



KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VỀ LOÀI SÂM PUXAILAIENG Ở VÙNG NÚI CAO TỈNH NGHỆ AN

■ Trần Ngọc Lân và CS(*)

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới, chi Nhân sâm (*Panax*) (họ Nhân sâm hay họ Ngũ gia bì, Araliaceae) có 6-8 loài phân bố ở Bắc Mỹ và Đông Á (Mabberley, 2008; Shu, 2007; Phan Ke Long *et al.*, 2014;...); trong Danh lục thực vật (thế giới) có 12 tên loài được công nhận (The Plant List, 2014). Ở Trung Quốc, chi *Panax* có 7 loài, trong đó *P. japonicus* có 4 thứ (Shu, 2007). Tất cả các loài của chi Nhân sâm (*Panax*) là cây thuốc, một số loài được sử dụng làm dược liệu có giá trị cao, như nhân sâm (*P. ginseng*), tam thất (*P. notoginseng*), sâm Mỹ (*P. quinquefolius*), sâm Nhật (*P. japonicus*) và sâm Việt Nam (*P. vietnamensis*).

Chi Nhân sâm (*Panax*) ở Việt Nam hiện biết có 3 loài: sâm vũ diệp (*P. bipinatifidus*), tam thất trắng (*P. stipuleanatus*), sâm Việt

Nam hay sâm Ngọc Linh (*P. vietnamensis*) (Ha & Grushv., 1985; Phạm Hoàng Hộ, 2000; Katsuko Komatsu *et al.*, 2001; Nguyễn Tập, 2007; Nguyễn Thị Phương Trang và nnk, 2011; Phan Ke Long *et al.*, 2014a,b;...). Cả ba loài sâm này đều thuộc nhóm loài quý hiếm cần bảo vệ ghi trong *Sách đỏ Việt Nam* (Bộ KH&CN, 2007). Có 4 loài sâm khác được ghi nhận ở Việt Nam nhưng chưa thu được mẫu trong tự nhiên, đó là tam thất (*P. notoginseng*), sâm Vân Nam (*P. zingiberensis*), sâm tam thất (*P. pseudoginseng*), sâm Nhật (*P. japonicus*) (Thompson *et al.*, 1997; Shu, 2007;...). Loài *Panax* sp. (Pu Xai Lai Leng, Nghệ An) gần nhất với loài tam thất hoang (*P. stipuleanatus*) (ITS-rDNA: bootstrap 98%, sai khác 2 nucleotide) (Phan Ke Long *et al.*, 2014a).

Loài sâm Việt Nam có tên gọi phổ biến là sâm Ngọc Linh. Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) hiện có 3 thứ: sâm Ngọc Linh - *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. var. *vietnamensis*, phân bố ở

Kon Tum (núi Ngọc Linh, Đăk Tô, Đăk Glei), Quảng Nam, Gia Lai, Lâm Đồng (núi Lang Biang); sâm Lai Châu - *Panax vietnamensis* var. *fuscidiscus* Komatsu, Zhu, Cai, 2003, phân bố ở Lai Châu (Mường Tè, Tam Đường, Sin Hồ), Vân Nam (Jinping, Trung Quốc); và thứ sâm Việt Nam mới là *Panax vietnamensis* var. *langbianensis* phân bố ở núi Lang Biang (Lâm Đồng) (Bộ KH&CN, 2007; Phan Ke Long *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015; Duy *et al.*, 2016;...). Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*) là loài sâm quý hiếm; nhóm hoạt chất saponin nhiều loại và hàm lượng cao, đặc biệt là 3 hoạt chất đặc trưng Ginsenosid Rb1, Ginsenosid Rg1, Majonosid R2 (MS2) (Nguyen *et al.*, 1993, 1994; Duc *et al.*, 1994; Huong *et al.*, 1997; Konoshima *et al.*, 1999; Yamasaki, 2000;...).

Sâm Puxailaileng còn gọi sâm Lào hay củ một triệu là một loại sâm quý mới phát hiện thuộc họ Nhân sâm (Araliaceae) được tìm thấy ở vùng núi cao Puxailaileng thuộc dãy Trường Sơn, nơi có độ che phủ rừng trên 80%. Hiện nay, sâm Puxailaileng trong tự nhiên ngày càng khan hiếm do bị người dân khai thác quá mức và đang đứng trước nguy cơ tuyệt chủng. Việc phát hiện loài nhân sâm thuộc chi *Panax* trên vùng núi cao Puxailaileng ở tỉnh Nghệ An rất có ý nghĩa về khoa học và thực tiễn. Tuy nhiên, để cây sâm Puxailaileng có thể phát huy hết giá trị như sâm Việt Nam, sâm Ngọc Linh... thì trước tiên cần xác định được nó là loài sâm nào trong chi *Panax*, cũng như đặc điểm nông sinh học, giá trị dược liệu, cách thức nhân giống và trồng... của loài.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu gồm 15 mẫu sâm Puxailaileng (13 mẫu cây non, 2 mẫu cây có hoa) được thu thập tại vùng núi Puxailaileng, huyện Kỳ Sơn, tỉnh Nghệ An.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Hình thái thực vật

Phương pháp thu thập mẫu, ghi chép thông tin, xử lý mẫu, định tên, lập danh lục được thực hiện theo Quy trình điều tra thực vật của Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật. Để mô tả đặc điểm hình thái thực vật của các mẫu sâm thu thập, Ban Chủ nhiệm đề tài sử dụng phương pháp nghiên cứu thực vật của Nguyễn Nghĩa Thìn (1997).

2.2. Phân tích hàm lượng các chất

Tinh dầu được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí (GC) và sắc ký khí-khối phổ (GC/MS). Định tính saponin trong sâm Puxailaileng theo phương pháp TLC (*Dược điển Việt Nam IV*, 2009). Định lượng các chất Ginsenosid Rg1, Ginsenosid Rb1 trong sâm Puxailaileng theo phương pháp HPLC (*China Medical Science Press*, 2010, *Pharmacopoeia of The People's Republic of China, Ginseng Radix et Rhizoma monograph, Volume I*, pp. 209-210). Định lượng Majonosid R2 trong sâm Puxailaileng theo phương pháp HPLC (Nguyen Duc Hanh *et al.*, 2010, “HPLC quantitative determination of Majonosid R2 in Vietnamese ginseng”, *Tạp chí Dược liệu*).

2.3. Phân tích cây phát sinh chủng loài của sâm Puxailaileng

Chiết xuất và tinh sạch DNA của sâm Puxailaileng theo phương pháp của Doyle *et al.* (1987), có cải tiến theo phương pháp của Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phản ứng PCR, tinh lọc và giải trình tự tinh sạch sản phẩm PCR. Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng sử dụng bộ GeneJet™ Gel Extraction Kit (Thermo Fisher Scientific) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sản phẩm PCR được chuyển sang Macrogen Inc. Hàn Quốc để giải trình tự nucleotide cả 2 chiều xuôi và ngược.

So sánh trình tự nucleotide và phân tích số liệu phát sinh loài: mỗi trình tự được kiểm tra chất lượng bằng phần mềm BioEdit v. 6.0.7 (Hall, 2004). Các trình tự nucleotide vùng gen ITS được sắp xếp theo hàng, cột sử dụng để phân tích xây dựng cây phát sinh chủng loại bằng phần mềm MEGA6.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm hình thái thực vật của sâm Puxailaileng

Phân tích hình thái thực vật sâm Puxailaileng: 13 mẫu không mang cơ quan sinh sản, còn non và 2 mẫu có hoa được thu thập trên núi Puxailaileng, độ cao 1.500-1.600m cho thấy, các mẫu sâm thu thập rất gần với loài sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*).

Sâm Puxailaileng có hai dạng thân là thân khí sinh thẳng đứng, màu xanh lục hoặc hơi tím, nhỏ, có đường kính thân 4-8mm, thường tàn lụi hàng



Hình 1. Một số đặc điểm hình thái của sâm Puxailaileng

năm. Thân rễ có đường kính 1-2cm, mọc bò ngang trên lớp đất mặt hoặc dưới mặt đất với độ sâu 1-5cm, mang nhiều rễ nhánh và củ. Các thân khí sinh mang lá và tương ứng với mỗi thân mang lá là một đốt (mắc), thân củ dài khoảng 5-30mm. Các đốt thân mọc về cùng 1 hướng (ở tam thất hoang thường mọc so le). Thân rễ cây sâm Puxailaileng sấy khô thường có đặc tính dẻo và chuyển màu nâu đen. Khác với tam thất hoang, củ chuyển màu trắng và rất cứng.

Cây mọc chồi và ra lá mới từ khoảng tháng 11 đến tháng 3 năm sau. Cây tuổi nhỏ, sâm chỉ có một lá duy nhất không rụng suốt từ năm thứ 1-3 và chỉ từ năm thứ 4 trở đi mới có thêm 2-3 lá. Trên đỉnh của thân mang lá kép hình chân vịt mọc vòng với 3-5 nhánh lá. Cuống lá kép dài 6-12mm, mang 5 lá chét, lá chét ở chính giữa lớn hơn cả với độ dài 12-15cm, rộng 3-4cm. Lá chét phiến

hình bầu dục, mép khía răng cưa, chóp nhọn, lá có lông gai ở cả hai mặt.

Cây từ 5 năm tuổi trở lên ra hoa hình tán đơn mọc dưới các lá thẳng với thân, cuống tán hoa dài 10-20cm, có thể kèm 1-4 tán phụ hay một hoa riêng lẻ ở phía dưới tán chính. Mỗi tán có 60-100 hoa, cuống hoa ngắn 1-1,5cm, lá đài 5, cánh hoa 5, màu vàng nhạt, nhị 5, bầu 1 ô với 1 vòi nhụy. Quả mọc tập trung ở trung tâm của tán lá, dài độ 0,8-1cm và rộng khoảng 0,5-0,6cm.

2. Thành phần các chất của củ sâm Puxailaileng

2.1. Thành phần các chất của củ sâm Puxailaileng

Thành phần hóa học cơ bản và có tính chung nhất phần thân củ của sâm Puxailaileng với hai mẫu sâm Puxailaileng phân tích T1 và T2 ở độ tuổi 4 được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. So sánh thành phần hóa học cơ bản của sâm Puxailaileng và sâm Ngọc Linh

TT	Chỉ tiêu	Kết quả (%)		So sánh với thành phần khảo sát của sâm Ngọc Linh
		Mẫu T1	Mẫu T2	
1	Độ ẩm (Dược điển VN)	8,16	7,98	7,81
2	Độ tro toàn phần (Dược điển VN)	7,65	7,78	7,80
3	Độ tro không tan trong HCL	1,64	1,67	1,73
4	Đường tự do	6,32	6,85	6,19
5	Tinh bột	2,46	2,52	2,64
6	Saponin toàn phần (pp cân)	12,64	10,42	15,75

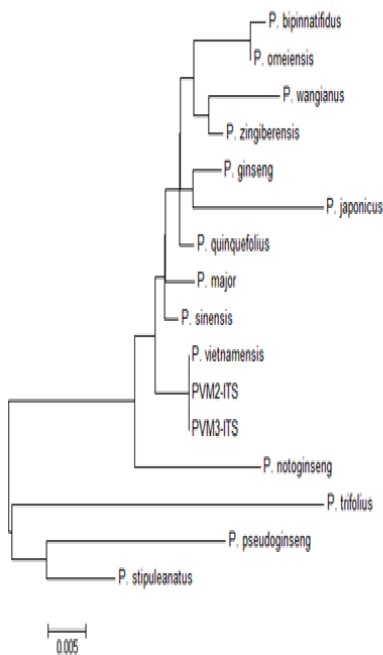
Số liệu phân tích tại bảng 1 cho thấy, độ ẩm và lượng đường tự do của hai mẫu sâm Puxailaileng cao hơn so với sâm Ngọc Linh. Tuy nhiên, độ tro toàn phần, độ tro không tan trong HCl, tinh bột và đặc biệt là hàm lượng saponin toàn phần của hai mẫu sâm Puxailaileng đều ít hơn so với sâm Ngọc Linh.

2.2. Hợp chất saponin trong sâm Puxailaileng

Hợp chất saponin được xem là thành phần hoạt chất chủ yếu của nhân sâm, trong đó các hoạt chất saponin chính là Ginsenoside Rb1, Ginsenoside Rg1 và Majonoside R2.

Bảng 2. So sánh thành phần hoạt chất saponin cơ bản của sâm Puxailaileng và sâm Ngọc Linh

TT	Chỉ tiêu	Sâm Puxailaileng (tuổi 4) (%)		So sánh với thành phần khảo sát của sâm Ngọc Linh (tuổi 4)
		Mẫu T1	Mẫu T2	
1	Hàm lượng hợp chất Ginsenosid Rg 1	2,45	1,05	0,25
2	Hàm lượng hợp chất Ginsenosid Rb 1	0,79	0,48	1,84
3	Hàm lượng hợp chất Majonosid R2	3,88	2,08	4,44
Tổng số 3 chất Rg1, Rb1, MR2		7,12	3,61	6,53



Hình 2. Cây phát sinh chủng loại sâm Puxailaileng (PVM2, PVM3)

Kết quả phân tích các hoạt chất chính cho thấy, sâm Puxailaileng có các hợp chất Ginsenosid Rg1, Ginsenosid Rb1 và Majonosid R2 tương tự sâm Việt Nam. Trong đó, hợp chất Rg1 của hai mẫu sâm Puxailaileng cao hơn so với sâm Việt Nam và đạt tương ứng là 2,45 và 1,05%; hai hợp chất Rb1 và MR2 của hai mẫu sâm Puxailaileng đều thấp hơn so với sâm Việt Nam.

3. Trình tự nucleotide vùng gen ITS-rDNA của sâm Puxailaileng

Kết quả phân tích trình tự nucleotide của mẫu sâm Puxailaileng PVM2, PVM3 với trình tự nucleotide trên vùng ITS của các loài thuộc chi *Panax* cho thấy, trình tự vùng gen ITS-rDNA của hai mẫu sâm Puxailaileng giống hệt nhau, có mối quan hệ gần gũi với sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*), khác xa so với tam thất trắng (*Panax stipuleanatus*) và sâm vũ diệp (*P. bininnatificus*). Kết quả so sánh trình tự nucleotide vùng gen ITS-rDNA của sâm Puxailaileng với các loài gần gũi thuộc chi Nhân sâm cho thấy, mẫu sâm Puxailaileng thu thập hoàn toàn giống với sâm Việt Nam (sâm Ngọc Linh) và sai khác với các loài *P. zingiberensis* ở 8 vị trí nucleotide, sai khác với *P. stipuleanatus* và *P. bininnatificus* 25 vị trí nucleotide của vùng gen ITS-rDNA (619 nucleotide).

Bảng 3. Sự sai khác số nucleotide trên vùng gen ITS-rDNA của sâm Puxailaileng so với các loài Nhân sâm ở Việt Nam

Loài	Số nucleotide (nu) của vùng gen ITS	PVM2-ITS	<i>Panax sp.</i> (*)
<i>Panax vietnamensis</i>	ITS-rDNA: 588 nu	0	
<i>Panax zingiberensis</i>	ITS-rDNA: 619 nu	8	
<i>Panax stipuleanatus</i>	ITS-rDNA: 619 nu	25	2
<i>Panax bininnatificus</i>	ITS-rDNA: 619 nu	25	

(*) Nguồn: Phan Ke Long et al., (2014)

Kết quả phân tích cây phát sinh chủng loại dựa trên trình tự ITS-rDNA bằng phần mềm BioEdit ở hình 2 cho thấy, hai mẫu sâm Puxailaileng thu thập tại vùng núi Puxailaileng tỉnh Nghệ An có độ tương đồng cao với sâm Việt Nam hay sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*) với giá trị bootstrap là 100%.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

Căn cứ vào đặc điểm hình thái thực vật, bổ sung bằng trình tự nucleotide vùng gen ITS-rDNA và các hợp chất Ginsenosid Rg1, Ginsenosid Rb1, Majonosid R2, sâm Puxailaileng là loài sâm Việt Nam hay sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.). Sâm Puxailaileng có các hợp chất saponin Ginsenosid Rg1, Ginsenosid Rb1 và Majonosid R2 ở mức khá cao (trung bình của hai mẫu phân tích là 5,37%).

Chú thích:

© Nguyễn Tiến Dũng, Nguyễn Thị Thu - Viện Nghiên cứu và Phát triển Vùng; Lê Thị Thu Hiền - Viện Nghiên cứu Hệ Gen; Ngô Hoàng Linh, Nguyễn Đức Nam - Trung tâm Ứng dụng tiến bộ KH&CN Nghệ An; Trần Quốc Thành, Hoàng Nghĩa Nhạc - Sở Khoa học và Công nghệ Nghệ An; Phùng Văn Hào - Trường Đại học Vinh

Tài liệu tham khảo

- Bộ Khoa học và Công nghệ, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam (2007), *Sách đỏ Việt Nam - Phần II - Thực vật*, Nxb Khoa học tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội, 2007, tr.85-89.
- Duc N.M., Kasai R., Ohtani K., Ito A., Nham N.T., Yamasaki K., Tanaka O. (1993), Saponins from Vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. collected in central Vietnam. III. *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 1994, 42(3), pp 634-640.
- Duy N.V. (Nong Van Duy), Le Ngoc Trieu, Nguyen Duy Chinh, Van Tien Tran (2016), A new variety of *Panax* (Araliaceae) from Lam Vien Plateau, Vietnam and its molecular evidence. *Phytotaxa*, 2016, 277(1), 47.
- Ha T.D., Grushvitsky I.V. (1985), A new species of the genus *Panax* (Araliaceae) from Vietnam. *Bot J* (Leningrad), 1985, pp 519-522.
- Huong N.T, Matsumoto K., Yamasaki K., Duc N.M., Nham N.T., Watanabe H. (1997), Majonoside-R2, a major constituent of Vietnamese ginseng, attenuates opioid-induced antinociception. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1997, 57(1-2), pp 285-291.
- Katsuko Komatsu, Shu Zhu, Hirotohi Fushimi, Tran Kim Qui, Shaoqing Cai, Shigetoshi Kadota (2001), Phylogenetic Analysis Based on 18S rRNA Gene and matK Gene Sequences of *Panax vietnamensis* and Five Related Species. *Planta Med.*, 2001, 67, 461-465.
- Konoshima T., Takasaki M., Ichiishi E., Murakami T., Tokuda H., Nishino H., Duc N.M., Kasai R., Yamasaki K. (1999), Cancer chemopreventive activity of majonoside-R2 from Vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis*. *Cancer Letters*, 1999, 147(2): 11-16.
- Mabberley DJ (2008), *The Plant-Book* 3rd ed. Cambridge Univ. Press, 2008.
- Nguyen M.D., Nguyen T.N., Kasai R., Ito A., Yamasaki K., Tanaka O. (1993), Saponins from Vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. collected in central Vietnam. I. *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 1993, 41(11), pp 2010-2014.
- Nguyen M.D., Kasai R., Ohtani K., Ito A., Nguyen T.N., Yamasaki K., Tanaka O. (1993), Saponins from Vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. collected in central Vietnam. II. *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 1994, 42(1), pp 115-122.
- Nguyễn Nghĩa Thìn (1997), *Cẩm nang nghiên cứu đa dạng sinh vật*, Nxb Nông Nghiệp, Hà Nội.
- Nguyễn Tập (2007), *Cẩm nang cây thuốc cần bảo vệ ở Việt Nam*, IUCN, 2007, tr.161-170.
- Nguyễn Thị Phương Trang, Nguyễn Giang Sơn, Lê Thanh Sơn, Phan Kế Long (2011), *Mối quan hệ di truyền của sâm Ngọc Linh (Panax vietnamensis Ha et Grushv., 1985) với các loài trong chi Panax*, Hội nghị khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật lần thứ 4, 2011, tr. 955-959.
- Phan Kế Long, Vũ Đình Duy, Phan Kế Lộc, Nguyễn Giang Sơn, Nguyễn Thị Phương Trang, Lê Thị Mai Linh, Lê Thanh Sơn (2014), *Mối quan hệ di truyền của các mẫu sâm thu ở Lai Châu trên cơ sở phân tích trình tự nucleotide vùng matK và ITS-rDNA*, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 2014, 12(2): 327-337.
- Phan Kế Long, Trần Thị Việt Thanh, Nguyễn Thiên Tạo, Phan Kế Lộc, Nguyễn Tư Lệnh, Nguyễn Tiến Lâm, Đặng Xuân Minh (2014), *Đặc điểm hình thái và phân tử của Panax sp. (Araliaceae) thu ở núi Phu Xai Lai Leng, tỉnh Nghệ An, Việt Nam*, *Tạp chí Sinh học*, 2014, 36(4): 494-499.
- Phạm Hoàng Hộ (2000) *Panax*: 515-516, *Cây cỏ Việt Nam II*, Nxb Trẻ.
- The Plant List (2014), Collaboration between the Royal Botanic Gardens, Kew and Missouri Botanical Garden, 2014.
- Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D.G. (1997), The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 1997, 24: 4876-4882.
- Shu Ren-Shen (2007), PANAX Linnaeus, Sp. Pl. 2: 1058. 1753. *Flora of China*, 2007, 13: 489-491.
- Yamasaki K. (2000), Bioactive saponins in Vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis*. *Pharm. Biol.*, 2000, 38(1):16-24. Doi: 10.1076/phbi.38.6.16.5956
- Zhang Guang-Hui, Chun-Hua Ma, Jia-Jin Zhang, Jun-Wen Chen, Qing-Yan Tang, Mu-Han He, Xiang-Zeng Xu, Ni-Hao Jiang and Sheng-Chao Yang (2015), Transcriptome analysis of *Panax vietnamensis* var. *fuscidiscus* discovers putative ocotillol-type ginsenosides biosynthesis genes and genetic markers. *BMC Genomics*, 2015, 16: 1-19.

2. Kiến nghị

Sâm Puxailaileng thuộc loài sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) nhưng để xác định chính xác sâm Puxailaileng là thứ sâm Lai Châu (*Panax vietnamensis* var. *fuscidiscus* Komatsu, Zhu, Cai, 2003), hay là thứ sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv., 1985 var. *vietnamensis*), thứ sâm Lang Biang (*Panax vietnamensis* var. *langbianensis* Duy et al., 2016) hoặc là một thứ mới của loài sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*) cần nghiên cứu thêm về đặc điểm hình thái thực vật và phân tích trình tự nucleotide của 5 vùng gen (ITS-rDNA, *matK*, 18S-rRNA, *psbA-trnH*, *rbcL*) của các thứ này.

Hiện nay, sâm Puxailaileng rất hiếm gặp trong tự nhiên. Vì vậy, cần tập trung nghiên cứu bảo tồn, khai thác và phát triển nguồn gen quý hiếm để đưa loài cây thuốc này phát triển trở thành dược liệu quý của vùng núi Nghệ An và vùng lân cận./.