

ĐÁNH GIÁ, XÁC ĐỊNH MẪU SÂM NGỌC LINH SỬ DỤNG TRONG NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH KIỂM ĐỊNH TẠI TỈNH KON TUM

Khuất Thị Mai Lương^{1*}, Chu Đình Liệu², Thân Thị Minh Phương², Nguyễn Thị Thúy Ngoan¹, Hồ Thị Hương¹, Trần Huyền Trang¹, Đặng Thị Xuân¹, Lê Hùng Linh¹

TÓM TẮT

Đánh giá một số mẫu sâm Ngọc Linh đại diện tại hai vườn giống trên địa bàn tỉnh Kon Tum cho thấy, các mẫu rất đa dạng về mặt hình thái như chiều cao cây, chiều dài lá chét trung tâm và màu sắc thân. Mẫu sâm của vườn giống Công ty cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum có thân màu xanh, thấp cây ($30,07 \pm 3,02$ cm), lá dài trung bình ($9,19 \pm 0,85$ cm) và màu xanh nhạt. Ngược lại, cây sâm của vườn giống Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô có thân màu tím, cao cây ($38,63 \pm 5,51$ cm), lá thuôn dài ($11,39 \pm 0,94$ cm) và màu xanh đậm. Kích thước sản phẩm khuếch đại ADN của 261 mẫu sâm Ngọc Linh thu thập tại 02 vườn của Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô và Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum bằng chỉ thị phân tử đặc hiệu *gcpm11* và *gcpm14* tương đồng với kích thước sản phẩm khuếch đại ADN mẫu sâm Ngọc Linh đối chứng. Các mẫu sâm Ngọc Linh và một số loài sâm Việt Nam thuộc chi *Panax* sẽ được sử dụng làm mẫu ADN đối chứng trong các nghiên cứu xây dựng quy trình kiểm định sâm Ngọc Linh tại tỉnh Kon Tum.

Từ khóa: Sâm Ngọc Linh, chỉ dẫn địa lý, kiểm định

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Ngọc Linh được xác định là cây thuốc quý, là loài sâm đặc hữu của nước ta, phân bố ở 2 tỉnh Kon Tum và Quảng Nam. Rễ củ sâm Ngọc Linh chứa tới 52 loại saponin, trong đó có nhiều hợp chất mới như majonosid-R2, ginsenosid-Rh5 (20-O-Me-G-Rh1), vina-ginsenosid R-25,... Thành phần saponin sâm Ngọc Linh đặc sắc, có nhiều tác dụng dược lý và là dược liệu đứng đầu các vị thuốc quý của y học cổ truyền (Nguyen *et al.*, 1994; Tran Le Quan *et al.*, 2001; Nguyen Thi Thu Huong *et al.*, 1998, 2003, 2005; Quang Ung Le *et al.*, 2018).

Sâm củ “Ngọc Linh” được cấp giấy chứng nhận đăng ký chỉ dẫn địa lý số 00049 theo Quyết định số 3235/QĐ-SHTT của Cục trưởng Cục Sở hữu trí tuệ. Theo Quyết định này, sản phẩm sâm củ mang chỉ dẫn địa lý nằm trên ngọn núi Ngọc Linh trong khu vực địa lý thuộc xã Măng Ri, xã Ngọc Lậy thuộc huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum và xã Trà Linh thuộc huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam. Ngày 30/7/2018, Cục trưởng Cục Sở hữu trí tuệ ban hành Quyết định số 2465/QĐ-SHTT (về việc sửa đổi Giấy chứng nhận đăng ký chỉ dẫn địa lý số 00049), chỉ dẫn địa lý “Ngọc Linh” cho sản phẩm củ được

mở rộng thêm 7 xã của tỉnh Kon Tum và 6 xã của tỉnh Quảng Nam, nâng tổng số xã được bảo hộ chỉ dẫn địa lý lên 16 xã (Báo điện tử Chính phủ, 2018).

Với mục tiêu xây dựng và phát triển Sâm Việt Nam trong đó có sâm Ngọc Linh thành ngành hàng có giá trị kinh tế cao, là sản phẩm chủ lực trong lĩnh vực y - dược và chăm sóc sức khỏe, mang thương hiệu sản phẩm quốc gia; góp phần tạo việc làm, thu nhập cho người dân, phát triển kinh tế - xã hội vùng đồng bào dân tộc thiểu số, bảo đảm quốc phòng, an ninh, ngày 01/6/2023, Phó Thủ tướng Trần Lưu Quang ký Quyết định 611/QĐ-TTg Phê duyệt Chương trình phát triển Sâm Việt Nam đến năm 2030, định hướng đến năm 2045. Ngành nông nghiệp đặt mục tiêu nâng diện tích vùng trồng sâm Việt Nam lên khoảng 21.000 ha vào năm 2030.

Tuy nhiên, hiện nay việc sử dụng các loài có hình dạng giống sâm Ngọc Linh trong chi *Panax* ở Việt Nam như tam thất hoang (*Panax stipuleanatus* H.T. Tsai & K.M. Feng), sâm Vũ Diệp (*Panax bipinnatifidus* Seem.) và sâm Lai Châu (*Panax vietnamensis* var. *fuscidiscus*) để giả mạo, đang trở thành một vấn đề ảnh hưởng đến hình ảnh, chất lượng thương hiệu của sâm Ngọc Linh

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp

² Trung tâm Nghiên cứu, Ứng dụng và Dịch vụ Khoa học và Công nghệ tỉnh Kon Tum

Tác giả liên hệ, email: hoamoclantt_36@yahoo.com

cũng như tính bền vững của vùng nguyên liệu. Ngày 14/9/2021, Ủy ban nhân dân tỉnh Kon Tum ban hành Kế hoạch số 3286/KH-UBND về bảo vệ thương hiệu Sâm Ngọc Linh Kon Tum (Kế hoạch bảo vệ thương hiệu sâm Ngọc Linh Kon Tum, 2021). Trong đó, cần tăng cường công tác quản lý nguồn gốc, tiêu chuẩn sâm giống Ngọc Linh, kiểm soát bên ngoài đối với chỉ dẫn địa lý “Ngọc Linh” cho sản phẩm sâm củ của tỉnh Kon Tum. Do đó, xây dựng quy trình kiểm định sâm Ngọc Linh bằng chỉ thị phân tử là hướng đi mới, hiện đại và mang lại hiệu quả cao. Sử dụng chỉ thị phân tử xác định đúng loài có độ tin cậy cao, tiết kiệm thời gian và chi phí so với phương pháp phân biệt bằng hình thái lá hoặc củ vì rất nhiều các loài sâm, tam thất có hình thái tương tự nhau.

Xác định đúng mẫu sâm Ngọc Linh và các mẫu sâm khác thuộc chi *Panax* sử dụng làm đối chứng là hết sức quan trọng và cần thiết trong quy trình kỹ thuật kiểm định sâm Ngọc Linh bằng chỉ thị phân tử. Trong nghiên cứu này, các mẫu sâm Ngọc Linh được đánh giá, thu thập trong chỉ dẫn địa lý “Ngọc Linh” trên địa bàn tỉnh Kon Tum và sử dụng làm vật liệu ADN đối chứng trong xây dựng quy trình kiểm định bằng chỉ thị phân tử. Công ty TNHH MTV Lâm Nghiệp Đắk Tô và Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum là hai đơn vị được lựa chọn thu thập mẫu, đây là hai đơn vị có vườn sâm lâu năm và lớn nhất trên địa bàn tỉnh Kon Tum. Năm 1995, Sở Khoa học Công nghệ tỉnh Kon Tum, Viện Dược liệu và Lâm trường Đắk Tô (tiền thân của Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô) đã phối hợp thực hiện dự án bảo tồn nguồn gen sâm Ngọc Linh. Mẫu phục vụ nhiệm vụ là mẫu thu thập từ người dân bản địa thu hái trong rừng tự nhiên. Từ năm 1999, Trung tâm bảo tồn giống sâm Ngọc Linh thuộc Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô đã tiếp nhận các dự án trồng thử nghiệm với mục đích bảo tồn, chăm sóc và phát triển sâm Ngọc Linh cho đến nay. Năm 2006, Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum được thành lập với mục tiêu bảo tồn, duy trì và phát triển nguồn gen gốc cây sâm Ngọc Linh.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vật liệu thực vật: cây sâm Ngọc Linh trong vườn giống của Công ty Cổ phần sâm Ngọc Linh

Kon Tum và Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô được đánh giá đặc điểm hình thái và thu thập mẫu lá làm vật liệu phục vụ tách chiết ADN.

- Hai chỉ thị phân tử đặc hiệu gcpm11, gcpm14 phân biệt sâm Ngọc Linh với các loài khác thuộc chi *Panax*, mẫu sâm Ngọc Linh, sâm Vũ Diệp, tam thất hoang và sâm Lai Châu sử dụng làm vật liệu ADN đối chứng trong nghiên cứu kế thừa từ đề tài nghiên cứu cấp nhà nước mã số ĐTĐL.CN-29/16.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp đánh giá hình thái các mẫu sâm thu thập

Đặc điểm chung của các cây sâm trong vườn được đánh giá dựa trên mô tả về sâm Việt Nam và một số cây thuốc họ nhân sâm của Nguyễn Thượng Dong và cộng sự (2007). Năm mươi (50) cây sâm Ngọc Linh đại diện của mỗi vườn được đánh giá một số tính trạng hình thái về thân và lá dựa trên “Sổ tay hướng dẫn để tiến hành đánh giá độ khác biệt, tính đồng nhất và ổn định của nhân sâm *Panax ginseng* C.A., Mey” của Liên minh Bảo vệ các giống cây trồng mới (UPOV - International Union for the Protection of New Varieties of Plants, 2020).

2.2.2. Phương pháp thu thập và bảo quản mẫu lá sâm

Mẫu được thu trực tiếp tại vườn giống, cây được đánh số và ghi nhãn theo thứ tự. Thu mẫu lá sạch bệnh, không bị dập nát, đựng trong túi ziplock, ghi nhãn và bảo quản trong thùng lạnh. Mẫu được vận chuyển về phòng thí nghiệm và bảo quản ở nhiệt độ 4°C.

2.2.3. Các kỹ thuật sinh học phân tử

- Tách chiết ADN bằng phương pháp CTAB (Semagn *et al.*, 2014) có cải tiến.

- Tiến hành phản ứng PCR với đoạn mỗi đặc hiệu, thành phần phản ứng của một phản ứng PCR như sau:

Thành phần	Thể tích (μL)
dH ₂ O	16,5
Buffer (10X)	2,5
dNTPs (2,5 mM)	2,5
Taq Polymerase (5U/μL)	0,5
Primer (10 pmol)	2,0
ADN (50 ng/μL)	1,0
Tổng thể tích	25,0

Phản ứng PCR được thực hiện trên máy PCR, chu trình nhiệt của phản ứng PCR được cài đặt như sau:

Các bước	Nhiệt độ (°C)	Thời gian	Số chu kỳ	Tác dụng
1	94	5 phút	1	Biến tính
2	94	30 giây	35	Biến tính
	55	45 giây		Gắn môi
	72	2 phút		Tổng hợp
3	72	7 phút	1	Tổng hợp
4	4	∞		Bảo quản

- Điện di trên gel agarose 2,5%, chụp ảnh và phân tích kết quả.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện từ tháng 9/2022 đến tháng 6/2023 tại vườn giống của Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô và Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum; Phòng thí nghiệm Bộ môn Sinh học phân tử - Viện Di truyền Nông nghiệp.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả đánh giá hình thái, thu thập mẫu sâm Ngọc Linh tại vườn giống trên địa bàn tỉnh Kon Tum

Nhóm nghiên cứu đã tiến hành đánh giá đặc điểm hình thái và thu thập các mẫu sâm Ngọc Linh tại vườn giống của Công ty cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum và Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô (Hình 1). Cả hai vườn giống sâm Ngọc Linh trồng hoàn toàn tự nhiên dưới những tán rừng nằm trên địa bàn xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum.



Hình 1. Hình ảnh đi thu thập mẫu sâm Ngọc Linh tại vườn sâm giống Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô

Cây sâm Ngọc Linh đánh giá tại hai vườn giống nhìn chung có các đặc điểm hình thái sinh học đặc trưng của sâm Việt Nam. Các mẫu sâm rất đa dạng về mặt hình thái như chiều cao cây, chiều dài lá chét trung tâm và màu sắc thân (Bảng 1). Các cây sâm của vườn giống Công ty cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum có thân màu xanh, thấp cây ($30,07 \pm 3,02$ cm), chiều dài lá trung bình ($9,19 \pm 0,85$ cm), lá màu xanh nhạt. Ngược lại, cây sâm của vườn giống Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô có thân màu tím, cao cây ($38,63 \pm 5,51$ cm), lá thuôn dài ($11,39 \pm 0,94$ cm) và màu xanh đậm. Sự khác biệt về các đặc điểm màu sắc thân, lá, chiều cao cây, kích thước lá chét trung tâm thu từ hai vườn giống phù hợp với các mô tả trước đây về loài sâm Ngọc Linh (Trương Thị Hồng Hải và cs., 2018 ; Đinh Xuân Tú và cs., 2023). Dựa trên một vài đặc điểm hình thái đánh giá rất khó phân biệt với sâm Lai Châu và các loài khác thuộc chi *Panax*. Tại thời điểm đánh giá, hầu hết quả sâm Ngọc Linh đã được thu hoạch nên chưa đánh giá được đặc điểm về quả của các mẫu sâm.

Bảng 1. Một số đặc điểm hình thái thân và lá của các mẫu sâm Ngọc Linh nghiên cứu

TT	Tính trạng mô tả	Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô	Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum
1	Chiều cao cây (cm)	$38,63 \pm 5,51$	$30,07 \pm 3,02$
2	Đường kính thân (cm)	$0,42 \pm 0,04$	$0,38 \pm 0,03$
3	Màu sắc thân	Tím	Xanh
4	Màu sắc lá	Xanh đậm	Xanh nhạt
5	Số lá chét	5 - 7	5 - 7
6	Hình dạng lá	Thuôn dài	Thuôn dài hơi phình to cuối lá
7	Mép răng cưa	Đều	Đều
8	Chiều dài cuống lá kép (cm)	$8,16 \pm 1,23$	$6,86 \pm 1,32$
9	Chiều dài lá chét trung tâm (cm)	$11,39 \pm 0,94$	$9,19 \pm 0,85$
10	Chiều rộng lá chét trung tâm (cm)	$4,37 \pm 0,35$	$4,20 \pm 0,59$

Cây thu mẫu trên 5 năm tuổi, đặc điểm sinh trưởng, phát triển tốt và không bị sâu bệnh. Cây được đeo thẻ đánh dấu theo số trùng khớp với số trên túi ziplock lưu mẫu. Thu 1 lá chết, mẫu lá bánh

tẻ, sạch bệnh, cho vào túi ziplock đã được ghi nhãn trong thùng lạnh, vận chuyển về phòng thí nghiệm và bảo quản tạm thời ở nhiệt độ 4°C. Thông tin về các mẫu sâm thu thập được thể hiện ở bảng 2.

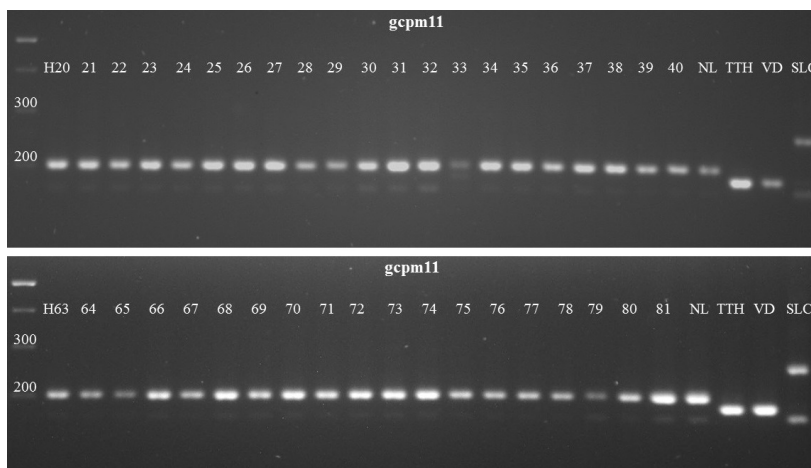
Bảng 2. Kết quả thu thập mẫu sâm phục vụ nghiên cứu

TT	Tên mẫu	Loại mẫu	Số mẫu	Thời gian thu mẫu	Địa điểm thu mẫu
1	H1 - H100	lá	100	9/2022	Vườn sâm giống Công ty CP Sâm Ngọc Linh Kon Tum tại xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông (14°59' Bắc, 107°54' Đông)
2	T1 - T158	lá	158	9/2022	Vườn sâm giống Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô tại xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông (14°58' Bắc, 107°57' Đông)
3	TC132, TC133, TC146	cây	03	9/2022	Vườn sâm giống Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô tại xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông (14°58' Bắc, 107°57' Đông)
4	TC159, TC160, TC161	cây	03	12/2022	Vườn sâm giống Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô tại xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông (14°58' Bắc, 107°57' Đông)
5	Mẫu sâm đối chứng (sâm Ngọc Linh, tam thất hoang, sâm Vũ Diệp, sâm Lai Châu)	lá	04	12/2016	Kế thừa từ đề tài nghiên cứu cấp nhà nước Mã số ĐTĐL.CN-29/16

3.2. Đánh giá, xác định mẫu sâm Ngọc Linh sử dụng làm mẫu đối chứng trong quy trình kiểm định bằng chỉ thị phân tử

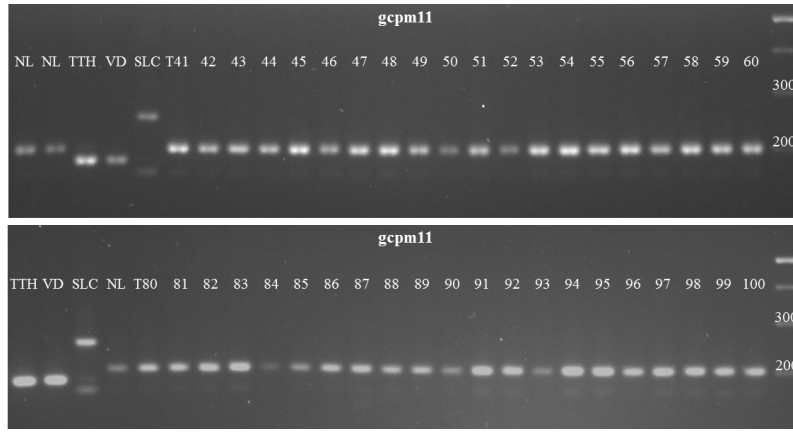
Tổng số 261 mẫu lá sâm Ngọc Linh thu thập tại hai vườn giống của tỉnh Kon Tum đã được bảo quản tốt và sử dụng để tách chiết ADN phục vụ nghiên cứu. Sử dụng 02 chỉ thị phân tử đặc hiệu gcpm11 và gcpm14 là sản phẩm của đề tài “Nghiên cứu xây dựng bộ chỉ thị phân tử phục vụ giám định,

khai thác và phát triển sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*)” – Mã số ĐTĐL.CN- 29/16 để xác định các mẫu sâm Ngọc Linh thu thập (Lê Hùng Lĩnh, 2019). Kết quả điện di sản phẩm khuếch đại ADN các mẫu sâm Ngọc Linh thu thập bằng chỉ thị gcpm11 cho kích thước tương đồng ở 202 bp (Hình 2, Hình 3). Các mẫu sâm khác không phải là mẫu sâm Ngọc Linh cho kích thước sản phẩm khuếch đại ADN lớn hơn hoặc nhỏ hơn 202 bp.



Hình 2. Kết quả xác định mẫu sâm Ngọc Linh đại diện thu thập tại vườn Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum bằng chỉ thị phân tử đặc hiệu gcpm11

Ghi chú: H20-40, H63-81: mẫu sâm Ngọc Linh thu thập tại vườn Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum ; NL: sâm Ngọc Linh đối chứng; TTH: mẫu tam thất hoang, VD: mẫu sâm Vũ Diệp; SLC: mẫu sâm Lai Châu; 100 bp là thang vạch chuẩn (ladder).

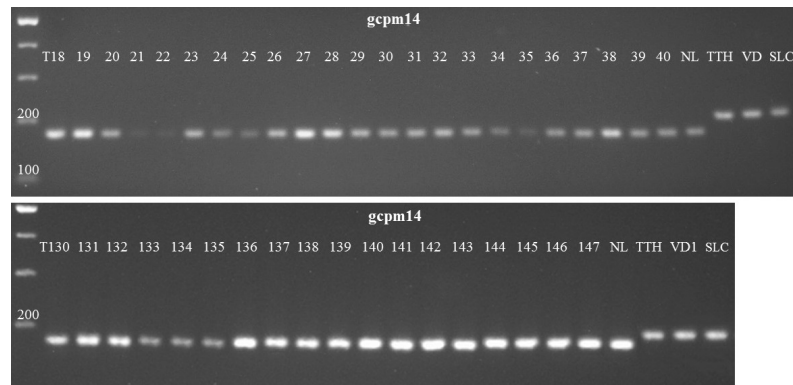


Hình 3. Kết quả xác định mẫu sâm Ngọc Linh đại diện thu thập tại vườn Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô bằng chỉ thị phân tử đặc hiệu gcpm11

Ghi chú : T41-60, T80-100: mẫu sâm Ngọc Linh thu thập tại vườn Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô; NL: sâm Ngọc Linh đối chứng; TTH: mẫu tam thất hoang, VD: mẫu sâm Vũ Diệp; SLC: mẫu sâm Lai Châu; 100 bp là thang vạch chuẩn (ladder).

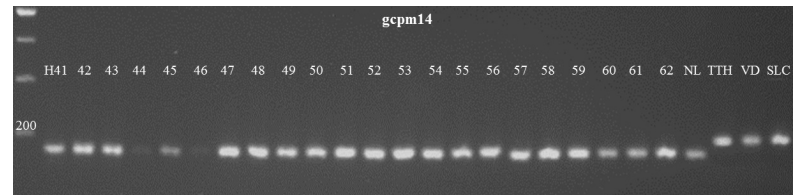
Bên cạnh chỉ thị phân tử gcpm11, chỉ thị gcmp14 cũng được sử dụng trong việc xác định loài sâm Ngọc Linh sử dụng làm mẫu chuẩn ADN phục vụ nghiên cứu. Kết quả sử dụng chỉ thị gcpm14 xác định mẫu sâm Ngọc Linh thu thập tại vườn giống của Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum và

Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô được thể hiện ở hình 4 và hình 5. Sản phẩm PCR các mẫu giống sâm thu thập cho kích thước bằng sản phẩm khuếch đại tương đồng với mẫu sâm Ngọc Linh chuẩn (178 bp) và nhỏ hơn các loài khác với các loài không phải là sâm Ngọc Linh.



Hình 4. Kết quả xác định mẫu sâm Ngọc Linh đại diện thu thập tại vườn Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô bằng chỉ thị phân tử đặc hiệu gcpm14

Ghi chú: T41-60, T80-100: mẫu sâm Ngọc Linh thu thập tại vườn Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô; NL: sâm Ngọc Linh đối chứng; TTH: mẫu tam thất hoang, VD: mẫu sâm Vũ Diệp; SLC: mẫu sâm Lai Châu; 100 bp là thang vạch chuẩn (ladder).



Hình 5. Kết quả xác định mẫu sâm Ngọc Linh đại diện thu thập tại vườn Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum bằng chỉ thị phân tử đặc hiệu gcpm14

Ghi chú: H41-62: mẫu sâm Ngọc Linh thu thập tại vườn Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum ; NL: sâm Ngọc Linh đối chứng; TTH: mẫu tam thất hoang, VD: mẫu sâm Vũ Diệp; SLC: mẫu sâm Lai Châu; 100 bp là thang vạch chuẩn (ladder).

Tổng hợp kết quả nghiên cứu sử dụng chỉ thị phân tử đặc hiệu gcpm11 và gcpm14 đã xác định kích thước sản phẩm khuếch đại ADN của các mẫu sâm Ngọc Linh thu thập tại 02 vườn của Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô và Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum tương đồng với kích thước sản phẩm khuếch đại ADN mẫu sâm Ngọc Linh đối chứng. Mẫu sâm khác thuộc chi *Panax* cho kích thước sản phẩm khuếch đại khác biệt với mẫu sâm Ngọc Linh. Các mẫu sâm Ngọc Linh và một số loài sâm khác thuộc chi *Panax* sẽ được sử dụng làm mẫu ADN đối chứng trong các nghiên cứu xây dựng quy trình kiểm định sâm Ngọc Linh tại tỉnh Kon Tum.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Kết quả đánh giá đặc điểm hình thái các mẫu sâm đại diện tại hai vườn giống trên địa bàn tỉnh Kon Tum cho thấy, mẫu sâm Ngọc Linh rất đa dạng về mặt hình thái như chiều cao cây, chiều dài lá chét trung tâm và màu sắc thân. Mẫu sâm của vườn giống Công ty cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum có thân màu xanh, thấp cây ($30,07 \pm 3,02$ cm), lá dài trung bình ($9,19 \pm 0,85$ cm) và màu xanh nhạt. Ngược lại, mẫu sâm của vườn giống Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô có thân màu tím, cao cây ($38,63 \pm 5,51$ cm), lá thuôn dài ($11,39 \pm 0,94$ cm) và màu xanh đậm.

- Kết quả xác định mẫu sâm Ngọc Linh bằng chỉ thị phân tử đặc hiệu gcpm11 và gcpm14 cho thấy, kích thước sản phẩm khuếch đại ADN của 261 mẫu sâm Ngọc Linh thu thập tại 02 vườn của Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô và Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Kon Tum tương đồng với kích thước sản phẩm khuếch đại ADN mẫu sâm Ngọc Linh đối chứng. Các mẫu sâm Ngọc Linh và một số loài sâm khác thuộc chi *Panax* sẽ được sử dụng làm mẫu ADN đối chứng trong các nghiên cứu xây dựng quy trình kiểm định sâm Ngọc Linh tại tỉnh Kon Tum.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Kon Tum đã tài trợ kinh phí thực hiện cho nghiên cứu này. Đây là một trong những nội dung công việc của đề tài: “Nghiên cứu ứng dụng các công nghệ mới trong xác định và phân tích kiểm định chất lượng sâm Ngọc Linh”. Xin cảm ơn lãnh đạo Công ty Cổ phần

Sâm Ngọc Linh Kon Tum và Công ty TNHH MTV Lâm nghiệp Đắk Tô đã tạo điều kiện cho nhóm nghiên cứu đánh giá và thu thập mẫu sâm Ngọc Linh trong vườn giống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Báo điện tử Chính phủ, 2018. *Mở rộng khu vực địa lý cho sâm củ “Ngọc Linh”*, ngày truy cập 15/11/2022. Địa chỉ: <https://baochinhphu.vn/mo-rong-khu-vuc-dia-ly-cho-sam-cu-ngoc-linh-102242808.htm>.

Ủy ban Nhân dân tỉnh Kon Tum, 2021. Kế hoạch số 3286/KH-UBND ngày 14/9/2021 về Bảo vệ thương hiệu sâm Ngọc Linh Kon Tum, ngày truy cập 15/11/2022. Địa chỉ: <https://www.kontum.gov.vn/VanBan/Details/6568>.

Chính phủ, 2023. Quyết định số 611/QĐ-TTg ngày 01/6/2023 về việc Phê duyệt Chương trình phát triển Sâm Việt Nam đến năm 2030, định hướng đến năm 2045, ngày truy cập 05/10/2023. Địa chỉ <https://vanban.chinhphu.vn/?pageid=27160&docid=207988>.

Nguyễn Thượng Dong, Trần Công Luận, Nguyễn Thị Thu Hương, 2007. *Sâm Việt Nam và một số cây thuốc họ nhân sâm*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, trang 141.

Trương Thị Hồng Hải, Trần Việt Thắng, Nguyễn Đức Phước, Võ Văn Tư, 2018. Nghiên cứu xây dựng bảng mô tả tính trạng của cây sâm Ngọc Linh tại huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 127 (3A): 19-36.

Nguyễn Thị Thu Hương, Lương Kim Bích, Đoàn Thị Ngọc Hạnh, 2005. Nghiên cứu tác dụng của Sâm Việt Nam và Đinh lăng trên trí nhớ. *Tạp chí Dược liệu*, 10 (6): 196-200.

Lê Hùng Lĩnh, 2019. Báo cáo tổng hợp kết quả khoa học công nghệ đề tài “Nghiên cứu xây dựng bộ chỉ thị phân tử phục vụ giám định, khai thác và phát triển sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*). Mã số: ĐTĐL.CN-29/16. Bộ Khoa học và Công nghệ.

Đinh Xuân Tú, Trịnh Minh Quý, Hồ Thị Hoa, Nguyễn Minh Lý, 2023. Đánh giá nguồn vật liệu khởi đầu phục vụ công tác chọn tạo giống sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) tại tỉnh Quảng Nam. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 02 (144): 19-28.

Nguyen MD, Kasai R, Ohtani K, Ito A, Nham NT, Yamasaki K, Tanaka O, 1994. Saponins from Vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et

- Grushv. collected in central Vietnam. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 42 (3): 634-640.
- Nguyen Thi Thu Huong, Nguyen Thi Da Quyen, Hiroshi Watanabe**, 2003. Antioxidant activity of Vietnamese ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv. Araliaceae) in carbon tetrachloride-induced increase in lipid peroxidation. In *Proceedings of The Sixth Joint Seminar (12/2003, Bangkok): "Recent Advances in Natural Medicine Research, JSPS-NRCT Core University System on Natural Medicine in Pharmaceutical Sciences"*, p. 203.
- Nguyen Thi Thu Huong, Kinzo Matsumoto, Hiroshi Watanabe**, 1998. The antistress effect of majonoside-R2, a major saponin component of Vietnamese ginseng: neuronal mechanisms of action. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 20 (1):65-76.
- International Union for the protection of new varieties of plants (UPOV)**, 2020. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability of Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). Geneva, 14-20.
- Semagn K.**, 2014. Leaf tissue sampling and DNA extraction protocols. *Molecular Plant Taxonomy. Methods in molecular biology*, p. 53-67. doi: 10.1007/978-1-62703-767-9_3.
- Quang-Ung Le, Horng-Liang Lay, Ming-Chang Wu, Thi Hong-Hanh Nguyen and Duy-Lam Nguyen**, 2018. Phytoconstituents and biological activities of *Panax vietnamensis* (Vietnamese Ginseng): A Precious Ginseng and Call for Further Research-A systematic review. *Natural Product Communications*, 13 (10): 1381-1384
- Tran Le Quan, I. Ketut Adnyana, Yasuhiro Tezuka, Takema Nagaoka, Qui Kim Tran, Shigetoshi Kadota**, 2001. Triterpene saponins from Vietnamese ginseng (*Panax vietnamensis*) and their hepatocytoprotective activity. *Journal of Natural Products*, 64 (4): 456-461.

Evaluation and identification of Ngoc Linh ginseng samples for developing a verification process in Kon Tum province

Khuat Thi Mai Luong, Chu Dinh Lieu, Than Thi Minh Phuong, Nguyen Thi Thuy Ngoan, Ho Thi Huong, Tran Huyen Trang, Dang Thi Xuan, Le Hung Linh

Abstract

The evaluation of Ngoc Linh ginseng accessions collected from two gardens in Kon Tum province generally showed that the accessions are very diverse in morphology, such as plant height, leaflet length and width, and stem color. The ginseng plants of the Kon Tum Ngoc Linh Ginseng Joint Stock Company's garden have green and short stems (30.07 ± 3.02 cm), average leaf length (9.19 ± 0.85 cm), and light green color. In contrast, the ginseng plants of Dak To Forestry Limited Liability Company's garden have purple and high stems (38.63 ± 5.51 cm), elongated leaves (11.39 ± 0.94 cm), and dark green color. The DNA amplification product size of 261 Ngoc Linh ginseng accessions collected at the garden of Dak To Forestry Limited Company and Kon Tum Ngoc Linh Ginseng Joint Stock Company, using specific molecular markers gcpm11 and gcpm14, is consistent with the DNA amplification product size of the control Ngoc Linh ginseng accessions. The Ngoc Linh ginseng accessions and some Vietnamese ginseng species of the *Panax* genus will be used as DNA controls in studies to develop the verification process for Ngoc Linh ginseng in Kon Tum province.

Keywords: Ngoc Linh ginseng, geographical indication, verification

Ngày nhận bài: 10/4/2024

Ngày phản biện: 22/5/2024

Người phản biện: TS. Bùi Văn Thanh

Ngày duyệt đăng: 28/7/2024

BƯỚC ĐẦU ĐỊNH DANH, NHÂN GIỐNG VÀ NUÔI TRỒNG NẤM LINH CHI (*Ganoderma australe*) HOANG ĐẠI PHÁT HIỆN TẠI AN GIANG

Hồ Thị Thu Ba¹, Phạm Trường An¹, Văn Viễn Lương¹

TÓM TẮT

Nấm linh chi được phát hiện ở xã An Hào, huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang được xác định là loài *Ganoderma australe* bằng phương pháp truyền thống và dẫn liệu ITS với độ tương đồng 96% so với GenBank. Môi trường nhân giống cấp 1 có triển vọng là PDA, trong 7 ngày hệ sợi mọc kín đĩa Petri; môi trường gạo lứt là môi trường nhân giống cấp 2 phù hợp trong 10 ngày trên bình nuôi cấy giá thể; môi trường nuôi trồng tạo thể quả có triển vọng là môi trường 90% mùn cưa cao su + 5% cám gạo + 5% bột bắp trong 25 ngày. Thu quả thể sau 30 ngày hệ sợi sinh trưởng kín bịch, quả thể thu trong hai đợt đạt tổng khối lượng là 18,15 g và hiệu suất sinh học đạt 1,51%.

Từ khóa: Nấm linh chi cổ (*Ganoderma australe*), nhân giống, nuôi trồng

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm dược liệu là một trong những loại thảo dược quý được nghiên cứu từ lâu ở Việt Nam, trong đó có nấm linh chi. Chi nấm *Ganoderma* hay còn gọi là chi nấm linh chi, là một trong những chi nấm dược liệu quan trọng. Nấm linh chi *Ganoderma* được ghi chép từ lâu trong các thư tịch cổ của Trung Hoa như Thần Nông bản thảo hay Bản thảo cương mục của Lý Thời Trân thời Minh với các tác dụng: giải độc, kéo dài tuổi thọ... Thần Nông bản thảo còn xếp nấm linh chi vào loại thượng phẩm hơn cả nhân sâm: “Linh chi là thuốc kết tinh được cái quý của mây mưa trên núi cao, cái tinh của ngũ hành trong ngày đêm mà khoe năm sắc nên có thể giữ sức khỏe cho các bậc đế vương” (Chang & Miles, 2008). Theo Lin Zhou và cộng sự (2022), từ quả thể của nấm *Ganoderma australe* thu nhận được 12 triterpenoid lanostane mới, đây là một loại nấm dược liệu nổi tiếng và là loại thuốc thảo dược truyền thống để điều trị các bệnh: gan, viêm thận, suy nhược thần kinh và hen suyễn. Chiết xuất *Ganoderma australe* là chất kháng khuẩn hiệu quả với tỷ lệ ức chế cao đối với *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Klebsiella pneumoniae*. Hoạt tính kháng nấm có tác dụng chống lại *Rhizopus oryzae*, *Penicillium* sp., hoạt động chống oxy hóa và chống ung thư của chiết xuất polysaccharide thô hòa tan trong nước được phân lập từ quả thể của nấm *Ganoderma australe* có hiệu quả trên dòng tế bào xương người

(Lina *et al.*, 2023). Trong nghiên cứu định danh loài nấm thì nhận dạng hình thái với sinh học phân tử thông qua phân tích so sánh trình tự ITS-rDNA thường được sử dụng kết hợp để phát hiện các loài nấm mới (Min & Kang, 2021). Để sản xuất nấm, phải bắt đầu từ nhân giống ban đầu để tạo ra tơ nấm, sau đó là thí nghiệm để chọn môi trường nuôi trồng phù hợp và cuối cùng là trồng nấm trên cơ chất thích hợp (Klaus & Wan, 2022). Trong điều kiện nuôi trồng nhân tạo, điều quan trọng là tận dụng các chất nền sẵn có tại địa phương để hỗ trợ nấm phát triển tốt và đây là điều cần thiết cho sản xuất quy mô lớn (Balan *et al.*, 2022). Nấm linh chi *Ganoderma australe* là một trong những loài nấm có giá trị cao. Nghiên cứu tìm kiếm, thu thập, định danh và nuôi trồng được loài nấm này nhằm đa dạng loài nấm linh chi của Việt Nam là công việc có ý nghĩa và cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn mẫu: Nấm linh chi *Ganoderma* sp. thu vào mùa mưa năm 2023 tại tọa độ 10.496102N, 104.984397E thuộc xã An Hào, Tịnh Biên, An Giang.

Môi trường nhân giống cấp 1 bao gồm 3 loại: môi trường PDA (môi trường khoai tây) 200 g khoai tây, 20 g dextrose, 20 g agar, nước cất đủ 1.000 mL; môi trường PDD (môi trường khoai tây nước dừa) làm tương tự môi trường PDA nhưng thay thế nước

¹ Khoa Nông nghiệp-Tài nguyên thiên nhiên, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia TP. Hồ chí Minh

* Tác giả liên hệ, email: httba@agu.edu.vn