

NGHIÊN CỨU KỸ THUẬT NHÂN GIỐNG VÔ TÍNH CÂY LÔ HỘI BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CÂY *IN VITRO*

Research on Micropropagation of *Aloe vera* L. by *In vitro* Method

Nguyễn Thị Kim Thanh, Dương Huyền Trang

Khoa Nông học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

TÓM TẮT

Lô hội (*Aloe vera* L.) là cây dược liệu dùng cho cả đông y và tây y. Chất gel trong cây Lô hội còn được sử dụng để sản xuất các loại mỹ phẩm. Vì vậy cần phát triển các vùng trồng cây Lô hội làm nguyên liệu. Nhân giống vô tính *in vitro* cây Lô hội nhằm nhân nhanh cây giống cho các vùng nguyên liệu là cần thiết. Từ kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng: để tạo vật liệu khởi đầu *in vitro* cây Lô hội nên sử dụng mẫu ở vụ xuân, khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% trong 7 phút cho hiệu quả khử trùng cao (68,5%). Môi trường MS bổ sung 2,5 mg/l BAP cho hệ số nhân cao (5,3 lần/ 3 tuần), chất lượng chồi tốt. Bổ sung than hoạt tính 1,5 - 2,0 g/l cho khả năng ra rễ đạt cao nhất. Tỷ lệ ra rễ đạt 100%, chất lượng rễ tốt. Giá thể ra cây Lô hội *in vitro* thích hợp là cát mịn, tỷ lệ sống cao (81,4%), cây sinh trưởng phát triển tốt. Thời vụ không ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả ra cây Lô hội *in vitro*.

Từ khóa: Hệ số nhân, khử trùng, nhân giống vô tính *in vitro*, ra cây *in vitro*, than hoạt tính, vật liệu khởi đầu *in vitro*.

SUMMARY

Aloe Vera L. is medicinal as well as cosmetic plant. An experiment was conducted to investigate the possibility for rapid micropropagation of *Aloe vera* for raw material production. Harvest of explants during spring season and sterilization in 0.1% HgCl₂ for 7 minutes resulted in high sterilization effect for *in vitro* initiation. MS medium added with 2.5 ppm BAP gave high multiplication rate and high quality shoots. Adding 1.5 – 2.0 g/l of active charcoal in rooting medium provided high rooting effect and good root quality. Transplanting *in vitro* *Aloe vera* plantlets into sand yielded high survival rate and good plantlet growth. The cropping season had no visible effect on transplanting *in vitro* *Aloe vera*.

Key words : *Aloe vera* L, *in vitro* initiation material, micropropagation, sterilization, transplant.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Lô hội (*Aloe vera* L.) hay còn được gọi là cây Nha đam, là loại cây dược liệu được dùng trong cả đông y và tây y. Trong cây Lô hội có chất đông dính (gel) chứa các chất có hoạt tính sinh học, các axit amin, vitamin, chất kháng sinh. (Võ Thanh Thái, 1962; Afzal, Ali, Dhami, 1991)

Ở Việt Nam, cây Lô hội có nhiều dòng khác nhau, trong đó *Aloe vera* được ghi nhận là cây có mặt sớm nhất, phân bố

nhiều ở vùng ven biển miền Trung và là cây thuốc cổ truyền của người Việt Nam từ lâu đời nay.

Những năm gần đây, chất gel chiết rút từ cây Lô hội được dùng nhiều trong các ngành công nghệ dược phẩm, hoá mỹ phẩm như: kem thoa lên da, thuốc viên hay thuốc mỡ để trị bệnh, sử dụng trực tiếp chất gel có trong lá tươi đắp mặt dưỡng da, làm nước uống, nấu chè... nên cây Lô hội ngày càng được nhiều người tiêu dùng quan tâm (Đỗ Thanh Hội, 1977;

Anshoo, Singh et al., 2005). Chính vì lẽ đó, tăng cường phát triển vùng nguyên liệu cây Lô hội là cần thiết. Tuy nhiên, cây Lô hội rất khó nhân giống bằng hạt, người dân thường nhân giống cây Lô hội bằng phương pháp tách chồi. Phương pháp này đơn giản nhưng cho hệ số nhân giống không cao, cây dễ bị già hóa, sức sống thấp nên không thể sản xuất được số lượng lớn cây giống theo quy mô công nghiệp (Mạnh Tùng, 2004).

Nhân giống bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào sẽ giải quyết được những khó khăn nêu trên, như hệ số nhân giống cao mà các phương pháp nhân giống khác khó có thể đạt được, cây giống đồng đều, sức sinh trưởng cao và sạch bệnh (Aggarwal, Barna, 2004; Liao, Chen et al., 2004). Vì vậy, hướng nghiên cứu kỹ thuật nhân cây Lô hội bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu. Các công bố trên thế giới chủ yếu tập trung vào các giống Lô hội bản địa (Aggarwal, D., Barna, K.S. 2004). Ở Việt Nam, Trung tâm chuyển giao tiến bộ khoa học và nông nghiệp tỉnh Vĩnh Phúc cũng đã khuyến cáo việc áp dụng phương pháp nuôi cấy mô để nhân giống cây Lô hội (*Aloe vera* L.) Bài viết này trình bày cụ thể kỹ thuật của từng bước trong quy trình nhân vô tính cây Lô hội bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* nhằm tạo ra số lượng lớn cây giống Lô hội theo kiểu công nghiệp để phục vụ cho các vùng trồng cây Lô hội nguyên liệu.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống cây Lô hội dòng *Aloe vera* Linne. Sinensis. Berger (người dân thường gọi là cây Lô hội lá nhỏ) được cung cấp từ Viện nghiên cứu cây dược liệu Trung ương.

Vật liệu ban đầu được sử dụng cho kỹ thuật nhân giống *in vitro* là chồi đỉnh của cây Lô hội trong vườn ươm vụ xuân 2007.

Đây là cây Lô hội được chọn lọc trong điều kiện tự nhiên, cây khỏe mạnh, không có triệu chứng nhiễm virus.

Các chất điều tiết sinh trưởng được sử dụng trong nghiên cứu thuộc hai nhóm: auxin (-NAA, IBA) và xytokinin (BAP, kinetin), với các nồng độ BAP và kinetin từ 0,5 ppm đến 3,0 ppm, - IAA có nồng độ từ 0,2 ppm đến 1,0 ppm. Ngoài ra, nghiên cứu còn sử dụng than hoạt tính.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Các phương pháp nghiên cứu hiện hành đối với kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào đã được sử dụng: Môi trường dinh dưỡng MS (Muraskige & Skoog, 1968) với 30g/l đường saccarozơ và 6,5 g/l agar; Chỉnh pH môi trường 5,8 - 6,0; Pha chế môi trường nuôi cấy trong bình trụ với 20 - 35 ml/bình tùy theo từng thí nghiệm; Hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1,0 atm trong 20 phút. Giai đoạn *in vitro* được thực hiện trong phòng vô trùng thuộc bộ môn Sinh lý thực vật, khoa Nông học. Cây được đặt trong buồng nuôi có dàn đèn chiếu sáng với cường độ 2000 lux, nhiệt độ 27°C - 30°C. Giai đoạn sau *in vitro* được thực hiện trong vườn ươm thuộc nhà lưới, khoa Nông học. Các mẫu cấy được lấy ở các thời vụ khác nhau trong năm: mùa xuân (3/2007), mùa hè (6/2007), mùa thu (9/2007) và mùa đông (12/2007), được khử trùng bằng 0,1% HgCl₂ trong 7 phút và cấy vào môi trường dinh dưỡng.

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên hoàn toàn (RCD), lặp lại từ 3 - 5 lần tùy theo từng thí nghiệm. Giai đoạn *in vitro*, mỗi lần lặp lại từ 8 - 10 bình, mỗi bình có từ 3 - 5 mẫu cấy tùy theo từng thí nghiệm. Giai đoạn sau *in vitro*, mỗi lần lặp lại từ 20 - 30 cây. Tiến hành theo dõi các chỉ tiêu thông thường trong lĩnh vực nuôi cấy *in vitro*: tỷ lệ mẫu nhiễm, tỷ lệ mẫu sống, tỷ lệ mẫu bật chồi (giai đoạn tạo vật liệu khởi đầu); hệ số nhân, chiều cao chồi, số lá, trạng thái chồi (giai đoạn nhân nhanh); tỷ lệ ra rễ, số rễ, chiều dài rễ (giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh); tỷ lệ cây sống, chiều cao, số lá (giai đoạn sau *in vitro*).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kỹ thuật tạo vật liệu khởi đầu *in vitro*

3.1.1. Ảnh hưởng của phương thức và thời lượng khử trùng đến hiệu quả tạo vật liệu khởi đầu *in vitro* cây Lô hội

Để loại bỏ các vi sinh vật, trong kỹ thuật khử trùng mẫu trước khi cấy vào môi trường, có thể dùng nhiều loại chất khử trùng khác nhau như NaOCl, Ca(OCl)₂, H₂O₂, HgCl₂ ... Trong thí nghiệm này, chất khử trùng là 0,1% HgCl₂ được sử dụng là chất khử trùng rất có hiệu quả cho nhiều đối tượng cây trồng khác nhau. Tuy nhiên, mỗi loại đối tượng cây trồng cần nghiên cứu về chế độ khử trùng thích hợp. Vì vậy, hai phương thức khử trùng (đơn và kép) được so sánh với thời gian khử trùng khác nhau trên mẫu nuôi cấy là chồi đỉnh của cây Lô hội.

Kết quả thu được cho biết thời gian và phương thức khử trùng (đơn và kép) có ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ mẫu sống và bật chồi. Tỷ lệ mẫu sống và bật chồi tăng từ (9,8 %) ở công thức 1 đến (68,5 %) ở công thức 3 khi tăng thời gian khử trùng từ 3 phút đến 7 phút với phương thức khử trùng đơn. Tỷ lệ mẫu nhiễm giảm dần, tỷ lệ mẫu chết và tỷ lệ mẫu sống bật chồi tăng dần theo chiều tăng của tổng lượng thời gian khử trùng từ 3 phút, 5 phút đến 7 phút (lần lượt: 7,5 %; 21,3 % và 66,8 %) với phương thức khử trùng kép. Tuy nhiên, hiệu quả khử trùng khác nhau không đáng kể giữa hai phương thức, tỷ lệ mẫu sống và bật chồi là 68,5 % và 66,8 % (Bảng 1).

Như vậy, đối với mẫu chồi cây Lô hội nên sử dụng phương pháp khử trùng đơn 7 phút trong 0,1% HgCl₂ cho hiệu quả khử trùng cao. Tỷ lệ mẫu sống bật chồi đạt 68,5%.

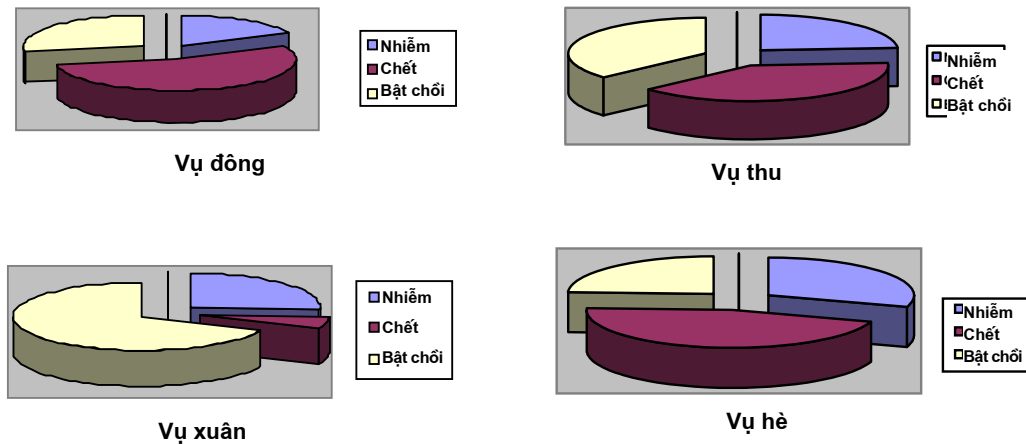
Bảng 1. Ảnh hưởng của phương thức và thời lượng khử trùng đến tỷ lệ sống của mẫu cây Lô hội (10 ngày sau cấy)

Công thức	Thời gian khử trùng (phút)		Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu bật chồi (%)
	Lần 1	Lần 2			
1	3	0	90,2	0	9,8
2	5	0	74,5	0	25,5
3	7	0	25,8	5,7	68,5
4	2	1	92,5	0	7,5
5	3	2	75,3	3,4	21,3
6	4	3	10,0	23,2	66,8

3.1.2. Ảnh hưởng của thời vụ lấy mẫu đến khả năng tái sinh chồi Lô hội

Các thời vụ trong năm khác nhau thì trạng thái sinh trưởng phát triển của cây trồng cũng khác nhau và điều này sẽ ảnh hưởng đến khả năng phát sinh chồi của

mẫu cấy. Tỷ lệ mẫu sống bật chồi cao nhất khi lấy mẫu ở thời điểm vụ xuân (68,5%) và thấp nhất là vào thời điểm vụ hè (24,3%). Như vậy, khả năng mẫu tái sinh tạo chồi phụ thuộc nhiều vào thời điểm lấy mẫu trong năm (Hình 1).



Hình 1. Ảnh hưởng của thời vụ lấy mẫu đến khả năng tái sinh chồi mẫu cây Lô hội

3.2. Kỹ thuật nhân nhanh chồi Lô hội *in vitro*

Trong quy trình nhân giống *in vitro*, giai đoạn nhân nhanh quyết định hiệu quả của quá trình nhân giống vô tính. Để có được hệ số nhân giống cao, đồng nhất, cây có trạng thái sinh trưởng tốt thì việc xác định môi trường nhân nhanh thích hợp là quan trọng.

Chất điều tiết sinh trưởng xytokinin đóng vai trò quan trọng trong việc điều khiển sự tái sinh mẫu cây theo hướng tạo chồi làm tăng hệ số nhân. Đặc biệt, việc phối hợp các chất điều tiết sinh trưởng một cách hợp lý lại tỏ ra hiệu quả hơn so với

khi sử dụng riêng rẽ. Những nghiên cứu của Miller và Skoog (1963) cho thấy các điều tiết sinh trưởng ngoại sinh còn phối hợp các chất điều tiết sinh trưởng nội sinh trong việc phân hóa và biệt hoá các tế bào

3.2.1. Ảnh hưởng của BAP (Benzyl Adenin Purin) và kinetin (Ki) đến khả năng nhân nhanh chồi Lô hội *in vitro*

Trong nhóm chất xytokinin, BAP và kinetin là các chất thường được sử dụng trong lĩnh vực nuôi cấy mô tế bào giai đoạn nhân nhanh vì chúng có vai trò là thúc đẩy sự phân hóa chồi của mẫu nuôi cấy, quyết định hệ số nhân và chất lượng chồi hình thành.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP và Kinetin (Ki) đến khả năng nhân nhanh chồi Lô hội (sau 3 tuần nuôi cấy)

Nồng độ (ppm)	BAP					Kinetin				
	Phát sinh chồi (%)	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao Tb/ chồi (cm)	Số lá Tb/ chồi (lá)	Trạng thái chồi (*)	Phát sinh chồi (%)	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao Tb/ chồi (cm)	Số lá Tb/ chồi (lá)	Trạng thái chồi (*)
0	25	1,1a	2,7a	2,3	Kém	25	1,0a	2,7b	2,5	Kém
0,5	100	1,9b	2,9b	3,2	T bình	100	2,6bc	2,8bc	3,0	Kém
1,0	100	2,5c	3,0bc	3,1	T bình	100	2,7c	2,9c	3,4	T bình
1,5	100	2,8cd	3,1c	3,5	Tốt	100	2,9d	2,9c	4,1	T bình
2,0	100	3,1d	3,7d	3,4	Tốt	100	2,6c	2,8bc	3,5	T bình
2,5	100	3,7e	3,8d	5,3	Tốt	100	2,3bc	2,5ab	3,1	T bình
3,0	100	3,5e	3,3d	4,6	T bình	100	2,1b	2,2a	3,0	Kém

(*) Kém : Chồi gầy, lá xanh nhạt ; Trung bình : chồi mập, lá xanh nhạt ; Tốt : chồi mập, lá xanh đậm

Các công thức bổ sung nhóm chất xytokinin (BAP, Ki) đều cho tỷ lệ phát sinh chồi đạt 100% so với công thức đối chứng chỉ đạt 25% ở cả hai chất BAP và Ki. Đối với BAP thì hệ số nhân tăng lên cùng với chiều tăng của nồng độ từ 0,5 đến 2,5 ppm (hệ số nhân đạt cao nhất 3,7 lần), khả năng sinh trưởng phát triển của chồi cũng tăng lên cùng chiều tăng nồng độ đến 2,5 ppm, chiều cao chồi dao động 2,7 cm đến 3,8 cm với 2,3 - 5,3 lá/chồi và trạng thái chồi cũng đạt loại tốt. Nếu tăng tiếp nồng độ đến 3,0 ppm BAP thì các chỉ tiêu theo dõi đều có xu hướng giảm xuống. Trong khi đó đối với kinetin thì hệ số nhân tăng lên đến nồng độ 1,5 ppm (2,9 lần), sau đó giảm xuống khi nồng độ tăng tiếp đến 3,0 ppm (2,1 lần). Khả năng sinh trưởng phát triển của chồi cũng theo quy luật tăng lên đến nồng độ 1,5 ppm với chiều cao 2,9 cm và 2,9 lá/chồi, sau đó giảm xuống 2,1 cm với 2,2 lá/chồi. Đối với trạng thái chồi thì tất cả các công thức bổ sung kinetin đều có trạng thái chồi ở mức kém đến trung bình (Bảng 2).

Như vậy, môi trường có bổ sung 2,5 ppm BAP là thích hợp nhất đối với chồi Lô hội, cho hệ số nhân cao và chất lượng chồi tốt.

3.2.2. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và β - IAA đến khả năng nhân nhanh chồi Lô hội *in vitro*

Tổ hợp giữa 2,5 ppm BAP với 0,2 - 1,0 ppm β - IAA không có sự sai khác có ý nghĩa ở các công thức nghiên cứu trong tất cả các chỉ tiêu theo dõi. Thậm chí công thức bổ sung BAP với 0,2 và 0,4 ppm β - IAA còn làm cho hệ số nhân giảm chút ít so với đối chứng. Chỉ tiêu về chiều cao cây thì giảm đáng kể so với công thức đối chứng (công thức thí nghiệm chiều cao cây dao động từ 3,0 cm - 3,5 cm, công thức đối chứng là 3,8 cm), Trạng thái cây đạt mức từ trung bình đến tốt (Bảng 3).

Như vậy, đối với chồi lô hội việc bổ sung hỗn hợp BAP với β - IAA không có tác dụng làm tăng hệ số nhân và chất lượng chồi *in vitro*.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và β - β IAA đến khả năng nhân nhanh chồi Lô hội *in vitro* (sau 3 tuần nuôi cấy)

Chất điều tiết sinh trưởng (ppm)		Mẫu phát sinh chồi (%)	Hệ số nhân (lần) (*)	Chiều cao chồi (cm) (*)	Số lá /chồi (lá)	Trạng thái chồi (**)
BAP	β - IAA					
2,5	0	100	3,7c	3,8d	5,3	Tốt
2,5	0,2	100	3,4a	3,0a	3,8	T Bình
2,5	0,4	100	3,5b	3,2b	4,2	T bình
2,5	0,6	100	3,7c	3,2b	4,3	T bình
2,5	0,8	100	3,7c	3,5c	4,3	Tốt
2,5	1,0	100	3,7c	3,0a	4,3	Tốt

(*) Giá trị trung bình trong mỗi cột có mang chữ khác nhau là có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

(**) Kém : Chồi gầy, lá xanh nhạt; Trung bình : chồi mập, lá xanh nhạt; Tốt : chồi mập, lá xanh đậm.

3.3. Kỹ thuật ra rễ tạo cây hoàn chỉnh cây Lô hội *in vitro*

Chồi lô hội trong giai đoạn nhân nhanh, ngoài một số ít các chồi tự hình thành rễ, còn lại hầu hết đều chưa có rễ. Vì vậy, nghiên cứu nhằm xác định môi trường ra rễ thích hợp cho chồi cây lô hội.

3.3.1. Ảnh hưởng của α - NAA và IBA tới khả năng ra rễ cây Lô hội *in vitro*

α - NAA và IBA đều thuộc nhóm auxin ngoại sinh có khả năng kích thích sự ra rễ bất định nên thường được sử dụng trong lĩnh vực nhân giống vô tính cây trồng bằng giâm cành, chiết cành và ra rễ *in vitro* (vi giâm cành).

Trong thí nghiệm này, môi trường được bổ sung vào môi trường α - NAA và IBA với nồng độ dao động từ 0,1 – 0,7 ppm và so sánh với công thức đối chứng.

Bảng 4. Ảnh hưởng của α -NAA và IBA tới khả năng ra rễ cây Lô hội *in vitro* (sau 2 tuần nuôi cấy)

Nồng độ (ppm)	α -NAA				IBA			
	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ TB/cây (rễ) (*)	Chiều dài TB rễ (cm)	Màu sắc rễ	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ TB/cây (rễ) (*)	Chiều dài TB rễ (cm)	Màu sắc rễ
0	5,2	2,3	1,5	Trắng	5,1	2,3	1,6	Trắng
0,1	32,7	2,8a	3,5	Trắng	30,4	3,0a	3,6	Trắng
0,3	48,6	3,5b	4,0	Vàng	51,2	3,7b	4,2	Trắng
0,5	79,1	4,7d	4,5	Vàng	89,1	5,1c	4,5	Vàng
0,7	66,7	4,2c	4,2	Vàng	66,7	4,0bc	4,1	Trắng

(*) Giá trị trung bình trong mỗi cột có mang chữ khác nhau là có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)
TB: trung bình

Các công thức bổ sung α -NAA và IBA ở các nồng độ khác nhau đều cho khả năng ra rễ tốt hơn so với công thức đối chứng cả về tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ/chồi, chiều dài rễ. Với các công thức bổ sung α -NAA, khả năng ra rễ tăng theo xu hướng tăng nồng độ α -NAA từ 0,1 đến 0,5 ppm sau đó nếu tăng nồng độ α -NAA lên tiếp 0,7 ppm thì khả năng ra rễ lại giảm xuống. Như vậy nồng độ 0,5 ppm α -NAA cho khả năng ra rễ cao nhất. Tỷ lệ ra rễ đạt 79,1% với số rễ trung bình/chồi là 4,7 rễ và chiều dài trung bình 4,5 cm. Các công thức bổ sung IBA cũng có xu hướng tương tự như đối với α -NAA, tức là khả năng ra rễ đạt cao nhất ở nồng độ 0,5 ppm IBA. Tỷ lệ ra rễ đạt 89,1% với 5,1 rễ và chiều dài trung bình 4,5 cm (Bảng 4).

Đối với cây Lô hội *in vitro* khi rễ cây có màu ngà vàng, rễ sẽ có độ mềm và dẻo hơn

so với rễ màu trắng, điều này sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho giai đoạn ra cây. Trong thí nghiệm này, ở công thức 0,5 ppm α -NAA hoặc IBA đều có rễ màu ngà vàng.

Như vậy để tạo cây hoàn chỉnh *in vitro* chồi Lô hội có thể sử dụng 0,5 ppm α -NAA hoặc IBA đều cho khả năng ra rễ cao và chất lượng rễ tốt.

3.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng than hoạt tính (THT) tới khả năng ra rễ tạo cây Lô hội *in vitro* hoàn chỉnh

Than hoạt tính được sử dụng rộng rãi như một tác nhân có tác dụng kích thích sự ra rễ và cải thiện chất lượng bộ rễ cho cây *in vitro*, đặc biệt là trên các đối tượng “khó tính” với các chất điều tiết sinh trưởng (Lê Trần Bình và cs, 1997).

Bảng 5. Ảnh hưởng của hàm lượng than hoạt tính (THT) tới khả năng ra rễ của cây Lô hội *in vitro* (sau 2 tuần nuôi cấy)

Hàm lượng THT (g/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ TB/cây (rễ)	Chiều dài TB rễ (cm)	Hình thái rễ
0	75,1	2,8a	1,5	Trắng
1,0	97,4	3,9b	3,5	Nâu vàng
1,5	100	5,5c	4,2	Nâu vàng
2,0	100	5,1c	4,1	Nâu vàng
2,5	92,8	4,2b	4,2	Trắng

TB: trung bình

Kết quả thí nghiệm ở bảng 5 cho thấy:

Trong môi trường có bổ sung THT hàm lượng từ 1,0 g/l đến 2,5 g/l thì khả năng hình thành rễ của chồi lô hội lớn hơn so với môi trường đối chứng cả về tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ/cây, chiều dài Tb/rễ và hình thái rễ.

Trong đó, môi trường có hàm lượng than hoạt tính 1,5 - 2,0 g/l cho khả năng ra rễ đạt cao nhất. Tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100%, số rễ trung bình/cây đạt cao nhất (5,1 - 5,5 rễ/cây), chiều dài rễ đạt hơn 4 cm và rễ có màu nâu vàng, trạng thái rễ khỏe.

3.4. Kỹ thuật ra cây Lô hội *in vitro* ngoài vườn ươm (sau ống nghiệm)

Ở giai đoạn trong ống nghiệm, cây con được sinh trưởng trong môi trường có đầy đủ các chất dinh dưỡng (tự dưỡng), có độ ẩm bão hòa và nhiệt độ thích hợp nên cây sinh trưởng phát triển thuận lợi. Giai đoạn tiếp theo, cây được đưa ra trồng ngoài điều kiện tự nhiên trong vườn ươm (dị dưỡng),

do cây phải chịu sự tiếp xúc trực tiếp của điều kiện ngoại cảnh tự nhiên nên cây dễ dàng bị “sốc” và gây chết. Vì vậy, giai đoạn sau nuôi cấy mô là quan trọng vì sẽ quyết định đến khả năng ứng dụng phương pháp nhân cây *in vitro* vào thực tiễn sản xuất.

3.4.1. Ảnh hưởng của thời vụ ra cây đến tỷ lệ sống và sinh trưởng phát triển của cây Lô hội ngoài vườn ươm

Bảng 6. Ảnh hưởng của thời vụ ra cây đến tỷ lệ sống của cây Lô hội giai đoạn vườn ươm (sau 60 ngày) (*)

Thời vụ	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao trung bình/cây (cm)	Số lá trung bình/cây (lá) (**)
Vụ thu	78,4	14,7 a	7,0 a
Vụ đông	76,2	15,3 a	7,5 a
Vụ xuân	85,7	15,9 a	8,5 b
Vụ hè	65,6	14,8 a	7,3 a

(*) Ra cây trên giá thể cát mịn trong nhà lưới có mái che;

(**) Giá trị trung bình trong cột có mang chữ khác nhau là có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

TB: trung bình

Khi cây Lô hội có chiều cao khoảng 5 -7 cm với 4 - 5 lá, chúng được ra cây với các thời vụ: vụ xuân (3/2007), vụ hè (6/2007), vụ thu (9/2007) và vụ đông (12/2007). Các thời vụ trong năm khác nhau có tỷ lệ sống khác nhau, dao động từ 65,6% đến 85,7%. Sau 60 ngày, cây đạt chiều cao từ 14,7 cm đến 15,9 cm với số lá từ 7,0 lá đến 8,5 lá/cây (Bảng 6). Trong các thời vụ, vụ xuân ra cây thích hợp nhất với tỷ lệ sống đạt 85,7%, chiều cao cây 15,9 cm với 8,65 lá/cây. Vụ hè ra cây đạt tỷ lệ sống thấp nhất (65,6%).

3.4.2. Ảnh hưởng của giá thể ra cây đến tỷ lệ sống và sinh trưởng phát triển của cây lô hội ngoài vườn ươm

Trong thực tế có nhiều loại giá thể ra cây khác nhau như các loại giá thể hữu cơ (xơ dừa, vỏ cây, bã mía, trấu hun...) và các loại giá thể vô cơ (cát, sỏi, pellet...).

Mỗi loại giá thể có độ tơi xốp, độ thoáng khí và độ ẩm khác nhau nên thích hợp cho các loại cây trồng cũng khác nhau.

Bảng 7. Ảnh hưởng của giá thể ra cây đến tỷ lệ sống của cây giai đoạn vườn ươm (sau 60 ngày) (*)

Giá thể	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao Tb/cây (cm)	Số lá Tb/cây (lá) (**)
Trấu hun	50,4	13,0 a	7,0 a
Cát mịn	81,4	15,5 b	7,8 b
Trấu hun + cát mịn (1 : 1)	71,5	13,6 a	6,2 a

(*) Thí nghiệm được thực hiện vào vụ xuân

(**) Giá trị trung bình trong cột có mang chữ khác nhau là có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Trong thí nghiệm này, các giá thể là trấu hun, cát mịn và phối hợp giữa trấu hun + cát mịn với tỷ lệ 1:1. Cây Lô hội *in vitro* có cùng trạng thái sinh trưởng nhưng ra cây trên các

giá thể khác nhau thì tỷ lệ sống và khả năng sinh trưởng phát triển khác nhau. Trong đó, giá thể cát mịn là thích hợp hơn cả về tỷ lệ sống và sinh trưởng phát triển của cây.

Tỷ lệ sống trong giá thể cát mịn đạt được 81,4%, trong khi giá thể trấu hun + cát mịn có tỷ lệ sống là 71,5% và giá thể trấu hun có tỷ lệ sống thấp nhất (50,4%).

Sinh trưởng phát triển của cây Lô hội trong giá thể cát mịn cũng đạt cao hơn. Sau 60 ngày, chiều cao đạt 15,5 cm và 7,8 lá/cây.

4. KẾT LUẬN

Kỹ thuật tạo vật liệu khởi đầu *in vitro* nên sử dụng mẫu lấy ở vụ xuân và khử trùng đơn trong dung dịch HgCl₂ 0,1% trong thời gian 7 phút cho hiệu quả khử trùng tốt, tỷ lệ mẫu sống và bật chồi cao (68,5%).

Môi trường thích hợp cho nhân nhanh chồi Lô hội *in vitro* là môi trường MS bổ sung 2,5mg/l BAP, có hệ số nhân cao (5,3 lần), chất lượng chồi tốt. Môi trường có kinetin và hỗn hợp BAP với β - IAA đều không có tác dụng làm tăng hệ số nhân và chất lượng chồi *in vitro*.

Bổ sung 0,5 ppm α -NAA hoặc IBA vào môi trường cho tỷ lệ ra rễ cao (79,1 - 89%). Môi trường có than hoạt tính 1,5 - 2,0 g/l cho khả năng ra rễ đạt cao nhất. Tỷ lệ ra rễ đạt 100%, chất lượng rễ tốt.

Giá thể ra cây Lô hội *in vitro* thích hợp là cát mịn. Cây ra ngôi trên giá thể này tỷ lệ sống đạt 81,4%, cây sinh trưởng phát triển tốt. Thời vụ không ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả ra cây Lô hội *in vitro*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anshoo, G., S., Singh S. et al., (2005). Protective effect of *Aloe vera* L. gel against sulphur mustard - induced systemic toxicity and skin lesions. *Indian Journal of Pharmacology*. 6: 23-29.
- Afzal, M., Ali, M., Hassan, R.A.H., Sweedan, N., Dhami, M.S.I. (1991). Identification of some prostanoids in *Aloe vera* extracts. *Planta Medica*. 57: 38-40.
- Aggarwal, D., Barna, K.S. (2004). Tissue culture propagation of elite plant of *Aloe vera* Linn. *J. Biochem. Biotech*. 13: 77-79.
- Lê Trần Bình, Hồ Hữu Nhi, Lê Thị Muội (1997). Công nghệ sinh học thực vật trong cải tiến giống cây trồng. NXB Nông nghiệp, tr. 71.
- Liao, Z., Chen, M. et al., (2004). Micropropagation of endangered Chinese *aloe*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 76 (1): 83-86.
- Đỗ Thanh Hội (1977). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB Khoa học kỹ thuật, tr.102 -107.
- Võ Thanh Thái (1962). Tác dụng của Lô hội đối với vết thương và áp xe, Y học thực hành. NXB Tp. Hồ Chí Minh. Tr. 26-28.
- Mạnh Tùng (2004). Báo cáo cây Lô hội. Tặng phẩm từ thiên nhiên, số 32, Báo người Lao Động.
- www.Vietnamnet.vn. Nhân giống cây Lô hội bằng nuôi cấy mô tế bào (19/11/2006).