

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CÂY HOA TIỀN (*Asarum glabrum* Merr.) BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CẤY *IN VITRO*

Cao Thị Việt Nga¹, Nguyễn Thị Như Quỳnh¹, Nguyễn Thị Thơ¹, Vũ Quang Nam^{1,*}

¹ Trường Đại học Lâm nghiệp

* Email: namvq@vnuf.edu.vn

TÓM TẮT

Hoa tiên (*Asarum glabrum* Merr.), họ Mộc hương (Aristolochiaceae) là loài cây thảo có tác dụng dùng làm thuốc ho, thuốc viêm họng và thuốc bổ,... Hoa tiên có khu phân bố rộng, nhưng mức độ phân bố rải rác, điều này dẫn đến khả năng tái sinh bằng hạt của loài kém... Chính vì vậy, Hoa tiên được xếp hạng sẽ nguy cấp (VU A1c,d) trong Sách Đỏ Việt Nam (2007). Kết quả nghiên cứu cho thấy, các đoạn nhánh Hoa tiên được khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% trong 7 phút cho tỷ lệ mẫu sạch đạt 81,11% và tỷ lệ mẫu sạch bật chồi đạt 77,78%, thời gian bật chồi là 28 ngày. Chồi Hoa tiên được nhân nhanh trên môi trường MS bổ sung 0,9 mg/l thidiazuron (TDZ), 30 g/l đường sucrose, 7 g/l agar cho 100% mẫu tạo đa chồi, hệ số nhân chồi trung bình đạt 9,13 lần và chiều cao chồi trung bình đạt 3,9 cm. Bổ sung α -NAA ở nồng độ 1,75 mg/l và IBA ở nồng độ 0,5 mg/l vào môi trường MS cho 86,67% chồi ra rễ, số rễ trung bình là 2,77 và chiều dài rễ trung bình đạt 0,65 cm. Kết quả cho thấy, khả năng ứng dụng phương pháp nuôi cấy *in vitro* vào nhân giống cây Hoa tiên, tạo ra số lượng cây giống lớn, chất lượng cao cung ứng cho nhu cầu trồng và phát triển loài cây dược liệu quý này.

Từ khóa: *Asarum glabrum*, *Aristolochiaceae*, bảo tồn, Hoa tiên, *in vitro*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa tiên (*Asarum glabrum* Merr.), họ Mộc hương (Aristolochiaceae) là loài cây thảo sống nhiều năm, cao 20 - 30 cm; thân rễ tròn có đốt, mang nhiều rễ phụ dài, có thể phân nhánh; lá mọc so le, phiến lá mỏng, gốc hình tim, đầu nhọn, có lông phần gân ở mặt dưới của lá. Rễ và thân rễ của chúng dùng làm thuốc ho, chữa viêm họng, hoa làm thuốc bổ [1, 2]. Ngoài phân bố ở Trung Quốc (Quảng Đông, Giang Tây, Hồ Nam, Hồ Bắc), chúng còn có phân bố tự nhiên tại một số tỉnh ở miền Bắc của Việt Nam như: Lai Châu, Lào Cai, Hà Giang, Tuyên Quang, Thái Nguyên, Vĩnh Phúc, Quảng Ninh, Hà Nội [1, 3, 4]. Nhìn chung, Hoa tiên là loài đặc biệt ưa ẩm, ưa bóng; thường mọc trên đất nhiều mùn dọc theo hành lang khe suối, dưới tán rừng kín thường xanh ẩm, ở độ cao 1.000 - 1.600 m so với mực nước biển [1]. Tuy Hoa tiên có khu phân bố rộng, nhưng mức độ phân bố rải rác, điều này dẫn đến khả năng tái sinh bằng hạt của

loài kém...Chính vì vậy, Hoa tiên được xếp vào hạng sẽ nguy cấp (VU A1c,d) trong Sách Đỏ Việt Nam (2007) [1].

Hiện nay, việc nghiên cứu Hoa tiên ở Việt Nam chủ yếu tập trung vào phân tích thành phần hóa học [5]. Các nghiên cứu về nhân giống cây Hoa tiên nói chung và nhân giống *in vitro* nói riêng còn khá hạn chế [2]. Do vậy, nghiên cứu nhân giống cây Hoa tiên (*Asarum glabrum* Merr.) bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* là cần thiết, góp phần vào công tác bảo tồn và phát triển loài cây dược liệu quý này ở Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là các đoạn thân Hoa tiên được thu thập tại Vườn Quốc gia Ba Vì, Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tạo mẫu sạch: Các đoạn thân Hoa tiên được rửa sạch bề mặt bằng nước xà phòng loãng, sau đó

được tráng sạch xà phòng dưới vòi nước chảy, rồi được rửa trong nước cất vô trùng 2 - 3 lần trước khi được khử trùng mẫu bằng HgCl_2 0,1% với các thời gian khác nhau (từ 3 - 9 phút). Cuối cùng, mẫu vật được rửa lại bằng nước cất vô trùng 3 - 5 lần. Mẫu vật sau khi khử trùng được cắt thành những đoạn có kích thước từ 3 - 5 cm (chứa một mắt ngủ) và được cấy vào môi trường nuôi cấy khởi động (MS có bổ sung 30 g/l sucrose và 7 g/l agar). Kết quả được thu thập sau 8 tuần vào mẫu theo các chỉ tiêu: Tỷ lệ mẫu sạch, tỉ lệ mẫu sạch bật chồi và thời gian bắt đầu bật chồi.

Nhân nhanh chồi: Cắt những chồi có chiều cao 1 - 1,5 cm cấy chuyển sang môi trường MS có bổ sung 6-Benzylaminopurine (BAP) từ 0 - 0,75 mg/l hoặc thidiazuron (TDZ) ở các nồng độ từ 0 - 1,1 mg/l và 30 g/l đường sucrose, 7 g/l agar. Số liệu được thu thập sau 8 tuần nuôi cấy, theo các chỉ tiêu: Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%), hệ số nhân chồi (lần), chiều cao chồi trung bình (cm) và chất lượng chồi.

Tạo cây hoàn chỉnh: Những chồi đạt tiêu chuẩn với chiều cao từ 3 - 5 cm, có từ 1 - 2 lá màu lục đậm được cấy chuyển sang môi trường ra rễ: MS có bổ sung 0,5 mg/l IBA kết hợp với 0,5 - 2,5 mg/l α -NAA, 25 g/l sucrose, 7 g/l agar. MS không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng được xem như

công thức đối chứng trong thí nghiệm này. Số liệu được thu thập sau 6 tuần nuôi cấy, theo các chỉ tiêu: Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%), chiều dài rễ trung bình (cm), số rễ trung bình trên mẫu và chất lượng rễ.

Tất cả các môi trường nuôi cấy được chuẩn độ bằng NaOH 1N đạt giá trị pH = $5,8 \pm 0,1$. Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, cường độ chiếu sáng 2.000 lux, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày. Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần mỗi lần 30 mẫu.

Phân tích số liệu: Số liệu thu thập được xử lý phần mềm Excel và bằng phần mềm SPSS version 22.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả tạo mẫu sạch *in vitro*

Tạo mẫu sạch là bước khởi đầu, góp phần vào sự thành công của một quy trình nhân giống bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*. Điều quan trọng nhất trong quá trình tạo mẫu sạch là tìm được công thức khử trùng thích hợp cho tỉ lệ mẫu sạch có khả năng tái sinh chồi cao nhất. Trong nghiên cứu này HgCl_2 0,1% được dùng làm hóa chất khử trùng với thời gian khử trùng khác nhau. Hiệu quả của các công thức khử trùng được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng thời gian sử dụng HgCl_2 0,1% lên khả năng khử trùng và tạo mẫu sạch chồi ngủ Hoa tiên

Công thức thí nghiệm	Thời gian (phút)	Tỉ lệ mẫu sạch (%)	Tỉ lệ mẫu sạch bật chồi (%)	Thời gian bật chồi (ngày)
KT1	3	42,22	33,67	23
KT2	5	60,00	55,56	25
KT3	7	81,11	77,78	28
KT4	9	87,78	60,00	32
Sig		0,001		

Nghiên cứu cho thấy cả 4 công thức thí nghiệm đều cho tỉ lệ mẫu sạch > 42% chứng tỏ HgCl_2 0,1% là chất khử trùng phù hợp với Hoa tiên. Tuy nhiên, giữa 4 công thức thí nghiệm có sự khác biệt nhau khá rõ rệt. Tỉ lệ mẫu sạch bật chồi cao nhất là ở công thức KT3 (sử dụng HgCl_2 0,1% trong 7 phút) đạt 77,78%, trong khi ở KT1 có tỉ lệ bật

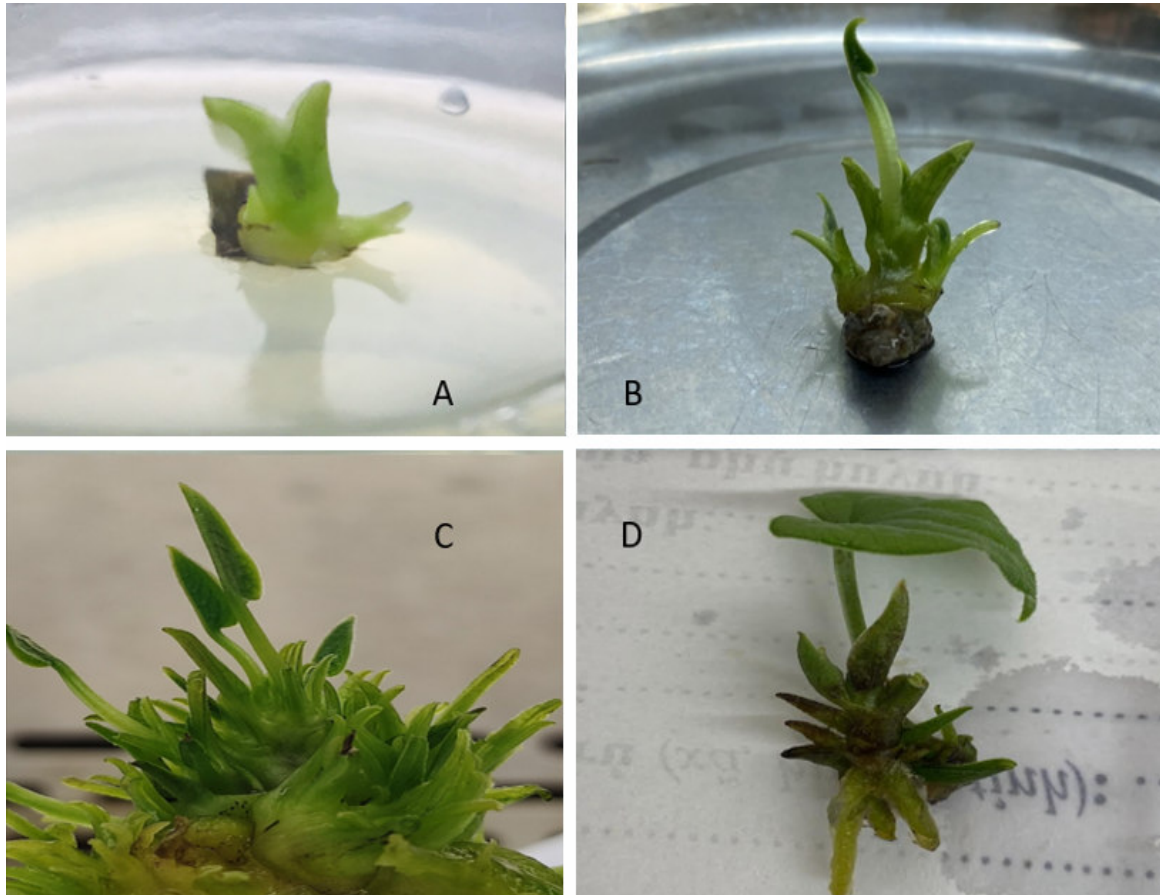
chồi thấp nhất đạt 33,67%. Nếu đối chiếu giữa thời gian khử trùng với tỉ lệ mẫu sạch và thời gian bật chồi thì chúng hoàn toàn hợp lý. Tuy nhiên, điều này lại không hợp lý với tỉ lệ mẫu sạch bật chồi bởi với thời gian khử trùng là 9 phút thì tỉ lệ mẫu sạch bật chồi lại giảm xuống còn 60%. Điều này có thể được lý giải là khi kéo dài thời gian sử dụng HgCl_2

0,1% giúp làm sạch mẫu hơn nhưng đồng thời cũng gây độc và giảm sức sống của đoạn thân mang mắt ngủ dẫn đến giảm tỉ lệ mẫu sạch bật chồi.

Thời gian chồi ngủ bật chồi càng ngắn thì càng tăng hiệu quả của phương pháp nuôi cấy *in vitro* (KT1 và KT2 chỉ với 23 - 25 ngày). Ở KT3 và KT4, thời gian bật chồi kéo dài hơn (từ 28 - 32 ngày). Như vậy, $HgCl_2$ 0,1% ngoài tác dụng loại

trừ các tác nhân gây nhiễm mẫu còn làm giảm sức sống của thân chứa mắt ngủ.

Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian sử dụng $HgCl_2$ 0,1% khử trùng trong 7 phút thu được tỷ lệ mẫu sạch là 81,11%, tỷ lệ bật chồi là 77,78% và thời gian mẫu bật chồi là 28 ngày là phù hợp cho nhân giống *in vitro* loài Hoa tiên (Hình 1).



Hình 1. Cây Hoa tiên nuôi cấy *in vitro*

(A) Hoa tiên bật chồi sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường khởi động; (B) Chồi Hoa tiên sau 8 tuần nuôi cấy trên môi trường HTB4; (C) Chồi Hoa tiên sau 8 tuần nuôi cấy trên môi trường TDC4; (D) Hoa tiên với lá và rễ sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường RBA4.

3.2. Kết quả ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên khả năng nhân nhanh chồi

Trong nuôi cấy *in vitro*, chất điều hòa sinh trưởng đóng vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy quá trình sinh trưởng và phát triển của mẫu cấy. Tùy thuộc vào từng loài và mục đích mà hàm lượng và loại chất điều hòa sinh trưởng được sử dụng trong nuôi cấy là khác nhau. Cytokinin được biết đến là một nhóm hoocmon thực vật làm

tăng sự phân chia tế bào và biệt hóa chồi bất định, việc tìm ra loại cytokinin và hàm lượng phù hợp nhất sẽ quyết định đến thành công của quá trình nuôi cấy. Do đó trong thí nghiệm này, mẫu cấy được thử nghiệm riêng lẻ trên từng môi trường chứa BAP từ 0 - 0,75 mg/l và môi trường chứa TDZ từ 0 - 1,1 mg/l. Kết quả đánh giá khả năng nhân nhanh của chồi trên các môi trường sau 8 tuần nuôi cấy.

3.2.1. Kết quả tác động của BAP lên khả năng nhân chồi Hoa tiên

Bảng 2 cho thấy, sự ảnh hưởng của BAP giữa các công thức thí nghiệm có sự khác biệt rõ rệt về các chỉ tiêu nghiên cứu. Các chồi *in vitro* được nuôi cấy trong môi trường nền MS + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar kết hợp BAP với nồng độ thay đổi (0; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 mg/l) có phản ứng khác nhau ở các công thức khác nhau (Bảng 2, Hình 1). Khi thay đổi nồng độ BAP đã ảnh hưởng đến hệ số nhân, sinh trưởng và phát triển của chồi Hoa tiên *in vitro*. Hệ số nhân chồi và chiều cao chồi tăng tỉ lệ thuận khi chồi được nuôi cấy

trên môi trường bổ sung BAP tại các nồng độ từ 0,1 - 0,5 mg/l. Hệ số nhân chồi cao nhất ở công thức HTB3, HTB4 và HTB5 (bổ sung 0,25; 0,5 hoặc 0,75 mg/l BAP), là 1,86 - 2,1 lần và chiều cao chồi cao nhất (1,95 - 2,66 cm) ở HTB2 và HTB3 và sai khác có ý nghĩa thống kê so với các công thức còn lại. Ở công thức có nồng độ BAP là 0,25 và 0,5 mg/l thì chất lượng chồi là tốt nhất. Do đó, công thức HTB4 với tỉ lệ mẫu tạo đa chồi đạt 80%, hệ số nhân chồi đạt 2,1 lần và chiều cao chồi trung bình đạt 2,66 cm là công thức phù hợp nhất nhân nhanh chồi Hoa tiên khi sử dụng chất điều hòa sinh trưởng BAP.

Bảng 2. Kết quả tạo cụm chồi Hoa tiên ở các nồng độ BAP khác nhau

Công thức thí nghiệm	BAP (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi trung bình (cm)	Chất lượng chồi
HTB1	0	36,67	1,43 ^a	0,92 ^a	Chồi ngắn, nhỏ,
HTB2	0,1	53,33	1,60 ^a	1,5 ^b	Chồi ngắn, nhỏ
HTB3	0,25	76,67	1,93 ^b	1,95 ^c	Chồi tốt, xanh
HTB4	0,5	80,00	2,10 ^b	2,66 ^d	Chồi tốt, xanh
HTB5	0,75	83,33	1,86 ^b	1,58 ^b	Chồi trung bình, thân mọng nước
Sig		0,0001	0,001	0,0001	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có kí tự theo sau giống nhau không có sự khác biệt về mặt thống kê với độ tin cậy P = 0,05 (Duncan's test).

3.2.2. Kết quả tác động của TDZ lên khả năng nhân chồi Hoa tiên

Kết quả bảng 3 cho thấy, sử dụng TDZ ở các nồng độ khác nhau ảnh hưởng rõ rệt đến hệ số nhân, sinh trưởng và phát triển của chồi Hoa tiên *in vitro* và đều tốt hơn khi sử dụng chất điều hòa sinh trưởng BAP. Cụ thể hệ số nhân nhanh chồi tối thiểu là từ 3,13 lần trở lên, chiều cao chồi cũng được nâng lên rõ rệt so với môi trường sử dụng BAP khi chiều cao chồi đạt từ 1,95 - 3,9 cm. Hệ số nhân chồi cao nhất ở công thức TDC4 (bổ sung 0,9

mg/l) là 9,13 lần và chiều cao chồi cao nhất là 3,9 cm và sai khác có ý nghĩa thống kê so với các công thức còn lại. Khi nồng độ TDZ vượt mức 1 mg/l hiện tượng xoắn lá xảy ra ảnh hưởng đến khả năng tạo lá thật của cụm chồi. Vì vậy, TDZ có ảnh hưởng lớn đến khả năng tạo cụm chồi của mẫu nghiên cứu, nồng độ bổ sung 0,9 mg/l TDZ ở công thức TDC4 là phù hợp nhất khi cho hệ số nhân nhanh cao cũng như chất lượng chồi tốt, tạo nhiều lá thật.

Bảng 3. Kết quả tạo cụm chồi Hoa tiên ở các nồng độ TDZ khác nhau

Công thức thí nghiệm	TDZ (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi trung bình (cm)	Chất lượng chồi
ĐC	0	36,67	1,43 ^a	0,92 ^a	Chồi ngắn, nhỏ,

TDC1	0,3	66,67	3,13 ^b	1,95 ^b	Chồi nhỏ,
TDC2	0,5	80	3,77 ^c	2,87 ^c	Chồi trung bình
TDC3	0,7	90	6,23 ^d	3,15 ^d	Chồi tốt
TDC4	0,9	100	9,13 ^e	3,9 ^e	Chồi tốt, nhiều lá thật
TDC5	1,1	100	5,31 ^f	3,27 ^d	Chồi trung bình, lá xanh nhạt, nhiều lá xoắn
Sig		0,0001	0,0001	0,0001	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có kí tự theo sau giống nhau không có sự khác biệt về mặt thống kê với độ tin cậy $P = 0,05$ (Duncan's test); ĐC: Đối chứng.

3.3. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ IBA và α -NAA lên khả năng ra rễ của chồi Hoa tiên

Tỉ lệ sống và khả năng sinh trưởng, phát triển của cây con *in vitro* trong giai đoạn ngoài vườn ươm phụ thuộc rất nhiều vào chất lượng cũng như sức sống của chồi được tạo thành trong giai đoạn cảm ứng chồi *in vitro* tạo rễ. Mỗi loài có phản ứng riêng đối với chất cảm ứng tạo rễ và ở nồng độ khác nhau nhưng tất cả đều phải đảm bảo chồi phát triển tốt cho chất lượng rễ và số lượng rễ tốt nhất.

Theo các nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* về các loài cùng bộ và họ của loài Hoa tiên [6 - 9] thì α -NAA và IBA là chất cảm ứng chồi tạo rễ tốt nhất trong hầu hết các công thức được đưa ra. Do đó, thí nghiệm về khả năng ra rễ của chồi Hoa tiên được thử nghiệm trên các môi trường MS có bổ sung IBA nồng độ 0,5 mg/l và α -NAA ở các nồng độ từ 1 - 2 mg/l. Kết quả thu sau 6 tuần nuôi cấy và được tổng hợp ở bảng 4.

Bảng 4. Sự ảnh hưởng nồng độ của IBA và α -NAA lên khả năng cảm ứng chồi Hoa tiên ra rễ

Công thức thí nghiệm	IBA	α -NAA	Tỉ lệ chồi tạo rễ	Chiều dài rễ trung bình (cm)	Số rễ trung bình trên mẫu	Chất lượng rễ
ĐC	0	0	0	0	0	Không tạo rễ
RBA1	0,5	0,5	23,33	0,24 ^a	1,23 ^a	Trung bình
RBA2	0,5	1	40,00	0,49 ^b	1,53 ^b	Tốt
RBA3	0,5	1,5	63,33	0,56 ^c	2,28 ^c	Tốt
RBA4	0,5	2	86,67	0,65 ^d	2,77 ^d	Tốt
RBA5	0,5	2,5	87,67	0,48 ^b	2,89 ^d	Trung bình
Sig			0,0001	0,0001	0,0001	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có kí tự theo sau giống nhau không có sự khác biệt về mặt thống kê với độ tin cậy $P = 0,05$ (Duncan's test); ĐC: Đối chứng.

Trong nuôi cấy mô tế bào thực vật, hầu hết các chồi *in vitro* không thể tự tổng hợp auxin như cây con ngoài tự nhiên nên việc bổ sung auxin phù hợp giúp tạo rễ cho cây là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này sử dụng 2 loại auxin là α -NAA và IBA. Sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường ra rễ có bổ sung 0,5 mg/l IBA và α -NAA với các nồng độ khác nhau. Kết quả cho thấy, nồng độ 0,5 mg/l IBA kết hợp 2 mg/l α -NAA cho khả năng ra rễ, sinh trưởng và phát triển chồi Hoa tiên tốt nhất trong số các nồng độ khảo sát và so với đối chứng. Tỷ lệ chồi cảm ứng tạo rễ đạt 86,67%, chiều dài rễ trung bình đạt 0,65 cm và số rễ trung bình trên mẫu đạt 2,77.

Bảng 4 cho thấy, công thức RBA4 bổ sung 0,5 mg/l IBA và 1,75 mg/l α -NAA cho tỷ lệ chồi tạo rễ là 86,67%, chiều dài rễ trung bình đạt 0,65 cm và số lượng rễ trung bình đạt 2,77 rễ/mẫu là phù hợp nhất để kích thích tạo cây hoàn chỉnh Hoa tiên.

4. KẾT LUẬN

Công thức khử trùng phù hợp với thân chứa chồi ngủ Hoa tiên là HgCl_2 0,1% trong 7 phút cho tỷ lệ mẫu sạch là 81,11% và tỷ lệ thân chứa chồi ngủ nảy mầm 77,78% sau 28 ngày.

Môi trường nhân nhanh chồi Hoa tiên tốt nhất TDC4: MS + 0,9 mg/l TDZ + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar; cho tỷ lệ 100% mẫu tạo đa chồi, hệ số nhân chồi trung bình đạt 9,13 lần và chiều cao chồi trung bình đạt 3,9 cm sau 8 tuần nuôi cấy.

Môi trường nuôi cấy kích thích chồi *in vitro* Hoa tiên ra rễ tốt nhất sau 6 tuần: MS + 0,5 mg/l IBA + 1,75 mg/l α -NAA + 25 g/l sucrose + 7 g/l agar cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 86,67% sau 6 tuần nuôi cấy; số rễ trung bình trên cây là 2,77 rễ và chiều dài rễ trung bình là 0,65 (cm), rễ mập.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.03-2021.05 và Trường Đại học Lâm nghiệp. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của các cán bộ Vườn Quốc gia Ba Vì trong quá trình thu mẫu cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Khoa học và Công nghệ, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam (2007). *Sách Đỏ Việt Nam*. Phần II – Thực vật. Nxb Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
2. Trần Huy Thái, Nguyễn Thị Hiền, Đỗ Thị Minh, Nguyễn Anh Tuấn (2010). Thành phần hóa học của tinh dầu Hoa tiên (*Asarum glabrum* Merr.) ở Hà Giang, Việt Nam. *Tạp chí Sinh học*, 32(1): 94 - 96.
3. Nguyễn Tiến Bân (2005). *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*. Tập III. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
4. Võ Văn Chi (2004). *Từ điển thực vật thông dụng*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
5. Võ Văn Chi (2015). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nxb Y học, Hà Nội.
6. Bùi Thị Thanh Phương, Nguyễn Phương Lan, Đỗ Thị Kim Trang, Trần Bảo Trâm, Phan Xuân Bình Minh (2020). Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng nhân giống *in vitro* cây Trầu tiên (*Asarum glabrum* Merr.). *Tạp chí Khoa học Tự nhiên*, 62(6): 19 - 23.
7. M. Remya, V. Narmatha Bai & V. N. Mutharaian (2013). *In vitro* regeneration of *Aristolochia tagala* and production of artificial seeds. *Biologia Plantarum*, 57: 210 - 218.
8. Abidemi James Akindele, Zahoor Wania Girish Mahajan, Sadhana Sharma, a Flora Ruth Aigbe, Naresh Satti, Olufunmilayo Olaide Adeyemi, b and Dilip Manikrao Mondhe (2015). Anticancer activity of *Aristolochia ringens* Vahl. (Aristolochiaceae). *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(1): 35 - 41.
9. D. Sivaraj, S. Shanmugam, M. Rajan (2018). Evaluation of *Aristolochia indica* L. and *Piper nigrum* L. methanol extract against centipede *Scolopendra moristans* L. using Wistar albino rats and screening of bioactive compounds by high pressure liquid chromatography: a polyherbal formulation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97: 1603 - 1612.

RESEARCH ON PROPAGATION OF *Asarum glabrum* Merr. BY *IN VITRO*

Cao Thi Viet Nga¹, Nguyen Thi Nhu Quynh¹, Nguyen Thi Tho¹, Vu Quang Nam¹

¹ Vietnam National University of Forestry

Summary

Asarum glabrum Merr. (Aristolochiaceae) is an herbaceous plant used as a cough medicine, sore throat medicine and tonic, etc. They are being overexploited for their needs in domestic demand and selling across borders. Besides, deforestation also destroys their habitat. *Asarum glabrum* is ranked as Vulnerable (VU A1c,d) in the Vietnam Red Data Book (2007). Therefore, it is extremely necessary to apply *in vitro* propagation method - an advanced propagation method for *Asarum glabrum*. The results show that *Asarum glabrum*'s segments were sterilized with 0.1% HgCl₂ for 7 minutes, resulting in a clean sample rate of 81.11% and a clean sample budding rate of 77.78% with 28 days. Its shoots were rapidly multiplied on Murashige & Skoog (MS) medium supplemented with 0.9 mg/l thidiazuron (TDZ), 30 g/l sucrose, 7 g/l agar for 100% of samples to create multiple shoots with the average shoot multiplication coefficient of 9.13 times and the average shoot height is 3.9 cm. Adding α -NAA at a concentration of 1.75 mg/l and IBA at a concentration of 0.5 mg/l to MS medium resulted in 86.67% of shoots taking root, with an average number of 2.77 roots and the average length of 0.65 cm. Initial research results show the possibility of applying *in vitro* methods to propagating the *Asarum glabrum*, creating a large number of high-quality saplings to supply the needs of growing and developing precious medicinal plants.

Keywords: *Asarum glabrum*, Aristolochiaceae, conservation, *in vitro*.

Ngày nhận bài: 26/4/2024

Ngày chuyển phản biện: 7/5/2024

Ngày thông qua phản biện: 24/5/2024

Ngày duyệt đăng: 10/6/2024