

**ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT KÍCH THÍCH SINH TRƯỞNG
TRONG NUÔI CÂY PHÁT SINH HÌNH THÁI IN VITRO ĐÌNH LĂNG
(*POLYSCIAS FRUTICOSA* (L.) HARMS)**

**Trương Thị Bích Phượng, Văn Phú Trung,
Nguyễn Đức Tuấn, Phạm Phú Bình**
Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

Đình lăng (*Polyscias fruticosa* (L.)Harms)thuộc họ Nhân Sâm (Araliaceae), được sử dụng rộng rãi ở Việt Nam như là một chất bổ trợ điều trị thiếu máu cục bộ và tiêu viêm, tăng lượng máu trong não (Do, 2000). Vỏ rễ và lá đình lăng chứa nhiều saponin (rễ 0,49%, vỏ rễ 1%, lõi rễ 0,11%, lá 0,38%) (Võ Xuân Minh, 1991), alkaloid, các vitamine B₁, B₂, B₆, C, 20 acid amine, glycoside, phytosterol, tanin, acid hữu cơ, tinh dầu, nhiều nguyên tố vi lượng, 21,10% đường, trong đó hai hợp chất chính quan trọng ở rễ và lá của đình lăng là polyacetylen và saponin (Vo, 1998).

Tuy nhiên lượng saponin triterpen tự nhiên trong cây đình lăng chưa đáp ứng đủ nhu cầu về dược liệu. Nuôi cây tế bào thực vật có thể cung cấp nguồn nguyên liệu dồi dào để tách chiết ở quy mô công nghiệp các hoạt chất mà không phụ thuộc vào điều kiện tự nhiên (Mulabagal & Tsay, 2004). Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá ảnh hưởng của 2 loại auxin là 2,4-D và NAA đến phát sinh hình thái trong nuôi cấy tế bào đình lăng. Từ đó, xác định loại auxin ở nồng độ thích hợp nhất giúp nhân sinh khối tế bào, rễ sử dụng cho tách chiết hợp chất và tạo nguồn phôi phục vụ cho nhân giống *in vitro*.

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Vật liệu nghiên cứu là callus phát sinh từ phần gốc của bẹ lá (1,0 cm) đình lăng (*Polyscias fruticosa* (L.)Harms) do phòng thí nghiệm Bộ môn Sinh học Ứng dụng, khoa Sinh học trường Đại học Khoa học, Đại học Huế cung cấp.

2. Nuôi cấy callus

Các callus sơ cấp hình thành từ phần gốc của bẹ lá đình lăng có màu vàng nhạt, rắn và rời rạc, được tách thành các khối nhỏ (đường kính 2-3 mm) và cấy chuyển lên môi trường MS bổ sung 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) hoặc α -naphthaleneacetic acid (NAA) nồng độ 0,5-2,0 mg/l để nhân callus. Đánh giá ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy callus trên môi trường tối ưu đến hình thái và sinh trưởng của callus.

Callus được cấy chuyển 8 tuần/lần trên cùng môi trường để nhân sinh khối, tạo nguyên liệu cho nuôi cấy huyền phù tế bào.

3. Nuôi cấy huyền phù tế bào

Thiết lập nuôi cấy huyền phù tế bào bằng cách cấy chuyển 2 g callus 8 tuần tuổi vào bình tam giác 250 ml, chứa 50 ml môi trường bổ sung 3% sucrose, NAA và 2,4-D được sử dụng để khảo sát ở các nồng độ khác nhau (0,5; 1; 1,5; 2,0 mg/l), nuôi trên máy lắc với tốc độ lắc 110 vòng/phút. Đánh giá ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng đến sinh trưởng và phát sinh hình thái tế bào:

- Đánh giá hình thái tế bào ở các khoảng thời gian khác nhau dựa vào mức độ phóng thích và kết cụm tế bào, sự phát sinh phôi, quá trình tạo rễ và cụm rễ. Đếm số lượng tế bào phát sinh phôi và phát sinh rễ.

- Xác định khả năng sinh trưởng của tế bào: khả năng sinh trưởng của tế bào nuôi cấy huyền phù được đánh giá qua khối tươi của tế bào. Sinh khối tươi của tế bào được thu bằng cách lọc chân không dịch tế bào, sau đó rửa bằng nước cất để loại bỏ môi trường, cân (độ chính xác 10^{-3} g) để xác định khối lượng tươi.

4. Xử lý thống kê

Mỗi công thức tiến hành trên 10 mẫu đối với nuôi cấy callus và 3 mẫu đối với nuôi cấy huyền phù tế bào, các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả thí nghiệm được xử lý để thu giá trị trung bình và phân tích Duncan's test bằng phần mềm SPSS 16.0 với mức xác suất có ý nghĩa $p < 0,05$.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Nuôi cấy callus đỉnh lã

Khảo sát nuôi cấy callus đỉnh lã cho thấy môi trường MS bổ sung saccharose 3%, agar 8 g/l, 2,4-D 1,0 mg/l hoặc NAA 1,0 mg/l thích hợp nhất cho sự hình thành và phát triển của callus (số liệu không trình bày chi tiết).

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến đặc điểm hình thái và sinh trưởng của callus trên môi trường MS bổ sung saccharose 3%, agar 8 g/l, 2,4-D 1,0 mg/l hoặc NAA 1,0 mg/l đến đặc điểm hình thái và sinh trưởng của callus được trình bày ở bảng 1 và bảng 2.

Bảng 1

Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến đặc điểm hình thái và sinh trưởng của callus nuôi cấy trên môi trường bổ sung 2,4-D 1,0 mg/l

Thời gian (tuần)	Đặc điểm callus	Màu sắc callus	Sinh trưởng callus
2	Mềm, mỏng nước	Trắng	+
4	Mềm, mỏng nước, bắt đầu tăng sinh	Trắng	++
6	Tăng sinh mạnh, xốp bớt mỏng nước	Trắng, hơi ngả vàng xanh	+++
8	Rắn, kích thước cực đại	Vàng xanh	++++
10	Phủ chấm trắng li ti trên bề mặt, một số vùng hóa nâu	Vàng nâu	-

Chú thích: được áp dụng cho bảng 1 và bảng 2

++++ Sinh trưởng mạnh; +++ sinh trưởng khá; ++ sinh trưởng trung bình; + sinh trưởng yếu; - không sinh trưởng

Sau 2 tuần nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 1 mg/l 2,4-D, callus trong giai đoạn thích ứng với môi trường, chưa có dấu hiệu tăng sinh. Bắt đầu từ tuần thứ 4 callus bắt đầu tăng kích thước. Đến tuần thứ 6 thì callus tăng sinh mạnh, hóa xốp và đã bớt mỏng nước hơn, có màu trắng hơi ngả vàng xanh. Ở tuần thứ 8, callus sinh trưởng tốt nhất, kích thước đạt cực đại, khối callus rắn, rời rạc màu vàng nhạt. Đến tuần thứ 10, callus có dấu hiệu giảm sinh trưởng, một số tế bào hóa nâu và chết.

Như vậy, callus ở giai đoạn 8 tuần tuổi nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 1 mg/l 2,4-D là nguyên liệu thích hợp nhất cho nuôi cấy huyền phù.

Tương tự với trường hợp nuôi cấy trên môi trường bổ sung 2,4-D, sau 2 tuần nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung NAA 1,0 mg/l, callus trong giai đoạn thích ứng với môi trường, chưa có dấu hiệu tăng sinh. Tuy nhiên trên môi trường bổ sung NAA thời gian thích ứng kéo dài hơn so với môi trường bổ sung 2,4-D, phải đến tuần thứ 6 callus mới bắt đầu tăng sinh và sau đó

tăng sinh mạnh, hóa xốp và bớt mọng nước hơn, có màu trắng. Sau 8 tuần nuôi cấy, callus sinh trưởng tốt nhất, kích thước đạt cực đại, nhưng sinh trưởng của callus trên môi trường bổ sung 1,0 mg/l NAA kém hơn so với môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l 2,4-D. Callus có màu trắng dần ngả vàng xanh, một số phát sinh rễ bất định. Đến tuần thứ 10, callus có dấu hiệu giảm sinh trưởng mạnh, một số tế bào hóa nâu và chết.

Bảng 2

Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến đặc điểm hình thái và sinh trưởng của callus nuôi cấy trên môi trường bổ sung NAA 1,0 mg/l

Thời gian (tuần)	Đặc điểm callus	Màu sắc callus	Sinh trưởng callus
2	Mềm, mọng nước	Trắng	+
4	Mềm, mọng nước	Trắng	+
6	Bắt đầu tăng sinh, mô xốp	Trắng	++
8	Rắn, xốp, một số phát sinh rễ bất định	Trắng, ngả vàng xanh	+++
10	Một số vùng hóa nâu	Trắng, ngả vàng nâu	-



Hình 1: Callus trên môi trường bổ sung 2,4-D 1,0 mg/l sau:
a. 6 tuần b. 8 tuần c. 10 tuần



Hình 2: Callus trên môi trường bổ sung NAA 1,0 mg/l sau:
a. 6 tuần b. 8 tuần c. 10 tuần

Như vậy, callus ở giai đoạn 8 tuần tuổi nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 1 mg/l NAA là nguyên liệu thích hợp nhất cho nuôi cấy huyền phù.

Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Trung Hậu và cs. (2016), callus định lãng tạo thành trên môi trường MS bổ sung 0,5-1,0 mg/l 2,4-D và môi trường MS bổ sung 0,5-1,0 mg/l NAA sau 6 tuần nuôi cấy có dạng ướt xốp, màu vàng.

2. Nuôi cấy huyền phù tế bào

Callus 8 tuần tuổi, rời rạc, màu vàng xanh nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 3% sucrose, 2,4-D 1,0 mg/l hoặc NAA 1,0 mg/l được dùng làm nguyên liệu cho khảo sát trong nuôi cấy huyền phù. Nghiên cứu xác định ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến hình thái và sinh trưởng tế bào nuôi cấy.

Ảnh hưởng của 2,4-D

Kết quả ảnh hưởng của 2,4-D đến hình thái và sinh trưởng tế bào được trình bày ở bảng 3 và bảng 4.

Bảng 3

Ảnh hưởng của 2,4-D đến đặc điểm hình thái tế bào nuôi cấy huyền phù

Nồng độ 2,4-D (mg/l)	Tế bào		Phôi			Rễ		
	KLT (g)	% tính theo tổng KLT	Số TB tạo phôi/bình	KLT (g)	% tính theo tổng KLT	Số TB tạo rễ/bình	KLT (g)	% tính theo tổng KLT
0,0	nd	nd	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00
0,5	2,89 ^{b*}	100,00	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00
1,0	3,11 ^b	100,00	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00
1,5	5,70 ^a	85,84	13,00 ^a	0,93 ^a	14,01	1,20 ^a	0,01 ^a	0,15
2,0	2,89 ^b	100,00	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00

Kết quả trình bày ở bảng 3 cho thấy môi trường MS lỏng bổ sung 1,5 mg/l 2,4-D thích hợp để nuôi cấy huyền phù. Sau 8 tuần nuôi cấy, các tế bào sau khi tách rời tăng sinh mạnh, sau đó sang tuần thứ 12, một số tế bào có xu hướng kết khối lớn, mật độ tế bào trở nên đậm đặc, một số lớn tế bào phát sinh phôi và một ít tế bào tạo rễ. Ảnh hưởng của nồng độ 2,4-D đến phát sinh hình thái trong nuôi cấy huyền phù tế bào sau 12 tuần được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4

Ảnh hưởng của 2,4-D đến phát sinh hình thái trong nuôi cấy huyền phù tế bào

Nồng độ 2,4-D (mg/l)	Đặc điểm của tế bào nuôi cấy		
	Sau 4 tuần	Sau 8 tuần	Sau 12 tuần
0,0	Các tế bào bắt đầu phóng thích, tạo huyền phù tế bào	Có sự tăng lên của tế bào trong dịch nuôi cấy nhưng yếu và nhanh chóng suy giảm	Tế bào chết, dịch nuôi cấy chuyển màu đục, chứa ít xác tế bào
0,5	Các tế bào bắt đầu phóng thích, tạo huyền phù tế bào	Tế bào tách rời có sự phân chia, tăng số lượng và kích thước	Tế bào có xu hướng kết cụm nhỏ với số lượng ít, có xu hướng già hóa
1,0	Các tế bào bắt đầu phóng thích, tạo huyền phù tế bào	Tế bào tách rời có sự phân chia, tăng số lượng và kích thước	Các tế bào kết khối nhỏ với số lượng nhiều hơn, phôi và rễ vẫn chưa phát sinh.
1,5	Các tế bào bắt đầu phóng thích, tạo huyền phù tế bào	Tế bào tách rời có sự phân chia, tăng số lượng và kích thước	Các tế bào kết khối lớn, đậm đặc, phôi phát sinh số lượng nhiều hơn, rễ phát sinh rất ít và mảnh
2,0	Các tế bào bắt đầu phóng thích, tạo huyền phù tế bào	Tế bào tách rời có sự phân chia, tăng số lượng và kích thước	Tế bào có xu hướng già hóa, suy giảm nhanh

Chú thích: áp dụng cho bảng 4 và bảng 6

KLT: Khối lượng tươi nd: khối lượng rất nhỏ, không xác định được

* Các chữ cái a, b, c, ... khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncant's test)

Kết quả trình bày ở bảng 4 cho thấy trên môi trường MS không bổ sung chất kích thích sinh trưởng, các tế bào huyền phù từ callus nuôi cấy ban đầu bị chết, vỡ vụn, sau 12 tuần nuôi cấy chỉ còn lại một lớp mỏng, mịn xác bã tế bào và không thu được sinh khối. Môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l 2,4-D và 1,0 mg/l 2,4-D sau 12 tuần nuôi cấy sinh khối tế bào có xu hướng tăng nhưng không đáng kể so với lượng mẫu đưa vào, phôi, rễ vẫn chưa phát sinh. Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l 2,4-D sau 12 tuần nuôi cấy sinh khối tế bào tăng mạnh, tế bào phát sinh phôi trung bình (13 TB tạo phôi/bình nuôi cấy), một vài tế bào tạo rễ (1,2 rễ/bình nuôi cấy). Như vậy môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l 2,4-D là thích hợp nhất để nhân sinh khối tế bào.

Ảnh hưởng của NAA

Kết quả ảnh hưởng của NAA đến hình thái và sinh trưởng tế bào được trình bày ở bảng 5 và bảng 6.

Kết quả trình bày ở bảng 5 cho thấy môi trường MS lỏng bổ sung saccharose 3%, NAA 1,5 mg/l là thích hợp để nuôi cấy huyền phù. Các tế bào sau khi tách rời tăng sinh mạnh. Sau 8 tuần nuôi cấy, phôi phát sinh mạnh. Đến tuần thứ 12, nhiều tế bào tạo rễ, rễ phát sinh nhiều, dài và rắn, các khối tế bào kết cụm phát sinh các cụm rễ với số lượng lớn.

Bảng 5

Ảnh hưởng của NAA đến đặc điểm hình thái tế bào nuôi cấy huyền phù

Nồng độ NAA (mg/l)	Đặc điểm của tế bào nuôi cấy		
	Sau 4 tuần	Sau 8 tuần	Sau 12 tuần
0,0	Các tế bào bắt đầu phóng thích, tạo huyền phù tế bào	Các tế bào trong dịch nuôi cấy tăng nhẹ và nhanh chóng suy giảm	Tế bào chết, dịch nuôi cấy chỉ còn lại dịch đục chứa ít xác tế bào
0,5	Các tế bào bắt đầu phóng thích, tạo huyền phù tế bào	Các tế bào tách rời và tăng sinh mạnh	Một số tế bào kết cụm, phôi xuất hiện nhưng rất ít
1,0	Các tế bào bắt đầu phóng thích, tạo huyền phù tế bào	Các tế bào tách rời và tăng sinh mạnh	Cụm tế bào nhiều hơn, dịch tế bào đặc, phôi phát sinh nhiều hơn, một ít tế bào tạo rễ
1,5	Các tế bào bắt đầu phóng thích, tạo huyền phù tế bào	Các tế bào tách rời, phôi phát sinh mạnh	Rễ phát sinh nhiều, dài, rắn, các khối tế bào kết cụm phát sinh các cụm rễ với số lượng lớn
2,0	Các tế bào bắt đầu phóng thích, tạo huyền phù tế bào	Các tế bào tách rời, phôi bắt đầu phát sinh nhưng yếu	Rễ phát sinh mạnh nhưng không quá nhiều, rễ ngắn to, mọng nước, các cụm rễ cũng ít hơn

Kết quả trình bày ở bảng 6 cho thấy môi trường MS bổ sung NAA 0,5 mg/l các tế bào bắt đầu tăng sinh nhưng không đáng kể (2,55 g/bình nuôi cấy). Trên môi trường MS bổ sung NAA 1,0 mg/l, sau 12 tuần nuôi cấy sinh khối tế bào có xu hướng giảm xuống (1,89 g/bình), tế bào tạo phôi (5,50 phôi/bình nuôi cấy) và tế bào tạo rễ (1,00 rễ/bình nuôi cấy) phát sinh không đáng kể so với lượng mẫu đưa vào. Môi trường MS bổ sung 2,4-D 1,5 mg/l, sau 12 tuần nuôi cấy sinh khối tế bào giảm (1,0 g/bình nuôi cấy), phôi phát sinh mạnh (489 phôi/bình nuôi cấy), tế bào tạo rễ phát sinh nhiều (259,5 tế bào tạo rễ/bình nuôi cấy).

Bảng 6

Ảnh hưởng của NAA đến phát sinh hình thái trong nuôi cấy huyền phù tế bào

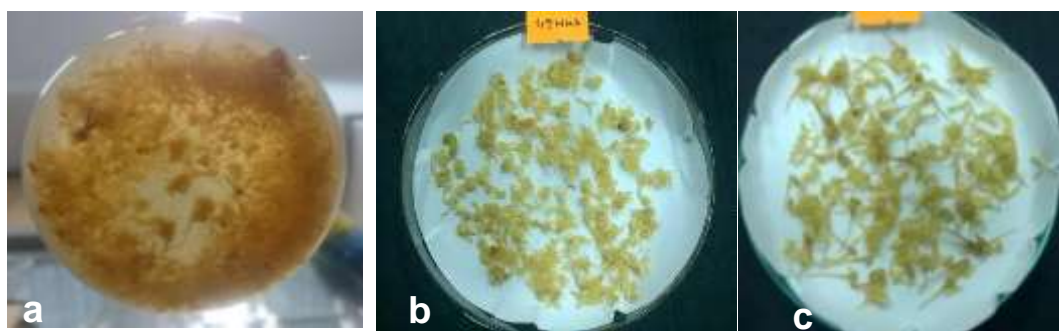
Nồng độ NAA (mg/l)	Tế bào		Phôi			Rễ		
	KLT (g)	% tính theo tổng KLT	Số phôi/bình	KLT (g)	% tính theo tổng KLT	Số rễ/bình	KLT (g)	% tính theo tổng KLT
0,0	nd	nd	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00	0,00 ^d	0,00 ^b	0,00
0,5	2,55 ^a	100,00	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00	0,00 ^d	0,00 ^b	0,00
1,0	1,89 ^{ab}	96,92	5,50 ^c	0,05 ^c	2,56	1,00 ^c	0,01 ^b	0,51
1,5	0,1 ^{bc}	0,85	489,00 ^a	6,24 ^a	53,20	259,50 ^a	5,39 ^a	45,95
2,0	0,07 ^c	0,70	222,00 ^b	4,71 ^b	47,05	158,50 ^b	5,23 ^a	52,25

Như vậy môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l NAA là thích hợp nhất cho nuôi cấy phát sinh phôi và rễ.



Hình 3: Huyền phù tế bào dinh lãng sau 12 tuần nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 1,5 mg/l

a. Dịch huyền phù b. Sinh khối tế bào



Hình 4: Huyền phù tế bào dinh lãng sau 12 tuần nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung NAA 1,5 mg/l

a. Dịch huyền phù b. Tế bào phát sinh phôi c. Tế bào phát sinh rễ

Theo Subbanarashimhan et al. (2012), trong số các auxin thì 2,4-D, 2,4,5-T cảm ứng tạo callus, trong khi NAA, indole-3-acetic acid, and indole-3-butyric acid cảm ứng tạo rễ. Môi trường lỏng MS có bổ sung 2,4-D 1mg/l và 20% nước dừa là môi trường thu nhận các dòng tế bào cây dinh lãng (*Polyscias fruticosa* L. Harms) có khả năng sinh phôi (Phạm Thị Tố Liên & Võ Thị Bạch Mai, 2007). 100% callus của cây hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hook f.) phát sinh phôi khi được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 1,8 mg/l và 2,0 mg/l 2,4-D (Hasbullah et al., 2015).

III. KẾT LUẬN

Callus 8 tuần tuổi nuôi trên môi trường MS bổ sung saccharose 3%, agar 8 g/l, 2,4-D 1,0 mg/l được sử dụng làm nguồn nguyên liệu cho nuôi cấy huyền phù. Môi trường MS bổ sung saccharose 3%, 2,4-D 1,5 mg/l là thích hợp nhất cho việc nhân sinh khối tế bào sau 12 tuần nuôi cấy. Môi trường MS bổ sung saccharose 3%, NAA 1,5 mg/l là thích hợp nhất cho tế bào phát sinh phôi và rễ sau 12 tuần nuôi cấy.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Do T. L.**, 2000. *Vietnamese Medicinal Plants and Remedies*. Hanoi. Medicine Publisher, 828-830.
2. **Nguyễn Trung Hậu, Mai Thị Phương Hoa, Trần Văn Minh**, 2016. Nuôi cấy mô lá đỉnh lãng (*Polyscias fruticosa* L. Harms) tạo mô sẹo và nhận biết hoạt chất saponin tích lũy. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học An Giang*, 11 (3): 33-41.
3. **Hasbullah N. A., Lassim M. M., Azis N. A., Daud N. F., Rasad F. M., and Amin M. A. M.**, 2015. Somatic Embryo Formation in *Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hook f. *in vitro*. *International Conference on Agricultural, Ecological and Medical Sciences (AEMS-2015)* April 7-8, 2015 Phuket (Thailand).
4. **Võ Xuân Minh**, 1991. Góp phần tìm hiểu về thành phần hóa học và dạng bào chế của cây Đinh Lăng. *Tạp chí Dược học*, 3: 19-21.
5. **Phạm Thị Tố Liên, Võ Thị Bạch Mai**, 2007. Bước đầu nghiên cứu tạo dịch treo tế bào cây đỉnh lãng (*Polyscias fruticosa* L. Harms). *Tạp chí Phát triển KH&CN*, 10(7): 11-16.
6. **Mulabagal V., Tsay H. S.**, 2004. Plant cell cultures- an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. *International Journal of Applied Science and Engineering* 2(1): 29-48.
7. **Vo D. H., Yamamura S., Ohtani K., Kasai R., Yamasaki K., Nguyen T. N., Hoang M.C.**, 1998. Oleanane saponins from *Polyscias fruticosa*. *Phytochemistry*, 47: 451-457.
8. **Subbanarashimhan B., Lingaiah R., Maniyam A.**, 2012. Effect of plant growth regulators on morphogenesis and forskolin production in *Plectranthus barbatus* Andrews. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 48: 208-215.

EFFECTS OF PLANT GROWTH REGULATORS ON *IN VITRO* MORPHOGENESIS OF *POLYSCIAS FRUTICOSA* (L.)HARMS

Truong Thi Bich Phuong, Van Phu Trung, Nguyen Duc Tuan, Pham Phu Binh

- SUMMARY

Polyscias fruticosa (L) Harm, a valuable medicinal plants, are grown popular in Viet nam. This paper presents the results of the study on effects of plant growth regulators on *in vitro* morphogenic response of *Polyscias fruticosa* (L.)Harms. Explants in this study is callus derived from *in vitro* leaf sheath base (1 cm in length) of *Polyscias fruticosa* (L.)Harms. Morphogenic responses varied depending on the concentrations of plant growth regulators added to the medium. After 8 weeks of culture, green yellow friable callus was transferred into suspension medium. Each 250 ml flasks containing 50 ml of the medium and 2.0 g of callus tissue were used for culture initiation. The maximum biomass yields of cell suspension culture of *Polyscias fruticosa* (L.)Harms is obtained in MS basal medium containing 2,4-D 1.5 mg/l, reach 6.35 g/flask. MS medium supplemented with NAA 1.5 mg/l is optimum for rooting (259,50 rooted cells/flask) and embryogenesis (489,00 embryos/flask).