

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH NHÂN GIỐNG IN VITRO LAN KIM TUYẾN (*Anoectochilus sp.*)

**Hoàng Nhật Phi⁽¹⁾, Hoàng Quốc Việt⁽²⁾, Nguyễn Đức Toàn⁽³⁾,
Phạm Thị Mỹ Trâm^(4,*)**

(1) Viện Công nghệ Xanh và Bền vững, Trường Đại học Thủ Dầu Một,
Email: 2424202010036@student.tdmu.edu.vn

(2) Viện Công nghệ Xanh và Bền vững, Trường Đại học Thủ Dầu Một
Email: 2424202010080@student.tdmu.edu.vn

(3) Viện Công nghệ Xanh và Bền vững, Trường Đại học Thủ Dầu Một,
Email: 2424202010076@student.tdmu.edu.vn

(4) Viện Công nghệ Xanh và Bền vững, Trường Đại học Thủ Dầu Một
Email: tramptm@tdmu.edu.vn

(*) Tác giả liên hệ

Ngày nhận bài: 13/3/2026; Chấp nhận đăng: 20/4/2026

Tóm tắt

Lan kim tuyến (Anoectochilus sp.) là một loài thực vật dược mang nhiều dược tính quý giá, từ lâu đã được sử dụng trong nền y học cổ truyền như một vị thuốc điều trị các bệnh như đau bụng và sốt cao. Tuy nhiên, do bị khai thác quá mức cho nên loài này hiện đang có nguy cơ tuyệt chủng trong môi trường tự nhiên. Nghiên cứu này đánh giá ảnh hưởng của nhóm chất auxin và giá thể lên sự sinh trưởng của chồi lan kim tuyến nhằm xây dựng quy trình nhân nhanh in vitro loài này. Kết quả cho thấy, môi trường Gamborg B5 bổ sung indole-3-butyric acid (IBA) 4 mg/L cho kết quả tốt nhất với số chồi, lá và rễ trung bình mỗi chồi mẫu ban đầu đạt được lần lượt là 2,56 chồi/mẫu, 5,00 lá mới/chồi và 4,33 rễ/chồi. Giá thể phối trộn vỏ thông (40%), xơ dừa (10%), trấu hun (10%), đất (10%) và phân bò (20%) phù hợp cho sự sinh trưởng của cây con lan kim tuyến ngoài vườn ươm. Cây con trồng trên giá thể này đạt chiều cao 7,72 cm với số lá và số rễ lần lượt là 5,00 lá/cây và 3,20 rễ/cây, đạt tỷ lệ sống sót 100% sau 12 tuần nuôi cấy. Kết quả nghiên cứu này đã bổ sung thêm cơ sở khoa học và thực tiễn có giá trị, làm nền tảng cho việc nhân giống, bảo tồn cũng như định hướng phát triển đối với loài lan quý hiếm này.

Từ khóa: *Anoectochilus sp.*, in vitro, lan kim tuyến, nhân giống.

Abstract

STUDY ON THE IN VITRO PROPAGATION OF *Anoectochilus sp.*

*Anoectochilus sp. is a medicinal plant with many valuable healing properties. It has long been used in traditional medicine as a remedy for ailments such as stomach pain and high fever. However, due to overexploitation, this species is now endangered in the wild. This article investigates the influence of auxin compounds and substrates on the growth of *Anoectochilus sp.* to develop an in vitro rapid propagation. The results showed that the Gamborg B5 medium supplemented with 4 mg/L indole-3-butyric acid (IBA) yielded the best results, with the average number of shoots, leaves, and roots per original sample reaching 2.56 shoots/sample, 5.00 leaves/shoot, and 4.33 roots/shoot, respectively. The mixed substrate in the treatment, consisting of pine bark (40%), coconut fiber (10%), burnt rice husk (10%), soil (10%), and cow manure (20%), was*

suitable for the growth of Anoectochilus sp. seedlings. Seedlings grown on this substrate reached a height of 7.72 cm with 5.00 leaves/plant and 3.20 roots/plant, respectively, and a survival rate of 100% after 12 weeks of planting. This research has provided a valuable scientific and practical basis, laying the foundation for breeding, conservation, and the future development of this orchid species.

1. Giới thiệu

Nuôi cấy thực vật *in vitro* là một phương pháp nhân bản vô tính phổ biến, giúp sản xuất quanh năm các cây giống sạch bệnh, đồng thời tối ưu hóa chất lượng và năng suất cây trồng thông qua việc điều chỉnh môi trường và chất điều hòa sinh trưởng phù hợp cho từng loài thực vật (Ahmadian và nnk., 2013; Zaytseva và nnk., 2021; Sidik và nnk., 2024). Phương pháp này được đề xuất lần đầu tiên bởi Haberlandt vào đầu thế kỷ XX và ngày trở nên thiết yếu trong cả nghiên cứu và ứng dụng thương mại (Thorpe, 2007; Sidik và nnk., 2024). Nhiều nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* đã được tiến hành trước đó trên nhiều loài thực vật khác nhau, nhằm bảo tồn nguồn gene cũng như nhân nhanh giống cây trồng quý hiếm (Sidik và nnk., 2024). Trong đó, loài lan kim tuyến đã và đang được quan tâm đến nhờ độ quý hiếm, giá trị kinh tế và dược liệu cao (Thúy và nnk., 2015).

Cây lan kim tuyến (*Anoectochilus sp.*) hay cây lan gấm, lan kim cương, tuyến tơ, mộc sơn, là một loại dược liệu quý thuộc họ phong lan (Orchidaceae) và được phát hiện ở Việt Nam (Phê và nnk., 2010; Thạch và nnk., 2012). Loài này được ghi nhận phân bố trải rộng ở một số khu vực tại các nước như Trung Quốc, Ấn Độ, Bangladesh, Nepal, dãy Himalaya, Sri Lanka, Indonesia, Myanmar, Thái Lan và Việt Nam (Bon và nnk., 2020). Ở Việt Nam, chúng thường phân bố ở miền Bắc và Tây Nguyên như Hải Phòng, Lào Cai, Tam Đảo, Kon Tum, Gia Lai, Sơn La, Yên Bái (Tuấn và nnk., 2021). Chúng có số lượng khá ít, thường phân tán rải rác dưới những cánh rừng cây gỗ lớn có lá rộng và giữ lá xanh quanh năm ở vùng khí hậu á nhiệt đới núi thấp và đôi khi bắt gặp ở kiểu rừng mưa nhiệt đới ở độ cao 1.200 - 1.800 m (Phê và nnk., 2010; Bon và nnk., 2020). Ngoài tự nhiên, quá trình sinh trưởng và phát triển của loài này diễn ra rất chậm, đặc biệt là sự tái sinh chồi (Ty và nnk., 2020).

Nền y học cổ truyền thường sử dụng lan kim tuyến như một vị thuốc để điều trị một số bệnh như đau bụng, sốt cao hoặc đắp bên ngoài vết rấn cắn. Ngoài ra, cây lan kim tuyến còn được đánh giá là có tính kháng khuẩn cao, chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học, có giá trị dược liệu cao và được sử dụng như một loại rau xanh (Tuấn và nnk., 2021; Ty và nnk., 2020). Tuy nhiên, hiện nay cộng đồng dân tộc thiểu số tại các địa phương thường khai thác loài này trong tự nhiên vì mục đích thương mại với quy mô lớn, làm cho loài này đang đứng trước nguy cơ bị tuyệt chủng trong tự nhiên nếu không có biện pháp bảo tồn (Phê và nnk., 2010). Từ năm 2006, loài này đã được liệt kê vào nhóm IA theo Nghị định 32/2006/CP và đến năm 2007 đã được phân hạng là thực vật rừng nguy cấp (EN A1 a, c, d) trong sách đỏ Việt Nam, nghiêm cấm khai thác trong tự nhiên vì mục đích thương mại (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2007). Vì vậy, công tác bảo tồn loài thực vật này ngoài tự nhiên là một việc vô cùng cấp bách.

Hiện nay đã có một số nghiên cứu đề xuất các phương pháp nuôi cấy *in vitro* và *ex vitro* đối với các loài lan kim tuyến (Xiêm và nnk, 2019; Hường và nnk, 2024). Tuy nhiên, các công bố này chủ yếu tập trung vào vi nhân giống *in vitro* hoặc trồng trên giá thể ở giai đoạn vườn ươm; trong khi đó, các nghiên cứu xây dựng quy trình hoàn chỉnh

từ *in vitro* đến chuyển cây ra môi trường tự nhiên vẫn còn hạn chế. Do đó, nghiên cứu nhân nhanh cây lan kim tuyến (*Anoectochilus* sp.) từ *in vitro* đến *ex vitro* được thực hiện nhằm đáp ứng nhu cầu nguồn nguyên liệu cho thị trường, đồng thời giúp bảo tồn loài thực vật quý hiếm này trong tự nhiên.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Những bình mẫu lan kim tuyến (*Anoectochilus* sp.) được cung cấp bởi phòng thí nghiệm nuôi cấy mô thực vật, Trường Đại học Thủ Dầu Một (Hình 1). Sau khi thu nhận, mẫu được xử lý bằng kéo và dao phẫu thuật thành các đoạn dài 2 cm trong tủ cấy vô trùng. Các đốt lan kim tuyến đều mang hai đốt có mắt ngủ của chồi.



Hình 1. Cây lan kim tuyến (*Anoectochilus* sp.) *in vitro*

Nguồn: Tác giả, năm 2025

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của indole-3-butyric acid (IBA) và naphthalene acetic acid (NAA) đến sự sinh trưởng của chồi *in vitro*

Mẫu lan kim tuyến được đặt lên môi trường Gamborg B5 bổ sung sucrose 30 g/L và agar 7,5 g/L, đồng thời phối hợp ngẫu nhiên IBA với dãy nồng độ: 0, 1, 2, 3 và 4 mg/L với NAA ở nồng độ 0 và 0,5 mg/L. Quá trình nuôi cấy được tiến hành ở phòng nuôi cấy mô, duy trì nhiệt độ ổn định trong khoảng $25 \pm 2^\circ\text{C}$ và chu kỳ chiếu sáng là 16 giờ sáng với cường độ chiếu sáng là 1500 lux. Mẫu sau khi được nuôi cấy sẽ được theo dõi các chỉ tiêu trong vòng 12 tuần bao gồm: số chồi, số lá, chiều cao chồi (cm) và số rễ/mẫu.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của sự phối trộn các loại giá thể trồng đến sinh trưởng cây lan kim tuyến ngoài vườn ươm

Sau khoảng thời gian huấn luyện, các chồi khỏe mạnh và đồng đều về kích thước sẽ được lựa chọn để tiến hành ra cây ngoài vườn ươm. Các mẫu này được tiến hành trồng trên các loại giá thể khác nhau (Bảng 1), được tham khảo từ nghiên cứu của Xiêm và nnk (2019).

Bảng 1. Tỷ lệ phối trộn giá thể ở các nghiệm thức tiến hành

Nghiệm thức	Vỏ thông	Xơ dừa	Trấu hun	Đất	Phân bò
NT1	40%	30%	10%	10%	10%
NT2	40%	10%	10%	20%	10%
NT3	40%	10%	10%	10%	20%

Nguồn: Tác giả, năm 2025

Chỉ tiêu theo dõi: chiều cao chồi (cm), số chồi/cây/nghiệm thức, số lá và rễ ở các mẫu của từng nghiệm thức sau 8 tuần nuôi cấy.

2.2.3. Xử lý số liệu

Dữ liệu thực nghiệm được tiến hành phân tích phương sai ANOVA bằng phần mềm Minitab16 với mức ý nghĩa thống kê 5%. Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần thí nghiệm lặp lại.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của IBA và NAA đến sự sinh trưởng của chồi cây lan kim tuyến trong môi trường *in vitro*

Sự sinh trưởng của chồi trong môi trường *in vitro* quyết định tới năng suất của cả quá trình nuôi cấy. Do đó, việc bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng nhằm thúc đẩy sự sinh trưởng và phát triển của chồi trong quá trình nhân nhanh *in vitro* thường được sử dụng. Trong thí nghiệm này, IBA và NAA được sử dụng để kích thích sự sinh trưởng của chồi từ các đoạn thân của cây lan kim tuyến *in vitro*. Kết quả thí nghiệm được ghi nhận trong hình 2 và bảng 2, 3, 4, 5.

Bảng 2. Ảnh hưởng của IBA và NAA đến khả năng tái sinh chồi của cây lan kim tuyến *in vitro*

Chất điều hòa sinh trưởng thực vật (mg/L)		Số lượng chồi/mẫu		
IBA	NAA	4 tuần	8 tuần	12 tuần
Đối chứng		0,44 ± 0,57 ^a	1,11 ± 0,33 ^{abc}	1,78 ± 0,67 ^{ab}
1	0	1,33 ± 1,32 ^a	1,56 ± 1,01 ^{ab}	2,00 ± 0,87 ^{ab}
2	0	0,80 ± 0,42 ^a	1,44 ± 0,53 ^{abc}	2,11 ± 0,33 ^{ab}
3	0	0,89 ± 0,60 ^a	1,22 ± 0,83 ^c	1,89 ± 0,93 ^{ab}
4	0	1,00 ± 0,71 ^a	1,56 ± 0,53 ^{ab}	2,56 ± 1,01 ^a
1	0,5	0,55 ± 0,57 ^a	0,67 ± 0,50 ^{bc}	1,67 ± 0,50 ^{ab}
2	0,5	1,00 ± 0,71 ^a	1,44 ± 0,53 ^{abc}	1,22 ± 0,67 ^b
3	0,5	0,44 ± 0,73 ^a	0,44 ± 0,73 ^c	1,33 ± 0,87 ^{ab}
4	0,5	0,44 ± 0,73 ^a	1,89 ± 0,53 ^a	1,89 ± 0,60 ^{ab}

Các chữ cái trong một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $p \leq 0,05$

Nguồn: Tác giả, năm 2025

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, số chồi ở các nghiệm thức bắt đầu có sự khác biệt có ý nghĩa từ tuần thứ 8, với số chồi cao nhất ở nghiệm thức bổ sung IBA 4 mg/L và NAA 0,5 mg/L (1,89 ± 0,53 chồi/mẫu). Tuy nhiên, đến tuần thứ 12, việc bổ sung IBA đơn lẻ vào môi trường lại thể hiện rõ sự vượt trội về số chồi so với các nghiệm thức phối hợp với NAA và đối chứng. Số chồi đạt cao nhất khi bổ sung IBA 4 mg/L, với 2,56 ± 1,01 chồi/mẫu. Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của Huy và *nnk* (2023) khi sử dụng chất điều hoà sinh trưởng thidiazuron (TDZ) (0,5 mg/L) kết hợp với 6-benzylaminopurine (BA) (0,5 mg/L). Điều này có thể là do vai trò của cytokinin trong việc kích thích sự phát triển của chồi bên, qua đó làm tăng hệ số nhân chồi trong nuôi cấy thực vật *in vitro* (Lượng và *nnk.*, 2011).

Về chiều cao của chồi, nghiệm thức bổ sung IBA 2 mg/L lại cho thấy sự vượt trội với các chồi có sự phát triển tốt nhất, đạt chiều cao trung bình $6,92 \pm 0,78$ cm, có sự khác biệt có ý nghĩa với các nghiệm thức còn lại trong thí nghiệm. Khi tăng nồng độ IBA lên 3 mg/L, sự phát triển chiều cao chồi có sự kìm hãm rõ rệt, với chiều chồi trung bình của các chồi giảm xuống chỉ còn $4,97 \pm 1,03$ (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của IBA và NAA đến chiều cao của chồi lan kim tuyến in vitro

Chất điều hòa sinh trưởng thực vật (mg/L)		Chiều cao chồi (cm)		
IBA	NAA	4 tuần	tuần	12 tuần
Đối chứng		$2,81 \pm 0,40^a$	$4,59 \pm 0,46^{ab}$	$5,23 \pm 0,58^{bc}$
1	0	$2,86 \pm 0,56^a$	$4,38 \pm 0,58^b$	$5,99 \pm 0,53^{abc}$
2	0	$2,73 \pm 0,83^a$	$4,79 \pm 0,65^{ab}$	$6,92 \pm 0,78^a$
3	0	$3,50 \pm 1,02^a$	$5,84 \pm 0,83^a$	$4,97 \pm 1,03^c$
4	0	$3,50 \pm 1,02^a$	$4,48 \pm 1,24^{ab}$	$5,43 \pm 1,38^{abc}$
1	0,5	$2,48 \pm 0,88^a$	$4,01 \pm 0,54^b$	$6,67 \pm 0,60^{ab}$
2	0,5	$2,51 \pm 0,85^a$	$3,522 \pm 1,16^b$	$6,53 \pm 1,13^{abc}$
3	0,5	$2,57 \pm 0,85^a$	$3,89 \pm 1,42^b$	$5,22 \pm 1,02^{abc}$
4	0,5	$3,12 \pm 1,01^a$	$4,22 \pm 1,25^b$	$5,17 \pm 2,05^{bc}$

Các chữ cái trong một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $p \leq 0,05$

Nguồn: Tác giả, năm 2025

Bảng 4 ghi nhận, số lá ở các nghiệm thức đều tăng cao hơn so với đối chứng, đạt từ $2,67 \pm 0,87$ lá mới/chồi ở nghiệm thức bổ sung phối hợp IBA 3 mg/L với NAA 0,5 mg/L đến $3,11 \pm 0,78$ lá mới/chồi khi bổ sung phối hợp IBA 2 mg/L và NAA 0,5 mg/L. Trong đó, nghiệm thức có bổ sung IBA 4 mg/L cho số lá đạt cao nhất với $5,00 \pm 2,06$ lá mới/chồi.

Bảng 4. Ảnh hưởng của IBA và NAA đến số lá mới được hình thành trên các chồi lan kim tuyến in vitro sau 12 tuần nuôi cấy

Chất điều hòa sinh trưởng thực vật (mg/L)		Số lượng lá mới/chồi		
IBA	NAA	4 tuần	tuần	12 tuần
Đối chứng		$0,89 \pm 0,78^a$	$1,78 \pm 0,67^a$	$2,33 \pm 0,50^b$
1	0	$1,11 \pm 1,27^a$	$2,78 \pm 1,09^a$	$4,00 \pm 1,66^{ab}$
2	0	$0,89 \pm 1,36^a$	$2,22 \pm 1,39^a$	$2,67 \pm 0,50^b$
3	0	$0,67 \pm 0,50^a$	$1,67 \pm 0,50^a$	$4,33 \pm 1,50^{ab}$
4	0	$0,56 \pm 0,73^a$	$2,00 \pm 0,87^a$	$5,00 \pm 2,06^a$
1	0,5	$1,44 \pm 1,42^a$	$2,56 \pm 1,33^a$	$2,89 \pm 1,17^b$
2	0,5	$0,44 \pm 1,04^a$	$1,89 \pm 1,17^a$	$3,11 \pm 0,78^{ab}$
3	0,5	$0,44 \pm 0,73^a$	$1,89 \pm 1,05^a$	$2,67 \pm 0,87^b$
4	0,5	$0,67 \pm 0,50^a$	$2,11 \pm 0,78^a$	$2,78 \pm 1,86^b$

Các chữ cái trong một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $p \leq 0,05$

Nguồn: Tác giả, năm 2025

Ngoài ra, kết quả ở bảng 5 còn cho thấy IBA có ảnh hưởng đáng kể đến sự ra rễ của các chồi sau 12 tuần nuôi cấy. Cụ thể, số lượng rễ đạt cao nhất ở nghiệm thức bổ

sung IBA 4 mg/L với trung bình $4,33 \pm 1,58$ rễ/mẫu và giảm dần khi giảm nồng độ IBA. Trong khi đó, các nghiệm thức bổ sung thêm NAA không có sự khác biệt về số rễ giữa các nghiệm thức, dao động từ $2,78 \pm 0,83$ đến $3,33 \pm 0,71$ rễ/mẫu.

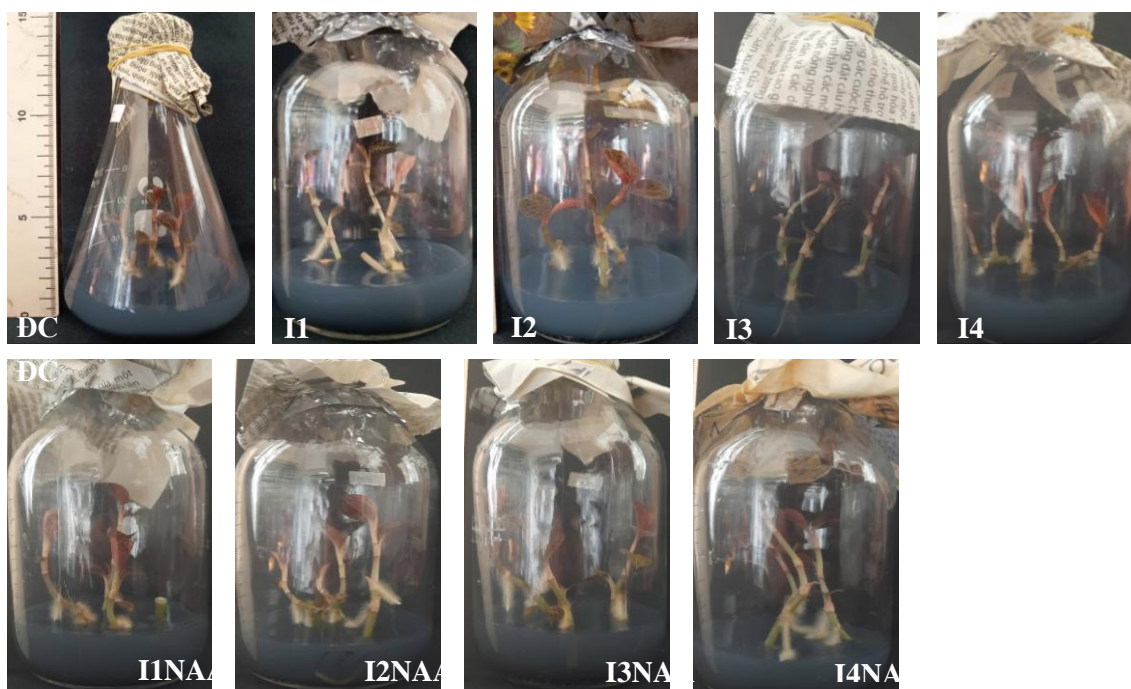
Tương tự, Hương và nnk (2024) đã ghi nhận rằng khi môi trường MS bổ sung IBA 0,7 mg/L giúp cây lan kim tuyến *in vitro* phát triển tốt với số rễ và chiều dài rễ đạt lần lượt là 2,1 rễ/mẫu và 3,5 cm sau 4 tuần nuôi cấy. Ngược lại, theo Thạch và nnk (2012), NAA lại cho hiệu quả tạo rễ lan kim tuyến tốt hơn so với IBA, với môi trường NAA 1 mg/L đạt 4,21 rễ/mẫu. Dù vậy, chất lượng lá ở cây bổ sung IBA được ghi nhận tốt hơn so với NAA.

Bảng 5. Ảnh hưởng của IBA và NAA đến số rễ được hình thành trên các chồi lan kim tuyến *in vitro* sau 12 tuần nuôi cấy

Chất điều hòa sinh trưởng thực vật (mg/L)		Số rễ/chồi
IBA	NAA	
ĐỐI CHỨNG		$2,56 \pm 0,53^b$
1	0	$3,22 \pm 0,97^{ab}$
2	0	$3,33 \pm 0,71^{ab}$
3	0	$3,33 \pm 0,87^{ab}$
4	0	$4,33 \pm 1,58^a$
1	0,5	$2,78 \pm 0,83^b$
2	0,5	$3,22 \pm 0,97^{ab}$
3	0,5	$3,33 \pm 0,71^{ab}$
4	0,5	$3,33 \pm 0,50^{ab}$

Các chữ cái trong một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $p \leq 0,05$

Nguồn: Tác giả, năm 2025



Hình 2. Sự thay đổi về hình thái của các chồi lan kim tuyến sau 12 tuần nuôi cấy *in vitro*

Nguồn: Tác giả, năm 2025

Qua kết quả ghi nhận ở thí nghiệm này, IBA 4 mg/L được lựa chọn để hỗ trợ tốt nhất cho quá trình sinh trưởng của cây lan kim tuyến *in vitro*.

3.2. Ảnh hưởng của sự phối trộn các loại giá thể trồng đến sinh trưởng cây lan kim tuyến *in vitro* ngoài vườn ươm (*ex vitro*)

Việc lựa chọn giá thể phù hợp cho giống cây trồng là một khâu quan trọng quyết định tới khả năng sống sót và sinh trưởng của cây (Tuyền và *nnk.*, 2018). Sau khi đã thích nghi với môi trường, các cây lan kim tuyến *in vitro* sẽ được lựa chọn đồng đều về kích thước và trồng vào các giá thể nghiên cứu. Các cây sau khi được trồng sẽ được chăm sóc kỹ trong giai đoạn cây làm quen với điều kiện môi trường. Sau 8 tuần ra cây, kết quả theo dõi các chỉ tiêu được ghi nhận lại ở bảng 6 và hình 3.

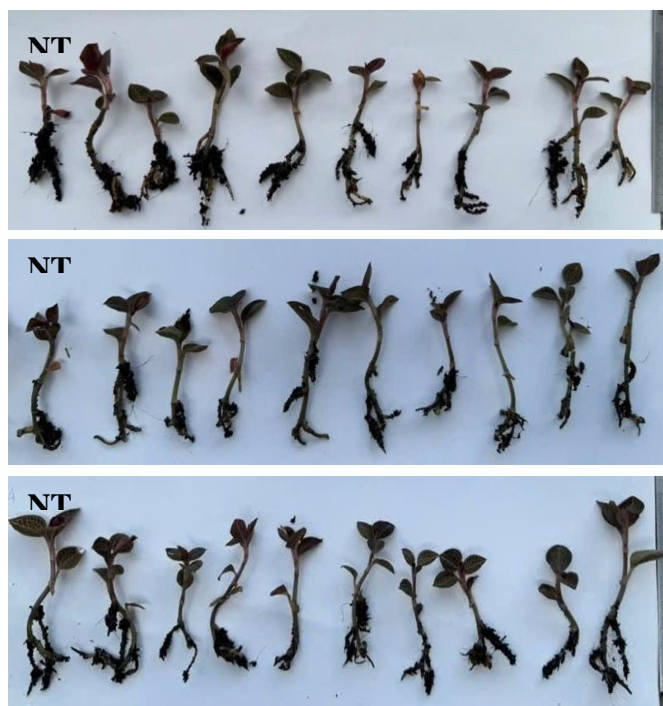
Bảng 6. Ảnh hưởng của giá thể đến cây lan kim tuyến sau 8 tuần trồng

Nghiệm thức	Tỷ lệ cây sống (%)	Rễ	Lá	Chiều cao cây (cm)
NT1	100	3,40 ± 0,52 ^a	4,60 ± 0,52 ^{ab}	7,68 ± 0,90 ^{ab}
NT2	100	2,90 ± 0,57 ^a	4,10 ± 0,57 ^b	6,86 ± 0,89 ^b
NT3	100	3,20 ± 0,63 ^a	5,00 ± 0,67 ^a	7,72 ± 1,26 ^a

Các chữ cái trong một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $p \leq 0,05$

Nguồn: Tác giả, năm 2026

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, các cây con lan kim tuyến hầu hết đều sinh trưởng và phát triển tốt trên giá thể thí nghiệm, với tỷ lệ cây sống đạt 100%, cao hơn so với nghiên cứu của Tuyền và *nnk* (2018) (94,6%) và nghiên cứu của Hoàng và *nnk* (2023) (88,89%). Hầu hết các mẫu trong thí nghiệm này không có sự phát sinh chồi mới, có thể do thời gian khảo sát còn ngắn.



Hình 3. Hình thái cây lan kim tuyến sau 8 tuần trồng trên giá thể thí nghiệm

Nguồn: Tác giả, năm 2026

Về số rễ, không có sự khác biệt về mặt thống kê được ghi nhận giữa các nghiệm thức thực hiện. Số rễ trung bình ở các mẫu dao động trong khoảng từ $2,90 \pm 0,57$ rễ/cây đến $3,40 \pm 0,52$ rễ/cây (Bảng 6). Tuy nhiên, các giá thể lại cho thấy tác động đáng kể đến chiều cao và số lá của cây lan kim tuyến. Cụ thể, nghiệm thức NT3 cho số lá và chiều cao cây cao nhất, lần lượt là $5,00 \pm 0,67$ lá/cây và $7,72 \pm 1,26$ cm. Điều này cho thấy nhu cầu dinh dưỡng của cây lớn, với 20% lượng phân bón phối trộn ở nghiệm thức này, cao hơn 10% so với 2 nghiệm thức còn lại. Ở nghiệm thức NT1, việc phối trộn 30% xơ dừa cũng cho thấy hiệu quả sinh trưởng của cây con *in vitro* khá cao, với $3,40 \pm 0,52$ rễ/cây con, $4,60 \pm 0,52$ lá/cây và chiều cao trung bình của các cây là $7,68 \pm 0,90$ cm (Bảng 6). Điều này đúng với ghi nhận của Huyền và *nnk* (2017), giá thể xơ dừa có độ thoáng khí và giữ ẩm tốt nên thích hợp cho sự thích nghi và sinh trưởng của cây con lan kim tuyến *in vitro* ngoài vườn ươm. Do đó, các nghiệm thức còn lại cần phải phối trộn thêm xơ dừa để giữ độ thoáng khí và độ ẩm cho giá thể

Tương tự, Huyền và *nnk* (2016) đã ghi nhận sự sinh trưởng và phát triển của cây con *in vitro* lan kim tuyến (*Anoectochilus lylei* Rolfe ex Downie) đạt cao nhất trên giá thể gồm 90 % bột xơ dừa và 10 % vỏ trấu, với chiều cao cây đạt 7,00 cm, chiều dài rễ đạt 4,74 cm, tỷ lệ sống đạt 100% sau 2 tháng. Ngoài ra, Hương và *nnk* (2023) cũng ghi nhận cây con *in vitro* lan kim tuyến (*Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.) có tỷ lệ sống đạt 88,89 % sau 300 ngày trồng trên hỗn hợp giá thể bao gồm 25 % đất và 75 % hỗn hợp xơ dừa - trấu hun, với số chồi và chiều cao cây đạt 2,63 chồi/cây và 11,76 cm. Gần đây nhất, Hương và *nnk* (2024) đã báo cáo rằng giá thể bao gồm 1/3 xơ dừa, 1/3 đất mùn, 1/3 phân chuồng giúp cây lan kim tuyến phát triển tốt nhất với tỷ lệ sống đạt 88 %, chiều cao cây và số lá đạt 5,5 cm và 4,5 lá/cây.

Như vậy, trong thí nghiệm này, NT3 với giá thể có vỏ thông (40 %), xơ dừa (10 %), trấu hun (10 %), đất (10 %), phân bón (20 %) được lựa chọn là phù hợp nhất cho sự sinh trưởng của cây con lan kim tuyến ngoài vườn ươm.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy cả hai loại auxin và giá thể đều cho tác động đáng kể đến sự sinh trưởng và phát triển của cây lan kim tuyến trong điều kiện *in vitro* và *ex vitro*. Trong quy trình nhân nhanh *in vitro*, môi trường Gamborg B5 bổ sung IBA 4 mg/L cho kết quả tốt nhất thể hiện qua số chồi, lá và rễ vượt trội sau 12 tuần nuôi cấy. Đối với quá trình ra cây ngoài vườn ươm, giá thể gồm vỏ thông (40%), xơ dừa (10%), trấu hun (10%), đất (10%) và phân bón (20%) phù hợp cho sự sinh trưởng của cây con lan kim tuyến, với tỷ lệ sống đạt 100% sau 8 tuần trồng và các chỉ tiêu theo dõi đều thể hiện sự vượt trội. Kết quả nghiên cứu góp phần hoàn thiện quy trình nhân nhanh lan kim tuyến, giúp tạo ra giá trị kinh tế cũng như bảo tồn nguồn gene của loài thực vật quý hiếm này.

Lời cảm ơn

Chúng tôi chân thành cảm ơn sự hỗ trợ của Viện Công nghệ Xanh và Bền vững, bộ phận quản lý phòng thí nghiệm, Trường Đại học Thủ Dầu Một đã hỗ trợ về mặt thiết bị trong quá trình thực hiện thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ahmadian, E., Lolaei, A., Mobasheri, S. & Bemana, R. (2013). Investigation of importance parameters of plant tissue. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS)*, 5(8), 900-905.
- [2] Bon, T. N., Hung, T. T., Trung, P. D., Nguyen, T. C., Ha, D. T. H., Anh, N. T. H., Son, H. T., Long, T. H., Tuyen, P. Q., Khuong, N. V., Quy, T. H., Nam, V. V. & Do, T. V. (2020). Medicinal plant, *Anoectochilus*: Distribution, ecology, commercial value and use in North Vietnam. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 32(11), 84-92.
- [3] 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, 611 trang.
- [4] Huy, N. T. P & Trinh, Đ. T. M. (2023). Nhân giống *in vitro* lan kim tuyến (*Anoectochilus* sp.). *Tap chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 59(2B), 76-83.
- [5] Huyền, P. X., Két, N. V., Đại, P. H. & Cúc, N. T. (2016). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* và nuôi trồng cây lan gấm (*Anoectochilus lylei* Rolfe ex Downies) ở điều kiện *ex vitro*. *Dalat University Journal of Science*, 6(4), 481-492.
- [6] Huyền, P. X. & Hoàng, N. T. P. (2017). Nghiên cứu tái sinh chồi *in vitro* và nuôi trồng cây lan gấm (*Anoectochilus formosanus* Hayata). *Tap chí Công nghệ Sinh học*, 15(3), 515-524.
- [7] Hoàng, N. T. T & Hoa, Đ. T. M. (2024). Ảnh hưởng của một số chất điều hòa sinh trưởng đến nhân giống *in vitro* cây lan kim tuyến (*Anoectochilus* sp.) thu thập mẫu tại tỉnh Quảng Nam. *Báo cáo Khoa học về Nghiên cứu và Giảng dạy sinh học ở Việt Nam - Hội nghị Khoa học Quốc gia lần thứ 6*.
- [8] Hoàng, T. T. B., Lương, L. Đ., Cường, L. V. & Phú, N. T. (2023). Ảnh hưởng giá thể trồng đến sinh trưởng cây lan kim tuyến (*Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.) tại huyện Trảng Bom, tỉnh Đồng Nai. *Tap chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 2, 17-25.
- [9] Lượng, N. Đ. & Tiên, L. T. T. (2011). *Công nghệ tế bào*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia, Thành phố Hồ Chí Minh.
- [10] Phê, P.V., Thành, N. T. & Hung, V. D. (2010). Đặc điểm hình thái, phân bố của loài lan Kim tuyến *Anoectochilus setaceus* Blume ở Vườn Quốc gia Tam Đảo, tỉnh Vĩnh Phúc. *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology*, 26(2), 104-109.
- [11] Sidik, N. J., Agha, H. M., Alkamil, A. A., Alsayadi, M. M. S. & Mohammed, A. A. (2024). A Mini Review of Plant Tissue Culture: The Role of Media Optimization, Growth Regulators in Modern Agriculture, Callus Induction and the Applications. *AUIQ Complementary Biological System*, 1(2), 96-109.
- [12] Thạch, N. Q. & Miện, P. T. C. (2012). Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống loài lan kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) *in vitro* bảo tồn nguồn dược liệu quý. *Tap chí Khoa học và Phát triển*, 10(4), 597-603.
- [13] Thorpe, T. A. (2007). History of plant tissue culture. *Molecular Biotechnology*, 37(2), 169-180.
- [14] Thúy, T. T. H., Gấm, Đ. T., Hung, N. K., Ngọc, P. B. & Hà, C. H. (2015). Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* loài lan Kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) thông qua cảm ứng tạo protocorm like bodies. *Tap chí Sinh học*, 37(1), 76-83.
- [15] Tuấn, N. T. & Hồng, N. V. (2021). Research completing the process of flavonoid compound fractional extraction from *Anoectochilus setaceus* Blume Cao Bang plant. *TNU Journal of Science and Technology*, 226(10), 350-355.
- [16] Tuyền, V. T. T., Tâm, P. T. M. & Loan, H. T. (2018). Ảnh hưởng của giá thể và phân bón đến sinh trưởng của lan Kim tuyến hậu cây mô tại Thành phố Hồ Chí Minh. *Tap chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 10(95), 97-102.
- [17] Ty, N. M. & Hiền, N. V. (2020). Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tạo chồi và cụm chồi lan kim tuyến nuôi cấy *in vitro*. *Tap chí Khoa học Đại học Thủ Dầu Một*, 4(47), 23-30.

- [18] Xiêm, N. T. H., Lợi, L. S. & Hào, L.T. (2019). Nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể trồng đến sinh trưởng của cây lan kim tuyến (*Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.) tại Thái Nguyên. *TNU Journal of Science and Technology*, 197(04), 9-14.
- [19] Zaytseva, Y. G., Ambros, E. V. & Novikova, T. I. (2021). Meta-topolin: advantages and disadvantages for *in vitro* propagation. *Meta-topolin: A Growth Regulator for Plant Biotechnology and Agriculture*, 119-141.