



DOI:10.22144/ctu.jsi.2020.113

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ NUÔI CẤY LAN HOÀNG THẢO KÈN (*Dendrobium litiiflorum* Lindl.) TRONG ĐIỀU KIỆN THOÁNG KHÍ

Phạm Văn Lộc* và Nguyễn Phương Hồng Nguyễn

Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP. Hồ Chí Minh

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Phạm Văn Lộc (email: phamvanlocst@gmail.com)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 04/03/2020

Ngày nhận bài sửa: 24/04/2020

Ngày duyệt đăng: 29/06/2020

Title:

Effects of some factors on growth of *Dendrobium litiiflorum* Lindl. in ventilation culture condition

Từ khóa:

Dendrobium litiiflorum, hàm lượng khoáng, sucrose, thuần dưỡng, vi nhân giống

Keywords:

Acclimatization, *Dendrobium litiiflorum*, micropropagation, mineral medium strength, sucrose

ABSTRACT

Dendrobium litiiflorum Lindl. is endemic, rare and threatened Vietnam orchids. Therefore, in order to meet the demand for a large scale production, a good propagation technique of high quality *D. litiiflorum* transplants is essential. In this study, the effects of sucrose concentration (0, 5, 10, 15, 20 g/L), mineral medium strength (MS, 1/2MS, 1/4MS) on the development of shoots, roots, ex vitro plantlets in shoot ventilation culture of *D. litiiflorum* were evaluated. The highest number of roots and ex vitro plantlet survival was observed on 1/2MS and 1/4MS medium. Increasing numbers of shoot and root were observed in high sucrose-containing medium. However the highest survival rate was observed in 1/2MS medium supplemented with 10g/L sucrose (70%). This study suggests that sucrose concentration, mineral medium strength is key factors to increase plantlet survival during acclimatization.

TÓM TẮT

Hoàng thảo kèn (*Dendrobium litiiflorum* Lindl.) là loài lan rừng đặc hữu và quý hiếm của Việt Nam. Trong mục tiêu cung cấp cây giống số lượng lớn cho thị trường, cây con chất lượng tốt là vấn đề cần tập trung nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của hàm lượng đường sucrose (0, 5, 10, 15, 20 g/L), hàm lượng môi trường khoáng (MS, 1/2MS, 1/4MS) lên sự phát triển của chồi, rễ và cây con ex vitro nuôi cấy chồi lan trong điều kiện thoáng khí đã được đánh giá. Số lượng rễ và tỉ lệ cây sống sót được ghi nhận trên môi trường 1/2MS là 3,9 rễ/chồi và 33,3%, trên môi trường 1/4MS là 3,7 rễ/chồi và 33,3%. Sự gia tăng số lượng rễ, chiều cao chồi được quan sát trên môi trường có hàm lượng sucrose cao. Tỉ lệ sống của cây con sau ra vườn được ghi nhận trên môi trường 1/2MS bổ sung 10 g/L sucrose đạt 70%. Nghiên cứu này cho thấy hàm lượng sucrose, hàm lượng khoáng của môi trường là những yếu tố quan trọng giúp gia tăng tỉ lệ sống sót của cây con khi thuần dưỡng.

Trích dẫn: Phạm Văn Lộc và Nguyễn Phương Hồng Nguyễn, 2020. Ảnh hưởng của một số yếu tố nuôi cấy lan hoàng thảo kèn (*Dendrobium litiiflorum* Lindl.) trong điều kiện thoáng khí. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(Số chuyên đề: Khoa học tự nhiên)(2): 67-71.

1 GIỚI THIỆU

Việt Nam là quốc gia nhiệt đới, thích hợp cho sự phát triển của các loài lan. Lan rừng ở nước ta rất phong phú với nhiều chủng loại. Trong đó hoàng thảo (*Dendrobium*) là chi phổ biến và có giá trị về nhiều mặt (Đào Thanh Vân và Đặng Thị Tố Nga, 2008). Tại Việt Nam, có khoảng 107 loài hoàng thảo đã được xác định. Hoàng thảo kèn (*Dendrobium lituiflorum* Lindl.) là lan rừng đặc hữu của nước ta. Đây là một trong những loài lan đẹp và quý hiếm. Ngày nay, do vấn đề phá rừng và khai thác quá mức, hoàng thảo kèn đang mất dần trong tự nhiên. Vì thế nếu không có những biện pháp bảo vệ và nhân giống kịp thời, loài lan này có nguy cơ tuyệt chủng (Chowdhery, 2001). Dựa trên tính toàn năng của tế bào thực vật, kỹ thuật nuôi cấy mô là phương pháp được sử dụng trong nhân giống các cây trồng có giá trị với khả năng tạo ra số lượng lớn cây giống trong thời gian ngắn với chi phí thấp, tỉ lệ cây sống cao. Đây là biện pháp góp phần bảo vệ, phát triển nguồn gen của loài thực vật quý hiếm này (Hazarika, 2006). Trên thế giới đã có một số công bố nhân giống hoàng thảo kèn. Chang *et al.* (2004) đã nghiên cứu thành công môi trường và các điều kiện nuôi cấy lan hoàng thảo kèn từ hạt qua quá trình phát sinh thể chồi (*protocorm-like body - PLB*). Meera *et al.* (2008) đã nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* *D. lituiflorum* Lindl. qua con đường phát sinh PLB. Shivani *et al.* (2009) đã nghiên cứu môi trường nhân nhanh lan hoàng thảo kèn bổ sung dịch chiết chuỗi trên môi trường KC. Trong kỹ thuật nhân giống *in vitro* giai đoạn thuần hóa cây ngoài vườn ươm rất quan trọng. Cây con chuyển từ bình nuôi cấy ra bên ngoài chịu nhiều yếu tố stress như dinh dưỡng, nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm, vi sinh vật ảnh hưởng đến tỉ lệ cây sống. Trong nhiều biện pháp góp phần tăng tỉ lệ cây sống và chất lượng cây sau cây mô, kỹ thuật nuôi cấy thoáng khí đã được áp dụng cho nhiều đối tượng như dâu tây (*Fragaria vesca* L.), diệp hạ châu đắng, hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii*) (Nguyễn Quốc Thiện và Dương Tấn Nhựt, 2006; Phạm Minh Duy và *ctv.*, 2012; Nguyễn Thị Kim Yên và *ctv.*, 2015). Đặc điểm cơ bản của phương pháp nuôi cấy thoáng khí là hạn chế tối đa đường và các chất hữu cơ trong môi trường. Sự tăng trưởng hay tích lũy carbohydrate của cây *in vitro* tùy thuộc chủ yếu vào sự quang hợp và hấp thụ khoáng trong môi trường nuôi cấy. Quá trình quang hợp của thực vật trong hệ thống nuôi cấy thoáng khí diễn ra tự nhiên nhờ có sự hiện diện của CO₂ trong bình nuôi cấy. Do đó sự sinh trưởng, phát triển của cây được đẩy mạnh không những trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* mà còn trong điều kiện *ex vitro* khi chuyển cây ra vườn

ươm (Nguyễn Quốc Thiện và Dương Tấn Nhựt, 2006). Nghiên cứu này khảo sát một số yếu tố trong nuôi cấy thoáng khí lan hoàng thảo kèn, góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* loài lan này.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

Nghiên cứu sử dụng chồi đơn lan hoàng thảo kèn *in vitro* sau 45 ngày nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L TDZ. Các chồi có chiều cao khoảng 2 ÷ 3 cm, chồi mang 2 ÷ 4 lá.

2.2 Phương pháp

Thí nghiệm 1. Ảnh hưởng của hàm lượng khoáng đối với sự sinh trưởng của lan hoàng thảo kèn trong điều kiện nuôi cấy thoáng khí

Cây mẫu chồi đơn vào túi polypropylene (PP) có kích thước 17 cm x 20 cm, mỗi túi gồm 2 lỗ thông hơi đường kính 1 cm có màng lọc. Môi trường bổ sung 20 g/L đường sucrose. Hàm lượng khoáng được thay đổi theo từng nghiệm thức (MS, ½MS, ¼MS). Các môi trường ½MS, ¼MS giảm hàm lượng cả đa lượng và vi lượng theo tỷ lệ tương ứng. Mỗi nghiệm thức cấy 1 túi, mỗi túi cấy 10 cây. Các chỉ tiêu chiều cao chồi, số rễ ghi nhận sau 40 ngày nuôi cấy và tỉ lệ sống sau 30 ngày chuyển ra vườn.

Thí nghiệm 2. Ảnh hưởng của hàm lượng đường sucrose đối với sự sinh trưởng của lan hoàng thảo kèn trong điều kiện nuôi cấy thoáng khí

Cây mẫu chồi được cấy vào túi trong tự thí nghiệm 1. Môi trường sử dụng là ½MS, nồng độ đường sucrose được điều chỉnh thay đổi theo từng nghiệm thức (từ 0 đến 20 g/L). Bố trí nghiệm thức và các chỉ tiêu theo dõi tương tự thí nghiệm 1.

2.3 Môi trường nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy là môi trường MS cơ bản (Murashige and Skoog, 1962) có bổ sung 8 g/L agar, nước dừa 15%, 0,5 mg/L NAA; hàm lượng khoáng và hàm lượng đường điều chỉnh theo từng thí nghiệm. Các môi trường ½MS, ¼MS giảm hàm lượng cả đa lượng và vi lượng theo tỷ lệ tương ứng. pH môi trường được điều chỉnh = 5,8 trước khi hấp khử trùng.

2.4 Điều kiện nuôi cấy

Thời gian chiếu sáng: 16 giờ/ngày, cường độ chiếu sáng: 2500 ± 200 lux, nhiệt độ phòng nuôi cấy: 25 ± 2°C, độ ẩm trung bình: 50 ± 2%. Điều kiện *ex vitro*: độ ẩm 80 – 90%; che sáng 70% so với bên ngoài, nhiệt độ nhà ươm 30 ± 5°C.

2.5 Bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 3 lần lặp lại. Số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Statgraphics Centurion XV.I, sử dụng trắc nghiệm đa biến độ Duncan với độ tin cậy 95%.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của hàm lượng khoáng lên sự sinh trưởng của lan hoàng thảo kèn trong điều kiện nuôi cấy thoáng khí

Sau 40 ngày nuôi cấy trên các môi trường có hàm lượng khoáng khác nhau trong điều kiện thoáng khí, chiều cao chồi và số lượng rễ được ghi nhận. Tỷ lệ sống của cây con sau 30 ngày chuyển ra vườn ươm cũng đồng thời được ghi nhận. Kết quả của thí nghiệm này được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1: Ảnh hưởng của hàm lượng khoáng lên sự sinh trưởng của lan hoàng thảo kèn trong điều kiện nuôi cấy thoáng khí

Môi trường	Chiều cao chồi (cm)	Số rễ/chồi	Tỷ lệ sống (%)
MS	3,5 ^a ± 0,4	2,4 ^b ± 0,3	0
½MS	3,5 ^a ± 0,2	3,9 ^a ± 0,4	33,3
¼MS	2,7 ^b ± 0,5	3,7 ^a ± 0,8	33,3
CV(%)	8,1	13,1	

Ghi chú: trong cùng một cột các số có ký tự theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%

Kết quả thí nghiệm cho thấy các môi trường giảm khoáng (½MS, ¼MS) giúp gia tăng tỷ lệ sống của cây. Trong hai môi trường này chỉ tiêu sinh trưởng chồi giảm, trong khi đó giúp gia tăng số lượng rễ so với môi trường đối chứng (MS). Đối với chỉ tiêu chiều cao chồi, môi trường ¼MS thấp hơn so với 2 môi trường ½MS và MS. Trong khi đó với chỉ tiêu số lượng rễ/chồi trên môi trường ½MS cao hơn hai môi trường MS và ¼MS. Tuy nhiên số lượng rễ giữa môi trường ¼MS và ½MS không khác biệt về mặt thống kê. Tỷ lệ cây sống của cây con sau khi ra vườn trên hai môi trường giảm hàm lượng khoáng (¼MS và ½MS) cao hơn so với môi trường MS. Theo các chỉ tiêu thu nhận được, môi trường ½MS được xác định là phù hợp hơn hai môi trường còn lại cho sự sinh trưởng của lan hoàng thảo kèn trong điều kiện thoáng khí. Cây con *in vitro* trên môi trường này khỏe, có giả hành lớn và rễ xanh; phù hợp chuyển cây ra vườn. Có thể trên môi trường MS, cây *in vitro* đã quen với chế độ dinh dưỡng giàu khoáng, khi đưa ra vườn ươm cây yếu và dễ chết do không thích nghi được với điều kiện ngoài vườn.

Trong vi nhân giống thực vật, khoáng MS được sử dụng phổ biến vì giàu nitơ (Villamor, 2010). Tuy nhiên, nếu môi trường có NH₄⁺ được cung cấp quá nhiều sẽ gây thiếu hụt K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺ do NH₄⁺ đối kháng với các nguyên tố này (Britto and Kronzucker, 2002). Các nghiên cứu trên các đối tượng khác cũng cho thấy việc giảm hàm lượng khoáng giúp gia tăng chất lượng cây. Trên đối tượng sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*) nuôi cấy quang tự dưỡng trên môi trường MS giảm NH₄NO₃ và KNO₃ một nửa, tăng diện tích lá và tăng số lượng rễ so với môi trường MS cơ bản (Ngô Thị Ngọc Hương và *ctv.*, 2015). Trên đối tượng cây oải hương (*Lavandula angustifolia*) cây tăng trưởng tốt hơn trên môi trường MS giảm một nửa so với môi trường MS (Lê Trọng Lưu và *ctv.*, 2015). Trong nghiên cứu tăng trưởng cây sâm Bồ Chính (*Hibiscus sagittifolius*) trong điều kiện nuôi cấy quang tự dưỡng cho thấy trên các môi trường giảm khoáng cây tăng trưởng tốt hơn so với môi trường MS, trong đó môi trường SH cho kết quả tốt nhất (Nguyễn Lê Thụ Minh và *ctv.*, 2017).



Hình 1: Lan hoàng thảo kèn nuôi cấy thoáng khí trên môi trường hàm lượng khoáng khác nhau (A1. MS; A2. ½MS; A3. ¼MS)

3.1 Ảnh hưởng hàm lượng đường sucrose lên sự sinh trưởng của lan hoàng thảo kèn trong điều kiện nuôi cấy thoáng khí

Sau 40 ngày nuôi cấy trên các môi trường có hàm lượng khoáng khác nhau, chiều cao chồi và số lượng rễ được ghi nhận. Tỷ lệ sống của cây con sau 30 ngày chuyển ra vườn ươm cũng đồng thời được ghi nhận. Kết quả của thí nghiệm này được trình bày trong Bảng 2.

Kết quả thí nghiệm cho thấy hàm lượng đường trong môi trường ra rễ ảnh hưởng lên chiều cao chồi, số lượng rễ và tỷ lệ sống sau khi chuyển cây ra vườn. Khi hàm lượng đường tăng, chiều cao và số rễ có xu hướng tăng. Môi trường bổ sung sucrose 20 g/L có chiều cao chồi khác biệt so với môi trường không bổ sung sucrose và bổ sung 5 g/L. Tuy nhiên chiều cao chồi trên 2 môi trường bổ sung 10 g/L) và 15 g/L không khác biệt về mặt thống kê so với chiều cao

chồi trên môi trường bổ sung 20 g/L. Đối với chỉ tiêu số lượng rễ/chồi có sự gia tăng số lượng rễ tương ứng với sự gia tăng hàm lượng đường. Môi trường bổ sung sucrose 20 g/L đạt cao nhất khác biệt có ý nghĩa thống kê so với môi trường không bổ sung đường; tuy nhiên không khác biệt về mật độ thống kê so với 3 môi trường có bổ sung đường còn lại. Với chỉ tiêu tỉ lệ cây sống sau ra vườn, môi trường bổ sung 10 g/L đạt cao nhất so với các môi trường còn lại. Môi trường không bổ sung đường, cây không thích nghi được khi chuyển ra vườn ươm. Kết hợp các chỉ tiêu đã khảo sát, môi trường bổ sung sucrose 10 g/L là phù hợp cho sự sinh trưởng của lan hoàng thảo kèn trong điều kiện thoáng khí. Cây con *in vitro* trên môi trường này khỏe, có giả hành lớn và rễ xanh. Các dấu hiệu này được đánh giá là phù hợp chuyển cây ra vườn. Trong nghiên cứu của Jo *et al.* (2009), khi chuyển cây môn Quan Âm (*Alocasia amazonica*) ra vườn cho thấy hàm lượng sucrose trong nuôi cấy *in vitro* mức trung bình (3%) phù hợp hơn so với không bổ sung sucrose (0%) hoặc các mức cao (6%, 9%). Cây nuôi cấy ở mức sucrose 3% cũng cho thấy các chỉ tiêu chiều cao chồi, chiều dài rễ, số lượng chồi, số lượng rễ tốt nhất so với các nghiệm thức còn lại. Trong một nghiên cứu khác của Wainwright and Scrace (1989) trên hai đối tượng *Potentilla fruticosa* và *Ficus lyrata* khi chuyển cây ra vườn sau 4 tuần, cho thấy cây của các nghiệm thức có bổ sung sucrose (1%, 2%, 4%, 6%) cho tỉ lệ sống cao hơn so với không bổ sung sucrose. Có thể đường có trong môi trường sẽ giúp cây thích nghi trong giai đoạn chuyển ra điều kiện *ex vitro*. Tuy nhiên hàm lượng đường bao nhiêu phụ thuộc vào

loại cây cũng như hệ thống nuôi cấy. Nhiều đối tượng thực vật việc nuôi cấy trong điều kiện không có đường sẽ phù hợp hơn.

Bảng 2: Ảnh hưởng của hàm lượng đường sucrose lên sự sinh trưởng của lan hoàng thảo kèn trong điều kiện nuôi cấy thoáng khí

Hàm lượng đường (g/L)	Chiều cao chồi (cm)	Số rễ/chồi	Tỉ lệ sống (%)
0	3,3 ^a ± 0,4	2,4 ^a ± 0,7	0
5	3,4 ^a ± 0,5	3,9 ^b ± 0,5	30
10	3,8 ^{ab} ± 0,3	3,9 ^b ± 0,6	70
15	3,9 ^{ab} ± 0,4	4,2 ^b ± 0,7	53,3
20	4,3 ^b ± 0,2	4,8 ^b ± 0,4	33,3
CV (%)	12,5	5,1	

Ghi chú: trong cùng một cột các số có ký tự theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%

Việc cung cấp đường vào môi trường nuôi cấy được coi là để bù đắp cho tốc độ quang hợp thấp của thực vật. Tuy nhiên, nồng độ đường cao trong môi trường sẽ làm giảm khả năng quang hợp của thực vật, kìm hãm hoạt động của các enzyme rubisco. Đây là enzyme tham gia trực tiếp vào hoạt động quang hợp của cây, làm tăng áp suất thẩm thấu của môi trường, cản trở quá trình hấp thu nước và chất khoáng của hệ rễ (Dương Công Kiên, 2006). Kết quả thí nghiệm này cho thấy trong điều kiện nuôi cấy thoáng khí, nồng độ đường thấp giúp cây phát triển tốt và nâng cao tỉ lệ sống khi ra vườn. Đồng thời việc hạ thấp lượng đường còn giúp giảm tỉ lệ nhiễm và giảm chi phí sản xuất.



Hình 2: Lan hoàng thảo kèn nuôi cấy thoáng khí trên môi trường đường có hàm lượng đường sucrose khác nhau

(B0. 0 g/L; B1. 5 g/L; B2. 10 g/L; B3. 15 g/L; B4. 20 g/L)

4 KẾT LUẬN

Kết quả của nghiên cứu cho thấy cây hoàng thảo kèn nuôi cấy trong điều kiện thoáng khí giai đoạn tạo rễ *in vitro* việc giảm hàm lượng khoáng và hàm lượng đường của môi trường giúp cho cây thích nghi tốt và phù hợp để ra vườn. Môi trường khoáng phù

hợp là ½MS, hàm lượng đường sucrose phù hợp là 10 g/L.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Britto, D.T. and Kronzucker, H., 2002. NH₄⁺ toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of Plant Physiology*. 159(6): 567-584.

- Chang, J., Ding, X.Y., Bao, S.L., Liu, D.Y., He, J., Tang, F., Ding, B.Z., 2004. Studies on tissue culture of *Dendrobium litiiflorum*. China Journal of Chinese Material Medica. 29(4): 313–317.
- Chowdhery, H.J., 2001. Orchid diversity in North-East India. J. Orchid Soc. India 15(1-2): 1–17.
- Phạm Minh Duy, Nguyễn Như Hiến, Hoàng Ngọc Nhung, Nguyễn Du Sanh và Nguyễn Thị Quỳnh, 2012. Sự gia tăng và tích lũy hợp chất thứ cấp của cây diệp hạ châu đấng nuôi cấy quang tự dưỡng trong điều kiện nuôi giàu CO₂. Tạp chí Sinh học. 34(3): 249-256.
- Hazarika, B.N., 2006. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. Sci. Hort. 108: 105-120.
- Jo, E., Tewari, R.K., Hahn, E, Paek, K., 2009. *In vitro* sucrose concentration affects growth and acclimatization of *Alocasia amazonica* plantlets. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 96(3): 307-315.
- Ngô Thị Ngọc Hương, Đinh Văn Khiêm và Nguyễn Thị Quỳnh, 2015. Ảnh hưởng của thành phần khoáng lên sự sinh trưởng của cây sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) nuôi cấy *in vitro* trong điều kiện quang tự dưỡng. Tạp chí Sinh học. 37(1): 96-102.
- Dương Công Kiên, 2006. Nuôi cấy mô - tập 3. NXB Đại học Quốc gia TP. HCM, TP. HCM.
- Lê Trọng Lư, Nguyễn Thụy Phương Duyên, Hoàng Ngọc Nhung, Phạm Minh Duy và Nguyễn Thị Quỳnh, 2015. Ảnh hưởng của hàm lượng NH₄NO₃ và KNO₃ lên sự tăng trưởng của cây oải hương dưới điều kiện nuôi cấy quang tự dưỡng. Tạp chí Công nghệ Sinh học. 13(4A): 1313-1319.
- Meera, C.D., Suman, K. and Pramod, T., 2008. *In vitro* propagation and conservation of *Dendrobium litiiflorum* Lindl. through protocorm like bodies. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology. 17(2): 177-181.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 15(3): 473-497.
- Nguyễn Lê Thụ Minh, Nguyễn Thụy Phương Duyên, Lê Thị Tuyết Anh và Nguyễn Thị Quỳnh, 2017. Ảnh hưởng của nồng độ đường, vitamin, cường độ ánh sáng và thành phần khoáng lên sự tăng trưởng của sâm Bồ Chính (*Hibiscus sagittifolius* Kurz) nuôi cấy *in vitro*. Tạp chí Sinh học. 39(1): 86-95.
- Shivani, V., Satyakam, G., Minakshi, B. and Usha, R., 2009. Rapid regeneration of plants of *Dendrobium litiiflorum* Lindl. (Orchidaceae) by using banana extract. Scientia Horticulturae. 121(1): 32–37.
- Nguyễn Quốc Thiện và Dương Tấn Nhựt, 2006. Các hệ thống nhân giống thoáng khí và ảnh hưởng của chúng lên sự sinh trưởng và phát triển của cây dâu tây (*Fragaria vesca* L.) nuôi cấy *in vitro*. Tạp chí công nghệ sinh học. 4(1): 107-115.
- Đào Thanh Vân và Đặng Thị Tố Nga, 2008. Giáo trình hoa lan. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- Villamor C.C., 2010. Influence of media strength and sources of nitrogen on micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). E-International Scientific Research Journal 2(2): 150-155.
- Nguyễn Thị Kim Yến, Nguyễn Phúc Huy, Hoàng Văn Cường, và *ctv.*, 2015. Ảnh hưởng của than hoạt tính và nuôi cấy thoáng khí lên khả năng sinh trưởng và phát triển của cây hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii*) *in vitro* và *ex vitro*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ. 51(4): 435-446.
- Wainwright, H. and Scrace, J., 1989. Influence of *in vitro* preconditioning with carbohydrates during the rooting of microcuttings on *in vivo* establishment. Scientia Horticulturae. 38(3-4): 261–267.