

Ứng dụng chỉ thị mã vạch DNA-ITS2 để định danh một số mẫu dược liệu

Nguyễn Tiến Dũng^{1*}, Trần Thị Thu Hà¹, Nguyễn Đức Huy¹, Trịnh Ngọc Ái², Nguyễn Phi Hùng³

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên, xã Quyết Thắng, TP Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

²Trường Đại học Trà Vinh, 126 Nguyễn Thiện Thành, phường 5, TP Trà Vinh, tỉnh Trà Vinh, Việt Nam

³Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 17/4/2023; ngày chuyển phản biện 20/4/2023; ngày nhận phản biện 2/5/2023; ngày chấp nhận đăng 8/5/2023

Tóm tắt:

Ngày nay nhu cầu sử dụng thảo dược làm thuốc hỗ trợ điều trị và bảo vệ sức khỏe con người ngày càng tăng. Cùng với sự phát triển của thị trường thảo dược, tình trạng gian lận và làm giả các loại thảo dược ngày càng phổ biến ở nhiều quốc gia trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Việc xác định chính xác nguồn gốc loài thảo dược bằng phương pháp hình thái hay hóa học thường gặp nhiều khó khăn khi các nguyên liệu này bị trộn lẫn hoặc qua sơ chế. Do đó, cần phải sử dụng phương pháp phân tử dựa trên chỉ thị DNA. ITS là chỉ thị vùng gen nhân có tính bảo thủ cao đã được ứng dụng rộng rãi trong định danh và đánh giá đa dạng di truyền ở nhiều loài thực vật. Trong nghiên cứu này, chỉ thị vùng gen ITS2 đã được sử dụng để định danh 8 mẫu dược liệu, gồm 2 mẫu đinh lăng (DLTN, DLBG), 2 mẫu ba kích (BKTN, BKQN), 2 mẫu gừng đen (GDTN, GDYB) và 2 mẫu nghệ đen (NDTN, NDYB). Kết quả phân tích và giải trình tự vùng gen ITS2 ở các mẫu cho thấy, 2 mẫu DLTN và DLBG là loài đinh lăng lá nhỏ *Polyscias fruticosa*; mẫu ba kích thuộc 2 loài khác nhau là *Gynochthodes officinalis* (BKTN) và *Morinda officinalis* (BKQN); 2 mẫu gừng đen GDTN và GDYB là loài ngải đen *Kaempferia parviflora*; mẫu nghệ đen NDTN và NDYB thuộc loài nghệ xanh (*Curcuma caesia*). Từ các kết quả nghiên cứu cho thấy, chỉ thị ITS2 có thể sử dụng để định danh các loài dược liệu.

Từ khóa: ba kích, đinh lăng, gừng, ITS, mã vạch DNA, nghệ.

Chỉ số phân loại: 1.6

1. Đặt vấn đề

Sử dụng thực vật như một loại thuốc thảo dược trong điều trị bệnh và bảo vệ sức khỏe đã được con người thực hiện từ hàng nghìn năm nay ở nhiều nước trên thế giới, đặc biệt là các nước châu Á như Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Việt Nam... [1-4]. Ngày nay, do nhu cầu về thảo dược ngày càng tăng nên thị trường nguyên liệu thảo dược và sản phẩm của chúng cũng ngày càng phát triển mạnh. Sự phát triển của thị trường và lợi nhuận mang lại từ việc buôn bán nguyên liệu thảo dược đã dẫn đến xu hướng làm giả các nguyên liệu ngày càng phổ biến và đang trở thành vấn đề phức tạp ở nhiều nước trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Bằng nhiều cách khác nhau, nguyên liệu thảo dược có thể bị làm giả, thay thế hoặc trộn lẫn với các loại khác [5]. Do đó, việc kiểm soát chất lượng nguyên liệu thông qua xác định đúng loài là một việc quan trọng để đảm bảo về chất lượng nguồn nguyên liệu cũng như sản phẩm có nguồn gốc thảo dược. Thông thường, việc xác định các nguyên liệu thảo dược được thực hiện theo phương pháp truyền thống như dựa trên hình thái, cảm quan và phương pháp hóa học. Tuy nhiên, các phương pháp đánh giá này còn nhiều hạn chế và gặp khó khăn khi nguyên liệu bị lẫn tạp, làm giả hoặc qua sơ chế [5]. Để giải quyết vấn đề này, cần phải sử dụng phương pháp dựa trên chỉ thị DNA mới đảm bảo độ chính xác, qua đó sẽ góp phần hạn chế tình trạng gian lận và bảo vệ người tiêu dùng [6].

Hiện nay, một số mã vạch DNA đã được nghiên cứu và ứng dụng ở các cây dược liệu như vùng gen nhân ITS, gen lục lạp *rbcL*, *psbA-trnH* và *matK* [7-9]. Ở Việt Nam, P.K Long và cs (2014) [10] đã phân tích trình tự vùng gen *matK* và ITS để xác định mối quan hệ di truyền của các mẫu sâm thu ở Lai Châu. Nhóm tác giả đã chỉ ra vùng gen *matK* ở sâm Lai Châu có sự sai khác 2 nucleotid so với sâm Ngọc Linh. Gen ITS có 4 nucleotid khác biệt giữa 2 loại sâm trên. L.T. Huong và cs (2017) [11] sử dụng 5 mã vạch gồm: 18S, ITS, *matK*, *rbcL* và *psbA-trnH* để định loại một số loài thuộc chi nhân sâm (*Panax* L.) và kết luận rằng, chỉ thị ITS có khả năng định danh hiệu quả ở sâm Ngọc Linh và Tam thất hoang. Tương tự, N.T. Giang và cs (2020) [12] đã sử dụng chỉ thị gen ITS, *matK*, *rbcL* để định danh một số mẫu gừng và nghệ thu thập ở các khu vực khác nhau. Chỉ thị ITS cũng cho thấy khả năng phân loại tốt ở mẫu cây thuộc chi đinh lăng (*Polyscias*) [13, 14]. Trong nghiên cứu này, chỉ thị ITS được sử dụng để định danh một số mẫu dược liệu, bao gồm đinh lăng, ba kích, gừng đen và nghệ đen thu thập ở Bắc Giang, Thái Nguyên, Yên Bái và Quảng Ninh. Kết quả nghiên cứu góp phần bổ sung cơ sở khoa học cho việc ứng dụng chỉ thị DNA vào việc giám định loài cây dược liệu ở Việt Nam.

*Tác giả liên hệ: Email: dungnt@tuaf.edu.vn

Application of DNA barcode ITS2 to identify herbal medicinal materials

Tien Dung Nguyen^{1*}, Thi Thu Ha Tran¹,
Duc Huy Nguyen¹, Ngoc Ai Trinh², Phi Hung Nguyen³

¹Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Thai Nguyen University,
Quyết Thắng Commune, Thai Nguyen City, Thai Nguyen Province, Vietnam

²Tra Vinh University, 126 Nguyen Thien Thanh Street,
Ward 5, Tra Vinh City, Tra Vinh Province, Vietnam

³Institute of Natural Products Chemistry,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 17 April 2023; revised 2 May 2023; accepted 8 May 2023

Abstract:

Nowadays, the demand for using herb plants to treat and protect human health is increasing. Along with the growing herbal market, the adulteration of herbal medicinal materials is increasing in many countries, including Vietnam. It is difficult to determine the origin of herbal medicinal materials by morphological or chemical methods when they are substituted by herbs from closely related species or adulterated intentionally by materials from unrelated plants or processed materials. Therefore, it is necessary to use molecular methods based on DNA markers. ITS is a highly conservative nuclear ribosomal marker that has been widely used in the identification of plant species. In this study, the ITS2 marker was used to identify 8 herbal medicinal materials, including 2 samples of *Polyscias* (DLTN, DLBG), 2 samples of *Morinda* (BKTN, BKQN), 2 samples of *black zingiber* (GDTN, GDYB) and 2 samples of *black curcuma* (NDTN, NDYB). Gene analysis and sequencing results showed that the DLTN and DLBG were *Polyscias fruticosa*; BKTN and BKQN were different species, *Gynochthodes officinalis* (BKTN) and *Morinda officinalis* (BKQN); GDTN and GDYB were *Kaempferia parviflora*; NDTN and NDYB were *Curcuma caesia*. The research results show that the ITS2 indicator can be used to identify medicinal species.

Keywords: curcuma, DNA barcode, ITS, morinda, *polyscias*, zingiber.

Classification number: 1.6

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

8 mẫu nghiên cứu, bao gồm đinh lăng, ba kích, gừng đen, nghệ đen thu ở các địa điểm khác nhau trong khoảng thời gian từ tháng 8-10/2021. Danh sách mẫu được thống kê chi tiết ở bảng 1.

Bảng 1. Các mẫu dược liệu sử dụng trong nghiên cứu.

Thứ tự	Tên mẫu	Ký hiệu	Nơi thu thập	Trạng thái
1	Đinh lăng	DLBG	Đào Mỹ, Lạng Giang, Bắc Giang	Rễ khô
2	Đinh lăng	DLTN	Văn Lăng, Đồng Hỷ, Thái Nguyên	Rễ khô
3	Ba kích	BKTN	Văn Lăng, Đồng Hỷ, Thái Nguyên	Rễ tươi
4	Ba kích	BKQN	Thanh Sơn, Ba Chẽ, Quảng Ninh	Rễ tươi
5	Gừng đen	GDTN	Văn Lăng, Đồng Hỷ, Thái Nguyên	Củ tươi
6	Gừng đen	GDYB	Nghĩa Sơn, Văn Chấn, Yên Bái	Củ tươi
7	Nghệ đen	NDYB	An Lương, Văn Chấn, Yên Bái	Củ tươi
8	Nghệ đen	NDTN	Thái Sơn, Quyết Thắng, Thái Nguyên	Củ tươi

2.2. Tách chiết DNA tổng số và khuếch đại vùng gen ITS2

DNA tổng số được tách chiết từ các mẫu nghiên cứu theo phương pháp CTAB của J.J. Doyle và cs (1990) [15].

Phản ứng PCR khuếch đại vùng gen ITS2 được thực hiện trên máy PCR (Mastercycler Nexus, Đức), sử dụng cặp mồi ITS2-F (5'-ATGCGATACTTGGTGTGAAT-3') và ITS4-R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') [16]. Phản ứng được thực hiện ở thể tích 50 µl, gồm các thành phần: 20,5 µl Master Mix 2X (Phusa Biochem, Việt Nam), 1 µl mồi ITS2-F (10 pmol), 1 µl mồi ITS4-R (10 pmol), 1 µl DNA khuôn và 26,5 µl H₂O. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR gồm: biến tính ở 94°C trong 4 phút, tiếp sau là 30 chu kỳ: 94°C/40 giây, 56°C/40 giây, 72°C/45 giây và kết thúc phản ứng ở 72°C trong 5 phút. Sau khi kết thúc phản ứng, sản phẩm PCR sẽ được điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8% và được tinh sạch bằng bộ kit PCR purification của Hãng Solgen, Hàn Quốc.

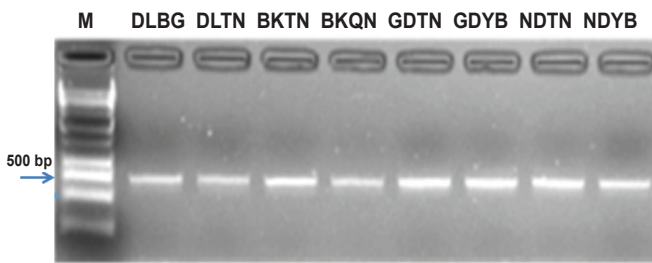
2.3. Xác định loài

Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được gửi đi giải trình tự tại Công ty Apical Scientific (<https://apicalscientific.com>, Malaysia). Kết quả giải trình tự được xử lý bằng phần mềm BioEdit và so sánh với trình tự loài trên Ngân hàng gen NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>). Loài được xác định dựa trên mức độ tương đồng cao nhất với các loài được công bố. Cây phân loại được xây dựng dựa trên phần mềm MEGA11 theo phương pháp Maximum-Likelihood với giá trị Bootstrap 1000 [17]. Giá trị Bootstrap được phân loại theo W.J. Kress và cs (2002) [18]: hệ số cao (>85%), trung bình (70-85%), thấp (50-69%), yếu (<50%).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả khuếch đại vùng gen ITS2

DNA tổng số được sử dụng làm khuôn để khuếch đại vùng gen ITS2 từ các mẫu nghiên cứu. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel agarose cho thấy, tất cả các mẫu đều cho một băng duy nhất có kích thước tương ứng khoảng 652 bp phù hợp với kích thước lý thuyết (hình 1). Kết quả này chứng tỏ vùng gen ITS2 đã được khuếch đại thành công từ các mẫu nghiên cứu.



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuếch đại vùng gen ITS2 từ mẫu nghiên cứu trên gel agarose 0,8%. M: 1 kb DNA marker.

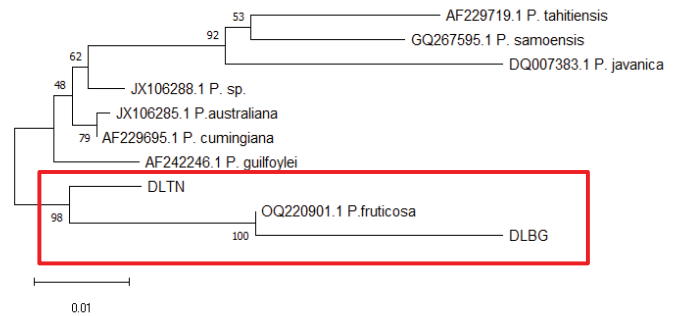
3.2. Kết quả xác định loài bằng chỉ thị ITS2

3.2.1. Xác định loài đinh lăng

Kết quả giải trình tự vùng gen ITS2 từ 2 mẫu đinh lăng thu thập tại Bắc Giang (DLBG) và Thái Nguyên (DLTN) cho thấy, 2 mẫu này có tỷ lệ tương đồng cao (>98,8%) so với trình tự vùng gen ITS2 có mã số OQ220901.1 đã công bố trên Ngân hàng gen (bảng 2). So sánh với các loài khác thuộc chi *Polyscias* gồm: *P. tahitiensis*, *P. samoensis*, *P. javanica*, *Polyscias* sp., *P. australiana*, *P. cumingiana*, *P. quilfoylei* và *P. fruticosa* cho thấy, 2 mẫu DLTN và DLBG có độ tương đồng cao với loài *P. fruticosa* (hình 2). Điều này chứng tỏ 2 mẫu DLTN và DLBG là loài *P. fruticosa* - đinh lăng lá nhỏ [13].

Bảng 2. Kết quả so sánh trình tự gen ITS2 với các tham chiếu trên ngân hàng gen (NCBI)

Thứ tự	Ký hiệu	Kết quả tham chiếu NCBI	Mức độ tương đồng (%)	Tên khoa học	Tên Việt Nam
1	DLBG	OQ220901.1	98,86	<i>P. fruticosa</i>	Đinh lăng lá nhỏ
2	DLTN	OQ220901.1	98,82	<i>P. fruticosa</i>	Đinh lăng lá nhỏ
3	BKTN	KX709850.1	98,88	<i>G. officinalis</i>	Ba kích
4	BKQN	KC441036.1	99,44	<i>M. officinalis</i>	Ba kích tím
5	GDTN	DQ064592.1	98,65	<i>K. parviflora</i>	Ngải đen
6	GDYB	DQ064592.1	99,32	<i>K. parviflora</i>	Ngải đen
7	NDYB	KF304499.1	99,04	<i>C. caesia</i>	Nghệ xanh
8	NDTN	KF304499.1	98,69	<i>C. caesia</i>	Nghệ xanh



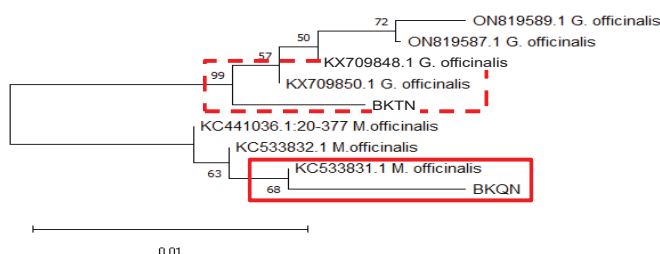
Hình 2. Cây phân loại di truyền của DLTN và DLBG với một số loài chi *Polyscias* theo phương pháp Maximum-Likelihood với giá trị Bootstrap 1000.

Đinh lăng là loại cây thảo dược thuộc chi *Polyscias* được trồng phổ biến ở Việt Nam. Thành phần hóa học chính trong đinh lăng là saponin đã được khẳng định vai trò trong tăng cường và bảo vệ sức khỏe của con người như chống viêm, giải độc, giảm đau, hỗ trợ tiêu hóa... [19, 20].

H.T.T Hue và cs (2022) [13] đã ứng dụng chỉ thị ITS và *matK* trong nhận dạng một số loài đinh lăng của Việt Nam. Kết quả cho thấy, chỉ thị ITS giúp phân biệt tốt 5 loài đinh lăng, gồm đinh lăng lá nhỏ (*P. fruticosa*), đinh lăng lá đĩa (*P. scutellaria*), đinh lăng lá răng (*P. serrata*), đinh lăng lá to (*P. filicifolia*), đinh lăng lá tròn (*P. balfouriana*). Tương tự, N.V. Ay và cs (2022) [14] ứng dụng chỉ thị ITS trong phân tích đa dạng di truyền của 9 mẫu đinh lăng thu thập tại Cà Mau, Cần Thơ, Hậu Giang và An Giang thuộc các loài *Polyscias* sp., *P. fruticosa*, *P. quilfoylei* và *P. scutellaria*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng chỉ thị ITS2 để nhận dạng 2 mẫu đinh lăng thu thập tại Bắc Giang và Thái Nguyên, kết quả cho thấy cả 2 mẫu này đều là đinh lăng lá nhỏ *P. fruticosa*.

3.2.2. Xác định loài ba kích

Kết quả giải trình tự vùng gen ITS2 và so sánh với Ngân hàng gen NCBI cho thấy, mẫu ba kích thu thập tại Thái Nguyên (BKTN) và Quảng Ninh (BKQN) có độ tương đồng cao (>98,6%) với trình tự vùng gen ITS2 của 2 loài *G. officinalis* và *M. officinalis*. Kết quả phân tích trình tự gen và xây dựng cây phân loại di truyền thông qua hệ số tương đồng cho thấy, mẫu BKTN nằm cùng nhóm với loài *G. officinalis*, gần với trình tự công bố có mã số KX709850.1, giá trị Bootstrap cao (99%) (hình 3). Mẫu ba kích thu thập ở Quảng Ninh (BKQN) nằm cùng nhóm với loài *M. officinalis*, có độ tương đồng với các loài công bố gồm KC441036.1, KC533832.1 và KC533831.1. Mặc dù giá trị Bootstrap của BKQN so với các loài cùng nhóm ở mức thấp (68%), nhưng kết quả này chứng tỏ 2 mẫu ba kích thu thập thuộc 2 loài khác nhau, BKTN thuộc loài *G. officinalis* và BKQN có thể thuộc loài *M. officinalis* (hình 3).

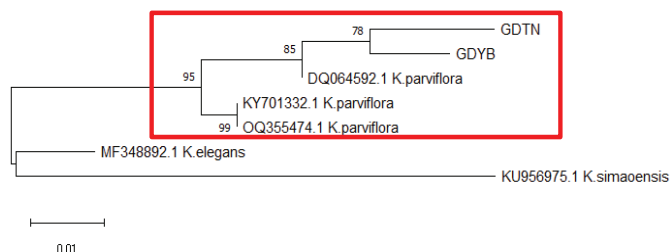


Hình 3. Cây phân loại di truyền của BKTN và BKQN với một số loài ba kích nhóm *Gynochthodes* và *Morinda* theo phương pháp Maximum-Likelihood với giá trị Bootstrap 1000.

Nghiên cứu của P.V. Kien và cs (2018) [21] chỉ ra rằng, ITS là chỉ thị có khả năng ứng dụng tốt hơn so với các chỉ thị *rbcL*, *psbA-trnH* và *matK* đối với loài ba kích *M. officinalis*. Kết quả định danh 6 mẫu ba kích thu thập ở các tỉnh Bắc Giang, Quảng Ninh, Quảng Nam và Hà Giang cho thấy, có 2 mẫu thuộc họ Viền Chi (*Polygalaceae*), chi *Polygala* không phải loài ba kích *M. officinalis*. Trong nghiên cứu này, vùng ITS2 được sử dụng để nhận dạng 2 mẫu BKTN và BKQN. Kết quả phân tích cho thấy, 2 mẫu BKTN và BKQN không cùng loài. Dựa trên hệ số Bootstrap có thể khẳng định, mẫu BKTN là loài *G. officinalis*, mẫu BKQN có thể thuộc loài *M. officinalis*. Để định danh chính xác mẫu BKQN cần sử dụng kết hợp thêm chỉ thị *rbcL*, *psbA-trnH* hoặc *matK*.

3.2.3. Xác định loài gừng đen và nghệ đen

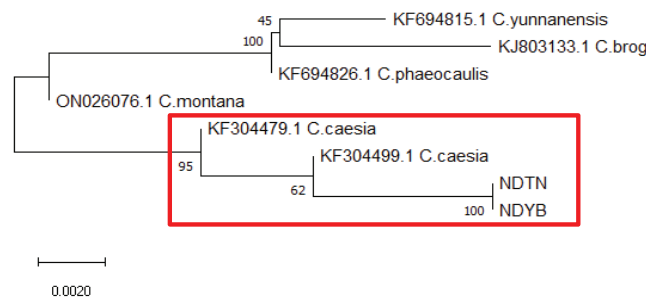
Kết quả so sánh trình tự gen vùng gen ITS2 của mẫu gừng đen Thái Nguyên (GDTN) và Yên Bái (GDYB) với một số loài công bố gồm *K. parviflora*, *K. elegans* và *K. simaoensis* chỉ ra rằng, mẫu GDTN và GDYB có độ tương đồng cao (95,92-99,32%) với loài *K. parviflora*. 2 mẫu GDTN và GDYB nằm cùng nhánh với loài *K. parviflora*, bao gồm DQ064592.1 (85%), KY701332.1 (95%) và OQ355474.1 (95%) (hình 4). Kết quả này cho thấy, 2 mẫu GDTN và GDYB không phải gừng đen mà thuộc nhóm ngải đen có tên khoa học là *K. parviflora*.



Hình 4. Cây phân loại di truyền của GDTN và GDYB với một số loài chi *Kaempferia* theo phương pháp Maximum-Likelihood với giá trị Bootstrap 1000.

Kết quả giải trình tự vùng gen ITS2 và so sánh với một số trình tự gen thuộc các loài *C. caesia*, *C. montana*, *C. phaeocaulis*, *C. yunnanensis* và *C. brog* đã công bố trên Ngân hàng gen NCBI cho thấy, mẫu nghệ đen thu thập tại

Yên Bái (NDYB) và Thái Nguyên (NDTN) có độ tương đồng cao và cùng nhánh phân loại với loài *C. caesia* - nghệ xanh (hình 5). Kết quả này chứng tỏ 2 mẫu NDYB và NDTN không phải nghệ đen mà là nghệ xanh.



Hình 5. Cây phân loại di truyền của NDTN và NDYB với một số loài chi *Curcuma* theo phương pháp Maximum-Likelihood với giá trị Bootstrap 1000.

N.T. Giang và cs (2020) [12] sử dụng chỉ thị ITS để phân biệt 6 mẫu gừng và 2 mẫu nghệ thu thập tại các tỉnh Long An, Đồng Nai, Lâm Đồng, Hà Giang và TP Hồ Chí Minh đã chỉ ra 5 mẫu gừng thuộc loài *Z. officianate*, 1 mẫu thuộc loài *Z. zerumbet*. Trong 2 mẫu nghệ thu thập tại Hà Giang có 1 mẫu là loài *C. longa*, mẫu còn lại là *C. roscoeana*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi định danh 2 mẫu được cho là gừng đen thu thập ở Yên Bái (GDYB) và Thái Nguyên (GDTN). Về hình thái, 2 mẫu củ này có kích thước nhỏ như gừng núi đá Lạng Sơn, tuy nhiên phần thịt củ màu đen hoàn toàn nên đa phần người dân gọi là gừng đen. Tuy nhiên, kết quả định danh bằng chỉ thị ITS2 cho thấy, 2 mẫu này thuộc họ gừng (*Zingiberaceae*), chi Địa liên (*Kaempferia*), loài *K. Parviflora* - ngải đen. 2 mẫu nghệ đen NDTN và NDYB có độ tương đồng di truyền cao và đều thuộc loài *C. caesia* - nghệ xanh

ITS là vùng gen nhân, bao gồm ITS1, 5,8 rDNA và ITS2 với kích thước từ 400 đến trên 1000 bp [9]. Đây là trình tự thường xuyên được sử dụng trong phân loại di truyền ở thực vật do tính phân loại cao và dễ khuếch đại. Đồng thời là trình tự sử dụng làm mã vạch DNA và định danh loài cây thuốc rất hiệu quả, tần suất sử dụng vùng ITS (26%) lớn hơn so với *trn-psA* (9%), *rbcL* (8%) và *matK* (8%) [22, 23]. J. Karehed và cs (2008) [24] đã báo cáo vùng ITS1 cho đầy đủ thông tin của 6 locus để phân biệt được 14 loài *Hedyotis* L. trong chi *Rubiaceae*. M. Li và cs (2010) [25] sử dụng vùng ITS để phân biệt thuốc chống ung thư “Baihuasheshecao” chính hãng có thành phần loài *H. diffusa* và thuốc giả bị pha trộn loài *H. cordybosca*. Vùng ITS2 có tính phân định cao ở trên 55 loài cây thuốc đã qua chế biến thuộc 48 họ khác nhau [26]. S. Chen và cs (2010) [16] đã báo cáo rằng, ITS2 giúp phân định thành công 24 loài cây thuốc và 66 loài liên quan ở cấp độ chi. Đã có 4800 loài trong số 750 chi đã được định danh bằng chỉ thị ITS2. Từ các kết quả nghiên cứu trên cho thấy, vùng ITS2 là chỉ thị có tính phân định cao, phổ quát có thể ứng dụng làm chỉ thị DNA cho việc xác định đúng loài ở cây dược liệu.

4. Kết luận

Bằng chỉ thị vùng gen ITS2 đã bước đầu phân loại được 8 mẫu dược liệu thu tại Thái Nguyên, Bắc Giang, Quảng Ninh và Yên Bái. Trong đó, 2 mẫu đỉnh lăng (DLTN và DLBG) thuộc loài đỉnh lăng lá nhỏ *P. fruticosa*; 2 mẫu ba kích (BKTN và BKQN) thuộc 2 loài khác nhau là *G. officinalis* (BKTN) và *M. officinalis* (BKQN); 2 mẫu gừng đen (GDTN và GDYB) thuộc loài gừng đen *K. parviflora*; 2 mẫu nghệ đen (NDTN và NDYB) thuộc loài nghệ xanh *C. caesia*. Đây là kết quả định danh sơ bộ dựa trên trình tự vùng gen ITS2, để có thêm cơ sở khẳng định tên loài cho các mẫu nghiên cứu trên cần tiến hành thêm một số chỉ thị vùng gen khác như *rbcL*, *psbA-trnH* hoặc *matK*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Singh, S. Singh, S. Prasad (2016), "Role of medicinal plants for health perspective: Special reference to antioxidant potential", *J. Chem. Biol. Ther.*, **1**(2), DOI: 10.4172/2572-0406.1000106.
- [2] K. Hostettmann, A. Marston, K. Ndjoko, et al. (2005), "The potential of African plants as a source of drugs", *Curr. Org. Chem.*, **4**(10), pp.973-1010, DOI: 10.2174/1385272003375923.
- [3] S. Sohani (2021), "Role of medicinal plant in human health perspective", *Acta Scientific Agriculture*, **5**(6), pp.65-68.
- [4] Y.Z. Shu (1998), "Recent natural products based drug development: A pharmaceutical industry perspective", *J. Nat. Product.*, **61**(8), pp.1053-1071, DOI: 10.1021/np9800102.
- [5] P.P. But (1994), "Herbal poisoning caused by adulterants or erroneous substitutes", *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **97**(6), pp.371-374.
- [6] B. Tomlinson, T.Y. Chan, J.C. Chan, et al. (2000), "Toxicity of complementary therapies: An eastern perspective", *Journal of Clinical Pharmacology*, **40**(5), pp.451-456, DOI: 10.1177/00912700022009206.
- [7] J. Yu, X. Wu, C. Liu, et al. (2021), "Progress in the use of DNA barcodes in the identification and classification of medicinal plants", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **208**, DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111691.
- [8] R. Jamdade, K.A. Mosa, A.E. Keblawy, et al. (2022), "DNA barcodes for accurate identification of selected medicinal plants (*Caryophyllales*): Toward barcoding flowering plants of the United Arab Emirates", *Diversity*, **14**(4), DOI: 10.3390/d14040262.
- [9] M. Li, H. Cao, P.P.H. But, et al. (2011), "Identification of herbal medicinal materials using DNA barcodes", *Journal of Systematics and Evolution*, **49**(3), pp.271-283, DOI: 10.1111/j.1759-6831.2011.00132.x.
- [10] P.K. Long, V.D. Huy, P.K. Loc, et al. (2014), "Phylogenetic relationships of the *Panax* samples collected in Lai Chau province based on *MatK* an ITS-rDNA sequences", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **12**(2), pp.327-337.
- [11] L.T. Huong, N.N. Linh, B.M. Minh, et al. (2017), "Application of DNA barcodes in identification of ginseng samples in the genus *Panax* L.", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **15**(1), pp.63-72.
- [12] N.T. Giang, M.T.K. Ngoc, P.Q. Huong, et al. (2020), "Assessment of genetic relationship of gingers (*Zingiber* spp.) in Vietnam based on DNA barcode markers", *Proceeding of The National Conference on Biotechnology*, pp.137-142.
- [13] H.T.T. Hue, N.T.B. Ngoc, D.Q. Ha, et al. (2022), "Analysis of DNA barcode region *ITS* and *MatK* in some *Polyscias* plants of Vietnam", *TNU Journal of Science and Technology*, **227**(5), pp.318-325.
- [14] N.V. Ay, T.T.T. Nghia, T.N.P. Lam, et al. (2022), "Comparative study on biosubstances content and genetic diversity of *Polyscias* species", *CTU Journal of Science*, **58**(2), pp.9-17, DOI: 10.22144/ctu.jvn.2022.115.
- [15] J.J. Doyle, J.L. Doyle (1990), "Isolation of plant DNA from fresh tissue", *Focus*, **12**, pp.13-15.
- [16] S. Chen, H. Yao, J. Han, et al. (2010), "Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species", *PLOS ONE*, **5**(1), DOI: 10.1371/journal.pone.0008613.
- [17] K. Tamura, G. Stecher, S. Kumar (2021), "MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11", *Mol. Biol. Evol.*, **38**(7), pp.3022-3027, DOI: 10.1093/molbev/msab120.
- [18] W.J. Kress, L.M. Prince, K.J. Williams (2002), "The phylogeny and a new classification of the gingers (*Zingiberaceae*): Evidence from molecular data", *Am. J. Bot.*, **89**(10), pp.1682-1696, DOI: 10.3732/ajb.89.10.1682.
- [19] T.T.H. Nguyen, T.M. Huynh (2003), "In vitro antioxidant effects of *Polyscias fruticosa* Harms. *Araliaceae*", *Journal of Medicinal Materials*, **8**(5), pp.142-146.
- [20] T.T.H. Nguyen, T.A.N. Nguyen (2004), "The hepatoprotective effects of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms capsules on ethanol-induced chronic liver damage", *Journal of Medicinal Materials*, **9**(3), pp.85-89 (in Vietnamese).
- [21] P.V. Kien, D.C. Son, P.T.M. Tam, et al. (2018), "Application of DNA barcodes in identification of *Radix morinda officinalis* How. in Viet Nam", *Journal of Pharmacy*, **58**(11), pp.18-23 (in Vietnamese).
- [22] I. Alvarez, J.F. Wendel (2003), "Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **29**(3), pp.417-434, DOI: 10.1016/s1055-7903(03)00208-2.
- [23] W.J. Kress, K.J. Wurdack, E.A. Zimmer, et al. (2005), "Use of DNA barcodes to identify flowering plants", *PNAS*, **102**(23), pp.8369-8374, DOI: 10.1073/pnas.050312310.
- [24] J. Karez, I. Groeninckx, S. Dessein, et al. (2008), "The phylogenetic utility of chloroplast and nuclear DNA markers and the phylogeny of the *Rubiaceae* tribe *Spermacoceae*", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**(3), pp.843-866, DOI: 10.1016/j.ympev.2008.09.025.
- [25] M. Li, R.W. Jiang, P.M. Hon, et al. (2010), "Authentication of the anti-tumor herb *Baihuasheshecao* with bioactive marker compounds and molecular sequences", *Food Chemistry*, **119**(3), pp.1239-1245, DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.09.013.
- [26] S.J. Chiou, J.H. Yen, C.L. Fang, et al. (2007), "Authentication of medicinal herbs using PCR-amplified ITS2 with specific primers", *Planta Medica*, **73**(13), pp.1421-1426, DOI: 10.1055/s-2007-990227.