da mịn màng và tránh những nếp nhăn. Hàm lượng vitamin C trong quả Dâu tây cao hơn cả cam và dưa hấu^[1]. Quả Dâu tây cũng là nguồn cung cấp chính acid ellagic và các flavonoid có tác

dụng giảm nguy cơ gây ung thư. So với nhiều loại rau và hoa đang được trồng tại Đà Lạt, Dâu tây mang lại hiệu quả kinh tế cao và ổn định. Bên cạnh đó, việc trồng Dâu tây còn gắn liền với công nghệ chế biến, góp phần giải quyết công ăn việc làm cho người lao động tại địa phương. Dâu tây thường được nhân giống bằng cách tách thân bò, cho hệ số nhân giống không cao và dễ nhiễm một số bệnh từ cây mẹ^[2]. Chính vì vậy, việc nhân giống cây Dâu tây *in vitro* đã được thực hiện qua một số công bố của Dương Tấn Nhựt và cộng sự (2004) như tạo chồi cây Dâu tây từ mô sẹo trên môi trường có bổ sung BA 0,2 mg/L và

tạo rễ từ chồi trên môi trường có bổ sung vitamin B6^[2]. Hoặc tác giả Phạm Xuân Tùng và Phạm Thị Lan (2009) đã nghiên cứu hiệu quả khử trùng của CH trên chồi đỉnh của Dâu tây và tìm ra nồng độ BA thích hợp cho sự tạo chồi^[3]. Ngoài ra, Hasan và cộng sự (2010) còn nghiên cứu kết hợp cytokinin (BA) và auxin (NAA) ở các nồng độ khác nhau nhằm kích thích sự tạo chồi và hai loại auxin khác nhau (IBA và IAA) trong sự tạo rễ cây Dâu tây *in vitro*^[4]. Các nghiên cứu đều cho thấy nồng độ và bản chất chất điều hòa tăng trưởng thực vật có ảnh hưởng rất lớn đến sự tạo chồi và tạo rễ cây Dâu tây trong ống nghiệm.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tìm hiểu ảnh hưởng của các cytokinin khác nhau như BA, kinetin, 2-ip ở các nồng độ khác nhau lên sự tạo chồi *in vitro* Dâu tây. Bên cạnh đó, phân bón Kelp chứa các nguyên tố vi lượng thích hợp cho sự tạo rễ *ex vitro* cũng được tìm hiểu nhằm bước đầu xây dựng quy trình nhân giống cây Dâu tây *Fragaria ananasa* L. để tạo ra số lượng lớn cây con sạch bệnh.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Hạt được tách từ trái Dâu tây New Zealand được khử trùng bằng Javel 10 % trong 15 phút và cấy vào môi trường MS.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Sự tạo chồi *in vitro*

Sau 4 tuần tuổi, các cây con Dâu tây *in vitro* được chuyển sang các môi trường: MS

bổ sung BA (0,2-1,2 mg/L), MS bổ sung 2-ip (0,2-1,2 mg/L) hoặc MS bổ sung kinetin (0,2-1,2 mg/L) để tạo chồi.

Chỉ tiêu theo dõi: số chồi/mẫu cấy, chiều cao chồi.

2.2.2. Sự tạo rễ

In vitro: Các chồi sau khi tạo ra được chuyển sang môi trường MS ½ bổ sung than hoạt tính 2 mg/L và IAA 0,5 mg/L để tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh.

Ex vitro: Các chồi được chuyển ra ống nghiệm có chứa phân bón Kelp (Behn Meyer) (0-1,5 %) để tạo cây con hoàn chỉnh.

Chỉ tiêu theo dõi: số rễ/chồi, chiều dài rễ.

2.2.3. Xử lý thống kê

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả thí nghiệm được xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel và Statgraphics Plus 3.0.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Sự tạo chồi Dâu tây *in vitro*

3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ BA lên sự tạo chồi từ cây con *in vitro*

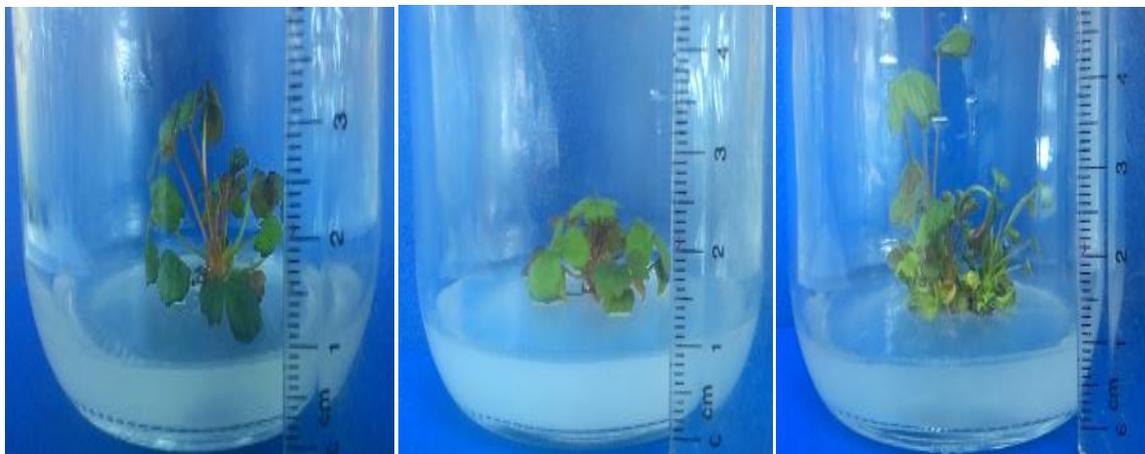
Sau bốn tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA ở các nồng độ khác nhau, số lượng chồi được tạo ra ở nồng độ BA từ 0-0,4 mg/L không có sự khác biệt có ý nghĩa. Ở môi trường bổ sung BA 0,6 mg/L, số lượng chồi nhiều nhất (6,75 chồi/mẫu). Ở các nghiệm thức BA 0,8-1,2 mg/L, số lượng chồi giảm, chồi nhỏ và chậm phát triển. Chiều cao của chồi không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức (Bảng 1, Hình 1).

Bảng 1

Ảnh hưởng của nồng độ BA lên sự tạo chồi Dâu tây *in vitro*

Nồng độ BA (mg/L)	Số chồi/ mẫu	Chiều cao chồi (mm)
0	4,50 ^b	18,00 ^a
0,2	4,75 ^b	14,00 ^a
0,4	5,50 ^{ab}	16,75 ^a
0,6	6,75^a	27,75^a
0,8	5,25 ^{ab}	22,25 ^a
1,0	4,25 ^b	16,00 ^a
1,2	4,75 ^b	17,50 ^a

(Trong cùng một cột, các số có cùng mẫu tự có cùng kí tự thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 0,05 qua phép thử Duncan)



Hình 1. Chồi Dâu Tây *in vitro* sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường MS
A: ĐỐI CHỨNG B: BA 0,4 mg/L C: BA 0,6 mg/L

3.1.2. Ảnh hưởng của nồng độ 2-ip lên sự tạo chồi *in vitro* từ cây con

Sau 4 tuần nuôi cấy, số chồi Dâu tây *in vitro* tạo ra nhiều chồi nhất ở nồng độ 2-ip 1,0

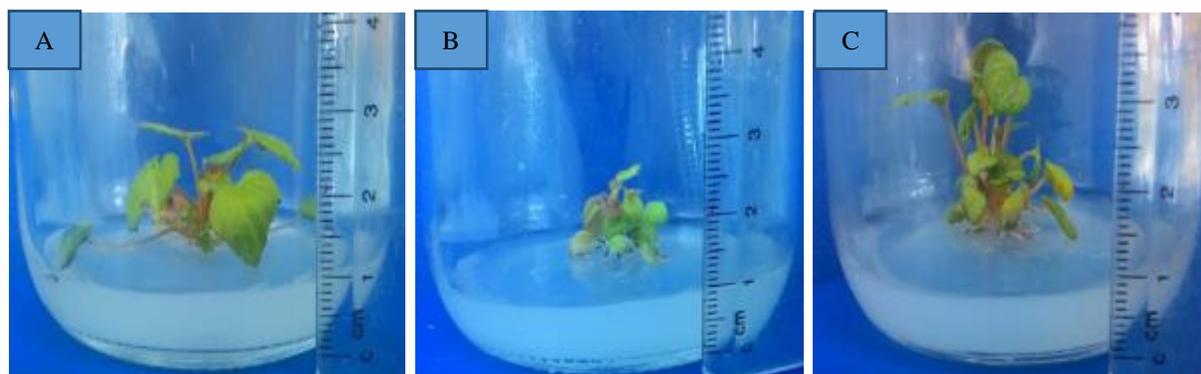
mg/L (5 chồi/mẫu) và có sự khác biệt hoàn toàn với các nghiệm thức còn lại. Các nghiệm thức không có sự khác biệt về chiều cao chồi (Bảng 2, Hình 2).

Bảng 2

Ảnh hưởng của nồng độ 2-ip lên sự tạo chồi Dâu tây *in vitro*

Nồng độ 2-ip (mg/L)	Số chồi/ mẫu	Chiều cao (mm)
0	3,50 ^b	21,75 ^a
0,2	3,75 ^b	13,25 ^a
0,4	4,00 ^{ab}	17,25 ^a
0,6	3,75 ^b	15,75 ^a
0,8	3,50 ^b	15,25 ^a
1,0	5,00^a	19,50^a
1,2	4,00 ^{ab}	15,75 ^a

(Trong cùng một cột, các số có cùng mẫu tự có cùng kí tự thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 0,05 qua phép thử Duncan)



Hình 2. Chồi *in vitro* Dâu tây sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 2-ip
A: ĐỐI CHỨNG B: 2-ip 0,4 mg/L C: 2-ip 1,0 mg/L

3.1.3. Ảnh hưởng của nồng độ kinetin lên sự tạo chồi *in vitro* từ cây con

Kết quả thí nghiệm cho thấy, ở nồng độ kinetin 1 mg/L cho số chồi tốt nhất (5

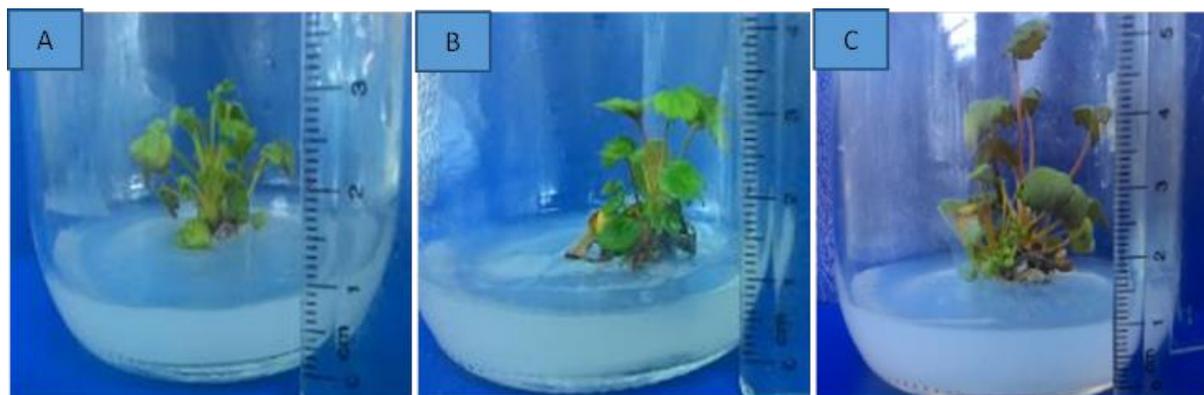
chồi/mẫu), chồi khỏe, xanh tươi. Chiều cao cây không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức (Bảng 3, Hình 3).

Bảng 3

Ảnh hưởng của nồng độ kinetin lên sự tạo chồi Dâu tây *in vitro*

Nồng độ kinetin (mg/L)	Số chồi/ mẫu	Chiều cao (mm)
0	4,00 ^{ab}	21,50 ^a
0,2	3,50 ^b	24,25 ^a
0,4	3,25 ^b	20,00 ^a
0,6	3,50 ^b	18,50 ^a
0,8	3,25 ^b	18,00 ^a
1,0	5,00^a	20,50^a
1,2	3,75 ^b	27,50 ^a

(Trong cùng một cột, các số có cùng mẫu tự có cùng kí tự thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 0,05 qua phép thử Duncan)



Hình 3. Chồi *in vitro* cây Dâu tây sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung kinetin

A: Đối chứng

B: kinetin 0,2 mg/L

C: kinetin 1,0 mg/L

3.2. Sự tạo rễ cây Dâu tây

3.2.1. Ảnh hưởng của IAA lên sự tạo rễ *in vitro* từ cây con

Các chồi *in vitro* được tạo ra từ các thí nghiệm trên được cấy vào môi trường MS có bổ sung IAA 0,5 mg/L tạo rễ. Sau 2 tuần, cây

con *in vitro* có bộ rễ ổn định sẽ được ra vườn ươm để cây tập thích ứng với cường độ ánh sáng, nhiệt môi trường tự nhiên. Sau 20 ngày trở đi, cây có thể được đưa trực tiếp trồng ra vườn (Hình 4).



Hình 4. Cây Dâu tây *in vitro* được đưa ra vườn ươm

3.2.2. Ảnh hưởng của Kelp lên sự tạo rễ *ex vitro* từ chồi con *in vitro*

Sau 5 ngày nuôi cấy, nghiệm thức bổ sung Kelp 0,5 % có số rễ được tạo ra cao nhất với 4 rễ/mẫu và chiều dài rễ dài nhất với 8 mm/rễ, có sự khác biệt hoàn toàn so

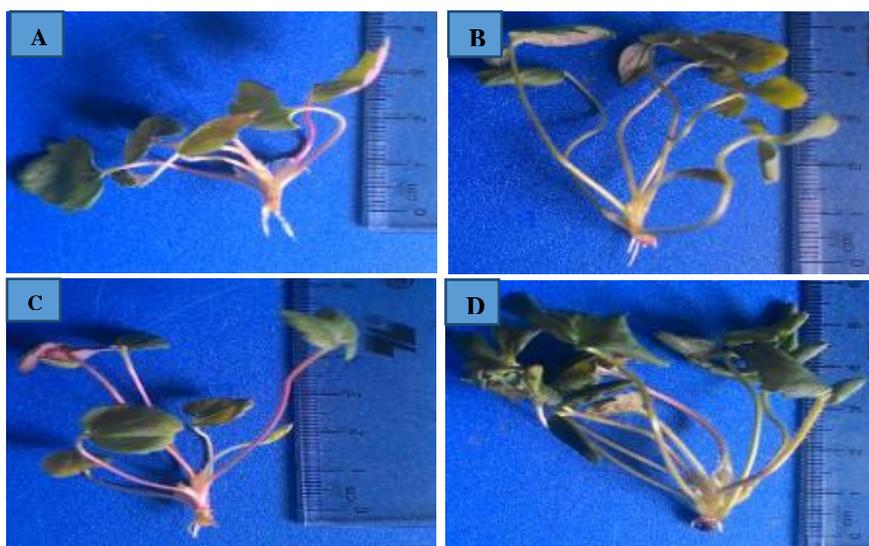
với các nghiệm thức khác. Tuy nhiên, chiều cao chồi ở các nghiệm thức thí nghiệm lại không có sự khác biệt. Khi nồng độ Kelp tăng lên 1,5 %, số rễ và chiều dài rễ giảm mạnh so với các nghiệm thức còn lại (Bảng 4, Hình 5).

Bảng 4

Ảnh hưởng nồng độ Kelp lên sự tạo rễ *ex vitro* từ chồi Dâu Tây *in vitro*

Nồng độ Kelp (%)	Số lượng rễ/ mẫu	Chiều dài rễ (mm)	Chiều cao chồi (mm)
0	3,00 ^b	6,00 ^b	49,75 ^a
0,5	4,00^a	8,00^a	46,00^a
1,0	2,00 ^c	7,25 ^{bc}	39,75 ^a
1,5	1,00 ^d	3,25 ^c	43,00 ^a

(Trong cùng một cột, các số có cùng mẫu tự có cùng kí tự thì không khác biệt ở mức ý nghĩa 0,05 qua phép thử Duncan)



Hình 5. Cây Dâu Tây *in vitro* ở các nồng độ Kelp khác nhau

A: Đối chứng

B: Kelp 0,5%

C: Kelp 1,0%

D: Kelp 1,5%

4. Thảo luận

Nghiên cứu này cho thấy các loại cytokinin khác nhau ở nồng độ khác nhau có ảnh hưởng khác nhau lên sự tạo chồi *in vitro* Dâu tây. Ở nồng độ 0,6 mg/L, BA kích thích tốt sự tạo chồi của cây Dâu tây. Ở nồng độ thấp hơn hoặc cao hơn đều không cho kết quả kích thích sự tạo chồi tốt hơn. Kết quả nghiên cứu của Phạm Xuân Tùng và Phạm Thị Lan, 2009^[3] trên giống Dâu tây Angelique (Mỹ đá) cho thấy nồng độ BA 0,4 – 0,6 đều kích thích tốt sự tạo chồi. Như vậy, nồng độ BA thích hợp cho sự tạo chồi Dâu tây New Zealand có biên độ nồng độ hẹp hơn Dâu tây Angelique.

Kinetin (1,0 mg/L) tác động đến sự tạo chồi *in vitro* cây Dâu tây New Zealand ở nồng độ cao hơn BA (0,6 mg/L). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Popescu (2016)^[5], kinetin có tác động kích thích tạo chồi ở nồng độ từ 0,5 đến 1,25 mg/L trên ba giống Dâu tây Premial, Elsanta và Senga Sengana.

2-ip (1,0 mg/L) cũng có tác động đến sự tạo chồi *in vitro* cây Dâu tây. Nồng độ 2-ip

thấp hoặc cao hơn nồng độ tối ưu đều ảnh hưởng đến số lượng chồi Dâu tây *in vitro*.

Phân bón Kelp có chứa các nguyên tố vi lượng thích hợp cho sự tạo rễ ở nồng độ 0,5%. Khi nồng độ phân bón quá cao, số lượng và chiều dài rễ giảm. Điều này, có lẽ do nồng độ các vi lượng cần thiết cho sự phát triển rễ vượt ngưỡng chịu đựng của cây.

5. Kết luận – Đề nghị

Dâu tây New Zealand tạo cụm chồi tốt nhất từ hạt trên môi trường MS có bổ sung BA 0,6 mg/L với 6,75 chồi/mẫu cấy. Chồi Dâu tây *in vitro* tạo rễ tốt nhất trên môi trường MS ½ có bổ sung IAA 0,5 mg/L và than hoạt tính 2 mg/L trong điều kiện *in vitro* hoặc trong phân bón Kelp 0,5 % ở điều kiện *ex vitro*.

Nếu có điều kiện, chúng tôi sẽ tiếp tục nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống cây Dâu tây New Zealand nhằm tối ưu hóa quá trình ra ngôi như: nhiệt độ, ánh sáng, hàm lượng và thành phần phân bón thích hợp cho cây con ■

Tài liệu tham khảo

- Thái Thị Thúy Liên, Bùi Thị Thùy Trang, Đồng Thị Anh Đào (2008). Nghiên cứu sản xuất mứt từ quả Dâu tây Đà Lạt. *Tạp chí Phát triển khoa học và công nghệ*, 11(5).
- Dương Tấn Nhựt, Lê Thị Thanh Xuân, Nguyễn Hồng Vũ, Nguyễn Văn Bình, Nguyễn Trí Minh, Nguyễn Thị Thanh Hằng (2004). Cải tiến hệ thống nhân giống cây Dâu Tây bằng nuôi cấy trong túi nylon. *Tạp Chí Công nghệ Sinh học*, 2(2), 227-234.
- Phạm Xuân Tùng, Phạm Thị Lan (2009). Ảnh hưởng của biện pháp xử lý khử trùng mẫu và các yếu tố môi trường trong nhân nhanh giống Dâu Tây *in vitro*. *Tạp Chí Công nghệ Sinh học*, 7(3), 112-117.
- Hasan M.N., Nigar S., Rabbi M.A.K., Mizan S.B., Rahman M.S. (2010). Micropropagation of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Int. J. Sustain. Crop Prod.* 5(4), 36-41.
- Popescu G.C., Popescu M. (2016). The use of kinetin for the efficient *in vitro* initiation of some cultivars of strawberry. *Current Trends in Natural Sciences*, 5(9), 100-105.