

XÂY DỰNG CƠ SỞ DỮ LIỆU BARCODE RPOB CHO CÂY MẬT GẤU (*VERNONIA AMYGDALINA* DEL.) TẠI TỈNH THANH HÓA

Nguyễn Việt Hải¹, Lê Đình Chấn², Lê Thị Lâm²

TÓM TẮT

DNA barcode là một trình tự DNA có chiều dài khoảng 400-1000 bp được sử dụng làm chỉ thị phân tử để xác định quan hệ phát sinh chủng loài và nhận diện loài một cách nhanh chóng, chính xác, không phụ thuộc vào đặc điểm hình thái của các mẫu sinh vật. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập, xác định trình tự và quan hệ di truyền của gene *rpoB* loài cây Mật gấu (*Vernonia amygdalina* Del.) làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo. Kết quả giải trình tự đoạn gene *rpoB* có kích thước 506 bp, được sử dụng để phân tích so sánh trình tự *rpoB* đã công bố trên GenBank cho thấy đoạn gene *rpoB* của mẫu nghiên cứu có quan hệ di truyền tách biệt hoàn toàn khỏi các nhóm khác của các trình tự *rpoB* đã công bố. Kết quả này đã chứng minh trình tự gene *rpoB* của các mẫu nghiên cứu có độ sai biệt di truyền đáng kể so với các trình tự gene *rpoB* trên GenBank. Điều này cho thấy độ tin cậy và chính xác khi sử dụng đoạn gene *rpoB* để xác định quan hệ di truyền của loài cây Mật gấu (*Vernonia amygdalina* Del.).

Từ khóa: DNA barcode, cây Mật gấu, đoạn gene *rpoB*, mã vạch DNA.

DOI: <https://doi.org/10.70117/hdujs.81.11.2025.1088>

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Mật gấu (*Vernonia amygdalina* Del.) là loài dược liệu quan trọng chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học, được sử dụng rộng rãi trong hỗ trợ điều trị nhiều bệnh lý. Tuy nhiên, sự đa dạng hình thái trong chi *Vernonia* cùng nguy cơ nhầm lẫn loài khiến việc nhận diện dựa trên đặc điểm hình thái truyền thống trở nên kém tin cậy, nhất là khi các đặc điểm này dễ bị ảnh hưởng bởi môi trường và giai đoạn sinh trưởng [6]. Các nghiên cứu cũng đã cho thấy, cây Mật gấu (*Vernonia amygdalina* Del.) chứa nhiều hoạt chất sinh học quý, đặc biệt là sesquiterpene lactones (vernodaline, vernomygdin) và flavonoid (luteolin, apigenin), có tác dụng kháng oxy hóa mạnh và hỗ trợ điều hòa đường huyết. Ngoài ra, alkaloid, saponin và tannin trong lá góp phần tạo hiệu ứng kháng viêm, kháng khuẩn và bảo vệ gan. Nhờ hàm lượng hoạt chất đa dạng, Mật gấu được ứng dụng trong y học dân gian và nghiên cứu dược lý hiện đại, đặc biệt trong hỗ trợ điều trị tiểu đường, viêm nhiễm và bệnh lý gan [2][8].

Vì vậy, nhu cầu áp dụng các chỉ thị phân tử trong phân loại và nhận diện loài ngày càng trở nên cấp thiết.

¹ Trung tâm Nghiên cứu dược liệu Bắc Trung Bộ, Viện Dược liệu

² Khoa Nông - Lâm - Ngư nghiệp, Trường Đại học Hồng Đức; Email: ledinhchac@hdu.edu.vn

Gene *rpoB*, mã hóa tiểu đơn vị beta của RNA polymerase, đã được chứng minh có giá trị trong phân giải quan hệ tiến hóa ở thực vật bậc cao nhờ tốc độ biến thiên phù hợp, cho phép phân biệt các loài có quan hệ gần nhau với độ chính xác cao hơn so với một số marker truyền thống như *rbcL* hoặc *trnL-trnF* [3]. Đối với chi *Vernonia*, vốn có mức độ đa dạng di truyền lớn và phân bố rộng, các nghiên cứu gần đây cho thấy chỉ thị phân tử, bao gồm *rpoB*, hỗ trợ hiệu quả trong nhận diện và xây dựng cây phát sinh chủng loại, góp phần làm sáng tỏ mối quan hệ họ hàng giữa các loài.

Việc xây dựng cây phát sinh chủng loại của *Vernonia amygdalina* Del. dựa trên trình tự *rpoB* có ý nghĩa quan trọng trong chuẩn hóa nhận diện dược liệu, chống pha tạp và nâng cao giá trị chuỗi cung ứng. Đồng thời, dữ liệu phát sinh chủng loại còn hỗ trợ hoạch định bảo tồn, đánh giá đa dạng nguồn gene và định hướng chọn lọc các dòng có hoạt tính sinh học mạnh phục vụ nghiên cứu và phát triển dược phẩm.

Trong công bố này, chúng tôi tiến hành phân lập, xác định trình tự và phân tích quan hệ di truyền của gene *rpoB* từ mẫu Mật gấu tại Thanh Hóa, góp phần xây dựng cơ sở dữ liệu phân tử, hỗ trợ công tác nhận diện và phát triển nguồn dược liệu này tại Thanh Hóa.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu lá Mật gấu thu tại:

Vườn Quốc gia Xuân Liên, Thanh Hóa: 19°51'54"19 Vĩ độ Bắc; 105°18'20" Kinh độ Đông;

Vườn Quốc gia Bến En, Thanh Hóa: 19°28'19" Vĩ độ Bắc; 105°20'105" Kinh độ Đông.

Cặp mồi đặc hiệu được sử dụng để nhân bản trình tự gene *rpoB* được trình bày tại bảng 1.

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

Gene	Tên mồi	Trình tự	Kích thước	Tác giả
<i>rpoB</i>	<i>rpoB/F</i>	AAGTGCATTGTTGGAAGCTGG	500bp	[4]
	<i>rpoB/L</i>	GATCCCAGCATCACAATTCC		[4]

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tách chiết DNA tổng số từ lá Mật gấu

Được thực hiện theo phương pháp CTAB (Cetyltrimethylammonium Bromide) [1]. Về bản chất là sử dụng CTAB (chất tẩy rửa không chứa ion) có thể kết tủa nucleic acid và polysaccharide.

*Phương pháp nhân gene *rpoB* bằng kỹ thuật PCR*

Đoạn gene *rpoB* được khuếch đại bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc hiệu *rpoBf/rpoBl* với kích thước dự kiến là khoảng 500 nucleotide.

Chu trình nhiệt cho phản ứng của PCR như sau: Biến tính khởi động ở 94°C trong 4 phút; lặp lại 25 chu kỳ [5], bao gồm: 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 và 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 phản ứng được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Thành phần phản ứng PCR

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

Phương pháp chạy điện di kiểm tra sản phẩm PCR

Sản phẩm PCR được đánh giá bằng điện di gel agarose nhằm xác định kích thước và mức độ đặc hiệu của đoạn khuếch đại. Sau khi chạy điện di, gel được nhuộm trong dung dịch Ethidium bromide khoảng 10 phút để hiển thị DNA, tiếp đó rửa nhẹ bằng nước cất nhằm loại bỏ lượng thuốc nhuộm dư. Gel được quan sát dưới hệ thống đèn UV và các băng DNA được ghi nhận bằng thiết bị chụp ảnh gel chuyên dụng, cho phép đánh giá rõ ràng chất lượng và tính đặc hiệu của sản phẩm PCR.

Phương pháp tinh sạch sản phẩm PCR

Để loại bỏ agarose, primer dư và các tạp chất có thể cản trở quá trình giải trình tự, sản phẩm PCR được tinh sạch bằng bộ kit GenJET PCR Purification (Thermo Scientific) theo đúng quy trình của nhà sản xuất. Sản phẩm tinh sạch thu được chứa DNA đích có độ tinh khiết cao, đáp ứng yêu cầu cho các bước giải trình tự và phân tích tiếp theo.

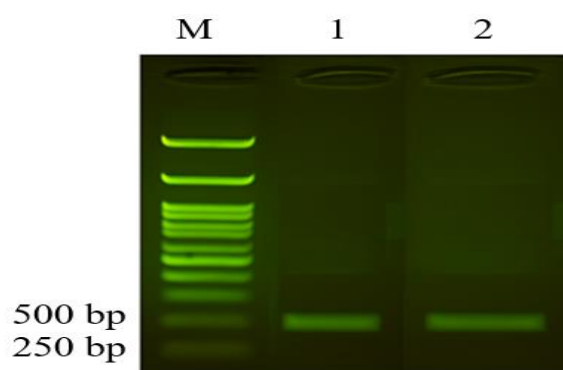
Phương pháp giải trình tự, phân tích trình tự nucleotide của đoạn gene rpoB và xây dựng cây phát sinh chủng loại

Trình tự nucleotide của gene rpoB 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 và cặp mồi đặc hiệu. Các chromatogram thu được được hiệu chỉnh, lắp ráp và so sánh bằng công cụ BLAST [6] để xác định mức độ tương đồng với các trình tự đã công bố trên GenBank. Những trình tự có độ tương đồng cao được lựa chọn cho phân tích phát sinh chủng loại bằng phần mềm MEGA XII [7], sử dụng mô hình tiến hóa tối ưu và phương pháp Neighbor-Joining hoặc Maximum Likelihood nhằm đánh giá quan hệ di truyền giữa các mẫu nghiên cứu và các loài tham chiếu.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nhân bản trình tự rpoB của mẫu lá cây Mật gấu

Trình tự đoạn gene rpoB được khuếch đại bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc hiệu, sau đó tiến hành điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 0,8%, chụp ảnh, kết quả thể hiện trên hình 1.



Hình 1. Kết quả PCR với cặp mồi *rpoB*

(M: Marker; 1: *rpoBXL*; 2: *rpoBBE*)

Kết quả trên hình 1 cho thấy, sản phẩm PCR của trình tự tương ứng với cặp mồi *rpoB* F/R đặc hiệu được thể hiện với các kích thước khoảng hơn 500 bp. Kết quả này phù hợp với trình tự các cặp mồi tương ứng, đủ độ tin cậy làm cơ sở cho việc đọc trình tự *rpoB*; phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Kết quả đọc trình tự đoạn gene *rpoB* của loài *Mật gấu*

Sau khi điện di, tiến hành đọc trình tự gene *rpoB* thu được trên máy ABI PRISM® 3100 Avant Genetic Analyzer, sử dụng bộ Kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing với cặp mồi đặc hiệu, kết quả thu được như sau:

Trình tự *rpoBXL*

GATCCCAGCATCACAAATCCATTTTTGTCTAAATTTTCGGAGTAAATGTACTTCTAAATGC
GGTATTTTCATTAGTGACCCTTTTCGGGGCCTTGTTAATCTGAATTTTCATATTTACGTATG
TGAAAAGAAGTATAAATATCTTCATATACTAAGCGCTCGCTAATGAGTACTGCATCTTCA
AAATTGTAACCTTCCCATGGCATATAAGCTACTAATACGTTTTTCCCCAAAGCGAGTTCA
CCACCAACTGTAGCAGCACCATACGCTAAAATTTGTCCCTTTTAAATGCATTTACCCCGC
TGAACCTGGGGTTTTTGATGCATACAAGTATTTTTGTTGGAACGTTTCATACATAACTAAT
GGAATCCTTAGAGTATCCCCATTACCTGATAAAAGGATCTTGTCAGTATCGGTATAAATA
ATCTTTCCCTCGTGTTTCGGCTATAGCAAGAGCCCCTGAATCTAGAGCCACTTGGCCTTCC
AATCCAGTTCCAACAATGCACTTA

Trình tự *rpoBBE*

GATCCCAGCATCACAAATCCATTTTTGTCTAAATTTTCGGAGTAAATGTACTTCTAAATGC
GGTATTTTCATTAGTGACCCTTTTCGGGGCCTTGTTAATCTGAATTTTCATATTTACGTATG
TGAAAAGAAGTATAAATATCTTCATATACTAAGCGCTCGCTAATGAGTACTGCATCTTCA
AAATTGTAACCTTCCCATGGCATATAAGCTACTAATACGTTTTTCCCCAAAGCGAGTTCA
CCACCAACTGTAGCAGCACCATACGCTAAAATTTGTCCCTTTTAAATGCATTTACCCCGC
TGAACCTGGGGTTTTTGATGCATACAAGTATTTTTGTTGGAACGTTTCATACATAACTAAT
GGAATCCTTAGAGTATCCCCATTACCTGATAAAAGGATCTTGTCAGTATCGGTATAAATA
ATCTTTCCCTCGTGTTTCGGCTATAGCAAGAGCCCCTGAATCTAGAGCCACTTGGCCTTCC
AATCCAGTTCCAACAATGCACTTA

Với hai trình tự *rpoB* thu được đều là 506 bp sau khi tinh chỉnh, hoàn toàn phù hợp với kích thước của cặp mồi đặc hiệu. Kết quả này là cơ sở để tiến hành phân tích, so sánh quan hệ di truyền của các trình tự *rpoB* đã công bố trên GenBank, làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo.

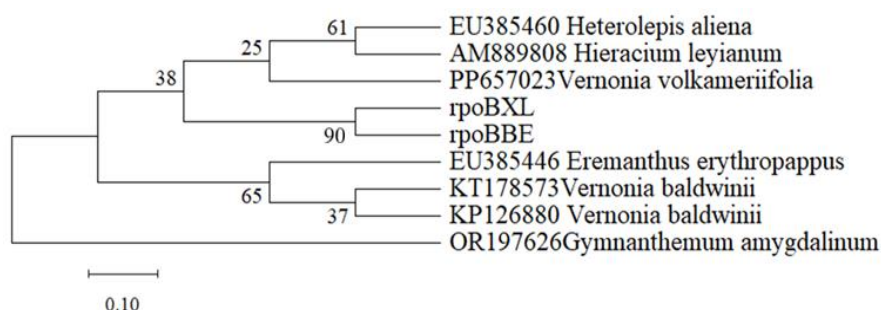
3.3. Kết quả phân tích trình tự *rpoB*

Sau khi thu nhận được trình tự gene *rpoB*, dữ liệu được xử lý và phân tích bằng phần mềm MEGA phiên bản XII nhằm đánh giá mối quan hệ di truyền giữa các mẫu thu thập. Trình tự *rpoB* thu tại khu vực nghiên cứu được so sánh với các trình tự *rpoB* đã công bố trên GenBank nhằm xác định mức độ tương đồng và phân bố phát sinh chủng loại. Các trình tự *rpoB* 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 *rpoB* thu được.

Bảng 3. Trình tự *rpoB* đã công bố trên GenBank được sử dụng để so sánh với trình tự *rpoB* thu được

STT	Loài	Mã số	Kích thước gene	Tác giả công bố	Nơi công bố	Năm công bố
1	Mật gấu XL	<i>rpoBXL</i>	506			
2	Mật gấu BE	<i>rpoBBE</i>	506			
3	<i>Gymnanthemum amygdalinum</i>	OR197626	507	Nworji, OF, et al	Nigeria	2023
4	<i>Vernonia volkameriifolia</i>	PP657023	504	Chen, H., et al	Trung Quốc	2024
5	<i>Vernonia baldwinii</i>	KT178573	505	Aust, SK, et al	Hoa Kỳ	2015
6	<i>Heterolepis aliena</i>	EU385460	507	Panero, JL and Funk, VA	Hoa Kỳ	2008
7	<i>Vernonia baldwinii</i>	KP126880	507	Kellar, PR, et al	Bắc Mỹ	2015
8	<i>Eremanthus erythropappus</i>	EU385446	508	Panero, JL and Funk, VA	Hoa Kỳ	2008
9	<i>Hieracium leyianum</i>	AM889808	508	Ford, CS	Anh	2009

Kết quả so sánh trình tự nucleotide của gene *rpoB* thu được với trình tự nucleotide của gene *rpoB* đã công bố trên Genbank được thể hiện trên hình 2.



Hình 2. Cây phát sinh của trình tự gene *rpoB* của loài Mật gấu thu được ở XL, BE, Thanh Hoá với các trình tự *rpoB* đã công bố trên GenBank

Kết quả trên hình 2 cho thấy, trong cây phát sinh dựa trên trình tự *rpoB*, các mẫu được chia thành hai nhóm chính phản ánh sự phân hóa tương đối sâu trong bộ dữ liệu. Nhánh gốc tách thành một clade lớn chứa phần lớn các mẫu thuộc chi *Vernonia* có các chi gần gũi, và một nhánh đơn lẻ đại diện cho *Gymnanthemum amygdalinum* (OR197626). Việc *Gymnanthemum* tách biệt và xuất hiện ở vị trí gốc hơn cho thấy trình tự *rpoB* của loài này mang nhiều đặc điểm phân tử nguyên thủy hơn hoặc có tốc độ tiến hóa sai biệt so với nhóm *Vernonia*-*Eremanthus*.

Nhóm chính thứ nhất bao gồm các loài *Heterolepis aliena* (EU385460) và *Hieracium leyianum* (AM889808). Hai loài này gom lại thành một nhánh có giá trị bootstrap 61, phản ánh mức độ hỗ trợ trung bình, cho thấy chúng có quan hệ tương đối gần dựa trên marker *rpoB* nhưng độ tin cậy chưa tuyệt đối. Nhánh này lại được ghép với *Vernonia volkameriifolia* (KT178573) với bootstrap 25, một giá trị khá thấp. Điều này chỉ ra rằng sự liên kết giữa *Vernonia volkameriifolia* và hai loài *Heterolepis* *Hieracium* không thật sự mạnh, nhiều khả năng do sự tương đồng trình tự hạn chế hoặc do *rpoB* không phải marker tối ưu để phân định các nhánh sâu trong nhóm này. Hai trình tự *rpoB* nội sinh *rpoBXL* và *rpoBBE* tạo thành một nhánh chung có bootstrap 90, thể hiện sự ổn định và độ tin cậy cao. Nhánh này gắn với clade chứa *Vernonia volkameriifolia* và hai loài họ hàng với bootstrap 38, cho thấy sự liên hệ ở mức độ trung bình và hàm ý rằng hai trình tự *rpoB* (*rpoBXL*, *rpoBBE*) có thể thuộc các mẫu nghiên cứu mới gần với *Vernonia* nhưng chưa thể khẳng định vị trí phân loại một cách tuyệt đối.

Nhánh lớn thứ hai trong nhóm *Vernonia* *Eremanthus* chứa *Eremanthus erythropappus* (EU385446) cùng với hai mẫu *Vernonia baldwinii* (KT178573 và KP126880). Mối quan hệ giữa *Eremanthus erythropappus* và *Vernonia baldwinii* có bootstrap 65, cho thấy mức hỗ trợ tương đối tốt, phản ánh sự tương đồng di truyền đáng kể giữa hai chi này trong vùng *rpoB*. Hai trình tự của *Vernonia baldwinii* tiếp tục tạo thành cặp với bootstrap 37, thấp hơn kỳ vọng nhưng vẫn phản ánh sự gần gũi nhất định. Từ đó có thể suy luận rằng *rpoB* trong nhóm *Vernonia* có mức biến dị nội bộ tương đối cao, khiến bootstrap không đạt giá trị mạnh.

Ở vị trí đáy của nhánh chính, *Gymnanthemum amygdalinum* đứng độc lập với bootstrap 37 kết nối với nhóm *Vernonia* *Eremanthus*. Điều này cho thấy loài này tách biệt đáng kể so với phần còn lại, đồng thời củng cố quan điểm phân loại truyền thống rằng *Gymnanthemum* là chi có vị trí tương đối xa trong họ Asteraceae khi so sánh bằng các marker chloroplast như *rpoB*.

Như vậy, cây phát sinh cho thấy các trình tự *rpoBXL* và *rpoBBE* có xu hướng nằm trong clade liên quan đến chi *Vernonia*, đặc biệt gần *Vernonia volkameriifolia*, nhưng quan hệ

này chưa được hỗ trợ mạnh ở toàn bộ các nút, phản ánh khả năng rpoB là marker hữu ích để phân nhóm gần nhưng còn hạn chế khi phân định các nhánh sâu hoặc khi mức biến dị thấp. Cấu trúc cây cũng chỉ ra sự gần gũi giữa *Eremanthus* và *Vernonia*, phù hợp với các nghiên cứu trước đây về quan hệ tiến hóa trong tông *Vernonieae*. Các giá trị bootstrap thấp ở một số nút cho thấy cần bổ sung thêm marker hoặc phân tích đa gene để củng cố kết luận.

4. KẾT LUẬN

Kích thước trình tự rpoB của loài Mật gấu thu được tại Thanh Hóa là 506 bp.

Cây phát sinh cho thấy các mẫu rpoBXL và rpoBBE nằm chung trong một clade với *Vernonia volkameriifolia* và gần nhóm của *Vernonia baldwinii*. Điều này cho thấy hai mẫu nghiên cứu có quan hệ họ hàng gần với các loài thuộc chi *Vernonia* (họ Asteraceae).

Nhánh chứa *Heterolepis aliena*, *Hieracium leyianum* và *Eremanthus erythropappus* tách biệt hơn, chứng tỏ khoảng cách di truyền xa hơn so với nhóm chứa các mẫu nghiên cứu. Hai mẫu rpoBXL và rpoBBE thuộc về hoặc rất gần chi *Vernonia* và nằm trong cùng một nhánh được hỗ trợ bootstrap khá tốt (90).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Allen, G. C., Flores-Vergara M. A., Krasynanski. S., Kumar. S., Thompson W. F. (2006), *A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide*, Nat Protoc., (vol.1):2320-2325.
- [2] Farombi, E.O., Owoeye, O. (2011), *Phytochemistry and medicinal properties of Vernonia amygdalina*, Journal of Medicinal Food, 14(12):1310-1316.
- [3] Hollingsworth, P. M., Forrest, L. L., Spouge, J. L., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., van der Bank, M., Little, D. P. (2009), *A DNA barcode for land plants*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 106(31):12794-12797, <https://doi.org/10.1073/pnas.0905845106>
- [4] Mark W. Chase, Nicolas Salamin, Mike Wilkinson, James M. Dunwell, Rao Prasad Kesanakurthi, Nadia Haider, Vincent Savolainen (2005), *Land plants and DNA barcodes: Short-term and long-term goals*, Philosophical Transactions of the Royal Society B, (360):1889-1895.
- [5] M. Stoeckle, (2003), *Taxonomy, DNA, and the Bar Code of Life*, BioScience, 53(9):796-797.
- [6] Kress, W. J., Erickson, D. L. (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.
- [7] S. Kumar, G. Stecher, M. Sulesky, M. Sanderford, S. Sharma, K. Tamura (2024), *MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 12 for Adaptive and Green Computing*, Molecular Biology and Evolution, 41(12):msae263.
- [8] Yeap SK, Ho WY, Beh BK, Ng KT, Abdul AB, Syamsumir DF, Koh SP, Thomas NF, and Husain K. (2010). *Anticancer and immunomodulatory properties of Vernonia amygdalina*, Pharmaceutical Biology, 48(11):1162-1169.

ESTABLISHING AN RPOB BARCODE DATABASE FOR (VERNONIA AMYGDALINA DEL.) IN THANH HOA

Nguyen Viet Hai, Le Dinh Chac, Le Thi Lam

ABSTRACT

DNA barcoding has become an indispensable tool in taxonomic research and conservation. Fundamentally, a DNA barcode is a DNA sequence of approximately 400 - 1000 bp that serves as a molecular marker for rapidly and accurately determining phylogenetic relationships and species identity, independent of morphological characteristics of specimens. In this study, we isolated and sequenced the rpoB gene of Vernonia amygdalina Del. (commonly known as bitter leaf) and assessed its genetic relationships as a basis for subsequent investigations. The amplified rpoB fragment was 506 bp in length and was used for comparative analysis against published rpoB sequences in GenBank. The results showed that the rpoB sequence of our sample formed a completely distinct genetic lineage, separate from all previously published rpoB sequences. This finding demonstrates that the rpoB sequence of the studied specimens exhibits substantial genetic divergence relative to GenBank data. These results support the reliability and accuracy of using the rpoB gene fragment to elucidate the genetic relationships of Vernonia amygdalina Del.

Keywords: DNA barcode, Vernonia amygdalina Del., rpoB gene fragment.

* Ngày nộp bài: 21/11/2025; Ngày gửi phản biện: 24/11/2025; Ngày duyệt đăng: 28/11/2025