



ẢNH HƯỞNG CỦA NGUỒN CARBON VÀ MỘT SỐ ELICITOR LÊN KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG CỦA TẾ BÀO HUYỀN PHÙ ĐÌNH LĂNG (*POLYSCIAS FRUTICOSA* (L.) HARMS)

Phan Thị Á Kim^{1,2}, Nguyễn Thị Hà Ngân¹, Lê Thị Anh Thư¹, Lê Văn Tường Huân^{1*}

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Huế, Việt Nam

²Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Quảng Nam, 54 Hùng Vương, Quảng Nam, Việt Nam

Tóm tắt. Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) là một loài cây thuốc có giá trị, được dân gian sử dụng rộng rãi làm thuốc tăng cường sức khỏe. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của nguồn carbon và một số loại elicitor (dịch chiết nấm men, salicylic acid và AgNO₃) lên khả năng sinh trưởng của tế bào huyền phù đinh lăng đã được khảo sát. Kết quả cho thấy môi trường MS (Murashige and Skoog) lỏng có bổ sung α -naphthaleneacetic acid (NAA) 2 mg/L, Kinetin 0,5 mg/L và sucrose 3% là tốt nhất cho khả năng sinh trưởng của tế bào đinh lăng; sinh khối tế bào tươi đạt 7,50 g (0,40 g khô) sau 16 ngày nuôi cấy. Tất cả các loại elicitor sử dụng trong nghiên cứu đều ức chế sự sinh trưởng của tế bào huyền phù; nồng độ elicitor càng cao sinh khối tế bào càng giảm. Đây là điều kiện cần thiết để tăng sự tích lũy các hợp chất thứ cấp trong nuôi cấy tế bào huyền phù.

Từ khóa: đinh lăng, elicitor, nguồn carbon, *Polyscias fruticosa*, tế bào huyền phù

1 Đặt vấn đề

Đinh lăng còn gọi là cây Gỏi cá, Nam dương lâm, có tên khoa học là *Polyscias fruticosa* (L.) Harms, thuộc họ Nhân sâm (Araliaceae), là một loài cây thuốc đã được đưa vào dược điển Việt Nam. Đinh lăng là loài được dân gian sử dụng rộng rãi làm thuốc tăng cường sức khỏe và hoạt huyết dưỡng não từ rất lâu [2]. Trong đinh lăng có các loại alkaloid, glucoside, saponin, flavonoid, tanin, vitamin B1 và các amino acid, trong đó lycine, cysteine và methionine là những amino acid không thể thay thế được trong cây. Đinh lăng chứa các hợp chất saponin tương tự như trong nhân sâm. Trong một số trường hợp, rễ củ đinh lăng được thay thế cho nhân sâm như một nguyên liệu để tìm ở Việt Nam [6].

Với nhiều tác dụng dược lý đã được chứng minh nên đinh lăng càng được sử dụng nhiều để làm thuốc. Tuy nhiên, nguồn nguyên liệu không đủ đáp ứng nhu cầu do thời gian thu hoạch khá lâu (ít nhất từ 3 năm trở lên, cây trồng càng lâu năm càng tốt), năng suất thường thấp, phụ thuộc rất lớn vào điều kiện đất đai, khí hậu, mùa vụ, chi phí nhân công và vật tư sản xuất. Vì vậy, những nghiên cứu thu nhận hợp chất thứ cấp bằng phương pháp nuôi cấy tế bào cây đinh lăng

* Liên hệ: tuonghuanle@gmail.com

là lĩnh vực nghiên cứu rất được quan tâm, hứa hẹn tiềm năng to lớn, giúp giải quyết việc gia tăng sinh tổng hợp saponin.

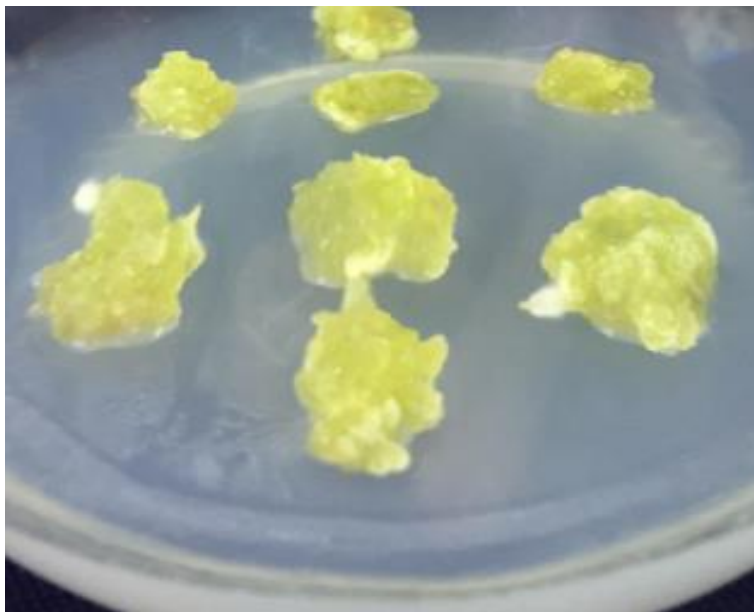
Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu cho thấy hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học tích lũy trong tế bào thực vật nuôi cấy *in vitro* tương đương hoặc cao hơn nhiều lần so với tích lũy trong cây ngoài tự nhiên [10]. Thành phần môi trường, điều kiện nuôi cấy, các tiền chất hoặc các elicitor trong môi trường nuôi cấy tế bào có ảnh hưởng đến việc tăng hiệu suất tổng hợp các chất chuyển hóa thứ cấp, rút ngắn thời gian và giảm chi phí sản xuất so với cây ngoài tự nhiên.

Hiện nay, các nghiên cứu về nhân giống *in vitro* cây đinh lăng [3, 8], nuôi cấy tế bào huyền phù [5] và nuôi cấy rễ to [1] để sản xuất saponin từ cây đinh lăng cũng đã được thực hiện. Tuy nhiên, các nghiên cứu về sử dụng elicitor trong quá trình nuôi cấy tế bào cây đinh lăng lại chưa được công bố. Bài báo này trình bày các kết quả về thiết lập nuôi cấy tế bào huyền phù từ mô callus đinh lăng (số liệu nuôi cấy callus chưa công bố), ảnh hưởng của nguồn carbon cũng như một số elicitor lên sinh trưởng của tế bào, làm cơ sở cho việc sản xuất một số hoạt chất có giá trị dược liệu sau này.

2 Nguyên liệu và phương pháp

2.1 Nguyên liệu

Nguyên liệu nghiên cứu sử dụng trong các thí nghiệm là callus có nguồn gốc từ rễ cây đinh lăng *in vitro* (Hình 1).



Hình 1. Callus có nguồn gốc từ rễ đinh lăng sau 30 ngày nuôi cấy

2.2 Phương pháp

Nuôi cấy tạo callus

Rễ non của cây *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) có bổ sung NAA 2 mg/L kết hợp Kinetin (KIN) 0,5 mg/L, agar 0,8% và sucrose 3% để tạo callus. Callus được cấy chuyển sau mỗi 15 ngày (môi trường nuôi cấy như môi trường tạo callus).

Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH đến 5,8 và khử trùng ở 121°C (1 atm) trong 20 phút.

Nuôi cấy tế bào huyền phù

Để xác định khả năng sinh trưởng của tế bào huyền phù, 2 g callus 30 ngày tuổi được nuôi trong 50 mL môi trường cơ bản MS lỏng chứa NAA 2 mg/L kết hợp với KIN 0,5 mg/L và sucrose 3%. Khả năng sinh trưởng của tế bào được xác định qua khối lượng tươi, khối lượng khô và chỉ số sinh trưởng của tế bào.

Để xác định ảnh hưởng của nguồn carbon lên sinh trưởng tế bào, sucrose được thay thế bằng đường maltose và fructose với các nồng độ 10–40 g/L.

Ảnh hưởng của các elicitor lên sinh trưởng của tế bào huyền phù được xác định bằng cách bổ sung dịch chiết nấm men (YE) nồng độ 1–5 g/L, salicylic acid (SA) nồng độ 50–250 μ M và AgNO₃ 10–100 μ M vào môi trường nuôi cấy ở thời điểm ban đầu; sau đó đánh giá khả năng sinh trưởng của tế bào.

Tế bào huyền phù được nuôi cấy trong bình 250 mL trên máy lắc với tốc độ 120 vòng/phút, nhiệt độ 25–27 °C, cường độ chiếu sáng 2.000 lux, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày.

Xác định sinh khối tế bào

Tiến hành thu sinh khối tế bào từ ngày nuôi cấy thứ 2 đến ngày thứ 18 (2 ngày thu mẫu 1 lần) để xác định khối lượng tươi và khô của tế bào. Khối lượng tươi: Dịch tế bào huyền phù được lọc chân không, rửa sạch sinh khối bằng nước cất 2–3 lần, cân để xác định khối lượng tươi. Khối lượng khô: Khối lượng tươi của tế bào được sấy khô ở 50 °C đến khối lượng không đổi, cân để xác định khối lượng khô. Chỉ số sinh trưởng: được tính bằng tỷ lệ giữa khối lượng tươi sau một thời gian nuôi cấy (g) và khối lượng tươi lúc đưa vào nuôi cấy (g).

Xử lý thống kê

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên. Mỗi công thức thí nghiệm gồm 2 bình và mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần để tính trung bình. Số liệu được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học, phân tích one-way ANOVA bằng Duncan's test theo chương trình SPSS 22.0 với mức xác suất có ý nghĩa $p < 0,05$.

3 Kết quả và thảo luận

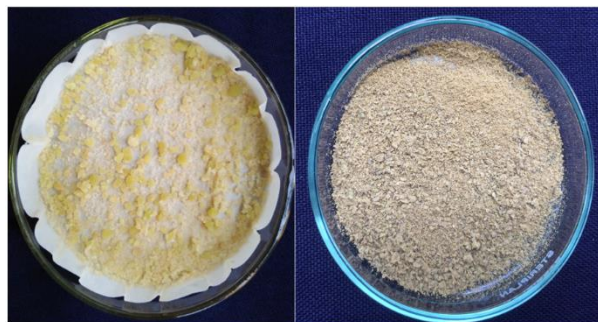
3.1 Sinh trưởng của tế bào huyền phù

Kết quả nghiên cứu cho thấy pha lag của tế bào đĩnh lăng rất dài (đến 6 ngày). Sau 6 ngày, tế bào bắt đầu vào pha log, sinh trưởng tương đối nhanh. Pha log kéo dài trong khoảng 10 ngày và sinh khối đạt cực đại ở ngày thứ 16 với 7,50 g khối lượng tươi (0,40 g khối lượng khô) tăng 3,75 lần so với lúc bắt đầu nuôi cấy. Sau pha log, tế bào chuyển sang pha suy vong, sinh khối tế bào chỉ còn 7,33 g khối lượng tươi (0,39 g khối lượng khô), không thấy được pha cân bằng do chỉ thoáng qua (Bảng 1, Hình 2, Hình 3). Lúc này, dịch tế bào từ màu vàng chuyển sang nâu có thể liên quan đến sự oxy hóa các sản phẩm phenol tiết ra trong quá trình nuôi cấy bởi các enzyme ngoại bào.

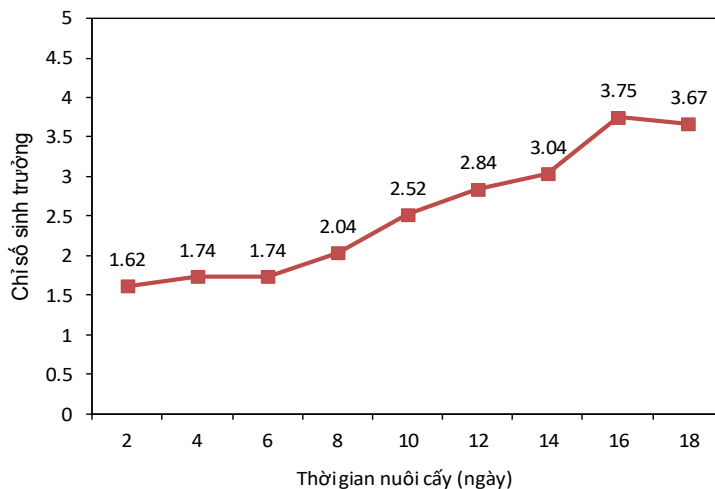
Bảng 1. Tích lũy sinh khối của tế bào đĩnh lăng theo thời gian nuôi cấy

Thời gian nuôi cấy (ngày)	Khối lượng tế bào (g)		Chỉ số sinh trưởng
	Tươi	Khô	
2	3,23 ^e	0,27 ^h	1,62
4	3,47 ^{de}	0,29 ^g	1,74
6	3,48 ^{de}	0,29 ^g	1,74
8	4,09 ^d	0,30 ^f	2,04
10	5,03 ^c	0,34 ^e	2,52
12	5,67 ^{bc}	0,35 ^d	2,84
14	6,08 ^b	0,38 ^c	3,04
16	7,50 ^a	0,40 ^a	3,75
18	7,33 ^b	0,39 ^b	3,67

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê của các trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test). Ghi chú này được sử dụng cho tất cả các bảng về sau.



Hình 2. Tế bào đĩnh lăng sau 16 ngày nuôi cấy lắ: *trái*: sinh khối tươi, *phải*: sinh khối khô sau khi được nghiền mịn



Hình 3. Đường cong sinh trưởng của tế bào đỉnh lãg dựa theo chỉ số sinh trưởng

3.2 Ảnh hưởng của nguồn carbon lên sinh trưởng tế bào

Fructose

Số liệu ảnh hưởng của fructose lên sinh trưởng của tế bào đỉnh lãg đánh giá ở 16 ngày tuổi được trình bày ở Bảng 2. Có thể thấy rằng fructose 10–40 g/L không thích hợp cho việc tích lũy sinh khối tế bào đỉnh lãg; tất cả các công thức thí nghiệm đều cho kết quả thấp hơn đối chứng là sucrose 3%. Khi thay thế sucrose bằng fructose, hàm lượng fructose sử dụng càng nhiều thì sinh khối tế bào càng giảm.

Maltose

Khả năng sinh trưởng của tế bào đỉnh lãg trong môi trường có bổ sung maltose 10–40 g/L sau 16 ngày nuôi cấy được trình bày ở Bảng 3. Số liệu cho thấy maltose 10–40 g/L không thích hợp cho việc tích lũy sinh khối của tế bào đỉnh lãg, thấp hơn so với mẫu đối chứng được nuôi ở môi trường có chứa sucrose 3%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của fructose lên sinh trưởng của tế bào

Nồng độ fructose (g/L)	Khối lượng tế bào (g)		Chỉ số sinh trưởng
	Tươi	Khô	
ĐC	7,50 ^a	0,40 ^a	3,75
10	5,68 ^b	0,36 ^{ab}	2,84
20	4,43 ^c	0,33 ^b	2,23
30	3,26 ^d	0,29 ^c	1,63
40	2,74 ^d	0,28 ^c	1,37

Bảng 3. Ảnh hưởng của maltose lên sinh trưởng của tế bào

Nồng độ maltose (g/L)	Khối lượng tế bào (g)		Chỉ số sinh trưởng
	Tươi	Khô	
ĐC	7,50 ^a	0,40 ^a	3,75
10	4,35 ^c	0,26 ^c	2,13
20	4,38 ^c	0,29 ^{bc}	2,19
30	4,75 ^b	0,31 ^{ab}	2,38
40	4,37 ^c	0,27 ^{bc}	2,19

Như vậy, qua nghiên cứu ảnh hưởng của nguồn carbon lên khả năng sinh trưởng của tế bào huyền phù thì sucrose là nguồn carbon thích hợp cho sự sinh trưởng của tế bào đĩnh lăng hơn fructose và maltose. Theo các tài liệu đã công bố, sucrose được xem là nguồn carbon thích hợp nhất cho sinh trưởng của tế bào thực vật; nồng độ thường dùng khoảng từ 20 g/L đến 70 g/L. Sucrose vừa là nguồn cung cấp năng lượng vừa là một thành phần nguyên liệu trong sinh tổng hợp các chất thứ cấp. Tốc độ tăng trưởng sinh khối của tế bào luôn luôn liên quan trực tiếp với sự tiêu thụ sucrose [4].

3.3 Ảnh hưởng của một số elicitor lên sinh trưởng của tế bào huyền phù

Dịch chiết nấm men

Khả năng tích lũy sinh khối của tế bào đĩnh lăng trong môi trường nuôi cấy có bổ sung dịch chiết nấm men ở các nồng độ khác nhau được trình bày ở Bảng 4.

Kết quả cho thấy nồng độ dịch chiết nấm men có ảnh hưởng lên sự tích lũy sinh khối tế bào. Tế bào đĩnh lăng sinh trưởng trong môi trường chứa YE chậm hơn so với đối chứng không xử lý elicitor. Khi nồng độ YE tăng từ 1 g/L đến 5 g/L, khối lượng tế bào giảm dần, thấp nhất ở 5 g/L đạt 1,93 g tươi (0,18 g khô). Như vậy, sự tích lũy sinh khối tế bào tỷ lệ nghịch với nồng độ YE bổ sung vào môi trường nuôi cấy; nồng độ YE càng cao thì sinh khối tích lũy càng giảm. Nói cách khác, dịch chiết nấm men ức chế sự tích lũy sinh khối của tế bào đĩnh lăng nuôi cấy huyền phù trong bình 250 mL.

Khi bổ sung dịch chiết nấm men ở nồng độ 1–2 g/L thì sinh khối tế bào có màu nâu và một số vẫn còn màu xanh của callus đưa vào lúc đầu nuôi cấy lác. Tuy nhiên, khi bổ sung nồng độ 3–5 g/L thì sinh khối có màu nâu toàn bộ do sự oxy hóa các sản phẩm phenol tiết ra trong quá trình nuôi cấy bởi các enzyme ngoại bào.

Ở các môi trường không bổ sung elicitor, khối lượng tươi trung bình đạt 4,77 g và khối lượng khô trung bình đạt 0,38 g. Sinh khối thu được các tế bào nhỏ mịn thì có màu vàng nhạt và dạng hạt thì có màu xanh, xuất hiện rễ tơ. Như vậy, sự tích lũy sinh khối tế bào trong môi trường chứa elicitor giảm so với mẫu đối chứng không bổ sung elicitor.

Bảng 4. Ảnh hưởng của dịch chiết nấm men lên sinh trưởng của tế bào

Nồng độ YE (g/L)	Khối lượng tế bào (g)		Chỉ số sinh trưởng
	Tươi	Khô	
ĐC	4,77 ^a	0,38 ^a	2,39
1	2,65 ^b	0,28 ^b	1,32
2	2,00 ^c	0,20 ^c	1,00
3	1,95 ^c	0,19 ^c	0,98
4	1,94 ^c	0,19 ^c	0,97
5	1,93 ^c	0,18 ^c	0,97

Salicylic acid

Salicylic acid ở các nồng độ 50–250 μM được bổ sung vào môi trường lúc bắt đầu nuôi cấy để khảo sát khả năng sinh trưởng của tế bào đĩnh lăng sau 16 ngày. Có thể thấy trong các môi trường có nồng độ SA khác nhau thì khả năng sinh trưởng của nuôi cấy tế bào huyền phù đĩnh lăng là khác nhau (Bảng 5). Nồng độ SA càng tăng thì màu sinh khối thu được có màu nâu tăng dần và lượng sinh khối có màu xanh giảm dần do sự oxy hóa các sản phẩm phenol tiết ra trong quá trình nuôi cấy bởi các enzyme ngoại bào. Ở nồng độ SA 250 μM , sinh trưởng của tế bào huyền phù bị ức chế với sinh khối tế bào huyền phù thấp nhất (khối lượng tươi trung bình chỉ còn 2,91 g, khối lượng khô trung bình là 0,24 g).

AgNO₃

Số liệu ở Bảng 6 cho thấy trong môi trường có nồng độ AgNO₃ khác nhau thì khả năng sinh trưởng của tế bào huyền phù đĩnh lăng khác nhau. Tế bào đĩnh lăng được bổ sung AgNO₃ 10–100 μM sinh trưởng chậm hơn so với đối chứng. Sinh khối tế bào giảm khi tăng nồng độ AgNO₃. Sinh khối tươi giảm 3,71–1,78 g (0,29–0,19 g khô) so với đối chứng 4,77 g (0,38 g khô). Nồng độ càng tăng thì tế bào có màu nâu đậm dần do sự oxy hóa các sản phẩm phenol tiết ra trong quá trình nuôi cấy bởi các enzyme ngoại bào.

Bảng 5. Ảnh hưởng của salicylic acid lên sinh trưởng của tế bào

Nồng độ SA (μM)	Khối lượng tế bào (g)		Chỉ số sinh trưởng
	Tươi	Khô	
ĐC	4,77 ^a	0,38 ^a	2,39
50	3,57 ^b	0,30 ^b	1,78
100	3,53 ^b	0,29 ^{bc}	1,18
150	3,32 ^{bc}	0,27 ^{cd}	1,66
200	3,24 ^c	0,25 ^d	1,62
250	2,91 ^d	0,24 ^d	1,46

Bảng 6. Ảnh hưởng của AgNO₃ lên sinh trưởng của tế bào

Nồng độ AgNO ₃ (μM)	Khối lượng tế bào (g)		Chỉ số sinh trưởng
	Tươi	Khô	
ĐC	4,77 ^a	0,38 ^a	2,39
10	3,71 ^b	0,29 ^b	1,86
25	3,32 ^b	0,26 ^c	1,66
50	2,28 ^c	0,23 ^d	1,14
75	2,15 ^{cd}	0,23 ^d	1,08
100	1,78 ^d	0,19 ^e	0,89

Như vậy, ảnh hưởng của AgNO₃ lên khả năng sinh trưởng của tế bào đỉnh lăng cũng giống như ảnh hưởng của các elicitor khác: khi nồng độ tăng lên thì sự sinh trưởng của tế bào bị ức chế. Trong quá trình sản xuất hợp chất thứ cấp từ nuôi cấy tế bào thực vật, elicitor thông thường sẽ làm giảm quá trình sinh trưởng của tế bào đồng thời tăng cường sản xuất các hợp chất thứ cấp. Trong nghiên cứu của chúng tôi, trong môi trường có bổ sung elicitor, sinh trưởng của tế bào kém hơn so với đối chứng không bổ sung elicitor: nồng độ elicitor càng cao thì sự sinh trưởng của tế bào càng giảm. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về sự ức chế của elicitor lên sinh trưởng của tế bào thực vật. Chẳng hạn, các elicitor như MeJA, Ag⁺, chitosan và dịch chiết từ nấm (polysaccharide) ở các nồng độ khác nhau đều ức chế sinh trưởng của tế bào cây thông đỏ bắc (*Taxus chinensis*) [11]. Thanh và cs. đã sử dụng MeJA để tổng hợp ginsenoside trong nuôi cấy huyền phù tế bào của nhân sâm trong bioreactor 5 L. Nhóm tác giả tiến hành thăm dò bổ sung MeJA ở các nồng độ 50–400 μM vào môi trường nuôi cấy; sau 25 ngày nuôi cấy thu được hàm lượng ginsenoside cao nhất ở nồng độ 200 μM, cao gấp 2,2 lần so với tế bào nuôi cấy không bổ sung MeJA. Trong khi đó, sinh khối tươi và sinh khối khô của tế bào giảm 1,06 và 1,10 lần so với tế bào nuôi cấy không bổ sung MeJA [9]. Kết quả nghiên cứu của Frankfater và cs. về ảnh hưởng của MeJA và SA lên sự tạo thành gossypol, 6-methoxygossypol và 6,6'-dimethoxygossypol trong nuôi cấy rễ tơ cây bông vải (*Gossypium barbadense*) cho thấy MeJA có tác dụng ức chế quá trình sinh trưởng của tế bào [7].

4 Kết luận

Môi trường MS lỏng có bổ sung NAA 2 mg/L và KIN 0,5 mg/L và sucrose 3% là tốt nhất cho khả năng sinh trưởng của tế bào đỉnh lăng; sinh khối tế bào tươi đạt 7,50 g (0,40 g khô) sau 16 ngày nuôi cấy. Tất cả các loại elicitor sử dụng trong nghiên cứu đều ức chế sự sinh trưởng của tế bào huyền phù: nồng độ elicitor càng cao sinh khối tế bào càng giảm. Đây là điều kiện cần thiết để tăng sự tích lũy các hợp chất thứ cấp trong tế bào.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Trung Hậu, Trần Văn Minh (2015), Nuôi cấy mô lá đỉnh lăng (*Polyscias fruticosa* L. Harms) tạo rễ to và nhận biết hoạt chất saponin tích lũy. *Tạp chí Khoa học Trường đại học An Giang* 7(1), 75–83.
2. Phạm Hoàng Hộ (2003), *Cây cỏ Việt Nam*, quyển III, Nxb. Trè, TP. Hồ Chí Minh.
3. Hà Bích Hồng, Vũ Thị Thom, Vũ Đức Lợi, Lê Anh Tuấn, Nguyễn Thanh Hải (2013), Bước đầu xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây Đinh lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms). *Tạp chí Dược học*, 450, 25–30.
4. Bùi Văn Lê, Nguyễn Ngọc Hồng (2006), Ảnh hưởng của chất điều hòa tăng trưởng thực vật và đường saccharose lên dịch nuôi cấy huyền phù tế bào dừa cạn (*Catharanthus roseus*). *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ* 9(6), 5–66.
5. Phạm Thị Tố Liên, Võ Thị Bạch Mai (2007), Bước đầu nghiên cứu sự tạo dịch treo tế bào cây Đinh lăng *Polyscias fruticosa* L. Harms. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ* 10(7), 11–16.
6. Đỗ Tất Lợi (1986), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
7. Frankfater C. R., Dowd M. K., Triplett B. A. (2009), Effect of elicitors on the production of gossypol and methylated gossypol in cotton hairy roots. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 98, 341–349.
8. Sakr S. S., Melad S. S., El-Shamy M. A., Elhafez A. E. A. (2014), *In vitro* propagation of *Polyscias fruticosa* plant. *International Journal of Plant & Soil Science*, 3(10), 1254–1265.
9. Thanh N. T., Murthy H. N., Yu K. W., Hahn E. J., Peak K. Y. (2005), Methyl jasmonate elicitation enhanced synthesis of ginsenoside by cell suspension culture of *Panax ginseng* in 5-l balloon type bubble bioreactor. *Appl Microbiol Biotechnol*, 67, 197–201.
10. Vijaya S. N., Udayasri P. V. V., Aswani K. Y., Ravi B. B., Phani K. Y., Vijay V. M. (2010), Advancements in the production of secondary metabolites. *Natural Products*, 3, 112–123.
11. Zhang C. H., Mei X. G., Liu L., Yu L. J. (2000), Enhanced paclitaxel production induced by the combination of elicitors in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnol Lett*, 22, 1561–1564.

EFFECTS OF CARBON SOURCES AND ELICITORS ON GROWTH OF *POLYSCIAS FRUTICOSA* (L.) HARMS SUSPENSION CELLS

Phan Thi A Kim^{1,2}, Nguyen Thi Ha Ngan¹, Le Thi Anh Thu¹, Le Van Tuong Huan^{1*}

¹Department of Biology, University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue St., Hue, Vietnam

²Department of Science and Technology, Quang Nam, 54 Hung Vuong St., Quang Nam, Vietnam

Abstract. *Polyscias fruticosa* (L.) Harms is a valuable medicinal plant, widely used in folk medicine. In this study, the effects of carbon sources and elicitors (yeast extract, salicylic acid, and silver nitrate) on the growth of suspension cells were evaluated. The results indicated that the optimal medium for growth of the cells was liquid MS supplemented with 2 mg/L NAA, 0.5 mg/L Kinetin, and 3% sucrose, with fresh cell biomass reaching 7.50 g (0.40 g dry weight) after 16 days of culture. All elicitors used in this study inhibited the cell growth. These were necessary conditions for the accumulation of secondary substances in the suspension cell culture.

Keywords: carbon source, elicitor, *Polyscias fruticosa* (L.) Harms, suspension cell