

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH *IN VITRO* CÂY LAN HUỆ (*Hippeastrum equestre* (Aiton) Herb.)

Phạm Việt Hoàng¹, Nguyễn Anh Đức²,
Nguyễn Thị Thúy Hạnh³, Đinh Thái Hoàng², Nguyễn Việt Long^{1*}

¹Trung tâm Xuất sắc và Đổi mới sáng tạo, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: nvlong@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 12.11.2025

Ngày chấp nhận đăng: 30.12.2025

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm hoàn thiện quy trình kỹ thuật nhân nhanh *in vitro* cây Lan huệ (*Hippeastrum equestre* (Aiton) Herb). Các thí nghiệm nghiên cứu tạo *in vitro* được thực hiện trên môi trường MS chứa 30 g/l sucrose; 6 g/l agar; 0,5 g/l than hoạt tính với các nồng độ 6-Benzylaminopurine (BA); 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D); α -Naphthaleneacetic Acid (α -NAA) và Indole-3-Acetic Acid (IAA) khác nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy khử trùng mẫu bằng chất khử trùng Presept 5 g/l trong 50 phút cho tỷ lệ mẫu sống đạt cao nhất (90%). Trong giai đoạn nhân nhanh, môi trường bổ sung 1,0 mg/l 2,4-D kết hợp với 3 mg/l BA cho tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100% và số chồi/mẫu đạt cao nhất (3,06 chồi). Trong giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh, bổ sung 1 mg/l α -NAA hoặc 1,5mg IAA là tối ưu với khả năng ra rễ đạt cao nhất với tỷ lệ cây ra rễ đạt 100% với 3,33-4,00 rễ/cây. Giai đoạn vườn ươm, sử dụng giá thể xơ dừa : đất : phân hữu cơ (6:3:1, v/v) cho tỷ lệ sống đạt 100%, số lá (3,53 lá/cây) và chiều cao cây (16,34cm) đạt cao nhất. Các kết quả nghiên cứu có thể sử dụng trong nhân giống quy mô lớn cây Lan huệ tại Việt Nam.

Từ khóa: Lan huệ, tạo rễ, vi nhân giống, Việt Nam.

In vitro Propagation for *Hippeastrum equestre* (Aiton) Herb.

ABSTRACT

The study aimed to complete an *in vitro* propagation protocol for *Hippeastrum equestre* (Aiton) Herb. The *in vitro* propagation experiments were carried out on MS media containing 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, 0.5 g/l active charcoal with different concentrations of 6-Benzylaminopurine (BA), 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D), α -Naphthaleneacetic Acid (α -NAA), and Indole-3-Acetic Acid (IAA). The results showed that plant material treated with Presept at 5 g/l for 50 minutes achieved the highest survival rate (90%). Shooting medium supplemented with 3 mg/l BA and 1.0 mg/l 2,4-D gained the highest shooting ability. Rooting medium supplemented with 1 mg/l α -NAA or 1.5 mg/l IAA was optimal for the highest rooting ability, with a rooting rate of 100% and number of roots/explant ranging from 3.33 to 4.00. In the nursery, coir : soil : organic fertilizer substrate with a ratio of 6:3:1 (v/v) yielded the highest survival rate (100%), leaf number (3.53 leaves/plant), and plant height (16.34 cm). The result could be utilized for large-scale propagation of *Hippeastrum* in Vietnam.

Keywords: *Hippeastrum equestre* (Aiton) Herb., rooting, micropropagation, Vietnam.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lan huệ (*Hippeastrum esquetre* (Aiton) Herb.) là loài hoa đẹp được ưa chuộng do màu sắc đa dạng. Ngoài ra, trong y học cổ truyền Lan huệ được sử dụng điều trị các triệu chứng sốt, sưng, ung thư hoặc sốt rét. Ngày nay, Lan huệ

được nghiên cứu về ứng dụng tiềm năng của chúng trong chống viêm, chống ung thư, kháng khuẩn và điều trị bệnh Alzheimer (Martínez-Peinado & cs., 2021).

Nhu cầu thị trường hoa Lan huệ ngày càng cao, đòi hỏi nhanh chóng nhân giống để đáp ứng nhu cầu. Để nhân giống cây Lan huệ có thể

bằng hạt hoặc sử dụng các phương pháp nhân giống vô tính như tách củ nhỏ từ cụm cây mẹ (Vijverberg, 1981), kỹ thuật cắt lát củ (Epharath & cs., 2001; Phạm Thị Minh Phượng & Trần Thị Minh Hằng, 2014) hoặc sử dụng phương pháp nhân giống *in vitro* (Hussey, 1975; De Buruyn, 1992; Huang & cs., 2005, Siddique & cs., 2007).

So với phương pháp nhân giống *in vitro*, các phương pháp nhân giống khác đơn giản hơn, tuy nhiên hệ số nhân thấp và ít hiệu quả hơn do thời gian nhân giống dài. Trong khi nhân giống bằng phương pháp *in vitro* tạo ra được cây con sạch bệnh do cây mẹ được tuyển chọn và xử lý mầm bệnh trước khi nuôi cấy, thời gian nhân giống ngắn hơn các phương pháp khác, hệ số nhân giống cao, cây đồng nhất và đáp ứng được nhu cầu nhân giống.

Tại Việt Nam, Ninh Thị Thảo & cs. (2009) bước đầu nghiên cứu quy trình kỹ thuật nhân nhanh *in vitro* cây hoa loa kèn đỏ nhưng cho biết môi trường khởi động thích hợp là MS bổ sung 5 mg/l BA, môi trường MS bổ sung 1 mg/l BA và 0,5 mg/l α -NAA cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 1,93 chồi/4 tuần, trong khi môi trường chứa 0,2 mg/l α -NAA tỷ lệ chồi ra rễ, số lượng rễ và chất lượng tốt nhất. Phạm Đức Trọng & cs. (2014) phát triển kỹ thuật nuôi cấy mô trong nhân nhanh 6 dòng hoa Lan huệ (*Hippeastrum equestre* (Aiton) Herb.) đã xác định môi trường khởi động thích hợp là MS + 2-3 mg/l BA + 1,0 mg/l kinetin + 0,25 mg/l α -NAA và môi trường nhân chồi thích hợp là MS + 3-5 mg/l BA + 1,0 mg/l kinetin + 0,25 mg/l α -NAA cho hệ số nhân chồi đạt 4,23-5,65 chồi/mẫu. Môi trường tạo rễ thích hợp là MS + 1,5-2,0 mg α -NAA và giá thể ra ngôi thích hợp là cát : trấu hun với tỷ lệ 3:1.

Như vậy, các kết quả nghiên cứu nhân giống *in vitro* trên cây Lan huệ tại Việt Nam chưa nhiều, chưa có nghiên cứu về hóa chất và thời gian khử trùng mẫu để tạo vật liệu khởi đầu, cũng như việc sử dụng một số chất điều tiết sinh trưởng trong nhân giống *in vitro* như IAA, 2,4-D hay một số loại giá thể thông dụng sử dụng trong ra ngôi cây con như xơ dừa kết hợp với phân hữu cơ chưa được nghiên cứu. Do đó,

nghiên cứu được tiến hành nhằm đa dạng vật liệu nhân giống, bổ sung và hoàn thiện quy trình kỹ thuật nhân nhanh *in vitro* cây Lan huệ tại Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và điều kiện nuôi cấy

Nghiên cứu được tiến hành tại Phòng nuôi cấy mô, Trung tâm Đổi mới sáng tạo Nông nghiệp, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Nghiên cứu sử dụng củ giống và đế củ của giống Lan huệ (*Hippeastrum Rachel Maguire*) được cung cấp từ nhà vườn Rachel Maguire, Úc. Các thí nghiệm nuôi cấy *in vitro* được thực hiện trên môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962). Môi trường được bổ sung các chất điều tiết sinh trưởng, than hoạt tính, với các giá trị nồng độ khác nhau tùy từng thí nghiệm. Giá trị pH của môi trường nuôi cấy được điều chỉnh trước khi khử trùng là 5,8. Môi trường nuôi cấy được hấp khử trùng ở 121°C, 1atm trong 20 phút và cấy trong tủ cấy vô trùng được xử lý bằng đèn tử ngoại trước khi nuôi cấy 30 phút. Mẫu nuôi cấy đặt trong buồng nuôi có nhiệt độ 25°C \pm 2, độ ẩm 60%, cường độ chiếu sáng 2.000lux, thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Giai đoạn tạo vật liệu khởi đầu

Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của thời gian khử trùng mẫu đến khả năng tạo vật liệu khởi đầu

Củ giống có đường kính 7cm, được làm sạch bề mặt dưới vòi nước chảy mạnh và rửa sạch bằng xà phòng trong 10 phút, rồi rửa lại dưới vòi nước sạch. Trong buồng cấy vô trùng, củ được ngâm trong cồn 70° trong 30 giây và tráng bằng nước cất vô trùng 2 lần, mỗi lần 1 phút. Sau đó ngâm củ trong dung dịch được pha bằng viên Presept và rửa lại 5 lần bằng nước cất vô trùng, mỗi lần 1 phút.

Công thức thí nghiệm bao gồm các thời gian khử trùng bằng Presept 5 g/l khác nhau lần lượt là 50, 60 và 70 phút. Mẫu cấy sau đó được cắt thành 8 mảnh nhỏ (kích thước 0,9-1,0cm) được cấy vào môi trường phục hồi MS + 30 g/l sucrose + 6 g/l agar.

Giai đoạn nhân nhanh

Các mẫu sống không nhiễm khuẩn sau đó được chuyển sang giai đoạn nhân nhanh với các thí nghiệm:

Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của nồng độ BA đến khả năng nhân nhanh và phát sinh hình thái mẫu

Công thức thí nghiệm được thiết kế với 6 nồng độ 6-Benzylaminopurine (BA) bao gồm 0 (đối chứng); 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 và 5,0 mg/l. Môi trường nuôi cấy MS + 30 g/l sucrose + 6,0 g/l agar.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần nhắc lại 5 bình, mỗi bình 3-5 mẫu cấy.

Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của nồng độ 2,4-D đến khả năng nhân nhanh và phát sinh hình thái mẫu

Công thức thí nghiệm được thiết kế với 6 nồng độ 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D) bao gồm 0 (đối chứng); 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 và 2,5 mg/l. Môi trường nuôi cấy MS + 30 g/l sucrose + 6,0 g/l agar.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần nhắc lại 5 bình, mỗi bình 3-5 mẫu cấy.

Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng của tổ hợp BA và 2,4-D đến khả năng nhân nhanh và phát sinh hình thái mẫu

Công thức thí nghiệm được thiết kế với 4 nồng độ 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D) bao gồm 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/l. Môi trường nuôi cấy MS + 30 g/l sucrose + 6,0 g/l agar + 3 mg/l BA (nồng độ tốt nhất từ thí nghiệm 2).

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần nhắc lại 5 bình, mỗi bình 3-5 mẫu cấy.

Giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh

Các chồi tốt sau đó được cấy chuyển sang môi trường tạo cây hoàn chỉnh với các thí nghiệm:

Thí nghiệm 5: Ảnh hưởng của nồng độ α -NAA đến sự hình thành rễ cây

Công thức thí nghiệm được thiết kế với 4 nồng độ α -Naphthaleneacetic Acid (α -NAA) bao gồm 0 (đối chứng); 0,5; 1,0 và 1,5 mg/l. Môi

trường nuôi cấy MS + 30 g/l sucrose + 6 g/l agar + 0,5 g/l than hoạt tính.

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần nhắc lại 3 bình, mỗi bình 3 mẫu.

Thí nghiệm 6: Ảnh hưởng của nồng độ IAA đến sự hình thành rễ cây

Công thức thí nghiệm được thiết kế với 04 nồng độ Indole-3-Acetic Acid (IAA) bao gồm 0 (đối chứng); 0,5; 1,0 và 1,5 mg/l. Để đảm bảo tính ổn định của IAA khi hấp thanh trùng, 16g NaOH được hòa tan trong 400ml nước cất, khi NaOH tan hết bổ sung 1g IAA vào dung dịch, đợi đến khi hòa tan hoàn toàn nước cất được bổ sung đến thể tích 1 lít. Sau đó IAA được bổ sung theo các nồng độ thí nghiệm vào môi trường nuôi cấy và đem hấp thanh trùng. Môi trường nuôi cấy MS + 30 g/l sucrose + 6 g/l agar + 0,5 g/l than hoạt tính.

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần nhắc lại 3 bình, mỗi bình 3 mẫu.

Giai đoạn vườn ươm

Cây con tốt từ giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh được chuyển sang giai đoạn vườn ươm trên các công thức giá thể khác nhau.

Thí nghiệm 7: Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sinh trưởng của cây con giai đoạn vườn ươm

Công thức thí nghiệm với các tỷ lệ phối trộn giá thể khác nhau (theo thể tích) bao gồm:

CT1: 30% xơ dừa + 30% trấu hun + 30% đất + 10% phân hữu cơ

CT2: 60% xơ dừa + 30% đất + 10% phân hữu cơ

CT3: 60% dừa cục + 30% đất + 10% phân hữu cơ

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần lặp lại trồng 5 chậu, mỗi chậu trồng 1 cây.

2.3. Các chỉ tiêu theo dõi

Giai đoạn tạo vật liệu khởi đầu: sau 2 tuần xử lý khử trùng số cây sống, cây chết và cây nhiễm khuẩn được đếm để xác định các chỉ tiêu:

- Tỷ lệ sống (%) = $(\text{Số mẫu sống} / \text{Tổng số mẫu nuôi cấy}) \times 100$

- Tỷ lệ chết (%) = $(\text{Số mẫu chết} / \text{Tổng số mẫu nuôi cấy}) \times 100$

- Tỷ lệ nhiễm (%) = $(\text{Số mẫu nhiễm} / \text{Tổng số mẫu nuôi cấy}) \times 100$

Giai đoạn nhân nhanh: sau 4 tuần nuôi cấy số mẫu hình thành chồi và số chồi được hình thành từ chồi mẫu gốc được đếm để xác định các chỉ tiêu:

- Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%) = $(\text{Số mẫu tạo chồi} / \text{Tổng số mẫu nuôi cấy}) \times 100$

- Hệ số nhân chồi (chồi/mẫu) = $\text{Số chồi tạo thành} / \text{Tổng số mẫu nuôi cấy}$

Đặc điểm chồi được đánh quan sát, đánh giá và phân loại theo nhóm: Tốt (+++): rễ có hình thái đẹp và mập; Trung bình (++) : rễ đẹp và mảnh và Kém (+): rễ yếu và mảnh.

Giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh: sau 4 tuần nuôi cấy số chồi ra rễ và số rễ được hình thành được đếm để xác định các chỉ tiêu:

- Tỷ lệ ra rễ (%) = $(\text{Số chồi ra rễ} / \text{Tổng số chồi}) \times 100$

- Số rễ trung bình/chồi = $\text{Tổng số rễ} / \text{Tổng số chồi ra rễ}$

Đặc điểm chồi được đánh quan sát, đánh giá và phân loại theo nhóm: Tốt (+++): chồi có hình thái đẹp và mập; Trung bình (++) : chồi có màu xanh hơi nhạt và Kém (+): chồi yếu và gầy.

Giai đoạn vườn ươm: sau 4 tuần chăm sóc cây trong vườn ươm, số cây sống được đếm để xác định tỷ lệ mẫu sống.

- Tỷ lệ mẫu sống (%) = $(\text{Số cây sống} / \text{Tổng số cây đưa ra giá thể}) \times 100$

Mỗi công thức, mỗi lần nhắc lại lựa chọn 10 cây mẫu để xác định các chỉ tiêu sinh trưởng bao gồm chiều cao cây (cm) được đo từ mặt bầu tới vượt lá và tổng số lá xuất hiện trên cây.

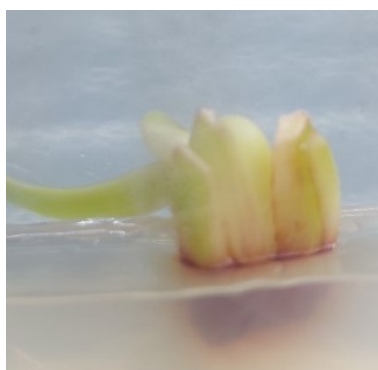
2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp và xử lý bằng chương trình Microsoft Excel và phần mềm Statistix 8 trên máy tính. Các công thức được so sánh theo phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố với sai khác giữa các giá trị trung bình bằng giá trị LSD ở độ tin cậy là 95%.

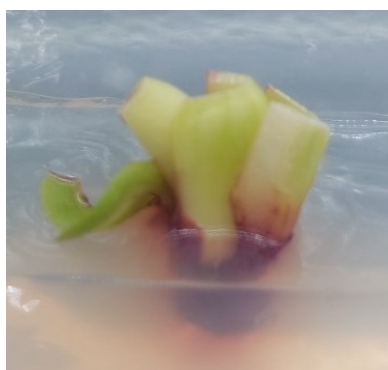
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng mẫu đến khả năng tạo vật liệu khởi đầu

Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian khử trùng mẫu khác nhau cho tỷ lệ tạo mẫu vô trùng khác nhau (Bảng 1 và Hình 1). Kết quả cho thấy khử trùng mẫu bằng presept 5 g/l trong 50 phút cho tỷ lệ mẫu sống đạt 90%. Thời gian khử trùng mẫu tăng, tỷ lệ mẫu sống giảm xuống lần lượt là 85% trong 60 phút và 75% trong 70 phút. Tỷ lệ mẫu chết cũng cao nhất khi khử trùng mẫu trong 70 phút.



50 phút



60 phút

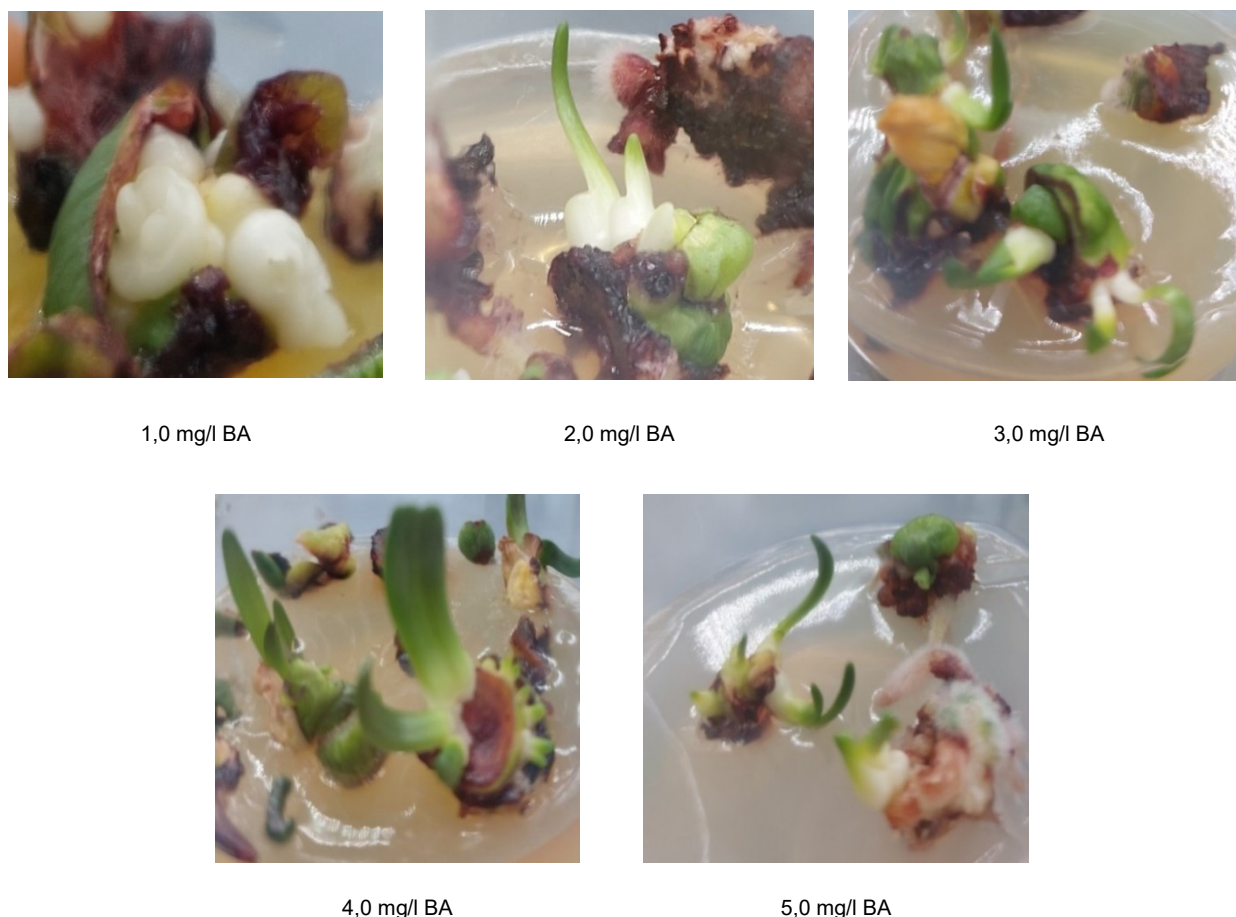


70 phút

Hình 1. Mẫu sống sau khi khử trùng để tạo vật liệu ban đầu sau 2 tuần xử lý

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng mẫu bằng Presept 5 mg/l đến khả năng tạo vật liệu khởi đầu cho cây Lan huệ sau 2 tuần xử lý

Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)
50	90	5	5
60	85	5	10
70	75	20	5



Hình 2. Ảnh hưởng của BA đến khả năng phát sinh hình thái mẫu sau 4 tuần nuôi cấy

Presept chứa hoạt chất Sodium dichloroisocyanurate có tính kháng khuẩn cao với các loại vi khuẩn sống sinh dưỡng, virus và nấm gây bệnh và thường được dùng để khử trùng mẫu trong nuôi cấy mô (Đinh Trường Sơn & cs., 2021). Presept được sử dụng với nồng độ khác nhau (0,5-2,0 %) trong thời gian từ 5-90 phút tùy theo loại mẫu (Mihaljević & cs., 2013; Kendon & cs., 2017). Trong nghiên cứu này, đối với Lan huệ thời gian khử trùng mẫu thích hợp với Presept 5 g/l là 50 phút.

3.2. Ảnh hưởng của BA đến khả năng nhân nhanh và phát sinh hình thái mẫu

Khả năng hình thành chồi của mẫu nuôi cấy là yếu tố quyết định cho sự phát sinh hình thái mẫu. Để khả năng phát sinh chồi đạt tối đa, môi trường nuôi cấy cần được bổ sung các chất kích thích sinh trưởng với nồng độ thích hợp. Các mẫu sạch sau khi khử trùng được cấy chuyển sang môi trường có bổ sung BA với các nồng độ khác nhau thay đổi từ 0-5,0 mg/l. Kết

quả nghiên cứu cho thấy tăng nồng độ BA trong môi trường nuôi cấy giúp tăng khả năng bật chồi (Bảng 2 và Hình 2).

Các công thức bổ sung BA đều cho số chồi/mẫu cao hơn có ý nghĩa so với công thức đối chứng (trừ nồng độ 5,0 mg/l). Bổ sung BA ở nồng độ 3,0 mg/l cho tỷ lệ tạo chồi, số chồi và khả năng phát sinh hình thái của mẫu tốt nhất. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ BA lên 4,0 và 5,0 mg/l,

tỷ lệ tạo chồi và số chồi có xu hướng giảm. Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Phạm Đức Trọng & cs. (2014) khi bổ sung BA ở nồng độ 2-3 mg/l vào môi trường nuôi cấy các dòng Lan huệ lai cho kết quả tái sinh chồi từ vảy củ đôi tốt nhất. Kết quả tương tự được Chen & cs. (2025) đưa ra với nồng độ BA tối ưu là 2 mg/l. Trong khi, với loa kèn đỏ nhưng, nồng độ BA tốt nhất là 5 mg/l (Ninh Thị Thảo & cs., 2009).

Bảng 2. Ảnh hưởng của BA đến khả năng phát sinh hình thái mẫu sau 4 tuần nuôi cấy

Nồng độ BA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu (chồi)	Đặc điểm chồi
0 (đối chứng)	13,3	1,13 ^c	+
1,0	40,0	1,93 ^b	++
2,0	66,7	2,20 ^{ab}	++
3,0	80,0	2,53 ^a	+++
4,0	60,0	2,20 ^{ab}	+++
5,0	53,3	1,87 ^{bc}	++

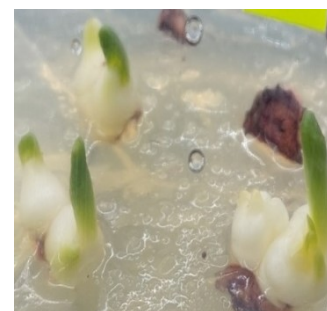
Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sai khác giữa các nồng độ ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$; +++: Tốt (Chồi đẹp, mập); ++: Trung bình (Chồi màu xanh hơi nhạt); +: Kém (Chồi yếu, gầy).



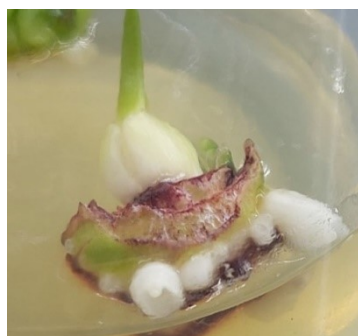
0,5 mg/l 2,4-D



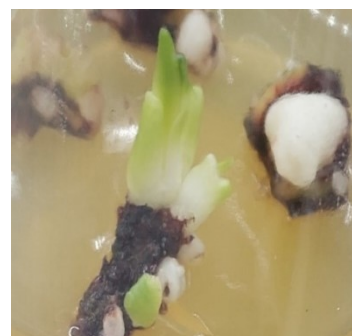
1,0 mg/l 2,4-D



1,5 mg/l 2,4-D



2,0 mg/l 2,4-D



2,5 mg/l 2,4-D

Hình 3. Ảnh hưởng của 2,4-D đến khả năng phát sinh hình thái mẫu sau 4 tuần nuôi cấy

Bảng 3. Ảnh hưởng của 2,4-D đến khả năng phát sinh hình thái mẫu sau 4 tuần nuôi cấy

Nồng độ 2,4-D (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu	Đặc điểm chồi
0 (đối chứng)	6,70	1,06 ^d	+
0,5	33,3	1,73 ^c	+
1,0	46,7	2,00 ^b	++
1,5	73,3	2,47 ^a	+++
2,0	60,0	2,20 ^{ab}	+++
2,5	46,7	2,00 ^b	++

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sai khác giữa các nồng độ ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$; +++: Tốt (Chồi đẹp, mập); ++: Trung bình (Chồi màu xanh hơi nhạt); +: Kém (Chồi yếu, gầy)

3.3. Ảnh hưởng của 2,4-D đến khả năng nhân nhanh và phát sinh hình thái mẫu

Cùng với BA, 2,4-D cũng tác động mạnh lên sự phát triển tế bào, cảm ứng sự phân chia tế bào, tăng chất lượng hình thái chồi (Ngô Minh Trí & cs., 2023). Kết quả nghiên cứu cho thấy các công thức bổ sung 2,4-D đều cho tỷ lệ mẫu tạo chồi cao hơn công thức đối chứng (Bảng 3 và Hình 3).

Tỷ lệ tạo chồi có xu hướng tăng và đạt cao nhất ở nồng độ 1,5 mg/l (73,3%), tuy nhiên khi tăng nồng độ, tỷ lệ tạo chồi có xu hướng giảm chỉ còn 46,7% ở nồng độ 2,5 mg/l. Kết quả tương tự cho thấy số chồi/mẫu đạt cao nhất ở nồng độ 1,5 mg/l và giảm khi tăng nồng độ 2,4-D lên 2,0 và 2,5 mg/l. Kết quả nghiên cứu cũng ghi nhận hình thái chồi đạt tốt nhất khi được nuôi cấy trên môi trường 2,4-D ở nồng độ 1,5 và 2,0 mg/l.

3.4. Ảnh hưởng của tổ hợp BA và 2,4-D đến khả năng nhân nhanh và phát sinh hình thái mẫu

Nghiên cứu tiến hành đánh giá ảnh hưởng nồng độ 2,4-D đến khả năng phát sinh chồi trong môi trường nuôi cấy có bổ sung BA ở nồng độ 3,0 mg/l. Tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100% ở các công thức bổ sung 2,4-D ở nồng độ từ 1,0 đến 2,0 mg/l. Tại công thức có nồng độ 2,4-D thấp (0,5 mg/l) tỷ lệ mẫu tạo chồi cũng đạt 93,3% (Bảng 4 và Hình 4). Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ mẫu tạo chồi đều đạt cao hơn khi nuôi cấy trong môi trường không bổ sung BA (Bảng 3).

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, bổ sung 2,4-D ở nồng độ 1,0 mg/l cho số chồi/mẫu đạt cao nhất ở mức ý nghĩa 95%. Số chồi/mẫu có xu hướng giảm khi nồng độ 2,4-D tăng lên 1,5 và 2,0 mg/l, tuy nhiên vẫn cao hơn có ý nghĩa so với công thức bổ sung 2,4-D ở nồng độ thấp (0,5 mg/l). Hình thái chồi cũng đạt tốt nhất khi bổ sung 2,4-D ở nồng độ 1,0 mg/l (Bảng 4). Như vậy, so với thí nghiệm 2, khi sử dụng kết hợp 2,4-D với BA, nồng độ 2,4-D cần bổ sung trong môi trường nuôi cấy giảm. Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Phạm Đức Trọng & cs. (2014) khi bổ sung các auxin khác như IBA hay α -NAA lần lượt với nồng độ 0,25 mg/l trên môi trường BA tối ưu (2-3 mg/l) giúp cho khả năng tái sinh chồi đạt tốt nhất, trong khi ở các nồng độ cao hơn, số chồi/mẫu, chiều cao và hình thái chồi đều giảm. Kết quả cũng phù hợp với nghiên cứu của Janet & Bruce (1977) cho biết 2,4-D sử dụng với nồng độ 1 mg/l kết hợp với BAP 1 mg/l là thích hợp cho nuôi cấy Lan huệ.

3.5. Ảnh hưởng của α NAA đến sự hình thành rễ

Axit α -naphtylaxetic (α -NAA) là một auxin có tác dụng lên quá trình hình thành rễ, chồi ngọn, già hóa của lá, hình thành và già hóa của hoa và quả, cũng như sự kéo dài tế bào và phát triển các mô thực vật (Srivastava & Dwivedi, 2001). Nhưng nếu hàm lượng chất kích thích quá cao, có thể gây tác dụng ngược lại và trở thành chất ức chế. Kết quả nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung α -NAA đến khả

năng tạo rễ của chồi Lan huệ được trình bày ở bảng 5 và hình 4. Kết quả cho thấy, bổ sung α -NAA cho tỷ lệ mẫu tạo rễ cũng như số lượng rễ/mẫu cao hơn so với công thức đối chứng. Tăng nồng độ α -NAA tỷ lệ mẫu tạo rễ và số rễ/mẫu tăng dần và đạt cao nhất ở nồng độ 1,0 mg/l, lần lượt đạt 100% và 4,00 rễ/mẫu. Tăng nồng độ α -NAA lên 1,5 mg/l, tỷ lệ mẫu tạo rễ vẫn đạt 100%, tuy nhiên số rễ/mẫu giảm có ý nghĩa

xuống chỉ còn 3,78 rễ/mẫu. Hình thái rễ cũng đạt trạng thái tốt nhất ở nồng độ α -NAA ở 1,0-1,5 mg/l. Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Phạm Đức Trọng & cs. (2014) khi nồng độ α -NAA thích hợp nhất trong môi trường tạo rễ (không chứa than hoạt tính) là 1,5-2,0 mg/l. Nguyen & cs. (2025) cũng cho kết quả tương tự khi sử dụng NAA với nồng độ 2,0 mg/l cho hiệu quả tạo cây hoàn chỉnh tốt nhất.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tổ hợp BA (3 mg/l) và 2,4-D đến khả năng phát sinh hình thái mẫu sau 4 tuần nuôi cấy

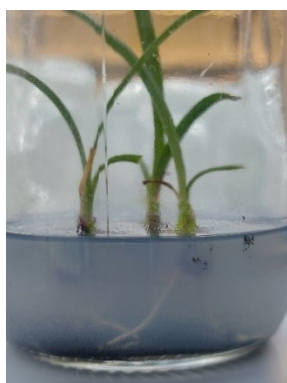
Nồng độ 2,4-D (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu (chồi)	Đặc điểm chồi
0,5	93,3	2,60 ^c	++
1,0	100,0	3,06 ^a	+++
1,5	100,0	2,87 ^b	++
2,0	100,0	2,80 ^b	++

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sai khác giữa các nồng độ ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$; +++: Tốt (Chồi đẹp, mập); ++: Trung bình (Chồi màu xanh hơi nhạt); +: Kém (Chồi yếu, gầy).

Bảng 5. Ảnh hưởng của α -NAA đến sự hình thành rễ sau 4 tuần nuôi cấy

Nồng độ α -NAA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số rễ/mẫu	Đặc điểm rễ
0 (đối chứng)	66,7	2,11 ^d	+
0,5	88,9	3,55 ^c	++
1,0	100,0	4,00 ^a	+++
1,5	100,0	3,78 ^b	+++

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sai khác giữa các nồng độ ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$; +++: Tốt (Rễ đẹp, mập); ++: Trung bình (rễ đẹp, mảnh); +: Kém (Rễ mảnh, yếu).



0,5 mg/l α -NAA



1,0 mg/l α -NAA



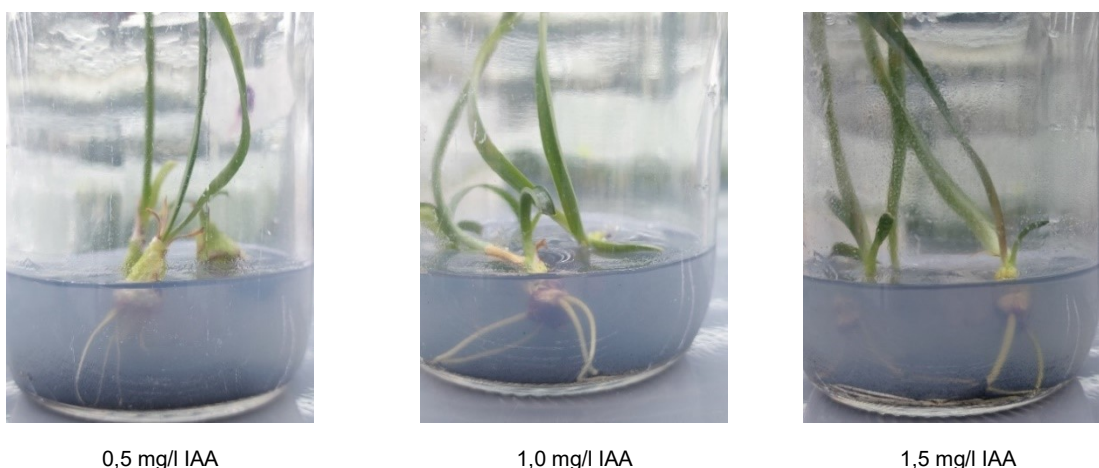
1,5 mg/l α -NAA

Hình 4. Ảnh hưởng của α -NAA đến khả năng ra rễ và chất lượng rễ của cây Lan huệ sau 4 tuần nuôi cấy

Bảng 6. Ảnh hưởng của IAA đến sự hình thành rễ sau 4 tuần nuôi cấy

IAA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số rễ/mẫu	Đặc điểm rễ
0 (đối chứng)	66,7	2,11 ^d	+
0,5	77,8	2,78 ^c	++
1,0	100,0	3,00 ^b	++
1,5	100,0	3,33 ^a	+++

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sai khác giữa các nồng độ ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$; +++: Tốt (Rễ đẹp, mập); ++: Trung bình (rễ đẹp, mảnh); +: Kém (Rễ mảnh, yếu).



Hình 5. Ảnh hưởng của IAA đến khả năng ra rễ và chất lượng rễ của cây Lan huệ sau 4 tuần nuôi cấy

3.6. Ảnh hưởng của nồng độ IAA đến sự hình thành rễ của cây

Indole-3-Acetic Acid (IAA) là một auxin có tác dụng thúc đẩy sự phân chia tế bào và hình thành rễ nhánh, rễ, lá, dùng để tăng nhanh tốc độ giâm, chiết cây trồng và được sử dụng rộng rãi trong việc nhân giống cây (Tang & cs., 2023). Tuy nhiên, cũng giống như α -NAA, khi nồng độ IAA quá lớn sẽ có thể ức chế quá trình phát sinh rễ. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của IAA đến khả năng tạo rễ của chồi Lan huệ được trình bày trong bảng 6 và hình 5.

Kết quả cho thấy khi tăng nồng độ IAA, tỷ lệ mẫu ra rễ tăng đạt cao nhất (100%) ở nồng độ IAA ở các mức cao (1,0 và 1,5 mg/l). Số rễ/mẫu cũng có ý nghĩa khi tăng nồng độ IAA từ 0 đến 1,5 mg/l. Ở nồng độ 1,5 mg/l, hình thái rễ cũng đạt tốt nhất so với các công thức có nồng độ thấp hơn. Như vậy, IAA và α -NAA ở ngưỡng 1,0-1,5 mg/l đều giúp cho cây Lan huệ

tạo rễ tốt nhất.

3.7. Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Lan huệ giai đoạn vườn ươm

Kết quả nghiên cứu cho thấy không có sự sai khác về tỷ lệ cây sống giữa các công thức giá thể (tỷ lệ cây sống đều đạt 100%). Tuy nhiên với các chỉ tiêu về số lá/cây, chiều cao cây, sai khác giữa các công thức là có ý nghĩa. Ở đó, công thức CT2 (60% xơ dừa + 30% đất + 10% phân hữu cơ) cho số lá/cây (3,53 lá/cây) và chiều cao cây (16,34cm) đạt mức cao nhất, tiếp đến là công thức CT3 sử dụng 60% xơ dừa + 30% đất + 10% phân hữu cơ (Bảng 7 và Hình 6). Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Phạm Đức Trọng & cs. (2014) khi sử dụng vật liệu cát (75%) bổ sung trấu hun (25%) tạo môi trường có độ thoáng khí và tơi xốp tốt nhất, đã giúp nâng cao sinh trưởng và phát triển của cây Lan huệ khi ra ngôi.

Bảng 7. Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sinh trưởng của cây Lan huệ giai đoạn vườn ươm sau 4 tuần theo dõi

Công thức giá thể	Tỷ lệ cây sống (%)	Số lá/cây	Chiều cao cây (cm)
CT1	100	3,33 ^c	15,32 ^b
CT2	100	3,53 ^a	16,34 ^a
CT3	100	3,40 ^b	16,11 ^{ab}

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sai khác giữa các nồng độ ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$; CT1: 30% xơ dừa + 30% trấu hun + 30% đất + 10% phân hữu cơ; CT2: 60% xơ dừa + 30% đất + 10% phân hữu cơ; CT3: 60% dừa cục + 30% đất + 10% phân hữu cơ.



Hình 6. Ảnh hưởng của loại giá thể tới sinh trưởng của cây Lan huệ 4 tuần sau ra ngoài

4. KẾT LUẬN

Trong giai đoạn tạo vật liệu khởi đầu, sử dụng Presept 5 g/l trong 50 phút là tốt nhất cho xử lý mẫu Lan huệ với tỷ lệ sống đạt cao nhất (90%). Trong giai đoạn nhân nhanh, môi trường bổ sung 1,0 mg/l 2,4-D kết hợp với 3 mg/l BA cho hiệu quả nhân chồi cao nhất với tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100% và số chồi/mẫu đạt 3,06 chồi. Trong giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh, bổ sung 1 mg/l α NAA hoặc 1,5 mg IAA là tối ưu với khả năng ra rễ đạt cao nhất với tỷ lệ cây ra rễ đạt 100% và số rễ/mẫu lần lượt đạt 4,00 và 3,33 rễ. Giai đoạn vườn ươm, sử dụng giá thể xơ dừa : đất : phân hữu cơ (6:3:1) cho tỷ lệ sống đạt 100%, số lá (3,53 lá/cây) và chiều cao cây (16,34cm) đạt cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chen X., Chen C., Zheng J., Lin, J., Wu P. & Ji Y. (2025). The tissue culture technology of *Hippeastrum vittatum*. Journal of Fujian Forestry Science and Technology. 52(2): 66-69.
- De Buruyn M.H., Ferreira D.I., Slabbert M.M. & Pretorius J. (1992). *In vitro* propagation of *Amaryllis belladonna*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 31: 179-184.
- Đinh Trường Sơn, Bùi Huy Hoàng, Nguyễn Hải Ninh, Ninh Thị Phip, Phạm Ngọc Khánh, Đặng Thị Thanh Tâm, Nguyễn Thị Lâm Hải & Nguyễn Thanh Hải (2021). Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 19(3): 301-310.
- Epharath J.E., Ben A., Baruchin F., Alekperov C., Dayan E. & Silerbush M. (2001). Various cutting methods for the propagation of *Hippeastrum* bulbs. Biotronics. 30: 75-83.
- Huang C.L., Chang K.O. & Hiroshi O. (2005). *In vitro* morphogenesis from ovaries of *Hippeastrum* \times *Hybridum*. Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University. 50(1): 19-25.
- Hussey G. (1975). Totipotency in tissue explants and callus of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. Journal of Experimental Botany. 26: 253-262.
- Janet E.A.S. & Bruce G.C. (1977). The *in vitro* propagation of amaryllis (*Hippeastrum* spp. Hybrids). *In Vitro*. 13: 831-836.
- Kendon J.P., Rajaovelona L., Sandford H., Fang R., Bell J. & Sarasan V. (2017). Collecting near mature and immature orchid seeds for *ex situ* conservation: 'in vitro collecting' as a case study. Botanical Studies. 58: 34-34.
- Martínez-Peinado N., Cortes-Serra N., Tallini L.R., Maria-Jesus P., Gascon J., Jaime Bastida J. &

- Alonso-Padilla J. (2021). Amaryllidaceae plants: a potential natural resource for the treatment of Chagas disease. *Parasi Vectors*. 14: 337.
- Mihaljević I., Dugalić K., Tomaš V., Viljevac M., Pranjić A., Čmelik Z., Puškar B. & Jurković Z. (2013). *In vitro* sterilization procedures for micropropagation of 'Oblačinska' sour cherry. *Journal of Agricultural Sciences*. 58: 117-126.
- Murashige T. & Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15: 473-497.
- Ngô Minh Trí, Trần Lê Nguyên, Trần Thị Mỹ Tiên, Lâm Ngọc Kim Trúc, Phùng Hoàng Yên, Dương Nguyễn Mai Anh, Phùng Thị Hằng & Nguyễn Thị Pha (2023). Khảo sát ảnh hưởng của 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, α -naphthylacetic acid đến sự phát sinh biến dị trên lan Cẩm Cù (*Hoya kerrii*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*. 65(9): 63-68.
- Nguyen T.M.D, Trinh T.T.H, Diep N.T.H & Bui P.T. (2025). Study on micropropagation and acclimatization of hippeastrum 'Double king' flowers in An Giang province of Vietnam. *Plant Science Today*. 12(4): 1-8.
- Ninh Thị Thảo, Nguyễn Thị Cúc, Nguyễn Hạnh Hoa & Nguyễn Thị Phương Thảo (2009). Bước đầu nghiên cứu quy trình nhân nhanh *in vitro* cây Loa kèn đỏ nhung (*Hippeastrum equestre* Herb.). *Tạp chí Khoa học và Phát triển*. 7(4): 453-459.
- Phạm Đức Trọng, Nguyễn Hạnh Hoa & Phí Thị Cẩm Miện (2014). Nghiên cứu xây dựng quy trình nhân nhanh *in vitro* sáu dòng hoa Lan huệ - *Hippeastrum esquestre* (Aiton) Herb. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*. 12(3): 392-403.
- Phạm Thị Minh Phượng & Trần Thị Minh Hằng (2014). Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống vô tính cây lan huệ (*Hippeastrum* sp.) bằng phương pháp chẻ củ. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. 1(5): 32-39.
- Siddique M.N.A, Sultana J., Sultana N. & Hossain M.M. (2007). *Ex vitro* establishment of *in vitro* produced plantlets and bulblets of *Hippeastrum (Hippeastrum hybridum)*. *International Journal of Sustainable Crop Production*. 2(3): 22-24.
- Srivastava S. & Dwivedi U.N. (2001). Plant regeneration from callus of *Cuscuta reflexa* - an angiospermic parasite -and modulation of catalase and peroxidase activity by salicylic acid and naphthalene acetic acid. *Plant Physiology and Biochemistry*. 39: 529-538.
- Tang J., Li Y., Zhang L., Mu J., Jiang Y., Fu H., Zhang Y., Cui H., Yu X. & Ye Z. (2023). Biosynthetic pathways and functions of indole-3-acetic acid in microorganisms. *Microorganisms*, 11(8): 2077. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11082077>.
- Vijverberg A.J. (1981). *Growing Amaryllis*. Grower Book, London. p. 57.