

Nghiên cứu đặc điểm thực vật và đặc điểm di truyền của cây rì rì (*Homonoia riparia* Lour.) tại Việt Nam

Study on botanical characteristics and genetic traits of *Homonoia riparia* Lour. in Viet Nam

Chung Khánh Linh¹, Lê Mỹ Nhận², Lê Văn Huân²

¹Khoa Dược, Trường Đại học Tôn Đức Thắng

²Viện Đào tạo và Nghiên cứu Dược học, Trường Đại học Bình Dương

Tác giả liên hệ: Lê Văn Huân. E-mail: lvhuan@bdu.edu.vn

Tóm tắt: Cây Rì rì được thu hái tại tỉnh Quảng Ngãi, Việt Nam để nghiên cứu đặc điểm thực vật và đặc điểm di truyền bằng kỹ thuật đánh dấu phân tử. Một số đặc điểm giải phẫu và bột dược liệu đặc trưng đã được xác định. Mẫu lá non được sử dụng để phân tích trình tự gen dựa trên vùng gen *rbcL* được khuếch đại bằng phản ứng PCR từ ADN toàn phần tách chiết từ mẫu lá Rì rì non. Sản phẩm PCR được giải trình tự bằng phương pháp Sanger, dùng phần mềm BioEdit 7.0.5, sau đó so sánh với trình tự tương ứng công bố trên GenBank bằng phương pháp BLAST. Kết quả phân tích trình tự gen cho thấy mẫu Rì rì là *Homonoia riparia* Lour., Euphorbiaceae.

Từ khóa: *Hình thái; Homonoia riparia; Phân tích di truyền; Vi phẫu.*

Abstract: The willow-leaved water croton, which is called “rì rì” in Vietnamese, was collected in Quang Ngai Province for the study on botanical characteristics and genetic traits by employing molecular marker technique. Some outstanding particular macroscopic and specific microscopic features were defined. Fresh leaves were used to analyze gene sequences based on *rbcL* region amplified by PCR. Sequences of DNA products were identified by Sanger method and BioEdit 7.0.5 software, then compared to the control *rbcL* sequences published in GenBank by BLAST. The taxonomical identification result showed that the material plant was *Homonoia riparia* Lour., Euphorbiaceae.

Keywords: *Genetic analyse; Homonoia riparia; Macroscopic; Microscopic.*

1. Đặt vấn đề

Cây Rì rì (*Homonoia riparia* Lour., Euphorbiaceae) là một vị thuốc được sử dụng hiệu quả trong y học cổ truyền ở các nước Trung Quốc, Ấn Độ, Malaysia... để chữa trị viêm gan, sỏi tiết niệu và các bệnh ngoài da. Những nghiên cứu in vitro gần đây cho thấy Rì rì còn có những tác dụng dược lý quan trọng như kháng khuẩn, chống ung thư, tiềm năng trong điều trị gout, bảo vệ thận, chống oxy hóa, phòng ngừa biến chứng bệnh lý tim mạch [1,2,3,4]. Để phục vụ cho những đề tài nghiên cứu hóa học và dược lý chuyên sâu hơn, nghiên cứu này sẽ tiến hành phân tích trình tự gen nhằm định danh chính xác tên khoa học của loài Rì rì mọc tại Việt Nam, đồng thời nghiên cứu đặc điểm thực vật học bao gồm hình thái, vi học thân và lá cây Rì rì (*Homonoia riparia* Lour., Euphorbiaceae).

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1. Nguyên liệu

Mẫu cây Rì rì được thu thập tại Quảng Ngãi (Việt Nam) vào tháng 04 năm 2024, sau đó được xác định sơ bộ là loài *Homonoia riparia* Lour., Euphorbiaceae bằng cách đối chiếu đặc điểm mô tả thực vật với các tài liệu phân loại thực vật [6]. Mẫu lá Rì rì (HR) thu hái được rửa sạch, kiểm tra sơ bộ và tiến hành chiết tách DNA để giải trình tự gen. Mẫu được lưu tại bộ môn Hóa sinh, Viện Đào tạo và nghiên cứu Dược học - Trường Đại học Bình Dương, mã số NP-24.003.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát về thực vật học

Thu hái các bộ phận của mẫu, tiến hành quan sát và phân tích bằng mắt thường,

kính lúp, kính hiển vi, các đặc điểm sau đó được đối chiếu với khóa phân loại và với hình ảnh cũng như mô tả trong các tài liệu tham khảo để xác định tên loài. Khảo sát vi học: Vi phẫu thân, lá; đặc điểm bột dược liệu bằng các phương pháp thường quy. Định danh thực vật bằng phương pháp điện di DNA. Phương pháp chiết tách và tinh sạch DNA: Các mẫu lá non được chiết tách và làm sạch DNA theo phương pháp CTAB của Doyle (1990) [5].

2.2.2. Tách chiết DNA

Dung dịch CTAB 2X được ủ ở 65°C trong 30 phút bằng bể ủ nhiệt. Lá Rì rì (50 – 100 mg) được cắt nhỏ, nghiền nhỏ trong cối và chày sứ bằng cách thêm nitrogen lỏng. Sau đó, 600 µl dung dịch CTAB đã hoạt hóa được cho vào để trộn đều. Dịch lỏng được thu hồi trong eppendorf 1,5 ml và ly tâm ở 8000 vòng/phút trong 5 phút để loại bã cặn. Dịch nổi được chuyển qua eppendorf mới và ủ ở 65°C trong 1 giờ. Sau thời gian ủ, 100 µl hỗn hợp chloroform:isoamy alcohol (24:1) được thêm vào, lắc mạnh, kế đến ly tâm 13000 vòng/phút trong 5 phút để thu dịch nổi. Dịch nổi (500 µl) được hòa với 500 µl isopropanol và ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Sau khi ly tâm ở 13000 vòng/phút trong 5 phút, loại dịch lỏng để thu kết tủa. Kết tủa được rửa với 400 µl dung dịch ethanol 70% bằng cách ly tâm 13000 vòng/phút trong 2 phút. Sau khi đổ bỏ dịch lỏng, kết tủa được để khô tự nhiên trong 10 phút. Sau thời gian làm khô, 50 µl dung dịch TE 1X được cho vào để hòa tan DNA.

2.2.3. Đo OD

Tiến hành đo OD để xác định nồng độ và độ tinh sạch của dung dịch DNA sau

khi tách chiết trên máy Nanodrop (Denovix). Mẫu có tỉ lệ A260/280 trong khoảng 1,8-2,0 đủ chất lượng để tiến hành PCR.

2.2.4. Phản ứng PCR

Phản ứng PCR được chuẩn bị với các thành phần phản ứng như trình bày ở bảng 1.

2.2.5. Điện di kiểm tra kết quả

Sản phẩm được kiểm tra trên gel agarose 2%, trong buffer TBE 1X, hiệu điện thế 110V trong 40 phút.

2.2.6. Tinh sạch sản phẩm đúng kích thước

Những mẫu cho band sản phẩm sáng rõ, đúng kích thước sẽ được tiến hành tinh sạch thu hồi sản phẩm, sử dụng bộ sinh phẩm PCR. Purification Kit (Jena

Bioscience). Quy trình thực hiện được áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

Tiến hành đo Nanodrop (Denovix) xác định nồng độ và độ tinh sạch của sản phẩm. Sản phẩm có tỉ lệ A260/280 trong khoảng 1,8-2,0 được xem là đủ chất lượng để tiến hành giải trình tự bằng Phương Pháp Sanger.

2.2.7. Giải trình tự Sanger

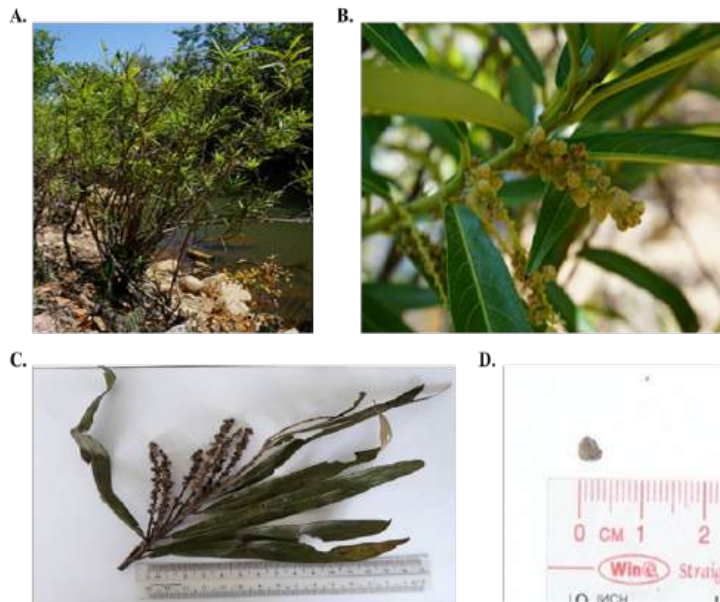
Tiến hành giải trình tự sản phẩm với mỗi rbcLa-F cho sản phẩm bằng kỹ thuật giải trình tự Sanger trên thiết bị ABI 3130 (ThermoFisher). Kết quả giải trình tự thu được dưới dạng file.ab1. Đối chiếu với dữ liệu gen trên ngân hàng NCBI và lựa chọn những loài có trình tự tương đồng cao để xác định loài.

Bảng 1. Thành phần phản ứng PCR

Thành phần	Nồng độ sử dụng	Thể tích hút/phản ứng
DEPC H2O		40 µl
PCR Buffer 10X	1X	5 µl
EZ Mix (Phù Sa)	1 tube	-
Mỗi xuôi, 10 µM	0,3 µM	1,5 µl
Mỗi ngược, 10 µM	0,3 µM	1,5 µl
DNA tách chiết		2 µl
Tổng thể tích		50 µl
Tên mỗi	Trình tự (5'-3')	Tác giả
<i>rbcLa-F</i>	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC	Kress & Erickson, 2007 [9]
<i>rbcLa-R</i>	GTAAAATCAAGTCCACCRG	

Bảng 2. Chu kỳ nhiệt PCR

Nhiệt độ	Thời gian	Chu kỳ
95°C	5 phút	1
95°C	30 giây	35
55°C	30 giây	
72°C	45 giây	
72°C	5 phút	1
25°C	2 phút	



Hình 1. Một số đặc điểm hình thái cây Rì rì.

A: Cây Rì rì; B: Cụm hoa; C: Lá; D: Quả

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Khảo sát về thực vật học

3.1.1. Đặc điểm hình thái

Cây bụi nhỡ 1-3 m. Vỏ cây màu nâu, bóng, có các đốm màu vàng nhạt. Lá đơn, mọc xoắn cách, phiến lá rộng khoảng 1,5-2,5 cm, dài 14-16 cm, mép lá nguyên hoặc hơi có răng, cuống lá có lông dài khoảng 3-5 mm. Hoa khác gốc. Cụm hoa đực ở nách lá, thành chùm bông; cụm hoa cái thưa hoa, dạng bông. Quả nang hình cầu, có lông, 3 mảnh hơi lồi; hạt hình trứng.

3.1.2. Đặc điểm vi phẫu học

Vi phẫu thân Rì rì

Vùng vỏ: Vi phẫu thân hình tròn vách hơi uốn lượn với 2-3 lớp tế bào bần ở phía ngoài cùng, vách uốn lượn, xếp xuyên tâm, $\frac{1}{2}$ tế bào bần về phía trong của vi phẫu có vách hóa gỗ dày, tạo thành 1 vòng đai mô cứng liên tục. Mô dày góc gồm 5-6 lớp tế bào hình đa giác, bao quanh toàn bộ vi phẫu. Mô mềm đạo gồm 5-8 lớp tế bào hình bầu dục hoặc đa

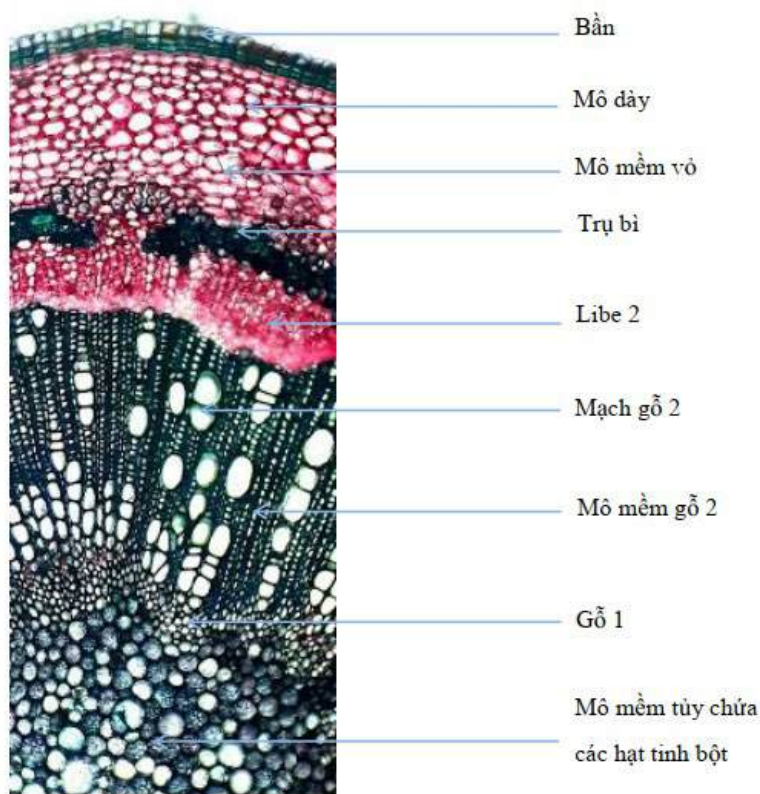
giác gần tròn. Rải rác trong mô dày và mô mềm là các tinh thể calci oxalate dạng khối và cầu gai.

Nội bì là 1 lớp tế bào đa giác gần tròn xếp sát nhau, kích thước không đều. Vùng trung trụ: Trụ bì hóa mô cứng thành những cụm không liên tục, xen kẽ với các cụm mô mềm đạo, bao quanh vùng tủy. Libe cấp 1 bị dồn lại thành từng đám sát trụ bì và khó có thể nhận dạng. Libe cấp 2 là gồm 7-10 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp xuyên tâm và chồng lên gỗ 2.

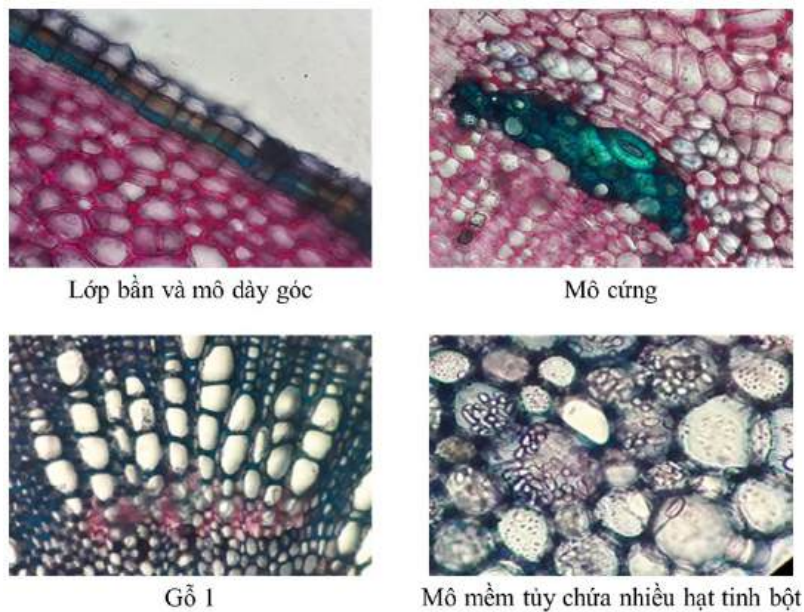
Gỗ cấp 2 bao gồm mạch gỗ và mô mềm gỗ, gồm từ 35-45 lớp tế bào xếp xuyên tâm.

Xen kẽ libe 2 và gỗ 2 là rất nhiều tia tủy, mỗi tia tủy gồm 1-2 dãy tế bào hình chữ nhật hay đa giác xếp sát nhau. Gỗ cấp 1 nằm trong mô mềm vùng tủy, gồm 3-5 mạch gỗ, phân bố ly tâm, hình tròn, kích thước nhỏ.

Mô mềm tủy hóa gỗ, dạng mô mềm đạo, kích thước không đều, chứa nhiều hạt tinh bột.



Hình 2. Vi phẫu thân Rì rì.



Hình 3. Cấu tạo các mô trong vi phẫu thân Rì rì.

Vi phẫu lá Rì rì

Gân giữa: Gân lá mặt dưới lồi nhiều hơn mặt trên. Ngoài cùng là 1 lớp biểu bì hình bầu dục, có lớp cutin mỏng bao

phủ, rải rác trên biểu bì là lông che chở đơn bào. Mô dày góc gồm 5-12 lớp tế bào hình đa giác. 2 vành đai mô cứng, gồm 4-6 lớp tế bào ở mặt trên và 2-5 lớp

tế bào ở mặt dưới, bao xung quanh hệ thống bó dẫn, phía ngoài lớp libe, tạo thành 2 vành mô cứng không liên tục và riêng biệt nhau.

Hệ thống bó dẫn ở gân giữa gồm 2 cung libe-gỗ ở phần trên và dưới của gân. Cung libe-gỗ ở mặt trên có hình móng ngựa, với bó gỗ phình to ở 2 đầu, cùng với vành mô cứng mặt trên bao quanh libe. Cung libe-gỗ ở mặt dưới hình vòng cung nhọn ở 2 đầu.

Mô mềm đạo gồm nhiều tế bào hình bầu dục hay đa giác gần tròn, phân bố ở mặt dưới lá nhiều hơn mặt trên. Rải rác là các hạt tinh bột, tinh thể calci oxalate hình khối hoặc cầu gai.

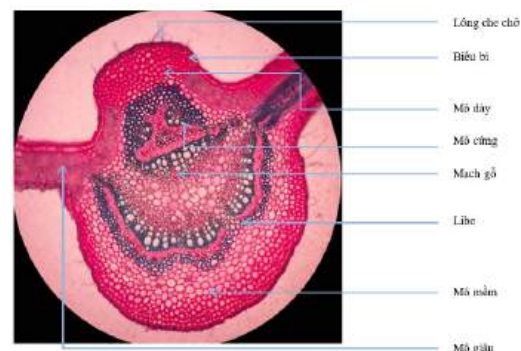
Phiến lá: Biểu bì trên gồm những tế bào hình chữ nhật hơi cong tròn, vách cellulose ở mặt ngoài dày lên, lớp cutin khá dày.

Biểu bì dưới lồi lõm nhiều, tế bào biểu bì dưới dài ra và phát triển như lông che chở, đầu tròn và kích thước khá nhỏ. Rải rác là những lông che chở hình sao là tập hợp của các tế bào biểu bì phát triển dài thành lông và được lớp cutin dày bao phủ. Trên biểu bì dưới còn có các lỗ khí. Mô mềm giậu hơi lún vào vùng gân giữa, gồm 1-3 lớp tế bào hình que, xếp sát nhau, vuông góc với biểu bì, chứa nhiều lục lạp. Mô mềm đạo gồm 1-2 lớp tế bào tròn hay bầu dục, kích thước không đều, xếp lộn xộn, đôi khi vách dày lên thành mô dày góc.

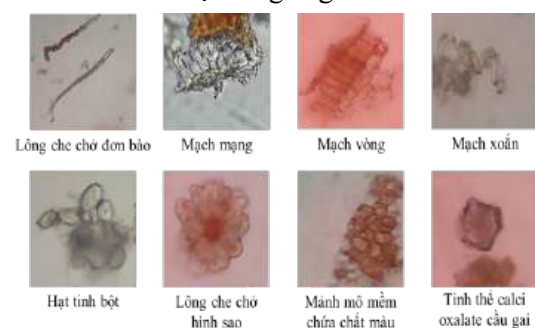
Bó libe-gỗ của gân phụ gồm 3-5 mạch gỗ, gỗ ở trên, libe ở dưới, còn có vòng mô cứng bao phía dưới lớp libe.



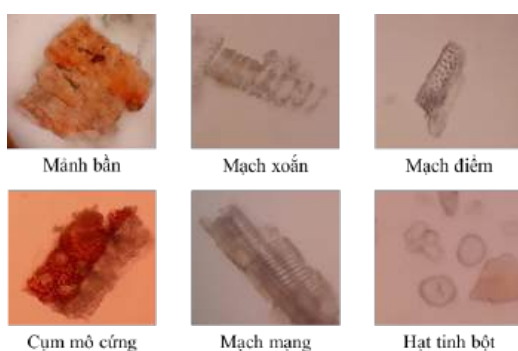
Hình 4. Cấu tạo các mô trong vi phẫu lá Rì rì.



Hình 5. Mặt cắt gân giữa lá Rì rì



Hình 6. Cấu tử trong bột lá Rì rì.



Hình 7. Cấu tử trong bột thân Rì rì

Đặc điểm bột dược liệu

Bột lá

Bột lá Rì rì có màu xanh rêu, không có mùi đặc trưng, vị hơi chát, thể chất mịn sau khi rây qua rây 0,15 μm . Khi soi có các cấu tử sau: Lông che chở đơn bào và lông che chở hình sao xuất hiện nhiều trong bột lá. Các tinh thể calci oxalate hình khối, tinh thể calci oxalate cầu gai và các hạt tinh bột xuất hiện rải rác. Ngoài ra, còn có mảnh mô mềm, mạch mạng, mạch xoắn, mạch vòng...

Bột thân

Bột thân có màu nâu, vị chát. Khi soi có các cấu tử sau: Mảnh bần, mạch xoắn, mạch điểm, cụm tế bào mô cứng, tinh thể calci oxalate cầu gai, hạt tinh bột.

Đặc điểm mã vạch ADN

DNA của mẫu HR được điện di trên gel agarose 2%. Đánh giá sơ bộ mẫu lá của mẫu HR đem đi chiết tách đều thu được DNA nguyên vẹn không bị đứt gãy.

Dựa trên các trình tự đã công bố, đoạn mồi được thiết kế và thành công khuếch đại đoạn rbcL bằng kỹ thuật PCR, tạo ra sản phẩm có kích thước 545 bp.

Sản phẩm có tỉ lệ A260/280 trong khoảng 1,8-2,0 được xem là đủ chất

lượng để tiến hành giải trình tự bằng Phương Pháp Sanger.

Trình tự DNA của *Homonoia riparia* được phân tích bằng phần mềm BioEdit 7.0.5:

```
GATATAAATTGACTTATTATACT
CCTGAATATGAAACCAAAGATAC
TGATATCTTGGCAGCATTCCGAG
TAACTCCTCAACCTGGAGTTCCG
CCTGAGGAAGCAGGAGCTGCAG
TAGCTGCTGAATCTTCTACTGGT
ACATGGACAACCTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGTCTTGATCGTT
ATAAAGGACGATGCTACCACATC
GAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAA
ATCAATATATTGCTTATGTAGCTT
ACCCCTTAGACCTTTTGAAGAA
GGTTCGGTTACTAACATGTTTACT
TCCATTGTGGGTAATGTATTTGG
GTTTAAAGCCCTACGCGCCCTAC
GTCTGGAGGATTTGCGAATCCCT
CCTGCTTATACTAAAACCTTTCCA
AGGGCCGCCTCACGGTATCCAAG
TTGAGAGAGATAAATTGAACAA
GTATGGTCGCCCTCTATTGGGTT
GTACTATTAAACCTAAATTGGGG
CTATCCGCTAAGAATTATGGTAG
AGCAGTTTATGAATGTCTACGCG
GTGGACTTGATTTTACA.
```

3.2. Kết quả giải trình tự gen

Từ mẫu lá Rì rì thu hái tại Quảng Ngãi, kết quả phân tích trình tự đoạn rbcL khuếch đại từ DNA ly trích có độ tương đồng lên đến 99,82% so với dữ liệu trình tự đoạn rbcL của mẫu đối chiếu *Homonoia riparia* trên Genbank.

Homonoia riparia ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcl)

Sequence ID: [AY794978.1](#) Length: 1408 Number of Matches: 1

Range 1: 38 to 579 [GenBank](#) [Graphics](#) [▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
996 bits(539)	0.0	541/542(99%)	0/542(0%)	Plus/Plus
Query 3	TATAAATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAGATACTGATATCTTGGCAGCA	62		
Sbjct 38	TATAAATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAGATACTGATATCTTGGCAGCA	97		
Query 63	TTCCGAGTAACCTCTCAACCTGGAGTTCGCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCAGTAGCTGCT	122		
Sbjct 98	TTCCGAGTAACCTCTCAACCTGGAGTTCGCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCAGTAGCTGCT	157		
Query 123	GAATCTTCTACTGGTACATGGACAACGTGTGGACCGATGGACTTACCAGTCTTGATCGT	182		
Sbjct 158	GAATCTTCTACTGGTACATGGACAACGTGTGGACCGATGGACTTACCAGTCTTGATCGT	217		
Query 183	TATAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAATCAATATATTGCT	242		
Sbjct 218	TATAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAATCAATATATTGCT	277		
Query 243	TATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCCGTTACTAACATGTTTACTTCC	302		
Sbjct 278	TATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCCGTTACTAACATGTTTACTTCC	337		
Query 303	ATTGTGGGTAAATGTATTTGGGTTTAAAGCCCTACGCGCCCTACGTCTGGAGGATTTGCGA	362		
Sbjct 338	ATTGTGGGTAAATGTATTTGGGTTTAAAGCCCTACGCGCCCTACGTCTGGAGGATTTGCGA	397		
Query 363	ATCCCTCCTGCTTATACTAAACCTTTC AAGGGCCGCTCACGGTATCCAAGTTGAGAGA	422		
Sbjct 398	ATCCCTCCTGCTTATACTAAACCTTTC AAGGGCCGCTCACGGTATCCAAGTTGAGAGA	457		
Query 423	GATAAATTGAACAAGTATGGTCGCCCTCTATTGGGTTGTACTATTAAACCTAAATTGGGG	482		
Sbjct 458	GATAAATTGAACAAGTATGGTCGCCCTCTATTGGGTTGTACTATTAAACCTAAATTGGGG	517		
Query 483	CTATCCGCTAAGAATTATGGTAGAGCAGTTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTT	542		
Sbjct 518	CTATCCGCTAAGAATTATGGTAGAGCAGTTTATGAATGTCTACGCGGTGGGCTTGATTTT	577		
Query 543	AC 544			
Sbjct 578	AC 579			

Hình 8. Kết quả đối chiếu trình tự giữa mẫu lá Rì rì (Query) và mẫu đối chứng (Sbjct).

Bảng 3. Mức độ tương đồng của 2 mẫu khi BLAST trên NCBI

Mẫu			Kết quả BLAST trên NCBI			Mã số
	Loài tương đồng	Độ che phủ trình tự	Giá trị E	% đồng nhất	Độ dài trình tự tham chiếu	
Lá Rì rì	<i>Homonoia riparia</i>	99%	0,0	99,82	1408	AY794978.1

4. Kết luận

Thông qua các thí nghiệm khảo sát hình thái thực vật, soi bột dược liệu và phân tích vi phẫu thân-lá, mẫu Rì rì thu hái tại Quảng Ngãi (Việt Nam) cho thấy những đặc trưng mang tính nhận dạng cho loài *Homonoia riparia*. Trong đó, tiêu biểu về vi phẫu học là sự xuất hiện của cung libe-gỗ ở gân giữa và nhiều lông che chở hình sao ở mặt dưới lá có điểm đặc biệt là cung line-gỗ ở gân giữa và lông che chở hình sao. Các cấu tử đặc trưng của bột dược liệu thấy được chủ yếu của lông che chở hình sao, hạt tinh bột, tinh thể calci oxalate, mạch xoắn... Cùng với đó, sự so sánh đối chiếu trình tự gen của mẫu Rì rì dựa trên cơ sở dữ liệu GenBank với mức độ tương đồng 99,82% đã khẳng định mẫu cây đang thực hiện khảo sát định danh chính là *Homonoia riparia* Lour., Euphorbiaceae. Kết quả thu được chính là cơ sở trong công tác kiểm tra nguyên liệu đầu vào cũng như là tiền đề cho những nghiên cứu chuyên sâu hơn về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của loài Rì rì này.

Tài liệu tham khảo

- [1] 1. Lee I. K., Kim J. H., Kim Y. S., et al. (2012), "Cycloartane-type triterpenes from the leaves of *Homonoia riparia* with VEGF-induced angiogenesis inhibitory activity", *Journal of natural products*, 75(7), 1312-1318
- [2] Fan X., Zhao X., Yang L., et al. (2014), "A new cycloartane-type triterpenoid saponin xanthine oxidase inhibitor from *Homonoia riparia* Lour.", *Molecules*, 19(9), 13422-13431
- [3] Pattasseril M. B., Kumar S. T., Kuppaswami S. (2015), "Determination of Anticancer Activity of the Selected Extracts of *Connarus Monocarpus* Linn., *Homonoia Retusa* and *Mathuka Neriifolia* (Moon) HJ Lam, on Hep G2 Hepatic Cells by *in vitro* MTT assay", *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, 6(3), 133-142.
- [4] Kanniparambil X. S., Haneefa S. M., Anand D. R. (2017), "Antioxidant and nephroprotective activities of the extract and fractions of *Homonoia riparia* Lour.", *Pharmacognosy Magazine*, 13(49), 25.
- [5] Doyle J.J. (1990), "Isolation of plant DNA from fresh tissue", *Focus*, 12, 13-15.
- [6] Võ Văn Chi (2012), *Từ điển Cây thuốc Việt Nam* tập II, NXB Y học, Hà Nội, tr.374-375
- [7] Sanger F., Nicklen S., Coulson A. (1977), "DNA sequencing with chain-terminating inhibitors", *Proceedings of the National Academy of Science*, 74(12), 5463-5467.

- [8] Hall T. A. (1999), “BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT”, *Nucleic acids symposium series*, [London]: Information Retrieval Ltd., c1979-c2000., pp. 95-98.
- [9] Kress & Erickson (2007) Kress WJ, Erickson DL. A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. PLOS ONE. 2007;2(6):e508. doi: 10.1371/journal.pone.0000508.

Ngày nhận bài: 16/6/2024

Ngày hoàn thành sửa bài: 24/6/2024

Ngày chấp nhận đăng: 24/6/2024