

ẢNH HƯỞNG PHỐI HỢP CỦA BA VÀ NAA TỚI SỰ HÌNH THÀNH CHỒI TRONG QUÁ TRÌNH NHÂN GIỐNG NHA ĐAM (*Aloe vera* L.) THÔNG QUA KỸ THUẬT LỚP MỎNG TẾ BÀO (*Thin cell layer*)

COMBINATION EFFECT OF BA AND NAA ON SHOOT FORMATION OF IN VITRO PROPAGATION FOR ALOE VERA (*Aloe vera* L.) BY USING THIN CELL LAYER METHOD

Lưu Thị Thanh Thất¹, Bùi Văn Lệ², Bùi Minh Trí³

¹Khoa Nông học, Trường Cao đẳng Công nghiệp Cao su;

²Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Tp.HCM;

³Trung tâm PTTN. Hóa Sinh, Đại học Nông Lâm Tp.HCM

ABSTRACT

Aloe vera L. is known as one of precious medicinal plants. It has been used in Vietnam traditional remedies. *In vitro* propagation of *Aloe vera* play a very important role for cultivation of this plant in a larger scale. Thus, our effort was to establish propagation protocol for *in vitro* propagation for *Aloe vera* through Thin Cell Layer (TCL) method. The combination effect of BA and NAA was compared in this experiment. The result showed that MS medium containing a combination of 5 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA was the best for shoot formation (3.76 shoots/sample). Highest shoot formation in the explant were obtained on MS medium containing a combination of 0.5 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA (90 % and 19.83 shoots/sample). The highest height and number of leaves per shoot obtained on MS medium containing 1.5 mg/l BA. In this medium, shoots reached a height of 4.31 cm and had 4.81 leaves.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Nha đam (*Aloe vera* L) hiện nay được sử dụng trên khắp thế giới để trị nhiều bệnh như viêm da, ung thư. Chất gel của cây nha đam được sử dụng nhiều nhất là làm thuốc bôi da, thuốc chữa những vết bỏng nhỏ, những chỗ trầy xước, viêm loét miệng và những tổn thương biểu mô khác (Kathi J. Kemper và Victoria Chiou, 1999).

Trong những năm qua, các nhà nghiên cứu thường quan tâm nhiều nhân giống *in vitro* các cây công nghiệp (mía, cà phê), cây lâm nghiệp (keo lai, thông caribê), cây cảnh (hoa lan các loại),... những cây được liệt kê còn ít được quan tâm. Với những công dụng to lớn của cây nha đam và nhu cầu về cây giống tốt cho sản xuất, nhằm cung cấp những cây đầu dòng có chất lượng cao với số lượng lớn trong thời gian ngắn, đồng thời với nhu cầu áp dụng một kỹ thuật mới, có nhiều triển vọng, tôi đã tiến hành thực hiện đề tài: “**Ảnh hưởng phối hợp của BA và NAA tới sự hình thành chồi trong quá trình nhân giống Nha đam (*Aloe***

vera L.) thông qua kỹ thuật lớp mỏng tế bào (*Thin cell layer*)”.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Đối tượng nghiên cứu

Đề tài thực hiện với giống Nha đam Mỹ năm 2005 tại Trường Đại học Tự Nhiên Tp. Hồ Chí Minh.

Mẫu cấy từ ngoài môi trường được xử lý Javel ở nồng độ 1/2 trong 25 phút sau đó những mẫu sống không nhiễm được chuyển sang môi trường MS có bổ sung 5 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA để kích thích sự phát triển của chồi ngủ. Sau đó được cắt mỏng và cấy trên môi trường thí nghiệm sự tái sinh chồi.

Nội dung nghiên cứu

Xác định nồng độ BA và NAA phù hợp cho sự tái sinh chồi từ lớp mỏng tế bào của cây Nha đam (*Aloe vera* L.).

Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (Completely Randomized Design, CRD) có 2 yếu tố, 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại cấy 10 mẫu.

- Yếu tố A: 4 mức nồng độ BA (0,1; 0,3; 0,5; 1 mg/l)

- Yếu tố B: 3 mức nồng độ NAA (0; 0,1; 0,3 mg/l)

* Phương pháp tiến hành: cắt phần rễ, thân, lá của cây nha đam *in vitro* thành những lát mỏng có kích thước 0,5 – 1 mm, sau đó được đặt vào đĩa petri có chứa 20 ml môi trường MS có bổ sung BA và NAA theo từng nồng độ khảo sát, rồi dùng dây farafin bọc kín đĩa lại. Mỗi đĩa cấy 10 mẫu rễ, 10 mẫu thân và 10 mẫu bẹ lá (tổng cộng là 30 mẫu/đĩa).

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các nồng độ BA kết hợp NAA tới sự phát sinh chồi cây Nha đam

STT	NGHIỆM THỨC		Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu (chồi)
	BA (mg/l)	NAA (mg/l)		
C ₁	0,1	0	10,00	1,000
C ₂	0,1	0,1	6,670	1,000
C ₃	0,1	0,3	23,33	4,310
C ₄	0,3	0	33,33	1,860
C ₅	0,3	0,1	40,00	3,830
C ₆	0,3	0,3	33,33	3,440
C ₇	0,5	0	30,00	3,530
C ₈	0,5	0,1	90,00	19,83
C ₉	0,5	0,3	30,00	4,710
C ₁₀	1	0	20,00	3,670
C ₁₁	1	0,1	46,67	2,690
C ₁₂	1	0,3	40,00	2,230

* Chỉ tiêu theo dõi: sau 2 tuần, 4 tuần nuôi cấy

- Tỷ lệ % mẫu cấy tạo chồi
- Số chồi/mẫu

KẾT QUẢ

Áp dụng kỹ thuật lớp mỏng tế bào (TCL), các mẫu được cắt với một lớp rất mỏng (từ 0,5 – 1 mm), do đó thời gian cảm ứng và nồng độ cảm ứng của mẫu trong các thí nghiệm là rất ngắn và thấp. Ngoài ra, phương pháp này còn có triển vọng sẽ cho hệ số nhân cao hơn nhiều so với phương pháp *in vitro*. Ở hầu hết các nghiệm thức chỉ sau 5 ngày nuôi cấy, những mẫu có khả năng hình thành chồi đã có phản ứng sùi lên. Đặc biệt là ở nghiệm thức 8 (bổ sung 0,5 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA).

Kết quả thí nghiệm cho thấy:

Tỷ lệ mẫu tạo chồi từ lớp mỏng thân giữa các nghiệm thức có sự sai khác nhau rất lớn. Đặc biệt là ở nghiệm thức có bổ sung 0,5 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA (90%). Ở nghiệm thức này cũng cho số chồi trung bình trên mẫu đạt cao nhất (19,83 chồi/mẫu). Nhìn chung ở các nghiệm thức bổ sung nồng độ BA thấp (0,1 mg/l) đều có tỷ lệ tái sinh chồi và số chồi trên mẫu thấp. Như vậy nồng độ BA thấp chưa đủ để tác dụng lên sự phân hóa hình thành chồi. Ngược lại ở những nồng độ BA cao (1 mg/l), mặc dù có tỷ lệ tạo chồi cao hơn nhưng số chồi

hình thành trên một mẫu lại thấp, có thể là do với kích thước rất mỏng của mẫu thì những nồng độ này lại là quá cao do đó nó có thể gây độc hoặc kìm hãm sự phân hoá và tăng trưởng của chồi.

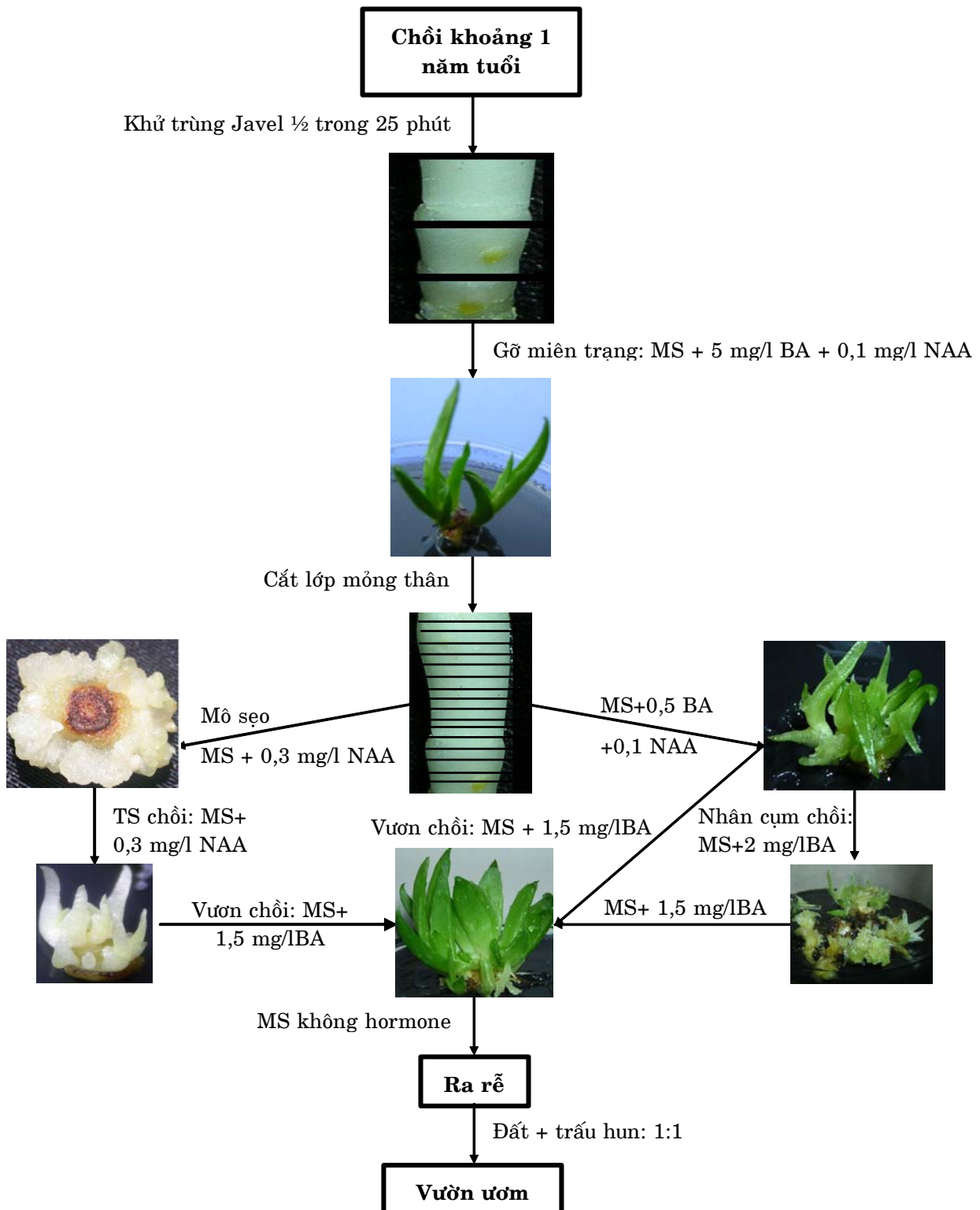
Vậy, môi trường thích hợp nhất cho sự tái sinh chồi từ lớp mỏng thân là môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA.

Khi tiến hành thí nghiệm này, tôi cũng đã thử khả năng tái sinh chồi từ lớp mỏng của rễ và lá cây nha đam, xong kết quả cho thấy các mẫu được cắt từ rễ và lá đều không có khả năng tạo chồi. Các mẫu rễ đều bị hóa đen rồi chết. Còn một số mẫu lá thì có phản ứng phồng lên, quăn lại hoặc sinh trưởng kéo dài chứ không hề có dấu hiệu phản ứng tạo chồi.

KẾT LUẬN

Để nâng cao hệ số nhân giống của cây Nha Đam, sau khi khử mẫu, kích thích nảy chồi thì các chồi này sẽ được cắt thành những lát mỏng (từ 0,5 – 1 mm) sau đó nuôi cấy trong môi trường MS chứa 0,5 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA. Trên môi trường này, tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 90 % và trung bình 19,83 chồi trên một mẫu.

Qua thí nghiệm cho thấy, cây Nha đam Mỹ có thể được nhân giống bằng phương pháp lớp mỏng tế bào theo quy trình sau (hình 1).



Hình 1. Quy trình nhân giống đẻ nghị để nhân giống cây nha đam thông qua kỹ thuật tế bào lớp mỏng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Bá Huy Cường, 2004. *Nha đam – một dược liệu quý*. <http://www.ykhoa.net/skds/THUOC/76-08.html>. 2 trang

Nguyễn Văn Phong, 2004. *So sánh năng suất, hiệu quả, chất lượng của một số giống lô hội trên đất phèn*. Báo cáo kết quả thực hiện mô hình thực nghiệm của Trung tâm nghiên cứu KHKT và khuyến nông Tp. Hồ Chí Minh. 8 trang

Bùi Trang Việt, 2000. *Sinh lý thực vật đại cương – phần II*. NXB Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh, 333 trang.

Meyer H.J. and Van Staden J., 1991. *Rapid in vitro propagation of Aloe barbadensis* Mill. *Plant – Cell – Tissue – Organ - Culture* 26: pp 167 – 171.

Zeng S., Peng X., 2000. *Tissue culture and rapid propagation of Aloe arborescens*.

Zhong Yao Cai 23, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510520. pp 63 – 65.

Zhihua Liao, Min Chen et al., 2004. *Micropropagation of endangered Chinese aloe*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Volume 76, Number 1. pp 83 – 86.