

# ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI GIẢI PHẪU, HÀM LƯỢNG SAPONIN VÀ CHỈ THỊ MÃ VẠCH DNA-ITS CỦA SÂM NGỌC LINH (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv.) TRỒNG DƯỚI TÁN RỪNG

**Dặng Ngọc Phúc<sup>1,2,3</sup>, Hoàng Tấn Quang<sup>2</sup>, Trần Hữu Dũng<sup>4</sup>, Nguyễn Thanh Tùng<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> Nhóm nghiên cứu Y học tái tạo, Khoa Cơ bản, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế, Huế, Việt Nam

<sup>2</sup> Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế, Huế, Việt Nam

<sup>3</sup> Trường Đại học Đông Á, Đà Nẵng, Việt Nam

<sup>4</sup> Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế, Huế, Việt Nam

\* Tác giả liên hệ Nguyễn Thanh Tùng <nguyenthanhtung@hueuni.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 14-05-2025; Hoàn thành phần biện: 26-09-2025; Ngày chấp nhận đăng: 16-12-2025)

**Tóm tắt.** Nghiên cứu đặc điểm giải phẫu, hàm lượng saponin, chỉ thị mã vạch DNA-ITS nhằm góp phần xây dựng quy trình chuẩn về định danh Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv.) trồng dưới tán rừng xã Trà Linh, Thành phố Đà Nẵng. Các đặc điểm hình thái giải phẫu của Sâm Ngọc Linh đã được mô tả. Hàm lượng saponin toàn phần và các saponin chính như G-Rg1, M-R2, G-Rb1, và G-Rd của thân rễ và rễ đã được xác định. Lá cây được sử dụng để tách chiết DNA và giải trình tự gen ITS. Kết quả cho thấy Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng có đặc điểm hình thái giải phẫu điển hình của loài. Hàm lượng saponin toàn phần và các saponin G-Rg1, M-R2, G-Rb1, G-Rd đảm bảo theo tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam V; cụ thể, hàm lượng saponin toàn phần đạt  $13,81 \pm 0,18\%$ , G-Rg1 đạt  $3,647 \pm 0,062\%$ , M-R2 đạt  $3,823 \pm 0,054\%$ , G-Rb1 đạt  $0,979 \pm 0,017\%$  và G-Rd đạt  $0,961 \pm 0,037\%$ . Ba mẫu Sâm Ngọc Linh đã được giải trình tự gene ITS và đăng ký trên Genbank (PV185794, PV185795, PV185796). Trình tự gene ITS của ba mẫu Sâm Ngọc Linh có quan hệ gần gũi với các mẫu Sâm Ngọc Linh trên Genbank.

**Từ khóa:** Sâm Ngọc Linh, chỉ thị mã vạch DNA, hình thái giải phẫu, ITS, saponin

## Morpho-anatomical characterisation, saponin content, and ITS-based DNA barcoding of Ngoc Linh ginseng (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv.) cultivated under the forest canopy

**Dang Ngoc Phuc<sup>1,2,3</sup>, Hoang Tan Quang<sup>2</sup>, Tran Huu Dung<sup>3</sup>, Nguyen Thanh Tung<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> Regenerative Medicine Core Research Group, Faculty of Basic Science, University of Medicine and Pharmacy, Hue University, Hue, Vietnam

<sup>2</sup> Institute of Biotechnology, Hue University, Hue, Vietnam

<sup>3</sup> Dong A University, Da Nang, Vietnam

<sup>4</sup> Faculty of Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University, Hue, Vietnam

\* Correspondence to Nguyen Thanh Tung <nguyenthanhtung@hueuni.edu.vn>

(Received: 14 May 2025; Revised: 26 September 2025; Accepted: 16 December 2025)

**Abstract.** This study investigated the anatomical characteristics, saponin content, and DNA-ITS barcode markers to establish standardised criteria for identifying Ngọc Linh ginseng (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv.) cultivated under the forest canopy in the Tra Linh Commune, Da Nang City. Morphological and anatomical traits were described. The rhizomes and roots were analysed for the total saponin content and major saponins – G-Rg1, M-R2, G-Rb1, and G-Rd. Genomic DNA was extracted from the leaves, and the internal transcribed spacer (ITS) region was sequenced. The results revealed that cultivated Ngọc Linh ginseng displayed typical species-specific morphological and anatomical features. The total saponin content was  $13.81 \pm 0.18\%$ , with G-Rg1 at  $3.647 \pm 0.062\%$ , M-R2 at  $3.823 \pm 0.054\%$ , G-Rb1 at  $0.979 \pm 0.017\%$ , and G-Rd at  $0.961 \pm 0.037\%$ , conforming the requirements of the Vietnamese Pharmacopoeia V. ITS sequences from three samples were registered in GenBank (PV185794–PV185796) and showed 99.42–100% similarity with *P. vietnamensis*. These findings support a standardised protocol for identifying Ngọc Linh ginseng, enabling its conservation and sustainable development.

**Keywords:** Ngọc Linh ginseng, DNA barcode marker, morpho-anatomical characterisation, ITS, saponin

## 1 Mở đầu

Thông tư số 16/2022/TT-BYT ngày 30 tháng 12 năm 2022 của Bộ Y tế đã ban hành quy định danh mục 23 loài, chủng loại dược liệu quý, hiếm và đặc hữu phải kiểm soát của Việt Nam, trong đó đáng chú ý có Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv.) [1]. Sâm Ngọc Linh, với tên gọi khác là Sâm Việt Nam, Sâm K5 hay Sâm trúc, được phát hiện vào năm 1973 tại vùng núi Ngọc Linh, miền Trung Việt Nam, thuộc huyện Nam Trà My (Quảng Nam cũ), huyện Tu Mơ Rông và Đăklei (Kon Tum cũ) [2].

Nhiều công trình nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy bộ phận dưới mặt đất của Sâm Ngọc Linh chứa chủ yếu các hợp chất saponin triterpen với 4 khung chính là protopanaxadiol (PPD), protopanaxatriol (PPT), ocotillol (OT) và acid oleanolic (OA) và các dẫn chất có dây nối C-17 biến đổi [3]. Từ thân rễ và rễ của Sâm Ngọc Linh, 52 saponin, 7 hợp chất polyacetylen và các thành phần khác như polysaccharid, acid béo, amino acid, các nguyên tố đa và vi lượng đã được phân lập [4]. Các nhà khoa học đã nghiên cứu và chứng minh Sâm Ngọc Linh có tác dụng dược lý như tăng lực, hồi phục sức, kéo dài thời gian ngủ, cải thiện trí nhớ, chống áp lực, chống trầm cảm, giải lo âu, chống oxy hóa *in vivo* và *in vitro*, bảo vệ

gan, kháng khuẩn, ức chế phát triển khối u và kháng viêm [4].

Sâm Ngọc Linh, trồng trong môi trường bán tự nhiên, đòi hỏi các điều kiện rất khắt khe như độ cao trên 1.200 m so với mực nước biển, khí hậu mát mẻ, nhiệt độ trung bình 20–23 °C và độ che phủ của tán rừng 70–90%. Ngoài ra, sự biến đổi đất rừng, nguy cơ xói mòn, cũng như quản lý độ ẩm và vi sinh vật đất là những thách thức lớn trong canh tác. Vì vậy, cây thường chỉ phát triển được ở khu vực quanh vùng núi Ngọc Linh; thời gian trồng kéo dài 5 đến 6 năm mới tích lũy đủ hoạt chất để thu hoạch [5]. Việc định danh Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng hiện nay vẫn chủ yếu dựa vào kinh nghiệm truyền thống của người dân địa phương thông qua hình thái thực vật nên dễ bị nhầm lẫn với các loài sâm khác trong chi *Panax*.

Trong bối cảnh đó, sinh học phân tử trở thành công cụ hữu hiệu để giám định dược liệu quý. Vùng gen ITS (Internal Transcribed Spacer) của rDNA đã được chứng minh có độ phân giải cao, cho phép phân biệt rõ ràng các loài *Panax* [6]. Tại Việt Nam, ITS kết hợp với các chỉ thị khác như matK đã chứng minh tính hiệu quả trong nhận diện và phân tích phát sinh loài [7], đồng thời được ứng dụng trực tiếp để xác thực tính đặc hữu của *P. vietnamensis* [8]. Việc tích hợp ITS vào quy

trình giám định là cần thiết để khắc phục hạn chế của phương pháp hình thái, góp phần chuẩn hóa định danh, bảo tồn nguồn gen và phát triển bền vững nguồn dược liệu quý này.

## 2 Đối tượng và phương pháp

### 2.1 Đối tượng nghiên cứu

Mẫu Sâm Ngọc Linh được thu tại các địa điểm thuộc xã Trà Linh, Thành phố Đà Nẵng, từ tháng 5/2024 đến 8/2024. Ký hiệu mẫu lần lượt là: Panax M1 (15°01'53.2"N 108°01'25.5"E); Panax M2 (15°00'42.5"N 107°59'48.3"E); Panax M3 (15°01'43.7"N 107°58'57.5"E).

### 2.2 Phương pháp

#### Đặc điểm hình thái giải phẫu

**Đặc điểm hình thái:** Các mẫu thu được có đầy đủ bộ phận sinh dưỡng (thân, rễ và lá) và sinh sản (hoa và quả). Các đặc điểm hình thái được quan sát bằng mắt thường, kính lúp hay kính hiển vi quang học, mô tả và chụp ảnh các bộ phận cần khảo sát [9].

**Làm tiêu bản giải phẫu:** Mẫu được đặt lên một miếng bìa cứng và dùng lưỡi dao lam cắt thành 10–15 lát mỏng; mỗi lát có độ dày khoảng 0,2–0,3 mm. Các lát cắt sau đó được ngâm ngay vào đĩa Petri có sẵn nước cất. Mẫu được tẩy bằng dung dịch cloramin B trong 30 phút, sau đó rửa sạch bằng nước cất. Tiếp theo, ngâm mẫu trong acid acetic trong 15 phút và rửa sạch bằng nước cất. Nhuộm mẫu bằng dung dịch xanh methylen trong 30 giây và rửa sạch bằng nước cất. Cuối cùng, nhuộm mẫu bằng dung dịch đỏ carmin trong 30 phút và rửa sạch bằng nước cất [10].

#### Định lượng các saponin

**Chuẩn bị mẫu:** Sử dụng bàn chải rửa sạch thân rễ và rễ Sâm Ngọc Linh. Sau đó, mẫu được sấy trong tủ sấy đối lưu cưỡng bức SH Scientific SH-DO-54FGB ở 50 °C [11] cho đến khi khô cứng. Mẫu sau khi sấy khô được xay nhỏ bằng máy xay;

kích thước bột dược liệu sau khi xay đạt 355 µm [11].

**Định lượng saponin toàn phần:** Saponin toàn phần của bột thân rễ và rễ Sâm Ngọc Linh được định lượng bằng phương pháp quang phổ UV-Vis theo chuẩn Majonoside-R2 (M-R2) [12].

**Định lượng các nhóm saponin bằng phương pháp HPLC:** Dung dịch chuẩn được pha như sau: Cân chính xác 6,0 mg G-Rg1, 10,0 mg M-R2, 2,0 mg G-Rb1 và 2,0 mg G-Rd chuẩn; hòa tan với 5,0 mL methanol 70% bằng siêu âm; cho vào bình định mức 10 mL; thêm methanol 70% đến vạch mức; thu được dung dịch hỗn hợp chuẩn có nồng độ các chuẩn tương ứng lần lượt là 600, 1000, 200 và 200 µg/mL. Pha loãng hỗn hợp trên với methanol 70% để được dãy hỗn hợp chuẩn G-Rg1 30–300 µg/mL, M-R2 50–500 µg/mL, G-Rb1 10–100 µg/mL và G-Rd 10–100 µg/mL.

Dung dịch thử được chuẩn bị bằng cách cân chính xác khoảng 0,1 g bột sâm cho vào ống nghiệm có nắp; thêm chính xác 10 mL methanol 70%; đậy nắp và xác định khối lượng. Chiết bằng siêu âm trong 40 phút ở 30 °C; mỗi 10 phút lắc đều ống; để nguội; cân lại; bù khối lượng đã mất bằng methanol 70% để được khối lượng ban đầu; lọc qua màng 0,45 µm dùng cho phân tích HPLC. Lặp lại quy trình 3 lần. Mẫu trắng là methanol 70% [11].

Hệ thống sắc ký Shimadzu: bom LC-20AD, tiêm mẫu SIL-20A, đầu dò PDA (SPD-M20A). Cột sắc ký C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm). Thể tích tiêm mẫu 20 µL. Tốc độ dòng 1 mL/phút. Bước sóng phân tích 196 nm. Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi trình bày trong Dược điển Việt Nam V [13].

Hàm lượng saponin trong mẫu thử được xác định theo công thức:

$$x (\%) = \frac{C \times V}{m} \times \frac{p}{100} \times \frac{1}{10^6} \times 100$$

trong đó  $C$  là nồng độ saponin của mẫu thử suy ra từ mẫu chuẩn ( $\mu\text{g/mL}$ );  $V$  là thể tích methanol chiết mẫu ( $\text{mL}$ );  $p$  là độ tinh khiết của chuẩn,  $p = 98\%$ ;  $10^6$  là hệ số chuyển đổi  $\mu\text{g}$  sang  $\text{g}$ ;  $m$  là khối lượng của mẫu thử đã trừ ẩm ( $\text{g}$ ) [11].

### Định danh Sâm Ngọc Linh bằng chỉ thị mã vạch DNA-ITS

**Tách chiết DNA tổng số:** Lá Sâm Ngọc Linh được rửa sạch bằng cồn 96% và để khô trước khi tiến hành thí nghiệm. DNA tổng số được chiết xuất từ 1,0 g lá tươi theo phương pháp CTAB [14]. Sau đó sử dụng bộ DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Đức) để tách DNA; các bước được tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Chất lượng DNA tổng số được kiểm tra bằng phương pháp điện di trong gel agarose 1% và định lượng bằng Nanodrop (Eppendorf, Hoa Kỳ). DNA tổng số đã tinh chế được bảo quản ở  $-20^\circ\text{C}$  để khuếch đại PCR [15].

**Khuếch đại vùng gen ITS:** Phản ứng PCR khuếch đại vùng gen ITS được thực hiện trên máy PCR (Mastercycler Nexus, Đức), sử dụng môi xuôi ITS-P5 (5'-CCTTATCAYTTAGAGGAAGGAG-3') và môi ngược ITS-P4 (5'-CCGCTTAKTGATATGCTTAAA-3') [16]. Thành phần phản ứng PCR 25  $\mu\text{L}$  gồm: 12,5  $\mu\text{L}$  PCR Master Mix, 2X (Thermoscientific, Mỹ), 1,0  $\mu\text{L}$  môi xuôi (10 pmol), 1,0  $\mu\text{L}$  môi ngược (10 pmol), 1,0  $\mu\text{L}$  DNA (50 ng/ $\mu\text{L}$ ) và 9,5  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}$  khử ion. Phản ứng PCR được thực hiện trên máy gia nhiệt (SimpliAmp, Thermo Fisher Scientific, USA) với quy trình chạy như sau:  $95^\circ\text{C}$  trong 6 phút, 35 chu kỳ;  $95^\circ\text{C}$  trong 30 giây;  $54^\circ\text{C}$  trong 30 giây;  $72^\circ\text{C}$  trong 1 phút 30 giây,  $72^\circ\text{C}$  trong 8 phút; bảo quản mẫu ở  $4^\circ\text{C}$ . Điện di kiểm tra sản phẩm PCR trên gel agarose 1%.

**Giải trình tự gen:** Sản phẩm PCR mẫu Panax M1, Panax M2 và Panax M3 được tinh chế bằng bộ sinh phẩm Gene JET PCR purification Kit, theo hướng dẫn của nhà cung cấp (Thermo Fisher Scientific, USA). Sau khi tinh chế, sản phẩm PCR được sử dụng làm khuôn cho phản ứng giải trình tự trực tiếp với môi ITS, sử dụng Bigdye terminator cycler và đọc kết quả trên hệ thống ABI 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Mỹ).

### Phân tích kết quả

Trình tự nucleotide gen ITS của các mẫu nghiên cứu được xử lý bằng phần mềm BioEdit (v7.2.5) và Chromas-Pro. Mức độ tương đồng và độ bao phủ của các trình tự DNA được đánh giá bằng cách đối chiếu và so sánh với trình tự của mẫu với các trình tự sẵn có trên Genbank bằng công cụ BLAST (Basic local Alignment Search Tool, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Các trình tự DNA được sắp xếp giống cột bằng chức năng Clustal W trên phần mềm MEGA 11 với các tham số mặc định. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng bằng phần mềm MEGA 11 theo phương pháp Maximum-Likelihood (ML), với độ tin cậy cao và được đánh giá bằng 1.000 phép lặp bootstrap dựa trên số liệu đã thu thập [17, 18].

## 3 Kết quả và thảo luận

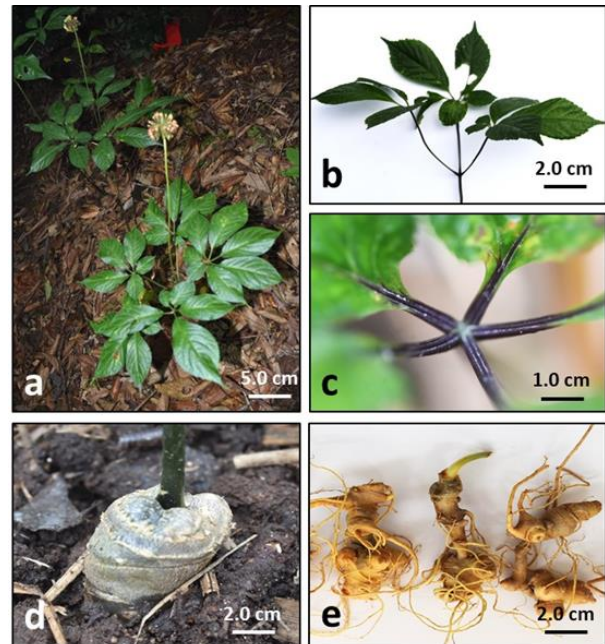
### 3.1 Đặc điểm hình thái

Các đặc điểm của cơ quan sinh dưỡng của Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng được trình bày trên Hình 1. Sâm Ngọc Linh là cây thảo sống nhiều năm với chiều cao 25–70 cm. Thân khí sinh không phân nhánh, mọc đứng, màu xanh hoặc hơi tím; tiết diện thân tròn với đường kính 3,0–7,0 mm; rụng hàng năm sau khi ra quả và hạt. Thân rễ nạc, nằm ngang, tiết diện tròn với đường kính 1,0–2,5 cm. Trên thân rễ có nhiều đốt và các vết sẹo do thân khí sinh rụng hàng năm để lại; mỗi

vết sẹo tương đương với một năm tuổi; khoảng cách giữa các vết sẹo thường xa hơn so cây mọc tự nhiên. Trên thân rễ mang nhiều rễ con màu vàng nhạt; chúng thường ngắn và mảnh hơn so với rễ Sâm Ngọc Linh mọc tự nhiên. Ở cuối thân rễ, có rễ củ hình con quay phát triển mạnh. Kiểu lá kép hình chân vịt; lá mọc vòng ở đỉnh thân khí sinh, có 3-5 lá kép trên mỗi mẫu; gốc cuống không có lá kèm. Cuống lá kép dài 9-12 cm. Mỗi lá kép thường có 5 lá chét (ít gặp 3 hoặc 6 lá chét). Lá chét có hình trứng ngược, hình elip hoặc hình trứng. Mép phiến lá chét có khía răng cưa; đầu lá có nhọn và gốc lá nhọn. Ba lá chét ở giữa có kích thước lớn nhất dài 8-12 cm, rộng 2-4 cm. Cuống lá có hình trụ; mặt trên khuyết thành hình lòng máng (Hình 1C). Gân lá hình lông chim, gồm 7-10 cặp gân phụ hình mạng. Phiến lá chét màu xanh lục, mỏng. Ở hai mặt của lá chét có nhiều lông cứng dài 1-2 mm chạy dọc theo gân lá.

Các đặc điểm của cơ quan sinh sản của Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng được trình bày trên Hình 2. Cụm hoa mang một tán đơn; vị trí ở đầu ngọn thân; số lượng hoa nhiều; mỗi cụm hoa có 50-140 hoa; cuống cụm hoa dài 10-16 cm. Gốc cuống cụm hoa có màu tím; lá bắc nhỏ, hình dùi, dài 2-3 mm. Hoa màu đều, lưỡng tính, có màu trắng xanh, đường kính 2-4 mm. Đài hoa có màu xanh lá gồm 5 bộ phận, đều, rời, hình tam giác, dài 1,0-1,5 mm, không có đài phụ. Cánh hoa màu trắng xanh, gồm 5 bộ phận, đều, rời, hình trứng, kích thước 1,6 × 0,7 cm. Đỉnh cánh hoa nhọn; tiền khai hoa lõp. Bộ nhị có 5 nhị, rời màu trắng ngà; nhị thò ra ngoài cánh hoa; chi nhị mảnh dài 1,5-2,0 mm. Bao phấn hai ô, dính lưng; hướng trong, mở dọc; đĩa hoa hơi lõm. Bộ nhụy có hai lá noãn liền, bầu trên, hai ô; mỗi ô có một lá noãn, dính noãn trung trụ, có hai vòi nhụy liền nhau ở phần đáy và phần gốc, dài 0,6-0,8 mm. Công thức hoa: \* $\overline{K}5C5A5G(2)$ . Quả mọng, hình thận; khi quả chín có màu đỏ tươi, có một chấm đen ở đỉnh. Mỗi quả thường có một hạt. Hạt có màu trắng hoặc màu vàng nhạt, dài 5-8 mm, rộng 4-6 mm,

dài 1,5-2,0 mm. Cây ra hoa vào năm thứ 4-5; mùa hoa vào tháng 4-6; mùa quả vào tháng 7-9.



**Hình 1.** Hình thái của cơ quan sinh dưỡng của Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng (a. Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng; b. Lá cây (Mọc vòng ở đầu ngọn thân); c. Gốc cuống lá chét (có màu tím); d. Thân rễ; e. Thân rễ và rễ)

Kết quả nghiên cứu cho thấy Sâm Ngọc Linh 4-6 tuổi trồng dưới tán rừng có đầy đủ đặc điểm hình thái đặc trưng của giống loài. Tuy nhiên, có thể do dinh dưỡng ở điều kiện trồng tốt hơn so với điều kiện tự nhiên nên Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng có một số khác biệt nhỏ về hình thái: khoảng cách vết lá thường xa hơn; rễ phụ ngắn và mảnh hơn và rễ củ hình con quay phát triển mạnh. Kết quả này tương đồng với các kết quả của Nguyễn Thượng Đông và cộng sự về đặc điểm hình thái Sâm Ngọc Linh ngoài tự nhiên [19].

Ngoài ra, kết quả của nghiên cứu này cũng tương đồng với các mô tả của nhiều tác giả về Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng. Đặc biệt là Sâm Ngọc Linh trồng thường có rễ củ phát triển mạnh [20, 21].



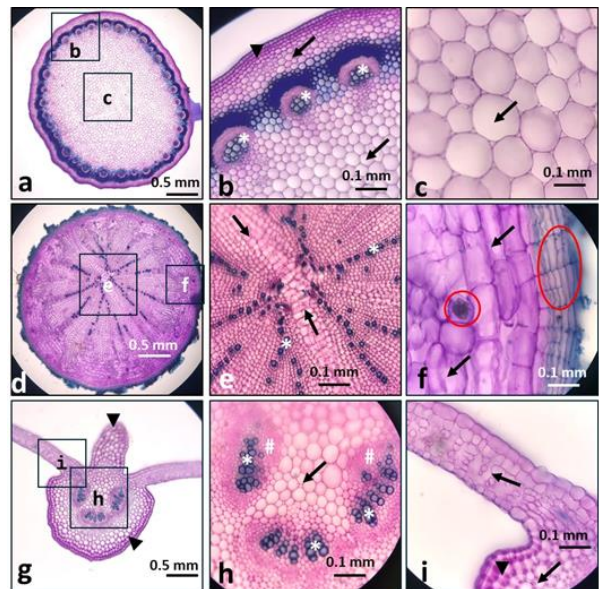
**Hình 2.** Hình thái cơ quan sinh sản Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng (a. Tán hoa; b. Tán quả non; c. Tán quả xanh; d. Tán quả chín)

*Ghi chú:* Đầu mũi tên: Hoa; Mũi tên: Quả; Hoa thị: Chấm đen ở đỉnh quả

### 3.2 Đặc điểm giải phẫu

Kết quả phân tích giải phẫu thân khí sinh, lá, và rễ Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng được trình bày trên Hình 3. Đặc điểm giải phẫu thân khí sinh cho thấy tiết diện thân khí sinh có hình tròn; tính từ ngoài vào trong gồm 2 phần là vỏ cấp 1 và trung trụ. Vỏ cấp 1 gồm có biểu bì hình thành từ một lớp tế bào hình đa giác, đều, xếp sát nhau và màng ngoài biểu bì phủ 1 lớp cutin mỏng. Mô dày được cấu tạo từ 3–4 lớp tế bào với vách dày bằng cellulose. Mô mềm vỏ gồm 3–4 lớp tế bào vách mỏng bằng cellulose, hình tròn hay hình bầu dục; kích thước không đều và sắp xếp lộn xộn để hở các khoảng gian bào. Ống tiết thường ở vị trí tương ứng với các bó libe – gỗ, đôi khi có cả ở mô mềm vỏ và mô mềm tủy. Nội bì ở thân không thể hiện rõ; các tế bào của cung mô cứng bao quanh bó libe có kích thước lớn hơn và vách dày hơn các tế bào mô cứng nối liền các bó libe – gỗ. Vùng trung trụ có trụ bì hóa mô cứng, gồm 2–3 lớp tế bào tạo thành vòng tròn liên tục nối liền các bó libe–gỗ. Phía trong trụ bì là các bó dẫn; 30–31 bó xếp trên một vòng. Bó dẫn kiểu chõng; libe xếp phía ngoài; gỗ xếp phía trong. Các bó dẫn được

vòng tế bào mô cứng bao bọc. Trong cùng là mô mềm tủy, gồm những tế bào có kích thước lớn, vách mỏng bằng cellulose, hình tròn hoặc hình bầu dục, sắp xếp lộn xộn tạo ra các khoảng gian bào; đôi khi có khuyết ở trung tâm.



**Hình 3.** Giải phẫu Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng (a. Giải phẫu thân khí sinh cắt ngang; b. Vùng vỏ thân khí sinh; c. Vùng tủy thân khí sinh; d. Giải phẫu rễ cắt ngang; e. Vùng tủy rễ cây; f. Vùng vỏ rễ cây; g. Giải phẫu lá cắt ngang; h. Gân lá; i. Phiến lá)

*Ghi chú:* Mũi tên: Tế bào mô mềm; Đầu mũi tên: Mô dày Mô; Một hoa thị: Mạch gỗ; Dấu thẳng: Mạch libe; Hình tròn: Tinh thể can xi oxalate; Hình elip: Lớp bần

Đặc điểm giải phẫu cho thấy lá gồm 2 phần: gân giữa và phiến lá. Ở gân giữa, ngoài cùng là biểu bì trên và biểu bì dưới, gồm một lớp tế bào hình đa giác xếp đều đặn. Tiếp theo là mô dày góc, gồm 2–3 lớp tế bào xếp sát biểu bì và vách dày bằng cellulose. Mô mềm gồm 3–4 lớp tế bào hình tròn và bầu dục kích thước khác nhau, có vách mỏng bằng cellulose và có các khoảng gian bào. Trong mô mềm có các ống tiết; vị trí ứng với bó libe – gỗ ở cả phía ngoài và phía trong. Các bó dẫn xếp thành một cung, gồm 3–5 cung nhỏ tách rời nhau. Ở mỗi cung, phía ngoài là libe; gỗ ở trong. Phiến lá rất mỏng, gồm có biểu bì trên và biểu bì dưới cấu tạo từ một lớp tế bào sống hình chữ nhật vách mỏng bằng cellulose. Tế bào biểu bì

trên có kích thước lớn hơn tế bào biểu bì dưới. Thịt lá có cấu tạo đồng thể chỉ có mô mềm khuyết (spongy parenchyma), vách mỏng bằng cellulose.

Đặc điểm giải phẫu rễ cho thấy có lớp bần chứa 5–8 lớp tế bào hình chữ nhật; các lớp ngoài thường bị bong ra. Mô mềm vỏ dày chiếm gần  $\frac{1}{2}$  bán kính của rễ, gồm nhiều tế bào với hình dạng và kích thước khác nhau và vách mỏng bằng cellulose. Mô mềm chứa ống tiết và tinh thể can xi oxalat hình cầu gai. Tiếp theo là tầng phát sinh libe – gỗ liên tục, gồm một lớp tế bào hình chữ nhật dẹt, vách mỏng bằng cellulose. Libe – gỗ xếp thành từng bó dẫn riêng lẻ, kéo dài theo hướng xuyên tâm. Tế bào mạch gỗ có vách dày, mô mềm không hóa gỗ. Tia tủy gồm nhiều tế bào vách mỏng bằng cellulose, sắp xếp theo hướng xuyên tâm.

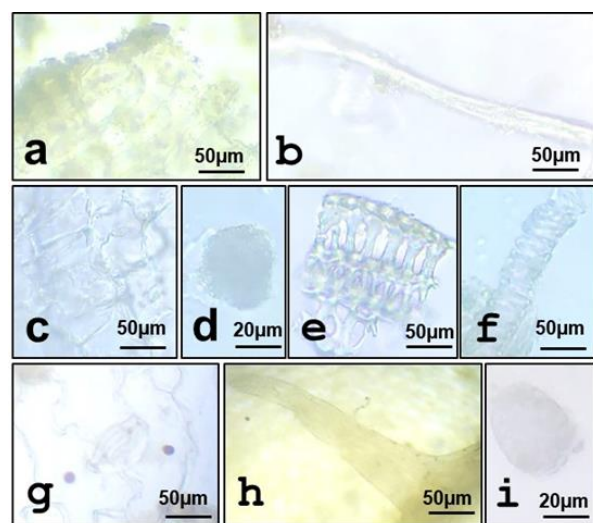
So sánh kết quả nghiên cứu của chúng với mô tả của Nguyễn Thượng Dong và cộng sự về của Sâm Ngọc Linh mọc tự nhiên có thể thấy đặc điểm giải phẫu của Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng và mọc tự nhiên hoàn toàn giống nhau. Điều này có thể do điều kiện dưới tán rừng cũng gần giống với điều kiện ở ngoài tự nhiên [19].

Kết quả của chúng tôi tương đồng với kết quả của Trần Thị Liên và cộng sự về đặc điểm giải phẫu của Sâm Ngọc Linh trồng [20].

Đặc điểm giải phẫu bột dược liệu được trình bày trên Hình 4. Kết quả cho thấy bột thân rễ và rễ có màu vàng nâu, vị đắng, mùi thơm. Soi dưới kính hiển vi quang học ở vật kính 40 cho thấy các đặc điểm sau: mảnh bần gồm các tế bào hình chữ nhật xếp theo hướng xuyên tâm; tinh thể can xi oxalat hình cầu gai. Các hạt tinh bột nằm riêng rẽ hay hợp thành đám, hình bầu dục, kích thước không đều. Mảnh mạch xoắn, mảnh mạch mạng, mảnh mô mềm gồm các tế bào hình đa giác xếp lộn xộn. Bột lá màu xanh, không mùi; vị hơi đắng; quan sát dưới kính hiển vi nhận thấy các đặc điểm: lỗ khí kiểu dị bào, mảnh mô mềm gồm

các tế bào hình đa giác, mạch xoắn, lông che chở đơn bào.

Soi dưới kính hiển vi quang học cho thấy bột thân rễ và rễ của Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng tại Nam Trà My giống với bột dược liệu của cây mọc tự nhiên do Nguyễn Thượng Dong và cộng sự đã mô tả [16]. Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với mô tả của Dược điển Việt Nam V và Huỳnh Vũ Kim Long về bột dược liệu của cây Sâm Ngọc Linh [4, 13].



**Hình 4.** Bột dược liệu Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng (a. Bần; b. Sợi; c. Mô mềm; d. Tinh thể oxalatcanxi; e. Mạch mạng; f. Mạch xoắn; g. Khí khổng; h. Lông che chở đơn bào; i. Hạt tinh bột)

### 3.3 Hàm lượng saponin

Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng saponin toàn phần trong bột thân rễ và rễ của Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng đạt  $13,81 \pm 0,18\%$  (tại độ ẩm 12,12%). Hàm lượng này giữa các mẫu nghiên cứu có sự tương đồng cao, dao động trong khoảng 13,61–13,96%, chứng tỏ tính đồng nhất của mẫu phân tích. Kết quả thu được tương đồng với kết quả của Trần Bảo Trâm và cộng sự [22] về chất lượng Sâm Ngọc Linh 5 năm tuổi trồng tại huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam (cũ). Đáng chú ý, hàm lượng saponin toàn phần của Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng có giá trị tương đương với *P. notoginseng* (xấp xỉ

15%) và cao hơn đáng kể so với *P. ginseng* (khoảng 4%) [23].

Thành phần hóa học chính của Sâm Ngọc Linh là các hợp chất saponin triterpen với 4 khung chính là protopanaxadiol (PPD), protopanaxatriol (PPT), ocotillol (OT) và acid oleanolic (OA) và các dẫn chất có dây nối C-17 biến đổi. Các saponin

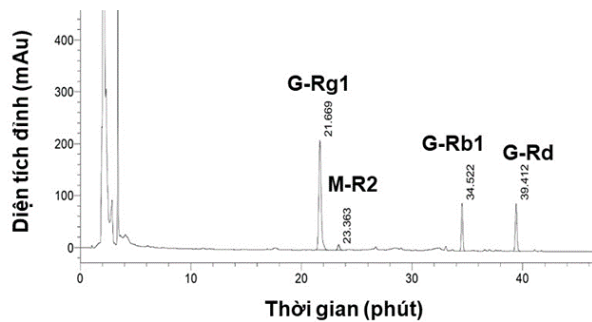
khung ocotillol của Sâm Ngọc Linh có hàm lượng cao vượt trội so với các loài sâm khác thuộc chi *Panax*, đặc biệt là M-R2, hợp chất được xem là thành phần chính của Sâm Ngọc Linh và cũng là thành phần có hoạt tính, nhất là các tác dụng trên hệ thần kinh trung ương [4].

**Bảng 1.** Hàm lượng saponin của Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng

Mẫu	Hàm lượng saponin (%) ± SEM			
	G-Rg <sub>1</sub>	M-R <sub>2</sub>	G-Rb <sub>1</sub>	G-Rd
Thân rễ và rễ	3,647 ± 0,062	3,823 ± 0,054	0,979 ± 0,017	0,961 ± 0,037

Chú thích: Giá trị được biểu diễn dưới dạng hàm lượng saponin trung bình (%) ± sai số chuẩn của trung bình (SEM).

Kết quả phân tích các hoạt chất chính trong bột thân rễ và rễ Sâm Ngọc Linh trình bày trong Bảng 1 và Hình 5 cho thấy hàm lượng M-R2 là cao nhất, đạt  $3,823 \pm 0,054\%$ , tiếp theo là G-Rg, đạt  $3,647 \pm 0,062\%$ . Hai hoạt chất G-Rb1 và G-Rd có hàm lượng tương nhau, lần lượt là  $0,979 \pm 0,017\%$  và  $0,961 \pm 0,037\%$ .



**Hình 5.** Phân tích HPLC hàm lượng saponin của Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng

Các nghiên cứu Nguyễn Thượng Dong và cộng sự [19] và Le và cộng sự [24] đều cho thấy M-R2 là hợp chất có hàm lượng cao nhất trong phần dưới mặt đất của Sâm Ngọc Linh; điều này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

Hàm lượng M-R2 của nghiên cứu này gần tương đương với Sâm Ngọc Linh trồng 4 năm tại xã Trà Linh, huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng

Nam (cũ) mà Trần Bảo Trâm và cộng sự đã công bố [22].

### 3.4 Định danh Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng bằng chỉ thị mã vạch DNA-ITS

Trong giám định nguồn gốc dược liệu, bên cạnh hình thái và hoạt chất chính, một trong những điểm mấu chốt là đặc điểm di truyền của từng loại cây dược liệu. Chỉ thị mã vạch DNA-ITS là công cụ thường được sử dụng để nhận biết những điểm đặc trưng của phân tử DNA di truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác của loài [6, 25].

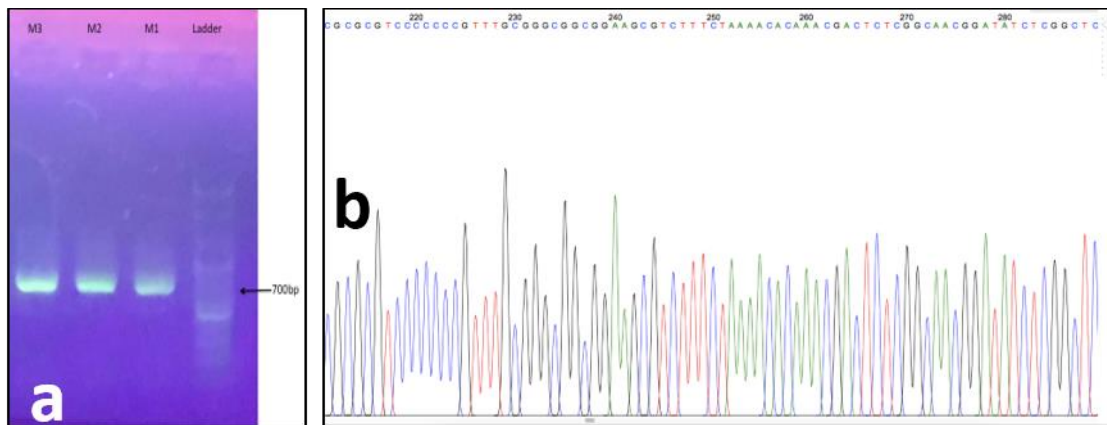
### Kết quả khuếch đại và giải trình tự vùng gene ITS

Kết quả kiểm tra sản phẩm PCR khuếch đại trình tự vùng gen ITS của mẫu nghiên cứu bằng điện di trên gel Agarose 1% cho thấy cả 3 mẫu (Panax M1, Panax M2 và Panax M3) đều có một vạch rõ nét với kích thước tương đương khoảng 700 bp, tương ứng đúng với chiều dài lý thuyết của gen ITS (Hình 6a), chứng tỏ quá trình khuếch đại gen ITS cho 3 mẫu Panax M1, Panax M2 và Panax M3 đã thành công; sản phẩm PCR rõ nét,

không bị đứt gãy, đủ điều kiện để thực hiện giải trình tự gen trực tiếp (Hình 6b).

Sản phẩm PCR sau đó được tiến hành giải trình tự với môi xuôi (ITS-F). Kết quả giải trình tự thu được cho hình ảnh sắc nét, các đỉnh đều, gọn, đẹp (Hình 6b).

Trình tự gene ITS của các mẫu nghiên cứu (Panax M1, Panax M2 và Panax M3) đã được đăng ký mã số trên Genbank lần lượt là PV185794, PV185795 và PV185796.



**Hình 6.** Khuếch đại và giải trình tự đoạn gene ITS của mẫu Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng

Kết quả kiểm tra trình tự gen ITS của mẫu Sâm Ngọc Linh (Panax M1, Panax M2 và Panax M3) trên ứng dụng Blast cho thấy cả 3 mẫu đều có quan hệ di truyền gần gũi nhất với loài *Panax vietnamensis* có mã số MZ149950 với hệ số tương đồng di truyền lần lượt là 99,42%, 100% và 99,71% (Hình 7). Loài *Panax vietnamensis* với mã số MZ149950 là mẫu Sâm Ngọc Linh được trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh thu thập và nghiên cứu, nên kết quả so sánh là rất đáng tin cậy. Điều này chứng tỏ mẫu vật thu thập ngoài thực địa không bị lẫn tạp các loài khác. Quá trình thu hái, vận chuyển và bảo quản mẫu là tốt và có độ tin cậy cao. Như vậy, kết hợp các đặc điểm hình thái, giải phẫu, thành phần hóa học bột dược liệu và phân tích di truyền có thể khẳng định cả ba mẫu Sâm Ngọc Linh thu được tại xã Trà Linh, Thành phố Đà Nẵng, là cùng một loài và loài nghiên cứu là *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.

Ở Việt Nam, nhiều tác giả đã ứng dụng vùng gene nhân (ITS-rDNA) để nghiên cứu mối quan hệ phát sinh chủng loại (phylogeny), phân

loại (taxonomy) và nhận dạng loài (identity) ở chi *Panax*. Phan Kế Long và cộng sự đã giải mã 588 nucleotide vùng gen ITS-rDNA cho tổng số 17 cá thể của hai loại sâm ở Lai Châu bao gồm Sâm Lai Châu (*P. vietnamensis* var. *fuscidiscus*) và Tam thất trắng (*P. stipuleanatus*) và các trình tự này đã được đăng ký trên GenBank [26]. Lê Thanh Hương và cộng sự đã ứng dụng vùng gen ITS-rDNA để xác định tên khoa học cho 7 mẫu thực vật thuộc chi *Panax*, trong đó 4 mẫu là Sâm Ngọc Linh (*P. vietnamensis* Ha et Grushv.) và 3 mẫu là Tam thất mọc hoang (*P. stipuleanatus*) [8]. Phạm Thị Minh Tâm và cộng sự đã giải trình tự đoạn ITS của 9 mẫu dược liệu mang tên Sâm Ngọc Linh có nguồn gốc từ tỉnh Kontum (cũ) và tỉnh Quảng Nam (cũ). Kết quả cho thấy 7 mẫu thu thập tại khu vực núi Ngọc Linh đều được định danh là *Panax vietnamensis*. Hai mẫu định danh không phải là *Panax vietnamensis*; một mẫu hoàn toàn không thuộc chi *Panax*. Nguyễn Thị Phương Trang và cộng sự đã tiến hành giải mã trình tự vùng gen ITS để kiểm tra lại chính xác mẫu Sâm Ngọc Linh đã thu tại vườn sâm gốc Tắc Ngo, xã Trà Linh,

huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam (cũ), sau khi định loại bằng các đặc điểm hình thái. Nguyễn Thị Huyền và cộng sự cũng đã nghiên cứu chỉ thị mã vạch DNA-ITS phục vụ giám định loài Sâm Lai Châu [27]. Điều này cho thấy trình tự gene ITS có thể giúp giám định các loài trong chi *Panax* một cách hiệu quả, đặc biệt là Sâm Ngọc Linh.

**Phân tích quan hệ phát sinh loài**

Biểu đồ hình cây về mối quan hệ phát sinh loài dựa trên trình tự nucleotide vùng gene ITS cho thấy ba trình tự nucleotide của mẫu nghiên cứu và 57 trình tự nucleotide từ 13 loài thuộc chi *Panax* được chia thành 14 nhóm (Bảng 2 và Hình 7).

Khoảng cách di truyền giữa các nhóm đã được tính dựa trên phương pháp tham số Kimura-2 (K2P) của phần mềm MeGA 11. Kết quả trong Bảng 2 cho thấy khoảng cách di truyền của mẫu nghiên cứu so với 13 loài thuộc chi *Panax*

thấp nhất là 0,3% (*P. vietnamensis*), cho biết sự tương đồng về trình tự giữa các mẫu, trong khi khoảng cách cao nhất là 6,14% (*P. trifolius*), cho thấy mối quan hệ di truyền chặt chẽ giữa các mẫu này khi sử dụng vùng ITS.

Kết quả phân tích trình tự nucleotide của mẫu nghiên cứu (*Panax* M1, *Panax* M2 và *Panax* M3) với trình tự nucleotide trên vùng gene ITS của 13 loài thuộc chi *Panax* cho thấy mẫu nghiên cứu có trình tự vùng gen ITS giống nhau, nằm trong cùng một nhóm và có mối quan hệ gần gũi với 5 mẫu Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*) trên Genbank với hệ số tương đồng di truyền cao nhất là 99,7% và khoảng cách di truyền là 0,3%. Ngoài ra, hệ số tương đồng di truyền giữa ba mẫu nghiên cứu và năm mẫu Sâm Lai Châu (*P. vietnamensis* var. *fuscidiscus*) là cao, đạt 99,18%, với khoảng cách di truyền bằng 0,82%. Tuy nhiên, trên cây phát sinh loài thì mẫu nghiên cứu và năm mẫu Sâm Lai Châu nằm ở các nhóm khác nhau

**Bảng 2.** Khoảng cách di truyền của mẫu *P. vietnamensis* với các loài trong chi *Panax* từ Genbank trên cơ sở phân tích trình tự nucleotide vùng gen ITS

Mẫu	Sample M1,M2, M3	<i>P. vietnamensis</i>	<i>P. vietnamensis</i> var. <i>fuscidiscus</i>	<i>P. japonicus</i>	<i>P. bipinnatifidus</i>	<i>P. zingiberensis</i>	<i>P. stipuleanatus</i>	<i>P. notoginseng</i>	<i>P. pseudoginseng</i>	<i>P. quinquefolius</i>	<i>P. assamicus</i>	<i>P. trifolius</i>	<i>P. wangianus</i>	<i>P. ginseng</i>
Sample M1,M2, M3														
<i>P. vietnamensis</i>	0,0003													
<i>P. vietnamensis</i> var. <i>fuscidiscus</i>	0,0082	0,0085												
<i>P. japonicus</i>	0,0119	0,0122	0,0169											
<i>P. bipinnatifidus</i>	0,0133	0,0136	0,0184	0,0096										
<i>P. zingiberensis</i>	0,0078	0,0081	0,0127	0,0071	0,0035									
<i>P. stipuleanatus</i>	0,0388	0,0391	0,0445	0,0370	0,0416	0,0379								
<i>P. notoginseng</i>	0,0246	0,0248	0,0290	0,0243	0,0254	0,0216	0,0495							
<i>P. pseudoginseng</i>	0,0571	0,0575	0,0628	0,0540	0,0584	0,0561	0,0342	0,0661						
<i>P. quinquefolius</i>	0,0122	0,0125	0,0174	0,0088	0,0070	0,0057	0,0387	0,0245	0,0536					
<i>P. assamicus</i>	0,0232	0,0235	0,0283	0,0195	0,0136	0,0126	0,0495	0,0361	0,0642	0,0165				
<i>P. trifolius</i>	0,0614	0,0618	0,0671	0,0615	0,0648	0,0637	0,0561	0,0721	0,0734	0,0649	0,0749			
<i>P. wangianus</i>	0,0163	0,0158	0,0215	0,0129	0,0081	0,0068	0,0413	0,0256	0,0554	0,0101	0,0172	0,0662		
<i>P. ginseng</i>	0,0174	0,0178	0,0231	0,0139	0,0115	0,0102	0,0420	0,0303	0,0568	0,0077	0,0173	0,0695	0,0153	



**Hình 7.** Mối quan hệ họ hàng của các mẫu thu thập với loài cùng chi trên Genbank trên cơ sở phân tích trình tự nucleotide vùng gen ITS

Kết quả trên Hình 7 và Bảng 2 cũng cho thấy mẫu nghiên cứu và mẫu của các loài Sâm lùn (*P. trifolius*), Sâm Himalaya (*P. pseudoginseng*) và Sâm Pingpien (*P. stipuleanatus*) có khoảng cách di truyền lớn hơn so với những loài khác trong chi *Panax* lần lượt là 6,14, 5,71 và 3,88%.

Cây phát sinh (Hình 7) và Bảng 2 cho thấy các loài trong chi *Panax* có mức độ tương đồng cao, trên 93%. Ba mẫu nghiên cứu (*Panax* M1, M2 và M3) và *P. vietnamensis* có tổ tiên chung và quan

hệ gần gũi với một số loài trong chi *Panax* như *P. vietnamensis* var. *fuscidiscus* và *P. zingiberensis* với mức độ tương đồng lớn hơn 99%. Kết quả này tương đồng với những kết quả về mối quan hệ di truyền giữa Sâm Ngọc Linh với các loài trong chi *Panax* của Phan Kế Long và cộng sự [28], Lê Thanh Hường và cộng sự [8] và Nguyễn Thị Huyền và cộng sự [27].

Cây phát sinh cũng cho thấy một số loài khác trong chi *Panax* có sự khác biệt di truyền lớn

so với 3 mẫu nghiên cứu và *P. vietnamensis* như *P. trifolius* và *P. stipuleanatus*. Kết quả này cũng tương đồng với công bố của Nguyễn Thị Phương Trang và cộng sự [29].

#### 4 Kết luận

Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng tại xã Trà Linh, Thành phố Đà Nẵng, có điểm hình thái giống với cây mọc ở ngoài tự nhiên. Hàm lượng saponin toàn phần đạt  $13,81 \pm 0,18\%$ . Các saponin chính gồm G-Rg1 ( $3,647 \pm 0,062\%$ ), M-R2 ( $3,823 \pm 0,054\%$ ), G-Rb1 ( $0,979 \pm 0,017\%$ ) và G-Rd ( $0,961 \pm 0,037\%$ ). Trình tự gene ITS của mẫu nghiên cứu đã được đăng ký trên Genbank lần lượt là PV185794, PV185795 và PV185796. Đặc điểm hình thái thực vật, hàm lượng các hợp chất ginsenosid Rg1, Majonosid R2, Ginsenosid Rb1 và G-Rd và trình tự nucleotide của vùng gen ITS-DNA cho thấy mẫu nghiên cứu là Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.). Kết quả nghiên cứu này góp phần xây dựng quy trình kỹ thuật chuẩn để giám định Sâm Ngọc Linh trồng dưới tán rừng.

#### Hỗ trợ tài chính

Nghiên cứu này được hỗ trợ thông qua đề tài khoa học công nghệ cấp Bộ, mã số B2023-DHH-11.

#### Mâu thuẫn lợi ích

Các tác giả tuyên bố không có mâu thuẫn nào liên quan đến việc xuất bản bài báo này.

#### Lời cảm ơn

Nhóm nghiên cứu trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ một phần từ nhóm nghiên cứu tiêu biểu Y học tái tạo, mã số NCTB.DHH.2024.02.

#### Tài liệu tham khảo

1. Nguyen TH, Than TKM, Nguyen VP. Green extraction: Concepts, principles, solutions, future prospect and challenges. *Journal of Pharmaceutical Research and Drug Information*. 2023;14(5):47-61.
2. Hiền PT, Mỹ CT, Thu LT, Hà ĐT, Bình NT. Thành phần sâu và bệnh hại Sâm Ngọc Linh tại Việt Nam. *Bản B của Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*. 2016;7(8):7-12.
3. Như ĐTQ, Thành HC, Quân NTL, Long VHK. Xây dựng quy trình bán định lượng saponin chính trong sâm Ngọc linh (*Panax vietnamensis*) bằng sắc ký lớp mỏng. *Tạp chí Khoa học và Kinh tế Phát triển Trường Đại học Nam Cần Thơ*. 2024; 27:41-51.
4. Long VHK. Nghiên cứu thành phần hóa học Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*, Araliaceae) theo hướng tác động bảo vệ thận [Luận án Tiến sĩ]. Hồ Chí Minh: Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh; 2023.
5. Long PD, Quý TM, Quang ĐN, Bình LV, Quỳnh ĐN, Tuấn NM, Chí NM. Kết quả di thực Sâm Ngọc Linh ở Việt Nam. *Tạp chí khoa học lâm nghiệp*. 2022;3:16-23.
6. Nguyen M, Ngo Thi A, Ho VT. Utilization of ITS-Based DNA Bar code for Classification of Different Panax species in Vietnam. *Bioscience Biotechnology research Communications*. 2021;14(2): 532-537. DOI: <http://dx.doi.org/10.21786/bbrc/14.2.13>
7. Phan Kế Long, Vũ Đình Duy, Phan Kế Lộc, Nguyễn Giang Sơn, Nguyễn Thị Phương Trang, Lê Thị Mai Linh, Lê Thanh Sơn. 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): 327-37.
8. Le H, Linh N, Minh B, Hạnh H, Huynh H, Nong V, et al. Application of DNA barcodes in identification of ginseng samples in the genus *Panax* L. *Vietnam Journal of Biotechnology*. 2018; 15:63-72. DOI: <https://doi.org/10.15625/1811-4989/15/1/12321>
9. Nguyễn Nghĩa Thìn. Các phương pháp nghiên cứu thực vật. Hà Nội: NXB Đại Học Quốc Gia; 2007: Trang 20.
10. Ôn TV. Thực tập Thực vật và nhận thức cây thuốc. Hà Nội: Trung tâm thông tin -Thư viện, Trường Đại học Dược Hà Nội; 2012.

11. Nguyen HT, Vu-Huynh KL, Nguyen HM, Le HT, Le THV, Park JH, et al. Evaluation of the Saponin Content in *Panax vietnamensis* Acclimatized to Lam Dong Province by HPLC-UV/CAD. *Molecules* (Basel, Switzerland). 2021;26(17):5373.
12. Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Part I). Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press; 2015.
13. Viện Dược liệu. Dược điển Việt Nam V. Hà Nội: Nxb Y học; 2018.
14. Pahlich E, Gerlitz C. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry*. 1980;19:11-13.
15. Phi TCM, Chu HH, Trieu Le N, Nguyen DB. Phylogenetic relationship of *Paramignya trimera* and its relatives: an evidence for the wide sexual compatibility. *Scientific Reports*. 2020;10(1):21662.
16. Cheng T, Xu C, Lei L, Li C, Zhang Y, Zhou S. Barcoding the kingdom Plantae: new PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity. *Molecular ecology resources*. 2016;16(1):138-149.
17. Le TP, Hoang TQ, Nguyen VH, Mac NT, Ton TC. Genetic diversity of mud crab (*Scylla paramamosain*) in Vietnam based on *cox1* gene fragments. *Biodiversitas*. 2024;25(11):4379-4388.
18. Nhân BLT, Phương TT, Quảng HT. Phân tích vùng gene *Trnl-Trnf* của cây Sâm cau (*Curculigo orchoides*) tự nhiên thu tại tỉnh Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên*. 2023;132(1A):75-82.
19. Dong NT, Luân TC, Hương NTT. Sâm Việt Nam và một cây thuốc họ Nhân Sâm. Hà Nội: Nxb Khoa học và Kỹ thuật; 2007: Trang 81-84.
20. Liên TT, Cường NH. Nghiên cứu giải phẫu thân, lá và rễ cây Sâm Ngọc Linh (*Panax Vietnamensis* Ha et Grushv.). *Tạp chí Y dược học cổ truyền Quân sự*. 2021;11(1):59-67.
21. Huyền PT, Nga NQ, Trường PV, Khởi NM. Tài liệu nhận dạng các loài thuộc chi *Panax* L ở Việt Nam. Hà Nội: Viện Dược liệu; 2020.
22. Trâm TB, Hiền NT, Mai NTT, Chiên TT, Hải PT, Sơn PH. Đánh giá sinh trưởng và thành phần hoạt chất của Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*) trồng ở Quảng Nam. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*. 2017; 2:227-232.
23. Mancuso C. *Panax notoginseng*: Pharmacological Aspects and Toxicological Issues. *Nutrients*. 2024;16(13):2120.
24. Le TH, Lee GJ, Vu HK, Kwon SW, Nguyen NK, Park JH, et al. Ginseng Saponins in Different Parts of *Panax vietnamensis*. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 2015;63(11):950-954.
25. Trang NTP, Hùng NM, Hà BT. Nghiên cứu xác định các vùng EST-SSR đặc trưng của loài Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv.) bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới. *Bản B của Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*. 2022;64(3):16-20.
26. Hà CD, Nguyệt NTM, Mỹ TTH, Hoi BT, Nga PT, Linh LH, Tùng HT, Nhật DT. Ứng dụng chỉ thị phân tử trong phân biệt các loài sâm trên thế giới. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*. 2019;1(2).
27. Huyền NT, Hương NT, Hồng HB. Nghiên cứu xác định một số trình tự DNA mã vạch phục vụ giám định loài Sâm lai châu (*Panax vietnamensis* var. *fuscidiscus*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*. 2025;14:013-22.
28. Phan KL, Tran TV, Nguyen TT, Phan KL, Nguyen TL, Nguyen TL, et al. Morphological and molecular characteristics of *Panax* sp.(Araliaceae) from Phu Xai lai leng mountain, Nghe An province, Vietnam. *Academia Journal of Biology*. 2014;36(4):494-9.
29. Trang NTP, Sơn NG, Sơn LT, Long PK. Mối quan hệ di truyền của Sâm ngọc linh (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv., 1985) với các loài trong chi *Panax*. *Hội thảo quốc gia về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 4*; 2011. Hà Nội: Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật; 2011.