

SỬ DỤNG ÁNH SÁNG TỰ NHIÊN TRONG VI NHÂN GIỐNG CÂY KHOAI LANG (*Ipomoea batatas* L.) Ở KHU VỰC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Đỗ Đăng Giáp, Huỳnh Thị Diệu Hiền, Trần Danh Thế, Trần Trọng Tuấn

Viện Sinh Học Nhiệt Đới Tp HCM

(Bài nhận ngày 10 tháng 5 năm 2011, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 12 tháng 9 năm 2012)

TÓM TẮT: Cây khoai lang (*Ipomoea batatas* L.) *in vitro* được nuôi cấy ở ba điều kiện khác nhau gồm: 1- Nuôi trong phòng nuôi 4 tuần (PS) ở điều kiện phòng nuôi với nguồn sáng nhân tạo là đèn huỳnh quang, nhiệt độ và độ ẩm được kiểm soát (standard culture room); 2- Nuôi trong hệ thống kiểm soát nhiệt độ, độ ẩm (TH); 3- Nuôi ngoài điều kiện tự nhiên không kiểm soát nhiệt độ và độ ẩm (vườn ươm có mái tre) (NH). Các chỉ tiêu về tỷ lệ nhiễm, tăng trưởng và khả năng thích nghi của cây khoai lang ở ba điều kiện nuôi cấy khác nhau đã được so sánh và ghi nhận. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sau 28 ngày nuôi cấy, cây khoai lang *in vitro* được nuôi ở điều kiện TH đã giảm hoàn toàn khả năng nhiễm nấm bệnh do không khí bên ngoài gây ra. Sau 14 ngày chuyển ra vườn ươm, cây khoai lang *in vitro* được nuôi ở điều kiện TH có tỷ lệ sống và khả năng tăng trưởng tốt hơn so với hai điều kiện còn lại.

Từ khóa: Ánh sáng tự nhiên, cây khoai lang, vi nhân giống.

MỞ ĐẦU

Kỹ thuật vi nhân giống được ứng dụng phổ biến tạo ra số lượng lớn cây giống chất lượng cao phục vụ trong nông nghiệp như cây cảnh, cây rau, cây trồng trên đôn điện, cây lâm nghiệp và cây ăn trái. Tuy nhiên, phương pháp này gặp nhiều khó khăn khi chuyển từ điều kiện *in vitro* ra *ex vitro* như tỷ lệ sống thấp, khả năng phát triển chậm và kém thích nghi. Điều này đã được giải thích do cường độ ánh sáng thấp trong phòng nuôi cấy *in vitro* dẫn đến tốc độ quang hợp kém [7].

Trên thế giới đã có nghiên cứu ghi nhận ảnh hưởng của việc nuôi cấy *in vitro* bằng việc tăng cường cường độ ánh sáng bằng nguồn ánh sáng tự nhiên ở cây nhiệt đới (chịu được nhiệt độ nóng như cây chuối, cây dứa, cây mía) [5].

Trong thực tế ở những khu vực khí hậu nhiệt đới hoặc thuộc Địa Trung Hải có thể thay thế nguồn chiếu sáng nhân tạo bằng nguồn sáng tự nhiên trong vi nhân giống thực vật nhiệt đới. Ở Cuba, đã sản xuất ra hàng triệu cây giống (mía, thông caribe và chuối) mỗi năm [2] bằng việc sử dụng ánh sáng tự nhiên trong vi nhân giống. Ở Việt Nam, cũng đã ghi nhận có nhiều công trình nghiên cứu sử dụng ánh sáng tự nhiên trong vi nhân giống ở một số loại cây như cây lan *Catlaya*, *Phalaenopsis* [10], cây hồ tiêu - *Piper nigrum* L. [3], cây chuối [11]. Bước đầu đã có nhiều kết quả đáng ghi nhận, đã cải thiện được phần nào những mặt hạn chế của kỹ thuật vi nhân giống trong điều kiện phòng nuôi như: tăng tỷ lệ sống và khả năng thích nghi của cây con khi đưa ra điều kiện *ex vitro*, đặc biệt làm

giảm đáng kể chi phí điện năng trong quá trình vi nhân giống.

Khoai lang là một loại lương thực quan trọng ở nhiều đất nước nhiệt đới và cận nhiệt đới. Trong bối cảnh thiếu hụt nguồn lương thực thì khoai lang trở thành nguồn thức ăn bổ sung lí tưởng vì chúng không những cung cấp năng lượng nhiều hơn cây lúa mà nó còn được gọi là “nguồn năng lượng giá rẻ”. Vì vậy, sự phát triển trồng trọt và cải thiện mùa màng là hai nhiệm vụ quan trọng và là yêu cầu tiên quyết để đẩy mạnh sản xuất.

Tuy nhiên, một số yếu tố môi trường bất lợi do vị trí địa lý mang lại ở khu vực Thành phố Hồ Chí Minh nhiệt độ rất cao vào những ngày nắng gắt sẽ gây hại cho cây trong điều kiện *in vitro*; độ ẩm cao vào những ngày mưa (có thể trên 95%) và không khí bị ô nhiễm nặng nhất là bụi. Hàm lượng bụi (tổng trung bình/giờ) đo được tại sáu trạm quan trắc không khí ven đường dao động trong khoảng 0,37 – 0,92 mg/m³, vượt chuẩn cho phép từ 1,24 – 3,06 lần (TCCP là 0,3mg/m³). Những điều kiện này sẽ gây hiện tượng nhiễm vào bình nuôi cấy *in vitro* nếu để trong thời gian dài.

Nghiên cứu này cũng nhằm tập trung vào việc “Xây dựng mô hình sử dụng ánh sáng tự nhiên hiệu quả trong vi nhân giống cây khoai lang ở khu vực Thành phố Hồ Chí Minh” nhằm: Ổn định nhiệt độ trong buồng nuôi cấy *in vitro* (giao động trong khoảng 25 - 35°C); Tạo một buồng nuôi có môi trường không khí sạch, vô trùng tránh khả năng lây nhiễm vào các bình nuôi cấy *in vitro*; Khảo sát sản xuất

cây giống (cây khoai lang) với giá thành thấp để phục vụ thực tế sản xuất.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Cây khoai lang (giống Nhật) *in vitro* do phòng Công nghệ Tế bào Thực vật - Viện Sinh học Nhiệt đới cung cấp. Vật liệu cây thí nghiệm ban đầu là chồi tái sinh dài 1,5 - 2,0 cm, có một lá.

Môi trường

Môi trường nuôi cấy là môi trường MS [12] có bổ sung 20 g/l saccharose (Cty Đường Biên Hoà, Đồng Nai), 7,5 g/l agar (Cty Cổ phần Đồ hộp Hạ Long, Quảng Ninh). pH của môi trường trước khi khử trùng là 5,9. Môi trường được khử trùng ở 121 °C, 1 atm trong 20 phút.

Bố trí thí nghiệm

Cây con in vitro được nuôi dưới 3 điều kiện nuôi cấy khác nhau

1- Nuôi trong phòng nuôi 4 tuần (PS) ở điều kiện phòng nuôi với nguồn sáng nhân tạo là đèn huỳnh quang, nhiệt độ và độ ẩm được kiểm soát (standard culture room); 2- Nuôi trong hệ thống kiểm soát nhiệt độ, độ ẩm, không khí được làm sạch qua hệ thống màng lọc (TH); 3- Nuôi ngoài điều kiện tự nhiên không kiểm soát nhiệt độ và độ ẩm (vườn ươm có mái che) (NH).

- Trong điều kiện xử lý 1 (PS): cây *in vitro* được nuôi hoàn toàn trong điều kiện ánh sáng trắng nhân tạo bằng đèn huỳnh quang, cường độ ánh sáng trung

binh $50 \pm 5 \mu\text{mol.s}^{-1}\text{m}^{-2}$, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày; nhiệt độ trung bình $26 \pm 2^\circ\text{C}$; độ ẩm 80% trong giai đoạn tối, và 40-60% trong giai đoạn sáng.

- Trong điều kiện xử lý 2 (TH): cây in vitro được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng tự nhiên với các điều kiện cường độ ánh sáng trung bình dao động $0 - 349,27 \mu\text{mol.s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (ngày - đêm); nhiệt độ giao động từ $25 - 35^\circ\text{C}$ (ngày - đêm); độ ẩm 20 - 87% (ngày - đêm). Không khí trong buồng nuôi được làm sạch bằng hệ thống màng lọc và thổi khí.
- Trong điều kiện xử lý 3 (NH): cây in vitro được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng tự nhiên với các điều kiện cường

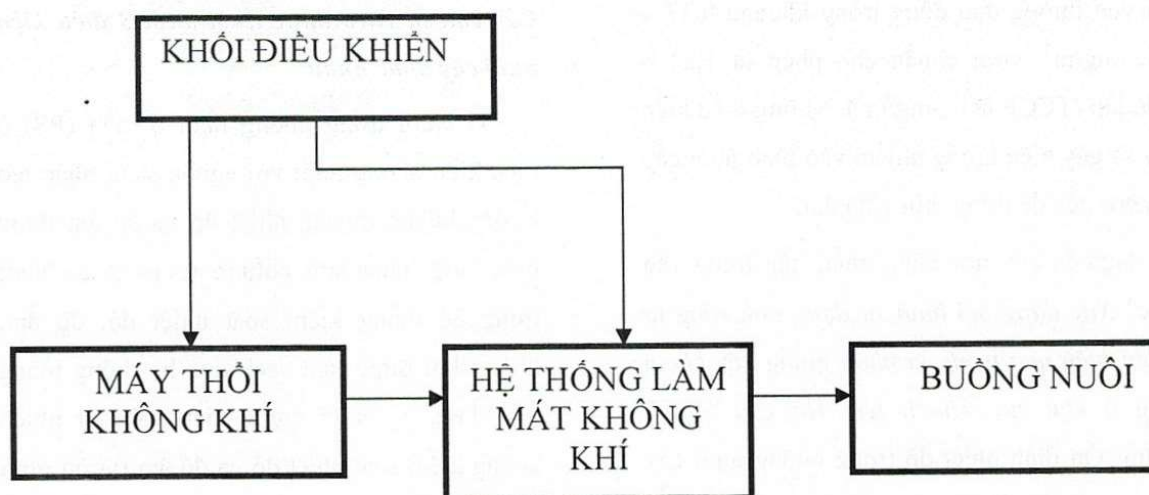
độ ánh sáng trung bình dao động từ $0 - 332,32 \mu\text{mol.s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (ngày - đêm); nhiệt độ giao động từ $25 - 48^\circ\text{C}$ (ngày - đêm); độ ẩm 25 - 85% (ngày - đêm).

Sau 8 tuần nuôi cấy, mẫu thí nghiệm được khảo sát với một số chỉ tiêu sau:

- Tỷ lệ nhiễm.
- Một số chỉ tiêu sinh trưởng như: số rễ; số lá; diện tích lá; gia tăng chiều dài thân; gia tăng trọng lượng tươi; gia tăng trọng lượng khô.
- Khả năng thích ứng của cây khoai lang nuôi ở cả 3 điều kiện nuôi cấy khi đưa ra vườn ươm: Cây con in vitro hoàn chỉnh cao 5 - 7 cm, trong ba điều kiện trên được chuyển ra ngoài vườn ươm để khảo sát sự thích nghi.

Hệ thống ánh sáng tự nhiên

Cấu tạo hệ thống



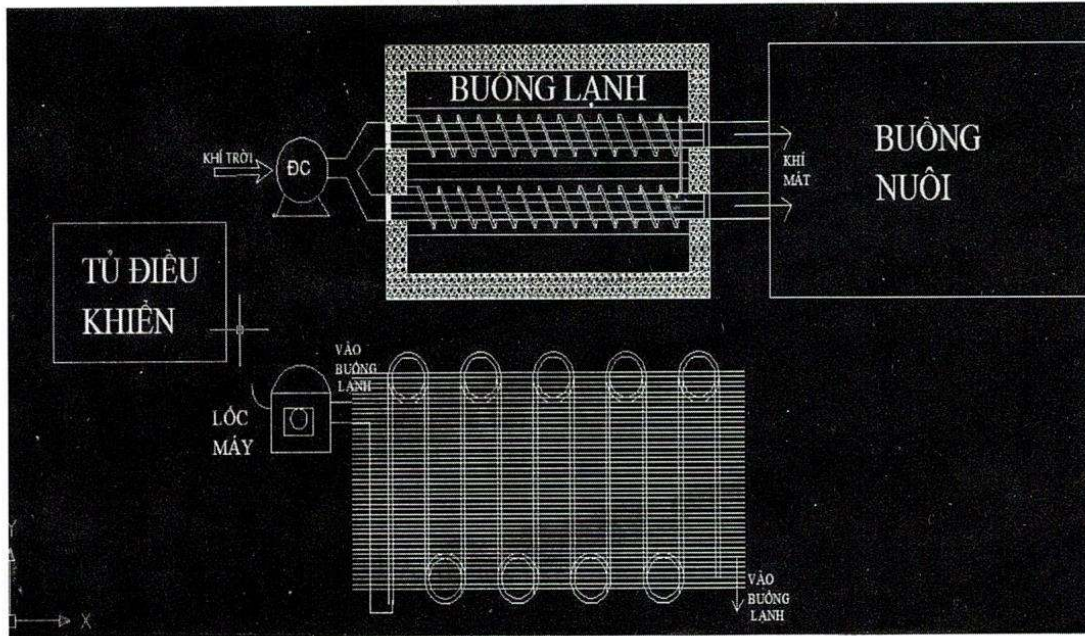
Hình 1. Sơ đồ khối hệ thống ánh sáng tự nhiên

Khối điều khiển: có nhiệm vụ đóng, mở máy thổi khí và hệ thống làm mát không khí.

Máy thổi không khí: thổi khí trời vào hệ thống làm mát

Hệ thống làm mát không khí: làm mát khí trời để đưa không khí mát, sạch vào buồng nuôi

Buồng nuôi: nơi để tiến hành thí nghiệm hiệu quả trong ứng dụng vi nhân giống cây trồng (cây khoai lang).

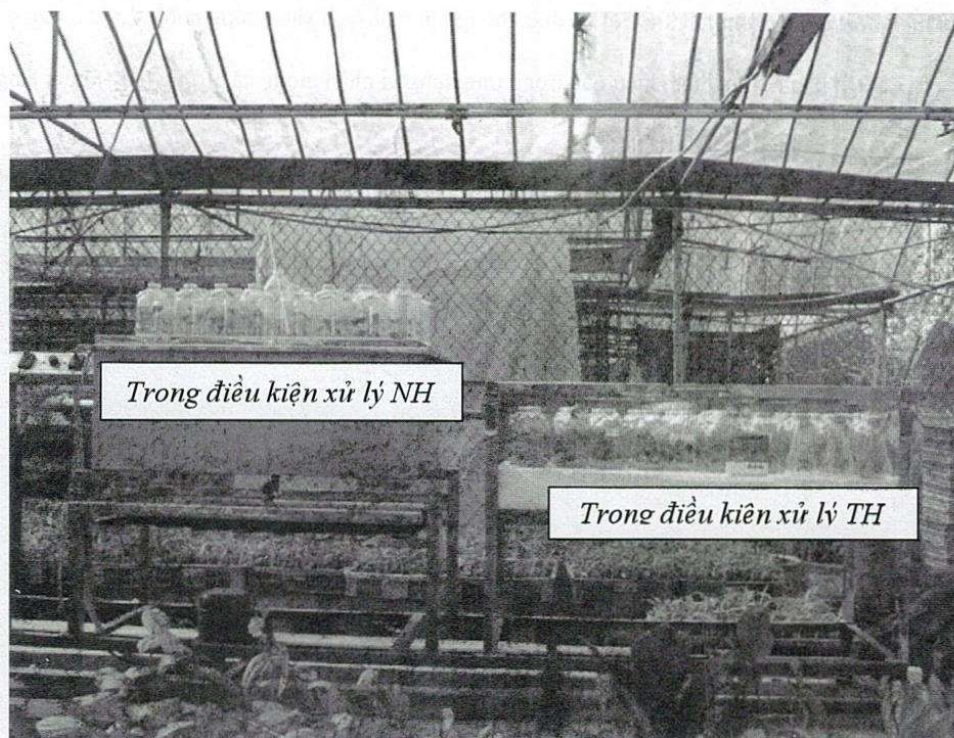


Hình 2. Hình vẽ tổng thể

Xử lý thống kê số liệu

Số liệu thí nghiệm được phân tích thô bằng Microsoft Office Excel và phân tích thống kê

ANOVA và trắc nghiệm phân hạng LSD (Least Significant Difference Test) bằng phần mềm Statgraphics plus for win 3.0.



Hình 3. Hệ thống đang vận hành thử nghiệm vi nhân giống cây khoai lang.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tỷ lệ nhiễm

Trong nuôi cấy mô tế bào thực vật, tỷ lệ nhiễm ảnh hưởng đáng kể đến năng suất và giá thành sản phẩm của cây giống nuôi cấy mô. Tỷ lệ nhiễm này cũng có thể do nhiều nguyên nhân gây ra như thao tác cấy, thiết bị sử dụng và đặc

biệt là môi trường nuôi. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát ảnh hưởng của các hệ thống nuôi đến tỷ lệ nhiễm mẫu.

Sau 28 ngày nuôi cấy, theo những số liệu ghi nhận được tỷ lệ nhiễm và tỷ lệ cây chết ở 3 điều kiện nuôi cấy được tổng hợp và thống kê theo Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng điều kiện nuôi cấy lên tỷ lệ nhiễm cây khoai lang *in vitro*

Chi tiêu Nghiệm thức	Tỷ lệ cây nhiễm (%)	Tỷ lệ cây chết (%)
	Trong phòng sáng(PS)	0
Trong hệ thống (TH)	0	0
Ngoài hệ thống (NH)	51,23	25,57
ANOVA	**	**

ns: Khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê; * : Khác biệt có ý nghĩa ở mức $0,01 \leq p \leq 0,05$;

** : Khác biệt rất có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,01$

Tỷ lệ nhiễm và tỷ lệ cây chết ở những cây khoai lang *in vitro* của hai điều kiện nuôi trong phòng sáng và hệ thống hầu như là bằng không. Điều này cũng được giải thích vì khi cây được nuôi trong phòng sáng và trong hệ thống thì không tiếp xúc trực tiếp với môi trường bên ngoài nên tỷ lệ nhiễm thấp hơn nhiều so với thí nghiệm để bên ngoài tiếp xúc với trực tiếp với môi trường không khí ngoài nhiều bụi hơn. Bên cạnh đó, yếu tố nhiệt độ cũng đóng vai trò quan trọng trong sự sinh trưởng và phát triển của các cây con. Trong buồng nuôi của hệ thống ánh sáng tự nhiên và trong phòng nuôi sử dụng ánh đèn huỳnh quang đều có sử dụng hệ thống điều khiển nhiệt độ, nhiệt độ trong hai hệ thống này luôn được giữ từ 25°C-35°C, đây là khoảng nhiệt độ tối ưu cho các cây trồng vùng nhiệt đới và đặc biệt trong hai hệ thống nuôi này không có sự chênh lệch nhiệt độ quá cao như bên ngoài tự nhiên nên cây trồng phát triển tốt

hơn. Cây khoai lang *in vitro* nuôi ở ngoài tự nhiên không được kiểm soát đã có những chỉ tiêu bất lợi cho sản xuất qui mô lớn gồm: tỷ lệ nhiễm rất cao, trên 50% (tỷ lệ nhiễm chấp nhận được của sản xuất cây giống *in vitro* là dưới 7%); tỷ lệ cây *in vitro* chết quá cao, trên 25%. Do đó không thích hợp để sản xuất cây giống trên qui mô lớn.

Chỉ tiêu sinh trưởng

Sau 28 ngày nuôi cấy, trung bình có khoảng 5 - 7 lá hình thành trên mỗi cây khoai lang nuôi cấy *in vitro* ở cả 3 điều kiện nuôi cấy TH, NH và PS. Do đó lá thứ 2 tính từ trên đỉnh chồi được lấy để khảo sát các chỉ tiêu sinh trưởng và phát triển.

Kết quả khi khảo sát và phân tích thống kê Anova-1 các chỉ tiêu tăng trưởng của cây khoai lang *in vitro* ở các điều kiện nuôi cấy cho thấy (Hình 2, Bảng 2):

Bảng 2. Ảnh hưởng điều kiện nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng cây khoai lang *in vitro*

Chi tiêu Nghiệm thức	Chi tiêu		Chiều dài thân (cm)	Diện tích lá	Trọng lượng tươi (g)	Trọng lượng khô (g)
	Số lá	Số rễ				
Trong phòng sáng(PS)	6,833	3,534	2,725	2,956	0,311	0,023
Trong hệ thống (TH)	7,333	3,916	4,167	3,157	0,721	0,046
Ngoài hệ thống (NH)	7,083	4,917	5,458	2,833	0,599	0,034
ANOVA	ns	ns	**	ns	**	*

ns: Khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê; * : Khác biệt có ý nghĩa ở mức $0,01 \leq p \leq 0,05$;

** : Khác biệt rất có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,01$

Cây khoai lang *in vitro* nuôi cấy trong cả 3 điều kiện TH, NH và PS đều không có sự khác biệt có ý nghĩa ở những chỉ tiêu sinh trưởng về số lượng như: số rễ, số lá, đường kính thân,

diện tích lá. Như vậy cây khoai lang *in vitro* nuôi cấy ở điều kiện trong hệ thống TH phát triển hầu như không có sự khác biệt so với cây nuôi trong điều kiện phòng sáng (Hình 2).

Ở chỉ tiêu chiều dài thân cho ta thấy cây khoai lang *in vitro* nuôi cấy bằng ánh sáng tự nhiên phát triển về chiều dài thân hơn so với cây nuôi cấy bằng ánh sáng nhân tạo đèn huỳnh quang. Có thể do ảnh hưởng của ánh sáng tự nhiên vào những thời gian nắng gắt có cường độ ánh sáng cao hơn gần 7 lần so với ánh sáng bằng đèn huỳnh quang đã kích thích gia tăng chiều dài thân của cây được nuôi trong hệ thống TH. Nhiều nghiên cứu trước đây đã ghi nhận tăng khả năng sinh trưởng ở cây *in vitro* khi tăng cường độ ánh sáng [4, 7].

Kết quả khảo sát khả năng thích ứng của cây khoai lang nuôi ở cả 3 điều kiện nuôi cấy khi đưa ra vườn ươm

Sau khi đưa cây *in vitro* ra trồng ngoài vườn ươm 2 tuần, chúng tôi ghi nhận kết quả sự gia tăng khả năng sinh trưởng ở 3 chỉ tiêu có sự khác biệt gồm: tỷ lệ sống, gia tăng chiều dài thân, gia tăng trọng lượng tươi và gia tăng trọng lượng khô. Kết quả được ghi nhận ở Bảng 3, Hình 3.

Bảng 3. Khả năng gia tăng tăng trưởng và tỷ lệ sống cây khoai lang *in vitro* ngoài vườn ươm

NT \ Chỉ tiêu	Tỷ lệ sống (%)	Gia tăng chiều dài thân (cm)	Gia tăng trọng lượng tươi (g)	Gia tăng trọng lượng khô (g)
Trong phòng sáng (PS)	75,57	1,06 C	0,12 C	0,009 C
Trong hệ thống (TH)	100%	3,64 A	0,31 A	0,017 A
Ngoài hệ thống (NH)	100%	2,22 B	0,14 B	0,011 B
ANOVA	*	**	**	**
CV(%)	3,57%	30.29%	6.63%	16.38%

ns: Khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê; * : Khác biệt có ý nghĩa ở mức $0,01 \leq p \leq 0,05$;

** : Khác biệt rất có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,01$

Có sự khác biệt rất rõ ở khả năng tăng trưởng và tỷ lệ sống của cây giống ở ba điều kiện nuôi cấy khi ra vườn ươm. Cây khoai lang *in vitro* nuôi cấy trong điều kiện hệ thống TH đã thích nghi tốt hơn so với hai điều kiện còn lại. Có sự gia tăng về chiều dài thân, trọng lượng tươi và trọng lượng khô cao hơn ở cây khoai lang *in vitro* nuôi trong điều kiện hệ thống TH so với cây *in vitro* ở hai điều kiện còn lại. Đặc biệt cây khoai lang *in vitro* nuôi cấy bằng ánh sáng tự nhiên đã có tỷ lệ sống cao

hơn so với nuôi cấy bằng ánh sáng nhân tạo đèn huỳnh quang (Bảng 3). Kết quả này cũng phù hợp với những nghiên cứu của trên cây dưa [9], cây chuối [8], cây hồ tiêu [3].

Những kết quả ghi nhận này cho phép có thể vi nhân giống cây khoai lang bằng hệ thống sử dụng ánh sáng tự nhiên TH. Bằng việc sử dụng hệ thống này trong vi nhân giống không những vừa giảm được chi phí điện năng sử dụng, giảm khả năng lây nhiễm của môi trường không khí ô nhiễm bụi mà còn làm tăng khả

nặng thích nghi của cây khoai lang *in vitro* khi đưa ra ngoài vườn ươm.

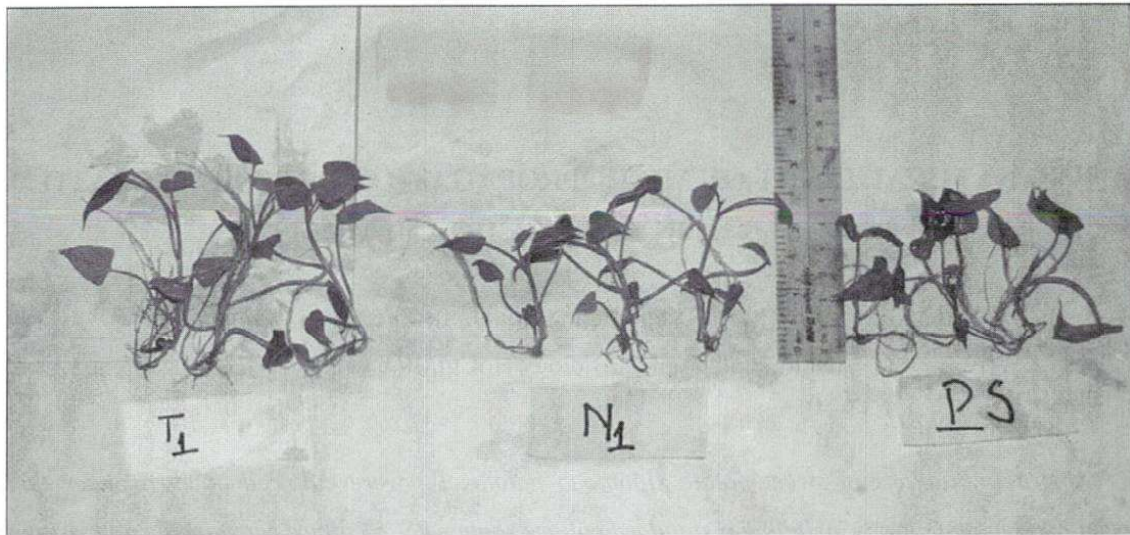
So sánh lượng điện năng tiêu thụ của hệ thống sử dụng so với trong phòng sáng

Điện năng sử dụng của hệ thống có buồng nuôi tương đương diện tích một kệ giàn đèn trong phòng sáng (đo bằng đồng hồ đo lường): Trong 1 ngày hệ thống sử dụng hết khoảng 1,25 kWh (kiloWatt) điện. Như vậy theo giá điện sản xuất trung bình khoản 1.500 VNĐ/kWh thì chi phí một ngày cho hệ thống khoảng 1.875 VNĐ.

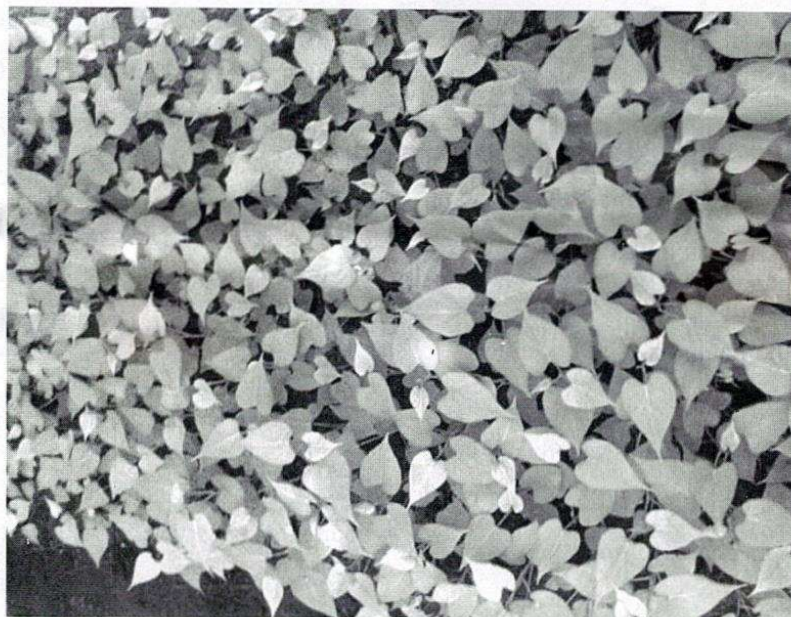
Điện năng sử dụng của một kệ giàn đèn nuôi cây trong phòng sáng: 1 giàn đèn sử dụng 3 bóng đèn neon T10-40W (Watt), chiếu sáng

12 giờ/ngày. Công suất tiêu hao điện thấp sáng 1 giàn nuôi cây/ngày là: $3 \times 50 \times 12 = 1800W$. Công suất tiêu hao điện của hệ thống làm lạnh để giảm sự tỏa nhiệt của 3 bóng đèn neon T10-40W là: $0,35 \times 1800 = 630W$ [13]. Công suất tiêu hao điện năng của 1 giàn nuôi cây trong phòng sáng: $1800 + 630 = 2430W$. Chi phí tiêu hao điện 1 ngày của một giàn nuôi cây trong phòng sáng: 3.645 VNĐ

Như vậy nếu sử dụng hệ thống nuôi cây bằng ánh sáng tự nhiên chúng ta tiết kiệm được lượng điện tiêu hao so với sử dụng giàn đèn trong phòng nuôi cây truyền thống là: $2430W - 1250W = 1180W$ hay tương đương với 1.770 VNĐ.



Hình 3. Hình thái cây khoai lang *in vitro* ở 3 điều kiện nuôi cấy khác nhau sau 28 ngày (PS- Trong điều kiện xử lý 1; T1- Trong điều kiện xử lý 2-TH; N1- Trong điều kiện xử lý 3 – NH)



Hình 4. Hình thái cây khoai lang *in vitro* sau 2 tuần đưa ra ngoài vườn ươm

KẾT LUẬN

Vi nhân giống cây khoai lang hiệu quả bằng hệ thống trên đã được xây dựng.

Bình nuôi cây *in vitro* đặt trong hệ thống nuôi cấy TH đã giảm hoàn toàn khả năng nhiễm nấm bệnh do không khí bên ngoài gây ra.

USING NATURAL LIGHT ON MICROPROPAGATION OF SWEET POTATO (*Ipomoea batatas* L.) IN AREA OF HO CHI MINH CITY

Do Dang Giap, Huynh Thi Dieu Hien, Tran Danh The, Tran Trong Tuan
Institute of Tropical Biology HoChiMinh City

Abstract: Plantlets of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) were cultured *in vitro* under three different ambient conditions including a standard culture room - PS, a culture room inside a glasshouse with natural light but controlled temperature - TH, and a standard glasshouse with natural light (natural fluctuations of temperature)- NP. Plantlets from three treatments were compared in terms of pathogen rate, growth, survival plant at the end of the *in vitro* stage and at the *ex vitro* acclimatization. This result showed that, after 28 days of culture, sweet potato plants were cultured *in vitro* TH conditions have reduced entirely due to susceptibility to fungal disease causing outside air. After 14

days of ex vitro acclimatization, plants originally grow in vitro under the TH condition had ability to adapt about field survival and growth rates better than the other two treatments.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ Khoa Học và Công Nghệ Việt Nam, *Điều kiện tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh*, Bản Tin Trung Tâm Tin Học, Bộ Khoa Học và Công Nghệ Việt Nam (2007).
- [2] B.S. Ahloowalia, V.A. Savangikar, Low cost options for energy and labour, *Low Cost Options For Tissue Culture Technology In Developing Countries*, IAEA, Vienna, 41-46 (2002).
- [3] Đ.Đ. Giáp, T. X. Du, D.Đ. Hiếu, N. X. Quảng, Nghiên cứu sử dụng nguồn ánh sáng tự nhiên trong vi nhân giống cây hồ tiêu (*Piper nigrum* L.), *Tạp chí Kinh tế Sinh thái*, 14, 25-31 (2009).
- [4] G. Fuentes, C. Talavera, C. Oropeza, Y. Desjardins, J.M. Santamaria, Exogenous sucrose can decrease in vitro photosynthesis but improve field survival and growth of coconut (*Cocos nucifera* L.) in vitro plantlets, *In vitro Plant*, 41, 69-76 (2005).
- [5] A. Kodym, S. Hollenthoner, F.J. Zapata-Arias, Cost reduction in the micropropagation of banana by using tubular skylights as source for natural lighting, *In vitro Cell Dev. Biol.-Plant*, 37, 237-242 (2001).
- [6] T. Kozai, F. Afreen, S.M.A. Zobayed, Photoautotrophic (sugar-free medium) micropropagation as a new micropropagation and transplant production system, *Propagation of Ornamental Plants*, 9, 147-186 (2005).
- [7] R.P. Lees, P.J. Lumsden, J.R. Nicholas and W.J. Davies (eds), Effects of light environment on photosynthesis and growth in vitro, *Physiology. Growth and Development of Plantlets in Culture*, 31-46 (1994).
- [8] D.F. Sisvar, M. Pasqual, J.E.S. Pereira, E.M. Castro, Anatomical and physiological modifications of micropropagated 'caipira' banana plants under natural light, *Sci. Agric*, Piracicaba, Braz., 66, 323-330 (2009).
- [9] C. Talavera, F. Contreras, F. Espadas, G. Fuentes, J.M. Santamaria, Cultivating in vitro coconut palms (*Cocos nucifera*) under glasshouse conditions with natural light, improves in vitro photosynthesis nursery survival and growth, *Plant cell, Tissue and Organ Culture*, 83, 287-292 (2005).
- [10] V.N. Phương, Sử dụng ánh sáng tự nhiên trong nuôi cấy mô cây lan hồ điệp, *Báo cáo nghiệm thu đề tài*, Viện Sinh học Nhiệt đới (2005).

- [11] V.N. Phương, H.T. Phòng, T.X. Du, T.M. Dũng, Vai trò ánh sáng tự nhiên trong nhân giống in vitro cây phong lan và cây chuối, *Hội nghị Khoa học kỷ niệm 35 năm Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam – Hà Nội*, 435-439 (2010).
- [12] T. Murashige and F. Skoog, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15, 473–497 (1962).
- [13] D.T. Nhứt (ed), *Công nghệ sinh học thực vật, tập 1*, NXB Nông nghiệp, 39-41 (2007).