

KHẢ NĂNG HÌNH THÀNH MÔ SẸO VÀ TÁI SINH CÂY DÂU TÂY TỪ LÁ

CALLUS INDUCEMENT AND STRAWBERRY PLANT REGENERATION FROM LEAVES

Lã Văn Hiền, Vũ Mạnh Tuyên, Bùi Đình Lãm

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên (TUAF); lambk18052005@gmail.com

Tóm tắt - Hạt dâu tây (*Fragaria vesca* L.) được xử lý 4°C trong 5 ngày và nuôi nảy mầm trên môi trường MS trong 6 tuần, lá dâu tây được dùng làm vật liệu để cảm ứng mô sẹo ở điều kiện tối 10 ngày và sáng 20 ngày trên môi trường MS bổ sung 0,2 mg/l (2,4-D) và 1,0 mg/l (TDZ), sau 3 – 4 tuần mô sẹo xuất hiện với tỷ lệ 85,3%. Mô sẹo tái sinh và nhân nhanh trên môi trường MS bổ sung BAP 0,2 mg/l và TDZ 1,0 mg/l. Khả năng hình thành chồi tốt 91,7% và 60,6% ở nồng độ BAP 0,2 mg/l kết hợp TDZ 1,0 mg/l và Kinetin 0,2 mg/l kết hợp TDZ 1,0 mg/l. Hệ số nhân chồi thu được 10,2 chồi và 4,38 chồi ở hai công thức trên. Dâu tây có khả năng ra rễ cao trên môi trường MS có IBA 0,5 mg/l, tỷ lệ ra rễ trung bình đạt 92,8%, trung bình 3 – 5 rễ/cây, chiều dài rễ dao động 0,8 – 3,2 cm. Kết quả cho thấy nhân giống dâu tây thông qua mô sẹo có khả năng tái sinh và hệ số nhân giống cao.

Abstract - Strawberry seeds (*Fragaria vesca* L.) are processed at 4°C for 5 days and are germinated on MS medium for 6 weeks. In this study, the strawberry leaves tissue is used to induce callus in the dark for 10 days and 20 days light on MS medium supplemented with 0.2 mg/l (2,4-D) and 1.0 mg/l (TDZ), after 3 – 4 weeks of callus appearance with 85.3 percent. The callus regenerates on MS medium supplemented with BAP 0.2 mg/l and TDZ 1.0 mg/l. The callus regenerates buds well with 91.7 percent and 60.6 percent at the concentrations of BAP 0.2 mg/l combined with TDZ 1.0 mg/l and Kinetin 0.2 mg/l combined with TDZ 1.0 mg/l, respectively. Shoots multiply with 10.2 buds and 4.38 in the two formulations above, after 10 weeks. Strawberries have high roots on MS medium supplemented with IBA 0.5 mg/l. The average of roots is 92.8 percent, averaging 3- 5 roots/plant. The length of roots is from 0.8 to 3.2 cm. The results indicate that breeding strawberries through callus results in high regeneration and propagation coefficient.

Từ khóa - Dâu tây, *in vitro*, mô sẹo, tái sinh, TDZ.

Key words - Strawberry, *in vitro*, callus, regeneration, TDZ.

1. Đặt vấn đề

Dâu tây có nguồn gốc từ châu Mỹ là một trong những loại quả được ưa chuộng trên thế giới. Hiện nay, nguồn dâu tây sản xuất ở Việt Nam chủ yếu nhập khẩu từ Mỹ, Nhật Bản và một số giống được nhập nội từ Israel. Xuất phát từ thực tế cho thấy rằng phương pháp nhân giống truyền thống bằng thân bò và tách cây con từ thân chính chưa thực sự mang lại hiệu quả, do hệ số nhân giống không cao và có thể lây nhiễm một số bệnh từ cây mẹ (Dương Tấn Nhựt *et al.*, 2004). Hiện nay, nuôi cấy đỉnh sinh trưởng tạo giống sạch bệnh là phương pháp có hiệu quả tốt trong nhân giống *in vitro* dâu tây đã được nghiên cứu. Tuy nhiên, việc sử dụng đỉnh sinh trưởng để nuôi cấy có ảnh hưởng đến sức sống cây mẹ và số lượng mẫu để phục vụ nuôi cấy không có nhiều. Vì vậy, việc tối ưu nguồn vật liệu cho nuôi cấy là một vấn đề quan trọng trong nhân giống vô tính. Trước đây, nhiều nghiên cứu nhân giống dâu tây cho thấy tái sinh cây từ mô sẹo cảm ứng từ lá cho hiệu quả cao (Nehra *et al.*, 1990; Yildirim và Turker, 2014; Zakaria *et al.*, 2014). Hình thức tái sinh cây dâu tây tập trung chủ yếu từ những vật liệu khác nhau như lá (Nehra *et al.*, 1990; Husaini và Abidin, 2007), cuống lá (Debnath, 2005, 2006), nụ hoa (Lis, 1993), thân (Graham, 1995), lá kèm, rễ (Passey *et al.*, 2003)...và một số bộ phận khác đã được báo cáo. Tuy nhiên ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng như 2,4-D, BAP và TDZ đến sự hình thành mô sẹo và hệ số nhân nhanh trên cây dâu tây còn chưa được nghiên cứu rõ ràng. Để hiểu được vai trò của 2,4-D, BAP và TDZ chúng tôi tiến hành khảo sát trong giai đoạn hình thành mô sẹo và nhân nhanh chồi sau tái sinh. Vì vậy, nội dung của bài báo này trình bày kết quả của việc ứng dụng 2,4-D, BAP và TDZ trong quá trình nhân nhanh giống dâu tây.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu là giống dâu tây (*Fragaria vesca* L.) được cung cấp từ Viện Khoa học sự sống, trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên. Lá cây dâu tây 8 tuần tuổi được sử dụng làm vật liệu để nuôi cấy tạo mô sẹo.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nuôi cấy tạo vật liệu

Khử trùng hạt bằng cồn 70% trong 30 giây và NaClO 0,1% trong 3 phút, tráng sạch bằng nước cất vô trùng. Tiến hành gieo hạt trên môi trường MS sau 8 tuần lấy lá để tạo mô sẹo. Lá cây dâu tây được lựa chọn làm mẫu nuôi cấy. Mẫu lá được cắt thành từng mảnh nhỏ có kích thước khoảng 3 x 3 mm. Phương pháp tạo mô sẹo và tái sinh cây dâu tây từ mảnh lá được tiến hành dựa trên nghiên cứu của Nehra *et al.* (1990).

Cảm ứng mô sẹo từ mảnh lá

Tạo mô sẹo được bố trí theo thí nghiệm sau:

Ảnh hưởng của 2,4-D kết hợp TDZ đến khả năng tạo mô sẹo. Thí nghiệm gồm 6 công thức bao gồm: CT1: 0,1 mg/l (2,4-D) + 0,5 mg/l (TDZ); CT2: 0,2 mg/l (2,4-D) + 0,5 mg/l (TDZ); CT3: 0,5 mg/l (2,4-D) + 0,5 mg/l (TDZ); CT4: 0,1 mg/l (2,4-D) + 1,0 mg/l (TDZ); CT5: 0,2 mg/l (2,4-D) + 1,0 mg/l (TDZ); CT6: 0,5 mg/l (2,4-D) + 1,0 mg/l (TDZ).

Ảnh hưởng của 2,4-D kết hợp TDZ đến khả năng tạo mô sẹo. Thí nghiệm gồm 6 công thức bao gồm: CT1: 0,1 mg/l (2,4-D) + 0,5 mg/l (TDZ); CT2: 0,2 mg/l (2,4-D) + 0,5 mg/l (TDZ); CT3: 0,5 mg/l (2,4-D) + 0,5 mg/l (TDZ); CT4: 0,1 mg/l (2,4-D) + 1,0 mg/l (TDZ); CT5: 0,2 mg/l (2,4-D) + 1,0 mg/l (TDZ); CT6: 0,5 mg/l (2,4-D) + 1,0 mg/l (TDZ).

Tái sinh chồi và tạo cây hoàn chỉnh

Sau khi mô sẹo hình thành với độ tuổi phù hợp được chuyển sang môi trường tái sinh chồi có bổ sung BAP và TDZ theo công thức thí nghiệm sau:

Ảnh hưởng của BAP và TDZ đến khả năng tái sinh và nhân chồi: Thí nghiệm tái sinh chồi bổ trí BAP nồng độ 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 và 1,0 mg/l. Thí nghiệm nhân nhanh chồi bao gồm 7 công thức sau CT1: 0,2 mg/l (BAP) + 0,0 mg/l (TDZ); CT2: 0,2 mg/l (BAP) + 0,1 mg/l (TDZ); CT3: 0,2 mg/l (BAP) + 0,3 mg/l (TDZ); CT4: 0,2 mg/l (BAP) + 0,5 mg/l (TDZ); CT5: 0,2 mg/l (BAP) + 1,0 mg/l (TDZ); CT6: 0,5 mg/l (BAP) + 1,0 mg/l (TDZ); CT7: 1,0 mg/l (BAP) + 0,5 mg/l (TDZ).

Ảnh hưởng của Kinetin và TDZ đến khả năng tái sinh và nhân chồi: Thí nghiệm tái sinh chồi bổ trí kinetin nồng độ 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 và 1,0 mg/l. Thí nghiệm nhân nhanh chồi bao gồm 6 công thức sau CT1: 0,0 mg/l (kinetin) + 1,0 mg/l (TDZ); CT2: 0,1 mg/l (kinetin) + 1,0 mg/l (TDZ); CT3: 0,2 mg/l (kinetin) + 1,0 mg/l (TDZ); CT4: 0,3 mg/l (Kinetin) + 1,0 mg/l (TDZ); CT5: 0,5 mg/l (kinetin) + 1,0 mg/l (TDZ); CT6: 1,0 mg/l (kinetin) + 1,0 mg/l (TDZ).

Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ: Thí nghiệm gồm 6 công thức, IBA có nồng độ 0,0 mg/l; 0,1 mg/l; 0,3 mg/l; 0,5 mg/l; 0,7 mg/l và 1,0 mg/l.

Môi trường nền sử dụng cho các thí nghiệm là: MS + inositol 100 mg/l + agar 5,4 g/l + 30g saccharose/l. pH = 5,6 – 5,8. Cây con có rễ khỏe được trồng trên giá thể đất: mùn cưa hun (1:3) trong điều kiện nhà lưới.

Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả thí nghiệm được xử lý thống kê bằng phần mềm Excell 2003 và IRRISTAT 5.0

3. Kết quả và thảo luận

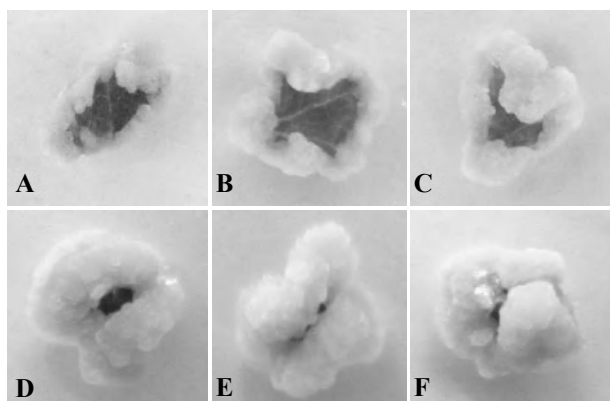
3.1. Ảnh hưởng của 2,4-D và TDZ đến tạo mô sẹo

Kết quả bảng 1 cho thấy sự kết hợp giữa 2,4-D và TDZ cho kết quả tốt ở công thức 5 với tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo đạt 85,3%. Tiếp đến là công thức 4 với 72,5% và công thức 3 có tỷ lệ 61,6% mô sẹo hình thành. Ở công thức 1 và 2 khi giảm tỷ lệ TDZ xuống 0,5 mg/l cho kết quả tạo mô sẹo thấp hơn. Tuy nhiên, nồng độ TDZ ở công thức 3, 4 và 5 là 1,0 mg/l và ở công thức 3 có nồng độ 2,4-D thấp hơn các công thức khác cho thấy nồng độ 2,4-D có ảnh hưởng đến khả năng tạo mô sẹo từ lá dâu tây.

Bảng 1. Ảnh hưởng của 2,4-D và TDZ đến khả năng tạo mô sẹo của lá dâu tây

CT	TDZ (mg/l)	2,4D (mg/l)	Tỷ lệ mẫu lá tạo mô sẹo (%)	Hình thái mô sẹo
1	0,5	0,1	56,8 ^d	Trắng, xốp
2	0,5	0,2	57,6 ^d	Trắng, xốp
3	0,5	0,5	61,0 ^c	Trắng, xốp
4	1,0	0,1	72,5 ^b	Trắng, cứng
5	1,0	0,2	85,3 ^a	Trắng, cứng
6	1,0	0,5	61,6 ^c	Trắng, cứng
CV%			4,3	
LSD ₀₅			1,7	

CT: Công thức. Kết quả phân hạng so sánh Duncan: a, b, c, d có mức ý nghĩa $P \leq 0.05$. Mỗi công thức thí nghiệm lặp lại 3 lần



Hình 1. Khả năng phát sinh mô sẹo trên môi trường MS bổ sung 2,4-D và TDZ sau 4 tuần nuôi cấy A. 0,1 mg/l (2,4-D) + 0,5 mg/l (TDZ); B. 0,2 mg/l (2,4-D) + 0,5 mg/l (TDZ); C. 0,5 mg/l (2,4-D) + 0,5 mg/l (TDZ); D. 0,1 mg/l (2,4-D) + 1,0 mg/l (TDZ); E. 0,2 mg/l (2,4-D) + 1,0 mg/l (TDZ); F. 0,5 mg/l (2,4-D) + 1,0 mg/l (TDZ). Quan sát mô sẹo ở CT5 - E có chất lượng tốt nhất

Tạo mô sẹo là một bước trong quá trình nuôi cấy *in vitro* ở thực vật. Với mục đích tái sinh cây dâu tây thông qua mô sẹo, chúng tôi đã tiến hành nuôi cấy mảnh lá trên môi trường MS có bổ sung 2,4D và TDZ ở các nồng độ khác nhau. Trạng thái mô sẹo sau 4 tuần nuôi cấy được ghi nhận ở hình 1.

Vai trò của auxin và cytokinin trong quá trình hình thành mô sẹo nuôi cấy mô được báo cáo (Popescu *et al.*, 1997; Letham *et al.*, 1974; Akiyoshi *et al.*, 1983; Ara *et al.*, 2012). Gần đây kết quả tái sinh cây dâu tây thông qua mô sẹo sử dụng 2,4-D và TDZ đã được báo cáo (Dương Tấn Nhựt *et al.*, 2004; Yildirim và Turker, 2014). Dương Tấn Nhựt và cộng sự (2004) cho rằng kết hợp 2,4-D 0,1 mg/l và TDZ 1,0 mg/l có khả năng phát sinh mô sẹo cao nuôi cấy lá dâu tây trên môi trường MS. Kết quả thí nghiệm của chúng tôi cho thấy rằng nồng độ 2,4-D cao (0,5 – 1,0 mg/l) hoặc thấp đều ảnh hưởng đến tỷ lệ mẫu lá hình thành mô sẹo và chất lượng mô sẹo (Bảng 1). Kết quả này cũng được ghi

nhận bởi Dương Tấn Nhựt *et al* (2004) và Yildirim và Turker (2014). Với kết quả thu được 2,4-D 0,2 mg/l kết hợp với TDZ 1,0 mg/l phù hợp cho nghiên cứu tạo mô sẹo từ lá.

3.2. Ảnh hưởng của BAP, Kinetin và TDZ đến tái sinh và nhân chồi

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP, TDZ đến tái sinh và nhân chồi

BAP (mg/l)					BAP + TDZ (mg/l)				
CT		Tỷ lệ mô sẹo tái sinh (%)	Hệ số nhân chồi (chồi)	Hình thái chồi	CT		Tỷ lệ mô sẹo tái sinh (%)	Hệ số nhân chồi (chồi)	Hình thái chồi
1	0,0	0,0 ^d	0,0	+	1	0,2 + 0,0	15,6 ^e	4,3	+++
2	0,1	5,5 ^c	4,4	++	2	0,2 + 0,1	35,5 ^d	4,8	+++
3	0,2	11,7 ^a	4,8	+++	3	0,2 + 0,3	47,0 ^c	8,4	+++
4	0,3	8,5 ^b	3,0	+++	4	0,2 + 0,5	88,1 ^b	8,0	+++
5	0,5	7,7 ^{bc}	3,2	+++	5	0,2 + 1,0	91,7 ^a	10,2	+++
6	1,0	6,2 ^c	3,1	++	6	0,5 + 1,0	86,2 ^b	9,7	++
-	-	-	-	-	7	1,0 + 0,5	77,0 ^{bc}	9,2	++
CV%		4,7	7,2		CV%		5,0	4,1	
LSD ₀₅		2,3	2,8		LSD ₀₅		1,3	2,6	

CT: Công thức. Chất lượng chồi : (+) Vàng nhỏ, (++) Xanh nhỏ, (+++) Xanh mập. Kết quả phân hạng so sánh Duncan: a, b, bc, c, d có mức ý nghĩa $P \leq 0.05$. Mỗi công thức thí nghiệm lặp lại 3 lần

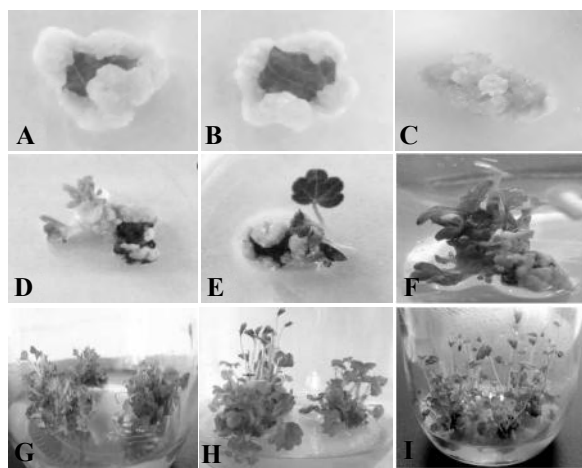
Bảng 2 thể hiện ảnh hưởng của BAP đến tái sinh và nhân chồi dâu tây, sử dụng đơn lẻ BAP trên môi trường MS có nồng độ từ 0,1 đến 1,0 mg/l cho thấy tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi 5,5% đến 11,7%. Trong đó, công thức 3 với nồng độ BAP 0,2 mg/l cho tỷ lệ mô sẹo tái sinh 11,7% và giảm dần ở các công thức tiếp theo (Bảng 2). Hệ số nhân chồi đạt 4,8 chồi ở công thức 3 và giảm dần ở các công thức có nồng độ BAP cao hơn. Hơn nữa, BAP 0,2 mg/l kết hợp với TDZ ở nồng độ 0,1–1,0 mg/l cho thấy số lượng mô sẹo tái sinh cao hơn so với công thức 1 sử dụng BAP đơn lẻ. Nồng độ TDZ tăng ở công thức 2 đến công thức 5 ứng với tỷ lệ mô sẹo tái sinh tăng dần từ 35,5% đến 91,7%. Trong đó công thức BAP 0,2 mg/l và TDZ 1,0 mg/l cho kết quả tỷ lệ tái sinh chồi tốt nhất. Tuy nhiên, tỷ lệ tái sinh chồi giảm ở công thức 6 và 7 khi tỷ lệ BAP/TDZ thay đổi (Bảng 2).

Bảng 3. Ảnh hưởng của Kinetin, TDZ đến tái sinh và nhân chồi

Kinetin (mg/l)					Kinetin + TDZ (mg/l)				
CT		Tỷ lệ mô sẹo tái sinh (%)	Hệ số nhân chồi (chồi)	Hình thái chồi	CT		Tỷ lệ mô sẹo tái sinh (%)	Hệ số nhân chồi (chồi)	Hình thái chồi
1	0,0	0,0 ^d	0,0	+	1	0,0 + 1,0	18,2 ^d	4,08	+++
2	0,2	49,4 ^a	4,8	++	2	0,1 + 1,0	59,7 ^a	4,38	+++
3	0,3	20,1 ^b	4,4	+++	3	0,2 + 1,0	60,6 ^a	4,38	+++
4	0,5	17,0 ^c	3,3	+++	4	0,3 + 1,0	52,1 ^b	4,07	+++
5	1,0	17,8 ^c	3,9	+++	5	0,5 + 1,0	51,5 ^{bc}	3,91	+++
-	-	-	-	-	6	1,0 + 1,0	46,4 ^c	3,89	+++
CV%		5,7	7,3		CV%		2,0	5,3	
LSD ₀₅		3,5	4,1		LSD ₀₅		1,1	2,0	

CT: Công thức. Chất lượng chồi : (+) Vàng nhỏ, (++) Xanh nhỏ, (+++) Xanh mập.

Kết quả phân hạng so sánh Duncan: a, b, bc, c, d có mức ý nghĩa $P \leq 0.05$. Mỗi công thức thí nghiệm lặp lại 3 lần.



Hình 2. Khả năng tái sinh và nhân chồi trên môi trường MS có bổ sung BAP và TDZ

Giai đoạn mô sẹo trên môi trường khác nhau (A) 2,4–D 0,5 mg/l + TDZ 1,0 mg/l; (B) 2,4–D 0,2 mg/l + TDZ 0,5 mg/l; (C) 2,4–D 0,2 mg/l + TDZ 1,0 mg/l sau 4 tuần nuôi cấy. Giai đoạn tái sinh chồi và nhân nhanh chồi thể hiện ở (D, G) BAP 0,1 mg/l + TDZ 1,0 mg/l; (E, H) Kinetin 0,2 mg/l + TDZ 1,0 mg/l; (F, I) BAP 0,2 mg/l + TDZ 1,0 mg/l

Kết quả cho thấy rằng kinetin ở nồng độ 0,2 mg/l đến 1,0 mg/l có khả năng kích thích sự hình thành chồi dâu tây thông qua tỷ lệ chồi tái sinh dao động từ 17% đến 49,4%. Kinetin ở nồng độ thấp (0,2 mg/l) cho thấy hiệu quả tái sinh chồi và nhân chồi tốt hơn so với các công thức có nồng độ kinetin cao hơn (Bảng 3). Sự kết hợp TDZ và kinetin thu được tỷ lệ chồi tái sinh dao động 18,2% đến 60,6%. Tỷ lệ chồi tái sinh và hệ số nhân chồi có sự sai khác giữa các công thức thí nghiệm, khi tăng nồng độ kinetin từ 0,0 – 1,0 mg/l thu được tỷ lệ chồi phát sinh và hệ số nhân chồi có xu hướng giảm dần, cụ thể ở công thức đối chứng kinetin nồng độ 0,0 mg/l và TDZ 1,0 mg/l cho tỷ lệ chồi phát sinh là 18,2%. Các công thức tiếp theo có tỷ lệ chồi phát sinh giảm dần, kết quả lần lượt là 52,1%, 51,5%, 46,4%. Môi trường bổ sung TDZ 1,0 mg/l kết hợp kinetin 0,2 mg/l cho hệ số nhân cao nhất 60,6%. Tương tự, hệ số nhân chồi tương ứng giảm dần từ công thức 2 đến 5, từ 4,38 xuống 3,89 chồi. Mặt khác, kinetin ở nồng độ thấp (0,2 – 0,5 mg/l) hỗ trợ cho quá trình kéo dài chồi ở dâu tây đã được báo cáo (Zakaria *et al.*, 2014). Vì vậy, kinetin ở nồng độ 0,2 mg/l

kết hợp với TDZ 1,0 mg/l có hiệu quả nhân chồi và giúp chồi phát triển về chiều cao. Sự phát sinh hình thái của mô thực vật chịu sự điều hòa của tỷ lệ của cytokinin và auxin. Nhiều nghiên cứu sử dụng BAP đơn lẻ cho nhân giống dâu tây đã được báo cáo (Dương Tấn Nhựt *et al.*, 2004; Biswas *et al.*, 2008; Ara *et al.*, 2012; Yildirim and Turker, 2014). Vai trò của auxin có ý nghĩa trong việc phân chia tế bào, kích thích sự phát triển của tế bào lá và cytokinin kiểm soát sự hình thành chồi (Zakaria *et al.*, 2014). Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu trước chỉ ra rằng sự cân bằng của cytokinin và auxin sẽ có tác dụng tốt cho giai đoạn nhân chồi (Letham *et al.*, 1974; Ara *et al.*, 2012). BAP ở nồng độ thấp 0,1 – 0,2 mg/l kết hợp với TDZ 1,0 mg/l cho việc tái sinh chồi dâu tây đã được công bố (Zakaria *et al.*, 2014; Yildirim và Turker, 2014). Theo Yildirim và Turker (2014), việc tái sinh chồi có sự kết hợp BAP 0,2 mg/l và TDZ 1,0 mg/l cho hiệu quả cao hơn so với việc sử dụng BAP đơn lẻ trong nhân giống dâu tây. Bên cạnh đó nhiều nghiên cứu cũng chứng minh được vai trò của TDZ trong sự hình thành chồi của dâu tây (Passey *et al.*, 2003; Dương Tấn Nhựt, 2004; Zakaria *et al.*, 2014; Yildirim và Turker, 2014). Trong nghiên cứu này TDZ 1,0 mg/l kết hợp với BAP 0,2 mg/l hoặc kinetin 0,2 mg/l cho thấy hiệu quả tái sinh và nhân chồi dâu tây.

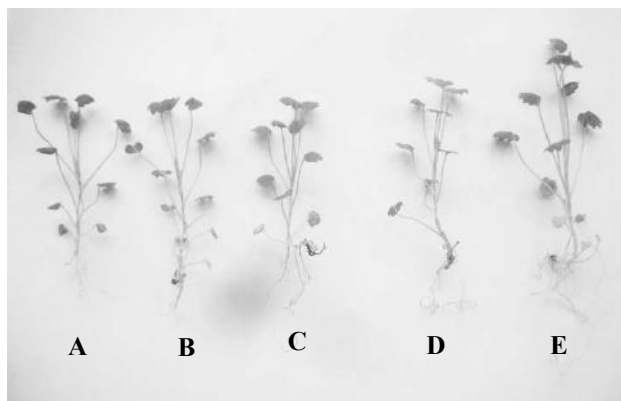
3.3. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ

IBA được biết đến với chức năng cảm ứng phát sinh rễ trên nhiều loại cây trồng được nghiên cứu thử nghiệm với nồng độ từ 0,3 – 1,0 mg/l. Kết quả thí nghiệm cho thấy công thức 3 (IBA 0,5 mg/l) có kết quả tỷ lệ chồi ra rễ và số rễ/chồi tốt (62,8% và 4,2 rễ/chồi). Môi trường bổ sung IBA cho số rễ trung bình/chồi, tỷ lệ chồi ra rễ, chiều dài rễ tăng lên rõ rệt so với đối chứng. Ở công thức 1 (đối chứng) không bổ sung IBA có tỷ lệ chồi ra rễ thấp hơn các công thức có bổ sung IBA, số rễ trung bình/chồi đạt 2,1 rễ, chiều dài rễ 1,87cm. Nồng độ IBA tăng từ 0,7 - 1,0 mg/l thì tỷ lệ chồi ra rễ giảm dần từ 47,5% xuống 36,8%, số rễ dao động từ 3,5 – 3,6 rễ/chồi. Tuy nhiên, chiều dài rễ lại tăng theo nồng độ IBA từ 0,3 đến 1,0 mg/l. Theo Yildirim và Turker (2014) đưa ra kết quả IBA ở nồng độ 0,5 mg/l cho tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất 90% trên giống dâu tây (*Fragaria vesca* L.). Sự khác biệt này có thể ảnh hưởng bởi yếu tố giống. Từ những kết quả đạt được cho thấy nồng độ IBA 0,5 mg/l phù hợp để kích thích sự ra rễ ở dâu tây.

Bảng 4. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ

CT	IBA (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Chiều dài rễ (cm)	Số rễ/ chồi
1	0,0	12,5	1,87	2,1
2	0,3	41,9	2,05	3,5
3	0,5	62,8	2,31	4,2
4	0,7	47,5	2,45	3,5
5	1,0	36,8	2,58	3,6
CV%		5,0	6,4	4,8
LSD ₀₅		1,8	2,1	2,4

CT: Công thức. Kết quả phân hạng so sánh Duncan: a, b, c, d, có mức ý nghĩa $P \leq 0.05$. Mỗi công thức thí nghiệm lặp lại 3 lần



Hình 3. Hình thành rễ trên môi trường MS bổ sung nồng độ IBA khác nhau. A: IBA 0,1 mg/l; B: IBA 0,3 mg/l; C: IBA 0,5 mg/l; D: IBA 0,7 mg/l; E: 1,0 mg/l. Sau 10 tuần nuôi cấy chồi rễ rất tốt ở nồng độ IBA 0,5 – 1,0 mg/l. Số rễ dao động 3 – 5 rễ/cây

4. Kết luận

Từ kết quả nghiên cứu khả năng hình thành mô sẹo và tái sinh cây dâu tây từ lá cho thấy, sự phát sinh mô sẹo chịu ảnh hưởng của 2,4-D và TDZ và hiệu quả tái sinh, nhân chồi chịu sự chi phối của nồng độ BAP, kinetin và TDZ. Kết quả nghiên cứu đã xác định được 2,4-D 0,2 mg/l kết hợp với TDZ 1,0 mg/l hỗ trợ phát sinh mô sẹo tốt. Khả năng hình thành chồi từ mô sẹo đạt hiệu quả cao trên nền môi trường MS bổ sung BAP 0,2 mg/l hoặc kinetin 0,2 mg/l kết hợp TDZ 1,0 mg/l. Đồng thời IBA 0,5 mg/l cũng cho thấy hiệu quả ra rễ tốt khi được sử dụng cho quá trình cắm ứng rễ. Do vậy, sự điều chỉnh hợp lý của chất điều hoà sinh trưởng sẽ mang lại hiệu quả cao trong nhân giống dâu tây.

TAI LIỆU THAM KHẢO

[1] Ara T, Karim R, Karim MR, Islam R, Hossain M, 2012. Callus induction and shoot regeneration in strawberry (*Fragaria x*

ananassa Duch.). *International Journal of Biosciences* (IJB) 2 (10): 93-100.

- [2] Biswas MK, Islam R, Hossain M, 2008. Micro propagation and field evaluation of strawberry in Bangladesh. *Journal of Agricultural Technology* 4:167-82.
- [3] Debnath SC, 2005. Strawberry sepal: another explant for thidiazuron-induced adventitious shoot regeneration. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 41: 671-676.
- [4] Debnath SC, 2006. Zeatin overcomes thidiazuron-induced inhibition of shoot elongation and promotes rooting in strawberry culture *in vitro*. *J Hortic Sci Biotechnol* 81: 349-54.
- [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 nilon. *Tạp chí Công nghệ sinh học* 2(2): 227-234.
- [6] Graham J, McNicol RJ, Grieg K, 1995. Towards genetic based insect resistance in strawberry using the Cowpea tryps in inhibitor gene. *Ann Appl Biol* 127:163-173.
- [7] Husaini AM, Abidin MZ, 2007. Interactive effect of light, temperature and TDZ on the regeneration potential of leaf discs of *Fragaria x ananassa* Duch. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 43:576-584.
- [8] Lis EK, 1993. Strawberry plant regeneration by organogenesis from peduncle and stolon segments. *Acta Hort* 348:435-438.
- [9] Nehra NS, Stushnoff C, Kartha KK, 1990. Regeneration of plants from immature leaf-derived callus of strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Plant Science* 66 (1): 119-126.
- [10] Letham DS, 1974. Regulators of cell division in plant tissues. The cytokinins of coconut milk. *Physiol Plant*. 32: 66-70.
- [11] Passey AJ, Barrett KJ, James DJ, 2003. Adventitious shoot regeneration from seven commercial strawberry cultivars (*Fragaria x ananassa* Duch.) using a range of explant types. *Plant Cell Rep* 21: 397-401.
- [12] Yildirim AB, Turker AU, 2014. Effects of regeneration enhancers on micropropagation of *Fragaria vesca* L. and phenolic content comparison of field-grown and *in vitro*-grown plant materials by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS). *Scientia Horticulturae* 169: 169-178.
- [13] Zakaria H, Hussein GM, Abdel Hadi AH, and Abdallah NA, 2014. Improved regeneration and transformation protocols for three strawberry cultivars. *GM crops & Food: Biotechnology in agriculture and the Food chain* 5(1): 27-35.

(BBT nhận bài: 21/02/2017, hoàn tất thủ tục phản biện: 21/03/2017)