

KHẢO SÁT ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY VÀ TẠO CỦ CỎ ỐNG (*PANICUM REPENS L.*) TRONG ỐNG NGHIỆM

Nguyễn Du Sanh

Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên

(*Bài nhận ngày 23/05/1998*)

TÓM TẮT : Pratah Kamal PringtingPress. Muzaffarpur,(Bihar),pp: 6-16.Cỏ ống (*Panicum repens L.*) là loài cỏ thường gặp trên nhiều môi trường khác nhau, nhưng chúng rất dễ bị nhiễm và khó phát triển trong ống nghiệm. Sự khử trùng mẫu có thể được thực hiện trong dung dịch hypochlorit Ca 10% với thời gian khử trùng từ 15-25 phút hay trong dung dịch HgCl₂ 0,1% ở thời gian từ 10 đến 20 phút. Việc thêm Tween 20 (0,15% v/v) vào dịch khử trùng làm tăng độ khử trùng của mẫu cấy. Xử lý mẫu với dung dịch HgCl₂ 0,1% trong 15 phút sẽ đạt độ khử trùng cao.

Môi trường nuôi cấy là môi trường chứa khoáng của Murashige-Skoog có bổ sung vitamin của Morel và Wetmore với lượng đường 4% và 2 mg/l IBA. Với nồng độ IBA này cỏ sẽ thành lập rễ tốt. Trong lần nuôi cấy đầu tiên môi trường có bổ sung clorua nhôm ở nồng độ 25mg/l giúp cây tăng trưởng tốt. Sự nuôi cấy trong ống nghiệm nên chọn khúc cắt từ thân khí sinh thay vì từ căn hành hay từ củ.

Củ cỏ ống chỉ được tạo ra trong môi trường có chứa chất điều hòa sinh trưởng thực vật và khi mẫu cấy được đặt hoàn toàn trong tối ở 27°C. Trong điều kiện chiếu sáng ở 27°C hay trong tối ở 22°C đều không cảm ứng tạo củ dù môi trường có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng. Ở môi trường chứa khoáng Murashige-Skoog đầy đủ không thích hợp cho việc tạo củ cỏ ống. Môi trường tạo củ là môi trường chứa khoáng của Murashige-Skoog giảm một nửa, có bổ sung vitamin của Morel và Wetmore với lượng đường là 8% và chất điều hòa sinh trưởng thực vật. Gibberelin hoàn toàn ngăn chặn sự tạo củ trong khi cytokinin và ABA lại cảm ứng tạo củ cỏ ống. Xử lý BA ở nồng độ 20 mg/l cho tỉ lệ tạo củ cao (76%). Khi phối hợp NAA, BA và ABA ở nồng độ 0,4:20:0,3 mg/l thì tỉ lệ tạo củ đạt đến 91%. Vai trò của chất điều hòa sinh trưởng thực vật trên sự tạo củ cũng được bình luận.

Chữ viết tắt: ABA: *acid abscisic*, Aux: *auxin*, BA: *benzyl adenin*, Cyt: *cytokinin*, ĐHSTTV: *điều hòa sinh trưởng thực vật*, Gb: *giberelin*, IBA: *acid indol butyric*, NAA: *acid naphthalen acetic*, 2,4-D: *acid 2,4-dichlorophenoxyacetic*.

I. MỞ ĐẦU:

Cỏ ống (*Panicum repens L.*) được xem là một loài cỏ dại, thường gặp trên nhiều môi trường khác nhau. Củ và căn hành cỏ ống có khả năng tái sinh mạnh, rất phát triển nên khó kiểm soát loài cỏ này. Sự tạo củ trong ống nghiệm được nhiều tác giả nghiên cứu trên các loài thuộc lớp Hai lá mầm (Charles và csv 1993, Desire 1995, Koda và csv 1994)[2][3][6], nhưng ít được nghiên cứu trên các loài thuộc lớp Một lá mầm (Koda và Kikuta 1991)[5]. Bài khảo cứu này nhằm đem lại một số hiểu biết về sự tạo củ ở loài thực vật Một lá mầm và có thể làm cơ sở cho việc nghiên cứu sâu hơn về sự tạo củ ở các cây trồng có củ. Mặt khác, các kết quả có thể gợi ra biện pháp thích hợp nhằm kiểm soát sự tăng trưởng củ, qua đó có thể kiểm soát hữu hiệu loài cỏ dại này.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Khử trùng và tạo môi trường nuôi cấy

Vật liệu nuôi cấy là các chồi mầm hiện diện trên củ mẹ; căn hành; thân khí sinh. Dùng hai chất khử trùng là hypochlorit Ca ở hai nồng độ 5%, 10% và chlorua thủy ngân ($HgCl_2$) ở nồng độ 0,1%, với thời gian khử trùng khác nhau. Chất Tween 20 được cho thêm vào dung dịch để làm tăng độ bám dính của mẫu đối với dịch khử trùng. Dựa trên môi trường Murashige-Skoog (Theo Bui Trang 1994)[1] làm môi trường cơ bản và các điều kiện sống của cỏ trong tự nhiên, lần lượt bổ sung, thay đổi để tìm môi trường thích hợp cho sự tăng trưởng cỏ ống trong ống nghiệm qua việc bổ sung lượng nhôm, đường, chất điều hòa sinh trưởng thực vật.

Mẫu được thu nhận ở ngoại thành Tp. Hồ Chí Minh. Khử trùng bề mặt bằng dung dịch savon, tiếp theo bằng alcohol 70° trong 1 phút. Các đoạn mẫu cấy được lặt trong dung dịch thí nghiệm theo thời gian và nồng độ khác nhau. Mẫu được đưa vào ống nghiệm có chứa 20 ml môi trường thí nghiệm đã khử trùng. Các ống nghiệm chứa mẫu cấy được đặt trong phòng nuôi cấy với điều kiện nhiệt độ $27 \pm 1^\circ C$, ánh sáng đèn huỳnh quang có cường độ ánh sáng 3.500 lux, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày. Độ ẩm 64%. Kết quả được theo dõi sau 1 tuần.

Tạo củ cỏ ống

Các khúc cắt thân cỏ ống được lấy từ các cây nuôi cấy trong ống nghiệm sau 3 tháng nuôi ở phần trên. Các mẫu cấy được đưa vào môi trường Murashige-Skoog bổ sung vitamin của môi trường Morel và Wetmore (Theo Bui Trang 1994) [1] làm môi trường chuẩn (MS1). Hay môi trường MS1 bổ sung lượng đường saccharose 80g/l (MS1y). Hay môi trường MS1y nhưng có thành phần khoáng đa lượng của môi trường Murashige-Skoog giảm một nửa (MS1y/2). Chất ĐHTTV như NAA, Gb, BA, ABA, được khảo sát bằng cách bổ sung vào môi trường nuôi cấy đơn lẻ hoặc phối hợp. Các mẫu cấy được đặt trong điều kiện tối hoàn toàn hay ngoài sáng có cường độ ánh sáng 3.500 lux, chiếu sáng 16 giờ/ngày, độ ẩm 64% ở hai chế độ nhiệt độ $22 \pm 1^\circ C$ và $27 \pm 1^\circ C$. Kết quả được theo dõi sau 4 tuần, ghi nhận sự tạo củ ở các điều kiện thí nghiệm so với chuẩn.

III. KẾT QUẢ:

Khử trùng và tạo môi trường nuôi cấy

Với môi trường Murashige-Skoog để khảo sát độ khử trùng của mô cấy. Kết quả cho thấy (bảng 1) chỉ có chất khử trùng hypochlorit Ca 10% với thời gian khử trùng từ 15-25 phút và $HgCl_2$ 0,1% ở thời gian từ 10 đến 20 phút cho mẫu sống và không nhiễm.

Bảng 1: % mẫu sống và không nhiễm đối với chất khử trùng và thời gian khử trùng không có Tween 20. Ghi nhận kết quả sau một tuần.

% mẫu sống & không nhiễm		Từ củ và căn hành	Từ thân khí sinh
Chất & Thời gian khử trùng (phút)			
HypoClorit Ca 10%	15	$20,63 \pm 1,59$	$24,40 \pm 5,6$
	20	$30,28 \pm 1,71$	$43,81 \pm 3,81$
	25	$24,40 \pm 5,6$	$20,94 \pm 2,86$
$HgCl_2$ 0,1%	10	$16,66 \pm 2,38$	$30,95 \pm 2,38$
	12	$23,80 \pm 4,76$	$45,24 \pm 2,38$
	15	$42,86 \pm 4,76$	$52,38 \pm 4,76$
	20	$7,14 \pm 2,38$	$21,42 \pm 2,38$

Bảng 2: % mẫu sống và không nhiễm đối với chất khử trùng và thời gian khử trùng có Tween 20. Ghi nhận kết quả sau một tuần.

% mẫu sống & không nhiễm		Từ củ và căn hành	Từ thân khí sinh
Chất & Thời gian khử trùng (phút)			
HypoClorit Ca 10%	15	42,80 ± 9,57	24,40 ± 5,6
	20	50,22 ± 3,12	53,64 ± 4,36
	25	15,99 ± 6,80	21,78 ± 6,78
HgCl ₂ 0,1%	10	18,33 ± 1,76	42,85 ± 4,76
	12	37,45 ± 4,21	55,95 ± 5,95
	15	53,52 ± 3,52	65,33 ± 6,33
	20	9,15 ± 4,43	30,90 ± 2,33

Mẫu lấy từ thân khí sinh có % sống và không nhiễm cao hơn mẫu lấy từ củ và căn hành. Số mẫu chết gia tăng theo thời gian khử trùng. Sau hai tuần tỉ lệ nhiễm đối với mẫu khử trùng trong dung dịch hypochlorit Ca cao hơn so với mẫu khử trùng trong dung dịch HgCl₂. Khi cho Tween 20 (0,15% v/v) vào dịch khử trùng làm tăng hiệu quả khử trùng (bảng 2). Tỉ lệ nhiễm sau 2 tuần ít, chỉ chiếm khoảng 20% đến 25% tổng số mẫu sống và không nhiễm quan sát sau 1 tuần, đối với cả hai chất khử trùng là hypochlorit Ca và HgCl₂. Môi trường Murashige-Skoog được thay vitamin của môi trường Morel và Wetmore (MS1) tốt hơn môi trường Murashige-Skoog bình thường. Với lượng đường 40g/l chồi phát triển tốt hơn so với môi trường chỉ có lượng đường 20g/l. Trong lần nuôi cấy đầu tiên, các mẫu cấy lấy từ thiên nhiên sẽ tăng trưởng tốt khi môi trường được bổ sung clorua nhôm (0,1 mM # 24 mg/l). 2,4-D không tạo được rễ, các đỉnh rễ có khuynh hướng phù ra. NAA và IBA có ảnh hưởng tốt trên sự tạo rễ bất định, nồng độ IBA 2mg/l thích hợp nhất cho sự tạo rễ trong nuôi cấy chồi cỏ ống, cho số lượng, chiều dài cũng như số rễ phân nhánh nhiều hơn (bảng 3).

Bảng 3: Ảnh hưởng của chất ĐHSTTV trên sự tăng trưởng rễ cỏ ống sau 8 tuần

Chất ĐHSTTV	chuẩn	2,4-D (mg/l)			NAA (mg/l)			IBA (mg/l)		
		1	2	5	1	2	5	1	2	5
Rễ										
số rễ	0,6 ± 0,2				1,6 ± 0,4	1,82 ± 0,4	1,24 ± 0,4	1,66 ± 0,4	2,4 ± 0,5	1,6 ± 0,4
chiều dài(cm)	2,8 ± 0,6				3,8 ± 1	3,6 ± 1	2,6 ± 0,6	3,18 ± 0,8	3,5 ± 1,2	2,22 ± 0,4

Tạo củ cỏ ống

Trong tất cả các thí nghiệm có bổ sung chất ĐHSTTV, sự tạo củ chỉ xảy ra khi trong môi trường có lượng đường saccharose cao (80g/l) và phải để hoàn toàn trong tối ở 27°C. Kết quả được tóm tắt ở bảng 4.

Bảng 4: Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường trong sự tạo củ cổ ống.

Môi Trường**	Điều kiện		Chất điều hòa					Kết quả
	Tối	27oC	Aux	Gb	Cyt	BA	Phối hợp*	
MS1y		+	-	-	-		-	Không tạo củ
MS1y		+	+	-	-		-	Không tạo củ
MS1y		+	-	+	-		-	Không tạo củ
MS1y		+	-	-	+		-	Tạo củ
MS1y		+	-	-	-		-	Tạo củ
MS1y		+	-	-	-		+	Tạo củ
MS1y/2		+	-	-	-		-	Không tạo củ
MS1y/2		+	+	-	-		-	Tạo củ
MS1y/2		+	-	+	-		-	Không tạo củ
MS1y/2		+	-	-	+		-	Tạo củ
MS1y/2		+	-	-	-		-	Tạo củ
MS1y/2		+	-	-	-		+	Tạo củ

* Phối hợp giữa Auxin, Cytokin, và ABA

** MS1y là môi trường Murashige-Skoog, bổ sung vitamin theo Morel và Wetmore, lượng đường 80g/l. MS1y/2 là môi trường MS1y có khoáng đa lượng giảm phân nửa

Với Gb, củ hoàn toàn không tạo củ. Trong môi trường MS1y auxin hoàn toàn không kích thích tạo củ. Tỷ lệ tạo củ thay đổi theo chất ĐHSTTV (bảng 5). Cytokinin và acid abscisic riêng rẽ hay phối hợp đều kích thích tạo củ. Phối hợp aux, cyt và ABA cho tỷ lệ tạo củ cao nhất. Kết quả cũng ghi nhận thời gian cảm ứng tạo củ trong môi trường MS1y/2 nhanh hơn trong môi trường MS1y (2 tuần nuôi cấy trong môi trường MS1y/2 so với sau 3 tuần trong MS1y). Tỷ lệ tạo củ cũng tùy thuộc vào vị trí của chồi trên thân. Khúc cắt ở đoạn giữa thân tăng trưởng tốt, tỷ lệ cho củ nhiều nhất.

Bảng 5: Khả năng kích thích tạo củ của ĐHSTTV trên khúc cắt thân cổ ống ở môi trường MS1y và môi trường MS1y/2 trong tối, nhiệt độ 27°C

Môi trường	Chuẩn	NAA	GA ₃	BA	ABA	Phối hợp*
MS1y		0,4mg/l	5mg/l	20mg/l	0,3mg/l	NAA+BA+ABA
số củ/mẫu	0/21	0/18	0/21	4/24	1/16	8/21
% tạo củ	0	0	0	16,6	6,25	38,09
MS1y/2						
Số củ/mẫu	0 1	2/31	0/31	20/26	9/23	22/24
% tạo củ	0	6,45	0	76,92	39,13	91,66

*(NAA 0,4 mg/l; BA 20 mg/l; ABA 0,3 mg/l)

IV. BÌNH LUẬN:

Thời gian xử lý mẫu bằng các tác nhân khử trùng kéo dài sẽ ảnh hưởng đến khả năng sống của mô cấy. Đối với mô cấy lấy từ củ và căn hành là các bộ phận nằm trong đất nên dễ bị nhiễm hơn các chồi lấy từ thân. Tween 20 là chất làm cho dịch khử trùng dễ bám dính vào mô cấy nên giúp mô tiếp xúc tốt với chất khử trùng làm tăng hiệu quả

khử trùng, thể hiện qua tỉ lệ sống của mô cấy (*bảng 1,2*). Khi nuôi cấy trong ống nghiệm, chồi đã tách rời khỏi cây mẹ nên sự tăng trưởng của chồi tùy thuộc vào thành phần môi trường và điều kiện nuôi cấy. Khi bổ sung vài yếu tố như vitamin, đường, chất DHSTTV, ... mô cấy tăng trưởng tốt hẳn lên. Điều này phù hợp với nhiều tác giả ghi nhận khi nuôi cấy trên nhiều đối tượng khác nhau (tài liệu trong Torres 1989)[10]. Trong tạo rễ, sự đáp ứng của mô cấy tùy thuộc vào loại và nồng độ auxin. IBA có ảnh hưởng tốt trên sự tạo rễ bất định, nồng độ IBA 2mg/l thích hợp cho sự tạo rễ trong nuôi cấy chồi cổ ống (*bảng 3*).

Carbohydrat là nguồn cung cấp chất cần thiết cho sự tạo củ. Trong nuôi cấy, tỉ lệ tạo củ gia tăng theo hàm lượng đường đến 90 g/l (Charles và csv 1993, Koda và csv 1994)[2][6]. Trong giai đoạn đầu của sự tạo củ, cơ quan cần phải gia tăng áp suất thẩm thấu, các loại đường đơn cần cho nhu cầu biến dưỡng giúp phân chia và tăng rộng tế bào, tạo điều kiện cho việc tích trữ chất dự trữ về sau (Totr và csv 1985)[11]. Đối với cổ ống sự tạo củ cũng cần lượng đường cao. Khi nghiên cứu tạo củ trên nhiều đối tượng khác nhau, nhiều tác giả ghi nhận cần phải để trong điều kiện tối hoàn toàn hay cường độ ánh sáng yếu mới tạo được củ (Charles và csv 1993, Desire 1995)[2][3]. Trong tự nhiên cổ ống tạo củ ở dưới đất, trong điều kiện thí nghiệm củ cổ ống không tăng trưởng được ở ngoài sáng (Nguyễn Du Sanh 1997)[9]. Cổ ống muốn tạo củ cần phải đặt trong điều kiện tối hoàn toàn. Sự liên hệ giữa điều kiện tối với sự tạo củ chưa được giải thích rõ, có thể chúng liên quan đến các hoạt động biến dưỡng. Đối với cổ ống, môi trường có lượng chất khoáng cao (MS1y) cây chậm tạo củ, tỉ lệ tạo củ thấp so với môi trường có lượng chất khoáng thấp (MS1y/2) (*bảng 5*). Desire 1995 [3] cũng thực hiện thành công sự tạo củ khoai tây trong ống nghiệm ở điều kiện tối liên tục với hàm lượng đường trong môi trường nuôi cấy là 8% và thành phần khoáng đa lượng MS giảm một nửa. Trong môi trường Murashige-Skoog, tỉ lệ N chiếm rất cao, phải chăng khi giảm khoáng đa lượng đã kéo theo giảm lượng N, từ đó kích thích tạo củ. Theo Charles và csv., 1993, Desire 1995, Ewing 1995 [2][3][4] lượng N cao ngăn chặn sự tạo củ của thực vật. Nhiệt độ là điều kiện cần thiết cho sự tạo củ. Cổ ống là loài cổ thuộc vùng nhiệt đới. Cổ chỉ tạo củ ở 27⁰C, còn ở nhiệt độ 22⁰C thì không. Như vậy, sự tạo củ có liên quan đến điều kiện sống của thực vật trong tự nhiên. Các chất điều hòa sinh trưởng thực vật có liên quan mật thiết đến sự tạo củ. Gibberelin cản sự tạo củ trong khi cytokinin và acid abscisic lại kích thích. Trong đó Cytokinin có vai trò quan trọng trong việc tạo củ ở các loài có củ (Ewing 1995, Matthyse và Scott 1984, Nakatani và csv. 1990) [4][7][8]. Trên sự tạo củ cổ ống cũng cho kết quả tương tự, Gb cản tạo củ do kích thích sinh mô lông hoạt động làm cho củ không tăng thêm đường kính. BA ở nồng độ 20mg/l kích thích sự tạo củ, củ tăng trưởng tốt, thể hiện qua hoạt động phân bào của các tiền tượng tầng, ABA chỉ làm phù đầy gốc thân, sau đó thân tiếp tục kéo dài. Sự phối hợp giữa NAA, BA và ABA cho kết quả tốt nhất. Theo Totr và csv 1985[11] ABA chỉ giúp khởi sự tạo củ, kích thích hấp thu chất dinh dưỡng làm gia tăng áp suất thẩm thấu và ngăn chặn hoạt động của sinh mô lông làm kéo dài thân do Gb cảm ứng. Trong quá trình tạo củ cổ ống trong ống nghiệm, Acid abscisic cản hoạt động của sinh mô lông, giúp hấp thu chất dinh dưỡng làm gia tăng

áp suất thẩm thấu, từ đó giúp đổi hướng tăng trưởng. Cytokinin và auxin giúp phân chia và tăng rộng tế bào, sự tượng củ xảy ra (bảng 5).

V. KẾT LUẬN

Từ kết quả trên, đối với cỏ ống muốn đưa cây vào trong ống nghiệm nên chọn chất khử trùng là HgCl_2 0,1% với thời gian 15 phút có thêm Tween 20 (0,15%v/v) trong dịch khử trùng. Nên chọn mẫu cấy lấy từ thân khí sinh. Môi trường thích hợp để cỏ ống phát triển là môi trường Murashige-Skoog có bổ sung các vitamin theo Morel và Wetmore, chứa 40 g/l đường saccharose, 2mg/l IBA, cũng cần thêm nhôm trong lần nuôi cấy đầu tiên với mẫu cấy lấy từ thiên nhiên.

Cỏ ống có thể tạo được củ trong ống nghiệm với điều kiện môi trường nuôi cấy phải có hàm lượng đường saccharose cao (80g/l), phải bổ sung chất ĐHSTTV và phải nuôi cây trong tối hoàn toàn ở nhiệt độ 27°C. Tỷ lệ tạo củ cao khi môi trường có khoáng đa lượng Murashige-SKoog giảm một nửa. BA có hoạt tính kích thích tốt cho sự tạo củ. Khi phối hợp các chất NAA + BA + ABA ở nồng độ 0,4 + 20 + 0,3 mg/l cho tỷ lệ tạo củ cao.

Xin chân thành cảm ơn: GSTS Mai Trần Ngọc Tiếng đã hướng dẫn và góp nhiều ý kiến quý báu cho khảo cứu, Phòng Thí nghiệm Sinh lý thực vật Trường Đại Học Khoa Học Tự nhiên đã tạo mọi điều kiện để thực hiện các thí nghiệm.

DETERMINATION THE CONDITIONS IN CULTURE AND TUBERIZATION IN VITRO OF TORPEDO GRASS (*PANICUM REPENS*L.)

Nguyen Du Sanh

ABSTRACT: Torpedo grass (*Panicum repens* L.) is a weed species usually found on different environmental conditions, easily infected *in vitro* culture. Sterilization of samples could be made with calcium hypochlorite 10% solution for 15 to 25 minutes or HgCl_2 0,1% for 10 to 20 minutes. Adding Tween 20 (0,15% v/v) in the calcium hypochlorite solution or HgCl_2 solution increases the efficacy of sterilization. A solution of HgCl_2 0,1% plus Tween 20 (0,15% v/v) during 15 minutes sterilization goes a high result.

The Murashige-Skoog's salts culture medium complemented Morel and Wetmore medium's vitamins, 4% sucrose and 2 mg/l IBA is used. Root formation is good with this IBA concentration. In our first experiment of culture *in vitro*, using the culture medium supplemented with 25 mg/l AlCl_3 plantlets grow well. The samples should be taken from the stem instead of the tuber or the rhizome.

Torpedo grass tuberization succeeds only under complete darkness at 27°C in the culture medium containing plant growth substances. The tuberization is not induced in the light at 27°C or in dark at 22°C although the culture medium have been supplemented with plant growth substances. The full strength Murashige-Skoog's salts are not effective for Torpedo grass tuberization. The tuberization culture medium is a half strength Murashige-Skoog's salts complemented Morel and Wetmore medium's vitamins, 8% sucrose and plant growth substances. Gibberellin completely inhibited whereas cytokinin and ABA induced tuberization.

The tuberization rate is high (76%) with BA 20 mg/l. When NAA, BA and ABA are mixed at concentration 0,4:20:0,3 mg/l, the rate of tuberization is the highest (91%). The role of plant growth substances on the tuberization is also discussed in this paper.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. BUI TRANG V., -Utilisation de systèmes cellulaires en vue de l'introgession de gènes d'intérêt agronomique pour l'amélioration des bananiers. Thèse. Université Paris XI Orsay, France. 271p (1994).

[2]. CHARLES, G., ROSSIGNOL, L., And ROSSIGNOL, M., - A synchronous model perfecting for fundamental studies on the tuberization process. J. Plant Physiol., 142 : 474-479 (1993)

[3]. DESIRE, S., - Dormance et germination des microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) produits *invitro*. Recherche de marqueurs de l'âge physiologique. Thèse. Université de Sciences et Technologies de Lille, France. 119p (1995).

[4]. EWING, E.E., - The Role of Hormones in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Tuberization. In *Plant Hormones* edited by P.J. Davies. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands. p. 698-724 (1995).

[5]. KODA, Y., and KIKUTA, Y., - Possible Involvement of Jasmonic Acid in Tuberization of Yam Plants. *Plant and Cell Physiol.* 32(5): 629-633 (1991).

[6]. KODA, Y., TAKAHASHI, K., KIKUTA, Y., - Involvement of Jasmonic Acid and Related Compounds in the Tuberization of Jerusalem Artichoke Plants (*Heliantus tuberosus* L.). *Japanese J. Crop Science*, 63(2): 333-338 (1994).

[7]. MATTHYSSE, A.G., and SCOTT, T.K., - Functions of hormones at the whole plant level of organization. In *Hormonal regulation of development. II- The function of hormones from the level of the cell to the whole plant*. Encyclopedia of Plant Physiology. New series, Vol. 10 Springer , p. 219-243 (1984)

[8]. NAKATANI, M., KOMEICHI, M., and WATANABE, Y., - Role of hormonal and enzymatic activities to sink potential storage root in sweet potato. In *Proceedings of the Eighth Symposium of the International Society for Tropical root Crops* held in Bangkok, Thailand, Oct. 30-Nov. 5, 1988. Edited by R.H. Howeler (CIAT), p. 505-515 (1990)

[9]. NGUYỄN DU SANH, - Ảnh hưởng của điều kiện tối sáng trên sự tăng trưởng củ cỏ ống (*Panicum repens*L.). Tập san Khoa Học Tự nhiên, Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên, ĐHQG Tp.HCM, số 1 trang 73-78 (1997).

[10]. TORRES, K. C., - Tissue Culture Technique for Hotricultural Crops. Chapman and Hall. New york- London, America. 284p (1989).

[11]. TOTR, M., GENDRAUD, M., COURDUROUX, J.C., - Mechanisms of storage in dormant tubers: correlative aspects, biochemical and ultrastructural approaches. *Physiol. Vég.*, 23 : 289-299 (1985)