

Nghiên cứu tạo mô sẹo từ lá cây muồng trướng (*Zanthoxylum avicennae* (Lam.) DC.)

Nguyễn Văn Long, Phan Lê Trâm Anh, Nguyễn Thị Kiều Linh và Nguyễn Xuân Dũng*

Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Muồng trướng (*Zanthoxylum avicennae* (Lam.) DC.) là cây dược liệu đã được chứng minh có tác dụng ức chế sinh trưởng và di căn tế bào ung thư gan. Việc phát triển nguồn sinh khối *in vitro* phục vụ cho sản xuất các sản phẩm bảo vệ gan từ cây muồng trướng có ý nghĩa rất quan trọng. Nghiên cứu này sử dụng mẫu lá *in vitro* và *in vivo* làm vật liệu nuôi cấy. Mẫu lá *in vivo* được khử trùng với dung dịch javel để tạo mẫu cấy vô trùng sử dụng cho thí nghiệm. Cả hai mẫu lá (*in vivo* và *in vitro*) được cấy trên môi trường bổ sung chất điều hòa sinh trưởng để cảm ứng tạo mô sẹo. Kết quả cho thấy mẫu lá *in vivo* được khử trùng với dung dịch javel 20% trong thời gian 10 phút cho hiệu quả khử trùng cao nhất (100%). Sự cảm ứng tạo mô sẹo xảy ra tốt nhất trên môi trường MS bổ sung 0.3 mg/L NAA kết hợp với 0.5 mg/L BA đối với mô lá *in vivo* hay WPM bổ sung 0.03 mg/L NAA (IBA) đối với mô lá *in vitro*.

Từ khóa: BA, IBA, mô lá, mô sẹo, muồng trướng, NAA

1. MỞ ĐẦU

Muồng trướng hay ương bất bạc (*Zanthoxylum avicennae* (Lam.) DC.) là cây thuốc được sử dụng từ lâu đời trong y học cổ truyền Việt Nam [1]. Theo các nghiên cứu, cây muồng trướng có chứa hesperidine và diosmin, là hai hoạt chất có khả năng chống oxy hóa, chống tổn thương cũng như phục hồi và bảo vệ tế bào gan, ngăn ngừa xơ gan và ung thư gan [2]. Cao chuẩn hóa từ cây muồng trướng đã được chứng minh có tác dụng ức chế sinh trưởng và di căn tế bào ung thư gan [3]. Kết quả nghiên cứu này đã được Cục sáng chế và nhãn hiệu thương mại Hoa Kỳ cấp bằng sáng chế và hiện đang được ứng dụng để sản xuất thực phẩm chức năng bảo vệ gan [2]. Vì vậy, nhu cầu về nguồn sinh khối muồng trướng phục vụ cho sản xuất hiện đang rất lớn. Việc thu nhận sinh khối muồng trướng hiện nay được thực hiện chủ yếu thông qua trồng cây

trong điều kiện tự nhiên. Phương thức này đòi hỏi phải có nguồn cây giống đảm bảo chất lượng và diện tích canh tác lớn để đảm bảo năng suất và chất lượng sinh khối. Tuy nhiên, sản xuất sinh khối từ việc trồng cây trong môi trường tự nhiên thường có những hạn chế nhất định do phụ thuộc nhiều vào điều kiện thời tiết và thổ nhưỡng. Sản xuất sinh khối bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* giúp khắc phục những hạn chế nêu trên và đã được sử dụng trong nghiên cứu thu nhận sinh khối nhiều loại cây dược liệu quý như sâm Ngọc Linh [4], thông đỏ [5], đinh lăng [6], nhưng hiện vẫn chưa được áp dụng đối với cây muồng trướng. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định môi trường thích hợp cho việc tạo mô sẹo từ mô lá, phục vụ cho việc phát triển quy trình thu nhận sinh khối cây muồng trướng.

Tác giả liên hệ: TS. Nguyễn Xuân Dũng

Email: nxdung.snn@tphcm.gov.vn

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Lá muồng trướng thu nhận từ cây trồng ngoài vườn (*in vivo*) và cây nuôi cấy trong điều kiện *in vitro* tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Thực vật - Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh.

Phương pháp

Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ javel lên sự tạo mẫu lá vô trùng

Lá cây muồng trướng được rửa sạch và cho vào bình tam giác, lắc với dung dịch xà phòng loãng trong 10 phút và rửa lại với nước sạch nhiều lần. Mẫu lá được chuyển vào tủ cấy, xử lý với cồn 70° trong 1 phút trước khi khử trùng với dung dịch javel thương mại (có chứa NaOClO) ở các nồng độ 10%, 20% và 30% trong 10 phút (lựa chọn dựa trên kết quả khử trùng đoạn thân non muồng trướng đã được thực hiện trước đó). Sau đó, mẫu được rửa với nước cất vô trùng, loại bỏ các phần mô lá bị hoại tử và cắt thành các mảnh (kích thước 0.5×1 cm) trước khi cấy vào môi trường MS [7]. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần, mỗi lần 24 mẫu/nghiệm thức. Mẫu được đặt nuôi trong điều kiện nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, ẩm độ $55 \pm 5\%$, cường độ sáng 2.500 ± 500 lux, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày. Quan sát và ghi nhận tỷ lệ mẫu sống vô trùng (%) sau 2 tuần nuôi cấy.

Khảo sát ảnh hưởng của NAA, BA và 2,4-D lên sự tạo mô sẹo từ mẫu lá vô trùng

Các mẫu mô lá vô trùng thu nhận được từ thí nghiệm khử trùng được cắt thành các mảnh nhỏ (kích thước 0.5×0.5 cm) và cấy vào môi trường MS bổ sung NAA riêng lẻ hay kết hợp với BA và 2,4-D ở các nồng độ khác nhau (Bảng 1). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần, mỗi lần 15 mẫu/nghiệm thức. Mẫu được đặt nuôi ở nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, ẩm độ $55 \pm 5\%$ trong tối.

Quan sát và ghi nhận tỷ lệ (%) mẫu cảm ứng tạo mô sẹo, hình thái, trọng lượng tươi của mô sẹo sau 4 tuần nuôi cấy.

Bảng 1. Thành phần chất điều hòa sinh trưởng sử dụng trong thí nghiệm tạo mô sẹo từ mẫu lá vô trùng

Nồng độ chất điều hòa sinh trưởng (mg/L)		
NAA	BA	2,4-D
-	-	-
0.5	-	-
1.0		
1.5		
2.0		
0.5	0.5	-
1.0		
0.5		
2.0		
0.5	0.5	0.1
1.0		
1.5		
2.0		

Khảo sát ảnh hưởng của NAA và IBA lên sự tạo mô sẹo từ mẫu lá *in vitro*

Lá *in vitro* được gây vết thương bằng cách tạo các vết cắt trên bề mặt và cấy vào môi trường WPM [8] (được chọn thay cho môi trường MS do lá có nguồn gốc từ cây *in vitro* nuôi cấy trên môi trường WPM) bổ sung NAA hay IBA ở các nồng độ 0.01; 0.03; 0.05; 0.10 mg/L. Mẫu được đặt nuôi ở nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, ẩm độ $55 \pm 5\%$ trong tối. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần, mỗi lần 15 mẫu/nghiệm thức. Quan sát và ghi nhận tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%), trọng lượng tươi và hình thái của mô sẹo sau 8 tuần nuôi cấy.

Quan sát hình thái giải phẫu

Thực hiện phẫu thức cắt ngang cấu trúc mô lá trong giai đoạn tạo mô sẹo, nhuộm 2 màu (đỏ carmine: xanh methylene), sau đó quan sát dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 10X.

Xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion V15.1, sử dụng trắc nghiệm đa biên độ Duncan với $p \leq 0.05$.

3. KẾT QUẢ

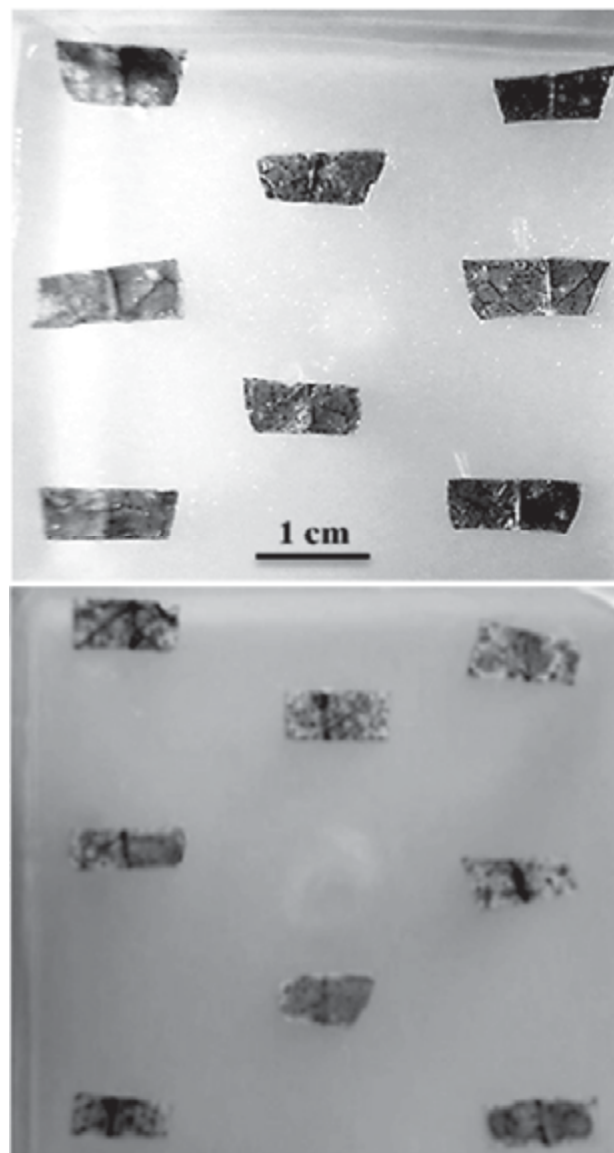
Ảnh hưởng của nồng độ javel lên sự tạo mẫu lá vô trùng

Sau 2 tuần nuôi cấy trên môi trường MS, ở cả 3 nghiệm thức đều thu được mẫu lá sống vô trùng. Trong đó, tỷ lệ mẫu sống vô trùng tăng khi nồng độ javel gia tăng và đạt mức cao nhất (100%) ở nồng độ 20% (Bảng 2). Tuy nhiên, khi tăng nồng độ javel đến mức 30%, tỷ lệ mẫu mô lá sống vô trùng giảm mạnh, các mẫu bị vàng và hoại tử dần sau một thời gian nuôi cấy (Bảng 2, Hình 1).

Bảng 2. Tỷ lệ mẫu mô lá vô trùng sau 2 tuần nuôi cấy trên môi trường MS

Nồng độ javel (%)	Thời gian (phút)	Tỷ lệ mẫu vô trùng (%)
10		20 ^c
20	10	100 ^a
30		40 ^b
ANOVA		**

Ghi chú: các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p \leq 0.05$.



Hình 1. Mẫu mô lá muồng truồng nuôi cấy trên môi trường MS sau 2 tuần từ thời điểm khử trùng với dung dịch javel ở nồng độ 20% (A) và 30% (B)

Trong nuôi cấy mô, javel thường được sử dụng cho việc khử trùng mẫu cấy do đảm bảo được hiệu quả và tính tiện dụng. Tuy nhiên, vì là dung dịch có tính oxi hóa và ăn mòn rất mạnh, nên khi được sử dụng ở nồng độ cao và trong thời gian dài, javel sẽ làm giảm khả năng sinh trưởng hay thậm chí gây chết mẫu.

Ảnh hưởng của NAA, BA và 2,4-D lên sự tạo mô sẹo từ mẫu lá vô trùng

Sau 4 tuần nuôi cấy trên các môi trường, mẫu lá có sự cảm ứng tạo mô sẹo khác nhau. Nhìn

chung, khả năng tạo mô sẹo trên môi trường MS chỉ bổ sung NAA thấp hơn so với các môi trường có bổ sung NAA kết hợp với BA và 2,4-D. Tỷ lệ tạo

mô sẹo đạt mức cao nhất (96.11%) trên môi trường MS bổ sung 0.5 mg/L BA kết hợp với 1.0 mg/L NAA (Bảng 3, Hình 2).

Bảng 3. Sự tạo mô sẹo từ lá muồng trướng trên môi trường MS bổ sung BA, NAA và 2,4-D ở các nồng độ khác nhau sau 4 tuần nuôi cấy

BA (mg/L)	NAA (mg/L)	2,4-D (mg/L)	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Trọng lượng tươi (mg)
-	0.0	-	0.00 ^e	13.59 ^e
-	0.5	-	50.00 ^c	22.35 ^e
-	1.0	-	55.00 ^c	17.24 ^e
-	1.5	-	47.23 ^{cd}	16.31 ^e
-	2.0	-	38.89 ^d	9.50 ^e
0.5	0.5	-	78.33 ^b	109.21 ^c
0.5	1.0	-	96.11 ^a	198.93 ^a
0.5	1.5	-	95.00 ^a	78.36 ^d
0.5	2.0	-	94.44 ^a	116.09 ^c
0.5	0.5	0.1	94.44 ^a	149.92 ^b
0.5	1.0	0.1	87.22 ^{ab}	120.06 ^c
0.5	1.5	0.1	95.00 ^a	116.41 ^c
0.5	2.0	0.1	90.56 ^a	106.80 ^c
ANOVA			**	**

Ghi chú: các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p \leq 0.05$, (-): không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng

Trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*, mẫu cấy dễ tạo mô sẹo dưới tác động của auxin khi sử dụng riêng lẻ hay phối hợp với cytokinin [9]. Ở thí nghiệm này, mô lá muồng trướng nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung NAA kết hợp BA cho khả năng tạo mô sẹo tốt hơn so với sử dụng NAA riêng lẻ hay kết hợp với 2,4-D (Bảng 3, Hình 2); cụ thể là trên môi trường MS bổ sung 0.5 mg/L BA kết hợp 1.0 mg/L NAA, mô sẹo có dạng rắn chắc, bao phủ gần hết bề mặt mô lá (Hình 2F) và đạt trọng lượng tươi cao nhất (Bảng 3). Điều này phù hợp với quan

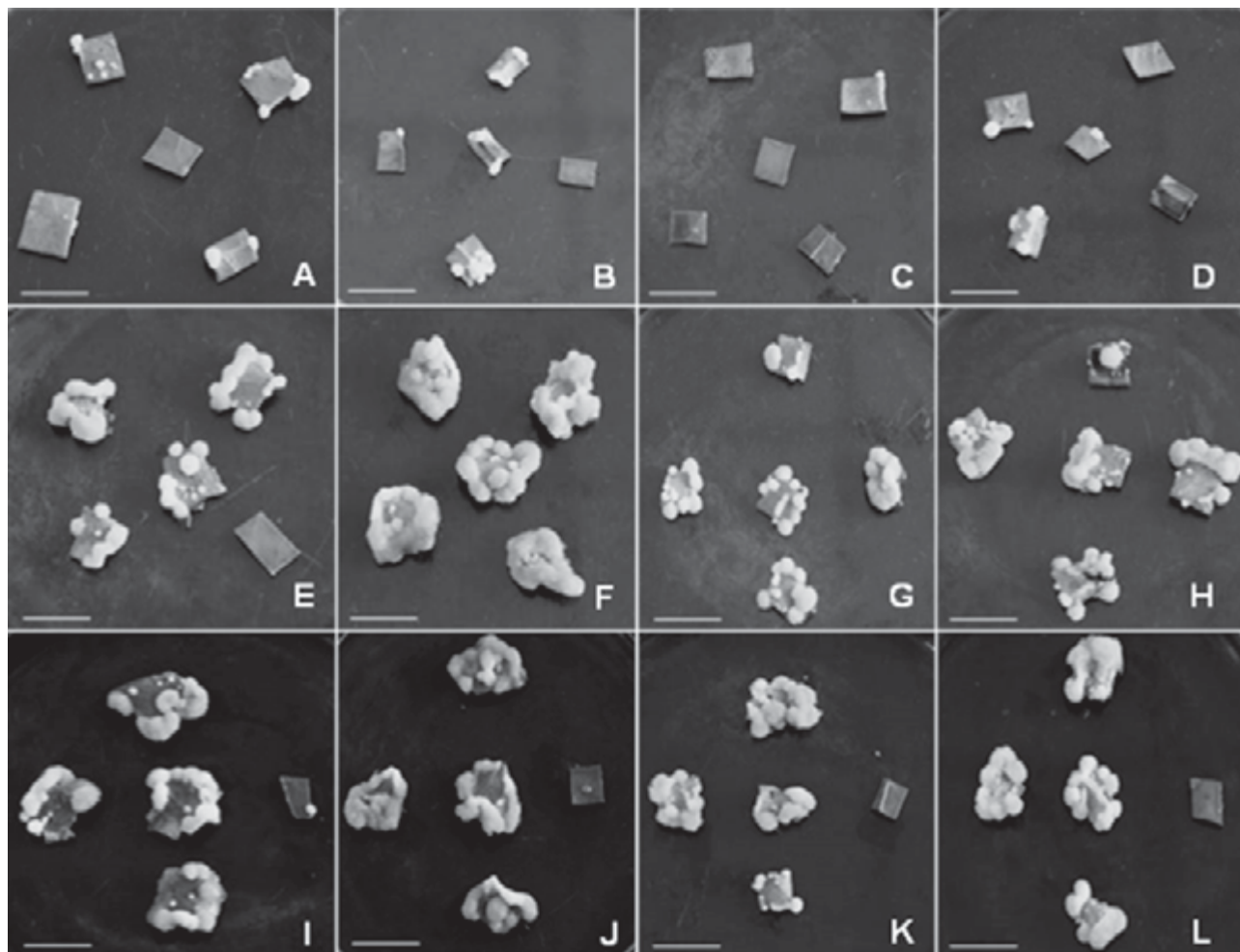
điểm cho rằng sự kết hợp giữa auxin và cytokinin trong môi trường nuôi cấy giúp kích thích tốt hơn cho sự tăng trưởng và phân chia tế bào để cảm ứng tạo mô sẹo từ các mô khác nhau ở thực vật [10]. Tuy nhiên, khi tỷ lệ auxin/cytokinin quá cao sẽ gây ức chế sự phát triển của mô sẹo, gây ra hiện tượng mô sẹo xộp, màu vàng sẫm và bị hóa nâu sau nhiều lần cấy chuyển (Hình 2).

Ảnh hưởng của NAA và IBA lên sự tạo mô sẹo từ mẫu lá *in vitro*

Mẫu lá nuôi cấy trên môi trường có bổ sung

NAA và IBA đều có sự cảm ứng tạo mô sẹo. Trong đó, mẫu được nuôi cấy trên môi trường bổ sung NAA có tỷ lệ tạo mô sẹo thấp hơn trên môi trường bổ sung IBA. Ở môi trường có bổ sung IBA, tỷ lệ mẫu lá tạo mô sẹo và trọng lượng mô sẹo tăng tỷ lệ thuận với nồng độ

IBA, đạt mức cao nhất (80% và 0.231 g) ở nồng độ IBA 0.03 mg/L. Ở môi trường có bổ sung NAA, tỷ lệ mẫu lá tạo mô sẹo cao nhất (93%) ở nồng độ NAA 0.01 mg/L nhưng trọng lượng mô sẹo lại cao nhất (0.0357 g) ở nồng độ 0.03 mg/L (Bảng 4, Hình 3).



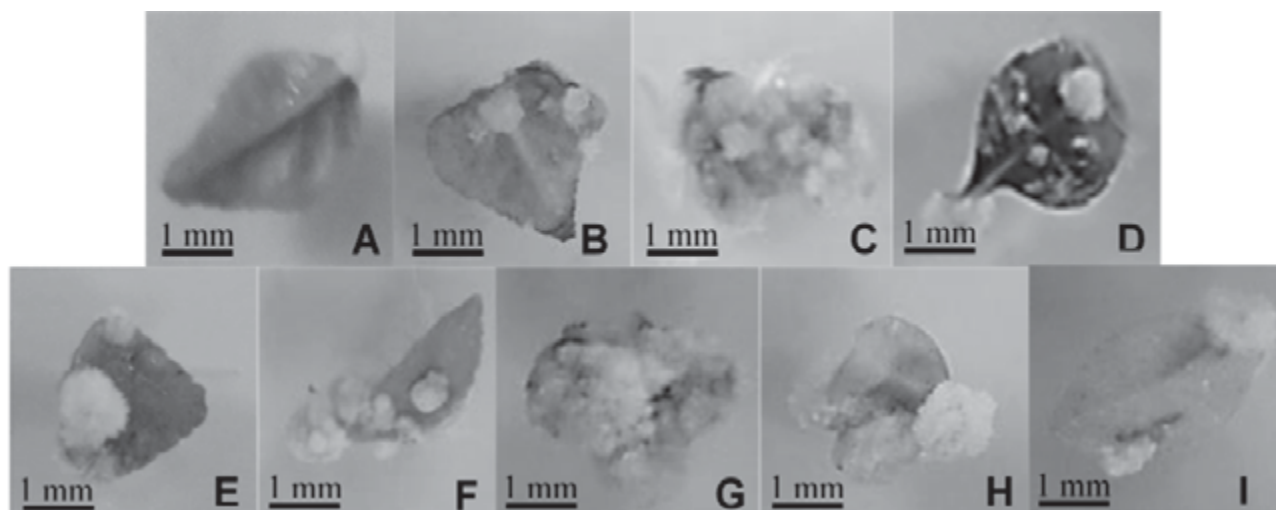
Hình 2. Sự tạo mô sẹo từ lá muồng trướng *in vivo* trên môi trường MS bổ sung BA, NAA và 2,4-D ở các nồng độ khác nhau sau 4 tuần nuôi cấy. A, B, C, D: MS + 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L NAA; E, F, G, H: MS + 0.5 mg/L BA kết hợp với 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L NAA; I, J, K, L: MS + 0.5 mg/L BA + 0.1 mg/L 2,4-D + 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L NAA

Bảng 4. Sự tạo mô sẹo từ lá muồng trướng *in vitro* trên môi trường WPM bổ sung IBA hay NAA ở các nồng độ khác nhau sau 8 tuần nuôi cấy

IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Trọng lượng tươi mô sẹo (g)
-	-	63.33 ^{bc}	0.0043 ^d
0.01	-	60.00 ^d	0.0073 ^{cd}
0.03	-	80.00 ^{ab}	0.0231 ^b

0.05	-	86.67 ^a	0.0138 ^c
0.10	-	66.67 ^{bc}	0.0097 ^{cd}
	0.01	93.33 ^a	0.0060 ^{cd}
	0.03	66.67 ^{bc}	0.0357 ^a
	0.05	53.33 ^d	0.0107 ^{cd}
	0.10	66.67 ^{bc}	0.0046 ^d
ANOVA		**	**
CV(%)		14.32	12.04

Ghi chú: các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p \leq 0.05$, (-): không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng



Hình 3. Sự tạo mô sẹo của lá chuối trưởng in vitro trên môi trường WPM bổ sung IBA hay NAA ở các nồng độ khác nhau sau 8 tuần nuôi cấy. A: WPM; B, C, D, E: WPM + 0.01, 0.03, 0.05, 0.10 mg/L IBA; F, G, H, I: WPM + 0.01, 0.03, 0.05, 0.10 mg/L NAA

Xem xét trên hai tiêu chí về tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo và trọng lượng mô sẹo có thể nhận thấy IBA và NAA ở nồng độ 0.03 mg/L cảm ứng tạo mô sẹo từ lá *in vitro* tốt hơn so với các nồng độ còn lại. Sự tạo mô sẹo từ lá *in vitro* xảy ra tương đối dễ dàng hơn so với lá *in vivo*. Các mẫu lá *in vitro* có thể tạo mô sẹo với tỷ lệ cao chỉ với sự hiện diện của auxin (NAA) mà không cần bổ sung cytokinin (BA) như trường hợp mẫu lá *in vivo*.

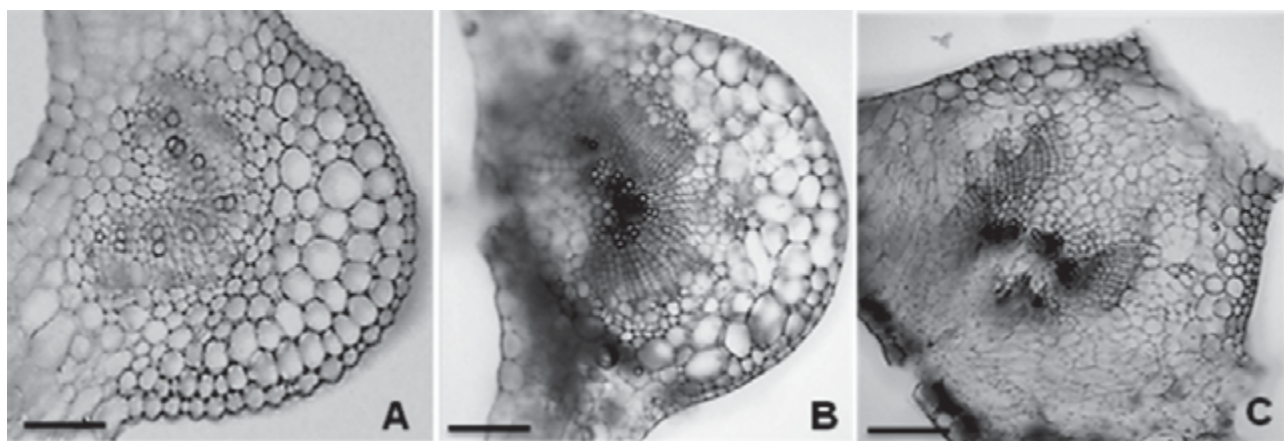
Kết quả giải phẫu và quan sát mẫu lá (*in vivo*) nuôi cấy trên môi trường tạo mô sẹo cho thấy

có sự phân chia của các nhóm tế bào ở vùng nhu mô và mô mạch sau một tuần (Hình 4B) so với thời điểm bắt đầu nuôi cấy (Hình 4A). Sau 4 tuần nuôi cấy, hoạt động phân chia tế bào diễn ra mạnh mẽ, dẫn đến sự phá vỡ biểu bì lá và hình thành các nhóm tế bào mô sẹo (Hình 4B).

Trong nuôi cấy *in vitro*, sự hiện diện của auxin riêng lẻ hay kết hợp với cytokinin trong môi trường nuôi cấy sẽ dẫn đến sự tạo mô sẹo. Quá trình tạo mô sẹo thường bắt đầu với sự khử phân hóa tế bào nhu mô, phân chia tế bào tăng sinh mạch hay xáo trộn phân chia của các mô

phân sinh cấp một. Tùy thuộc vào trạng thái sinh lý của mô cấy mà loại và nồng độ auxin áp dụng có sự thay đổi khác nhau [9]. Sự tạo mô sẹo từ lá cây muồng trướng đã xảy ra khi có mặt của auxin (NAA, IBA, 2,4-D) trong môi trường nuôi cấy và có sự khác biệt phụ thuộc vào trạng thái sinh lý của mô cấy. Các mô non của lá *in vitro* chỉ cần NAA hay IBA ở nồng độ thấp (0.03 mg/L) để tạo mô sẹo hiệu quả. Trái lại, các mô chuyên hóa của lá *in vivo*, để tạo mô sẹo hiệu quả, cần có NAA ở nồng độ cao hơn (0.3 mg/L) kết hợp với BA (0.5 mg/L) (Bảng 3, 4). Mô sẹo khởi phát từ sự tái lập hoạt động

phân chia của các tế bào nhu mô và sự phân chia của tế bào mô mạch (Hình 4B), sau đó phân chia lan rộng và phá vỡ biểu bì để tạo thành các khối mô sẹo trên bề mặt lá (Hình 4C). Điều này cho thấy quá trình tạo mô sẹo ở cây muồng trướng cũng diễn ra theo các nguyên tắc cơ bản về sự tạo mô sẹo của mô thực vật trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*. Việc tạo thành công mô sẹo từ hai nguồn vật liệu khác nhau (*in vitro* và *in vivo*) của cây muồng trướng trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* là tiền đề quan trọng để phát triển quy trình thu nhận sinh khối phục vụ cho sản xuất.



Hình 4. Hình thái giải phẫu mô lá cây muồng trướng nuôi cấy trên môi trường tạo mô sẹo sau 0 (A), 1 (B) và 4 (C) tuần. Mũi tên chỉ vị trí tế bào phân chia.

P: nhu mô, V: mô mạch

4. KẾT LUẬN

Mô sẹo cây muồng trướng có thể được tạo ra từ mô lá *in vivo* hay *in vitro*. Sự tạo mô sẹo xảy ra tốt nhất trên môi trường MS bổ sung

NAA (0.3 mg/L) kết hợp với BA (0.5 mg/L) đối với mô lá *in vivo* hay WPM bổ sung NAA (0.03 mg/L) hoặc IBA (0.03 mg/L) đối với mô lá *in vitro*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Đ. H. Bích, Đ. Q. Chung, B. X. Chương, N. T. Dong, Đ. T. Đàm, P. V. Hiển, V. N. Lộ, P. D. Mai, P. K. Mãn, Đ. T. Nhu, N. Tập, T. Toàn, “*Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*”. Thành phố Hồ Chí Minh: Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Tập II, 1255 tr, 2004.

[2] N. T. Dong, “Ứng bất bạc - Cây thuốc tốt cho gan”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*,

Số. 9, tr. 53-54, 2018.

[3] T. D. Dung, H-C. Chang, T. V. Binh, M-R. Lee, C-H. Tsai, F-J. Tsai, W-W Kuo, L-M Chen, C-Y. Huang, “*Zanthoxylum avicennae* extracts inhibit cell proliferation through protein phosphatase 2A activation in HA22T human hepatocellular carcinoma cells *in vitro* and *in vivo*”. *International journal of molecular*

medicine, Vol 29, No. 6, pp. 1045-1052, 2012.

[4] H. T. T. Hòa, H. T. Loan, N. B. Đăng, “Nghiên cứu nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống bioreactor và hiệu quả kinh tế khi sản xuất trong phòng thí nghiệm”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển*, Số 2, tr. 33-42, 2018.

[5] T. H. Anh, V. Đ. Quang, L. T. T. Tiên, “Sự tạo mô sẹo và dịch treo tế bào thông đỏ Lâm Đồng (*Taxus wallichiana* Zucc.) có khả năng sinh tổng hợp paclitaxel”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, Số 6, tập 7, tr. 57-64, 2016.

[6] Đ. T. Vinh, M. T. P. Hoa, L. T. N. Thảo, N. H. T. Nhã, T. V. Minh, “Sản xuất saponin bằng kỹ thuật nuôi cấy mô sẹo đỉnh lừng (*Polyscias fruticosa* L. Harms)”, *Tạp chí Sinh học*, Số 37, tập 1sc, tr. 135-141, 2015.

[7] T. Murashige, F. Skoog, “A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures”, *Physiologia Plantarum*, Vol 15, pp. 473-497, 1962.

[8] G. Lloyd and B. H. McCown, “Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture”, *Proceedings-International Plant Propagator's Society*, Vol. 30, pp. 421-427, 1980.

[9] B. T. Việt, “*Giáo trình Sinh lý học Thực vật, Phần 2: Phát triển*”, Thành phố Hồ Chí Minh: Nxb Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, 333tr, 2016.

[10] I. Machakova, E. Zazimalova, E. F. George, M.A. Hall, G. De Klerk, “Plant Propagation by Tissue Culture”, *Netherlands, Springer*, pp. 175-204, 2008.

Studying on callus induction of *Zanthoxylum avicennae* (Lam.) DC. leaf

Nguyen Van Long, Phan Le Tram Anh,
Nguyen Thi Kieu Linh and Nguyen Xuan Dung*

ABSTRACT

Zanthoxylum avicennae (Lam.) DC. is a medicinal plant that has been shown to inhibit the growth and metastasis of liver cancer cells. The development of in vitro biomass source for the production of liver protection products from muong truong is very important. In this work, in vitro and in vivo leaf were used as material sources of culture. The in vivo leaf sample was sterilized with javel solution to create a sterile sample used for the experiment. Both leaf samples (in vivo and in vitro) were cultured in medium supplemented with plant growth regulators for inducing callus. The results showed that the highest disinfection efficiency (100%) when in vivo leaf samples were sterilized with 20% javel solution in 10 minutes. Callus induction was best on MS medium supplemented with 0.3 mg/L NAA and 0.5 mg/L BA for in vivo leaf tissue or WPM supplemented with 0.03 mg/L NAA (IBA) for in vitro leaf tissue.

Keywords: BA, callus, IBA, leaf tissue, NAA, *Zanthoxylum avicennae*

Received: 06/05/2021

Revised: 02/06/2021

Accepted for publication: 03/06/2021