

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC, SINH THÁI  
HỌC VÀ KỸ THUẬT TẠO CÂY CON LOÀI TƠM  
TRÔNG (*Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton)  
TẠI TÂY NGUYÊN**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ NGÀNH SINH HỌC**

*Đà Lạt - 2022*

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

---

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC, SINH THÁI  
HỌC VÀ KỸ THUẬT TẠO CÂY CON LOÀI TƠM  
TRÔNG (*Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton)  
TẠI TÂY NGUYÊN**

**Chuyên ngành: Sinh thái học**

**Mã số: 9.42.01.20**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ NGÀNH SINH HỌC**

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:**

- 1. PGS.TS. NGUYỄN VĂN KẾT**
- 2. TS. PHAN XUÂN HUYÊN**

***Đà Lạt - 2022***

## LỜI CAM ĐOAN

Tác giả xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu khoa học của riêng tác giả dưới sự hướng dẫn của PGS.TS. Nguyễn Văn Kết và TS. Phan Xuân Huyền. Công trình được thực hiện trong thời gian từ năm 2016 đến 2021. Các số liệu và một số nội dung nghiên cứu trình bày trong luận án được thừa hưởng từ Nhiệm vụ Khoa học Công nghệ cấp Nhà nước do tác giả làm chủ nhiệm và một số kết quả đã được công bố đồng tác giả, phần còn lại chưa được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác. Tác giả xin hoàn toàn chịu trách nhiệm về những số liệu trong luận án này.

*Lâm Đồng, ngày ... tháng ... năm 20...*

**Tác giả**

## LỜI CẢM ƠN

Luận án này được hoàn thành tại Trường Đại học Đà Lạt. Trong quá trình thực hiện luận án, tác giả đã nhận được sự quan tâm, giúp đỡ và tạo điều kiện nhiều nhất của Ban lãnh đạo Trường Đại học Đà Lạt, Phòng Quản lý Đào tạo Sau đại học, Khoa Sinh học, Khoa Nông lâm - Trường Đại học Đà Lạt, Phòng Công nghệ Thực vật - Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, và Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

Tác giả xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Nguyễn Văn Kết và TS. Phan Xuân Huyền đã dành nhiều thời gian, công sức hướng dẫn và giúp đỡ tác giả trong học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án này.

Trong quá trình thực hiện luận án, tác giả đã nhận được sự hỗ trợ và góp ý về chuyên môn của Ban Lãnh đạo Viện, Bộ môn Giống và Công nghệ Sinh học, Bộ môn Kỹ thuật Lâm sinh, Trạm Lâm Viên - Viện Khoa học Lâm nghiệp Nam Trung Bộ và Tây Nguyên. Tác giả thực sự biết ơn những sự giúp đỡ đó.

Xin chân thành cảm ơn PGS. TS. Trần Văn Tiến, PGS. TS. Lê Bá Dũng, GS. TS. Nguyễn Ngọc Lâm, TS. Lưu Hồng Trường, TS. Nông Văn Duy, TS. Lê Cảnh Nam, TS. Hoàng Thị Bình, TS. Lê Ngọc Triệu, GS. TS. Nguyễn Minh Đức, TS. Nguyễn Giảng, TS. Phạm Trọng Nhân, TS. Phạm Ngọc Tuân, ThS. Lưu Thế Trung, ThS. Hoàng Thanh Trường, ThS. Giang Thị Thanh, ThS. Lê Hồng Én, KS. Trần Đăng Hoài, CN. Võ Thị Kim Nga và những người khác đã góp ý, hỗ trợ tác giả trong quá trình thu thập, xử lý số liệu và hoàn thành luận án.

Cuối cùng, tác giả xin gửi lời cảm ơn gia đình và những người thân đã luôn động viên, giúp đỡ và tạo điều kiện cho tác giả trong suốt quá trình học tập và hoàn thiện luận án.

**Tác giả**

**Nguyễn Thanh Nguyên**

## MỤC LỤC

<b>LỜI CAM ĐOAN</b> .....	<b>i</b>
<b>LỜI CẢM ƠN</b> .....	<b>ii</b>
<b>MỤC LỤC</b> .....	<b>iii</b>
<b>DANH MỤC BẢNG</b> .....	<b>vi</b>
<b>DANH MỤC HÌNH</b> .....	<b>viii</b>
<b>DANH MỤC VIẾT TẮT</b> .....	<b>x</b>
<b>TÓM TẮT</b> .....	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xiv</b>
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	<b>1</b>
1. Sự cần thiết của luận án .....	1
2. Mục tiêu của luận án .....	2
3. Ý nghĩa của luận án.....	3
4. Những đóng góp mới của luận án .....	3
5. Bố cục của luận án .....	3
<b>Chương 1. TỔNG QUAN VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU</b> .....	<b>4</b>
1.1. TRÊN THẾ GIỚI .....	4
1.1.1. Chi Mộc tinh ( <i>Urceola Roxb</i> ) và loài Tom trong ( <i>Urceola minutiflora</i> (Pierre) D.J.Middleton).....	4
1.1.2. Giá trị sử dụng của loài Tom trong .....	4
1.1.3. Đặc điểm sinh học .....	5
1.1.4. Đặc điểm sinh thái.....	5
1.1.5. Nghiên cứu về nhân giống .....	6
1.2. TRONG NƯỚC .....	10
1.2.1. Chi Mộc tinh ( <i>Urceola Roxb</i> ) và loài Tom trong ( <i>Urceola minutiflora</i> (Pierre) D.J.Middleton).....	10
1.2.2. Giá trị sử dụng của loài Tom trong .....	10
1.2.3. Đặc điểm sinh học .....	11
1.2.4. Đặc điểm sinh thái.....	11

1.2.5. Nghiên cứu về nhân giống .....	12
1.3. THẢO LUẬN VỀ VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU .....	15
<b>Chương 2. NỘI DUNG, PHƯƠNG PHÁP VÀ ĐIỀU KIỆN TỰ NHIÊN KHU VỰC NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>17</b>
2.1. Nội dung nghiên cứu.....	17
2.2. Phương pháp nghiên cứu .....	17
2.2.1. Phương pháp tiếp cận .....	17
2.2.2. Các phương pháp nghiên cứu sinh học, sinh thái và nhân giống vô tính .....	17
2.3. Điều kiện tự nhiên khu vực phân bố loài Tom trong .....	31
2.3.1. Huyện Ea H'leo - Đắk Lắk.....	31
2.3.2. Vườn quốc gia Yok Đôn - Xã Krông Na - Đắk Lắk.....	33
2.3.3. Huyện Đức Trọng - Lâm Đồng.....	34
2.3.4. Huyện Krông Pa - Gia Lai.....	35
<b>Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>37</b>
3.1. Đặc điểm sinh học loài Tom trong .....	37
3.1.1. Mô tả hình thái.....	37
3.1.2. Đặc điểm tái sinh tự nhiên .....	38
3.1.3. Thành phần dược liệu .....	40
3.2. Đặc điểm sinh thái loài Tom trong .....	43
3.2.1. Đặc điểm phân bố.....	43
3.2.2. Các yếu tố sinh thái tại nơi phân bố loài Tom trong .....	46
3.2.3. Cấu trúc quần xã thực vật nơi có Tom trong .....	50
3.2.4. Thành phần thực vật trong khu vực phân bố của cây Tom trong .....	57
3.2.5. Bản đồ phân bố quần thể Tom trong .....	59
3.3. Kỹ thuật nhân giống vô tính loài Tom trong .....	61
3.3.1. Nuôi cấy mô (in vitro) .....	61

3.3.2. <i>Giâm hom</i> .....	79
3.3.3. <i>Xây dựng hướng dẫn kỹ thuật nhân giống vô tính loài Tom trong...</i> .....	88
3.4. Ảnh hưởng của một số nhân tố đến khả năng sinh trưởng và phát triển cây con giai đoạn vườn ươm.....	93
3.4.1. <i>Ảnh hưởng của chế độ tưới nước</i> .....	93
3.4.2. <i>Ảnh hưởng của chế độ che sáng</i> .....	96
3.4.3. <i>Ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng</i> .....	98
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ</b> .....	<b>102</b>
1. Kết luận .....	102
2. Kiến nghị.....	103
<b>DANH MỤC BÀI BÁO, CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN</b> .....	<b>105</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b> .....	<b>106</b>
<b>PHỤ LỤC</b> .....	<b>123</b>

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Địa điểm phát hiện và thu mẫu cây Tom trong .....	20
Bảng 2.2. Các chỉ tiêu và phương pháp phân tích đất khu vực phân bố cây Tom trong..... .....	23
Bảng 2.3. Các chỉ tiêu phân tích vi sinh vật đất khu vực phân bố cây Tom trong và phương pháp thử.....	23
Bảng 3.1. Kết quả định tính, định lượng lyoniresinol-2 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid trong mẫu dược liệu Tom trong .....	42
Bảng 3.2. Kết quả ghi nhận một số yếu tố sinh thái tại nơi phát hiện cây Tom trong.....	44
Bảng 3.3. Tổng hợp đặc điểm phân bố loài Tom trong .....	45
Bảng 3.4. Kết quả phân tích hóa lý tính đất khu vực phân bố loài Tom trong .....	48
Bảng 3.5. Kết quả phân tích vi sinh vật khu vực phân bố loài Tom trong.....	49
Bảng 3.6. Kiểu thảm và một số đặc trưng của kiểu thảm.....	51
Bảng 3.7. Mật độ và sinh trưởng Tom trong theo kiểu thảm thực vật.....	53
Bảng 3.8. Thành phần loài thực vật trong khu vực phân bố của cây Tom trong.....	57
Bảng 3.9. Khu vực phân bố loài Tom trong ngoài tự nhiên .....	60
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của môi trường MS và Knudson C đến sự tái sinh chồi cây Tom trong sau 6 tuần nuôi cấy.....	61
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của BA trong môi trường MS đến sự tái sinh chồi .....	63
Bảng 3.12. Ảnh hưởng của Kinetin trong môi trường MS đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tom trong sau 6 tuần nuôi cấy.....	66
Bảng 3.13. Ảnh hưởng của môi trường MS có bổ sung và không bổ sung than hoạt tính đến sự sinh trưởng chồi cây Tom trong sau 6 tuần nuôi cấy .....	69
Bảng 3.14. Ảnh hưởng của IBA trong môi trường WPM đến sự tạo rễ <i>in vitro</i> cây Tom trong sau 4 tuần nuôi cấy.....	71



Bảng 3.15. Ảnh hưởng của giá thể đến sự thích nghi và sinh trưởng cây Tom trong <i>in vitro</i> chuyển ra ngoài vườn ươm sau 3 tháng nuôi trồng.....	75
Bảng 3.16. Ảnh hưởng của chất KTRR đến hom giâm cây Tom trong mùa khô sau 8 tuần theo dõi.....	79
Bảng 3.17. Ảnh hưởng của chất KTRR đến hom giâm cây Tom trong mùa mưa sau 8 tuần theo dõi.....	82
Bảng 3.18. So sánh các giá trị tốt nhất của 2 mùa.....	84
Bảng 3.19. Kết quả giâm hom cây Tom trong trên giá thể trong mùa khô sau 8 tuần ....	85
Bảng 3.20. Kết quả giâm hom cây Tom trong trên giá thể trong mùa mưa sau 8 tuần ...	87
Bảng 3.21. Ảnh hưởng của chế độ tưới nước tới khả năng sinh trưởng và phát triển cây Tom trong sau 90 ngày.....	94
Bảng 3.22. Ảnh hưởng của chế độ che sáng tới khả năng sinh trưởng và phát triển cây Tom trong sau 90 ngày.....	96
Bảng 3.23. Ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng tới khả năng sinh trưởng và phát triển cây Tom trong sau 90 ngày.....	99

## DANH MỤC HÌNH

Hình 2.1. Nguyên liệu cây Tom trong.....	19
Hình 2.2. Vật liệu thí nghiệm nhân giống cây Tom trong .....	26
Hình 3.1. Lá và mầm từ thân cây Tom trong .....	37
Hình 3.2. Hình ảnh hoa, quả và hạt cây Tom trong .....	38
Hình 3.3. Chồi cây Tom trong tái sinh từ các đoạn thân bò dưới mặt đất.....	39
Hình 3.4. Chồi cây Tom trong tái sinh từ hạt và đoạn thân sau khi cháy rừng .....	39
Hình 3.5. SKLM định tính kiểm nghiệm các mẫu dược liệu Tom trong.....	41
Hình 3.6. Cây Tom trong leo vượt tán cây gỗ.....	44
Hình 3.7. Cây Tom trong phân bố ở các địa hình ngoài tự nhiên.....	47
Hình 3.8. Bản đồ phân bố Tom trong.....	60
Hình 3.9. Chồi cây Tom trong trên môi trường MS và Knudson C .....	62
Hình 3.10. Chồi cây Tom trong trên môi trường MS có bổ sung BA sau 6 tuần nuôi cấy .....	65
Hình 3.11. Chồi cây Tom trong trên môi trường MS có bổ sung Kinetin sau 6 tuần nuôi cấy .....	68
Hình 3.12. Chồi cây Tom trong trên môi trường MS có bổ sung và không bổ sung than hoạt tính sau 6 tuần nuôi cấy.....	71
Hình 3.13. Cây Tom trong <i>in vitro</i> ra rễ trên môi trường WPM sau 30 ngày nuôi cấy...	74
Hình 3.14. Sự sinh trưởng của cây Tom trong <i>in vitro</i> trên các loại giá thể sau 3 tháng nuôi trồng.....	78
Hình 3.15. Kết quả giâm hom cây Tom trong trong mùa khô sau 8 tuần.....	81
Hình 3.16. Kết quả giâm hom cây Tom trong trong mùa mưa sau 8 tuần .....	83
Hình 3.17. Kết quả giâm hom cây Tom trong trong giá thể sau 8 tuần.....	86
Hình 3.18. Cây Tom trong ở các chế độ tưới nước khác nhau sau 90 ngày .....	95
Hình 3.19. Công thức ở chế độ tưới nước 4 ngày/lần sau 90 ngày theo dõi .....	96

Hình 3.20. Bố trí thí nghiệm che sáng cây Tom trong.....	97
Hình 3.21. Kết quả thí nghiệm che sáng cây Tom trong sau 90 ngày .....	98
Hình 3.22. Bố trí thí nghiệm chế độ dinh dưỡng cây Tom trong .....	100
Hình 3.23. Kết quả thí nghiệm chế độ dinh dưỡng cây Tom trong sau 90 ngày .....	101

## DANH MỤC VIẾT TẮT

<i>Từ viết tắt, ký hiệu</i>	<i>Nguyên nghĩa</i>
BA	6-Benzyl adenine
BHT	Butylated Hydroxytoluene
CT	Công thức
D <sub>00</sub>	Đường kính gốc
FSIH	Viện Khoa học Lâm nghiệp Nam Trung Bộ và Tây Nguyên
H <sub>g</sub>	Hom già
H <sub>lt</sub>	Chiều cao leo tới
H <sub>n</sub>	Hom non
H <sub>r</sub>	Tỷ lệ % hom ra rễ
H <sub>s</sub>	Tỷ lệ % hom sống
H <sub>vn</sub>	Sinh trưởng chiều cao
IAA	Indole-3-acetic acid
IBA	Indol butyric acid
IUCN	Tổ chức Bảo tồn thiên nhiên và Tài nguyên thiên nhiên Quốc tế
KIN	Kinetin
KTRR	Kích thích ra rễ
KTST	Kích thích sinh trưởng
MS	Murashige và Skoog, 1962
MSE	Sai số trung bình bình phương
NAA	Naphthalene acetic acid
NaOCl	Natri hypoclorit
NZD, NZM	Thuốc kích thích ra rễ thương phẩm dạng bột
OM	Hữu cơ

OTC	Ô tiêu chuẩn
P	Lân
SL	Số lượng rễ
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SSP	Super lân đơn
TDZ	Thidiazuron
TPCG	Thành phần cơ giới
VPD	Độ thiếu hụt áp suất
WHO	Tổ chức Y tế Thế giới
WPM	Woody plant medium
WWF	Tổ chức Quốc tế về bảo tồn thiên nhiên

## TÓM TẮT

Đề tài “Nghiên cứu đặc điểm sinh học, sinh thái học và kỹ thuật tạo cây con loài Tơ trong (*Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton) tại Tây Nguyên” được thực hiện từ năm 2016 đến năm 2021. Mục tiêu nghiên cứu là góp phần cung cấp cơ sở, thông tin dữ liệu khoa học về lĩnh vực sinh học, sinh thái và kỹ thuật nhân giống truyền thống cũng như nhân giống *in vitro* phục vụ bảo tồn và phát triển bền vững loài Tơ trong ở Tây Nguyên. Tơ trong là cây thân gỗ leo, sống lâu năm; cây thường mọc tập trung thành bụi lớn và chiều dài có thể lên đến 20 m. Có lá mọc đối, kích thước lá thay đổi tùy theo nơi mọc, phiến lá thuôn dài với chiều dài 3,5 - 7,5 cm, rộng 1,5 - 3,8 cm. Lá có màu xanh đậm, mặt lá nhẵn, có nhiều lông mềm ở hai mặt. Cây ra hoa nhiều lần và kéo dài từ tháng 4 - 8. Mùa quả vào tháng 6 - 10. Quả chín và bung từ tháng 1 - 2. Hạt nhỏ màu đen, có lông mào màu trắng ở đầu. Cây tái sinh từ hạt và chồi thân. Tơ trong được phát hiện ở Krông Pa (Gia Lai), Ea H’leo và VQG Yok Đôn (Đắk Lắk) và Đức Trọng (Lâm Đồng); ở độ cao từ 200 - 938 m, tập trung từ 300 - 500 m; trên đất sa thạch hoặc đất sét pha cát, pH đất dao động từ 6,50 - 6,81; hợp chất hữu cơ không cao từ 3,04 - 4,04%. Thành phần vi sinh vật trong đất khu vực phân bố loài phong phú như: *Azotobacter* sp., *Bacillus* sp., vi khuẩn phân giải xenlulô, *Trichoderma* và *Aspegillus* sp. Tơ trong phân bố trong 3 kiểu thảm chính là: (1): Rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới; với 2 kiểu phụ là Rừng khô thưa trên đất cát và sét pha cát và Quần thể thoái hóa thành trảng cỏ, cây bụi của rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới; (2): Rừng kín nửa rụng lá ẩm nhiệt đới; (3) Rừng trồng Bạch đàn (*Eucalyptus microcorys*). Mật độ cây Tơ trong trong các kiểu thảm khác nhau cũng có sự khác biệt rõ rệt. Thấp nhất với 300 cây/ha ( $D_{00}$ : 0,42 cm;  $H_{1t}$ : 1,5 m); trung bình là 530 cây/ha ( $D_{00}$ : 1,40 cm;  $H_{1t}$ : 4,83 m); và cao nhất là 3.650 cây/ha ( $D_{00}$ : 0,32 cm;  $H_{1t}$ : 0,20 m). Hầu hết các mẫu được liệu thu thập từ các vùng phân bố đều có hàm lượng

lyoniresinol-2 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid nhưng rất thấp. Nhân giống *in vitro* cây Tom trong trên môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BA hay 1 mg/l Kinetin là tốt nhất đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi. Trên cùng một môi trường khoáng có bổ sung và không bổ sung 1 g/l than hoạt tính, cây con đều sinh trưởng tốt và không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Sử dụng môi trường WPM bổ sung 1,0 mg/l IBA cho kết quả ra rễ cao nhất. Giá thể ra cây *ex vitro* sử dụng hỗn hợp 25% đất - 75% xơ dừa là phù hợp nhất để chuyển cây Tom trong *in vitro* ra điều kiện vườn ươm (*ex vitro*). Khi nhân giống bằng hom sử dụng chất IAA nồng độ 1 - 1,5% là tốt nhất. Giâm trên giá thể cát nên sử dụng hom già chưa hóa gỗ và giâm vào mùa nắng (từ tháng 12 đến tháng 4 năm sau), giâm cành trên giá thể 50% đất - 50% xơ dừa trong mùa mưa cho kết quả tốt nhất. Ở giai đoạn vườn ươm thành phần dinh dưỡng trồng và chăm sóc cây Tom trong là 87% đất + 10% phân chuồng + 3% lân; điều kiện che sáng tối ưu là 50% ánh sáng; và chu kỳ tưới nước là 4 ngày/lần.

Trên cơ sở các nghiên cứu trên, đề tài đã xây dựng được hướng dẫn kỹ thuật nhân giống vô tính cây Tom trong (*Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton).

## ABSTRACT

The topic "Research on biological, ecological characteristics and seedling production techniques of *Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton in the Central Highlands" was carried out from 2016 to 2021. The objective of the research is to contribute to providing scientific basis, information and data on the field of biology, ecology and propagation *in vitro* and *ex vitro* techniques for the conservation and sustainable development of *Urceola minutiflora* in the Central Highlands. *Urceola minutiflora* is a climbing, perennial woody plant; the tree usually grows in large bushes and can be up to 20 m long. There are opposite leaves, the leaf size varies depending on where it grows, the leaf blade is elongated with a length of 3.5 - 7.5 cm, a width of 1.5 - 3.8 cm. The leaves are dark green, the leaf surface smooth, with many soft hairs on both sides. The tree flowers many times and lasts from April to August. The fruit season is from June to October. The fruit ripens and bursts from January to February. Small black seeds, with white crest at the top. Plants regenerate from seeds and shoots. *Urceola minutiflora* were discovered in Krong Pa (Gia Lai), Ea H'leo and Yok Don National Park (Dak Lak) and Duc Trong (Lam Dong); at an altitude of 200 - 938 m, concentrated from 300 - 500 m; on sandstone or sandy clay soil, soil pH ranges from 6.50 - 6.81; organic compounds are not high from 3.04 - 4.04%. The composition of microorganisms in the soil in the area is rich in species such as: *Azotobacter* sp., *Bacillus* sp., cellulose-degrading bacteria, *Trichoderma* and *Aspegillus* sp. *Urceola minutiflora* is distributed in 3 main vegetation types: (1): Tropical dry broadleaf forest; with 2 sub-types: Sparse dry forest on sandy and clayey sandy soils and population degenerating into grasslands and shrubs of tropical dry broad-leaved broad-leaved forests; (2): Tropical moist semi-deciduous forest; (3) *Eucalyptus microcorys* plantation. The density of *Urceola minutiflora* in different vegetation types also has marked differences. The



lowest with 300 plants/ha ( $D_{00}$ : 0.42 cm;  $H_{lt}$ : 1.5 m); average is 530 trees/ha ( $D_{00}$ : 1.40 cm;  $H_{lt}$ : 4.83 m); and the highest is 3.650 trees/ha ( $D_{00}$ : 0.32 cm;  $H_{lt}$ : 0.20 m). Most of the medicinal samples collected from the distribution areas have very low lyoniresinol-2 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranoside content. *In vitro* propagation of *Urceola minutiflora* on MS medium supplemented with 0.5 mg/l BA or 1 mg/l Kinetin was best for shoot regeneration and growth. On the same mineral medium with and without addition of 1 g/l of activated carbon, the plantlets grew well and there was no statistically significant difference. For rooting *Urceola minutiflora*, WPM medium supplemented with 1.0 mg/l IBA should be used for the highest rooting results. *Ex vitro* growing media using a mixture of 25% soil - 75% coir is the most suitable for transferring *Urceola minutiflora in vitro* to nursery conditions (*ex vitro*). With propagating by cuttings, it is best to use IAA at a concentration of 1 - 1.5%. Cuttings on sand should use old cuttings that haven't turned into wood and cuttings in the dry season (from December to April next year), cuttings on 50% soil - 50% coir in the rainy season for the best results. At the nursery stage, the nutrient composition for planting and caring for *Urceola minutiflora* is 87% soil + 10% manure + 3% phosphorus; optimal shading condition is 50% light; and the watering cycle is every 4 days.

On the basis of the above studies, the topic has developed a technical guide for the clonal propagation of *Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton.

## MỞ ĐẦU

### 1. Sự cần thiết của luận án

Với điều kiện khí hậu đặc trưng nhiệt đới gió mùa nóng ẩm, thảm thực vật rừng ở Việt Nam rất phong phú và đa dạng, riêng nguồn tài nguyên cây dược liệu đã ghi nhận 5117 loài thực vật và nấm lớn có công dụng làm (Viện Dược liệu, 2016). Theo ước tính, ở Việt Nam có khoảng 3.200 loài đang được sử dụng làm thuốc, có tới 87,1% cây thuốc được biết có nguồn gốc hoang dã, chủ yếu ở vùng đồi núi (trung du đến núi cao) và chỉ có 12,9% cây (kể cả bản địa và nhập nội) được đưa vào trồng trọt, còn phần lớn khai thác tự nhiên (Võ Văn Chi, 2012). Đây là điều kiện thuận lợi để phát triển nguồn dược liệu, cung cấp nguồn nguyên liệu cho hoạt động sản xuất thuốc.

Tây Nguyên có diện tích tự nhiên 5,5 triệu ha, bao gồm các tỉnh: Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk, Đắk Nông và Lâm Đồng. Đây là vùng núi và cao nguyên có độ cao trung bình 500 - 800 m. Nhiệt độ trung bình năm từ 21 - 23°C. Rất nhiều loại cây thuốc thích nghi với điều kiện sinh thái đa dạng và phong phú của Tây Nguyên, đặc biệt là cây sâm Ngọc Linh. Ngoài ra, các cây như: Ngũ vị tử, Sơn tra, Dương quy, ... cũng có thể trồng và phát triển rất tốt (Nguyễn Minh Khởi, 2013).

Trong thời gian qua, công tác khai thác và phát triển các nguồn gen cây thuốc đã và đang được quan tâm nhằm phục vụ cho nhu cầu con người. Trong đó, một số loài cây thuốc xuất phát từ các bài thuốc dân gian, đặc biệt là từ cộng đồng dân tộc thiểu số ở khu vực Tây Nguyên được biết đến ngày một nhiều, trong đó có loài Tom trong (*Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton). Đặc biệt, sau khi có ghi nhận tích cực từ việc sử dụng loài này của đồng bào Tây Nguyên (Gia Lai và Đắk Lắk) thông qua một số bài thuốc, đặc biệt là bài thuốc Amakông làm tăng cường thể lực, hoạt động của thận và khả năng tình dục ở nam giới (Phạm Hoàng Hộ, 1999; Võ Văn Chi, 2012; Đỗ Tất Lợi, 2013).

Hiện nay, môi trường sống bị thu hẹp do ảnh hưởng của biến đổi khí hậu và các hoạt động chặt phá rừng. Ngoài ra, việc khai thác quá mức dẫn đến rất nhiều loài bị đe dọa tuyệt chủng. Ở Việt Nam, mỗi năm đã khai thác tận thu hàng trăm tấn dược liệu từ tự nhiên như: Kê huyết đằng, Cầu tích, Ngũ gia bì, Thiên niên kiện, Cát sâm để xuất khẩu sang Trung Quốc đã làm mất khả năng tái sinh tự nhiên, dẫn đến cạn kiệt nguồn dược liệu nhanh chóng. Rất nhiều loài cây thuốc như: Lan Kim tuyến, Bảy lá một hoa, Hoàng tinh vòng, Vàng đắng, ... đã trở nên rất hiếm hoặc thậm chí không còn tìm thấy trong tự nhiên (Viện Dược liệu, 2000). Tại khu vực Tây Nguyên, loài Tơ trong cũng đang bị khai thác rất mạnh và đang trong tình trạng bị đe dọa. Đứng trước tình hình đó, việc bảo tồn nguồn gen, các hệ sinh thái và sự đa dạng sinh học những loài có giá trị y học, đặc hữu và có nguy cơ tuyệt chủng là rất cấp bách và cần thiết.

Nhằm giải quyết những vấn đề nêu trên, luận án “**Nghiên cứu đặc điểm sinh học, sinh thái học và kỹ thuật tạo cây con loài Tơ trong (*Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton) tại Tây Nguyên**” đặt ra là cần thiết, nhằm góp phần cung cấp những dẫn liệu khoa học phục vụ cho công tác bảo tồn và duy trì bền vững nguồn gen này.

## **2. Mục tiêu của luận án**

+ **Mục tiêu chung:** Góp phần cung cấp cơ sở, thông tin dữ liệu khoa học về lĩnh vực sinh học, sinh thái và kỹ thuật nhân giống truyền thống cũng như nhân giống *in vitro* phục vụ bảo tồn và phát triển bền vững loài Tơ trong ở Tây Nguyên.

### + **Mục tiêu cụ thể:**

- Xác định được một số đặc điểm sinh học, sinh thái học và kỹ thuật tạo cây con loài Tơ trong.
- Đề xuất được hướng dẫn kỹ thuật nhân giống vô tính tạo cây con, góp phần phát triển loài Tơ trong ở khu vực Tây Nguyên.

### **3. Ý nghĩa của luận án**

#### **3.1. Ý nghĩa khoa học**

- Bổ sung, hoàn thiện các thông tin về đặc điểm sinh học, sinh thái học và kỹ thuật nhân giống loài Tôm trơng trong giai đoạn hiện nay.

- Kết quả của đề tài là cơ sở làm tài liệu tham khảo, nghiên cứu cho các nhà khoa học, ... về đặc điểm sinh học, sinh thái học và kỹ thuật trồng cây Tôm trơng.

#### **3.2. Ý nghĩa thực tiễn**

Xác định được một số biện pháp kỹ thuật cơ bản về nhân giống vô tính và tạo cây con Tôm trơng.

### **4. Những đóng góp mới của luận án**

- Bổ sung đặc điểm sinh học và sinh thái học của loài Tôm trơng.
- Đánh giá được khả năng nhân giống vô tính tạo cây con từ nuôi cấy mô (*in vitro*) và từ hom.

### **5. Bố cục của luận án**

Luận án gồm 152 trang, trong đó có 25 hình và 26 bảng. Bố cục bao gồm: Mở đầu: 03 trang; Chương 1: Tổng quan vấn đề nghiên cứu: 13 trang; Chương 2: Nội dung, phương pháp và điều kiện tự nhiên khu vực nghiên cứu: 19 trang; Chương 3: Kết quả nghiên cứu và thảo luận: 60 trang; Kết luận và kiến nghị: 03 trang và Phụ lục.

## Chương 1

### TỔNG QUAN VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

#### 1.1. TRÊN THẾ GIỚI

##### ***1.1.1. Chi Mộc tinh (Urceola Roxb) và loài Tom trong (Urceola minutiflora (Pierre) D.J.Middleton)***

Chi Mộc tinh thuộc họ Trúc đào (Apocynaceae) hiện bao gồm các loài của chi *Urceola* và một số loài của chi khác nhập vào như: *Chavartnesia*, *Ecdysanthera*, *Parabarium*, *Xylinabaria* và *Xylinabariopsis*. Chi *Urceola* có khoảng 15 loài phân bố chủ yếu ở các vùng nhiệt đới Châu Á, trong đó 8 loài được biết có ở Trung Quốc (Li et al., 1995), 8 loài có ở Lào (Newman et al., 2007) và Thái Lan có 6 loài (David J. Middleton, 1994). Theo trang <http://powo.science.kew.org/> của Royal Botanic Gardens, Kew (truy cập ngày 14 tháng 9 năm 2022) loài Tom trong có tên khoa học là *Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton, thuộc chi *Urceola* Roxb. Tên loài là được chấp nhận và loài có phân bố tự nhiên ở vùng Đông Dương, cụ thể là: Campuchia, Lào, Thái Lan và Việt Nam.

##### ***1.1.2. Giá trị sử dụng của loài Tom trong***

Loài Tom trong có tác dụng làm giảm acid uric và cholesterol máu, chống oxy hóa, chống loét, chống nấm, chống xơ vữa động mạch, làm bất hoạt những chất độc tế bào, điều hòa miễn dịch, kháng ung thư, cải thiện lưu thông tuần hoàn và mạch vành tim, gan, ...

Một nghiên cứu liên quan đến bệnh tim mạch, tiểu đường và ung thư ở Thái Lan cho thấy, trong y học cổ truyền khi sàng lọc chiết xuất từ 40 cây khác nhau, các hoạt chất chống oxy hóa được đo bằng Trolox. Trong những loại cây nghiên cứu, nhóm tác giả phát hiện các hoạt động chống ôxy hóa của cây *Xylinbaria minutiflora*, cây Cỏ chanh lương (*Leptocarpus disjunctus*), cây Chóc máu (*Salacia chinensis*), Cam thảo cây (*Albizia myriophylla*) và cây Tom trong

cao hơn những loại khác. Trong đó, hoạt chất chống oxy hóa điều trị bệnh tiểu đường của cây Tơ trong khá cao 7,09 mM/g (Attakorn Palasuwan and Suphan Soogarun, 2014).

Mới đây, Rachpirom et al. (2022) đã phát hiện trong cây Tơ trong có 4 thành phần hoạt chất: Phenolic, Flavonoid, Terpenoid và Anthocyanin với hàm lượng khá cao tương ứng: 340,65  $\mu\text{g/g}$  khối lượng khô; 30,99 mg/g khối lượng khô; 22173,27 g/g khối lượng khô và 10,85 mg/100g mẫu. Hoạt động chống oxy hóa trong cây Tơ trong cũng đạt 6,42  $\mu\text{g/mL}$  so với ascorbic và BHT chuẩn. Ngoài ra, tác dụng khử sắt của Tơ trong cũng rất tốt 444 mg/g khối lượng khô tương ứng.

### ***1.1.3. Đặc điểm sinh học***

Tái sinh rừng là một quá trình sinh học mang tính đặc thù của hệ sinh thái rừng mưa nhiệt đới; tái sinh rừng thúc đẩy việc hình thành cân bằng sinh học trong rừng nhiệt đới, đảm bảo cho rừng tồn tại liên tục. Có thể nói tái sinh rừng là tiền đề của diễn thế rừng, giúp cho rừng luôn ở trạng thái vận động. Nghiên cứu đặc điểm tái sinh rừng có thể làm sáng tỏ quá trình tồn tại và phát triển của rừng trong quá khứ, hiện tại và trong tương lai (Phùng Ngọc Lan, 1986).

Phùng Ngọc Lan (1986) đã chỉ ra hai đặc điểm tái sinh phổ biến của rừng mưa nhiệt đới đó là tái sinh phân tán, liên tục đối với các loài cây chịu bóng và tái sinh vệt đối với các loài cây ưa sáng.

Xúc tiến tái sinh tự nhiên và nhân tạo là một giải pháp lâm sinh chủ đạo trong phục hồi rừng nhiệt đới (Lieth and Mooney, 1991; Kamo et al., 2002; Lamb et al., 2005).

### ***1.1.4. Đặc điểm sinh thái***

Các dạng sống được mô tả là rất đa dạng trong rừng mưa nhiệt đới bao gồm: Cây thân gỗ, thân thảo, dây leo, phụ sinh, ký sinh, ... và chúng có mối

quan hệ chặt chẽ với nhau trên cơ sở các mối quan hệ sinh thái, ... (Richards, 1952; Odum, 1971; Baur, 1976).

Hệ sinh thái rừng có mối quan hệ chặt chẽ với môi trường xung quanh và ngược lại, các tác động của nhân tố sinh thái ảnh hưởng tổng hợp đến phân bố, sinh trưởng của rừng. Các nhân tố sinh thái trong các nhóm khí hậu, đất đai, địa hình, nước có mối quan hệ qua lại và ảnh hưởng đến sinh trưởng cây rừng, tái sinh cây rừng (Richards, 1952; Odum, 1971).

Khoa học về sinh thái ngày nay trở nên rất quan trọng, nó nghiên cứu các yêu cầu sinh thái của sinh vật để giúp cho việc bảo tồn và phát triển cá thể cũng như quần thể; hoặc giúp phục hồi các chức năng sinh thái dựa vào sinh vật. Mối quan hệ giữa thực vật với môi trường là một nội dung nghiên cứu quan trọng để duy trì, bảo tồn và phát triển cá thể và quần thể. Thực tế cho thấy với sự đa dạng loài, quần xã thực vật rừng, các yêu cầu sinh thái của chúng vẫn còn nhiều bí ẩn chưa được khám phá. Vì vậy nghiên cứu các yêu cầu sinh thái của thực vật rừng, cá thể, quần xã thực vật là nội dung còn rộng mở và cần thiết cho bảo tồn và phát triển rừng bền vững (Odum, 1971).

Baur (1976) đã nghiên cứu ảnh hưởng của các nhân tố sinh thái đến tái sinh tự nhiên bao gồm nhân tố ánh sáng (thông qua độ tàn che của rừng), độ ẩm của đất, kết cấu quần thụ, cây bụi, thảm tươi và đã chỉ ra rằng nhân tố ánh sáng ảnh hưởng mạnh đến sinh trưởng của cây tái sinh.

Nghiên cứu phát hiện các mối quan hệ giữa các nhóm nhân tố sinh thái và ảnh hưởng tổng hợp của chúng đến phân bố, sinh trưởng, tái sinh rừng là một lĩnh vực khoa học rộng và quan trọng phục vụ quản lý và bảo tồn hệ sinh thái rừng bền vững. Tuy nhiên các mối quan hệ sinh thái và tác động đến rừng thường phức tạp, do đó chưa có nhiều nghiên cứu toàn diện.

### ***1.1.5. Nghiên cứu về nhân giống***

#### ***1.1.5.1. Phương pháp nhân giống bằng hom***

Trước đây phương pháp nhân giống hữu tính khá phổ biến và được sử dụng rộng rãi. Tuy nhiên trong quá trình nhân giống, một số yếu tố nội sinh và ngoại sinh đã ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng của cây con. Để khắc phục được những hạn chế của nhân giống hữu tính, phương pháp nhân giống vô tính đã được nghiên cứu phát triển. Theo báo cáo của National Medicinal Plants Board (2008) ở Ấn Độ, kỹ thuật nhân giống bằng phương pháp giâm hom có thể được thực hiện với sự hỗ trợ của hormone kích thích ra rễ.

Nghiên cứu trên các loài thực vật khác cho thấy rằng giá thể giâm cành trực tiếp hoặc tuổi của cây được cho là những yếu tố quan trọng để nhân giống thành công bằng giâm cành (Wamatu and King'oro, 1992). Phản ứng của các kiểu gen khác nhau cũng khác nhau ở Chickpea (Collard et al., 2002). Cuối cùng, có bằng chứng cho thấy mật ong có chất khử trùng và đã được sử dụng để thúc đẩy quá trình ra rễ ở cây giâm cành (Balabushka, 1984, 1985).

Ảnh hưởng của độ ẩm đến sinh trưởng của thực vật đã được Hoffman (1979) đề cập. Ảnh hưởng của độ ẩm không khí đến sự phát triển và hình thái thực vật trước đây ít được chú ý (Mortensen, 1986). Hơn nữa, ảnh hưởng của độ ẩm đối với sự phát triển của cây trồng trong nhà kính có vẻ khác nhau tùy theo các loài được thử nghiệm (Ket, 2003; Mortensen, 2000).

Trong nhiều loại cây nông nghiệp, độ ẩm không ảnh hưởng ở các mức từ 500 - 1.500 Pa VPD, trong một số trường hợp khi VPD cao hơn có thể làm giảm tốc độ quang hợp (Ket, 2003; Leach, 1979; Rawson and Begg, 1977). Sự phát triển của một số loài trong chậu thường ít bị ảnh hưởng khi VPD giảm từ 1.000 - 400 Pa (Mortensen and Gislerød, 1990).

Nhân giống sinh dưỡng tạo cơ hội tốt nhất để nhân các cây có giá trị trong trồng trọt (Mialoundama et al., 2002). Các cành giâm được nhân giống trong mùn cưa có xử lý hormone tạo ra rễ dài và mảnh (Owuor et al., 2009). Việc sử dụng hormone NAA có xu hướng làm tăng tốc độ phát triển của rễ. Những phát



hiện tương tự đã được báo cáo bởi Ofori et al. (1996) trong khi tạo rễ *Milicia excelsa*.

Trong số các kích thích tố tạo rễ ngoại sinh, NAA được chứng minh là đáng tin cậy trong việc ra rễ của cành giâm. Theo Hartmann et al. (1997), có những hợp chất bên trong cành giâm như phenolics tương tác với auxin để thúc đẩy sự ra rễ và tăng chiều dài của rễ. Một số loài có xu hướng ra rễ tốt hơn trong một số chất nền nhất định có hoặc không có xử lý hormone, và điều này có liên quan đến tình trạng thích nghi điều kiện sống ẩm hay khô hạn (Mialondama et al., 2002; Blythe et al., 2004). Tuy nhiên, NAA cũng có thể ức chế quá trình ra rễ cành giâm khi sử dụng với nồng độ cao cho cây *Oxalis corniculata* khi phun qua lá (Holt and Chism, 1988). Các nhà nghiên cứu đã chứng minh rằng cành giâm có thể ra rễ với sự trợ giúp của auxin trong điều kiện phun sương (Shamet and Handa, 1996). Tuổi của cành giâm cũng có đáp ứng khác nhau khi giâm, hầu hết các nghiên cứu đều cho rằng, với các cây thân gỗ, các đoạn cành già (dạng bánh tẻ) và cành non khi giâm đều có kết quả khác nhau. Ảnh hưởng của vị trí đốt nơi hom được lấy, số lượng lá còn lại trên mỗi cành giâm và cường độ ánh sáng đối với sự ra rễ và tăng trưởng của cây non cũng đã có nhiều nghiên cứu (Park et al., 2011). Phát hiện này sẽ được chứng thực thêm khi tiến hành một thử nghiệm khác với các thông số và phương pháp chăm sóc bổ sung như tần suất tưới nước khác nhau, nhiệt độ che phủ khác nhau, môi trường đất, chiều dài cành giâm, nguồn giống, các kích thích tố sinh trưởng khác, thời điểm thu hái cành giâm, vị trí trồng và tuổi của nguồn cành giâm. Đặc biệt, cây trồng được thực hiện thông qua việc giâm cành sẽ giống về mặt di truyền với cây mẹ, còn cây trồng từ hạt có thể có sai dị về hình thái. Giâm cành là kỹ thuật được sử dụng rộng rãi nhất để tái tạo cây "nguyên mẫu".

### 1.1.5.2. Phương pháp nhân giống *in vitro*

Ứng dụng công nghệ sinh học - nuôi cấy mô tế bào thực vật trong nhân giống vô tính thực vật có thể khắc phục được những hạn chế của phương pháp nhân giống vô tính truyền thống.

Philip et al. (1992) cho rằng tiềm năng phát sinh hình thái của mẫu cấy đầu chồi của cây Tiêu đen (*Piper nigrum*) đã được khảo sát và mô tả một phương pháp nhân giống thông qua tạo chồi cho kết quả tốt. Việc kết hợp các dạng môi trường, chất điều hòa sinh trưởng và xử lý khử trùng khác nhau cũng đã thực hiện và so sánh. Các vấn đề về kỹ thuật trong nuôi cấy mô đôi khi xảy ra, có thể do các dịch tiết nội sinh của mô nuôi cấy gây chết hoặc ức chế sự tái sinh chồi của mẫu cấy.

Sự phát triển của cây *in vitro* khi chuyển sang chăm sóc ở điều kiện nhà kính hay ở điều kiện đồng ruộng đã được Preece and Sutter (1991) và nhiều tác giả đã nghiên cứu. Satheesh and Bhavanandan (1988) báo cáo rằng khi các cây *in vitro* của *Plumbago rosea* được chuyển sang chậu chứa hỗn hợp đất và cát 1 : 1 trong điều kiện nhà kính, khoảng 60% số cây sống sót. Tỷ lệ sống cao (96%) được ghi nhận khi các cây Bán hạ bắc (*Pinellia ternata*) được cấy vào hỗn hợp 1 : 2 : 1 của vermiculite : đất mùn : rêu than bùn (Tsay et al., 1989). Jha and Sen (1985) báo cáo rằng trước khi chuyển vào đất, tất cả rễ của các cây con *Bowiea volubilis* được duy trì trong 4 - 6 tuần trong môi trường MS với 0,5% sucrose và ủ ở 24 - 30°C trong 4 tuần để cứng lại. Sau 4 tuần, cây con được chuyển sang đất và cho thấy tỷ lệ sống sót là 80%. Jha, S., and Jha, T.B. (1989) ghi nhận khả năng sống sót cao nhất của *Cephaelis ipecacuanha* khi cây được duy trì trong thời gian 4 tuần trong môi trường MS lỏng và sau đó chuyển sang điều kiện nhà kính. Saxena et al. (1998) báo cáo rằng các cây con có rễ của *Psoralea corylifolia* đã được chuyển thành công sang hỗn hợp đất và cát theo tỷ lệ 1 : 1 và khoảng 95% số cây tái sinh sống sót trong nhà kính. Rout et al.

(1999) báo cáo rằng khoảng 95% cây con *in vitro* của *Plumbago zeylanica* sống sót trong nhà kính trong vòng 2 - 3 tuần kể từ khi ổn định độ ẩm tương đối 85%. Mỗi quan hệ giữa các tác động của độ thoáng khí trong môi trường giam cầm, nhiệt độ và cường độ ánh sáng đến sự ra rễ của cành giam trạng nguyên cũng được nghiên cứu (Gislerød, 1983).

## 1.2. TRONG NƯỚC

### 1.2.1. Chi Mộc tinh (*Urceola Roxb*) và loài Tom trong (*Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton)

Theo Trần Thế Bách và Bùi Thu Hà (2017) chi *Urceola* có 9 loài được ghi nhận ở Việt Nam là: *U. huaitingii*, *U. latifolia*, *U. Micrantha*, *U. minutiflora*, *U. napeensis*, *U. quintaretii*, *U. rosea*, *U. tournieri*, và *U. xylinabariopsoides*.

Tom trong hay còn gọi là Tom trong Atao Nenso - là tên thường gọi của đồng bào dân tộc địa phương ở Buôn Đôn (Đắk Lắk) gọi cho 1 trong 3 thành phần chính của bài thuốc Ama kông, được David J. Middleton (1994) xác định có tên khoa học là *Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton. Tên phổ biến của loài trong các tài liệu khoa học khác là Mộc tinh hoa nhỏ (Phạm Hoàng Hộ, 2000).

### 1.2.2. Giá trị sử dụng của loài Tom trong

Trong thân, lá và rễ Tom trong có thành phần hóa học bao gồm các nhóm hợp chất: Triterpenoid tự do, alkaloid, antraglycosid, flavonoid, polyphenol, saponin, tannin, acid hữu cơ và các chất khử (Đỗ Văn Dũng, 2007; Nguyễn Thu Trang, 2012).

Qua quá trình chiết xuất các thành phần hóa học từ phân đoạn ethyl aetat đã phân lập được hợp chất cycloolivil; và phân đoạn *n*-butanol đã phân lập được 2 hợp chất là lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid và 4-hydroxy-2,3-

bis(4',4''-dihydroxy-3',5',3'',5''-tetramethoxybenzyl) butyl  $\beta$ -D - glucopyranosid (Nguyễn Phương Thảo, 2013).

Hợp chất lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid có hoạt tính chống oxy hóa, chống các gốc tự do, làm giảm khả năng kết tập tiểu cầu của thrombin, nhiều nghiên cứu cho thấy cyclooolivil có thể ngăn ngừa các biến chứng huyết khối. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu cho thấy một số cây chứa lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid cho tác dụng kháng viêm, kháng khối u (Shi et al., 2008; Yu et al., 2011; Xiang et al., 2012).

### **1.2.3. Đặc điểm sinh học**

Tom trong là loài dây leo, thân gỗ cao đến 20 m, có nhựa mủ trắng; rễ to, cứng có mùi thơm; thân mảnh, không lông. Lá có phiến dài 5 - 10 cm, rộng 0,5 - 4 cm, màu xám đậm, có đốm mặt trên, có lông và đốm mặt dưới. Hoa nhỏ, dạng chùm dày, mảnh; đài có vảy ở đáy; vành hình chén, ống ngắn hơn tai, tràng phụ có 5 vảy nhỏ, nhị 5. Mang nang mảnh, dài 5 - 10 cm. (Phạm Hoàng Hộ, 1999; Võ Văn Chi, 2012; Đỗ Tất Lợi, 2013). Quả thuôn nhọn, xếp song song, có phiến, dài 3,8 - 8 cm, rộng 0,7 - 0,9 mm. Hạt mỏng 8,5 - 9 x 3,3 - 5.2 mm, có lông mao dài 1,9 - 2,7 cm (David J. Middleton, 2014).

### **1.2.4. Đặc điểm sinh thái**

Tom trong phân bố ở Thái Lan, Campuchia, Lào và Việt Nam. Loài thường xuất hiện ở những khu vực khô hạn, bụi rậm hoặc trong rừng thường xanh ở độ cao từ 400 m trở lên (David J. Middleton, 2014). Ở Việt Nam Tom trong thường mọc hỗn giao trong rừng lá rộng thường xanh hay nửa rụng lá, ven suối hay khe - nơi có độ ẩm cao, đất có độ mùn cao hay cát pha sét, độ kiềm cao với pH từ 7,5 đến 8,5 (Phạm Hoàng Hộ, 2000; National Medicinal Plants Board, 2008; Võ Văn Chi, 2012; Đỗ Tất Lợi, 2013).

### **1.2.5. Nghiên cứu về nhân giống**

#### **1.2.5.1. Phương pháp nhân giống bằng hom**

Phần lớn các loài thực vật đều sinh sản bằng con đường hữu tính, tuy nhiên các phương pháp sinh sản vô tính như: Chiết, ghép, nuôi cấy mô tế bào, giâm hom cũng có thể thực hiện được. Nhờ có phương thức sinh sản vô tính mà thực vật có thể tái tạo lại mình từ các phần của cơ thể: Bằng thân như dây Khoai lang (*Sweet potato*), bằng rễ như cây Huyết đằng lông (*Butea superba*), Đẳng sâm (*Codonopsis javanica*), ...

Trong các phương pháp sinh sản vô tính, giâm hom là hình thức phổ biến nhất và là một trong những phương pháp có hiệu quả cho việc lưu giữ, bảo vệ và duy trì nguồn giống. Nhân giống bằng hom cho hệ số nhân giống lớn, ít tốn kém nên được dùng phổ biến trong nhân giống cây rừng, cây cảnh và cây ăn quả. Việc nghiên cứu giâm hom đã được thực hiện nhiều và thành công trên các đối tượng cây rừng khác nhau như: Pơ mu (*Fokienia hodgisi*), Bách xanh (*Calocedrus macrolepis*), Thông đỏ (*Taxus wallichiana*) (Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2001); Hồng tùng (*Dacrydium elatum*) (Nguyễn Hoàng Nghĩa và Trần Văn Tiến, 2002, 2004).

Khi nghiên cứu về ảnh hưởng của nhân tố ánh sáng và nước đến sinh trưởng cây con Tom trong ở vườn ươm tại Lâm Đồng của Ngô Bảo Uyên (2016). Trong nghiên cứu cho thấy, cây Tom trong phát triển thích hợp trên loại đất cát đến thịt nhẹ với pH từ 6,22 - 9,39. Nhiệt độ dao động từ 24,5 - 29,3°C và độ ẩm từ 65 - 88%. Cây phân bố chủ yếu ở kiểu rừng thưa cây họ Dầu ở độ cao từ 294 - 938 m, trên các dạng địa hình bằng phẳng hoặc đồi dốc thấp < 15°.

Từ nghiên cứu của Ngô Bảo Uyên (2016) cho thấy cây Tom trong có khả năng tái sinh tự nhiên từ hạt và từ chồi (cả chồi gốc và chồi rễ), cây có khả năng tái sinh chồi sau lửa rừng cháy qua.

Khi nghiên cứu trên cây Cà gai leo (*Solanum procumbers*) của Phùng Thi Thu Hà và cs (2017) cho thấy, nhân giống bằng giâm cành bánh tẻ cho số lượng cây giống nhanh, nhiều vào mọi thời điểm trong năm.

Mới đây, một nghiên cứu của Phan Tiên Dũng và cs (2022) trên cây Chè dây. Nhóm tác giả cho biết, khi nhân giống cây Chè dây nên sử dụng NAA nồng độ 1.000 ppm đạt kết quả nhân giống là tốt nhất và đây là cơ sở cho các thiết kế thí nghiệm tối ưu cho nhân giống cây Chè dây sau này.

Như vậy, nhìn chung phương pháp nhân giống bằng hom đã được thực hiện thành công trên nhiều đối tượng khác nhau như: Cây thân gỗ, thân bò leo và cả cây bụi. Việc nhân giống cũng dễ dàng với các chồi ngọn, chồi bánh tẻ hay thậm chí là những đoạn rễ. Ngoài ra, một số nghiên cứu cũng cho thấy việc chọn lựa đoạn thân già hay non cũng có ảnh hưởng đến chất lượng cũng như thời gian ra rễ. Chính vì vậy, phương pháp nhân giống bằng hom là một kỹ thuật cần được áp dụng rộng rãi nhờ tính ưu việt và không tốn quá nhiều chi phí.

#### 1.2.5.2. Phương pháp nhân giống *in vitro*

Nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô (*in vitro*) chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố từ quá trình nhập mẫu đến khi hình thành cây hoàn chỉnh. Những chất góp phần quan trọng phải kể đến là nhóm chất điều hòa sinh trưởng, ngoài ra các chất dinh dưỡng như khoáng vi lượng, đa lượng, điều kiện nuôi cấy, ... cũng có vai trò quan trọng (Bùi Trang Việt, 2002; Dương Công Kiên, 2002; Nguyễn Văn Uyển, 1984).

Khi nghiên cứu về nhân giống, sự hình thành và tăng sinh tốt nhất của mẫu cấy đầu chồi thu được trên môi trường MS chứa 1,5 mg/l BA; sự tăng trưởng và phát triển tiếp theo của các nhánh bên tốt nhất trên môi trường chứa 1,5 mg/l BA cộng với 3,0 mg/l IBA. Adenine sulphat ức chế số lượng mẫu cấy có biểu

hiện tái sinh nhưng làm tăng số lượng chồi trên mỗi mẫu tái sinh. Các chồi ra rễ trên môi trường có hàm lượng khoáng giảm 50% có chứa 1 mg/l NAA.

Rất nhiều nghiên cứu của các tác giả trong nước cũng đã công bố liên quan đến việc ứng dụng kỹ thuật vi nhân giống cây thành công, nhưng không phải là các loài cây thân leo như Tom trong, ví dụ: Nghiên cứu của Bùi Văn Thắng (2017) về nhân giống *in vitro* cây Hà thủ ô đỏ cho thấy, mẫu được khử trùng bằng cồn 70% trong 1 phút và dung dịch  $\text{HgCl}_2$  0,1% trong 6 phút. Mẫu sau đó được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 0,2 mg/l BA và 30 g/l sucrose, tỷ lệ nảy chồi đạt 48,53%. Tái sinh cụm chồi với môi trường MS bổ sung 1 mg/l BA, 0,3 mg/l KIN, 0,2 mg/l NAA và 30 g/l sucrose cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 9,1 chồi/mẫu sau 4 tuần nuôi cấy. Chồi ra rễ 100%, số rễ trung bình 5,58 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình 4,68 cm khi nuôi trên môi trường MS bổ sung 0,2 mg/l IBA, 0,1 mg/l NAA và 20 g/l sucrose sau 4 tuần nuôi.

Kết quả nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Đẳng sâm (*Codonopsis javanica*) từ mô sẹo của Nguyễn Thị Tường Vi và cs. (2018) đã chỉ ra rằng: Cắt đoạn thân (1 - 1,5 cm) cây Đẳng sâm *in vitro* được dùng tạo mô sẹo trên môi trường MS bổ sung NAA nồng độ từ 1 mg/l và TDZ 0,1 mg/l sau 4 tuần nuôi cấy 85,33% mẫu cảm ứng tạo mô sẹo tốt. Với môi trường MS bổ sung BA 1 mg/l và NAA 0,2 mg/l 82,67% mẫu cảm ứng tạo chồi cao nhất với 9,92 chồi/mẫu. Chồi được tiếp tục nuôi cấy sau 4 tuần có bổ sung IBA 1 mg/l, tỷ lệ mẫu tạo rễ đạt 88,68% với 4,33 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình đạt được là 8,27 cm.

Khi nghiên cứu về nhân giống *in vitro* cây Lan gấm (*Anoectochilus lylei*) (Phan Xuân Huyền và cs, 2016) trong môi trường MS bổ sung 1 mg/l BA cho kết quả tốt nhất đến sự tái sinh chồi sau 60 ngày nuôi cấy, với số chồi 5,7 chồi/mẫu, chiều cao chồi 3,72 cm. Cũng với môi trường MS khi bổ sung 0 - 2 mg/l NAA cho tỷ lệ tái sinh rễ 100% sau 30 ngày nuôi cấy.

Phan Xuân Huyền và cs. (2017) nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Sâm bô chính (*Hibicus sagittifolius*) thông qua nuôi cấy chồi ngủ đốt thân đã sử dụng chất kích thích sinh trưởng BA, kết quả chỉ ra rằng, môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l BA là tốt nhất đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây từ đốt thân cây Sâm bô chính, với chiều cao cây 3,61 cm, số chồi 4 chồi/mẫu.

Tương tự, với nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pubescens*) của nhóm tác giả Nguyễn Thị Thanh Hằng và cs. (2018). Kết quả cho thấy, môi trường MS bổ sung 1 mg/l BA, 30 g/l sucrose, 8g/l agar, pH 5,8 là tốt nhất đến sự tái sinh chồi *in vitro*, với chiều cao chồi 1,84 cm, số chồi 10,5 chồi/mẫu. Môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l TDZ, 30 g/l sucrose, 8 g/l agar, pH 5,8 là tốt nhất đến sự tái sinh chồi *in vitro*, với chiều cao chồi 1,99 cm, số chồi 13,8 chồi/mẫu. Nồng độ IBA từ 0 - 1 mg/l đều thích hợp đến sự tái sinh rễ *in vitro* cây Giảo cổ lam, với tỷ lệ tái sinh rễ đạt 100%.

Như vậy, công nghệ sinh học thực vật ngày càng phát triển và được ứng dụng rộng rãi trong đời sống, đặc biệt là trong công nghệ nhân giống thực vật. Kỹ thuật nhân giống *in vitro* đã trở nên phổ biến giúp cho con người có thể nhân giống cây trồng nhanh và có độ đồng đều cao. Ngày nay, kỹ thuật này còn giúp cho việc phục hồi các nguồn gen quý hiếm, có nguy cơ tuyệt chủng và giúp bảo tồn nguồn gen rất hiệu quả.

### **1.3. THẢO LUẬN VỀ VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU**

Tổng quan các vấn đề nghiên cứu liên quan đến đặc điểm sinh học, sinh thái và kỹ thuật tạo cây con loài Tom trong cho thấy:

- Loài Tom trong là cây dược liệu được biết đến trong thời gian qua còn khá mới nên các nghiên cứu cũng chưa nhiều. Một số nghiên cứu nêu trên chủ yếu tập trung về phân bố, sinh trưởng và phát triển của loài là chính. Chưa nêu được các nhân tố ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển loài; cũng như những tác động từ ngoại cảnh lên phân bố loài.



- Nghiên cứu phân tích hoạt chất: Đã có một số nghiên cứu liên quan phân tích và phân lập được các hợp chất chính trong cây Tôm trong. Cũng như đã nêu được tác dụng có lợi của các hợp chất cho sức khỏe của con người.

- Có hai nghiên cứu về nhân giống bằng phương pháp giâm hom và các điều kiện chăm sóc cây con ở giai đoạn vườn ươm. Ngoài ra, chưa có nghiên cứu nào về nhân giống *in vitro*.

Vì vậy, các vấn đề cần quan tâm nghiên cứu liên quan đến loài Tôm trong trong lĩnh vực sinh học, sinh thái và nhân giống tạo cây con như sau:

- Về sinh học:

+ Điều tra và xác định một số đặc điểm hình thái và đặc điểm tái sinh loài.

+ Thu thập mẫu và phân tích thành phần hoạt chất chính trong cây ở các vùng phân bố phát hiện.

- Về sinh thái:

+ Xác định khu vực phân bố chính và thiết lập sơ đồ trong quá trình điều tra.

+ Thu mẫu đất và phân tích thành phần đất, thành phần vi sinh vật trong đất nơi có loài phân bố.

+ Xác định thành phần loài mọc chung và kiểu thảm loài phân bố.

- Về nhân giống: Xây dựng được hướng dẫn kỹ thuật nhân giống vô tính loài.

Với những yêu cầu nêu trên, cần có những nghiên cứu đầy đủ và có hệ thống về đặc điểm sinh học, sinh thái trên phạm vi phân bố vùng Tây Nguyên; và kỹ thuật tạo cây con để cung cấp các thông tin khoa học cơ bản nhằm góp phần bảo tồn và phát triển bền vững Tôm trong trong tương lai.

## Chương 2

### NỘI DUNG, PHƯƠNG PHÁP VÀ ĐIỀU KIỆN TỰ NHIÊN KHU VỰC NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Nội dung nghiên cứu

- + Nghiên cứu đặc điểm sinh học và sinh thái (hình thái ngoài, thành phần dược liệu tương ứng với vùng phân bố) của loài Tom trong.
- + Nghiên cứu ảnh hưởng của một số nhân tố sinh thái (nhân tố vô sinh) đến quá trình sinh trưởng và phát triển cá thể; và ảnh hưởng cấu trúc quần xã thực vật nơi có loài phân bố đến mật độ cây Tom trong.
- + Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống vô tính loài Tom trong bằng phương pháp nuôi cấy mô (*in vitro*) và giâm hom.
- + Xây dựng hướng dẫn kỹ thuật nhân giống vô tính loài Tom trong.

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.1. Phương pháp tiếp cận

- Tiếp cận theo hệ thống: Các nội dung về đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh thái, sinh trưởng, phát triển, ... và kỹ thuật nhân giống đều được thực hiện theo trình tự.
- Tiếp cận thực nghiệm: Để đạt được mục tiêu và các nội dung đặt ra, đề tài kết hợp nghiên cứu điều tra tại hiện trường và thực nghiệm về loài Tom trong từ đặc điểm sinh học, sinh thái đến kỹ thuật nhân giống trong phòng nuôi cấy mô và ở ngoài vườn ươm.

##### 2.2.2. Các phương pháp nghiên cứu sinh học, sinh thái và nhân giống vô tính

###### 2.2.2.1. Nghiên cứu đặc điểm sinh học và sinh thái loài Tom trong

Điều tra, khảo sát xác định vùng phân bố tự nhiên của quần thể Tom trong ở 3 tỉnh Tây Nguyên (Gia Lai, Đắk Lắk và Lâm Đồng) trên các tuyến

điều tra để xác định vùng phân bố của quần thể bằng máy định vị Garmin 78, sử dụng hệ tọa độ UTM.

Kết hợp với phỏng vấn thực tế cán bộ kỹ thuật, kiểm lâm và người dân sống gần rừng tại các vùng phân bố để xác định vị trí và chấm lên bản đồ những điểm có phân bố loài Tơ m trong.

Dựa trên bản đồ nền ranh giới hành chính các tỉnh Tây Nguyên (Sở Tài nguyên và Môi trường tỉnh Lâm Đồng, Đắk Lắk và Gia Lai, năm 2017) và cơ sở dữ liệu từ máy định vị, sử dụng phần mềm Mapinfo 12.02 để lập bản đồ phân bố tỷ lệ 1: 2.000.000, ... Bản đồ thể hiện về địa điểm phân bố và vùng phân bố cây Tơ m trong.

#### + ***Phương pháp điều tra, thu mẫu và định danh thực vật***

*Điều tra:* Tại các khu vực phát hiện phân bố loài (Bảng 2.1), sử dụng phương pháp rút mẫu điển hình, tiến hành lập 5 OTC có diện tích 100 m<sup>2</sup> (10 m x 10 m)/vùng phân bố để nghiên cứu cấu trúc lâm phần, trong mỗi OTC tiến hành xác định tên loài thực vật chính, cấu trúc, hình thái, kiểu thảm trong OTC (Bảo Huy, 2017). Riêng Tơ m trong, đo đầy đủ đường kính gốc ( $D_{00}$  (cm)), chiều cao leo tới ( $H_{lt}$  (m)) của tất cả cây có trong OTC.  $H_{lt}$  được định nghĩa là chiều cao mà cây dây leo mọc tới được trên thân cây khác mà chiều cao tối đa của nó là cây cao nhất trong kiểu rừng.

*Thu mẫu:* Sử dụng phương pháp thu mẫu thực vật của Nguyễn Nghĩa Thìn (2007) để thu mẫu thành phần thực vật (thân, lá và hoa) tại các khu vực có phân bố Tơ m trong. Các mẫu được ép, sấy khô tại phòng thí nghiệm của Viện Khoa học Lâm nghiệp Nam Trung Bộ và Tây Nguyên (FSIH). Các địa điểm có phân bố của Tơ m trong được điều tra trong 3 năm (2016 - 2018) và được thực hiện 2 lần/năm vào mùa mưa và mùa khô.

*Định danh thực vật:* Sử dụng phương pháp hình thái học so sánh theo Nguyễn Nghĩa Thìn (2007) và các tài liệu về phân loại học thực vật của các tác

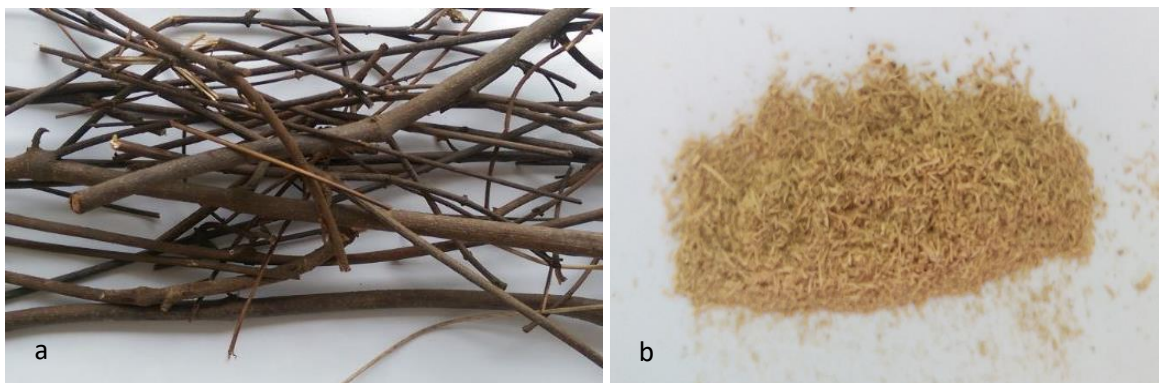
giả: Phạm Hoàng Hộ (2000); Nguyễn Tiên Bân (1984); Cây họ Dầu Việt Nam (Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2005); Sổ tay định danh nhanh các loài thực vật - Rừng Khộp Đắc Lắc (Bảo Huy, 2011a); Sổ tay định danh nhanh các loài thực vật - Rừng bán thường xanh và thường xanh ven suối Đắc Lắc - Đắc Nông (Bảo Huy, 2011b). Dạng sống (life-form) được định danh theo Raunkiaer (1934) dẫn theo Thái Văn Trùng (1975).

**+ Phân tích thành phần dược liệu cây Tom trong tương ứng từng khu vực phân bố**

Những mẫu cây Tom trong thu hái ngoài tự nhiên được ký hiệu theo từng khu vực riêng rẽ và bảo quản trong thùng xốp (trong quá trình di chuyển) có đường kính từ 0,2 - 0,5 cm. Phần vỏ màu nâu có nhiều lốm đốm lỗ bì và nốt sần màu trắng. Phần gỗ có màu vàng nhạt.

*Nguyên liệu:* Là thân cây Tom trong sau khi thu hái cắt nhỏ, sấy khô ở 60°C (hàm lượng ẩm < 10%) và xay thành hỗn hợp bột thô. Bột Tom trong có màu nâu nhạt, có mùi thơm đặc trưng và vị chát hơi đắng. Những mẫu dược liệu Tom trong được mã hóa để phân tích thành phần hoạt chất chính trong cây.

*Địa điểm thực hiện phân tích mẫu:* Các mẫu Phòng thí nghiệm Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.



**Hình 2.1. Nguyên liệu cây Tom trong**

*a. Mẫu thu ngoài tự nhiên; b. Bột thô*

**Bảng 2.1. Địa điểm phát hiện và thu mẫu cây Tom trong**

<b>Ký hiệu mẫu</b>	<b>Tọa độ</b>	<b>Địa điểm thu mẫu</b>
Mẫu 1	0804542 - 1429064	Xã Krông Na
Mẫu 2	0772469 - 1440439	VQG Yok Đôn - Xã Krông Na
Mẫu 3	0785567 - 1442742	VQG Yok Đôn - Xã Krông Na
Mẫu 4	0781299 - 1442942	VQG Yok Đôn - Xã Krông Na
Mẫu 5	0778179 - 1478768	Xã Ea H'leo
Mẫu 6	0783995 - 1480694	Xã Ea H'leo
Mẫu 7	0783975 - 1480603	Xã Ea H'leo
Mẫu 8	0786180 - 1481690	Xã Ea H'leo
Mẫu 9	0894302 - 1446013	Xã Ia Rmok
Mẫu 10	0895674 - 1450746	Xã Ia Rmok

Quá trình khảo sát ở 3 tỉnh nhưng chỉ thu mẫu ở Gia Lai (2 vùng phân bố) và Đắk Lắk (8 vùng phân bố). Riêng ở Lâm Đồng chỉ phát hiện 1 cá thể nên không lấy mẫu.

**Định tính SKLM:**

*Mẫu thử:* Lấy 100 mg bột dược liệu Tom trong chiết với 10 ml dung môi và siêu âm 20 phút. Dịch chiết được thu vào chén sứ, cô trên bếp cách thủy tới cạn. Hòa lại cạn trong 1 ml MeOH, lọc và thu dịch lọc được dung dịch mẫu thử.

*Mẫu chuẩn:* Hòa tan 1 mg lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid chuẩn trong MeOH, nồng độ khoảng 1 mg/ml.

Bản mỏng silica gel 60 F<sub>254</sub> tráng sẵn (Merck).

Dung môi khai triển: EtOAc - H<sub>2</sub>O - HCOOH (8 : 1 : 1).

Phát hiện: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%/EtOH, sấy ở 105°C.

*Yêu cầu:* SKLM có vết cùng màu và cùng giá trị R<sub>f</sub> với vết tương ứng của lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid chuẩn.

**Định tính, định lượng lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid trong cây Tom trong bằng HPLC:**

*Xử lý mẫu:* Cân 200 mg bột cây Tom trong cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml dung môi, siêu âm trong 20 phút. Dịch chiết đem cô cách thủy tới gần khô, thu được cặn dịch chiết lần 1. Thực hiện thêm 3 lần, chấm SKLM cặn dịch chiết lần 1, lần 2, lần 3 và lần 4 cùng với lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid chuẩn. Dựa vào kết quả SKLM để chọn được số lần chiết.

*Mẫu chuẩn:* Hòa tan 1 mg lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid chuẩn trong MeOH 50%, để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 100  $\mu$ g/ml. Tiến hành sắc ký và ghi lại kết quả mẫu chuẩn, mẫu thử.

*Yêu cầu:* Sắc ký đồ HPLC của mẫu thử cho pic có cùng thời gian lưu với pic lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid chuẩn.

**+ Phương pháp xác định kiểu thảm thực vật**

Kiểu thảm thực vật được định danh dựa trên hệ thống phân loại kiểu thảm thực vật rừng theo quan điểm sinh thái của Thái Văn Trùng (1975). Tại điểm có phân bố Tom trong tiến hành điều tra thực vật, chụp ảnh kiểu rừng. Xác định tên kiểu thảm dựa trên thành phần của quần thể thực vật (ưu thế loài), quan sát cấu trúc tầng tán quần xã (số tầng, thành phần loài và độ tàn che), động thái (rụng hay không rụng lá mùa khô) và loại đất.

**+ Phương pháp thu thập và xử lý số liệu**

Số liệu được thu thập bằng phương pháp theo dõi, quan sát, đo đếm trực tiếp trên từng OTC. Các số liệu được tính toán theo phương pháp phân tích thống kê toán học (Bảo Huy, 2016).

2.2.2.2. *Nghiên cứu ảnh hưởng của một số nhân tố sinh thái (vô sinh) đến quá trình sinh trưởng và phát triển cá thể; và ảnh hưởng cấu trúc quần xã thực vật nơi có loài phân bố đến mật độ cây Tom trong*

+ **Một số nhân tố vô sinh:** Nhiệt độ, độ ẩm, pH đất, ánh sáng, mật độ tái sinh, ... được thực hiện đo và lấy kết quả theo mùa trong năm và từng thời điểm trong ngày (sáng, trưa và chiều) tại rừng tự nhiên trên ô tiêu chuẩn (OTC) điển hình mang tính đại diện cho khu vực phân bố loài Tom trong (Bảo Huy, 2009).

Thiết bị sử dụng thực địa:

- Máy định vị vệ tinh GPS (Model GPSMAP 78/Garmin).
- Đo nhiệt độ và độ ẩm: PCE-HT110.
- Đo pH đất: Model Handylab pH11/blue Line 24pH/Schott.
- Đo cường độ ánh sáng: LUTRON LX-107.

+ **Phân tích thành phần đất tại khu vực có phân bố loài Tom trong:**

Ở mỗi kiểu thảm chọn một ô tiêu chuẩn để lấy mẫu đất, các mẫu đất phải mang tính đại diện cho tất cả các OTC khác trong cùng kiểu thảm.

Tại mỗi địa điểm đào 01 phẫu diện điển hình và thu thập mẫu ở các tầng đất (0 - 20 cm, 20 - 40 cm và 40 - 60 cm), mỗi tầng thu 01 mẫu, khối lượng là 02 kg/mẫu. Tổng cộng: 09 mẫu/3 kiểu thảm.

Mẫu đất lấy về (bảo quản trong thời gian không quá 48 giờ) được phân tích tại phòng thí nghiệm của Trung tâm Phân tích - Viện Nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt. Cụ thể:

**Bảng 2.2. Các chỉ tiêu và phương pháp phân tích đất khu vực phân bố cây Tom trong**

Stt	Chỉ tiêu	Phương pháp phân tích
1	pH	TCVN 5979:1995
2	Thành phần cơ giới (TPCG)	TCVN 4198:1995
3	Hữu cơ (OM)	TCVN 6642:2000
4	N tổng số	TCVN 6445:2000
5	N dễ tiêu	TCVN 6443:2000
6	P tổng số	AOAC 990.08:2000
7	P dễ tiêu	TCVN 5256:2009
8	K tổng số, K dễ tiêu	AOAC 990.08:2000
9	Độ ẩm	TCVN 5613:1991
10	Tỷ trọng	TCVN 4195:1995

**Bảng 2.3. Các chỉ tiêu phân tích vi sinh vật đất khu vực phân bố cây Tom trong và phương pháp thử**

Stt	Chỉ tiêu	Phương pháp thử
1	Vi khuẩn cố định đạm	TCVN 6166:1996
2	Vi khuẩn phân giải lân	TCVN 6167:1996
3	Vi khuẩn phân giải xenlulô	TCVN 6168:1996
4	Tổng vi khuẩn hiếu khí	TCVN 6847:2001
5	<i>Aspergillus</i> sp, <i>Bacillus</i> sp, <i>Trichoderma</i>	Thạch đĩa, môi trường nấm và soi kính
6	<i>Azotobacter</i> sp	Thạch đĩa, môi trường Ashby



### 2.2.2.3. Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống vô tính loài *Tom* trong bằng phương pháp nuôi cấy mô (*in vitro*) và giâm hom

#### + **Vật liệu:**

- Sử dụng những chồi non/đốt thân và đoạn hom có chiều dài 10 - 15 cm, đường kính 0,2 - 0,4 cm và mỗi hom mang 1 - 3 cặp lá (Hình 2.2c) của cây *Tom* trong đang dẫn dòng và chăm sóc tại vườn ươm Viện Khoa học Lâm nghiệp Nam Trung Bộ và Tây Nguyên.

- *In vitro*: Các thí nghiệm được bố trí trong các lọ thủy tinh và túi nilon có màng lọc Millipore (đường kính 2,5 cm) đã được vô trùng.

Môi trường nuôi cấy: Sử dụng môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962), Knudson C và WPM (Woody plant medium) (Lloyd and McCown, 1981) trong nghiên cứu nhân giống *in vitro*, các chất được bổ sung vào môi trường thí nghiệm: BA (6-Benzyl adenine), KIN (Kinetin), IBA (Indol butyric acid), sucrose, than hoạt tính và agar. Tất cả các môi trường nuôi cấy được chuẩn độ pH 5,8; khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong 20 phút.

Điều kiện nuôi cấy: Thời gian chiếu sáng 08 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 34  $\mu\text{mol}$ . Nhiệt độ phòng nuôi cấy  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  và độ ẩm không khí là 75 - 85%.

- *Ex vitro*: Thí nghiệm được trồng vào những chậu nhựa (chiều cao 10,5 cm; đường kính 12 cm) đã chuẩn bị sẵn giá thể gồm: Đất tầng mặt (lấy trong rừng thông Đà Lạt ở độ sâu từ 20 - 30 cm), tro trấu và xơ dừa xử lý (Eco N1). Thí nghiệm được tiến hành trong nhà kính Đà Lạt có mái che 70% ánh sáng, độ ẩm không khí khoảng 80 - 85% và nhiệt độ trung bình 22°C.

- *Giâm hom*: Các thí nghiệm được tiến hành trên khay cát trong nhà kính tại Đà Lạt. Giá thể giâm hom là cát đã qua xử lý bằng thuốc diệt nấm bệnh (Benlat 5%) và thuốc trừ sâu (Sumi alpha) để diệt trứng và ấu trùng. Chất kích thích ra rễ (KTRR) được sử dụng bao gồm: NAA (Naphthalene acetic acid), IAA (Indole-3-acetic acid) và IBA (Indol butyric acid) ở dạng bột than hoạt

tính với 4 nồng độ: 0,5%; 1%; 1,5% và 2%. Phần gốc hom giâm được chắm vào các chất kích thích ra rễ đảm bảo thuốc bám đều phần mặt cắt và sau đó tiến hành giâm.

**+ Phương pháp *in vitro*:**

Những đốt thân của cây Tom trong thu trong tự nhiên (Hình 2.2a) được rửa sạch bằng nước xà phòng, sau đó khử trùng bằng cồn 70° trong 1 phút, mẫu được rửa lại bằng nước cất vô trùng 5 - 6 lần. Sau cùng mẫu được khử trùng bằng dung dịch NaOCl 2% trong thời gian 10 phút, mẫu được rửa lại bằng nước cất vô trùng 4 - 5 lần. Mẫu sau khi khử trùng xong được tách lấy đỉnh sinh trưởng hoặc cắt thành những đốt chứa chồi ngủ và cấy trên môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l BA, 30 g/l sucrose, 9 g/l agar, pH 5,8.

**Thí nghiệm 1:** *Khảo sát ảnh hưởng của môi trường đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tom trong:*

Sử dụng đốt thân của cây Tom trong *in vitro* để bố trí thí nghiệm. Mỗi nghiệm thức cấy 10 mẫu với 10 lần lặp lại, sau 6 tuần nuôi cấy tiến hành thu số liệu.

**Thí nghiệm 2:** *Khảo sát ảnh hưởng của BA đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tom trong:*

Sử dụng đốt thân của cây Tom trong *in vitro* cấy trên môi trường MS có bổ sung 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 và 3,0 mg/l BA. Mỗi nghiệm thức cấy 10 mẫu với 10 lần lặp lại, sau 6 tuần nuôi cấy tiến hành thu số liệu. Chỉ tiêu theo dõi là chiều cao chồi (cm), số chồi/mẫu và số cặp lá/chồi.

**Thí nghiệm 3:** *Khảo sát ảnh hưởng của Kinetin đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tom trong:*

Sử dụng đốt thân của cây Tom trong *in vitro* cấy trên môi trường MS có bổ sung 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 và 3,0 mg/l KIN. Mỗi nghiệm thức cấy 10 mẫu với

10 lần lặp lại, sau 6 tuần nuôi cấy tiến hành thu số liệu. Chỉ tiêu theo dõi là chiều cao chồi (cm), số chồi/mẫu và số cặp lá/chồi

**Thí nghiệm 4:** *Khảo sát ảnh hưởng của môi trường có bổ sung và không bổ sung than hoạt tính đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tom trong:*

Những đốt thân của cây Tom trong *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung và không bổ sung 1g/l than hoạt tính với các hàm lượng 0,5 mg/l BA, 30 g/l sucrose, 9 g/l agar, pH 5,8 là giống nhau trên cả hai nghiệm thức. Mỗi nghiệm thức cấy 10 mẫu với 10 lần lặp lại, sau 6 tuần nuôi cấy tiến hành thu số liệu. Chỉ tiêu theo dõi là chiều cao chồi (cm), số chồi/mẫu và số cặp lá/chồi.

**Thí nghiệm 5:** *Khảo sát ảnh hưởng của IBA đến sự tạo rễ *in vitro* cây Tom trong:*

Những đốt thân của cây Tom trong *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường MS và WPM có bổ sung 0,5; 1,0; 2,0 và 3,0 mg/l IBA. Mỗi nghiệm thức cấy 24 mẫu, sau 4 tuần nuôi cấy tiến hành thu số liệu. Chỉ tiêu theo dõi là chiều cao cây (cm), số cặp lá/cây, số rễ/cây, chiều dài rễ (cm) và tỷ lệ tạo rễ (%).



**Hình 2.2. Vật liệu thí nghiệm nhân giống cây Tom trong**

*a. Chồi cây Tom trong vào mẫu; b. Đốt thân cây Tom trong *in vitro*; c. Hom cây Tom trong*

**Thí nghiệm 6: Khảo sát giá thể ra cây ex vitro:**

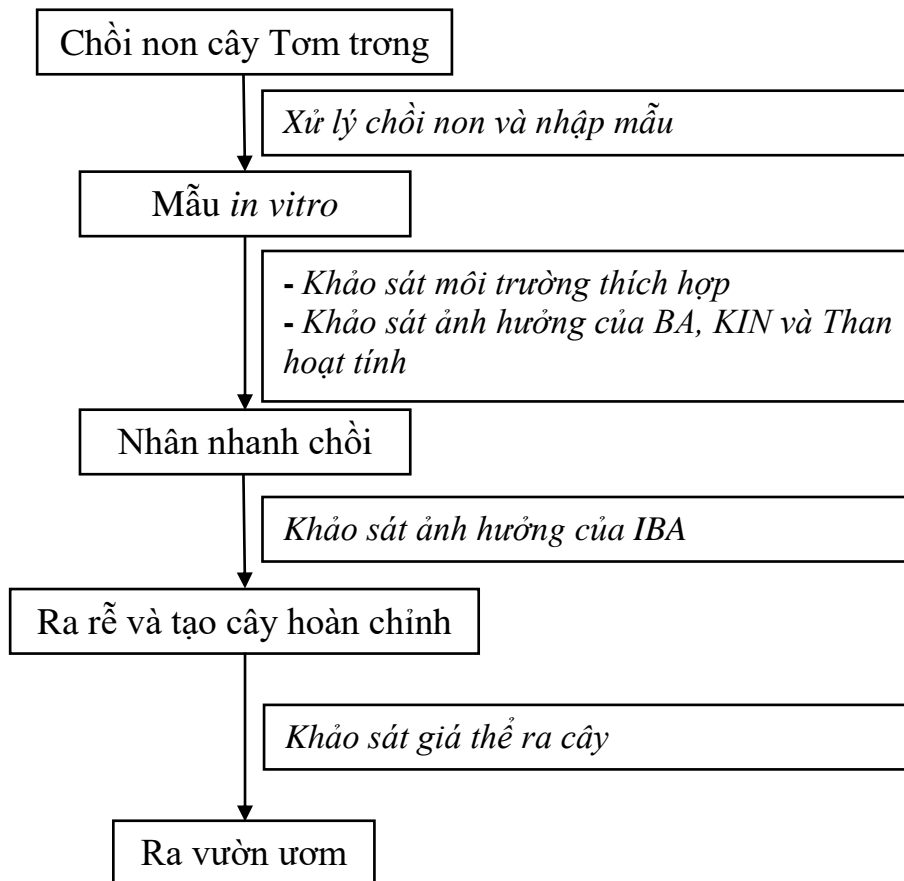
Những cây Tôm trong *in vitro* hoàn chỉnh có đầy đủ thân, lá, rễ và chiều cao khoảng 3 cm được rửa sạch agar và xử lý ngâm trong dung dịch thuốc nấm 10% (Zineb bul 80WP) 5 phút. Sau đó vớt ra và tiến hành thí nghiệm theo các công thức sau:

<b>CT1</b>	<b>CT2</b>	<b>CT3</b>	<b>CT4</b>	<b>CT5</b>	<b>CT6</b>	<b>CT7</b>	<b>CT8</b>
25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
đất -	đất -	đất -	xơ dừa	đất -	đất -	đất -	đất
75%	50%	25%		75% xơ	50% xơ	25% xơ	
tro trấu	tro trấu	tro trấu		dừa	dừa	dừa	

Mỗi nghiệm thức trồng 10 cây với 10 lần lặp lại, thu số liệu sau 3 tháng nuôi trồng:

- Tỷ lệ sống (%): Đếm số cây sống/số cây thí nghiệm;
- Chiều cao ( $H_{vn}$ ): Bảng thước đo độ cao (cm);
- Chiều dài rễ: Đo rễ dài nhất (cm);
- Số cặp lá/cây: Đếm tổng số cặp lá.

**SƠ ĐỒ THỰC HIỆN**  
**(Nhân giống bằng phương pháp *in vitro*)**



**+ Phương pháp giâm hom:**

Điều kiện giâm hom: Giâm hom vào 2 thời điểm đặc trưng của Tây Nguyên là mùa mưa (tháng 5 - 11) và mùa khô (tháng 12 - 4 năm sau). Đối với mùa khô: Chế độ tưới phun sương là 5 giây trong từng khoảng thời gian 10 phút. Với chế độ tưới này, độ ẩm không khí trong môi trường nhà kính Đà Lạt đạt khoảng 80 - 85% và nhiệt độ nhà kính: Sáng 16 - 20°C; trưa 28 - 34°C và chiều 18 - 21°C. Đối với mùa mưa: Chế độ tưới phun sương là 5 giây trong từng khoảng thời gian 20 - 30 phút. Với chế độ tưới này, độ ẩm không khí trong môi trường nhà kính Đà Lạt đạt khoảng 85 - 95% và nhiệt độ nhà kính: Sáng 16 - 20°C; trưa 25 - 28°C và chiều 16 - 18°C.

**Thí nghiệm 1:** *Khảo sát ảnh hưởng của chất KTRR và loại hom đến khả năng ra rễ của hom cây Tom trong trong mùa khô:*

Những đoạn hom cây Tom trong (Hình 2.2c) được thiết kế thí nghiệm theo sơ đồ khối ngẫu nhiên đầy đủ. Sử dụng ba loại chất KTRR (NAA, IAA và IBA dạng bột than hoạt tính) với 4 nồng độ (0,5; 1; 1,5 và 2%); hai loại hom (hom non - thân hom có màu xanh và hom già - thân hom có màu nâu đen). Mỗi nghiệm thức 30 hom với 3 lần lặp lại, sau 8 tuần giâm tiến hành thu số liệu.

**Thí nghiệm 2:** *Khảo sát ảnh hưởng của chất KTRR và loại hom đến khả năng ra rễ của hom cây Tom trong trong mùa mưa:*

Bố trí thí nghiệm tương tự như mùa khô.

*Chỉ tiêu theo dõi:* Gồm tỷ lệ hom ra rễ (%), số lượng rễ trung bình/hom và chiều dài rễ trung bình (cm)/hom.

**Thí nghiệm 3:** *Khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến khả năng ra rễ của hom cây Tom trong trong mùa khô:*

Các công thức thí nghiệm loại chất KTRR và nồng độ được bố trí trên giá thể cát. Sau khi thu được kết quả loại chất KTRR và nồng độ tốt nhất, tiến hành giâm hom trên các loại giá thể theo công thức sau:

CT 1	CT 2	CT 3	CT 4
100% đất	75% đất - 25% xơ dừa	50% đất - 50% xơ dừa	25% đất - 75% xơ dừa

Trong thí nghiệm sử dụng đất tầng mặt và xơ dừa đã xử lý được cung cấp sẵn ngoài thị trường. Mỗi nghiệm thức 30 hom, sau 8 tuần tiến hành thu số liệu.

*Chỉ tiêu theo dõi:* Gồm tỷ lệ hom ra rễ (%), số lượng rễ trung bình/hom và chiều dài rễ trung bình (cm)/hom.

**Thí nghiệm 4:** *Khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến khả năng ra rễ của hom cây Tom trong trong mùa mưa:*

Bố trí thí nghiệm tương tự như mùa khô.

+ **Ảnh hưởng của một số nhân tố đến khả năng sinh trưởng và phát triển cây con giai đoạn vườn ươm:**

❖ **Phương pháp bố trí thí nghiệm:**

- Sử dụng cây con đã ra rễ ổn định, có độ tuổi từ 2 - 3 tháng tuổi.
- Cây được trồng trong chậu nhựa hay túi bầu có kính thước 20 x 20 cm, có đục lỗ đáy để thoát nước.
- Giá thể: Sử dụng cơ chất từ kết quả của thí nghiệm giâm hom trên giá thể.
- Mỗi công thức thí nghiệm 30 cây. Thí nghiệm được theo dõi trong 3 tháng, định kỳ 15 ngày thu số liệu 1 lần.

**Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của chế độ tưới nước:**

CT 1	CT 2	CT 3
2 ngày/lần	4 ngày/lần	6 ngày/lần

Lượng nước tưới trung bình 100 ml/chậu/lần tưới. Thời gian tưới một lần vào cuối buổi chiều.

**Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của chế độ che sáng:**

CT 1	CT 2	CT 3	CT 4
Không che sáng (ánh sáng toàn phần: 100%)	Che sáng 75%	Che sáng 50%	Che sáng 25%

Độ cao của giàn che cách cây con 1 m. Tiến hành che ở phía trên và cả 2 phía Đông và phía Tây của khu vực đặt cây để tránh nắng vào buổi sáng và buổi chiều. Sử dụng lưới cắt sáng thương mại có sẵn ngoài thị trường.

**Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của dinh dưỡng:**

Nghiên cứu về nhu cầu dinh dưỡng khoáng của loài Tom trong ở giai đoạn vườn ươm được tiến hành theo 5 công thức sau:

<b>CT 1</b>	<b>CT 2</b>	<b>CT 3</b>	<b>CT 4</b>	<b>CT 5</b>
90% đất tầng mặt + 10% phân chuồng hoai	89% đất tầng mặt + 10% phân chuồng hoai + 1% lân (15 g)	88% đất tầng mặt + 10% phân chuồng hoai + 2% lân (30 g)	87% đất tầng mặt + 10% phân chuồng hoai + 3% lân (45 g)	86% đất tầng mặt + 10% phân chuồng hoai + 4% lân (60 g)

*Chỉ tiêu theo dõi:*

- Tỷ lệ sống (%): Đếm số cây sống/số cây thí nghiệm.
- Sinh trưởng ( $H_{vn}$ ,  $D_{00}$ ) (cm): Đo chiều cao bằng thước mét (chia vạch đến mm) và đo đường kính gốc bằng thước kẹp Panme.
- Số chồi: Đếm số chồi mới phát sinh.
- Số cặp lá: Đếm số cặp lá mới hình thành.

#### **+ Xây dựng hướng dẫn kỹ thuật nhân giống vô tính loài *Tom trong***

Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu từ 3 nội dung nghiên cứu đã thực hiện, kết hợp kế thừa có chọn lọc các kết quả nghiên cứu liên quan trong nước và trên thế giới để xây dựng hướng dẫn kỹ thuật nhân giống vô tính loài *Tom trong*.

#### **2.2.2.4. Xử lý số liệu**

Số liệu thu thập được phân tích và xử lý theo các phương pháp thống kê thực hiện trên máy tính với sự hỗ trợ của MS Excel và phần mềm SPSS 16.0.

### **2.3. Điều kiện tự nhiên khu vực phân bố loài *Tom trong***

#### **2.3.1. Huyện Ea H'leo - Đắk Lắk**

##### **+ Vị trí địa lý:**

Huyện Ea H'leo là huyện vùng cao Tây Nguyên nằm ở phía Bắc tỉnh Đắk Lắk, cách thành phố Buôn Ma Thuột 82 km. Ranh giới phía Bắc tiếp giáp huyện Chư Pưh, thị xã Ayun Pa, tỉnh Gia Lai; phía Nam giáp huyện Krông Năng; phía Đông giáp thị xã Ayun Pa, huyện Krông Pa, tỉnh Gia Lai; phía Tây giáp huyện Cư M'gar và huyện Ea Súp (Niên giám thống kê tỉnh Đắk Lắk năm 2018).



**+ Địa hình:**

Do kiến tạo địa chất nên địa hình huyện Ea H'leo thoải, bị chia cắt bởi nhiều khe núi, độ cao trung bình từ 400 - 700 m và có nhiều kiểu địa hình.

- Địa hình núi cao: Phân bố về phía Bắc và trung tâm huyện, thuộc các xã Ea Hiao, Ea Sol, Ea H'leo, Cư Mốt dạng địa hình này bị chia cắt mạnh, độ dốc trên 25°, rất thích hợp cho phát triển trồng rừng.

- Địa hình núi thấp lượn sóng: Dạng địa hình này phân bố ở khu vực phía Nam huyện và trung tâm huyện, có nhiều sườn dốc được che phủ bởi thảm thực vật tự nhiên.

- Địa hình thung lũng: Hình thành do quá trình trầm tích, lắng đọng vật chất nên những cánh đồng có diện tích nhỏ, chạy dọc theo các suối Ea H'leo, suối Ea Sol, suối Ea Wy, ...

- Địa hình thấp lượn sóng tương đối bằng phẳng: Phân bố tập trung ở phía Đông của huyện.

**+ Khí hậu:**

Huyện Ea H'leo nằm trong vùng cao nguyên trung phần có độ cao từ 450 - 850 m so với mặt nước biển, chịu ảnh hưởng của khí hậu nhiệt đới gió mùa, mang tính chất khí hậu cao nguyên nhiệt đới ẩm, có xen kẽ khí hậu thung lũng, mỗi năm có hai mùa rõ rệt là mùa mưa và mùa khô: Mùa mưa bắt đầu từ tháng 4 - 11 tập trung 85% lượng mưa hàng năm; mùa khô từ tháng 11 - 4 năm sau, lượng mưa không đáng kể.

- *Chế độ nhiệt:* Nhiệt độ bình quân trong năm 27°C, nhiệt độ cao nhất trung bình hàng năm 36,6°C, nhiệt độ thấp nhất trung bình hàng năm 11,5°C, tháng có nhiệt độ bình quân cao nhất là tháng 4; tháng có nhiệt độ bình quân thấp nhất là tháng 12; bình quân giờ chiếu sáng/năm từ 1.600 - 2.300 giờ.

- *Chế độ ẩm*: Lượng mưa bình quân hàng năm từ 1.608 mm; lượng mưa trung bình cao nhất là 3.000 mm; độ ẩm trung bình hàng năm 85%; độ bốc hơi mùa khô từ 14,6 - 15,7 mm/ngày; độ bốc hơi mùa mưa 1,5 - 1,7 mm/ngày.

### **2.3.2. Vườn quốc gia Yok Đôn - Xã Krông Na - Đắk Lắk**

#### **+ Vị trí địa lý:**

Xã Krông Na nằm về phía Tây Bắc huyện Buôn Đôn, cách trung tâm huyện 18 km theo đường tỉnh lộ 17, phía Tây có 46,7 km đường biên giới tiếp giáp tỉnh Moldunkiri, Campuchia. Phía Bắc giáp huyện Ea Súp, tỉnh Đắk Lắk; phía Nam giáp huyện Cư Jút, tỉnh Đắk Nông; thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk; phía Đông giáp xã Ea Huar, xã Ea Wer huyện Buôn Đôn và huyện Cư M'gar; phía Tây giáp Campuchia (Niên giám thống kê tỉnh Đắk Lắk năm 2018).

#### **+ Địa hình:**

Nằm trong vùng bình nguyên Ea Súp, có độ cao trung bình 200 - 220 m so với mặt nước biển, nghiêng theo hướng Tây - Tây Nam; có địa hình phức tạp, bị chia cắt mạnh, chủ yếu thuộc khu vực VQG Yok Đôn; địa hình đồi núi cao thuộc khu vực các núi: Chư Minh, Chư Mar, Chư Nao, Chư Ming, ... ở phía Bắc có độ cao 300 m, khu vực đồi Yok Đôn, ở phía Nam có độ cao 250 - 400 m, khu vực đồi Yok Rheng, Yok Da ở phía Tây.

Địa hình thấp trũng thuộc hạ lưu của sông Sêrêpôk, các suối thuộc hạ lưu của nó và khu vực trung tâm xã, độ cao bình quân 185 m so với mực nước biển.

#### **+ Khí hậu:**

Xã Krông Na nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa đặc trưng của khí hậu cao nguyên Nam Trung Bộ, được chia làm 2 mùa rõ rệt: Mùa mưa bắt đầu từ tháng 4 đến tháng 10, mùa khô từ tháng 11 đến tháng 4 năm sau.

- *Chế độ nhiệt*: Nhiệt độ bình quân trong năm là 24,5°C, nhiệt độ cao nhất trong năm là 37,5°C, nhiệt độ thấp nhất trong năm là 11,0°C, tháng có nhiệt độ

bình quân cao nhất là tháng 4, tháng có nhiệt độ bình quân thấp nhất là tháng 1, bình quân giờ chiếu sáng/năm 1.600 - 2.600 giờ.

- *Chế độ ẩm*: Độ ẩm tương đối hàng năm 81%, độ bốc hơi mùa khô 7,3 - 44,1 mm/ngày, độ bốc hơi mùa mưa 0,86 - 2,1 mm/ngày. Tổng lượng mưa bình quân năm là 1.588 mm, lượng bốc hơi 1.470 mm và phân bố không đều, mùa mưa chiếm 93,5% lượng mưa cả năm và mùa khô chiếm 6,5%.

### **2.3.3. Huyện Đức Trọng - Lâm Đồng**

#### **+ Vị trí địa lý:**

Đức Trọng là một huyện nằm ở trung tâm tỉnh Lâm Đồng, thuộc cao nguyên Di Linh, có vị trí địa lý phía Bắc giáp thành phố Đà Lạt; phía Nam giáp huyện Bắc Bình và huyện Tuy Phong, tỉnh Bình Thuận; phía Đông giáp huyện Đơn Dương và huyện Ninh Sơn, tỉnh Ninh Thuận; và phía Tây giáp huyện Lâm Hà và huyện Di Linh (Niên giám thống kê tỉnh Lâm Đồng năm 2018).

#### **+ Địa hình:**

Đức Trọng thuộc tỉnh miền núi phía Nam Tây Nguyên, có độ cao từ 600 - 1.000 m so với mực nước biển. Có diện tích tự nhiên 90,18 ha, chiếm 9,23% diện tích tự nhiên toàn tỉnh Lâm Đồng.

Địa hình chủ yếu là bình sơn nguyên, núi cao và dốc hình thành những thung lũng ven sông khi là vùng đất tiếp giáp giữa cao nguyên LangBiang và cao nguyên Di Linh. Đức Trọng có 3 dạng địa hình chính: Núi dốc, đồi thấp và thung lũng ven sông.

- Địa hình núi dốc: Diện tích chiếm 54% tổng diện tích toàn huyện, phân bố tập trung ở khu vực phía Bắc và phía Đông, Đông Nam của huyện.

- Địa hình đồi thấp: Diện tích chiếm khoảng 30,8% tổng diện tích toàn huyện, phân bố tập trung ở khu vực phía Tây và Tây Nam của huyện.

- Địa hình thung lũng: Diện tích chiếm 14,2% tổng diện tích toàn huyện, phân bố ven các sông, suối lớn.

+ **Khí hậu:**

Huyện Đức Trọng nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa đặc trưng của khí hậu cao nguyên Nam Trung Bộ, được chia làm 2 mùa rõ rệt: Mùa mưa bắt đầu từ tháng 5 đến tháng 11, mùa khô từ tháng 12 đến tháng 4 năm sau.

- *Chế độ nhiệt:* Nhiệt độ bình bình trong năm là 21,9°C, nhiệt độ cao nhất trong năm là 23,2°C, nhiệt độ thấp nhất trong năm là 20,4°C, tháng có nhiệt độ bình quân cao nhất là tháng 5, tháng có nhiệt độ bình quân thấp nhất là tháng 2, tổng số giờ chiếu sáng/năm 2.392 giờ.

- *Chế độ ẩm:* Độ ẩm bình quân trong năm là 83%, khu vực này có độ ẩm tương đối đồng đều và ít biến động. Tổng lượng mưa bình quân năm là 1.870,6 mm, tháng có lượng mưa thấp nhất là tháng 2 và cao nhất là tháng 9.

#### **2.3.4. Huyện Krông Pa - Gia Lai**

+ **Vị trí địa lý:**

Krông Pa là một huyện nằm ở phía Tây Nam tỉnh Gia Lai. Phía Bắc giáp huyện Ia Pa; huyện Đồng Xuân, tỉnh Phú Yên; phía Nam giáp huyện Ea Kar, tỉnh Đắk Lắk; phía Đông giáp huyện Đồng Xuân, Sơn Hòa, Sông Hinh, tỉnh Phú Yên; và phía Tây giáp huyện Ea H'leo, Krông Năng, tỉnh Đắk Lắk; thị xã Ayun Pa (Niên giám thống kê tỉnh Gia Lai năm 2018).

+ **Địa hình:**

Huyện Krông Pa ngày nay thuộc vùng trũng Cheo Reo - Phú Túc, có cấu tạo địa chất khá phức tạp, bao gồm 2 nhóm đất chính là bồi tích phù sa và trầm tích hỗn hợp, là kiểu địa hình đồng bằng tích tụ - bóc mòn, với các dạng địa hình bậc thềm và bãi bồi chiếm diện tích chủ yếu, nhưng quá trình tích tụ ở đây hạn chế hơn so với khu vực Cheo Reo. Thung lũng Krông Pa phân bố dọc theo các sông suối, ít bị chia cắt, khá bằng phẳng, được bao phủ bởi lớp phù sa cũ và mới.

Ngoài địa hình trũng, rìa phía Đông Nam Krông Pa có 2 dãy núi cao là: Chư DJú và Chư Dlêiya. Địa hình Krông Pa có dạng đồi hoặc núi thấp nhưng lượn sóng mạnh và chia cắt sâu.

Ở độ cao trung bình 140 m so với mặt nước biển, Krông Pa là bậc thềm quan trọng, án ngữ trên quốc lộ 25- một trong những cửa ngõ nối đồng bằng ven biển miền Trung ở phía đông với cao nguyên Pleiku ở phía Tây.

Đất đai vùng Krông Pa gồm nhiều loại trên nền đá bazơ, đất phù sa có màu nâu xám, tầng mặt có độ dày khoảng 20 - 25 cm. Các tầng tiếp theo có màu vàng xen màu gỉ sắt. Các tầng đất có độ dày mỏng khác nhau, với các nhóm đất chính: Đất nâu sẫm trên đá bazan, đất đen phù sa cổ, đất đen, chủ yếu là đất phù sa bồi tụ của các sông suối. Ngoài ra còn có loại đất vàng xám trên đá hỗn hợp, phân bố rải rác ở phía Tây Bắc, 2 rìa sườn Nam và Bắc của vùng.

#### + **Khí hậu:**

Khí hậu Krông Pa mang tính chất nhiệt đới hơi khô. Do có địa hình núi án ngữ, che chắn hướng gió từ Đông và Tây Nam nên đặc điểm khí hậu của huyện Krông Pa có phần khác với các vùng khác ở Tây Nguyên. Krông Pa có 2 mùa rõ rệt: Mùa mưa kéo dài từ tháng 5 - 10 tập trung trên 90% lượng mưa hàng năm; mùa khô từ tháng 11 - 4 năm sau, trong mùa khô thường có 4 tháng khô hạn.

- *Chế độ nhiệt:* Nhiệt độ bình quân trong năm là 26,2°C, nhiệt độ cao nhất trung bình hàng năm 28,9°C, nhiệt độ thấp nhất trung bình hàng năm 23,2°C, tháng có nhiệt độ bình quân cao nhất là tháng 5; tháng có nhiệt độ bình quân thấp nhất là tháng 02; bình quân giờ chiếu sáng/năm là 2.324 giờ.

- *Chế độ ẩm:* Lượng mưa bình quân năm là 805,0 mm; mặc dù những tháng mùa mưa kéo dài nhưng lượng mưa rất ít, cao nhất chỉ 176,2 mm; độ ẩm bình quân năm là 78,4%; tháng 9 là tháng có lượng mưa cao nhất. Các tháng cuối mùa khô thường nắng nóng, lượng nước bốc hơi cao, trung bình 96 mm/năm.

### Chương 3

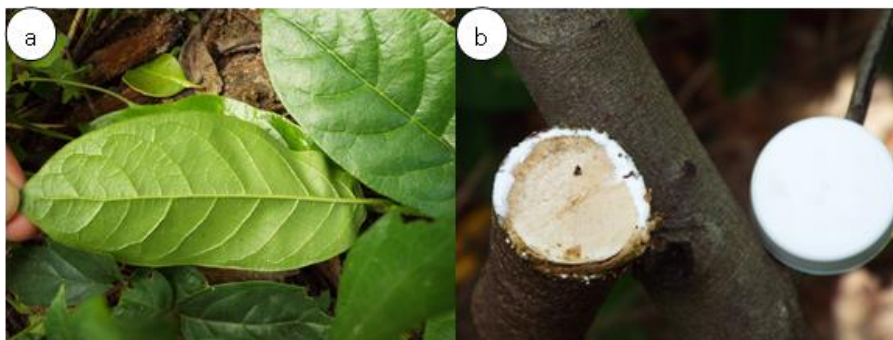
## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Đặc điểm sinh học loài Tom trong

#### 3.1.1. Mô tả hình thái

Tom trong là cây dây leo, thân dạng thân gỗ, sống lâu năm, mọc riêng lẻ hoặc thành bụi, quấn vào các cây gỗ lân cận, thân leo theo một đường xoắn quấn xung quanh một cây thân gỗ khác và quấn theo chiều từ trái qua phải. Chiều dài của cây Tom trong thường phụ thuộc vào chiều cao của cây mà nó quấn vào. Cây thường mọc tập trung thành bụi lớn và chiều dài có thể lên đến 20 m. Cây Tom trong có vỏ xù xì không lông có màu nâu xám hay nâu đen, trên thân có nhiều đốm màu trắng. Thân khi bị tổn thương có mủ màu trắng, mùi thơm, khi để lâu nhựa chuyển sang màu nâu đỏ.

Cây Tom trong có lá mọc đối, dạng đơn nguyên, không có lá kèm, phân gân hình lông chim, các gân đối nhau, gân sơ cấp có từ 7 - 10 cặp gân. Kích thước lá thay đổi tùy theo nơi mọc, phiến lá thuôn dài với chiều dài 3,5 - 7,5 cm, rộng 1,5 - 3,8 cm. Lá màu xanh đậm và có nhiều lông mềm ở hai mặt. Góc lá hình tim, chóp lá có mũi nhọn hay tù, cuống lá dài 0,4 - 0,6 cm có phủ lông. Trong khi đó, công bố của các tác giả Phạm Hoàng Hộ (1999), Võ Văn Chi (2012) và Đỗ Tất Lợi (2013) ghi nhận: Lá có phiến dài 5 - 10 cm, rộng 0,5 - 4 cm và đốm 2 mặt lá, chứng tỏ sự thay đổi của các nhân tố sinh thái (nhân tố vô sinh) đã ảnh hưởng tới hình thái của loài Tom trong.



**Hình 3.1. Lá và mủ từ thân cây Tom trong**

*a. Lá; b. Mủ từ thân cây*

Cây ra hoa nhiều lần và kéo dài từ tháng 4 - 8. Phát hoa ở ngọn hay đầu nhánh, chùm hoa tản đều, dày, mảnh, cánh hoa màu vàng; đài có vảy ở gốc, tràng hình chén, ống ngắn hơn tai, có tràng phụ do 5 vảy nhỏ tạo thành, nhị 5, bao phấn rời.

Quả thon, mảnh chiều dài quả đạt từ 3,9 - 4,5 cm, chiều rộng quả dao động từ 0,7 - 0,9 cm. Hạt nhỏ màu đen, có lông mào màu trắng ở đầu.

Khi quan sát cây Tom trong ngoài tự nhiên, rễ của cây trưởng thành khá to đến 3 cm, cứng và có mùi thơm nhẹ.



**Hình 3.2. Hình ảnh hoa, quả và hạt cây Tom trong**

*a. Hoa; b. Quả; c, d. Hạt*

### **3.1.2. Đặc điểm tái sinh tự nhiên**

Qua điều tra, cây Tom trong có cả 2 hình thức tái sinh tự nhiên: từ hạt và chồi thân. Mùa quả kéo dài từ tháng 6 - 10, quả chín và bung từ tháng 1 - 2 năm sau. Cây tái sinh từ hạt thường mọc riêng lẻ, ít khi hình thành theo cụm.

Cây chồi thường hình thành từ các gốc cây sau khi bị khô hạn hoặc do bị cháy nên thân chính chết đi. Từ mỗi gốc có thể hình thành từ 1 - 6 chồi mới. Cây Tom trong có thể tái sinh chồi nhiều lần, qua điều tra nhận thấy cây có thể tái sinh chồi đến 2 - 3 lần/gốc. Bên cạnh đó, từ các thân bò trườn trên mặt đất cũng

hình thành rễ và cây chồi tái sinh mới; mỗi thân bò trên mặt đất có thể hình thành đến 1 - 3 cây chồi. Tương tự kết quả nghiên cứu của Võ Đại Hải (2010) trên đối tượng cây Vối thuốc, loài có khả năng tái sinh rất mạnh với hệ số tổ thành lên tới 5,3; có chất lượng trung bình và tốt chiếm tỷ lệ rất cao từ 86 - 100%.



**Hình 3.3. Chồi cây Tom trong tái sinh từ các đoạn thân bò dưới mặt đất**

Chính từ đặc điểm tái sinh chồi gốc và chồi thân cho thấy cây Tom trong có thể chống chịu được với những thời điểm khô hạn kéo dài hay lửa rừng. Thân cây khi bò sát đất thường bị vùi lấp, khi có mưa từ các bộ phận gốc cây hay các đoạn thân già mọc rễ, tiếp tục nảy chồi và ra rễ hình thành cây mới. Với ưu điểm tái sinh rễ và chồi bất định trên thân cây cho thấy khả năng nhân giống vô tính sẽ đem lại nhiều hứa hẹn trong tương lai của loài Tom trong.



**Hình 3.4. Chồi cây Tom trong tái sinh từ hạt và đoạn thân sau khi cháy rừng**

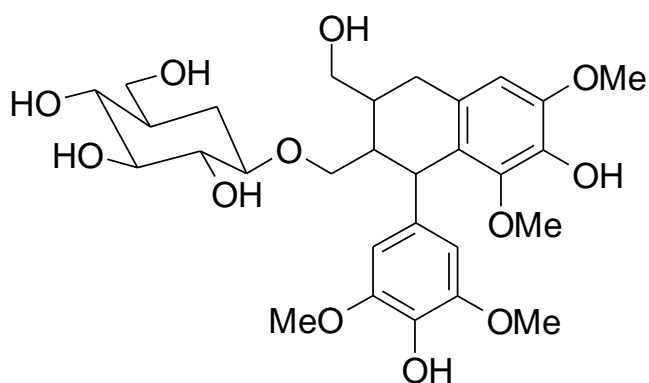


### 3.1.3. Thành phần dược liệu

Để có cơ sở cho các nghiên cứu nhân giống, đề tài đã tiến hành thu mẫu và phân tích thành phần dược liệu chính trong cây Tom trong.

#### *Hợp chất được phân lập và xác định cấu trúc*

Chiết xuất bằng ethanol 45% phương pháp ngâm kiệt. Cao thu được lắ phân bố với các dung môi có độ phân cực tăng dần thu được các phân đoạn ether dầu, diclorometan, ethyl acetat, *n*-butanol. Từ phân đoạn *n*-butanol đã phân lập được hợp chất là lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid.

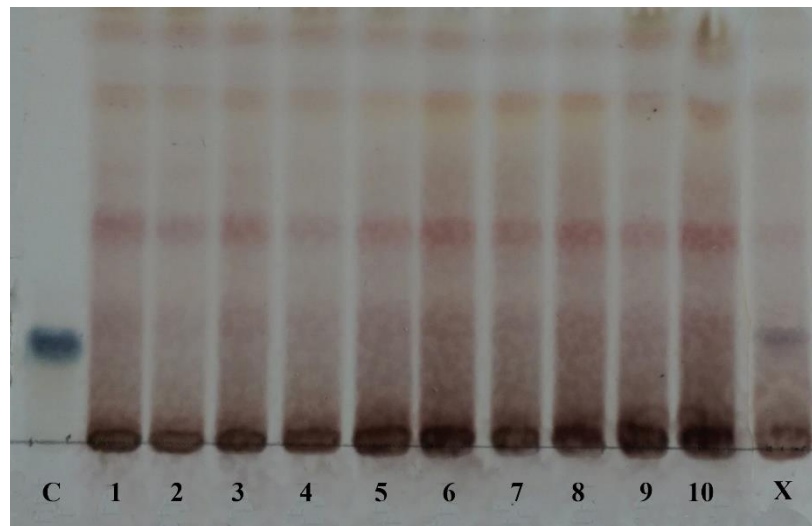


Lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid

#### *Tác dụng dược lý*

Lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid có hoạt tính chống oxy hóa, chống các gốc tự do, làm giảm khả năng kết tập tiểu cầu của thrombin. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu cho thấy một số cây chứa lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid cho tác dụng kháng viêm, kháng khối u (Shi et al., 2008; Yu et al., 2011; Xiang et al., 2012).

*Định tính SKLM*



**Hình 3.5. SKLM định tính kiểm nghiệm các mẫu dược liệu Tôm trong**

*C: Lyoniresinol-2 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid chuẩn*

*1 - 10: Dịch chiết dược liệu kiểm nghiệm trong EtOH 50%*

*X: Dịch chiết dược liệu Tôm trong trong EtOH 50%*

*Nhận xét:* Kết quả sắc ký cho thấy, các mẫu dược liệu kiểm nghiệm bằng phương pháp SKLM chưa cho vết tương đương và màu sắc với  $R_f$  và màu sắc của vết lyoniresinol-2 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid chuẩn một cách rõ ràng, trong khi vết này rất rõ trong dịch chiết EtOH 50% của dược liệu Tôm trong.

*Định tính, định lượng lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid trong dược liệu Tôm trong bằng HPLC*

Ứng dụng quy trình đã thẩm định để xác định hàm lượng lyoniresinol-2 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid trong cây Tôm trong thu hái ở các địa điểm khác nhau ngoài tự nhiên.

**Bảng 3.1. Kết quả định tính, định lượng lyoniresinol-2 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid trong mẫu dược liệu Tom trong**

<b>Mẫu/Địa điểm thu mẫu</b>	<b>Thời gian lưu (t<sub>R</sub>)</b>	<b>Diện tích đỉnh S (<math>\mu</math>V x giây)</b>	<b>Tỷ lệ diện tích đỉnh so với dược liệu chuẩn (%)</b>
Dược liệu chuẩn	36,527	14783756	100
3 - VQG Yok Đôn	38,305	5644702	45,97
9 - Ia Rmok	36,891	3495936	28,47
10 - Ia Rmok	36,669	1394997	11,36
6 - Ea H'leo	36,594	1973620	16,07
8 - Ea H'leo	36,573	1619155	13,19
1 - Krông Na	36,541	556507	4,53
7 - Ea H'leo	36,513	1924381	15,67
4 - VQG Yok Đôn	36,443	1811572	14,75
2 - VQG Yok Đôn	36,242	615397	5,01
5 - Ea H'leo	-	-	-

Các mẫu dược liệu kiểm nghiệm cho pic có cùng thời gian lưu với pic chuẩn lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid, nhưng diện tích pic thấp hơn nhiều với diện tích pic của mẫu dược liệu chuẩn. Do diện tích đỉnh của pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic lyoniresinol-2- $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid chuẩn thấp hơn so với diện tích của pic trong dược liệu chuẩn và nằm ngoài khoảng tuyến tính nên kết quả chỉ trình bày tỷ lệ diện tích đỉnh so với dược liệu chuẩn, mà không tính ra nồng độ.

*Nhận xét:* Các mẫu dược liệu được kiểm nghiệm có hàm lượng lyoniresinol-2 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid rất thấp so với mẫu dược liệu Tom trong chuẩn. Riêng mẫu số 5 (Xã Ea H'leo) không phát hiện chất đánh dấu lyoniresinol-2 $\alpha$ -

O- $\beta$ -D-glucopyranosid, còn các mẫu kiểm nghiệm dược liệu (mẫu 1 - Xã Krông Na, mẫu 2 - VQG Yok Đôn, mẫu 3 - VQG Yok Đôn, mẫu 4 - VQG Yok Đôn, mẫu 6 - Xã Ea H'leo, mẫu 7 - VQG Yok Đôn, mẫu 8 - Xã Ea H'leo, mẫu 9 - Xã Ia Rmok, mẫu 10 - Xã Ia Rmok) đều chứa lyoniresinol-2 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid.

### **3.2. Đặc điểm sinh thái loài Tom trong**

#### **3.2.1. Đặc điểm phân bố**

Tom trong là loài cây ưa sáng và ưa ẩm, do vậy thường phát hiện các quần thể mọc thành từng đám ở ven đường và ven rừng; tại những vị trí có khe suối, khe cạn hay vùng trũng thấp và nơi có nhiều ánh sáng (Bảng 3.2). Nhưng sự tái sinh của cây con lại xuất hiện nhiều ở nơi ít ánh sáng như dưới tán cây bụi, khi cây trưởng thành mới leo bám theo những cây lớn lên cao để nhận nhiều ánh sáng hơn. Ở cả các điểm điều tra đều cho thấy loài cây này phân bố chủ yếu ở rừng thưa như rừng Khộp (Krông Pa - Gia Lai; Ea H'leo và Yok Đôn - Đắk Lắk) và rừng trồng với cây chủ yếu là Bạch đàn (Đức Trọng - Lâm Đồng). Các kiểu rừng này có địa hình tương đối bằng phẳng nên nhìn chung cây Tom trong cũng xuất hiện chủ yếu ở địa hình bằng phẳng.

Theo Nguyễn Thị Kim Châu (2005) thì loài cây này sống ở nơi có nhiệt độ trung bình năm là 20 - 25°C, kết quả ghi nhận của đề tài ở những khu vực điều tra là 24,5 - 32,8°C (Bảng 3.2) chứng tỏ sự biến đổi khí hậu do nhiệt độ trái đất nóng lên và gây ảnh hưởng đến phân bố loài vì vậy môi trường sống loài càng thu hẹp dần, số lượng cá thể trong quần thể cũng giảm theo. Còn theo Hoàng Kim Ngũ (2005) những loài thực vật ưa sáng yêu cầu chế độ ánh sáng phù hợp trong khoảng từ 500 - 1.800 lux, thực tế cho thấy cường độ ánh sáng ghi nhận được ở 04 địa điểm phân bố loài Tom trong có sự khác biệt rất lớn: Krông Pa - Gia Lai là 974 - 2.320 lux; Ea H'leo và Yok Đôn - Đắk Lắk là 837 - 2.431 lux và Đức Trọng - Lâm Đồng là 2.420 - 6.740 lux. Từ đó có thể thấy,

cây Tom trong là cây ưa sáng, loài này sống ở điều kiện ánh sáng khá cao (Bảng 3.2). Quá trình điều tra hay bắt gặp những bụi cây leo quấn trên những cây gỗ và vượt tán để lấy ánh sáng.

**Bảng 3.2. Kết quả ghi nhận một số yếu tố sinh thái tại nơi phát hiện cây Tom trong**

<b>Yếu tố sinh thái</b> <b>Địa điểm</b>	<b>Nhiệt độ (°C)</b>	<b>Ánh sáng (lux)</b>	<b>Độ ẩm (%)</b>
Krông Pa - Gia Lai	23,9 - 29,4	974 - 2.320	72 - 87
Ea H'leo - Đắk Lắk	25,5 - 32,8	896 - 1.854	65 - 87
Yok Đôn - Đắk Lắk	24,8 - 29,7	837 - 2.431	70 - 87
Đức Trọng - Lâm Đồng	24,5 - 28,4	2.420 - 6.740	75 - 90



**Hình 3.6. Cây Tom trong leo vượt tán cây gỗ**

Qua kết quả điều tra đề tài phát hiện cây Tom trong có khu vực phân bố tập trung ở huyện Krông Pa tỉnh Gia Lai; Ea H'leo, Yok Đôn tỉnh Đắk Lắk; và ở huyện Đức Trọng tỉnh Lâm Đồng. Phát hiện có sự hiện diện của loài này tại xã Ninh Gia (trong khu vực quản lý của Trạm Thực nghiệm Lâm nghiệp Lang

Hanh). Điểm cao nhất có mặt cây Tom trong là 938 m (tại xã Ninh Gia) và thấp nhất là 200 m (tại xã Ia Rmok, huyện Krông Pa).

Nơi sống của loài Tom trong tại các địa điểm phân bố tự nhiên là kiểu rừng bán thường xanh ven các rừng Khộp, với các loài cây chính thuộc họ Dầu; hoặc trên đất rừng trước đó là rừng bán thường xanh.

Nơi có mặt của cây chủ yếu là ở hai dạng địa hình chính: Ven suối nơi có độ ẩm cao hay đồi núi có độ dốc thấp ( $<15^\circ$ ) và kiểu địa hình bằng phẳng chân núi. Có kiểu phân bố ngẫu nhiên có khi mọc thành cụm nhỏ cũng có khi mọc riêng rẽ bám theo cây gỗ lớn. So với công bố trước đó của Phạm Hoàng Hộ (2000) thì đề tài phát hiện cây Tom trong có khu vực phân bố rộng hơn. Cụ thể Phạm Hoàng Hộ (2000) ghi nhận cây phân bố ở độ cao 500 - 700 m, đề tài phát hiện cây có ở độ cao 200 - 938 m.

**Bảng 3.3. Tổng hợp đặc điểm phân bố loài Tom trong**

Stt	Địa điểm	Độ cao so với mực nước biển (m)	Địa hình	Sinh cảnh	Phân bố
1	Krông Pa	200	Bằng phẳng hoặc hơi dốc, độ dốc $< 15^\circ$	Khu vực chuyển tiếp giữa rừng khộp và rừng lá rộng thường xanh. Cây thường phân bố ven khe cạn, khe suối; khu vực trũng thấp có độ ẩm cao.	Phân bố rải rác, đôi khi theo cụm 3 - 5 cây/cụm
2	Ea H'leo	294		Rừng tròng, khu vực trũng thấp có độ ẩm cao.	
3	Yok Đôn	700			
4	Đức Trọng	938			

### ***3.2.2. Các yếu tố sinh thái tại nơi phân bố loài Tom trong***

Quá trình sinh trưởng và phát triển của cây phụ thuộc rất nhiều vào các nhân tố sinh thái như: Nhiệt độ, độ ẩm đất, độ ẩm không khí, vị trí, độ dày tầng đất, pH, thậm chí các tác động từ hoạt động khai thác lâm sản và phòng chống cháy cũng ảnh hưởng đến cây.

Qua điều tra cho thấy loài Tom trong sinh trưởng trong tự nhiên chịu ảnh hưởng nhiều của điều kiện thời tiết và các tác động của con người. Những khu vực địa hình phức tạp như đồi núi, xa khu dân cư loài phát triển quanh năm.

Ngược lại, khu vực bằng phẳng, gần đường và khu dân cư loài sinh trưởng và phát triển phụ thuộc nhiều vào mùa mưa hay nắng. Mùa khô loài bị tác động từ lửa rừng hay hoạt động đốt nương làm rẫy, khi mưa xuống phần chồi thân và rễ còn sót lại bắt đầu sinh trưởng và phát triển bình thường. Một số khu vực sau các đợt điều tra, khi trở lại hầu như không còn hiện trạng khu vực phân bố loài, thay vào đó là rừng cao su hay nương rẫy và nhà dân sinh. Do đó, phân bố loài ngày càng trở nên hẹp dần dẫn đến quần thể loài cũng bị ảnh hưởng rất lớn.



**Hình 3.7. Cây Tom trong phân bố ở các địa hình ngoài tự nhiên**

*a. Đỉnh núi; b. Khô hạn; c. Sườn núi; d. Chân núi; e. Rừng Bạch đàn*

### **Thành phần đất tại khu vực có phân bố loài Tom trong**

Loài Tom trong phân bố trên nhiều loại địa hình khác nhau từ trảng bằng đến đồi dốc, cây chỉ phát triển trên nền đất nguyên sinh chưa có tác động của con người.

Kết quả phân tích thành phần cơ giới, dung trọng, khả năng trữ nước; các chỉ tiêu đa, trung và vi lượng (pH, N, P, K) của đất ở vùng phân bố loài Tom trong thể hiện ở Bảng 3.4.



**Bảng 3.4. Kết quả phân tích hóa lý tính đất khu vực phân bố loài Tom trong**

Stt	Chỉ tiêu phân tích		Đường kính/ Đơn vị	0 - 20 cm	20 - 40 cm	40 - 60 cm	Phương pháp thử
1	Hạt sạn sỏi (%)	/	>10 mm	0,00	0,00	0,00	TCVN 4198:1995
			10 - 5 mm	0,00	0,00	0,00	TCVN 4198:1995
			5 - 2 mm	0,00	2,87	1,69	TCVN 4198:1995
	Hạt cát (%)	Cát thô	2 - 1 mm	10,77	9,69	11,21	TCVN 4198:1995
		Cát thô	1 - 0,5 mm	15,42	14,42	12,72	TCVN 4198:1995
		Cát trung	0,5 - 0,25 mm	9,67	10,41	9,98	TCVN 4198:1995
		Cát nhỏ	0,25 - 0,10 mm	8,33	6,57	7,32	TCVN 4198:1995
		Cát bụi	0,10 - 0,05 mm	10,61	8,33	9,43	TCVN 4198:1995
	Hạt bụi (%)	Bụi to	0,05 - 0,01 mm	11,78	12,03	10,50	TCVN 4198:1995
		Bụi nhỏ	0,01 - 0,005 mm	14,66	15,66	16,81	TCVN 4198:1995
Hạt sét (%)	/	< 0,005 mm	18,76	20,02	20,34	TCVN 4198:1995	
2	pH		/	6,81	6,66	6,50	TCVN 5979:1995
3	Hữu cơ (OM)		%	4,04	3,36	3,04	TCVN 6642:2000
4	N tổng		%	0,14	0,11	0,05	TCVN 6445:2000
5	N dễ tiêu		mg/100 g	2,55	1,26	2,51	TCVN 6443:2000
6	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		%	0,30	0,26	0,20	AOAC 990.08:2000
7	P dễ tiêu		mg/100 g	9,10	8,00	7,50	TCVN 5256:2009
8	K <sub>2</sub> O		%	0,065	0,063	0,047	AOAC 990.08:2000
9	K dễ tiêu		mg/100 g	36,4	17,1	46,1	AOAC 990.08:2000
10	Độ ẩm		%	1,43	1,84	1,59	TCVN 5613:1991
11	Tỷ trọng		g/cm <sup>3</sup>	2,708	2,712	2,717	TCVN 4195:1995

Qua kết quả phân tích thành phần chất đất tại khu vực có phân bố loài Tom trong (Bảng 3.4) cho thấy: Loài phân bố chủ yếu trên nền đất sét pha cát, pH đất trung tính dao động từ 6,50 - 6,81, hợp chất hữu cơ không cao từ 3,04 - 4,04%, hàm lượng NPK rất thấp. Điều này nói lên loài Tom trong có thể sinh trưởng bình thường trong điều kiện dinh dưỡng thấp, khả năng sống sót và duy trì sự sống trong điều kiện tự nhiên khắc nghiệt (mùa khô hạn hán và cháy rừng; mùa mưa ẩm ướt và bị rửa trôi bề mặt) rất cao.

Kết quả phân tích vi sinh vật đất ở vùng phân bố loài Tom trong thể hiện ở Bảng 3.5.

**Bảng 3.5. Kết quả phân tích vi sinh vật khu vực phân bố loài Tom trong**

Stt	Kí hiệu mẫu/ Chỉ tiêu	Đơn vị	0 - 20 cm	20 - 40 cm	40 - 60 cm	Phương pháp thử
1	TSVKHK	CFU/g	$4,3 \times 10^5$	$3,6 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	TCVN 5165:90
2	Vi khuẩn cố định đạm	CFU/g	$1,5 \times 10^3$	$0,4 \times 10^3$	$0,2 \times 10^3$	TCVN 6166:1996
3	Vi khuẩn phân giải lân	CFU/g	$1,9 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$3,5 \times 10^3$	TCVN 6167:1996
4	Vi khuẩn phân giải xenlulô	CFU/g	$1,5 \times 10^4$	$6,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	TCVN 6168:1996
5	<i>Azotobacter</i> sp.	CFU/g	$9,2 \times 10^1$	$8,0 \times 10^1$	$2,4 \times 10^1$	Môi trường Ashby
6	<i>Bacillus</i> sp.	CFU/g	$1,8 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	Môi trường Tributyrin-tween 80
7	<i>Aspegillus</i> sp.	CFU/g	$1,2 \times 10^2$	$0,7 \times 10^2$	<10*	Môi trường Sabouraud
8	<i>Trichoderma</i>	CFU/g	$1,4 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	$0,5 \times 10^1$	Môi trường Sabouraud

Từ kết quả bảng 3.5 cho thấy:

+ Vi sinh nguyên liệu *Azotobacter* sp. có khả năng cố định nitơ tự do, kích thích sinh trưởng, đối kháng, ...

+ Vi khuẩn *Bacillus* sp. được biết đến như vi sinh vật nội sinh kích thích sinh trưởng, có khả năng hấp thụ (hút) các kim loại nặng và kháng sinh. Ngoài ra, chúng còn tiết chất kích thích sinh trưởng Indole-3-acetic acid, kháng sinh

*siderophores, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase* (Phạm Công Trí, 2018). Vì vậy việc phát hiện vi khuẩn *Bacillus* sp. có trong mẫu đất khu vực phân bố loài Tom trong là một thuận lợi cho quá trình sinh trưởng, phát triển của cây, đặc biệt đây là một loại cây dược liệu.

+ Vi khuẩn phân giải xenlulô, *Trichoderma* và *Aspegillus* sp. cũng được phát hiện, trong thành phần của mẫu đất có khá nhiều tạp chất là cây, lá, ... (tàn dư từ rừng) vì vậy sự xuất hiện của 02 loài này giúp phân hủy xenlulô tạo thành mùn cung cấp cho cây.

Tóm lại, đất khu vực phân bố loài Tom trong thành phần dinh dưỡng thấp tuy nhiên hệ vi sinh vật có lợi khá phong phú giúp cho cây có thể sinh trưởng, phát triển và nhanh phục hồi tái sinh sau những giai đoạn điều kiện khí hậu không thuận lợi.

### **3.2.3. Cấu trúc quần xã thực vật nơi có Tom trong**

Dựa trên khu vực phân bố của Tom trong, xác định tên trang theo Thái Văn Trưng (1975). Kết quả chỉ ra rằng loài Tom trong có phân bố trong 3 kiểu thảm thực vật chính là V.Mia: Rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới (còn gọi là rừng cây họ Dầu hoặc rừng khộp); II.Mia: Rừng kín nửa rụng lá ẩm nhiệt đới (còn gọi là rừng bán thường xanh ven suối); và Rừng trồng Bạch đàn. Trong đó, kiểu thảm V.Mia có 2 kiểu phụ là: V.Mia.2: Rừng khô thưa trên đất cát và sét pha cát; V.Mia.4.2: Kiểu quần thể thoái hóa thành trảng cỏ cây bụi của Rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới (V); Rừng trồng Bạch đàn (*Eucalyptus microcorys*). Tóm tắt tên kiểu thảm, kiểu phụ và ưu hợ ở Bảng 3.6.

**Bảng 3.6. Kiểu thảm và một số đặc trưng của kiểu thảm**

Kiểu thảm	Kiểu phụ		Ưu hợp
V: Rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới (rừng cây họ Dầu)	V.Mia.2	Kiểu phụ 2: Rừng khô thưa trên đất cát và sét pha cát.	Dầu trà beng, Trâm các loại, Cám, Dầu rái, Chò, An túc.
	V.Mia.4.2	Kiểu phụ 4: Quần thể thoái hóa thành trảng cỏ cây bụi.	Cầm liên, Cà chắc, Dầu trà beng, Thàu tấu, Sim thân gỗ, Sầm đất.
II: Rừng kín nửa rụng lá ẩm nhiệt đới (Rừng bán thường xanh ven suối)	II.Mia	Kiểu phụ miền thực vật thân thuộc Malaixia-Indonesia và khu hệ Ấn Độ - Myanmar.	Ưu hợp họ Dầu, họ Bàng, họ Tử vi.
Rừng trảng	-	-	Bạch đàn.

**Hình thái, cấu trúc và quần hợp như sau:**

**V.Mia.2: Kiểu rừng khô thưa trên đất cát và sét pha cát.** Kiểu phụ miền thực vật này nằm trong kiểu Rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới. Cây Tom trong phân bố ở độ cao từ 200 - 700 m tại Gia Lai (huyện Krông Pa cao 200 - 300 m) và Đăk Lăk bao gồm huyện Ea H'leo và khu vực VQG Yok Đôn (độ cao từ 500 - 700 m). Cây mọc trên đất sa thạch (Ea H'leo và VQG Yok Đôn) và đất sét pha cát (Krông Pa và Ea H'leo). Về hình thái, rừng hơi thưa so với kiểu lá rộng thường xanh điển hình bao gồm rất nhiều cây lá rộng; về mùa khô rừng có nhiều cây rụng lá hoặc rụng lá từng phần nhưng có thể thấy rõ là vẫn còn nhiều cây lá rộng thường xanh. Kiểu thảm đặc trưng gồm 4 tầng là tầng vượt tán, tầng lập quần (cây gỗ lớn), tầng cây gỗ nhỏ và tầng thảm tươi. Tuy vậy, tầng vượt tán và tầng cây gỗ lớn hơi khó phân biệt do cây thưa và có nhiều cây chuyển tiếp giữa 2 tầng này.

+ Tầng vượt tán chỉ gặp các loài họ Dầu như: Dầu mít (*Dipterocarpus costatus*), Sên mủ (*Shorea roxburghii*).

+ Tầng lập quần bao gồm các loài chính trong họ Sim như: Trâm trắng (*Syzygium chanlos*), Trâm vỏ đỏ (*S. zeylanicum*), Trâm nhuộm (*S. tinctorium*), ...; họ Dầu như: Dầu mít (*Dipterocarpus costatus*), Chò (*Parashorea aff. stellata*), Cà chắc (*Shorea obtusa*), Cầm liên (*Shorea siamensis*); Họ Xoài (*Anacardiaceae*) như: Xoài rừng (*Mangifera minutiflora*), Chây lá rộng (*Buchanania latifolia*), Sung hoa mảnh (*Semecarpus graciliflora*); họ Bứa như: Gò chai (*Garciniagracilis*) và Bứa (*Garcinia* sp.); họ Hoa hồng (*Rosaceae*) như: Cắm (*Parinari annamensis*); họ Đậu như: Cắm xe (*Xylia xylocarpa*), Bản xe (*Archidendron robinsonii*), Trắc Nam Bộ (*Dalbergia cochinchinensis*); họ An túc như: An túc hương (*Styrax benjoin*). Ngoài ra còn nhiều loài khác tham gia vào tầng lập quần như: Duối nhám (*Streblus asper*), Mà ca (*Rapanea* sp.), Trường (*Xerospermum noronhianum*).

+ Tầng gỗ nhỏ gồm các loài tái sinh của tầng trên và một số loài khác như: Thàu tấu (*Aporosa pillosa*), Thành ngành (*Cratoxylum formosum*), Thị mâm (*Diospyros ehretioides*), Mai rừng (*Ochna integerrima*), Sầm đất (*Memecylon edule*), Mật nhân (*Eurycoma longifolia*), Cuồng vàng (*Gonocaryum lobbianum*), Dọt sành (*Pavetta indica*).

+ Tầng thảm tươi cây bụi là các loài như: Trang đỏ (*Ixora coccinea*), Trang trắng (*Ixora* sp.), Lô ba (*Globba marantina*), Thù lù nhỏ (*Physalis minima*), An xoa (*Helicritesisora*), Giỏi (*Clausena excavate*), Sung dị diệp (*Ficus heterophylla*), Cỏ lào (*Chromolaena odorata*), ... Nhiều loài thuộc tầng cây bụi, thảm tươi chỉ xuất hiện vào mùa mưa như: Lô ba (*Globamarantina*), Thù lù nhỏ (*Physalis minima*), Lác dứa (*Cyperus trialatus*), Cỏ lào (*Chromolaena odorata*). Ngoài ra còn tầng dây leo phụ sinh gồm các loài như: Trang xa leo (*Luvunga scandens*), Tù nhám (*Dioscorea triphylla*), Tù nghèo (*Dioscorea*

*depauperata*), Từ Scortechin (*Dioscorea scortechini*), Hà thủ ô (*Streptocaulon juvenas*).

Do khu vực này ít bị cháy hàng năm nên Tom trong có hình thái như cây có chồi trên đất leo quấn (*Lianes phanerophytes*) và không có trạng thái cây có chồi ngang đất (*Chamephytes*) vào mùa khô (mùa không thuận lợi). Mật độ Tom trong: 530 cây/ha,  $D_{00}$ : 1,40 cm,  $H_{lt}$ : 4,83 m; trong kiểu thảm này, cây có mật độ cao vừa phải so với các kiểu thảm khác nhưng lại có chiều cao và đường kính gốc cao nhất so với hai kiểu thảm còn lại (Bảng 3.7).

**Bảng 3.7. Mật độ và sinh trưởng Tom trong theo kiểu thảm thực vật**

Khu phân bố	Kiểu thảm	Loại đất	Mật độ (cây/ha)	$D_{00}$ (cm)	$H_{lt}$ (m)
VQG Yok Đôn, Ea H'leo	V.Mia.2	Sa thạch, Sét pha cát	530	1,40	4,83
Krông Pa, Ea H'leo	V.Mia.4.2	Sét pha cát	300	0,42	1,50
VQG Yok Đôn	II.Mia	Sa thạch	3.650	0,32	0,46

**V.Mia.4.2: Kiểu quần thể thoái hóa thành trắng cỏ cây bụi của Rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới (V).** Đây là kiểu phụ thoái hóa thứ sinh nhân tác của kiểu Rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới (V.Mia). Tom trong phân bố trong kiểu này ở Ea H'leo trong độ cao từ 500 - 700 m. Đất của kiểu thảm này là đất cát pha sét. Kiểu này sinh ra do quá trình khai thác cây gỗ lớn quá mạnh mẽ, đốt rừng làm nương rẫy hàng năm. Do vậy, các loài cây gỗ chỉ còn lại một vài cây thưa thớt; nhiều loài cây gỗ chỉ còn lại ở dạng cây tái sinh. Thành phần loài cây gỗ đơn giản hơn rất nhiều so với kiểu chính V.Mia. Cây bụi và thảm tươi phát triển rất mạnh và chiếm ưu thế khiến hình thái của thảm rất giống kiểu Trảng cỏ điển hình. Kiểu thảm chỉ còn lại 2 tầng là tầng gỗ và

tầng thảm tươi, cây bụi. Tuy vậy, tầng cây gỗ không rõ ràng do còn lại quá ít cây nên hình thái thảm được tạo nên chủ yếu bởi thảm tươi, cây bụi.

+ Tầng gỗ gồm các họ chính như: Họ Dầu (Dipterocarpaceae), họ Thị (Ebenaceae), họ Đậu (Fabaceae), họ Bứa (Clusiaceae), họ Sim (Myrtaceae), ...; với các loài chủ yếu như: Cà chắc (*Shorea obtusa*), Cẩm liên (*Shorea siamensis*), Bứa (*Garcinia* sp.), Đỏ ngọn (*Cratoxylum formosum*), Thị mâm (*Diospyros ehretioides*), Dền đỏ (*Xylopia vietlana*), Trắc Nam Bộ (*Dalbergia cochinchinensis*), Gỗ mật (*Sindora siamensis* var. *siamensis*), Sim thân gỗ (*Rhodamnia dumetorum*), Hu đay (*Trema orientalis*), Sầm đất (*Memecylon edule*), Dẻ anh (*Castanopsis pyriformis*), Kháo (*Litsea* sp.), Trám (*Canarium subulatum*), Cây (*Iringia malayana*). Hầu hết các loài của kiểu thảm này đều là cây tái sinh có chiều cao 2 - 3 m, chỉ một số ít cây có chiều cao 7 - 8 m như: Cà chắc (*Shorea obtusa*), Cẩm liên (*Shorea siamensis*), Dẻ anh (*Castanopsis pyriformis*).

+ Tầng cây bụi, thảm tươi gồm các loài như: Cỏ mỹ (*Pennisetum polystachyon*), Cỏ đồng tiền (*Borreria alata*), Kim sương (*Micromelum falcatum*), An soa (*Helicrisesisora*), Mía dò (*Costus speciosus*), Nưa (*Amorphophyllus paeoniifolius*), Hỏa rô sừng (*Phlogacanthus cornutus*), Lác dứa (*Hypolytrum nemorum*), ... Nhiều loài chỉ xuất hiện vào mùa mưa như: Nưa (*Amorphophyllus paeoniifolius*), Cỏ đồng tiền (*Borreria alata*), Cỏ mỹ (*Pennisetum polystachyon*), Cỏ lào (*Chromolaena odorata*). Ngoài ra, sự xâm lấn mạnh mẽ của Cỏ mỹ thành thảm dày cao đến 1,5 - 2 m. Cỏ mỹ tạo thành thảm rõ rệt vào mùa mưa, mùa khô thường bị cháy.

Tom trong cũng bị cháy hàng năm khi phân bố trong kiểu thảm này nhưng sẽ tái sinh chồi trở lại vào mùa mưa sau do cây có hệ rễ khỏe và chống chịu được lửa đi qua. Dạng sống theo mùa khiến Tom trong sinh trưởng như cây có chồi trên đất leo quán (Lianes phanerophytes) vào mùa mưa và như cây

có chồi ngang đất (Chamephytes) vào mùa khô. Mật độ Tom trong là 300 cây/ha,  $D_{00}$ : 0,42 cm,  $H_{lt}$ : 1,5 m. Cây Tom trong trong kiểu này có mật độ thấp nhất so với các kiểu thảm khác (Bảng 3.7).

**II.Mia: Rừng kín nửa rụng lá ẩm nhiệt đới.** Trong khu vực phân bố Tom trong, kiểu thảm này thường phân bố ven suối, có khi là suối cạn vào mùa khô, trên đất sa thạch. Kiểu thảm này xuất hiện ở VQG Yok Đôn (Buôn Đôn, Đắk Lắk). Vào mùa mưa thì kiểu thảm nhìn như rừng lá rộng thường xanh nhưng vào mùa khô thì có một số cây rụng lá theo mùa. Thành phần loài gồm nhiều loài thuộc nhiều họ khác nhau do có sự đóng góp các loài thuộc nhiều khu hệ thực vật khác nhau như họ Dầu thuộc khu hệ Malaixia - Indonesia và khu hệ Ấn Độ - Myanmar như họ Bàng. Số tầng tán là 4 gồm: Tầng vượt tán, tầng lập quần, tầng gỗ nhỏ, tầng bụi thảm tươi.

+ Tầng vượt tán gồm chủ yếu là: Săng lẻ (*Lagerstroemia tomentosa*), Gỗ mật (*Sindora siamensis*), Cây (*Irvingia malayana*), Chai (*Shorea* sp.), Trâm nhuộm (*Syzygium tinctorium*).

+ Tầng lập quần gồm chủ yếu là: Sao tia (*Shorea ferrea*), Thành ngành (*Cratoxylon formosum*), Gỗ mật (*Sindora siamensis*), Trâm (*Syzygium* sp.), Thị (*Diospyros latisepala*), Cẩm lai (*Dalbergia bariensis*), Bình linh (*Vitex pinnata*), ...

+ Tầng gỗ nhỏ gồm chủ yếu là: Thành ngành (*Cratoxylon formosum*), Mùng quân (*Flacourtia* sp.), Cò ke (*Grewia asiatica*), Bứa núi (*Garcinia* sp.), Thàu tấu (*Aporosa pillosa*), Mai rừng (*Ochna integerrima*), Sầm lam (*Memecylon caeruleum*), Sầm hoa khít (*Memecylon aff. confertiflorum*), Dền trắng (*Xylopia pierrei*), ...

+ Tầng bụi, thảm tươi gồm chủ yếu là: Tráng (*Linociera* sp.), Lầu (*Meyna parviflora*), Bò quả bông nhỏ (*Uvaria micrantha*), Táo rừng (*Ziziphus oenophila*), Chim chích (*Fagerlindia depauperata*), Lài trâu (*Tabernaemontana pauciflora*), Dong nhỏ (*Stachiphrynium minus*), Cỏ lá tre (*Lophatherum gracile*), Tu thảo



(*Oplistenus burmanii*), Bồng bồng lá liễu (*Lygodium salicifolium*), Ráng nguyệt xỉ (*Adiantum phillipense*), ...

+ Dây leo: Mần trây bụi (*Ichnocarpus frutescens*), Mây tắt (*Calamus tetradactylus*).

Cây Tôm trong phân bố ở kiểu này có mật độ, độ cao trung bình. Về hình thái thì cây cũng là dạng cây có chồi trên đất leo quán (*Lianes phanerophytes*) vào cả mùa mưa và mùa khô. Mật độ Tôm trong là 3.650 cây/ha,  $D_{00}$ : 0,32 cm,  $H_{1t}$ : 0,20 m. Khu vực cây Tôm trong có rất nhiều cây tái sinh nên có mật độ cao nhất trong kiểu thảm này. Đồng thời đường kính và chiều cao là thấp nhất trong các kiểu thảm trên (Bảng 3.7).

**Rừng trồng Bạch đàn (*Eucalyptus microcorys*).** Cây trồng thuần loài (ưu hợp) chỉ có Bạch đàn như tầng cây gỗ chính. Tầng cây gỗ bên dưới cao 3 - 5 m chỉ gồm một số loài tái sinh như: Cẩm lai (*Dalbergia bariensis*), Thị tuyền (*Diospyros glandulosa*), Dầu trà beng (*Dipterocarpus obtusifolius*), Bò cu vể (*Breynia fruticosa*), Thàu tấu (*Aporosa pillosa*), Côm trâu (*Elaeocarpus floribundus*), Ba bét (*Mallotus apelta*); Tầng cây bụi, thảm tươi với một số loài như: Cỏ lào (*Chromolaena odorata*), Cương rìa (*Scleria ciliaris*), Tóp mỡ (*Flemingia strobilifera*), Đa đa (*Harrisonia perforata*), Kim cang (*Smilaxchina*), Ngũ sắc (*Lantana camara*), Kim sương (*Micromelum falcatum*), ... Cây Tôm trong sinh trưởng theo dạng sống là cây có chồi trên đất leo quán (*Lianes phanerophytes*) vào cả mùa mưa và mùa khô. Mật độ cây chưa thể điều tra được do chỉ đếm được một quần thể nhỏ có 3 cây.

Tóm lại, Tôm trong phân bố trong 3 kiểu thảm chính là: Rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới; với 2 kiểu phụ là Rừng khô thưa trên đất cát và sét pha cát và quần thể thoái hóa thành trảng cỏ, cây bụi của rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới; Rừng kín nửa rụng lá ẩm nhiệt đới; và Rừng trồng Bạch đàn (*Eucalyptus microcorys*). Về sinh trưởng, mật độ cây Tôm trong trong các kiểu

thảm khác nhau cũng có sự khác biệt rõ rệt. Mật độ thấp nhất với 300 cây/ha ( $D_{00}$ : 0,42 cm;  $H_{lt}$ : 1,5 m); trung bình có mật độ 530 cây/ha ( $D_{00}$ : 1,40 cm;  $H_{lt}$ : 4,83 m); và cao nhất với mật độ 3.650 cây/ha ( $D_{00}$ : 0,32 cm;  $H_{lt}$ : 0,20 m).

#### 3.2.4. Thành phần thực vật trong khu vực phân bố của cây Tom trong

Qua điều tra, khảo sát tại các địa điểm có phân bố cây Tom trong cũng đã ghi nhận được 21 loài thực vật dạng cây bụi, thân thảo và dây leo nằm trong 14 họ thực vật.

**Bảng 3.8. Thành phần loài thực vật trong khu vực phân bố của cây Tom trong**

Stt	Tên thường	Tên khoa học	Họ thực vật	Tên Latinh	Dạng sống
1	An xoa	<i>Helicteres hirsuta</i>	Họ Trôm	Sterculiaceae	B
2	Ba bét	<i>Mallotus apelta</i>	Họ Thầu dầu	Euphorbiaceae	GN
3	Bồ cu vẽ	<i>Breynia fruticosa</i>	Họ Thầu dầu	Euphorbiaceae	B
4	Cắm lai	<i>Dalbergia cultrata</i>	Họ Đậu	Fabaceae	GL
5	Chây lá rộng	<i>Buchanania latifolia</i>	Họ Xoài	Anacardiaceae	GL
6	Cỏ đồng tiền	<i>Borreria alata</i>	Họ Cà phê	Rubiaceae	C
7	Cỏ lào	<i>Chromolaena odorata</i>	Họ Cúc	Asteraceae	T
8	Cỏ mỹ	<i>Pennisetum polystachyon</i>	Họ Cỏ	Poaceae	C
9	Cương rìa	<i>Scleria ciliaris</i>	Họ Cói	Cyperaceae	C
10	Cuống vàng	<i>Gonocaryum lobbianum</i>	Họ Mộc thông	Icacinaceae	GN
11	Đa đa	<i>Harrisonia perforata</i>	Họ Thanh thất	Simaroubaceae	B
12	Dầu trà beng	<i>Dipterocarpus obtusifolius</i>	Họ Dầu	Dipterocarpaceae	GL
13	Dọt sành	<i>Pavetta indica</i>	Họ Cà phê	Rubiaceae	B
14	Gừng gió	<i>Zingiber sp.</i>	Họ Gừng	Zingiberaceae	T
15	Hà thủ ô trắng	<i>Streptocaulon juvenas</i>	Họ Trúc đào	Apocynaceae	L

Stt	Tên thường	Tên khoa học	Họ thực vật	Tên Latinh	Dạng sống
16	Hồng bì đại	<i>Clausena excavata</i>	Họ Cam chanh	Rutaceae	GN
17	Kê hoa cong	<i>Panicum curviflorum</i>	Họ Cỏ	Poaceae	C
18	Khuynh diệp hẹp	<i>Eucalyptus crebra</i>	Họ Sim	Myrtaceae	GL
19	Lô ba lùn	<i>Globba aff. marantina</i>	Họ Gừng	Zingiberaceae	T
20	Kim cang	<i>Smilax sp.</i>	Họ Kim cang	Smilacaceae	L
21	Kim sương	<i>Micromelum falcatum</i>	Họ Cam chanh	Rutaceae	GN
22	Mật nhân	<i>Eurycoma longifolia</i>	Họ Thanh thất	Simaroubaceae	GN
23	Mía dò	<i>Costus speciosus</i>	Họ Gừng	Zingiberaceae	T
24	Ngũ sắc	<i>Lantana camara</i>	Họ Cỏ roi ngựa	Verbenaceae	B
25	Nhàu lông	<i>Morinda tomentosa</i>	Họ Cà phê	Rubiaceae	GN
26	Nưa chuông	<i>Amorphophyllus paeoniifolius</i>	Họ Ráy	Araceae	T
27	Sa nhân	<i>Etilingera littoralis</i>	Họ Gừng	Zingiberaceae	T
28	Sao lá tim	<i>Hopea cordifolia</i>	Họ Dầu	Dipterocarpaceae	GL
29	Sắn thuyền	<i>Syzygium polyanthum</i>	Họ Sim	Myrtaceae	GN
30	Sung dị diệp	<i>Ficus heterophylla</i>	Họ Dâu tằm	Moraceae	GN
31	Sung hoa mảnh	<i>Semecarpus graciliflora</i>	Họ Xoài	Anacardiaceae	GN
32	Thị hayata	<i>Diospyros hayatae</i>	Họ Thị	Ebenaceae	GN
33	Thù lù nhỏ	<i>Physalis minima</i>	Họ Cà	Solanaceae	T
34	Tóp mỡ	<i>Flemingia strobilifera</i>	Họ Đậu	Fabaceae	B
35	Trang đỏ	<i>Ixora coccinea</i>	Họ Cà phê	Rubiaceae	B
36	Trang trắng	<i>Ixora sp.</i>	Họ Cà phê	Rubiaceae	B

Stt	Tên thường	Tên khoa học	Họ thực vật	Tên Latinh	Dạng sống
37	Trang xa leo	<i>Luvunga scandens</i>	Họ Cam chanh	Rutaceae	B
38	Trâm dầy	<i>Syzygium parchisarcum</i>	Họ Sim	Myrtaceae	GN
39	Từ bót	<i>Dioscorea</i> sp.	Họ Củ nâu	Dioscoreaceae	L
40	Từ nghèo	<i>Dioscorea depauperata</i>	Họ Củ nâu	Dioscoreaceae	L
41	Từ Scortechin	<i>Dioscorea scortechini</i>	Họ Củ nâu	Dioscoreaceae	L
42	Xoài rừng	<i>Mangifera minutifolia</i>	Họ Đào lộn hột	Anacardiaceae	GL

Ghi chú: C - Cỏ, T - Thảo, D - Dây leo, B - Bụi, GN - Gỗ nhỏ, GL - Gỗ lớn

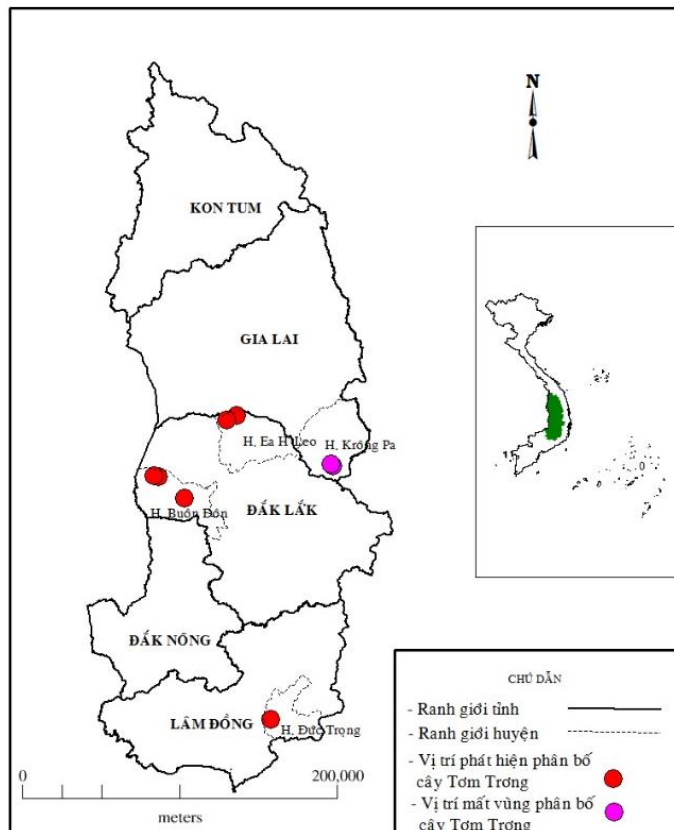
Kết quả từ Bảng 3.8 ghi nhận được có 23 họ thực vật, trong đó họ có nhiều loài được ghi nhận nhất là họ Cà Phê (8 loài), họ Gừng (8 loài), họ Củ nâu (5 loài), họ Cam chanh (4 loài), họ Sim (4 loài), họ Dầu (3 loài), họ Đậu (3 loài) và họ Thanh thất (3 loài). 4 họ nhiều loài nhất chiếm 69,1% tổng số loài ghi nhận được và có 6 họ chỉ có 1 loài được ghi nhận. Về dạng sống, có 10 loài dạng gỗ nhỏ, có 9 loài dạng cây bụi, 7 loài thân dạng thảo, 5 loài dây leo, 5 loài gỗ lớn và 3 loài cỏ được ghi nhận. Các loài: Cỏ lào, Cỏ mỹ, Cỏ đồng tiền, Thù lù, Mía dò, Bồ cu vẽ, Trang đỏ, Trang trắng, Nưa chuông là các loài đặc trưng cho kiểu trảng cỏ, cây bụi và rừng tái sinh phục hồi sau khai thác; các loài này

### 3.2.5. Bản đồ phân bố quần thể Tom trong

Tom trong có phân bố ở ba tỉnh là Gia Lai (Krông Pa); Đắk Lắk (Ea H'leo và VQG Yok Đôn); và Lâm Đồng (Đức Trọng). Cây mọc ở độ cao từ 200 - 938 m, tập trung từ 300 - 500 m, trên đất sa thạch hoặc đất sét pha cát. Loài có phân bố rộng nhưng hiện bị khai thác mạnh ở khu vực VQG Yok Đôn, các khu vực còn lại bị suy giảm phân bố, riêng ở khu vực xã Ia Rmok - huyện Krông Pa đã bị mất vùng phân bố do các hoạt động phá rừng làm nương rẫy. Tổng cộng có 09 quần thể được lập ô tiêu chuẩn để điều tra.

**Bảng 3.9. Khu vực phân bố loài Tôm trong ngoài tự nhiên**

Tỉnh	Huyện	Hiện trạng	Số quần thể phát hiện	Độ cao (m)
Lâm Đồng	Trạm Thực nghiệm Lâm nghiệp Lang Hanh - Huyện Đức Trọng	Quần thể ít, chưa rõ hiện trạng.	1	938
Đắk Lắk	VQG Yok Đôn - Xã Krông Na - Huyện Buôn Đôn và Xã Ea H'leo - Huyện Ea H'leo	Bị khai thác mạnh làm thuộc (VQG Yok Đôn). Bị mất vùng phân bố do phá rừng làm nương rẫy (Ea H'leo).	5	294 - 700
Gia Lai	Xã Ia Rmok - Huyện Krông Pa	Hiện chưa có khai thác nhưng bị mất vùng phân bố do phá rừng làm nương rẫy.	3	200 - 300

**Hình 3.8. Bản đồ phân bố Tôm trong**

### 3.3. Kỹ thuật nhân giống vô tính loài Tơm trong

#### 3.3.1. Nuôi cấy mô (*in vitro*)

##### 3.3.1.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tơm trong

Khả năng tái sinh và sinh trưởng chồi từ đốt thân cây Tơm trong sau 6 tuần nuôi cấy được thể hiện trên Bảng 3.10. Kết quả cho thấy, mẫu cấy trên môi trường MS có khả năng tái sinh và sinh trưởng chồi tốt hơn, với chiều cao chồi 1,60 cm, số chồi 1,10 chồi/mẫu, số cặp lá 2,10 cặp/chồi. Điều này cho thấy, thành phần và hàm lượng khoáng đa lượng, vi lượng và vitamin của môi trường MS thích hợp cho mẫu tái sinh và sinh trưởng chồi. Trong khi đó, mẫu cấy trên môi trường Knudson C không tái sinh chồi và mẫu có biểu hiện chết. Điều này có thể giải thích, môi trường Knudson C nghèo dinh dưỡng, thành phần và hàm lượng của các chất trong môi trường không phù hợp cho mẫu tái sinh chồi.

**Bảng 3.10.** Ảnh hưởng của môi trường MS và Knudson C đến sự tái sinh chồi cây Tơm trong sau 6 tuần nuôi cấy

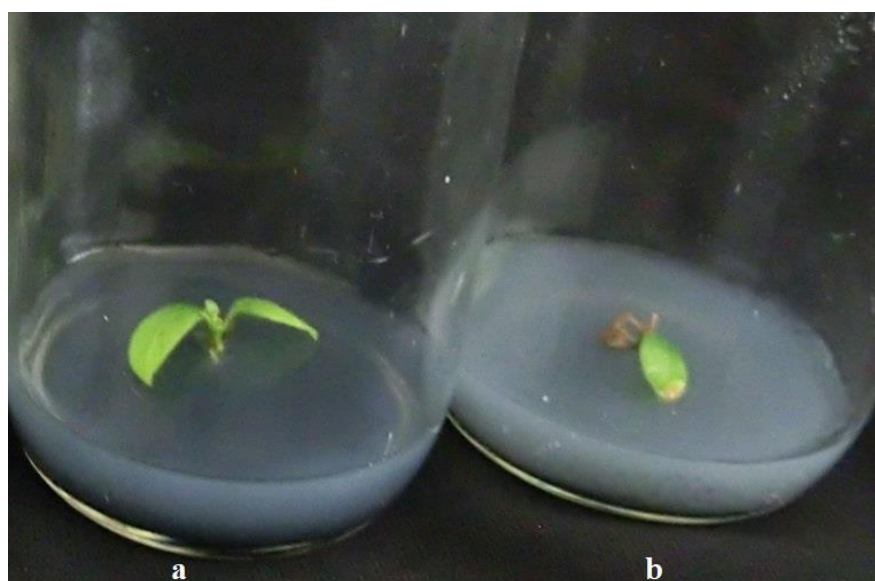
Môi trường nuôi cấy	Chiều cao chồi (cm)	Số chồi/mẫu	Số cặp lá/chồi
MS	1,60 <sup>a</sup>	1,10 <sup>a</sup>	2,10 <sup>a</sup>
Knudson C	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>

\*Các mẫu tự khác nhau (a,b) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  trong Duncan's test.

Về đặc điểm hình thái chồi cho thấy, ở môi trường MS chồi tái sinh và sinh trưởng tốt, lá màu xanh đậm (Hình 3.9a), ở môi trường Knudson C mẫu không tái sinh chồi, lá có màu vàng và chồi ngọn bắt đầu chết dần (Hình 3.9b). Philip et al. (1992) cho rằng tiềm năng phát sinh hình thái của mẫu cấy đầu chồi cây Tiêu đen (*Piper nigrum*) đã được khảo sát và mô tả một phương pháp nhân

giống thông qua tạo chồi cho kết quả tốt. Việc kết hợp các dạng môi trường, chất điều hòa sinh trưởng và xử lý khử trùng khác nhau cũng đã thực hiện và so sánh. Quy trình nhân giống bằng cách sử dụng mẫu cây đốt thân cây thuộc *Tinospora cordifolia*, một dạng cây thân leo thông qua nuôi cấy *in vitro* thành công (Sivakumar et al., 2014) cảm ứng chồi tốt nhất được quan sát trên môi trường MS với 4,36  $\mu$ M KIN tạo ra chiều dài  $2,32 \pm 0,1$  cm với  $1,8 \pm 0,1$  số chồi đạt 70% so với BA.

Như vậy, môi trường MS thích hợp cho sự tái sinh và sinh trưởng chồi *in vitro* cây Tom trong.



**Hình 3.9. Chồi cây Tom trong trên môi trường MS và Knudson C sau 6 tuần nuôi cấy**

*a. Môi trường MS; b. Môi trường Knudson C*

### 3.3.1.2. Ảnh hưởng của BA trong môi trường MS đến sự tái sinh chồi cây Tom trong

Kết quả Bảng 3.11 cho thấy, BA có ảnh hưởng rõ rệt lên sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tom trong, tuy nhiên ở những nồng độ BA khác nhau thì có sự tái sinh và sinh trưởng chồi khác nhau. Ở môi trường có bổ sung 0,5 mg/l BA mẫu tái sinh và sinh trưởng tốt nhất, với chiều cao chồi 3,06 cm, số chồi

1,20 chồi/mẫu và số cặp lá 3,30 cặp/mẫu. Điều này có thể giải thích nồng độ 0,5 mg/l BA là tối ưu cho sự tái sinh và sinh trưởng chồi *in vitro*. Ở môi trường không bổ sung chất kích thích sinh trưởng thì chiều cao chồi chỉ đạt 1,59 cm, số chồi 1,10 chồi/mẫu và số cặp lá 2,20 cặp/chồi. Khi tăng nồng độ BA lên từ 1 đến 3 mg/l thì chiều cao chồi giảm (2,83, 2,28, 1,68 và 1,54 cm) và số cặp lá cũng giảm (3,20, 2,60, 2,10 và 2,10 cặp/chồi). Chứng tỏ, khi nồng độ BA thấp kích thích chồi sinh trưởng và phát triển, nhưng khi nồng độ BA tăng dần lên cao thì có tác dụng ngược lại gây ức chế sự sinh trưởng và phát triển của chồi.

**Bảng 3.11. Ảnh hưởng của BA trong môi trường MS đến sự tái sinh chồi cây Tom trong sau 6 tuần nuôi cấy**

Nồng độ BA (mg/l)	Chiều cao chồi (cm)	Số chồi/mẫu	Số cặp lá/chồi
0,0	1,59 <sup>de</sup>	1,10 <sup>a</sup>	2,20 <sup>c</sup>
0,5	3,06 <sup>a</sup>	1,20 <sup>a</sup>	3,30 <sup>a</sup>
1,0	2,83 <sup>b</sup>	1,30 <sup>a</sup>	3,20 <sup>a</sup>
1,5	2,28 <sup>c</sup>	1,10 <sup>a</sup>	2,60 <sup>b</sup>
2,0	1,68 <sup>d</sup>	1,10 <sup>a</sup>	2,10 <sup>c</sup>
3,0	1,54 <sup>e</sup>	1,10 <sup>a</sup>	2,10 <sup>c</sup>

\*Các mẫu tự khác nhau (a,b,c) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  trong Duncan's test.

Đặc điểm hình thái chồi cho thấy, lá của chồi ở môi trường không bổ sung auxin có màu xanh nhạt, chồi sinh trưởng, phát triển yếu (Hình 3.10a), lá của chồi ở môi trường 0,5 mg/l và môi trường 1,0 mg/l có màu xanh đậm, chồi sinh trưởng và phát triển tốt (Hình 3.10b và 3.10c), lá của chồi ở môi trường 1,5 mg/l có màu xanh nhạt, cây sinh trưởng, phát triển khá tốt (Hình 3.10d), chồi ở môi trường 2,0 mg/l và môi trường 3,0 mg/l sinh trưởng, phát triển kém, lá chuyển màu nâu vàng và biểu hiện chết dần (Hình 3.10e và 3.10f). BA là



chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin có vai trò quan trọng trong phân chia tế bào và kích thích sự hình thành chồi, do đó, trong nuôi cấy mô tế bào thực vật BA thường được sử dụng trong giai đoạn nhân nhanh. Nồng độ của BA được sử dụng trong nhân giống *in vitro* ở những loài cây trồng khác nhau là khác nhau, có loại cây trồng thích hợp ở nồng độ thấp, có loại cây trồng thích hợp ở nồng độ cao. Hiện nay trên thế giới và trong nước chưa thấy công bố nào sử dụng BA trong nghiên cứu tái sinh chồi *in vitro* cây dược liệu Tôm trong, nhưng ở những cây dược liệu khác đã có nhiều công bố như: Ket (2003) nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện môi trường đến sự tăng trưởng *in vitro* và *ex vitro* cây lan gấm loài *Anoectochilus formosanus* cũng đã sử dụng BA, kết quả cho thấy, nồng độ 1 mg/l BA là tốt nhất đến sự tái sinh chồi; Phan Xuân Huyền và cs. (2017) nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Sâm bố chính (*Hibicus sagittifolius*) thông qua nuôi cấy chồi ngủ đốt thân đã sử dụng chất kích thích sinh trưởng BA, kết quả chỉ ra rằng, môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l BA là tốt nhất đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi. Gerald Martin et al. (2016) đã xây dựng một quy trình vi nhân giống đã được phát triển cho *Celastrus paniculatus*, một loại cây thuốc dễ bị tổn thương. Việc nuôi cấy được bắt đầu từ các mẫu cấy được thu thập từ các chồi non của cây 12 tuổi trong môi trường nền MS. Trung bình 5 chồi được tạo ra trong môi trường MS được bổ sung 1,5 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA sau hai chu kỳ cấy chuyển với khoảng thời gian 30 ngày. Việc cấy chuyển liên tục trong cùng một môi trường thêm ba chu kỳ dẫn đến giảm số lượng chồi nhiều (2 hoặc 3 chồi), thủy tinh hóa các chồi và hình thành mô sẹo. Quá trình thủy tinh hóa mẫu cấy có thể được khắc phục bằng cách sử dụng môi trường MS được bổ sung với nồng độ thấp hơn của BA (0,05 mg/l) và NAA (0,01 mg/l). Trong số các thử nghiệm tạo rễ khác nhau, việc tạo rễ *ex vitro* của các chồi đồng thời làm thích nghi là hiệu quả nhất. Phương pháp chuẩn hóa trong nghiên cứu này rất đơn giản, vì nó đã loại bỏ các bước riêng biệt để

tạo rễ và làm thích nghi cây *in vitro*. Sự giống nhau về mặt định tính của các chất tái sinh nuôi cấy mô với cây mẹ đã được xác nhận bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký lớp mỏng (HPTLC) hiệu suất cao.

Như vậy, từ kết quả nghiên cứu cũng như một số nghiên cứu khác đã cho thấy môi trường MS bổ sung BA ở nồng độ 0,5 mg/l là tốt nhất đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi *in vitro* cây Tom trong.



**Hình 3.10.** Chồi cây Tom trong trên môi trường MS có bổ sung BA sau 6 tuần nuôi cấy

- |                 |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| a. BA 0,0 mg/l; | b. BA 0,5 mg/l; | c. BA 1,0 mg/l; |
| d. BA 1,5 mg/l; | e. BA 2,0 mg/l; | f. BA 3,0 mg/l  |

### 3.3.1.3. Khảo sát ảnh hưởng của Kinetin trong môi trường MS đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tom trong

Khả năng tái sinh và sinh trưởng chồi từ đốt thân cây Tom trong sau 6 tuần nuôi cấy được thể hiện ở Bảng 3.12. Kết quả cho thấy, những đốt thân nuôi cấy trên tất cả các môi trường đều tái sinh chồi, tuy nhiên ở môi trường bổ sung các nồng độ KIN khác nhau thì có sự tái sinh và sinh trưởng chồi khác nhau. Mẫu tái sinh và sinh trưởng chồi tốt nhất trên môi trường bổ sung 1 mg/l KIN, với chiều cao chồi 2,79 cm, số chồi 1,50 chồi/mẫu và số cặp lá 3,00 cặp/chồi. Khi tăng nồng độ KIN từ 0 - 1 mg/l thì chiều cao chồi và số cặp lá tăng lên, nhưng khi nồng độ KIN tăng lên 1,5 - 3 mg/l thì chiều cao chồi và số cặp lá giảm xuống, riêng chỉ tiêu số chồi/mẫu ở các nghiệm thức thì không có sự khác biệt. Điều này có thể giải thích, khi nồng độ KIN thấp thì kích thích sự tái sinh chồi, tăng trưởng chiều cao và số cặp lá/chồi, nhưng khi nồng độ KIN

tăng cao thì xảy ra quá trình ngược lại ức chế sự tái sinh và sinh trưởng chồi. Các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin nói chung và chất kích thích sinh trưởng KIN nói riêng đều có tác dụng lên mẫu cây theo một quy luật chung, khi tăng dần nồng độ thì kích thích sự tái sinh và sinh trưởng chồi của mẫu, đến nồng độ tối ưu thì sự tái sinh và sinh trưởng chồi đạt tốt nhất, nhưng khi vượt qua nồng độ tối ưu thì sẽ gây ra hiện tượng ức chế tái sinh và sinh trưởng chồi hoặc làm cho mẫu bị ngộ độc và chết.

**Bảng 3.12. Ảnh hưởng của Kinetin trong môi trường MS đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tom trong sau 6 tuần nuôi cấy.**

<b>Kinetin (mg/l)</b>	<b>Chiều cao chồi (cm)</b>	<b>Số chồi/mẫu</b>	<b>Số cặp lá/chồi</b>
0,0	1,62 <sup>cd</sup>	1,10 <sup>a</sup>	2,20 <sup>b</sup>
0,5	2,47 <sup>b</sup>	1,30 <sup>a</sup>	2,80 <sup>a</sup>
1,0	2,79 <sup>a</sup>	1,50 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>
1,5	2,51 <sup>b</sup>	1,30 <sup>a</sup>	2,70 <sup>a</sup>
2,0	1,69 <sup>c</sup>	1,10 <sup>a</sup>	2,20 <sup>b</sup>
3,0	1,56 <sup>d</sup>	1,10 <sup>a</sup>	2,10 <sup>b</sup>

\*Các mẫu tự khác nhau (a,b,c, ...) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  trong Duncan's test.

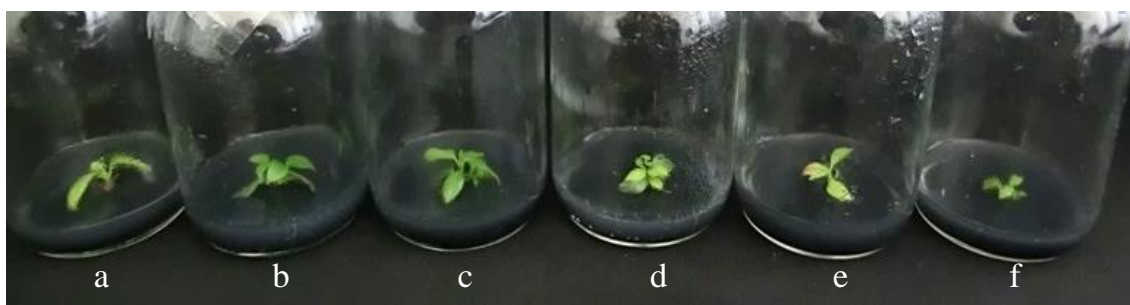
Quan sát đặc điểm hình thái chồi cho thấy, ở môi trường bổ sung 0,5 mg/l và 1,0 mg/l thì chồi cây sinh trưởng, phát triển tốt, lá nhiều và có màu xanh đậm (Hình 3.11b và 3.11c), ở môi trường không bổ sung chất kích thích sinh trưởng và môi trường có bổ sung 1,5; 2 và 3 mg/l KIN thì chồi cây sinh trưởng, phát triển kém hơn, lá biến dạng và có màu xanh nhạt (tương ứng Hình 3.11a, 3.11d, 3.11e và 3.11f). Hiện nay trên thế giới và trong nước chưa thấy công bố nào sử dụng KIN trong nghiên cứu tái sinh và sinh trưởng chồi *in vitro* cây dược liệu Tom trong, nhưng ở những cây dược liệu khác đã có nhiều công

bồ như: Quy trình nhân giống bằng cách sử dụng mẫu cây đốt thân cây thuốc *Tinospora cordifolia*, một dạng cây thân leo thông qua nuôi cấy *in vitro* thành công (Sivakumar et al., 2014). Cảm ứng chồi tốt nhất được quan sát trên môi trường MS với 4,36  $\mu$ M KIN tạo ra chiều dài  $2,32 \pm 0,1$  cm với  $1,8 \pm 0,1$  số chồi đạt 70% so với BA. Sau một tháng nuôi cấy tạo ra chồi, vấn đề mẫu cấy tiết ra phenol trong quá trình hình thành chồi, môi trường bị đổi màu và mẫu cấy chuyển sang màu nâu và chồi bị gãy, việc xử lý với các chất khác nhau như nitrat bạc (20%) với KIN (4,36  $\mu$ M) cho kết quả 100% với độ dài chồi  $3,01 \pm 1,0$  cm với 2,01 số chồi trong vòng 16 ngày. Ket (2003), khi tiến hành nghiên cứu giống *in vitro* cây Lan gấm loài *Anoectochilus formosanus* đã sử dụng KIN ở nồng độ 1 mg/l cho kết quả tốt nhất; Slupski and Matkowski (2011) cũng sử dụng KIN trong nhân giống *in vitro* cây dược liệu Đảng sâm loài *Codonopsis pilosula*; Trương Thị Bích Phượng và Phan Ngọc Khoa (2013) nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Lan gấm loài *Anoectochilus roxburghii* cũng đã sử dụng chất kích thích sinh trưởng KIN, kết quả thu được 4,60 chồi/mẫu là tốt nhất. Gần đây, người ta đã chứng minh việc sử dụng BA và KIN riêng biệt có ảnh hưởng đáng kể đến số lượng chồi trên một mẫu cấy và sự kéo dài chồi cây *Juniperus polycarpos* L. Đồng thời, tốc độ nhân chồi và chiều dài chồi tăng khi tăng nồng độ KIN hay BA tăng từ 1 - 5 mg/l. Các tác giả đều có chung nhận định là việc kích thích sản xuất chồi hay ức chế chiều dài chồi có thể liên quan đến hoạt tính cao của các cytokinin này (Gomez. et al., 1994; Momeni. et al., 2018; Ket., 2003; Slupski. et al., 2011).

Trong nghiên cứu này số lượng chồi tái sinh chưa cao, có thể cần thiết tiếp tục nghiên cứu cải tiến môi trường nuôi cấy và cần khảo sát thêm các chu kỳ cấy chuyển nhiều lần sẽ cho kết quả khác biệt, ví dụ: Trong nghiên cứu trên đối tượng cây Tiêu đen (*Piper nigrum* Linn.) thì mặc dù tốc độ tăng sinh ban đầu được quan sát là khá chậm, nhưng nó đã tăng lên trong một vài lần cấy

chuyển đầu tiên và duy trì tốc độ cao trong các chu kỳ tiếp theo. Mẫu cây đầu chồi ban đầu chỉ tạo ra hai chồi, nhưng sản lượng chồi tăng dần trong khoảng thời gian 9 tháng. Tỷ lệ sinh sôi được ghi nhận sẽ cho phép sản xuất ước tính khoảng 15.000 cây từ một ngọn chồi duy nhất, so với 50 cành giâm rễ trên mỗi cây mỗi năm hiện đạt được bằng cách nhân giống sinh dưỡng (Milanez and Ventura, 1987).

Như vậy, sử dụng 1 mg/l KIN khi bổ sung vào môi trường MS đã có ảnh hưởng tốt nhất đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi *in vitro* cây Tom trong.



**Hình 3.11. Chồi cây Tom trong trên môi trường MS có bổ sung Kinetin sau 6 tuần nuôi cấy**

a. KIN 0,0 mg/l;      b. KIN 0,5 mg/l;      c. KIN 1,0 mg/l;  
d. KIN 1,5 mg/l;      e. KIN 2,0 mg/l;      f. KIN 3,0 mg/l

#### 3.3.1.4. Khảo sát ảnh hưởng của môi trường MS có bổ sung và không bổ sung than hoạt tính đến sự sinh trưởng chồi cây Tom trong

Trong thí nghiệm này, đốt thân cây Tom trong *in vitro* được cấy trên hai môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BA, 30 g/l sucrose, 9 g/l agar, pH 5,8, có bổ sung thêm 1 g/l than hoạt tính và không bổ sung than hoạt tính. Khả năng tái sinh và sinh trưởng chồi *in vitro* từ đốt thân cây Tom trong sau 6 tuần nuôi cấy được thể hiện trên Bảng 3.13. Kết quả cho thấy, đốt thân trên môi trường có bổ sung 1 g/l than hoạt tính (chiều cao chồi 3,14 cm, số chồi 1,20 chồi/mẫu và số cặp lá 3,30 cặp/chồi) và môi trường không bổ sung than hoạt tính (chiều cao chồi 3,11 cm, số chồi 1,10 chồi/mẫu và số cặp lá 3,20 cặp/chồi) đều tái sinh

chồi và chồi sinh trưởng tốt. Kết quả thống kê cũng cho thấy, chiều cao chồi, số chồi/mẫu và số cặp lá/chồi trên môi trường có bổ sung và không bổ sung 1 g/l than hoạt tính không có sự khác biệt. Điều này cho thấy, môi trường có bổ sung 1 g/l than hoạt tính hoặc không bổ sung than hoạt tính thì không kích thích và cũng không ức chế sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tom trong.

**Bảng 3.13. Ảnh hưởng của môi trường MS có bổ sung và không bổ sung than hoạt tính đến sự sinh trưởng chồi cây Tom trong sau 6 tuần nuôi cấy**

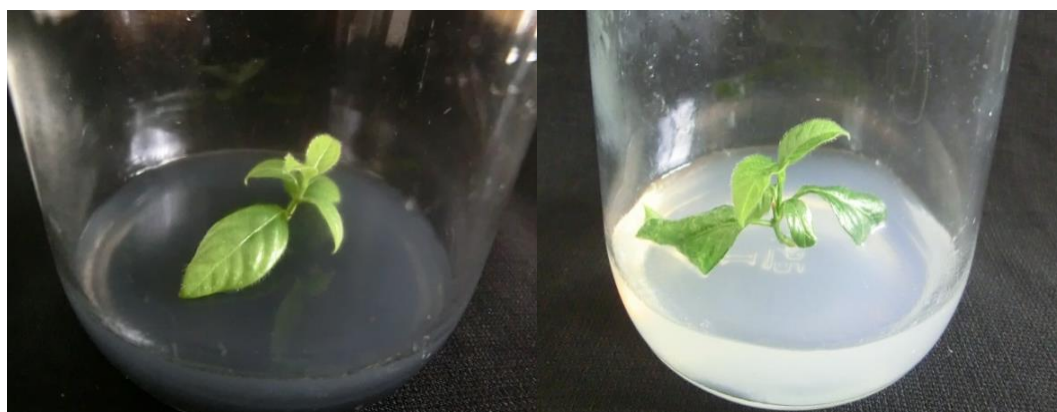
Môi trường nuôi cấy	Chiều cao chồi (cm)	Số chồi/mẫu	Số cặp lá/chồi
Có than hoạt tính (1 g/l)	3,14 <sup>a</sup>	1,20 <sup>a</sup>	3,30 <sup>a</sup>
Không than hoạt tính	3,11 <sup>a</sup>	1,10 <sup>a</sup>	3,20 <sup>a</sup>

Về đặc điểm hình thái, chồi ở môi trường có bổ sung 1 g/l than hoạt tính và không bổ sung than hoạt tính đều sinh trưởng, phát triển tốt, lá có màu xanh đậm (Hình 3.12). Than hoạt tính có tác dụng hấp phụ các hợp chất tiết ra từ thực vật trong quá trình nuôi cấy *in vitro*, việc bổ sung than hoạt tính vào môi trường nuôi cấy *in vitro* có nhiều tác dụng khác nhau như: thúc đẩy quá trình phát sinh hình thái và phát triển của mẫu cấy, có thể kích thích nhưng cũng có thể ức chế sự sinh trưởng của thực vật nuôi cấy *in vitro*, điều này phụ thuộc vào đặc điểm của từng loài thực vật cũng như từng loại mô nuôi cấy (Pan and Van, 1998). Hiện nay, chưa có công bố nào nghiên cứu ảnh hưởng của than hoạt tính lên sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tom trong, nhưng đã có nhiều công bố trên những cây dược liệu khác. Kết quả của nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu của Phan Xuân Huyền và cs. (2017) khi nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Sâm bố chính đã bổ sung và không bổ sung 1 g/l than hoạt tính, kết quả cho thấy, ở môi trường có bổ sung than hoạt tính thì 100% mẫu cấy đều tạo rễ, môi trường không có than hoạt tính thì không tạo rễ, nhưng sự tái sinh và sinh trưởng chồi ở hai môi trường này không có sự khác biệt. Phan Xuân Huyền

và Nguyễn Lâm Thanh (2014) khi nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Đẳng sâm loài *Codonopsis javanica* thông qua nuôi cấy chồi ngủ đã tiến hành thí nghiệm bổ sung và không bổ sung vào môi trường nuôi cấy 1 g/l than hoạt tính, kết quả thu được, môi trường có bổ sung 1 g/l than hoạt tính kích thích mẫu cấy tái sinh rễ, chồi cây sinh trưởng xanh tốt, nhưng lại ức chế quá trình phát sinh chồi cây, trong khi đó, môi trường không bổ sung than hoạt tính thì kích thích mẫu tạo chồi nhưng ức chế mẫu tạo rễ.

Một số công bố trước đây, người ta khẳng định rằng than hoạt tính có vai trò quan trọng trong nuôi cấy mô thực vật, nó cải thiện phản ứng về hình thái trong điều kiện *in vitro* theo nhiều cách. Từ các số liệu có sẵn, rõ ràng nồng độ than hoạt tính khác nhau rất nhiều khi nuôi cấy mô tế bào thực vật từ 0,002 - 150 g/l. Nồng độ có thể liên quan đến các loài thực vật khác nhau, môi trường dinh dưỡng, loại mẫu cấy cũng như mục đích nuôi cấy, ... Vai trò thúc đẩy hay ức chế của than hoạt tính phụ thuộc vào một số yếu tố. Nhiều nhà nghiên cứu tin rằng sự hấp thụ không chọn lọc các chất, đặc biệt là chất điều hòa sinh trưởng thực vật trong môi trường nuôi cấy có than hoạt tính thường có ảnh hưởng đến phản ứng của mẫu cấy. Ngoài ra, chúng ta cũng chưa rõ được than hoạt tính điều hòa thế nào đến các chất mà nó đã hấp thụ trong môi trường (Dennis Thomas, 2008). Do đó, cần có những nghiên cứu chuyên sâu hơn, dù vậy trong nghiên cứu này, than hoạt tính không thể hiện tác động thúc đẩy cũng như ức chế đến sự sinh trưởng của mẫu chồi cây Tom trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*.

Như vậy, trên cùng một môi trường nuôi cấy, môi trường có bổ sung và không bổ sung 1 g/l than hoạt tính đều thích hợp đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi *in vitro* cây Tom trong.



**Hình 3.12. Chồi cây Tom trong trên môi trường MS có bổ sung và không bổ sung than hoạt tính sau 6 tuần nuôi cấy**

### 3.3.1.5. Khảo sát ảnh hưởng của IBA trong môi trường WPM đến sự tạo rễ *in vitro* cây Tom trong

Khả năng tạo rễ *in vitro* cây Tom trong sau 4 tuần nuôi cấy được thể hiện trên Bảng 3.14. Kết quả cho thấy, tất cả các mẫu cây ở những nghiệm thức trên đều hình thành rễ, tuy nhiên ở những nồng độ IBA khác nhau thì sự sinh trưởng cây và sự hình thành rễ khác nhau.

**Bảng 3.14. Ảnh hưởng của IBA trong môi trường WPM đến sự tạo rễ *in vitro* cây Tom trong sau 4 tuần nuôi cấy**

Nồng độ IBA (mg/l)	Chiều cao cây (cm)	Số cặp lá/cây	Số rễ/cây	Chiều dài rễ (cm)	Tỷ lệ ra rễ (%)
0,5	2,62 <sup>c</sup>	3,00 <sup>a</sup>	5,00 <sup>b</sup>	2,55 <sup>a</sup>	100
1,0	3,88 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>	9,66 <sup>a</sup>	2,87 <sup>a</sup>	100
1,5	3,12 <sup>b</sup>	3,00 <sup>a</sup>	3,66 <sup>bc</sup>	2,52 <sup>a</sup>	100
2,0	2,56 <sup>c</sup>	3,00 <sup>a</sup>	2,22 <sup>c</sup>	1,68 <sup>b</sup>	100

\* Các mẫu tự khác nhau (a,b,c) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  trong Duncan's test.

Khảo sát trên môi trường MS cho kết quả ra rễ cao nhất đạt 60% ở các nồng độ IBA từ 0,5 - 1,5 mg/l và chất lượng rễ cũng không có sự khác biệt. Khảo sát trên môi trường WPM kết quả có sự khác biệt rõ ràng, ở nghiệm thức



bổ sung 1,0 mg/l IBA sự sinh trưởng cây và hình thành rễ tốt nhất, với tỷ lệ tạo rễ 100%, chiều cao cây 3,88 cm, số cặp lá 3 cặp/cây, số rễ 9,66 rễ/cây, chiều dài rễ 2,87 cm (Hình 3.13a<sub>2</sub>, 3.13b<sub>2</sub>). Nghiệm thức bổ sung 2,0 mg/l IBA có tỷ lệ tạo rễ cũng đạt 100%, nhưng cây sinh trưởng và hình thành rễ kém nhất, với chiều cao cây 2,56 cm, số cặp lá 3 cặp/cây, số rễ 2,22 rễ/cây, chiều dài rễ 1,68 cm (Hình 3.13a<sub>4</sub>, 3.13b<sub>4</sub>). Nghiệm thức bổ sung 0,5 mg/l IBA (Hình 3.13a<sub>1</sub>, 3.13b<sub>1</sub>) và 1,5 mg/l IBA (Hình 3.13a<sub>3</sub>, 3.13b<sub>3</sub>) đều có tỷ lệ tạo rễ đạt 100%, cây sinh trưởng và hình thành rễ kém hơn nghiệm thức bổ sung 1,0 mg/l IBA, nhưng tốt hơn nghiệm thức bổ sung 2,0 mg/l IBA. Chỉ tiêu theo dõi số cặp lá của cây ở các nghiệm thức không có sự khác biệt và đều có 3 cặp lá. Kết quả cũng cho thấy, khi tăng nồng độ IBA từ 0,5 - 1,0 mg/l thì chiều cao cây, số rễ và chiều dài rễ tăng lên, nhưng khi tăng nồng độ IBA từ 1,5 - 2,0 mg/l thì chiều cao cây, số rễ và chiều dài rễ giảm xuống. Điều này cho thấy IBA ở nồng độ thấp thì kích thích chiều cao cây, số rễ và chiều dài rễ, nhưng khi tăng cao thì có tác dụng ngược lại ức chế các chỉ tiêu này.

Trong nuôi cấy *in vitro*, việc sử dụng bình nuôi cấy kín có tác dụng ngăn ngừa sự xâm nhiễm của các vi sinh vật và sự thoát hơi nước. Tuy nhiên, dạng bình nuôi cấy kín có độ ẩm trong bình tương đối cao làm cho cây bị thủy tinh thể, cây phát triển chậm, hình thái sinh lý dị thường dẫn đến tỷ lệ sống sót thấp khi đưa ra vườn ươm (Kozai and Jeong, 1993). Cây con phát triển dưới điều kiện độ ẩm tương đối thấp sẽ tránh được hiện tượng thủy tinh thể (Tanaka et al., 1992) và việc sử dụng hệ thống nuôi cấy thoáng khí giúp cải thiện hiện tượng thủy tinh thể ở cây hoa Bibi (*Gypsophyla paniculata*) (Dillen and Buysens, 1989), cây hoa Cẩm chương (*Dianthus caryophyllus*) (Hakkaart and Versluijs, 1983), nâng cao sự sinh trưởng ở cây Dâu tây (*Fragaria* × *ananassa*) (Kozai and Sekimoto, 1988). Sử dụng hệ thống nuôi cấy thoáng khí giúp tăng khả năng trao đổi khí trong bình với môi trường ngoài bình nhằm tăng hàm

lượng CO<sub>2</sub>, giảm hàm lượng O<sub>2</sub> trong bình nuôi cấy từ đó tăng khả năng quang hợp của cây *in vitro* (Tanaka, 1991) và giảm nồng độ khí ethylene (Deproft et al., 1985). Tổng hàm lượng diệp lục cao hơn đáng kể khi cây con được trồng trong các bình thoáng khí so với trong các bình không được thoáng khí (Mohamed and Alsadon, 2010). Nuôi cấy thoáng khí làm tăng hàm lượng diệp lục và khả năng quang hợp của chồi trong ống nghiệm và cải thiện sự thích nghi của cây con khi chuyển ra ngoài vườn ươm (Hassankhah et al., 2014), nâng cao tỷ lệ sống sót của cây khi chuyển ra điều kiện *ex vitro* (Nguyễn Thị Kim Yên, 2013).

Hiện nay, chưa có công bố nào sử dụng chất IBA nghiên cứu tạo rễ *in vitro* cây Tom trong. IBA là một chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm auxin có tác dụng kích thích tạo rễ và được sử dụng phổ biến nghiên cứu tạo rễ *in vitro*, tùy theo từng đối tượng cây trồng mà có những nồng độ thích hợp tạo rễ khác nhau, và tỷ lệ tạo rễ cũng phụ thuộc vào từng loại cây trồng. Nghiên cứu này cho thấy cây Tom trong là một đối tượng tạo rễ *in vitro* tương đối dễ dàng, tỷ lệ tạo rễ đạt 100%. Một số đối tượng cây trồng khác cũng dễ tạo rễ *in vitro* như: cây sâm bố chính tạo rễ *in vitro* đạt 100% khi môi trường nuôi cấy có bổ sung 0,1 - 1 mg/l IBA (Phan Xuân Huyền và cộng sự, 2017), cây lan gấm loài *Anoectochilus formosanus* có tỷ lệ tạo đạt 100% khi môi trường bổ sung 1 g/l than hoạt tính (Ket, 2003), cây đảng sâm tạo rễ đạt 100% khi môi trường nuôi cấy có bổ sung 0,1 - 1 mg/l IBA (Phan Xuân Huyền và Nguyễn Lâm Thanh, 2014). Bên cạnh đó, nhiều đối tượng cây trồng khó tạo rễ *in vitro* như: cây Việt quất tạo rễ *in vitro* cao nhất chỉ đạt 60% (Mustafa and Atalay, 2015), cây Lá bép tạo rễ *in vitro* cao nhất chỉ đạt 40% (Hoang et al., 2018). Như vậy, môi trường WPM bổ sung 1 mg/l IBA là tốt nhất đến sự tạo rễ *in vitro* cây Tom trong.



**Hình 3.13. Cây Tom trong *in vitro* ra rễ trên môi trường WPM sau 30 ngày nuôi cấy**

*a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub>, a<sub>3</sub>, a<sub>4</sub> và b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>3</sub>, b<sub>4</sub>. Cây Tom trong hình thành rễ*

### 3.3.1.6. Nghiên cứu kỹ thuật ra cây con Tom trong *ex vitro*

Nghiên cứu chuyển cây *in vitro* ra ngoài vườn ươm là một bước quan trọng trong nuôi cấy mô thực vật. Cây *in vitro* phải thích nghi ở điều kiện mới khi chuyển từ điều kiện nuôi cấy *in vitro* ra điều kiện vườn ươm. Bộ rễ của cây con phải thích nghi trên giá thể mới, hơn nữa, độ ẩm trong điều kiện *in vitro* cao và ổn định hơn ở điều kiện ngoài vườn ươm, do đó, cây con dễ dàng bị chết. Vì vậy, cây con cần phải chăm sóc cẩn thận khi chuyển ra ngoài vườn ươm trong thời gian đầu.

**Bảng 3.15. Ảnh hưởng của giá thể đến sự thích nghi và sinh trưởng cây Tom trong *in vitro* chuyển ra ngoài vườn ươm sau 3 tháng nuôi trồng**

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Chiều dài rễ (cm)	Số cặp lá/cây	Tỷ lệ sống (%)	Hình thái cây
CT1	5,42 <sup>d</sup>	6,63 <sup>c</sup>	4,00 <sup>c</sup>	90	Lá xanh đậm, đốt thân ngắn, rễ phát triển bình thường.
CT2	8,13 <sup>b</sup>	9,58 <sup>ab</sup>	5,13 <sup>a</sup>	80	Lá xanh đậm, đốt thân dài, rễ phát triển mạnh.
CT3	5,33 <sup>d</sup>	6,89 <sup>c</sup>	4,12 <sup>c</sup>	90	Lá xanh đậm, đốt thân ngắn, rễ phát triển bình thường.
CT4	6,92 <sup>c</sup>	6,60 <sup>c</sup>	4,75 <sup>ab</sup>	70	Lá xanh đậm, đốt thân ngắn, rễ phát triển bình thường.
CT5	9,27 <sup>a</sup>	9,91 <sup>a</sup>	5,20 <sup>a</sup>	100	Lá xanh đậm, đốt thân dài, rễ phát triển mạnh.
CT6	6,85 <sup>c</sup>	8,96 <sup>b</sup>	5,12 <sup>a</sup>	80	Lá xanh đậm, đốt thân ngắn, rễ phát triển mạnh.
CT7	5,17 <sup>d</sup>	6,97 <sup>c</sup>	4,25 <sup>c</sup>	80	Lá xanh nhạt, đốt thân ngắn, rễ phát triển bình thường.
CT8	5,21 <sup>d</sup>	6,48 <sup>c</sup>	4,10 <sup>c</sup>	100	Lá xanh nhạt, đốt thân ngắn, rễ phát triển bình thường.

\* Các mẫu tự khác nhau (a,b,c) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  trong Duncan's test.

Kết quả Bảng 3.15 cho thấy, cây con Tom trong *in vitro* có thể thích nghi và sinh trưởng khi trồng ở các giá thể nghiên cứu, với tỷ lệ sống của cây từ 70 - 100%, tuy nhiên các loại giá thể khác nhau có sự thích nghi và sinh trưởng khác nhau. Ở CT5 (25% đất - 75% xơ dừa) là tốt nhất đến sự thích nghi

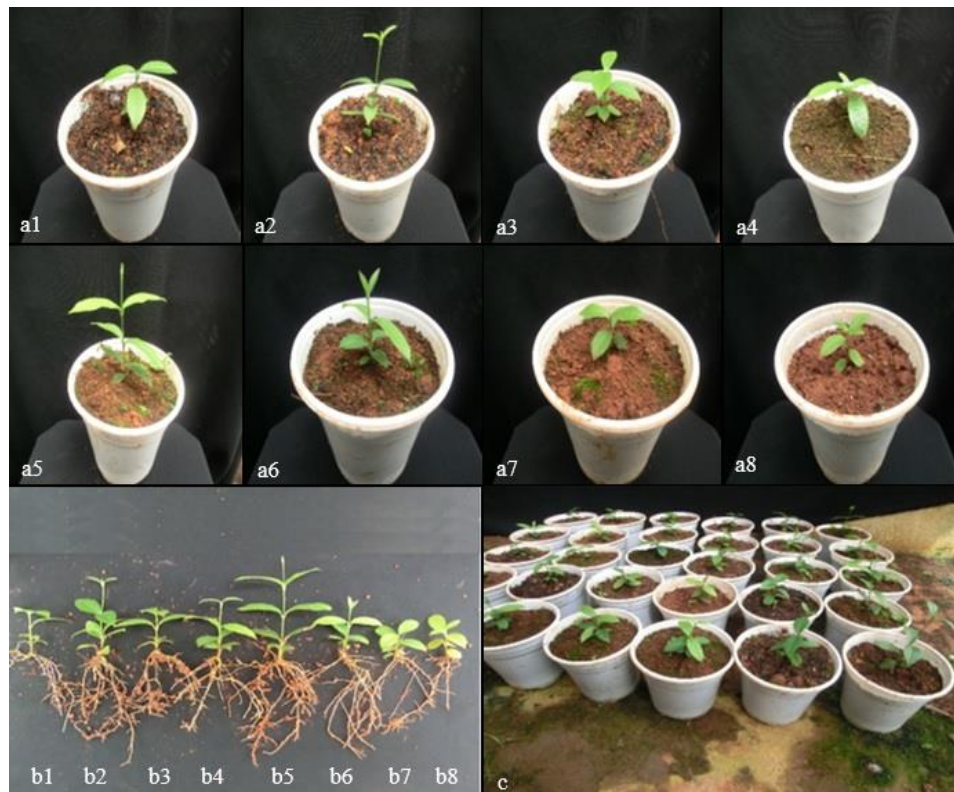
và sinh trưởng của cây con, với chiều cao 9,27 cm, chiều dài rễ 9,91 cm, số cặp lá 5,20 cặp/cây và tỷ lệ sống 100%. Điều này có thể giải thích giá thể 25% đất - 75% xơ dừa tạo độ thông thoáng và giữ ẩm thích hợp cho cây Tôm trong *in vitro* sinh trưởng trong giai đoạn đầu ở điều kiện vườn ươm. Cây trồng trên CT2 (50% đất - 50% tro trấu) và CT6 (50% đất - 50% xơ dừa) cũng sinh trưởng tốt (chiều cao cây 6,85 - 8,13 cm, chiều dài rễ 8,96 - 9,58 cm, số cặp lá 5,12 - 5,13 cặp/cây) nhưng kém hơn cây trồng trên giá thể của CT5. Cây trồng trên những CT1 (25% đất - 75% tro trấu), CT3 (75% đất - 25% tro trấu), CT4 (100% xơ dừa), CT7 (75% đất - 25% xơ dừa) và CT8 (100% đất) sinh trưởng kém nhất. Đặc điểm hành thái cây cũng cho thấy, lá của cây trồng trên các giá thể đều có màu xanh đậm và có bộ rễ phát triển tốt. Cây con tiếp tục sinh trưởng tốt sau 4 tháng nuôi trồng.

Sự phát triển của cây *in vitro* khi chuyển sang chăm sóc ở điều kiện nhà kính hay ở điều kiện đồng ruộng đã được Preece and Sutter (1991) và nhiều tác giả đã nghiên cứu. Môi trường được sử dụng thường xuyên nhất để giảm cạnh bao gồm: Cát, than bùn, phân trộn, sphagnum, vỏ cây, mùn cưa (Hartmann et al., 1997). Satheesh and Bhavanandan (1988) báo cáo rằng khi các cây *in vitro* của *Plumbago rosea* được chuyển sang chậu chứa hỗn hợp đất và cát 1 : 1 trong điều kiện nhà kính, khoảng 60% số cây sống sót. Tỷ lệ sống cao (96%) được ghi nhận khi các cây Bán hạ bắc (*Pinellia ternata*) được cấy vào hỗn hợp 1 : 2 : 1 của vermiculite: đất mùn : rêu (Tsay et al., 1989). Saxena et al. (1998) báo cáo rằng các cây con có rễ của *Psoralea corylifolia* đã được chuyển thành công sang hỗn hợp đất và cát theo tỷ lệ 1 : 1 và khoảng 95% số cây tái sinh sống sót trong nhà kính. Nghiên cứu cho thấy, cây Mận chua có thể được nhân giống trong cát, mùn cưa hoặc cát trộn với mùn cưa có hoặc không có hormon. Các hom nhân giống trong mùn cưa có xử lý hormon tạo ra rễ mảnh và dài. Phát hiện này phù hợp với kết quả của Mialoundama et al. (2002). Mùn cưa có khả

năng giữ ẩm cao và tỷ lệ không khí/nước cũng thấp hơn cát thô và cát mịn nên phù hợp để giâm cành cây Gáo (*Nauclea diderrichii*) (Leakey, 1990).

Xơ dừa, đất và tro trấu là những giá thể được dùng phổ biến để trồng cây cây mô ở điều kiện ngoài vườn ươm. Hiện nay đã có nhiều công bố sử dụng giá thể xơ dừa, đất và tro trấu trồng cây cây mô thành công. Giá thể xơ dừa phối trộn với tro trấu, than mùn trồng cây Lan gấm cây mô *Formosanus* (Shiau et al., 2002; Ket, 2003; Phan Xuân Huyền et al., 2016, 2018). Sử dụng giá thể đất chuyển cây Việt quất cây mô ra ngoài vườn ươm thành công (Rache and Pacheco, 2010; Mohamed et al., 2018). Cây con Sâm bố chính trồng trên giá thể xơ dừa kết hợp cát (Phan Xuân Huyền et al., 2017).

Qua các nghiên cứu trên, có thể nói các giá thể dùng để giâm cành cần có một số tính chất cần thiết đó là giữ nước, giữ nhiệt tốt và cần đủ độ thông thoáng trong môi trường. Nếu môi trường quá chặt như đất, hay quá thoáng và dễ mất nước như sỏi, cát thường khó dùng để giâm cây con. Điều này phù hợp với những kết quả trong nghiên cứu chuyển cây Tom trong *in vitro* ra điều kiện ngoài vườn ươm, với kết quả khi sử dụng giá thể 25% đất kết hợp 75% xơ dừa là tốt nhất.



**Hình 3.14. Sự sinh trưởng của cây Tom trong *in vitro* trên các loại giá thể sau 3 tháng nuôi trồng**

*a1, a2, a3, a4, a5, a6, a7, a8. Cây thí nghiệm trên các giá khác nhau; b1, b2, b3, b4, b5, b6, b7, b8. Hệ rễ trồng trên các giá thể; c. Cây sau 4 tháng*

Tóm lại, cây Tom trong khử trùng bằng dung dịch NaOCl 2% trong thời gian 10 phút; môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BA, 30 g/l sucrose, 9 g/l agar, pH 5,8 là tốt nhất đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi *in vitro*; môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l Kinetin, 30 g/l sucrose, 9 g/l agar, pH 5,8 là tốt nhất đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi *in vitro*; trên cùng một môi trường nuôi cấy, môi trường có bổ sung và không bổ sung 1 g/l than hoạt tính đều thích hợp đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi *in vitro*; môi trường WPM bổ sung 1,0 mg/l IBA, 30 g/l sucrose, 9 g/l agar, pH 5,8 là tốt nhất cho sự tạo rễ *in vitro*; và giá thể 25% đất - 75% xơ dừa là phù hợp nhất để chuyển cây Tom trong *in vitro* ra điều kiện vườn ươm (*ex vitro*).

Các kết quả thu được cho đến nay cho thấy rằng trong tương lai gần, các kỹ thuật vi nhân giống khác nhau là một công cụ có thể áp dụng, không chỉ để tái sinh cây Tom trong cho mục đích nhân giống, mà còn để bảo tồn các loài có nguy cơ tuyệt chủng của nhóm thực vật này.

### 3.3.2. Giâm hom

#### 3.3.2.1. Ảnh hưởng của chất KTRR và loại hom đến khả năng ra rễ của hom cây Tom trong trong mùa khô

Kết quả giâm hom phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau trong môi trường như: pH, nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, ... Mùa khô sẽ có cường độ ánh sáng cao hơn mùa mưa kéo theo nhiệt độ và độ ẩm của không khí và giá thể giâm hom cũng cao.

**Bảng 3.16. Ảnh hưởng của chất KTRR đến hom giâm cây Tom trong trong mùa khô sau 8 tuần theo dõi**

Loại chất KTRR	Nồng độ (%)	Tỷ lệ ra rễ (%)		Số rễ TB/hom (rễ)		Chiều dài rễ TB (cm)	
		H <sub>n</sub>	H <sub>g</sub>	H <sub>n</sub>	H <sub>g</sub>	H <sub>n</sub>	H <sub>g</sub>
NAA	0,5	28,9 <sup>bcd*</sup>	44,4 <sup>bcd</sup>	1,06 <sup>c</sup>	1,58 <sup>cde</sup>	0,93 <sup>bcd</sup>	1,37 <sup>bc</sup>
	1,0	40,0 <sup>bc</sup>	48,9 <sup>bcd</sup>	1,04 <sup>c</sup>	2,02 <sup>c</sup>	0,93 <sup>bcd</sup>	1,72 <sup>b</sup>
	1,5	44,4 <sup>bc</sup>	60,0 <sup>b</sup>	1,42 <sup>bc</sup>	3,05 <sup>ab</sup>	1,24 <sup>bc</sup>	1,81 <sup>b</sup>
	2,0	17,8 <sup>d</sup>	33,3 <sup>def</sup>	1,31 <sup>bc</sup>	1,29 <sup>cdef</sup>	0,89 <sup>bcd</sup>	1,14 <sup>bc</sup>
IBA	0,5	24,4 <sup>cd</sup>	31,1 <sup>ef</sup>	0,91 <sup>c</sup>	1,31 <sup>cdef</sup>	0,38 <sup>cd</sup>	0,94 <sup>cd</sup>
	1,0	37,8 <sup>bcd</sup>	37,8 <sup>cdef</sup>	1,27 <sup>bc</sup>	1,62 <sup>cde</sup>	0,90 <sup>bcd</sup>	1,19 <sup>bc</sup>
	1,5	48,9 <sup>b</sup>	55,6 <sup>b</sup>	2,33 <sup>b</sup>	2,87 <sup>b</sup>	1,73 <sup>ab</sup>	1,54 <sup>bc</sup>
	2,0	33,3 <sup>bcd</sup>	33,3 <sup>def</sup>	1,40 <sup>bc</sup>	1,08 <sup>def</sup>	1,25 <sup>bc</sup>	0,92 <sup>cd</sup>
IAA	0,5	33,3 <sup>bcd</sup>	48,9 <sup>bcd</sup>	1,33 <sup>bc</sup>	2,02 <sup>c</sup>	0,84 <sup>cd</sup>	1,36 <sup>bc</sup>
	1,0	33,3 <sup>bcd</sup>	51,1 <sup>bc</sup>	0,80 <sup>c</sup>	1,78 <sup>cd</sup>	0,73 <sup>cd</sup>	1,39 <sup>bc</sup>
	1,5	77,8 <sup>a</sup>	84,5 <sup>a</sup>	3,51 <sup>a</sup>	3,74 <sup>a</sup>	2,13 <sup>a</sup>	2,56 <sup>a</sup>
	2,0	31,1 <sup>bcd</sup>	26,6 <sup>f</sup>	1,16 <sup>c</sup>	0,80 <sup>ef</sup>	1,17 <sup>bcd</sup>	0,89 <sup>cd</sup>
Đôi chứng	0,0	17,8 <sup>d</sup>	22,2 <sup>f</sup>	0,53 <sup>c</sup>	0,60 <sup>f</sup>	0,35 <sup>d</sup>	0,25 <sup>d</sup>



\*Các mẫu tự khác nhau (a,b,c, ...) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  bằng phép thử Duncan.  $H_n$ : Hom non;  $H_g$ : Hom già.

Từ số liệu Bảng 3.16 cho thấy, nồng độ và các chất KTRR có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ ra rễ, số lượng rễ và chiều dài rễ của hom giâm so với đối chứng. IAA 1,5% có hiệu quả cao nhất (hom non - 77,8% và hom già - 84,5%), nghiệm thức đối chứng không bổ sung chất KTRR cho hiệu quả nhân giống thấp nhất (hom non - 17,8% và hom già - 22,2%). Các số liệu thu được (tỷ lệ ra rễ, số lượng rễ và chiều dài rễ) của các nghiệm thức từ 3 loại chất KTRR đều cao hơn đối chứng, có xu hướng tăng dần từ 0,5 - 1,5% và giảm ở nghiệm thức 2,0% điều này có thể giải thích ở ngưỡng dưới 1,5% thì nồng độ phù hợp cho cơ chế tái sinh rễ nhưng khi tăng đến 2,0% thì lại xảy ra cơ chế ức chế quá trình tạo rễ hom giâm. Các chất điều hòa sinh trưởng nên sử dụng ở liều lượng phù hợp vì khi sử dụng với hàm lượng cao sẽ gây ức chế sự ra rễ.

Khi so sánh 3 loại chất KTRR NAA, IBA và IAA nhìn chung IAA đạt hiệu quả cao nhất, tiếp theo là IBA và cuối cùng là NAA. Tùy mỗi loại cây trồng mà khả năng thích ứng với một hoạt chất tạo rễ và nồng độ khác nhau, có thể loại chất này phù hợp với cây này nhưng lại cho kết quả ngược lại với cây khác. Chẳng hạn, *Conospermum mitchellii*, *Conospermum patents* và *Persoonia pinifolia* thì IBA cho hiệu quả ra rễ cao hơn NAA (Fiona, 1997).

Quan sát hình thái hom giâm (Hình 3.15a và 3.15b) giữa hai loại hom khá đồng đều về màu sắc lá non và số lượng rễ. Chất lượng rễ của hom già có phần khác biệt, bộ rễ khỏe và mập hơn so với hom non về số lượng rễ (hom non - 3,51 rễ và hom già - 3,74 rễ) và chiều dài rễ (hom non - 2,13 cm và hom già - 2,56 cm), điều này thể hiện khá rõ qua khả năng tăng trưởng chồi non của hom già. Qua đó, có thể giải thích mùa khô khả năng quang hợp của hom giâm tốt hơn khi được cung cấp đủ lượng ánh sáng cần thiết trong một khoảng thời

gian nhất định và hom già tỏ ra hiệu quả hơn hom non khi chồi ngủ đã được bổ sung dinh dưỡng thông qua bộ rễ khỏe mạnh hơn.

Như vậy, IAA 1,5% là thích hợp nhất cho giâm hom cây Tom trong trong mùa khô; hom già cho thấy khả năng ra rễ cao và hiệu quả hơn hom non.



**Hình 3.15. Kết quả giâm hom cây Tom trong trong mùa khô sau 8 tuần**

*a. Hom non; b. Hom già*

*3.3.2.2. Ảnh hưởng của loại chất KTRR và loại hom đến khả năng ra rễ của hom cây Tom trong trong mùa mưa*

Thời điểm giâm hom sẽ có ảnh hưởng đến chất lượng của hom giâm, mùa mưa ánh sáng yếu, nhiệt độ trong giá thể thấp làm cho độ ẩm trong không khí và giá thể cao hơn. So sánh với thí nghiệm vào mùa khô thì thí nghiệm mùa mưa các số liệu thu được cũng cho kết quả tương tự.

**Bảng 3.17. Ảnh hưởng của chất KTRR đến hom giâm cây Tom trong trong mùa mưa sau 8 tuần theo dõi**

Loại chất KTRR	Nồng độ (%)	Tỷ lệ ra rễ (%)		Số rễ TB/hom (rễ)		Chiều dài rễ TB (cm)	
		H <sub>n</sub>	H <sub>g</sub>	H <sub>n</sub>	H <sub>g</sub>	H <sub>n</sub>	H <sub>g</sub>
NAA	0,5	37,8 <sup>e*</sup>	48,9 <sup>de</sup>	0,78 <sup>de</sup>	1,14 <sup>defg</sup>	0,74 <sup>ef</sup>	1,19 <sup>de</sup>
	1,0	64,5 <sup>ab</sup>	64,5 <sup>bc</sup>	1,58 <sup>b</sup>	1,67 <sup>bc</sup>	1,10 <sup>cde</sup>	1,77 <sup>bcd</sup>
	1,5	51,1 <sup>cd</sup>	57,8 <sup>cd</sup>	1,11 <sup>cd</sup>	1,38 <sup>cde</sup>	1,55 <sup>b</sup>	1,42 <sup>cde</sup>
	2,0	42,2 <sup>cde</sup>	46,7 <sup>def</sup>	0,80 <sup>de</sup>	1,20 <sup>def</sup>	0,88 <sup>de</sup>	1,22 <sup>de</sup>
IBA	0,5	24,5 <sup>fg</sup>	35,5 <sup>f</sup>	0,47 <sup>ef</sup>	0,74 <sup>g</sup>	0,43 <sup>fg</sup>	0,87 <sup>e</sup>
	1,0	46,6 <sup>cde</sup>	55,6 <sup>cd</sup>	1,07 <sup>cd</sup>	1,42 <sup>cde</sup>	1,03 <sup>de</sup>	1,35 <sup>cde</sup>
	1,5	46,7 <sup>cde</sup>	51,1 <sup>bcd</sup>	1,07 <sup>cd</sup>	1,09 <sup>efg</sup>	1,00 <sup>de</sup>	1,30 <sup>cde</sup>
	2,0	35,6 <sup>ef</sup>	40,0 <sup>de</sup>	0,82 <sup>d</sup>	0,89 <sup>fg</sup>	0,74 <sup>ef</sup>	0,95 <sup>e</sup>
IAA	0,5	40,0 <sup>de</sup>	51,1 <sup>bcd</sup>	0,87 <sup>d</sup>	1,18 <sup>def</sup>	0,89 <sup>de</sup>	1,42 <sup>cde</sup>
	1,0	71,1 <sup>a</sup>	84,5 <sup>a</sup>	1,98 <sup>a</sup>	2,53 <sup>a</sup>	1,95 <sup>a</sup>	2,41 <sup>a</sup>
	1,5	64,5 <sup>ab</sup>	73,3 <sup>ab</sup>	1,55 <sup>b</sup>	1,87 <sup>b</sup>	1,44 <sup>bc</sup>	2,10 <sup>ab</sup>
	2,0	53,3 <sup>bc</sup>	64,4 <sup>bc</sup>	1,24 <sup>bc</sup>	1,53 <sup>bcd</sup>	1,25 <sup>bcd</sup>	1,89 <sup>abc</sup>
Đối chứng	0,0	17,8 <sup>g</sup>	20,0 <sup>g</sup>	0,22 <sup>f</sup>	0,29 <sup>h</sup>	0,14 <sup>g</sup>	0,17 <sup>f</sup>

\*Các mẫu tự khác nhau (a,b,c, ...) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  bằng phép thử Duncan. H<sub>n</sub>: Hom non; H<sub>g</sub>: Hom già.

Các kết quả về tỷ lệ ra rễ, số lượng rễ và chiều dài rễ từ các thí nghiệm cho thấy hom già các thông số đều cao hơn hom non và loại chất KTRR đạt hiệu quả cao nhất vẫn là IAA (hom non - 71,1% và hom già - 84,5%). Tuy nhiên, đối với thí nghiệm mùa mưa các công thức cũng có sự thay đổi nhỏ. Khác biệt rõ nét nhất là nồng độ IAA 1% cho kết quả tốt nhất và tương đương với giá trị thu được của mùa khô 1,5%. Các số liệu thu được cũng theo quy luật tăng đến nồng độ phù hợp sau đó giảm, cụ thể tăng từ 0,5 đến 1,0% và giảm từ 1,5 đến 2,0%.

Quan sát hình thái hom giâm (Hình 3.16a và 3.16b) giữa hai loại hom có sự khác biệt, hom già ra chồi mới và màu sắc lá tươi hơn hom non. Chất lượng rễ và chồi non tương tự như thí nghiệm ở mùa khô, rễ của hom già vẫn tốt hơn hom non về số lượng rễ (hom non - 1,98 rễ và hom già - 2,53 rễ) và chiều dài rễ (hom non - 1,95 cm và hom già - 2,41 cm). Có thể giải thích, do mùa mưa cường độ ánh sáng kém và hom giâm không nhận đủ lượng ánh sáng cần thiết nên làm ảnh hưởng đến khả năng tăng trưởng của chồi non và màu sắc lá.

Sự ra rễ tương đối không nhạy cảm với các nồng độ NAA khác nhau. Sự ra rễ tốt và khả năng sống sót của cành giâm trong mùn cưa có thể được giải thích là do mùn cưa có khả năng giữ nước cao (Mialoundama et al., 2002) và quá trình hình thành rễ nhanh hơn nhờ sử dụng hormone NAA, nhận định này cũng cho kết quả tương tự nghiên cứu giâm cành giống Mận chua (Owuor et al., 2009), tương tự đã được báo cáo bởi Ofori et al. (1996) trong khi tạo rễ *Milicia excelsa*.

Như vậy, IAA 1,0% là thích hợp nhất cho giâm cây Tom trong mùa mưa; hom già vẫn cho thấy khả năng ra rễ cao và hiệu quả hơn hom non.



**Hình 3.16. Kết quả giâm hom cây Tom trong mùa mưa sau 8 tuần**

*a. Hom non; b. Hom già*

**Bảng 3.18. So sánh các giá trị tốt nhất của 2 mùa**

Mùa vụ	Loại hom	Chất KTRR IAA (%)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ TB/hom (rễ)	Chiều dài rễ TB (cm)
Nắng	Hom non	1,5	77,8 <sup>ab</sup>	3,51 <sup>a</sup>	2,13 <sup>ab</sup>
Mưa		1,0	71,1 <sup>bc</sup>	1,98 <sup>c</sup>	1,95 <sup>abc</sup>
Nắng	Hom già	1,5	84,5 <sup>a</sup>	3,74 <sup>a</sup>	2,56 <sup>a</sup>
Mưa		1,0	84,5 <sup>a</sup>	2,53 <sup>b</sup>	2,41 <sup>a</sup>

\*Các mẫu tự khác nhau (a,b,c) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  bằng phép thử Duncan.

Loại chất KTRR IAA 1,5% đối với hom non và hom già khi giâm hom trong mùa khô đều cho kết quả tốt. Tuy mùa mưa, ở nồng độ IAA 1,0% (hom non và hom già) các giá trị tỷ lệ ra rễ và chiều dài rễ tương đương so với mùa khô (cùng phân hạng trong phép thử Duncan) nhưng xét tổng thể thì số lượng rễ đối với hom mùa khô vẫn cao hơn hom mùa mưa (Hom non là 3,51 so với 1,98 và hom già là 3,74 so với 2,53), điều này chứng tỏ khi giâm hom các yếu tố sinh thái, trong nghiên cứu này là môi trường giâm hom cũng gây ảnh hưởng đến kết quả giâm. Thực tế cho thấy, mùa khô các yếu tố môi trường đều thuận lợi cho hom giâm như: độ ẩm trong không khí và giá thể giâm hom thấp hơn, đặc biệt là nhiệt độ không khí và giá thể giâm hom cao sẽ kích thích các chất điều hòa sinh trưởng trong hom giâm di chuyển từ trên ngọn xuống gốc làm tăng khả năng ra rễ. Tùy thuộc vào loại cây mà mùa vụ giâm hom sẽ cho kết quả khác nhau nhưng đa số các nghiên cứu chỉ ra rằng vào mùa khô, các nhân tố môi trường là thuận lợi nhất nên hom giâm dễ ra rễ hơn mùa mưa. Theo nghiên cứu của Kaul (2008) đối với cây *Taxus wallichiana* hay nghiên cứu của Rana and Sood (2012) trên cây *Ficus roxburghii* thì mùa khô cũng cho kết quả ra rễ tốt hơn mùa mưa.

Trong quá trình nhân giống, cành giâm gỗ cứng được xử lý bằng dung dịch IAA hoặc IBA 100 ppm cho ra rễ rất nhiều (Sunil and Swamy, 1996), tương

tự ở cây Thông lá dài Ấn Độ (*Pinus roxburghii*) 6 năm tuổi, được xử lý bằng dung dịch IAA 50 mg/l nước và trồng dưới điều kiện phun sương được ghi nhận là ra rễ 100% (Shamet and Handa, 1996). Điều này chứng tỏ rằng ở một số loài thân gỗ, khi giâm đoạn cành già có hiệu quả tốt hơn so với các phân còn xanh hoặc còn non. Với kết quả trong thí nghiệm của đề tài cũng đã thể hiện điều đó, khi sử dụng chất KTRR là IAA nồng độ từ 1,0 - 1,5%, kết quả tỷ lệ ra rễ, số rễ/hom và chiều dài rễ ở các hom già cho kết quả tốt hơn là các hom non.

### 3.3.2.3. Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng ra rễ của hom cây Tom trong trong mùa khô

Kê thừa kết quả thí nghiệm giâm hom trên cát, ở thời điểm mùa khô loại chất KTRR IAA 1,5% và hom già đem lại hiệu quả cao nhất.

**Bảng 3.19. Kết quả giâm hom cây Tom trong trên giá thể trong mùa khô sau 8 tuần**

Công thức	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số lượng rễ (SL) (rễ)	Chiều dài rễ (D) (cm)	Chỉ số ra rễ (SLxD)
CT1	66,67	3,15 <sup>b</sup>	5,48 <sup>b</sup>	17,73 <sup>c</sup>
CT2	73,33	4,00 <sup>ab</sup>	8,53 <sup>a</sup>	34,90 <sup>ab</sup>
CT3	90,00	5,07 <sup>a</sup>	8,40 <sup>a</sup>	45,20 <sup>a</sup>
CT4	53,33	5,13 <sup>a</sup>	4,71 <sup>b</sup>	22,91 <sup>bc</sup>
TB	70,83	4,35 <sup>a</sup>	7,05 <sup>a</sup>	31,90 <sup>a</sup>

\*Các mẫu tự khác nhau (a,b,c) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  bằng phép thử Duncan.

Trong thí nghiệm này được bố trí 4 công thức giá thể khác nhau, kết quả ở Bảng 3.19 cho thấy: sau 8 tuần giâm hom hầu hết các công thức đều ra rễ tuy nhiên chất lượng rễ có sự chênh lệch rõ ràng, chỉ số ra rễ kém nhất ở CT1 (100% đất) đạt 17,73 và tốt nhất ở CT3 (50% đất - 50% xơ dừa) đạt 45,20 với tỷ lệ ra rễ 90% (cùng phân hạng trong phép thử Duncan). Kết quả này cũng phù hợp với thí nghiệm giâm hom trên giá thể cát; trong điều kiện tự nhiên cây tái

sinh và phát triển tốt trên nền đất cát pha sét hay sa thạch có độ thông thoáng và tơi xốp vì vậy khi giâm trên giá thể 100% đất độ nén trong quá trình tưới nước và chăm sóc đã làm cho bộ rễ của hom giâm khó phát triển dẫn đến chất lượng rễ kém. Ngược lại, ở CT4 (25% đất - 75% xơ dừa) tỷ lệ ra rễ thấp nhất 53,33%, chỉ số ra rễ (22,91) tỷ lệ nghịch với số lượng rễ (5,13 rễ) cao nhất trong 4 công thức thí nghiệm. Có thể nhận ra độ tơi xốp lớn đã ảnh hưởng tới sự liên kết của giá thể và chất lượng rễ cây Tom trong. Ở CT3 chỉ số ra rễ cao nhất, số lượng rễ và chiều dài rễ cũng khá cao so với các công thức còn lại, chứng tỏ giá thể phù hợp để giâm hom cây Tom trong cần có độ tơi xốp của xơ dừa và độ kết của đất ở mức trung bình.



**Hình 3.17. Kết quả giâm hom cây Tom trong trong giá thể sau 8 tuần**

#### *3.3.2.4. Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng ra rễ của hom cây Tom trong trong mùa mưa*

Trong thời điểm mùa mưa loại chất KTRR IAA 1% và hom già kế thừa từ thí nghiệm giâm hom trên cát được sử dụng cho thí nghiệm này.

**Bảng 3.20. Kết quả giám hom cây Tom trong trên giá thể trong mùa mưa sau 8 tuần**

Công thức	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số lượng rễ (SL) (rễ)	Chiều dài rễ (D) (cm)	Chỉ số ra rễ (SLxD)
<b>CT1</b>	66,67	4,90 <sup>b</sup>	5,10 <sup>b</sup>	23,83 <sup>bc</sup>
<b>CT2</b>	80,00	5,46 <sup>ab</sup>	6,14 <sup>ab</sup>	32,74 <sup>b</sup>
<b>CT3</b>	86,67	7,44 <sup>a</sup>	6,83 <sup>a</sup>	51,54 <sup>a</sup>
<b>CT4</b>	60,00	3,94 <sup>a</sup>	5,11 <sup>b</sup>	20,50 <sup>c</sup>
<b>TB</b>	73,34	5,62 <sup>a</sup>	5,90 <sup>a</sup>	33,97 <sup>a</sup>

\*Các mẫu tự khác nhau (a,b,c) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  bằng phép thử Duncan.

Kết quả Bảng 3.20 cho thấy, ở các công thức đều có sự khác biệt rõ rệt ( $P$ -value < 0,05), các thông số đều tăng dần đến CT3 (50% đất - 50% xơ dừa) và bắt đầu giảm ở CT4 (25% đất - 75% xơ dừa). Ở CT3 cho kết quả tốt nhất chỉ số ra rễ đạt 51,54, tỷ lệ ra rễ 86,67% và CT4 cũng cho tỷ lệ ra rễ thấp nhất (60%); chỉ số ra rễ ở CT1 (100% đất) vẫn là nghiệm thức kém nhất chỉ đạt 23,83. Khi so sánh với thí nghiệm giám hom trong mùa khô thì ở mùa mưa các chỉ số đều cao hơn, mặc dù tỷ lệ ra rễ có cao hơn nhưng không đáng kể, thực tế khi khảo sát trong tự nhiên cây Tom trong thường phát triển hệ rễ trong đất mạnh vào mùa mưa, độ tơi xốp của đất cộng thêm độ ẩm phù hợp đã kích thích sự phát sinh và tăng trưởng của bộ rễ cây.

Kết quả ảnh hưởng của giá thể đến khả năng ra rễ của hom cây Tom trong đối với các canh giâm, về mặt sinh trưởng có những đáp ứng tương tự các kết quả chuyển cây *in vitro* ra vườn ươm. Việc chọn lựa và phối trộn giá thể để có được những tính chất cần thiết đối với canh giâm đó là độ tơi xốp, độ giữ ẩm, giữ nhiệt và độ thông thoáng là cần thiết cho giai đoạn này. Trong thí nghiệm của đề tài cũng cho kết quả tương tự, khi giám hom cây Tom trong giá thể 50% đất - 50% xơ dừa là phù hợp và nên tiến hành giâm vào mùa mưa để tạo cây hom chất lượng nhất.



### 3.3.3. Xây dựng hướng dẫn kỹ thuật nhân giống vô tính loài Tom trong

Từ các kết quả nghiên cứu đã thực hiện, kết hợp kế thừa có chọn lọc các kết quả nghiên cứu liên quan trong nước và trên thế giới, đề tài xây dựng hướng dẫn kỹ thuật nhân giống vô tính loài Tom trong như sau:

## HƯỚNG DẪN KỸ THUẬT NHÂN GIỐNG VÔ TÍNH CÂY TOM TRONG

*(Urceola minutiflora (Pierre) D.J.Middleton)*

### 1. Chuẩn bị

#### 1.1. Nhà kính

- Được thiết kế có mái che và tường bằng kính hay nilon chuyên dụng, diện tích phụ thuộc vào địa điểm và nhu cầu sản xuất cây hom.

- Chế độ nước và độ ẩm: Trong nhà kính luôn đảm bảo độ ẩm trên 80%; phải có bộ điều khiển hẹn giờ và hệ thống tưới phun sương.

- Nhiệt độ: Duy trì nhiệt độ trong khoảng từ 20 - 25°C để hom giâm nhanh ra rễ.

#### 1.2. Vườn ươm

- Chọn và lập vườn ươm đảm bảo yêu cầu ở nơi có đất thịt có tỷ lệ sét thích hợp 25 - 35% và cao ráo, thông thoáng, thoát nước và không có mực nước ngầm cao sát mặt đất; gần hiện trường trồng rừng, gần nguồn nước, có hàng rào bảo vệ.

- Chế độ ánh sáng: Cây Tom trong là cây ưa ẩm và chịu bóng, thích hợp với độ tàn che từ 0,2 - 0,3. Vì vậy, vườn ươm giống cây Tom trong phải thiết kế hệ thống lưới che sáng. Thích hợp nhất là che sáng 50%.

- Chế độ nước và ẩm độ: Cây Tom trong thích hợp với ẩm độ từ 52 - 69% tùy thuộc vào thời điểm trong ngày và mùa trong năm. Vì vậy, trong vườn ươm phải có hệ thống tưới phun sương tự động để đảm bảo cây hom không thiếu nước.

- Nhiệt độ và độ thông thoáng: Cây Tôm trong thích hợp với nhiệt độ dao động từ 25,5 - 33,1°C. Vì vậy, vườn ương cây Tôm trong nên che chắn để đảm bảo nhiệt độ ổn định cho cây phát triển.

### **1.3. Thành phần ruột bầu**

- Dùng túi bầu PE đục lỗ, kích thước 7 x 14 cm hoặc 8 x 12 cm.

- Thành phần ruột bầu: Đất tầng mặt được sàng kỹ qua lỗ sàng 1 cm, loại bỏ hết đá lẫn, rễ cây và tạp chất. Đối với bầu để ra cây cần trộn tỷ lệ 87% đất + 10% phân chuồng và 3% super lân.

Do giá thể lấy ngoài tự nhiên thường lẫn các mầm bệnh, nên cần phải phun thuốc diệt nấm bệnh (Benlate 5%) và thuốc trừ sâu (Sumi alpha) để diệt trứng và ấu trùng trước khi giâm 5 - 10 ngày.

## **2. Hướng dẫn kỹ thuật nhân giống cây Tôm trong**

### **2.1. Nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô (*in vitro*)**

#### **2.1.1. Xử lý mẫu**

- Lựa chọn cây mẹ sinh trưởng, phát triển tốt để lấy mẫu.

- Thời gian lấy mẫu từ 8 - 9 giờ sáng trong những ngày nắng, độ ẩm không khí trung bình.

- Mẫu lấy về cần xử lý những vật tạp và chọn phần định sinh trưởng khỏe mạnh, rửa sạch bằng xà phòng dưới vòi nước đang chảy, sau đó rửa lại bằng nước cất và để vào bình có nắp để khử trùng.

- Sử dụng cồn 70° ngâm mẫu trong 1 phút (lắc nhiều lần) và rửa lại bằng nước cất 5 - 6 lần.

- Mẫu được khử trùng bằng dung dịch NaOCl 2% trong thời gian 10 phút, sau đó vớt mẫu ra và rửa sạch lại bằng nước cất vô trùng 4 - 5 lần trước khi đưa vào môi trường tái sinh chồi.

#### **2.1.2. Tái sinh chồi**

- Mẫu đã khử trùng sạch được đưa vào buồng nuôi cấy. Dùng dao để tách lấy đỉnh sinh trưởng, sau đó cấy vào môi trường đã chuẩn bị sẵn.

- Môi trường được sử dụng là môi trường MS có bổ sung 0,3 mg/l BA, 30 g/l sucrose, 9 g/l agar, pH 5,8.

- Các mẫu được cấy trong các lọ thủy tinh đã được vô trùng. Thời gian chiếu sáng 08 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 34  $\mu\text{mol}$ , nhiệt độ phòng nuôi cấy  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  và độ ẩm không khí là 75 - 85%.

- Sau 6 tuần thì các đỉnh sinh trưởng/chồi ngủ sẽ phát triển và hình thành chồi mới.

### **2.1.3. Nhân nhanh chồi**

- Sau khi những chồi mới phát triển thành nhiều đốt thì tiến hành cắt đốt để nhân nhanh.

- Các đốt nhỏ có kích thước 5 - 10 mm được cắt và cấy trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BA, 30 g/l sucrose, 9 g/l agar, pH 5,8.

- Chồi phát triển tốt sau 6 tuần sẽ đạt chiều cao khoảng 3 cm, mang 2 - 3 đốt mới.

### **2.1.4. Tạo cây hoàn chỉnh**

- Muốn tạo cây con hoàn chỉnh, tiếp tục cắt những chồi ngọn hoặc đốt mang chồi ngủ và cấy chuyển tiếp sang môi trường WPM có bổ sung 1 mg/l IBA, 30 g/l sucrose, 9 g/l agar, pH 5,8.

- Sử dụng túi nilon có màng lọc Millipore (đường kính 2,5 cm) đã được vô trùng để nuôi cấy cây hoàn chỉnh.

- Sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường này cây sẽ có kích thước 2 - 3 cm; mang 2 - 3 cặp lá và có 4 - 5 rễ, dài 2 - 3 cm là đảm bảo tiêu chuẩn để đưa ra vườn ươm.

### **2.1.5. Ra cây**

+ *Xử lý cây in vitro:*

- Cây con sau khi lấy ra khỏi túi nilon được rửa sạch môi trường, xếp lên khay có lót báo ẩm để tránh cho cây bị gãy hỏng và mất nước.

- Ngâm cây khoảng 5 phút trong dung dịch thuốc nấm 10% (Zineb bul 80WP) để diệt trừ nấm bệnh trên cây.

+ *Giá thể*:

- Giá thể phải thông thoáng, tơi xốp, cung cấp đầy đủ dinh dưỡng và nước cho cây, khả năng thoát nước tốt, sạch nấm bệnh và vi khuẩn, không có tuyến trùng.

- Giá thể ra cây tốt nhất là hỗn hợp gồm: 25% đất tầng mặt và 75% xơ dừa xử lý (Eco N1).

- Trong quá trình chăm sóc cây cần phun thêm thuốc kích thích sinh trưởng (Atonik 1,8SL) 1 tuần/lần để tăng sức đề kháng và nhanh hình thành rễ mới; và dung dịch thuốc nấm 10% (Zineb bul 80WP) 2 tuần/lần để xử lý nấm bệnh trong giá thể.

- Sau 2 - 3 tháng cây con đạt chiều cao 8 - 10 cm, mang 5 - 6 cặp lá. Tiếp tục chăm sóc tới 5 - 6 tháng tuổi khi đó cây con có thể đạt chiều cao 15 - 20 cm, mang 10 - 15 cặp lá là có thể xuất vườn.

## **2.2. Nhân giống bằng phương pháp giâm hom**

### **2.2.1. Nguồn giống**

- Cây mẹ lấy giống được tuyển chọn từ vườn giống.

- Tuổi của cây lấy hom: Cây lấy hom có độ tuổi < 2 năm.

- Tôm trong phát triển chồi non vào mùa mưa vì vậy thời điểm lấy hom tốt nhất là cuối mùa mưa (tháng 10 - 11).

- Vị trí hom giâm: Hom giâm hữu hiệu là hom bánh tẻ và chồi ngọn có chiều dài từ 10 - 15 cm, đường kính 0,2 - 0,4 cm và mỗi hom mang từ 1 - 3 cặp lá. Đoạn hom giâm thường có màu sắc thân từ màu xanh đậm chuyển qua màu

cánh gián. Nghĩa là các hom giâm đều được cắt từ các cành non nửa hóa gỗ. Hom khỏe, không mang mầm bệnh.

- Thời thời điểm lấy hom: Để làm giảm sự thoát hơi nước hom nên lấy vào lúc sáng sớm hay chiều mát.

- Nếu hom lấy ở xa cần bảo quản kỹ để làm giảm sự thoát hơi nước. Toàn bộ hom được bao bọc bởi một lớp vải mềm đã thấm nước, đựng trong thùng bằng nhựa hay bằng xốp. Trong lúc cắt hom hay vận chuyển tránh làm va đập mạnh làm dập hom giâm.

### **2.2.2. Xử lý hom giống**

Trước khi giâm cần loại bỏ những hom không đạt tiêu chuẩn (ốm, yếu, sâu bệnh hay dập nát) và tiến hành các bước sau:

- Dùng kéo cắt cành chuyên dụng: cắt phần gốc (1 - 2 cm) và tránh làm dập, trầy xước. Cắt 2/3 lá nhằm tránh sự thoát hơi nước trong thời gian giâm.

- Hom được rửa sạch nhiều lần dưới vòi nước đang chảy. Sau khi rửa xong, chuyển sang ngâm trong dung dịch diệt nấm bệnh (dung dịch thuốc nấm 10% (Zineb bul 80WP)) trong khoảng 10 - 15 phút. Rửa lại bằng nước máy, sau đó vớt ra để ráo nước và tiến hành xử lý chất kích thích ra rễ.

### **2.2.3. Giâm hom**

Quá trình giâm hom diễn ra trong nhà kính cho tới khi cây hom ra rễ mới chuyển ra vườn ươm. Giâm trên giá thể cho tỷ lệ ra rễ cao và tiết kiệm được thời gian hơn trên cát.

- Trước khi giâm hom vào giá thể phải tưới phun sương trên mặt luống bầu để tạo độ ẩm cho đất.

- Tạo lỗ để giâm: Dùng que vót nhọn có kích thước đường kính lớn hơn gốc của hom giâm, soi lỗ có độ sâu bằng 2 - 3 cm.

- Châm phần gốc hom giâm vào chất KTRR IAA 1 - 1,5% và sau đó cắm nhẹ gốc hom vào lỗ, dùng ngón tay trở và tay cái nén chặt gốc hom.

- Sau 60 ngày hom giâm đã có rễ và bắt đầu ra lá mới thì chuyển ra vườn ươm chăm sóc. Tỷ lệ hom ra rễ đạt trên 80%.

❖ Chăm sóc cây hom:

- *Tưới nước*: Trong 15 ngày đầu cần tưới nước 1 lần/ngày sau đó giảm xuống 2 ngày/lần và 4 ngày/lần cho đến trước khi xuất vườn một tháng, lượng nước tưới phụ thuộc vào thời tiết, nhưng phải đảm bảo cho cây đủ ẩm.

- *Làm cỏ*: Định kỳ 30 ngày nhổ cỏ phá váng 1 lần.

- *Bón phân*: Sau khi chuyển cây ra vườn ươm có thể phun phân bón lá Atonik hay Seaweed định kỳ 1 tuần/lần (theo hướng dẫn trên bao bì). Khi cây hom ra 1 - 2 cặp lá mới thì tiến hành bón thúc phân NPK với liều lượng 0,2 kg hoà tan vào 10 lít nước, tưới 3 lít/m<sup>2</sup> phải tưới trước khi cây xuất vườn từ 1,5 - 2 tháng.

### **3.4. Ảnh hưởng của một số nhân tố đến khả năng sinh trưởng và phát triển cây con giai đoạn vườn ươm**

#### **3.4.1. Ảnh hưởng của chế độ tưới nước**

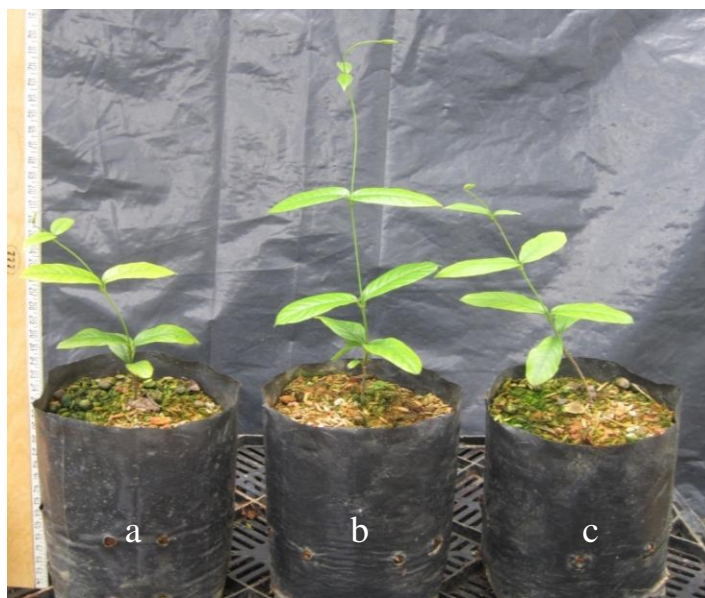
Nước là một trong những nhân tố rất quan trọng góp phần duy trì sự sống cho cây trồng vì vậy lượng nước cung cấp cho cây ở từng giai đoạn và thời điểm khác nhau có sự khác biệt rõ ràng. Kết quả nghiên cứu chế độ tưới nước cho cây Tom trong sau 90 ngày theo dõi thể hiện ở Bảng 3.21 cho thấy: ở các công thức thí nghiệm tại các thời điểm theo dõi sau khi trồng đều có sự tăng trưởng về chiều cao và đường kính gốc.

**Bảng 3.21. Ảnh hưởng của chế độ tưới nước tới khả năng sinh trưởng và phát triển cây Tom trong sau 90 ngày**

<b>Công thức</b>	<b>Tỷ lệ sống (%)</b>	<b>H<sub>vn</sub> (cm)</b>	<b>D<sub>00</sub> (cm)</b>	<b>Số chồi</b>	<b>Số cặp lá</b>
<b>CT1</b>	80,33	19,54 <sup>b</sup>	0,26 <sup>a</sup>	1,23 <sup>a</sup>	4,72 <sup>b</sup>
<b>CT2</b>	82,22	22,63 <sup>a</sup>	0,28 <sup>a</sup>	1,24 <sup>a</sup>	5,42 <sup>a</sup>
<b>CT3</b>	42,22	16,49 <sup>c</sup>	0,26 <sup>a</sup>	1,18 <sup>a</sup>	4,04 <sup>c</sup>
<b>TB</b>	80,33	19,60 <sup>a</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,12 <sup>a</sup>	4,73 <sup>a</sup>

\*Các mẫu tự khác nhau (a,b,c) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  bằng phép thử Duncan.

Kết quả cho thấy, tỷ lệ sống của cây Tom trong giảm theo thời gian, ở CT3 (6 ngày/lần) thấp nhất chỉ sống 42,22%, điều này cũng dễ hiểu vì lượng nước tưới cho cây quá ít không đủ để nuôi sống cây dẫn đến cây chết dần. Ở CT1 (2 ngày/lần) là 80,33% khá cao và CT2 (4 ngày/lần) cho tỷ lệ sống cao nhất đạt 82,22%. Chiều cao cây giữa các công thức có sự khác biệt rõ rệt ( $P$ -value = 0,0004) trong đó chiều cao trung bình cao nhất ở CT2 đạt 22,63 cm, thấp nhất ở CT3 đạt 16,49 cm. Đường kính gốc ở các công thức không có sự khác biệt và mức tăng trưởng cũng không đáng kể, cụ thể: CT1 chỉ đạt 0,26 cm; CT2 0,27 cm và CT3 là 0,26 cm, sự sai khác về đường kính gốc giữa các công thức tại tất cả các thời điểm theo dõi đều không có ý nghĩa thống kê ( $P$ -value > 0,05). Như vậy, nếu loại trừ các yếu tố ngẫu nhiên như thời tiết, vị trí bố trí thí nghiệm, cây giống, giá thể thì sự khác biệt về chiều cao và đường kính gốc giữa các công thức là do ảnh hưởng của chế độ tưới nước, các công thức tưới nước trong thí nghiệm có ảnh hưởng tới quá trình sinh trưởng của cây Tom trong, cụ thể là ảnh hưởng tới tăng trưởng chiều cao và đường kính gốc. Trong các công thức thí nghiệm thì CT2 (chu kỳ tưới nước 4 ngày/lần) có tác dụng tốt nhất.



**Hình 3.18. Cây Tom trong ở các chế độ tưới nước khác nhau sau 90 ngày**

*a. Chu kỳ 2 ngày tưới; b. Chu kỳ 4 ngày tưới; c. Chu kỳ 6 ngày tưới*

Xét về số chồi thì tương tự như đường kính gốc, sự khác biệt giữa các công thức là không đáng kể (các giá trị P-value tại các thời điểm đều lớn hơn 0,05). Tại thời điểm trồng đa số các cây đều có 1 chồi và sau 90 ngày theo dõi số lượng chồi của các công thức lần lượt là 1,23; 1,24 và 1,18 tương ứng với các CT1, CT2 và CT3. Ngược lại, sự gia tăng về số cặp lá trên cây có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các công thức (P-value = 0,003) cụ thể: CT2 có giá trị cao nhất là 5,42 cặp lá, CT3 có giá trị thấp nhất là 4,04 cặp lá. Ở CT2 do có chế độ tưới nước phù hợp nên cây sinh trưởng nhanh, lá có màu xanh đặc trưng, ở CT1 do lượng nước tưới quá nhiều nên cây sinh trưởng chậm hơn và lá có biểu hiện ngã sang màu vàng và CT3 lượng nước tưới quá ít dẫn đến cây sinh trưởng rất chậm, thân và lá nhanh héo khi trời nắng, nhiều lá khô dần và ngã màu vàng.

Ảnh hưởng của độ ẩm đến sinh trưởng của thực vật đã được Hoffman (1979) đề cập. Ảnh hưởng của độ ẩm đến sự phát triển và hình thái của thực vật trước đây ít được chú ý (Mortensen, 1986). Hơn nữa, ảnh hưởng của độ ẩm đối với sự phát triển của cây trồng trong nhà kính có vẻ khác nhau tùy theo các loài được thử nghiệm (Mortensen, 2000). Với kết quả nghiên cứu ở cây Tom



trong cũng phù hợp với các nghiên cứu trên, đây là loài cây thích hợp ở vùng phân bố có khí hậu nóng, tuy ưa ẩm nhưng vừa phải, ẩm quá cây sẽ thừa nước gây úng và chết. Vì vậy, chu kỳ tưới nước 4 ngày/lần là thích hợp nhất cho cây Tom trong ở vườn ươm.



**Hình 3.19. Công thức ở chế độ tưới nước 4 ngày/lần sau 90 ngày theo dõi**

### 3.4.2. Ảnh hưởng của chế độ che sáng

Ánh sáng là một nhân tố quan trọng giúp cây quang hợp và phát triển trong suốt quá trình sinh trưởng vì vậy việc nghiên cứu chế độ che sáng phù hợp cho cây thật sự cần thiết.

**Bảng 3.22. Ảnh hưởng của chế độ che sáng tới khả năng sinh trưởng và phát triển cây Tom trong sau 90 ngày**

Công thức	Tỷ lệ sống (%)	H <sub>vn</sub> (cm)	D <sub>00</sub> (cm)	Số chồi	Số cặp lá
CT1	73,33	7,17 <sup>b</sup>	0,26 <sup>b</sup>	1,60 <sup>a</sup>	2,41 <sup>a</sup>
CT2	86,67	6,87 <sup>b</sup>	0,26 <sup>b</sup>	1,42 <sup>a</sup>	2,12 <sup>a</sup>
CT3	86,67	11,27 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>	1,81 <sup>a</sup>	2,80 <sup>a</sup>
CT4	70,00	6,83 <sup>b</sup>	0,29 <sup>ab</sup>	1,40 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>
TB	79,17	8,13 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	2,60 <sup>a</sup>

*\*Các mẫu tự khác nhau (a,b) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  bằng phép thử Duncan.*

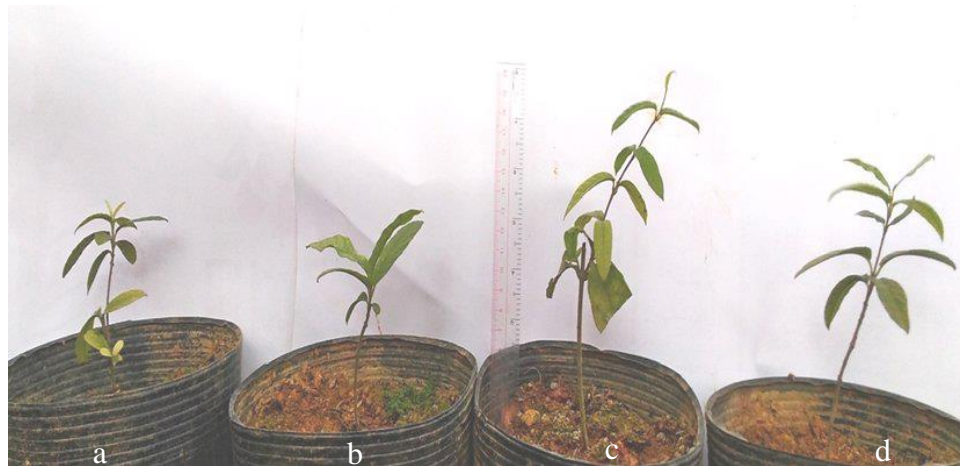
Kết quả nghiên cứu từ Bảng 3.22 cho thấy, ở các điều kiện ánh sáng khác nhau tỷ lệ sống của cây Tom trong khá cao từ 70,00 - 86,67%, tuy nhiên chiều cao cây sau 90 ngày theo dõi đã có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P$ -value  $< 0,05$ ). Công thức che sáng 75 và 25% có chiều cao thấp nhất (6,87 và 6,83 cm), CT3 (che sáng 50%) có sự vượt trội về chiều cao đạt 11,27 cm. Tương tự, với đường kính gốc giữa các công thức vẫn có sự khác biệt ( $P$ -value = 0,023) nhưng sự chênh lệch giữa các thông số là không đáng kể, giao động từ 0,26 - 0,30 cm vì vậy sự tăng trưởng đường kính trong thí nghiệm che sáng chưa thể hiện một cách rõ ràng, nói cách khác yếu tố ánh sáng không có nhiều ảnh hưởng đến đường kính gốc cây Tom trong.



**Hình 3.20. Bố trí thí nghiệm che sáng cây Tom trong**

Ở các điều kiện che sáng khác nhau số lượng chồi và số cặp lá mới hình thành chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P$ -value  $> 0,05$ ) và các chỉ số thu nhận được cũng không có sai khác nhiều. Cụ thể: Số chồi giao động từ 1,42 - 1,81 chồi/cây và số cặp lá là 2,12 - 3,00, thấp nhất ở CT2 (che sáng 75%) và cao nhất là CT4 (che sáng 25%). Vì vậy, có thể nhận thấy nghiên cứu che sáng trong thí nghiệm này chưa có sự tác động đáng kể lên sự phát triển chồi và lá

của cây Tom trong. Về hình thái cây, ở công thức không che sáng và che sáng ít đốt lá dày, lá cây có hiện tượng vàng, lá to và dày; ngược lại ở công thức che sáng nhiều đốt lá thưa, lá nhỏ dài và xanh hơn.



**Hình 3.21. Kết quả thí nghiệm che sáng cây Tom trong sau 90 ngày**

*a. Không che sáng; b. Che sáng 75%; c. Che sáng 50%; d. Che sáng 25%*

### **3.4.3. Ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng**

Thành phần dinh dưỡng là nhân tố không thể thiếu đối với bất kỳ một loại cây trồng nào, từ cây trồng trong đất cũng như cây thủy sinh. Chế độ dinh dưỡng phù hợp giúp cây sinh trưởng và phát triển tốt, nếu không phù hợp thì cây sẽ chậm phát triển và còi cọc. Cây Tom trong cũng không ngoại lệ, nghiên cứu thành phần dinh dưỡng giúp tăng năng suất và giảm thời gian thu hoạch sản phẩm. Trong nghiên cứu này chủ yếu tập trung vào tỷ lệ lân phù hợp cho quá trình phát triển của cây Tom trong. Phân lân rất cần cho sự hình thành các bộ phận mới của cây như: mầm non, đẻ nhánh, phân cành, ra hoa, đậu quả và phân lân còn tham gia vào quá trình phát triển bộ rễ, giúp quang hợp và hô hấp của cây.

**Bảng 3.23. Ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng tới khả năng sinh trưởng và phát triển cây Tom trong sau 90 ngày**

Công thức	Tỷ lệ sống (%)	H <sub>vn</sub> (cm)	D <sub>00</sub> (cm)	Số chồi
<b>CT1</b>	90,00	50,97 <sup>bc</sup>	0,25 <sup>a</sup>	2,28 <sup>c</sup>
<b>CT2</b>	90,00	55,70 <sup>bc</sup>	0,20 <sup>a</sup>	2,56 <sup>bc</sup>
<b>CT3</b>	85,00	58,94 <sup>b</sup>	0,22 <sup>a</sup>	3,11 <sup>ab</sup>
<b>CT4</b>	90,00	68,68 <sup>a</sup>	0,23 <sup>a</sup>	3,50 <sup>a</sup>
<b>CT5</b>	70,00	48,60 <sup>c</sup>	0,20 <sup>a</sup>	2,60 <sup>bc</sup>
<b>TB</b>	85,00	56,92 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>	2,81 <sup>a</sup>

\*Các mẫu tự khác nhau (a,b,c) trong cùng một cột biểu thị sự khác nhau có ý nghĩa với  $P \leq 0,05$  bằng phép thử Duncan.

Kết quả nghiên cứu từ Bảng 3.23 cho thấy, tỷ lệ sống của cây Tom trong không ảnh hưởng nhiều vào thành phần dinh dưỡng, thấp nhất cũng đạt 70% ở CT5 (86% đất tầng mặt + 10% phân chuồng hoai + 4% lân) và cao nhất là 90% ở các CT1 (90% đất tầng mặt + 10% phân chuồng hoai), CT2 (89% đất tầng mặt + 10% phân chuồng hoai + 1% lân) và CT4 (87% đất tầng mặt + 10% phân chuồng hoai + 3% lân).

Đối với chiều cao, giữa các công thức thí nghiệm có sự phát triển khá đồng đều giao động từ 48,60 - 58,94 cm, riêng ở CT4 sinh trưởng vượt trội hơn các công thức khác đạt 68,68 cm (có ý nghĩa về mặt thống kê  $P$ -value < 0,05). Thông số về đường kính gốc ở nghiên cứu này chưa có sự khác biệt và không có ý nghĩa thống kê ( $P$ -value = 0,613). Sự hình thành và phát sinh chồi mới giữa các công thức có sự khác biệt nhưng không lớn, CT1 hệ số thấp nhất (2,28 chồi) và cao nhất là CT4 đạt 3,50 chồi. Ở CT5 cho các chỉ số về chiều cao cây là thấp nhất (48,60 cm) chứng tỏ lượng lân cao quá sẽ gây ức chế tăng trưởng chiều cao làm cây còi cọc. Qua đó, trong thí nghiệm có thể nhận thấy thành

phần đất có chút thay đổi nhưng không đáng kể, lượng phân chuồng là như nhau, chỉ có tỷ lệ phân lân thay đổi đã ảnh hưởng lên sự sinh trưởng về chiều cao và số chồi của cây Tom trong nhưng chưa tác động đến đường kính gốc. Lân đã kích thích sự phát triển mạnh của bộ rễ, bộ rễ khỏe sẽ hấp thu đầy đủ các chất dinh dưỡng trong đất giúp cây tăng trưởng về chiều cao và hình thành nhiều chồi mới.



**Hình 3.22. Bố trí thí nghiệm chế độ dinh dưỡng cây Tom trong**

Đất nhiệt đới vốn có ít chất dinh dưỡng, đặc biệt là nitơ và phốt pho. Phốt pho (P) là một trong những nguyên tố cần thiết nhất cho sản xuất nông nghiệp ở nhiều loại đất, tuy nhiên, nhiều loại đất nhiệt đới lại bị thiếu P (Osodeke, 2005).

Sự thiếu hụt P trong đất chủ yếu là do hàm lượng P trong đất thấp cố hữu hoặc sự cạn kiệt P trong quá trình canh tác (Mokwunye and Bationo, 2002). Thiếu phốt pho là hạn chế chính đối với sự phát triển của thực vật trong nhiều hệ sinh thái trên cạn (Chu and Chang, 1966; Enwezor and Moore, 1966; Keter and Ahn, 1986; Pothuluri et al., 1986).

Trong nghiên cứu này cho thấy, bổ sung lân vào giá thể giâm cành đã có những kết quả rõ ràng, qua đó thành phần giá thể để trồng cây Tom trong giai

đoạn vườn ươm cần bổ sung 3% lân là phù hợp nhất để cây phát triển khỏe mạnh trước khi xuất vườn.



**Hình 3.23. Kết quả thí nghiệm chế độ dinh dưỡng cây Tom trong sau 90 ngày**  
*a. 90% đất + 10% phân chuồng; b. 89% đất + 10% phân chuồng + 1% lân; c. 88% đất + 10% phân chuồng + 2% lân; d. 87% đất + 10% phân chuồng + 3% lân; e. 86% đất + 10% phân chuồng + 4% lân*

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### 1. Kết luận

#### 1.1. Đặc điểm sinh học loài *Tom trong*

*Tom trong* là cây dây leo, dạng thân gỗ và sống lâu năm. Cây thường mọc tập trung thành bụi lớn, chiều dài có thể lên đến 20 m.

Cây *Tom trong* có lá mọc đối, màu xanh đậm và nhiều lông ở 2 mặt; kích thước lá thay đổi tùy theo vị trí phân bố.

Cây ra hoa kéo dài từ tháng 4 - 8. Mùa quả vào tháng 6 - 10. Quả chín từ tháng 1 - 2 năm sau. Hạt nhỏ màu đen và có lông màu trắng ở đầu.

Cây tái sinh từ hạt và chồi thân.

Hầu hết các mẫu dược liệu thu thập từ các vùng phân bố đều có hàm lượng lyoniresinol-2 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranosid nhưng rất thấp.

#### 1.2. Đặc điểm sinh thái loài *Tom trong*

Về phân bố, *Tom trong* được phát hiện ở Krông Pa (Gia Lai), Ea H'leo và VQG Yok Đôn (Đắk Lắk) và Đức Trọng (Lâm Đồng); ở độ cao từ 200 - 938 m, tập trung từ 300 - 500 m; trên đất sa thạch hoặc đất sét pha cát, pH đất dao động từ 6,50 - 6,81; hợp chất hữu cơ không cao từ 3,04 - 4,04%.

Thành phần vi sinh vật trong đất khu vực loài phân bố: *Azotobacter* sp., *Bacillus* sp., vi khuẩn phân giải xenlulô, *Trichoderma* và *Aspegillus* sp.

Về kiểu thảm, *Tom trong* phân bố trong 3 kiểu thảm chính là: (1) V: Rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới; với 2 kiểu phụ là Rừng khô thưa trên đất cát và sét pha cát (V.Mia.2) và Quần thể thoái hóa thành trảng cỏ, cây bụi (V.Mia.4.2) của rừng thưa cây lá rộng hơi khô nhiệt đới (V); (2) II: Rừng kín nửa rụng lá ẩm nhiệt đới (II.Mia); (3) Rừng trồng Bạch đàn (*Eucalyptus microcorys*).

Về sinh trưởng, mật độ cây Tom trong trong các kiểu thảm khác nhau cũng có sự khác biệt rõ rệt. Trong kiểu V.Mia.4.2 có mật độ trung bình thấp nhất với 300 cây/ha ( $D_{00}$ : 0,42 cm;  $H_{lt}$ : 1,5 m); Kiểu V.Mia.2 có mật độ 530 cây/ha ( $D_{00}$ : 1,40 cm;  $H_{lt}$ : 4,83 m); cao nhất là Kiểu II.Mia có mật độ 3.650 cây/ha ( $D_{00}$ : 0,32 cm;  $H_{lt}$ : 0,20 m).

### **1.3. Kỹ thuật nhân giống vô tính loài Tom trong**

Nhân giống *in vitro* cây Tom trong trên môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BA hay 1 mg/l KIN là tốt nhất đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi. Trên cùng một môi trường khoáng có bổ sung và không bổ sung 1 g/l than hoạt tính cây con đều sinh trưởng tốt và không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Môi trường WPM bổ sung 1,0 mg/l IBA là thích hợp cho tạo rễ *in vitro*. Giá thể ra cây *ex vitro* sử dụng hỗn hợp 25% đất - 75% xơ dừa là phù hợp nhất để chuyển cây Tom trong *in vitro* ra điều kiện vườn ươm (*ex vitro*).

Nhân giống cây Tom trong bằng hom sử dụng chất IAA nồng độ 1 - 1,5% là tốt nhất. Khi giâm trên giá thể cát nên sử dụng hom già chưa hóa gỗ và giâm vào mùa khô (từ tháng 12 đến tháng 4 năm sau), giâm cành trên giá thể 50% đất - 50% xơ dừa trong mùa mưa cho kết quả tốt nhất.

Đã xây dựng được hướng dẫn kỹ thuật nhân giống vô tính cây Tom trong (*Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton).

### **1.4. Ảnh hưởng của một số nhân tố đến khả năng sinh trưởng và phát triển cây con giai đoạn vườn ươm**

Thành phần dinh dưỡng trồng và chăm sóc cây Tom trong là 87% đất + 10% phân chuồng + 3% lân; điều kiện che sáng tối ưu là 50% ánh sáng; và chu kỳ tưới nước là 4 ngày/lần.

## **2. Kiến nghị**

1. Cây con Tom trong *in vitro* ra vườn ươm cần được theo dõi tiếp để có những đánh giá rộng hơn về sinh trưởng và phát triển của cây ở những giai đoạn



khác nhau, từ đó đánh giá về thành phần hoạt chất và so sánh với cây ngoài tự nhiên.

2. Cần có những nghiên cứu sâu hơn để sản xuất dược phẩm từ cây Tơ m trong nhằm phục vụ cho sức khỏe của con người.

**DANH MỤC BÀI BÁO, CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ  
LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN**

1. Nguyễn Thanh Nguyên và Lê Hồng Én (2015). Nghiên cứu nhân giống cây Tom trong bằng hom. *Tạp chí Dược liệu*, 20(6), 338-394.
2. Nguyễn Thanh Nguyên, Phó Đức Đỉnh, Hoàng Thanh Trường, Lưu Thế Trung, Nguyễn Quốc Huy, Ngô Bảo Uyên và Bùi Xuân Tiến (2019). Khu vực phân bố và kiểu thảm thực vật của Tom trong (*Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton) ở Tây Nguyên. *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp*, 1, 19-26.
3. Nguyễn Thanh Nguyên, Phan Hoàng Đại và Phan Xuân Huyền (2020). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Tom trong (*Urceola minutiflora* (Pierre) D.J.Middleton). *Tạp chí Khoa học Tây Nguyên*, 43, 48-55.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO****Tài liệu tiếng Việt**

1. Bảo Huy. (2009). *Thống kê và tin học trong Lâm nghiệp*. Trường Đại học Tây Nguyên.
2. Bảo Huy. (2011a). *Sổ tay định danh nhanh các loài thực vật - Rừng Khộp Đăk Lăk*. Bộ môn Quản lý Tài nguyên rừng và Môi trường.
3. Bảo Huy. (2011b). *Sổ tay định danh nhanh các loài thực vật - Rừng bán thường xanh và thường xanh ven suối Đăk Lăk - Đăk Nông*. Bộ môn Quản lý Tài nguyên rừng và Môi trường.
4. Bảo Huy. (2016). *Tin học thống kê trong Lâm nghiệp*. NXB Khoa học và Kỹ thuật.
5. Bảo Huy. (2017). *Nghiên cứu đa dạng thảm thực vật rừng, xã hợp thực vật và các khu rừng có giá trị bảo tồn cao (HCVFs) ở tỉnh Đăk Lăk*. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, 3, 31-39.
6. Baur, G. (1976). *Cơ sở sinh thái học của kinh doanh rừng mưa*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, 597p.
7. Bùi Trang Việt. (2002). *Sinh Lý Thực Vật Đại Cương*. NXB Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
8. Bùi Văn Thắng. (2017). *Nhân giống in vitro cây Hà thủ ô đỏ (Polygonum multiflorum Thunb.) tuyển chọn tại tỉnh Hà Giang*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp, 4, 23-28.
9. Dương Công Kiên. (2002). *Nuôi cấy mô thực vật*. NXB Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
10. Đỗ Tất Lợi. (2013). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Hồng Đức.
11. Đỗ Văn Dũng. (2007). *Nghiên cứu về thực vật và thành phần hóa học của các dược liệu trong bài thuốc bổ dưỡng cơ thể, bổ thận, tráng dương của*

- cụ Ama Kông*. Luận văn Thạc sĩ Dược học, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.
12. Hoàng Kim Ngũ. (2005). *Giáo trình Sinh thái rừng*. NXB Nông nghiệp.
  13. Ngô Bảo Uyên. (2016). *Nghiên cứu ảnh hưởng của nhân tố ánh sáng và nước đến sinh trưởng cây con Tom trong (Urceola minutiflora Mid.) ở vườn ươm tại Lâm Đồng*. Luận văn thạc sĩ, Đại học Đà Lạt.
  14. Nguyễn Hoàng Nghĩa. (2001). *Nhân giống vô tính và trồng rừng bằng dòng vô tính*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
  15. Nguyễn Hoàng Nghĩa và Trần Văn Tiến. (2002). Kết quả nhân giống hom Bách xanh, Pơ mu, Thông đỏ ở Lâm Đồng. *Tạp chí Nông nghiệp & PTNT*, 6, 530-531.
  16. Nguyễn Hoàng Nghĩa và Trần Văn Tiến. (2004). Kết quả giâm hom Hồng Tùng phục vụ trồng rừng bảo tồn nguồn gen. *Tạp chí Nông nghiệp & PTNN*, 3, 390-391.
  17. Nguyễn Hoàng Nghĩa. (2005). *Cây họ Dầu Việt Nam*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
  18. Nguyễn Minh Khởi. (2013). *Kỹ thuật trồng cây thuốc*. Viện Dược liệu. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
  19. Nguyễn Nghĩa Thìn. (2007). *Cẩm nang nghiên cứu đa dạng sinh vật*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
  20. Nguyễn Phương Thảo. (2013). *Nghiên cứu thành phần hóa học của dược liệu Tom Trong trong bài thuốc Ama Kông*. Luận văn Thạc sĩ Dược học, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.
  21. Nguyễn Thị Kim Yên, Nguyễn Phúc Huy, Hoàng Văn Cương, Nguyễn Thị Nhật Linh, Nguyễn Bá Nam, Vũ Quốc Luận và Dương Tấn Nhựt. (2013). Ảnh hưởng của than hoạt tính và nuôi cấy thoáng khí lên khả năng sinh

- trưởng và phát triển của cây hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii*) *in vitro* và *ex vitro*. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 51(4), 435-446.
22. Nguyễn Thị Thanh Hằng, Lê Ái Vân, Đinh Văn Khiêm, Hoàng Văn Cường, Nguyễn Thị Phương Hoàng và Phan Xuân Huyền. (2018). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* và sự sinh trưởng phát triển cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pubescens*) trong nhà kính. *Tạp chí khoa học Đại học Đà Lạt*, 8(3), 99-112.
  23. Nguyễn Thị Tường Vi, Hồ Lê Diễm Trinh và Phan Thị Á Kim. (2018). Nhân giống *in vitro* cây Đẳng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f. et Thomson) từ mô sẹo. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ: Chuyên san Khoa học tự nhiên*, 2(4), 56-61.
  24. Nguyễn Thu Trang. (2012). *Thử nghiệm lâm sàng giai đoạn I viên nang mềm Ama Kông*. Luận văn Thạc sĩ Dược học, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.
  25. Nguyễn Tiên Bân. (1984). *Danh lục thực vật Tây Nguyên*. Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam - Viện Sinh vật học.
  26. Nguyễn Văn Uyển. (1984). *Nuôi cấy mô thực vật phục vụ công tác giống cây trồng*. NXB TP. Hồ Chí Minh.
  27. Niên giám thống kê tỉnh Đắk Lắk năm 2018.
  28. Niên giám thống kê tỉnh Lâm Đồng năm 2018.
  29. Niên giám thống kê tỉnh Gia Lai năm 2018.
  30. Odum, E.P. (1971). *Cơ sở sinh thái học*. Tập I, II. NXB Đại học và Trung học chuyên nghiệp, Hà Nội.
  31. Phạm Hoàng Hộ.(1999). *Cây cỏ Việt Nam*. Tập 1. NXB trẻ.
  32. Phạm Hoàng Hộ.(2000). *Cây cỏ Việt Nam*. Tập 2,3. NXB trẻ.
  33. Phan Tiến Dũng, Đặng Ngọc Minh, Lê Văn Tình, Phạm Thị Thủy, Nguyễn Văn Tâm, Trịnh Văn Vương và Phan Công Tuấn. (2022). Ảnh hưởng của

- $\alpha$ - NAA đến khả năng nhân giống vô tính một số loài cây thuốc tại Đà Nẵng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. Đại học Đà Nẵng, 20(3), 46-50.
34. Phạm Văn Tuấn. (1996). *Một số nhân tố ảnh hưởng đến tỷ lệ ra rễ của hom*. Bản tin hội khoa học kỹ thuật Lâm nghiệp Việt Nam, 4, 8-11.
35. Phan Xuân Huyền và Nguyễn Lâm Thanh. (2014). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Đẳng sâm (*Codonopsis javanica* Blume) thông qua nuôi cấy chồi ngủ. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 12(4), 659-666.
36. Phan Xuân Huyền, Đinh Văn Khiêm, Nguyễn Thị Thanh Hằng, Hoàng Văn Cương, Nguyễn Thị Phương Hoàng, Nguyễn Văn Kết, Phan Hoàng Đại và Nguyễn Thị Cúc. (2015). *Nghiên cứu nhân giống in vitro và nuôi trồng ex vitro Lan gấm (Anoectochilus lylei rolfe ex downies)*. Kỷ yếu Hội thảo khoa học Sinh học - Nông nghiệp lần thứ I, Đại học Đà Lạt, 85-96.
37. Phan Xuân Huyền, Nguyễn Văn Kết, Phan Hoàng Đại và Nguyễn Thị Cúc. (2016). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* và nuôi trồng cây Lan gấm (*Anoectochilus lylei* Rolfe ex Downies) ở điều kiện *ex vitro*. *Tạp chí khoa học Đại học Đà Lạt*, 6(4), 481-492.
38. Phan Xuân Huyền, Huỳnh Thị Ngoan và Nguyễn Thị Phương Hoàng. (2017). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Sâm bô chính (*Hibicus Sagittifolius* Kurz) thông qua nuôi cấy đốt thân. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 15(5), 664-672.
39. Phan Xuân Huyền và Nguyễn Thị Phương Hoàng. (2017). Nghiên cứu tái sinh chồi *in vitro* và nuôi trồng cây Lan gấm (*Anoectochilus formosanus* Hayata). *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 15(3), 515-524.
40. Phan Xuân Huyền, Trần Thị Hoàn Anh, Nguyễn Thị Phương Hoàng, Nguyễn Thị Thanh Hằng, Đinh Văn Khiêm và Hoàng Văn Cương. (2018). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* và ảnh hưởng của phân bón lá đến sinh

- trường cây Lan gấm (*Anoectochilus formosanus* Hayata) tại Lâm Đồng. *Tạp chí Dược liệu*, 23(1), 52-59.
41. Phùng Ngọc Lan. (1986). *Lâm Sinh học*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
  42. Phùng Thị Thu Hà, Phạm Thị Huyền Trang và Nguyễn Hữu Cường. (2017). Đặc điểm thực vật học và một số biện pháp kỹ thuật trồng Cà gai leo tại Gia Lâm, Hà Nội. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 15(2), 146-154.
  43. Richards, P.W. (1952). *Rừng mưa nhiệt đới*. Tập I, II, III. NXB Khoa học, Hà Nội.
  44. Thái Văn Trưng. (1975). *Thảm thực vật rừng Việt Nam trên quan điểm hệ sinh thái*. NXB Khoa học và Kỹ thuật.
  45. Trần Thế Bách và Bùi Thu Hà. (2017). *Urceola huaitingii* (Chun & Tsiang) D.J. Middleton (Apocynaceae) – Loài bổ sung cho hệ thực vật Việt Nam. *Tiểu ban khu hệ động vật – Thực vật*. Hội nghị Khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật, 7, 46-49. NXB Khoa học tự nhiên và Công nghệ.
  46. Trương Thị Bích Phượng và Phan Ngọc Khoa. (2013). Nhân giống *in vitro* cây Lan Kim tuyến (*Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl). *Tạp chí Khoa học Đại học Huế*, 79(1), 41-46.
  47. Viện Dược liệu. (2016). *Danh mục cây thuốc Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
  48. Viện Dược liệu. (2000). *Công trình nghiên cứu khoa học giai đoạn 1987 - 2000*.
  49. Võ Đại Hải. (2010). Nghiên cứu đặc điểm tái sinh tự nhiên loài Vôi thuốc (*Schima wallichii* Choisy) ở các trạng thái rừng tự nhiên phục hồi tại huyện Lục Ngạn và Lục Nam, tỉnh Bắc Giang. *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp*, 1, 1149-1156.
  50. Võ Văn Chi. (2012). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Tập 1 và 2. NXB Y học.

### Tài liệu tiếng Anh

51. Al-Saqri, F., & Alderson, P.G. (1996). Effects of IBA, cutting type and rooting media on rooting of *Rosa centifolia*. *Journal of Horticultural Science*, 71(5), 729-737.
52. Attakorn Palasuwan, & Suphan Soogarun. (2014). Total antioxidant activity of Thai medicinal plants associated with the treatment of cardiovascular diabetes and cancers. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(10), 27-31.
53. Balabushka, V.K. (1984). Application of growth regulators in the vegetative propagation of *Buxus sempervirens*. *Introduktsiya i Akklimatizatsiya Rastenii*. Kiev, Ukrainian, SSR 2, 26-27.
54. Balabushka, V.K. (1985). Stimulation of vegetative propagation of introduced woody species with growth powder and honey. *Lesnoi Zhurnal*, 6, 118-119.
55. Blythe, E.K., Sibley, J.M., & Tilt, K.M. (2004). Cutting propagation of foliage crops using a foliar application of auxin. *Scientia Horticulturae*, 103(1), 31-37.
56. Chu, W.K., & Chang, S.C. (1966). Surface activity of inorganic soil phosphorus. *Web of Science*, 101, 459-464.
57. Collard, B.C.Y., Pang, E.C.K., Brouwer, J.B., & Taylor, P.W.J. (2002) Use of stem cutting to generate populations for QTL mapping in chickpea. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter*, 9, 30-32.
58. Dennis Thomas, T. (2008). The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology Advances*, 26, 111-631.
59. Deproft, M.P., Maene, L., & Debergh, P. (1985). Carbon dioxide and ethylene evolution in the culture atmosphere of magnolia culture *in vitro*. *Physiology Plant*, 65, 375-379.



60. Dillen, W., & Buysens, S. (1989). A simple technique to overcome vitrification in *Gypsophila paniculata* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 19, 181-188.
61. Duncan, D.B. (1955). Multiple range and F tests. *Biometrics*, 11, 1-42.
62. Enwezor, W.O., & Moore, A.W. (1966). Phosphorus status of some Nigerian soils. *Soil Science*, 102, 322-328.
63. Fiona, P. (1997). *Effects of auxin treatment, cutting type and air and root zone temperatures on cutting propagation of eastern species of Conospermum and Persoonia with potential horticultural value*. Report to the Australian Flora Foundation.
64. Gerald Martin, Geetha, S.P., Sudhakar, S., Raja, A., Raghu, V., Indira Balachandran, & Ravindran, P.N. (2016). An efficient micropropagation system for *Celastrus paniculatus* Willd.: a vulnerable medicinal plant. *The Japanese Forest Society and Springer*.
65. Gomez, M.P., & Segura, J. (1994). Factors controlling adventitious bud induction and plant regeneration in mature *Juniperus oxycedrus* leaves cultured *in vitro*. *In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 30P, 210-218.
66. Gislerød, H.R. (1983). Physical conditions of propagation media and their influence on the rooting of cuttings: III. The effect of air content and temperature in different propagation media on the rooting of cuttings. *Plant and Soil*, 75(1), 1-14.
67. Hakkaart, F.A., & Versluijs, J.A. (1983). Some factors affecting glassiness in carnation meristem tip cultures. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 89, 47-53.

68. Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T., & Geneve, R.L. (1997). Plant propagation: Principles and practices. 7th ed. *Prentice Hall*, Upper Saddle River, New Jersey.
69. Hassankhah, A., Vahdati, K., Lotfi, M., Mirmasoumi, M., Preece, J., & Assareh, M.H. (2014). Effects of Ventilation and Sucrose Concentrations on the Growth and Plantlet Anatomy of Micropropagated Persian Walnut Plants. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 1(2), 111-120.
70. Hoang, N.T.P., Huyen, P.X., Hang, N.T.T., & Khiem, D.V. (2018). Effect of growth regulators on the in vitro propagation of *Gnetum gnemon* var. *griffithii* Markgr. *Academia Journal of Biology*, 40(3), 113-121.
71. Hoffman, G.C. (1979). Humidity. In Tibbits, T.W., and Tkozlowski, T.T. Controlled environment guidelines for plant research. *Academic Press*, New York, 141-172.
72. Holt, J.S., & Chism, W.J. (1988). Herbicidal activity of NAA (*1-naphthaleneacetic acid*) on creeping woodsorrel (*Oxalis corniculata*) in ornamentals. *Weed Science*, 36, 227-233.
73. IRRDB. (2005). The International Rubber Research and Development Board. Proceedings of Symposium on physiological and molecular aspects of the breeding of Hevea.
74. Jha, S., & Sen, S. 1985. Regeneration and rapid multiplication of *Bowiea volubilis* Harv. in tissue culture. *Plant Cell Reports*, 4, 12-24.
75. Jha, S., & Jha, T.B. (1989). Micropropagation of *Cephaelis ipecacuanha* Rich. *Plant Cell Reports*, 8, 437-449.
76. Kamo, K., Vacharangkura, T., Tiyanon, S., Viriyabuncha, C., Nimpila, S., & Doangsrise, B. (2002). Plant Species Diversity in Tropical Planted

- Forest and Implication for Restoration of Forest Ecosystems in Sakaerat. *Northeastern Thailand* - <http://www.jircas.affrc.go.jp>.
77. Kaul, K. (2008). Variation in rooting behaviour of stem cuttings in relation to their origin in *Taxus wallichiana* Zucc. *New Forests*, 36, 217-224.
78. Ket, N.V. (2003). *Effect of environmental conditions on in vitro and ex vitro growth of jewel orchid (Anoectochilus formosanus Hayata)*. PhD Thesis of Philosophy in Agriculture, The Graduate School of Chungbuk National University, Korea.
79. Keter, J.K.A., & Ahn, P.A. (1986). Profile characteristics, and form and surface activity of inorganic phosphorus in a deep red Kenya coffee soil. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 37, 89-47.
80. Kozai, T., & Sekimoto, K. (1988). Effects of the number of air changes per hour of the closed vessel and the photosynthetic photon flux on the growth of strawberry plantlets in vitro. *Environmental Control in Biology*, 26, 21-29.
81. Kozai, T., & Jeong, B.R. (1993). *Environmental control in plant tissue culture and its application for micropropagation*, In: Hashimoto Y., Bot G. P.A., Day W., Tantau H.J., and Nonami H. (eds.), *The computerized greenhouse: automatic control application in plant production*. Academic. New York, 95-116.
82. Lamb, D., Erskine, D.P., & Parrotta A.J. (2005). Restoration of Degraded Tropical Forest Landscapes - <http://www.sciencemag.org>.
83. Leach, J.E. (1979). Some effects of air temperature and air humidity on crop and leaf photosynthesis, transpiration and resistance to gas transfer. *Annu. Annals of Applied Biology*, 92, 287-297.

84. Leakey, R.R.B. (1990). *Nauclea diderriochii*: rooting of stem cuttings, clonal variation in shoot dominance, and branch plagiotropism. *Trees*, 4, 164-169.
85. Lloyd, G., & McCown, B. (1981). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel. *Kalmia latifolia*, by the use of shoot tip culture. *The International Plant Propagators Society*, 30, 421-427.
86. Li, P.T., Leeuwenberg, A.J.M, & Middleton, D.J. (1995). Apocynaceae. In: Wu, Z.Y., & Raven, P.H. Flora of China. *Science Press*, Beijing, China et Missouri Botanical Garden, St. Louis, United States, 16, 143-188.
87. Lieth, H., & Mooney, H.A. (1991). Restoration of Tropical Forest Ecosystems. *Springer - Science + Business Media*, B.V. <http://link.springer.com>.
88. Mialoundama, F., Avana, M.L., Youmbi, E., Mampouyl, P.C., Kopguep, F., Tsobeng, A.C., & Abega, J. (2002). Vegetative propagation of *Dicrodesedulis* (G. Don) H.J Lam by marcots, cuttings and micropropagation. *Forests Trees Livelihoods*, 12, 85-96 Ofori, DA, Newton AC.
89. Middleton, D.J. (1994). A Revision of *Urceola* (Apocynaceae) in Thailand. *Springer on behalf of Royal Botanic Gardens, Kew*, 49(4), 757-767.
90. Middleton, D.J. (1996). A revision of *Afanonerion* Pierre ex Spire, *Parameria* Benth. & Hook.f. and *Urceola* Roxb. (Apocynaceae). *BLUMEA*, 41(1), 69-122.
91. Middleton, D.J. (2014). Flora of Cambodia, Laos and Vietnam. Apocynaceae. *Publications Scientifiques*, 33, 219-221.
92. Milanez, D., & Ventura, J.A. (1987). EMCAPA, Brazil, 42.

93. Mohamed, M.A.H., & Alsadon, A.A. (2010). Influence of ventilation and sucrose on growth and leaf anatomy of micropropagated potato plantlets. *Scientia Horticulturae*, 123, 295-300.
94. Mohamed, G.R.A., Khusnetdinova, L.Z.1., & Timofeeva, O.A. (2018) Elaboration of micropropagation protocol for *Vaccinium corymbosum* cv. "Sunt Blue Giant". *Asian Journal of Plant Science and Research* 8(5), 1-11.
95. Mokwunye, U., & Bationo, A. (2002). Meeting the Phosphorus Needs of the Soils and Crops of West Africa: the Role of Indigenous Phosphate Rocks. *Integrated Plant Nutrient Management in Sub-Saharan Africa: From Concept to Practice*, 209-224.
96. Momeni, M., Ganji-Moghadam, E., Kazemzadeh-Beneh, H., & Asgharzadeh, A. (2018). Direct organogenesis from shoot tip explants of *Juniperus polycarpus* L.: Optimizing basal media and plant growth regulators on proliferation and root formation, 19, 40-50.
97. Mortensen, L.M. (1986). Effect of relative humidity on growth and flowering of some greenhouse plants. *Scientia Horticulturae*, 29, 301-307.
98. Mortensen, L.M., & Gislerød, H.R. (1990). Effects of air humidity and supplementary lighting on foliage plants. *Scientia Horticulturae*, 44, 301-308.
99. Mortensen, L.M., & Fjeld, T. (1995). High air humidity reduces the keeping quality of roses. *Scientia Horticulturae*, 405, 148-152.
100. Mortensen, L.M., & Fjeld, T. (1998). Effects of air humidity, lighting period and lamp type on growth and vase life of roses. *Scientia Horticulturae*, 73, 229-237.

101. Mortensen, L.M. (2000). Effects of air humidity on growth, flowering, keeping quality and water relations of four short-day greenhouse species. *Scientia Horticulturae*, 86, 299-310.
102. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, 15, 473-497.
103. Mustafa, C., & Atalay, S. (2015). Micropropagation of *Vaccinium myrtillus* L. (Bilberry) naturally growing in the Turkish flora. *Turkish Journal of Biology*, 39, 233-240.
104. National Medicinal Plants Board. (2008). *Agro-techniques of selected medicinal plants*. Uttar Pradesh. Department of AYUSH, Ministry of Health and Family Welfare, Government of India, 1, 99-103.
105. Newman, M., Ketphanh, S., Bouakhay, K., Thomas, P., Khamphone, S., Lamxay, V., & Kate, A. (2007). Checklist of the vascular Plants of Lao PDR. *Edinburgh Royal Botanic Garden*, 60-62.
106. Ofori, D.A., Newton, A.C., Leakey, R.R.B., & Grace, J. (1996). Vegetative propagation of *Milicia excelsa* by leafy stem cuttings: effects of auxin concentration, leaf area and rooting medium. *Forest Ecology and Management*, 84, 39-48.
107. Osodeke, E.V. (2005). Determination of phosphorus requirements of Cowpea (*Vigna unguiculata*) in the acid soils of South-eastern Nigeria using sorption isotherms. *Global Journal of Agricultural Sciences*, 4(2), 135-138.
108. Owuor, B., Musyimi, D., Ocaidoand, M., & Asimwe, J. (2009). Vegetative propagation of the large sour plum (*Ximeniacaffra* Sond) by rooting of plagiotropic stem cutting. *ARNP Journal of Agricultural and Biological Science*, 4(1), 19-25.

109. Palasuwan, A., & Soogarun, S. (2014). Total antioxidant activity of Thai medicinal plants associated with the treatment of cardiovascular diseases, diabetes and cancers. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(10), 27-31.
110. Pan, M.J., & Van, S.J. (1998). The use of charcoal in *in vitro* culture. *Plant Growth Regulation*, 26(3), 155-163.
111. Philip, V.J., Dominic Joseph, Triggs, G.S., & Dickinson, N.M. (1992). Micropropagation of black pepper (*Piper nigrum* Linn.) through shoot tip cultures. *Plant Cell Reports*, 12, 41-44.
112. Pothuluri, J.V., Kissel, D.E., Whitney, D.A., & Thien, S.J. (1986). Phosphorus uptake from soil layers having different soil test phosphorus levels. *Agronomy Journal*, 78, 991.
113. Preece, J.E., & Sutter. (1991). Plant regeneration from leaf explants of *Rhododendron* P.J.M. hybrids. *Scientia Horticulturae*, 48, 159-170.
114. Rache, L.Y.C., & Pacheco, J.C.M. (2010). *In vitro* propagation of mature plants of *Vaccinium meridionale* (Ericaceae). *Acta Botanica Brasiliica* 24(4), 1086-1095.
115. Rachpirom, M., Barrows, L.R., Thengyai, S., Ovatlarnporn, C., Sontimuang, C., Thiantongin, P., & Puttarak, P. (2022). Antidiabetic Activities of Medicinal Plants in Traditional Recipes and Candidate Antidiabetic Compounds from *Hydnophytum formicarum* Jack. Tubers. *Pharmacognosy Research*, 14(1), 89-99.
116. Rana, R.S., & Sood, K.K. (2012). Effect of cutting diameter and hormonal application on the propagation of *Ficus roxburghii* Wall. through branch cuttings. *Annals of Forest Research*, 55(1), 69-84.

117. Rawson, H.M., & Begg, J.E. (1977). The effect of atmospheric humidity on photosynthesis, transpiration and water-use efficiency of leaves of several plant species. *Planta*, 134, 5-10.
118. Rout, G.R., Saxena. C., Samantaray. S., & Das, P. (1999). Rapid clonal propagation of *Plumbago zeylanica* Linn. *Plant Growth Regulation*, 28, 1-4.
119. Saxena, C., Rout, G.R. & Das, P. (1998). Micropropagation of *Psoralea corylifolia* Linn. *J. Med. Aromatic Plant Science*, 20, 15-8.
120. Satheesh, K.K., & Bhavanandan, K.V. (1988). Micropropagation of *Plumbago rosea* Linn. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 15, 275-8.
121. Shamet, G., & Handa, A. (1996). Vegetative Propagation of Juvenile Chir Pine Cuttings Under Intermittent Mist. *Biology. The Indian Forester*.
122. Shi, H.F., Yerra, K.R., & Yew, M.T. (2008). Anti-oxidant and inflammatory mediator's growth inhibitory effects of compounds isolated from *Phyllanthus urinaria*. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, (333 - 340).
123. Shiau, Y.J., Sagare, A.P., Chen, U.C., Yang, S.R., & Tsay, H.S. (2002). Conservation of *Anoectochilus formosanus* Hayata by artificial cross-pollination and in vitro culture of seeds. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 43, 123-130.
124. Sivakumar, M.S., DhanaRajan, A., & Mohamed Sadiq, M. (2014). Jayanthi *In vitro* Micropropagation of *Tinosporacordifolia* (Willd.) Miers ex Hook. F. & Thoms - An Important Medicinal Plant V. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(2), 5-10.
125. Slupski, W., Tubek, B., & Matkowski, A. (2011). Micropropagation of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf by axillary shoot multiplication. *Acta Biologica Cracoviensia*, 53(2), 87-93.



126. Park, S.M., Won, E.J., Park, Y.G., & Jeong, B.R. (2011). Effects of node position, number of leaflets left, and light intensity during cutting propagation on rooting and subsequent growth of domestic roses. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 52(4), 339-343.
127. Sunil, P., & Swamy, S.L. (1996). Geographical variation in rooting ability of stem cuttings of *Azadirachta indica* and *Dalbergiasisso*. *Genetic Resource and Crop Evolution*, 46(1), 29-36.
128. Swamy, S.L. (1996). Geographical variation in rooting ability of stem cuttings of *Azadirachta indica* and *Dalbergiasisso*. *Genetic Resource and Crop Evolution*, 46(1), 29-36.
129. Tanaka, M. (1991). Disposable film culture vessels. In: Bajai, Y.P.S. (Ed.). *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 17. High-tech and micropropagation I, 213-238.
130. Tanaka, M., Fujiwara, K., & Kozai, T. (1992). Effects of relative humidity in the culture vessel on the transpiration and net photosynthetic rates of potato plantlets *in vitro*. *Acta Hortic*, 319, 59-64.
131. Tsay, H.S., Gau, T.G., & Chen, C.C. (1989). Rapid clonal propagation of *Pinellia ternata* by tissue culture. *Plant Cell Reports*, 8, 450-462.
132. Wamatu, J.N., & King'oro, M.W. (1992). Vegetative propagation of cultivar Ruiru 11 by rooting softwood stem cuttings. *Kenya Coffee*, 57, 1399-1404.
133. Xiang, Z.H., Chun, M.C., Yun, D., Guang, M.D., Jun, M.G., Hui, L., & Chao, W. (2012). A novel lignan glycoside with antioxidant activity from *Tinospora sagittata* var. *Yunnanensis*. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 26(20), (1876 - 1880).
134. Yu, T.T., Kai, C.C., Shang, T.H., Yong, L.C., Tung, L.W., Ke, C.H., & Jyh, H.W. (2011). Comparison and Characterization of the Antioxidant

Potential of 3 Wild Grapes – *Vitis thunbergii*, *V. flexuosa*, and *V. Kelungeusis*. *Journal of Food Science*, 76(5), (C701 - C706).

### **Tài liệu Internet**

135. Khai thác từ: <http://powo.science.kew.org/> của Royal Botanic Gardens, Kew.
136. Khai thác từ: <https://fbstorevn.com/fbapp1/297499/cay-tom-trong-id944.html>.
137. Sức khỏe đời sống (19/08/2013). Thảo dược “bí truyền” chế bài thuốc phòng the sắp cạn kiệt. Khai thác từ <http://www.24h.com.vn/suc-khoe-doi-song/c62a565614.html>.

### **Tài liệu về các tiêu chuẩn**

1. TCVN 5979:1995. Xác định pH. Viện tiêu chuẩn Chất lượng Việt Nam ban hành.
2. TCVN 4189:1995. Các phương pháp xác định thành phần hạt trong phòng thí nghiệm. Viện tiêu chuẩn Chất lượng Việt Nam ban hành.
3. TCVN 6642:2000. Xác định hàm lượng cacbon hữu cơ và cacbon tổng số sau khi đốt khô. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.
4. TCVN 6445:2000. Xác định hàm lượng Nitơ tổng số. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.
5. TCVN 6443:2000. Xác định hàm lượng Nitơ dễ tiêu. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.
6. AOAC 990.08:2000. Xác định hàm lượng Phospho tổng số. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.
7. TCVN 5256:2009. Xác định hàm lượng Phospho dễ tiêu. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.
8. AOAC 990.08:2000. Xác định hàm lượng Kali tổng số và Kali dễ tiêu. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.

9. TCVN 5613:1991. Xác định độ ẩm. Ủy ban Khoa học Nhà nước ban hành.
10. TCVN 4195:1995. Xác định khối lượng riêng. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.
11. TCVN 6166:1996. Xác định vi sinh vật cố định Nitơ. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.
12. TCVN 6167:1996. Xác định vi sinh vật phân giải hợp chất photpho khó tan. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.
13. TCVN 6168:1996. Xác định vi sinh vật giải xenluloza. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.
14. TCVN 6847:2001. Hướng dẫn chung về định lượng Enterobacteriaceae không qua quá trình phục hồi - Kỹ thuật đếm khuẩn lạc và kỹ thuật MPN. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.
15. TCVN 5165:90. Xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí. Ủy ban Khoa học Nhà nước ban hành.

**PHỤ LỤC****Phụ lục 1. Phiếu điều tra Ô tiêu chuẩn Tơm trong****PHIẾU ĐIỀU TRA ÔTC (10 x 10m)**

Số hiệu ô: BĐ01

Địa điểm, tọa độ: 0804542 - 1429064

Ngày điều tra: 25/11/2016 Người điều tra: Nguyễn Thanh Nguyên, Lưu Thế Trung, Hoàng Thanh Trường, Trần Đăng Hoài.

Độ tàn che: 0,3 - 0,4

<b>Nhân tố địa hình</b>	<b>Đất</b>	<b>Thực bì</b>
1. Vị trí: Chân núi 2. Độ dốc: 5° 3. Độ cao: 625 m 4. Ánh sáng: 818 lux 5. Nhiệt độ: 31°C	6. Loại đất: Đá lộ đầu 7. Đá mẹ: Sa thạch 8. Tỷ lệ đá lẫn: 50% 9. Độ dày: 70 - 80 cm 10. pH: 4,58	11. Loài cây: 12. Thảm mục: Không 13. Độ che phủ: 10 - 20%

**Đo đếm cây Tơm trong**

<b>Stt</b>	<b>Loài cây</b>	<b>D<sub>gốc</sub> (cm)</b>	<b>H (m)</b>	<b>Lá</b>		<b>Ghi chú</b>
				<b>Rộng (cm)</b>	<b>Dài (cm)</b>	
1	Tơm trong	0,9	2,5	1,4	3,7	
2	Tơm trong	1,7	4	2,1	4,3	
3	Tơm trong	1,1	5	2,8	4,9	

**Đo đếm cây gỗ (D<sub>1,3</sub> > 6 cm)**

<b>Stt</b>	<b>Loài cây</b>	<b>D<sub>1,3</sub> (m)</b>	<b>H (m)</b>	<b>D<sub>tán</sub> (m)</b>	<b>Phẩm chất (A,B,C)</b>	<b>Ghi chú</b>
1	Thị lá nhỏ	0,13	9	2	C	
2	Cò ke	0,23	12	5	A	
3	Sầm tán	0,10	6	3,5	B	
4	Hoàng liệt	0,18	14	4,5	A	
5	Cò ke	0,12	8	4	B	

**PHIẾU ĐIỀU TRA ÔTC (10 x 10m)**

Số hiệu ô: VQG01

Địa điểm, tọa độ: 0772469 - 1440439

Ngày điều tra: 26/11/2016 Người điều tra: Nguyễn Thanh Nguyên, Lưu Thế Trung, Hoàng Thanh Trường, Trần Đăng Hoài.

Độ tàn che: 0,5

Nhân tố địa hình	Đất	Thực bì
1. Vị trí: Sườn núi 2. Độ dốc: 30° 3. Độ cao: 686 m 4. Ánh sáng: 707 lux 5. Nhiệt độ: 29,7°C	6. Loại đất: Pha đá cội 7. Đá mẹ: 8. Tỷ lệ đá lẫn: 30% 9. Độ dày: 30 cm 10. pH: 4,60	11. Loài cây: 12. Thảm mục: Không 13. Độ che phủ: 40 - 50%

**Đo đếm cây Tơm trong**

Stt	Loài cây	D <sub>gốc</sub> (cm)	H (m)	Lá		Ghi chú
				Rộng (cm)	Dài (cm)	
1	Tơm trong	0,3	4,6	2,4	5,3	
2	Tơm trong	0,5	6,1	1,5	3,7	

**Đo đếm cây gỗ (D<sub>1,3</sub> > 6 cm)**

Stt	Loài cây	D <sub>1,3</sub> (m)	H (m)	D <sub>tán</sub> (m)	Phẩm chất (A,B,C)	Ghi chú
1	Cò ke	0,20	18	4	A	
2	Gụ mật	0,27	15	3	B	
3	Sầm tán	0,18	7	2	B	
4	Gòn gai	0,15	6	3	C	
5	Thị lá nhỏ	0,12	10	3	A	
6	Thị lá nhỏ	0,16	13	4	B	
7	Sứng xoài	0,18	18	4	A	
8	Cò ke	0,16	10	3	A	

**PHIẾU ĐIỀU TRA ÔTC (10 x 10m)**

Số hiệu ô: VQG02

Địa điểm, tọa độ: 0785567 - 1442742

Ngày điều tra: 26/11/2016 Người điều tra: Nguyễn Thanh Nguyên, Lưu Thế Trung, Hoàng Thanh Trường, Trần Đăng Hoài.

Độ tàn che: 0,5

Nhân tố địa hình	Đất	Thực bì
1. Vị trí: Sườn núi 2. Độ dốc: 25° 3. Độ cao: 693 m 4. Ánh sáng: 785 lux 5. Nhiệt độ: 32,5°C	6. Loại đất: Sa thạch 7. Đá mẹ: 8. Tỷ lệ đá lẫn: 30% 9. Độ dày: 30 cm 10. pH: 4,74	11. Loài cây: 12. Thảm mục: 5 - 10 cm 13. Độ che phủ: 60 - 70%

**Đo đếm cây Tom trong**

Stt	Loài cây	D <sub>gốc</sub> (cm)	H (m)	Lá		Ghi chú
				Rộng (cm)	Dài (cm)	
1	Tom trong	0,1	7,2	1,8	4,9	
2	Tom trong	0,5	4,3	2,1	4,3	
3	Tom trong	0,7	3,7	2,5	5,2	

**Đo đếm cây gỗ (D<sub>1,3</sub> > 6 cm)**

Stt	Loài cây	D <sub>1,3</sub> (m)	H (m)	D <sub>tán</sub> (m)	Phẩm chất (A,B,C)	Ghi chú
1	Bằng lăng	0,94	12	12	B	
2	Trâm lá nhỏ	0,65	14	9	B	
3	Thầu tấu	0,21	4	3	C	
4	Trâm lá nhỏ	0,46	8	4	B	
5	Cà đuối	0,75	11	5	B	
6	Sp	0,61	11	6	B	

7	Bình linh	0,46	8	4	B	
8	Trâm lá nhỏ	0,65	9	4	B	
9	Thị rừng	0,23	8	3	C	
10	Thầu tầu	0,30	5	2	C	

**PHIẾU ĐIỀU TRA ÔTC (10 x 10m)**

Số hiệu ô: VQG03

Địa điểm, tọa độ: 0781299 - 1442942

Ngày điều tra: 26/11/2016 Người điều tra: Nguyễn Thanh Nguyên, Lưu Thế Trung, Hoàng Thanh Trường, Trần Đăng Hoài.

Độ tàn che: 0,6

Nhân tố địa hình	Đất	Thực bì
1. Vị trí: Sườn núi 2. Độ dốc: 30° 3. Độ cao: 658 m 4. Ánh sáng: 785 lux 5. Nhiệt độ: 32,5°C	6. Loại đất: Sa thạch 7. Đá mẹ: 8. Tỷ lệ đá lẫn: 40% 9. Độ dày: 30 cm 10. pH: 4,74	11. Loài cây: 12. Thảm mục: 5 - 10 cm 13. Độ che phủ: 60 - 70%

**Đo đếm cây Tom trong**

Stt	Loài cây	D <sub>gốc</sub> (cm)	H (m)	Lá		Ghi chú
				Rộng (cm)	Dài (cm)	
1	Tom trong	0,1	7,2	1,8	4,9	
2	Tom trong	0,5	4,3	2,1	4,3	
3	Tom trong	0,7	3,7	2,5	5,2	

**Đo đếm cây gỗ (D<sub>1,3</sub> > 6 cm)**

Stt	Loài cây	D <sub>1,3</sub> (m)	H (m)	D <sub>tán</sub> (m)	Phẩm chất (A,B,C)	Ghi chú
1	Bằng lăng	0,65	13	5	B	
2	Trâm lá nhỏ	0,31	17	6	A	
3	Bình linh	0,43	10	4	B	
4	Thị rừng	0,29	13	5	B	
5	Trâm lá nhỏ	0,45	16	6	A	
6	Sp	0,28	20	8	A	



7	Săn lẻ	0,46	20	7	A	
8	Gụ mật	0,39	18	8	A	
9	Gòn gai	0,12	5	2	C	
10	Dành dành	0,08	4	3	C	

**PHIẾU ĐIỀU TRA ÔTC (10 x 10m)**

Số hiệu ô: EH01

Địa điểm, tọa độ: 0778179 - 1478768

Ngày điều tra: 17/11/2016 Người điều tra: Nguyễn Thanh Nguyên, Lưu Thế Trung, Hoàng Thanh Trường, Trần Đăng Hoài.

Độ tàn che: 0,2 - 0,3

Nhân tố địa hình	Đất	Thực bì
1. Vị trí: Bằng phẳng 2. Độ dốc: 0° 3. Độ cao: 306 m 4. Ánh sáng: 754 lux 5. Nhiệt độ: 31°C	6. Loại đất: Sa thạch 7. Đá mẹ: 8. Tỷ lệ đá lẫn: 0% 9. Độ dày: > 100 cm 10. pH: 3,94	11. Loại cây: 12. Thảm mục: 5 - 10 cm 13. Độ che phủ: 30 - 40%

**Đo đếm cây Tom trong**

Stt	Loại cây	D <sub>gốc</sub> (cm)	H (m)	Lá		Ghi chú
				Rộng (cm)	Dài (cm)	
1	Tom trong	0,14	>10	2,3	5,3	
2						
3						

**Đo đếm cây gỗ (D<sub>1,3</sub> > 6 cm)**

Stt	Loại cây	D <sub>1,3</sub> (m)	H (m)	D <sub>tán</sub> (m)	Phẩm chất (A,B,C)	Ghi chú
1	An túc	0,10	9	6	B	
2	Trâm trắng	0,15	11	7	B	
3	Dầu con quay	0,23	14	10	A	
4	Dầu con quay	0,07	7	5	B	
5	Mà ca	0,10	7	4	B	
6	Sến mủ	0,32	13	7	B	
7	Bứa	0,14	11	5	C	

**PHIẾU ĐIỀU TRA ÔTC (10 x 10m)**

Số hiệu ô: EH02

Địa điểm, tọa độ: 0783995 - 1480694

Ngày điều tra: 17/11/2016 Người điều tra: Nguyễn Thanh Nguyên, Lưu Thế Trung, Hoàng Thanh Trường, Trần Đăng Hoài.

Độ tàn che: 0,5

<b>Nhân tố địa hình</b>	<b>Đất</b>	<b>Thực bì</b>
1. Vị trí: Bằng phẳng 2. Độ dốc: 0° 3. Độ cao: 298 m 4. Ánh sáng: 406 lux 5. Nhiệt độ: 27,7°C	6. Loại đất: Sa thạch 7. Đá mẹ: 8. Tỷ lệ đá lẫn: 0% 9. Độ dày: > 100 cm 10. pH: 3,38	11. Loại cây: 12. Thảm mục: 5 - 10 cm 13. Độ che phủ: 20 - 30%

**Đo đếm cây Tom trong**

<b>Stt</b>	<b>Loài cây</b>	<b>D<sub>góc</sub> (cm)</b>	<b>H (m)</b>	<b>Lá</b>		<b>Ghi chú</b>
				<b>Rộng (cm)</b>	<b>Dài (cm)</b>	
1	Tom trong	0,26	>10	2,5	7,0	
2						
3						

**Đo đếm cây gỗ (D<sub>1,3</sub> > 6 cm)**

<b>Stt</b>	<b>Loài cây</b>	<b>D<sub>1,3</sub> (m)</b>	<b>H (m)</b>	<b>D<sub>tán</sub> (m)</b>	<b>Phẩm chất (A,B,C)</b>	<b>Ghi chú</b>
1	Cà te	0,11	7	3	B	
2	Cà te	0,13	6	3	B	
3	Cà te	0,10	7	4	B	
4	Nhàu	0,70	4	2	B	
5	Cắm liên	0,35	12	5	B	
6	Cây	0,10	7	3	B	
7	Cây	0,15	11	7	B	

**PHIẾU ĐIỀU TRA ÔTC (10 x 10m)**

Số hiệu ô: EH03

Địa điểm, tọa độ: 0783975 - 1480603

Ngày điều tra: 18/11/2016 Người điều tra: Nguyễn Thanh Nguyên, Lưu Thế Trung, Hoàng Thanh Trường, Trần Đăng Hoài.

Độ tàn che: 0,2

Nhân tố địa hình	Đất	Thực bì
1. Vị trí: Sườn núi 2. Độ dốc: 30° 3. Độ cao: 305 m 4. Ánh sáng: 631 lux 5. Nhiệt độ: 29,8°C	6. Loại đất: Sa thạch 7. Đá mẹ: 8. Tỷ lệ đá lẫn: 30% 9. Độ dày: 30 - 50 cm 10. pH: 2,86	11. Loài cây: 12. Thảm mục: 3 - 5 cm 13. Độ che phủ: 10%

**Đo đếm cây Tom trong**

Stt	Loài cây	D <sub>gốc</sub> (cm)	H (m)	Lá		Ghi chú
				Rộng (cm)	Dài (cm)	
1	Tom trong	0,20	8	2,4	6,1	
2	Tom trong	0,15	6	2,2	5,7	
3						

**Đo đếm cây gỗ (D<sub>1,3</sub> > 6 cm)**

Stt	Loài cây	D <sub>1,3</sub> (m)	H (m)	D <sub>tán</sub> (m)	Phẩm chất (A,B,C)	Ghi chú
1	Cây	0,10	5	2	B	
2	Cây	0,11	5	2	B	
3	Cà chít	0,07	6	2	B	
4	Dẻ anh	0,14	9	1	B	

**PHIẾU ĐIỀU TRA ÔTC (10 x 10m)**

Số hiệu ô: EH04

Địa điểm, tọa độ: 0786180 - 1481690

Ngày điều tra: 18/11/2016 Người điều tra: Nguyễn Thanh Nguyên, Lưu Thế Trung, Hoàng Thanh Trường, Trần Đăng Hoài.

Độ tàn che: 0,3

Nhân tố địa hình	Đất	Thực bì
1. Vị trí: Chân núi 2. Độ dốc: 0° 3. Độ cao: 325 m 4. Ánh sáng: 1854 lux 5. Nhiệt độ: 32,4°C	6. Loại đất: Sa thạch 7. Đá mẹ: 8. Tỷ lệ đá lẫn: 30% 9. Độ dày: 60 - 80 cm 10. pH: 2,86	11. Loài cây: 12. Thảm mục: 3 - 5 cm 13. Độ che phủ: 20 - 30%

**Đo đếm cây Tom trong**

Stt	Loài cây	D <sub>gốc</sub> (cm)	H (m)	Lá		Ghi chú
				Rộng (cm)	Dài (cm)	
1	Tom trong	0,10	10	2,9	6,6	
2	Tom trong	0,15	6	3,8	7,5	
3						

**Đo đếm cây gỗ (D<sub>1,3</sub> > 6 cm)**

Stt	Loài cây	D <sub>1,3</sub> (m)	H (m)	D <sub>tán</sub> (m)	Phẩm chất (A,B,C)	Ghi chú
1	Dền trắng	0,14	9	4	B	
2	Trâm mốc	0,09	5	2	B	
3	Cây	0,14	5	2	B	
4	Cà chít	0,13	8	4	B	
5	Dầu trà beng	0,22	11	7	B	
6	Trâm voi	0,10	9	5	A	
7	Dền trắng	0,15	8	3	B	
8	Dền trắng	0,80	6	4	A	

**PHIẾU ĐIỀU TRA ÔTC (10 x 10m)**

Số hiệu ô: KP01

Địa điểm, tọa độ: 0894302 - 1446013

Ngày điều tra: 23/11/2016 Người điều tra: Nguyễn Thanh Nguyên, Lưu Thế Trung, Hoàng Thanh Trường, Trần Đăng Hoài.

Độ tàn che: 0,3

Nhân tố địa hình	Đất	Thực bì
1. Vị trí: Sườn núi 2. Độ dốc: 10 <sup>0</sup> 3. Độ cao: 200 m 4. Ánh sáng: 1658 lux 5. Nhiệt độ: 31,2 <sup>0</sup> C	6. Loại đất: Sét pha cát 7. Đá mẹ: 8. Tỷ lệ đá lẫn: 40% 9. Độ dày: 10 - 15 cm 10. pH: 3,56	11. Loài cây: 12. Thảm mục: 2 - 3 cm 13. Độ che phủ: 70 - 80%

**Đo đếm cây Tôm trong**

Stt	Loài cây	D <sub>gốc</sub> (cm)	H (m)	Lá		Ghi chú
				Rộng (cm)	Dài (cm)	
1	Tôm trong	0,10	4	1,5	3,5	
2	Tôm trong	0,12	6	2,1	4,7	
3						

**Đo đếm cây gỗ (D<sub>1,3</sub> > 6 cm)**

Stt	Loài cây	D <sub>1,3</sub> (m)	H (m)	D <sub>tán</sub> (m)	Phẩm chất (A,B,C)	Ghi chú
1	Đỏ ngọn	0,14	12	4	A	
2	Đỏ ngọn	0,21	14	4	A	
3	Thành nạnh	0,10	8	2	C	
4	Thành nạnh	0,13	8	2	C	

5	Gòn gai	0,45	14	5	A	
6	Tráng	0,10	7	3	B	
7	Bằng lǎng	0,57	15	4	A	
8	Ba bét	0,16	12	3	A	
9	Ba bét	0,16	10	2	A	
10	Cò ke	0,10	8	3	C	
11	Cò ke	0,10	7	3	C	
12	Cò ke	0,11	8	3	C	
13	Bình linh	0,20	10	4	A	
14	Đen 3 lá	0,11	7	3	B	
15	Đen 3 lá	0,13	9	4	C	

**PHIẾU ĐIỀU TRA ÔTC (10 x 10m)**

Số hiệu ô: KP02

Địa điểm, tọa độ: 0895674 - 1450746

Ngày điều tra: 23/11/2016 Người điều tra: Nguyễn Thanh Nguyên, Lưu Thế Trung, Hoàng Thanh Trường, Trần Đăng Hoài.

Độ tàn che: 0,4

Nhân tố địa hình	Đất	Thực bì
1. Vị trí: Sườn núi 2. Độ dốc: 15° 3. Độ cao: 213 m 4. Ánh sáng: 1630 lux 5. Nhiệt độ: 32,0°C	6. Loại đất: Sét pha cát 7. Đá mẹ: 8. Tỷ lệ đá lẫn: 40% 9. Độ dày: 15 cm 10. pH: 3,63	11. Loài cây: 12. Thảm mục: 2 - 3 cm 13. Độ che phủ: 60 - 70%

**Đo đếm cây Tôm trong**

Stt	Loài cây	D <sub>gốc</sub> (cm)	H (m)	Lá		Ghi chú
				Rộng (cm)	Dài (cm)	
1	Tôm trong	0,10	10	2,9	6,6	
2	Tôm trong	0,15	6	3,8	7,5	
3						

**Đo đếm cây gỗ (D<sub>1,3</sub> > 6 cm)**

Stt	Loài cây	D <sub>1,3</sub> (m)	H (m)	D <sub>tán</sub> (m)	Phẩm chất (A,B,C)	Ghi chú
1	Cò ke	0,14	7	4	A	
2	Cò ke	0,13	7	2	C	
3	Cò ke	0,10	7	2	C	
4	Gòn gai	0,09	3	1	B	



5	Đỏ ngọn	0,16	10	3	A	
6	Đỏ ngọn	0,16	11	3	A	
7	Bằng lăng	0,13	9	3	A	
8	Bằng lăng	0,07	10	3	B	
9	Bằng lăng	0,16	9	3	B	
10	Đỏ ngọn	0,21	11	3	A	
11	Đỏ ngọn	0,25	12	3	B	
12	Gòn gai	0,57	14	6	A	
13	Ba bét	0,32	13	4	A	
14	Bình linh	0,18	10	4	A	

**Phụ lục 2. Ảnh hưởng của môi trường MS và Knudson C đến sự tái sinh cây Tôm trong sau 6 tuần nuôi cấy.**

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
CC Equal variances assumed	15.000	.001	37.947	18	.000	1.60000	.04216	1.51142	1.68858	
CC Equal variances not assumed			37.947	9.000	.000	1.60000	.04216	1.50462	1.69538	

SC	Equal varian ces assum ed	5.06 3	.037	11.0 00	18	.000	1.1000 0	.10000	.8899 1	1.310 09
	Equal varian ces not assum ed			11.0 00	9.00 0	.000	1.1000 0	.10000	.8737 8	1.326 22
SC L	Equal varian ces assum ed	5.06 3	.037	21.0 00	18	.000	2.1000 0	.10000	1.889 91	2.310 09
	Equal varian ces not assum ed			21.0 00	9.00 0	.000	2.1000 0	.10000	1.873 78	2.326 22

**Phụ lục 3. Ảnh hưởng của BA trong môi trường MS đến sự tái sinh cây  
Tôm trong sau 6 tuần nuôi cấy.**

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
CC C	Between Groups	22.129	5	4.426	211.50 2	.000
	Within Groups	1.130	54	.021		
	Total	23.259	59			
SC	Between Groups	.350	5	.070	.518	.762
	Within Groups	7.300	54	.135		
	Total	7.650	59			
SCL	Between Groups	15.083	5	3.017	17.147	.000
	Within Groups	9.500	54	.176		
	Total	24.583	59			

**Phụ lục 4. Ảnh hưởng của Kinetin trong môi trường MS đến sự tái sinh và sinh trưởng chồi cây Tơm trong sau 6 tuần nuôi cấy.**

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
CC C	Between Groups	14.709	5	2.942	183.019	.000
	Within Groups	.868	54	.016		
	Total	15.577	59			
SC	Between Groups	1.333	5	.267	1.532	.195
	Within Groups	9.400	54	.174		
	Total	10.733	59			
SCL	Between Groups	7.200	5	1.440	7.935	.000
	Within Groups	9.800	54	.181		
	Total	17.000	59			

**Phụ lục 5. Ảnh hưởng của than hoạt tính trong môi trường MS đến đến sự sinh trưởng chồi cây Tôm trong sau 6 tuần nuôi cấy.**

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
								Upper	Lower	
CC Equal variances assumed	.069	.796	.479	18	.638	.03000	.06263	-.10158	.16158	
CC Equal variances not assumed			.479	17.968	.638	.03000	.06263	-.10159	.16159	



**Phụ lục 6. Ảnh hưởng của IBA trong môi trường WPM đến sự tạo rễ *in vitro* cây Tôm trong sau 4 tuần nuôi cấy.**

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
CC C	Between Groups	10.130	3	3.377	135.067	.000
	Within Groups	.800	32	.025		
	Total	10.930	35			
SCL	Between Groups	.000	3	.000	.	.
	Within Groups	.000	32	.000		
	Total	.000	35			
SR	Between Groups	280.750	3	93.583	17.662	.000
	Within Groups	169.556	32	5.299		
	Total	450.306	35			
CD R	Between Groups	6.953	3	2.318	3.290	.033
	Within Groups	22.542	32	.704		
	Total	29.496	35			



**Phụ lục 7. Ảnh hưởng của giá thể đến sự thích nghi và sinh trưởng cây  
Tôm trong *in vitro* chuyển ra ngoài vườn ươm sau 3 tháng nuôi trồng.**

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
CC C	Between Groups	152.08 1	7	21.726	34.408	.000
	Within Groups	37.885	60	.631		
	Total	189.96	67			
		6				
CD R	Between Groups	132.56 9	7	18.938	25.819	.000
	Within Groups	44.010	60	.734		
	Total	176.57	67			
		9				
SCL	Between Groups	16.579	7	2.368	3.941	.001
	Within Groups	36.054	60	.601		
	Total	52.632	67			

**Phụ lục 8. Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng ra rễ của hom cây Tơ trong trong mùa khô.**

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
SL	Between Groups	55,260	3	18,420	5,142	,003
	Within Groups	290,152	81	3,582		
	Total	345,412	84			
D	Between Groups	233,670	3	77,890	24,589	,000
	Within Groups	256,583	81	3,168		
	Total	490,252	84			
SLxD	Between Groups	10277,177	3	3425,726	9,187	,000
	Within Groups	30203,540	81	372,883		
	Total	40480,717	84			

**Phụ lục 9. Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng ra rễ của hom cây Tơ trong trong mùa mưa.**

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
SL	Between Groups	152,892	3	50,964	9,979	,000
	Within Groups	434,119	85	5,107		
	Total	587,011	88			
D	Between Groups	50,573	3	16,858	3,335	,023
	Within Groups	429,686	85	5,055		
	Total	480,260	88			
SLxD	Between Groups	13697,789	3	4565,930	12,597	,000
	Within Groups	30810,047	85	362,471		
	Total	44507,836	88			

**Phụ lục 10. Ảnh hưởng của chế độ tưới nước tới khả năng sinh trưởng và phát triển cây Tom trong sau 90 ngày.**

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Tỉ lệ sống	Between Groups	3055,665	2	1527,832	81,229	,000
	Within Groups	112,854	6	18,809		
	Total	3168,519	8			
CC	Between Groups	56,611	2	28,306	37,868	,000
	Within Groups	4,485	6	,747		
	Total	61,096	8			
DK	Between Groups	,048	2	,024	1,398	,317
	Within Groups	,103	6	,017		
	Total	,151	8			
SC	Between Groups	,005	2	,003	,950	,438
	Within Groups	,017	6	,003		
	Total	,023	8			

SL	Between Groups	2,870	2	1,435	17,541	,003
	Within Groups	,491	6	,082		
	Total	3,361	8			

**Phụ lục 11. Ảnh hưởng của chế độ che sáng tới khả năng sinh trưởng và phát triển cây Tom trong sau 90 ngày.**

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
CC	Between Groups	354.098	3	118.033	66.459	.000
	Within Groups	161.617	91	1.776		
	Total	515.715	94			
DK	Between Groups	.031	3	.010	3.343	.023
	Within Groups	.282	91	.003		
	Total	.313	94			
SC	Between Groups	10.844	3	3.615	2.307	.082
	Within Groups	142.587	91	1.567		
	Total	153.432	94			
SL	Between Groups	2.745	3	.915	1.859	.142
	Within Groups	44.792	91	.492		
	Total	47.537	94			

**Phụ lục 12. Ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng tới khả năng sinh trưởng và phát triển cây Tom trong sau 90 ngày.**

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
CC	Between Groups	4198.236	4	1049.559	6.059	.000
	Within Groups	13856.748	80	173.209		
	Total	18054.984	84			
DK	Between Groups	.035	4	.009	.672	.613
	Within Groups	1.039	80	.013		
	Total	1.074	84			
SC	Between Groups	17.239	4	4.310	3.678	.008
	Within Groups	93.749	80	1.172		
	Total	110.988	84			