

**BỔ SUNG MỘT SỐ DẪN LIỆU VỀ QUẦN THỂ, HÀM LƯỢNG TINH DẦU  
VÀ ĐA DẠNG DI TRUYỀN LOÀI HOÀNG ĐÀN HỮU LIÊN  
*CUPRESSUS TONKINENSIS* Silba TẠI KHU BẢO TỒN THIÊN NHIÊN HỮU  
LIÊN, TỈNH LẠNG SƠN PHỤC VỤ CHO ĐÁNH GIÁ TÌNH TRẠNG BẢO TỒN  
CỦA CHÚNG TẠI VIỆT NAM**

**NGUYỄN TIẾN HIỆP, NGUYỄN QUANG HIẾU**

*Trung tâm Bảo tồn thực vật*

**PHAN KẾ LỘC**

*Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội*

**TRẦN HUY THÁI, PHẠM VĂN THẾ, NGUYỄN SINH KHANG, NGUYỄN TIẾN VINH**

*Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật*

**NGUYỄN MINH TÂM**

*Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam*

Loài Hoàng đàn hữu liên (*Cupressus tonkinensis*) thuộc họ Hoàng đàn (Cupressaceae) là một trong 10 loài Thông ưu tiên cho hoạt động bảo tồn tại Việt Nam [6]. Đây là loài thực vật đặc hữu hẹp, hiếm, được xếp ở mức độ Rất nguy cấp (CR A1a, d - Critically Endangered) trong Sách Đỏ Việt Nam [1], nhóm IA Thực vật rừng cấm khai thác, sử dụng vì mục đích thương mại của Nghị định số 32/2006/NĐ-CP, ngày 30 tháng 3 năm 2006 về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm [3] và được các nhà khoa học đề nghị xếp ở mức đang bị tuyệt chủng trầm trọng ngoài tự nhiên [6]. Ngoài giá trị khoa học, Hoàng đàn hữu liên có giá trị kinh tế đặc biệt. Gỗ có mùi thơm, thớ thẳng, vân đẹp, chịu mối mọt, được dùng để đóng đồ gỗ gia dụng, đặc biệt là đồ mỹ nghệ cao cấp như: tràng hạt đeo cổ, vòng tay, tạc tượng, đồ thờ cúng [7]. Tinh dầu được dùng trong kỹ nghệ hương liệu, chế xà phòng, nước hoa... và còn được dùng trong y học để làm thuốc xoa bóp chữa sưng tấy, ứ huyết, sai khớp, tê thấp, bôi lên các vết thương [4]. Cành và lá dùng chữa nôn, trĩ, bông. Quả chữa cảm mạo, sốt, nhức đầu, đau dạ dày; vỏ thân chữa tiêu chảy, đau bụng. Bột gỗ còn được dùng làm hương quý. Ngoài ra Hoàng đàn hữu liên được trồng làm cây cảnh. Được sự hỗ trợ kinh phí của Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ quốc gia của Việt Nam (Nafosted), từ năm 2010, Trung tâm bảo tồn thực vật thuộc Liên hiệp các Hội Khoa học và Kỹ thuật Việt Nam đã thực hiện đề tài nghiên cứu “Đánh giá tình trạng bảo tồn, nhân giống, bảo tồn và phát triển bền vững hai loài Thông điển hình có nguy cơ bị tuyệt chủng: Thông đỏ bắc (*Taxus chinensis*) và Hoàng đàn hữu liên (*Cupressus tonkinensis*) tại hệ sinh thái núi đá vôi thuộc Khu BTTN Bát Đại Sơn, tỉnh Hà Giang và Khu BTTN Hữu Liên, tỉnh Lạng Sơn có sự tham gia của cộng đồng, mã số 106.11.17.09”. Bài báo này sẽ giới thiệu những kết quả nghiên cứu tổng hợp mới góp phần đánh giá tình trạng bảo tồn loài Hoàng đàn hữu liên tại Việt Nam.

## **I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **1. Địa điểm**

Khu Bảo tồn thiên nhiên (Khu BTTN) Hữu Liên và các vùng lân cận, gồm các xã Hữu Liên, Yên Thịnh huyện Hữu Lũng, xã Vạn Linh huyện Chi Lăng, xã Tri Lễ, Hữu Lễ huyện Văn Quan và xã Trấn Yên huyện Bắc Sơn, tỉnh Lạng Sơn.

### **2. Phương pháp nghiên cứu**

- Nghiên cứu bảo tồn chuyển vị (ex-situ) và bảo tồn nguyên vị (in-situ): Sử dụng phương pháp điều tra trong nhân dân tới các hộ gia đình để điều tra các cây trồng. Đối với mỗi cây trồng

lập lý lịch theo các dẫn liệu : ký hiệu cây theo các mã số: H-HL, H-YT, T- HL, T- YT, T- VL, tên hộ trồng, địa điểm trồng, tọa độ địa lý, đường kính gốc (cm), chiều cao vút ngọn (m), tình hình sinh trưởng, năm trồng. Điều tra theo tuyến đối với cây mọc tự nhiên, thu thập các dẫn liệu về hiện trạng thảm thực vật, địa điểm gặp Hoàng đàn hữu liên và thu các dẫn liệu sinh học, sinh thái của chúng như: tọa độ địa lý, độ cao so với mặt biển (m), chiều cao vút ngọn (Hvn-m), chiều cao dưới cành (Hdc-m), đường kính gốc (cm), tình hình sinh trưởng, tình hình sinh sản... Lập ô tiêu chuẩn định vị với diện tích 500 m<sup>2</sup>, mỗi ô tiêu chuẩn lập 4 ô dạng bản với diện tích 25 m<sup>2</sup>, điều tra về số lượng cũng như các dẫn liệu nói trên của Hoàng đàn hữu liên.

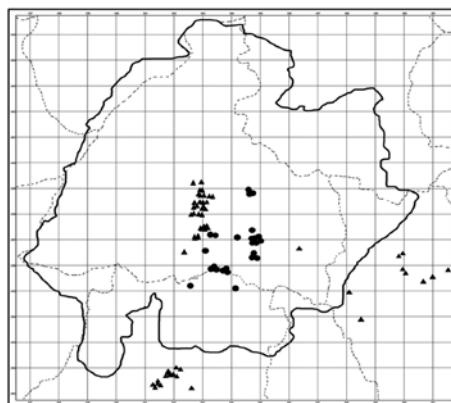
- Nghiên cứu hàm lượng và chất lượng tinh dầu: Thu nguyên liệu lá cành nhỏ thân (cành cấp 2, 3, 4) dùng cho phân tích hàm lượng và chất lượng tinh dầu. Xác định hàm lượng tinh dầu bằng phương pháp chưng cất hồi lưu trong thiết bị Clevenger. Định tính và định lượng các thành phần hóa học của tinh dầu bằng phương pháp sắc ký khí/khối phổ (GC/MS). Tinh dầu được làm khan bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và để trong tủ lạnh ở nhiệt độ <5<sup>0</sup> C; thiết bị: GC - MSD: sắc ký khí HP 6890 ghép nối với Mass Selective Detector Agilent 5973. Cột HP - 5MS có kích thước 0,25 μm x 30 m x 0,25 mm và HP-1 có kích thước 0,25 μm x 30 m x 0,32 mm. Chương trình nhiệt độ với điều kiện 60<sup>0</sup>C/2 phút; tăng nhiệt độ 4<sup>0</sup>/phút cho đến 220<sup>0</sup>C, sau đó lại tăng nhiệt độ 20<sup>0</sup>/phút cho đến 260<sup>0</sup>C. Khí mang Hêli (He) tra thư viện khối phổ: NIST 98.

- Nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể: Thu 30 mẫu lá từ cây trồng và 10 mẫu từ cây mọc hoang dại. DNA được tách chiết theo phương pháp của Doyle và Doyle đã được hiệu chỉnh cho phù hợp với điều kiện Việt Nam. Nồng độ DNA tổng số được xác định trên máy đo quang phổ kế và hoà loãng ở nồng độ 10 ng/μl. Nhân bản DNA được tiến hành trên tổng số 25 μl bao gồm dung dịch đệm 1x PCR, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM dNTPs, 0,5 pmol cho mỗi môi, 0,5 U Tag DNA và 50 ng DNA mẫu. Sử dụng 6 cặp mồi Microsatellite để phân tích. Phản ứng PCR được tiến hành trên máy Gene Amp PCR Systems 3700. Điện di trên gel polyacrylamide 5% với dung dịch đệm 1x TAE và chụp ảnh trên máy CLEARER.

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Nghiên cứu tình trạng bảo tồn tại chỗ (*in-situ*)

Điều tra theo 12 tuyến nhằm vào nơi có thông tin về phân bố của Hoàng đàn hữu liên trong quá khứ cũng như hiện tại, các tuyến đi theo các đông và đường đỉnh núi đá thuộc các xã Hữu Liên (8 tuyến) và Yên Thịnh (4 tuyến). Tổng số chiều dài theo 12 tuyến điều tra khoảng 25 km, hiện trạng thực vật rộng 20 m theo trục tuyến đã được mô tả. Thảm thực vật gặp ở đây là rừng cây lá rộng thường xanh trên núi đá bị tác động mạnh; tầng cây bụi, xen lẫn một số cây gỗ nhỏ, dây leo, trúc nhỏ bị tác động nhiều và khai thác cạn kiệt. Chúng tôi đã lập 15 ô tiêu chuẩn và 60 ô tái sinh theo và ô tái sinh đã tính được trữ lượng gỗ là 0,013545 m<sup>3</sup> (=135,45 cm<sup>3</sup>).



Hình 1: Phân bố Hoàng đàn hữu liên (Khu BTTN Hữu Liên)

▲ Các cây trồng ● Các cây hoang dại

Điều này nói lên trữ lượng sinh khối gỗ của loài Hoàng đàn còn tồn tại ngoài tự nhiên là cực kỳ thấp. Tại các ô tiêu chuẩn không gặp bất kỳ cây con tái sinh nào. Hoàng đàn mọc tự nhiên đã T có 2 cá thể với số locus đa hình chiếm 50% (H\_YT02 và 04) được ghi nhận 27 cây (Hình 1) (trong đó có 2 cây bị chết) trên 9 tuyến điều tra. Đã gặp và xây dựng bản đồ phân bố của 25 cây

còn sống, trong đó trong xã Hữu Liên có 19 cây, Yên Thịnh có 8 cây. Các cây này thường mọc ở địa hình hiểm trở trên đỉnh núi, các vách đá dựng đứng rất khó tiếp cận, tại độ cao từ 300 tới 464 m trên mặt biển. Tất cả các cây mọc tự nhiên có chiều cao vút ngọn và đường kính gốc nhỏ. Trong đó có 2 cây có chiều cao dưới 0,5m; đường kính gốc từ 1-2 cm; 7 cây có chiều cao 0,5 tới 0,7 m với đường kính gốc từ 2-3 cm; 7 cây có chiều cao trên 1 m với đường kính từ 2 tới 5 cm và 9 cây có chiều cao từ 1,5 tới 3,5 m với đường kính từ 3 tới 15 cm. Chiều cao trung bình của các cây mọc tự nhiên là 1 m và đường kính trung bình rất nhỏ chỉ đạt 3,5 cm. Hầu hết chúng phát triển là trung bình và tốt, trong đó có 8 cây sinh có sức sống bình thường và 17 cây sinh trưởng tốt, 2 cây đã bị chết do cháy rừng. Trong số 25 cây mọc hoang còn sót lại có 19 cây không cho nón hạt, chỉ có 6 cây có nón hạt, chiếm tỷ lệ 24%, trong số đó có 4 cây nhiều nón và 1 cây không đánh giá đư ợc. Tuy nhiên chất lượng của hạt không được đánh giá vì không thu được.

Dựa trên vào liệu nêu trên và theo tiêu chí của IUCN 2010, ở cấp Quốc tế và Quốc gia loài Hoàng đàn có thể xếp ở mức Rất nguy cấp có nguy cơ bị tuyệt chủng ngoài tự nhiên trong tương lai gần: CR A2acd, B2ab (i-v), D. Quần thể loài này bị suy giảm tới 80% trong ba thế hệ cuối cùng, kích thước quần thể được ước tính khoảng 50 cá thể trưởng thành, ước tính diện tích phân bố trong nước 204 km<sup>2</sup>, diện tích nơi sống khoảng 8 km<sup>2</sup> [5].

## 2. Nghiên cứu bảo tồn chuyên chỗ (*ex-situ*)

Các cây được trồng tại các hộ gia đình đều có nguồn gốc từ rừng và được trồng trong thời gian từ 1990 tới 2007, trong đó chủ yếu tập trung vào năm 1994. Tại khu vực nghiên cứu thuộc các xã Hữu Liên, Yên Thịnh (huyện Hữu Lũng) và Vạn Linh (huyện Chi Lăng) đã kiểm kê được 82 cây trồng (Hình 1) tại 44 hộ gia đình và Ban Quản lý Khu BTTN Hữu Liên, trong đó có 55 cây tại xã Hữu Liên (35 cây tại 20 hộ gia đình và 20 cây tại Khu BTTN Hữu Liên); 16 cây trồng trong 13 hộ gia đình tại xã Yên Thịnh và 11 cây trong 11 hộ gia đình tại xã Vạn Linh. Tuổi trung bình của các cây trồng là 15 năm. Chiều cao trung bình khoảng 5,5 m và đường kính gốc trung bình là 11 cm. Cây trồng trong các hộ gia đình phần lớn sinh trưởng tốt, một số cây đã chết hoặc đang bị chết dần (3 cây) và 2 cây mọc kém vì nơi trồng không thoát nước. Tình hình sinh sản (ra nón hạt) không đều, cả quần thể có 21 cây cho nón cái (chiếm tỷ lệ khoảng 25%), trong đó có 11 cây nón cái sai (chiếm tỷ lệ 13%) và 10 cây ít nón cái (chiếm tỷ lệ 12%). Các cây cho nón cái hoặc nhiều nón cái đều tập trung vào cây trồng có độ tuổi cao trong thời gian trước năm 1996 (15 năm). Theo Quy phạm kỹ thuật xây dựng rừng giống và vườn giống (QPN 15-93) ban hành kèm theo Quyết định số 804-QĐ/KT ngày 2/11/1993 [2], từ 82 cá thể trong quần thể cây trồng đã tuyển chọn được 4 cây trội đủ tiêu chuẩn sẽ được đề nghị cấp có thẩm quyền cấp chứng chỉ nguồn giống cây trội. Đó là các cây mang lý hiệu: T\_HL 23, T\_HL 27, T\_VL 04 và T\_VL 06 (*H-HL: Cây mọc tự nhiên tại xã Hữu Liên, H-YT: Cây mọc tự nhiên tại xã Yên thịnh, T-HL: Cây trồng tại xã Hữu Liên, T-YT: Cây trồng tại xã Yên Thịnh, T-VL: Cây trồng tại xã Vạn Linh*), chúng đã qui tụ được các tiêu chuẩn chính là cây thấp, khỏe, không bị sâu bệnh, tán lá đều, phân cành nhiều, nón hạt nhiều, dễ thu hái và hạt có khả năng nảy mầm. Trong 2 năm 2010-2011 thực hiện đề tài mã số 106.11.17.09, Trung tâm Bảo tồn thực vật đã trồng thêm được 130 cây mới tại Khu BTTN Hữu Liên. Nguồn cây giống để trồng đều được tạo ra bằng phương pháp giâm hom. Hiện số cây còn sống là 80 cây. Các cây trồng mới sinh trưởng tốt, chiều cao đạt từ 30 tới 160 cm. Như vậy, nếu tính cả 82 cây đã trồng trước đây tại các hộ gia đình và 80 cây trồng mới, tới nay trong địa phận Khu BTTN, tổng số cây được trồng và đang sống đạt tới 162 cây.

## 3. Nghiên cứu hàm lượng và chất lượng tinh dầu Hoàng đàn hữu liên

### 3.1. Hàm lượng tinh dầu

Lá Hoàng đàn hữu liên có hàm lượng tinh dầu (theo nguyên liệu khô không khí) của lá dao động từ 0,10% tới 0,43%, trung bình đạt 0,24%. Hàm lượng tinh dầu theo nguyên liệu khô tuyệt

đôi dao động từ 0,28% tới 0,59%, trung bình đạt 0,44%. Đáng chú ý là hàm lượng tinh dầu trong một mẫu Hoàng đàn hữu liên thu tại thiên nhiên (lá và cành nhỏ thân) cũng đạt hàm lượng theo nguyên liệu khô không khí là 0,28%. Hàm lượng tinh dầu thu được (theo nguyên liệu khô không khí) của cành nhỏ thân dao động từ 0,01 tới 0,16%, trung bình đạt 0,05%. Hàm lượng tinh dầu theo nguyên liệu khô tuyệt đối dao động từ 0,02% tới 0,31%, trung bình đạt 0,15%. Nhiều mẫu tinh dầu được cất từ cành thân nhưng hàm lượng tinh dầu rất thấp (vết). Như vậy có thể nói tinh dầu phân bố ở các bộ phận của cây là khác nhau. Tinh dầu tập trung nhiều ở lá, còn ở cành nhỏ thân lượng tinh dầu có ít hơn. Trong cùng loài nhưng sự tích lũy tinh dầu ở các bộ phận của cây ở các cá thể khác nhau cũng có sự khác nhau.

Tinh dầu Hoàng đàn hữu liên ở lá và cành nhỏ thân là chất lỏng nhẹ hơn nước, màu vàng chanh. Tỷ trọng của tinh dầu lá là  $d^{25} = 0.9121$ , chỉ số chiết quang là  $n_d^{25} = 1.4800$ , góc quay cực là  $\alpha_D^{20} = + 5^{\circ}20'$ . Tỷ trọng của tinh dầu cành thân là  $d^{25} = 0.9122$ , chỉ số chiết quang là  $n_d^{25} = 1.4801$ , góc quay cực là  $\alpha_D^{20} = + 5^{\circ}21'$ . Như vậy sự sai khác giữa tỷ trọng và chỉ số chiết quang của tinh dầu giữa lá và cành thân là không đáng kể.

### 3.2. Chất lượng tinh dầu

Phân tích các mẫu cho thấy thành phần hóa học của tinh dầu từ lá có 40 hợp chất. Các thành phần chính của tinh dầu là các hợp chất như  $\alpha$ -pinen, sabinen, terpinen-4-ol và  $\gamma$ -terpinen. Tuy nhiên sự biến động thành phần chính của các hợp chất cũng có sự sai khác nhất định ở các mẫu. Trong thành phần chính gồm các hợp chất sau:  $\alpha$ -pinen (20,10%, dao động từ 7,5% đến 32,75%); sabinen (18,68%, dao động từ 18,23% đến 40,50%); terpinen-4-ol (13,53%, dao động từ 8,30% đến 25,02%);  $\gamma$ -terpinen (4,77%, dao động từ 3,52% đến 7,67%) và myrcen (4,30%, dao động từ 3,10% đến 6,12%). Thành phần hóa học của tinh dầu từ cành nhỏ thân cũng có 40 hợp chất. Trong đó thành phần chính gồm các hợp chất như  $\alpha$ -pinen, cedrol và cis- thujopsen. Tuy nhiên sự sai khác ít nhiều về thành phần chính của các hợp chất trên ở các mẫu khác nhau. Thành phần chính tinh dầu là các hợp chất sau:  $\alpha$ -pinen (28,14%, dao động từ 5,23% đến 41,28%); cedrol (22,56%, dao động từ 12,66% đến 38,10%); cis- thujopsen (5,46%, dao động từ 0,53% đến 14,80%).

Như vậy chúng ta có thể thấy thành phần hóa học của những hợp chất chính có trong tinh dầu lá và cành nhỏ thân của Hoàng đàn hữu liên khá giống nhau. Tuy nhiên hàm lượng của những thành phần chính trong mỗi loại nguyên liệu khác nhau khá nhiều. Thành phần chính tinh dầu của lá là các hợp chất sau:  $\alpha$ -pinen (20,10%), sabinen (18,68%), terpinen-4-ol (13,53%),  $\gamma$ -terpinen (4,77%) và myrcen (4,30%), còn của cành nhỏ thân là các hợp chất sau:  $\alpha$ -pinen (28,14%), cedrol (22,56%), cis- thujopsen (5,46%).

### 4. Nghiên cứu đa dạng di truyền

Hệ số đa dạng di truyền được tính trên cơ sở khác nhau giữa các cá thể trong nhóm (Hs) hoặc giữa các cá thể trong tất cả các nhóm (Ht) và hệ số gen dị hợp tử quan sát (Ho). Giá trị trung bình của Ho là 0,407, dao động từ 0,02 tại locus pt30204 đến 1,0 tại locus P5. Tương tự, giá trị Hs trung bình 0,269, dao động từ 0,021 đến 0,5 tương ứng với 2 locus pt30204 và P5. Giá trị Ht trung bình 0,354, dao động từ 0,02 tại locus pt30204 đến 0,63 tại locus pt110048. Mức độ khác nhau về di truyền giữa các nhóm cá thể (Gst) có giá trị trung bình 0,239, dao động từ - 0,026 (pt30204) đến 0,477 (pt110048).

Trên cơ sở dẫn liệu về genotype, mối quan hệ di truyền 40 cá thể của 5 nhóm nghiên cứu cũng được xây dựng lại trên cơ sở sử dụng phần mềm Winboot. Dẫn liệu chỉ ra các cá thể của 5 nhóm nghiên cứu hình thành 2 nhánh. Nhánh một gồm các cá thể thuộc nhóm T\_YT, H\_HL và H\_YT. Nhánh 2 gồm 2 nhóm còn lại T\_VL và T\_HL. Tuy nhiên, trong mỗi nhánh, một số cá thể trong mỗi nhóm có quan hệ mật thiết với nhau về mặt di truyền. Chẳng hạn, H\_HL09 và H\_HL07 với bootstrap 87%, T\_YT03 và 04 (bootstrap 93%). Phần lớn các cá thể H\_HL có quan hệ gần gũi với nhau (bootstrap > 50%). Ba cá thể T\_HL05-07 với bootstrap 100%. Kết quả này chỉ ra khả năng tương đồng di truyền ở các nhóm này là rất lớn.

Các kết quả nghiên cứu trên đã chỉ ra mức độ đa dạng di truyền của các nhóm cá thể là cao. Kết quả dẫn liệu về sinh sản cận loài cũng phản ánh điều này. Trên quan điểm bảo tồn, loài Hoàng đàn hữu liên hiện chỉ còn tồn tại với số lượng rất nhỏ (bao gồm cả trong rừng và vườn trồng). Hơn nữa, số cá thể trên phân bố tản mạn thành 5 nhóm, mỗi nhóm trên chục cá thể. Điều này rất khó đảm bảo tính đa dạng di truyền cao ở các thế hệ tiếp theo, bởi vì sinh sản cận loài chắc chắn sẽ xảy ra và làm tăng khả năng tuyệt chủng của loài này. Để bảo tồn cần phải khắc phục tình trạng này. Để phục vụ công tác bảo tồn, chúng tôi cũng đã xác định được một số cá thể có tỉ lệ phần trăm locus đa hình cao. Ở các nhóm cây trồng T\_YT, cá thể số T\_YT05 có số locus đa hình cao nhất 67% (4/6) và 5 cá thể T\_YT02-04, 06 và 09 có số locus đa hình chiếm 50% (3/6), T\_YT có 2 cá thể với số locus đa hình chiếm 50% (T\_YT08 và 09) và T\_VL chỉ có 1 cá thể với số locus đa hình chiếm 50% (T\_VL02). Trong khi đó, ở nhóm hoang dại, H\_HL có 2 cá thể duy trì số locus đa hình chiếm 67% (H\_HL07 và 09), H\_YT có 2 cá thể với số locus đa hình chiếm 50% (H\_YT02 và 04).

### III. KẾT LUẬN

Đã ghi nhận 25 cây Hoàng đàn hữu liên còn tồn tại ở ngoài tự nhiên thuộc địa phận các xã Hữu Liên, Yên Thịnh, huyện Hữu Lũng, tỉnh Lạng Sơn. Tình hình sinh trưởng, phát triển ở mức độ trung bình và tốt. Khả năng cho nón hạt kém, không gặp cây tái sinh mới. Tình trạng bảo tồn ở cấp quốc tế và quốc gia được đề nghị xếp rất nguy cấp có nguy cơ bị tuyệt chủng ngoài tự nhiên trong tương lai gần: CR A2acd, B2ab (i-v), D.

Điều tra đánh giá 82 cây tổng trong 44 hộ gia đình tại xã Hữu Liên, Yên Thịnh (huyện Hữu Lũng), Vạn Linh (huyện Chi Lăng) và Ban Quản lý Rừng đặc dụng Hữu Liên. Cây trồng sinh trưởng và phát triển bình thường, các cây cho nón hạt chiếm tỷ lệ khoảng 25%. Lựa chọn được 4 cây trội đề nghị cấp chứng chỉ.

Hàm lượng tinh dầu của lá theo nguyên liệu khô không khí trung bình đạt 0,24% (dao động từ 0,10% đến 0,43%). Hàm lượng tinh dầu theo nguyên liệu khô tuyệt đối trung bình đạt 0,44% (dao động từ 0,28% đến 0,59%). Hàm lượng tinh dầu của cành nhỏ thân theo nguyên liệu khô không khí trung bình đạt 0,05% (dao động từ 0,01 đến 0,16%). Hàm lượng tinh dầu theo nguyên liệu khô tuyệt đối trung bình đạt 0,15% (dao động từ 0,02% đến 0,31%). Xác định được 40 hợp chất trong tinh dầu của lá và cành nhỏ thân Hoàng đàn hữu liên. Thành phần chính là các hợp chất từ lá là:  $\alpha$ -pinen (20,10%, dao động từ 7,5% đến 32,75%), sabinen (18,68%, dao động từ 18,23% đến 40,50%), terpinen-4-ol (13,53%, dao động từ 8,30% đến 25,02%),  $\gamma$ -terpinen (4,77%, dao động từ 3,52% đến 7,67%) và myrcen (4,30%, dao động từ 3,10% đến 6,12%); từ cành nhỏ thân là:  $\alpha$ -pinen (28,14%, dao động từ 5,23% đến 41,28%), cedrol (22,56%, dao động từ 12,66% đến 38,10%), cis-thujopsen (5,46%, dao động từ 0,53% đến 14,80%).

Đa dạng di truyền giữa các nhóm nghiên cứu là cao  $H > 0,2$ , cao nhất thuộc nhóm cá thể mọc tự nhiên ở Hữu Liên H-HL ( $H = 0,314$ ) và mối quan hệ cận noãn giữa các cá thể trong mỗi nhóm là rất yếu (Fis dao động từ  $-0,8$  đến  $-0,3$ ). Cấu trúc hình cây dựa vào khoảng cách di truyền giữa các nhóm nghiên cứu đã hình thành 2 nhánh, nhánh 1 gồm 2 nhóm cây trồng ở Yên Thịnh (T-YT) và ở Hữu Liên (T-HL) liên quan đến hệ số gen di hợp tử và số locus đa hình cao hơn so với nhánh còn lại. Nhánh 2 gồm 3 nhóm cá thể, trong đó 2 nhóm cây hoang dại ở Hữu Liên (H-HL) và ở Yên Thịnh (H-YT) kết hợp với nhau và hình thành nhánh phụ và tách ra khỏi nhóm cây trồng ở Vạn Linh (T-VL). Trên cơ sở số locus đa hình đã chỉ ra, chúng tôi đã đưa ra 2 cá thể hoang dại ở Hữu Liên (H-HL07 và 09) và 1 cây trồng ở Yên Thịnh (T-YT05) có thể xem như là cây trội ở khu vực nghiên cứu.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ KH&CN, Viện KHCNVN, 2007: Sách Đỏ Việt Nam, phần II - Thực vật. NXB. KHTN&CN, Hà Nội, tr. 499-501.
2. Bộ NN&PTNT, 1993: Qui phạm kỹ thuật xây dựng rừng giống và vườn cây giống (QPN 15-93) ban hành kèm theo Quyết định số 804-QĐ/KT ngày 2/11/1993.
3. Chính phủ nước CHXHCN Việt Nam, 2006: Nghị định số 32/2006/NĐ-CP Về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm.
4. Lê Đình Mũi, 2002: Tài nguyên thực vật có tinh dầu ở Việt Nam, tập 2. NXB. Nông nghiệp, tr. 126-129.
5. Little D.P., P. Thomas, H.T. Nguyen, L.K. Phan, 2011: *Brittonia* 63(2): 171-196.
6. Nguyễn Tiến Hiệp, Phan Kế Lộc, Nguyễn Đức Tố Lưu, P.I. Thomas, A. Farjon, L. Averyanov, J. Regalado Jr., 2004: Thông Việt Nam: Nghiên cứu hiện trạng và bảo tồn. Fauna & Flora International - Chương trình Việt Nam, Hà Nội, tr. 55-56.
7. Triệu Văn Hùng, 2007: Lâm sản ngoài gỗ Việt Nam. NXB. Bản đồ, tr. 661-665.

*Lời cảm ơn:* Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia của Việt Nam (NAFOSTED) đã tài trợ kinh phí để thực hiện đề tài, mã số 106.11.17.09. Chúng tôi cũng bày tỏ lời cảm ơn Chi cục Phát triển Lâm nghiệp, Sở Khoa học- Công nghệ tỉnh Lạng Sơn đã cung cấp một phần kinh phí để nghiên cứu; Ban Quản lý Khu BTTN Hữu Liên, Ủy ban nhân dân các xã Hữu Liên, Yên Thịnh huyện Hữu Lũng; Vạn Linh huyện Chi Lăng; Tri Lễ huyện Văn Quan; Trấn Yên huyện Bắc Sơn và các hộ gia đình trồng Hoàng đàn đã giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi trong quá trình thực hiện đề tài

### ADDITIONAL DATA ON THE POPULATION, CONTENT OF ESSENTIAL OIL AND GENETIC DIVERSITY OF *CUPRESSUS TONKINENSIS* Silba IN HUU LIEN NATURE RESERVE, HUU LUNG DISTRICT, LANG SON PROVINCE SERVING FOR ASSESSMENT OF ITS CONSERVATION STATUS IN VIETNAM

NGUYEN TIEN HIEP, NGUYEN QUANG HIEU, PHAN KE LOC, TRAN HUY THAI, PHAM VAN THE, NGUYEN SINH KHANG, NGUYEN TIEN VINH, NGUYEN MINH TAM

### SUMMARY

In Huu Lien Nature Reserve, there are 25 mature individuals comprising *Cupressus tonkinensis*'s native population. The production of seed- cones could reach the value of 24%. In cultivated population, there are 162 individuals, including 82 of mature plants, producing of

seed- cones with the value of 25%. Global and national conservation status proposed is Critically Endangered - CR A2acd, B2ab (i-v), D.

The yield of essential oil from the air-dried leaves was 0.24% (0.10% - 0.43%), absolute-dried was 0.44% (0.28% - 0.59%) and from the air-dried small branches was 0.05% (0.01% - 0.16%).), absolute-dried was 0.15% (0.02% - 0.31%). By using GC/MS analysis, 40 constituents have been identified from the leaves and the small branches. The main constituents of essential oil from the leaves were: 20.10% of  $\alpha$ -pinen (7.5% - 32.75%), 18.68% of sabinen (18.23% - 40.50%), 13,53% of terpinen4-ol (8.30% - 25.02%), 4,77% of  $\gamma$ -terpinen (3,52% - 7,67%) and 4,30% of myrcen (3.10% - 6.12%) and from the small branches were: 28,14% of  $\alpha$ -pinen (5.23% - 41.28%), 22.56% of cedrol (12.66% - 38.10%), 5,46% of cis- thujopsen (0.53% - 14.80%).

Analysing 40 individuals indicated that genetic diversity was high at group and species levels in relation to low inbreeding among individuals in each group and the species. The cluster analysis indicated all analysed individuals form two clusters. All individuals had closely relationships in each group with high genetic identities. Our results also determine some individuals with high polymorphic loci used for ex situ conservation activities in Huu Lien.