

XÂY DỰNG CÂY PHÁT SINH CHŨNG LOẠI LOÀI QUÝT HOI (*CITRUS AURANTIUM*) DỰA TRÊN TRÌNH TỰ ĐOẠN GENE *matK*

Lê Đình Chác¹, Nguyễn Thị Minh Hồng¹, Nguyễn Văn Hoan¹, Nguyễn Thị Phúc²

TÓM TẮT

Mã vạch DNA (DNA barcode) là công cụ chỉ thị phân tử có độ tin cậy cao, không phụ thuộc vào đặc điểm hình thái, được sử dụng rộng rãi trong công tác nhận diện và bảo tồn loài. Chúng tôi đã sử dụng công cụ này để phân lập, xác định trình tự nucleotide và quan hệ di truyền của đoạn gene *maturase K (matK)* loài Quýt hoi (*Citrus aurantium*) ở Thanh Hóa. Kết quả giải trình tự cho thấy, đoạn gene *matK* dài 837 bp. Phân tích, so sánh với cơ sở dữ liệu trên ngân hàng gene (GenBank) xác nhận, trình tự *matK* của mẫu nghiên cứu có quan hệ di truyền tách biệt hoàn toàn khỏi các nhóm khác của chi *Citrus* đã công bố. Điều này gợi ý rằng, Quýt hoi có thể là một biến chủng hoặc dạng tiến hóa tương đối độc lập, có tiềm năng cho nghiên cứu phân loại phân tử và chọn giống.

Từ khóa: Mã vạch DNA, Quýt hoi (*Citrus aurantium*), đoạn gene *matK*, quan hệ di truyền.

DOI: <https://doi.org/10.70117/hdujs.86.4.2026.1060>

1. MỞ ĐẦU

Quýt hoi (*Citrus aurantium*), còn gọi là quýt hôi, quýt giấy hoặc quýt rừng, là một giống quýt bản địa phân bố chủ yếu ở vùng núi cao huyện Bá Thước (cũ), tỉnh Thanh Hóa. Quả quýt hoi có hình tròn dẹt, vỏ mỏng, có mùi thơm và vị chua ngọt đặc trưng. Từ lâu, quả, vỏ và lá quýt hoi được sử dụng trong chế biến thực phẩm và y học dân gian; đặc biệt, vỏ và múi thường được dùng làm trà, siro trị ho hoặc làm thuốc hỗ trợ tiêu hóa [6]. Phân tích hóa học cho thấy, quýt hoi chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học với giá trị dược học cao. Tinh dầu trong vỏ và lá chủ yếu gồm limonene, γ -terpinene, linalool, myrcene và α -pinene là những hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn, kháng viêm và chống oxy hóa mạnh [8]. Ngoài ra, các flavonoid như hesperidin, naringin, diosmin và quercetin tập trung nhiều ở vỏ và múi, có khả năng cải thiện vi tuần hoàn, bảo vệ thành mạch và giảm stress oxy hóa [4]. Hàm lượng vitamin C, acid citric và carotenoid trong thịt quả góp phần tăng cường miễn dịch, trong khi các hợp chất phenolic và coumarin, điển hình là scopoletin và umbelliferone, có tiềm năng điều hòa chuyển hóa lipid và đường huyết [12].

Những dẫn liệu trên cho thấy tiềm năng kinh tế và dược liệu của giống quýt bản địa này, song việc khai thác và ứng dụng vẫn còn hạn chế. Tuy nhiên, đến nay chưa có nhiều

¹ Khoa Nông - Lâm - Ngư nghiệp, Trường Đại học Hồng Đức; Email: ledinhchac@hdu.edu.vn

² Học viên K16 cao học Thực vật học, khoa Nông - Lâm - Ngư nghiệp, Trường Đại học Hồng Đức

công bố khoa học về cơ sở dữ liệu phân tử và mã vạch DNA (DNA barcode) cho loài này. Do đó, việc nghiên cứu sử dụng chỉ thị phân tử là cần thiết nhằm hỗ trợ phân loại và định danh chính xác loài, đặc biệt đối với các loài bản địa dễ bị lai tạp hoặc có mức độ biến dị hình thái cao, có thể gây sai lệch khi sử dụng các phương pháp truyền thống [4].

Mã vạch DNA là một đoạn trình tự DNA đặc trưng, thường dài từ 400 - 1000 bp, dùng để nhận diện loài nhanh chóng và chính xác [3]. Ở thực vật, vùng gene lục lạp *matK* đã được chứng minh là chỉ thị phân tử hiệu quả trong việc phân tích và luận giải các mối quan hệ phát sinh chủng loại trong họ Rutaceae (họ Cam, họ Cam chanh), đặc biệt là trong phân họ Aurantioideae [8][9]. Hiện nay, nhiều trình tự *matK* của các loài cam quýt đã được công bố trên cơ sở dữ liệu GenBank, tạo điều kiện thuận lợi cho việc so sánh và xác định mối quan hệ di truyền giữa các loài [7].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân lập, xác định trình tự nucleotide và phân tích mối quan hệ di truyền của gene *matK* từ mẫu quýt hoi thu thập ở Thanh Hóa nhằm góp phần xây dựng cơ sở dữ liệu phân tử của giống cây này; đồng thời cung cấp các dẫn liệu khoa học phục vụ cho công tác nhận diện, xác thực nguồn gốc, bảo tồn giống bản địa và định hướng phát triển nguồn tài nguyên thực vật đặc hữu của Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu cây quýt hoi được thu tại huyện Bá Thước (cũ), Thanh Hóa. Tọa độ điểm thu mẫu là: 20^o29'33,669" vĩ độ Bắc; 105^o5'19,91" kinh độ Đông.

Đặc điểm của cặp môi đặc hiệu được sử dụng để nhân bản trình tự gene *matK* được trình bày tại bảng 1.

Bảng 1. Trình tự các nucleotide của cặp môi sử dụng để nhân bản trình tự nucleotide của gene *matK*

Gene	Tên môi	Trình tự	Kích thước	Nguồn
<i>matK</i>	MatK/F	CGATCTATTTCATTTCAATATTTTC	900 bp	[1]
	MatK/R	TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT		[1]

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách chiết DNA tổng số từ lá quýt hoi

DNA tổng số được tách chiết theo phương pháp CTAB (*Cetyltrimethylammonium Bromide*) [2]. Mẫu lá quýt hoi (100 mg) được nghiền trong nito lỏng và trộn với 500 μ L CTAB 2% (w/v) + PVP 2%, sau đó ủ ở 65°C trong 60 phút. Hỗn hợp được ly tâm ở 14.000 vòng/phút trong 10 phút; dịch nổi được thu và xử lý bằng 4 μ L RNAase ở 37°C trong 5 phút. Tiếp theo, dịch nổi được trộn với 500 μ L chloroform:isoamyl alcohol (24:1), lắc đều, ly tâm ở 14.000 vòng/phút trong 10 phút, thu được dịch chiết (450 - 500 μ L). DNA được kết tủa bằng ethanol tuyệt đối (tỷ lệ 1:1 v/v) và 1/2 thể tích NaCl 5 M, ủ trên đá 1 giờ, sau đó ly tâm ở 13.000 vòng/phút trong 10 phút. Tủa DNA được rửa hai lần với ethanol 70%, ly tâm ở

13.000 vòng/phút trong 5 phút, làm khô và hòa tan trong 200 μ l nước cất vô trùng.

2.2.2. Phương pháp nhân gene *matK* bằng kỹ thuật PCR

Đoạn gene *matK* được khuếch đại bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc hiệu *matKf/matK1* với kích thước dự kiến là khoảng 900 nucleotide (bảng 1).

Chu trình nhiệt của phản ứng PCR được thiết lập như sau: Biến tính khởi động ở 94°C trong 4 phút; tiếp theo là 25 chu kỳ (biến tính ở 94°C trong 30 giây, gắn mồi ở 55°C trong 40 giây, tổng hợp và kéo dài ở 72°C trong 40 giây); ổn định mẫu, kết thúc phản ứng ở 72°C trong 10 phút và bảo quản mẫu ở 4°C.

Phản ứng PCR được tiến hành với thành phần tham gia được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Thành phần phản ứng PCR

STT	Thành phần	Nồng độ	Thể tích (μ l)
1	PCR Master Mix	2X	12,5
2	Mồi xuôi	10 pmol/ml	1
3	Mồi ngược	10 pmol/ml	1
4	DNA khuôn	10 ng/ml	1
5	Nước khử ion	-	9,5
Tổng thể tích			25

2.2.3. Phương pháp chạy điện di kiểm tra sản phẩm PCR

Sản phẩm khuếch đại PCR được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 0,8% để đánh giá kích thước và độ đặc hiệu của các đoạn DNA khuếch đại. Sau khi điện di, gel được ngâm trong dung dịch nhuộm Ethidium bromide trong 10 phút để phát hiện DNA, sau đó rửa nhẹ trong nước cất từ 2 - 3 phút nhằm loại bỏ thuốc nhuộm dư. Mẫu được quan sát dưới đèn tử ngoại (UV transilluminator), các băng DNA được ghi nhận bằng hệ thống chụp ảnh gel chuyên dụng.

2.2.4. Phương pháp tinh sạch sản phẩm PCR

Để loại bỏ agarose, primer và các tạp chất có thể ảnh hưởng đến quá trình giải trình tự, sản phẩm PCR được tinh sạch bằng bộ Kit GeneJET PCR Purification (Thermo Scientific) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sản phẩm tinh sạch thu được chứa DNA đích có độ tinh khiết cao, phù hợp cho các bước giải trình tự và phân tích tiếp theo.

2.2.5. Phương pháp giải trình tự, phân tích trình tự nucleotide của đoạn gene *matK* và xây dựng cây phát sinh chủng loại

Trình tự nucleotide của đoạn gene *matK* được xác định bằng hệ thống giải trình tự tự động ABI PRISM® 3100 Avant Genetic Analyzer, sử dụng bộ hóa chất BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit cùng cặp mồi đặc hiệu. Dữ liệu thu được được hiệu chỉnh và so sánh bằng công cụ BLAST [5] để xác định độ tương đồng trình tự với các mẫu đã công bố trên cơ sở dữ liệu GenBank. Các trình tự có độ tương đồng cao được chọn để xây dựng cây phát sinh chủng loại bằng phần mềm MEGA XII [10], áp dụng mô hình tiến

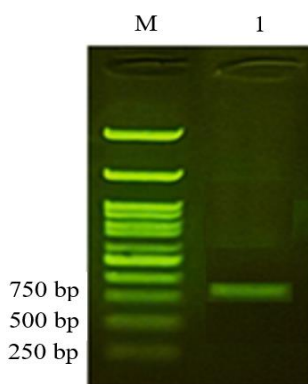
hóa phù hợp và phương pháp Neighbor-Joining (NJ) hoặc Maximum Likelihood (ML) nhằm đánh giá mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nghiên cứu với các loài cùng chi *Citrus*.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nhân bản trình tự *matK*

Sau khi tách chiết DNA thành công, đoạn gene *matK* được khuếch đại bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi *matK* F/R đặc hiệu, sau đó tiến hành điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 0,8% và chụp ảnh.

Kết quả ở hình 1 cho thấy, sản phẩm PCR khuếch đại xuất hiện các băng DNA rõ nét, có kích thước khoảng 900 bp. Kết quả này phù hợp với chiều dài lý thuyết của đoạn *genmatK* tương ứng với cặp mồi sử dụng, cho thấy phản ứng PCR có độ đặc hiệu và độ tin cậy cao, đủ điều kiện cho việc giải trình tự vùng gene *matK*, phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1. Kết quả PCR với cặp mồi *MatK* F/R

(M: Marker; 1: *matH*DUK2024)

3.2. Kết quả phân tích trình tự vùng gene *matK*

Sau khi điện di, các sản phẩm PCR mang vùng gene *matK* trong mẫu quýt hoi (ký hiệu là *matH*DUK2024) được giải trình tự trên máy ABI PRISM® 3100 Avant Genetic Analyzer, sử dụng bộ Kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing cùng cặp mồi đặc hiệu. Kết quả thu được như sau:

3.2.1. Trình tự *matH*DUK2024

```
TGTTAGATGTACGAATACCCTACCCATTTGTCCCGAAATCTTGGTTCAAACCCTTCGCG
AATGGGTAAAGGATGCCTCTTCTTTACATTTATTACGGTTCCTTCTCCACGAGTATTTTA
ATTGCAACAGTCTTATTACTCCAAAGAACTCTATTTCTGTTTTTTTAAAAAGTAATCCAA
GATTGTTATTGTTTCTATATAATTCTCATGTATATGAATATGAATCCATCCTCTTTTTTC
TCTGTAACCAATCGTCTCATTTACAATCAACATCCTTTTCGAGTCCTCGTTGAGCGAACGT
ATTTCTATGGAAAAGTCGAACATCTTGTCGAAGTCTTTGCTAAAGATTTTCAGGACATCT
TAGGGTTGGTCAAGGATCCTTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATTTTGG
CTTCAAAGGATACGCCTCTTCTGATGAATAAATGGAAATATTACCTTGTCGGTTTTATGGC
AATGGCATTTTCACGCGTCTTCTCAACCAGGAAGGGTTCAGCTAAACCACTTATACTTAG
GCAAGTACGCTATTAACCTTTCTGGGCTATCTTTCCGGTGTGCGACTAAATTCCTTTGTTGG
TACGGAGTCAAATGCTAGAAAATTCATTTCTAATAGATAATTCTATGAAGAAGGTCGATA
```

CGACCGTTCCAATTATTCATCTGATTGGATCATTGACTAAGGCGCGGTTTTGTAAACGCAT
TAGGGCATCCTATCAGTAAGTCGACTTGGTCCGATTTCTCTGATTCTCATCTTATCGACC
GATTTGTGCGTATATGTAGAAATCTTTCTCATTATTACAGCGGATCTTCAAAAAAAAA

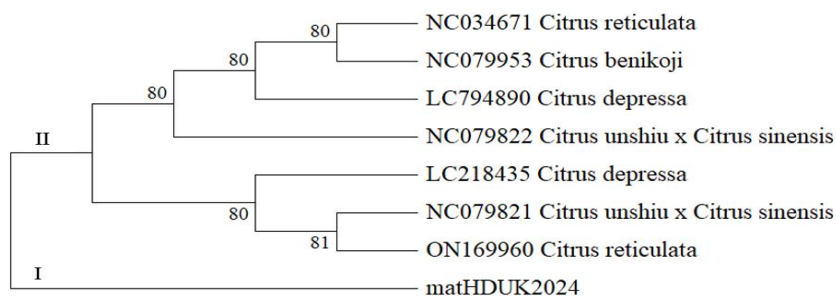
Trình tự vùng gen *matK* thu được sau khi tinh chỉnh là 837 bp, phù hợp với kích thước dự kiến của đoạn gen khuếch đại bằng cặp mồi *matK* F/R đặc hiệu. Kết quả này là cơ sở để tiến hành phân tích, so sánh mối quan hệ di truyền giữa các trình tự *matK* của mẫu nghiên cứu với các trình tự đã công bố trên Genbank.

Sau khi thu nhận được trình tự đoạn gene *matK* trong mẫu quýt hoi (*matHDUK2024*), dữ liệu được xử lý và phân tích bằng phần mềm MEGA phiên bản XII nhằm đánh giá mối quan hệ di truyền giữa mẫu nghiên cứu với các loài cùng chi *Citrus*. Trình tự *matHDUK2024* được so sánh với các trình tự *matK* đã công bố trên GenBank nhằm xác định mức độ tương đồng và mối quan hệ phát sinh chủng loại. Các trình tự *matK* tham chiếu được lựa chọn dựa trên độ tin cậy của cơ sở dữ liệu và độ bao phủ trình tự cao (Bảng 3), làm cơ sở cho việc xây dựng cây phát sinh chủng loại và đánh giá vị trí phân loại của mẫu nghiên cứu trong mối quan hệ di truyền của trình tự *matK* thu được.

Bảng 3. So sánh trình tự *matK* của Quýt hoi với cơ sở dữ liệu trên GenBank

STT	Loài	Mã số trên GenBank	Kích thước gene (bp)	Tác giả công bố	Năm công bố	Nơi công bố
1	Quýt hoi	matHDUK2024	837			
2	<i>Citrus depressa</i>	LC218435	837	Ishikawa, R.	2018	Nhật Bản
3	<i>Citrus reticulata</i>	NC034671	837	Shi, C.et al.	2017	Trung Quốc
4	<i>Citrus depressa</i>	LC794890	837	Nagano, Y. and Witharana, E.P.	2024	Nhật Bản
5	<i>Citrus benikoji</i>	NC079953	837	Yang, J. and Kim, K.-J.	2023	Hàn Quốc
6	<i>Citrus unshiu x Citrus sinensis</i>	NC079822	837	Yang, J. and Kim, K.-J.	2023	Hàn Quốc
7	<i>Citrus unshiu x Citrus sinensis</i>	NC079821	837	Yang, J. and Kim, K.-J.	2023	Hàn Quốc
8	<i>Citrus reticulata</i>	ON169960	860	Yang, J. and Kim, K.-J.	2023	Hàn Quốc

Kết quả so sánh trình tự nucleotide của *matHDUK2024* với trình tự nucleotide của gene *matK* các loài thuộc chi *Citrus* đã công bố trên GenBank được thể hiện trên hình 2.



Hình 2. Cây phát sinh chủng loại giữa loài quýt hoi được thu ở Bá Thước, Thanh Hoá với các loài khác trong chi *Citrus*.

Kết quả trên hình 2 cho thấy, cây phát sinh chủng loại được chia làm hai nhánh I và II.

Nhánh II có sự đa dạng về quan hệ di truyền của trình tự đoạn gene *matK*, với sự góp mặt của nhiều loài trong chi *Citrus*, có thể được chia thành các cụm sau:

Cụm thứ nhất, gồm *Citrus reticulata* (mã số NC034671) và *Citrus benikoji* (mã số NC079953), có giá trị bootstrap là 80%. Kết quả này cho thấy hai loài này có mức độ tương đồng di truyền cao, phù hợp với giả thuyết rằng *C. benikoji* là một dạng hoặc thứ của *C. reticulata* (quýt). Các phân tích trước đây về chloroplast và *ITS* cũng chứng minh *C. benikoji* có nguồn gốc lai gần với quýt bản địa Nhật Bản.

Các nhóm còn lại của cụm này có nhiều loài trong chi *Citrus*, cụ thể: *C. depressa* (mã số LC794890 và LC218435) và *C. unshiu* x *C. sinensis* (mã số NC079822). Sự hiện diện của các giống lai giữa *C. unshiu* (quýt Satsuma) và *C. sinensis* (cam ngọt) trong cùng nhóm với *C. depressa* cho thấy sự tương đồng đáng kể của trình tự vùng gene được phân tích, nhiều khả năng là do nguồn gốc chloroplast cùng dòng mẹ (*maternal lineage*). Do hệ gene lục lạp thường được di truyền theo dòng mẹ, mối quan hệ gần gũi này có thể gợi ý rằng, *C. depressa* hoặc nhóm *C. unshiu* có thể đã đóng vai trò cây mẹ trong quá trình lai tạo tự nhiên hoặc nhân tạo.

Cụm thứ hai, gồm *C. reticulata* (mã số ON169960) và nhóm lai *C. unshiu* x *C. sinensis*, với giá trị bootstrap là 81%. Điều này cho thấy mức độ tương đồng di truyền cao giữa các giống quýt và giống lai có nguồn gốc từ quýt, phản ánh sự lai tạp di truyền mạnh mẽ trong chi *Citrus*. Trong thực tế, chi *Citrus* có lịch sử tiến hóa phức tạp với nhiều sự kiện lai tạo ngược (*introgression*) và trao đổi vật chất di truyền giữa các dòng quýt.

Đặc biệt, nhánh I (nhánh gốc - root) là mẫu matHDUK2024, tách biệt hoàn toàn khỏi các nhóm *Citrus* đã công bố, chứng tỏ mẫu này có độ sai biệt di truyền đáng kể so với các loài tham chiếu. Như vậy, matHDUK2024 có thể thuộc một dòng di truyền mới (có khả năng là dòng phân lập) hoặc dạng lai đặc hữu địa phương. Điều này gợi ý rằng quýt hoi có thể đại diện cho một biến chủng (*variant*) hoặc dạng tiến hóa tương đối độc lập, có tiềm năng cho những nghiên cứu phân loại phân tử và chọn giống trong chi *Citrus*.

Những nút chính trên cây phát sinh chủng loại đều có giá trị bootstrap đạt mức 80-81%, phản ánh độ tin cậy cao trong các nhánh. Tuy nhiên, không thể loại trừ khả năng hiện tượng *homoplasy* hoặc tái tổ hợp vùng lục lạp có ảnh hưởng đến kết quả phân tích. Do đó, cần kết hợp thêm dữ liệu đa locus (*ITS*, *trnL-F*, *psbA-trnH*, rDNA 45S) để kiểm chứng và củng cố kết luận về phát sinh chủng loại.

Nhìn chung, cây phát sinh chủng loại đã cho thấy mối quan hệ di truyền gần gũi giữa các loài *C. reticulata* và *C. benikoji*, đồng thời gợi ý mối liên hệ tiến hóa chặt chẽ giữa các

giống lai *C. unshiu* × *C. sinensis* với *C. depressa*. Đáng chú ý, mẫu matHĐUK2024 thể hiện như là một dòng di truyền biệt lập, có thể chứa thông tin di truyền quý, có giá trị cho các nghiên cứu về tiến hóa, chọn giống và bảo tồn tài nguyên di truyền trong chi *Citrus*.

4. KẾT LUẬN

Kích thước trình tự gene *matK* của mẫu quýt hoi thu thập tại huyện Bá Thước (cũ), tỉnh Thanh Hóa là 837 bp. Mẫu nghiên cứu có sự sai khác di truyền nhất định so với các trình tự tham chiếu đã công bố, gợi ý rằng, mẫu này có thể đại diện cho một biến chủng (variant) hoặc dạng tiến hóa tương đối độc lập, có tiềm năng cho những nghiên cứu tiếp theo về phân loại phân tử và chọn giống bản địa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Cuenoud P, Savolainen V, Chatrou LW, et al., (2002), *Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid rbcL, atpB, and matK DNA sequences*, American Journal of Botany, 89: 132-144.
- [2] Allen GC, Flores-Vergara MA, Krasynanski S, Kumar S, Thompson WF, (2006), *A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide*, Nat. Protoc., 1: 2320-2325.
- [3] Shuai Y, Shilin C, Jing M, Junfei L, Qi P, Chi S, (2023), *Application of DNA Barcoding to Identify Medicinal Plants*, Journal of Visualized Experiments, 66925.
- [4] Letsiou S & Madesis P, (2024), *DNA barcoding as a plant identification method*, Applied Sciences, 14(3): 1163.
- [5] Stoeckle M, (2003), *Taxonomy, DNA, and the Bar Code of Life*, BioScience, 53 (9):796-797.
- [6] Mien PTC, Nguyen TT, Hoang NV, Nguyen DC, Le HT, (2021), *Morphological description and DNA barcoding study of Paramignya trimera (Vietnam)*, Vietnam J. Biotech., 19(2): 15090.
- [7] Guo X, Landi M, Grajales A, Rahman MM, Kuzmina M, Hollingsworth PM, Choi JY, Schmidt S, Droege G, Forest F, Herrera S, Seberg O, Pham HV, Li X, Tkach N, Grando MS, Heckenhauer J, Jin X, Dias EF, Thomas P, Smissen RD, Li S, Michelangeli F, Martínez-Labarga C, Young RE, Dröge G, Amarasinghe V, Kersey PJ, Rønsted N, Christin PA, Buerki S, Baker WJ, (2024), *Global availability of plant DNA barcodes as genomic resources*, Molecular Ecology, 33(5): 1022–1036.
- [8] Oueslati A, Salhi-Hanachi A, Khalfallah N, Trifi-Farah N, (2016), *Towards a molecular taxonomic key of the Aurantioideae (Rutaceae)*, Peer J., 4: e2297.
- [9] Penjor T, Yamamoto M, Uehara M, Ide M, Matsumoto R, Nagano Y, Nishimura K, (2013), *Phylogenetic relationships of Citrus and its relatives based on chloroplast matK genes*, PLOS ONE, 8(4): e62574.

- [10] Kumar S, Stecher G, Sulesky M, Sanderford M, Sharma S, Tamura K, (2024), *MEGA12: Molecular evolutionary genetic analysis version 12 for adaptive and green computing*, Molecular Biology and Evolution, 41 (12): msae263, 2024.
doi: 10.1093/molbev/msae263. PMID: 39708372; PMCID: PMC11683415.
- [11] Sambrook J, Fritsch E R, & Maniatis T, (1989), *Molecular cloning: A laboratory manual (2nd ed.)*, Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- [12] Wei L, Khan MA, Ali Q, Mehmood F, Shahzadi I, Rasheed A, Bano S, Razaq A, Hussain I, (2024), *Effectiveness of DNA barcodes (rbcL, matK, ITS2) in identifying genera and species in Cactaceae*, Pakistan J. Bot., 56(2): 789-797.

BUILDING A PHYLOGENETIC TREE FOR QUÝT HOI (*CITRUS AURANTIUM*) BASED ON THE *matK* GENE SEQUENCE

Le Dinh Chac, Nguyen Thi Minh Hong, Nguyen Van Hoan, Nguyen Thi Phuc

ABSTRACT

Molecular markers, particularly DNA barcodes, are widely applied in species identification and conservation due to their high reliability and independence from morphological traits. In this study, we isolated and sequenced a fragment of the maturase K (matK) gene from Citrus aurantium (Quýt hoi) to evaluate its genetic characteristics and phylogenetic relationships. The sequencing results showed that the matK gene fragment was 837 bp in length. Comparative sequence analyses with reference sequences available in the GenBank confirmed that the studied sample exhibited noticeable genetic divergence from other reported Citrus species. This finding suggests that the species may represent a distinct variant or an independently evolved form, highlighting its potential for molecular taxonomy and breeding research.

Keywords: DNA barcode, Citrus aurantium, sequence gene matK, genetic relationship.

* Ngày nộp bài: 2/11/2025; Ngày gửi phản biện: 5/12/2025; Ngày duyệt đăng: 26/4/2026