

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT RT-PCR TRONG CHẨN ĐOÁN CÁC BỆNH VIRUS XOẺ LÁ VÀ VÀNG MÉP LÁ TRÊN CÂY DÂU TÂY *IN VITRO*

Dương Tấn Nhật¹, Nguyễn Duy², Hà Thị Tuyết Phượng³, Nguyễn Thị Thu Sương¹, Vũ Thị Hiền¹, Nguyễn Văn Bình¹, Vũ Quốc Luận¹, Nguyễn Thị Thúy Hằng¹, Nguyễn Bá Nam¹, Lê Quang Công¹, Bùi Minh Trí³

¹Viện Sinh học Tây Nguyên

²Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam

³Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Chẩn đoán 2 bệnh strawberry crinkle virus (SCV) và strawberry mild yellow edge virus (SMYEV) trên 3 giống Dâu tây *in vitro* gồm Mỹ Đá, Mỹ Hương và Pháp bằng kỹ thuật RT-PCR đã được trình bày trong nghiên cứu này. Cây Dâu tây *in vitro* của cả 3 giống được tái sinh từ mô lá trên các môi trường gồm môi trường tạo mô sẹo là môi trường MS có bổ sung 1 mg/l TDZ, 0,1 mg/l 2,4-D, 30 g/l sucrose và 8 g/l thạch; môi trường tạo chồi là môi trường MS có bổ sung 0,2 mg/l BA, 30 g/l sucrose và 8 g/l thạch; môi trường tạo rễ là môi trường MS có bổ sung 5 ml/l vitamin B5, 30 g/l sucrose và 8 g/l thạch. RNA được tách chiết từ lá của cây Dâu tây *in vitro* theo quy trình Mazzara và James (2000) và thực hiện phản ứng RT-PCR theo kit StrataScript® One-Tube RT-PCR của ITS Việt Nam với cặp mồi SC1DFW-SC1DRV cho bệnh SCV và SM1DFW-SM1DRV cho bệnh SMYEV. Kết quả chẩn đoán 2 loại bệnh SCV và SMYEV trên 50 mẫu cây Dâu tây *in vitro* của các giống: Mỹ Đá, Mỹ Hương và Pháp, cho thấy cả 3 giống đều bị nhiễm virus. Tỷ lệ mẫu bị nhiễm SCV (11,33%) nhiều hơn mẫu bị nhiễm SMYEV (7,33%). Tỷ lệ mẫu bị nhiễm bệnh của từng giống Dâu tây cũng khác nhau; trong đó, giống Mỹ Đá bị nhiễm 2,66% SCV và 3,3% SMYEV; giống Mỹ Hương: 4% SCV và 2,66% SMYEV và giống Pháp: 4,6% SCV và 1,3% SMYEV. Đồng thời thu nhận được những cây Dâu tây *in vitro* sạch bệnh SCV và SMYEV. Những cây Dâu tây này được dùng làm nguyên liệu cho quá trình nhân giống tiếp theo góp phần giải quyết nhu cầu về giống Dâu tây sạch bệnh virus.

Từ khóa: Bệnh virus xoẻ lá Dâu tây (SCV), bệnh virus vàng mép lá Dâu tây (SMYEV), cây Dâu tây, cây Dâu tây sạch virus, nhân giống, RT-PCR

GIỚI THIỆU

Cây Dâu tây *Fragaria vesca* L. thuộc họ Hoa hồng Rosaceae được trồng nhiều tại Đà Lạt và đã trở thành loại cây ăn quả đặc sản của vùng này (Đỗ Huy Bích *et al.*, 2004). So với nhiều giống rau và hoa đang được trồng tại Đà Lạt, cây 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. Chính vì vậy, Dâu tây được xếp vào danh sách những loại cây trồng được ưu tiên đầu tư theo hướng công nghệ cao của tỉnh Lâm Đồng. Tuy nhiên, việc trồng Dâu tây tại thành phố Đà Lạt hiện nay vẫn còn phân tán, với quy mô nhỏ. Nhiều diện tích trồng cây Dâu tây bị giảm đáng kể về năng suất và chất lượng. Nguyên nhân chính là do dịch bệnh lây lan ngày một rộng trên cây Dâu tây, trong đó có một số bệnh do virus gây ra, đặc biệt là bệnh virus SCV và bệnh virus SMYEV.

Các virus gây bệnh SCV và bệnh SMYEV thuộc nhóm cytorhabdovirus và nhóm luteovirus có genome là RNA sợi đơn. Chúng gây hại phổ biến trên các giống Dâu tây ở nhiều nước trên thế giới (Hình 1). Bệnh SCV làm lá Dâu tây bị biến dạng, có những đốm vàng; các lá chết có kích thước không đồng đều, uốn cong và nhăn lại; cuống lá và lá có thể giảm kích thước. Bệnh SMYEV làm lá Dâu tây bị cong, xuất hiện những đốm vàng nhỏ trên gân phụ của lá. Khi triệu chứng phát triển, các đốm vàng càng đậm và các mô bị chết. Cả hai bệnh này đều làm giảm sức sống, năng suất và kích thước trái của cây Dâu tây (Maas, 1998).

Hiện nay, trên thị trường, chưa có thuốc đặc trị những bệnh hại cây trồng do virus gây ra. Vì vậy, nhu cầu về cây giống Dâu tây sạch bệnh virus là nhu cầu rất cần thiết.

Phương pháp RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) là phương pháp cho phép chẩn đoán virus gây hại cây trồng có genome ở dạng

RNA. Phân tử RNA sẽ được chuyển mã ngược thành cDNA, trước khi thực hiện phương pháp PCR thông thường (Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu, 2005). Vì vậy, việc ứng dụng kỹ thuật RT-PCR trong chẩn đoán bệnh SCV và bệnh SMYEV trên cây Dâu tây *in vitro*, nhằm thu thập nguồn cây Dâu tây sạch bệnh virus để phục vụ công tác nhân giống, góp phần đáp ứng nhu cầu về cây giống sạch bệnh virus, đồng thời nâng cao năng suất và chất lượng của trái Dâu tây là mục đích đặt ra của công trình nghiên cứu này.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Cây Dâu tây *in vitro* thuộc 3 giống: Mỹ Đá, Mỹ Hương và Pháp. Mẫu lá Dâu tây *in vitro* được cắt nhỏ với kích thước khoảng 7 × 7 mm và được nuôi cấy trên môi trường hình thành mô sẹo. Sau 30 ngày nuôi cấy, các cụm mô sẹo được tách ra và nuôi cấy trên môi trường tái sinh chồi. Sau 45 ngày nuôi cấy, các chồi được nuôi cấy trên môi trường tạo rễ. Sau 30 ngày nuôi cấy, các cây Dâu tây con hình thành, có bộ lá và rễ phát triển hoàn chỉnh. Chúng được dùng làm nguồn mẫu để tiến hành chẩn đoán virus.

Cây Dâu tây *in vitro* sạch bệnh virus, được dùng làm nguyên liệu cho quá trình nhân giống Dâu tây sạch bệnh. Quá trình nhân giống này tương tự như trên; mẫu lá *in vitro* được cắt nhỏ với kích thước khoảng 7 × 7 mm, được nuôi cấy trên môi trường hình thành mô sẹo. Mô sẹo thu được sau 30 ngày nuôi cấy được cấy chuyển sang môi trường tạo chồi. Các chồi thu được sau 45 ngày nuôi cấy được cấy chuyển sang môi trường tạo rễ. Sau 30 ngày nuôi cấy trên môi trường tạo rễ, cây con hoàn chỉnh được đưa ra trồng ngoài vườn ươm.

Phương pháp

Môi trường nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy được áp dụng theo Dương Tấn Nhựt và đồng tác giả (2004) bao gồm: môi trường hình thành mô sẹo là môi trường MS (Murashige, Skoog, 1962) có bổ sung 1 mg/l TDZ, 0,1 mg/l 2,4-D, 30 g/l sucrose và 8 g/l thạch; môi trường tạo chồi là môi trường MS có bổ sung 0,2 mg/l BA, 30 g/l sucrose và 8 g/l thạch; môi trường tạo rễ là môi trường MS có bổ sung 5 mg/l vitamin B5 (Gamborg *et al.*, 1968), 30 g/l sucrose và 8 g/l thạch. Độ pH của các môi trường từ 5,7 đến 5,8.

Hệ thống nuôi cấy

Hệ thống nuôi cấy sử dụng trong giai đoạn tạo

nguồn mẫu để chẩn đoán virus là các chai thủy tinh 250 ml (30 ml môi trường/chai). Ở giai đoạn tạo mô sẹo, cấy 3 mẫu lá/chai; ở giai đoạn tạo chồi, cấy 3 cụm mô sẹo/chai và ở giai đoạn tạo rễ, cấy 1 chồi/chai.

Hệ thống nuôi cấy được sử dụng trong giai đoạn nhân giống Dâu tây sạch bệnh virus là các túi nylon được làm từ polyetylen. Các túi này được gấp lại trước khi được đem hấp khử trùng. Ở giai đoạn tạo mô sẹo, cấy 3 mẫu lá/túi; ở giai đoạn tạo chồi, cấy 3 cụm mô sẹo/túi và ở giai đoạn tạo rễ, cấy 3 cụm chồi/túi.

Môi trường và các hệ thống nuôi cấy được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, 1 atm trong thời gian 20 phút. Sau khi hấp khử trùng, các túi được mở ra và được rót môi trường nuôi cấy vào (100 ml môi trường/túi). Sau đó, đóng các nắp túi lại bằng kẹp giấy. Các thao tác trên đều được thực hiện trong tủ cấy vô trùng.

Điều kiện nuôi cấy

Các hệ thống được nuôi cấy trong điều kiện nhiệt độ phòng 25°C ± 2°C, với thời gian chiếu sáng 10 giờ/ngày và cường độ ánh sáng 3000 lux.

Chẩn đoán bệnh SCV và bệnh SMYEV

Thu mẫu

Việc chẩn đoán bệnh SCV và bệnh SMYEV được tiến hành trên 50 mẫu ở mỗi giống Dâu tây; các mẫu được ký hiệu như sau: giống Mỹ Đá từ DT1-1 đến DT1-50, giống Mỹ Hương từ DT2-1 đến DT2-50 và giống Pháp từ DT3-1 đến DT3-50.

Tiến hành thu mẫu lá trong tủ cấy vô trùng: Các cây Dâu tây *in vitro* trong các chai có ký hiệu như trên có chiều cao 4 - 5 cm, có 4 - 5 lá, lá rộng khoảng 1 cm; dùng kéo cắt 2 lá trên mỗi cây, sau đó cho vào ống ly tâm 1,5 ml. Mẫu lá Dâu tây *in vitro* trong các ống ly tâm được sử dụng để tiến hành tách chiết RNA.

Tách chiết RNA

Việc tách chiết RNA tổng số được tiến hành theo quy trình của Mazzara, James (2000): dùng 200 - 300 mg lá của mỗi mẫu cần chẩn đoán virus trong các ống ly tâm 1,5 ml đã được ký hiệu. Mẫu lá được nghiền với N₂ lỏng, sau đó được cho vào lại các ống ly tâm và bổ sung 600 µl dung dịch đệm tách chiết (với các thành phần 50 mM Tris-HCl, có pH bằng 8,9; 150 mM LiCl; 5 mM EDTA và 5% SDS) và lắc đảo trong 2 phút. Bổ sung vào dung

dịch 600 µl hỗn hợp phenol: chloroform: isoamyl alcohol với tỷ lệ thể tích 25: 24: 1 và trộn đều trong 3 phút. Dung dịch được đi ly tâm với tốc độ 9.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C. Chuyển phần dịch nổi ở phía trên sang một ống ly tâm mới và lặp lại bước ly trích bằng phenol:chloroform:isoamyl alcohol ở trên. Phần dịch lỏng phía trên được chuyển sang một ống ly tâm mới và bổ sung 1/3 thể tích tương ứng của LiCl 8 M (pH = 9,2) để đạt được nồng độ cuối cùng là LiCl 2 M. Dung dịch được ủ ở -80°C qua đêm để kết tủa RNA và ly tâm ở tốc độ 11.000 vòng/phút trong 30 phút ở 4°C. Kết tủa được thu lại và rửa 2 lần bằng 300 µl EtOH 70%, 0,15 M NaCl, sau đó được ly tâm lại với tốc độ như trên trong 10 phút. Thu và làm khô kết tủa ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó, kết tủa được hòa lại vào 30 µl nước cất đã được xử lý DEPC và hấp khử trùng. Ly tâm ở 13.000 vòng/phút để cặn lắng xuống đáy ống và chuyển phần dịch nổi chứa RNA sang ống ly tâm mới. Nồng độ RNA tổng số được xác định bằng máy quang phổ, sau đó RNA tổng số được kết tủa bằng 1/10 thể tích sodium acetate (pH = 5,2), 2,5 thể tích EtOH 100% và ủ ở -20°C trong 1 h. Kết tủa RNA được hòa lại vào một thể tích nước cất đã xử lý DEPC vừa đủ để tạo thành dung dịch RNA có nồng độ 5 µg/µl được sử dụng để chẩn đoán bệnh SCV và bệnh SMYEV.

Quy trình chẩn đoán bệnh SCV và bệnh SMYEV bằng kỹ thuật RT-PCR

Virus được phát hiện bằng cách thiết kế các cặp mồi đặc hiệu tương ứng trong phản ứng RT-PCR với trình tự như sau:

Cặp mồi phát hiện bệnh SCV

Mồi xuôi (SC1DFW): 5'- TTCAGGACCTATT TGATGACA - 3';

Mồi ngược (SC1DRV): 5'- CATTGGTGGCA GACCCATCA - 3'.

Cặp mồi phát hiện bệnh SMYEV

Mồi xuôi (SM1DFW): 5'- GTGTGCTCAATCC AGCCAG - 3';

Mồi ngược (SM1DRV): 5'- CATGGCACTCAT TGGAGCTGGG - 3'.

Hai cặp mồi này có nhiệt độ bắt cặp lần lượt là 58°C và 50°C; sản phẩm khuếch đại sau phản ứng RT-PCR của mỗi loại virus SCV và SMYEV có kích thước tương ứng là 345 bp và 271 bp.

Phản ứng RT-PCR được thực hiện theo quy trình của bộ sản phẩm StrataScript® One-Tube RT-PCR của ITS Việt Nam. RT được thực hiện ở 42°C trong 15 phút. Phản ứng PCR được thực hiện 40 chu kỳ bao gồm 30 giây ở 90°C; 30 giây ở 58°C (đối với bệnh SCV), ở 50°C (đối với bệnh SMYEV); 2 phút ở 68°C và phản ứng được kết thúc ở 68°C trong 5 phút.

Sản phẩm của phản ứng RT-PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 2% ở hiệu điện thế 100 V trong 1 h; sau đó nhuộm trong dung dịch EtBr 2 mg/l trong 30 phút. Hình ảnh điện di được chụp dưới tác động của tia UV để ghi nhận vạch của sản phẩm tương ứng với kích thước thiết kế sẵn ở trên.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả chẩn đoán 2 loại bệnh SCV và SMYEV trên 50 mẫu cây Dầu tây *in vitro* của các giống: Mỹ Đá, Mỹ Hương và Pháp, cho thấy cả 3 giống đều bị nhiễm virus (không dẫn hình). Tỷ lệ mẫu bị nhiễm SCV (11,33%) nhiều hơn mẫu bị nhiễm SMYEV (7,33%) (Bảng 1). Tỷ lệ mẫu bị nhiễm bệnh của từng giống Dầu tây cũng khác nhau; trong đó, giống Mỹ Đá bị nhiễm 2,66% SCV và 3,3% SMYEV; giống Mỹ Hương: 4% SCV và 2,66% SMYEV và giống Pháp: 4,6% SCV và 1,3% SMYEV (Bảng 2).

Thông qua chẩn đoán bệnh SCV và bệnh SMYEV, đã thu nhận được một lượng cây Dầu tây *in vitro* sạch virus của 3 giống Mỹ Đá, Mỹ Hương và Pháp. Chúng tôi sử dụng lá của những cây Dầu tây *in vitro* sạch virus này làm nguyên liệu cho quá trình nhân giống cây Dầu tây sạch bệnh virus. Kết quả cho thấy, sau 10 ngày nuôi cấy, các mô sẹo được hình thành chủ yếu ở các vết cắt của lá và có màu vàng chanh. Sau 25 ngày nuôi cấy, các mô sẹo hình thành lớn hơn và lan ra các phần còn lại của mẫu lá. Đến ngày thứ 30, ở các cụm mô sẹo bắt đầu xuất hiện các chồi con. Sau 30 ngày nuôi cấy, các cụm mô sẹo này được cấy sang môi trường tạo chồi. Tỷ lệ tái sinh chồi từ mô sẹo của 3 giống Dầu tây là không giống nhau (23 chồi/cụm mô sẹo; 126 chồi/cụm mô sẹo; 86 chồi/cụm mô sẹo ứng với từng giống Mỹ Đá, Mỹ Hương và Pháp). Sau 45 ngày nuôi cấy, các chồi cao 3 - 4 cm có 3 - 4 lá, có màu xanh và được chuyển sang môi trường tạo rễ. Sau 30 ngày nuôi cấy, các cây con *in vitro* sạch virus được đưa ra trồng ở vườn ươm làm nguồn giống phục vụ cho sản xuất (Hình 2).

Bảng 1. Tỷ lệ mẫu cây Dầu tây *in vitro* bị nhiễm và sạch bệnh SCV và bệnh SMYEV.

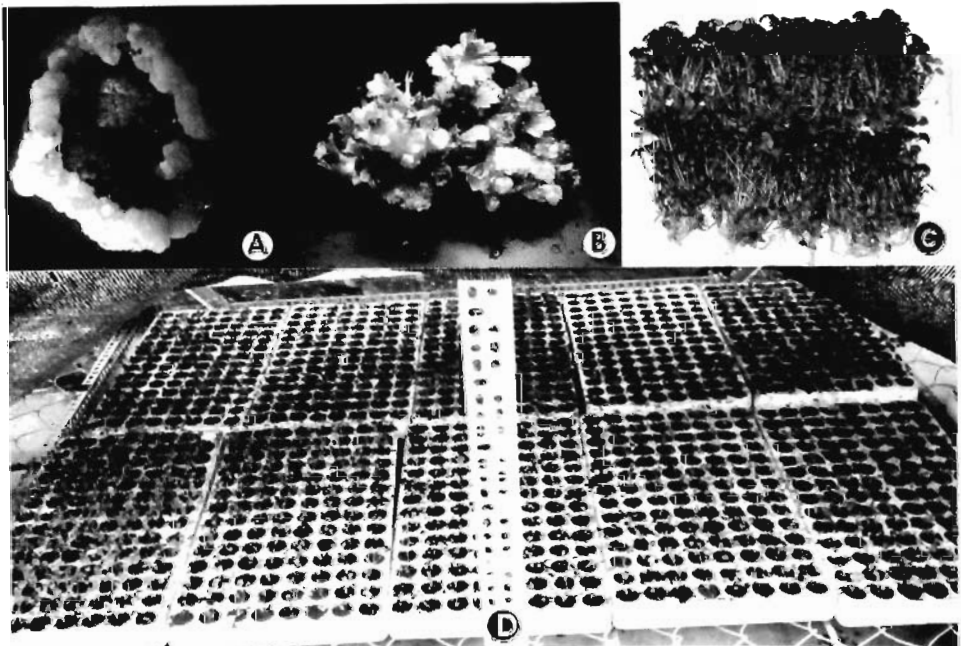
STT	Tên bệnh	Tổng số mẫu xét nghiệm	Số mẫu bị nhiễm bệnh	Số mẫu sạch bệnh	Tỷ lệ mẫu bị nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu sạch bệnh (%)
1	SCV	150	17	133	11,33	88,67
2	SMYEV	150	11	139	7,33	92,67

Bảng 2. Tỷ lệ mẫu bị nhiễm bệnh SCV và bệnh SMYEV của từng giống Dầu tây.

Giống Dầu tây	Bệnh SCV (%)	Bệnh SMYEV (%)
Mỹ Đá	2,66	3,3
Mỹ Hương	4,0	2,66
Pháp	4,6	1,3



Hình 1. Cây Dầu tây bị bệnh SCV (trái), cây Dầu tây bị bệnh SMYEV (phải).



Hình 2. Các cây Dầu tây sạch bệnh virus tái sinh từ mô lá. A. Mô sẹo hình thành từ mô lá; B. Chồi tái sinh từ mô sẹo; C. Cây Dầu tây *in vitro*; D. Cây Dầu tây trồng ra ngoài vườn ươm.

KẾT LUẬN

Bước đầu đã chẩn đoán được 2 bệnh virus SCV và SMYEV bằng kỹ thuật RT-PCR trên cây Dâu tây *in vitro* (*Fragaria vesca* L.). Phương pháp chẩn đoán 2 bệnh SCV và SMYEV bằng kỹ thuật RT-PCR với các cặp mồi tương ứng SC1DFW-SC1DRV và SM1DFW-SM1DRV cho các vạch của sản phẩm đặc trưng trên gel agarose phù hợp với thiết kế ban đầu. Cả 2 bệnh virus này đều xuất hiện trên cây Dâu tây *in vitro* của 3 giống: Mỹ Đa, Mỹ Hương và Pháp.

Qua nghiên cứu trên, chúng tôi đã thu nhận được những cây Dâu tây *in vitro* sạch 2 bệnh SCV và SMYEV. Sử dụng những cây Dâu tây *in vitro* này làm nguyên liệu để nhân giống Dâu tây thông qua nuôi cấy mô lá trong túi nylon và đã tạo được những cây Dâu tây sạch 2 bệnh virus trên. Những cây Dâu tây này tiếp tục được đưa ra trồng và chăm sóc ở vườn ươm, góp phần giải quyết nhu cầu về giống Dâu tây sạch bệnh virus.

Lời cảm ơn: Các tác giả xin cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh đã tài trợ kinh phí cho đề tài nghiên cứu này.

RT-PCR APPLICATION FOR DETECTION OF THE STRAWBERRY CRINKLE VIRUS AND STRAWBERRY MILD YELLOW EDGE VIRUS DISEASES ON STRAWBERRY PLANTS (*FRAGARIA VESCA* L.) CULTURED *IN VITRO*

Duong Tan Nhut¹*, Nguyen Duy², Ha Thi Tuyet Phuong³, Nguyen Thi Thu Suong¹, Vu Thi Hien¹, Nguyen Van Binh¹, Vu Quoc Luan¹, Nguyen Thi Thuy Hang¹, Nguyen Ba Nam¹, Le Quang Cong¹, Bui Minh Tri³

¹Tay Nguyen Institute of Biology

²Institute of Agricultural Sciences for Southern Vietnam

³Nong Lam University, Hochiminh city

SUMMARY

The reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) was applied for detection of the strawberry crinkle virus (SCV) and strawberry mild yellow edge virus (SMYEV) diseases on three strawberry cultivars: "My Đa", "My Hương" and "Pháp". The *in vitro* leaves of these three strawberry cultivars were used for this research. Three different culture media were used. Calli were induced on the MS medium containing 1 mg/l TDZ, 0.1 mg/l 2,4-D, 30 g/l sucrose and 8 g/l agar (1); shoots were regenerated on MS medium containing 0.2 mg/l BA, 30 g/l sucrose and 8 g/l agar (2); roots were formed on MS medium containing 5 ml/l B5 vitamin, 30 g/l sucrose and 8 g/l agar (3). The RNA extraction from leaf tissues according to the method of Mazzara and

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Duong 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. *Tap chí Công nghệ Sinh học* 2: 227-234.

Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thương Đông, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mẫn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2004) *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật: 618-619.

Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp Cell Res* 50: 151-158.

Maas JL (1998) *Compendium of Strawberry diseases*. Department of Agriculture Beltsville, Maryland, USA: 1-3.

Mazzara M, James DJ (2000) The influence of photoperiodic growth condition on isolation of RNA from strawberry (*Fragaria x Ananassa* Duch.) tissue. *Molecular Biotechnology* 15: 237-241.

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology* 15: 473-477.

Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu (2005) *Sinh học phân tử - Giới thiệu phương pháp và ứng dụng*. Nhà xuất bản Nông nghiệp: 87-95.

* Author for correspondence: Tel: 84-63-3831056; Fax: 84-63-3831028; Email: duongtannhut@gmail.com

James (2000) and then, the extracted RNA transposition into RT-PCR using the StrataScript® One-Tube RT-PCR Kit of ITS Vietnam. In this research, two primer pairs SC1DFW-SC1DRV and SM1DFW-SM1DRV were used for the detection of these viruses by RT-PCR. The amplified products had expected sizes: 345 bp and 271 bp, respectively. We found that the RT-PCR test with these two primer pairs SC1DFW-SC1DRV and SM1DFW-SM1DRV was capable to detect the SCV and SMYEV diseases on *in vitro* strawberry plantlets. The infection rates of SCV and SMYEV on three strawberry cultivars were “My Da”: 2.66% SCV and 3.3% SMYEV; “My Huong”: 4% SCV and 2.66% SMYEV; “Phap”: 4.6% SCV and 1.3% SMYEV. Virus-free strawberry plantlets were obtained, and were used as a virus-free explant source for the strawberry propagation.

Keywords: *Propagation, reverse transcription-polymerase chain reaction, strawberry, strawberry crinkle virus, strawberry mild yellow edge virus, virus-free strawberry plantlets*