

Nhận dạng di truyền cây quế (*Cinnamomum aromaticum* Ness) dựa vào các vùng DNA mã vạch phổ quát

Nguyễn Thị Thơ¹, Khuất Thị Hải Ninh¹, Lê Hồng Liên¹, Phạm Thị Hạnh¹,
Nguyễn Thanh Thủy Vân¹, Hoàng Văn Hải², Âu Thị Hằng², Trần Thị Mai Sen^{1*}

¹Trường Đại học Lâm nghiệp

²Công ty Cổ phần TechVina Holding

Genetic identification of *Cinnamomum aromaticum* Ness based on universal DNA barcoding regions

Nguyen Thi Tho¹, Khuat Thi Hai Ninh¹, Le Hong Lien¹, Pham Thi Hanh¹,
Nguyen Thanh Thuy Van¹, Hoang Van Hai², Au Thi Hang², Tran Thi Mai Sen^{1*}

¹Vietnam National University of Forestry

²TechVina Holding Jsc

*Corresponding author: senttm@vnuf.edu.vn

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.15.1.2026.041-050>

TÓM TẮT

Quế (*Cinnamomum aromaticum* Ness) là loài cây có giá trị kinh tế cao nhờ hàm lượng tinh dầu quý. Tuy nhiên, đặc điểm hình thái tương đồng giữa các loài trong chi Quế khiến việc định danh bằng phương pháp truyền thống gặp nhiều khó khăn. Nghiên cứu này sử dụng ba vùng DNA mã vạch phổ quát gồm *rbcl*, *trnL-trnF*, ITS để phân tích 9 mẫu Quế thu thập tại tỉnh Quảng Ninh và Lào Cai. Các trình tự thu được có mức độ tương đồng rất cao (99,7-100%) so với các trình tự đã công bố trên GenBank. Số vị trí sai khác giữa các mẫu nghiên cứu và các loài cùng chi dao động từ 1-13 nucleotide. Trong đó, vùng ITS thể hiện khả năng phân biệt loài cao nhất, trong khi vùng *trnL-trnF* cho thấy giá trị phân giải thấp. Trình tự *rbcl* (567 bp), *trnL-trnF* (422 bp) và ITS (376 bp) được chuẩn hóa, phân tích bằng phần mềm BioEdit/MEGA7 và BLAST, sau đó đã đăng ký trên cơ sở dữ liệu GenBank (mã số: PV962818–PV962823; PV819493–PV819494). Kết quả khẳng định vùng ITS phân giải tốt quan hệ gần-xa giữa các mẫu Quế, hỗ trợ hiệu quả giám định giống, truy xuất nguồn gốc và kiểm soát chất lượng tinh dầu trong sản xuất. Nghiên cứu góp phần khẳng định tính hiệu quả của DNA mã vạch trong định danh *C. aromaticum*, đồng thời cung cấp cơ sở khoa học cho bảo tồn và phát triển nguồn gen Quế ở Việt Nam.

ABSTRACT

Cinnamomum aromaticum Ness is a economically important species due to its valuable essential oil. However, morphological similarities among *Cinnamomum* species make traditional identification methods difficult. This study employed three universal DNA barcoding regions *rbcl*, *trnL-trnF*, and ITS to analyze nine *C. aromaticum* samples collected from Quang Ninh and Lao Cai provinces, Vietnam. The obtained sequences showed a high similarity level (99.7–100%) with those of *Cinnamomum* species deposited in GenBank, differing by 1-13 nucleotides. Among the three regions, ITS exhibited the highest discriminatory power at the species level, while *trnL-trnF* showed limited resolution. The sequences of *rbcl* (567 bp), *trnL-trnF* (422 bp), and ITS (376 bp) were edited, aligned, and analyzed using BioEdit, MEGA7, and BLAST, and subsequently deposited in GenBank (accession numbers PV962818–PV962823; PV819493–PV819494). The results confirm the efficiency of the ITS region in resolving genetic relationships among *C. aromaticum* samples, supporting accurate species identification, genetic resource tracing, and essential oil quality control. This study highlights the accuracy and utility of DNA barcoding for the genetic identification of *C. aromaticum* and provides a scientific basis for the conservation and sustainable development of cinnamon genetic resources in Vietnam.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 02/10/2025

Ngày phản biện: 04/11/2025

Ngày quyết định đăng: 09/12/2025

Từ khóa:

DNA mã vạch, định danh loài, ITS, nguồn gen, Quế.

Keywords:

Cinnamomum aromaticum,
DNA barcoding, identification,
ITS, gene resource.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Quế (*Cinnamomum aromaticum* Ness) là loài cây lâm nghiệp có giá trị kinh tế và sinh thái cao, được sử dụng rộng rãi trong các ngành thực phẩm, dược liệu và hương liệu nhờ hàm lượng tinh dầu quý. Ở Việt Nam, Quế được gây trồng ở nhiều tỉnh miền Bắc và miền Trung, trong đó Quảng Ninh và Lào Cai là hai vùng trồng trọng điểm. Tuy nhiên, loài *C. aromaticum* có đặc điểm hình thái rất tương đồng với các loài khác trong chi *Cinnamomum* như *C. verum*, *C. burmannii*, khiến việc định danh dựa trên đặc điểm hình thái truyền thống gặp nhiều khó khăn và dễ nhầm lẫn.

Sự khác biệt về điều kiện sinh thái giữa các vùng trồng còn có thể ảnh hưởng đến đặc tính sinh lý, hóa học và cấu trúc di truyền của Quế. Do đó, việc xác định chính xác loài và đánh giá đặc điểm di truyền của các quần thể là cơ sở khoa học quan trọng cho chọn giống, bảo tồn và phát triển nguồn gen Quế trong nước.

Trong những năm gần đây, công nghệ sinh học phân tử, đặc biệt là kỹ thuật DNA mã vạch (DNA barcoding), đã trở thành công cụ hiệu quả trong phân loại và giám định thực vật. Các chỉ thị phổ biến như *rbcl*, *matK*, *trnL-trnF*, *trnH-psbA* (thuộc hệ gen lục lạp) hay *ITS* (thuộc hệ gen nhân) đã chứng minh hiệu quả trong giám định loài và phân tích mối quan hệ di truyền [1-4].

Tại Việt Nam, Tạ Minh Quang (2023) đã chứng minh hiệu quả của *rpoB* và *matK* trong định danh Quế ở nhiều vùng sinh thái khác nhau [5]. Hà Bích Hồng và cộng sự (2021) [6], Vu Dinh Duy và cộng sự (2024) [7], Vu Dinh Duy và cộng sự (2025) [8] sử dụng các chỉ thị *rbcl*, *matK*, *trnH-psbA*, *ycf1* và *ITS* để giám định loài Xá xị (*C. parthenoxylon*) ở Việt Nam, cho kết quả phân biệt rõ ràng giữa các nguồn gen. Nguyễn Thu Hiền và cộng sự (2025) áp dụng vùng *trnL-trnF* cho 18 mẫu Quế ở các vùng khác nhau, ghi nhận độ tương đồng di truyền cao và khẳng định các mẫu đều thuộc loài *C. cassia* [9]. Ở phạm vi quốc tế, Kojoma và cộng sự (2002)

cho thấy *trnL-trnF* có thể phân biệt được bốn loài *Cinnamomum* thu thập từ nhiều quốc gia [10]. Nhiều nghiên cứu khác cũng khẳng định ưu thế của *ITS* và các đoạn gen lục lạp khác trong phân biệt các loài *Cinnamomum* [11-15].

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước về DNA mã vạch của chi *Cinnamomum*, song dữ liệu di truyền đặc trưng cho các quần thể Quế tại những vùng trồng trọng điểm ở Việt Nam, đặc biệt là Quảng Ninh và Lào Cai, vẫn còn hạn chế. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân tích ba vùng DNA mã vạch phổ quát (*rbcl*, *trnL-trnF* và *ITS*) của các mẫu Quế tại hai tỉnh trên, qua đó đánh giá khả năng phân biệt loài, bổ sung dữ liệu di truyền và cung cấp cơ sở khoa học phục vụ công tác giám định, bảo tồn, chọn giống và phát triển nguồn gen Quế ở Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chín mẫu lá Quế được thu thập tại 2 tỉnh miền Bắc Việt Nam là Quảng Ninh và Lào Cai. Mẫu lá bánh tẻ, không sâu bệnh, được thu từ các cây khỏe mạnh đại diện cho từng quần thể. Sau khi thu, mẫu được bảo quản lạnh (4°C) và vận chuyển về phòng thí nghiệm, lưu giữ trong tủ đông ở -20°C cho đến khi tách chiết DNA.

2.2. Phương pháp tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số được tách chiết từ 100 mg mô lá bằng bộ kit Dneasy Plant Mini Kit (Qiagen, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Nồng độ và độ tinh sạch DNA được xác định bằng máy quang phổ Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ) tại bước sóng 260/280 nm. Các mẫu DNA đạt yêu cầu được pha loãng đến nồng độ làm việc 50 ng/μl để sử dụng cho phản ứng PCR.

2.3. Khuếch đại PCR và giải trình tự nucleotide

Ba vùng DNA mã vạch gồm *rbcl*, *trnL – trnF* và *ITS* được khuếch đại bằng phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu tham khảo từ các nghiên cứu trước [12, 16, 17]. Các phản ứng PCR được thực hiện trên máy TC1000-G (Biologix, Hoa Kỳ)

với tổng thể tích 25µl bao gồm: H₂O deion (9 µl), 2xPCR Master mix Solution của hãng Norgen Bioteck (12,5 µl), 10 pmol/µl mỗi xuôi (1,25 µl), 10 pmol/µl mỗi ngược (1,25 µl), DNA tổng số 1 µl (tương đương 50 ng). Chu trình nhiệt của phản ứng PCR như sau: biến tính ở 95°C trong 5 phút; 40 chu kỳ lặp lại của ba bước 95°C- 30 giây, 52°C (đối với mỗi *rbcL*), 54°C (đối với mỗi *trnL-trnF*) và 56°C đối với mỗi *ITS* 45 giây, 72°C 60 giây; hoàn tất kéo dài chuỗi 72°C

10 phút và giữ mẫu ở 4°C. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1% có bổ sung Redsafe (Intron, Hàn Quốc) và băng DNA được quan sát và ghi lại bằng hệ thống chụp ảnh Dolphin-Doc Image system (Wealtec, Hoa Kỳ). Sản phẩm PCR sau tinh sạch được gửi tới Công ty 1st Base (Malaysia) để giải trình tự theo phương pháp Sanger, sử dụng bộ BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems).

Bảng 2. Trình tự các cặp mồi và kích thước các đoạn gen đích theo lý thuyết

Gene đích	Tên mồi	Trình tự mồi	Nhiệt độ gắn mồi (°C)	Kích thước đoạn DNA dự kiến	Tham khảo
<i>ITS</i>	<i>CCF1</i>	5'-GCGCATTTTCAGCTCGAC-3'	55	400	Eui Jeong Doh và cộng sự, 2017 [12]
	<i>CCR3</i>	5'-CTGGCGCGCGGCCAGT-3'			
<i>rbcL</i>	<i>rbcLaF</i>	5'-ATGCACCACAAACA GAG ACTAAAGC-3'	52	600	Kress and Erickson, 2007 [16]
	<i>rbcLa R</i>	5'- GTAAAATCAAGTCCACCGCG-3'			
<i>trnL-trnF</i>	<i>e</i>	5'-GGT TCA AGTCCC TCT ATC CC-3'	54	500	Taberlet và cộng sự, 1991 [17]
	<i>f</i>	5'-ATT TGA ACT GGT GACACG AG-3'			

2.4. Phương pháp phân tích dữ liệu DNA mã vạch

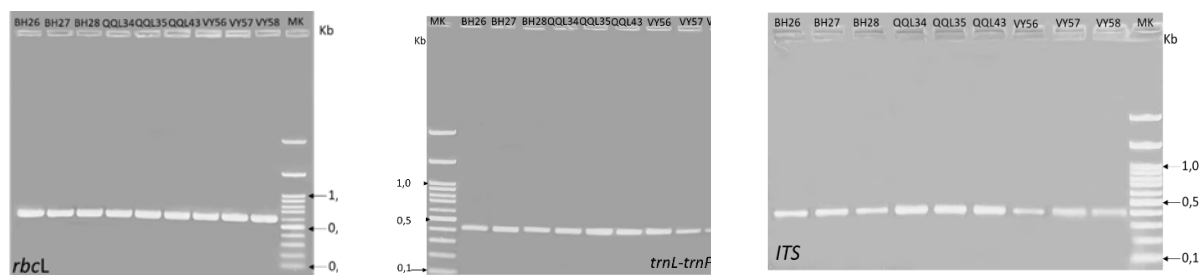
Trình tự nucleotide thu được, được chỉnh sửa và căn chỉnh bằng phần mềm BioEdit 7.25 [18], Mega7 [19]. Các trình tự được so sánh với cơ sở dữ liệu GenBank thông qua công cụ BLASTn (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) để xác định mức độ tương đồng và xác nhận định danh loài. Các phân tích cây phát sinh loài được thực hiện trong MEGA7 bằng phương pháp Neighbor-Joining (NJ) với 1000 lần bootstrap nhằm đánh giá mức hỗ trợ của các nhánh.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhân bản đoạn trình tự gen *rbcL*, *trnL-trnF* và *ITS*

DNA tổng số được tách chiết thành công từ 9 mẫu lá Quế và sử dụng làm khuôn cho phản ứng PCR khuếch đại 3 vùng gen mã vạch *rbcL*, *trnL-trnF* và *ITS*. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1,0% cho thấy cả 3 vùng gen đều được khuếch đại thành công ở tất cả các mẫu, các băng DNA sáng, rõ nét và có kích thước phù hợp với lý thuyết (Hình 1).

Gen *rbcL* là trình tự gen đặc trưng nhất trong các gen của lục lạp, là gen mã hóa tiểu đơn vị lớn của enzyme Rubisco trong lục lạp, có thể được nhân bản một cách dễ dàng. Trình tự gen *rbcL* đã được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu phát sinh loài và phân loại thực vật với hơn 10000 trình tự *rbcL* trong đó có của các loài thuộc chi Quế *Cinnamomum* sẵn có trong Ngân hàng Gen Quốc tế (NCBI). Do vậy, để giám định loài Quế chúng tôi đã lựa chọn đoạn gen *rbcL*. Cặp mồi *rbcL* aF/aR được sử dụng để khuếch đại đoạn gen *rbcL* trong hệ gen lục lạp của 9 mẫu Quế tại 2 tỉnh Lào Cai và Quảng Ninh. Kết quả kiểm tra sản phẩm PCR nhân đoạn gen *rbcL* trên gel agarose 1,0% cho thấy đoạn gen *rbcL* đã được khuếch đại thành công ở cả 9 mẫu Quế nghiên cứu, các băng DNA đều nhau, sáng rõ và đều có kích thước khoảng 600 bp như tính toán lý thuyết. Do đó, có thể khẳng định đã khuếch đại thành công đoạn gen *rbcL* ở các mẫu Quế với sản phẩm PCR có hàm lượng cao. Các sản phẩm nhân bản đoạn gen *rbcL* sẽ được tinh sạch và giải trình tự nucleotide.



Hình 1. Sản phẩm PCR của 3 vùng gen *rbcl*, *trnL-trnF* và *ITS* trên gel agarose 1% của 9 mẫu Quế, MK: thang chuẩn 100 bp

Vùng không mã hóa của DNA lục lập, liên kết giữa hai gen *trnL*(UAA) và *trnF*(GAA) là vùng có sự biến đổi lớn nhất của DNA lục lập nhưng có ưu thế như cấu trúc bậc 2 với vùng biến đổi và vùng bảo thủ xen kẽ nhau - vùng có tiềm năng cao trong phân tích và nghiên cứu phân loại thực vật [20]. Ở Quế trình tự *trnL-trnF* đã được sử dụng để nhận dạng nguồn gốc các mẫu Quế thu thập từ các tỉnh Đông Bắc, Tây Bắc, Bắc Trung Bộ và Duyên hải miền Trung [9]. Do vậy, cặp mồi *trnL-trnF* được sử dụng để khuếch đại vùng trình tự giữa hai gen *trnL* và *trnF* của các mẫu Quế nghiên cứu. Kết quả kiểm tra sản phẩm điện di đoạn trình tự *trnL-trnF* trên gel agarose 1,0% cho thấy đoạn trình tự này đã được nhân bản thành công ở cả 9 mẫu Quế. Các băng DNA sáng, rõ nét, đồng đều không có băng phụ và có kích thước khoảng hơn 400 bp. Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự nucleotid.

ITS - rDNA bao gồm vùng *ITS1*, gen 5,8S rDNA và *ITS2* là hệ thống đa gen trong nhân mã hóa các rRNA được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu phát sinh chủng loại của các loài sinh vật nói chung và thực vật nói riêng. Đối với các loài thuộc chi Quế (*Cinnamomum*), các nghiên cứu trước đó đã khẳng định trong vùng *ITS* có đoạn trình tự DNA mã vạch đặc hiệu cho loài *C. cassia* [12]. Do đó, cặp mồi CCF1/R3 được sử dụng để nhân bản rDNA gồm 1 phần *ITS1*, toàn bộ vùng mã hóa 5,8S và 1 phần *ITS2* (sau đây gọi chung là trình tự *ITS*). Kết quả kiểm tra sản phẩm điện di đoạn *ITS* trên gel agarose 1,0% cho thấy đoạn *ITS* của 9 mẫu Quế nghiên

cứu đều được nhân bản thành công. Các băng DNA sáng rõ, đồng đều, không có băng phụ và có kích thước khoảng hơn 400 bp.

3.2. Phân tích trình tự các đoạn DNA mã vạch

3.2.1. Trình tự nucleotide đoạn gen *rbcl*

Trình tự nucleotide của đoạn gen *rbcl* ở các mẫu Quế sau khi được xác định và được xử lý bằng phần mềm BioEdit và công cụ BLAST trên Ngân hàng Gen Quốc tế (NCBI), thu được đoạn gen *rbcl* có kích thước 567bp với chất lượng tốt. Sử dụng đoạn trình tự gen *rbcl* có kích thước 567 bp trên để phân tích và so sánh. Kết quả thu được 9 trình tự đoạn gen *rbcl* của 9 mẫu Quế nghiên cứu có sự tương đồng 100% và các trình tự này được đăng ký lên Ngân hàng Gen Quốc tế với mã số PV962818, PV962819, PV962820.

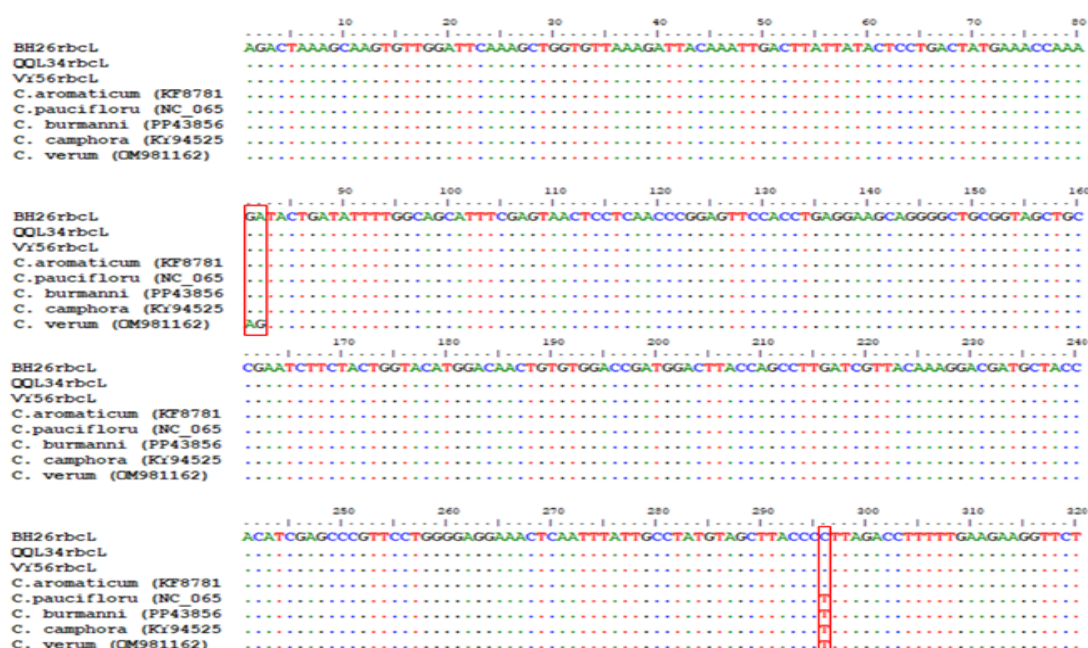
Để giám định 9 mẫu Quế nghiên cứu, chúng tôi sử dụng trình tự nucleotide của gen *rbcl* để BLAST với các trình tự tương đồng trên Ngân hàng Gen Quốc tế. Kết quả giám định cho thấy toàn bộ 9 mẫu Quế nghiên cứu tương đồng 100% với trình tự đoạn gen *rbcl* của loài *C. aromaticum* có mã số KF878111 trong Ngân hàng Gen Quốc tế và có mức độ tương đồng tương đối cao (99,47%-99,82%) với một số loài khác thuộc chi Quế *Cinnamomum* (tương ứng với loài *C. pauciflorum* mã số NC_065105, loài *C. camphora* mã số KY945253 và loài *C. burmannii* mã số PP438569 là 99,82%; loài *C. verum* mã số OM981162 là 99,47% và loài *Magnolia champaca* mã số NC_060724 là 97,17%).

Bảng 3. Các vị trí nucleotide sai khác trong trình tự gen *rbcL* của 9 mẫu Quế tại 2 tỉnh với 6 mã gen trên Ngân hàng Gen Quốc tế

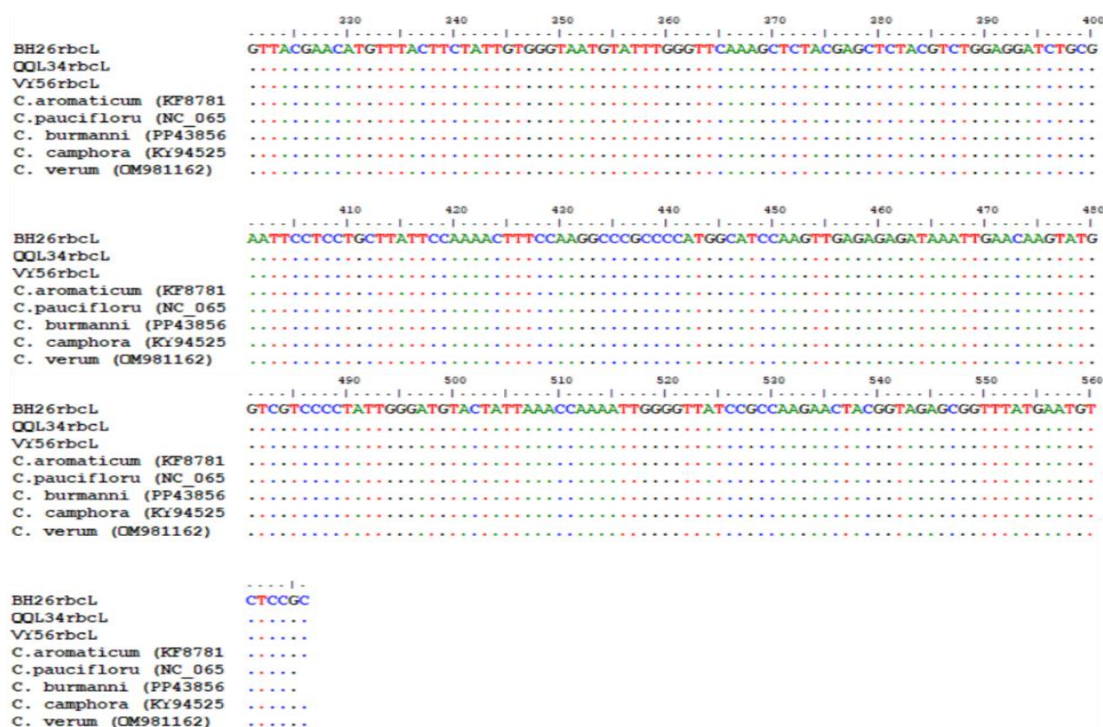
Tên loài	Mã số trên NCBI	Vị trí nucleotide sai khác																	
		41	68	81	82	92	104	268	281	296	326	341	347	371	408	417	418	488	545
9 mẫu Quế nghiên cứu	-	T	C	G	A	T	T	C	C	C	G	T	G	T	C	T	C	C	A
<i>C. aromaticum</i>	KF878111	T	C	G	A	T	T	C	C	C	G	T	G	T	C	T	C	C	A
<i>C. pauciflorum</i>	NC_065105	T	C	G	A	T	T	C	C	T	G	T	G	T	C	T	C	C	A
<i>C. camphora</i>	KY945253	T	C	G	A	T	T	C	C	T	G	T	G	T	C	T	C	C	A
<i>C. burmannii</i>	PP438569	T	C	G	A	T	T	C	C	T	G	T	G	T	C	T	C	C	A
<i>C. verum</i>	OM981162	T	C	A	G	T	T	C	C	T	G	T	G	T	C	T	C	C	A
<i>Magnolia champaca</i>	NC_060724.1	G	A	G	A	C	C	G	T	T	T	C	A	C	A	G	T	A	G

So sánh trình tự đoạn gen *rbcL* của các mẫu Quế nghiên cứu với 7 mã gen trên Ngân hàng Gen Quốc tế cho thấy có 18 vị trí sai khác (Bảng 03), trong đó có 3 điểm khác biệt giữa các mẫu Quế nghiên cứu với các loài cùng chi *Cinnamomum* (ở vị trí 81, 82 và 296) (Hình 2). Không tìm thấy điểm sai khác trong đoạn trình tự *rbcL* của các mẫu Quế nghiên cứu với loài *C. aromaticum*, trong khi sự khác biệt với loài *C. verum* ở 3 vị trí cụ thể mẫu Quế nghiên cứu ở 3 vị trí này lần lượt là G, A, C nhưng ở loài *C. verum* là A, G và T. Các mẫu Quế nghiên cứu chỉ có 1 điểm sai khác duy nhất ở vị trí 296 với các mã gen của các loài chi *Cinnamomum* còn lại.

Kết quả phân tích trên cho thấy *rbcL* là chỉ thị DNA mã vạch có hiệu quả đối với việc giám định loài Quế (*C. aromaticum*), cả 9 mẫu Quế nghiên cứu đều có mức độ tương đồng cao nhất với loài *C. aromaticum* trên Ngân hàng Gen Quốc tế. Trình tự *rbcL* cho thấy có sự sai khác rất nhỏ giữa *C. verum* với các loài *C. burmannii*, *C. pauciflorum* và *C. camphora*. Swetha và cộng sự [15] khẳng định *rbcL* có hiệu quả trong việc phát hiện sự pha trộn Quế *C. cassia* trong các mẫu Quế *C. verum*. Hai đoạn trình tự *matK* và *rbcL* có hiệu quả giám định các mẫu Xá xị (*C. parthenoxylon*) thu nhận tại Tam Đảo, Vĩnh Phúc cao hơn trình tự *trnH-psbA* [6].



Hình 2. So sánh trình tự đoạn gen *rbcL* của 3 mẫu đại diện (BH26, QQL34 và VY56) với các loài trong chi *Cinnamomum* trên GenBank



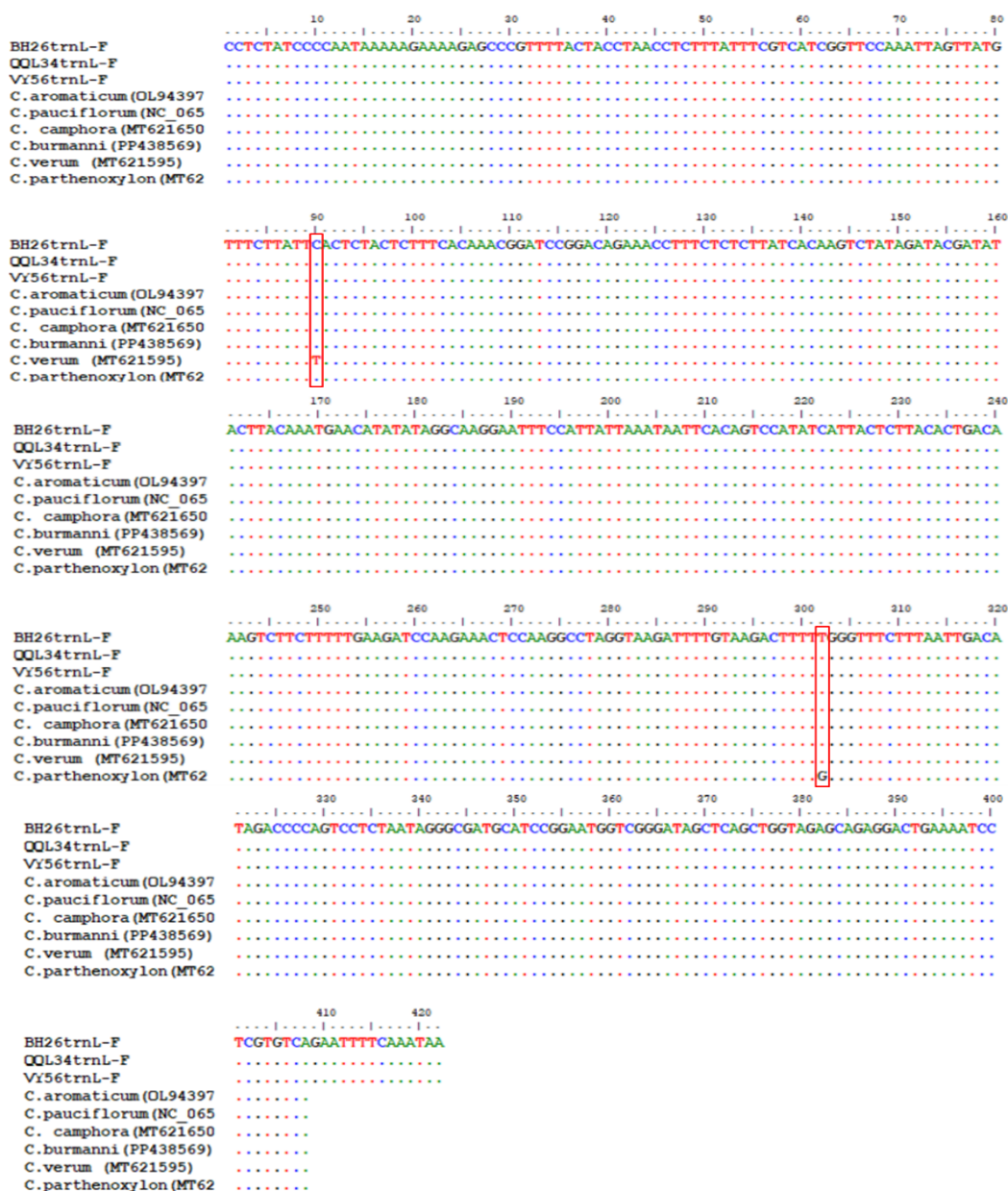
Hình 2 (tiếp). So sánh trình tự đoạn gen *rbcL* của 3 mẫu đại diện (BH26, QQL34 và VY56) với các loài trong chi *Cinnamomum* trên GenBank

3.2.2. Trình tự nucleotide vùng giữa hai gen *trnL* và *trnF*

Sau khi xác định và xử lý trình tự vùng *trnL-trnF*, thu được đoạn trình tự có kích thước 422bp của 9 mẫu Quế. Các trình tự này được so sánh và ghi nhận có mức độ tương đồng 100%. Các trình tự này được đăng ký lên Ngân hàng Gen Quốc tế với mã số: PV962821, PV962822, PV962823.

Kết quả BLAST các trình tự *trnL-trnF* của các mẫu Quế lên Ngân hàng Gen Quốc tế cho thấy: các mẫu Quế nghiên cứu có sự tương đồng 100% với 4 mã gen của 4 loài thuộc chi *Cinnamomum* là *C. aromaticum* (mã số OL943971), *C. pauciflorum* (NC_065105), *C. camphora* (MT621650) và *C. burmannii* (PP438569); tương đồng 99,75% với loài *C. verum* (mã số MT621595) và *C. parthenoxylon* (MT621587); và tương đồng 84,95% với loài *Michelia champaca*. Tại vị trí số 90, ở các mẫu Quế nghiên cứu là nucleotide loại C còn ở loài *C. verum* (MT621595) là nucleotide loại A.

Tương tự với điểm khác biệt ở vị trí 302 nucleotide loại T ở các mẫu Quế nghiên cứu và là nucleotide loại G ở loài *C. parthenoxylon* (MT621587) (Hình 3). Như vậy, với mức độ tương đồng cao giữa mẫu nghiên cứu với các loài thuộc chi *Cinnamomum* về trình tự vùng giữa hai gen *trnL* và *trnF* cho thấy vùng giữa hai gen *trnL* và *trnF* có hiệu quả giám định loài đối với các loài thuộc chi *Cinnamomum* không cao. Nguyễn Thu Hiền và cộng sự (2025) [9] đã tìm thấy sự tương đồng di truyền giữa 18 mẫu Quế thuộc các tỉnh vùng Đông Bắc, Bắc Trung Bộ và Duyên Hải miền Trung là 98,91-100% và dựa vào kết quả phân tích so sánh trình tự vùng *trnL-trnF* với dữ liệu trên GenBank đã khẳng định 18 mẫu Quế đều thuộc loài Quế *C. cassia*. Kojoma và cộng sự (2002) [10] tìm thấy khác biệt duy nhất tại vị trí nucleotide thứ 100 trên vùng trình tự *trnL - trnF* ở 4 loài Quế *C. zeylanicum*, *C. burmannii*, *C. sieboldii* và *C. cassia*.



Hình 3. So sánh trình tự vùng *trnL-trnF* của 3 mẫu đại diện (BH26, QQL34 và VY56) với các loài trong chi *Cinnamomum* trên GenBank

3.2.3. Trình tự nucleotide vùng ITS

Sau khi xử lý trình tự, vùng ITS có chất lượng tốt với kích thước 376 bp của các 9 mẫu Quế nghiên cứu đã được xác định và được dùng để so sánh mức độ tương đồng giữa các mẫu của từng tỉnh và giữa các tỉnh với nhau. Kết quả so sánh cho thấy: trình tự nucleotide vùng ITS có sự khác biệt nhỏ giữa các mẫu ở tỉnh Quảng Ninh (mức độ tương đồng 99,73%), các mẫu thuộc hai tỉnh còn lại tương đồng 100%. Các trình tự này được đăng ký lên GenBank với mã số: PV819493, PV819494.

Kết quả so sánh các trình tự vùng ITS của các

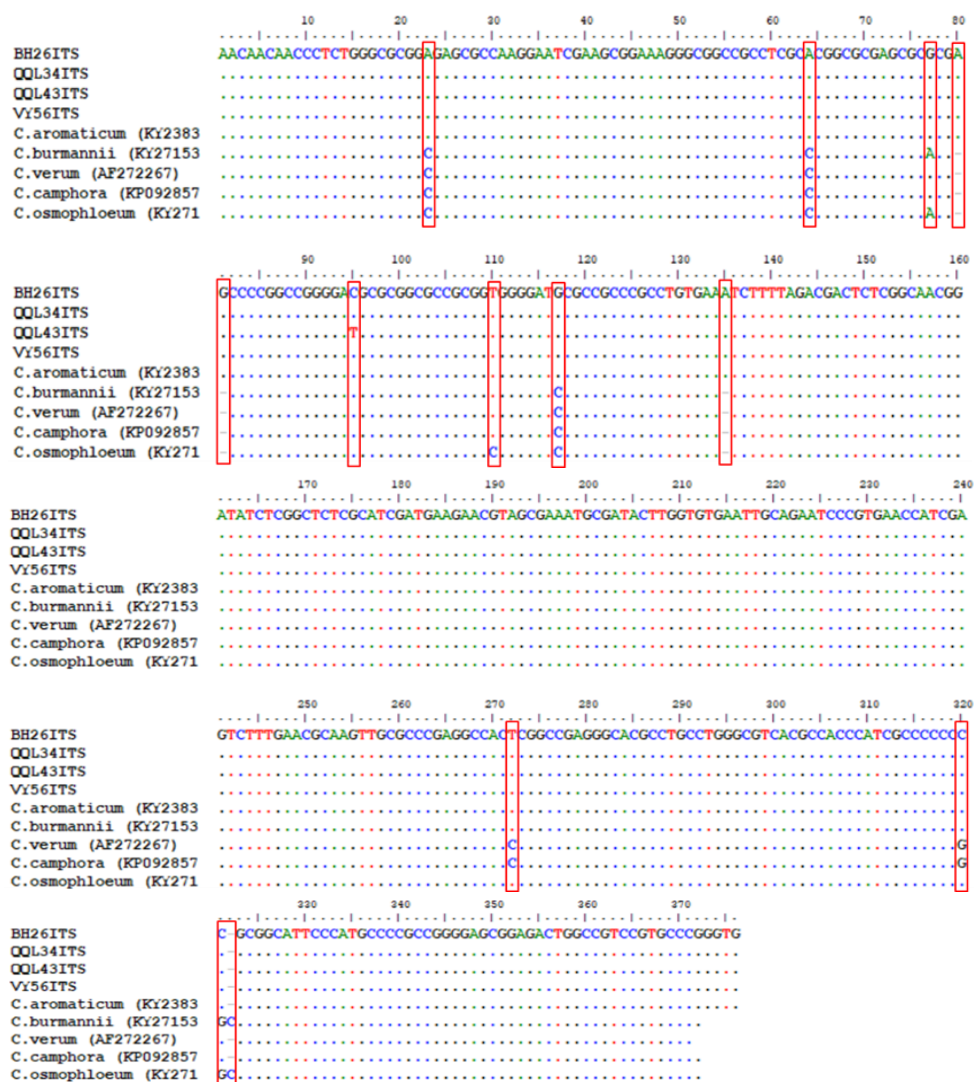
mẫu Quế bằng công cụ BLAST trên GenBank cho thấy: các mẫu Quế ở Lào Cai và 2 mẫu (QQL34 và QQL35) ở Quảng Ninh có sự tương đồng 100% với loài *C. aromaticum* (KY238310), 97,84% với loài *C. camphora* (KP092857) và *C. verum* (AF272267), 97,85% với loài *C. burmannii* (KY271539), 97,58% với loài *C. osmophloem* (KY271528) và 95,95% với loài *Machilus mikweiensis* (AY934897). Mẫu QQL43 mức độ tương đồng 99,73% loài *C. aromaticum* và 97,31-97,58% với các loài trong chi *Cinnamomum* khi được so sánh (Bảng 4 và Hình 4).

Bảng 4. Các vị trí nucleotide sai khác trong trình tự vùng ITS của 9 mẫu Quế tại 2 tỉnh với 5 mã gen của 5 loài chi *Cinnamomum* trên Ngân hàng Gen Quốc tế

Tên loài	Mã số trên NCBI	Vị trí nucleotide sai khác												
		23	64	77	80	81	95	110	117	135	272	320	321	322
Mẫu QQL43	-	A	A	G	A	G	T	T	G	A	T	C	C	-
8 mẫu Quế (còn lại)	-	A	A	G	A	G	C	T	G	A	T	C	C	-
	KY238310	A	A	G	A	G	C	T	G	A	T	C	C	-
<i>C. burmanni</i>	KY271539	C	C	A	-	-	C	T	C	-	T	C	G	C
<i>C. verum</i>	AF272267	C	C	G	-	-	C	T	C	-	C	G	C	-
<i>C. camphora</i>	KP092857	C	C	G	-	-	C	T	C	-	C	G	C	-
<i>C. osmophloeum</i>	KY271528	C	C	A	-	-	C	C	C	-	T	C	G	C

So sánh trình tự vùng ITS của các mẫu Quế nghiên cứu với 5 mã gen của 5 loài thuộc chi *Cinnamomum* trên GenBank cho thấy có 13 vị

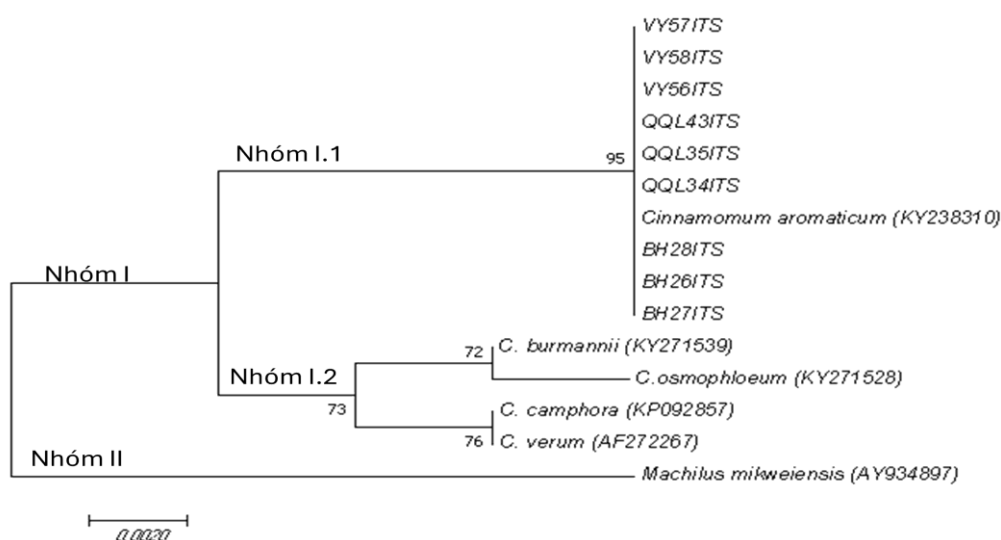
trí sai khác (Bảng 04), trong đó, chỉ có 1 điểm sai khác giữa mẫu QQL43 với loài *C. aromaticum* (KY238310).



Hình 4. So sánh trình tự vùng ITS của các mẫu BH26, QQL34, QQL43 và VY56 với các loài trong chi *Cinnamomum* trên GenBank

Trình tự vùng *ITS* của 9 mẫu Quế nghiên cứu được sử dụng xây dựng cây quan hệ di truyền với các loài tương ứng trên GenBank. Cây quan hệ gi truyền được chia thành 2 nhóm chính (Hình 5). Nhóm I gồm 9 mẫu Quế nghiên cứu và 5 loài của chi *Cinnamomum*. Các mẫu Quế nghiên cứu có sự khác biệt rất thấp về trình tự nucleotide và có quan hệ rất gần với loài *C. aromaticum* – chúng tách thành một nhánh riêng (nhóm I.1); 4 loài còn lại của chi *Cinnamomum* tách thành nhánh khác (nhóm I.2) trong đó hai loài *C. verum* và *C. camphora* có chút khác biệt với hai loài *C. burmannii*, *C.*

osmophloeum. *Machilus mikweiensis* là một loài cùng họ Lauraceae với Quế được sử dụng như một loài bên ngoài (outgroup) đứng một nhóm riêng và có khoảng cách di truyền khá cao với các loài trên GenBank và các mẫu nghiên cứu. Kết quả phân tích trình tự *ITS* của 9 mẫu Quế thuộc 2 tỉnh Quảng Ninh và Lào Cai cho thấy các mẫu này thuộc loài *C. aromaticum* và vùng trình tự *ITS* này có hiệu quả giám định loài cao đối với loài Quế *C. aromaticum* phù hợp với kết quả nghiên cứu của [12]. Vùng trình tự *ITS2* cũng được khẳng định có thể sử dụng làm mã vạch cho loài *C. osmophloeum* [13].



Hình 5. Cây quan hệ di truyền của các mẫu Quế tại 2 tỉnh với các loài tương đồng trên GenBank dựa trên trình tự nucleotide vùng *ITS*

4. KẾT LUẬN

Đã xác định được 3 đoạn trình tự DNA mã vạch cho loài Quế *C. aromaticum* là *rbcl* có kích thước 567bp (mã gen: PV962818, PV962819, PV962820), vùng giữa hai gen *trnL-trnF* có kích thước 422bp (mã gen: PV962821, PV962822, PV962823) và vùng *ITS* có kích thước 376 bp (mã gen: PV819493, PV819494). Kết quả so sánh trình tự cho thấy cả ba vùng đều có độ tương đồng cao với *C. aromaticum* trên cơ sở dữ liệu quốc tế, trong đó vùng *ITS* thể hiện khả năng phân biệt loài cao nhất, có thể dùng làm chỉ thị di truyền chủ đạo trong giám định loài Quế.

Các mẫu Quế thu thập tại Quảng Ninh và Lào Cai đều được xác định thuộc loài *C. aromaticum* Nees, khẳng định tính ổn định di truyền giữa các quần thể vùng trồng. Việc ứng dụng DNA

mã vạch, đặc biệt vùng *ITS*, góp phần nâng cao độ chính xác trong định danh loài, truy xuất nguồn gốc, và bảo tồn, phát triển nguồn gen Quế, một loài cây có giá trị kinh tế và dược liệu cao của Việt Nam.

Trong các nghiên cứu tiếp theo, cần mở rộng phạm vi mẫu và kết hợp thêm các vùng gen khác (*matK*, *trnH-psbA*) nhằm xây dựng cơ sở dữ liệu DNA mã vạch hoàn chỉnh phục vụ công tác nhận dạng và chọn giống Quế trên toàn quốc.

Lời cảm ơn

Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn Công ty Cổ phần TechVina Holding đã cho phép sử dụng dữ liệu trong nhiệm vụ tư vấn “Đề án định hướng gây trồng và phát triển bền vững giống cây Quế đang trồng tại Quảng Ninh”. Bài báo được xây dựng trên cơ sở một phần kết quả của

nhệm vụ tư vấn do nhóm chuyên gia Trường Đại học Lâm nghiệp thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Shilin Chen, Hui Yao, Jianping Han, Chang Liu, Jingyuan Song, Linchun Shi, Yingjie Zhu, Xinye Ma, Ting Gao & Xiaohui Pang (2010). Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PloS one*. 5(1): e8613.

[2]. Hollingsworth M.L. & Clark A. (2009). Selecting barcoding loci for plants: evaluation of seven cDNA date loci with species-level sampling in three divergent groups of land plants. *Molecular Ecology Resources*. 9(2): 439-457.

[3]. Schoch C.L. & Seifert K.A. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 6241-6246.

[4]. J. Yu, Xue J.H. & Zhou S.L. (2011). New universal matK primers for DNA barcoding angiosperms. *Journal of Systematics DNA Evolution*. 49(3): 176-181.

[5]. Tạ Minh Quang (2023). Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học và kỹ thuật trồng thâm canh quế (*Cinnamomum cassia* bl.) tại ba vùng sinh thái chính của Việt Nam. Trường Đại học Lâm nghiệp.

[6]. Hà Bích Hồng, Nguyễn Thế Hưởng, Nguyễn Thị Lan Anh, Phùng Văn Phê, Hoàng Văn Sâm & Nguyễn Xuân Vinh (2021). Giám định và đánh giá đa dạng di truyền loài Xá xị (*Cinnamomum parthenoxylon* (Jack) Meisn) tại vườn Quốc gia Tam Đảo bằng chỉ thị ADN mã vạch. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*. 6: 13-24.

[7]. Vu Dinh Duy, Pham Mai Phuong, Dang Ngoc Huyen, Le Xuan Dac, Dang Hung Cuong, Nguyen Hung Cuong & Nguyen Dang Hoi (2024). Identification and Genetic Diversity Analysis of *Cinnamomum parthenoxylon* (Jack) Meisn Species in Song Hinh Protection Forest, Vietnam Based on Three Chloroplast Gene Regions. *Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ)*. 8(4): 415-421.

[8]. Vu Dinh Duy, Pham Mai Phuong, Bui Thi Tuyet Xuan, Vu Dinh Giap, Nguyen Quynh Trang & Hoang Thi Tham (2025). Molecular based identification and phylogenetic relationship by using ITS-rDNA and YCF1 gene of *Cinnamomum parthenoxylon* (Jack) Meisn. in northern Vietnam. *Vietnam Journal of Biotechnology*. 23(3): 369-390.

[9]. Nguyễn Thu Hiền, Nguyễn Thị Nguyệt, Bùi Thị Kim Oanh, Bùi Thị Lan Phương, Nguyễn Thị Kiều Anh, Trần Văn Ôn, Nguyễn Trường Khoa & Trần Duy Cường. (2025). Đánh giá đa dạng di truyền và nhận dạng nguồn gene cây Quế (*Cinnamomum*) bằng giải trình tự nucleotide vùng trnL/trnF. *Tạp chí Nông thôn và Phát triển* (Online). Truy cập từ: <https://nongthonvaphattrien.vn/danh-gia-da-dang-di-truyen-va-nhan-dang-nguon-gene-cay-que->

[cinamomum-bang-giai-trinh-tu-nucleotide-vung-trnltrnf-a27152.html](https://nongthonvaphattrien.vn/danh-gia-da-dang-di-truyen-va-nhan-dang-nguon-gene-cay-que-cinamomum-bang-giai-trinh-tu-nucleotide-vung-trnltrnf-a27152.html)

[10]. Mareshige Kojoma, Kogo Kurihara, Kazuya Yamada, Setsuko Sekita, Motoyoshi Satake & Osamu Iida (2002). Genetic identification of cinnamon (*Cinnamomum* spp.) based on the trnL-trnF chloroplast DNA. *Planta Medica*. 68(01): 94-96.

[11]. CHWMR Bhagya Chandrasekara, D Nathasha U Naranpanawa, B Supun Bandusekara, DKNR Pushpakumara, D Siril A Wijesundera & Pradeepa CG Bandaranayake (2021). Universal barcoding regions, rbc L, mat K and trn H-psb A do not discriminate *Cinnamomum* species in Sri Lanka. *PLoS One*. 16(2): e0245592.

[12]. Eui Jeong Doh, Jung-Hoon Kim, Seung Eun Oh & Guem-san Lee (2017). Identification and monitoring of Korean medicines derived from *Cinnamomum* spp. by using ITS and DNA marker. *Genes & Genomics*. 39: 101-109.

[13]. S-C Lee, S-J Chiou, J-H Yen, T-Y Lin, K-T Hsieh & J-C Yang (2010). DNA barcoding *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh. based on the partial non-coding ITS2 region of ribosomal genes. *Journal of Food and Drug Analysis*. 18(2): 7.

[14]. Jens G Rohwer, Dimitrij Trofimov, Eike Mayland-Quellhorst & Dirk Albach (2019). Incongruence of morphological determinations and DNA barcode sequences: a case study in *Cinnamomum* (Lauraceae). *Willdenowia*. 49(3): 383-400.

[15]. VP Swetha, VA Parvathy, TE Sheeja & B Sasikumar (2014). DNA barcoding for discriminating the economically important *Cinnamomum verum* from its adulterants. *Food Biotechnology*. 28(3): 183-194.

[16]. Kress WJ. & Erickson DL. (2007). A Two-Locus Global DNA Barcode for Land Plants: The Coding rbcL Gene Complements the Non-Coding trnH-psbA Spacer Region. *PLoS ONE* 2(6): e508.

[17]. Pierre Taberlet, Ludovic Gielly, Guy Pautou & Jean Bouvet (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant molecular biology*. 17: 1105-1109.

[18]. Hall TA. (1999). BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41: 95-98.

[19]. Sudhir Kumar, Glen Stecher & Koichiro Tamura (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*. 33(7): 1870-1874.

[20]. Pierre Taberlet, Eric Coissac, François Pompanon, Ludovic Gielly, Christian Miquel, Alice Valentini, Thierry Vermet, Gerard Corthier, Christian Brochmann & Eske Willerslev (2007). Power and limitations of the chloroplast trn L (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic acids research*. 35(3): e14.