

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CHIẾU XẠ TIA GAMMA NGUỒN Co60 ĐẾN HÌNH THÀNH RỄ THỨ CẤP VÀ TÍCH LŨY HỢP CHẤT THỨ CẤP CỦA RỄ CÂY ĐĂNG SÂM (*Codonopsis javanica*) NUÔI CÂY *IN VITRO*

Lê Thị Thúy^{*}, Trịnh Thị Hương, Tạ Nguyễn Minh Hằng, Đỗ Thanh Như

Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Việc sản xuất một số hợp chất thứ cấp quan trọng từ thực vật bằng chiếu xạ tia gamma là một lĩnh vực đang được quan tâm. Nghiên cứu được thực hiện để đánh giá ảnh hưởng của cường độ tia gamma nguồn Co60 (20, 40 và 60 Gy) lên tỷ lệ sống, khả năng tạo rễ thứ cấp và hàm lượng hợp chất thứ cấp từ sinh khối rễ của cây đăng sâm *in vitro* chiếu xạ. Kết quả cho thấy, ở các liều chiếu xạ tăng dần, tỷ lệ sống, tỷ lệ mẫu tạo rễ và số rễ trên mẫu giảm dần. Khi rễ thứ cấp được chuyển sang môi trường nuôi cấy lỏng, hệ số tăng sinh của rễ ở các nồng độ chiếu xạ đều giảm so với mẫu đối chứng. Mặc dù ở các cường độ chiếu xạ, khả năng tạo rễ và tăng sinh của rễ giảm nhưng khả năng tích lũy một số hợp chất thứ cấp quan trọng có trong rễ cây đăng sâm có xu hướng tăng. Hàm lượng saponin tổng số ở cường độ chiếu xạ từ 20 Gy đến 40 Gy tăng gấp 2 lần và hàm lượng polysaccharide ở cường độ 20 Gy cao hơn 1,2 lần so với mẫu đối chứng.

Từ khóa: *Codonopsis javanica*, Co60, nuôi cấy *in vitro*, Gy, tia gamma, hợp chất thứ cấp, rễ thứ cấp.

MỞ ĐẦU

Đăng sâm (*Codonopsis javanica*) là một loài cây có giá trị dược liệu cao và được xem như là “nhân sâm của người nghèo” vì có tác dụng chữa bệnh tương tự như nhân sâm nhưng giá rẻ hơn nhân sâm. Trong y học cổ truyền, đăng sâm có tác dụng tăng cường sức khỏe, kích thích miễn dịch, dùng làm thuốc bổ dạ dày, bổ máu, chán ăn, lợi tiểu, chữa ho, tiêu đờm (Đỗ Tất Lợi, 2006). Ngoài ra, dịch chiết từ củ của *C. javanica* có tác dụng hỗ trợ hạ đường huyết và chữa bệnh đái tháo đường (Chen *et al.*, 2013). Theo nghiên cứu của He và đồng tác giả (2014), các loài đăng sâm chứa các hoạt chất chính là polyacetylene, polysaccharide, phenylpropanoid, alkaloid, triterpenoid. Trong những năm qua, nguồn cung cấp cây dược liệu quý đăng sâm phụ thuộc vào khai thác từ tự nhiên và trồng tự phát của người dân địa phương. Do khai thác quá mức và nạn phá rừng, số lượng cây thuốc ngày càng giảm. Trong Sách Đỏ Việt Nam, đăng sâm được xếp vào danh sách loài “sẽ nguy cấp” (bậc V). Trước tình trạng ngày càng cạn kiệt nguồn nguyên liệu tự nhiên, nuôi cấy tế bào, mô và cơ quan thực vật là một trong những phương pháp được quan tâm nghiên cứu, đặc biệt là phương pháp nuôi cấy thu nhận sinh khối rễ để thu nhận hợp chất thứ cấp có giá trị. Rễ thứ cấp là rễ được hình thành từ các vùng ngoại vi của trụ bì trưởng thành của rễ. Sơ khởi của rễ thứ cấp phát triển thông qua một chương trình phân chia tế bào rất đặc trưng để tạo ra một cấu trúc y như khuôn mẫu của rễ chính (Dương Tấn Nhật, 2011). Nuôi cấy rễ *in vitro* trong môi trường và điều kiện nuôi cấy thích hợp sẽ giúp thu nhận sinh khối lớn trong thời gian ngắn, tuy nhiên ngoài việc gia tăng sinh khối rễ, sự tích lũy các hợp chất thứ cấp cũng đóng vai trò hết sức quan trọng. Trên thực tế, rễ nuôi cấy *in vitro* có hàm lượng dược chất thấp hơn nhiều so với rễ thu ngoài tự nhiên.

Trong các biện pháp khác nhau với mục đích gia tăng hợp chất thứ cấp trong nuôi cấy *in vitro*, ảnh hưởng của bức xạ gamma được các nhà khoa học rất quan tâm trong thời gian gần đây. Chiếu xạ tia gamma kích thích sản xuất các gốc oxy hóa tự do có nguồn gốc từ oxy dẫn đến stress oxy hóa (Villegas *et al.*, 2023), kết quả thực vật thực hiện các phản ứng thích nghi như tăng cường điều chỉnh bằng cách tạo ra nhiều loại enzyme bảo vệ và chất chống oxy hóa, nhiều loại trong số đó tạo ra các chất chuyển hóa thứ cấp, từ đó làm giảm bớt tình trạng stress oxy hóa gây ra (Dương Tấn Nhật, 2011). Một số nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng việc xử lý bằng chiếu xạ tia gamma làm tăng đáng kể hàm lượng của các hợp chất thứ cấp trong tế bào. Hàm lượng ginsenoside tổng số ở các dòng tế bào rễ bất định cây nhân sâm (*Panax ginseng* Meyer) khi chiếu xạ ở liều lượng 20 Gy cao hơn 4,2 lần so với đối chứng (Le *et al.*, 2019). Mô sẹo được tạo ra từ lá cây *Hypericum triquetrifolium* Turra được chiếu xạ với liều 10 Gy cho thấy hàm lượng hypericin và pseudohypericin cao hơn so với mẫu đối chứng (Azeez *et al.*, 2017). Hàm lượng phenolic tổng và hàm lượng flavonoid tổng tăng lần lượt 5 và 5,6 lần trong mô sẹo 4 tuần tuổi của cây hương thảo (*Rosmarinus officinalis* L.) được chiếu xạ với liều 20 Gy (El-Betagi *et al.*, 2011).

Hiện nay, những nghiên cứu về ảnh hưởng của tia gamma nguồn cobalt 60 lên hình thành rễ thứ cấp và tích lũy hợp chất thứ cấp của rễ cây đăng sâm (*C. javanica*) chưa được nghiên cứu rộng rãi. Đề tài được thực hiện mục đích xác định liều chiếu xạ thích hợp cho việc hình thành rễ thứ cấp và tích lũy hợp chất thứ cấp của rễ cây đăng sâm nuôi cấy *in vitro*, bước đầu làm cơ sở cho việc nuôi cấy sinh khối rễ cây đăng sâm ở quy mô lớn.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Cây đấng sâm hoàn chỉnh có đầy đủ lá, thân, rễ được cung cấp từ Phòng Công nghệ Tế bào – Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh, cây có chiều cao 8 cm, đường kính chồi 1,5 mm và được nuôi cấy trên môi trường MS (Murashige, Skoog, 1962) có bổ sung 30 g/L sucrose, 8 g/L agar được sử dụng làm nguyên liệu để chiếu xạ.

Cây đấng sâm *in vitro* được chiếu xạ tia gamma nguồn Co60 (cobalt 60) tại Phòng Công nghệ Sinh học vật liệu và nano, Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh. Cường độ tia gamma được sử dụng cho thí nghiệm ở các liều 0 (đối chứng), 20, 40, 60 Gy (Gray).

Phương pháp nghiên cứu

Ảnh hưởng của cường độ tia gamma đến tỷ lệ sống và khả năng tạo rễ thứ cấp từ rễ của cây đấng sâm *in vitro* chiếu xạ

Sử dụng bộ phận rễ của cây đấng sâm *in vitro* (cây đã được chiếu xạ), rễ *in vitro* được cắt với chiều dài 1 cm được cấy vào môi trường MS bổ sung 8,0 g/L agar, 30 g/L sucrose và 0,5 mg/L IBA (Trinh *et al.*, 2021). Mẫu cấy được nuôi cấy trong điều kiện tối, ở nhiệt độ 22±2°C và độ ẩm 40%. Theo dõi và đánh giá tỷ lệ mẫu sống, tỷ lệ mẫu tạo rễ, số rễ/mẫu và hình thái rễ sau 45 ngày nuôi cấy.

Ảnh hưởng của cường độ tia gamma đến khả năng tăng sinh rễ

Mẫu rễ từ thí nghiệm 1 với khối lượng 0,5 g được chuyển sang môi trường MS lỏng có bổ sung 0,5 mg/L IBA, 50 g/L sucrose, pH 5,8. Mẫu được đặt trên máy lác với tốc độ lác 120 vòng/phút trong điều kiện tối, nhiệt độ 22±2°C và độ ẩm 40%. Sau 30 ngày nuôi cấy tiến hành theo dõi khối lượng tươi của rễ (g)/ bình nuôi cấy và hệ số nhân nhanh (lần).

Hệ số nhân nhanh (lần) = (KLT rễ thu được – KLT rễ ban đầu) / KLT rễ ban đầu (KLT: khối lượng tươi).

Định lượng hợp chất thứ cấp trong sinh khối rễ

Chuẩn bị dịch chiết: Nghiền 1 g sinh khối rễ được nuôi cấy sau 30 ngày, sau đó ngâm rễ đã nghiền với 10 mL dung môi ethanol 70%, ủ trong tủ ấm nhiệt độ 50°C trong 2 giờ. Mẫu được ly tâm ở 10.000 vòng/phút và hút dịch để thu được dịch chiết ethanol thô. Tiến hành định lượng polyphenol, polysaccharide và saponin tổng số từ dịch chiết ethanol thô.

Định lượng polyphenol tổng số: Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu (Folin, Ciocalteu, 1927), mẫu được đo ở mật độ quang có bước sóng 765 nm. Hàm lượng polyphenol được tính dựa trên đường chuẩn acid galic (GAE).

Định lượng polysaccharide tổng số: Hàm lượng polysaccharide trong mẫu được xác định theo phương pháp phenol-acid sulfuric (Masuko *et al.*, 2005), mẫu được tiến hành đo mật độ quang ở bước sóng 490 nm. Hàm lượng polysaccharide được tính dựa trên đường chuẩn glucose.

Định lượng saponin tổng số: Hàm lượng saponin tổng số được xác định tại Trung tâm Phân tích Quốc tế - Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh, dựa trên phương pháp quang phổ sử dụng chất chuẩn acid oleanolic và được tính bằng đơn vị mg oleanolic/g nguyên liệu.

Xử lý thống kê

Mỗi nghiệm thức của thí nghiệm được lặp lại 5 lần, các số liệu thí nghiệm được phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphic Centurion XVI, sử dụng trắc nghiệm phân hạng LSD với độ tin cậy 95%. Sử dụng thống kê tương quan Pearson để tìm mối tương quan giữa cường độ chiếu xạ với khả năng tăng sinh rễ và khả năng tích lũy hợp chất thứ cấp của rễ thứ cấp cây đấng sâm *in vitro* chiếu xạ bằng phần mềm thống kê IBM SPSS.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả ảnh hưởng của của cường độ tia gamma lên khả năng hình thành rễ và tăng sinh rễ thứ cấp của cây đấng sâm *in vitro*

Kết quả ở Bảng 1 và Hình 1 đã cho thấy ảnh hưởng của các liều chiếu xạ khác nhau đến tỷ lệ sống, khả năng tạo rễ thứ cấp và hình thái rễ của cây đấng sâm *in vitro* được chiếu xạ. Mặc dù liều chiếu xạ 20 Gy không ảnh hưởng đến tỷ lệ mẫu sống và khả năng tạo rễ của mẫu, nhưng số rễ tạo ra giảm một nửa so với mẫu đối chứng. Khi tăng liều chiếu xạ lên 40 Gy, mẫu không chết nhưng mẫu xuất hiện màu nâu đen và khả năng tạo rễ giảm đáng kể. Ở liều chiếu xạ 60 Gy xuất hiện mẫu chết, số lượng rễ tạo ra rất ít, hình thái rễ ngắn và mảnh hơn. Như vậy, chiếu xạ tia gamma có tác động tiêu cực lên khả năng tạo rễ thứ cấp của cây đấng sâm *in vitro*.

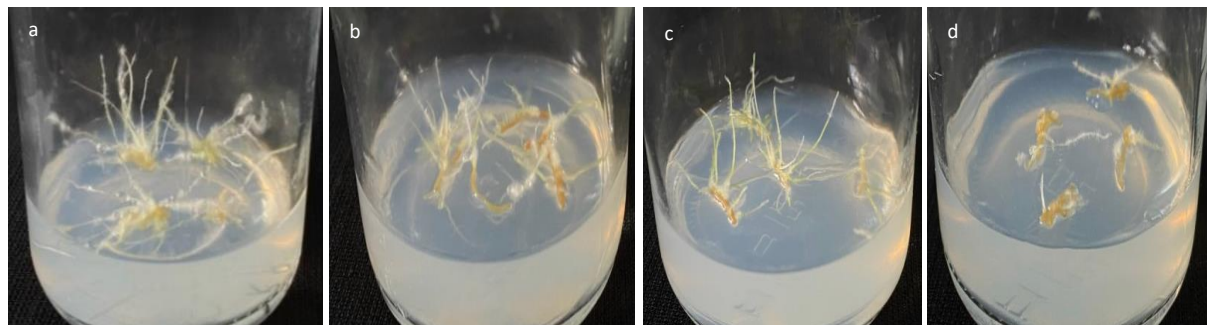
Bảng 1. Tỷ lệ mẫu sống và khả năng hình thành rễ thứ cấp của cây đẳng sâm *in vitro* sau 45 ngày nuôi cấy

Cường độ tia gamma (Gy)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số rễ/mẫu
0	100 ^b ± 0,00	91 ^c ± 14,43	42,60 ^d ± 2,52
20	100 ^b ± 0,00	87 ^c ± 10,50	22,67 ^c ± 5,13
40	100 ^b ± 0,00	75 ^b ± 4,62	15,67 ^b ± 2,08
60	97 ^a ± 4,61	25 ^a ± 0,00	3,33 ^a ± 0,58

^{a,b,c,d} các mẫu kí tự khác nhau trong cùng một cột biểu diễn sự sai biệt có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%.

Vì số lượng rễ tạo ra rất ít ở cường độ chiếu xạ 60 Gy nên chỉ có mẫu rễ được cảm ứng từ các cường độ chiếu xạ từ 20 đến 40 Gy chuyển sang nuôi cấy lỏng trong bình tam giác để đánh giá khả năng tăng sinh của rễ. Khi chuyển rễ sang môi trường nuôi cấy lỏng lác, khả năng tăng sinh của rễ được thể hiện ở Bảng 2, kết quả cho thấy hệ số nhân nhanh của rễ ở các nồng độ chiếu xạ đều giảm so với mẫu đối chứng. Như vậy, các liều chiếu xạ không chỉ ức chế sự tạo rễ mà còn tác động tiêu cực lên sự tăng sinh của rễ. Tia gamma là bức xạ ion hóa năng lượng cao có thể tác động trực tiếp lên các phân tử DNA bằng cách làm phá vỡ chuỗi DNA và xáo trộn các thành phần của phân tử DNA. Kết quả của những thay đổi này có thể ức chế và làm giảm sự phát triển của mô thực vật (Villegas *et al.*, 2023).

Trong nghiên cứu trước đây về ảnh hưởng của tia xạ gamma lên khả năng sống và tạo rễ của cây nhân sâm (*P. ginseng* Mayer) cho thấy tỷ lệ sống và tạo rễ cao nhất ở cường độ chiếu xạ 20 Gy và giảm dần ở các cường độ từ 40 Gy đến 100 Gy (Le *et al.*, 2019). Vì vậy, đối với loài cây khác nhau thì ảnh hưởng của tia gamma lên loài đó cũng khác nhau.



Hình 1. Rễ thứ cấp của cây đẳng sâm *in vitro* chiếu xạ tia gamma ở các cường độ khác nhau (a: 0 Gy; b: 20 Gy; c: 40 Gy; d: 60 Gy)

Bảng 2. Ảnh hưởng của tia gamma lên khả năng tăng sinh rễ sau 30 ngày nuôi cấy

Liều chiếu xạ (Gy)	Khối lượng rễ tươi (g)	Hệ số nhân nhanh (lần)
0	2,66 ^b ± 0,72	4,32 ^b ± 1,45
20	1,57 ^a ± 0,27	2,15 ^a ± 0,54
40	1,22 ^a ± 0,29	1,45 ^a ± 0,14

^{a,b,c,d} các mẫu kí tự khác nhau trong cùng một cột biểu diễn sự sai biệt có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%.

Ảnh hưởng của cường độ tia gamma lên hàm lượng hợp chất thứ cấp

Một trong những phương pháp nhằm cải thiện hàm lượng hợp chất thứ cấp tích lũy trong nuôi cấy tế bào là sử dụng các elicitor và những phương pháp khác liên quan đến cơ chế của chúng. Trong những năm gần đây, tia gamma thường được sử dụng như là một chất cảm ứng kích thích sự gia tăng hợp chất thứ cấp trong vật liệu nuôi cấy. Bảng 3 trình bày kết quả định lượng saponin, polysaccharide và polyphenol từ rễ thứ cấp ở các cường độ chiếu xạ khác nhau.

Mặc dù ở các cường độ chiếu xạ, khả năng tạo rễ và tăng sinh của rễ giảm nhưng khả năng tích lũy một số hợp chất thứ cấp quan trọng có trong rễ cây đẳng sâm có xu hướng tăng. Hàm lượng saponin tổng số ở cường độ chiếu xạ từ 20 Gy đến 40 Gy tăng gấp gần 2 lần, hàm lượng polysaccharide ở cường độ 20 Gy cao hơn 1,2 lần so với mẫu đối chứng.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tia gamma lên hàm lượng một số hợp chất thứ cấp của cây đẳng sâm

Liều chiếu xạ (Gy)	Saponin (mg oleanoic acid/g)	Polysaccharide (mg/g)	Polyphenol (mg GAE/g)
0	1,80 ^a ± 0,05	181,17 ^a ± 3,87	0,98 ^b ± 0,05
20	3,47 ^b ± 0,63	222,63 ^b ± 10,09	1,01 ^b ± 0,02
40	3,70 ^b ± 0,14	190,13 ^a ± 23,57	0,78 ^a ± 0,03

^{a,b,c,d} các mẫu kí tự khác nhau trong cùng một cột biểu diễn sự sai biệt có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%.

Tia gamma là bức xạ ion hóa tương tác với các nguyên tử và phân tử trong tế bào thực vật để kích thích sản xuất các gốc tự do sơ cấp và thứ cấp, các gốc tự do này đóng vai trò chính trong kích thích các phản ứng phòng vệ ở thực vật bao gồm cả việc tích lũy các chất chuyển hóa thứ cấp. Trong các nghiên cứu trước đây trên các đối tượng khác nhau đã cho thấy hợp chất thứ cấp tăng lên khi thực hiện chiếu xạ tia gamma. Hàm lượng ginsenoside tăng đối với nuôi cấy rễ bất định nhân sâm (*P. ginseng* Meyer) ở liều chiếu xạ 20 Gy (Le *et al.*, 2019). Hàm lượng phenolic tổng và hàm lượng flavonoid tổng tăng lần lượt 5 và 5,6 lần trong mô sẹo 4 tuần tuổi của cây hương thảo (*R. officinalis* L.) được chiếu xạ với liều 20 Gy (El-Beltagi *et al.*, 2011). Mô sẹo được tạo ra từ lá cây *H. triquetrifolium* Turra được chiếu xạ với liều 10 Gy cho thấy hàm lượng hypericin và pseudohypericin cao hơn so với mẫu đối chứng (Azeez *et al.*, 2017). Đối với các loài thực vật khác nhau, sự gia tăng các chất chuyển hóa thứ cấp để đáp ứng với các stress sẽ khác nhau. Vì vậy, xác định liều lượng chiếu xạ thích hợp là bước quan trọng trong sản xuất quy mô lớn các hợp chất thứ cấp. Trong nghiên cứu này, cường độ chiếu xạ 20 Gy thích hợp cho việc tích lũy saponin và polysaccharide trong rễ thứ cấp của cây đẳng sâm. So với kết quả từ các nghiên cứu trước đây được thực hiện trên các loài khác, trong nghiên cứu này, chiếu xạ tia gamma không kích thích đáng kể quá trình sinh tổng hợp các chất chuyển hóa thứ cấp.

Mối tương quan giữa cường độ chiếu xạ, khả năng tăng sinh rễ và hàm lượng hợp chất thứ cấp

Tia gamma thường được sử dụng như là một chất cảm ứng kích thích sự gia tăng hợp chất thứ cấp trong vật liệu nuôi cấy. Trong quá trình sản xuất hợp chất thứ cấp từ nuôi cấy mô tế bào thực vật, thông thường các elicitor sẽ làm giảm quá trình sinh trưởng của tế bào đồng thời tăng cường sản xuất hợp chất thứ cấp, bên cạnh đó, sự truyền tín hiệu của elicitor thường liên quan đến nhiều con đường biến dưỡng thứ cấp khác nhau. Bảng 4 trình bày kết quả về mối quan hệ giữa hệ số tăng sinh khối rễ thứ cấp và hàm lượng các chất chuyển hóa thứ cấp dưới ảnh hưởng của cường độ tia gamma khác nhau qua phân tích thống kê tương quan Pearson.

Bảng 4. Tương quan giữa cường độ chiếu xạ lên hệ số tăng sinh khối rễ và hàm lượng các hợp chất thứ cấp

Liều chiếu xạ	Hệ số tăng sinh	Saponin	Polysaccharide	Polyphenol
Liều chiếu xạ	1	-0,822**	0,876**	-0,743
Hệ số tăng sinh	1	-0,819**	-0,374	0,383
Saponin		1	0,520	-0,383
Polysaccharide			1	0,452
Polyphenol				1

* Tương quan có ý nghĩa ở mức 0,05; ** Tương quan có ý nghĩa ở mức 0,01.

Mối tương quan nghịch, rất chặt được tìm thấy giữa cường độ chiếu xạ và hệ số tăng sinh ($r=-0,822$) và hàm lượng polyphenol ($r=-0,743$), tuy nhiên mối tương quan giữa cường độ chiếu xạ và hàm lượng saponin lại là mối tương quan thuận rất chặt ($r=0,876$), điều này có nghĩa cường độ chiếu xạ tăng thì hệ số tăng sinh rễ giảm và hàm lượng polyphenol trong rễ cũng giảm nhưng hàm lượng saponin tích lũy trong sinh khối rễ lại tăng lên. Như vậy tia gamma có thể đã kích thích các gen trong con đường sinh tổng hợp saponin nhưng cũng bất hoạt một số gen khác ở con đường sinh tổng hợp polyphenol. Trong nghiên cứu của Nguyễn Thị Nhật Linh và đồng tác giả (2017) cũng cho thấy việc bổ sung elicitor vào trong môi trường nuôi cấy rễ sâm Ngọc Linh đều có tác dụng gia tăng khả năng tích lũy saponin tuy nhiên các elicitor lại có tác dụng ngược lại lên sự phát triển của rễ thứ cấp.

KẾT LUẬN

Ở cường độ chiếu xạ từ 20 Gy đến 60 Gy khả năng tạo rễ và tăng sinh rễ giảm dần. Tuy nhiên, hàm lượng hợp chất thứ cấp quan trọng có trong rễ đẳng sâm có xu hướng tăng. Hàm lượng saponin, polyphenol và polysaccharide cao nhất ở cường độ chiếu xạ 20 Gy.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này do Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh bảo trợ và cấp kinh phí theo Hợp đồng số 98/HĐ-DCT ngày 15 tháng 8 năm 2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Azeez H, Ibrahim K, Pop R, Pamfil D, Hârța M, Bobiș O (2017). Changes induced by gamma ray irradiation on biomass production and secondary metabolites accumulation in *Hypericum triquetrifolium* Turra callus cultures. *Industrial Crops and Products*, 108: 183-189.
- Chen KN, Peng WH, Hou CW, Chen CY, Chen HH, Kuo CH, Korivi M (2013). *Codonopsis javanica* root extracts attenuate hyperinsulinemia and lipid peroxidation in fructose-fed insulin-resistant rats. *Journal of food and drug analysis*, 21: 347 – 355.
- Dương Tấn Nhựt (2011). *Công nghệ sinh học thực vật: Nghiên cứu cơ bản và Ứng dụng*, Tập 1, NXB Nông Nghiệp, TP Hồ Chí Minh.
- Đỗ Tất Lợi (2006). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Thời Đại (Hà Nội).
- EI-Beltagi HS, Ahmed OK, El-Desouky W (2011). Effect of low doses γ -irradiation on oxidative stress and secondary metabolites production of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) callus culture. *Radiation Physics and Chemistry*, 80: 968-976.
- Folin O, Ciocalteu V (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 73: 627-650.
- He JY, Zhu S, Komatsu K (2014). HPLC/UV analysis of polyacetylenes, phenylpropanoid and pyrrolidine alkaloids in medicinally used *Codonopsis* species. *Phytochemical analysis*, 25: 213-219.
- Le KC, Ho TT, Paek K Y, Park SY (2019). Low-dose gamma radiation increases the biomass and ginsenoside content of callus and adventitious root cultures of wild ginseng (*Panax ginseng* Mayer). *Industrial Crops and Products*, 130:16-24.
- Masuko T, Minami A, Iwasaki N, Majima T, Nishimura S, Lee YC (2005). Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry*, 339: 69-72.
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.
- Nguyễn Thị Nhật Linh, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Hoàng Lộc, Dương Tấn Nhựt (2017). Ảnh hưởng của các elicitor sinh học và phi sinh học đến sinh khối và hàm lượng saponin của rễ thứ cấp trong nuôi cấy lỏng lác rễ bất định sâm Ngọc Linh. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 15: 285-291.
- Trinh TH, Nguyen QT, Nguyen T HT, Do DG, Tran TT (2021). Induction and evaluation of secondary metabolite and antioxidant activity in adventitious root of *Codonopsis javanica*. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 63: 11-16.
- Villegas D, Sepúlveda C, Ly D (2023). Seed Biology-New Advances, Use of low-dose gamma radiation to promote the germination and early development in seeds, *IntechOpen, United Kingdom London*.

STUDY ON THE EFFECTS OF Co60 GAMMA RADIATION ON SECONDARY ROOT FORMATION AND SECONDARY METABOLITE ACCUMULATION OF *Codonopsis javanica* IN VITRO CULTURE

Thi Thuy Le*, Thi Huong Trinh, Nguyen Minh Hang Ta, Thanh Nhu Do

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade

SUMMARY

The profitable production of some important plant-based secondary metabolites *in vitro* by gamma irradiation is a current area of interest. This research aimed to determine the impact of gamma irradiation (20-60 Gy range) on the survival sample rate, root induction, and secondary metabolites in root biomass. The results showed that the survival rate, the rate of rooting samples, and the number of roots per sample gradually decreased with varying irradiation doses. When secondary roots were transferred to a liquid culture medium, the root biomass at all irradiation doses decreased compared to the control sample. Despite the decrease in root formation and proliferation rate at different irradiation doses, there was an observed tendency for the accumulation of crucial secondary metabolites in the root biomass to increase. The total saponin content at irradiation doses ranging from 20 Gy to 40 Gy and the total polysaccharide content at 20 Gy were 2.0-fold and 1.2-fold higher than the control sample, respectively.

Keywords: Co60, *Codonopsis javanica*, gamma-ray, root, secondary metabolite, *in vitro*.

* Author for correspondence: SĐT: 0918631699, Email: thuylt@huit.edu.vn