

# Ảnh hưởng của một số tiền chất và elicitor đến sự tăng trưởng và hoạt tính ức chế $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ cây Ké hoa đào (*Urena lobata* L.) nuôi cấy *in vitro*

Vũ Thị Bạch Phượng\*, Cao Minh Đại, Quách Ngô Diễm Phương



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

## TÓM TẮT

Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh tiềm năng của rễ tơ *in vitro* Ké hoa đào (*Urena lobata* L.) trong việc ức chế  $\alpha$ -glucosidase, có thể dùng trong hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường tuýp 2. Để làm tăng hiệu suất nuôi cấy rễ tơ có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*, nghiên cứu này đã khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố về biến dưỡng đến sự tăng trưởng của rễ tơ Ké hoa đào. Cụ thể, các yếu tố biến dưỡng như tiền chất (L-phenylalanine, L-tyrosine) và elicitor (chitosan, methyl jasmonate, acid salicylic) sẽ được bổ sung vào môi trường nuôi cấy để khảo sát sự tăng trưởng và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ Ké hoa đào. Kết quả cho thấy đối với ảnh hưởng của tiền chất, chỉ có phenylalanine 1  $\mu$ M làm gia tăng sinh khối rễ và rễ tơ có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase cao nhất ở ngày nuôi cấy thứ 25. Trái lại, tyrosine lại không có vai trò trong việc làm tăng sinh khối và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase ở rễ tơ cây Ké hoa đào. Đối với ảnh hưởng của các elicitor được khảo sát, chỉ có chitosan 50 mg/L sau 3 ngày cảm ứng trong môi trường nuôi cấy thì rễ tơ có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase cao hơn mẫu đối chứng. Các elicitor còn lại như methyl jasmonate, acid salicylic tại các thời điểm khảo sát không có hoặc có hoạt tính thấp hơn so với mẫu đối chứng. Kết quả nghiên cứu này đã chứng minh tiềm năng của việc sử dụng phenylalanine và chitosan trong việc làm tăng hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase ở rễ tơ cây Ké hoa đào.

**Từ khóa:** elicitor, hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase, Ké hoa đào (*Urena lobata* L.), rễ tơ, tiền chất

## MỞ ĐẦU

Hiện nay, các kỹ thuật nuôi cấy thực vật vẫn đang được nghiên cứu và phát triển mạnh mẽ trên thế giới nhằm mục đích thu nhận sinh khối để sản xuất các hợp chất thứ cấp có giá trị trong thời gian ngắn nhưng vẫn đảm bảo chất lượng tương tự như nguồn rễ trồng ngoài tự nhiên. Một trong những kỹ thuật nuôi cấy rễ được sử dụng nhiều nhất hiện nay là nuôi cấy rễ tơ (hairy root)<sup>1</sup>. Rễ tơ được hình thành là do sự sát nhập gen tự nhiên của chủng vi khuẩn *Agrobacterium rhizogenes* vào bộ gen thực vật.

Để kỹ thuật nuôi cấy rễ tơ có thể đưa vào sản xuất một cách hiệu quả thì một số phương pháp đã được sử dụng để làm tăng năng suất hợp chất thứ cấp đó là bổ sung tiền chất và các tác nhân cảm ứng (elicitor). Khái niệm bổ sung tiền chất dựa trên ý tưởng rằng bất kỳ hợp chất nào, dù là một chất trung gian, chất ở trong hoặc ở giai đoạn đầu của con đường sinh tổng hợp chất thứ cấp đều có khả năng làm tăng năng suất của sản phẩm cuối cùng<sup>2</sup>. Phenylalanine (Phe), tyrosine (Tyr) và tryptophan (Trp) là những amino acid thơm hoạt động như những tiền chất cho sự tổng hợp

nhiều loại chất chuyển hóa thứ cấp mang vòng thơm khác nhau<sup>3</sup>. Do vậy, chiến lược bổ sung những amino acid này, đặc biệt là phenylalanine đã được áp dụng phổ biến trong nuôi cấy rễ tơ *in vitro* nhiều loại cây được liệu với mục tiêu cải thiện năng suất các hợp chất phenolic có giá trị<sup>1,4</sup>. Elicitor được định nghĩa là tác nhân gây ra sự cảm ứng sản xuất hợp chất thứ cấp bao gồm các tác nhân hóa học hoặc sinh học có nguồn gốc khác nhau có thể gây ra các phản ứng về sinh lý, hình thái hoặc tích lũy các chất kháng độc ở thực vật. Do đó, elicitor là công cụ được sử dụng rộng rãi để làm tăng năng suất các hợp chất thứ cấp do thực vật đáp ứng với tổn thương của cơ thể<sup>5</sup>. Có thể nói, sử dụng elicitor là một trong những kỹ thuật công nghệ sinh học hiệu quả nhất hiện nay để cải thiện khả năng sản xuất hợp chất thứ cấp<sup>5</sup>. Các elicitor được sử dụng để tăng sản xuất các hợp chất có hoạt tính sinh học là do nó có thể làm thay đổi sự trao đổi chất của thực vật hoặc kích thích các con đường sinh tổng hợp hợp chất thứ cấp trong các hệ thống nuôi cấy như huyền phù tế bào, rễ tơ, mô sẹo<sup>6</sup>.

Cây Ké hoa đào thuộc họ Malvaceae (họ Bông hoặc họ Bụt) có tên khoa học là *Urena lobata* L., đây là

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

### Liên hệ

Vũ Thị Bạch Phượng, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

Email: vtbphuong@hcmus.edu.vn

### Lịch sử

- Ngày nhận: 04-4-2020
- Ngày chấp nhận: 20-7-2020
- Ngày đăng: 11-9-2020

DOI: 10.32508/stdjns.v4i3.902



### Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



**Trích dẫn bài báo này:** Phượng VT B, Đại CM, Phương Q N D. Ảnh hưởng của một số tiền chất và elicitor đến sự tăng trưởng và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ cây Ké hoa đào (*Urena lobata* L.) nuôi cấy *in vitro*. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 4(3):660-667.

cây tiểu mộc được trồng nhiều ở các nước nhiệt đới trên thế giới. Ở Nigeria, Ấn Độ, Bangladesh, Trung Quốc, Việt Nam, Ké hoa đào được dùng như cây thuốc truyền thống để chữa bệnh cảm lạnh, ho ra máu, phong thấp viêm khớp đau nhức, kiết lỵ, phù nề, bệnh lậu, đau răng, mụn nhọt lở loét, khí hư, rong huyết, cầm máu.... Đặc biệt ở Nigeria, Ké hoa đào còn là một trong những cây thuốc phổ biến chữa bệnh đái tháo đường<sup>7</sup>. Bên cạnh đó, các nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy khả năng chữa bệnh đái tháo đường của dịch chiết Ké hoa đào thông qua ức chế hoạt động của dipeptidyl peptidase IV<sup>8</sup> và dịch chiết từ rễ cây Ké hoa đào có tác dụng làm giảm lượng đường huyết ở thỏ<sup>9</sup>. Gần đây, các công bố của nhóm nghiên cứu ở Việt Nam cũng đã cho thấy khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase *in vitro* và hạ glucose huyết *in vivo* trên chuột của rễ cây Ké hoa đào<sup>10</sup>.

Dựa trên các kết quả nghiên cứu đã công bố trên thế giới, rễ cây Ké hoa đào là nguồn dược liệu tiềm năng trong điều trị bệnh đái tháo đường tuýp 2. Do đó, với mục đích làm tăng sinh khối và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ Ké hoa đào, nghiên cứu này đã tập trung vào việc khảo sát ảnh hưởng của một số tiền chất và elicitor đến sự tăng trưởng và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ cây Ké hoa đào nuôi cấy *in vitro*.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu

Rễ tơ *in vitro* cây Ké hoa đào (*Urena lobata* L.) được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học thực vật, Khoa Sinh học-Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hồ Chí Minh.

Rễ tơ *in vitro* này được cảm ứng bởi chủng vi khuẩn *Agrobacterium rhizogenes* ATCC 15834, chủng này được mua từ ngân hàng RIKEN-BRC thông qua dự án MEXT của Nhật Bản.

### Môi trường nuôi cấy rễ tơ

Rễ tơ được nuôi trong môi trường WPM (woody plant medium) gấp đôi hàm lượng khoáng đa lượng (2WPM), bổ sung 4% sucrose, mật độ nuôi cấy ban đầu là 0,1 g/30 ml, nuôi trên máy lắc vòng với tốc độ lắc 80 vòng/phút và tối hoàn toàn. Các tiền chất và elicitor sẽ được bổ sung vào môi trường nuôi cấy để tiến hành khảo sát sự tăng trưởng và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ cây Ké hoa đào. Mỗi nghiệm thức trong các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, với chỉ tiêu theo dõi là khối lượng khô (DW) và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase. Nghiệm thức đối chứng là rễ tơ được nuôi trong môi trường không bổ sung tiền chất

và elicitor. Rễ tơ được cắt thành những đoạn dài từ 3–4 cm, trộn đều để tạo sự đồng nhất trước khi bắt đầu các thí nghiệm khảo sát.

### Khảo sát ảnh hưởng của tiền chất

Hai tiền chất là L-phenylalanine (HiMedia Laboratories) và L-tyrosine (Merk) được bổ sung ngay từ đầu vào môi trường nuôi cấy ở các nồng độ: 1, 10, 100 và 200  $\mu$ M. Trọng lượng khô và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ được đánh giá sau mỗi 5 ngày trong suốt 40 ngày nuôi cấy.

### Khảo sát ảnh hưởng của elicitor

Các elicitor được bổ sung vào môi trường nuôi cấy ở ngày thứ 20 với các nồng độ như sau: chitosan (có độ deacetyl hóa 75%): 0, 50, 100, 150 mg/L; methyl jasmonate (Sigma): 0, 25, 50, 100  $\mu$ M; acid salicylic (Sigma): 0, 25, 50, 100  $\mu$ M. Thời gian khảo sát các chỉ tiêu theo dõi là: 1, 3, 5, 7 ngày sau khi elicitor được bổ sung vào môi trường nuôi cấy.

### Khảo sát hoạt tính ức chế $\alpha$ -glucosidase

Mẫu rễ tơ trước khi đem đi thử hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase được sấy khô ở 50°C đến khi khối lượng cân giữa các lần không vượt quá 0,5 mg và độ ẩm không vượt quá 13%. Lấy 0,1 g rễ tơ khô ngâm trong 10 mL ethanol sau 24 giờ lấy 30  $\mu$ L dịch chiết đem đi khảo sát hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase. Dịch chiết này được phơi cho bay hết ethanol trong đĩa 96 giếng và được hòa tan lại bằng 50  $\mu$ L dung dịch đệm phosphate pH 6,8 có DMSO 5%. Tiếp theo, cho vào đĩa 96 giếng 40  $\mu$ L dung dịch enzyme  $\alpha$ -glucosidase (0,2 U/mL) ở nhiệt độ phòng trong 20 phút, bổ sung 40  $\mu$ L cơ chất p-Nitrophenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (pNPG) (5 mM), ở nhiệt độ phòng 20 phút. Cuối cùng, 130  $\mu$ L dung dịch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,2 M được cho vào sẽ bắt màu sản phẩm tạo ra là p-nitrophenol. Dựa trên mật độ quang tại 405 nm (OD<sub>405</sub>), hoạt tính ức chế của mẫu thử được xác định. Chứng dương là thuốc Glucobay (acarbose 50 mg) của công ty Bayer South East Asia Pte., Ltd.<sup>11</sup>.

Phần trăm ức chế  $\alpha$ -glucosidase được tính theo công thức sau<sup>11</sup>:

% Ức chế  $\alpha$ -glucosidase = [(OD chứng âm - OD blank chứng âm) - (OD mẫu thử - OD blank mẫu thử)]x100%/(OD chứng âm - OD blank chứng âm)

### Phân tích và xử lý số liệu

Số liệu thu được từ kết quả của các thí nghiệm được xử lý thống kê bằng chương trình SPSS 16.0 (Copyright SPSS Inc.) với độ tin cậy 95%. Biểu đồ, đồ thị được vẽ bằng chương trình Microsoft Excel 2007.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Ảnh hưởng của tiền chất

#### Ảnh hưởng của L-phenylalanine

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tiền chất phenylalanine trong Hình 1 và Hình 2 cho thấy, ở 25 ngày đầu của quá trình nuôi cấy có sự khác nhau rõ ràng về sinh khối khô giữa các nghiệm thức có nồng độ phenylalanine khác nhau. Nồng độ phenylalanine càng cao thì rễ tơ càng chậm tăng trưởng, do rễ cần phải có thời gian để thích nghi với điều kiện môi trường mới. Ở nồng độ phenylalanine 200  $\mu\text{M}$  trong 15 ngày đầu rễ bị ngả sang màu vàng và phát triển rất chậm, sau đó rễ mới thích nghi với môi trường và đi vào pha tăng trưởng. Ở nồng độ 10 và 100  $\mu\text{M}$  phenylalanine, rễ cũng chậm tăng trưởng ở 10 ngày đầu nhưng vào ngày thứ 10 trở đi rễ đã bước vào pha tăng trưởng. Ở nồng độ phenylalanine 1  $\mu\text{M}$  rễ phát triển rất tốt và đạt sinh khối khô cao nhất so với các nghiệm thức còn lại ở ngày nuôi cấy thứ 25. Đồng thời, phenylalanine ở nồng độ 1  $\mu\text{M}$  cũng giúp cho rễ sớm đạt hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase cao nhất ở ngày nuôi cấy thứ 25. Trong khi đó, nồng độ phenylalanine 10  $\mu\text{M}$  hoạt tính bắt đầu cao ở ngày nuôi cấy thứ 30 trở đi, mẫu đối chứng không bổ sung phenylalanine ở ngày nuôi cấy thứ 35 và nồng độ phenylalanine 100 và 200  $\mu\text{M}$  ở ngày nuôi cấy thứ 40 hoạt tính mới đạt ở mức cao. Shadi Rahimi và cộng sự (2011) đã chứng minh nồng độ và thời gian đồng nuôi cấy cùng tiền chất là hai yếu tố quyết định đến sự tích lũy các hợp chất thứ cấp trong nuôi cấy rễ tơ. Bổ sung tiền chất ở nồng độ thích hợp có thể thúc đẩy sự tích lũy của các hợp chất mục tiêu. Tuy nhiên, khi nồng độ tiền chất vượt quá giới hạn nó có thể gây ức chế con đường chuyển hóa<sup>4</sup> như phenylalanine ở nồng độ 2 mM giúp gia tăng sản xuất isoflavone trong nuôi cấy rễ tơ *Psoralea corylifolia*, trong khi đó sự tích lũy isoflavone lại bị ức chế ở nồng độ phenylalanine 10 mM<sup>12</sup>. Phenylalanine ở nồng độ 10  $\mu\text{M}$  cũng cho hiệu quả tác động đứng thứ hai (sau nồng độ 1  $\mu\text{M}$ ) so với các nồng độ được khảo sát. Do đó, với mục đích ứng dụng trong quy mô công nghiệp và lợi ích kinh tế, phenylalanine 1  $\mu\text{M}$  sẽ là lựa chọn thích hợp trong chiến lược làm tăng hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase trong nuôi cấy rễ tơ Ké hoa đào. Cụ thể, khi nuôi cấy rễ ở nồng độ phenylalanine 1  $\mu\text{M}$  chỉ cần đến ngày thứ 25 là có thể thu hoạch được rễ tơ có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase cao, trong khi ở mẫu đối chứng không bổ sung phenylalanine thì phải đến ngày thứ 35 mới thu hoạch được. Điều này đã giảm bớt chi phí nuôi cấy rễ tơ *in vitro* và mang lại hiệu quả kinh tế cao.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tyrosine ở Hình 3 và Hình 4 cho thấy khi bổ sung tyrosine tại các nồng

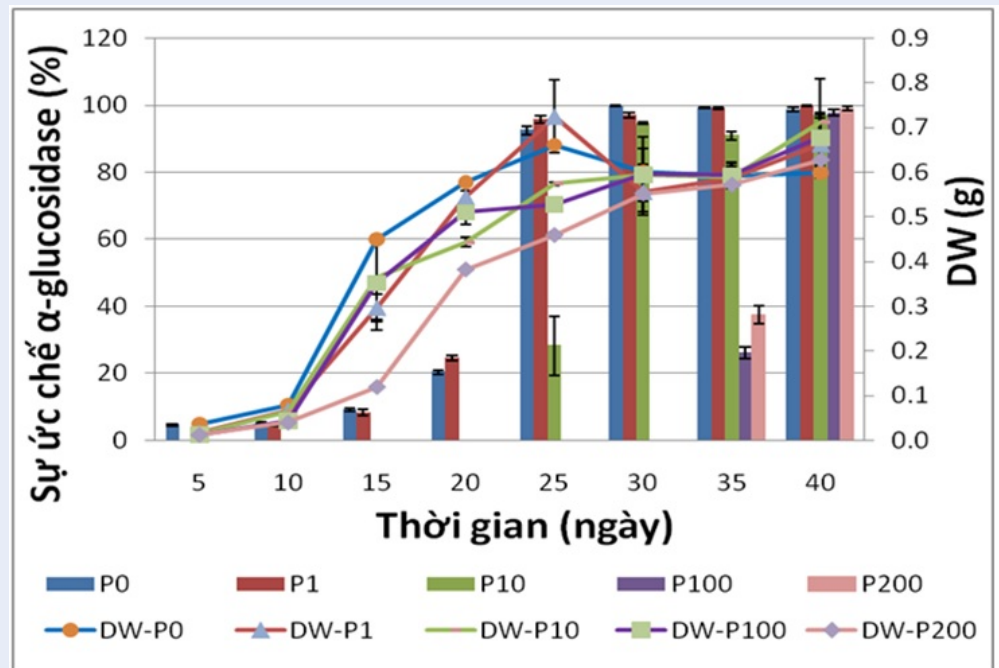
độ khác nhau đều không làm tăng sinh khối mà còn làm giảm nhẹ. Xét về hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase, khi bổ sung tyrosine ở các nồng độ đều có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase thấp hơn so với mẫu đối chứng trong 35 ngày đầu nuôi cấy, đến ngày nuôi cấy thứ 40 thì hoạt tính ở nồng độ 1  $\mu\text{M}$  và 10  $\mu\text{M}$  tyrosine đều bằng mẫu đối chứng, còn hai nồng độ 100  $\mu\text{M}$  và 200  $\mu\text{M}$  vẫn thấp hơn so với mẫu đối chứng khoảng 1,1 lần. Các kết quả này cho thấy tyrosine không có vai trò trong việc làm tăng sinh khối và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase ở rễ tơ cây Ké hoa đào.

Quan sát trong quá trình nuôi cấy rễ tơ nhận thấy khi môi trường có sự hiện diện của một trong hai chất phenylalanine hoặc tyrosine thì sợi rễ tơ sẽ to hơn, đậm nhiều nhánh hơn và có màu trắng hơn so với mẫu đối chứng (Hình 2 và Hình 4). Điều này có thể là do phenylalanine và tyrosine là các amino acid được cung cấp thêm vào môi trường nuôi cấy và có vai trò như là một nguồn dinh dưỡng nitơ bổ sung, từ đó thúc đẩy sự tăng trưởng của rễ làm cho rễ to hơn và phân nhiều nhánh hơn. Tóm lại, từ các kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của hai chất là phenylalanine và tyrosine cho thấy chỉ có phenylalanine làm tăng sinh khối và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase ở rễ tơ cây Ké hoa đào, trong khi tyrosine lại không có khả năng này. Điều này có thể giải thích là do những hoạt chất ảnh hưởng đến hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ cây Ké hoa đào được biến dưỡng theo con đường của phenylalanine, còn những hợp chất được tổng hợp theo con đường của tyrosine thì không ảnh hưởng đến hoạt tính này.

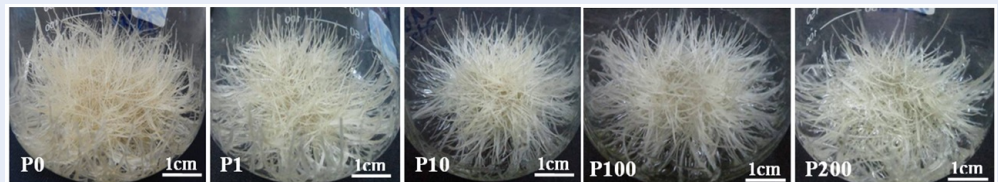
#### Ảnh hưởng của elicitor

Từ đường cong tăng trưởng của rễ tơ ở Hình 1 và Hình 3 nhận thấy ngày nuôi cấy thứ 20 là thời điểm thích hợp để bổ sung elicitor vào môi trường nuôi cấy vì lúc này rễ tơ đang ở cuối của giai đoạn tăng trưởng và bắt đầu bước vào pha ổn định. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các elicitor bao gồm: chitosan, methyl jasmonate và acid salicylic đến sự tăng trưởng và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ Ké hoa đào được trình bày lần lượt ở các Hình 5, 6 và 7.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các elicitor cho thấy hầu như không có sự gia tăng đáng kể về sinh khối rễ tơ sau 7 ngày bổ sung elicitor ở tất cả các thí nghiệm. Trong ba chất được khảo sát, chỉ có chitosan là chất có khả năng làm tăng hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ Ké hoa đào rõ nhất, hai chất còn lại là methyl jasmonate và acid salicylic tại các thời điểm khảo sát không có hoặc có hoạt tính thấp hơn so với mẫu đối chứng. Cụ thể là chitosan ở nồng độ 50 mg/L sau 3 ngày cảm ứng làm tăng hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase cao hơn mẫu đối chứng 1,8 lần, nhưng ở ngày thứ 5 trở đi cũng giống như ở các nồng độ chitosan khác



**Hình 1:** Đồ thị thể hiện sự ảnh hưởng của nồng độ phenylalanine đến khối lượng khô (DW) và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ Ké hoa đào. P0, P1, P10, P100, P200 là phenylalanine ở các nồng độ 0, 1, 10, 100, 200  $\mu$ M



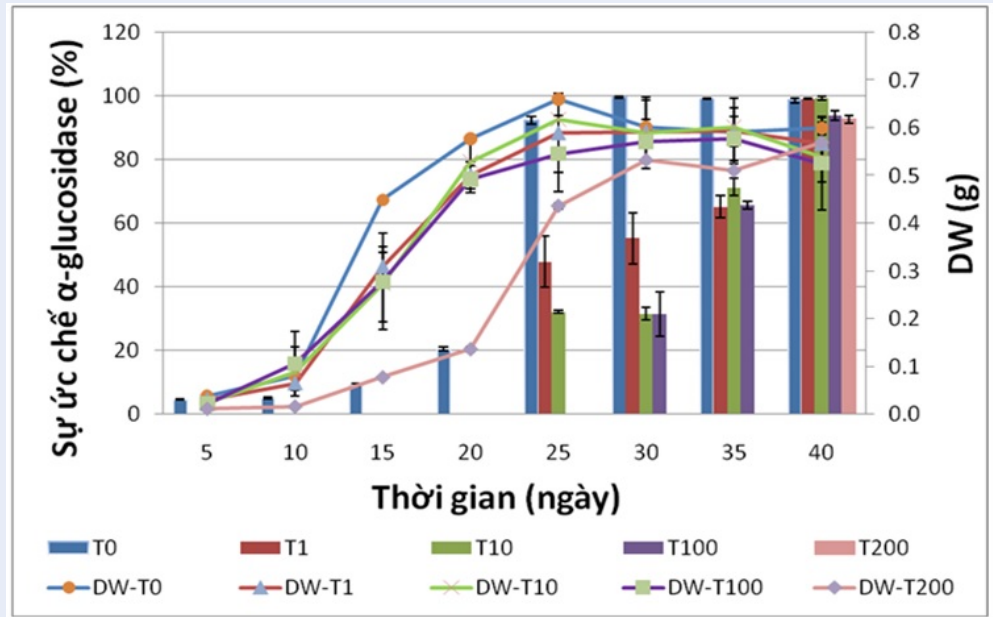
**Hình 2:** Rễ tơ được nuôi cấy ở các nồng độ phenylalanine khác nhau ở ngày thứ 25. P0, P1, P10, P100, P200 là phenylalanine ở các nồng độ 0, 1, 10, 100, 200  $\mu$ M.

kết quả đều cho thấy hoạt tính thấp hơn so với mẫu đối chứng. Kết quả này cho thấy đối với việc nuôi cấy rễ tơ Ké hoa đào thì chitosan là một tác nhân cảm ứng có tiềm năng trong việc làm tăng hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase. Tuy nhiên, khi so sánh về hiệu quả sử dụng trong nuôi cấy rễ tơ Ké hoa đào để làm tăng hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase thì việc bổ sung elicitor là chitosan không đem lại hiệu quả cao bằng việc bổ sung tiền chất là phenylalanine. Cụ thể, chitosan ở nồng độ 50 mg/L sau 3 ngày cảm ứng tức là ngày nuôi cấy thứ 23 có sinh khối rễ tơ là 0,60g và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase  $61,65 \pm 1,90\%$ , tuy nhiên từ ngày nuôi cấy thứ 25 trở đi hoạt tính lại giảm. Trong khi đó, phenylalanine 1  $\mu$ M ở ngày nuôi cấy thứ 25 có sinh khối rễ tơ là 0,72 g và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase  $95,70 \pm 1,22\%$ , hoạt tính này ổn định cho tới ngày

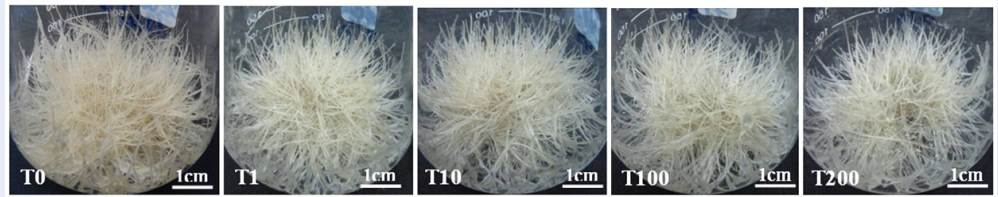
nuôi cấy thứ 40. Rõ ràng, từ các kết quả thu được đã chứng minh cho thấy hiệu quả của việc sử dụng phenylalanine để làm tăng sinh khối và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase trong nuôi cấy rễ tơ *in vitro* Ké hoa đào.

## KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy cả hai chất là phenylalanine và chitosan đều có tác động đến việc làm tăng sinh khối rễ tơ có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase ở cây Ké hoa đào. Tuy nhiên, việc sử dụng tiền chất phenylalanine ở nồng độ 1  $\mu$ M trong môi trường nuôi cấy rễ tơ *in vitro* Ké hoa đào cho hiệu quả tốt hơn và sinh khối rễ có hoạt tính cũng nhiều hơn. Việc bổ sung phenylalanine 1  $\mu$ M sau 25 ngày nuôi cấy sẽ thu được sinh khối rễ tơ với năng suất cao hơn so với điều



**Hình 3:** Đồ thị thể hiện sự ảnh hưởng của nồng độ tyrosine đến khối lượng khô (DW) và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ Ké hoa đào. T0, T1, T10, T100, T200 là phenylalanine ở các nồng độ 0, 1, 10, 100, 200  $\mu$ M



**Hình 4:** Rễ tơ được nuôi cấy ở các nồng độ tyrosine khác nhau ở ngày thứ 25. T0, T1, T10, T100, T200 là tyrosine ở các nồng độ 0, 1, 10, 100, 200  $\mu$ M

kiện ban đầu (0,72 g so với 0,66 g) và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase cũng vượt trội hơn (95,70% so với 92,44%).

### LỜI CẢM ƠN

Cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh và Phòng Thí nghiệm Công nghệ sinh học Thực vật thuộc Bộ môn Công nghệ sinh học Thực vật & Chuyển hóa sinh học, Khoa Sinh học-Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) đã tạo điều kiện thực hiện nghiên cứu này.

### DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

DW: Khối lượng khô  
DMSO: Dimethyl sulfoxide  
WPM: Woody plant medium

### XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích.

### ĐÓNG GÓP CỦA TÁC GIẢ

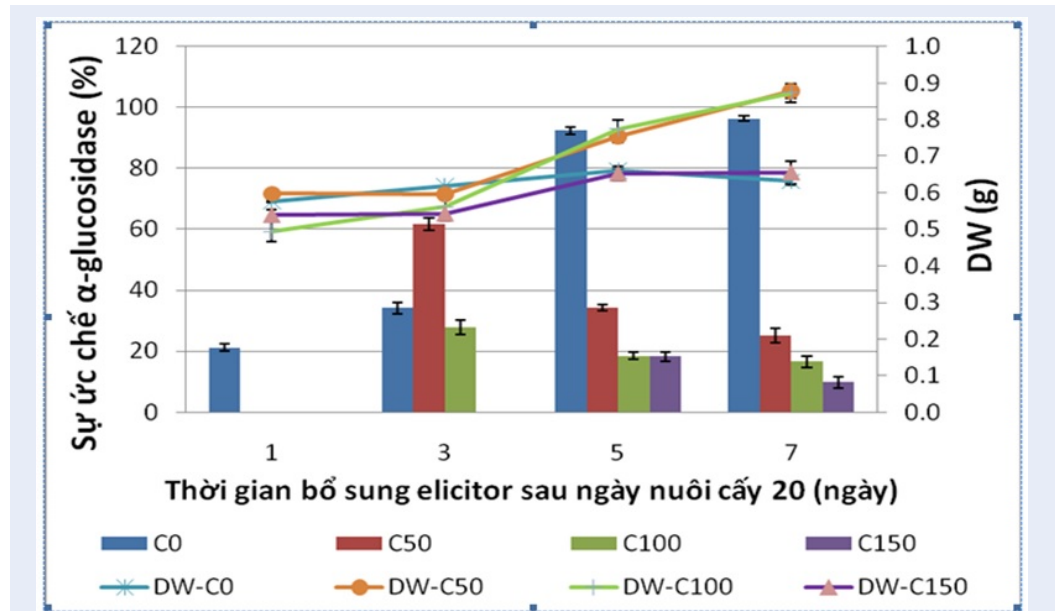
Vũ Thị Bạch Phượng: thực hiện thí nghiệm và viết bản thảo.

Cao Minh Đại: thực hiện thí nghiệm.

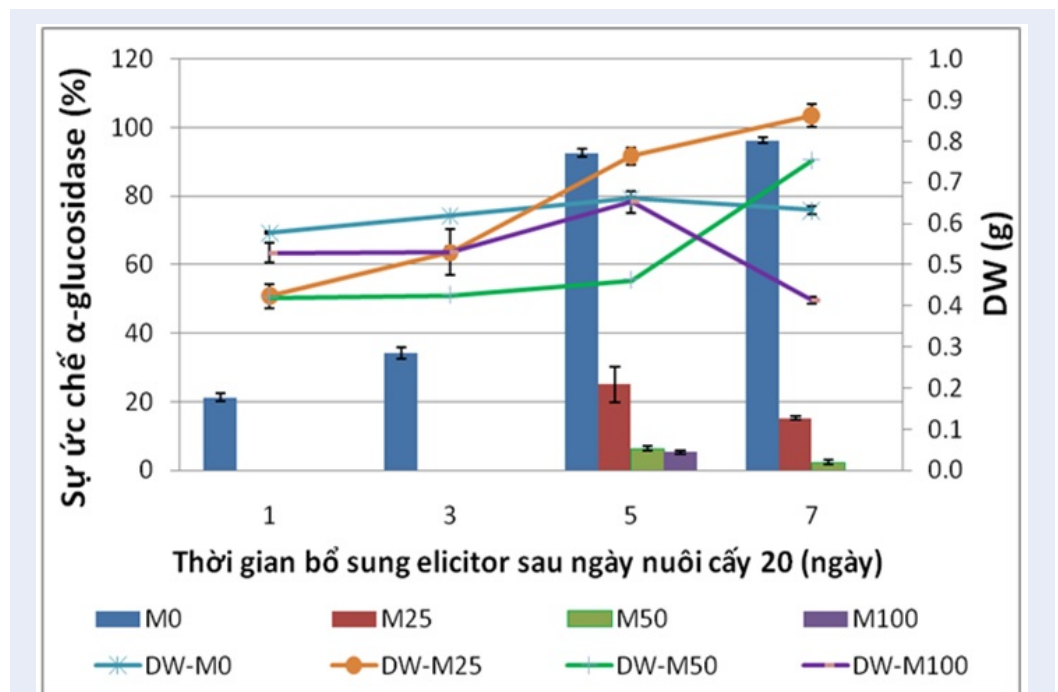
Quách Ngô Diễm Phương: cố vấn và góp ý chỉnh sửa bản thảo.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

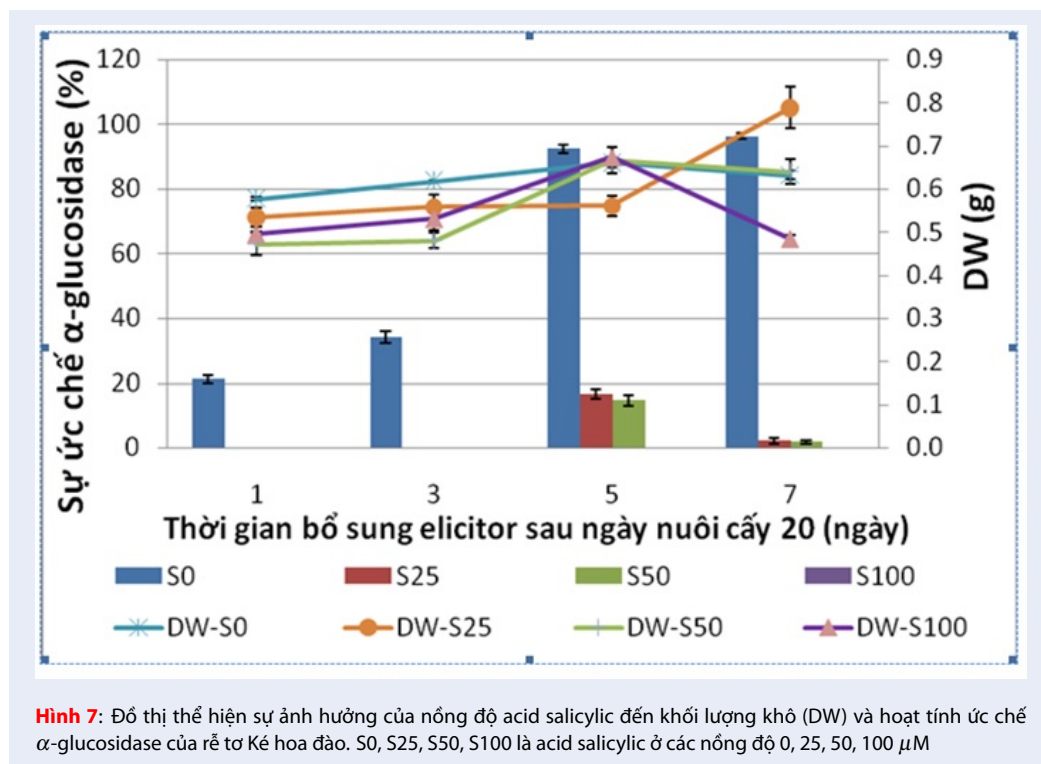
1. Bensaddek L, Villarreal ML, Fliniaux MA. Induction and growth of hairy roots for the production of medicinal compounds. *Electronic Journal of Integrative Biosciences*. 2008;3(1):2-9.
2. Wielanek M, Urbaneck H. Enhanced glucotropaeolin production in hairy root cultures of *Tropaeolum majus* L. by combining elicitation and precursor feeding. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 2006;86:177-186. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11240-006-9106-2>.



**Hình 5:** Đồ thị thể hiện sự ảnh hưởng của nồng độ chitosan đến khối lượng khô (DW) và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ Ké hoa đào. C0, C50, C100, C150 là chitosan ở các nồng độ 0, 50, 100, 150 mg/L



**Hình 6:** Đồ thị thể hiện sự ảnh hưởng của nồng độ methyl jasmonate đến khối lượng khô (DW) và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ Ké hoa đào. M0, M25, M50, M100 là methyl jasmonate ở các nồng độ 0, 25, 50, 100  $\mu$ M



**Hình 7:** Đồ thị thể hiện sự ảnh hưởng của nồng độ acid salicylic đến khối lượng khô (DW) và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của rễ tơ Ké hoa đào. S0, S25, S50, S100 là acid salicylic ở các nồng độ 0, 25, 50, 100  $\mu$ M

- Mobin M, Wu CH, Tewari RK, Paek KY. Studies on the glyphosate-induced amino acid starvation and addition of precursors on caffeic acid accumulation and profiles in adventitious roots of *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2015;120:291–301. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0606-1>.
- Rahimi S, Hasanloo T, Najafi F, Khavari-Nejad RA. Enhancement of silymarin accumulation using precursor feeding in *Silybum marianum* hairy root cultures. *Plant Omics Journal.* 2011;4(1):34–39.
- AbouZid S. Yield improvement strategies for the production of secondary metabolites in plant tissue culture: silymarin from *Silybum marianum* tissue culture. *Natural Product Research.* 2014;28(23):2102–2110. PMID: 24947979. Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.927465>.
- Karla RE, Heriberto VL, Hidalgo D, Moyano E, Golenioswki M, Rosa MC, Palazon J. Elicitation, an effective strategy for the biotechnological production of bioactive high-added value compounds in plant cell factories. *Molecules.* 2016;21(182):1–24. PMID: 26848649. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules21020182>.
- Omonkhua AA, Onoagbe IO. Long-term effects of three hypoglycaemic plants (*Irvingia gabonensis*, *Urena lobata* and *Carica papaya*) on the oxidative status of normal rabbits. *Biokemistri An International Journal of the Nigerian Society for Experimental Biology.* 2012;24(2):82–89.
- Purnomo Y, Soeatmadji DW, Sumitro SB, Widodo MA. Anti-diabetic potential of *Urena lobata* leaf extract through inhibition of dipeptidyl peptidase IV activity. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2015;5(8):645–649. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.014>.
- Omonkhua AA, Onoagbe IO. Evaluation of the long-term effects of *Urena lobata* root extracts on blood glucose and hepatic function of normal rabbits. *J Toxicol Environ Health Sci.* 2011;3(8):204–213.
- Phuong VTB, Dai CM, Anh BL, Hong PTA, Phuong QND. Mass propagation of *Urena lobata* L. hairy root possessing  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity by using suitable culture conditions. *Asian Journal of Plant Sciences.* 2019;18(3):131–138. Available from: <https://doi.org/10.3923/ajps.2019.131.138>.
- Shai LJ, Masoko P, Mokgotho MP, Magano SR, Mogale AM, Boaduo N, Eloff JN. Yeast alpha glucosidase inhibitory and antioxidant activities of six medicinal plants collected in-halaborwa, South Africa. *South African Journal of Botany.* 2010;76:465–470. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2010.03.002>.
- Shinde AN, Malpathak N, Fulzele DP. Enhanced production of phytoestrogenic isoflavones from hairy root cultures of *Psoralea corylifolia* L. using elicitation and precursor feeding. *Biotechnology and Bioprocess Engineering.* 2009;14:288–294. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12257-008-0238-6>.

# Effects of some precursors and elicitors on the growth and $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *in vitro* *Urena lobata* L. hairy roots

Vu Thi Bach Phuong\*, Cao Minh Dai, Quach Ngo Diem Phuong



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

## ABSTRACT

Recent studies have demonstrated the potential of *in vitro* *Urena lobata* L. hairy roots to inhibit  $\alpha$ -glucosidase for supporting the treatment of type 2 diabetes. To increase the productivities of hairy roots with  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity in *in vitro* culture conditions, this study focus on the effects of some metabolic factors such as precursors (L-phenylalanine, L-tyrosine) and elicitors (chitosan, methyl jasmonate, salicylic acid). They were added to the culture media to investigate the growth and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *Urena lobata* L. hairy roots. The results showed that for the effects of precursors, only phenylalanine (1  $\mu$ M) increased root biomass with the highest of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity on the 25th day of culture. In contrast, tyrosine did not play any role in increasing the biomass and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity in *Urena lobata* L. hairy roots. For the effects of elicitors, only chitosan (50 mg/L) resulted in hairy roots with  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity higher than the control after 3 days in culture medium. Other elicitors such as methyl jasmonate, salicylic acid had lower  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity than the control. The results of this study demonstrated the potential of phenylalanine and chitosan in increasing the productivity of *in vitro* hairy roots with higher  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity in *Urena lobata* L.

**Key words:**  $\alpha$ -glucosidase inhibitor activity, elicitors, hairy root, precursors, *Urena lobata* L

University of Science, VNU-HCM

## Correspondence

Vu Thi Bach Phuong, University of Science, VNU-HCM

Email: vtbphuong@hcmus.edu.vn

## History

- Received: 04-4-2020
- Accepted: 20-7-2020
- Published: 11-9-2020

DOI : 10.32508/stdjns.v4i3.902



## Copyright

© VNU-HCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Phuong VT B, Dai C M, Phuong Q N D. Effects of some precursors and elicitors on the growth and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *in vitro* *Urena lobata* L. hairy roots. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 4(3):660-667.