

TẠO RỄ BẤT ĐỊNH TRỰC TIẾP TỪ MÔ LÁ CÂY NGŨ GIA BÌ CHÂN CHIM (*SCHEFFLERA OCTOPHYLLA* (LOUR). HARMS) NUÔI CÂY *IN VITRO*

Huỳnh Thị Lũy^{1,✉}, Nguyễn Hữu Hồ¹, Bùi Văn Lệ²

¹Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

✉Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: luyhuynh79@gmail.com

Ngày nhận bài: 23.10.2020

Ngày nhận đăng: 22.3.2021

TÓM TẮT

Ngũ gia bì chân chim *Schefflera octophylla* (Lour.) Harms là loài thực vật quý thuộc họ Ngũ gia bì/Nhân sâm (Araliaceae). Tất cả bộ phận của cây trong tự nhiên đều được sử dụng tạo sản phẩm phục vụ sức khỏe con người. Trong nuôi cấy mô cây dược liệu, tạo và nhân rễ bất định *Schefflera octophylla* nhằm thu sinh khối đã và đang được nghiên cứu. Ở báo cáo này, kết quả nghiên cứu tạo rễ bất định từ mô lá nuôi cấy *in vitro* của loài thực vật này được trình bày. Mảnh lá (~ 10 x 10 mm), lát mỏng tế bào (LMTB) lá (~ 3 x 10 mm) được nuôi cấy trên một số môi trường khoáng khác nhau như MS, ½MS, B5, SH có NAA/IBA (0 - 5 mg/L), đường sucrose (20 - 50 g/L) và cường độ chiếu sáng khác nhau (0 - 4.000 lux). Sau 30 ngày nuôi cấy, rễ bất định tái sinh trực tiếp từ mảnh lá, lát mỏng tế bào lá tốt nhất trên môi trường ½MS có bổ sung 3 mg/L NAA, 30 g/L đường, chiếu sáng 4.000 lux, với tỷ lệ mẫu tạo rễ (%) 100, 100; số rễ/mẫu 68,80, 21,96; chiều dài rễ (mm) 16,53, 15,53, theo thứ tự. Nuôi cấy mảnh lá cho kết quả tạo rễ tốt hơn LMTB lá ở 02 chỉ tiêu số rễ và chiều dài rễ tái sinh. Khảo sát hình thái giải phẫu rễ bất định hình thành trực tiếp từ mảnh lá đã được thực hiện. Đây là nghiên cứu đầu tiên về tạo rễ bất định ở Ngũ gia bì chân chim bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* mảnh lá và lát mỏng tế bào lá; kết quả này tạo tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về nhân rễ và sản xuất các hợp chất thứ cấp.

Từ khóa: Chất điều hòa sinh trưởng thực vật, mô lá, môi trường nuôi cấy, *Schefflera octophylla*, sự hình thành trực tiếp rễ bất định

MỞ ĐẦU

Ở lĩnh vực nuôi cấy mô cây trồng nói chung, cây dược liệu nói riêng, rễ bất định vừa là mục tiêu và vật liệu trong các nghiên cứu về phát sinh hình thái, tạo sinh khối nhằm thu nhận hợp chất thứ cấp. Ngũ gia bì chân chim (NGBCC), *Schefflera octophylla* (Lour.) Harms (tên khác *Schefflera heptaphylla* L. Frodin), là loài cây thuộc họ Ngũ gia bì/Nhân sâm (Araliaceae) – họ các loài thực vật có nguồn hoạt chất sinh học quan trọng (Lã Đình Mỗi *et al.*, 2013). Trong Đông y và y học hiện đại, đã có khá nhiều công bố kết quả nghiên cứu về các hợp chất thứ cấp ở NGBCC với nhiều tác dụng như tăng cường sức khỏe (Kitajima *et al.*,

1990), kháng virus (Li *et al.*, 2007), kháng một số dòng tế bào ung thư (Li *et al.*, 2009), giảm đau (Chen *et al.*, 2015), kháng viêm (Liu *et al.*, 2009a), chống đông máu (Liu *et al.*, 2019b). Ở Việt Nam, các vật liệu như lá, vỏ thân, vỏ rễ, rễ nhỏ NGBCC đều được dùng làm thuốc (Đỗ Huy Bích *et al.*, 2006). Đến nay đã ghi nhận công bố kết quả nghiên cứu tạo rễ tơ (hairy root) và thử nghiệm quá trình sản xuất sinh khối bằng bioreactor (Đặng Thị Thanh Tâm, 2012) nhưng chưa ghi nhận được công bố nào về nghiên cứu tạo rễ bất định *in vitro* loài thực vật này.

Từ các thực tế trên, nuôi cấy *in vitro* rễ bất định NGBCC là vấn đề cần được quan tâm

nghiên cứu và kết quả thực hiện được trình bày ở bài này với mục tiêu tạo được rễ bất định phục vụ định hướng dài hạn sử dụng nguồn rễ bất định cho các nghiên cứu về hợp chất thứ cấp trong tương lai.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguồn giống NGBCC

Cây giống NGBCC *Schefflera octophylla* (Lour.) Harms khoảng 8 năm tuổi trồng ở nhà lưới Phòng Thí nghiệm trọng điểm phía nam về công nghệ tế bào thực vật - Viện Sinh học nhiệt đới.

Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng, nồng độ đường và ánh sáng đến sự tạo rễ bất định

Các lá chết (lá đơn) cắt ra từ lá kép thứ 2 (tính từ ngọn cây) được sử dụng trong nghiên cứu. Các lá chết được rửa bằng nước xà phòng, rửa lại dưới vòi nước trong 10 min, khử trùng tiếp bằng cồn 70% trong 10 min, bằng nước Javel (NaOCl, hàm lượng clor hoạt chất 38 g/L) 30% trong 20 min, rửa lại bằng nước cất vô trùng 3 lần. Sau khử trùng, cắt phiến lá thành các mảnh vuông (~ 10 x 10 mm), lát mỏng tế bào (LMTB) (~ 3 x 10 mm) làm vật liệu nuôi cấy.

Cây úp mẫu (mặt trên của lá (adaxial) tiếp xúc môi trường) vào môi trường MS (Murashige, Skoog, 1992), ½MS (có ½ khoáng đa lượng), B5 (Gamborg *et al.*, 1968) và SH (Schenk, Hildebrandt, 1972) có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) NAA/IBA (0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 mg/L), đường sucrose 20, 30, 40, 50 g/L, trong đó sử dụng 30 g/L ở thí nghiệm về chất ĐHST), chiếu sáng (4.000 lux, 2.000 lux; 12 h chiếu sáng/ngày) hoặc tối (tùy thí nghiệm); agar 10 g/L, pH 5,8; hấp khử trùng ở 1 atm/121°C trong 20 min, nhiệt độ phòng nuôi cấy 25 °C ± 2 °C. Số liệu về tỷ lệ mẫu tạo rễ (%), số rễ/mẫu, chiều dài rễ (mm) được thu thập ở thời điểm 30 ngày sau cấy.

Minh họa sự tái sinh rễ trực tiếp và khảo sát hình thái giải phẫu rễ tái sinh trực tiếp

Rễ tái sinh ở 12 ngày sau cấy, được chụp cận

cảnh nhằm minh chứng hình thành trực tiếp từ mảnh lá trên môi trường tối ưu ở thí nghiệm trên. Dùng dao lam cắt dọc các sơ khởi rễ (~ 10 ngày tuổi, rất non, dài ~ 4 mm, hình thành trực tiếp ở mặt trên mảnh lá) thành các lát mỏng tế bào. Các mẫu cắt được nhuộm bằng phương pháp nhuộm kép theo quy trình của Bộ môn Thực vật - Khoa Dược, ĐH. Y Dược TP. HCM (bao gồm các bước cơ bản như xử lý mẫu bằng nước Javel, acid acetic 10% trong 10 min, thuốc nhuộm son phenyl iod trong 15 min, thuốc nhuộm aceto-carmin trong 5 min) (Nguyễn Thị Ngọc Hương *et al.*, 2018). Các tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi soi nổi Leica (độ phóng đại 20X) và chụp hình.

Bố trí thí nghiệm và xử lý thống kê

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần. Cây 5 mẫu/đĩa (6 đĩa/lần lặp lại) đối với mảnh lá. Cây 10 mẫu/đĩa (3 đĩa/lần lặp lại) đối với LMTB. Số liệu thu được từ các thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm SPSS 25.0 so sánh các giá trị trung bình.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ở báo cáo này, rễ bất định tái sinh trực tiếp được định nghĩa là rễ tái sinh ngay ở lần nuôi cấy đầu tiên và không thông qua giai đoạn tạo mô sẹo tương tự như ở kết quả nghiên cứu tạo rễ *Centella asiatica* (Ling *et al.*, 2009a), *Tripterygium wilfordii* (Zhang *et al.*, 2020).

Ảnh hưởng của auxin đến cảm ứng tạo rễ bất định trực tiếp từ mô lá NGBCC

Ảnh hưởng của NAA/IBA đến cảm ứng tạo rễ bất định trực tiếp từ mảnh lá

Sau 30 ngày nuôi cấy mẫu trên môi trường MS, ½MS, B5 và SH có NAA ở tất cả các nghiệm thức (NT), kết quả cho thấy tác động rõ rệt của NAA đến khả năng tạo rễ xét ở tất cả các chỉ tiêu như tỷ lệ (%) mẫu tạo rễ, số rễ/mẫu, chiều dài rễ (mm) (Bảng 1).

Quan sát mẫu cây ở nghiệm thức có bổ sung NAA sau 7 ngày cho thấy, mô xung quanh vết cắt có biểu hiện trương to và rễ xuất hiện ở ngày thứ 12 - 15. Tỷ lệ mẫu ra rễ, số rễ/mẫu, chiều dài

rễ tăng theo nồng độ NAA (0,5 - 3 mg/L), hiệu quả cao nhất ở 3 mg/L NAA. Khi nồng độ NAA tăng trong khoảng 4 - 5 mg/L, giá trị các chỉ tiêu theo dõi đều giảm. Ở các trường hợp có NAA cùng nồng độ, hiệu quả tạo rễ trên môi trường ½MS cao nhất với tỷ lệ mẫu tạo rễ đạt 100%, số rễ/mẫu 69,78; chiều dài rễ 16,96 mm và rễ hình thành sớm hơn ở ngày thứ 12 sau cấy, so với các môi trường còn lại. Nói chung, rễ hình thành nhiều ở xung quanh vết cắt, có màu trắng, nhiều

lông hút trên tất cả các loại môi trường (Hình 1, 2, 3, 4). Trên môi trường B5 rễ có kích thước dài nhất (18,68 mm). Ở NT có bổ sung 3 mg/L NAA, rễ ngắn nhất ghi nhận được khi mẫu nuôi cấy trên môi trường MS (11,33 mm). Ở nghiệm thức đối chứng (không có NAA), không có hiện tượng đáp ứng tạo rễ. Trên môi trường có IBA (0 – 5 mg/L), kết quả cho thấy các mảnh lá cũng hoàn toàn không có đáp ứng tạo rễ ở tất cả các nghiệm thức (không trình bày số liệu).

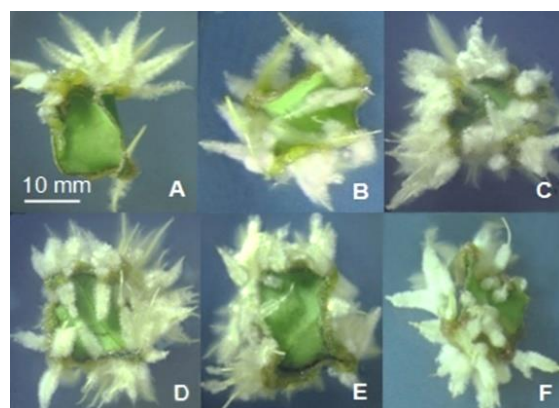
Bảng 1. Ảnh hưởng của NAA đến sự tạo rễ bất định trực tiếp từ mảnh lá NGBCC nuôi cấy trên môi trường MS, ½MS, B5 và SH, sau 30 ngày cấy.

Nồng độ NAA (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)				Số rễ /mẫu				Chiều dài rễ (mm)			
	MS	½MS	B5	SH	MS	½MS	B5	SH	MS	½MS	B5	SH
0 (ĐC)	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	0,00 ^g	0,00 ^g	0,00 ^g	0,00 ^g
0,5	62,96 ^f	80,74 ^f	68,89 ^f	63,70 ^e	11,61 ^f	18,49 ^f	9,46 ^f	11,67 ^f	8,63 ^d	12,28 ^d	13,71 ^d	9,56 ^d
1	64,81 ^e	84,44 ^e	75,22 ^e	66,67 ^d	15,92 ^e	26,76 ^e	12,72 ^e	13,98 ^e	9,22 ^c	13,50 ^c	14,50 ^c	10,81 ^c
2	70,78 ^c	91,11 ^c	86,67 ^c	74,81 ^c	23,71 ^c	43,56 ^c	18,68 ^c	21,89 ^c	10,44 ^b	15,54 ^b	16,57 ^b	11,38 ^b
3	84,81 ^a	100,00 ^a	92,96 ^a	87,78 ^a	30,32 ^a	69,78 ^a	26,53 ^a	29,08 ^a	11,33 ^a	16,96 ^a	18,68 ^a	12,69 ^a
4	81,11 ^b	94,07 ^b	90,74 ^b	82,22 ^b	26,60 ^b	56,41 ^b	23,15 ^b	26,15 ^b	8,25 ^e	10,56 ^e	11,52 ^e	9,22 ^e
5	66,67 ^d	89,26 ^d	82,96 ^d	71,11 ^d	20,82 ^d	36,05 ^d	16,33 ^d	16,89 ^d	7,54 ^f	9,54 ^f	10,66 ^f	8,69 ^f

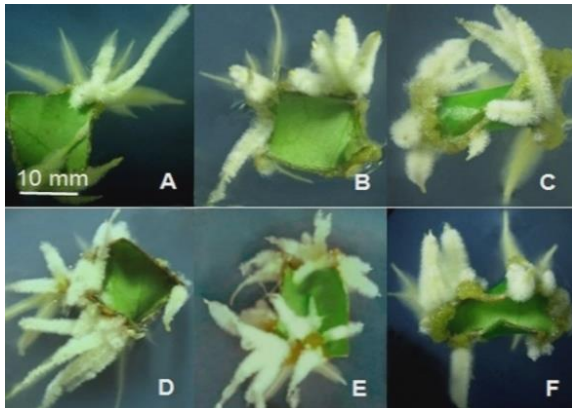
Các chữ cái khác nhau trong một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa với $p \leq 0,05$ trong phép thử Duncan.



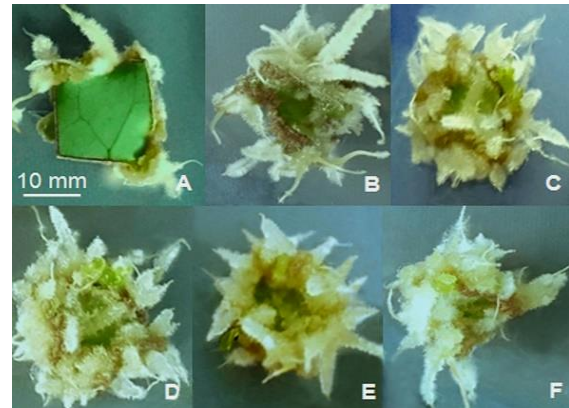
Hình 1. Sự hình thành rễ từ mảnh lá NGBCC nuôi cấy trên môi trường MS có 0,5 mg/L NAA (A), 1 mg/L NAA (B), 2 mg/L NAA (C), 3 mg/L NAA (D), 4 mg/L NAA (E), 5 mg/L NAA (F); sau 30 ngày cấy.



Hình 2. Sự hình thành rễ từ mảnh lá NGBCC nuôi cấy trên môi trường ½MS có 0,5 mg/L NAA (A), 1 mg/L NAA (B), 2 mg/L NAA (C), 3 mg/L NAA (D), 4 mg/L NAA (E), 5 mg/L NAA (F); sau 30 ngày cấy.



Hình 3. Sự hình thành rễ từ mảnh lá NGBCC nuôi cấy trên môi trường B5 có 0,5 mg/L NAA (A), 1 mg/L NAA (B), 2 mg/L NAA (C), 3 mg/L NAA (D), 4 mg/L NAA (E), 5 mg/L NAA (F), sau 30 ngày cấy.



Hình 4. Sự hình thành rễ từ mảnh lá NGBCC nuôi cấy trên môi trường SH có 0,5 mg/L NAA (A), 1 mg/L NAA (B), 2 mg/L NAA (C), 3 mg/L NAA (D), 4 mg/L NAA (E), 5 mg/L NAA (F), sau 30 ngày cấy.

Ảnh hưởng của NAA/IBA đến cảm ứng tạo rễ bất định trực tiếp từ LMTB lá

Tương tự như thí nghiệm trên mẫu cây mảnh lá, sau 30 ngày cấy, ở nghiệm thức đối chứng (không có NAA) và tất cả các nghiệm thức có IBA (0 - 5 mg/L) hoàn toàn không ghi nhận được hiện tượng tạo rễ.

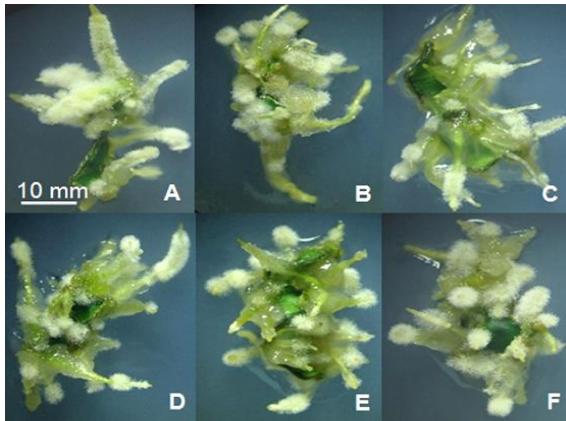
NAA có tác động tích cực đến cảm ứng tạo rễ, mẫu cũng có đáp ứng tạo mô sẹo tuy không nhiều sau 5 ngày nuôi cấy trên môi trường MS và rễ xuất hiện sớm ở ngày thứ 12 nuôi cấy. Các nồng độ khác nhau của NAA đều có tác động kích thích quá trình tạo rễ, giá trị các chỉ tiêu theo dõi tăng tỷ lệ thuận với nồng độ NAA (0,5 - 3

mg/L), giảm khi nồng độ NAA cao hơn 3 mg/L (Bảng 2). Môi trường tạo rễ bất định hiệu quả nhất vẫn là ½MS có 3 mg/L NAA cụ thể tỷ lệ mẫu tạo rễ 100%; số rễ/mẫu 19,67; chiều dài rễ 6,29 mm; rễ hình thành sớm sau 10 ngày cấy. Rễ hình thành trên môi trường ½MS và B5 (Hình 6, 7) đều dài hơn rễ ở môi trường MS, SH (Hình 5, 8). Các giá trị trung bình của các chỉ tiêu theo dõi đều có sự khác biệt về mặt thống kê. Kết quả đáp ứng nhanh của mẫu cây LMTB và tỷ lệ mẫu tạo rễ cao hơn so với mẫu cây mảnh lá có thể do LMTB có kích thước nhỏ, bề mặt tiếp xúc với môi trường lớn; tuy nhiên, chiều dài rễ ngắn hơn so với rễ từ mảnh lá có thể do hàm lượng chất dinh dưỡng trong mẫu ít hơn.

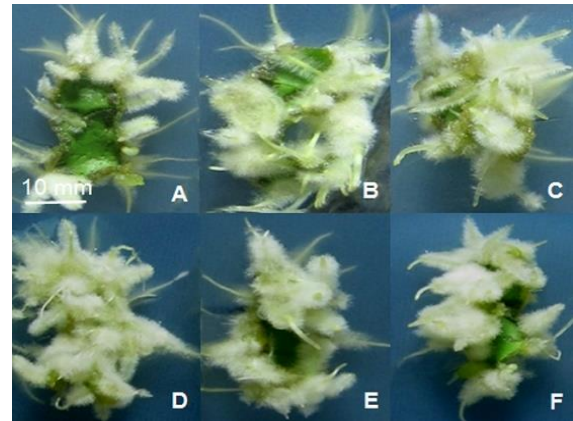
Bảng 2. Ảnh hưởng của NAA đến sự tạo rễ bất định trực tiếp từ LMTB lá NGBCC nuôi cấy trên môi trường MS, ½MS, B5 và SH, ngày thứ 30 sau cấy.

Nồng độ NAA (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)				Số rễ /mẫu				Chiều dài rễ (mm)			
	MS	½MS	B5	SH	MS	½MS	B5	SH	MS	½MS	B5	SH
0 (ĐC)	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	00,0 ^g	0,00 ^g	0,00 ^g	0,00 ^g	0,00 ^g
0,5	63,70 ^f	82,22 ^f	71,22 ^f	65,33 ^e	8,46 ^f	9,67 ^f	6,89 ^f	8,41 ^f	8,23 ^d	10,50 ^d	11,46 ^d	8,81 ^d
1	66,22 ^e	86,30 ^e	81,94 ^e	71,00 ^d	9,52 ^e	11,74 ^e	8,22 ^e	9,52 ^e	8,61 ^c	11,48 ^c	12,43 ^c	9,28 ^c
2	79,56 ^c	93,70 ^c	88,92 ^c	80,56 ^c	12,39 ^c	15,52 ^c	9,33 ^c	12,46 ^c	9,28 ^b	12,32 ^b	13,51 ^b	11,28 ^b
3	87,11 ^a	100,00 ^a	95,11 ^a	90,67 ^a	15,78 ^a	19,67 ^a	11,50 ^a	16,59 ^a	10,79 ^a	16,29 ^a	14,65 ^a	12,29 ^a
4	82,78 ^b	96,17 ^b	92,96 ^b	85,33 ^b	13,46 ^b	17,33 ^b	10,50 ^b	13,36 ^b	7,29 ^e	9,41 ^e	10,41 ^e	8,36 ^e
5	72,89 ^d	89,11 ^d	85,16 ^d	76,56 ^d	10,69 ^d	13,06 ^d	8,80 ^d	11,04 ^d	6,45 ^f	8,48 ^f	9,31 ^f	7,76 ^f

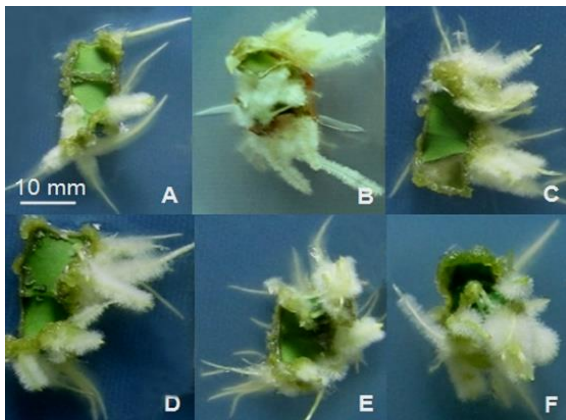
Các chữ cái khác nhau trong một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa với $p \leq 0,05$ trong phép thử Duncan.



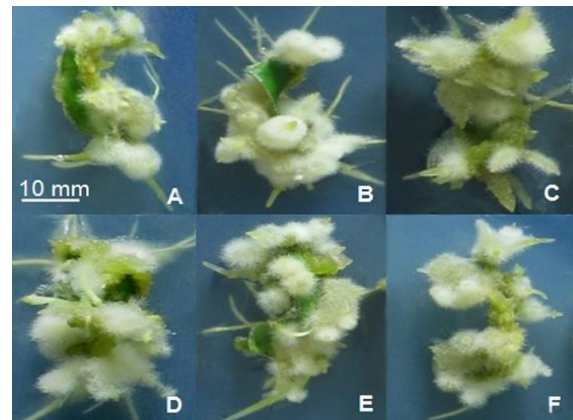
Hình 5. Sự hình thành rễ từ LMTB lá NGBCB nuôi cấy trên môi trường MS có 0,5 mg/L NAA (A), 1 mg/L NAA (B), 2 mg/L NAA (C), 3 mg/L NAA (D), 4 mg/L NAA (E), 5 mg/L NAA (F) sau 30 ngày nuôi cấy



Hình 6. Sự hình thành rễ từ mảnh lá NGBCB nuôi cấy trên môi trường 1/2MS có 0,5 mg/L NAA (A), 1 mg/L NAA (B), 2 mg/L NAA (C), 3 mg/L NAA (D), 4 mg/L NAA (E), 5 mg/L NAA (F) sau 30 ngày nuôi cấy.



Hình 7. Sự hình thành rễ từ mảnh lá NGBCB nuôi cấy trên môi trường B5 có 0,5 mg/L NAA (A), 1 mg/L NAA (B), 2 mg/L NAA (C), 3 mg/L NAA (D), 4 mg/L NAA (E), 5 mg/L NAA (F) 30 ngày sau cấy.



Hình 8. Sự hình thành rễ từ mảnh lá NGBCB nuôi cấy trên môi trường SH có 0,5 mg/L NAA (A), 1 mg/L NAA (B), 2 mg/L NAA (C), 3 mg/L NAA (D), 4 mg/L NAA (E), 5 mg/L NAA (F) 30 ngày sau cấy.

Nói chung, vật liệu mô lá như một hệ thống nuôi cấy chứa protein sắc tố nhạy sáng phytochrome, thường được sử dụng trong nghiên cứu tạo rễ bất định vì: (1) auxin ngoại sinh có thể tác động dễ dàng đến loại tế bào có nhiều tiềm năng (tế bào liên kết với mạch dẫn) dẫn đến phân chia, biệt hóa tạo một cơ quan nhất định trong đó có rễ (Imin *et al.*, 2005); (2) lá còn chứa mô tế bào khuyết cũng có thể phân biệt hóa và tái biệt hóa tạo sơ khởi rễ dưới tác động của auxin ngoại sinh trong quá trình nuôi cấy như ở trường hợp

tái sinh rễ *Sainpaulia ionantha* của Lo (1997); (3) lá cũng là cơ quan có khả năng sinh tổng hợp auxin nội sinh - có thể có liên quan nhất định đến sự tạo sơ khởi rễ (Eduardo, 1998).

Hệ thống LMTB gồm những mẫu cây có kích thước nhỏ (1 - vài mm), chứa ít chất ĐHST nội sinh do vậy sự phát sinh hình thái phụ thuộc chủ yếu vào chất ĐHST bổ sung vào môi trường. Hệ thống này có ưu điểm là thời gian phát sinh hình thái tương đối ngắn do đáp ứng nhanh với nuôi cấy, tỷ lệ phát sinh hình thái cao, đa dạng về hình

thái phát sinh tùy môi trường nuôi cấy do vậy hệ thống này đã được ứng dụng hiệu quả trong thực tiễn nuôi cấy *in vitro* nhằm nghiên cứu cơ bản về phát sinh hình thái và nhân giống cây trồng (Dương Tân Nhựt, 2010).

Nhìn chung, ở NGBCC, môi trường ½MS có bổ sung 3 mg/L NAA được xem là rất thích hợp cho sự tạo rễ bất định từ mảnh lá và LMTB lá; ngược lại, IBA hoàn toàn không gây đáp ứng tạo rễ bất định. Ling và đtg (2013) cho rằng trường hợp NAA có tác động tốt đối với tạo rễ là do NAA được oxy hóa hiệu quả thành IAA để tế bào sử dụng. Tác động âm tính đối với tạo rễ có thể do IBA không được chuyển đổi thành IAA bởi quá trình β -oxy hóa ở các thể peroxisome trong tế bào (Roberts, 2007). Đã ghi nhận NAA, ở dạng riêng lẻ hoặc kết hợp với auxin khác, là tác nhân kích thích tạo rễ tốt từ mảnh lá nhiều loài thực vật được nuôi cấy *in vitro* như *Eurycoma longifolia* khi dùng 3 mg/L NAA (Hussein *et al.*, 2012) hoặc 3 mg/L NAA (kết hợp với 1 mg/L IBA) là thích hợp nhất cho tạo rễ từ mảnh lá *Gynura procumbens* (Saiman *et al.*, 2012). IBA cũng là chất ĐHST rất thích hợp trong sử dụng tạo rễ đối với nhiều cây dược liệu (Rahmat, Kang, 2019). Tuy nhiên, ở một số đối tượng thực vật, IBA (kể cả IAA) hoàn toàn không thích hợp, ví dụ mảnh lá *Andrographis paniculata* trên môi trường MS chỉ tạo được rễ bất định khi sử dụng NAA (1 mg/L) (Sharma *et al.*, 2013); cũng nhận thấy chồi *Diospyros crassiflora* không tạo rễ bất định trên môi trường ½MS có IBA (2,5 - 19,6 μ M) (Tchouga *et al.*, 2020). Nói chung, loại và nồng độ auxin thích hợp cho cảm ứng tạo rễ và kéo dài rễ bất định phụ thuộc chủ yếu vào loài thực vật (Nandagopal, Kumari, 2007).

Như đã trình bày ở trên mảnh lá/LMTB lá tạo rễ bất định tốt nhất trên môi trường khoáng ½MS ở tất cả các chỉ tiêu theo dõi so với các môi trường MS, B5 và SH. Theo Khalafalla và đtg (2009), đáp ứng tạo rễ từ mô lá phụ thuộc vào thành phần khoáng cơ bản của môi trường và hàm lượng đạm nitrate. Tương tự như một số loài thực vật khác, theo chúng tôi, có thể do nhu cầu về khoáng đa lượng đối với NGBCC ở mức tương đối thấp, cụ thể tổng khoáng đa lượng ở môi trường ½MS là thấp nhất (2.116 mg/L) so

với tổng khoáng đa lượng ở các môi trường MS, B5 và SH cao hơn nhiều, lần lượt là 4.232 mg/L, 2.999 mg/L và 3.146 mg/L; và trong đó có thể nhu cầu về đạm nitrate cũng ở mức thấp hơn – 1.775 mg/L ở ½MS so với các môi trường MS, B5 và SH - cao hơn nhiều là 3.550 mg, 2.500 mg và 2.500 mg, theo thứ tự. Cũng theo Khalafalla và đtg (2009), trong mối tương quan với đạm nitrate, đạm ammonium (NH_4) cũng đóng vai trò quan trọng trong tạo rễ và cho rằng số rễ *Vernonia amygdalina* tái sinh từ mảnh lá trên môi trường B5 ít hơn so với môi trường MS có thể do thành phần đạm (NH_4) $_2$ SO $_4$ trong môi trường B5 ít hơn (134 mg/L) ở môi trường MS (NH_4NO_3 , 1.650 mg/L). Ở NGBCC, số rễ tái sinh ít trên môi trường B5 cũng có thể do yếu tố NH_4 tương tự như trường hợp của các tác giả nêu trên. Trong môi trường SH có đạm NH_4PO_4 . Zhou và Brown (2006) kết luận phiôi *Panax quinquefolius* nảy mầm tạo rễ trụ tốt trên môi trường có khoáng thấp - ½SH; tương tự, Zhang và đtg (2014) cho thấy chồi *Panax ginseng* (có nguồn gốc phiôi vô tính) phát triển rễ trụ tốt trên môi trường 1/3SH. Rễ *P. ginseng* tạo sinh khối tốt trong môi trường SH chỉ có ½ NH_4PO_4 (Yu *et al.*, 2001). Ở NGBCC, đáp ứng tái sinh rễ không tốt có thể do nồng độ NH_4PO_4 ở môi trường SH không phù hợp hoặc loại đạm ammonium này khác với NH_4NO_3 , loại thích hợp hơn cho loài thực vật này ở môi trường MS, ½MS hoặc/và khác với (NH_4) $_2$ SO $_4$ ở môi trường B5.

Ảnh hưởng của nồng độ đường đến cảm ứng tạo rễ bất định trực tiếp từ mô lá NGBCC

Kế thừa kết quả thí nghiệm trên, môi trường ½MS có bổ sung 3 mg/L NAA được sử dụng để nghiên cứu xác định nồng độ đường sucrose thích hợp cho tạo rễ bất định.

Mô tế bào thực vật nuôi cấy *in vitro* ít hoặc không có khả năng tự dưỡng nên cần bổ sung nguồn carbon. Đường sucrose là nguồn carbon được sử dụng phổ biến, hiệu quả trong nuôi cấy mô giúp hỗ trợ quá trình phân bào và phát sinh hình thái (Sumaryono *et al.*, 2012); ngoài ra, nồng độ đường thích hợp còn làm gia tăng hàm lượng hợp chất thứ cấp trong rễ (Rahmat, Kang, 2019). Ở 30 ngày sau cấy, nồng độ đường khác

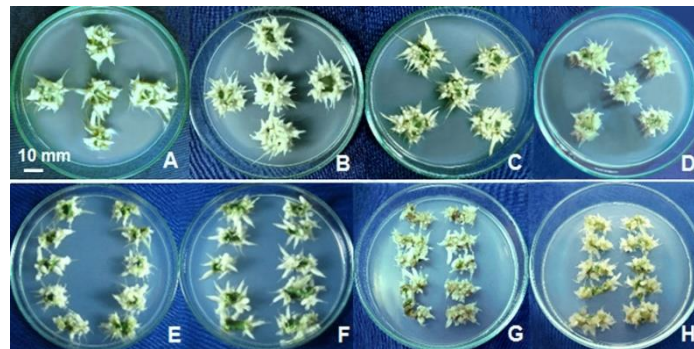
nhau cho kết quả tạo rễ khác biệt xét về mặt thống kê, trong đó nồng độ đường 30 g/L là tối ưu cho tạo rễ ở mảnh lá (tỷ lệ mẫu tạo rễ 100%, số rễ/mẫu 70,50; chiều dài rễ 16,70 mm), ở nghiệm thức nồng độ đường cao 50 g/L rễ hơi vàng, ít lông hút hơn (Hình 9). Tương tự, mẫu cây LMTB cũng tạo rễ tốt nhất ở môi trường có 30 g/L đường với tỷ lệ mẫu tạo rễ 100%; số rễ/mẫu 22,65; chiều dài rễ 15,40 mm. Ở các nghiệm thức có cùng nồng độ đường 20 g/L, 40 g/L, mẫu cây LMTB đều có tỷ lệ mẫu tạo rễ cao hơn mẫu cây mảnh lá do đáp ứng của mẫu cây

với môi trường nuôi cấy tốt hơn. Tuy nhiên, ở nghiệm thức nồng độ đường cao 50 g/L, ở mẫu cây LMTB lại có tỷ lệ mẫu tạo rễ ít hơn so với mẫu cây mảnh lá. Như vậy, 1/2MS có bổ sung 3 mg/L NAA với 30 g/L đường sucrose là thích hợp nhất cho tạo rễ bất định từ mô lá (mảnh lá, LMTB lá) NGBCC. Kết quả này cũng phù hợp với một số kết quả nghiên cứu sử dụng đường sucrose 30 g/L để tạo rễ bất định *Panax vietnamensis* (Nguyễn Thị Liễu *et al.*, 2011), *Panax stipuleanatus* (Nguyễn Thị Ngọc Hương *et al.*, 2016).

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ đường đến sự hình thành rễ bất định trực tiếp từ mảnh lá và LMTB lá NGBCC nuôi cấy trên môi trường 1/2MS sau 30 ngày cấy.

Mẫu cây	Nồng độ đường (g/L)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số rễ/mẫu	Chiều dài rễ (mm)
Mảnh lá (10 x 10 mm)	20	92,52 ^c	58,35 ^b	14,63 ^c
	30	100 ^a	70,50 ^a	16,70 ^a
	40	87,30 ^e	46,44 ^c	12,26 ^e
	50	85,56 ^f	36,24 ^d	10,47 ^g
LMTB (3 x 10 mm)	20	95,19 ^b	11,59 ^f	13,61 ^d
	30	100 ^a	22,65 ^e	15,40 ^b
	40	91,11 ^d	11,54 ^g	11,53 ^f
	50	82,59 ^g	9,37 ^h	9,54 ^g

Các chữ cái khác nhau trong một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa với $p \leq 0,05$ trong phép thử Duncan.



Hình 9. Ảnh hưởng của nồng độ đường sucrose đến khả năng tạo rễ từ mảnh lá, LMTB lá NGBCC sau 30 ngày cấy. **A,B,C,D.** Rễ hình thành từ mảnh lá trên môi trường 1/2MS có 20 g/L, 30 g/L, 40 g/L, 50 g/L đường, theo thứ tự; **E,F,G,H.** Rễ hình thành từ LMTB lá trên môi trường 1/2MS có 20 g/L, 30 g/L, 40 g/L, 50 g/L đường, theo thứ tự.

Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến cảm ứng tạo rễ bất định trực tiếp từ mô lá NGBCC

Qua tối ưu hóa về các điều kiện đã khảo sát,

môi trường 1/2MS có 3 mg/L NAA, 30 g/L đường được sử dụng để nghiên cứu xác định điều kiện chiếu sáng thích hợp cho tạo rễ bất định. Trong nghiên cứu tạo rễ bất định, ánh sáng được cho là

tác nhân ức chế sự hình thành rễ, nhất là giai đoạn hình thành sơ khởi rễ, điều kiện tối cần cho giai đoạn đầu của quá trình ra rễ, chu kỳ tối thích hợp để rễ phát triển 3 - 10 ngày tùy thuộc vào loài thực vật khác nhau (James, 1983). Nhiều nghiên cứu tạo rễ bất định đạt kết quả tốt trong điều kiện tối. Tuy nhiên ở đối tượng NGBCC, nhận thấy ánh sáng lại có tác động tích cực đến sự hình thành rễ bất định.

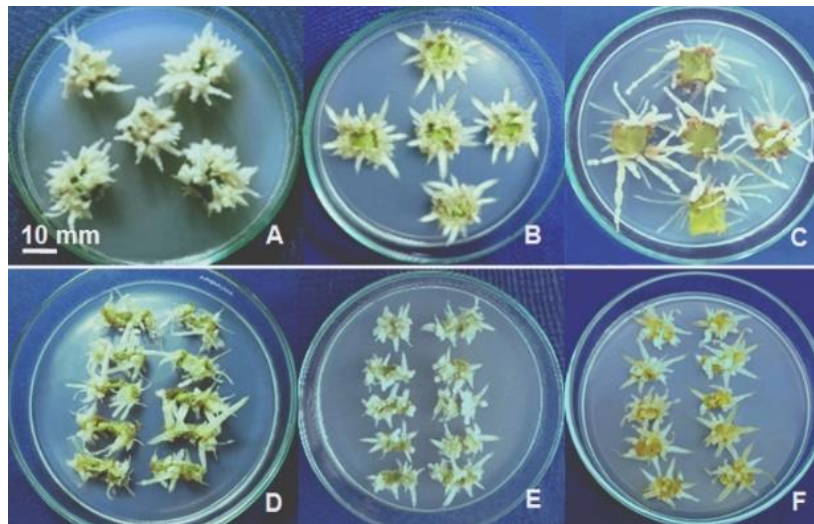
Sau 30 ngày nuôi cấy, kết quả ghi nhận được

cho thấy mẫu cây mảnh lá ở điều kiện tối và ở cường độ chiếu sáng 2.000 lux có tỷ lệ mẫu tạo rễ, số rễ/mẫu, chiều dài rễ đều thấp hơn so với mẫu cây được ở điều kiện chiếu sáng 4.000 lux (với tỷ lệ mẫu tạo rễ 100%; 68,80 rễ/mẫu; chiều dài trung bình 16,53 mm). Đối với mẫu cây LMTB, nhận thấy ở cường độ chiếu sáng 4.000 lux tỉ lệ tạo rễ cũng đạt hiệu quả cao nhất so với mẫu cây ở cường độ chiếu sáng 2.000 lux và điều kiện tối (Bảng 4, Hình 10).

Bảng 4. Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến cảm ứng tạo rễ bất định trực tiếp từ mảnh lá, LMTB lá NGBCC sau 30 ngày cấy.

Mẫu cây	Cường độ chiếu sáng	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số rễ/mẫu	Chiều dài rễ (mm)	Đặc điểm rễ
Mảnh lá (10 x 10 mm)	4.000 lux	100 ^a	68,80 ^a	16,53 ^b	Rễ dài, nhiều lông hút, màu trắng đục
	2.000 lux	95,93 ^b	30,03 ^b	15,37 ^c	Rễ dài, nhiều lông hút, màu trắng
	Tối	93,33 ^{bc}	27,20 ^c	19,77 ^a	Rễ rất dài, ít lông hút, một số rễ màu hơi vàng
LMTB (3 x 10 mm)	4.000 lux	100 ^a	21,96 ^d	15,53 ^c	Rễ dài, nhiều lông hút, màu trắng đục
	2.000 lux	94,81 ^{bc}	16,19 ^e	13,43 ^e	Rễ ngắn, nhiều lông hút, màu trắng
	Tối	91,48 ^c	14,11 ^f	14,37 ^d	Rễ ngắn, nhiều lông hút, một số rễ màu hơi vàng

Các chữ cái khác nhau trong một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa với $p \leq 0,05$ trong phép thử Duncan.



Hình 10. Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng đến cảm ứng tạo rễ bất định từ mảnh lá, LMTB lá NGBCC sau 30 ngày nuôi cấy. **A,B,C.** Sự hình thành rễ bất định từ mảnh lá ở cường độ chiếu sáng 4.000 lux, 2.000 lux và tối, theo thứ tự; **D,E,F.** Sự hình thành rễ bất định từ LMTB lá ở cường độ chiếu sáng 4.000 lux, 2.000 lux và tối, theo thứ tự.

Rễ hình thành từ các NT nuôi cấy với cường độ chiếu sáng khác nhau có chiều dài khác nhau, ở mẫu cây mảnh lá ở điều kiện tối rễ hình thành dài nhất (19,77 mm), mẫu cây mảnh lá ở điều kiện chiếu sáng 4.000 lux tạo rễ có chiều dài cũng khá tốt (16,53 mm), mảnh lá ở điều kiện chiếu sáng 2.000 lux và LMTB chiếu sáng 4.000 lux không có sự khác biệt về chiều dài rễ. Xét tỷ lệ % mẫu tạo rễ giữa mẫu cây mảnh lá và LMTB trong cùng điều kiện chiếu sáng không có sự khác biệt về mặt thống kê. Đến nay đã ghi nhận nhiều nghiên cứu tạo rễ bất định với kết quả tốt với các điều kiện chiếu sáng khác nhau như tối - ví dụ trường hợp nuôi cấy mảnh lá *Cichorium intybus* (Nandagopal, Kumari, 2007), *Centella asiatica* (Ling *et al.*, 2009a); chiếu sáng $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (1.111 lux) đối với *Ophiorrhiza prostrata* (Martin *et al.*, 2008); $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (3.000 lux) đối với *Artemisia amygdalina* (Taj *et al.*, 2019), và 4.000 - 5.000 lux ở nuôi cấy tạo rễ từ mô lá *Vernonia amygdalina* (Khalafalla *et al.*, 2009). Tương tự một số trường hợp nuôi cấy tạo rễ nêu trên, kết quả nghiên cứu này cho thấy mảnh lá/LMTB NGBCC tái sinh rễ bất định tốt ở các

nghiệm thức có cường độ chiếu sáng 2.000 lux và 4.000 lux.

Minh họa sự tái sinh rễ trực tiếp và khảo sát hình thái giải phẫu rễ tái sinh trực tiếp

Như đã trình bày, trong nghiên cứu này, rễ bất định hình thành từ mô lá được định nghĩa theo cách tái sinh trực tiếp ngay ở lần nuôi cấy đầu tiên (one-phase culture), khác với tái sinh gián tiếp qua trung gian giai đoạn mô sẹo (two-phase).

Khá nhiều kết quả nghiên cứu về tái sinh trực tiếp rễ bất định từ mô lá đã được ghi nhận được như Martin và đtg (2008) tạo rễ *Ophiorrhiza prostrata* dùng môi trường $\frac{1}{2}$ MS có bổ sung $10,74 \mu\text{M}$ NAA và $2,32 \mu\text{M}$ kinetin, Ling và đtg (2009a) tạo rễ *Centella asiatica* trên môi trường MS có 1 mg/L IBA. Ở NGBCC, đây là kết quả nghiên cứu đầu tiên về tái sinh rễ trực tiếp từ vật liệu mảnh lá, được minh họa bằng các hình rễ tái sinh sau 12 đến 20 ngày nuôi cấy qua chụp cận cảnh (Hình 11).



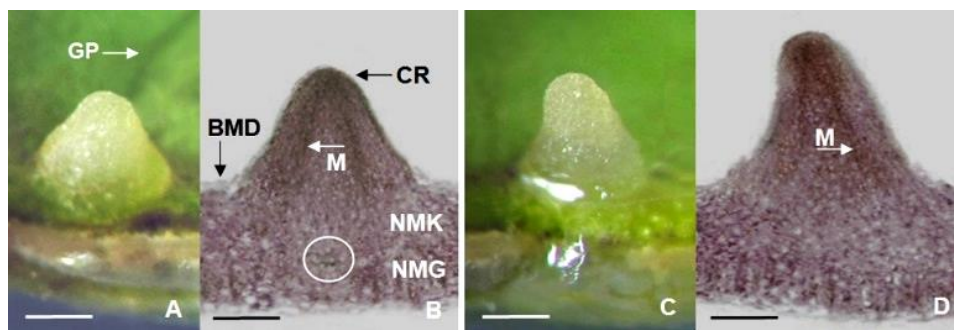
Hình 11. Minh họa cận cảnh sự tái sinh trực tiếp rễ bất định từ mảnh lá nuôi cấy trên môi trường đặc $\frac{1}{2}$ MS có bổ sung 3 mg/L NAA. **A,B,C.** Cận cảnh sự hình thành giai đoạn đầu của rễ đơn, cụm 2 rễ và cụm nhiều rễ ở 12 NSC, theo thứ tự; **D,E,F.** Sự phát triển tiếp theo của rễ đơn, cụm 2 rễ và cụm nhiều rễ, theo thứ tự, 20 ngày sau cấy.

Các sơ khởi rễ (giai đoạn ngày thứ 10 sau cấy) cũng đã được khảo sát hình thái giải phẫu với kết quả được trình bày dưới đây (Hình 12). Sau 10 ngày nuôi cấy trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS, dưới tác động của NAA (3 mg/L NAA) nhận thấy mép

cắt và mô ở vị trí sát mép cắt của mẫu phiến lá phũ ra, sơ khởi rễ hình thành trên bề mặt mẫu phiến lá gần mép cắt. Ở nghiên cứu này, có hai trường hợp khác nhau về vị trí tạo sơ khởi rễ đã được ghi nhận, *một là*, sơ khởi rễ hình thành ở

ngay vị trí gân phụ của mẫu cây (Hình 12A), hai lá, sơ khởi rễ hình thành ở vị trí không có gân phụ (Hình 12C). Theo chúng tôi, ở trường hợp 1, sơ khởi rễ hình thành từ các tế bào liên kết với mô mạch, dưới tác động của NAA, các tế bào này phân chia hình thành lớp tế bào tương tự tế bào tiền tượng tầng (procambial-like cells) đóng vai trò như tế bào gốc có nhiều tiềm năng (pluripotent stem cells) trong phân chia, phân hóa tạo sơ khởi rễ - tương tự kết quả nuôi cấy tạo rễ từ mảnh lá *Medicago truncatula* dưới tác động của auxin NAA (Rose *et al.*, 2006), nuôi cấy tạo

rễ từ mảnh lá *Orthosiphon stamineus* dưới ảnh hưởng của IAA /IBA/ NAA (Ling *et al.*, 2009b). Trước đó, Samaj và đtg (1999) cũng đã kết luận các lớp tế bào thuộc bó mạch (bundle sheet cells) chịu trách nhiệm phân chia, phân hóa tạo rễ trực tiếp ở *Helianthus occidentalis*. Ở trường hợp 2, theo chúng tôi, sơ khởi rễ hình thành từ mô tế bào khuyết của mô thịt lá (spongy parenchyma/mesophyll cells) tương tự trường hợp nuôi cấy tái sinh chồi/rễ từ mảnh lá cây African violet (*Sainpaulia ionantha*) dưới ảnh hưởng của BA/ IBA (Lo, 1997).



Hình 12. Hình thái giải phẫu sơ khởi rễ bất định hình thành trực tiếp từ mảnh lá (nuôi cấy trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS có bổ sung 3 mg/L NAA, ở 10 ngày nuôi cấy). **A,B.** Sơ khởi rễ hình thành ở vị trí gân phụ của lá và hình thái giải phẫu tương ứng; **C,D.** Sơ khởi rễ hình thành không ở vị trí gân phụ của lá và hình thái giải phẫu tương ứng (hình chụp dưới kính hiển vi soi nổi với độ phóng đại 20X) (Chú thích: GP: Gân phụ của lá, BMD: Biểu mô mặt dưới của phiến lá, CR: Chóp rễ, M: vị trí bó mạch (cắt dọc), NMK: Nhu mô khuyết phiến lá, NMG: Nhu mô gai phiến lá; vòng tròn chỉ vị trí mạch dẫn phụ của lá; thanh ngang 1 mm).

KẾT LUẬN

Đã tạo được rễ bất định trực tiếp từ mảnh lá và LMTB lá NGBCC nuôi cấy *in vitro*. Môi trường thích hợp cho tạo rễ bất định từ hai vật liệu nói trên là môi trường $\frac{1}{2}$ MS bổ sung 3 mg/L NAA, 30 g/L đường sucrose; cường độ ánh sáng 4.000 lux. Hiệu quả tái sinh rễ từ mảnh lá cao hơn so với LMTB ở 02 chỉ tiêu số rễ/mẫu và chiều dài rễ. Không có hiện tượng tạo rễ bất định từ mảnh lá và LMTB lá trên môi trường có 0 mg/L NAA và 0 - 5 mg/L IBA. Quan sát hình thái và cấu trúc giải phẫu sơ khởi rễ cho thấy rễ tái sinh trực tiếp từ mô lá.

Lời cảm ơn: Các tác giả chân thành cảm ơn Phòng Công nghệ gen thực vật - Viện Sinh học nhiệt đới đã tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chen YF, Tao SH, Zeng FL, Xie LW, Shen ZB (2015) Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Schefflera octophylla* extracts. *J Ethnopharmacol* 171: 42-50.
- Đặng Thị Thanh Tâm (2012) Nghiên cứu tạo rễ tơ của cây Tam thất, Ngũ gia bì chân chim và thử nghiệm quá trình sản xuất sinh khối bằng bioreactor. *Báo cáo tổng kết đề tài KC.04.TN10/11-15 thuộc Chương trình KH&CN trọng điểm cấp nhà nước (KC.04/11-15)*, Trường ĐH. Nông nghiệp Hà Nội, 151 tr.
- Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Đông, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiền, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Thu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2006) *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Viện Dược Liệu, 2: 411-414.

- Dương Tấn Nhựt (2010) *Một số phương pháp, hệ thống mới trong nghiên cứu công nghệ sinh học thực vật*. NXB Nông nghiệp TP. HCM, 218 tr.
- Eduardo SV (1998) *In vitro* root induction and plumule explants of *Helianthus annuus*. *Environ and Exp Bot* 39: 271-277.
- Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirement of suspensions cultures of soybean root cells. *Exp Cell Res* 50(1):151-158.
- Hussein S, Ling APK, Ng TH, Ibrahim R, Paek KY (2012) Adventitious roots induction of recalcitrant tropical woody plant, *Eurycoma longifolia*. *Rom Biotechnol Lett* 17(1): 7026-7025.
- Imin N, Nizamudin M, Daniher D, Nolan KE, Rose RJ, Rolfe BG (2005) Proteomic analysis of somatic embryogenesis in *Medicago truncatula*. *Plant Physiol* 137: 1250-1260.
- James DJ (1983) Adventitious root formation *in vitro* in apple rookstock (*Malus pumila*). *Physiol Plant* 57: 213 -218.
- Khalafalla MM, Daffalla HM, El-Shemy HA, Abdellatef E (2009) Establishment of *in vitro* fast-growing normal root culture of *Vernonia amygdalina* - a potent African medicinal plant. *African J Biotechnol* 8(21): 5952-5957.
- Kitajima J, Shindo M, Tanaka Y, (1990) Two new triterpenoid sulfates from the leaves of *Schefflera octophylla*. *Chem Pharm Bull* 38(3): 714-716.
- Lã Đình Mối, Châu Văn Minh, Trần Văn Sung, Phạm Quốc Long, Phan Văn Kiêm, Trần Huy Thái, Trần Minh Hội, Ninh Khắc Bản, Lê Mai Hương (2013) Họ Nhân sâm (Araliaceae Juss.) - Nguồn hoạt chất sinh học đa dạng và đầy triển vọng ở Việt Nam. *Tuyển tập Hội nghị khoa học toàn quốc lần thứ 5 về Sinh thái và tài nguyên sinh vật* (Viện HLKH&CNVN, 18/10/2013), tr. 1152-1158.
- Li YL, Jiang RW, Ooi LSM, But PPH, Ooi VEC (2007) Antiviral triterpenoids from the medicinal plant *Schefflera heptaphylla*. *Phytother Res* 21(5): 466-470.
- Li YL, Yeung CM, Chiu LCM, Cen YZ, Ooi VEC (2009) Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from the leaves of a medicinal herb, *Schefflera heptaphylla*. *Phytother Res* 23(1): 140-142.
- Ling APK, Chin MF, Hussein S (2009a) Adventitious roots production of *Centella asiatica* in response to plant regulators and sucrose concentration. *Med Aromat Plant Sci Biotechnol* 3(1): 36-42.
- Ling APK, Kok KM, Hussein S, Ong SL (2009b) Effects of plant growth regulators on adventitious roots induction from different explants of *Orthosiphon stamineus*. *American-Eurasian J Sus Agri* 3(3): 493-501.
- Ling APK, Tan KP, Hussein S (2013) Comparative effects of plant growth regulators on leaf and stem explants of *Labisia pumila* var. *Alata*. *J Zhejiang Univ - Sci B (Biomed & Biotechnol)* 14(7): 621-631.
- Liu X, Dong J, Liang Q, Wang HMD, Liu Z, Xu R, Kang W (2019b) Coagulant effects and mechanism of *Schefflera heptaphylla* (L.) Frodin. *Molecules* 24(24), 4547; <https://doi.org/10.3390/molecules24244547>.
- Liu X, Niu Y, Liu J, Shi M, Xu R, Kang W (2019a) Efficient extraction of anti-inflammatory active ingredients from *Schefflera octophylla* leaves using ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction coupled with HPLC. *Molecules* 24(16), 2942; <https://doi.org/10.3390/molecules24162942>.
- Lo KH (1997) Factor affecting shoot organogenesis in leaf dic culture of African violet. *Sci Hort* 72(1): 49-57.
- Martin KP, Zhang CL, Hembrom ME, Slater A, Madassery J (2008) Adventitious root induction in *Ophiorrhiza prostrata*: a tool for the production of camptothecin (an anticancer drug) and rapid propagation. *Plant Biotechnol Rep* 2(2): 163-169.
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15(3): 473-497.
- Nandagopal S, Kumari BDR (2007) Effectiveness of auxin induced *in vitro* root culture in chicory. *J Cent Eur Agric* 8(1): 73-80.
- Nguyễn Thị Liễu, Nguyễn Trung Thành, Nguyễn Văn Kết (2011) Nghiên cứu khả năng tạo rễ bất định của sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) trong nuôi cấy *in vitro*. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ* 27: 30-36.
- Nguyễn Thị Ngọc Hương, Trần Hùng, Trương Thị Đẹp (2016) Tìm hiểu các biến đổi hình thái trong sự phát sinh rễ Tam thất hoang (*Panax stipuleanatus* H.T.Tsai et K.M.Feng) nuôi cấy *in vitro* và bước đầu định tính oleanolic acid trong rễ tạo thành. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 14(1): 49-54.
- Nguyễn Thị Ngọc Hương, Trần Hùng, Trương Thị

- Đẹp (2018) Nghiên cứu sự hình thành rễ từ cuống lá cây Tam thất hoang (*Panax stipuleanatus* H.T.Tsai et K.M.Feng) *in vitro* và bước đầu định lượng saponin toàn phần trong rễ tạo thành. *Tạp chí Y học TP. HCM* 22(1): 45-51.
- Rahmat E, Kang Y (2019) Adventitious root culture for secondary metabolite production in medicinal plants: A Review. *J Plant Biotechnol* 46: 143–157.
- Roberts K (2007) Auxin. In: K. Roberts (Ed.) *Handbook of Plant Science* (Vol. 1). John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK, pp. 352-360.
- Rose RJ, Wang XD, Nolan KE, Rolfe BG (2006) Root meristems in *Medicago truncatula* tissue culture arise from vascular-derived procambial-like cells in a process regulated by ethylene. *J Exp Bot* 57(10): 2227–2235.
- Saiman MZ, Mustafa NR, Schulte AE, Verpoorte R, Choi YH (2012) Induction, characterization, and NMR-based metabolic profiling of adventitious root cultures from leaf explants of *Gynura procumbens*. *Plant Cell Tiss Org Cult* 109(3): 465–475.
- Samaj J, Bobak M, Kubosnikova D, Kristin J, Kolarik E, Ovecka M, Blehova A (1999) Bundle sheet cells are responsible for direct root regeneration from leaf explants of *Helianthus occidentalis*. *J Plant Physiol* 154: 89-94.
- Schenk RU, Hildebrandt AC (1972) Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can J Bot* 50(1): 199-204.
- Sharma SN, Jhaa Z, Sinha RK (2013) Establishment of *in vitro* adventitious root cultures and analysis of andrographolide in *Andrographis paniculata*. *Nat Prod Commun* 8(8): 1045-1047.
- Sumaryono, Wirdhatul M, Diah R (2012) Effect of carbohydrate source on growth and performance of *in vitro* sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb.) plantlets. *Hayati J Biosci* 19(2): 88-92.
- Taj F, Khan MA, Ali H, Khan RS (2019) Improved production of industrially important essential oils through elicitation in the adventitious roots of *Artemisia amygdalina*. *Plants* 8, 430; doi:10.3390/plants8100430.
- Tchouga AO, Deblauwe V (2020) Micropropagation and effect of phloroglucinol on rooting of *Diospyros crassiflora* Hiern. *Hortscience* 55(4): 424–428
- Yu KW, Gao WY, Hahn EJ, Paek KY (2001) Effects of macro elements and nitrogen source on adventitious root growth and ginsenoside production in ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *J Plant Biol* 44(4): 179-184.
- Zhang B, Chen L, Huo Y, Zhang J, Zhu C, Zhang X, Ma Z (2020) Establishment of adventitious root cultures from leaf explants of *Tripterygium wilfordii* (thunder god vine) for the production of celastrol. *Indus Crop Prod* 155; <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112834>.
- Zhang JY, Sun HJ, Song IJ, Bae TW, Kang HG, Ko SM, Kwon YI, Kim IW, Lee J, Park SY, Lim PO, Kim YH, Lee HY (2014) Plant regeneration of Korean wild ginseng (*Panax ginseng* Meyer) mutant lines induced by γ -irradiation ^{60}Co of adventitious roots. *J Ginseng Res* 38(3): 220-225.
- Zhou S, Brown DCW (2006) High efficiency plant production of North American ginseng via somatic embryogenesis from cotyledon explants. *Plant Cell Rep* 25(3): 166–173.

DIRECT INDUCTION OF ADVENTITIOUS ROOT IN *SCHEFFLERA OCTOPHYLLA* (LOUR.) HARMS FROM LEAF EXPLANTS CULTURED *IN VITRO*

Huỳnh Thị Luỹ¹, Nguyen Huu Ho¹, Bui Van Le²

¹*Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology*

²*University of Natural Sciences, Vietnam National University Ho Chi Minh City*

SUMMARY

Schefflera octophylla (Lour.) Harms is a precious plant species belonging to the Araliaceae family. All parts of plant have been used to create products for human health. In tissue culture of medicinal plants, the induction and multiplication of adventitious root of *Schefflera octophylla* for

biomass collection have been studied. In this report, results on induction of adventitious root from leaf explants cultured *in vitro* of this plant species were presented. Leaf disks (~ 10 x 10 mm), leaf transverse - thin cell layers (t-TCLs) (~ 3 x 10 mm) were cultured on different mineral media MS, ½MS, B5, SH with NAA (0 - 5 mg/L), sucrose (0 - 50 g/L) and light intensity (0 - 4,000 lux). The results showed that, 30 days after culturing on ½MS solid medium plus 3 mg/L NAA, and 30 g/L sucrose in 4,000 lux light condition, direct formation of adventitious root was best from leaf disks, t-TCLs with rooting rate (%) 100, 100; root number/sample 68.80, 21.96; root length (mm) 16.53, 15.53, respectively. Leaf disk culture resulted in better rooting than t-TCL culture in two criteria of root number and root length. Morphological and histological observations of adventitious root primordia formation in the leaf disk were also performed. This is the first report on direct formation of adventitious root by *in vitro* culture of leaf disks/t-TCLs in *Schefflera octophylla* with very high efficiency, creating basis for further studies on root biomass multiplication for production of bioactive compounds.

Keywords: Culture medium, direct formation of adventitious root, leaf explant, plant growth regulator, *Schefflera octophylla*