

XÁC ĐỊNH DNA MÃ VẠCH GIỐNG BẠCH ĐÀN LAI CU98 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) và CU82 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) PHỤC VỤ GIÁM ĐỊNH GIỐNG CÂY

Bùi Thị Mai Hương¹, Hà Văn Huân¹, Trần Phương Thảo¹, Mai Hải Châu², Nguyễn Văn Việt¹

¹Trường Đại học Lâm nghiệp

²Trường Đại học Lâm nghiệp – Phân hiệu Đồng Nai

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.2023.3.020-031>

TÓM TẮT

Giống bạch đàn lai CU98 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) và CU82 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) là giống cây có giá trị kinh tế cao đã được công nhận giống theo quyết định 3893/QĐ-BNN-TCLN ngày 20/9/2016. Tuy nhiên, đối với những người nông dân việc xác định giống chỉ bằng hình thái là hết sức khó khăn. Do đó, mục đích của nghiên cứu này là sử dụng phương pháp mới DNA mã vạch để xác định các giống Bạch đàn lai CU98, CU82. DNA tổng số được tách chiết từ các mẫu lá của CU98, CU82 và được sử dụng để nhân bản các đoạn gen *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *ITS* và *ITS2* bằng kỹ thuật PCR. Các kết quả chỉ ra rằng các băng của sản phẩm PCR đúng với kích thước dự kiến như 743 bp, 440 bp, 624 bp, 565 bp, 214 bp cho *rbcL*, *matK*, *trnH-psbA*, *ITS*, và *ITS2*, tương ứng. Các trình tự này sau đó được so sánh với các trình tự trên Ngân hàng gen Quốc tế (NCBI). Kết quả đã chỉ ra rằng giống Bạch đàn lai CU98 và CU82 có tỷ lệ tương đồng 100% của trình tự đoạn gen *rbcL* và *matK* và *ITS2*, tương đồng 99,81% của đoạn gen *ITS*, 98,85% của đoạn gen *trnH-psbA*. Kết quả cũng cho thấy sử dụng chỉ thị *trnH-psbA* và *ITS* làm mã vạch DNA để giám định giống Bạch đàn lai CU98 và CU82 ở Việt Nam là tốt nhất. Kết quả nghiên cứu là cơ sở quan trọng cho việc xác định giống Bạch đàn lai CU98 và CU82 đang trồng ở nước ta phục vụ các định hướng phát triển trong tương lai.

Từ khóa: Bạch đàn lai CU82, Bạch đàn lai CU98, giám định loài, mã vạch DNA, PCR.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bạch đàn thuộc chi thực vật có hoa *Eucalyptus* trong họ Sim (Myrtaceae) [1]. Bạch đàn được trồng nhiều ở Australia, châu Mỹ, châu Âu, châu Phi... và cả Việt Nam [1, 2] bởi sinh trưởng nhanh và mang lại giá trị kinh tế cao như làm gỗ trong xây dựng, làm nguyên liệu chế biến bột giấy và ván ép trong công nghiệp, tinh dầu bạch đàn điều trị đau đầu, nhức xương trong y học... Bạch đàn lai CU98 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) và CU82 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) được tạo ra từ hai loài Bạch đàn *Eucalyptus camaldulensis* và *Eucalyptus urophylla* đã được công nhận là giống quốc gia (3893/QĐ-BNN-TCLN, ngày 20 tháng 09 năm 2016) với mã số BDL.TVT.16.03 và là giống cây có giá trị kinh tế cao trong trồng rừng sản xuất. Trên thị trường hiện nay có rất nhiều giống bạch đàn và bạch đàn lai khác nhau mà chỉ bằng phân biệt về hình thái rất khó để phân loại. Vì vậy, việc nghiên cứu xác định các đoạn mã vạch DNA cho giống Bạch đàn lai CU98 và CU82 phục vụ giám định giống là cần thiết và cấp bách cho việc định danh và phát triển vùng trồng cho giống lai CU98 và CU82 ở Việt Nam.

Xác định các đoạn DNA mã vạch là một

phương pháp phân loại phân tử trong đó sử dụng một đoạn DNA chuẩn, ngắn nằm trong hệ gen nhân hoặc hệ gen lục lạp hoặc hệ gen ty thể của sinh vật đang nghiên cứu để phục vụ giám định loài, mang lại hiệu quả cao trong thời gian ngắn, góp phần định danh và bảo tồn các loài thực vật trên thế giới [7]. Phương pháp phân loại bằng cách xác định các đoạn DNA mã vạch là một công cụ hữu hiệu hỗ trợ cho phương pháp phân loại dựa vào hình thái [4]. Một số gen lục lạp như *matK*, *rbcL*, *rpoB*, *ycf...*; gen vùng nhân như *ITS*, *ITS2*, *ITS1...*; vùng xen *trnH-psbA*, *psbK-psbI*, *trnL-psbF...* được sử dụng kết hợp để giám định các loài thực vật [5, 9-12]. Trong nghiên cứu này đã lựa chọn năm đoạn trình tự để sử dụng làm mã vạch DNA là: *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *ITS* và *ITS2*. Các đoạn trình tự này đều có tính đặc trưng cao cho loài, có thể đem lại kết quả khả quan nhằm phân loại, giám định và xác định mối quan hệ di truyền, từ đó góp phần nâng cao hiệu quả bảo tồn và phát triển giống Bạch đàn lai CU98 và CU82 ở Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu, hóa chất

Đối tượng nghiên cứu: cây Bạch đàn lai CU98 và CU82 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) được thu thập tại Tân

Mai - Đồng Mai - Quảng Yên - Quảng Ninh.

Vật liệu nghiên cứu: 06 mẫu lá bánh tẻ được lấy từ 03 cây Bạch đàn lai CU98 và 03 cây Bạch đàn lai CU82 khác nhau. Mẫu lá được bảo quản trong túi nilon có chứa hạt silicagel hút ẩm, sau đó được bảo quản ở -20°C để tách chiết DNA phục vụ nghiên cứu. Kí hiệu các mẫu Bạch đàn lai CU98 được đánh số lần lượt là CU98.1; CU98.2; CU98.3; các mẫu Bạch đàn lai CU82 được đánh số lần lượt là CU82.1; CU82.2; CU82.3.

Trình tự các cặp mồi *rbcL* (rP1F: TGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC; rP1R: GTAAAATCAAGTCCACCTCG) với nhiệt độ gắn mồi 52°C, kích thước đoạn gen dự kiến khoảng 750 bp); mồi *trnH-psbA* (trnP1F: CGCGCATGGTGGATTACAATCC; psbPR1: GTTATGCATGACGTAATGCTC) với nhiệt độ gắn mồi 50°C, kích thước đoạn gen dự kiến khoảng 700 bp); mồi *matK* (mP3F: TTCCATGGCCTTCTTTGCATTTGTTGC; mP3R: TCCATGGTTTTTTGAGGATCCGCTGT), kích thước đoạn gen dự kiến khoảng 600 bp); mồi *ITS* (IsP2F: ACGAATTCATGGTCCGGTGAAGTGTTG; IsP2R: TAGAATTCCCCGGTTCGCTCGCCGTTA), kích thước đoạn gen dự kiến khoảng 600 bp); mồi *ITS2* (IsP1F: ATGCGATACTTGGTGTGAAT; IsP1R: TCCTCCGCTTATTGATATGC) với nhiệt độ gắn mồi 48°C, kích thước đoạn gen dự kiến khoảng 300 bp. Các cặp mồi sử dụng cho các đoạn gen cần nhân được cung cấp từ Hà Văn Huân [3].

Hóa chất: Kit tách chiết DNA tổng số (Plant DNA Isolation Kit) của hãng Norgen, Canada; hóa chất cho phản ứng PCR nhân bản các đoạn mã vạch DNA: Master mix của hãng Intron Biotechnology, Hàn Quốc; Kit tinh sạch sản phẩm PCR (PCR Purification Kit) của Norgen, Canada; hóa chất cho điện di trên gel Agarose: Agarose của Đức, DNA marker, Redsafe của Hàn Quốc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

DNA tổng số từ các mẫu lá của cây Bạch đàn lai CU98 và CU82 được tách bằng kit (Plant DNA Isolation Kit) của Đức. Các mẫu DNA tổng số này được dùng để nhân bản các đoạn

gen *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *ITS* và *ITS2* bằng kỹ thuật PCR trên máy PCR 9700. Mỗi phản ứng PCR được thực hiện trong tổng thể tích 20 µl, bao gồm: H₂O deion (7 µl), 2x PCR Master mix Solution (10 µl), 10 pmol/µl mồi xuôi (1,0 µl), 10 pmol/µl mồi ngược (1,0 µl) và 50 ng/µl DNA khuôn (1 µl). Chu kỳ nhiệt của phản ứng PCR: 95°C trong 5 phút; (95°C: 30 giây, 48 - 52°C: 30 giây, 72°C: 1 phút) lặp lại 40 chu kỳ; 72°C trong 5 phút; 4°C. Nhiệt độ gắn mồi các phản ứng phụ thuộc vào cặp mồi sử dụng. Mỗi phản ứng PCR lặp lại 3 lần trên mỗi mẫu thí nghiệm. Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng Kit (PCR Purification Kit) của Canada. Sau khi tinh sạch sản phẩm PCR được đọc trình tự tại Công ty 1st Base (Malaysia).

Trình tự nucleotide của đoạn DNA được xử lý, phân tích bằng các phần mềm chuyên dụng như Bioedit, NCBI, MegaX... Trình tự nucleotide của các đoạn gen *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *ITS* và *ITS2* được so sánh trên Ngân hàng gen Quốc tế (NCBI) để tìm ra các loài tương đồng. Xây dựng cây phát sinh chủng loại của từng đoạn gen bằng phương pháp Maximum Likelihood (ML), tính khoảng cách di truyền bằng phần mềm megaX.

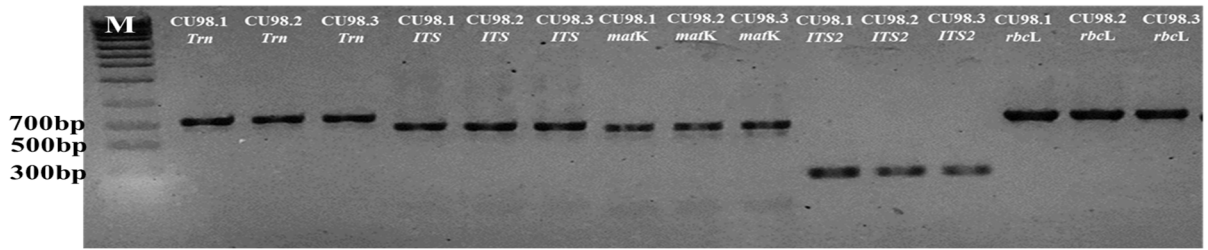
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả tách chiết DNA tổng số từ lá cây Bạch đàn lai CU98 và CU82.

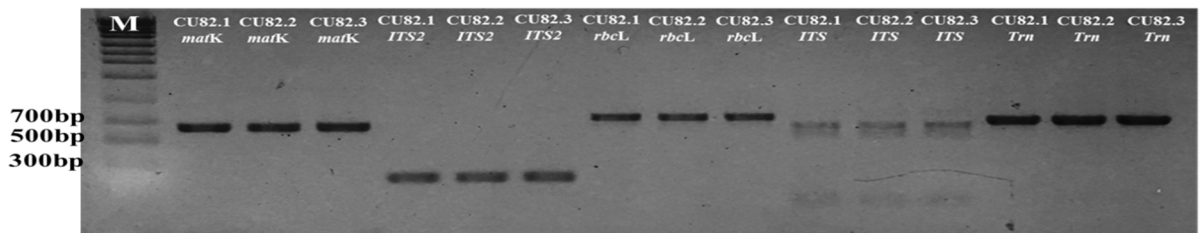
DNA tổng số sau khi được tách chiết từ các mẫu lá cây Bạch đàn lai CU98 và CU82 được pha loãng để xác định nồng độ và độ tinh sạch. Kết quả xác định nồng độ và độ tinh sạch của dung dịch DNA tổng số cho thấy, dung dịch DNA tổng số có nồng độ dao động từ 200 - 300 ng/µl; Tỷ số OD₂₆₀ nm/OD₂₈₀ nm trong khoảng từ 1,7 - 2,05, kết quả này khẳng định đã tách chiết được DNA với nồng độ cao và đảm bảo độ tinh sạch. Sản phẩm tách chiết DNA tổng số đảm bảo làm khuôn cho nhân bản các đoạn DNA quan tâm bằng kỹ thuật PCR.

3.2. Kết quả nhân bản các đoạn DNA mã vạch bằng kỹ thuật PCR

DNA tổng số tách chiết từ các mẫu lá của giống Bạch đàn lai CU98 và CU82 được sử dụng làm khuôn để nhân bản các đoạn gen *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *ITS* và *ITS2* bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc hiệu. Kết quả được minh họa trong Hình 1 và Hình 2.



Hình 1. Ảnh điện di sản phẩm PCR của 3 mẫu CU98 với các môi của các đoạn gen *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *ITS* và *ITS2*



Hình 2. Ảnh điện di sản phẩm PCR của 3 mẫu CU82 với các môi của các đoạn gen *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *ITS* và *ITS2*

Kết quả PCR sau khi kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1% (Hình 1, 2) cho thấy xuất hiện băng DNA có kích thước tương ứng với kích thước của các đoạn mã vạch DNA dự kiến. Sản phẩm PCR các đoạn mã vạch DNA ở Hình 1 và Hình 2 cũng cho thấy không có băng DNA phụ xuất hiện, như vậy sản phẩm PCR rất đặc hiệu, sau khi tinh sạch có thể sử dụng trực tiếp các sản phẩm này để xác định trình tự nucleotide.

3.3. Kết quả xác định và phân tích trình tự nucleotide của các đoạn DNA mã vạch

3.3.1. Trình tự đoạn gen *rbcL*

Kết quả xác định trình tự nucleotide đoạn gen *rbcL* cho thấy cả 3 mẫu CU98.1; CU98.2; CU98.3 có kích thước 743bp và 3 mẫu CU82.1; CU82.2; CU82.3 có kích thước 743bp được thể hiện như Hình 3 và Hình 4.

ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGCAAGTGTGGATTCAAAGCTGGTGTTAAAGATTATAAACTGACTTATTAT
ACTCCTGACTATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCTCTCTGAG
GAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCT
TGATCGTTATAAAGGAAGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTT
ACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAATATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGC
CCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTTCTATAACGAAAACCTTCCAAGGCCCGCCTCATGGCAT
CCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAACAAATATGGGCGTCCCCTATTGGGATGTAATAAACCAGAAATTGGGGTTAT
CCGCTAAGAAGACTACGGTAGAGCAGTTTATGAATGTCTTCGTTGGTGGACTTGATTTTACGAAAGATGATGAGAACGTG
AACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGACCGTTTCTTATTTTGTGCCGAAGCCATTTTAAATCACAGGCTGAAACA
GGTGAAATCAAAGGCCATTACTTGAATGCTACTGCAGGTACATGCGA

Hình 3. Trình tự DNA trên đoạn gen *rbcL* của giống Bạch đàn lai CU98

ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGCAAGTGTGGATTCAAAGCTGGTGTTAAAGATTATAAACTGACTTATTAT
ACTCCTGACTATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCTCTCTGAG
GAAGCAGGGGCTGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCT
TGATCGTTATAAAGGAAGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGAGAAGAAAATCAATATATATGTTATGTAGCTT
ACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAATATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGC
CCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTTCTATAACGAAAACCTTCCAAGGCCCGCCTCATGGCAT
CCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAACAAATATGGGCGTCCCCTATTGGGATGTAATAAACCAGAAATTGGGGTTAT
CCGCTAAGAAGACTACGGTAGAGCAGTTTATGAATGTCTTCGTTGGTGGACTTGATTTTACGAAAGATGATGAGAACGTG
AACTCACAACCATTTATGCGTTGGAGAGACCGTTTCTTATTTTGTGCCGAAGCCATTTTAAATCACAGGCTGAAACA
GGTGAAATCAAAGGCCATTACTTGAATGCTACTGCAGGTACATGCGA

Hình 4. Trình tự DNA trên đoạn gen *rbcL* của giống Bạch đàn lai CU82

Các trình tự này sau đó được so sánh với các trình tự trên Ngân hàng gen Quốc tế (NCBI) để tìm ra sự khác biệt ở cấp độ loài. Một số loài có

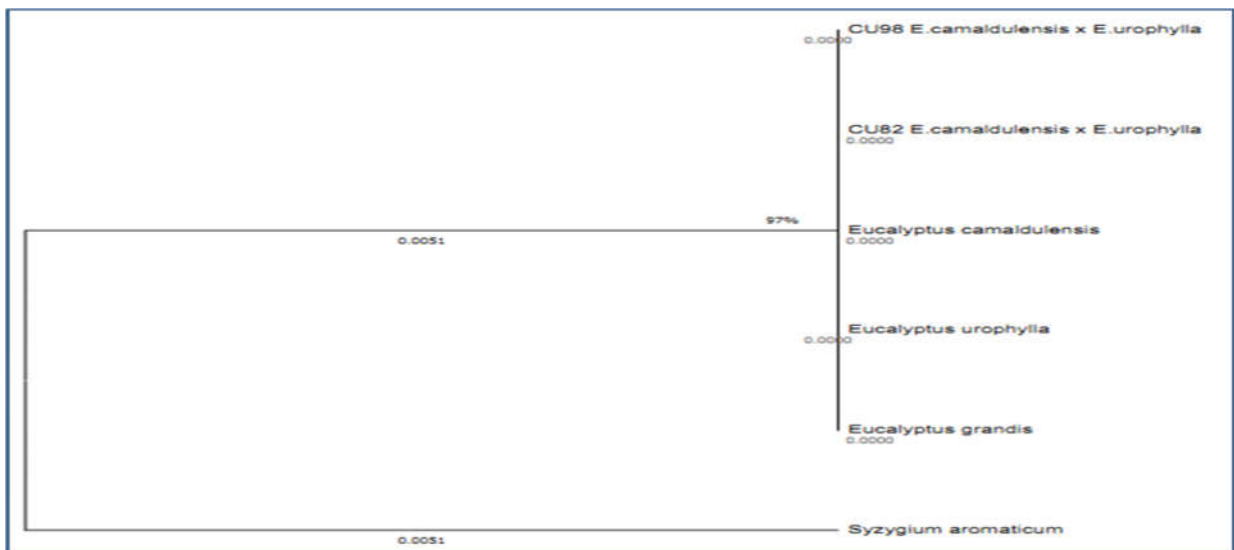
trình tự gen tương đồng dùng so sánh với giống Bạch đàn lai CU98 được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Một số loài có trình tự đoạn *rbcL* tương đồng với giống Bạch đàn lai CU98 trên NCBI

TT	Tên loài	Mã số	Hệ số tương đồng (%)
1	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	KC180791.1	100
2	<i>Eucalyptus urophylla</i>	KJ440000.1	100
3	<i>Eucalyptus grandis</i>	MG925369.1	100
4	CU82_ <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>	CU82	100
5	<i>Syzygium aromaticum</i>	NC047249.1	98,98

Sau đó xây dựng cây phát sinh chủng loại tìm ra mối quan hệ của giống Bạch đàn lai, nghiên

cứu với các loài khác ở Bảng 1 và khoảng cách di truyền giữa chúng được thể hiện ở Hình 5.



Hình 5. Cây quan hệ di truyền dựa trên đoạn gen *rbcL* của giống Bạch đàn lai CU98, CU82 với một số loài trên Ngân hàng gen Quốc tế

Bảng 2. Khoảng cách di truyền của giống Bạch đàn lai với các loài khác của đoạn *rbcL*

	<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>E. urophylla</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. camaldulensis</i>	CU98 <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>	CU82 <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>
<i>Syzygium aromaticum</i>						
<i>E. urophylla</i>	0,0103					
<i>E. grandis</i>	0,0103	0,0000				
<i>E. camaldulensis</i>	0,0103	0,0000	0,0000			
CU98_ <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>	0,0103	0,0000	0,0000	0,0000		
CU82_ <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>	0,0103	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

Khoảng cách di truyền (p-distance) của giống Bạch đàn lai với các loài khác như Bảng 2.

Từ cây phân loại dựa trên số liệu trình tự đoạn gen *rbcL* kết hợp với khoảng cách di truyền và hệ số tương đồng của giống Bạch đàn lai CU98 và CU82 với các loài khác ta thấy: giống Bạch đàn lai CU98 có trình tự gen giống

100% với đoạn gen của giống Bạch đàn lai CU82 và giống với các loài *E. urophylla*, *E. grandis*, *E. camaldulensis* với hệ số tương đồng 100% (khoảng cách di truyền là 0,0000) và có quan hệ xa hơn với loài *Syzygium aromaticum* với hệ số tương đồng 98,98% (khoảng cách di truyền là 0,0103).

3.3.2. Trình tự đoạn gen *matK*

Kết quả xác định trình tự nucleotide đoạn gen *matK* cho thấy cả 3 mẫu CU98.1; CU98.2;

CU98.3 có kích thước 440 bp và 3 mẫu CU82.1; CU82.2; CU82.3 có kích thước 440 bp được thể hiện như Hình 6 và Hình 7.

TGGCTTCAAAAGATACGCCTCTTCTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTTAATTTATGGCAATATCATTTTTA
CGCCTGGTTTCAACCAGGAAGGATCGATATAAACCAATTATGCAAGTATTCTCTTTACTTTTTGGGCTATCGTTCAAG
CGTGCGACTAAATTCTTCAGTGGTACGAAGTCAAATGCTAGAAAATTCATTTCTAATAAATAATGCTATGAAGAAGT
TCGAGACAATAGTTCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGTCTAAAGCGAATTTTTGTGACACATTAGGGCATCCCA
TTAGTAAACCGACCCGGGCTGATTCATCAGATTCTGATATTATCGACCGTTTTTTGCGTATATCCAGAAATCTTTCTC
ATTATCACAGCGGATCCTCAAAAAAAAAAGAGTTTATATCGAGTAAAATATATA

Hình 6. Trình tự DNA trên đoạn gen *matK* của giống Bạch đàn lai CU98

TGGCTTCAAAAGATACGCCTCTTCTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTTAATTTATGGCAATATCATTTTTA
CGCCTGGTTTCAACCAGGAAGGATCGATATAAACCAATTATGCAAGTATTCTCTTTACTTTTTGGGCTATCGTTCAAG
CGTGCGACTAAATTCTTCAGTGGTACGAAGTCAAATGCTAGAAAATTCATTTCTAATAAATAATGCTATGAAGAAGT
TCGAGACAATAGTTCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGTCTAAAGCGAATTTTTGTGACACATTAGGGCATCCCA
TTAGTAAACCGACCCGGGCTGATTCATCAGATTCTGATATTATCGACCGTTTTTTGCGTATATCCAGAAATCTTTCTC
ATTATCACAGCGGATCCTCAAAAAAAAAAGAGTTTATATCGAGTAAAATATATA

Hình 7. Trình tự DNA trên đoạn gen *matK* của giống Bạch đàn lai CU82

Các trình tự này sau đó được so sánh với các trình tự trên Ngân hàng gen Quốc tế (NCBI) để tìm ra sự khác biệt ở cấp độ loài. Một số loài có

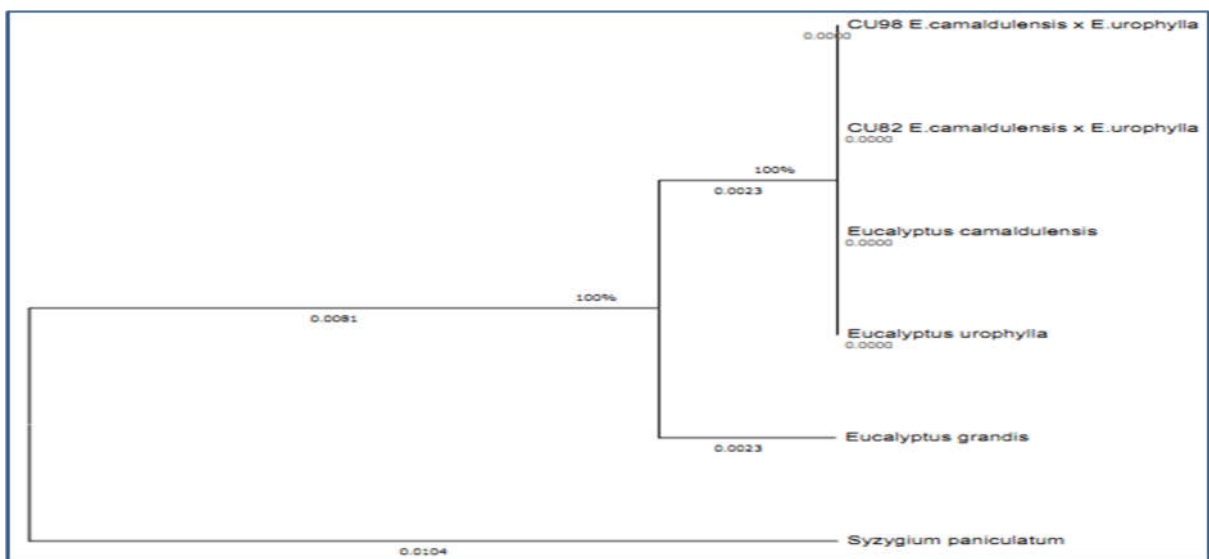
trình tự gen tương đồng dùng so sánh với giống Bạch đàn lai CU98 được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Một số loài có trình tự đoạn *matK* tương đồng với giống Bạch đàn lai CU98 trên NCBI

TT	Tên loài	Mã số	Hệ số tương đồng (%)
1	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	KC180791.1	100
2	<i>Eucalyptus urophylla</i>	KJ510901.1	100
3	CU82_ <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>	CU82	100
4	<i>Eucalyptus grandis</i>	MG925369.1	99,55
5	<i>Syzygium aromaticum</i>	KM065365.1	97,95

Sau đó xây dựng cây phát sinh chủng loại tìm ra mối quan hệ của giống Bạch đàn lai nghiên cứu

với các loài khác ở Bảng 3 và khoảng cách di truyền giữa chúng được thể hiện ở Hình 8.



Hình 8. Cây quan hệ di truyền dựa trên đoạn gen *matK* của giống Bạch đàn lai CU98, CU82 với một số loài trên Ngân hàng gen Quốc tế

Bảng 4. Khoảng cách di truyền của giống Bạch đàn lai CU98, CU82 với các loài khác của đoạn *matK*

	<i>Syzygium paniculatum</i>	<i>E. urophylla</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. camaldulensis</i>	CU98 <i>E.camaldulensis</i> <i>x E.urophylla</i>	CU82 <i>E.camaldulensis</i> <i>x E.urophylla</i>
<i>Syzygium paniculatum</i>						
<i>E. urophylla</i>	0,0207					
<i>E. grandis</i>	0,0207	0,0046				
<i>E. camaldulensis</i>	0,0207	0,0000	0,0046			
CU98_ <i>E.camaldulensis</i> <i>x E.urophylla</i>	0,0207	0,0000	0,0046	0,0000		
CU82_ <i>E.camaldulensis</i> <i>x E.urophylla</i>	0,0207	0,0000	0,0046	0,0000	0,0000	

Khoảng cách di truyền (p-distance) của giống Bạch đàn lai với các loài khác như Bảng 4.

Từ cây phân loại dựa trên số liệu trình tự đoạn gen *matK* kết hợp với khoảng cách di truyền và hệ số tương đồng của giống Bạch đàn lai CU98 và CU82 với các loài khác ta thấy: giống Bạch đàn lai CU98 có trình tự gen giống 100% với đoạn gen của CU82, *E. urophylla*, và *E. camaldulensis* với khoảng cách di truyền là 0,0000 và có quan hệ xa hơn với loài *E. grandis* với khoảng cách di truyền là 0,0046 (hệ số

tương đồng 99,55%). Tuy nhiên, giống Bạch đàn lai CU98 có quan hệ xa nhất với loài *Syzygium aromaticum* với khoảng cách di truyền là 0,0207 (hệ số tương đồng 97,95%).

3.3.3. Trình tự đoạn gen *trnH-psbA*

Kết quả xác định trình tự nucleotide đoạn gen *trnH-psbA* cho thấy cả 3 mẫu CU98.1; CU98.2; CU98.3 có kích thước 624 bp và 3 mẫu CU82.1; CU82.2; CU82.3 có kích thước 626 bp được thể hiện như Hình 9 và Hình 10.

```
CGCGCATGGTGGATTCACAATCCACTGCCTTGATCCACTTGGCTACATCCGCCCCACTACTACTAATATTTTTT
TTTTTTTTTAATCCATTTAAAAAATAAAAAAGAATATTCCATTTTTAATGAAATCAAAAAAAGAAATTCATAATGGA
AAATATTTTCATTGATTGTTAATTTTTAACATTTTTCTATACTTAATTATGAGTAACATTTTTCTATCTTAATTATGAGA
TAGAAGAAGCAGAAAATTATAACCTTTCCATTTTATTTGAAAAAATAACTAGAAAGATAATAATCTCACAAAGCCTT
ACAAAGGGTTGAAAAGAATGTATATAAATTCATATCTAAGGAAAAAAGTATGATAAGCAATCATAAAGCAATCCCT
AAGACTAGAATACTTTTTCTTATGTTGAAGTAAAGAAAAACTTATGTAAAGAAAAGAGCACTAAATAAAGGAACAA
TAACCAATTTCTTTTTCTATCAAGAGTGTGGTTATTGCTCCTTTCCAATCAAAAACCTCGGCTAGACTTATACTAAGAC
CAAAGTCTTATCCATTTGTAGATGGAACCTCGACAGCAGCTAGGTCTAGAGGGAAGTTATGAGCATTACGTTTCATGC
ATAAC
```

Hình 9. Trình tự DNA trên đoạn gen *trnH-psbA* của giống Bạch đàn lai CU98

```
CGCGCATGGTGGATTCACAATCCACTGCCTTGATCCACTTGGCTACATCCGCCCCACTACTACTAATATTTCTTTT
TTTTTTTTTAAATGGATTA AAAAAGAAAAAAGAATATTCCATTTTTAATGAAATAAAAAAAGAAATTCATAATG
GAAAATATTTTCATTGATTGTTAATTTTTAACATTTTTCTATACTTAATTATGAGTAACATTTTTCTATCTTAATTATGA
GATAGAAGAAGCAGAAAATTATAACCTTTCTATTTTATTTGATAAAAAAATAACTAGAAAGATAATAATCTCACAAAGC
CTTACAAAGGGTTGAAAAGAATGTATATAAATTCATATCTAAGGAAAAAAGTATGATAAGCAATCATAAAGCAATC
CCTAAGACTAGAATACTTTTTCTTATGTTGAAGTAAAGAAAAACTTATGTAAAGAAAAGAGCACTAAATAAAGGAAC
AATAACCAATTTCTTTTTCTATCAAGAGTGTGGTTATTGCTCCTTTCCAATCAAAAACCTCGGCTAGACTTATACTAA
GACCAAAGTCTTATCCATTTGTAGATGGAACCTCGACAGCAGCTAGGTCTAGAGGGAAGTTATGAGCATTACGTTCA
TGCATAAC
```

Hình 10. Trình tự DNA trên đoạn gen *trnH-psbA* của giống Bạch đàn lai CU82

Các trình tự này sau đó được so sánh với các trình tự trên ngân hàng gen quốc tế NCBI để tìm ra sự khác biệt ở cấp độ loài. Một số loài có trình

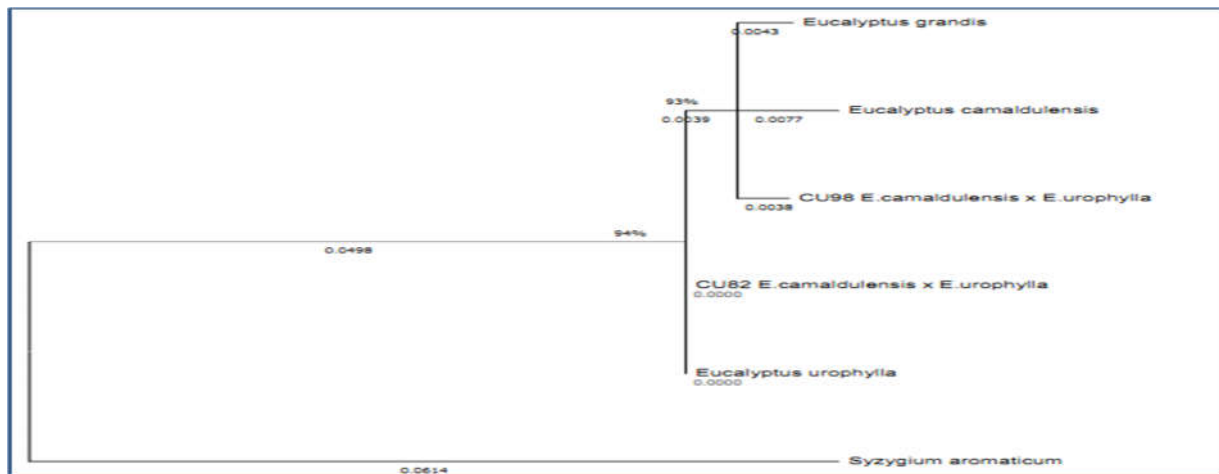
tự gen tương đồng dùng so sánh với giống Bạch đàn lai CU98 được trình bày ở Bảng 5.

Bảng 5. Một số loài có trình tự đoạn *trnH-psbA* tương đồng với giống Bạch đàn lai CU98 trên NCBI

TT	Tên loài	Mã số	Hệ số tương đồng (%)
1	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	KC180791.1	98,85
2	<i>Eucalyptus urophylla</i>	KJ510901.1	98,85
3	CU82_ <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>	CU82	98,85
4	<i>Eucalyptus grandis</i>	MG925369.1	98,22
5	<i>Syzygium aromaticum</i>	KM065365.1	83,99

Sau đó xây dựng cây phát sinh chủng loại tìm ra mối quan hệ của giống Bạch đàn lai nghiên

cứu với các loài khác ở Bảng 5 và khoảng cách di truyền giữa chúng được thể hiện ở Hình 11.



Hình 11. Cây quan hệ di truyền dựa trên đoạn gen *trnH-psbA* của cây Bạch đàn lai CU98, CU82 với một số loài trên ngân hàng gen quốc tế

Bảng 6. Khoảng cách di truyền của giống Bạch đàn lai CU98, CU82 với các loài khác của đoạn *trnH-psbA*

	<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>E. urophylla</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. camaldulensis</i>	CU98 <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>	CU82 <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>
<i>Syzygium aromaticum</i>						
<i>Eucalyptus urophylla</i>	0,1152					
<i>Eucalyptus grandis</i>	0,0962	0,0087				
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	0,1257	0,0117	0,0086			
CU98_ <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>	0,1207	0,0078	0,0086	0,0117		
CU82_ <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>	0,1152	0,0000	0,0087	0,0117	0,0078	

Khoảng cách di truyền (p-distance) của giống Bạch đàn lai với các loài khác như Bảng 6.

Từ cây phân loại dựa trên số liệu trình tự đoạn gen *trnH-psbA* kết hợp với hệ số tương đồng của giống Bạch đàn lai CU98, CU82 với các loài khác ta thấy: giống Bạch đàn lai CU98 có trình tự gen tương đồng 98,85% với giống CU82, với loài *E. urophylla* (khoảng cách di truyền 0,0078), tương đồng 98,22% với đoạn

gen của loài *E. grandis* và có quan hệ xa nhất với loài *Syzygium aromaticum* với hệ số tương đồng 83,99% (khoảng cách di truyền 0,1207).

3.3.4. Trình tự đoạn gen ITS

Kết quả xác định trình tự nucleotide đoạn gen ITS cho thấy cả 3 mẫu CU98.1; CU98.2; CU98.3 có kích thước 565 bp và 3 mẫu CU82.1; CU82.2; CU82.3 có kích thước 564 bp được thể hiện như Hình 12 và Hình 13.

GCCCGACGTCCCTCTCGACGCGGAGGATCGGGGCTCGGGCACCTCAGGGCGCTCGGCCTTTGTCCTCGGGCGGCGC AACGAACCCCGGCGCGGAATGCGCCAAGGAACTTTAACAAGAGTGCGATGCTCCCGCCGCCCCATACACGGTGCGC GCGCGGGATGCCATGCAATCTCATATTAGTCATAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAG AACGTAGCGAACTGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCC GAAACCTTTGGTTCGAGGGCACGTTTGCCTGGGTGTCACACATGGCGTTGCCCCCAATCCCCTCCGCCCTCTGAACGG GCGGAGCGGGACTCGGGCGCGTACGATGGCCTCCCGCGACGACCACGTCCCGGTTGGCCCAAATCGAGCGTCGGA GCGATCAGCACCACGACATTCCGGTGGTTGATTAGACCCCAATGATCAATGTGCGCGGTGCCGCTCATCGCACGCTCC CGAATCTGCTCCTACCAACGCGACCCCA

Hình 12. Trình tự DNA trên đoạn gen ITS của giống Bạch đàn lai CU98

CCCGACGTCCCTCTCGACGCGGAGGATCGGGGCTCGGGCACCTCAGGGCGCTCGGCCTTTGTCCTCGGGCGGCGCAAC GAACCCCGGCGCGGAATGCGCCAAGGAACTTTAACAAGAGTGCGATGCTCCCGCCGCCCCATACACGGTGCGCGC GGGATGCCATGCAATCTCATATTAGTCATAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAAC GTAGCGAACTGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCGAA ACCTTTGGTTCGAGGGCACGTTTGCCTGGGTGTCACACATGGCGTTGCCCCCAATCCCCTCCGCCCTTTGAACGGGGCG AGCGGGACTCGGGCGCGTACGATGGCCTCCCGCGACGACCACGTCCCGGTTGGCCCAAATCGAGCGTCGAGCGA TCAGCACCACGACATTCCGGTGGTTGATTAGACCCCAATGATCAATGTGCGCGGTGCCGCTCATCGCACGCTCCGCGA ATCTGCTCCTACCAACGCGACCCCA

Hình 13. Trình tự DNA trên đoạn gen ITS của giống Bạch đàn lai CU82

Các trình tự này sau đó được so sánh với các trình tự trên Ngân hàng gen Quốc tế (NCBI) để tìm ra sự khác biệt ở cấp độ loài. Một số loài có

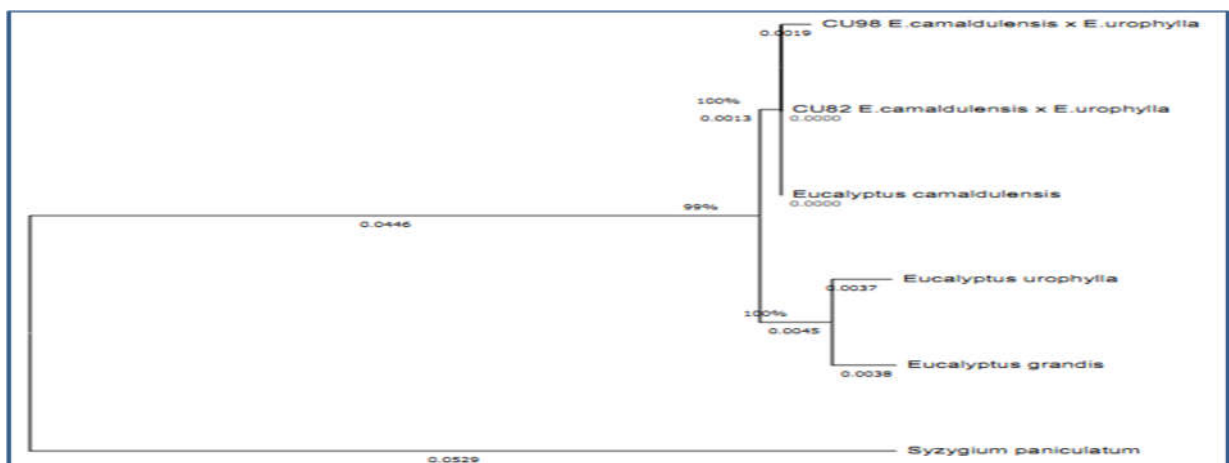
trình tự gen tương đồng dùng so sánh với giống Bạch đàn lai CU98 được trình bày ở Bảng 7.

Bảng 7. Một số loài có trình tự đoạn ITS tương đồng với giống Bạch đàn lai CU98 trên NCBI

TT	Tên loài	Mã số	Hệ số tương đồng (%)
1	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	HM596038.1	99,82
2	<i>Eucalyptus urophylla</i>	HM596068.1	98,58
3	CU82_ <i>E.camaldulensis</i> x <i>E.urophylla</i>	CU82	99,81
4	<i>Eucalyptus grandis</i>	AF058475.1	98,05
5	<i>Syzygium aromaticum</i>	KM064993.1	90,49

Sau đó xây dựng cây phát sinh chủng loại tìm ra mối quan hệ của giống Bạch đàn lai, nghiên

cứu với các loài khác ở Bảng 7 và khoảng cách di truyền giữa chúng được thể hiện ở Hình 14.



Hình 14. Cây quan hệ di truyền dựa trên đoạn gen ITS của cây Bạch đàn lai CU98, CU82 với một số loài trên Ngân hàng gen Quốc tế

Bảng 8. Khoảng cách di truyền của giống Bạch đàn lai với các loài khác của đoạn ITS

	<i>Syzygium paniculatum</i>	<i>E. urophylla</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. camaldulensis</i>	CU98 <i>E.camaldulensis</i> <i>x E.urophylla</i>	CU82 <i>E.camaldulensis</i> <i>x E.urophylla</i>
<i>Syzygium paniculatum</i>						
<i>Eucalyptus urophylla</i>	0,0632					
<i>Eucalyptus grandis</i>	0,0682	0,0046				
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	0,0617	0,0046	0,0058			
CU98_ <i>E.camaldulensis</i> <i>x E.urophylla</i>	0,0631	0,0058	0,0070	0,0011		
CU82_ <i>E.camaldulensis</i> <i>x E.urophylla</i>	0,0617	0,0046	0,0058	0,0000	0,0011	

Khoảng cách di truyền (p-distance) của giống Bạch đàn lai với các loài khác như Bảng 8.

Từ cây phân loại dựa trên số liệu trình tự đoạn gen ITS kết hợp với khoảng cách di truyền và hệ số tương đồng của giống Bạch đàn lai CU98, CU82 với các loài khác ta thấy: giống Bạch đàn lai CU98 có trình tự gen tương đồng 99,81% với đoạn gen của loài CU82 với khoảng cách di truyền là 0,0011, tương đồng 99,82% với đoạn gen của loài *E. camaldulensis* với khoảng cách di truyền 0,0011, tương đồng 98,58% với đoạn gen của loài *E. urophylla* với

khoảng cách di truyền 0,0046, tương đồng 98,05% với đoạn gen của loài *E. grandis* với khoảng cách di truyền 0,0058 và có quan hệ xa nhất với loài *Syzygium aromaticum* với hệ số tương đồng 90,49% (khoảng cách di truyền là 0,0631).

3.3.5. Trình tự đoạn gen ITS2

Kết quả xác định trình tự nucleotide đoạn gen ITS2 cho thấy cả 3 mẫu CU98.1; CU98.2; CU98.3 có kích thước 214 bp và 3 mẫu CU82.1; CU82.2; CU82.3 có kích thước 214bp được thể hiện như Hình 15 và Hình 16.

CACATGGCGTTGCCCAATCCCCTCCGCCCTCTGAACGGGGCGAGCGGGACTCGGGCGCGTACGATGGCCTCCC
GCGACGACCACGTCCCGTTGGCCCAAATCGAGCGTCGGAGCGATCAGCACCACGACATTCGGTGGTTGATTAGAC
CCCAATGATCAATGTCGCGCGTGCCGCTCATCGCACGCTCCGCGAATCTGCTCCTTACCAAC

Hình 15. Trình tự DNA trên đoạn gen ITS2 của giống Bạch đàn lai CU98

CACATGGCGTTGCCCAATCCCCTCCGCCCTCTGAACGGGGCGAGCGGGACTCGGGCGCGTACGATGGCCTCCC
GCGACGACCACGTCCCGTTGGCCCAAATCGAGCGTCGGAGCGATCAGCACCACGACATTCGGTGGTTGATTAGAC
CCCAATGATCAATGTCGCGCGTGCCGCTCATCGCACGCTCCGCGAATCTGCTCCTTACCAAC

Hình 16. Trình tự DNA trên đoạn gen ITS2 của giống Bạch đàn lai CU82

Các trình tự này sau đó được so sánh với các trình tự trên Ngân hàng gen Quốc tế (NCBI) để tìm ra sự khác biệt ở cấp độ loài.

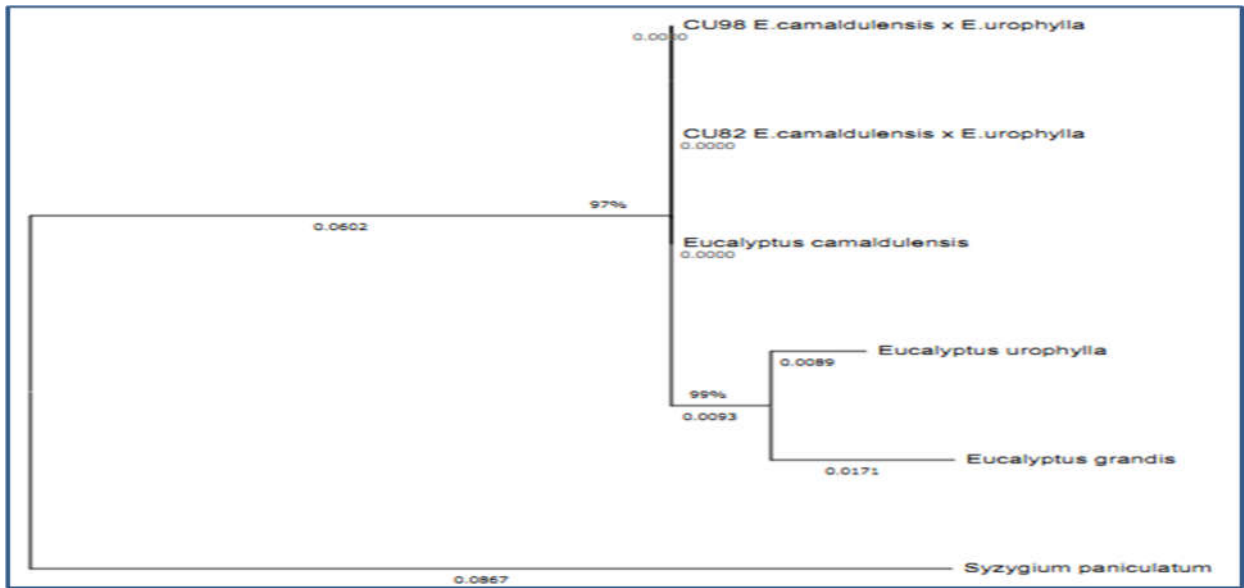
Một số loài có trình tự gen tương đồng dùng so sánh với giống Bạch đàn lai CU98 được trình bày ở Bảng 9.

Bảng 9. Một số loài có trình tự đoạn ITS2 tương đồng với giống Bạch đàn lai CU98 trên NCBI

TT	Tên loài	Mã số	Hệ số tương đồng (%)
1	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	MV139090.1	100
2	<i>Eucalyptus urophylla</i>	AF390492.1	98,29
3	CU82_ <i>E.camaldulensis</i> <i>x E.urophylla</i>	CU82	100
4	<i>Eucalyptus grandis</i>	AF058475.1	97,71
5	<i>Syzygium aromaticum</i>	KM064993.1	86,78

Sau đó xây dựng cây phát sinh chủng loại tìm ra mối quan hệ của giống Bạch đàn lai nghiên

cứu với các loài khác ở Bảng 9 và khoảng cách di truyền giữa chúng được thể hiện ở Hình 17.



Hình 17. Cây quan hệ di truyền dựa trên đoạn gen *ITS2* của cây Bạch đàn lai CU98, CU82 với một số loài trên Ngân hàng gen Quốc tế

Bảng 10. Khoảng cách di truyền của giống Bạch đàn lai với các loài khác của đoạn *ITS2*

	<i>Syzygium paniculatum</i>	<i>E. urophylla</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. camaldulensis</i>	CU98 <i>E.camaldulensis x E.urophylla</i>	CU82 <i>E.camaldulensis x E.urophylla</i>
<i>Syzygium paniculatum</i>						
<i>E. urophylla</i>	0,1757					
<i>E. grandis</i>	0,1703	0,0235				
<i>E. camaldulensis</i>	0,1516	0,0174	0,0236			
CU98 <i>E.camaldulensis x E.urophylla</i>	0,1516	0,0174	0,0236	0,0000		
CU82 <i>E.camaldulensis x E.urophylla</i>	0,1516	0,0174	0,0236	0,0000	0,0000	

Khoảng cách di truyền (p-distance) của giống Bạch đàn lai với các loài khác được thể hiện ở Bảng 10.

Từ cây phân loại dựa trên số liệu trình tự đoạn gen *ITS2* kết hợp với khoảng cách di truyền và hệ số tương đồng của giống Bạch đàn lai với các loài khác ta thấy: giống Bạch đàn lai CU98 có trình tự gen tương đồng 100% với đoạn gen của giống CU82 và loài *E. camaldulensis* với khoảng cách di truyền là 0,0000, tương đồng 98,29% với loài *E. urophylla* với khoảng cách di truyền 0,0235, tương đồng 97,71% với loài *E. grandis* với

khoảng cách di truyền 0,0236 và có quan hệ xa nhất với loài *Syzygium aromaticum* với hệ số tương đồng 86,78% (khoảng cách di truyền là 0,1516).

4. THẢO LUẬN

Dựa vào kết quả so sánh trình tự 5 đoạn gen *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *ITS* và *ITS2* của Bạch đàn lai CU98 và CU82 ở bảng 11 cho thấy: Các chỉ thị *matK*, *rbcL* và *ITS2* không có sự khác nhau giữa hai giống CU98 và CU82. Tuy nhiên, hai chỉ thị *trnH-psbA*, *ITS* đã chỉ ra có sự khác biệt nhỏ giữa hai giống CU98 và CU82 với tỷ lệ 1,15% và 0,19%, tương ứng.

Bảng 11. So sánh trình tự của các đoạn gen giữa Bạch đàn lai CU98 và CU82

Tên đoạn gen	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnH-psbA</i>	<i>ITS</i>	<i>ITS2</i>
Số điểm sai khác	0	0	3	1	0
Kích thước trình tự	440	743	624	565	214
Tỷ lệ sai khác (%)	0	0	1,15	0,19	0

Trên thế giới các đoạn chỉ thị *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *ITS* và *ITS2* đã được sử dụng phổ biến để phân loại các loài Bạch đàn. Năm 1999 đoạn gen *ITS* đã được sử dụng để phân loại cho 35 loài Bạch đàn khác nhau [8]. Fladung cũng đã sử dụng đoạn gen nhân *ITS* và 6 đoạn gen ở lục lạp (*rbcL*, *matK*, *matK-trnK*, *trnG-psbK*, *psbK-psbI*, *psbA-matK*) phân loại thành công 6 loài Bạch đàn (*Eucalyptus*) sinh trưởng ở Mexico [6]. Như vậy, đối với các loài Bạch đàn thì các chỉ thị DNA mã vạch của các đoạn gen nhân *ITS*, *ITS2* và các đoạn chỉ thị ở lục lạp như *rbcL*, *matK*, *trnH-psbA* là hoàn toàn tin cậy.

5. KẾT LUẬN

Đã nhân gen thành công các đoạn gen *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *ITS* và *ITS2* bằng kỹ thuật PCR. Trình tự nucleotide của các đoạn mã vạch đã được xác định: Đoạn *matK* có kích thước là 440 bp, *rbcL* là 743 bp, *trnH-psbA* là 624 bp, *ITS* là 565 bp, và đoạn *ITS2* là 214 bp. Kết quả sau khi so sánh với các trình tự trên Ngân hàng gen Quốc tế (NCBI) đã chỉ ra rằng giống Bạch đàn lai CU98 và CU82 có tỷ lệ tương đồng 100% của trình tự đoạn gen *rbcL* và *matK* và *ITS2*, tương đồng 99,81% của đoạn gen *ITS*, 98,85% của đoạn gen *trnH-psbA*. Kết quả cũng cho thấy sử dụng chỉ thị *trnH-psbA* và *ITS* làm mã vạch DNA để giám định giống Bạch đàn lai CU98 và CU82 ở Việt Nam là tốt hơn *matK*, *rbcL* và *ITS2*. Tuy nhiên, chúng ta nên kết hợp cả 05 chỉ thị để kết quả phân loại được chính xác hơn. Kết quả nghiên cứu này là cơ sở quan trọng trong việc định danh và phát triển giống cây Bạch đàn lai CU98 và CU82 ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. D. Boland, M. Brooker, G. Chippendale, N. Hall, B. Hyland, D. Johnson, D. Kleinig, M. McDonald & J. Turner (2006). *Forest Trees of Australia*. 5th ed. Collingwood, Victoria: CSIRO Publishing.

[2]. M.I.H. Brooker & D.A. Kleinig (2006). *Field Guide to Eucalyptus*. Third ed. Vol. 1. South-eastern Australia. Melbourne: Bloomings.

[3]. H. V. Huan, H. M. Trang & N. V. Toan (2018). *Identification of DNA Barcode Sequence and Genetic Relationship among Some Species of Magnolia Family*. Asian Journal of Plant Sciences. 17(1): 56-64.

[4]. W. J. Kress (2017). *Plant DNA barcodes: Applications today and in the future*. Journal of Systematics and Evolution. 55: 291-307.

[5]. M. Latvis, S. M. E. Mortimer, D. F. Morales-Briones, S. Torpey, S. U. Convers, S. J. Jacobs, S. Mathews & D. C. Tank (2017). *Primers for Castilleja and their utility across Orobanchaceae: I. Chloroplast primers*. Appl Plant Sci. 5: 1-7.

[6]. M. Fladung, H. Schroeder, C. Wehenkel & B. Kersten (2015). *Differentiation of six Eucalyptus trees grown in Mexico by ITS and six chloroplast barcoding markers*. Silvae Genetica. 64: 121-130.

[7]. A. Rydberg (2010). *DNA barcoding as a tool for the identification of unknown plant material: A case study on medicinal roots traded in the medina of Marrakech*. M.SC thesis, Uppsala University CBOL ABS Brochure.

[8]. D. A. Steane, G. E. McKinnon, R. E. Vaillancourt & B. M. Potts. *ITS Sequence Data Resolve Higher Level Relationships Among the Eucalypts*. Molecular Phylogenetics and Evolution. 12(2): 215-223.

[9]. V. V. Thakur, S. Tiwari, N. Tripathi & G. Tiwari (2019). *Molecular identification of medicinal plants with amplicon length polymorphism using universal DNA barcodes of the atpF-atpH, trnL and trnH-psbA regions*. Biotech. 9: 1-10.

[10]. N. Zhang, D. L. Erickson, P. Ramachandran, A. R. Ottesen, R. E. Timme, V. A. Funk, Y. Luo & S. M. Handy (2017). *An analysis of Echinacea chloroplast genomes: Implications for future botanical identification*. Scientific Reports. 7.

[11]. S. Zhu, Q. Li, S. Chen, Y. Wang, L. Zhou, C. Zeng & J. Dong (2018). *Phylogenetic analysis of Uncaria species based on internal transcribed spacer (ITS) region and ITS2 secondary structure*. Pharm Biol. 56(1): 548-558.

[12]. S. Zhu, Q. Liu, S. Qiu, J. Dai & X. Gao (2022). *DNA barcoding: an efficient technology to authenticate plant species of traditional Chinese medicine and recent advances*. Chinese Medicine 17.

**TO IDENTIFY OF DNA BARCODE SEQUENCE AND VARIETY
OF HYBRID EUCALYPTUS CU98 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*)
AND CU82 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*)**

Bui Thi Mai Huong¹, Ha Van Huan¹, Tran Phuong Thao¹, Mai Hai Chau², Nguyen Van Viet¹

¹*Vietnam National University of Forestry*

²*Vietnam National University of Forestry – Dong Nai Campus*

ABSTRACT

The hybrid *Eucalyptus* CU98 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) and CU82 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) had been recognized as a high economic value species according to Decision 3893/QĐ-BNN-TCLN on September 9th in 2016. However, it is very hard for the farmers in identifying this species by observation. Therefore, this study aimed to develop a method using DNA barcode fragments to identify the hybrid *Eucalyptus* CU98 and CU82. The total genomic DNA was extracted from leaf samples of CU98 and CU82 and was used to amplify the DNA barcodes (*matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *ITS* and *ITS2*) by PCR. The results showed that the bands of PCR production have the expected size, which is 743 bp, 440 bp, 624 bp, 565 bp, and 214 bp for *rbcL*, *matK*, *trnH-psbA*, *ITS*, and *ITS2* fragment, respectively. After that, these sequences were aligned with the sequence of those genes of other *Eucalyptus* species in NCBI. The results indicated that CU98 with *matK*, *rbcL* and *ITS2* gene fragments are 100% similar to CU82, *ITS* gene fragment is 99.81% similar to CU82, *trnH-psbA* gene fragment is 98.85% similar to CU82. These results suggest it is best for using *trnH-psbA* and *ITS* molecular marker as a DNA barcode to identify Hybrid *Eucalyptus* CU98 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) and CU82 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) in Vietnam. These results are an important basis for the identification of hybrid *Eucalyptus* CU98 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) and CU82 (*Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla*) in our country for future development orientations.

Keywords: CU82, CU98, DNA barcoding, identify species, PCR.

Ngày nhận bài : 04/11/2022

Ngày phản biện : 06/12/2022

Ngày quyết định đăng : 19/12/2022