

ẢNH HƯỞNG CỦA LOẠI MẪU CÂY VÀ KINETIN ĐẾN SỰ CẢM ỨNG CALLUS *IN VITRO* CỦA CÂY SƯƠNG SÁO (*MESONA PROCUMBENS* HEMSL.)

EFFECTS OF TYPES OF EXPLANT AND KINETIN ON *IN VITRO* CALLUS INDUCTION OF *MESONA PROCUMBENS* HEMSL.

Trần Quang Dân^{1*}

¹Trường Đại học Sư phạm – Đại học Đà Nẵng

*Tác giả liên hệ: tqdan@ued.udn.vn

(Nhận bài: 19/3/2021; Chấp nhận đăng: 21/5/2021)

Tóm tắt - Callus là nguồn tế bào thực vật quan trọng được sử dụng cho nhiều mục đích khác nhau. Sự cảm ứng callus phụ thuộc vào nhiều yếu tố. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của các loại mẫu cây (đoạn thân, chồi bên, lá và cuống lá) và nồng độ (0,5 – 2,5 mg/L) của Kinetin (Kn) đến khả năng cảm ứng callus ở cây Sương sáo, một cây dược liệu có giá trị, đã được đánh giá. Kết quả cho thấy, callus được cảm ứng từ tất cả các loại mẫu cây nuôi trên các môi trường chứa Kn sau 7 – 10 ngày, với 06 dòng callus khác nhau về khả năng sinh trưởng và hình thái. Các callus hình thành ở dạng rời rạc hoặc rắn chắc; Có màu vàng, vàng xanh, vàng nhạt, hoặc trắng; Tạo khối cầu; Hình thành hoặc không hình thành rễ bất định. Các dòng callus này có thể trở thành nguồn tế bào thích hợp cho nuôi cấy huyền phù sản xuất các hợp chất thứ cấp hoặc tiến hành các nghiên cứu ở cấp độ phân tử và tế bào.

Từ khóa - Cây Sương sáo; thạch đen; cảm ứng callus; kinetin; mẫu cây

1. Đặt vấn đề

Cây Sương sáo (*Mesona procumbens* Hemsl., đồng danh: *Mesona chinensis* Benth., *Platostoma palustre* (Blume) A.J.Paton), thuộc chi Cỏ thạch, họ Bạc hà (Lamiaceae), là loài thực vật thảo có chiều cao 15 - 100 cm, phân bố chủ yếu ở các quốc gia khu vực Đông và Đông Nam Châu Á như: Trung Quốc, Đài Loan, Việt Nam, Singapore và Malaysia. Ở Việt Nam, Sương sáo mọc hoang dại ở vùng rừng núi và được trồng phổ biến ở các vùng trung du và miền núi phía Bắc cũng như một số tỉnh miền Nam [1-3]. Loài cây này được sử dụng như một loại thảo dược có giá trị trong cả y học cổ truyền lẫn y học hiện đại. Cây có chứa các hợp chất có tác dụng chống cảm mạo, say nắng và hạ sốt, hỗ trợ điều trị đau khớp, huyết áp cao, tiểu đường, viêm thận cấp và chống lão hóa [4-7]. Bên cạnh đó, Sương sáo cũng là một cây trồng nông nghiệp có giá trị kinh tế, phần thân cây là nguyên liệu chính dùng để chế biến nhiều loại thực phẩm có giàu trị dinh dưỡng và được sử dụng phổ biến như: thạch đen (black-grass jelly), trà thảo dược và nhiều loại thức uống công nghiệp khác [5, 6]. Các nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học đã được phân lập từ các bộ phận khác nhau của cây: Các hợp chất nhóm sterol (stigmasterol, α -sitosterol, triterpene, oleanolic acid và ursolic acid) [7], nhóm phenolic (protocatechuic acid, hydroxybenzoic acid, vanillic acid, caffeic acid, syringic acid) [4, 6, 7], polysaccharide (galactose, glucose, rhamnose, arabinose, mannose, MP-A, MP-U, MP-C) [8], 17 loại amino acid (trong đó có 7 amino acid thiết yếu) [3].

Abstract - Callus is an important source of plant cells used for a variety of purposes. Callus induction is dependent on various factors. In this study, effect of types of explants (stem segment, lateral bud, leaf and petiole) and concentrations (0.5 - 2.5 mg/L) of Kinetin (Kn) on callus induction of *Mesona procumbens* Hemsl., a valuable medicinal plant, was tested. Results have shown that, 06 callus lines with difference in growth and morphology were induced from all the types of explants cultured on Kn-containing media after 7 - 10 days. The induced calluses were friable or solid; Yellow, greenish yellow, light yellow, or white; Granule - like form; Having adventitious roots or not. These callus lines may become *M. procumbens* cell sources suitable for suspension cultures that produce valuable secondary compounds, or for researching on cell and molecular biology.

Key words - *Mesona procumbens* Hemsl.; black grass jelly; callus induction; kinetin; explants

Nhiều hợp chất thể hiện hoạt tính sinh học cao: Chống oxy hóa [4, 5, 7], bảo vệ gan [9], tăng hệ miễn dịch [6], chống đột biến [10], giảm cholesterol trên các mô hình động vật thí nghiệm và tế bào người. Đáng chú ý, khả năng tạo cấu trúc gel và hoạt tính sinh học của các polysaccharide đã làm cho cây Sương sáo trở thành một nguồn nguyên liệu sản xuất chất tạo đông, màng bao sinh học ứng dụng trong công nghiệp chế biến thực phẩm. Tất nhiên, điều này sẽ đòi hỏi một nguồn sản xuất các hợp chất polysaccharide chủ động và có chất lượng ở quy mô công nghiệp bên cạnh nguồn nguyên liệu từ các cây trồng. Bên cạnh đó, vẫn còn nhiều hợp chất có giá trị vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ.

Nuôi cấy huyền phù tế bào thực vật (*plant cell suspension culture*) là kỹ thuật tạo sinh khối tế bào trong các hệ thống nuôi cấy môi trường lỏng. Nuôi cấy huyền phù đã được ứng dụng như một mô hình có hiệu quả trong sản xuất các hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học cũng như nghiên cứu các quá trình sinh lý phức tạp ở mức độ tế bào và phân tử ở thực vật [11]. Đến nay, rất nhiều hợp chất có giá trị đã được sản xuất bằng các hệ thống nuôi cấy huyền phù tế bào [11, 12]. Nguyên liệu ban đầu sử dụng để nuôi cấy huyền phù thường là các tế bào callus (một dạng tế bào phân chia vô tổ chức), tồn tại dưới dạng rời rạc và có tốc độ sinh trưởng nhanh. Việc cảm ứng callus phụ thuộc vào các yếu tố khác nhau: Mẫu cây, môi trường dinh dưỡng, chất điều hòa sinh trưởng và thời gian nuôi cấy [12]. Đối với cây Sương sáo, các nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* vẫn còn hạn chế, chỉ có một số nghiên cứu đề cập đến khả năng tái sinh và nhân giống

¹ The University of Danang - University of Education (Tran Quang Dan)

[13-15]. Tuy nhiên, vẫn chưa có công trình nào nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố khác nhau đến khả năng cảm ứng và đặc tính của các dòng callus trong điều kiện nuôi cấy.

Vì vậy, trong bài báo này, tác giả đã nghiên cứu ảnh hưởng của các loại mẫu cây (đoạn thân, lá, chồi bên và cuống lá) và Kn đến khả năng cảm ứng callus của cây Sương sáo, nhằm tạo nguồn nguyên liệu cho việc phát triển hệ thống nuôi cấy huyền phù tế bào sản xuất các hợp chất thứ cấp, cũng như tạo mô hình tế bào cho các nghiên cứu di truyền phân tử và sinh lý phức tạp ở loài cây này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Cây Sương sáo được tái sinh *in vitro* từ hạt gieo trên môi trường nuôi cấy chứa các thành phần cơ bản MS [16] có bổ sung 30 g/L sucrose và 8 g/L agarose. Các đoạn thân chứa mắt chồi từ cây khoảng 1 - 2 tháng tuổi đã được cấy chuyển trên cùng môi trường nuôi cấy để tái sinh cây mới nhằm tạo nguồn mẫu cây cho các thí nghiệm nuôi cấy để cảm ứng callus.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Ảnh hưởng của loại mẫu cây và nồng độ kinetin đến cảm ứng callus

Bốn loại mẫu cây khác nhau: Đoạn thân có chiều dài khoảng 1,0 cm, lá có kích thước khoảng 0,5 cm (chiều rộng) x 1,0 cm (chiều dài), chồi bên (đã cắt bỏ phần thân chính), cuống lá có chiều dài khoảng 0,5 - 1,0 cm, được tách từ cây tái sinh *in vitro* sau 1 - 2 tháng tuổi. Các mẫu cây được tạo vết thương bởi đầu dao cấy trước khi cấy trên môi trường môi trường dinh dưỡng khoáng MS [16] có bổ sung 4 mg/L α -Naphthaleneacetic acid (NAA) + Kn ở các mức nồng độ khác nhau từ 0,5 - 2,5 mg/L. Các mẫu lá, đoạn thân, cuống lá và chồi bên có khối lượng ban đầu khoảng

0,001 - 0,003 g. Các thông số: Thời gian bắt đầu phát sinh callus (ngày), tỉ lệ mẫu cây cảm ứng (%), khối lượng (g) và đặc điểm hình thái callus được theo dõi sau 4 tuần để đánh giá khả năng cảm ứng các dòng callus ở các nghiệm thức.

2.2.2. Chuẩn bị môi trường và điều kiện nuôi cấy

Toàn bộ môi trường nuôi cấy cảm ứng callus được bổ sung 30 g/L sucrose, 8,0 g/L agarose và điều chỉnh pH = 5,7 trước khi khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong 15 phút bằng nồi hấp khử trùng autoclave. Mẫu sau khi cấy trên môi trường được nuôi trong điều kiện tối, ở điều kiện nhiệt độ 25°C. Các thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử thực vật, Khoa Nông học, Trường Đại học Quốc gia Đài Loan.

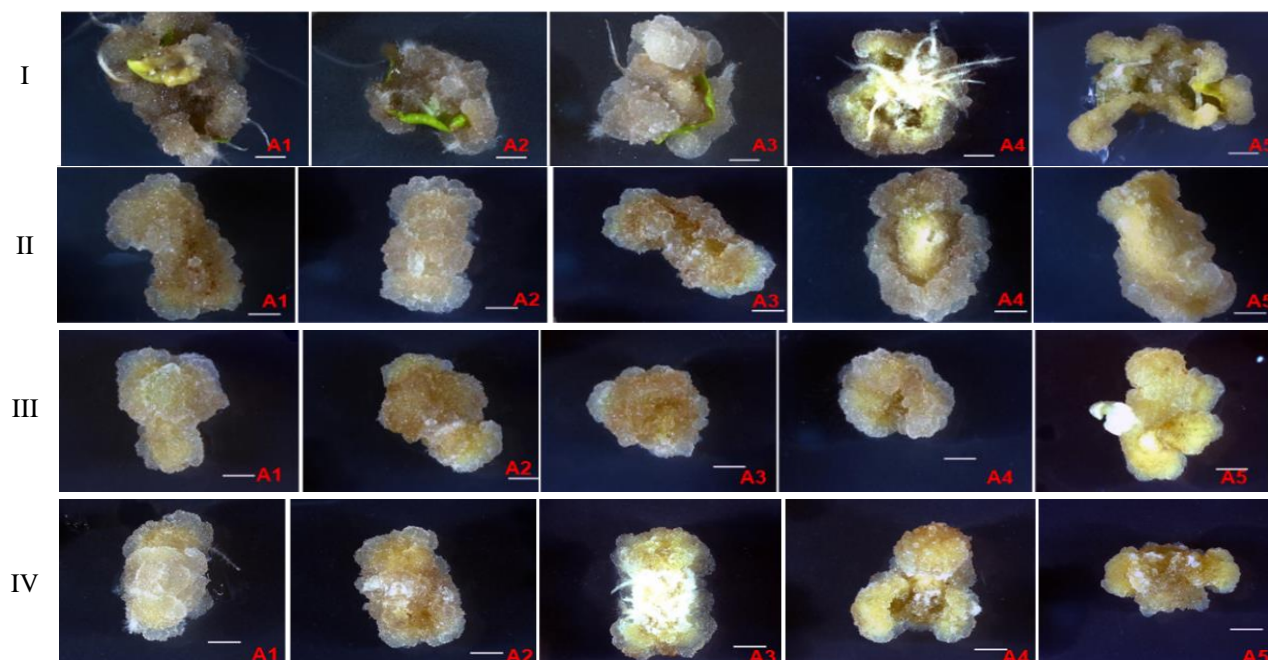
2.2.3. Bố trí thí nghiệm và xử lý dữ liệu

Đối với mỗi loại mẫu cây hoặc mức nồng độ Kn, 15 mẫu được cấy ngẫu nhiên trên môi trường và các thí nghiệm được lặp lại 03 lần. Các giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức theo với Duncan's test đã được xử lý bằng phần mềm SAS với mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của loại mẫu cây đến khả năng cảm ứng callus

Hầu hết các mẫu cây đều cảm ứng callus sau 1 tháng nuôi cấy trên môi trường. Tỷ lệ mẫu cảm ứng callus đạt 100% (Bảng 1). Các loại mẫu cây khác nhau thể hiện sự ảnh hưởng khác nhau đến khả năng cảm ứng callus của cây Sương sáo (Bảng 1). Thời gian bắt đầu cảm ứng khoảng 7 - 8 ngày đối với các mẫu đoạn thân, chồi bên và cuống lá; Khoảng 9 - 10 ngày đối với mẫu lá. Các callus có xu hướng xuất hiện từ các vị trí vết thương trên mẫu cây, sau đó tăng sinh và lan dần ra xung quanh mẫu (Hình 1).



Hình 1. Đặc điểm callus cảm ứng từ các mẫu cây và nồng độ Kn khác nhau. Các ký hiệu I - IV: tương ứng các mẫu lá, đoạn thân, chồi bên, cuống lá; A1- A5: tương ứng các nồng độ 0,5 - 2,5 mg/L Kn

Bảng 1. Ảnh hưởng của các loại mẫu cấy và nồng độ Kn đến khả năng cảm ứng callus

Mẫu cấy	Nồng độ Kn (mg/L)	Khả năng cảm ứng callus			
		Thời gian bắt đầu cảm ứng (ngày)	Tỷ lệ mẫu cảm ứng (%)	Khối lượng (g) ¹	Đặc điểm hình thái callus ²
Lá	0,5	9 - 10	100	0,184±0,025 ^a	F, W, G, R3
	1,0	9 - 10	100	0,177±0,012 ^{ab}	F, W, G, R3
	1,5	9 - 10	100	0,173±0,013 ^{abc}	F, W, G, R2
	2,0	9 - 10	100	0,139±0,015 ^{bcd}	F, W, G, R2
	2,5	9 - 10	100	0,102±0,010 ^{ef}	C, GY, G, R1
Đoạn thân	0,5	7 - 8	100	0,143±0,010 ^{bcd}	F, W, G, R1
	1,0	7 - 8	100	0,138±0,011 ^{bcd}	F, W, G, R1
	1,5	7 - 8	100	0,136±0,014 ^{cdef}	F, W, G, R1
	2,0	7 - 8	100	0,172±0,008 ^{abc}	F, W, G, R1
	2,5	7 - 8	100	0,101±0,008 ^{ef}	F, LY, G
Chồi bên	0,5	7 - 8	100	0,111±0,013 ^{def}	F, W, R1
	1,0	7 - 8	100	0,132±0,013 ^{def}	F, W, G, R1
	1,5	7 - 8	100	0,125±0,017 ^{def}	F, W, G, R1
	2,0	7 - 8	100	0,109±0,011 ^{def}	F, W, G
	2,5	7 - 8	100	0,062±0,006 ^g	F, LY, G
Cuống lá	0,5	7 - 8	100	0,123±0,011 ^{def}	F, W, R1
	1,0	7 - 8	100	0,101±0,009 ^{ef}	F, W, G, R1
	1,5	7 - 8	100	0,108±0,010 ^{def}	F, W, G, R1
	2,0	7 - 8	100	0,097±0,007 ^f	F, LY, G
	2,5	7 - 8	100	0,058±0,005 ^g	F, Y, G

Ghi chú: ¹ Các chữ cái khác nhau trong cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức theo Duncan's test với mức ý nghĩa $p < 0,05$; ² Các chữ cái viết tắt chỉ trạng thái callus. F: rời rạc, C: rắn chắc, G: khối cầu, Y: màu vàng, LY: vàng nhạt, GY: vàng xanh, W: trắng; R1 - R3: tương ứng mức độ phát sinh rễ ít, trung bình và nhiều.

Callus từ các mẫu khác nhau có tốc độ sinh trưởng khác nhau sau khi hình thành. Mặc dù, thời gian bắt đầu cảm ứng callus trễ hơn khoảng 1 - 2 ngày so với các loại mẫu còn lại, nhưng callus từ lá cho thấy, khả năng sinh trưởng nhanh hơn với khối lượng callus đạt khoảng 0,102 - 0,184 g sau 1 tháng. Trong khi đó, khả năng sinh trưởng callus từ đoạn thân đạt khoảng 0,101 - 0,172 g, chồi bên đạt khoảng 0,062 - 0,132 g, đoạn cuống lá đạt khoảng 0,058 - 0,123 g (Bảng 1). Khối lượng callus lớn nhất có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) đạt 0,184 g đã được quan sát ở callus phát sinh từ mẫu lá. Điều này cho thấy, mẫu lá đã cảm ứng một dòng tế bào callus khác biệt với các loại mẫu còn lại về tốc độ sinh trưởng.

Nhìn chung, tất cả các callus hình thành từ các mẫu cấy khác nhau đều ở dạng rời rạc, màu trắng, tạo khối hình cầu, ngoại trừ callus của các mẫu nuôi trên môi trường với nồng độ 2,0 - 2,5 mg/L Kn. Trên các môi trường này callus có sự khác nhau về hình thái, các callus từ lá rắn chắc, có màu xanh nhạt (Hình II-A5), trong khi callus từ đoạn thân và chồi bên có màu vàng nhạt (Hình III-A5 và III-A5), còn callus từ cuống lá có màu vàng (Hình IV-A5). Bên cạnh cảm ứng callus, các rễ bất định còn được cảm ứng với mức độ khác nhau, tùy thuộc vào loại mẫu. Mẫu lá có xu hướng hình thành nhiều rễ bất định hơn so với các mẫu còn lại (Hình II). Các rễ bất định này có thể phát sinh trực tiếp từ mẫu cấy hoặc gián tiếp từ các callus hình thành.

Các kết quả thu được trong nghiên cứu này cho thấy, các loại mẫu khác nhau đã hình thành các dòng callus khác nhau. Kết quả tương tự cũng được quan sát ở nhiều đối tượng thực vật khác [12]. Một số tác giả cho rằng, sự khác biệt trong việc cảm ứng callus là do sự khác nhau về tính chất mô, tế bào và trạng thái của chúng; Tuy nhiên, vẫn còn thiếu các bằng chứng sinh lý, phân tử để lý giải rõ ràng.

3.2. Ảnh hưởng của Kn đến khả năng cảm ứng callus

Bên cạnh các mẫu cấy, trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của Kn ở các nồng độ khác nhau đến khả năng cảm ứng callus của cây Sương sáo cũng được đánh giá. Ở một thí nghiệm khác, các mẫu nuôi trên môi trường MS không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng đã không hình thành callus và có dấu hiệu chết dần (không trình bày trong bài báo này).

Đối với mẫu lá, 100% mẫu cấy đã phát sinh callus sau 9 - 10 ngày, các callus hình thành ở dạng rời rạc và có màu trắng khi nuôi cấy trên môi trường bổ sung Kn (Bảng 1, Hình 1). Khi nồng độ Kn tăng dần trong khoảng 0,5 - 2,5 mg/L thì khả năng sinh trưởng của callus có xu hướng giảm, khối lượng tế bào sau 1 tháng nuôi cấy giảm từ 0,184 g đến 0,102 g (Bảng 1), đồng thời sự hình thành rễ bất định từ mẫu cấy cũng ít đi (Hình II). Bên cạnh đó, đáng chú ý ở nồng độ 2,5 mg/L Kn, các callus hình thành ở dạng rắn chắc và có màu xanh nhạt. Thông thường, các dòng callus này sẽ có xu hướng phát sinh phôi hoặc tái sinh chồi trực

tiếp nếu được duy trì trong cùng điều kiện hoặc cấy chuyên sang môi trường thích hợp [13, 17]. Đây chính là dòng tế bào có thể sử dụng để nghiên cứu các quá trình, cơ chế sinh lý, phân tử ở cấp độ tế bào. Có nhiều rễ bất định hình thành từ các mẫu nuôi cấy trên môi trường 0,5 - 2,0 mg/L Kn. Hiện nay, nhiều nghiên cứu cho thấy, việc nuôi cấy rễ bất định cũng là một phương pháp có hiệu quả trong việc sản xuất các hợp chất thứ cấp, đặc biệt là các nhóm chất tích lũy nhiều ở rễ bất định.

Trong khi đó, toàn bộ mẫu đoạn thân và chồi bên cũng đã cảm ứng callus sau 7 - 8 ngày (Bảng 1). Nồng độ 0,5 - 2,5 mg/L Kn có cùng một kiểu ảnh hưởng đến khả năng cảm ứng của đoạn thân và chồi bên, các callus hình thành đều ở dạng rời rạc, tạo khối cầu, màu trắng và ít rễ bất định (Hình 1II, 1III). Tuy nhiên, trên môi trường chứa 2,0 mg/L Kn một dòng callus ở dạng rời rạc, màu trắng, tạo khối cầu và không hình thành rễ bất định đã được cảm ứng từ chồi bên (Hình 1III - A4), trong khi một dòng callus khác (ở dạng rời rạc, màu trắng, tạo khối cầu và hình thành rễ bất định) đã được cảm ứng từ đoạn thân ở nồng độ 0,5 mg/L Kn (Hình 1III - A1). Ngoài ra, khả năng sinh trưởng của callus không thay đổi đáng kể khi nồng độ tăng từ 0,5 đến 2,0 mg/L, đạt khoảng 0,109 - 0,172 g. Tuy nhiên, khả năng sinh trưởng của callus cảm ứng từ hai loại mẫu này có xu hướng giảm ở nồng độ 2,5 mg/L Kn (khoảng 0,062 - 0,101 g) và hình thái callus cũng có sự khác biệt; Callus ở dạng rời rạc, màu vàng nhạt, tạo khối cầu, không hình thành rễ bất định (Hình 1III-A5, 1III-A5). Dòng callus này cho thấy, khả năng phù hợp để phát triển thành nguyên liệu nuôi cấy huyền phù tế bào với mục đích sản xuất các hợp chất thứ cấp [11, 12]. Tác giả đã tiến hành cấy chuyên các callus này trên cùng một môi trường để theo dõi khả năng sinh trưởng của chúng.

Đối với cuống lá, Kn cũng cho thấy, có sự ảnh hưởng ý nghĩa đến khả năng cảm ứng callus. Hầu hết mẫu cảm ứng callu sau 7 - 8 ngày nuôi cấy (Bảng 1). Các callus hình thành ở dạng rời rạc, tạo khối cầu, có màu trắng, vàng nhạt hoặc vàng (Hình 1IV). Sự sinh trưởng của callus có sự khác biệt khi nồng độ Kn tăng trong khoảng 0,5 - 2,5 mg/L: khối lượng callus thay đổi không đáng kể khi nuôi cấy trên môi trường có nồng độ từ 0,5 đến 1,5 mg/L, đạt từ 0,101 g đến 0,123 g. Tuy nhiên, ở nồng độ Kn từ 2,0 đến 2,5 mg/L khối lượng callus giảm đáng kể, chỉ đạt 0,058 đến 0,097 g (Bảng 1). Ngoài ra, callus hình thành ở các nồng độ Kn này có màu vàng hoặc vàng nhạt (Hình 1IV-A4 và A5). Tương tự, tác giả nhận thấy, những dòng callus cảm ứng từ cuống lá trên môi trường có chứa 2,0 - 2,5 mg/L Kn có khả năng phát triển thành các tế bào phục vụ cho nuôi cấy huyền phù.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, các loại mẫu cây và nồng độ Kn có ảnh hưởng khác nhau đến sự hình thành callus cây Sương sáo. Callus đã được cảm ứng từ tất cả các mẫu nuôi cấy trên môi trường chứa 0,5 - 2,5 mg/L Kn, với khả năng sinh trưởng và hình thái callus khác nhau. Căn cứ vào sự khác biệt về hình thái, 06 dòng callus (L) khác nhau đã được cảm ứng từ mẫu nuôi trên các môi trường: L1 - dòng callus dạng rời rạc, màu trắng, tạo khối cầu, hình thành rễ bất định; L2 - dòng callus ở dạng rắn chắc, màu vàng xanh, tạo khối cầu, hình thành rễ bất định; L3 - dòng callus dạng rời rạc, màu trắng, tạo khối cầu, hình thành rễ bất định; L4

- dòng callus dạng rời rạc, màu vàng nhạt, tạo khối cầu, không hình thành rễ bất định; L5 - dòng callus dạng rời rạc, màu trắng, tạo khối cầu, không hình thành rễ bất định; L6 - dòng callus dạng rời rạc, màu vàng, tạo khối cầu, không hình thành rễ bất định.

Lời cảm ơn: Tác giả gửi lời cảm ơn đến Giáo sư Pung-Ling Huang và Giáo sư Yin-Yin Do, Trường Đại học Quốc gia Đài Loan vì những hỗ trợ trong quá trình tiến hành các thí nghiệm trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Santoso H., "Platostoma palustre (Blume) A. J. Paton Lamiaceae", *Ethnobotany of the Mountain Regions of Southeast Asia*, 2021, 1-5, https://doi.org/10.1007/978-3-030-14116-5_237-1.
- [2] Zhao Z. G., Shi Y. P., Huang N. Z., Fu C. M., Tang F. L., Jiang Q. Y., "The research advances on *Mesona chinensis* Benth in China", *Journal of Southern Agriculture*, 42(6), 2011, 657-660.
- [3] Nguyễn Hải Linh, Ma Diệu Quỳnh, Ma Thị Thu Lê, Bùi Thị Thu Thủy, Vũ Thị Minh Hồng, Nguyễn Thị Hồng Hạnh, "Cao cây Sương sáo (*Mesona chinensis* Benth.) có tác dụng hỗ trợ điều trị béo phì trên chuột nhắt trắng", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*, 164(04), 2017, 195 - 199.
- [4] Lin K.-H., Shih M.-C., Wang P., Yu Y.-P., Lu C.-P., "Effect of different ethanolic concentrations on antioxidant properties and cytoprotective activities of *Platostoma palustre* Blume", *Natural Product Research*, 32(24), 2018, 2959-2963.
- [5] Li Q., Li Y. P., Li Q., Chen Z., Chen J., Geng S., "Evaluation of morphological and phytochemical characteristics of *Mesona chinensis* populations in southern China", *Plant Production Science*, 48, 2020, pp. 1-14.
- [6] Tang W., Chen X., Liu D., Xie J., "Bioactive components of *Mesona* Blume and their potential health benefits", *Food Reviews International*, 8, 2020, 1-16.
- [7] Hung C.-Y. and Yen G.-C., "Antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Mesona procumbens* Hemsl.", *J. Agric. Food Chem*, 50(10), 2002, 2993-2997.
- [8] Tang W., Shen M., Xie J., Liu D., Du M., Lin L., Xie M., "Physicochemical characterization, antioxidant activity of polysaccharides from *Mesona chinensis* Benth and their protective effect on injured NCTC-1469 cells induced by H₂O₂", *Carbohydrate Polymers*, 175, 2017, 538-546.
- [9] Wang W., Jiang L., Ren Y., Shen M., Xie J., "Characterizations and hepatoprotective effect of polysaccharides from *Mesona* Blumes against tetrachloride-induced acute liver injury in mice", *International journal of Biological Macromolecules*, 124, 2019, 788-795.
- [10] Yen G. C., Duh P. D., Hung Y. L., "Contributions of major components to the antimutagenic effect of Hsian-tsoo (*Mesona procumbens* Hemsl.)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 2001, 5000-5004.
- [11] Moscatiello R., Baldan B., Navazio L., *Plant cell suspension cultures: In Plant Mineral Nutrients*, Humana Press, Totowa, NJ., 2013, 77-93.
- [12] Efferth T., "Biotechnology applications of plant callus cultures", *Engineering*, 5(1), 2019, 50-59.
- [13] Lo S., Tsay H., "Effects of auxins and ventilation on growth and multiplication of plantlets of *Mesona procumbens* Hemsl.", *Journal of Taiwan Agricultural Research*, 60(4), 2011, 293-299.
- [14] Zhao Z.-G., Shi Y.-P., Huang N.-Z., Fu Z.-M., Tang F.-L., Jiang Q.-Y., "Rapid propagation of *Mesona chinensis* Benth. in vitro and its optimization", *Southwest China Journal of Agricultural Science*, 24(4), 2011, 1472-1479.
- [15] Yan S.-Q., Zhang Y.-F., Xie Q.-H., Sang L., "Tissue culture and rapid propagation of *Mesona chinensis* Benth", *植物生理学通讯 (Plant Physiology Reports)*, 41(6), 2005, 791-792.
- [16] Murashige T., Skoog F., "A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures", *Physiol Plant*, 15, 1962, 473-497.
- [17] Yasuda T., Fujii Y., Yamaguchi T., "Embryogenic callus induction from *Coffea arabica* leaf explants by benzyladenine", *Plant and Cell Physiology*, 26(3), 1985, 595-597.