Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ
website: sj.ctu.edu.vn

CẢI TIẾN GIAI ĐOẠN 2 VÀ 3 TRONG VI NHÂN GIỐNG LAN *AERIDES* SP.

Nguyễn Thị Mai Hạnh[1] và Nguyễn Bảo Toàn[2]

[1] *Sinh viên cao học, Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ*
[2] *Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ*

Thông tin chung:
Ngày nhận: 26/9/2014
Ngày chấp nhận: 07/11/2014

Title:
Improvement of 2 and 3 stages in micropropagation of Aerides sp. orchid

Từ khóa:
Chất điều hòa sinh trưởng, điều kiện cải tiến, lan Aerides, nhân chồi, ra rễ, vi nhân giống

Keywords:
Growth regulators, improved conditions, Aerides orchid, shoot multiplication, root formation, micropropagation

ABSTRACT

Research on "Improving 2nd and 3rd stages of Aerides sp. orchid micropropagation" was carried out to determine ratio of suitable combination between NAA:BA for shoot multiplication (2nd stage) of Aerides orchid in two types of containers (plastic bags and glass bottle); determine effects of NAA and atonik for rooting of Aerides orchid (3rd stage) in two types of containers (plastic bags and glass bottle). Experiments were conducted in two different conditions: standard conditions (26 ± 2°C, 1,500 lux, under a 16-h photoperiod); and natural conditions (30 ± 5°C, 3,000 lux, under a 12-h photoperiod). Each condition included 2 experiments: Experiment 1. Determining effect of ratio of NAA/BA and culture container types on shoot multiplication; Experiment 2. Determining effect of different NAA and atonik concentrations on rooting of Aerides orchid. Experimental results showed that medium VW supplemented with 1 mg/L NAA and 10 mg/L BA combined with plastic bags gave the highest number of shoots in two conditions. The natural condition, atonik was more efficient than NAA on rooting, especially at concentration of 2 ml/L, cultured in plastic bags.

TÓM TẮT

Nghiên cứu "Cải tiến giai đoạn 2 và 3 trong vi nhân giống lan Aerides sp." nhằm xác định hiệu quả của tỷ lệ kết hợp giữa NAA/BA thích hợp cho sự nhân chồi (giai đoạn 2) trên hai loại bình nuôi cấy (bọc plastic và chai thủy tinh). Xác định hiệu quả của NAA, atonik thích hợp cho sự ra rễ của lan Aerides sp. (giai đoạn 3). Tất cả các thí nghiệm được thực hiện trong hai điều kiện nuôi cấy là điều kiện chuẩn và điều kiện tự nhiên. Điều kiện chuẩn (26 ± 2°C, 1.500 lux, quang kỳ 16 giờ); và điều kiện tự nhiên 30 ± 5°C, 3.000 lux, quang kỳ 12 giờ). Mỗi điều kiện nuôi cấy bao gồm 2 thí nghiệm: Thí nghiệm 1: Xác định hiệu quả của tỷ lệ NAA/BA và bình nuôi cấy thích hợp cho hệ số nhân chồi cao; Thí nghiệm 2: Xác định hiệu quả của nồng độ NAA, atonik và bình nuôi cấy thích hợp đạt tỷ lệ ra rễ cao. Kết quả thí nghiệm cho thấy ở giai đoạn 2, hiệu quả nhân chồi lan đạt được số chồi cao ở điều kiện chuẩn cũng như điều kiện tự nhiên trên môi trường khoáng đa lượng VW và vi lượng MS có bổ sung NAA và BA với tỉ lệ 1 mg/L/10 mg/L. Không có sự khác biệt chai thủy tinh và bọc plastic trong điều kiện chuẩn. Trong điều kiện tự nhiên, nuôi cấy trong bọc plastic tốt hơn nuôi cấy trong chai thủy tinh. Ở giai đoạn 3, hiệu quả của NAA, atonik trên sự ra rễ của giống lan Aerides sp., ở điều kiện chuẩn có số rễ mới tạo thành cao hơn ở điều kiện tự nhiên.

1 GIỚI THIỆU

Lan *Aerides* hay gọi là lan Giáng hương là một trong những giống lan có hoa nhiều và thơm rất được yêu thích. Lan *Aerides* thuộc loài lan đơn thân nên việc nhân giống theo phương pháp thông thường có hệ số nhân không cao. Trong số các phương pháp nhân giống thì kỹ thuật vi nhân giống là phương pháp dễ đạt được hệ số nhân giống cao chỉ trong thời gian ngắn. Vi nhân giống được Debergh and Zimmerman (1991) chia ra làm 4 giai đoạn. Trong đó, giai đoạn 2 (nhân chồi) và giai đoạn 3 (ra rễ) là hai giai đoạn duy trì tương đối lâu trong phòng thí nghiệm nuôi cấy mô vì vậy làm cho giá thành cây con cao. Đã có nhiều nghiên cứu nhằm giảm giá thành sản xuất cây con cấy mô: sử dụng bọc plastic để thay cho các loại bình thủy tinh thông thường (Dương Tấn Nhựt *và ctv*., 2004); nuôi cấy trong điều kiện nhiệt độ phòng, không sử dụng máy điều hòa để giảm chi phí điện năng (Huỳnh Thị Ánh Hồng, 2010; Phạm Xuân Phong, 2010; Nguyễn Minh Kiên, 2011); hay các nghiên cứu sử dụng ánh sáng tự nhiên thay cho ánh sáng đèn (Lưu Việt Dũng *và ctv.*, 2007) không chỉ hiệu quả trong việc giảm giá thành cây cấy mô mà còn cải thiện tỷ lệ sống sót của cây con khi đem ra vườn ươm. Để góp phần cải thiện quy trình vi nhân giống lan *Aerides*, đề tài "Cải tiến giai đoạn 2 và 3 trong vi nhân giống lan *Aerides* sp." được thực hiện nhằm mục tiêu xác định tỷ lệ kết hợp giữa NAA/BA thích hợp cho sự nhân chồi (giai đoạn 2) và xác định hiệu quả của NAA, atonik thích hợp cho sự ra rễ của lan *Aerides* sp. (giai đoạn 3) của lan *Aerides* sp. trong hai loại bình nuôi cấy (bọc plastic và chai thủy tinh) ở hai điều kiện nuôi cấy là điều kiện chuẩn và tự nhiên.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu thí nghiệm

Giống lan *Aerides* lai (*Aerides houlettiana – falcate x Aerides Korat Koki* Udom 3446) *in vitro* có nguồn gốc Thái Lan được nhân và duy trì tại phòng Vi Nhân Giống, Trại Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ. Cây con lan *Aerides* có chiều cao trung bình 1-2 cm, có từ 2-3 lá được tách thành từng cây riêng biệt và loại bỏ hết rễ được sử dụng để thí nghiệm.

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 9/2012 đến tháng 8/2013 tại phòng thí nghiệm Nuôi cấy mô, Bộ môn Sinh Lý – Sinh Hóa và Phòng Vi nhân Giống của Trại Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Môi trường cơ bản sử dụng trong nuôi cấy là môi trường VW có thành phần đa lượng theo Vacin và Went (1949) các khoáng vi lượng theo môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962). Thí nghiệm được tiến hành trong hai điều kiện là điều kiện chuẩn và điều kiện tự nhiên. Điều kiện chuẩn có nhiệt độ phòng trung bình 28 ± 2^{o}C. Kiểm soát nhiệt độ bằng máy điều hòa. Chiếu sáng bằng đèn neon, cường độ chiếu sáng 1.500 lux. Thời gian chiếu sáng là 16 giờ/ngày. Nước pha môi trường là nước cất. Điều kiện tự nhiên có nhiệt độ trung bình 30 ± 5^{o}C trong nhà plastic có lưới che sáng. Ánh sáng tự nhiên có cường độ trung bình 3.000 lux. Quang kỳ là 14 giờ/ngày. Nước pha môi trường là nước máy được lọc qua hệ thống lọc nước gia đình có EC = 95 µS/cm.

Chai thủy tinh có đường kính 8 cm cao 15 cm, bên trong chứa 100 ml môi trường. Bọc plastic có kích thước 15 x 25 cm được xếp vuông đáy, các bọc plastic được cho vào túi plastic PP lớn được sử dụng cho nghiên cứu này. Thao tác cho môi trường nuôi cấy vào bọc plstic được thực hiện như sau. Chai đựng môi trường và túi đựng bọc plastic được khử trùng cùng lúc trong nồi khử trùng nhiệt ướt. Sau khi hấp khử trùng xong, đổ môi trường vào bọc trong tủ cấy vô trùng, thể tích môi trường là 100 ml/bọc. Sau đó xếp miệng bọc lại bằng kẹp giấy.

Thí nghiệm 1: Hiệu quả của tỷ lệ NAA/BA và loại bình nuôi cấy thích hợp cho sự nhân chồi trong điều kiện chuẩn

Thí nghiệm thừa số 2 nhân tố được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 10 nghiệm thức, 5 lặp lại, mỗi lặp lại là 1 chai thủy tinh hay 1 bọc plastic, cấy 4 chồi đơn vào trong 1 chai hay 1 bọc plastic. Môi trường nuôi cấy là môi trường cơ bản VW có bổ sung NAA và BA ở các tỉ lệ NAA mg/L/BA mg/L: 1/10; 1/15, 2/10 và 2/15 cho hai loại bình nuôi cấy chai thủy tinh và bọc plastic. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm số chồi mới, chồi mới được xem là 1 chồi khi lá mới có đủ phiến lá, ghi nhận chỉ tiêu trong vòng 10 tuần.

Thí nghiệm 2: Hiệu quả của nồng độ NAA, atonik và loại bình nuôi cấy thích hợp trên sự ra rễ trong điều kiện chuẩn

Thí nghiệm thừa số 2 nhân tố được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 10 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 5 lặp lại, mỗi lặp lại là 1 chai thủy tinh hay 1 bọc plastic, cấy 4 chồi đơn trong 1 chai hay trong 1 bọc plastic. Môi trường nuôi cấy là môi trường cơ bản đa lượng theo VW và vi

lượng theo MS. Môi trường được bổ sung NAA theo nồng độ 0,5; 1,0 mg/l và atonik 1,0 và 2,0 mg/l. Chỉ tiêu theo dõi bao gồm số rễ ở thời điểm 10 tuần sau khi cấy.

Thí nghiệm 3 và 4 giống thí nghiệm 1 và 2 nhưng được thực hiện trong điều kiện tự nhiên

Xử lý số liệu

Các số liệu trung bình được tính bằng Microsoft Excel, số liệu được phân tích phương sai ANOVA, phép thử F, kiểm định Duncan bằng phần mềm SPSS Ver 10.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả nghiên cứu trong điều kiện chuẩn

3.1.1 Hiệu quả của tỷ lệ NAA/BA và loại bình nuôi cấy lên sự nhân chồi giống lan Aerides sp. in vitro trong điều kiện chuẩn và điều kiện tự nhiên

- Điều kiện chuẩn

Kết quả Bảng 1 cho thấy rằng các nghiệm thức có bổ sung tỉ lệ NAA/BA khác biệt ý nghĩa thống kê. Số chồi mới tạo thành đạt cao nhất ở nghiệm thức có tỷ lệ NAA/BA là 1/10. Trong hai loại bình chứa chai thủy tinh và bọc plastic không có khác biệt ý nghĩa thống kê. Số chồi mới tạo thành ở các nghiệm thức tương tác giữa tỉ lệ NAA/BA và hai loại bình nuôi cấy có khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%. Khi sử dụng NAA/BA với tỷ lệ 1 mg/L/10 mg/L số chồi mới tạo thành đạt cao ở chai thủy tinh và bình nuôi cấy (Bảng 1). Dương Tấn Nhựt (2010) cho rằng sự phát triển và tăng trưởng của cây cấy mô còn phụ thuộc vào loại bình nuôi cấy. Nhiều nghiên cứu cũng đã cho thấy ảnh hưởng kết hợp giữa NAA và BA kích thích sự nhân chồi trên một số loại cây như lan *Mokara,* số chồi gia tăng nhanh trên môi trường MS có bổ sung 0,1 mg/L NAA và 1 mg/L BA, nhân chồi *Dendrobium* thích hợp trên môi trường MS bổ sung 0,01 mg/L NAA và 0,5 mg/L BA (Phạm Xuân Phong, 2010).

Bảng 1: Hiệu quả của tỷ lệ NAA/BA và loại bình nuôi cấy lên số chồi mới tạo thành (chồi) của lan *Aerides* sp. *in vitro* ở thời điểm 10 tuần sau khi cấy trong điều kiện chuẩn

Loại bình nuôi cấy	0/0 (ĐC)	Tỷ lệ NAA (mg/L)/BA (mg/L)				Trung bình
		1/10	1/15	2/10	2/15	
Chai thủy tinh	1,9^{e}	10,2^{b}	4,5^{d}	8,3^{bc}	6,7^{cd}	6,3
Bọc plastic	0,9^{e}	13,3^{a}	6,8^{cd}	7,0^{cd}	7,9^{bc}	7,2
Trung bình	1,4^{d}	11,7^{a}	5,6^{c}	7,6^{b}	7,3^{bc}	
F Tỷ lệ NAA/BA (A)				**		
F Loại bình nuôi cấy (B)				ns		
F (A x B)				*		
CV. (%)				28,0		

Ghi chú: các số trung bình trong cùng 1 cột (A) hoặc hàng (B) thể hiện ảnh hưởng đơn của loại bình nuôi cấy; các số trung bình trong cùng một hàng thể hiện ảnh hưởng đơn của tỷ lệ NAA:BA; các chỉ số còn lại thể hiện ảnh hưởng tương tác; các số có chữ số theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. (ns): khác biệt không có ý nghĩa thống kê. (*): khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

- Điều kiện tự nhiên

Kết quả Bảng 2 cho thấy ở 10 tuần sau khi cấy, ảnh hưởng đơn của tỷ lệ NAA/BA, loại bình nuôi cấy cũng như tương tác giữa nghiệm thức tỉ lệ NAA/BA với loại bình nuôi cấy lên số chồi mới hình thành có khác biệt ý nghĩa thống kê. Đối với 2 loại bình nuôi cấy thì bọc plastic cho số chồi mới hình thành cao hơn so với chai thủy tinh. Tỷ lệ NAA/BA 1/10 đạt số chồi cao nhất (10,2 chồi). Đối với ảnh hưởng tương tác thì số chồi lan *Aerides* sp. mới tạo thành ở các nghiệm thức NAA/BA với tỷ lệ 1/10 nuôi cấy trong bọc plastic thì đạt số chồi cao nhất (Hình 1).

Hình 1: Số chồi lan *Aerides* sp. nghiệm thức NAA/BA 1 /10 (a): Chai thủy tinh; (b): Bọc plastic thời điểm 10 tuần sau khi cấy trong điều kiện tự nhiên

Bảng 2: Hiệu quả của tỷ lệ NAA/BA và loại bình nuôi cấy lên số chồi mới tạo thành (chồi) của lan *Aerides* sp. *in vitro* ở thời điểm 10 tuần sau khi cấy trong điều kiện tự nhiên

Loại bình nuôi cấy	ĐC	Tỷ lệ NAA (mg/L)/BA (mg/L)				Trung bình
		1/10	1/15	2/10	2/15	
Chai thủy tinh	1,1^{e}	8,4^{bc}	3,8^{d}	7,7^{c}	7,4^{c}	5,7^{b}
Bọc plastic	1,0^{e}	11,9^{a}	8,6^{bc}	10,3^{ab}	6,7^{c}	7,7^{a}
Trung bình	1,1^{d}	10,2^{a}	6,2^{b}	9,0^{a}	7,1^{b}	
F Tỷ lệ NAA/BA (A)				**		
F Loại bình nuôi cấy (B)				**		
F (A x B)				*		
CV. (%)				22,8		

Ghi chú: các số trung bình trong cùng 1 cột (A) hoặc hàng (B) thể hiện ảnh hưởng đơn của loại bình nuôi cây; các số trung bình trong cùng một hàng thể hiện ảnh hưởng đơn của tỷ lệ NAA:BA; các chỉ số còn lại thể hiện ảnh hưởng tương tác; các số có chữ số theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. (*): khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

Việc sử dụng bọc plastic để nuôi cấy sẽ cho hiệu quả nhân chồi tốt hơn sử dụng chai thủy tinh. Ánh sáng tự nhiên có đầy đủ phổ ánh sáng để phân tử diệp lục hấp thu và thực hiện chức năng quang hợp.

3.1.2 Hiệu quả của NAA, atonik và loại bình nuôi cấy trên số rễ giống lan Aerides sp. in vitro trong điều kiện chuẩn và điều kiện tự nhiên

Điều kiện chuẩn

Kết quả Bảng 3 cho thấy rằng có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức có số rễ mới tạo thành ở 2 loại bình nuôi cấy cũng như ở các nghiệm thức có nồng độ NAA và atonik khác nhau. Đối với NAA và atonik, số rễ mới tạo thành đạt cao ở nghiệm thức có bổ sung 2 ml/L atonik. Đối với ảnh hưởng tương tác, số rễ mới tạo thành giữa các nghiệm thức có khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% giữa các nghiệm thức biến thiên trong khoảng 2,2-6,4 (rễ); cao nhất là nghiệm thức sử dụng 0,5 mg/L NAA nuôi cấy bằng bọc plastic, thấp nhất là nghiệm thức đối chứng sử dụng chai thủy tinh.

Bảng 3: Hiệu quả của nồng độ NAA, atonik và loại bình nuôi cấy trên số rễ mới tạo thành của lan *Aerides* sp. *in vitro* ở thời điểm 10 tuần sau khi cấy trong điều kiện chuẩn

Loại bình nuôi cấy	ĐC	NAA (mg/L)		Atonik (ml/L)		Trung bình
		0,5	1,0	1,0	2,0	
Chai thủy tinh	2,2^{e}	3,7^{cd}	4,8^{bc}	5,8^{ab}	6,0^{ab}	4,5^{b}
Bọc plastic	2,4^{de}	6,4^{a}	6,2^{ab}	5,5^{ab}	5,5^{ab}	5,2^{a}
Trung bình	2,3^{b}	5,1^{a}	5,5^{a}	5,7^{a}	5,8^{a}	
F Nồng độ NAA và atonik (A)				**		
F Loại bình nuôi cấy (B)				*		
F (A x B)				*		
CV. (%)				21,7		

Ghi chú: các số trung bình trong cùng 1 cột (A) hoặc hàng (B) thể hiện ảnh hưởng đơn của loại bình nuôi cấy; các số trung bình trong cùng một hàng thể hiện ảnh hưởng đơn của nồng độ NAA, atonik; các chỉ số còn lại thể hiện ảnh hưởng tương tác; các số có chữ số theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. (*): khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

Điều kiện tự nhiên

Ảnh hưởng đơn của tỷ lệ NAA và atonik lên sự hình thành rễ có khác biệt ý nghĩa thống kê. Số rễ mới tạo thành đạt 3,8 là nghiệm thức sử dụng atonik ở nồng độ 2 ml/L, thấp nhất là nghiệm thức 0,7.

Trong hai loại bình nuôi cấy bọc plastic có số rễ cao hơn chai thủy tinh. Đối với ảnh hưởng tương tác thì số rễ mới tạo thành ở các nghiệm thức atonik 2ml/L cây nuôi trong bọc plastic cao hơn chai thủy tinh. Theo Djanaguiraman *et al*. (2005) thì atonik có tác dụng tăng cường tích lũy hàm lượng auxin nội sinh trong cây. Kết quả thí nghiệm cho thấy việc sử dụng atonik với nồng độ 2 ml/L hiệu quả hơn sử dụng NAA.

Bảng 4: Hiệu quả của nồng độ NAA, atonik và loại bình nuôi cấy lên số rễ mới tạo thành (rễ) của lan *Aerides* sp. *in vitro* ở thời điểm 10 tuần sau khi cấy trong điều kiện tự nhiên

Loại bình nuôi cấy	ĐC	NAA (mg/L)		Atonik (ml/L)		Trung bình
		0,5	1,0	1,0	2,0	
Chai thủy tinh	0,9^{e}	3,1^{bc}	2,8^{c}	2,6^{c}	2,9^{c}	2,4^{b}
Bọc plastic	0,6^{e}	3,1^{bc}	1,6^{d}	3,7^{b}	4,7^{a}	2,7^{a}
Trung bình	0,7^{d}	3,1^{b}	2,2^{c}	3,1^{b}	3,8^{a}	
$F_{\text{Nồng độ NAA và atonik (A)}}$				**		
$F_{\text{Loại bình nuôi cấy (B)}}$				*		
$F_{\text{(A x B)}}$				**		
CV. (%)				17,1		

Ghi chú: các số trung bình trong cùng 1 cột (A) hoặc hàng (B) thể hiện ảnh hưởng đơn của loại bình nuôi cây; các số trung bình trong cùng một hàng thể hiện ảnh hưởng đơn của nồng độ NAA, atonik; các chỉ số còn lại thể hiện ảnh hưởng tương tác; các số có chữ số theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. (*): khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Ở giai đoạn 2, hiệu quả nhân chồi lan đạt được số chồi cao ở điều kiện chuẩn cũng như điều kiện tự nhiên trên môi trường khoáng đa lượng VW và vi lượng MS có bổ sung NAA/ BA với tỉ lệ 1 mg/L/10 mg/L. Không có sự khác biệt giữa chai thủy tinh và bọc plastic trong điều kiện chuẩn. Trong điều kiện tự nhiên, nuôi cấy trong bọc plastic tốt hơn nuôi cấy trong chai thủy tinh.

Ở giai đoạn 3, hiệu quả của atonik tốt hơn NAA trên sự ra rễ của giống lan *Aerides* sp. ở điều kiện chuẩn và điều kiện tự nhiên.

4.2 Đề xuất

Sử dụng NAA/BA với tỷ lệ 1 mg/L/10 mg/L, loại bình nuôi cấy là bọc plastic trong điều kiện tự nhiên để nhân chồi. Sử dụng atonik nồng độ 2 ml/L, loại bình nuôi cấy bọc plastic nuôi cấy trong điều kiện tự nhiên để kích thích ra rễ lan *Aerides* sp..

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Debergh P.C and R.H. Zimmerman, 1991. Micropropagation. Technology and Application. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston. London. ISBN 0-7923-0818-2 pp.71-93.
2. Djanaguiraman M., M. Pandiyan And D. D. Devi, 2005. Abscission of tomato fruit follows oxidative damage and its manipulation by Atonik Spray. Int. J. Agri. Biol., Vol. 7, No.1, 2005.
3. Dương Tấn Nhựt, 2010. Một số phương pháp, hệ thống mới trong nghiên cứu sinh học thực vật. NXB Nông nghiệp TPHCM. Trang 91 – 128.
4. Dương Tấn Nhựt, Lê Thị Thanh Xuân, Nguyễn Hồng Vũ, Nguyễn Văn Bình, Nguyễn Trí Minh và Nguyễn Thị Thanh Hằng, 2004. Cải tiến hệ thống nhân giống cây dâu tây bằng nuôi cấy trong túi nylon. Tạp chí Công nghệ Sinh học 2(2): 227-234.
5. Huỳnh Thị Ánh Hồng, 2010. Cải tiến hệ thống nuôi cấy mô ở giai đoạn 2 và 3 của quy trình vi nhân giống cây hoa chuông (*Sinnigia speciosa*). Luận văn tốt nghiệp chuyên ngành Công nghệ sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
6. Lưu Việt Dũng, Vũ Ngọc Phượng và Thái Xuân Du, 2007. Ảnh hưởng của ánh sáng tự nhiên trong quá trình nhân giống *in vitro* lên sự tăng trưởng của cây lan giống trong giai đoạn vườn ươm. In: Công Nghệ Tế bào. Hội nghị Khoa học và Công nghệ.
7. Murashige T, and Skoog F, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15:473–497.
8. Nguyễn Minh Kiên, 2011. Cải tiến hệ thống nuôi cấy 2 giống hoa African violet (*Saintpaulia ionatha*) và hoa huệ (*Polianthes tuberose* L.) ở giai đoạn 2 và 3 trong qui trình vi nhân giống. Luận văn tốt nghiệp Thạc sĩ ngành Công nghệ sinh học. Tủ sách Đại học Cần Thơ.
9. Phạm Xuân Phong, 2010. Cải tiến hệ thống nuôi cấy 2 giống lan *Mokara* và Dendrobium ở giai đoạn 2 và 3 trong qui trình vi nhân giống. Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ Công nghệ sinh học. Tủ sách Đại học Cần Thơ.