

Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng nhân giống *in vitro* cây Trầu tiên (*Asarum glabrum* Merr.)

Bùi Thị Thanh Phương*, Nguyễn Phương Lan, Đỗ Thị Kim Trang,
Trần Bảo Trâm, Phan Xuân Bình Minh

Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ

Ngày nhận bài 3/2/2020; ngày chuyển phản biện 7/2/2020; ngày nhận phản biện 11/3/2020; ngày chấp nhận đăng 18/3/2020

Tóm tắt:

Trầu tiên (*Asarum glabrum* Merr.) là một loài dược liệu quý hiếm được ghi trong Sách Đỏ Việt Nam với cấp đánh giá “đang nguy cấp”. Loài này phân bố tự nhiên ở một số điểm thuộc vùng núi phía Bắc nhưng số cá thể không nhiều và đang ngày càng suy giảm, do vậy việc nhân giống Trầu tiên phục vụ công tác bảo tồn là hết sức cần thiết. Trong nghiên cứu này, nano bạc (nAg) được sử dụng làm chất khử trùng mẫu đốt thân rễ cây Trầu tiên ở các nồng độ 75, 100, 125, 150 và 200 ppm trong các khoảng thời gian 20, 30, 40, 50 và 60 phút. Kết quả sau 4 tuần nuôi cấy cho thấy, mẫu được khử trùng bằng nAg ở nồng độ 150 ppm trong 40 phút cho tỷ lệ mẫu sống và tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh đạt cao nhất (tương ứng là 70,32 và 65,34%). Từ vật liệu khởi đầu, mẫu được đưa vào nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung 20 g/l sucrose, 8,5 g/l agar, 1 mg/l BAP và chứa nAg với các nồng độ 0, 2, 4, 6, 8 ppm. Kết quả cho thấy, môi trường tối ưu tạo chồi có bổ sung 6 ppm nAg, sau 4 tuần có tỷ lệ mẫu sinh chồi đạt 69,34%, số chồi trung bình/mẫu đạt 1,58. Môi trường MS bổ sung 20 g/l sucrose, 8,5 g/l agar, 2 mg/l BAP và 6 ppm nAg thích hợp nhất trong giai đoạn nhân nhanh, sau 6 tuần nuôi cấy, hệ số nhân và chiều cao trung bình của chồi tương ứng đạt 2,81 lần và 1,78 cm.

Từ khóa: khử trùng, nano bạc, nhân giống, Trầu tiên.

Chỉ số phân loại: 1.6

Đặt vấn đề

Trầu tiên (*Asarum glabrum* Merr.) là loài thân thảo, cao 20-30 cm, sống lâu năm, thuộc chi Hoa tiên (*Asarum*), họ Mộc hương (Aristolochiaceae). Thân rễ tròn có đốt, mang nhiều rễ phụ, có thể phân nhánh. Cây 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. Trong tự nhiên, loài này phân bố ở một số nơi thuộc vùng núi phía Bắc như Lai Châu, Lào Cai, Quảng Ninh... Do trữ lượng không lớn, lại bị khai thác và mất nơi sống vì diện tích rừng bị thu hẹp, dẫn đến loài này đang trong tình trạng nguy cấp, cần được bảo tồn [1]. Trong y học cổ truyền, người ta thường sử dụng thân và rễ của Trầu tiên làm thuốc chữa các bệnh ho, viêm phế quản, hen suyễn, phong hàn, tê thấp; còn hoa là vị thuốc bổ dùng để ngâm rượu uống. Nghiên cứu của Trần Huy Thái và cộng sự (2010) [2] cho thấy, trong thân và thân rễ khô Trầu tiên có chứa 0,36% tinh dầu, tỷ lệ này thay đổi theo mùa và nơi thu hái. Hoạt chất chủ yếu trong tinh dầu Trầu tiên là safrol (42,24%), apiol (27,11%) và myristicin (6,13%).

Nuôi cấy mô tế bào thực vật đóng vai trò quan trọng trong nhân giống cây trồng nói chung và cây dược liệu nói

riêng. Đây là phương pháp làm gia tăng nhanh về số lượng cũng như chất lượng cây trồng, cung cấp nguồn cây sạch bệnh với số lượng lớn trong thời gian ngắn. Tuy nhiên, yếu tố cản trở lớn nhất của kỹ thuật này là sự ảnh hưởng của nấm và vi khuẩn trong mẫu vật liệu. Với ưu điểm tăng tiếp xúc và bám dính lên bề mặt tế bào, làm tăng hiệu quả tác động, nên xu hướng sử dụng nAg thay thế cho các chất khử trùng khác như $HgCl_2$, $Ca(ClO)_2$, NaOCl cũng như bổ sung vào môi trường nuôi cấy để nâng cao hiệu quả khử trùng, tránh ô nhiễm môi trường và giảm thiểu sự độc hại cho người và các sinh vật khác đã và đang được nhiều nghiên cứu áp dụng. Rostami và Shahsavari (2009) [3] đã bổ sung nAg ở nồng độ 4 mg/l vào môi trường nuôi cấy cây ô liu cho khả năng kháng khuẩn tốt nhất mà không ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây. Nasser và cộng sự (2013) [4] đã sử dụng nAg ở các nồng độ khác nhau để khử trùng mẫu cà chua, khoai tây, sau đó chuyển các mẫu vào nhân nuôi trên môi trường MS có bổ sung nAg ở nồng độ thấp. Kết quả cho thấy, nguyên liệu này có khả năng kháng khuẩn tốt và không có tác dụng phụ đối với khả năng sống và phát triển của mầm. Tại Việt Nam cũng đã có một số nghiên cứu sử dụng nAg trong khử trùng mẫu và bổ sung vào môi trường nuôi cấy một số cây như: hoa hồng, hoa cúc, lan hồ

*Tác giả liên hệ: Email: thanhphuong7788@gmail.com

Effect of nanosilver on the *in vitro* propagation of *Asarum glabrum* Merr.

Thi Thanh Phuong Bui*, Phuong Lan Nguyen,
Thi Kim Trang Do, Bao Tram Tran, Xuan Binh Minh Phan

Center for Experimental Biology,
National Center for Technological Progress

Received 3 February 2020; accepted 18 March 2020

Abstract:

Asarum glabrum Merr. is a rare and precious medicinal herb in the Red Data Book of Vietnam with the rating of “endangered”. This species naturally distributed in some areas of the northern mountains with small amount of individuals and increasingly declined, therefore the propagation of *Asarum glabrum* Merr. for conservation is extremely necessary. In this study, nanosilver (nAg) is used as a surface sterilisation for the rhizome samples with different concentrations: 75, 100, 125, 150 and 200 ppm within 20, 30, 40, 50 and 60 minutes. The explants were sterilised by nAg at the concentration of 150 ppm within 40 minutes, obtaining the highest percentage of alive and aseptic explants (70.32% and 65.34%, respectively) after 4 weeks of culture. The explants were cultured on MS media added with 20 g/l sucrose, 8.5 g/l agar, 1 mg/l BAP and containing different concentrations of nAg: 0, 2, 4, 6, 8 ppm. The results showed that the medium supplemented with 6 ppm nAg was optimal for the induction of callus obtained the highest percentage of callus (69.34%) and the average number of shoots per samples reached 1.58 after 4 weeks. The MS media supplemented with 20 g/l sucrose, 8.5 g/l agar, 2 mg/l BAP and 6 ppm nAg was the best for multiplying with the average height of shoots reached 2.81 and 1.78 cm (respectively) after 6 weeks of rapid propagation.

Keywords: *Asarum glabrum* Merr., nanosilver, propagation, sterilisation.

Classification number: 1.6

diệp, dầu tây. Kết quả đều cho thấy, nAg là nguyên liệu khử khuẩn hiệu quả, có thể thay thế các chất diệt khuẩn thường dùng như HgCl_2 , $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ trong nuôi cấy *in vitro* tế bào thực vật [5-10].

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Cây Trầu tiên được thu tại rừng quốc gia Yên Tử, xã Thượng Yên Công, thành phố Uông Bí, tỉnh Quảng Ninh ở độ cao 1.068 m. Mẫu được đưa về nuôi trồng tại vườn ươm của Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, sau đó lựa chọn những đốt thân rễ có chứa mầm ngủ làm nguyên liệu ban đầu.

Dung dịch nAg do Viện Công nghệ môi trường cung cấp. Các hạt nAg có kích thước trung bình ≤ 20 nm được tạo thành trong hỗn hợp có chứa AgNO_3 750 ppm, β -chitosan 250 ppm, NaBH_4 200 ppm [11].

Môi trường nuôi cấy: sử dụng môi trường như của Murashige và Skoog (1962) [12] - MS có bổ sung 30 g/l sucrose, 8,5 g/l agar, pH 5,8. Toàn bộ môi trường được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C , áp suất 1 atm trong thời gian 20 phút, sau đó phân vào các bình thủy tinh 250 ml với 40 ml môi trường.

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu ảnh hưởng của nAg đến khả năng khử trùng mẫu ban đầu: phần thân rễ của cây trưởng thành được cắt thành những đoạn có chứa mắt ngủ, làm sạch bề mặt bằng xà phòng và rửa sạch dưới vòi nước chảy. Mẫu sau đó được xử lý tiếp tục với cồn 70° trong 30 giây, tiến hành khử trùng tiếp bằng dung dịch nAg với các nồng độ khác nhau: 75, 100, 125, 150 và 200 ppm trong 40 phút, đối chứng là NaOCl 5% trong 20 phút. Rửa lại mẫu bằng nước cất vô trùng và đưa vào môi trường tạo vật liệu khởi đầu (MS+1 mg/l BA+8,5 g/l agar). Sau 2 tuần nuôi cấy, theo dõi các chỉ tiêu tỷ lệ mẫu sống và tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh để lựa chọn sử dụng nồng độ nAg tối ưu tiếp tục thực hiện đánh giá ảnh hưởng của thời gian khử trùng mẫu với các khoảng thời gian 20, 30, 40, 50, 60 phút.

Nghiên cứu ảnh hưởng của dung dịch nAg bổ sung trong môi trường nuôi cấy đến quá trình hình thành và phát triển của chồi Trầu tiên: tiến hành khử trùng mẫu với nồng độ nAg thích hợp theo thời gian đã lựa chọn, thử nghiệm nhân tạo vật liệu khởi đầu trên môi trường MS chứa 1 mg/l BA và 8,5 g/l agar với các công thức bổ sung nAg ở nồng độ khác nhau: 0, 2, 4, 6, 8 ppm. Theo dõi các chỉ tiêu sau 4 tuần nuôi cấy: tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh, tỷ lệ mẫu sinh chồi, số chồi trung bình trên mẫu. Các cụm chồi Trầu tiên phát triển ổn định sau 4 tuần nuôi cấy trong môi trường tạo vật liệu khởi đầu được cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh

(MS+2 mg/l BA+8,5 g/l agar) có bổ sung các nồng độ nAg khác nhau (0, 2, 4, 6, 8 ppm). Tiến hành đánh giá chỉ tiêu sau 6 tuần: tỷ lệ mẫu sạch bệnh, hệ số nhân chồi và chiều cao chồi.

Phương pháp bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần đặt 20 mẫu/công thức. Thí nghiệm được đặt trong điều kiện ánh sáng 2.500 lux, thời gian chiếu sáng 12/24h, nhiệt độ $25 \pm 3^\circ\text{C}$. Số liệu thu được trong các thí nghiệm được xử lý bằng chương trình Excel 2010 và phần mềm thống kê IRRISTAT 5.0.

Kết quả và thảo luận

Ảnh hưởng của nồng độ nAg đến khả năng khử trùng mẫu đốt thân Trầu tiên

Đánh giá hiệu quả sử dụng nAg khử trùng mẫu đốt thân rễ Trầu tiên tạo vật liệu khởi đầu với các nồng độ khác nhau: 75, 100, 125, 150 và 200 ppm; đối chứng sử dụng chất khử khuẩn thông dụng NaOCl 5%, thu được kết quả như ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ nAg đến hiệu quả khử trùng mẫu Trầu tiên.

Công thức	Nồng độ (ppm)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh (%)
ĐC	NaOCl 5%	51,23 ^f	38,09 ^f
CT1	75	56,54 ^e	42,5 ^c
CT2	100	60,65 ^d	47,48 ^d
CT3	125	73,01 ^a	61,12 ^b
CT4	150	70,32 ^b	65,34 ^a
CT5	200	64,19 ^c	54,31 ^c
LSD _{0,05}		2,32	2,93
CV%		1,59	2,21

Ghi chú: LSD_{0,05} là sai số nhỏ nhất có ý nghĩa ở mức cho phép là 5%. Những chữ cái khác nhau (a, b, c,...) được nêu trong các cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa ở mức LSD.

Kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy, tất cả các công thức sử dụng nAg đều có tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh lớn hơn so với công thức đối chứng (sử dụng NaOCl 5%). Trong các công thức sử dụng nAg thì CT3 (nồng độ nAg 125 ppm) cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất là 73,01% nhưng tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh là 61,12% lại thấp hơn so với CT4 (nồng độ nAg 150 ppm) với tỷ lệ mẫu sống là 70,32%, tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh là 65,34% đạt cao nhất. So sánh với một số nghiên cứu khác đã sử dụng nAg nhưng với nồng độ thấp hơn khử trùng các loại mẫu, như kết quả nghiên cứu của Nasser và cộng sự (2013) [4] khi sử dụng nAg để khử trùng mẫu lá khoai tây, nồng độ 100 ppm nAg cho tỷ lệ mẫu sống, sạch bệnh là 100%, hay Đồng Huy Giới và cộng sự (2019) [7] lại cho thấy nồng độ nAg thích hợp nhất để khử trùng phát hoa lan hồ điệp vàng là 125 ppm cho tỷ lệ mẫu sống, sạch bệnh là

72,12%. Việc sử dụng nAg có nồng độ cao hơn khử trùng mẫu Trầu tiên cho kết quả thấp hơn có thể do đây là loại cây lâu năm sống dưới tán rừng tự nhiên trong điều kiện quanh năm ẩm ướt nên mẫu bị nhiễm nhiều vi sinh vật, dẫn đến việc khử trùng mẫu khó khăn hơn so với các mẫu nuôi trồng trong vườn ươm.

Như vậy với nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng nAg ở nồng độ 150 ppm khử trùng mẫu cho hiệu quả khử trùng cao nhất. Tiếp tục thực hiện khử trùng mẫu bằng dung dịch nAg nồng độ 150 ppm trong các khoảng thời gian khác nhau thu được kết quả như bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu quả khử trùng mẫu Trầu tiên.

Công thức	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh (%)
TG1	20	72,67 ^c	42,5 ^c
TG2	30	75,34 ^a	47,48 ^d
TG3	40	70,32 ^b	65,34 ^a
TG4	50	66,21 ^d	62,43 ^b
TG5	60	61,72 ^e	58,26 ^c
LSD _{0,05}		1,85	2,14
CV%		1,13	1,53

Ghi chú: LSD_{0,05} là sai số nhỏ nhất có ý nghĩa ở mức cho phép là 5%. Những chữ cái khác nhau (a, b, c,...) được nêu trong các cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa ở mức LSD.

Kết quả bảng 2 cho thấy, khi ngâm mẫu trong dung dịch nAg ở nồng độ cao trong thời gian dài cũng ảnh hưởng đến sự sống của các tế bào. Diễn hình là ở các mẫu có thời gian khử trùng lâu (50-60 phút) có hiện tượng một số mẫu bị chết (chuyển sang màu nâu đen), không có khả năng tái tạo tế bào, dẫn đến tỷ lệ mẫu sống thấp hơn so với các mẫu có thời gian khử trùng ngắn. Tuy nhiên, ở những công thức có thời gian khử trùng ngắn (20-30 phút) thì tỷ lệ mẫu nhiễm lại lớn hơn so với ở các công thức có thời gian khử trùng dài. Với kết quả thu được cho thấy, TG3 (thời gian khử trùng 40 phút) cho hiệu quả tốt nhất với tỷ lệ mẫu sống đạt 70,32%, mẫu sống sạch bệnh đạt 65,34%.

Tổng hợp kết quả thử nghiệm cho thấy, sử dụng dung dịch nAg 150 ppm khử trùng mẫu Trầu tiên trong 40 phút cho tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh cao nhất, đạt 65,34%.

Ảnh hưởng của nAg đến khả năng nhân nhanh chồi Trầu tiên

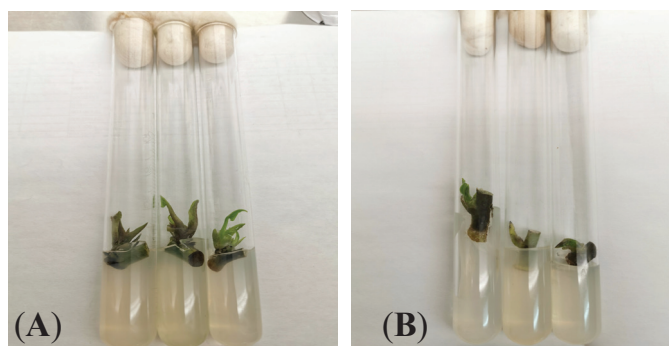
Nghiên cứu của Salama (2012) [13] cho thấy, nAg giúp tăng sinh trưởng của cây ngô và đậu, hay như của Dương Tấn Nhựt và cộng sự (2015) [8] cũng cho thấy, nAg ảnh hưởng tích cực đến sự sinh trưởng và phát triển của hoa hồng nuôi cấy *in vitro*. Công bố của Đỗ Mạnh Cường và cộng sự (2018) [5] cũng cho thấy, nAg có tác dụng kích thích mẫu cấy cảm ứng nhanh, tác động tốt đến sự hình thành mô sẹo, tái sinh chồi và hoàn toàn không gây ra tác

động tiêu cực nào. Dựa trên những kết quả nghiên cứu đã có, chúng tôi tiến hành đánh giá ảnh hưởng của nồng độ nAg bổ sung trong môi trường nuôi cấy đến khả năng tái sinh chồi từ mẫu đốt thân Trầu tiên sau 4 tuần nhân giống, kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ nAg đến khả năng tạo chồi Trầu tiên.

Công thức	Nồng độ (ppm)	Tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh (%)	Tỷ lệ mẫu sinh chồi (%)	Số chồi trung bình/mẫu (chồi)
ĐC	0	58,67 ^c	55,43 ^c	1 ^c
MT1	2	60,95 ^d	58,85 ^d	1,09 ^d
MT2	4	65,27 ^b	65,27 ^b	1,21 ^c
MT3	6	69,34 ^a	69,34 ^a	1,58 ^a
MT4	8	62,13 ^c	60,39 ^c	1,29 ^b
LSD _{0,05}		1,23	1,87	0,07
CV%		1,9	1,7	0,09

Ghi chú: LSD_{0,05} là sai số nhỏ nhất có ý nghĩa ở mức cho phép là 5%. Những chữ cái khác nhau (a, b, c,...) được nêu trong các cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa ở mức LSD.



Hình 1. Trầu tiên sau 4 tuần nuôi cấy trong môi trường tạo vật liệu khởi đầu. (A) Môi trường bổ sung 6 ppm nAg; (B) Môi trường không bổ sung nAg.

Kết quả bảng 3 cho thấy, bổ sung nAg vào môi trường nuôi cấy cho tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh cao hơn so với công thức đối chứng, trong đó công thức bổ sung 6 ppm có tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh cao nhất đạt 69,34%, mẫu đối chứng cho tỷ lệ thấp nhất, chỉ đạt 58,67%. Ngoài ra, nAg cũng có hiệu quả tích cực đến sự hình thành và phát triển của chồi sau 4 tuần nuôi cấy: ở các công thức bổ sung nAg với nồng độ 4 ppm và 6 ppm, các mẫu sống và sạch bệnh đều phát triển chồi, trong đó có mẫu phát triển 2-3 chồi, tỷ lệ mẫu sinh chồi và số chồi trung bình/mẫu nhìn chung cao hơn so với các công thức thí nghiệm khác và đối chứng (hình 1).

Như vậy, đối với cây Trầu tiên, bổ sung 6 ppm nAg cho kết quả các chỉ tiêu tỷ lệ mẫu sống sạch bệnh cũng như mẫu sinh chồi tốt nhất sau 4 tuần nuôi cấy. Kết quả này có khác biệt với kết quả nghiên cứu của Đồng Huy Giới và cộng sự (2019) [7] khi nghiên cứu trên đối tượng phát hoa lan hồ điệp vàng: bổ sung 4 ppm nAg vào môi trường cho kết quả

tối ưu đối với sự hình thành chồi từ phát hoa với tỷ lệ tạo chồi đạt 92,53%, hệ số nhân chồi đạt 2,97 lần. Các kết quả đều cho thấy nAg có ảnh hưởng tích cực đến sự hình thành của chồi, nhưng sự ảnh hưởng này là khác nhau ở mỗi loài.

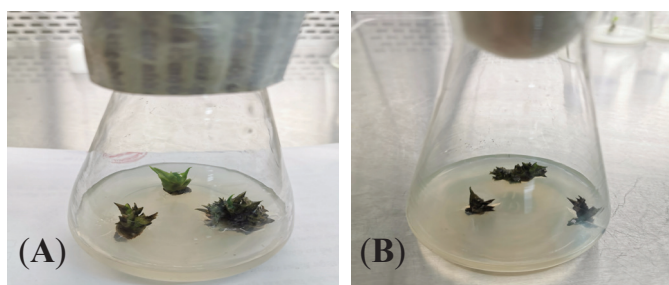
Ngoài ra, nAg còn được biết đến với vai trò giúp tăng khả năng sinh trưởng, phát triển (chiều dài chồi và rễ, diện tích lá), tăng cường các quá trình biến dưỡng trong cây (tổng hợp chlorophyll, tăng hàm lượng carbohydrate, protein và tổng hợp các enzyme oxy hóa) ở cải *Brassica juncea*, đậu và ngô cũng như tăng cường khả năng hình thành rễ, ức chế hình thành ethylene ở cây *Crocus sativus* [13]. Bên cạnh đó, nAg còn được biết đến là chất có khả năng kích thích sự phát triển của tế bào thực vật như trong nghiên cứu của Đỗ Mạnh Cường và cộng sự (2018) [5] trên đối tượng dâu tây cho thấy, nAg không những giúp gia tăng số lượng chồi mà các chồi còn có cuống lá to hơn, lá mở rộng và có màu xanh đậm hơn so với công thức đối chứng. Các nghiên cứu khác trên đối tượng cây hoa hồng, lan hồ điệp đều cho kết quả tương tự [7, 8]. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nAg đến sự phát triển của chồi Trầu tiên sau 6 tuần nuôi cấy được thể hiện ở bảng 4 và hình 2.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nAg đến khả năng sinh trưởng và phát triển của chồi Trầu tiên.

Công thức	Nồng độ (ppm)	Tỷ lệ không nhiễm (%)	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao trung bình chồi (cm)
ĐC	0	85,67 ^d	1,95 ^c	1,29 ^d
MT1	2	90,05 ^c	2,21 ^d	1,43 ^c
MT2	4	94,45 ^b	2,63 ^b	1,61 ^b
MT3	6	97,42 ^{ab}	2,81 ^a	1,78 ^a
MT4	8	98,73 ^a	2,49 ^c	1,52 ^{bc}
LSD _{0,05}		2,9	0,11	0,13
CV%		2,2	0,09	0,5

Ghi chú: LSD_{0,05} là sai số nhỏ nhất có ý nghĩa ở mức cho phép là 5%. Những chữ cái khác nhau (a, b, c,...) được nêu trong các cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa ở mức LSD.

Kết quả bảng 4 cho thấy, nAg có ảnh hưởng tích cực đến sự sinh trưởng và phát triển của chồi Trầu tiên: tất cả các công thức thí nghiệm đều có hệ số nhân chồi cũng như chiều cao trung bình của chồi cao hơn so với mẫu đối chứng. Công thức bổ sung 6 ppm nAg cho hiệu quả tốt nhất với tỷ lệ tạo chồi không nhiễm đạt 97,42%; hệ số nhân chồi là 2,81 lần; chiều cao chồi trung bình đạt 1,78 cm, cao hơn so với đối chứng 0,49 cm. Tương tự như các nghiên cứu trên hoa hồng, lan hồ điệp, ô liu..., nAg cũng có ảnh hưởng tích cực đến sự sinh trưởng và phát triển của chồi Trầu tiên nuôi cấy *in vitro* [3, 7, 8, 14].



Hình 2. Trầu tiên sau 6 tuần nuôi cấy trong môi trường nhân nhanh. (A) Môi trường bổ sung 6 ppm nAg; (B) Môi trường không bổ sung nAg.

Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc sử dụng nAg với nồng độ 150 ppm trong thời gian 40 phút có thể thay thế hiệu quả các chất khử trùng khác trong nhân giống *in vitro* cây Trầu tiên. Bên cạnh đó, việc bổ sung 6 ppm nAg vào môi trường nuôi cấy còn có tác dụng kích thích sự phát sinh chồi, sự tăng trưởng và phát triển của chồi, hệ số nhân chồi đạt kết quả cao nhất mà hoàn toàn không gây ra bất kỳ tác động tiêu cực nào đến mẫu cấy.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ kinh phí của Viện Ứng dụng Công nghệ - Bộ KH&CN cho nhiệm vụ KH&CN “Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Trầu tiên (*Asarum glabrum* Merr.) phân bố tại vùng Yên Tử của Việt Nam”.

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*, Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ, tr.97-98.
- [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)**, tr.94-96.
- [3] A.A. Rostami and A. Shahsavari (2009), “Nanosilver particles eliminate the *in vitro* contaminations of olive ‘mission’ explants”, *Journal of Plant Sciences*, **8(7)**, pp.505-509.
- [4] M. Nasser, Z.V. Sepideh, K. Sajjad (2013), “Plant *in vitro* culture goes nano: nanosilver-mediated decontamination of *Ex vitro* explants”, *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, **4(2)**, pp.1-4.

[5] Đỗ Mạnh Cường, Trương Thị Bích Phượng, Dương Tấn Nhựt (2018), “Ảnh hưởng của nano bạc lên khả năng cảm ứng mô sẹo và tái sinh chồi từ mẫu lá cây dâu tây (*Fragaria xananassa*) nuôi cấy *in vitro*”, *Tạp chí Khoa học Đại học Huế*, **127(1C)**, tr.61-70.

[6] Đồng Huy Giới, Ngô Thị Ánh (2017), “Nghiên cứu sử dụng chế phẩm nano trong nuôi cấy mô cây mía (*Saccharum officinarum* L.)”, *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, **6**, tr.35-41.

[7] Đồng Huy Giới, Bùi Thị Thu Hương (2019), “Nghiên cứu sử dụng nano bạc trong nhân giống *in vitro* lan hồ điệp vàng (*Phalaenopsis* sp.)”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, **1**, tr.19-24.

[8] Dương Tấn Nhựt, Nguyễn Xuân Tuấn, Nguyễn Thị Thùy Anh, Hồ Viết Long, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Bá Nam, Nguyễn Phúc Huy, Vũ Quốc Luận, Vũ Thị Hiền, Lê Thị Thu Hiền, Nguyễn Hoài Châu, Ngô Quốc Bửu (2015), “Nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc lên sự nhân chồi, sinh trưởng và phát triển của cây hoa hồng (*Rosa* sp.) *in vitro*”, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, **13(2)**, tr.231-239.

[9] Dương Tấn Nhựt, Hoàng Thanh Tùng, Lương Thiện Nghĩa, Nguyễn Duy Anh, Nguyễn Phúc Huy, Nguyễn Bá Nam, Vũ Quốc Luận, Vũ Thị Hiền (2017), “Nano bạc trong khử trùng môi trường nuôi cấy *in vitro* cây hoa cúc (*Chrysanthemum morifolium* ramat cv. jimba)”, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, **15(3)**, tr.505-513.

[10] Dương Tấn Nhựt, Dương Bảo Trinh, Đỗ Mạnh Cường, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Phúc Huy, Vũ Thị Hiền, Vũ Quốc Luận, Lê Thị Thu Hiền, Nguyễn Hoài Châu (2018), “Khảo sát nano bạc làm chất khử trùng mẫu mới trong nhân giống vô tính cây african violet (*saintpaulia ionantha* h. wendl.)”, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, **16(1)**, tr.87-97.

[11] H.N. Chau, L.A. Bang, N.Q. Buu, T.T.N. Dung, H.T. Ha, D.V. Quang (2008), “Some results in manufacturing of nanosilver and investigation of its application for disinfection”, *Advances in Natural Sciences*, **9**, pp.241-248.

[12] T. Murashige, F. Skoog (1962), “A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures”, *Physiologia Plantarum*, **15**, pp.473-497.

[13] H.M.H. Salama (2012), “Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.)”, *Int. Res. J. Biotech.*, **3(10)**, pp.190-197.

[14] S. Shokri, A. Babaei, M. Ahmadian, M.M. Arab, S. Hessami (2015), “The effects of different concentrations of nano silver on elimination of bacterial contaminations and phenolic exudation of rose (*Rosa hybrida* L.) *in vitro* culture”, *International Society for Horticultural Science*, **3(1)**, pp.50-54.