

ĐỊNH DANH LOÀI LÁ KHÔI (*Ardisia silvestris* Pitard) TẠI TỈNH THÁI NGUYÊN BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ DNA

Hà Duy Trường¹, Nguyễn Thị Xuyên^{2*}, Nguyễn Quỳnh Anh¹, Nguyễn Thanh Hằng³

¹Trung tâm Đào tạo, Nghiên cứu Giống cây trồng và vật nuôi, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên;

²Viện đào tạo và Nghiên cứu xuất sắc, Đại học Thái Nguyên;

³Viện Khoa học sự sống, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên.

*Tác giả liên hệ: nguyensexuankhct@tnu.edu.vn

Nhận bài: 15/08/2025 Hoàn thành phản biện: 22/11/2025 Chấp nhận bài: 03/12/2025

TÓM TẮT

Ardisia silvestris Pitard (Lá khô) là một loài thực vật dược liệu có giá trị, được sử dụng phổ biến trong y học cổ truyền Việt Nam để điều trị viêm loét dạ dày và các bệnh lý tiêu hóa. Việc định danh chính xác loài này ngoài thực địa là cần thiết, tuy nhiên các phương pháp truyền thống dựa trên đặc điểm hình thái và sinh lý-sinh hóa thường gặp khó khăn. Trong bối cảnh đó, mã vạch DNA (DNA barcoding) như một công cụ hỗ trợ đắc lực trong giám định loài thực vật. Nghiên cứu này nhằm ứng dụng DNA barcoding để định danh lá khô được thu thập từ một số khu vực tại tỉnh Thái Nguyên. Ba vùng gene chuẩn gồm *matK*, *rbcL* và ITS2 được khuếch đại, giải trình tự và so sánh với cơ sở dữ liệu GenBank. Kết quả phân tích cho thấy tất cả các mẫu đều có mức độ tương đồng cao với loài *A. silvestris*: *matK* từ 98,26–99,07%, *rbcL* từ 99,23–99,42% và ITS2 từ 94,63–96,97%. Những kết quả này khẳng định tính chính xác và độ tin cậy của phương pháp DNA barcoding trong định danh loài. Nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học cho công tác bảo tồn và phát triển bền vững nguồn gene dược liệu tại địa phương.

Từ khóa: DNA mã vạch, Định danh loài, Lá khô, Thái Nguyên

SPECIES IDENTIFICATION OF *Ardisia silvestris* Pitard IN THAI NGUYEN PROVINCE USING DNA MOLECULAR MARKERS

Hà Duy Trường¹, Nguyễn Thị Xuyên^{2*}, Nguyễn Quỳnh Anh¹, Nguyễn Thanh Hằng³

¹Center of training and research on plant and animal breedings - Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Vietnam;

²Institute For Excellence In Education and Research;

³Institute of life Sciences, Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Vietnam.

*Corresponding author: nguyensexuankhct@tnu.edu.vn

Received: 15/08/2025

Revised: 22/11/2025

Accepted: 03/12/2025

ABSTRACT

Ardisia silvestris Pitard (La khai) is a valuable medicinal plant widely used in traditional Viet Nam medicine for treating gastric ulcers and digestive disorders. Accurate species identification in the field is essential but remains challenging due to reliance on morphological and physiological-biochemical characteristics, which can be unreliable when specimens are incomplete or immature. In this context, DNA barcoding has emerged as a powerful molecular tool to support plant species authentication. This study aimed to apply DNA barcoding to identify *A. silvestris* samples collected from several locations in Thai Nguyen province. Three standard DNA barcode regions *matK*, *rbcL*, and ITS2 were amplified, sequenced, and compared to reference sequences in the GenBank database. The results revealed high sequence similarity with *A. silvestris*, with identity values ranging from 98.26–99.07% for *matK*, 99.23–99.42% for *rbcL*, and 94.63–96.97% for ITS2. These findings confirm the reliability and accuracy of DNA barcoding in species identification. The study provides scientific evidence supporting the application of molecular biotechnology in the conservation and sustainable development of valuable medicinal plant genetic resources at the local level.

Keywords: *Ardisia silvestris*, DNA barcoding, Species identification, Thai Nguyen

1. MỞ ĐẦU

Tỉnh Thái Nguyên sở hữu thổ nhưỡng và khí hậu thuận lợi, cùng với sự đa dạng nguồn tài nguyên thực vật và động vật, tạo điều kiện phát triển các loại cây dược liệu như cát sâm, đinh lăng, ba kích, lá khô, sạ đen, nghệ, giảo cổ lam, sa nhân và sâm bổ chính (Thái Nguyên, 2025). Trong đó, lá khô (*Ardisia silvestris* Pitard) là loài nổi bật, được sử dụng rộng rãi trong dân gian để chữa các bệnh về dạ dày. Sự tham gia của doanh nghiệp, hợp tác xã và các chính sách ưu đãi từ trung ương và địa phương đã thúc đẩy chuỗi sản xuất, chế biến sâu và phát triển bền vững ngành dược liệu. Tuy nhiên, khai thác chưa hợp lý đang đặt nguồn tài nguyên trước nguy cơ suy giảm; theo Sách đỏ Việt Nam (2007), loài này được xếp vào nhóm sẽ nguy cấp (VU A1a,c,d+2d). Theo Chương trình phát triển dược liệu quốc gia đến 2030 (Quyết định 1893/QĐ-TTg, 2021), Thái Nguyên là vùng trọng điểm phát triển dược liệu có giá trị cao, gắn với bảo tồn nguồn gen bản địa. Vì vậy, nghiên cứu định danh phân tử (DNA barcoding) cho loài này là cần thiết, vừa bảo tồn nguồn gen quý, vừa tạo cơ sở khoa học cho phát triển và thương mại hóa sản phẩm dược liệu bền vững (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2021; Hebert và cs., 2003; Kress và Erickson, 2008). Việc xác định đúng tên dược liệu ở cấp độ loài là rất quan trọng, bởi đây là một bước quan trọng để có thể đảm bảo về chất lượng sản phẩm cũng như sức khỏe của người sử dụng. Trong bối cảnh đó, chỉ thị phân tử đã trở thành một công cụ hiệu quả, hỗ trợ đáng kể trong việc định danh chính xác tên khoa học của loài cũng như đánh giá sự đa dạng di truyền trong và giữa các loài. Khái niệm “mã vạch DNA” lần đầu được đề xuất vào năm 2003 bởi Paul Hebert—nhà nghiên cứu tại Đại học Guelph (Canada)—nhằm nhận diện sinh vật dựa trên

một đoạn DNA ngắn (khoảng 400–800 bp), hoạt động như một chuỗi nhận dạng độc nhất, tương tự mã vạch sản phẩm trong siêu thị. Công trình này được xem là bước khởi đầu cho việc ứng dụng phân loại phân tử ở động vật, với đoạn gene ty thể *cytochrome oxidase subunit 1* (CO1) được sử dụng làm mã vạch. Tuy nhiên, ở thực vật, gene ty thể có tốc độ tiến hóa chậm, dẫn đến độ biến dị không đủ để phân biệt các loài. Do đó, các vùng gene thuộc hệ gene lục lạp và gene nhân được ưu tiên lựa chọn cho các nghiên cứu phát sinh loài thực vật. Đến năm 2009, đã có khoảng tám locus gene được đề xuất làm mã vạch DNA cho thực vật, bao gồm cả gene lục lạp và gene nhân. Nguyễn Thị Mỹ Hạnh (2022), cho rằng các vùng trình tự ITS, *matK* và *rbcL* được xác định là mã vạch tiêu chuẩn và ứng rộng rãi bởi có khả năng biến đổi nội bộ loài và giữa các loài khác nhau rất cao.

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả tiến hành giải trình tự nucleotide của 3 vùng gene *matK*, *rbcL* và ITS2 đối với 30 mẫu Lá khô được thu thập tại các huyện thuộc tỉnh Thái Nguyên nhằm mục đích phân loại, định danh loài và xác định mối quan hệ di truyền giữa các mẫu sử dụng trong nghiên cứu. Đây là cơ sở phục vụ cho công tác bảo tồn, phát triển và sử dụng hiệu quả nguồn gen quý này.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguồn gốc các mẫu lá khô

Tổng cộng 30 mẫu cá thể lá khô đã được thu thập tại nhiều địa điểm khác nhau trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên. Sau khi thu, các mẫu được chuyển về phòng thí nghiệm và bảo quản trong túi zip, kèm theo thông tin đầy đủ về tên mẫu, thời gian và địa điểm thu mẫu. Chi tiết về nguồn gốc mẫu được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Danh sách 30 mẫu lá khô được thu thập tại tỉnh Thái Nguyên

Số lượng mẫu	Địa điểm thu mẫu	Tọa độ thu mẫu	Kí hiệu mẫu
3	Xã Hợp Tiến - huyện Đồng Hỷ	21° 34' 28.2" N, 106° 1' 16.32" E	KT1, KT2, KT3
2	Xã Nam Hòa - huyện Đồng Hỷ	21° 36' 40.68" N, 105° 55' 14.88" E	KT4, KT5
2	Xã Hòa Bình - huyện Đồng Hỷ	21° 43' 55" N, 105° 49' 45" E	KT6, KT7
3	Xã Sáng Mộc - huyện Võ Nhai	21° 54' 06" N, 106° 00' 14" E	KT8, KT9, KT10
2	Xã Lâu Thượng - huyện Võ Nhai	21° 44' 25" N, 106° 1' 3" E	KT11, KT12
2	Xã La Hiên - huyện Võ Nhai	21° 44' 8" N, 105° 55' 50" E	KT13, KT14
3	Xã Nghinh Tường - huyện Võ Nhai	21° 52' 32" N, 106° 4' 51" E	KT15, KT16, KT17
3	Xã Hợp Thành - huyện Định Hóa	21° 45' 40" N, 105° 40' 21" E	KT18, KT19, KT20
2	Xã Tân Thịnh - huyện Định Hóa	21° 56' 24.72" N, 105° 41' 44.88" E	KT21, KT22
2	Xã Lan Vỹ - huyện Định Hóa	21° 59' 13" N, 105° 42' 21" E	KT23, KT24
2	Xã Yên Lãng - huyện Đại Từ	21° 41' 18" N, 105° 30' 26" E	KT25, KT26
2	Xã An Khánh - huyện Đại Từ	21° 38' 13" N, 105° 43' 31" E	KT27, KT28
2	Xã La Bằng - huyện Đại Từ	21° 36' 38" N, 105° 33' 33" E	KT19, KT30

2.2. Tách chiết DNA tổng số bằng phương pháp CTAB

Trước khi thực hiện tách chiết DNA tổng số, các mẫu sẽ được làm sạch loại bỏ bụi bẩn bằng cồn 70°. Sau đó, các mẫu được làm lạnh nhanh bằng nitơ lỏng ở nhiệt độ -196°C và sau đó được nghiền thành bột mịn. Tiếp theo, cân 0,5 gam bột mẫu để tiến hành tách chiết DNA tổng số theo phương pháp CTAB (Doyle và Doyle, 1990). DNA thu được được kiểm tra định tính bằng cách

điện di trên gel agarose 1,0% có chứa thuốc nhuộm RedSafe. Cuối cùng, nồng độ và độ tinh sạch của DNA được xác định bằng thiết bị NanoDrop (Thermo Scientific).

2.3. Phương pháp nhân gene bằng kỹ thuật PCR

Thông tin về ba cặp mồi đặc hiệu sử dụng trong nghiên cứu được thể hiện chi tiết trong Bảng 2 (Shilin Chen và cs., 2010; Kress và Erickson, 2008).

Bảng 2. Thông tin cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu

Tên mồi	Trình tự (5'-3')	Nhiệt độ gắn mồi (°C)	Kích thước dự kiến (bp)
ITS2-F	ATG CGA TAC TTG GTG TGA AT	52	550
ITS2-R	GAC GCT TCT CCA GAC TAC AAT		
<i>rbcL</i> -F	ATG TCA CCA CAA ACA GAG	58	650
<i>rbcL</i> -R	ACT AAA GC GTA AAA TCA AGT CCA CCR CG		
<i>matK</i> -F	TAA TTT ACG ATC AAT TCA	47	900
<i>matK</i> -R	TTC ACA AGA AAG TCG AAG TAT		

Phản ứng PCR được thực hiện trong thể tích tổng 20 μ l, gồm: 14,8 μ l nước khử ion (DiH_2O), 2 μ l đệm phản ứng DreamTaq 2X, 0,1 μ l dNTP (40 mM), 1 μ l mồi xuôi và 1 μ l mồi ngược (10 pmol/ μ l), 0,1 μ l enzyme Taq polymerase (5 U/ μ l), và 1 μ l DNA khuôn (50 ng/ μ l). Phản ứng được tiến hành theo chương trình nhiệt như sau: biến tính ban đầu ở 94°C trong 4 phút; tiếp theo là 35 chu kỳ gồm biến tính ở 94°C trong 1 phút, gắn mồi (nhiệt độ chi tiết của từng cặp mồi thể hiện ở Bảng 2) trong 30 giây, kéo dài ở 72°C trong 1 phút; kết thúc bằng giai đoạn kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 3 phút. Quá trình khuếch đại được thực hiện trên máy PCR Gradient (Analytik Jena, Đức). Kiểm tra định tính trên gel agarose 1,5% đã được bổ sung thuốc nhuộm RedSafe. Sản phẩm PCR sau khuếch đại được tinh sạch bằng bộ

kit của Thermo Scientific (Mỹ) và tiến hành giải trình tự trên hệ thống ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer tại Công ty 1st BASE (Singapore).

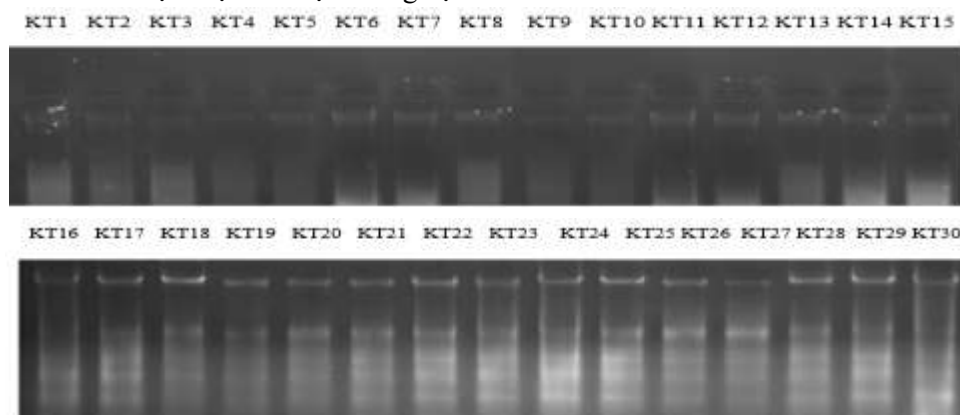
2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các trình tự gene thu được sẽ được phân tích bằng phần mềm chuyên dụng như Sequence Scanner, BioEdit, MEGA 11 và đăng ký trình tự gene đặc trưng của 3 chi thị trên cơ sở dữ liệu GeneBank của NCBI.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả tách chiết và độ tinh sạch, nồng độ DNA

Kết quả tách chiết DNA tổng số của 30 mẫu Lá khô sẽ được kiểm tra định tính trên gel agarose 1,5%. Kết quả được thể hiện trong Hình 1.



Hình 1. Hình ảnh điện di kết quả tách chiết DNA tổng số của các mẫu nghiên cứu (Giếng KT1 đến KT30 tương ứng với 30 mẫu nghiên cứu)

Hình 1 cho thấy DNA tổng số thu được có chất lượng tốt, ít đứt gãy và các băng rõ, sáng và đồng đều. Hàm lượng và độ tinh sạch của DNA sau khi tách chiết là yếu tố then chốt quyết định sự thành công

của phản ứng PCR. DNA đạt chất lượng cao cần đảm bảo tính toàn vẹn về cấu trúc và không bị nhiễm tạp chất ảnh hưởng đến quá trình khuếch đại. Kết quả chi tiết thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả tách chiết DNA tổng số của 30 mẫu lá khô sử dụng trong nghiên cứu

Mẫu	OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	Hàm lượng (ng/μl)	STT	Mẫu	OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	Hàm lượng (ng/μl)
KT1	1,91	36,4	16	KT16	1,93	37,4
KT2	1,83	34,9	17	KT17	1,88	36,1
KT3	1,90	36,8	18	KT18	1,91	40,3
KT4	1,99	36,5	19	KT19	1,85	38,6
KT5	1,82	35,8	20	KT20	1,94	39,9
KT6	1,84	39,8	21	KT21	1,90	37,6
KT7	1,90	37,8	22	KT22	1,89	36,7
KT8	1,81	39,5	23	KT23	1,95	38,9
KT9	1,92	35,5	24	KT24	1,86	39,1
KT10	1,86	34,9	25	KT25	1,92	40,5
KT11	1,87	41,1	26	KT26	1,87	35,6
KT12	1,96	39,7	27	KT27	1,90	38,3
KT13	1,90	40,0	28	KT28	1,84	34,7
KT14	1,97	38,2	29	KT29	1,88	37,2
KT15	1,89	38,0	30	KT30	1,91	36,9

DNA sau khi tách chiết có độ tinh khiết cao (OD₂₆₀/OD₂₈₀: 1,81–1,99) và hàm lượng đồng đều (34,7–41,1 ng/μl, trung bình 37,6 ng/μl), cho thấy các mẫu đạt chất lượng đủ điều kiện để thực hiện các bước nghiên cứu tiếp theo (Shin và cs., 2012).

3.2. Kết quả khuếch đại 3 chỉ thị *matK*, *rbcL* và ITS2

Kết quả cho thấy các chỉ thị sử dụng cho định danh đều được khuếch đại thành

công, tạo một băng đặc trưng duy nhất, không xuất hiện sản phẩm phụ. Khi đối chiếu với thang DNA chuẩn của hãng Bioline, kích thước sản phẩm PCR thu được phù hợp với giá trị dự kiến: *matK* khoảng 900 bp, *rbcL* khoảng 650 bp và ITS2 khoảng 550 bp. Kết quả được thể hiện trong Hình 2.



(a)



(b)



(c)

Hình 2. Kết quả khuếch đại gene 3 chỉ thị (a: *matK*, b: *rbcL*, c: ITS2)
 (Đường chạy L: DNA Hyperladder 1 kb–Hãng Bioline)
 (Đường chạy KT1–KT30: tương ứng 30 mẫu lá khô nghiên cứu)

Kết quả giải trình tự 30 mẫu lá khô cho thấy tín hiệu ở hai đầu chuỗi có chất lượng thấp, trong khi đoạn giữa cho tín hiệu rõ ràng và chính xác. Điều này phù hợp với lý thuyết, vì phản ứng PCR thường kém ổn định ở giai đoạn đầu và cuối, làm giảm chất lượng giải trình tự tại những vị trí này. Sau khi hiệu chỉnh và loại bỏ các nucleotide nhiễu ở hai đầu, chiều dài các đoạn trình tự thu được lần lượt khoảng 863 bp với *matK*, 519 bp với *rbcL* và 375 bp với ITS2. Theo Lê Văn Phúc và cs. (2025) đã khuếch đại và giải trình tự ba gene *matK*, *rbcL* và ITS2 của 30 mẫu Vàng tâm. Sau khi hiệu chỉnh và loại bỏ các nucleotide nhiễu ở hai đầu, chiều dài trình tự thu được lần lượt là 868 bp (*matK*), 520 bp (*rbcL*) và 373 bp (ITS2) (Nguyễn Thị Thoa và cs., 2025).

3.3. Kết quả phân tích trình tự chỉ thị gene *matK*, *rbcL*, ITS2

Trình tự consensus của các mẫu nghiên cứu được xác định bằng phần mềm BioEdit và so sánh trên cơ sở dữ liệu NCBI thông qua phần mềm BLAST. Kết quả phân tích ở Hình 3 cho thấy loài lá khô tại Thái

Nguyên có mức độ tương đồng cao với một số loài thuộc chi *Ardisia* đã được công bố trên ngân hàng gene: chỉ thị *matK* đạt 98,26%–99,07%, cho thấy trình tự này có tính bảo tồn cao và phù hợp để phân biệt ở mức chi, đồng thời phản ánh một số biến dị nội loài; chỉ thị *rbcL* đạt 99,23%–99,42%, có mức bảo tồn cao hơn *matK*, hỗ trợ mạnh mẽ việc xác định loài, và khi kết hợp với *matK* giúp tăng độ tin cậy cho định danh; trong khi chỉ thị ITS2 có mức tương đồng thấp hơn, từ 94,63%–96,97%, cho thấy sự biến đổi cao hơn giữa các mẫu và trình tự tham chiếu, thích hợp để phân biệt biến dị nội loài hoặc các dòng địa lý khác nhau. Mẫu nghiên cứu được thu thập từ nhiều địa điểm tại Thái Nguyên, phản ánh đa dạng di truyền trong quần thể tự nhiên. Kết hợp ba chỉ thị này theo phương pháp DNA barcoding vừa xác nhận mức độ định danh loài và chi, vừa cung cấp thông tin về biến dị nội loài, tăng cường độ tin cậy cho kết quả phân loại và phù hợp với các khuyến nghị hiện nay trong nghiên cứu phân loại thực vật.

Tên loài	Mã genbank	Mức độ tương đồng (%)	Độ bao phủ (%)
<i>Ardisia mamillata</i>	JF416275	99,07	100
<i>Ardisia crenata</i>	JF416271	98,96	100
<i>Ardisia crenata</i>	HQ427412	98,95	100
<i>Ardisia virens</i>	JF416279	98,73	100
<i>Ardisia solanacea</i>	JF416278	98,61	100
<i>Ardisia japonica</i>	JF416274	98,61	100
<i>Ardisia paniculata</i>	JF416270	98,61	100
<i>Ardisia guianensis</i>	JF416269	98,38	100
<i>Ardisia opegrapha</i>	JF416276	98,26	100

(a)

Tên loài	Mã genbank	Mức độ tương đồng (%)	Độ bao phủ (%)
<i>Ardisia pterocaulis</i>	MH332482	99,42	100
<i>Ardisia</i> sp.	MF435740	99,42	100
<i>Ardisia quinquegona</i>	LC689425	99,42	100
<i>Ardisia quinquegona</i>	KP094338	99,30	100
<i>Ardisia quinquegona</i>	KJ687991	99,30	100
<i>Ardisia quinquegona</i>	LC691327	99,23	100
<i>Ardisia sieboldii</i>	LC689997	99,23	100
<i>Ardisia thyrsoiflora</i>	KR528780	99,23	100
<i>Ardisia thyrsoiflora</i>	KR528778	99,23	100
<i>Ardisia solanacea</i>	KR528774	99,23	100
<i>Ardisia sieboldii</i>	LC694699	99,23	100
<i>Ardisia quinquegona</i>	LC689435	99,23	100

(b)

Tên loài	Mã genbank	Mức độ tương đồng (%)	Độ bao phủ (%)
<i>Ardisia gigantifolia</i>	MG731201	96,97	99
<i>Ardisia crenata</i>	MG731158	94,94	99
<i>Ardisia crenata</i>	MG731157	94,94	99
<i>Ardisia crenata</i>	MG731156	94,94	99
<i>Ardisia elliptica</i>	OK052873	94,63	99

(c)

Hình 3. Kết quả so sánh trình tự consensus trên ngân hàng gene NCBI

(1): Chỉ thị *matK*, (2): Chỉ thị *rbcL*, (3): Chỉ thị ITS2

3.4. Xây dựng cây sơ đồ phát sinh chủng loại

Bằng phần mềm MEGA 11 chúng tôi thực hiện xây dựng cây sơ đồ phát sinh

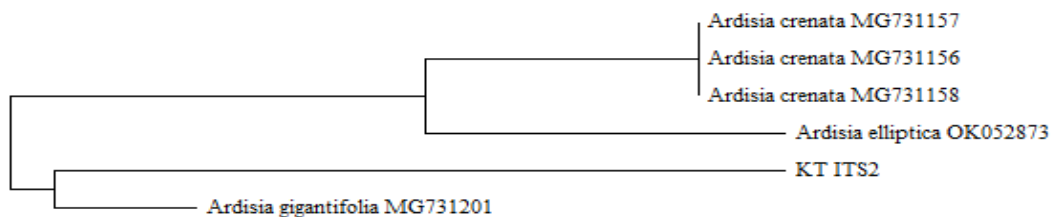
chủng loại giữa các loài thuộc chi *Ardisia* dựa trên trình tự nucleotide của 3 chỉ thị *matK*, *rbcL* và ITS2. Kết quả được thể hiện trong Hình 4.



(1)



(2)



(3)

Hình 4. Cây sơ đồ phát sinh chủng loại được xây dựng dựa trên trình tự gene (1: chỉ thị *matK*, 2: chỉ thị *rbcL*, 3: chỉ thị ITS2)

Căn cứ vào cây phát sinh chủng loại ở Hình 4, tất cả các trình tự, bao gồm mẫu nghiên cứu và các loài tham chiếu, đều phân nhánh từ một tổ tiên chung, phản ánh mối quan hệ di truyền gần gũi. Kết quả này cho thấy 30 mẫu lá khô thu thập tại Thái Nguyên thuộc cùng một nhóm phát sinh và được xếp vào chi *Ardisia* (họ Myrsinaceae). Đối với các chỉ thị *matK* và *rbcL*, so sánh với cơ sở dữ liệu NCBI chỉ cung cấp trình tự tương đồng nhất với trình tự consensus, nhưng không thể xác định chính xác tên loài, vì kết quả BLAST phản ánh những trình tự hiện có trong ngân hàng gene và mức tương đồng cao (>99%) chưa đủ để suy ra tên khoa học cụ thể (Vũ Đình Duy và cs., 2021). Kết hợp với kết quả tìm kiếm trên NCBI đã chỉ ra rằng, trên ngân hàng gen chưa công bố trình tự *matK*, *rbcL* loài *Ardisia silvestris* Pitard. Đối với chỉ thị ITS2, theo khuyến cáo của tổ chức BOLD, sự khác biệt lớn hơn 2% có thể gợi ý sự tồn tại loài mới (Ratnasingham và Hebert, 2007). Kết quả tìm kiếm trên NCBI cho thấy sai khác >2% so với các loài thuộc chi *Ardisia* đã được công bố. Do đó, đây là cơ sở ban đầu để xác nhận mẫu nghiên cứu thuộc chi *Ardisia* (họ Myrsinaceae). Để xác định chính xác tên loài, cần kết hợp thêm các dữ liệu bổ sung như đặc điểm hình thái, sinh lý và hóa sinh... Các trình tự gene đặc trưng của ba chỉ thị đã được đăng ký và công bố trên ngân hàng gene NCBI với các mã số truy cập GenBank tương ứng là PP105578 (*matK*), PP105579 (*rbcL*) và PP101260 (ITS2), góp phần bổ sung dữ liệu di truyền của chi *Ardisia* vào cơ sở dữ liệu toàn cầu và tạo nền tảng cho các nghiên cứu phân loại học và tiến hóa sau này.

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, ba vùng gen *matK*, *rbcL* và ITS2 của các mẫu lá khô thu thập tại Thái Nguyên đã được khuếch đại và giải trình tự thành công, với các trình tự

đăng ký trên Ngân hàng gene NCBI theo mã GenBank: PP105578 (*matK*), PP105579 (*rbcL*) và PP101260 (ITS2). Dựa trên đặc điểm hình thái và kết quả định danh phân tử, loài nghiên cứu được xác định là *Ardisia silvestris*. Nghiên cứu không chỉ cung cấp cơ sở khoa học cho bảo tồn nguồn gen quý hiếm, mà còn hỗ trợ các chương trình phục hồi và phát triển rừng trồng dược liệu. Đồng thời, việc ứng dụng các chỉ thị phân tử trong phân tích đa dạng di truyền đã chứng minh độ chính xác cao, hỗ trợ phân loại, theo dõi biến động di truyền và xây dựng các chiến lược bảo tồn bền vững lâu dài.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm Sinh học phân tử - Trung tâm Nghiên cứu Cây trồng thích ứng với Biến đổi khí hậu, Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

- Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường. (2007). *Sách đỏ Việt Nam: Phần II – Thực vật*. Hà Nội: Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. (2021). *Quyết định số 1893/QĐ-TTg ngày 25 tháng 11 năm 2021 của Thủ tướng Chính phủ về Chương trình phát triển dược liệu quốc gia đến năm 2030, tầm nhìn đến năm 2045*. Hà Nội.
- Kinh tế và Đô thị. (18/09/2025). *Thái Nguyên: hướng tới mục tiêu phát triển bền vững ngành dược liệu*. Khai thác từ <https://kinhtedothi.vn/thai-nguyen-huong-toi-muc-tieu-phat-trien-ben-vung-nganh-duoc-lieu.845465.html>
- Nguyễn Thị Thoa, Nguyễn Thanh Hằng, Lê Văn Phúc và Lò Trung Kiên. (2025). Định danh và đánh giá đa dạng di truyền loài Vàng tâm (*Manglietia fordiana*) tại Thái Nguyên bằng chỉ thị phân tử. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*, 231(01), 34 – 42. DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.12809>
- Nguyễn Thị Mỹ Hạnh. (2022). *Ứng dụng các kỹ thuật công nghệ sinh học trong nhân giống cây Kiwi tại Lâm Đông*. Luận án Tiến sĩ. Học viện Khoa học và Công nghệ.

- Nguyễn Thị Thanh Nga. (2012). *Đánh giá đa dạng di truyền một số loài cây Dược liệu Việt Nam thuộc chi Đẳng sâm (Codonopsis) sp. bằng kỹ thuật DNA mã vạch*. Luận văn Thạc sĩ. Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- Vũ Đình Duy, Nguyễn Thị Thịnh, Vũ Thị Thu Hiền, Lưu Thị Phương và Vũ Quang Nam. (2021). Sử dụng DNA mã vạch vùng gen nhân (*ITS-rDNA*) định danh loài hoa Trúng gà Yên Tử (*Magnolia* sp.), *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, (2), 42-48.
- Vũ Thị Thu Thủy, Nguyễn Thị Thu Nga, Hoàng Phú Hiệp và Chu Hoàng Mậu. (2017). Sử dụng mã vạch DNA trong việc định loại loài cây dược liệu thất diệp nhất chi hoa ở Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*, 161(01), 81-87.
- 2. Tài liệu tiếng nước ngoài**
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus*, 12, 13–15.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & Dewaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321.
- Jagielski, T., Wróbel, M., & Sawicki, J. (2017). An optimized method for high quality DNA extraction from plants with a high content of secondary metabolites. *Plant Methods*, 13, 28.
- Jennings, L. J., Arcila, M. E., Corless, C., Kamel-Reid, S., Lubin, I. M., Pfeifer, J., Temple-Smolkin, R. L., Voelkerding, K. V., & Nikiforova, M. N. (2017). Guidelines for validation of next-generation sequencing–based oncology panels: A joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *Journal of Molecular Diagnostics*, 19(3), 341–365.
- Matiz Cerón, L., Reyes, A., & Anzola, J. (2022). Taxonomical evaluation of plant chloroplastic markers by Bayesian classifier. *Frontiers in Plant Science*, 12.
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2008). DNA barcodes: Genes, genomics, and bioinformatics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(8), 2761–2762.
- Shilin Chen, Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., & Leon, C. (2010). Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PLoS One*, 5(1).
- Shin, J. H., Choi, H., Lee, J., & Kim, T. (2012). Nucleic Acid Extraction Techniques. *PMC*.
- Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. N. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*, 7(3), 355–364.