

PHÁT SINH PHÔI TRỰC TIẾP TỪ LÁ, CUỐNG LÁ VÀ THÂN RỄ CÂY SÂM NGỌC LINH (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.)

Vũ Thị Hiền¹, Vũ Quốc Luận¹, Nguyễn Phúc Huy¹, Nguyễn Bá Nam¹,
Bùi Văn Thế Vinh², Thái Xuân Du³, Dương Tấn Nhựt^{1*}

¹Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam,
*duongtannhut@gmail.com

²Trường Đại học Kỹ thuật công nghệ tp. Hồ Chí Minh

³Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

TÓM TẮT: Sâm ngọc linh là một cây dược liệu quý và có giá trị kinh tế cao của Việt Nam. Những năm gần đây, có rất nhiều phương pháp nhân giống và bảo tồn cây dược liệu này được thực hiện nhưng kết quả mang lại không cao. Trong nghiên cứu này, kỹ thuật nuôi cấy lớp mỏng tế bào được ứng dụng trong việc tạo phôi trực tiếp từ một số bộ phận của cây sâm ngọc linh nuôi cấy *in vitro* được ưu tiên sử dụng. Ba loại nguồn mẫu (lá, cuống lá và cùi) của cây sâm ngọc linh *in vitro* 3 tháng tuổi được sử dụng nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung NAA và 2,4-D ở năm nồng độ 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 và 2,0 mg/l nhằm khảo sát khả năng tạo phôi trực tiếp của chúng đã được tiến hành. Sau 10 tuần nuôi cấy, kết quả thu được cho thấy nguồn mẫu từ lá thích hợp nhất cho sự hình thành phôi trực tiếp. Mẫu cấy lá được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 2 mg/l NAA cho hiệu quả phát sinh phôi trực tiếp cao nhất (29,49 phôi/mẫu). Kết quả giải phẫu cho thấy phôi phát triển trực tiếp từ các bộ phận nuôi cấy của cây sâm ngọc linh.

Từ khóa: *Panax vietnamensis*, nuôi cấy lớp mỏng, phát sinh phôi, sâm ngọc linh.

MỞ ĐẦU

Sâm ngọc linh (*Panax vietnamensis*) là một loài sâm đặc hữu của Việt Nam được biết đến từ năm 1973, qua nghiên cứu, các nhà khoa học đã nhận thấy sâm ngọc linh không chỉ có các tác dụng dược lý đặc trưng của chi Nhân sâm mà còn có những tác dụng dược lý điển hình như chống stress, chống trầm cảm, tác dụng lên sự chống oxi hóa [5], chống ung thư [7]. Sâm ngọc linh là một trong những loài sâm có hàm lượng saponin khung dammaran cao nhất (khoảng 12-15%) và lượng saponin triterpen nhiều nhất so với các loài khác của chi *Panax* trên thế giới [8]. Với những đặc điểm đó, sâm ngọc linh không chỉ là loài sâm quý của Việt Nam mà còn trên thế giới.

Nhân giống sâm ngọc linh theo phương pháp truyền thống như cắt đầu mầm cho hệ số nhân thấp và đòi hỏi thời gian nuôi trồng kéo dài, từ 6 đến 7 năm mới cho thu hoạch. Nhân giống hữu tính theo phương pháp gieo hạt không cho kết quả cao vì nhiều lí do: khó thu nhận hạt, hạt khi gieo nằm trong đất sau một thời gian dài mới nảy mầm, vì vậy hạt thường bị các loài động vật, côn trùng ăn, phá hỏng, ngoài ra, tỷ lệ nảy mầm từ hạt thấp (chỉ đạt từ 30-40%). Vì vậy, nhân giống

vô tính *in vitro* trên đối tượng sâm ngọc linh đã được thực hiện và thành công bởi Nhut et al. (2010) [11]. Sau đó, Nhut et al. (2012) [12] cũng đã nghiên cứu thành công phôi từ thân rễ của cây sâm ngọc linh. Tuy nhiên, sử dụng nguồn mẫu thân rễ cho quá trình phát sinh phôi thường làm chết cây mẹ, vì vậy, phương pháp này không phù hợp đối với cây sâm ngọc linh. Mặt khác, nguồn mẫu nuôi cấy sẽ không nhiều và việc sản xuất số lượng lớn cây giống sẽ gặp khó khăn. Việc tìm nguồn mẫu thích hợp cho quá trình phát sinh phôi cây sâm ngọc linh mà vẫn đảm bảo sự sinh trưởng của cây mẹ là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá ảnh hưởng của hai loại auxin là 2,4-D và NAA đến quá trình hình thành phôi trực tiếp từ các mẫu cấy lá và cuống lá, từ đó so sánh với mẫu thân rễ, nhằm tìm ra nguồn mẫu cũng như loại auxin thích hợp cho quá trình phát sinh phôi số lượng lớn phục vụ cho ngành trồng sâm trên quy mô công nghiệp.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu gồm lá, cuống lá và thân rễ từ những cây sâm ngọc linh *in vitro* (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) ba tháng tuổi.

Vật liệu được cắt thành từng lớp mỏng có kính thước khác nhau: mẫu lá được cắt theo hình vuông có kích thước (10×10 mm); mẫu cuống lá sẫm *in vitro* được cắt ngang, mỗi đoạn cắt dài 10 mm và có độ dày khoảng 0,5 mm; mẫu thân rễ sẫm *in vitro* được cắt ngang có đường kính 5 mm, và độ dày 1 mm. Các mẫu được cấy trên môi trường MS [8] có bổ sung 30 g/l sucrose, 8 g/l agar, pH 5,8 và tùy vào từng thí nghiệm mà NAA và 2,4-D được sử dụng ở các nồng độ khác nhau (0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 mg/l). Bình nuôi cấy được sử dụng là bình thủy tinh có thể tích 100 ml chứa 20 ml môi trường. Môi trường được hấp khử trùng ở 121°C atm trong 30 phút.

Điều kiện nuôi cấy

Các thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện phòng nuôi có độ ẩm 55%, nhiệt độ 25±2°C, cường độ chiếu sáng 25-30 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày (đối với thí nghiệm có chiếu sáng) và tối hoàn toàn (đối với thí nghiệm trong tối).

Quan sát mô học

Các mẫu phôi ở các giai đoạn phát triển từ các mẫu cấy khác nhau được thu nhận và để quan sát mô học. Mẫu được tạo các lát mỏng khoảng 10-15 μm theo chiều ngang đi qua phôi, sau đó ngâm trong javen 10% trong 15 phút, rửa sạch mẫu bằng nước cất, tiếp tục ngâm mẫu trong acid acetic 45% trong 15 phút để cố định mẫu, rửa lại bằng nước cất 6 lần, ngâm mẫu đã ráo nước trong phẩm nhuộm 2 màu carmine trong 5 phút, rửa lại mẫu bằng nước cất 2 lần, cuối cùng đặt mẫu trong lamén, nhỏ 1 giọt nước và đậy lam kính lại. Quan sát dưới kính hiển vi quang học với vật kính ×10.

Các chỉ tiêu theo dõi và xử lý số liệu

Tỷ lệ phát sinh phôi trực tiếp, số phôi/mẫu được thu nhận sau 10 tuần nuôi cấy lá, cuống lá và thân rễ trên các môi trường khác nhau. Mỗi bình được cấy 3 mẫu, mỗi công thức tiến hành trên 30 mẫu và được lặp lại 3 lần. các số liệu được xử lý bằng cách sử dụng phần mềm phân tích thống kê SPSS 16.0 theo phương pháp Duncan test với $\alpha=0,05$ [6].

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bảng 1. Ảnh hưởng của NAA lên sự phát sinh phôi vô tính từ mẫu lá, cuống lá và thân rễ của cây sẫm ngọc linh nuôi cấy *in vitro* sau 10 tuần nuôi cấy

| Điều kiện nuôi cấy | Nồng độ NAA (mg/l) | mẫu lá | | mẫu thân rễ | | mẫu cuống lá | |
|--------------------|--------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | Tỷ lệ mẫu tạo phôi (%) | Số phôi/mẫu | Tỷ lệ mẫu tạo phôi (%) | Số phôi/mẫu | Tỷ lệ mẫu tạo phôi (%) | Số phôi/mẫu |
| Sáng | 0 | 0,00 ^{c*} | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c |
| | 0,1 | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c |
| | 0,2 | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 71,00^a | 13,53^a | 0,00 ^c | 0,00 ^c |
| | 0,5 | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 70,67^a | 14,12^a | 0,00 ^c | 0,00 ^c |
| | 1,0 | 70,00 ^b | 7,55 ^b | 48,67 ^b | 2,78 ^b | 58,67 ^b | 2,75 ^b |
| | 2,0 | 89,00^a | 29,49^a | 47,33 ^b | 2,84 ^b | 84,00^a | 13,20^a |
| Tối | 0 | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c |
| | 0,1 | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c |
| | 0,2 | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c |
| | 0,5 | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c |
| | 1,0 | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c |
| | 2,0 | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c | 0,00 ^c |

*: Giá trị với chữ cái khác nhau trong cùng một cột chỉ sự khác nhau có ý nghĩa với $\alpha=0,05$ trong Duncan's test.

Ảnh hưởng của NAA lên khả năng phát sinh phôi trực tiếp từ mẫu lá, cuống lá và thân rễ của cây sâm ngọc linh nuôi cấy *in vitro* trong điều kiện chiếu sáng và tối hoàn toàn

Kết quả thu nhận sau 10 tuần nuôi cấy từ 3 nguồn mẫu khác nhau cho thấy tỷ lệ mẫu tạo phôi và số lượng phôi hình thành trong điều kiện chiếu sáng và trong tối hoàn toàn khác nhau. Nguồn mẫu được nuôi trong điều kiện tối cho thấy, chỉ có sự hình thành callus mà không nhận thấy có sự biệt hóa phôi trên tất cả các nồng độ NAA thử nghiệm (bảng 1).

Trong khi đó, nguồn mẫu được nuôi cấy dưới điều kiện chiếu sáng cho thấy đã có sự biệt hóa phôi. Ở mẫu thân rễ, quá trình biệt hóa tạo phôi được ghi nhận ở nồng độ NAA thấp (0,2 mg/l) với tỷ lệ 71% số mẫu tạo phôi và tạo được 13,53 phôi/mẫu (hình 1b). Khi tăng nồng độ NAA từ 1 mg/l lên 2 mg/l, số mẫu tạo phôi cũng

như số phôi/mẫu giảm đáng kể (bảng 1). Ở mẫu lá và cuống lá cho thấy, quá trình cảm ứng tạo phôi chỉ được quan sát thấy ở nồng độ NAA cao (1-2 mg/l) và tỷ lệ mẫu tạo phôi thu được cao nhất (89% và 84%) tương ứng với số phôi hình thành/mẫu là 29,49 và 13,20 phôi/mẫu ở nồng độ 2 mg/l NAA (bảng 1, hình 1a, c).

Ảnh hưởng của 2,4-D lên khả năng phát sinh phôi trực tiếp từ mẫu lá, cuống lá và thân rễ của cây sâm ngọc linh nuôi cấy *in vitro* trong điều kiện chiếu sáng và tối hoàn toàn

Kết quả sau 10 tuần nuôi cấy trên nguồn mẫu lá cho thấy, ở các nồng độ 2,4-D khác nhau khi nuôi cấy trong điều kiện chiếu sáng và trong tối cho tỷ lệ cảm ứng tạo phôi khác nhau. Khi tăng nồng độ 2,4-D (0,0-1,0 mg/l), kết quả cho thấy tỷ lệ phần trăm số mẫu tạo phôi tăng và đạt cao nhất 92% số mẫu tạo phôi ở nguồn mẫu lá, trong điều kiện tối.

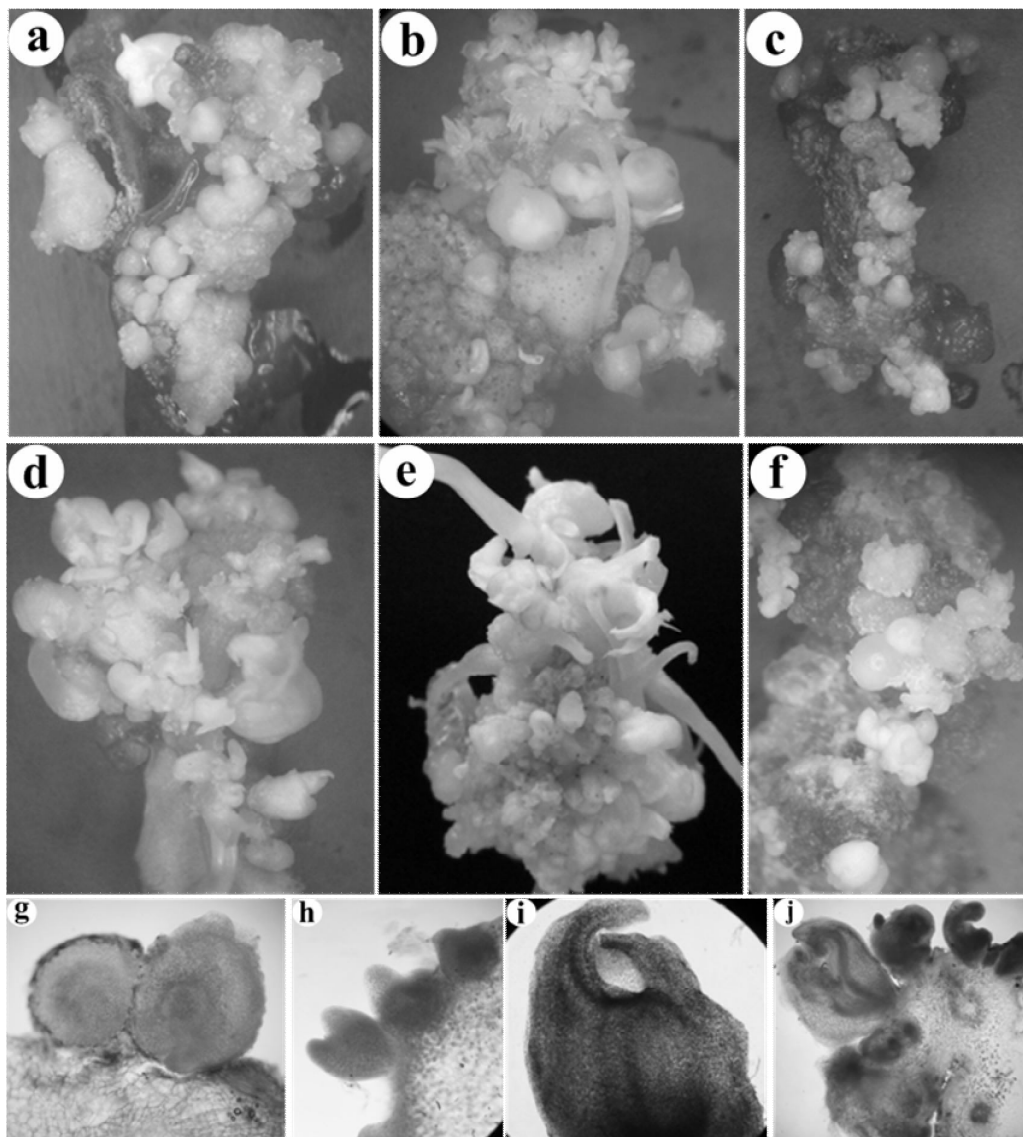
Bảng 2. Ảnh hưởng của 2,4-D lên sự phát sinh phôi vô tính từ mẫu lá, cuống lá, thân rễ của cây sâm ngọc linh nuôi cấy *in vitro* trong điều kiện chiếu sáng và tối hoàn toàn sau 10 tuần nuôi cấy

| Điều kiện nuôi cấy | Nồng độ 2,4-D (mg/l) | Mẫu lá | | Mẫu thân rễ | | Mẫu cuống lá | |
|--------------------|----------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | Tỷ lệ mẫu tạo phôi (%) | Số phôi/mẫu | Tỷ lệ mẫu tạo phôi (%) | Số phôi/mẫu | Tỷ lệ mẫu tạo phôi (%) | Số phôi/mẫu |
| Sáng | 0 | 0,00 ^f | 0,00 ^g | 0,00 ^g | 0,00 ^h | 0,00 ^f | 0,00 ^d |
| | 0,1 | 0,00 ^f | 0,00 ^g | 0,00 ^g | 0,00 ^h | 0,00 ^f | 0,00 ^d |
| | 0,2 | 43,33 ^{de} | 0,91 ^f | 31,00 ^f | 0,41 ^g | 23,00 ^e | 0,33 ^d |
| | 0,5 | 70,66 ^c | 2,23 ^e | 57,33 ^d | 2,45 ^e | 59,66 ^c | 3,88 ^c |
| | 1,0 | 86,33 ^{ab} | 4,36 ^d | 79,66 ^c | 3,42 ^d | 86,33^a | 13,65^a |
| | 2,0 | 49,66 ^d | 0,92 ^f | 91,00^a | 10,53 ^b | 69,66 ^b | 5,37 ^b |
| Tối | 0 | 0,00 ^f | 0,00 ^g | 0,00 ^g | 0,00 ^h | 0,00 ^f | 0,00 ^d |
| | 0,1 | 37,66 ^e | 1,87 ^e | 56,33 ^d | 6,12 ^c | 0,00 ^f | 0,00 ^d |
| | 0,2 | 84,33 ^b | 8,91^a | 84,00 ^b | 12,52^a | 0,00 ^f | 0,00 ^d |
| | 0,5 | 71,66 ^c | 7,64 ^b | 46,33 ^e | 2,02 ^f | 49,66 ^d | 3,79 ^e |
| | 1,0 | 92,00^a | 6,76 ^c | 0,00 ^g | 0,00 ^h | 69,66 ^b | 5,92 ^b |
| | 2,0 | 47,33 ^d | 2,15 ^e | 0,00 ^g | 0,00 ^h | 0,00 ^f | 0,00 ^d |

Chú thích: như bảng 1.

Trong khi đó, số phôi hình thành cao nhất thu được 8,91 phôi/mẫu ở nồng độ 0,2 mg/l 2,4-D trong điều kiện tối (bảng 2, hình 1d). Kết quả thu nhận từ nguồn mẫu cắt ngang thân rễ cũng cho thấy tỷ lệ mẫu tạo phôi cao 91%, thu được trên môi trường có bổ sung 2 mg/l 2,4-D ở điều kiện nuôi cấy ngoài sáng, tuy nhiên, số phôi thu được cao

nhất 12,52 phôi/mẫu, thu được trên môi trường có bổ sung nồng độ 2,4-D thấp (0,2 mg/l) trong điều kiện tối (hình 1e). Trên mẫu cuống lá, kết quả thu được số mẫu tạo phôi tương đối cao, đạt 86,33% và số phôi hình thành cao nhất thu được 13,65 phôi/mẫu ở môi trường có bổ sung 1 mg/l 2,4-D ở điều kiện nuôi cấy ngoài sáng (hình 1f).



Hình 1. Ảnh hưởng của NAA và 2,4-D lên sự phát sinh phôi vô tính từ các nguồn mẫu khác nhau của cây sâm ngọc linh nuôi cấy trong điều kiện chiếu sáng và tối hoàn toàn

a. Mẫu lá tạo phôi trên môi trường có bổ sung 2 mg/l NAA ngoài sáng; b. Mẫu thân rễ tạo phôi trên môi trường có bổ sung 0,2 mg/l NAA ngoài sáng; c. Mẫu cuống lá tạo phôi trên môi trường có bổ sung 2 mg/l NAA ngoài sáng; d. Mẫu lá tạo phôi trên môi trường có bổ sung 0,2 mg/l 2,4-D trong điều kiện tối; e. Mẫu thân rễ tạo phôi trên môi trường có bổ sung 0,2 mg/l 2,4-D trong điều kiện tối; f. Mẫu cuống lá tạo phôi trên môi trường có bổ sung 1 mg/l 2,4-D ngoài sáng; g. Phôi hình cầu; h. Phôi hình tim; i. Phôi hình thùy lõm; j. Phôi hai lá mầm.

Giải phẫu các dạng hình thái của phôi

Hình chụp soi nổi các hình dạng phát triển của phôi cho thấy, phôi thu nhận từ các công thức không có sự khác biệt về hình thái và tồn tại ở

các dạng chính là hình cầu, hình tim, hình thùy lõm và hình hai lá mầm (hình 1a-f), tương tự như các giai đoạn như phôi ở đa số thực vật bậc cao. Qua hình giải phẫu cho thấy, phôi hình thành và

phát triển ngay trên bề mặt của mẫu cây. Điều này chứng tỏ sự phát sinh phôi xảy ra trực tiếp không thông qua giai đoạn tạo mô sẹo. Sự hình thành phôi vô tính trong nuôi cấy mô tế bào thực vật có thể xảy ra theo hai cách: trực tiếp từ mẫu cây và gián tiếp thông qua mô sẹo. Sự hình thành phôi vô tính trực tiếp có ưu điểm hơn so với phát sinh gián tiếp. Vì không trải qua giai đoạn tạo mô sẹo nên giảm hiện tượng biến dị soma và rút ngắn thời gian hình thành phôi vô tính.

Phôi vô tính được nghiên cứu trên nhiều loài, bao gồm các cây ngũ cốc, cỏ và các cây họ Đậu [13]. Đối với chi *Panax*, phương pháp tạo phôi vô tính đã được nghiên cứu nhiều trên các loài *P. quinquefolius* [16]; *P. ginseng* [1, 2, 3, 4, 14]; *P. japonicus* [15]. Phôi vô tính cây sâm Mỹ (*P. quinquefolius*) hình thành trên môi trường MS có bổ sung 1 mg/l 2,4-D kết hợp với 1 mg/l NAA từ mẫu cây lá mầm [16]. Phôi vô tính *P. japonicus* lại hình thành trên môi trường MS có bổ sung 4,4 μ M 2,4-D từ phôi hợp tử [15]. Phôi vô tính *P. ginseng* được tạo ra từ lá mầm trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l 2,4-D kết hợp 0,1 mg/l BA [14].

Các nghiên cứu trên đều cho thấy, auxin có vai trò rất lớn trong nghiên cứu tạo phôi vô tính ở các loài thuộc chi *Panax* và các nghiên cứu này đều được thực hiện trong điều kiện chiếu sáng với thời gian 16 h/ngày. Trong nghiên cứu này, phôi vô tính cây sâm ngọc linh được hình thành trên môi trường MS có bổ sung NAA và 2,4-D ở các nồng độ khác nhau với các loại mẫu cây khác nhau. Các mẫu cây trên môi trường có bổ sung 2,4-D đều có khả năng hình thành phôi vô tính không phụ thuộc điều kiện chiếu sáng và loại mẫu cây. Tuy nhiên, ở nồng độ từ 0,2-1 mg/l 2,4-D, tỷ lệ hình thành phôi vô tính và số phôi/mẫu ở các công thức tốt hơn so với các nồng độ khác. Điều kiện chiếu sáng cũng có khả năng kích thích sự gia tăng tỷ lệ hình thành phôi, điều này thể hiện rõ hơn ở thí nghiệm với các nồng độ NAA. Ở thí nghiệm này, phôi vô tính hầu như không hình thành trong điều kiện tối, chỉ có sự xuất hiện callus (dữ liệu không được nêu rõ). Tỷ lệ phôi hình thành 89,00% và số phôi/mẫu 29,49 phôi, tốt nhất thu được ở nồng độ 2 mg/l NAA với mẫu lá. Đối với hai thí nghiệm được tiến hành trong nghiên cứu này đều cho thấy, phôi vô tính hình thành tốt nhất

đối với mẫu cây là và cuống lá hơn so với mẫu thân rễ (bảng 1, 2). Kết quả này rất thuận lợi cho việc nhân giống số lượng lớn cây sâm ngọc linh theo phương pháp phát sinh phôi trực tiếp

KẾT LUẬN

Sau 10 tuần nuôi cấy trên 3 nguồn mẫu lá, cuống lá và thân rễ của cây sâm ngọc linh *in vitro* 3 tháng tuổi, kết quả ở nguồn mẫu lá được nuôi cấy dưới điều kiện chiếu sáng cho khả năng phát sinh phôi trực tiếp cao nhất 29,49 phôi/mẫu trên môi trường MS bổ sung 2 mg/l NAA. Phát sinh phôi trực tiếp từ nguồn mẫu lá là phương pháp thích hợp cho việc ứng dụng công nghệ sinh học trong việc khôi phục và bảo tồn cây sâm ngọc linh, một loài dược liệu quý.

Lời cảm ơn: Các tác giả xin chân thành cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã hỗ trợ kinh phí cho chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Arya S., Arya I. D., Eriksson T., 1993. Rapid multiplication of adventitious somatic embryos of *Panax ginseng*. *Plant Cell Tiss. Org.*, 34: 157-162.
2. Chang W. C., Hsing Y. I., 1980. Plant regeneration through somatic embryogenesis in root-derived callus of ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *Theor. Appl. Genet.*, 57: 133-135.
3. Choi Y. E., Yang D. C., Yoon E. S., Choi K. T., 1999. High-efficiency plant production via direct somatic single embryogenesis from preplasmolysed cotyledons of *Panax ginseng* and possible dormancy of somatic embryos. *Plant Cell Rep.*, 18: 493-499.
4. Choi Y. E., Soh W. Y., 1997. Enhanced somatic single embryo formation by plasmolyzing pretreatment from cultured ginseng cotyledons. *Plant Sci.*, 130: 197-206.
5. 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, Hà Nội.

6. Duncan D. B., 1995. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 11: 1-42.
7. Huong N. T. T., Matsumoto K., Kasai R., Yamasaki K., Watanabe H., 1998. *In vitro* antioxidant activity of Vietnamese ginseng saponin and its components. *Biol. Pharm. Bull.*, 21: 978-981.
8. 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 Lett.*, 147(1-2): 11-16.
9. Murashige T., Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 472-497.
10. Nhut D. T., Chien H. X., Truc N. B., Nam N.B., Tinh T. X., Luan V. Q., Binh N. V., Hien V. T., Huong T. T., Nhan N. C. T., Thuy L. N. M., Nga L. T. M., Hien T. T., Hai N. T., 2010. Micropropagation of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. *J. Biotechnol.*, 8(3B): 1211-1219.
11. Nhut D. T., Vinh B. V. T., Hien T. T., Huy N. P., Nam N. B., Chien H. X., 2012. Effects of spermidine, proline and carbohydrate sources on somatic embryogenesis from main root transverse thin cell layers of Vietnamese ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.). *Afr. J. Biotechnol.*, 11(5): 1084-1091.
12. Rangaswamy N. S., 1986. Somatic embryogenesis in angiosperm cell tissue and organ cultures. *Proceeding of Plant Sciences*, 96(4): 247-271.
13. Tang W., 2000. High-frequency plant regeneration via somatic embryogenesis and organogenesis and *in vitro* flowering of regenerated plantlets in *Panax ginseng*. *Plant Cell Rep.*, 19: 727-732.
14. You X. L., Han J. Y., Choi Y. E., 2007. Plant regeneration via direct somatic embryogenesis in *Panax japonicus*. *Plant Biotechnol. Rep.*, 1: 5-9.
15. Zhou S., Brown D. C. W., 2005. High efficiency plant production of North American ginseng via somatic embryogenesis from cotyledon explants. *Plant Cell Rep.*, 25: 166-173.

DIRECT SOMATIC EMBRYOGENESIS FROM LEAF, PETIOLE AND RHIZOME EXPLANT OF *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.

**Vu Thi Hien¹, Vu Quoc Luan¹, Nguyen Phuc Huy¹, Nguyen Ba Nam¹,
Bui Van The Vinh², Thai Xuan Du³, Duong Tan Nhut¹**

¹Tay Nguyen Institute for Scientific Research, VAST

²Ho Chi Minh city University of Technology

³Tropical Institute of Biology, VAST

SUMMARY

Panax vietnamensis is one of the most valuable medicinal plants in Vietnam. In recent years, there has been an increasing interest in propagation and conservation of this plant. This paper attempts to show that direct somatic embryogenesis using the thin cell layer technique is an effective method for micropropagation of *P. vietnamensis*. This success was mainly resulting from the ability to develop into complete plants, together with the shortening of culture time. In this paper, three sources of explants (leaves, petioles and main roots) of 3-month-old *in vitro* plantlets of *P. vietnamensis* were cultured on MS medium supplemented with NAA and 2,4-D at various concentrations (0.1, 0.2, 0.5, 1.0 and 2.0 mg.l⁻¹). After 10 weeks of culture, the results showed that among three types of explants used, leaf explants were optimal for direct somatic embryogenesis. Leaves cultured on MS medium supplemented with 2 mg.l⁻¹ NAA gave the highest frequency of direct somatic embryogenesis. Histological study showed the normal development phases of somatic embryos of *P. vietnamensis*.

Keywords: *Panax vietnamensis*, direct embryogenesis.

Ngày nhận bài: 15-7-2013