

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN HÙNG MẠNH

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC, SINH THÁI
VÀ DI TRUYỀN NHẪM BẢO TỒN, PHÁT TRIỂN PHÂN
LOÀI VÂN SAM FANSIPAN (*ABIES DELAVAYI* SUBSP.
FANSIPANENSIS (Q.P. XIANG, L. K. FU & NAN LI)
RUSHFORTH) TẠI VƯỜN QUỐC GIA HOÀNG LIÊN**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH THÁI HỌC

Hà Nội – 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

NGUYỄN HÙNG MẠNH

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC, SINH THÁI VÀ DI
TRUYỀN NHẪM BẢO TỒN, PHÁT TRIỂN PHÂN LOẠI
VÂN SAM FANSIPAN (*ABIES DELAVAYI* SUBSP.
FANSIPANENSIS (Q. P. XIANG, L. K. FU & NAN LI)
RUSHFORTH) TẠI VƯỜN QUỐC GIA HOÀNG LIÊN**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH THÁI HỌC

Mã số: 9.42.01.20

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. PGS.TS. Nguyễn Văn Sinh
2. TS. Nguyễn Thị Phương Trang

Hà Nội – 2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: "Nghiên cứu đặc điểm sinh học, sinh thái và di truyền nhằm bảo tồn phát triển phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang, L. K. Fu & Nan Li) Rushforth) tại Vườn quốc gia Hoàng Liên" là công trình nghiên cứu của chính tác giả dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS.TS Nguyễn Văn Sinh và TS. Nguyễn Thị Phương Trang. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày 26 tháng 10 năm 2023

Nghiên cứu sinh



Nguyễn Hùng Mạnh

LỜI CẢM ƠN

Luận án đã được hoàn thành tại Khoa Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Tôi xin được gửi lời cảm ơn chân thành tới Ban Lãnh đạo Học viện và các thầy cô đã tận tình chỉ dạy và giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc đến PGS. TS. Nguyễn Văn Sinh và TS. Nguyễn Thị Phương Trang đã nhiệt tình trao đổi và định hướng, động viên khích lệ, dành nhiều thời gian hướng dẫn tôi trong quá trình nghiên cứu và thực hiện luận án.

Bên cạnh đó, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới: GS. TSKH. Trần Đình Lý; GS.TS. Nông Văn Hải; PGS.TS. Lưu Đàm Cư; GS.TS. Lê Đình Mỗi; PGS.TS. Phạm Văn Lực; PGS.TS. Đặng Xuân Phong; GS.TS. Trần Thế Bách; PGS.TS. Ninh Khắc Bản; PGS.TS. Trần Huy Thái; PGS.TS. Nguyễn Văn Dư; PGS.TS. Trần Minh Hợi; TS. Nguyễn Thị Phương Chi; TS. Trần Đình Đại; TS. Hà Văn Tuế; TS. Đỗ Hữu Thư; TS. Đỗ Văn Hải; TS. Nguyễn Thị Thanh Hương; TS. Nguyễn Thị Phương Anh; TS. Đỗ Thị Xuyên; TS. Trần Văn Hải; TS. Nguyễn Minh Tâm; TS. Huỳnh Thị Thu Huệ; TS. Đỗ Văn Trường; TS. Trần Anh Tuấn; ThS. Nguyễn Thị Hồng Mai; ThS. Trịnh Xuân Thành... những người đã luôn giúp đỡ, chia sẻ những kinh nghiệm quý báu, động viên kịp thời để tôi hoàn thành luận án này.

Qua đây, tôi cũng xin được trân trọng cảm ơn tới Ban Lãnh đạo Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật đã tạo điều kiện về cơ sở vật chất, thời gian, trang thiết bị phục vụ cho việc nghiên cứu và thực hiện luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn Trường phòng và các anh chị em đồng nghiệp Phòng Sinh thái thực vật, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật đã quan tâm, động viên khích lệ kịp thời, tạo mọi điều kiện thuận lợi, hỗ trợ một phần kinh phí và thời gian quý báu để giúp tôi hoàn thành luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Giám đốc VQG Hoàng Liên –ThS Nguyễn Hữu Hạnh và các cán bộ Phòng Khoa học của vườn đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi để tôi thực hiện các thí nghiệm, nghiên cứu tại vườn.

Để hoàn thành được chương trình đào tạo nghiên cứu sinh tôi đã luôn nhận được sự động viên, khích lệ và cổ vũ từ gia đình, bạn bè và đồng nghiệp. Tôi xin tỏ lòng biết ơn với mọi người tại đây.

Xin chân thành cảm ơn!

Nghiên cứu sinh

Nguyễn Hùng Mạnh

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT	vi
DANH MỤC CÁC BẢNG	ix
DANH MỤC HÌNH	x
MỞ ĐẦU	1
1. Tính cấp thiết của đề tài luận án	1
2. Mục tiêu nghiên cứu	2
2.1. Mục tiêu chung:	2
2.2. Mục tiêu cụ thể:	2
3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn	3
4. Điểm mới của luận án	3
5. Cấu trúc luận án	4
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU	5
1.1. Tổng quan về nghiên cứu chi Vân sam (<i>Abies</i> P. Miller), loài <i>Abies delavayi</i> , phân loài Vân sam fansipan (<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i> (Q. P. Xiang, L. K. Fu & Nan Li) Rushforth)	5
1.1.1. Về chi Vân sam (<i>Abies</i>)	5
1.1.2. Về loài Vân sam (<i>Abies delavayi</i> Franch.)	6
1.1.3. Phân loài Vân sam fansipan (Sam lạnh)	6
1.2. Nghiên cứu về đặc điểm tái sinh	7
1.2.1. Khái niệm và định nghĩa tái sinh rừng	7
1.2.2. Phương pháp nghiên cứu tái sinh	8
1.2.3. Các nghiên cứu về tái sinh rừng (quá trình diễn thế)	9
1.3. Nghiên cứu về đặc điểm di truyền	12
1.3.2. Ứng dụng kỹ thuật phân tử ở Việt Nam trong nghiên cứu di truyền	15
1.3.3. Tổng quan hệ gen sử dụng trong nghiên cứu phân loại ở thực vật	17

1.4. Thử nghiệm bảo tồn	20
1.4.1. Bảo tồn và phát triển nguồn gen cây rừng nói chung	20
1.4.2. Nghiên cứu nhân giống, trồng một số loài cây lá kim	23
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	28
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	28
2.2. Địa điểm nghiên cứu	28
2.3. Nội dung nghiên cứu	29
2.4. Phương pháp nghiên cứu.....	29
2.4.1. Phương pháp nghiên cứu tổng quan tài liệu.....	29
2.4.2. Phương pháp nghiên cứu thực địa.....	29
2.4.3. Phương pháp phân tích số liệu về sinh học, sinh thái	31
2.4.4. Phương pháp thu mẫu phục vụ cho nghiên cứu di truyền	34
2.4.5. Phân tích ADN	34
2.4.6. Kỹ thuật gieo hạt.....	36
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	40
3.1. Kết quả nghiên cứu về một số đặc điểm sinh học của phân loài Vân sam fansipan tại VQG Hoàng Liên.....	40
3.1.1. Đặc điểm hình thái phân loài Vân sam fansipan.....	40
3.1.2. Kết quả nghiên cứu về đặc điểm ra chồi, ra nón của phân loài Vân sam fansipan	44
3.2. Kết quả nghiên cứu về đặc điểm sinh thái của phân loài Vân sam fansipan	48
3.2.1. Đặc điểm địa hình khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan	48
3.2.2. Đặc điểm thổ nhưỡng tại khu vực phân bố tự nhiên của phân loài VSF 51	
3.2.3. Đặc điểm về cường độ của ánh sáng tại khu vực phân bố tự nhiên của VSF	60
3.2.4. Đặc điểm nhiệt độ không khí tại khu vực nghiên cứu	62
3.2.5. Đặc điểm độ ẩm không khí tại khu vực nghiên cứu	64

3.3. Đặc điểm cấu trúc thảm thực vật khu vực phân bố tự nhiên và đặc điểm tái sinh tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan.....	67
3.3.1. Đặc điểm cấu trúc thảm thực vật khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan	67
3.3.2. Đặc điểm tái sinh tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan	80
3.4. Kết quả nghiên cứu đặc điểm di truyền của phân loài Vân sam fansipan	85
3.5. Kết quả nghiên cứu kỹ thuật giâm hom, cách thức bảo quản hạt giống và trồng thử nghiệm cây con ra môi trường tự nhiên	90
3.5.1. Kết quả nghiên cứu kỹ thuật nhân giống bằng hom	90
3.5.2. Kết quả nghiên cứu cách thức bảo quản hạt giống Vân sam fansipan ...	94
3.5.3. Thử nghiệm trồng cây con Vân sam fansipan ra môi trường tự nhiên từ phương pháp gieo hạt (cây con Vân sam fansipan từ vườn 1 năm tuổi)	97
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	104
1. KẾT LUẬN.....	104
2. KIẾN NGHỊ	106
ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN	107
DANH SÁCH CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA NGHIÊN CỨU SINH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	108
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	109
PHỤ LỤC 01	p-1-
PHỤ LỤC 02.....	p-11-

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT

ADN	Acid deoxyribonucleic (vật chất di truyền)
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Đa hình chiều dài đoạn khuếch đại)
ATP	Adenosin Triphosphat (phân tử mang năng lượng ATP)
CT	Công thức
D1.3	Đường kính ở vị trí 1,3 mét của thân cây tính từ gốc, đơn vị (cm)
GPS	The Global Positioning System (Hệ thống định vị toàn cầu)
Hc	Chiều dài chồi cành, đơn vị (cm)
Hcn	Chiều dài chồi ngọn, đơn vị (cm)
Hdc	Chiều cao dưới cành của thân cây, đơn vị (m)
Hvn	Chiều cao vút ngọn của thân cây, đơn vị (m)
HST	Hệ sinh thái
IBA	Indole-3-butyric acid (chất điều hòa sinh trưởng, kích thích ra rễ)
NAA	Naphthalene acetic acid (chất điều hòa sinh trưởng, kích thích ra rễ)
IAA	Indole – 3 – acetic acid (chất điều hòa sinh trưởng, kích thích ra rễ)
ABT	Abamectin bacillus thuringiensis (chất điều hòa sinh trưởng, kích thích ra rễ)
CSDL	Cơ sở dữ liệu
EMBL	European Molecular Biology Laboratory (cơ sở dữ liệu của Châu Âu về trình tự nucleotide)
FRIM	Forest Research Institute Malaysia (Viện nghiên cứu lâm nghiệp Malaysia)
IUCN	International Union for Conservation of Nature (Hiệp hội bảo tồn thiên nhiên quốc tế)
IFS	International Foundation for Science (quỹ khoa học quốc tế)

IUFRO	International Union of Forest Research Orgnaizations Liên đoàn các tổ chức nghiên cứu lâm nghiệp Quốc tế)
IPGRI	International Plant Genetic Resources Institute (Viện Tài nguyên di truyền thực vật quốc tế)
IVI	Importance Value Index (Chỉ số quan trọng, đơn vị %)
ITS	Internal Transcribed Spacer (vùng đệm trong được sao mã)
ITTO	International Tropical Timber Organization (Tổ chức gỗ nhiệt đới Quốc tế)
KVNC	Khu vực nghiên cứu
LC	Least concern (ít lo ngại)
LK	Cây lá kim
LR	Cây lá rộng
$N_{cn}/D_{1.3}$	Tương quan giữa sự ra chồi và cấp đường kính ở vị trí 1.3 mét
$N_{nón}/D_{1.3}$	Tương quan giữa sự ra nón và cấp đường kính ở vị trí 1.3 mét
NT	Near threatened (gần đe dọa)
ODB	Ô dạng bản
OTC	Ô tiêu chuẩn
P-Value	Significance level (mức ý nghĩa)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Đa hình độ dài đoạn giới hạn)
SOC	Hàm lượng cacbon hữu cơ trong đất
SSR	Simple Sequence Repeats (Lặp lại trình tự Nucleotide đơn giản)
TCVN	Tiêu chuẩn Việt Nam
T ⁰ C	Nhiệt độ không khí (°C)
TTG1	Ký hiệu của công thức thí nghiệm sử dụng chất điều hòa sinh trưởng IBA dạng bột nồng độ 1%.
TB	Giá trị trung bình

TN	Thí nghiệm
TSTN	Tái sinh tự nhiên
TTV	Thảm thực vật
VSF	Vân sam fansipan
VQG	Vườn quốc gia
VU	Vulnerable (Sẽ nguy cấp)
EN	Endangered (Nguy cấp)
EW	Extinct in the wild (Tuyệt chủng ngoài thiên nhiên)
UNESCO	United Nations Educational Scientific and Cultural Organization (Tổ chức Giáo dục, Khoa học và Văn hóa của Liên hiệp quốc)
cpDNA	Chloroplast DNA (Chuỗi gen lục lạp DNA)
RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA (Khuếch đại ngẫu nhiên các đoạn DNA đa hình)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Phản ứng chuỗi Polymerase)
CR	Critically Endangered (Rất nguy cấp)
WCMC	World Conservation Monitoring Centre (Trung tâm giám sát bảo tồn thế giới)
Wkk (%)	Độ ẩm không khí
Δh_{tb}	Tăng trưởng trung bình chiều cao năm, đơn vị (cm)

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 2. 1 Danh sách các chỉ tiêu và phương pháp phân tích đất tại KVNC	33
Bảng 2.2 Thông tin về các cặp mồi dùng trong phản ứng khuếch đại PCR	36
Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu điều kiện địa hình khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên	50
Bảng 3.2. Đặc điểm một số tính chất lý học, hóa học trong đất tầng A tại KVNC ..	54
Bảng 3. 3. Cường độ ánh sáng tại khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên	60
Bảng 3.4. Kết quả tổng hợp đặc điểm nhiệt độ không khí tại khu vực nghiên cứu. .	62
Bảng 3.5. Kết quả nghiên cứu đặc điểm độ ẩm không khí tại khu vực nghiên cứu .	64
Bảng 3.6. Kết quả phân tích thống kê về Wkk (%) tại khu vực nghiên cứu.....	66
Bảng 3.7. Danh sách các loài thực vật tầng ưu thế sinh thái của TTV hỗn giao cây lá rộng lá kim tại khu vực nghiên cứu ở độ cao 2.600 – 2.700 m.....	69
Bảng 3.8. Danh sách các loài thực vật tầng ưu thế sinh thái của TTV ưu thế Vân sam fansipan (ưu thế cây lá kim) ở độ cao 2.700 – 2.950 m	73
Bảng 3.9. Kết quả tổng hợp các chỉ số của các loài thực vật tầng ưu thế của cả 2 kiểu TTV tại KVNC	75
Bảng 3.10. Bảng tổng hợp các loài thực vật quan trọng tại khu vực Vân sam fansipan phân bố tự nhiên	78
Bảng 3.11. Phân bố cây Vân sam fansipan theo cấp đường kính (D1.3, cm).....	79
Bảng 3.12. Tỷ lệ nảy mầm của hạt Vân sam fansipan theo các công thức nghiệm..	95
Bảng 3.13. Bảng tính kết quả thống kê các kết quả theo dõi	101
Bảng 3.14 . Kiểm tra sự sai khác giữa sự sinh trưởng của cây con VSF trồng theo CT1 và CT2	102
Bảng 3.15. Kiểm tra sự sai khác giữa sự sinh trưởng của cây con VSF trồng theo CT1 và CT3	102
Bảng 3.16. Kiểm tra sự sai khác giữa sự sinh trưởng của cây con Vân sam fansipan tại CT 1,2,3 và lô đối chứng.....	103

DANH MỤC HÌNH

Hình 1. 1 Sơ đồ hiện trạng phân bố của các loài trong chi <i>Abies</i> trên toàn cầu.....	5
Hình 1. 2 Cấu trúc của hệ gen lục lạp	18
Hình 2. 1 Cây Vân sam fansipan đang có nón (Nguồn: Hà Văn Tuế, 2003).....	28
Hình 2. 2 Khu vực nghiên cứu	28
Hình 2. 3 Sơ đồ địa điểm bố trí thí nghiệm.....	37
Hình 2.4. Sơ đồ thiết kế thí nghiệm với IBA	38
Hình 3.1 Cảnh mang nón cái Vân sam fansipan	41
Hình 3.2 đo kích thước lá non Vân sam fansipan	41
Hình 3.3 Chồi non Vân sam fansipan	41
Hình 3.4 Thân Vân sam fansipan	42
Hình 3.5 Vỏ Vân sam fansipan	42
Hình 3.6 Mặt sau lá non Vân sam fansipan	43
Hình 3.7 a, b lần lượt cây Vân sam fansipan ở độ cao 2.636 và 2.937 m.....	43
Hình 3.8 Vẩy mang hạt Vân sam fansipan.....	43
Hình 3.9 a, b lần lượt là cuống Vân sam fansipan và nón Thông 2 lá dẹt	44
Hình 3.10 Tương quan giữa sinh trưởng chồi ngọn (H_{cn} , cm) và cấp đường kính ($D_{1.3}$ cm) của quần thể Vân sam fansipan ở độ cao 2.600 - 2.700 m.	45
Hình 3.11 Tương quan giữa sự ra nón ($N_{\text{nón}}$) và đường kính ở vị trí 1,3m ($D_{1,3}$,cm) của quần thể Vân sam fansipan tại TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim ở độ cao 2.600 – 2.700 m.....	46
Hình 3.12 Tương quan sự ra chồi ngọn và đường kính ($H_{cn}/D_{1.3}$) của quần thể Vân sam fansipan ở độ cao 2.700 – 2.950 m.....	47
Hình 3.13 Tương quan sự ra nón và cấp đường kính ($N_{\text{nón}}/D_{1.3}$) của quần thể Vân sam fansipan ở độ cao 2.700 – 2.950 m.....	47
Hình 3.14 Nón Vân sam fansipan (<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>)	48
Hình 3.15 Khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan.....	49
Hình 3.16 Khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan.....	50
Hình 3.17 Phần diện đất ở độ cao 2.601m	52

Hình 3.18	Phẫu diện đất ở độ cao 2.937m	53
Hình 3.19	TTV ưu thế Vân sam fansipan (2.850 m)	53
Hình 3.20	TTV hỗn giao lá rộng lá kim (2.616 m).....	54
Hình 3.21	Hàm lượng kali, ni tơ dễ tiêu tại khu vực nghiên cứu.....	55
Hình 3.22	Hàm lượng photpho dễ tiêu tại khu vực nghiên cứu.....	56
Hình 3.23	Hàm lượng photpho dễ tiêu tại khu vực nghiên cứu.....	57
Hình 3.24	Độ pH (KCl) tại khu vực nghiên cứu.....	57
Hình 3.25	Hàm lượng mùn trong đất tầng A tại khu vực NC.....	58
Hình 3.26	Hàm lượng, Fe^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} tại khu vực nghiên cứu	59
Hình 3.27.	Cường độ ánh sáng tương đối ở tại khu vực nghiên cứu	62
Hình 3.28	Nhiệt độ không khí tại khu vực nghiên cứu	64
Hình 3.29	Độ ẩm không khí tại khu vực nghiên cứu	66
Hình 3.30	TTV rừng hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim ở độ cao 2.625m	71
Hình 3.31	TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim ở độ cao 2.650 m.....	71
Hình 3.32	TTV ưu thế cây lá kim (Vân sam fansipan) á nhiệt đới.....	72
Hình 3.33	Đặc điểm cây bụi thảm tươi dưới tán TTV ưu thế Vân sam fansipan	74
Hình 3.34	Đặc điểm cây bụi thảm tươi dưới tán TTV ưu thế Vân sam fansipan	75
Hình 3.35.	Tỷ lệ % số cây Vân sam fansipan theo các cấp đường kính ngang ngực (D1,3 cm) tại kiểu TTV hỗn giao cây lá rộng cây lá kim (2.600 – 2.700 m)	80
Hình 3.36	Tỷ lệ % số cây Vân sam fansipan theo cấp đường ở vị trí 1,3 mét (D1.3,cm) tại kiểu TTV ưu thế cây lá kim (2.700 – 2.950 m)	80
Hình 3.37.	Thảm thực vật ưu thế Vân sam fansipan.....	81
Hình 3.38	Độ tàn che TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim ở độ cao 2.600 m	82
Hình 3.39	Độ che phủ tầng cây bụi thảm tươi dưới tán TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim ở độ cao 2.600 m	83
Hình 3.40	Lớp thảm mục tại khu vực nghiên cứu (2.600 – 2. 700 m).....	83
Hình 3.41	Cây con tái sinh ở lòng suối	84
Hình 3.42	Cây con tái sinh dưới tán TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim	84
Hình 3.43	Kết quả kiểm tra sản phẩm PCR 5 vùng gen trên gel agarose	85

Hình 3.44 Nucleotide sai khác ở vị trí 323 ở các mẫu nghiên cứu	86
Hình 3. 45 Nucleotide sai khác ở vị trí 223 ở các mẫu nghiên cứu	87
Hình 3.46. Vị trí các Nucleotide sai khác trên vùng gen <i>rbcL</i> và <i>trnH-psbA</i>	88
Hình 3.47 Sơ đồ quan hệ di truyền của mẫu Vân sam fansipan (ký hiệu A70) với một số loài Vân sam khác dựa trên phân tích trình tự gen <i>rbcL</i> và <i>trnH-psbA</i>	88
Hình 3.48 Sơ đồ mối quan hệ di truyền hình cây giữa các mẫu Vân sam fansipan (quần thể A và quần thể B) so với loài <i>A.delavayi</i> và <i>A.concolor</i>	89
Hình 3.49 Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến tỷ lệ ra rễ của Vân sam fansipan.....	90
Hình 3.50 Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến số lượng rễ của Vân sam fansipan.....	92
Hình 3.51 Ảnh hưởng của giá thể dùng để cắm hom đến sự phát triển lá non của VSF	93
Hình 3.52 Hạt giống (1), cây con (2) Vân sam fansipan ở TN 3	94
Hình 3.53 Tỷ lệ nảy mầm của hạt Vân sam fansipan theo các công thức TN	96
Hình 3.54 Kết quả theo dõi chiều cao của cây con Vân sam fansipan theo các công thức nghiệm từ tháng thứ 1 đến tháng thứ 5 (giá trị trung bình)	97
Hình 3.55 Cây con Vân sam fansipan tại vườn ươm	97
Hình 3.56 Tăng trưởng trung bình theo chiều cao của 35 cây con Vân sam fansipan được trồng từ năm 2017 ở trong và ngoài khu vực phân bố tự nhiên.....	98
Hình 3.57. Gồm: a,b _ CT 3 ;c _ DC; d ,f _ CT 2; e _ CT 1 được đo tháng 1/2018 ..	99
Hình 3.58 Cây con năm 2020 ở công thức 2 (CT 2) và lô đối chứng (DC)	100

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài luận án

Phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q.P.Xiang, L.K.Fu & Nan Li) Rushforth) là taxon thực vật thuộc họ Thông (Pinaceae), nằm trong sách đỏ Việt Nam (2007) [1] và danh mục IA nghị định số 32/2006/NĐ-CP ngày 30/3/2006 [2] và nay là nghị định số 84/2021/NĐ-CP ngày 22/9/2021 về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm và thực thi Công ước về buôn bán quốc tế các loài động vật, thực vật hoang dã nguy cấp (CITES) [3].

Tuy trong sách đỏ Việt Nam [1] mới chỉ phân hạng loài này ở cấp độ VU A1a,b tức là sẽ nguy cấp, nhưng hiện nay, theo sự quan sát thực tế (5/2016) thông qua tuyến cáp treo Sapa – Đỉnh Fansipan thì không chỉ phân loài Vân sam fansipan đang có nguy cơ bị đe dọa tuyệt chủng mà các loài thực vật khác như Bách tán Đài Loan (*Taiwaniana cryptomerioides*), các loài trong họ Đỗ quyên (Ericaceae),... đang phân bố tự nhiên nơi đây cũng đang có nguy cơ bị đe dọa, bị tác động bất lợi rất cao, bởi lẽ, tuyến cáp treo đã kéo theo sự xây dựng các trạm, các tòa nhà tham quan, tuyến đi bộ, hành lang vận chuyển... tác động không nhỏ tới các loài thực vật nơi đây nói riêng và hệ sinh thái núi cao của VQG nói chung. Theo các khảo sát trước đây đã mô tả, và thực tế đều cho thấy phân loài Vân sam fansipan (Sam lạnh), Bách tán Đài Loan, các loài trong họ Đỗ quyên là những loài không những có giá trị khoa học mà nó còn có giá trị làm cảnh. Loài Vân sam là loài thực vật bản địa được ghi nhận ở một số nước như Trung Quốc (Vân Nam), Ấn Độ, Myanmar phân bố ở độ cao trên 2400m so với mực nước biển [4]. Theo Nguyễn Tiến Hiệp, phân loài Vân sam fansipan phân bố ở độ cao từ 2.600 m trở lên và mọc ở những nơi có địa hình hiểm trở thuộc dãy Hoàng Liên Sơn, và đặc biệt những nghiên cứu để tìm ra các giải pháp bảo tồn phân loài Vân sam fansipan này tại VQG Hoàng Liên còn hạn chế [5]. Hiện nay, trong bối cảnh biến đổi khí hậu toàn cầu, hàng năm các tỉnh miền núi, đặc biệt là vùng núi cao, có địa hình đồi núi dốc thường xảy ra hiện tượng lũ quét, lũ ống gây thiệt hại cả về kinh tế lẫn cơ sở hạ tầng, thậm chí gây chết người. Điều này chứng tỏ, hệ sinh thái rừng tự nhiên nơi đây đã bị tác động rất mạnh và đã bị suy giảm khả năng tự điều chỉnh cân bằng hệ sinh thái.

Theo công bố của một số công trình gần đây [2, 5, 6, 7, 8, 9, 10] thì quần thể của phân loài này rất nhỏ (khoảng 200 - 400 cá thể), mọc tự nhiên trên những địa hình hiểm trở trong phạm vi hẹp gần đỉnh Fansipan của VQG Hoàng Liên. Điều này cảnh báo cho chúng ta về sự nguy cơ tuyệt chủng ngoài tự nhiên của quần thể Vân

sam fansipan nay nếu như biến cố môi trường xảy ra. Do vậy, việc bảo tồn và phát triển Vân sam fansipan, một phân loài thực vật quý hiếm có giá trị khoa học và giá trị thương mại, có vai trò trong việc duy trì phát triển hệ sinh thái rừng VQG Hoàng Liên nơi phân loài này phân bố là rất cần thiết và cấp bách.

Theo Xiang [11] thì taxon này về mặt hình thái (đặc biệt là màu sắc của nón) không giống với taxon phân bố tự nhiên ở Trung Quốc nên tác giả đề Vân sam fansipan ở cấp độ là phân loài, đây cũng là tâm điểm đã và đang có nhiều ý kiến trái chiều chưa có kết luận rõ ràng về vị trí phân loại của nó. Việc hiểu được đặc điểm di truyền không những giúp phân loại mà cũng sẽ giúp lựa chọn được cây giống phù hợp có sức khỏe tốt, có khả năng thích nghi với môi trường cực đoan... trong quá trình bảo tồn [12]. Do đó, việc nghiên cứu đặc điểm di truyền phân tử của loài Vân sam fansipan là rất cần thiết.

Từ cơ sở thực tế trên, Nghiên cứu sinh đã đi đến quyết định chọn đề tài: ***“Nghiên cứu đặc điểm sinh học, sinh thái và di truyền nhằm bảo tồn phát triển phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang, L. K. Fu & Nan Li) Rushforth) tại Vườn quốc gia Hoàng Liên”***.

2. Mục tiêu nghiên cứu

2.1. Mục tiêu chung:

Xây dựng được cơ sở khoa học và thực tiễn cho việc bảo tồn và phát triển phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang, L. K. Fu & Nan Li) Rushforth) tại VQG Hoàng Liên.

2.2. Mục tiêu cụ thể:

1). Xác định được một số đặc điểm sinh học (hình thái, ra chồi, ra nón) của phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang, L. K. Fu & Nan Li) Rushforth) tại VQG Hoàng Liên.

2). Xác định được một số đặc điểm sinh thái tại khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan tại VQG Hoàng Liên, cụ thể gồm: Cường độ ánh sáng tương đối, nhiệt độ và độ ẩm không khí, điều kiện địa hình (độ cao, độ dốc, hướng phơi), điều kiện thổ nhưỡng tầng A (pH, Ni tơ, K₂O, P₂O₅, Hàm lượng mùn, Ca²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺).

3). Xác định được một số đặc điểm cấu trúc thảm thực vật và đặc điểm tái sinh tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan tại khu vực phân bố tự nhiên của nó.

4). Xác định được đặc một số điểm di truyền của phân loài Vân sam fansipan tại VQG Hoàng Liên và mối quan hệ gần gũi của nó với một số loài trong chi *Abies*.

5). Bước đầu đánh giá được khả năng bảo tồn phân loài Vân sam fansipan tại VQG Hoàng Liên bằng phương pháp nhân giống và trồng thử nghiệm cây con ươm từ hạt ra môi trường tự nhiên

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

Ý nghĩa khoa học

- Cung cấp những dẫn liệu khoa học mang tính định lượng cho nghiên cứu bảo tồn và phát triển phân loài Vân sam fansipan tại VQG Hoàng Liên nói riêng, cho nghiên cứu phục hồi và quản lý bền vững hệ sinh thái rừng núi cao Fansipan (nóc nhà của Đông Dương) nói chung.

- Bổ sung dẫn liệu khoa học về các đặc điểm hình thái, đặc điểm di truyền của phân loài Vân sam fansipan cho các nghiên cứu tiếp theo về phân loại học và ứng dụng trong nghiên cứu lựa chọn nguồn giống.

Ý nghĩa thực tiễn

- Cung cấp thêm một số đặc điểm sinh học, đặc điểm di truyền phân loài Vân sam fansipan giúp cho người đọc hiểu biết rõ hơn về phân loài này và dễ nhận ra chúng trong tự nhiên; đồng thời các thông số định lượng về một số nhân tố sinh thái (ánh sáng, nhiệt độ và độ ẩm không khí, điều kiện thổ nhưỡng, ttv, độ dốc, hướng phơi) tại khu vực phân bố tự nhiên của phân loài này với độ tin cậy cao sẽ giúp cho các nhà quản lý tiết kiệm được thời gian và kinh phí trong việc bảo tồn và phát triển phân loài này tại khu vực nghiên cứu, đồng thời giúp cho công tác quy hoạch các vùng sinh thái tiềm năng của nó chính xác hơn, hiệu quả hơn.

- Kết quả của việc thử nghiệm bảo tồn phân loài Vân sam fansipan bằng phương pháp gieo hạt trong vườn ươm sau đó trồng ra môi trường phân bố tự nhiên của nó sẽ giúp cho các cơ quan quản lý (VQG Hoàng Liên) có được phương pháp hiệu quả trong việc bảo tồn và phát triển phân loài này.

- Cung cấp phương pháp, kỹ thuật giâm hom, kỹ thuật bảo quản và gieo hạt phân loài Vân sam fansipan tối ưu nhằm tạo ra nguồn cây giống có sức sinh trưởng và phát triển tốt, phục vụ cho công tác bảo tồn loài nói riêng, đồng thời góp phần phục hồi và phát triển bền vững hệ sinh thái núi cao tại khu vực nghiên cứu nói chung.

4. Điểm mới của luận án

- Luận án đã bổ sung thêm nhiều dẫn liệu định lượng về đặc điểm sinh học (tương quan giữa sự ra chồi ngọn, ra nón với cấp đường kính (d1.3); số lượng, chất lượng và phân bố của cây Vân sam fansipan tái sinh tự nhiên; đặc điểm sinh thái (độ dốc, độ cao, tọa độ địa lý, hướng phơi, thổ nhưỡng, chỉ số quan trọng IVI% của tầng

ưu thế sinh thái và tổ thành, cường độ ánh sáng, nhiệt độ và độ ẩm không khí tại khu vực phân bố tự nhiên của phân loài này); đặc điểm di truyền (trình tự Nucleotit của một số vùng gen) của phân loài Vân sam fansipan.

- Luận án là công trình đầu tiên nghiên cứu về bảo tồn chuyển chỗ phân loài Vân sam fansipan bằng phương pháp gieo hạt tạo tiền đề cho việc nghiên cứu bảo tồn chuyển chỗ phân loài này trong tương lai.

- Luận án là công trình đầu tiên nghiên cứu nhân giống tại chỗ (dưới tán TTV hỗn giao cây lá rộng lá kim ở độ cao 2.601 m) bằng phương pháp giâm hom (cành) phân loài Vân sam fansipan.

5. Cấu trúc luận án

Toàn bộ luận án bao gồm 170 trang, phần mở đầu có 5 trang, phần kết luận và kiến nghị có 3 trang, phần nội dung của luận án có 107 trang và được chia thành 3 chương như sau:

- Chương 1 có 23 trang viết về tổng quan các vấn đề nghiên cứu;
- Chương 2 có 17 trang viết về đối tượng nghiên cứu, nội dung và phương pháp nghiên cứu;
- Chương 3 có 67 trang viết về kết quả nghiên cứu.

Toàn bộ luận án có 170 bảng, 63 hình và 32 trang phụ lục.

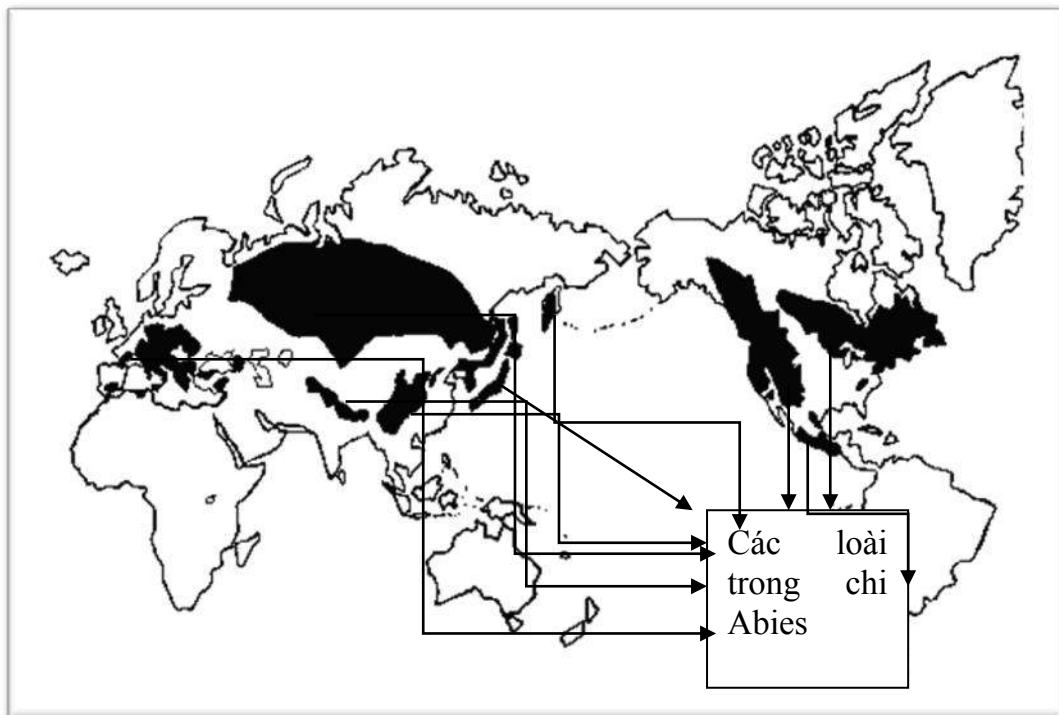
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

1.1. Tổng quan về nghiên cứu chi Vân sam (*Abies* P. Miller), loài *Abies delavayi*, phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang, L. K. Fu & Nan Li) Rushforth)

1.1.1. Về chi Vân sam (*Abies*)

- Về đặc điểm sinh học, sinh thái của các loài trong chi *Abies*

Chi Vân sam (*Abies*) được P. Miller phát hiện, mô tả và đặt tên khoa học lần đầu vào năm 1754 [13]. Nó là một trong những chi có số lượng loài lớn của họ Thông (Pinaceae). Cho đến nay đã ghi nhận được 48 loài của chi này. Các loài của chi Vân sam phân bố chủ yếu ở Bắc và Trung Mỹ, Châu Âu, Bắc Châu Phi, Châu Á (Nam dãy Himalaya, Nam Trung Quốc, Đài Loan (Trung Quốc) và vùng Fansipan thuộc tỉnh Lào Cai của Việt Nam). Hầu hết các loài này đều được ghi nhận là không những có giá trị khoa học và giá trị kinh tế cao, mà còn đóng vai trò quan trọng trong các hệ sinh thái rừng đầu nguồn vùng cao á nhiệt đới và ôn đới [13, 14].



Hình 1.1 Sơ đồ hiện trạng phân bố của các loài trong chi *Abies* trên toàn cầu

(Nguồn: Semerikova, 2014)

Phần lớn các loài trong chi *Abies* dễ dàng phân biệt với các loài khác trong họ Thông (Pinaceae) bởi sự kết hợp độc đáo về đặc điểm hình thái của chúng, bao gồm: Thân gỗ lớn, mọc thẳng đứng, tán hình tháp, lá hình kim, xếp vặn xoắn đầu cành, Nón mang hạt thẳng đứng, vẩy hạt và lá bắc rụng khi nón trưởng thành và còn

lại trục nón, và có ba chồi sinh dưỡng (chồi non) đầu cành [14]. Cũng giống như các loài Thông nói chung, các loài trong chi này sinh sản theo hình thức hữu tính và thụ phấn nhờ gió. Nón đực và nón cái cùng gốc hay khác gốc, hạt có cánh nên chúng phát tán chủ yếu nhờ gió, ngoài ra nhờ chim, sóc, chuột [5, 8].

Nhìn chung phần lớn các nghiên cứu trước đây đều tập trung vào đặc điểm hình thái, phân loại, phân bố và giá trị sử dụng. Các nghiên cứu khác còn rất hạn chế.

- Về đặc điểm di truyền của các loài trong chi Abies

Chi khoảng 20 năm trở lại đây mới có một số công trình nghiên cứu về đặc điểm di truyền, tiến hóa và hệ thống phát sinh (Phylogeny), mối quan hệ gần gũi (Phylogeny relationships) của các tác giả nghiên cứu về các loài trong chi *Abies* như: Andrzej L. [15], Semerikova S.A. và Semerikov V.L [14], Xiang Q.P [16]. Các kết quả đã phản ánh được mức độ đi xuống (giảm) của tính đa dạng di truyền liên quan đến sự thụ phấn cận loài (kích thước quần thể bé), sự ngăn cản bởi yếu tố địa hình tạo ra sự cô lập ở mức độ quần thể và loài của một số loài trong chi *Abies* như: *Abies sibirica* [17], *A. flinckii*, *A. guatemalensis*, *A. hickeli*, *A. religiosa* [18], *A. Baslmea* [19].

1.1.2. Về loài Vân sam (*Abies delavayi* Franch.)

Loài Vân sam (*Abies delavayi* Franch.) được phát hiện và công bố lần đầu tiên bởi Franchet vào năm 1887. Tác giả thu mẫu vật ở độ cao 3500-4000m ở dãy núi Cang Shan gần Dali thuộc tỉnh Vân Nam, Trung Quốc. Các kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học của Vân sam đã chỉ ra rằng, chúng chứa các hợp chất có thể ngăn ngừa, phòng chống bệnh u bướu ở người. Chúng có đến hơn 100 thành phần khác nhau, trong đó có 49 Terpenoids, 13 Lignans, 20 Flavonoids, 3 Coumarins và 25 hợp chất hóa học khác [4].

1.1.3. Phân loài Vân sam fansipan (*Sam lạnh*)

Taxon này trước đây được biết với tên khoa học là *Abies delavayi* var. *nukiangensis* trong nhiều tài liệu khác nhau như Sách đỏ Việt Nam [20]. Trên cơ sở các đặc điểm của nón, Xiang mô tả lại như một loài mới là *Abies fansipanensis* [10]. Về sau Rushforth (1999) cho rằng Vân sam fansipan có nhiều đặc điểm tương đồng với loài *Abies delavayi* Franch. nên nó không thể tách thành loài độc lập. Tuy nhiên, nó khác với *Abies delavayi* bởi một số đặc điểm hình thái (như màu sắc nón), nên tác giả xếp Vân sam fansipan ở bậc dưới loài của loài *Abies delavayi* là: *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang, L. K. Fu & Nan Li) Rushforth [5].

Vân sam fansipan là cây thân gỗ có kích thước lớn, theo mô tả trước đây có thể cao tới 20 m (thực tế ghi nhận cao nhất 15 m), phân bố không liên tục từ 2.600 – 2.950 m tại sườn Đông của đỉnh Fansipan thuộc dãy Hoàng Liên Sơn trong HST rừng hỗn giao cây lá rộng lá kim á nhiệt đới và ôn đới núi cao thường xuyên có sương mù bao phủ. Vân sam fansipan có vỏ màu nâu xám; cành nhẵn hay có lông màu vàng nâu, vết lá rụng ít lồi. Chồi đông hình trứng tới hình nón, màu đỏ nâu xanh, có nhựa trong, dài khoảng 8 mm có vảy bao bọc. Lá mọc xoắn ốc, dày, dựng thẳng, hình dải, dài 1-3 cm, rộng khoảng 1mm, đỉnh hơi lõm, mặt trên màu xanh sẫm, mặt dưới có 2 dải lỗ khí màu trắng mốc, mép hơi có răng cưa và cuộn xuống dưới. Nón cái gần như không có cuống, từ hình trứng đến hình trụ ngắn, đầu tròn, dài khoảng 8 cm, đường kính 4 cm, khi chín có màu vàng nâu mang nhiều vảy hạt; các vảy hạt ở phần giữa nón hình tam giác ngược hay hình quạt, dài 1,6-1,7 cm, rộng 2,3-2,4 cm, tròn ở đầu, mép hơi gợn sóng; lá vảy áp sát vào mặt ngoài của vảy hạt, cao chỉ bằng nửa chiều cao của vảy, hình tim có đuôi, đầu lõm với một mũi dài khoảng 1 cm. Mỗi vảy có 2 hạt, gần hình tam giác, dài 1,2-1,6 cm kể cả cánh; cánh màu nâu đỏ hoặc nâu đen, có gốc hình nêm, đầu cụt. Nón xuất hiện vào tháng 4-5, hạt chín vào tháng 12 [1]. Tuy nhiên, chu kỳ có hạt của các quần thể này chưa được xác định, có thể dao động từ 3 đến 5 năm.

Ở Việt Nam, Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q.P. Xiang, L. K. Fu & Nan Li) Rushforth) là một taxon dưới loài, đặc hữu hẹp, chỉ mới thấy ở vùng gần đỉnh Fansipan thuộc Lào Cai. Đây là nguồn gen hiếm và độc đáo của Việt Nam đã được xếp hạng trong Sách Đỏ Việt Nam 2007 phần Thực vật ở phân hạng VU A1a, b [1]. Trên thế giới, loài *Abies delavayi* có phân bố rộng ở Tây Nam Trung Quốc kéo dài cho đến tận vùng Himalaya của Myanmar, vùng Đông Bắc của Ấn Độ và chưa được đánh giá về hiện trạng bảo tồn [5, 8, 9].

1.2. Nghiên cứu về đặc điểm tái sinh

1.2.1. Khái niệm và định nghĩa tái sinh rừng

Tái sinh (Regeneration) là một thuật ngữ dùng để chỉ khả năng tự tái tạo hay sự hồi sinh từ mức độ tế bào đến mức độ mô, cơ quan, cá thể và thậm chí cả một quần thể sinh vật trong tự nhiên. Hơn nữa, bên cạnh đó cũng có một số tác giả đi sâu nghiên cứu và nêu ra các quan điểm mới về tái sinh rừng như Jordan, Peter và Allan dùng khái niệm phục hồi “Restoration” với mục đích diễn giải sự phục hồi có tính chu kỳ của toàn bộ quần xã sinh vật tương đồng với trước đó có mặt chúng trong tự nhiên. Vấn đề này cũng được Shereckenbeg đề cập đến và dùng cụm từ “Rehabilitation” để chỉ ra diễn thế rừng trên cơ sở điều khiển theo hướng có lợi nhằm phục hồi các diện tích rừng bị tác động [21].

Tái sinh là một giai đoạn trong quá trình diễn thế rừng, mang nét đặc trưng của hệ sinh thái rừng. Đặc điểm nổi bật của vấn đề này là các cây con tái sinh của những loài cây gỗ tham gia vào tầng ưu thế sinh thái cũng như các loài cây gỗ khác trong hệ sinh thái rừng. Tác giả cho rằng vai trò lịch sử của tập đoàn cây con là sự nối tiếp của các loài cây gỗ tầng ưu thế đang ở giai đoạn suy thoái. Vì vậy, tái sinh rừng hiểu theo nghĩa hẹp là quá trình phục hồi lại thành phần loài cây gỗ ưu thế của hệ sinh thái rừng, chủ yếu là loài thực vật chiếm tầng ưu thế sinh thái. Tác giả nhận định rằng tái sinh rừng có thể hiểu theo nghĩa rộng là tái sinh của một hệ sinh thái rừng [22].

Khi nghiên cứu về cây con tái sinh dưới tán rừng, Trần Xuân Thiệp [23] đưa ra quan điểm: nếu các loài thực vật tái sinh tương tự như các loài cây gỗ tầng ưu thế sinh thái thì đó là giai đoạn của quá trình diễn thế đi lên của hệ sinh thái rừng.

Nói chung, tái sinh rừng là sự thay thế dần các cây già cỗi đang suy thoái trong tầng tán bằng các cây con đang trưởng thành. Mỗi loài cây có một đặc điểm tái sinh khác nhau. Tái sinh rừng cũng có thể là sự thay thế thế hệ cây già cỗi bằng thế hệ cây con của các loài khác với các loài ưu thế ở tầng tán.

1.2.2. Phương pháp nghiên cứu tái sinh

Hầu hết các tác giả đều đồng nhất phương pháp nghiên cứu tái sinh, cụ thể gồm: toàn bộ tiêu chí xác định tái sinh tự nhiên dưới thảm thực vật rừng được đo đếm phân tích thông qua mật độ, loài ưu thế, vai trò các loài trong công thức tổ thành loài, đường kính, chiều cao, kiểu phân bố và thời điểm tái sinh rừng.

Sự giống nhau hay không đồng nhất giữa các loài cây gỗ tái sinh dưới tán thảm thực vật và các loài tầng ưu thế sinh thái được một số tác giả đề cập tới, điển hình: Hort, Richards, Schultz. [24]. Do tính phong phú và đặc điểm phức tạp về các loài thực vật tái sinh dưới tán, trong đó bao gồm đại diện phần nhỏ các loài thực vật có vai trò quan trọng trong hệ sinh thái rừng hay có giá trị kinh tế, do vậy trong nghiên cứu thường đề cập đến các loài thực vật có giá trị thương mại hay giá trị khoa học cụ thể.

Tuy vậy, đối với nhóm thông đã có những kinh nghiệm quý báu bởi Hard [25], ông đã phát hiện ra rằng thời kỳ ‘xâm lấn’ của các loài thông là những loài dễ nảy mầm trên đất mới chỉ kéo dài ít năm, khi chúng còn tìm được đất có bề mặt trống. Một khi đất bỏ hoang đã bị một lớp cỏ che phủ kín thì quá trình lan rộng của rừng bị ngăn chặn và quá trình này hoàn toàn phụ thuộc vào những vết bới lật tình cờ trên mặt đất.

Do vậy, đối tượng nghiên cứu có chung đặc điểm tái sinh với những kết luận của Hard, 1975 và phương pháp nghiên cứu tái sinh tự nhiên Vân sam fansipan chủ yếu dựa theo tuyến, vùng đất mới (khu sạt lở), chỗ trống.

1.2.3. Các nghiên cứu về tái sinh rừng (quá trình diễn thế)

a. Trên thế giới:

Những thay đổi của thảm thực vật trong khoảng thời gian ngắn hoặc dài đều đã được các nhà khoa học quan sát từ xa xưa.

Theo Hort [26] vào khoảng 300 năm trước công nguyên Theophrastus đã viết về những thay đổi của thảm thực vật [26]. Một trong những nghiên cứu diễn thế thảm thực vật sớm nhất đã được Dureau de la Malle tiến hành [27]. Ông đã đi đến kết luận, diễn thế tái sinh các loài thực vật là một quy luật tự nhiên và là điều kiện để chúng có thể tồn tại và phát triển. Trước đó, năm 1820, De Candolle [28] đã nhận thức được sự cạnh tranh của các loài thực vật: "Tất cả thực vật của một vùng nằm trong trạng thái chiến tranh: loài này chống lại loài kia". Burschel và Huss đánh giá sự cạnh tranh này như động cơ của quá trình diễn thế [29].

Tái sinh chồi rễ là quá trình tái sinh bằng con đường vô tính, trong đó những cụm cá thể con là chồi rễ xuất phát từ một cây mẹ chiếm lĩnh lại diện tích [30].

Theo Miles chỉ nên đánh giá “động thái thảm thực vật” qua thay đổi của thành phần loài [31]. Odum, Whittaker và Austin thì cho rằng, thuật ngữ này phải bao hàm cả thay đổi về cấu trúc và các quá trình bên trong của quần xã thực vật mới đúng.

Năm 1981, Schiefer phân tích kết quả nghiên cứu các khu đất bỏ hoang 10-15 năm để làm thí nghiệm ở Baden-Wuerttemberg và đã đi đến kết luận, để giữ không cho các loài cây gỗ xâm lấn vào các khu đất để hoang thường không cần có những biện pháp chăm sóc vì những cá thể con ít khi phát triển được bởi sự cạnh tranh về ánh sáng và rễ [32]. Ngay cả những khu đồng cỏ nằm kề những khu rừng hỗn giao giàu loài cũng không có cây gỗ một thời gian dài nếu không bị những loài có chồi rễ xâm lấn từ bên.

Cũng thời gian trên, Schmidt đã tiến hành những thí nghiệm về diễn thế trên đất hoang ở khu vực thành phố Goettingen và đi đến kết luận, ngay những tác động ngăn chặn nhỏ - như cắt cỏ một năm một lần hoặc cắt nghiền vãi mùn lại vào mùa thu - cũng đủ để hướng diễn thế trên đất bỏ hoang đi lệch theo hướng đồng cỏ [33]. Nếu tăng cường độ tác động (nhiều lần cắt cỏ và che chắn) thì thành phần loài nghèo đi rất nhiều. Cả sự thay đổi về loài giữa các năm cũng sẽ trở nên ít hơn và một thời kỳ cuối dường như ổn định của quá trình diễn thế cũng đến nhanh hơn.

Sau khi nghiên cứu diễn thế của loại rừng hỗn giao thường xanh tại Tây Bắc bang California Thornburgh đã đi đến kết luận rằng kiểu và mức độ bị chặt phá, mật độ của chồi rễ, nguồn hạt có được và những điều kiện lập địa ngẫu nhiên đóng vai trò quyết định đối với mật độ tương đối của các loài cây ở thời kỳ đầu của quá trình diễn thế. Về lâu dài, những giai đoạn phát triển sau đó có chung xu hướng hình thành nên rừng hỗn giao thường xanh là rừng cao đỉnh khí hậu tương ứng với điều kiện lập địa [34].

Năm 1983, Iffert đã so sánh biến động thành phần thực vật của một ruộng lúa mạch không được dùng nữa dưới tác động của diễn thế tự nhiên và của việc cắt nghiên vãi mùn lại trong khoảng thời gian từ 1979 đến 1981 và đã đi đến kết quả ngược lại với Schmidt, trong cả hai trường hợp không thấy có sự thay đổi về số loài [35].

Trong khoảng thời gian từ 1971 đến 1983, khi làm việc ở Viện nghiên cứu về rừng của Phần Lan, Jukola-Sulonen đã nhận thấy rằng số lượng cá thể thuộc các loài cây gỗ ở những diện tích thí nghiệm nằm gần rừng nhiều hơn hẳn so với những diện tích thí nghiệm xa rừng. Những nơi trước đó có rừng thứ sinh thường có sự tái sinh mạnh hơn của các loài cây gỗ [36].

Năm 1984, Alaback đã phát hiện khi nghiên cứu rừng thứ sinh ở Đông - Nam Alaska rằng thành phần loài của cây bụi phụ thuộc vào điều kiện lập địa nhưng sự thay đổi của sinh khối ở mọi nơi đều giống nhau [37].

b. Ở Việt Nam:

Năm 1993, Thái Văn Trùng đã tổng hợp kinh nghiệm phục hồi các hệ sinh thái rừng ở miền nam Việt Nam bị chất độc màu da cam ('Agent Orange') làm thoái hoá và kết luận rằng tốt nhất nên phục hồi các hệ sinh thái bị thoái hoá thành trạng cỏ trong hai bước: Trước hết cần trồng một loài cây có khả năng tổng hợp ni tơ tự nhiên để cải tạo và giải phóng đất khỏi các loài cỏ cứng, tiếp đến phải chặt bỏ lớp cây này để trồng các loài cây rừng có giá trị hoặc trồng các loài cây rừng có giá trị ngay dưới tán của chúng [38].

Năm 1995, Trần Đình Lý đã nghiên cứu khả năng khoan nuôi phục hồi rừng và xác định rằng chỉ trên các diện tích có nguồn gieo giống và lớp đất mùn dày trên 30 cm có thể áp dụng phương pháp khoan nuôi phục hồi rừng [39].

Phạm Đình Tam cho rằng đặc điểm phân bố của các cây con dưới tán bắt gặp phần lớn dưới những khoảng trống của thảm thực vật trong hệ sinh thái rừng thứ sinh, Hương Sơn, Hà Tĩnh [40].

Theo Đinh Quang Diệp, yếu tố quyết định khiến tái sinh tự nhiên bằng chồi chiếm ưu thế là lửa rừng. Về quy luật phân bố cây trên mặt đất, ông cho rằng các loài cây con dưới tán có đặc điểm phân bố theo cụm nếu ta tăng phạm vi không gian điều tra [41].

Nguyễn Ngọc Lung [42] cho rằng các thông tin liên quan đến cây con tái sinh tự nhiên dưới tán rừng là cơ sở quan trọng cho việc đề xuất các phương án phát triển rừng hợp lý.

Theo Nguyễn Duy Chuyên [43], có thể sử dụng các hàm toán học để biểu thị cho các loài cây con tái sinh dưới tán thảm thực vật rừng.

Trần Xuân Thiệp [25], dựa vào tập hợp số lượng cây tái sinh tự nhiên của các loài cây gỗ để xây dựng các thang xác định chất lượng cây con tái sinh cho các kiểu thảm thực vật rừng (quan điểm của Loschau 1961 - 1996): xấu, trung bình, tốt. Ông phân cây tái sinh được điều tra thành 6 cấp chiều cao. Cấp thứ nhất (I) gồm những cây thấp hơn 50 cm; cấp thứ hai (II) gồm những cây từ 50 cm đến dưới 100 cm; cấp thứ ba (III) gồm những cây từ 100 cm đến dưới 150 cm; cấp thứ tư (IV) gồm những cây từ 150 cm đến dưới 200 cm; cấp thứ năm (V) gồm những cây từ 200 cm đến dưới 300 cm; cấp thứ sáu (VI) gồm những cây từ 300 cm trở lên. Kết quả nghiên cứu đã cho thấy phân bố số lượng cây TSTN theo cấp chiều cao có sự giống nhau giữa các kiểu thảm thực vật rừng, đó là phân bố giảm theo hàm Mayer từ cấp I đến cấp V. Cấp VI có chiều cao từ 300 cm trở lên, do tính cộng dồn hết các cây có chiều cao tương ứng với đường kính dưới 10 cm nên quy luật này không áp dụng được.

Trần Đình Lý [44] khẳng định đặc điểm phân bố các loài cây TSTN ở hệ sinh thái rừng núi cao, dãy Hoàng Liên Sơn cũng tuân theo thang xếp loại của các tác giả trên.

Lâm Phúc Có [45], đã chỉ ra 5 giai đoạn diễn thế rừng và thành phần các loài tái sinh tự nhiên tại hệ sinh thái rừng tự nhiên tỉnh Yên Bái. Ông kết luận rằng, khi rừng trên 25 năm thì thành phần loài TSTN tăng lên rõ rệt.

Lê Ngọc Công [46] khẳng định rằng mật độ loài TSTN tăng lên trong khoảng thời gian từ 1 đến 6 năm tuổi và giảm dần sau thời gian tiếp theo.

Tuy nhiên, từ trước đến nay các công trình nghiên cứu về đặc điểm tái sinh tự nhiên chủ yếu phục vụ cho công tác đánh giá động thái rừng hay thảm thực vật rừng để dự báo chiều hướng phát triển tự nhiên của khu vực nghiên cứu [47, 48, 49, 50, 27, 34, 36, 23, 26]. Do đó các tác giả thường sử dụng phương pháp đánh giá theo OTC và ODB, xử lý số liệu tìm ra công thức tổ thành, kiểu phân bố (đều, cụm, phân

tán) đánh giá chất lượng cây tái sinh theo các cấp độ (tốt, trung bình, xấu). Ngoài ra gần đây, khi điều tra tái sinh của các loài thực vật nguy cấp, quý hiếm một số tác dùng phương pháp điều tra theo tuyến, OTC và ODB, chủ yếu tập trung điều tra về số lượng cây con tái sinh của loài nghiên cứu là chính [7, 51], các tác giả đánh giá nguồn gốc tái sinh (hạt, chồi), chất lượng tái sinh (tốt, xấu, trung bình) và nguyên nhân ảnh hưởng đến khả năng tái sinh và chất lượng tái sinh của cây con ở các giai đoạn (cây mầm, cây mạ, cây con trưởng thành từ 1-2 năm tuổi).

Để hạn chế sự sai lệch giá trị kết quả nghiên cứu, Barnard Rollet đã đưa ra phương pháp “đánh giá suy đoán” mà diện tích ô dạng bản phụ thuộc vào cấp tuổi của loài TSTN trong các hệ sinh thái rừng khác nhau [52].

Nhìn chung, có rất nhiều cách tiếp cận xác định, đánh giá đặc điểm TSTN dưới tán thảm thực vật rừng. Tuy nhiên, đối với nhóm thông nói chung và phân loài Vân sam fansipan nói riêng, thì phù hợp hơn cả là phương pháp điều tra theo tuyến và ô dạng bản, tập trung theo các lỗ trống, dải đất mới bị xáo trộn tại vùng phân bố tự nhiên của nó.

1.3. Nghiên cứu về đặc điểm di truyền

ADN của mỗi loài sinh vật khác nhau ở trình tự các Nucleotide. Do vậy dựa vào những sự sai khác đặc trưng trên trình tự Nucleotide của mỗi loài, người ra có thể phân biệt các loài khác nhau.

Việc phân biệt loài dựa vào phân tích trình tự ADN ngày càng được ứng dụng rộng rãi do nó có độ chính xác cao và đặc biệt hữu dụng với các loài gần gũi mà những quan sát hình thái chưa đủ cơ sở để phân biệt. Phân tích ADN cho phép xác định chính xác loài, quần thể cho đến tận cá thể từ các mẫu vật không còn nguyên vẹn và đặc biệt không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố khách quan như môi trường hay con người.

Giám định ADN là việc giải mã 1 đoạn ADN ngắn (thường từ 300-700bp) chứa các đặc điểm đặc trưng của loài để phân biệt loài đó với các loài khác.

Ở Tế bào nhân thật luôn tồn tại song song 2 hệ gen là hệ gen nhân và hệ gen ngoài nhân (hay còn gọi là hệ gen Tế bào chất), ở thực vật thì hệ gen Tế bào chất nằm ở Lục lạp, ở động vật thì hệ gen tế bào chất nằm ở Ty thể.

Hệ gen tế bào chất (Ty thể hoặc lục lạp thể) là một cấu trúc tạo bởi ADN mạch vòng, sợi đơn, kích thước nhỏ (thường chỉ chứa từ vài gen đến vài chục gen), có số lượng bản sao lớn. Trình tự ADN của gen ty thể và lục lạp thể thường ổn định qua một thời gian dài trong lịch sử tiến hoá do được di truyền theo dòng mẹ. Mỗi gen trên hệ gen Ty thể (hoặc lục lạp thể) thường không lặp lại. Không giống như các gen nhân, các

gen lạp thể (ty thể) chỉ mã hóa cho các protein cần thiết (cho chức năng quang hợp hoặc tạo ra ATP và bộ máy biểu hiện những protein này). Vùng ADN không mã hóa trên hệ gen tế bào chất là rất ít. Do vậy vùng gen Tế bào chất thường chứa những đoạn ADN ổn định và đặc trưng cho loài, đây là lý do các vùng gen tế bào chất thường được sử dụng nhiều hơn trong các nghiên cứu về phân loại và giám định phân tử.

Từ khoảng những năm 2000, việc sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử trong các phân tích về phân loại, giám định, nghiên cứu tiến hoá, đánh giá mối quan hệ di truyền đã được áp dụng rộng rãi do những hiệu quả vượt trội mà nó mang lại. Sử dụng chỉ thị ADN để phân tích di truyền cho độ chính xác cao, kết quả nghiên cứu ADN không bị ảnh hưởng vào bất cứ yếu tố khách quan do môi trường hay con người gây ra và đặc biệt hữu dụng với các loài gần gũi mà những quan sát hình thái chưa đủ cơ sở để phân biệt.

Phân loại học phân tử là phương pháp phân loại sử dụng sự khác biệt các cấu trúc phân tử để đạt được các thông tin về mối quan hệ di truyền giữa các loài. Kết quả của một phân tích hệ thống phân tử được thể hiện bằng cây phát sinh loài. Phương pháp phân loại phân tử ra đời những năm 1960 với các nghiên cứu của Emile và cộng sự [53], Zuckerkandl, Emanuel Margoliash, Linus Pauling và Walter M. Fitch. Những nghiên cứu hệ thống học phân tử đầu tiên được thực hiện của tác giả Charles G. Sibley nghiên cứu về chim, Herbert và cộng sự nghiên cứu về lưỡng cư, Morris Goodman nghiên cứu về linh trưởng [54], [55],[56] được phát triển tiếp bởi các nhà nghiên cứu Allan C. Wilson, Robert K. Selander, John C. Avise và đã thu được thành công lớn, làm sáng tỏ nhiều vấn đề trong phân loại và tiến hóa[54] [57], [58] . Phân loại học phân tử được sử dụng ban đầu là phân tử protein, với kỹ thuật điện di protein. Mặc dù khi thực hiện cách này đã không đem lại nhiều hiệu quả xong đã thúc đẩy sự phát triển của phân loại học phân tử. Giai đoạn từ 1974 – 1986, phân loại học phân tử chuyển sang sử dụng các đặc điểm của vật chất di truyền (ADN) với kỹ thuật ứng dụng lai ADN – ADN, tiếp đến là các kỹ thuật phân tích bằng enzyme giới hạn và cuối cùng là kỹ thuật đọc trình tự ADN[53], [59].

Nguyên lý của phân loại học phân tử: Phân loại học phân tử dựa trên nguyên lý mỗi sinh vật sống đều mang các phân tử ADN, ARN và protein, các sinh vật có họ hàng gần gũi sẽ có mức độ tương đồng cao trong cấu trúc phân tử những chất này, ngược lại những sinh vật có họ hàng xa nhau sẽ cho thấy những đặc điểm cấu trúc khác nhau. Hiện nay, các phân tử có tính bảo thủ như ADN ty thể, ADN lục lạp đang được sử dụng nhiều nhất cho phân loại và được coi là tích lũy các đột biến theo thời gian. Do phân loại học phân tử là phương pháp phân loại sử dụng đặc

điểm cấu trúc của các phân tử để xây dựng hệ thống phát sinh chủng loại, nên mãi nhưng thập kỷ gần đây, khi con người có khả năng tách chiết và xác định được cấu trúc phân tử thì phân loại học phân tử mới phát triển.

Tính thống nhất cao là một trong những ưu điểm của phân loại học phân tử, sử dụng tiêu chuẩn phân tử chung cho cả sinh giới, có lợi thế trong nghiên cứu biến đổi tiến hóa nhỏ, nên số liệu phân tử có giá trị cao trong phân tích quan hệ phát sinh chủng loại giữa các taxon ở bậc phân loại thấp, cũng như đa dạng di truyền quần thể. Nhược điểm chính của hệ thống học phân tử là không tiện dụng khi nghiên cứu và ứng dụng trong tự nhiên và hiện chưa hình thành một hệ thống phân loại riêng.

Sự kết hợp giữa hai hệ thống học phân loại phân tử và phân loại truyền thống sẽ đem lại kết quả tốt nhất. Thực tế cũng chứng minh rằng hầu hết những gì hệ thống học truyền thống đã giải quyết tốt, đều không mâu thuẫn với các kết quả nghiên cứu của hệ thống học phân tử [59]. Phân loại học phân tử thường được sử dụng để giải quyết một số vấn đề mà hệ thống học truyền thống còn gặp khó khăn, trong khi chỉ thị phân tử có lợi thế hơn. Hiện tại, phân loại học phân tử là phương pháp hữu hiệu hỗ trợ cho phương pháp phân loại học truyền thống và cho kết quả đáng tin cậy.

Hiện nay các phương pháp sinh học phân tử cho phép phát hiện các loài mới có đặc điểm hình thái tương đối gần với các loài đã biết, đồng thời xác định chính xác vị trí phân loại, đánh giá tính đa dạng di truyền, mối quan hệ chủng loại và mức độ tiến hoá cho các loài động thực vật.

Ngân hàng gen (Genbank) thuộc trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia Hoa Kỳ-NCBI (National Center for Biotechnology Information) được thành lập năm 1988, thống kê đến năm 2007 đã lưu giữ được trên 70 triệu trình tự ADN với gần 90 tỷ nucleotide.

Hiện nay, trên thế giới có 3 ngân hàng dữ liệu gen lớn là GenBank - NCBI (Ngân hàng CSDL sinh học của Mỹ), EMBL-Bank (CSDL của châu Âu về trình tự nucleotide, dự đoán tương tác protein-protein) và DDBJ – ADN Data Bank of Japan (Ngân hàng CSDL ADN của Nhật). Đây là các ngân hàng CSDL mở, được trao đổi hàng ngày nhằm góp phần tăng thêm tổng số dữ liệu về chuỗi trình tự trên thế giới. Có thể khẳng định CSDL của các ngân hàng nói trên là nguồn dữ liệu giá trị hữu ích cho các nghiên cứu về tiến hoá, mối quan hệ di truyền cũng như phân loại học...

Do đó, trong lĩnh vực nghiên cứu của đề tài này, nội hàm của đặc điểm di truyền ở đây thực chất là xác định được cấu trúc ADN và sự sai khác về trình tự Nucleotit của các cá thể của phân loài Vân sam fansipan ở hai đại độ cao khác nhau.

1.3.1. Ứng dụng kỹ thuật phân tử trên thế giới trong nghiên cứu di truyền

Đã có một số nghiên cứu về đặc điểm di truyền và mối quan hệ phát sinh chủng loại của chi *Abies* ([60, 17, 61, 14]). Kết quả của các nghiên cứu bao gồm hoặc là tập hợp giới hạn của loài hoặc là sử dụng dữ liệu từ một vùng gen, hoặc từ hệ gen lục lạp (cpDNA) [14]. Một số công trình khác sử dụng các phân tích ADN để nghiên cứu sự suy giảm mức độ đa dạng di truyền gây ra bởi sự hạn chế về khoảng cách địa lý, bị cô lập ở mức độ quần thể (kích thước quần thể nhỏ) và loài trong chi *Abies* như loài, *A. lasiocarpa* [62].

Suyama sử dụng trình tự ADN lục lạp [54] và Tsumura sử dụng dữ liệu ADN ty thể để nghiên cứu về nguồn gốc phát sinh, phân loại và tiến hóa của 5 loài Vân sam của Nhật Bản. Điều này là cơ sở khoa học cho các nghiên cứu về đặc điểm di truyền và mối quan hệ phát sinh của các loài trong chi *Abies* nói riêng và trong họ Thông nói chung.

Đa dạng di truyền quần thể được xác định bởi 4 yếu tố: Chọn lọc tự nhiên, biến dị, phiêu bạt và trao đổi di truyền. Trao đổi di truyền được thực hiện giữa các quần thể với nhau và tính biến dị di truyền sẽ làm tăng mức độ đa dạng di truyền quần thể [63]. Như vậy, di truyền quần thể khác nhau và phụ thuộc vào mức độ đóng góp của mỗi yếu tố. Trong quần thể nhỏ và cô lập, giá trị phiêu bạt di truyền và thụ phấn cận loài sẽ ảnh hưởng phổ biến đến tính đa dạng di truyền. Các yếu tố này ảnh hưởng phổ biến trong kích thước quần thể sinh sản [64].

Một nghiên cứu gần đây của nhóm tác giả Trung Quốc [65], đã giải mã trình tự một số vùng gen *nad1*, *nad5* và *trnS-trnG* của gen lục lạp để tìm hiểu mối quan hệ gần gũi của một số loài *Abies delavayi*, *A. farbi*, *A. nukianensis* với phân loài Vân sam fansipan. Kết quả cho thấy, phân loài Vân sam fansipan có mối quan hệ gần gũi với loài *A. nukiangensis*. Thông tin này có giá trị cao cho định hướng nghiên cứu về phân loài Vân sam fansipan. Tuy nhiên, về mặt thống kê toán học, 01 mẫu là quá ít để có thể khẳng định kết quả với độ tin cậy cao.

1.3.2. Ứng dụng kỹ thuật phân tử ở Việt Nam trong nghiên cứu di truyền

Ở Việt Nam, các công trình nghiên cứu thực vật chủ yếu thuộc lĩnh vực phân loại và khu hệ thực vật. Tập sách “Danh sách các loài thực vật Việt Nam” [66] được xuất bản năm 2003 đã tổng kết các kết quả nghiên cứu về thực vật. Các nhà khoa học đã đánh giá hiện trạng loài và xây dựng danh lục các loài thực vật đang bị đe dọa [67], đưa ra một số biện pháp bảo tồn nguyên vị và chuyển vị. Sách Đỏ Việt Nam phân thực vật đã được xuất bản bởi Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Rất ít công trình nghiên cứu về đa dạng di truyền quần thể và loài thực vật, đặc biệt các loài đang bị đe dọa tuyệt chủng [1]. Hiện nay chưa có nhiều công trình nghiên

cứu về đa dạng di truyền quần thể cho các loài thực vật, nhất là các loài đang bị đe dọa tuyệt chủng. Một số công trình mới chỉ đề cập đến đa dạng di truyền ở mức độ cá thể, tuy nhiên cũng chỉ dừng lại ở mức đánh giá đa hình trong chọn giống cây trồng.

Gần đây, nghiên cứu đặc điểm di truyền đã được sử dụng rộng hơn trong vấn đề phát sinh nguồn giống, cây phát sinh chủng loại, định loại, nghiên cứu sự phong phú nguồn gen [68]. Có 2 loại chỉ thị hay được sử dụng là RAPD và trình tự ADN lục lạp (cpDNA). Một số công trình khác có thể kể đến như: nghiên cứu về cây mắm trắng (*Avicennia marina*) bằng kỹ thuật microsatellite và AFLP ở ven biển một số tỉnh Việt Nam [69]; về loài cây (*Pterocarpus macrocarpus*) ở Nam Việt Nam [70], nghiên cứu về cây Sâm Ngọc Linh ở Việt Nam [71]. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra cần đẩy mạnh biện pháp bảo tồn chuyên vị.

Đã có những nghiên cứu đối với một số loài trong họ Dầu (Dipterocarpaceae), gồm một số chi: *Dipterocarpus*; *Hopea*; *Shorea*; *Vatica*; *Anisoptera*; *Parashorea* [72]..., tác giả đã chỉ ra được mức độ gần gũi của loài trong chi trên cơ sở sử dụng chỉ thị RAPD và cpDNA.

Theo Nguyễn Hoàng Nghĩa [73] trên cơ sở phân tích đặc điểm di truyền của loài Thông hai lá dẹt, tác giả nhận định rằng nó mang vật chất di truyền tương đồng với các loài trong chi *Pinus*. Do vậy không nên để nó ở chi khác (*Ducampopinus*).

Năm 2004, Quách Thị Liên và cộng sự thu thập mẫu và phân tích đa dạng di truyền các nguồn giống của loài Lim xanh phân bố ở các tỉnh. Các tác giả đã khẳng định Lim xanh ở hai tỉnh Nghệ An và Quảng Ninh có sự khác biệt lớn so với các xuất xứ còn lại [74]. Điều này cũng được Nguyễn Hoàng Nghĩa [75] quan tâm trong tuyển chọn các giống tốt.

Vấn đề về đánh giá xuất xứ nguồn giống cũng được một số tác giả trong nước quan tâm nghiên cứu, điển hình như: Đinh Thị Phòng [76], Vũ Thị Hiền [77], nhóm tác giả phân tích đa dạng di truyền của các loài: *Fokienia hodginsii*; *Calocedrus macrolepis*, *Parashorea chinensis*, *Michelia* sp, tìm ra được mối quan hệ gần gũi của các nguồn giống và khẳng định chúng được di thực từ đâu. Đây là sự đóng góp rất có ý nghĩa khoa học và thực tiễn trong quá trình nghiên cứu lai tạo nguồn giống và bảo tồn các nguồn gen tốt.

Vấn đề định loại loài Bách xanh núi đá tại Quảng Bình [78], đã chỉ ra được loài có tên khoa học chính xác là *Calocedrus rupetris*.

Trong những năm gần đây nhiều nhà nghiên cứu thực vật Việt Nam đã sử dụng sự khác biệt về đặc điểm di truyền để xây dựng cây phát sinh chủng loại (Phylogeny) từ bậc loài (Species), chi (Genus) và họ (Family), cao nhất là cây phát

sinh chủng loại của giới thực vật. Đặc điểm ADN là căn cứ rất quan trọng để phân biệt các loài đồng hình.

1.3.3. Tổng quan hệ gen sử dụng trong nghiên cứu phân loại ở thực vật

- Hệ gen lục lạp:

Là bào quan nằm trong tế bào chất của thực vật bậc cao và tảo (algae) lục lạp chứa ADN riêng. Trong mỗi tế bào có từ 102 đến 104 bản sao ADN lục lạp. Trong lục lạp có chất diệp lục (chlorophyl) và diễn ra quá trình quang hợp của cây. Do di truyền theo dòng mẹ nên Genome lục lạp không bị tái tổ hợp di truyền cho thế hệ sau và thường được sử dụng cho phân loại ở thực vật, tốc độ đột biến của nó cũng khá cao. Các nhà phân loại học phân tử đánh giá hệ gen lục lạp là sự tích lũy của các đột biến theo thời gian, do vậy nó sẽ phản ánh đúng mức độ tiến hóa giữa các loài.

Genome lục lạp (cpDNA) có cấu trúc là một phân tử ADN vòng, sợi đơn, mỗi gen thường không lặp lại. Vùng ADN không mã hóa trên cpDNA là rất ít. Các gen lục lạp chỉ mã hóa cho các protein cần thiết cho chức năng quang hợp và bộ máy biểu hiện những protein này.

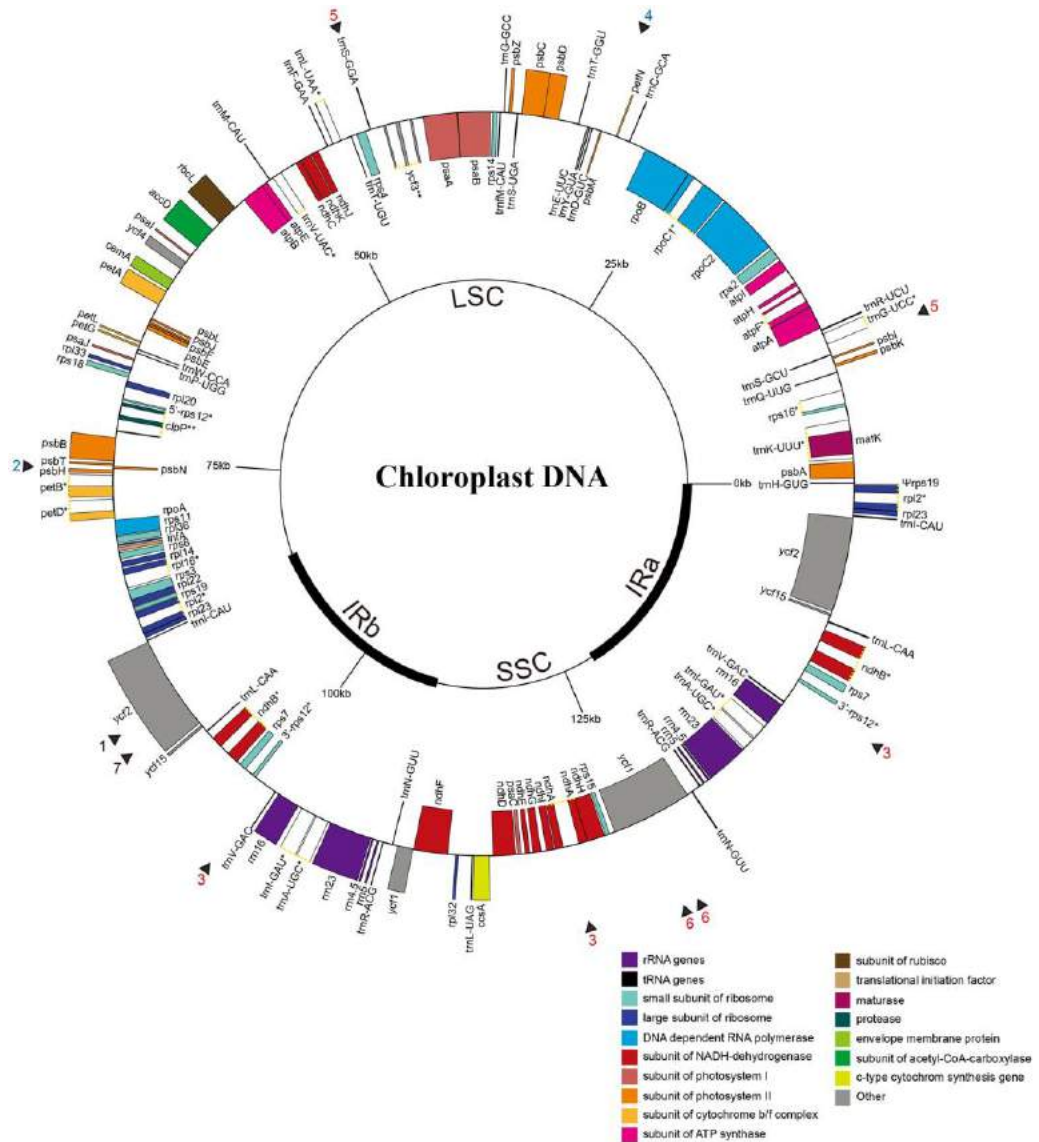
Genome lục lạp có kích thước từ 120 kb – 220kb, kích thước này thay đổi do có sự tồn tại của 2 vùng lặp lại ngược chiều nhau, tách genome lục lạp thành 2 vùng (vùng lớn LSC và vùng nhỏ SSC). Mặc dù phần lớn ADN lục lạp đều mang số lượng gen như nhau, tuy nhiên đôi khi một số gen di trú vào ADN nhân và biến mất khỏi hệ gen lục lạp. Có tốc độ đột biến thấp hơn từ 4 – 5 lần so với gen trong nhân, tuy nhiên các gen lục lạp đột biến nhanh hơn khoảng 3 lần so với ADN ty thể thực vật và thường xuyên được sử dụng trong nghiên cứu phân loại [59].

Hiện nay các gen lục lạp thường được sử dụng trong nghiên cứu hệ thống học phân tử thực vật bao gồm: gen *matK*, gen *rbcL*, gen *psbA – trnH*, tất cả các gen thuộc hệ gen lục lạp thường có mức độ biến đổi không lớn hơn 2% giữa các loài lân cận. Nguyễn Hoàng Nghĩa, dựa trên phân tích một số chuỗi ADN lục lạp và chỉ thị RAPD đánh giá đa dạng di truyền loài *Hopea reticulata Tardicu* [79].

- Vùng đệm *psbA - trnH*

Vùng gen lục lạp *psbA-trnH* gần đây đã trở thành một công cụ phổ biến trong các nghiên cứu phát sinh loài phân tử thực vật ở cấp độ phân loại thấp và phù hợp cho nghiên cứu ADN. Vùng đệm *psbA-trnH* nằm trong hệ gen lục lạp với xác suất nhân bản thành công rất cao (100% các loài đã được nghiên cứu). Mức độ khác biệt trình tự nucleotide giữa các loài là 1,24% và sự khác biệt bên trong loài rất thấp từ 0,00% - 0,08%. Trình tự *psbA-trnH* cũng đã được công bố trên ngân hàng gen

(Genbank) với nhiều loài khác nhau thuộc thực vật hạt trần, dương xỉ, rêu và rêu tản (liverwort). Ở Việt Nam. Nguyễn Thị Thúy Hằng, nghiên cứu về đặc điểm di truyền do biến đổi hình thái dựa trên việc sử dụng gen *psbA-trnH* và gen *matK* do mang tính bảo thủ cao của gen lục lạp [80].



Hình 1.2 Cấu trúc của hệ gen lục lạp

- Về gen *rbcL* (Ribulose – 1,5 – Bisphosphate Carboxylase)

rbcL là protein đệm thuộc chuỗi gen lục lạp, gồm 8 tiểu phần nhỏ với kích thước khoảng 12 kDa (được gen nhân mã hóa) và 8 tiểu phần lớn với kích thước 55 kDa (vùng gen lục lạp mã hóa). Tuy nhiên cũng bắt gặp một số trường hợp như tảo nâu, hay tảo đỏ các tiểu phần nhỏ được vùng gen lục lạp mã hóa. Các gen *rbcL* ở thực vật bậc cao không có intron. Tuy nhiên trình tự nucleotide của vùng gen *rbcL* phần lớn có tính bảo thủ cao và khả năng dễ khuếch đại nên thường được xuất hiện

trong các nghiên cứu phân loại. Nhiều công trình nghiên cứu trên nền tảng *rbcL* [81], [82].

Tương tự vùng gen *trnLF* (*tRNA-Leu (trnL)* gene, partial sequence; *trnL-trnF* intergenic spacer, complete sequence; and *tRNA-Phe (trnF)* gene) thuộc vùng gen dễ thay đổi của hệ gen lục lạp. Nó được xem là vùng gen khảm và phân mảnh (bao gồm 3 vùng gen) và cũng được đánh giá là vùng gen cho tỷ lệ khuếch đại thấp và khó sắp xếp giống hàng. Tuy nhiên, nó thường được các nhà khoa học sử dụng để xây dựng cây quan hệ gần gũi. nhiên đây cũng là một gen khó khuếch đại và đặc biệt là rất khó giống hàng và sắp xếp “alignment”.

Trong nghiên cứu này, đã sử dụng 5 vùng gen gồm *rps18-rpl20*, *trnL-trnF*, *Nad5*; *rbcL* và *trnH-psbA*; để so sánh sự khác nhau giữa các mẫu Vân sam fansipan phân bố ở độ cao khác nhau, đồng thời phân tích mối quan hệ di truyền của phân loài *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q.P.Xiang, L.K.Fu & Nan Li) Rushforth với một số loài trong chi *Abies* của họ Thông (Pinaceae) nhằm đóng góp dữ liệu khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo trong vấn đề xác định sự đa dạng nguồn gen của cá thể, quần thể cũng như từng bước cho làm rõ vị trí phân loại của loài này trong họ Thông.

Chìa khóa thành công trong công tác bảo tồn đa dạng sinh học chính là nghiên cứu tính đa dạng di truyền và tiến tới tái tạo nguồn gen các loài động thực vật. Chính vì vậy, để có chiến lược bảo tồn và phát triển bền vững các loài một cách hữu hiệu thì không có cách nào tốt hơn là phải nghiên cứu bản chất của tính đa dạng sinh học chính là sự đa dạng di truyền từ cấp độ quần thể cho đến cấp độ loài, cá thể. Như vậy, lợi thế rõ ràng của các kỹ thuật sinh học phân tử là có khả năng xác định được sự đa dạng di truyền từ cấp độ gen, tạo cơ sở để đánh giá về giá trị bảo tồn của loài cũng như quần thể. Về mặt sinh học, nguy cơ tuyệt chủng của loài liên quan đến các biến đổi di truyền bất lợi cho chúng [83].

1.4. Thử nghiệm bảo tồn

1.4.1. Bảo tồn và phát triển nguồn gen cây rừng nói chung

1.4.1.1. Những nghiên cứu trên thế giới

Theo một số tổ chức như IUCN, Geography and International Education cho rằng: Bảo tồn (Conservation) là hành động nhằm bảo vệ tài nguyên thiên của Trái Đất cho các thế hệ hiện tại và tương lai. Điều này đã được các nhà khoa học quan tâm thảo luận qua nhiều thời kỳ, điển hình như Keiding [84], tác giả cho rằng Bảo tồn tài nguyên thiên nhiên là chuỗi hành động, hệ thống chính sách để đáp ứng nhu cầu hiện tại và duy trì lâu dài cho các thế hệ tiếp theo. Tuy nhiên, trong lĩnh vực nghiên cứu của đề tài này thì nội hàm bảo tồn ở đây thực chất là bảo tồn đa dạng sinh học.

Việc bảo tồn nguồn gen cho loài bao gồm bảo tồn các biến dị di truyền tồn tại giữa các xuất xứ, các quần thể, các họ và các cá thể trong phạm vi một loài. Đây là nguồn gốc của sự đa dạng và nó đảm bảo cho sự ổn định của loài trong quá trình tiến hoá với vai trò quyết định của biến dị di truyền. Biến dị di truyền được sử dụng như nguồn nguyên liệu chủ yếu trong việc cải tạo giống. Tùy thuộc vào độ phong phú của biến dị di truyền trong một quần thể sinh vật mà người ta có thể chọn được các cá thể mang đặc tính mong muốn [85]. Chính vì vậy, bảo tồn nguồn gen là một lĩnh vực hoạt động gắn liền với công tác chọn giống. Từ cuối thế kỷ 10 đã có những hoạt động về bảo tồn nguồn gen thực vật. Đến cuối những năm 1920, Vavilov, một trong những nhà chọn giống nổi tiếng thế giới đã đề xuất thành lập Trung tâm cây trồng thế giới và trong những năm 1930 đã có hàng chục ngàn giống cây trồng nông nghiệp được thu thập và lưu trữ tại Viện canh tác học Liên Xô làm cơ sở cho công tác chọn giống.

Ngày nay, bảo tồn nguồn gen vẫn là một trong những lĩnh vực quan trọng nhất của công tác chọn giống cây trồng nông lâm nghiệp. Các nước phát triển đã khai thác các nguồn gen trong nước nên đã chuyển quan tâm đến công tác thu thập nguồn gen hoang dã ở các nước đang phát triển, đặc biệt là các nước ở vùng nhiệt đới, nơi có nguồn gen hoang dã rất phong phú để tăng thêm nguồn gen nước họ, tạo ra các giống lai mới mà trong tự nhiên không có. Hoạt động bảo tồn nguồn gen đang được nhiều Viện nghiên cứu khoa học trên thế giới quan tâm. Riêng Viện lúa quốc tế tại Philippin đã thu thập được hàng chục ngàn giống lúa để phục vụ cho công tác chọn giống.

Trong bối cảnh các hệ sinh thái rừng bị tàn phá, quá trình biến đổi khí hậu tăng cường và đa dạng di truyền bị suy giảm (xói mòn di truyền), nhiều quốc gia trên thế giới và các tổ chức quốc tế đã quan tâm và tập trung vào việc bảo tồn các

nguồn gen cho cây rừng. Trong các năm 1908-1938, Hiệp hội các tổ chức lâm nghiệp quốc tế (IUFRO) đã thu thập và khảo sát xuất xứ của 13 lô hạt *Pinus taeda* từ 11 quốc gia khác nhau trên thế giới. Từ cuối những năm 1950 hàng loạt loài và xuất xứ của các loài cây lá kim quan trọng nhất như *Pinus caribae*, *P. kesiya*, *P. oocarpa*, *P. merkusii*..., đã được thu thập và khảo nghiệm.

Xây dựng các bộ sưu tập cây sống dưới dạng Vườn thụ mộc, Vườn thực vật và các Khu bảo tồn nguồn gen chuyển chỗ (ex situ) là các phương thức thường được sử dụng để bảo tồn các loài cây rừng. Các phương thức này có ưu điểm là đảm bảo cho các loài thực vật liên tục sinh trưởng và phát triển, trên cơ sở đó có thể quan sát, đánh giá trong thời gian dài. Tuy nhiên, yếu điểm ở đây là việc xây dựng, bảo vệ và duy trì hoạt động của các Vườn thường kèm theo chi phí cao, cây trong các bộ sưu tập có nguy cơ bị sâu bệnh cao... Hiện đã có tới khoảng trên 1.500 Vườn dạng này trên thế giới. Vườn thực vật Bogor ở Indonesia là Vườn thực vật đã có trên 100 năm lịch sử phát triển. Vườn thực vật Bogor ở Indonesia được xây dựng từ năm 1817 trên diện tích 87 ha và có một bộ sưu tập thực vật rất lớn gồm 3.504 loài thuộc 1.273 chi của 199 họ thực vật. Bộ sưu tập và Vườn thụ mộc cũng đã được xây dựng một số cho một hoặc một số loài. Vườn thụ mộc của Viện nghiên cứu lâm nghiệp Malaysia (FRIM) là một ví dụ điển hình. Đây là một bộ sưu tập sống cây của các loài thuộc chi *Shorea*. Ngoài ra còn có thể kể đến bộ sưu tập cây cao su ở Viện nghiên cứu cao su, hay bộ sưu tập cây cọ dầu (*Elaeis guineensis*) ... Bên cạnh công tác bảo tồn, dựa trên các thông tin về tiềm năng sử dụng của các loài cây quý hiếm, rất nhiều loài cây có giá trị kinh tế cao như các loài cây cho gỗ và lâm sản ngoài gỗ còn được khai thác sử dụng. Ví dụ như các loài cây gỗ thuộc các chi *Hopea*, *Shorea*, *Vatica*, *Erythrophloeum*, *Garcinia*, *Abies*, *Picea*, *Pinus*... được biết đến như là các loài cây có thể cung cấp gỗ xẻ chất lượng cao. Một số loài khác có tiềm năng lâm sản ngoài gỗ cũng đã được khai thác như *Horsfieldia pandurifolia*, *Cephalotaxus hainanensis* và *Cinnamomum mairei*... [86, 87].

Để có cơ sở vững chắc cho công tác quản lý và bảo tồn nguồn gen cây rừng, nhiều công trình có liên quan đến phương pháp luận và định hướng bảo tồn đã được các tổ chức quốc tế xuất bản ([88, 89, 90, 91, 92, 19, 93, 94]). Các công trình đã đánh giá mức độ đe dọa cho các loài cây rừng tự nhiên và các đánh giá đó là cơ sở để lựa chọn các loài cây bị đe dọa nhiều hơn phục vụ công tác bảo tồn. Tùy theo mức độ nguy cấp các loài sẽ được xếp vào các cấp như sau: Các loài đã tuyệt chủng (EX); Các loài đã tuyệt chủng ngoài tự nhiên (EW); Các loài rất nguy cấp (CR); Các loài nguy cấp (EN); Các loài sắp nguy cấp (VU); Các loài gần bị đe dọa (NT) và Các loài ít quan tâm (LC). IUCN và WCMC năm 1998 đã công bố danh sách các loài

cây bị đe dọa trên toàn thế giới, trong đó có một số loài cây rừng của nước ta, danh sách này bao gồm 7.388. Đây là kết quả đánh giá loài của hàng trăm nhà khoa học trên thế giới theo các tiêu chí của IUCN [93]. Hội thảo quốc tế năm 1993 đã tập hợp các kết quả nghiên cứu bảo tồn, trong đó có nhiều báo cáo có liên quan đến khu vực Châu Á-Thái Bình Dương [95]. Hàng loạt công trình liên quan đến đánh giá thực trạng, hướng dẫn kỹ thuật và kế hoạch hành động bảo tồn cho một số loài cây rừng nhiệt đới quan trọng ở khu vực Đông Nam Á [96] đã được Tổ chức gỗ nhiệt đới quốc tế ITTO xuất bản. Gần đây, hiện trạng bảo tồn nguồn gen cây rừng ở các nước Châu Á-Thái Bình Dương cũng đã được thông báo tóm tắt trong kỷ yếu hội thảo khu vực của Chương trình nguồn gen cây rừng khu vực Châu Á-Thái Bình Dương [97].

Việc đánh giá mối quan hệ di truyền bên trong mỗi họ thực vật (Family) hoặc một chi (Genus) và xuất xứ trong một loài (Provenance) để xác định được vị trí của loài cần bảo tồn và đánh giá đa dạng di truyền của loài tạo cơ sở cho việc chọn các khu rừng và quần thể để bảo tồn tại chỗ (in situ) hay thu hái hạt giống cho công tác bảo tồn chuyên chỗ. Chỉ thị phân tử (ADN markers) đã được sử dụng rộng rãi trong những năm gần đây để bổ sung cho công tác điều tra thực địa, trong đó phải kể đến một số chỉ thị thường dùng như Isoenzyme, ADN đa hình được nhân bản ngẫu nhiên RAPD, RFLP (đa hình độ dài các đoạn cắt giới hạn), AFLP, SSR, cpDNA... [98, 93, 99, 87, 100]. Các loài của chi *Rhizophora*, *Bruguiera*, *Cerip* và *Kandelia* (họ Đước-Rhizophoraceae) [101], *Pinus merkusii* và *Techona grandis* ở Thái Lan, các loài *Dryobalanops aromatica*, *Hopea odorata* và *Shorea leposula* ở Malaysia [102, 103, 104] đã được nghiên cứu về đa dạng di truyền. Kết quả là các loài không chỉ được phân loại mà còn được đánh giá mức độ biến dị di truyền (giữa các loài và trong một loài, biến dị di truyền bên trong mỗi quần thể) để có thể đưa ra những quyết định đúng đắn khi lựa chọn các quần thể để bảo tồn.

Hiện nay, ở một số nước như Malaysia, Hàn Quốc ... đã sử dụng phương pháp bảo quản cực lạnh cho các hạt giống và mẫu giống. Chương trình bảo quản hạt recalcitral (hạt khó bảo quản) đã được IPGRI phối hợp với Trung tâm giống Đan Mạch tài trợ cho bảo tồn nguồn gen cây rừng ở các nước nhiệt đới (trong đó có sự tham gia của Trung tâm giống cây rừng của Viện Khoa học lâm nghiệp Việt Nam).

1.4.1.2. Những nghiên cứu ở Việt Nam

Theo các chuyên gia nghiên cứu về khu hệ thực vật Việt Nam, nước ta rất giàu về các loài thực vật và là 1 trong 16 quốc gia đa dạng sinh vật nhất thế giới, đặc biệt có khoảng 30% loài đặc hữu [105, 106]. Theo nhận định của các chuyên gia, Việt Nam có 12.000-15.000 loài thực vật, với 7.000 loài đã được xác định tên

khoa học. Song do nhiều tác nhân như sự tàn phá của các cuộc chiến tranh, khai thác cạn kiệt, quá trình du canh du cư, chính sách chuyển đổi mục đích sử dụng đất... là nguyên nhân chính thu hẹp không gian sinh sống. Đặc biệt là diện tích rừng và cấu trúc vốn có bị phá vỡ nghiêm trọng, các thảm thực vật rừng tự nhiên đang đứng trước nguy cơ bị cạn kiệt. Các loài trước đây được cho là nhiều vô tận, cũng trở nên khan hiếm. Năm 1996, Việt Nam có 356 loài thực vật bị đe dọa [20] thì đến năm 2007 con số này đã tăng lên 450 [1]. Do vậy, đòi hỏi chúng ta phải có kế sách vẹn toàn cân bằng giữa phát triển kinh tế và đáp ứng nhu cầu xã hội nhưng vẫn giữ được hệ sinh thái rừng tự nhiên.

Năm 2001, IUCN đã đề xuất phân hạng các loài động thực vật bị đe dọa theo các cấp độ khác nhau [93], đồng thời có những phương hướng cụ thể cho từng loài theo từng cấp độ khác nhau để bảo tồn và phát triển tại chỗ hoặc chuyên chỗ (vườn thực vật, vườn thú, trung tâm cứu hộ, phân khu phục hồi sinh thái...).

Trong những năm gần đây, một số công trình nghiên cứu liên quan đến đa dạng di truyền đã được công bố của các tác giả như: Nguyễn Thị Phương Trang [12]; Đinh Thị Phòng [107]; và đặc biệt là Nguyễn Minh Tâm [82, 108]. Các tác giả đã nghiên cứu sâu về sự suy giảm đa dạng di truyền xuất phát từ sự suy giảm kích thước quần thể cũng như hệ số cận noãn cao, vấn đề này có ý nghĩa lớn cho công tác bảo tồn loài.

1.4.2. Nghiên cứu nhân giống, trồng một số loài cây lá kim

Cho đến nay, đã có rất nhiều đề tài, dự án bảo tồn và phát triển các loài lá kim. Điển hình như trồng rừng Thông đà lạt, Thông 3 lá, Thông 2 lá dẹt, Pơ mu, Hoàng đàn, Kim giao, Sa mộc dầu, Thông tre lá ngắn, Thông đỏ, Thông pà cò bằng phương pháp nhân giống từ hạt [109, 110]. Hầu hết việc nhân giống được tiến hành vào mùa thu, thời gian hạt chín được thu hoạch, xử lý vào gieo vào các giá thể làm sẵn. Tuy nhiên một số loài thuộc họ Hoàng đàn và họ Thông đỏ được thử nghiệm nhân giống từ cành (giâm hom) thông qua việc sử dụng chất điều hòa sinh trưởng.

Theo Nguyễn Hoàng Nghĩa, việc nhân giống bằng cành của 3 loài Bách xanh, Pơ Mu và Thông đỏ ở các cấp tuổi khác nhau, cho kết quả tỷ lệ ra rễ khác nhau khi thử cùng nồng độ của chất điều hòa sinh trưởng. Kết quả còn cho thấy các loại chất kích thích và nồng độ của chúng cũng ảnh hưởng rất lớn đến sự ra rễ của hom [111].

Nhân giống bằng hom đã được thử nghiệm cho loài *Calocedrus macrolepis* từ các cây ở độ tuổi khác nhau, kết quả thí nghiệm cho thấy việc sử dụng cành hom lấy từ cây non hiệu quả hơn lấy từ cây có tuổi già hơn [112].

Năm 1994-1995, Trung tâm nghiên cứu giống cây rừng cũng tiến hành thí nghiệm giâm hom Thông đỏ Pà cò (*Taxus chinensis*). Thí nghiệm sử dụng TTG1 với nồng độ 1-1,5% cho kết quả tỷ lệ ra rễ 70-72%. Ngoài ra Trung tâm cũng nghiên cứu mức độ ra rễ của một số cá thể và cho thấy rằng cá thể cho kết quả tỷ lệ ra rễ cao nhất là 85,9%, trong lúc những cá thể còn lại còn lại cho kết quả tỷ lệ ra rễ từ 61,2 – 67%.

Lê Đình Khả [86] đã nghiên cứu nhân giống Pơ mu bằng hom, kết quả đem lại rất khả quan. Pơ mu là loài cây dễ ra rễ, không xử lý chất điều hòa sinh trưởng vẫn cho tỷ lệ ra rễ 70%. Trong các chất điều hòa sinh trưởng IBA, IAA, NAA, ABT được sử dụng thì IBA dạng bột nồng độ 1-1,5% là có hiệu quả nhất (tỷ lệ ra rễ 90-100%).

Nhân giống loài Thông đỏ (*Taxus wallichiana*) bằng hom cũng được thực hiện bởi Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam. Kết quả cho thấy khi dùng các chất điều hòa sinh trưởng ABT, IBA, IAA và NAA với nồng độ 0,5% và 1% thì hom giâm đều ra rễ, tỷ lệ ra rễ đạt từ 70-90%, trong khi đó công thức đối chứng chỉ ra rễ từ 0-60%. Bước đầu cho thấy các cá thể khác nhau cho tỷ lệ ra rễ khác nhau.

Trong một chương trình bảo tồn nguồn gen, đã tiến hành giâm hom Bách vàng (*Xanthocyparis vietnamensis*). Tác giả nhận định rằng, loài Bách vàng cho tỷ lệ rễ tốt với các cấp tuổi và các chất điều hòa sinh trưởng đều có ảnh hưởng đáng kể đạt tỷ cao nhất trên 80% tỷ lệ ra rễ [112].

Theo Nguyễn Huy Sơn, khi nghiên cứu loài Thủy tùng thuộc dự án “Điều tra đánh giá điều kiện lập địa, đặc điểm lâm học và tái sinh loài Thủy tùng ở Việt Nam” do International Foundation for Science (IFS) tài trợ đã có kết luận: Do tác động của con người, môi trường sống thích hợp của loài Thủy tùng đã bị biến động ..., quần thể Thủy tùng suy giảm nhanh chóng cả về số lượng lẫn chất lượng. Số cây mang nón khá ít và phân bố rải rác. Nón thường có ít hạt (khoảng 10 hạt), nhưng đại đa số đều khó nảy mầm và phát triển thành cây con. Quá trình tái sinh tự nhiên bằng hạt hầu như không xuất hiện trong suốt thời gian dài đã qua, có thể cả trong tương lai [20].

Từ những năm 1998, đã có những nghiên cứu nhân giống Thủy tùng bằng giâm cành và kết hợp với các chất điều hòa sinh trưởng như NAA, IBA đều cho tỷ lệ ra rễ kém dưới 20%.

Năm 2004, tiếp tục việc nhân giống loài Thủy Tùng, với số lượng cành hom lên tới 35.000 cành, tỷ cành cho ra rễ rất khiêm tốn với 7/35000 cành [20].

Trong báo cáo kết quả nghiên cứu đặc điểm sinh học, sinh thái và nhân giống loài Thủy tùng, Trần Vinh đã thử nghiệm nhân giống Thủy tùng từ hom cành tỉ lệ ra rễ đạt từ 2,33-20% sau 9 tháng theo dõi; đã ghép thành công Thủy tùng trên gốc của loài Bụt mọc với tỷ lệ sống đạt tới 66%. Tuy nhiên, dùng bộ phận sinh dưỡng để “ghép” 2 loài với nhau cũng cần xem xét kỹ hơn trong công tác bảo tồn nguồn gen [113].

Một số nhận xét liên quan đến đối tượng nghiên cứu:

* Hiện trạng ngoài tự nhiên và phân hạng bảo tồn của loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis*) ở Việt Nam:

Như trên đã nói, hiện nay phân loài Vân sam fansipan đã được ghi trong Sách Đỏ Việt Nam 2007 phần Thực vật và được đánh giá ở mức độ phân hạng bảo tồn VU A1a, b với nhận định “Tuy là phân loài hiếm, số cá thể không nhiều, song lại mọc nơi hiểm trở và cao của Vườn quốc gia Hoàng Liên, nên nguy cơ đe dọa thấp” [1]. Tuy nhiên, trong một thời gian khá dài (khoảng 12 năm), thực trạng về phân loài này chưa được cập nhật đầy đủ về số lượng quần thể, cá thể và khả năng sinh trưởng, phát triển để có thể khẳng định nó đang ở mức phân hạng như thế nào?

* Đặc điểm sinh học, sinh thái học của phân loài Vân sam fansipan ở Việt Nam:

- Nội hàm khái niệm của đặc điểm sinh học trong lĩnh vực nghiên cứu của đề tài này thực chất là xác định được một số chỉ tiêu về sinh trưởng của cây trưởng thành của Vân sam fansipan (Chiều cao vút ngọn, đường kính ở vị trí 1,3m, sự ra chồi,), phát triển (rụ ra nón, đậu hạt), xác định được các đặc điểm của cấu trúc quần thể (H/D) và tái sinh tự nhiên (số lượng, chất lượng).

- Nội hàm của khái niệm đặc điểm sinh thái học trong lĩnh vực nghiên cứu của đề tài này thực chất là xác định được một số nhân tố sinh thái quan trọng tại khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên có liên quan đến sinh trưởng và phát triển cũng như tái sinh tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan gồm: Ánh sáng, nhiệt độ và độ ẩm không khí, thổ nhưỡng (tính chất lý hóa của đất tầng A), thành phần loài thực vật ưu thế (cấu trúc của tầng ưu thế của thảm thực vật).

Nghiên cứu tài liệu đã công bố [7, 8, 114, 10] cho thấy phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis*) mới được nghiên cứu rất ít về đặc điểm sinh học, đặc điểm sinh thái và bảo tồn. Hiện nay còn nhiều vấn đề cần phải được tiếp tục làm rõ. Cho đến nay mới chỉ biết phân loài Vân sam fansipan thường mọc trên những sườn dốc và các đông gần đỉnh Fansipan ở độ cao 2.600 -2.800 với nhiệt độ trung bình năm vào khoảng 8,8 -10,8 °C, lượng mưa hàng năm vào khoảng

2.500 - 3.500 mm [1, 5]. Về khả năng sinh sản, cây được cho rằng cho hạt hằng năm, nón xuất hiện vào tháng 4-5, hạt chín vào tháng 12. Tuy nhiên theo các tác giả nhận định rằng: khả năng tái sinh tự nhiên của phân loài này từ hạt rất kém; cây con không chịu được bóng; trong tự nhiên hầu như không gặp thể hệ cây có kích thước nhỏ [115, 5]. Do vậy, muốn phục hồi và phát triển nguồn gen Vân sam fansipan phải có hỗ trợ tái sinh tự nhiên hoặc trồng rừng nhân tạo bằng cách thu hái hạt giống và giâm hom. Để tạo cơ sở cho những biện pháp này thành công cần phải có những nghiên cứu chi tiết hơn về những đặc điểm sinh học, sinh thái của phân loài Vân sam fansipan.

* Các môi nguy cơ đe dọa đối với phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi subsp. fansipanensis*):

- Các môi đe dọa từ bên ngoài: Cháy rừng và chặt hạ các cá thể trưởng thành của phân loài Vân sam fansipan là những môi đe dọa trực tiếp đến sự tồn tại của phân loài này ngoài tự nhiên. Đặc biệt nguy hiểm đối với phân loài Vân sam fansipan là cháy rừng. Cháy rừng không những làm chết những cá thể trưởng thành, làm mất nơi sinh tồn loài mà còn tiêu huỷ toàn bộ hạt giống và những cây con làm đứt đoạn quá trình phát triển của quần thể Vân sam fansipan ngoài tự nhiên.

- Các môi đe dọa từ bên trong quần thể Vân sam fansipan: Việc Vân sam fansipan tái sinh tự nhiên từ hạt rất kém là trở ngại quan trọng nhất đối với sự phát triển ngoài tự nhiên của phân loài này. Chu kỳ cho hạt thất thường, năng suất hạt thấp, hạt giống mất sức nảy mầm nhanh, cây con khó tiếp xúc với nền đất, có sức sinh trưởng yếu, không có khả năng chịu bóng... là những nguyên nhân làm cho sự tồn tại và phát triển của taxon này ở khu vực nghiên cứu hết sức mong manh và không bền vững. Chính vì thế, hỗ trợ tái sinh tự nhiên, phát triển nguồn giống bằng trồng rừng bảo tồn nhân tạo là những biện pháp quan trọng để bảo tồn và phát triển nguồn gen Vân sam fansipan ở Việt Nam hiện nay.

* Bảo tồn và phát triển nguồn gen phân loài Vân sam fansipan ở Việt Nam:

Cho đến nay mới chỉ có một số giải pháp bảo tồn tại chỗ cho phân loài Vân sam fansipan. Phân loài đã được đưa vào sách Đỏ Việt Nam 2007 [1] với phân hạng bảo tồn VUA1a,b, đã được đưa vào Danh mục Thực vật rừng, Động vật rừng nguy cấp, quý hiếm (Nhóm 1) của Nghị định số 32/2006/NĐ-CP [2], của Nghị định 06/2019/NĐ-CP và nay là nghị định 84/2021/NĐ – CP ngày 22/09/2021 [3]... để nghiêm cấm khai thác, sử dụng vì mục đích thương mại; đã được đưa vào Danh mục loài nguy cấp, quý, hiếm được ưu tiên bảo vệ của Nghị định 160/2013/NĐ-CP và nay là Nghị định 64/2019/NĐ-CP ngày 26/07/2019; đã đề nghị thành lập Khu bảo tồn loài cùng với Bách tán Đài Loan kín (*Taiwania cryptomerioides*) ở đây

Hoàng Liên Sơn [1]; [5], [116]. Cho đến nay vẫn chưa có chương trình bảo tồn chuyển chỗ nào được đề xuất cho taxon này. Để góp phần bảo tồn và phát triển nguồn gen Vân sam fansipan cần phải có ngay những giải pháp cụ thể bảo tồn chuyển chỗ mà trước hết là nghiên cứu trồng rừng bảo tồn phân loài Vân sam fansipan bằng phương pháp giâm hom. Để phương pháp này được thành công và có thể đưa vào sản xuất cần có những nghiên cứu chi tiết về quy trình thu vật liệu giống (hom); lựa chọn chất kích thích sinh trưởng và nồng độ thích hợp trên cơ sở đó nghiên cứu và xây dựng kỹ thuật giâm hom phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis*) và kỹ thuật trồng rừng bảo tồn phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis*) từ cành hom.

Ngoài phương thức bảo tồn và phát triển phân loài Vân sam fansipan bằng giâm hom còn cần tiếp tục nghiên cứu để làm rõ khả năng gây giống Vân sam fansipan bằng hạt. Trong lĩnh vực này cần tập trung nghiên cứu và làm rõ những vấn đề sau: (1) Lựa chọn cây mẹ thích hợp, nghiên cứu chu kỳ cho hạt, năng suất hạt của cây mẹ và phương pháp thu hạt giống từ cây mẹ đã lựa chọn; (2) Nghiên cứu khả năng nảy mầm và các phương pháp hỗ trợ khả năng nảy mầm của hạt Vân sam fansipan trên cơ sở đó nghiên cứu và xây dựng kỹ thuật tạo giống Vân sam fansipan từ hạt giống và kỹ thuật trồng rừng bảo tồn Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis*) bằng cây con thu được từ hạt giống.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

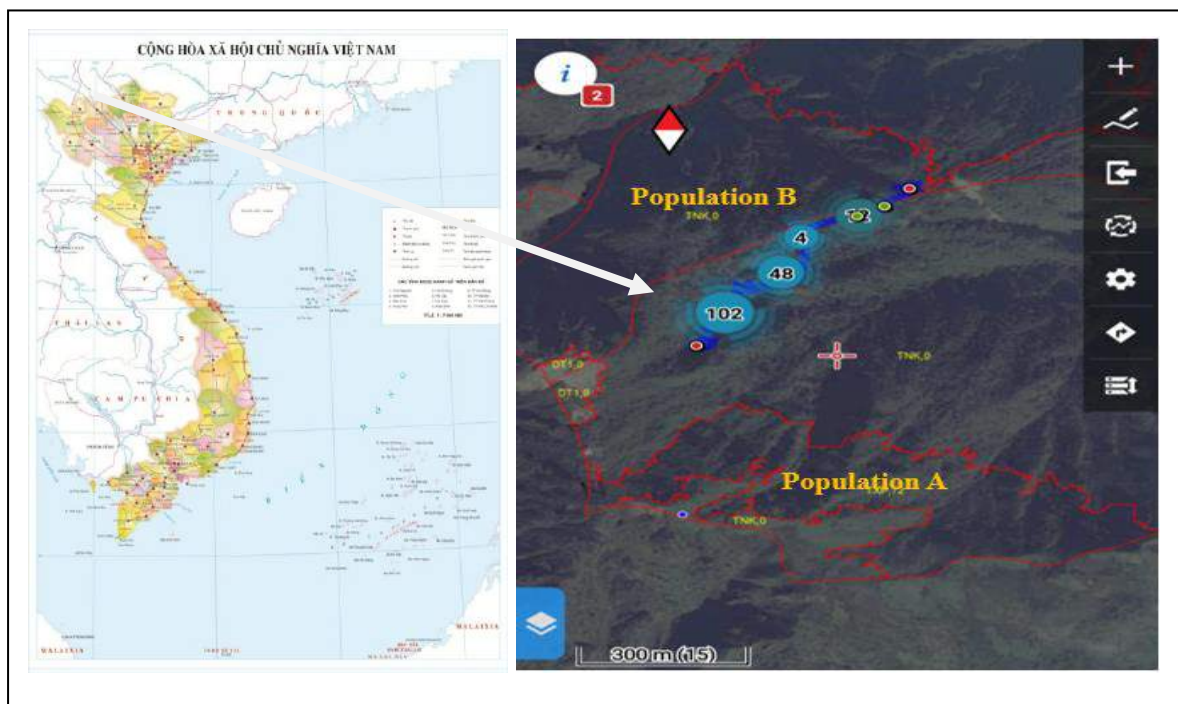
Vân sam fansipan – *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang, L. K. Fu & Nan Li) Rushforth thuộc họ Pinaceae (Hình 2.1).



Hình 2.1 Cây Vân sam fansipan đang có nón (Nguồn: Hà Văn Tuế, 2003)

2.2. Địa điểm nghiên cứu

Địa điểm thực hiện đề tài luận án là VQG Hoàng Liên, H. Sapa, T. Lào Cai



Hình 2. 2 Khu vực nghiên cứu

2.3. Nội dung nghiên cứu

- 1) Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học (hình thái, ra chồi, ra nón) của phân loài Vân sam fansipan tại VQG Hoàng Liên.
- 2) Nghiên cứu một số đặc điểm sinh thái (cường độ ánh sáng tương đối, nhiệt độ và độ ẩm không khí, điều kiện địa hình (độ cao, độ dốc, hướng phơi), điều kiện thổ nhưỡng tầng A (pH, Ni tự, K₂O, P₂O₅, Hàm lượng mùn, Ca²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺) của phân loài Vân sam fansipan tại VQG Hoàng Liên.
- 3) Nghiên cứu một số đặc điểm cấu trúc thảm thực vật (tầng ưu thế sinh thái) khu vực phân bố tự nhiên và đặc điểm tái sinh tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan tại VQG Hoàng Liên.
- 4) Nghiên cứu một số đặc điểm di truyền của phân loài Vân sam fansipan và mối quan hệ di truyền của nó với một số loài khác trong họ Thông trên cơ sở giải mã trình tự 05 vùng gen gồm *trnL-trnF*, *rps18-rp120*, *nad5*, *rbcL* và *trnH-psbA*.
- 5) Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống bằng hom, bảo quản hạt của phân loài Vân sam fansipan và trồng thử nghiệm cây con ra môi trường tự nhiên.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp nghiên cứu tổng quan tài liệu

Tiếp thu có chọn lọc thành tựu khoa học tiên tiến của các nhà khoa học thông qua thu thập thông tin và trao đổi khoa học liên quan đến nội dung đề tài.

2.4.2. Phương pháp nghiên cứu thực địa

Trên cơ sở các công bố liên quan đến khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang, L. K. Fu & Nan Li) Rushforth) của các tác giả: Nguyễn Tiến Hiệp [5]; Hoàng Văn Sâm [7]; Nguyễn Hoàng Nghĩa [114]; Nguyễn Đức Tố Lưu [8];... và kết hợp với phỏng vấn nhanh cán bộ phòng Khoa học của VQG Hoàng Liên (Trần Văn Tú) cho thấy rằng đối tượng nghiên cứu - Vân sam fansipan (tên địa phương: Sam lạnh) có kích thước quần thể khá nhỏ với 200 – 400 cá thể, phân bố ở khu vực có địa hình đồi núi hiểm trở, bị chia cắt bởi các vách dựng đứng từ đai độ cao khoảng 2.400 – 2.700 m, gần đỉnh Fansipan. Do vậy, kích thước OTC, ODB để thu thập các thông tin phục vụ các nội dung nghiên cứu lần lượt là 20 m x 20 m và 4 m x 4 m là phù hợp cho khu vực nghiên cứu có địa hình manh mún, bị chia cắt ... [117].

- Để nghiên cứu đặc điểm ra chồi, nón của quần thể phân loài Vân sam fansipan, sử dụng phương pháp sau: Điều tra theo tuyến từ độ cao 2.600 m đến

2.950 m, lập các ô tiêu chuẩn đo đếm các cây Vân sam fansipan theo các cấp đường kính khác nhau trong các thảm thực vật sau:

+ Thảm thực vật hỗn giao cây lá rộng với cây lá kim (Vân sam fansipan) phân bố ở độ cao 2.600 – 2.700 m (15 ô tiêu chuẩn kích thước 400 m²).

+ Thảm thực vật ưu thế cây lá kim (Vân sam fansipan) phân bố ở độ cao 2.700 – 2.950 m (10 ô tiêu chuẩn 400 m²).

Dùng thước dây để đo chu vi ngang ngực (ở vị trí 1,3 m tính từ gốc, dùng máy chuyên dụng Bumples để đo chiều cao của cây.

Dùng thước chia đến mm đo chiều dài của chồi non của các cành sinh trưởng và đo kích thước lá trưởng thành. (Vì thông thường đoạn chồi non các cây lá kim thường có màu sắc khác biệt với phần già của chúng, nên chỉ cần đo chồi non của chúng vào dịp cuối thu là đảm bảo xác định được tăng trưởng với độ chính xác cao).

Đồng thời đếm toàn bộ cây trong các ô tiêu chuẩn có nón và số lượng nón trên từng cá thể.

- Phương pháp điều tra theo tuyến được áp dụng để nghiên cứu đặc điểm tái sinh tự nhiên của Vân sam fansipan (bán kính cách quần thể 1km: 01- ưu tiên những nơi mới bị sạt lở (bởi lẽ các loài trong họ Pinaceae thường bắt gặp cây con tái sinh hai bên ta luy, những nơi ta luy mới bị sạt lở hoặc ven hai bên đường mới mở, hầu như không bắt gặp tái sinh (cây con) dưới tán rừng mà chúng chiếm tầng ưu thế hay chúng mọc thuần loài); 02 - ven hai bên suối) và phương pháp ô định vị (đánh giá biến động số lượng cá thể của quần thể dựa trên việc dùng dây (màu đỏ) buộc vào các cá thể (cây con có chiều cao <1m) của quần thể, 1 năm điều tra lặp lại một lần). Sở dĩ lựa chọn cây có chiều cao nhỏ hơn 1m để theo dõi, bởi vì những cây có chiều cao lớn hơn 1m thông thường chúng phát triển khá tốt.

- Để thu thập dẫn liệu về điều kiện sinh thái nơi Vân sam fansipan mọc tại khu vực nghiên cứu, các thiết bị được sử dụng gồm máy GPS, dụng cụ lấy mẫu thổ những chuyên dụng, 2 máy đo cường độ ánh sáng (02 máy đo đồng thời tại thời điểm ngoài trống và tại vị trí cá thể VSF mọc tự nhiên 30 lần/đai thấp và 30 lần/đai cao/năm), 01 máy đo độ ẩm và nhiệt độ không khí (thời gian đo độ ẩm không khí vào các thời điểm trong ngày 8h, 10h, 12h, 14h và 16h, 15 lần/thời điểm; 12 ngày/quý). Hiện trạng thảm thực vật ở khu vực nghiên cứu nơi Vân sam fansipan phân bố tự nhiên được đánh giá bằng phương pháp chuyên gia.

- Dùng phương pháp truyền thống của Hà Quang Khải [118] để đánh giá tính chất lý học của tầng A của đất. Phân diện đất, phương pháp thu mẫu đất theo T. Klotzbucher [119]. Ngoài ra, để xác định hàm lượng mùn dùng phương pháp

Walkley - Black, đồng thời kết hợp với các phương pháp phân tích tính chất hoá học tầng đất A như: phương pháp ngọn lửa để xác định % K₂O dễ tiêu; phương pháp Oninani để xác định P₂O₅ dễ tiêu; Phương pháp complexon cho việc xác định hàm lượng Mg²⁺ trao đổi; Phương pháp Churin - Cononova để xác định hàm lượng NO₂ dễ tiêu; dùng máy đo pH meter để xác định nồng độ pH (KCl) của đất tại khu vực nghiên cứu (theo tiêu chuẩn Việt Nam).

- Sử dụng phương pháp điều tra theo tuyến và thiết lập ô tiêu chuẩn đại diện [117] trong đó phương pháp so sánh hình thái được sử dụng cùng với phương pháp chuyên gia để xác định thành phần loài thực vật tầng ưu thế sinh thái tại khu vực nghiên cứu. Đồng thời, khung phân loại thảm thực vật của UNESCO năm 1973 [120] được áp dụng để định tên các kiểu thảm thực vật tại khu vực nghiên cứu.

- Vẽ trắc đồ thảm thực vật theo phương pháp của Nguyễn Nghĩa Thìn đã công bố năm 2007 [117].

- Nghiên cứu đặc điểm cấu trúc quần thể phân loài Vân sam fansipan được thực hiện theo phương pháp của Nguyễn Nghĩa Thìn [117] kết hợp với quy luật đai cao của Thái Văn Trùng [106], tiến hành lập các OTC điển hình (20m x 20m) ở đai độ cao 2.600 – 2.700 m và 2.700 – 2.950 m, số lượng OTC phụ thuộc vào diện tích thảm thực vật tại 2 đai nói trên. Tiến hành đo chiều cao vút ngọn và đường kính ngang ngực của toàn bộ cây Vân sam fansipan của tầng ưu thế sinh thái trong OTC.

2.4.3. Phương pháp phân tích số liệu về sinh học, sinh thái

- Định tên khoa học của các loài thực vật ưu thế tại khu vực phân bố của Vân sam fansipan bằng phương pháp so sánh hình thái kết hợp với phương pháp chuyên gia.

- Sử dụng phương pháp của Curtis, J.T., R.P. McIntosh, 1951 [121] để phân tích đánh giá chỉ số quan trọng (IVI - Importance Value Index) và xác định loài ưu thế tại khu vực nghiên cứu.

$$IVI = Abundance_{rel,k} + Dominance_{rel,k} + Frequency_{rel,k} \quad (1)$$

Trong đó: + Abundance rel,k: độ phong phú tương đối;

Chỉ tiêu độ phong phú đánh giá loài trên phương diện số cá thể. Chỉ tiêu độ phong phú có thể được tính dưới hai dạng: độ phong phú tuyệt đối và độ phong phú tương đối. Độ phong phú tuyệt đối của một loài là số cá thể của loài trên 1 ha. Độ phong phú tương đối của 1 loài là tỷ lệ phần trăm số cá thể của loài đó trên tổng số cá thể của tất cả các loài cây gỗ trong quần hợp:

$$Abundance_{rel,k} = \frac{n_k}{\sum_{i=1}^s n_i} 100\% \quad (2)$$

Trong đó:

- n_k : số cá thể của loài thứ k là loài ta đang tính chỉ tiêu độ phong phú,
- n_i : số cá thể của loài thứ i,
- s: tổng số loài cây gỗ trong quần hợp.
- + Dominance_{rel,k}: Độ ưu thế tương đối;

Chỉ tiêu độ ưu thế đánh giá loài trên phương diện không gian mà nó chiếm lĩnh. Sẽ là tối ưu nếu ta tính được tổng tán che của các cá thể của mỗi loài trên 1 ha. Nhưng trong điều kiện rừng nhiệt đới có cấu trúc nhiều tầng phức tạp việc tính tổng tán che cho từng loài là hết sức phức tạp và không thể chính xác, nếu không nói là không thể thực hiện được. Vì vậy tổng diện tích tiết diện ngang của thân cây ở độ cao 1,3 m của tất cả các cá thể của một loài trên 1 ha được dùng để đánh giá độ ưu thế của loài. Hoheisel [122] đã chứng minh mối tương quan chặt chẽ giữa tán che và đường kính thân của cây gỗ rừng. Chỉ tiêu độ ưu thế cũng có thể được tính dưới hai dạng: độ ưu thế tuyệt đối và độ ưu thế tương đối. Độ ưu thế tuyệt đối của một loài là tổng diện tích tiết diện ngang thân cây ở độ cao 1,3 m của tất cả các cá thể của loài trên 1 ha. Độ ưu thế tương đối của một loài là tỷ lệ phần trăm của độ ưu thế tuyệt đối của loài đó trên tổng độ ưu thế tuyệt đối của tất cả các loài cây gỗ trong quần hợp:

$$Dominance_{rel,k} = \frac{G_k}{\sum_{i=1}^s G_i} 100\% \quad (3)$$

Trong đó:

- G_k : tổng diện tích tiết diện ngang thân cây ở độ cao 1,3 m của tất cả các cá thể của loài thứ k là loài ta đang tính độ ưu thế tương đối,
- G_i : tổng diện tích tiết diện ngang thân cây ở độ cao 1,3m của tất cả các cá thể của loài thứ i,
- s: tổng số loài cây gỗ trong quần hợp
- Frequency_{rel,k}: Tần số xuất hiện tương đối

Chỉ tiêu tần số xuất hiện đánh giá mức độ đồng đều các cá thể của loài phân bố trên diện tích quần hợp chiếm đóng. Chỉ tiêu tần số xuất hiện có thể được tính dưới hai dạng: tần số xuất hiện tuyệt đối và tần số xuất hiện tương đối. Tần số xuất hiện tuyệt đối của một loài được tính bằng cách chia số ô tiêu chuẩn có đại diện của

loài đó cho tổng số ô tiêu chuẩn đã điều tra rồi nhân với 100. Tần số xuất hiện tương đối của một loài được tính bằng cách chia tần số xuất hiện tuyệt đối của loài đó cho tổng tần số xuất hiện tuyệt đối của tất cả các loài cây gỗ trong quần hợp rồi nhân với 100:

$$Frequency_{rel,k} = \frac{Frequency_k}{\sum_{i=1}^s Frequency_i} 100\% \quad (4)$$

Trong đó:

- $Frequency_k$: Tần số xuất hiện tuyệt đối của loài thứ k,
- $Frequency_i$: Tần số xuất hiện tuyệt đối của loài thứ i,
- S: tổng số loài cây gỗ trong quần hợp.
- Thông thường người ta hay nhóm các loài với nhau vào 5 nhóm tần số gặp: 0- 20%, 20-40%, 40-60%, 60-80%, 80-100%.

- Xác định điều kiện ánh sáng: Sử dụng công thức tính cường độ ánh sáng tương đối (Ltd%), theo phương pháp mà Đào Châu Hà sử dụng trong nghiên cứu về tái sinh tự nhiên các loài cây gỗ ở VQG Cúc Phương [123].

$$Ltd = (Ldt/Lnt) \times 100 \quad (5)$$

Trong đó: Ltd là cường độ tương đối của ánh sáng, đơn vị là %; Ldt là cường độ tuyệt đối của ánh sáng dưới tán thảm thực vật nơi các quần thể Vân sam fansipan phân bố tự nhiên, đơn vị là lux; Lnt là cường độ tuyệt đối của ánh sáng ở ngoài chỗ trống (được đo cùng thời điểm với Ldt), đơn vị đo là lux.

- Sử dụng phương pháp Walkley – Black [118] phân tích mẫu đất tại phòng phân tích, Trung tâm nghiên cứu và Chuyển giao công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam để xác định hàm lượng mùn, các hàm lượng dễ tiêu như kali, nitơ, phot pho, magie của đất tầng A nơi phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên (các phương pháp phân tích đều theo TCVN), cụ thể như sau:

Bảng 2. 1 Danh sách các chỉ tiêu và phương pháp phân tích đất tại KVNC

STT	Chỉ tiêu	Phương pháp phân tích	Đơn vị
1	K ₂ O tổng số	TCVN 8660:2011	mg/kg
2	K ₂ O dễ tiêu	TCVN 8662:2011	mg/kg
3	P ₂ O ₅ tổng số	TCVN 8940:2011	%
4	P ₂ O ₅ dễ tiêu	TCVN 5256 :2009	%
5	Nitơ dễ tiêu	TCVN 5255: 2009	mg/100g
6	Nitơ tổng số	TCVN 6498:1999	mg/g
7	pH (Kcl)	TCVN 5979:2007	-

STT	Chỉ tiêu	Phương pháp phân tích	Đơn vị
8	Mùn	TCVN 8941:2011	%
9	Ca ²⁺	TCVN 6646: 2000	Cmol+/kg
10	Fe ²⁺	TCVN 8246:2009	Cmol+/kg
11	Mg ²⁺	TCVN 6646: 2000	Cmol+/kg

- Vị trí của các quần thể Vân sam fansipan tại khu vực nghiên cứu được thể hiện trong phần mềm Google Earth.

- Ngoài ra sử dụng phương pháp thống kê lâm nghiệp [52], phần mềm Statgraphics, SPSS để phân tích thống kê.

2.4.4. Phương pháp thu mẫu phục vụ cho nghiên cứu di truyền

Quần thể A gồm các cá thể Vân sam fansipan mọc ở độ cao từ 2.600-2.700 m, quần thể B gồm các cá thể Vân sam fansipan mọc ở độ cao từ 2.700-2.950 m (hình 2.2).

Thu từ mỗi quần thể 10 mẫu lá tươi, ký hiệu từ A1 đến A10 (10 mẫu thu ngẫu nhiên từ 10 cá thể Vân sam fansipan tại quần thể A) và từ B1 đến B10 (10 mẫu thu ngẫu nhiên từ 10 cá thể Vân sam fansipan tại quần thể B). Các mẫu lá thu được được bảo quản tại chỗ trong túi chứa silicagel.

2.4.5. Phân tích ADN

2.4.5.1. Tách chiết ADN tổng số

Tổng số 20 mẫu lá Vân sam fansipan được tách chiết ADN bằng phương pháp CTAB của Doyle và Suhma [124, 125]. Nghiên cứu sử dụng vật liệu là lá tươi hoặc lá khô được bảo quản trong hạt hút ẩm. Các mẫu ADN sẽ được đánh kí hiệu tương đồng với mẫu tiêu bản và tiến hành tách ADN. Các dụng cụ, máy móc sử dụng cho thí nghiệm tách chiết ADN bao gồm: Ống eppendorf, đầu pipet, kẹp, giấy lau, giấy parafilm, găng tay, khẩu trang, đèn cồn, tủ lạnh, micropipet đơn kênh, cân phân tích, bể ổn nhiệt, máy li tâm, máy nghiền mẫu. Để tiến hành các thí nghiệm tách chiết ADN, PCR và điện di cần chuẩn bị: Các loại đầu pipet, bi sắt nghiền mẫu, ống eppendorf (1,5 µl; 2,0 µl) cần được hấp vô trùng, để khô và được mã hóa.

ADN tổng số được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0.8%.

2.4.5.2. Kỹ thuật nhân nhanh ADN bằng PCR

Nhanh các vùng gen bằng phản ứng PCR: thành phần phản ứng nhân gen như sau: 32 µl H₂O, 5 µl đệm, 5 µl dNTP, 3 µl môi xuôi F (30 pM), 3 µl môi ngược R (30 pM), 1 µl ADN tổng số, 1 µl enzyme Taq polymerase; tổng thể tích là 50µl. Chu trình nhiệt được thực hiện trên máy PCR system 9700 gồm các chu kỳ

sau: biến tính ở 95°C trong 3 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ lặp lại bao gồm các công đoạn: biến tính ở 95°C trong 30 giây; bắt cặp ở 56°C (đối với gen *trnL-trnF*, *rps18-rp120* và *nad5*), ở 52°C (đối với gen *rbcL* và *trnH-psbA*) trong 45 giây, kéo dài 1 phút ở 72°C, kết thúc phản ứng trong 5 phút ở 72°C, bảo quản mẫu ở 4°C.

Sản phẩm PCR của mỗi phản ứng được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0,8%, và sau đó sẽ được tiến hành giải trình tự sử dụng chính các đoạn môi đã dùng để khuếch đại.

2.4.5.3. Kỹ thuật phân tích trình tự đoạn gen

Sản phẩm PCR của 5 vùng gen được tinh sạch bằng bộ hóa chất GeneJET™ PCR Purification Kit của công ty Thermo Scientific (Mỹ). Các gen sau đó được xác định trình tự cả 2 chiều theo nguyên lý của Sanger, với bộ kit BigDye® Terminator v 3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems, Mỹ) trên hệ thống ABI 3500 Genetic Analyzer. Các trình tự thu được sẽ được tiến hành chạy BLAST trên ngân hàng Gen (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) để kiểm tra tính chính xác (bao gồm tính chính xác của gen được khuếch đại và tính chính xác của vật mẫu được khuếch đại) của trình tự.

2.4.5.4. Phương pháp phân tích số liệu phân tử

Việc phân tích và ghép nối hình ảnh các đỉnh (peak) của trình tự ADN các mẫu nghiên cứu được thực hiện trong phần mềm chromasPro, phần mềm Clustal W được sử dụng để so sánh, phần mềm Mega 6.1 được sử dụng để vẽ cây phát sinh chủng loại và phân tích hệ số sai khác di truyền. Trong đó, bảng khoảng cách di truyền được thiết lập theo phương pháp tối giản (Maximum Parsimony), mức độ khác biệt di truyền được tính toán theo mô hình Kimura hai tham số. Thực hiện với 1.000 lần lặp lại để xác định giá trị ủng hộ (bootstrap) trong cây ML (MLBS) và BI (BPP) với 1.000 lần lặp lại.

Cây phát sinh chủng loại được sử dụng để thể hiện mối quan hệ di truyền giữa các loài. Cây phát sinh chủng loại mô tả mối quan hệ tiến hóa giữa các loài, nó được xây dựng dựa trên sự giống và khác nhau về các đặc điểm vật chất di truyền hay hình thái. Nó thể hiện sự giống và khác nhau về cấu trúc ADN giữa các loài trong các nghiên cứu phân tử. Mối quan hệ di truyền giữa các taxon được thể hiện thông qua các liên kết trên cây. Phương pháp tạo cây thường được sử dụng là Neighbor – Joining (NJ) [126]. Phương pháp NJ do Naruya Saitou và Masatoshi Nei đưa ra vào năm 1987. Phương pháp xây dựng cây tiến hóa Neighbor – Joining là một trong những phương pháp cho ít nhánh nhất. Phương pháp này dựa trên nguyên tắc tìm ra thứ tự của các cặp láng giềng (neighbor) hợp lý nhất.

Bảng 2.2 Thông tin về các cặp mồi dùng trong phản ứng khuếch đại PCR

STT	Vùng gen	Tên mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Chiều dài vùng gen (bp)	Tham khảo
1	<i>rps18-rp120</i>	<i>rps18-F</i>	AGTCGATTTATTAGTGAGCA	584	Kress <i>et al.</i> , 2005
		<i>rps18-R</i>	CTTCGTCGTTTGTGATTAC		
2	<i>trnL-trnF</i>	<i>trnL-F</i>	TTGGCTTTATAGACCGTGAG	498	Hasebe <i>et al.</i> , 1994
		<i>trnL-R</i>	CCAGGAACCAGATTTGAACT		
3	<i>nad5</i>	<i>nad5 ins F</i>	GCATTCTGAGCTGGTTGGAT	979	Kress <i>et al.</i> , 2005
		<i>nad5 ins R</i>	GTGGGTGGGTATTCAGATGG		
4	<i>trnH-psbA</i>	<i>trnH-F</i>	GTTATG CATGAACGTAATGCTC	600	Kress <i>et al.</i> , 2005
		<i>psbA-R</i>	CGCGCATGGTGGATTCAACAATCC		
5	<i>rbcL</i>	<i>rbcL-F</i>	CTAGCACACGAAAGTCGAAGT	700	Hasebe <i>et al.</i> , 1994
		<i>rbcL-R</i>	CTTCGGCACAAAATACGAAACGA TCTCTCCA		

Ghi chú: F. Mồi xuôi; R. Mồi ngược

2.4.6. Kỹ thuật giâm hom - gieo hạt

a. Giâm hom

- *Địa điểm giâm hom*: Tọa độ địa lý của địa điểm bố trí thí nghiệm là 22°18,554' vĩ độ Bắc, 103°46.743' kinh độ Đông, có độ cao so với mực nước biển là 2.643 m, thuộc địa phận Vườn quốc gia Hoàng Liên (thị trấn Sa Pa, huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai).

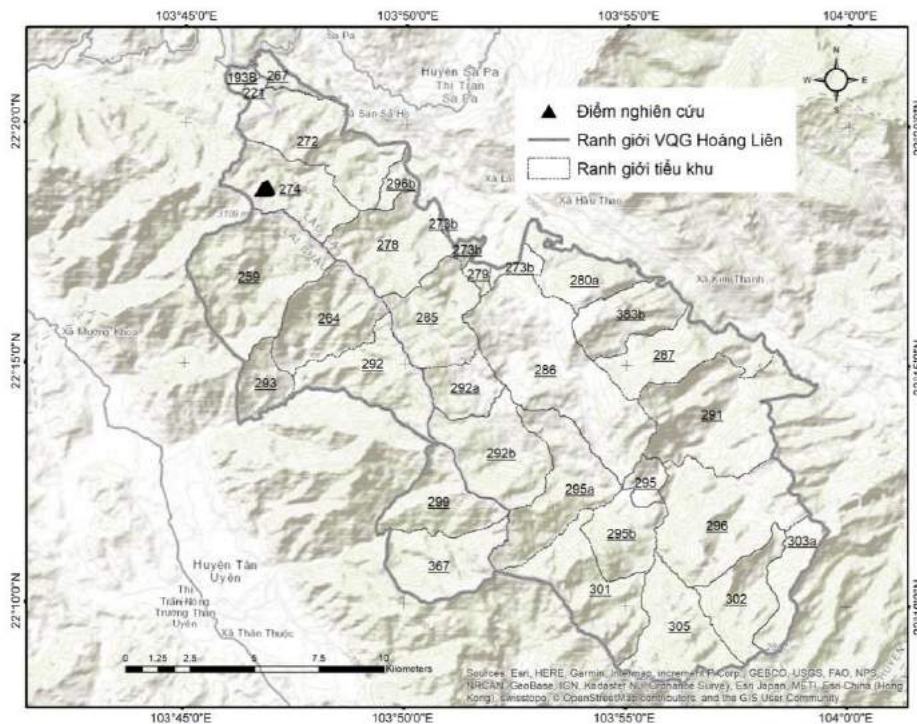
- *Vật liệu nghiên cứu*

Để chuẩn bị hom: chọn những cây đường kính ngang ngực từ 18 cm đến 70 cm, chọn những cành bánh tẻ có kích thước khoảng 10-15 cm, có chồi sinh trưởng khỏe. Sau khi thu cành bỏ bớt 2/3 số lá tính từ gốc, sử dụng túi nilon màu đen bảo quản, bọc kín để chống thoát nước;

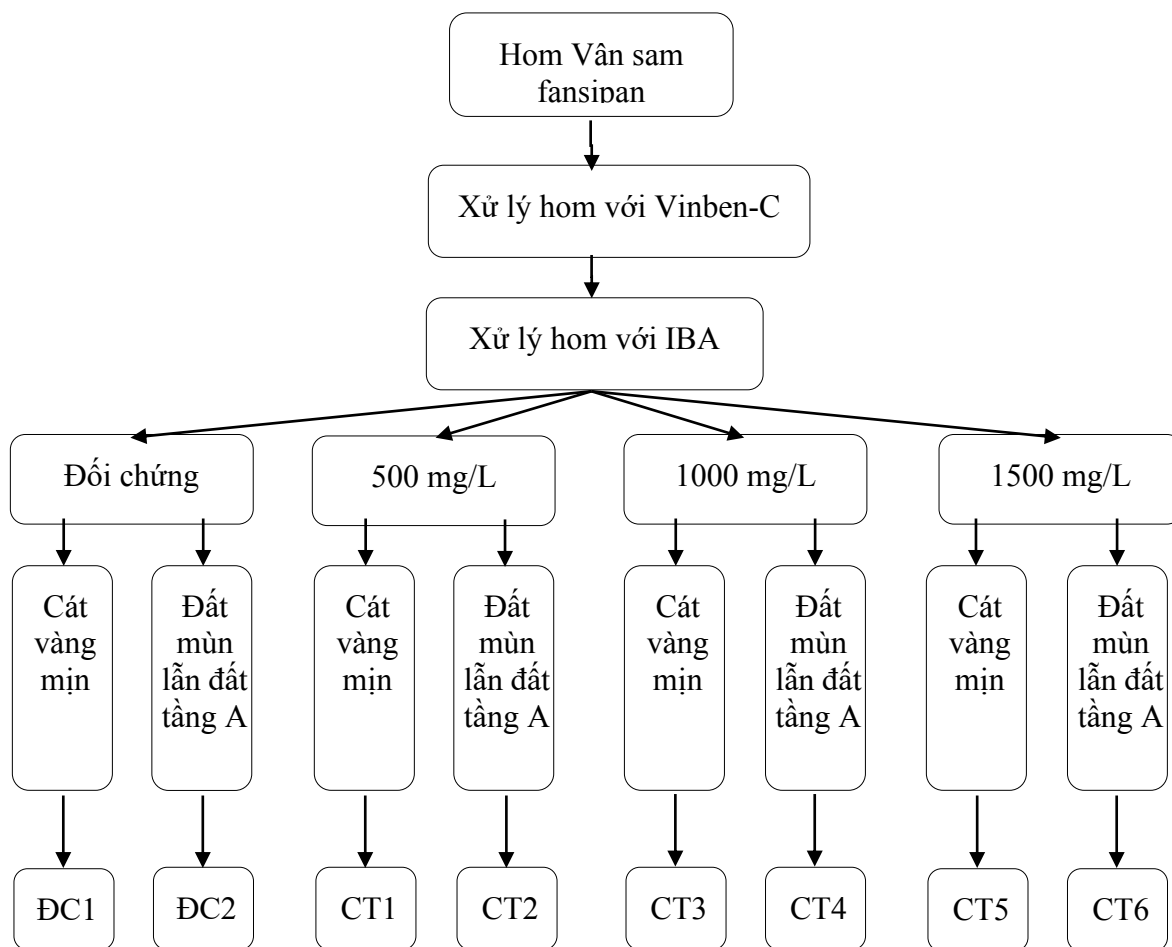
Sử dụng Indole Butyric Acid (IBA) làm chất kích thích sinh trưởng

Thuốc diệt nấm: Viben - C 50BTN;

Thí nghiệm được thiết kế như sơ đồ trong hình 2.4.



Hình 2.3 Sơ đồ địa điểm bố trí thí nghiệm



Hình 2.4 Sơ đồ thiết kế thí nghiệm với IBA

Sử dụng dung dịch Viben - C 50BTN (nồng độ 2,5%) ngâm hom của phân loài Vân sam fansipan trong khoảng 30 phút để diệt nấm. Sau đó kích thích sinh trưởng bằng việc nhúng hom vào dung dịch có chứa chất IBA (sử dụng ba mức nồng độ: 500, 1.000 và 1.500 mg/L). Cuối cùng, trồng hom trên các luống đất với hai loại chất nền là đất mùn lẫn đất tầng A và cát vàng mịn. Sơ đồ trồng như trong hình 2.4. Thực hiện lặp lại 3 lần cho mỗi công thức thí nghiệm, số lượng mỗi lần lặp gồm 50 hom Vân sam fansipan.

Áp dụng chế độ chăm sóc như sau: Duy trì độ ẩm 75% bằng cách cứ 5 ngày tưới nước dạng phun sương một lần.

Sau 12 tháng thí nghiệm, tiến hành đánh giá ảnh hưởng của nồng độ IBA đã dùng để xử lý và các giá thể đã được sử dụng để giâm hom (đất mùn trộn lẫn đất tầng A và cát vàng mịn) đến hiệu quả nhân giống Vân sam fansipan thông qua ba chỉ tiêu là tỷ lệ hom ra rễ, số rễ trung bình trên một hom và tỷ lệ hom có lá non phát triển:

Tỷ lệ hom ra rễ (%) = (số hom ra rễ/tổng số hom được giâm) x 100%.

Số rễ trung bình trên một hom = Tổng số rễ của các hom /số hom ra rễ

Tỷ lệ hom có lá non phát triển (%)=(số hom có lá non /số hom ra rễ) x 100%

Phân tích số liệu được thực hiện trong phần mềm Statgraphics, bao gồm cả việc kiểm tra sự tương quan giữa các yếu tố và kết quả thí nghiệm, kiểm tra độ chính xác của kết quả thống kê (mức độ tin cậy).

b. Gieo hạt

Để tiến hành nghiên cứu, công thức nghiệm (phương án) được thiết kế như sau:

Công thức 1 (CT 1): Đóng gói kín hạt Vân sam fansipan sau thu hoạch (30 hạt) và bảo quản ở nhiệt độ (4-5⁰C) (trong ngăn mát tủ lạnh);

Công thức 2 (CT 2): Sau thu hoạch đóng gói kín và bảo quản hạt Vân sam fansipan (30 hạt) ở nhiệt độ phòng (~20-25⁰C);

Công thức 3 (CT 3): Đóng gói kín hạt Vân sam fansipan sau thu hoạch (30 hạt) và bảo quản ở nhiệt độ -10⁰C (trong ngăn đá tủ lạnh);

Công thức 4 (Đối chứng: CT4): Phơi nắng và bảo quản hạt Vân sam fansipan (30 hạt) ở nhiệt độ phòng (~20-25⁰C).

Tất cả các công thức đều được tiến hành lặp lại 3 lần nhằm đảm bảo độ chính xác của kết quả nghiên cứu, cụ thể các bước tiến hành như sau:

Các bước tiến hành thí nghiệm

Bước 1: Thu hoạch hạt giống: Chọn thời điểm hạt giống chín nhưng chưa tách khỏi nón (thông thường vào tháng 5-6 ra nón và nón chín vào tháng 9-10).

Bước 2: Tách hạt giống, loại bỏ hạt lép, hạt bị sâu

Bước 3: Công thức 1 (CT1): Đóng gói kín và bảo quản ở nhiệt độ khoảng 4-5°C; Công thức 2 (CT2): Đóng gói kín và bảo quản ở nhiệt độ phòng; Công thức 3 (CT3): đóng gói kín và bảo quản ở nhiệt độ -10°C; Đối chứng (CT4): Phơi và bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Bước 4: Tiến hành kiểm tra tỷ lệ nảy mầm theo các phương pháp bảo quản và đối chứng (phơi, bảo quản ở nhiệt độ trong nhà).

Bước 5: Mỗi tháng tiến hành kiểm tra tỷ lệ phát triển thành cây con trong 5 tháng sau khi nảy mầm.

Thực hiện khử trùng trước mỗi lần tiến hành kiểm tra tỷ lệ nảy mầm của hạt và tỷ lệ phát triển thành cây con, cụ thể như sau:

Ngâm hạt trong khoảng 30 phút trước khi gieo trong dung dịch thuốc tím (KMnO_4) 0,05 %, sau đó rửa sạch lại bằng nước thường.

Đất gieo hạt là cát vàng pha ít đất. Khử trùng đất trước khi gieo hạt 1 ngày bằng Benlat 0,06 % (6 g Benlat hòa trong 10 lít nước phun đều cho 100 m²). Sau đó tưới nước ở dạng phun sương cho đất đủ ẩm trước khi gieo hạt.

c. Thử nghiệm trồng rừng tự nhiên từ cây con bằng phương pháp gieo hạt.

CT1: Dưới tán rừng hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim có độ dốc khoảng 17%; độ tàn che khoảng 0,55; Nhiều thảm tươi cây bụi

CT2: Khu vực có nhiều ánh sáng, độ dốc khoảng 20%; độ tàn che khoảng 0,35; ít thảm tươi cây bụi

CT3: Khu vực thảm thực vật ưu thế Vân sam fansipan; tầng thảm tươi dày đặc; độ dốc khoảng 30%.

ĐC: Khu vực có độ cao tương đương (2.900 m); không ghi nhận sự phân bố của Vân sam fansipan

Cây con trồng vào thời điểm 4/2017; Cây có chiều cao dao động từ 5 - 6 cm.

Tiến hành kiểm tra đo vào các thời điểm: 1/2018; 4/2019 và 4/2020

Tổng số cây con gồm 35 cây giống 1 năm tuổi được ươm từ hạt tại VQG Hoàng Liên, tiến hành trồng 30 cây/3 công thức thí nghiệm (1, 2, 3) tại khu Vân sam fansipan phân bố từ 2.600 - 2.900 m và 5 cây tại khu vực không ghi nhận sự phân bố của Vân sam fansipan ở độ cao tương đương 2.900 m.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu về một số đặc điểm sinh học của phân loài Vân sam fansipan tại VQG Hoàng Liên

3.1.1. Đặc điểm hình thái phân loài Vân sam fansipan

Qua điều tra nghiên cứu và kế thừa tài liệu như: Cây cỏ Việt Nam [127]; Từ điển cây thuốc [128]; Sách đỏ Việt Nam [1]; Thông Việt Nam [5], có thể khái quát về đặc điểm hình thái phân loài *Abies delayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang, L.K.Fu & Nan Li) Rushforth như sau: Vân sam fansipan là thực vật thân gỗ có kích thước lớn, đường kính ở vị trí 1,3 m tính từ gốc có thể đạt tới 80 cm; chiều cao vút ngọn có thể cao tới 15m, tán dạng hình tháp, vỏ màu nâu xám, nhẵn lúc non, già nứt dọc sau bong thành mảng (hình 3.4, 3.5); cành nhẵn hay có lông màu vàng nâu, cành cấp 1 thường vuông góc với thân, vết lá rụng ít lồi. Lá mọc xoắn ốc, dày, dựng thẳng, hình dải, dài 1-3 cm, rộng khoảng 1mm, đỉnh hơi lõm, mặt trên màu xanh sẫm, mặt dưới có 2 dải lỗ khí màu trắng mốc, mép hơi có răng cưa và cuộn xuống dưới (hình 3.2, 3.6). Chồi non mọc tập trung đầu cành, số lượng từ 1-3 chồi/cành, hình dạng từ hình trứng tới hình nón, màu đỏ nâu, có nhựa trong, dài khoảng 8 mm có vảy bao bọc (hình 3.3). Nón đực mọc cô độc, nón cái gần như không có cuống, từ hình trứng đến hình trụ ngắn, đầu tròn, dài khoảng 8 -10 cm, đường kính 4 - 6 cm (hình 3.1), khi chín có màu vàng nâu mang nhiều vảy hạt; các vảy hạt ở phần giữa nón hình tam giác ngược hay hình quạt, dài 1,6 -1,7 cm, rộng 2,3 - 2,4 cm, tròn ở đầu, mép hơi gợn sóng; lá vảy áp sát vào mặt ngoài của vảy hạt, cao chỉ bằng nửa chiều cao của vảy, hình tim có đuôi, đầu lõm với một mũi dài khoảng 1 cm. Mỗi vảy có 2 hạt, gần hình tam giác, dài 1,2 -1,6 cm kể cả cánh; cánh màu nâu đỏ hoặc nâu đen, có gốc hình nêm, đầu cụt, mỗi nón có khoảng 140 -145 hạt (hình 3.8); Nón xuất hiện vào tháng 4 - 6, hạt chín vào tháng 10 -12, khi chín các vảy ở trên đỉnh nón rụng trước và các vảy gần cuống nón rụng sau cùng (đây là điểm khác biệt hoàn toàn so với các loài Thông khác, tức là vảy các loài Thông khác luôn dính cùng với cuống) (hình 3.9 a, b).



Hình 3.1 Cành mang nón cái Vân sam fansipan



Hình 3.2 đo kích thước lá non Vân sam fansipan



Hình 3.3 Chồi non Vân sam fansipan



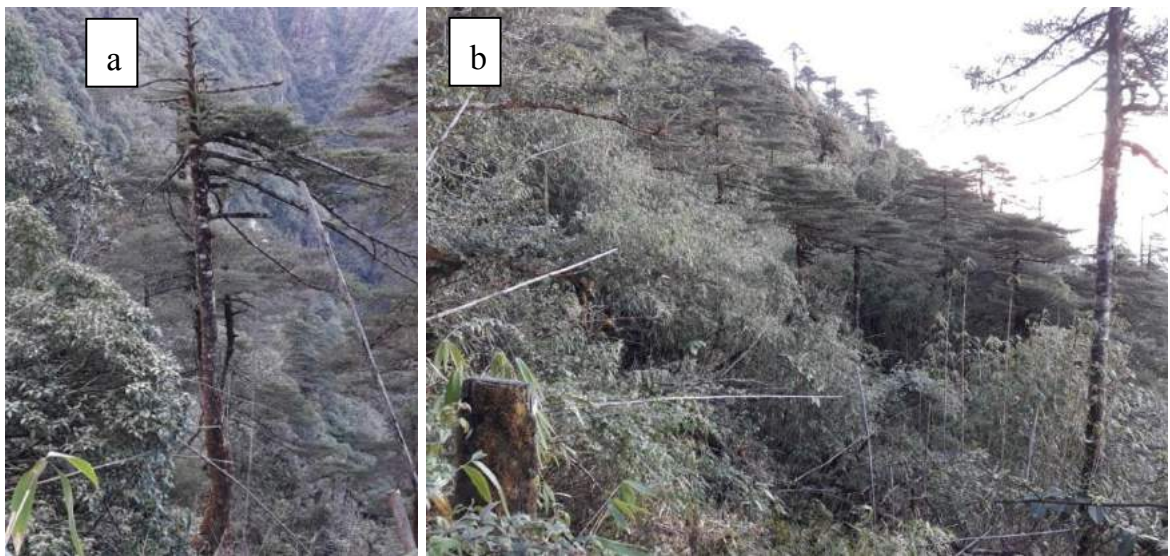
Hình 3.4 Thân Vân sam fansipan



Hình 3.5 Vỏ Vân sam fansipan



Hình 3.6 Mặt sau lá non Vân sam fansipan



Hình 3.7 a, b lần lượt cây Vân sam fansipan ở độ cao 2.636 và 2.937 m



Hình 3.8 Vây mang hạt Vân sam fansipan



Hình 3.9 a, b lần lượt là cuống Vân sam fansipan và nón Thông 2 lá dẹt

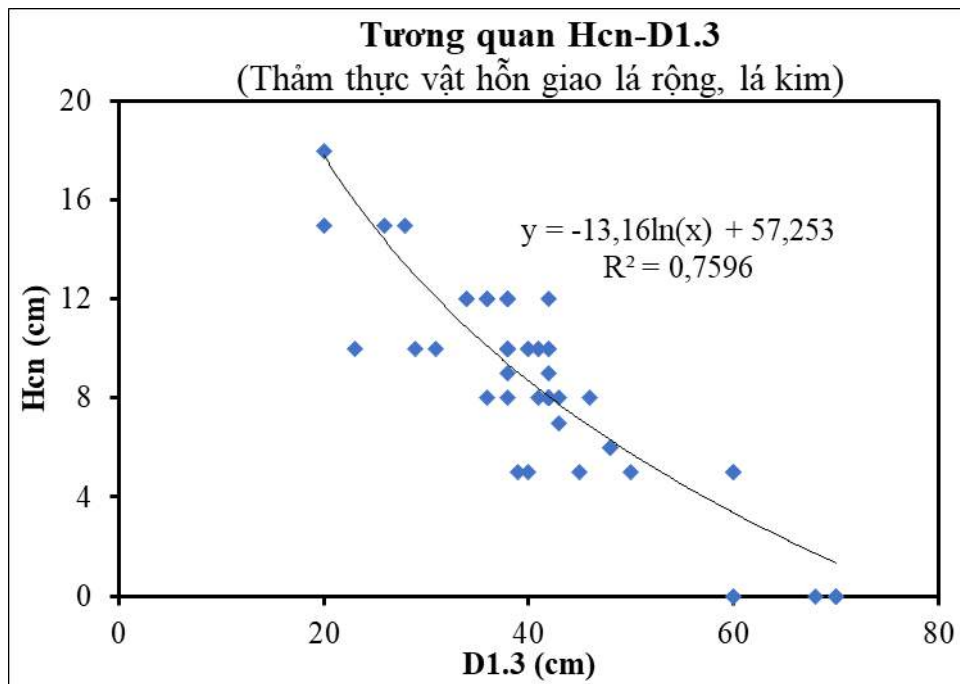
3.1.2. Kết quả nghiên cứu về đặc điểm ra chồi, ra nón của phân loài Vân sam fansipan

Sự sinh trưởng về chồi là sự biến đổi về lượng, sự ra nón chính là sự biến đổi về chất hay còn gọi là sự phát triển. Cần nghiên cứu về đặc điểm ra chồi, đặc điểm ra nón để có cơ sở cho việc đánh giá tình trạng sinh trưởng, phát triển của quần thể Vân sam fansipan tại các độ cao khác nhau trong khu vực nghiên cứu. Chiều dài chồi non là tiêu chí quan trọng trong việc đánh giá sức sinh trưởng của các loài thực vật nói chung và phân loài Vân sam fansipan nói riêng. Theo Cẩm Nang Ngành Lâm nghiệp (Chương tăng trưởng rừng) [129] thì sức sinh trưởng của cây tỷ lệ thuận với sự tăng trưởng về chiều cao vút ngọn (tức là chiều dài chồi ngọn hàng năm) [129]. Do vậy, để đánh giá thực trạng sự sinh trưởng của phân loài Vân sam fansipan cần phải xác định đặc điểm ra chồi (thời gian ra chồi non bắt đầu vào mùa xuân, từ tháng 2 đến hết tháng 5; nón đực, nón cái thường xuất hiện từ giữa tháng 5 và chín vào cuối tháng 12). Điều này giúp các nhà quản lý, các nhà khoa học có kế hoạch hợp lý để bảo tồn và phát triển chúng tốt hơn, hiệu quả hơn. Do phân loài này phân bố ở hai đai cao thuộc 2 kiểu thảm thực vật hoàn toàn khác nhau nên đặc điểm ra chồi (chiều dài chồi) có sự sai khác đáng kể, cụ thể như sau:

A. Đặc điểm ra chồi, ra nón của phân loài Vân sam fansipan tại đai 2.600 - 2.700 m (Thảm thực vật hỗn giao cây lá rộng, lá kim)

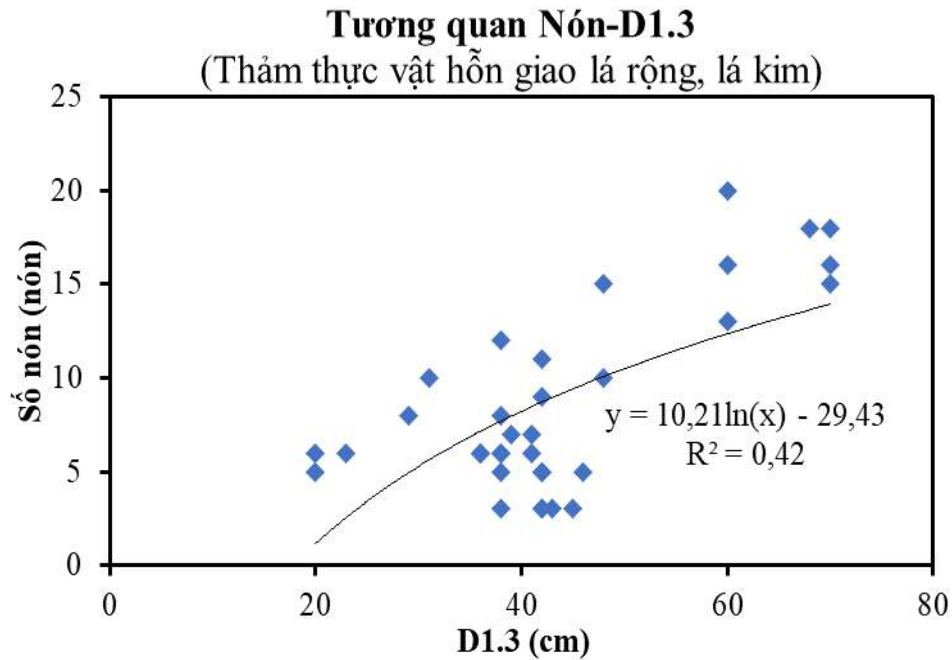
Kết quả điều tra (bảng 1, phụ lục) cho thấy, loài nghiên cứu có đường kính ngang ngực (D1.3) cao nhất đạt 70 cm, thấp nhất 20 cm và trung bình đạt 41,97 cm. Trong đó, chủ yếu là các cây có đường kính ngang ngực nằm trong khoảng từ 30 - 40 cm và từ 40 - 50 cm với tỷ lệ cao nhất tương ứng 41 & 35 % (24/59 và 21/59 cây), tiếp đến là nhóm cây có $D1.3 \leq 20$ cm có số cây

thấp nhất với 2/59 cây, xấp xỉ 2%; 3 nhóm 20 - 30; 50 - 60 và 60 - 70 cm chiếm tỷ lệ như nhau 7%; Chiều dài chồi ngọn và chồi cành trung bình của quần thể Vân sam fansipan phân bố hỗn giao với các cây lá rộng và lá kim ở độ cao 2.600 - 2.700 m lần lượt là 8,52 cm và 5,03 cm. Theo kết quả phân tích thống kê (Anova analysis) trong phần mềm excel, với độ tin cậy 97%, có thể khẳng định rằng: có sự phân hóa rõ rệt về giá trị chiều cao, đường kính ngang ngực, sự sinh trưởng chồi, tổng số nón và vị trí phân bố tự nhiên (OTC) của Vân sam fansipan trong thảm thực vật hỗn giao cây lá rộng và cây lá kim phân bố ở độ cao 2.600 - 2.700 m (hình 3.10).



Hình 3.10 Tương quan giữa sinh trưởng chồi ngọn (Hcn, cm) và cấp đường kính (D1.3cm) của quần thể Vân sam fansipan ở độ cao 2.600 - 2.700 m.

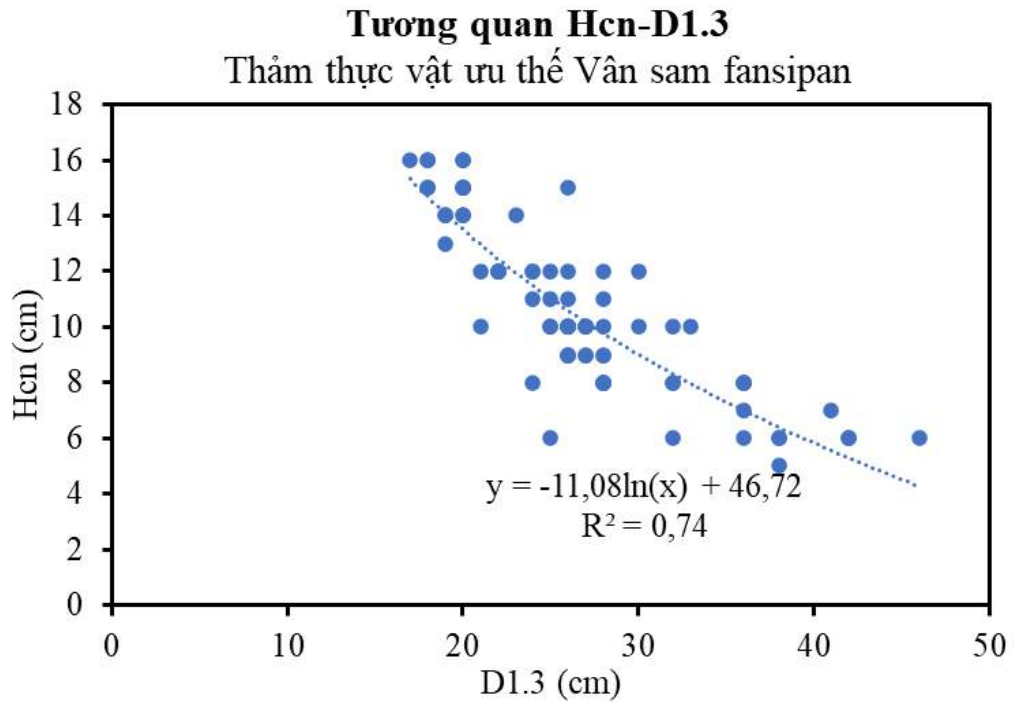
Hình 3.10 biểu thị mối tương quan giữa sự ra chồi non (chồi ngọn) và cấp đường kính (cấp tuổi), cho thấy sự tương quan này ($N_{cn}/D_{1.3}$) có mối tương quan nghịch có nghĩa là cây có đường kính càng lớn thì sự ra chồi càng kém hay nói cách khác là cây càng già thì sức sinh trưởng càng yếu và ngược lại những cây có cấp đường kính càng bé thì sức sinh trưởng càng lớn, điều này phù hợp với quy luật phát triển tự nhiên. Tuy nhiên, theo kết quả phân tích và biểu thị ở hình 3.11 về mối tương quan ($N_{nón}/D_{1.3}$) giữa sự ra nón và cấp đường kính ngang ngực ($D_{1.3}$, cm) thì mối tương quan này lại có sự khác biệt ngược lại tức là tỷ lệ thuận, cụ thể là những cây có cấp đường kính càng lớn thì sự ra nón càng nhiều (hình 3.11). Tuy nhiên, vẫn có nhiều cây Vân sam fansipan không thấy ra nón. Nguyên nhân như thế nào cần có những nghiên cứu tiếp theo.



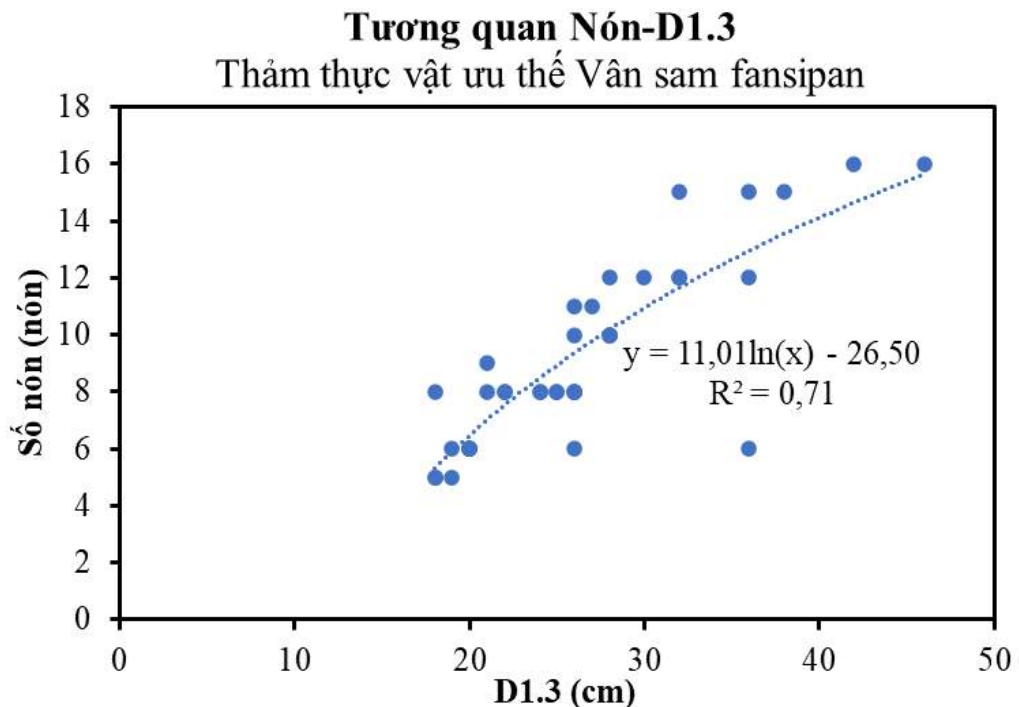
Hình 3.11 Tương quan giữa sự ra nón ($N_{\text{nón}}$) và đường kính ở vị trí 1,3m ($D_{1,3,cm}$) của quần thể Vân sam fansipan tại TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim ở độ cao 2.600 – 2.700 m

B. Đặc điểm ra chồi, ra nón của phân loài Vân sam fansipan tại đai 2.700 - 2.950 m (Thảm thực vật ưu thế cây lá kim -Vân sam fansipan)

Kết quả phân tích số liệu điều tra tại khu vực thảm thực vật ưu thế cây lá kim (Vân sam fansipan) cho thấy các cá thể có sự tương đồng về cấp đường kính, với giá trị trung bình 26,92 cm. Do đó sự sinh trưởng của các cá thể Vân sam fansipan tại khu vực này không có sự khác biệt lớn về sinh trưởng chồi ngọn và đạt mức trung bình 9,59 cm: sinh trưởng chồi cành đạt mức trung bình 5,98 cm (hình 3.12). Theo cách phân chia các nhóm thực vật có sự tăng trưởng khác nhau của Đỗ Xuân Lân [129], có thể khẳng định rằng sự tăng trưởng của quần thể Vân sam fansipan tại kiểu thảm này thuộc nhóm sinh trưởng chậm, bình quân sinh trưởng chiều cao từng năm $\Delta h < 0,3$ m hoặc sinh trưởng đường kính (ở vị trí 1,3 m) $\Delta d < 0,5$ cm. Mặt khác, sự phát triển của Vân sam fansipan tại khu vực thảm thực vật ưu thế cây lá kim từ độ cao 2.700 – 2.950 m thể hiện ở sự ra nón (hình 3.13).



Hình 3.12 Tương quan sự ra chồi ngọn và đường kính (Hcn/D1.3) của quần thể Vân sam fansipan ở độ cao 2.700 – 2.950 m



Hình 3.13 Tương quan sự ra nón và cấp đường kính (Nón/D1.3) của quần thể Vân sam fansipan ở độ cao 2.700 – 2.950 m

Ngoài ra, theo như kết quả nghiên cứu và phân tích tổng hợp (bảng 2 - phần phụ lục) thì sự ra nón của các cá thể Vân sam fansipan thể hiện không đồng đều, với 38/75 cây có nón chiếm 51%, trong đó số lượng nón trung bình của mỗi cá thể Vân sam fansipan là 5,6 nón. Tuy nhiên, tương quan giữa số lượng nón với cấp đường

kính ở vị trí 1,3 mét của quần thể Vân sam fansipan ở độ cao này có mối quan hệ tương đối chặt với hệ số tương quan $R^2=0,71$ (hình 3.13).



Hình 3.14 Nón Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis*)

3.2. Kết quả nghiên cứu về đặc điểm sinh thái của phân loài Vân sam fansipan

3.2.1. Đặc điểm địa hình khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan

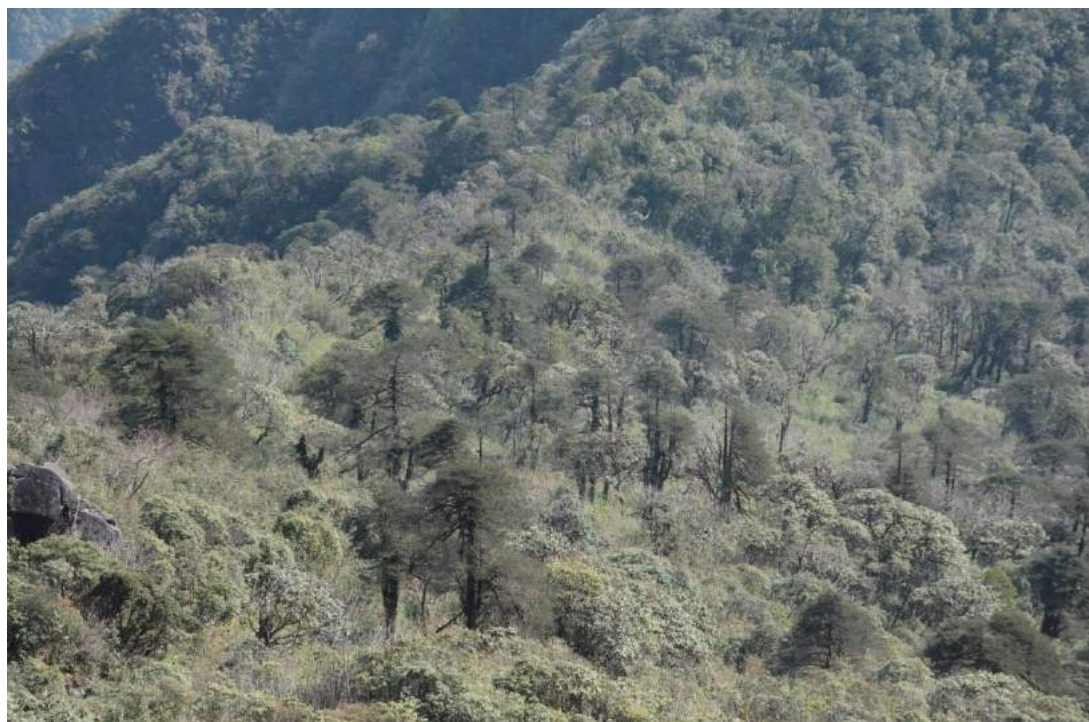
Việc hình thành nên thảm thực vật nói chung và phân loài Vân sam fansipan nói riêng chính là do một số nhân tố có vai trò chủ đạo như đai khí hậu, địa hình, điều kiện thổ nhưỡng và chính bản thân các loài thực vật xung quanh chúng tương tác lẫn nhau tạo nên sự cân bằng sinh thái. Cho đến nay mối quan hệ giữa đất và thảm thực vật đã được nghiên cứu nhiều. Điển hình như bảng phân loại rừng khu vực Bắc bộ của Việt Nam được A. Chevalier lần đầu tiên đưa ra, ở đó có 10 kiểu TTV khác nhau được phân biệt và khẳng định đất là nhân tố sinh thái đóng vai trò quyết định hình thành các kiểu TTV [130]. Một số quan điểm khác, đất có vai trò quan trọng cho sự phát triển các loài thực vật [131, 132]. Một số công trình khác nghiên cứu về ảnh hưởng dinh dưỡng và độ ẩm của đất tới khả năng tái sinh [68]. Kết quả của các nghiên cứu đã cho thấy, khả năng tái sinh của cây rừng bị ảnh hưởng bởi đặc điểm và loại đất, trong khi tổ thành rừng được quyết định bởi tính

chất vật lý, hóa học đất (các chất dinh dưỡng, pH, thành phần cơ giới và độ ẩm). Do đó, cần nắm được đặc điểm về địa hình, điều kiện thổ nhưỡng tại khu vực phân bố của Vân sam fansipan tại VQG Hoàng Liên làm cơ sở cho hoạt động bảo tồn và phát triển phân loài này trong tương lai.



Hình 3.15 Khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan

Nhìn bề mặt tưởng chừng như địa hình ở đây có độ dốc thoải thoải (hình 3.15), tuy nhiên khi khi chúng ta đặt chân khám phá thực tế thì hoàn toàn trái ngược với điều đó. Bởi vì, phía trên các hốc đá, vách đá cheo leo được ngụy trang bởi những lớp thảm tươi dày đặc (trúc phát trần) xen lẫn cây bụi (một số loài trong họ đỗ quyên như chi *Vacinium*, chi *Gautheria*). Do vậy, có thể nói địa hình khu vực nghiên cứu rất phức tạp, hiểm trở, bị chia cắt nhỏ bởi nhiều vách đá, vực sâu rất khó tiếp cận đến từng cá thể của phân loài Vân sam fansipan.



Hình 3.16 Khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan

Nhìn chung phân loài Vân sam fansipan phân bố ở những nơi có địa hình hiểm trở, vách đá cheo leo đến những nơi có sườn dốc thoải, cụ thể khu vực phân bố phân loài Vân sam fansipan từ 2.600 m đến 2.950 m; chúng mọc trên những sườn núi có độ dốc từ 17-45%; phân bố chủ yếu ở sườn phía Đông của đỉnh Fansipan (hình 3.15 & 3.16). Kết quả nghiên cứu đặc điểm địa hình nơi phân bố phân loài Vân sam được tổng hợp ở Bảng 3.1.

Bảng 3.1. Kết quả nghiên cứu điều kiện địa hình khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên

TT OTC	Độ dốc (%)	Độ cao (m)	Kinh độ - E	Vĩ độ - N
1.	17	2.601	103780786	22310810
4.	18	2.619	103780705	22310746
9.	18	2.638	103779155	22310157
2.	22	2.603	103780753	22310804
3.	25	2.608	103780741	22310785
8.	26	2.638	103779161	22310146
5.	32	2.63	103780642	22310741
7.	35	2.636	103779241	22310234
12.	35	2.849	10346676	2218377

TT OTC	Độ dốc (%)	Độ cao (m)	Kinh độ - E	Vĩ độ - N
15.	36	2.937	10346574	2218423
11.	38	2.642	103779303	22310221
14.	41	2.932	10346574	2218408
6.	42	2.633	103779230	22310222
10.	42	2.636	103779133	22310215
13.	45	2.866	10346671	2218368

3.2.2. Đặc điểm thổ nhưỡng tại khu vực phân bố tự nhiên của phân loài VSF

Đất là một hệ sinh thái rất năng động và có tính đa dạng sinh học cao vì đây vốn là nơi cư trú của hàng nghìn loài sinh vật/vi sinh vật khác nhau. Đất là môi trường sống và ảnh hưởng đến thành phần và hoạt động của các quần thể vi sinh vật đất. Đất canh tác rất giàu chất hữu cơ và chứa nhiều quần thể vi sinh vật hơn đất cát hoặc đất xói mòn. Trong môi trường sống này, vi khuẩn đất hô hấp, cạnh tranh thức ăn, hợp tác với nhau và phản ứng với những thay đổi trong môi trường sống của chúng. Thông thường, kích thước khác nhau của các thành phần trong đất và các lỗ rỗng của đất tạo nên tính đa dạng môi trường sống của vi sinh vật đất [131]. Kết cấu và loại đất có mối quan hệ qua lại với thành phần và quần thể vi sinh vật. Trong một số loại đất vi khuẩn tiết ra polysaccharid, gôm và glycoprotein, có tác dụng kết dính các khoáng chất trong đất với nhau, tạo cơ sở cho cấu trúc đất. Hơn nữa, sợi nấm và rễ thực vật liên kết các tập hợp đất với nhau tạo môi trường thuận lợi cho cây trồng phát triển. Rudakov [133] cho rằng mùn hoạt động đóng vai trò quan trọng trong việc gắn kết các hạt đất thành tập hợp. Các chất gắn kết đất là chủ yếu bao gồm (1) hợp chất của axit uronic, (2) protein vi khuẩn hoặc các sản phẩm từ các hoạt động dung dịch của chúng, và (3) dịch phân giải của vi nấm và / hoặc chất keo các hợp chất protein do vi khuẩn đất tổng hợp. Tương tự, sự đa dạng của quần xã vi sinh vật đất chịu ảnh hưởng của các thông số như nhiệt độ, độ ẩm và các biến đổi theo mùa [134], đất độ axit hoặc độ kiềm (pH) của đất, mức oxy và sự sẵn có của các chất dinh dưỡng. Độ phì nhiêu của đất có thể tương quan gián tiếp với toàn bộ sinh khối vi sinh vật cái mà phụ thuộc vào tính sẵn có và chất lượng của cacbon, được gọi là cacbon hữu cơ trong đất (SOC). Lượng SOC có sẵn trong độ sâu 1m ban đầu của đất nhiều hơn gấp hai đến ba lần lượng carbon có mặt trên mặt đất [135]. Vì vậy, hầu hết các khu vực hoạt động sinh học của đất được cho là phần trên 20–30 cm đất nơi có nhiều cộng đồng vi sinh vật trong đất do giàu SOC [136]. Khả năng cung cấp carbon thường giảm theo độ sâu, cũng như sinh khối vi sinh vật tổng thể. Ngoài ra, nhiều vi sinh vật tồn tại trong lớp đất mặt có nguồn cacbon phong phú, hơn là trong

lớp đất dưới. Chúng đặc biệt nhiều ở khu vực gần với rễ cây (được gọi là rhizosphere), nơi các tế bào bong ra và dịch tiết từ rễ cung cấp nguồn cacbon. Một điều đã được xác định rằng có sự giảm tỷ lệ giữa nấm trên vi khuẩn khi tăng chiều sâu. Ước tính có khoảng 3.104 loài vi khuẩn, 15.105 loài nấm, 6.104 loài tảo, 1.104 loài động vật nguyên sinh, 5.105 loài tuyến trùng, và 3.104 loài giun đất là có mặt trong đất [137].

3.2.2.1. Đặc điểm tính chất lý học của đất tại khu vực nghiên cứu

Nhìn chung, tại khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên ở độ cao từ 2.600 -2.700 m thảm thực vật thuộc kiểu hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim á nhiệt đới núi đất, đất tầng A có màu xám tro đến màu đen, có độ ẩm cao từ 70 - 90 %. Tầng này thường có bề dày từ 18 – 35 cm với hàm lượng mùn cao và có nhiều rễ cây, thành phần cơ giới dạng thịt nhẹ; đất tầng B có màu xám nâu đến màu vàng, bề dày tầng này dao động từ 22 – 75 cm, thịt nhẹ, màu sắc các tầng A, B có sự khác biệt đáng kể, rễ cây ở tầng B ít hơn ở tầng A (Hình 3.17). Còn tại khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên ở độ cao từ 2.700 – 2.950 m thảm thực vật thuộc kiểu ưu thế cây lá kim á nhiệt đới núi đá xen lẫn núi đất, đất tầng A có màu than bùn, độ ẩm rất cao trên 85%, bề dày tầng này dao động từ 25 – 53 cm; Đất tầng B thường có màu vàng chứa các hạt sỏi nhỏ vụn, sâu xuống nữa là đá phong hóa màu trắng xám, chúng tạo thành từng khối lớn (hình 3.18).



Hình 3.17 Mẫu diện đất ở độ cao 2.601m



Hình 3.18 Phẫu diện đất ở độ cao 2.937m

Thảo luận: Sự thay đổi về đai cao (trên 200m) đã ảnh hưởng không nhỏ tới sự hình thành đất tầng A và B. Trong hệ sinh thái rừng tự nhiên, càng lên cao bề dày đất tầng A càng có bề dày lớn [131]. Thực tế ở đai cao, phân loài Vân sam fansipan có xu hướng phát triển tốt hơn thể hiện qua số lượng cá thể hay nói khác là mật độ cá thể tính trên cùng một đơn vị diện tích và chúng trở thành phân loài ưu thế sinh thái của kiểu TTV ở độ cao từ 2.700 – 2.950 m.



Hình 3.19 TTV ưu thế Vân sam fansipan (2.850 m)



Hình 3.20 TTV hỗn giao lá rộng lá kim (2.616 m)

3.2.2.2. Tính chất hóa học của đất tại khu vực nghiên cứu

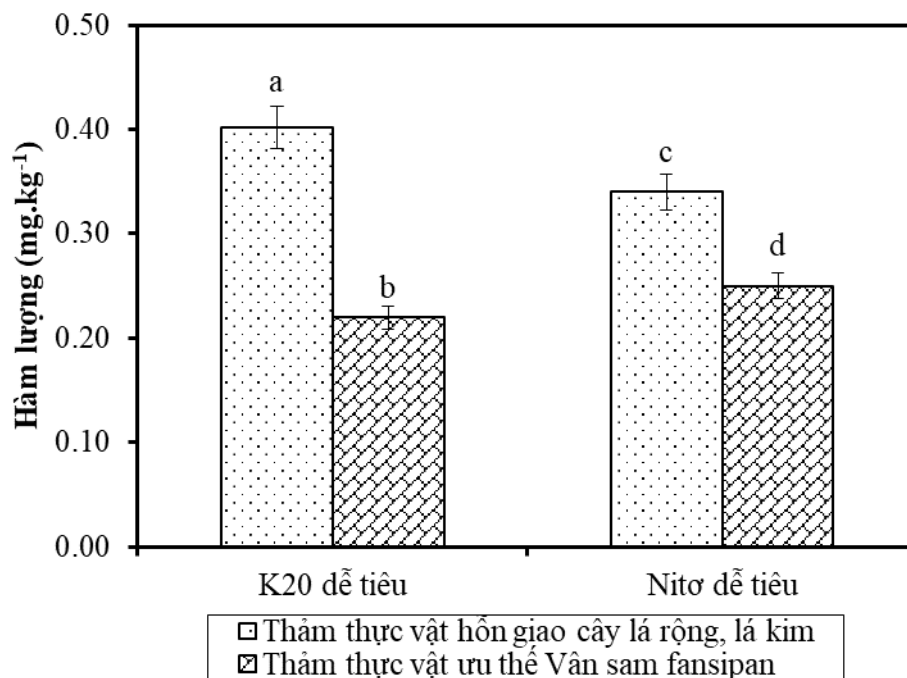
Tính chất hóa học của đất quyết định sự giàu, nghèo dinh dưỡng cho thực vật sinh trưởng và phát triển, điển hình như hàm lượng mùn trong đất, hàm lượng ni tơ, kali, photpho, ma giê, natri, can xi, sắt... mỗi một chỉ tiêu trong số chúng đều đóng vai trò nhất định trong sinh trưởng và phát triển của thực vật [131]. Đặc biệt, tầng A có vai trò quan trọng giúp cho cây gỗ tái sinh (thời kỳ bộ rễ của chúng chưa phát triển ăn sâu xuống các tầng dưới) sinh trưởng và phát triển [118]. Do vậy, một số tính chất lý hóa của đất tầng này được đề tài tập trung ưu tiên phân tích (bảng 3.2).

Bảng 3.2. Đặc điểm một số tính chất lý học, hóa học trong đất tầng A tại KVNC

Chỉ tiêu		Đơn vị	Kết quả phân tích trung bình	
			TTV hỗn giao cây LR, LK	TTV ưu thế VSF
pH		-	$5,01 \pm 0,05$	$4,13 \pm 0,15$
K ₂ O	Tổng số	mg/g	$0,42 \pm 0,11$	$0,35 \pm 0,05$
	Dễ tiêu	mg/g	$0,402 \pm 0,17$	$0,22 \pm 0,05$
Ni tơ	Tổng số	mg/g	$2,53 \pm 0,06$	$1,23 \pm 0,14$

Chỉ tiêu		Đơn vị	Kết quả phân tích trung bình	
			TTV hỗn giao cây LR, LK	TTV ưu thế VSF
	Dễ tiêu	mg/g	0,34 ± 0,03	0,25±0,15
P ₂ O ₅	Tổng số	%	0,13 ± 0,03	0,07 ± 0,01
	Dễ tiêu	%	0,02±0,01	0,01±0,01
Mùn		%	72,50 ± 5,64	34,08 ± 3,04
Ca ²⁺		mg/kg	199,80 ± 10,23	1502,80 ± 57,78
Fe ²⁺		mg/kg	1641,30 ± 60,56	3341,41 ± 107,59
Mg ²⁺		mg/kg	113,10 ± 4,38	322,40 ± 26,94

Qua bảng 3.2 trên cũng cho ta thấy rằng sự thay đổi về độ cao từ 2.600 m lên 2.950 m của cùng một khu vực phân bố, các chỉ tiêu về điều kiện thổ nhưỡng giúp cho thực vật sinh trưởng và phát triển có sự khác biệt đáng kể. Đặc biệt, ở kiểu thảm thực vật hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim các chỉ tiêu như kali, nitơ, phốt pho tổng số và dễ tiêu đều có xu hướng lớn hơn so với ở kiểu thảm thực vật ưu thế Vân sam fansipan, cụ thể:

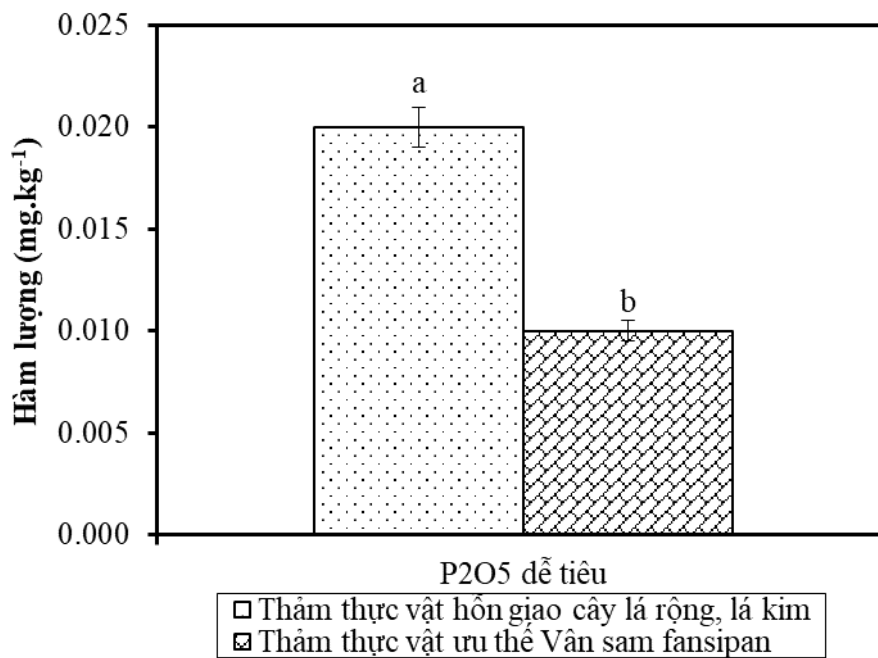


Hình 3.21 Hàm lượng kali, ni tơ dễ tiêu tại khu vực nghiên cứu

+ Đối với chỉ tiêu về kali dễ tiêu, giá trị trung bình ở đai 2.600 – 2.700 m và đai 2.700 – 2.950 m lần lượt là 0,402±0,17 mg/g và 0,22±0,05 mg/g (hình 3.21).

Kali có vai trò giúp cơ thể thực vật tăng sức chống chịu với khí hậu lạnh, chống chịu với sâu bệnh, đặc biệt giúp cây có hạt chắc, ít hạt lép. Kết quả phân tích này cho ta biết được hàm lượng kali dễ tiêu ở kiểu thảm thực vật hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim (đai thấp) xấp xỉ lớn hơn 2 lần giá trị của chỉ tiêu này ở kiểu thảm thực vật ưu thế Vân sam fansipan (đai cao).

+ Đối với chỉ tiêu Nitơ dễ tiêu, giá trị trung bình ở đai 2.600 – 2.700 m và đai 2.700 – 2.950 m lần lượt là $0,34 \pm 0,03$ mg/g và $0,25 \pm 0,15$ mg/g (hình 3. 21). Nhìn chung, ni tơ giúp thực vật tăng trưởng kích thước thân cây và lá (ra chồi non). Tức là hàm lượng ni tơ dễ tiêu càng lớn thì cây càng ra chồi non khỏe.

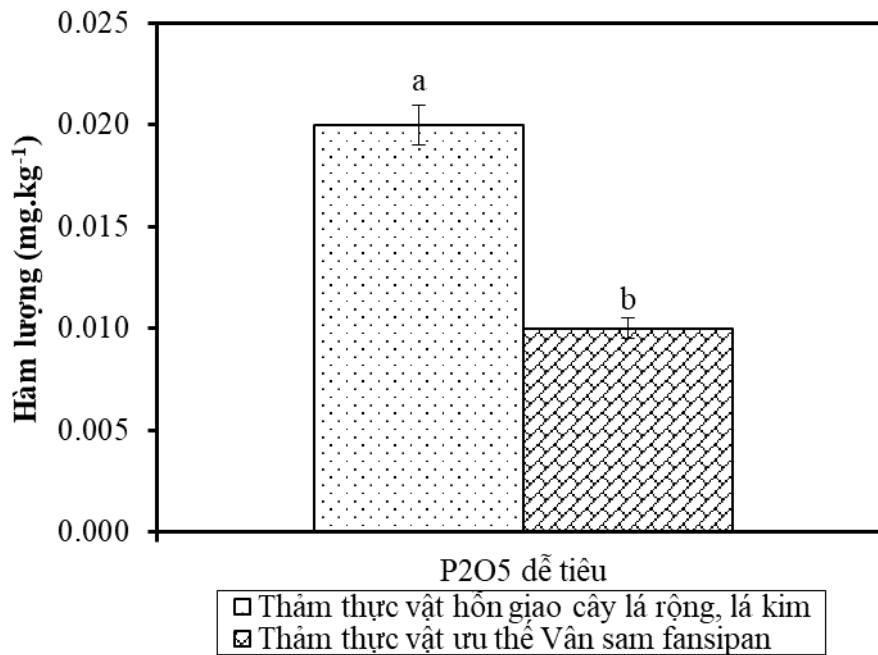


Hình 3.22 Hàm lượng photpho dễ tiêu tại khu vực nghiên cứu

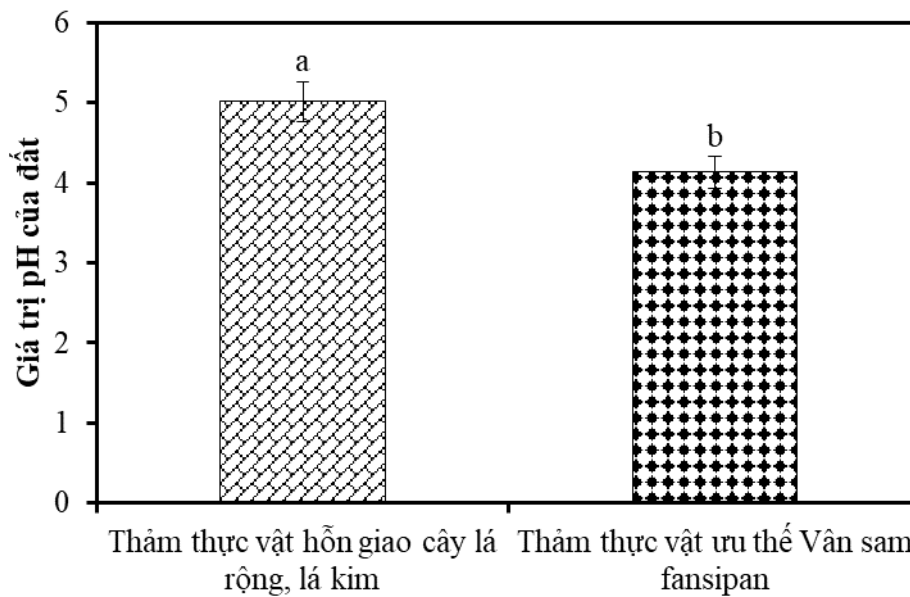
+ Hàm lượng lân (P_2O_5) cũng có sự thay đổi theo đai độ cao với các khoảng giá trị từ đai thấp (2.600 – 2.700 m) đến đai cao (2.700 – 2.950 m) lần lượt là: $0,02 \pm 0,01$ & $0,01 \pm 0,01$ (hình 3.22). Cũng tương tự các chỉ tiêu kali và ni tơ dễ tiêu, hàm lượng lân trong đất tầng A của đai cao có xu hướng nhỏ hơn ở đai thấp. Nguyên nhân dẫn tới hiện tượng này có lẽ ngoài một số nguyên nhân đã chỉ ra ở phần trên thì còn một nguyên nhân nữa là do đai cao có tầng thảm tươi (trúc phát trần) dày đặc, bộ rễ của chúng đa phần phân bố ở tầng A (hình 3. 17 & 3.18).

+ Độ pH (KCl) ở đai 2.600 – 2.700 m và đai 2.700 – 2.950 m giá trị trung bình lần lượt là $5,01 \pm 0,05$ và $4,13 \pm 0,15$. Điều này chứng tỏ càng lên cao thì đất càng chua tức là độ pH càng giảm có nghĩa là tính axit càng tăng. Theo Hà Quang Khải thì đất tại khu vực nghiên cứu thuộc nhóm đất chua nhiều và sẽ hạn chế sự

sinh trưởng và phát triển của thực vật, đặc biệt là giai đoạn cây tái sinh còn nhỏ (hình 3.23).



Hình 3.23 Hàm lượng photpho dễ tiêu tại khu vực nghiên cứu

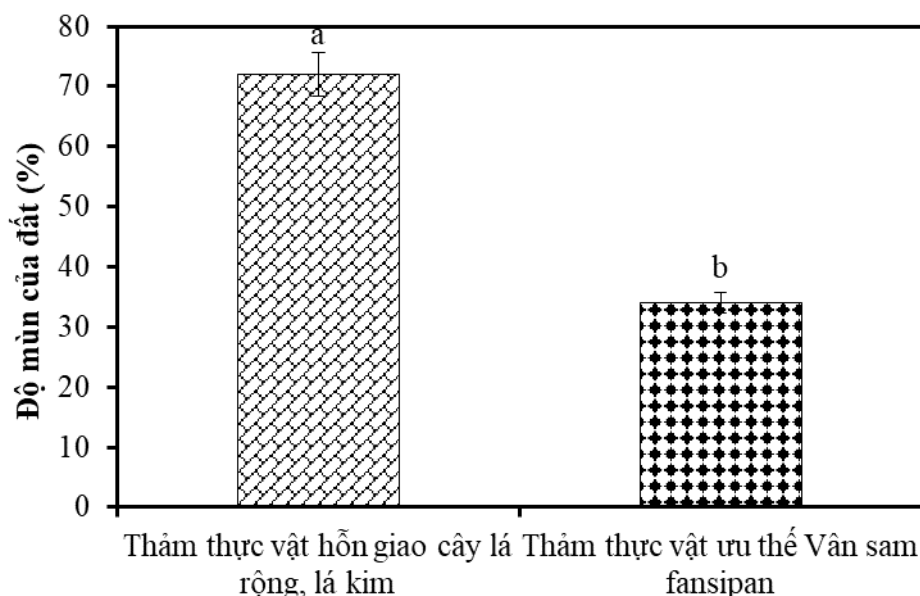


Hình 3.24 Độ pH (KCl) tại khu vực nghiên cứu

+ Hàm lượng mùn trong đất là chỉ tiêu quan trọng đánh giá độ phì nhiêu của đất. Các nhà khoa học đã nghiên cứu và ghi nhận rằng mùn hình thành không những là nguồn dự trữ giải phóng các chất dinh dưỡng để cung cấp cho cây trồng trong quá trình khoáng hóa mùn chậm chạp, mùn còn ảnh hưởng nhiều tới các tính chất lý hoá của đất, mùn tạo kết cấu bền vững, làm cho đất thoáng khí, xốp, tăng khả năng giữ nước của đất, tăng cường độ hoạt động vi sinh vật, tăng khả năng hấp phụ của đất.

Vì vậy, ở điều kiện nhiệt đới, yếu tố mùn vẫn là một chỉ tiêu quan trọng đánh giá độ phì đất và hàm lượng mùn là một tiêu chí để phân hạng đất. Ngoài thành phần các nguyên tố đa lượng, các axit mùn và các nguyên tố vi lượng có chứa trong mùn là các chất kích thích sinh trưởng đối với thực vật. Như vậy, hàm lượng mùn của đất càng cao thì đất càng giàu dinh dưỡng hay là có độ phì nhiêu càng lớn. Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng mùn trung bình ở kiểu TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim (đai thấp) và TTV ưu thế Vân sam fansipan (đai cao) lần lượt là $72.50 \pm 5.64 \%$; $34.08 \pm 3.04 \%$.

Hà Quang Khải, Đỗ Đình Sâm cho rằng nguyên nhân chính dẫn đến sự khác biệt về hàm lượng mùn giữa các đai là do ở đai cao, địa hình có độ dốc tương đối lớn gây nên sự rửa trôi bề mặt [118, 131]; điều này cũng được Thái Văn Trưng nghiên cứu và khẳng định ở đai thấp có sự đa dạng cây lá rộng nên tầng thảm mục dễ phân hủy hơn [106]. Ở đai cao nơi phân bố phân loài Vân sam fansipan (2.700 – 2.950 m) có tầng thảm mục rất lớn được tạo ra bởi tầng thảm tươi dày đặc (trúc phát trần) bị lụi đi phân thân phía trên mặt đất (hiện tượng khuy) hàng năm vào mùa đông, mọc lại vào mùa xuân năm sau [138]. Tuy nhiên thảm mục nhóm tre trúc, rất khó phân hủy, do đó hàm lượng mùn trong đất tầng A ở đai này thấp hơn đai thấp từ độ cao 2.600 – 2.700 m là sự tất yếu (hình 3.24).



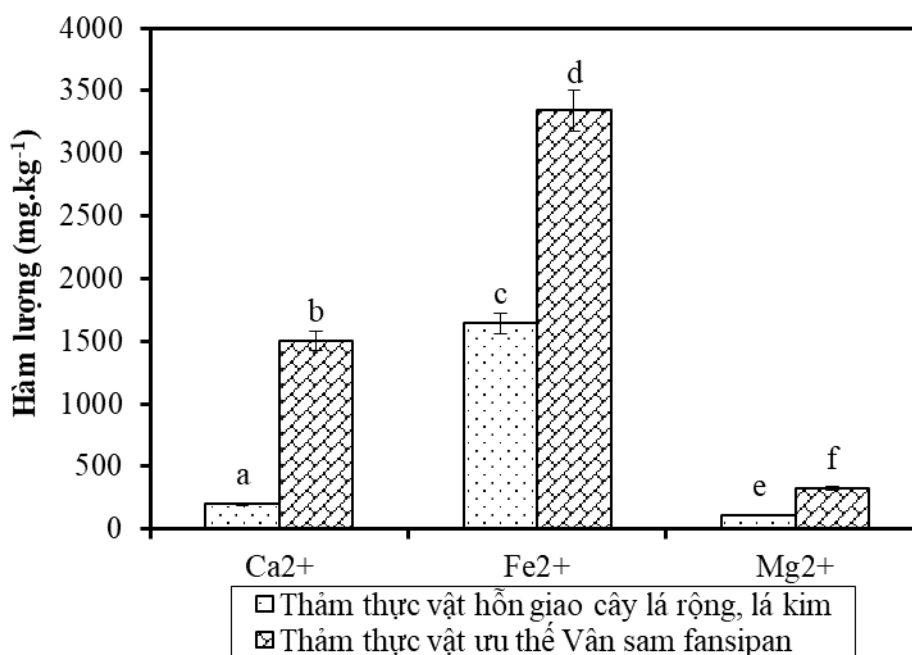
Hình 3.25 Hàm lượng mùn trong đất tầng A tại khu vực NC

+ Đối với chỉ tiêu Fe trao đổi ở đai 2.600 – 2.700 m và đai 2.700 – 2.950 m giá trị trung bình lần lượt là $1641,30 \pm 60,56$ mg/kg và $3341,41 \pm 107,59$ mg/kg. Điều này chứng tỏ hàm lượng sắt trao đổi tại khu vực phân loài Vân sam fansipan có xu hướng tăng lên theo đai cao, tức là càng lên cao thì hàm lượng sắt càng tăng (hình 3. 25). Hiện tượng này chủ yếu do quá trình phong hóa tầng đá mẹ đã được

Đỗ Đình Sâm, Hà Quang Khải nhận định [131, 118]. Hơn nữa, thông qua phẫu diện đất ở đai cao tại khu vực nghiên cứu gồm tầng A0, đến tầng A và tầng B mỏng, khuyết tầng C và đến tầng đá mẹ, chính vì vậy mà ở đai cao tầng A gần như liền kề với tầng đá mẹ. Điều này, chứng tỏ không những Sắt trao đổi ở đai cao tại khu vực nghiên cứu có hàm lượng lớn hơn so với đai thấp mà các chỉ tiêu như can xi trao đổi, Ma giê trao đổi cũng sẽ tương tự (hình 3.25).

+ Chỉ tiêu Can xi trao đổi (Ca^{2+}) cũng thuộc nhóm yếu tố vi lượng rất cần thiết cho sinh vật nói chung và thực vật nói riêng [136]. Kết quả nghiên cứu cho thấy (hình 3.25), hàm lượng can xi trao đổi ở đai cao ($1502,80 \pm 57,78$) lớn hơn đai thấp ($199,80 \pm 10,23$).

+ Tương tự (hình 3.25) chỉ tiêu Ma giê trao đổi (Mg^{2+}) tại khu vực phân bố tự nhiên của Vân sam fansipan cũng có giá trị lớn ở đai cao ($322,40 \pm 26,94$) và giá trị nhỏ ở đai thấp ($113,10 \pm 4,38$).



Hình 3.26 Hàm lượng, Fe^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} tại khu vực nghiên cứu

Thảo luận: Như vậy, kết quả điều tra, khảo sát và phân tích đã cho thấy đất tầng A tại khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên (2.600 – 2.950 m) thuộc loại đất chua nhiều (cấp pH từ 3 – 4,5), đây có thể là một trong số các nguyên nhân ngăn cản sự sinh trưởng của các cây tái sinh phân loài Vân sam fansipan khi chúng còn nhỏ bởi lẽ độ chua hoạt động (pH) của đất nếu cực đoan sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến cây trồng. Trao đổi dinh dưỡng của thực vật và đất chịu tác động của pH chủ yếu thông qua việc hầu hết các chất dinh dưỡng có chứa trong đất nằm dưới dạng các hợp chất vô cơ và độ pH của môi trường đất có ảnh hưởng quyết định độ tan của chúng. Mỗi loại chất chỉ có thể tan tốt trong một khoảng pH xác định nào

đó. Khả năng tan của các chất càng lớn, khả năng bị hấp phụ của nó bởi thực vật càng lớn. Ngoài ra, theo bảng độ tan của Hà Quang Khải [118] thì pH từ 5.5 – 8.0 mới có thể hòa tan các hợp chất chứa các nguyên tố như Nitơ, Phốt pho, Kali, Lưu huỳnh, Can xi, Magiê, Sắt, Đồng, Kẽm, vv... trong khi đó, độ chua (pH) tại khu vực nghiên cứu trung bình đạt từ $4,13 \pm 0,15$ – $5,01 \pm 0,05$. Điều này cũng phù hợp với kết quả phân tích của Trương Ngọc Kiểm [139] là càng lên cao chỉ số pH càng giảm tức là tính axit tăng.

3.2.3. Đặc điểm về cường độ của ánh sáng tại khu vực phân bố tự nhiên của VSF

Theo Odum E. P., các nhân tố sinh thái bao gồm ánh sáng, lượng mưa, nhiệt độ không khí, độ ẩm không khí, vv... Chúng có vai trò quan trọng, ảnh hưởng có tính quyết định đến sự sinh trưởng và phát triển của các loài thực vật nói chung và phân loài Vân sam fansipan nói riêng [140]. Trong các nhân tố sinh thái, ánh sáng đóng vai trò quyết định đến sự sinh tồn của chúng, nó là yếu tố không thể thiếu của quá trình quang hợp tổng hợp ATP năng lượng và giải phóng O_2 cho các sinh vật khác sinh sống, hấp thụ CO_2 làm sạch bầu không khí của môi trường sống [141].

Bên cạnh đó, lượng mưa hay cũng chính là nước (H_2O) cũng là nhân tố sinh thái quan trọng, tham gia vào quá trình quang hợp của thực vật, đồng thời giúp cây hòa tan các hợp chất quan trọng như kali, natri, canxi, magiê, sắt... để cây đứng vững

Tính ưu việt của phương pháp đo đồng thời 2 máy đo cường độ ánh sáng dưới tán thảm thực vật và ngoài chỗ trống gần đó để tính cường độ ánh sáng tương đối đã giúp tiết kiệm được nhiều thời gian đo mà độ chính xác luôn đảm bảo. Nếu đo cường độ ánh sáng tuyệt đối, chúng ta thường phải mất rất nhiều công sức đo vào các thời điểm khác nhau trong ngày, trong các mùa (Xuân, Hạ, Thu, Đông) mà kết quả vẫn không khả quan vì thời tiết thường hay thay đổi thất thường, thậm chí bị ảnh hưởng của biến đổi khí hậu. Bảng 3.3 trình bày kết quả đo và tính toán cường độ ánh sáng tại khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan.

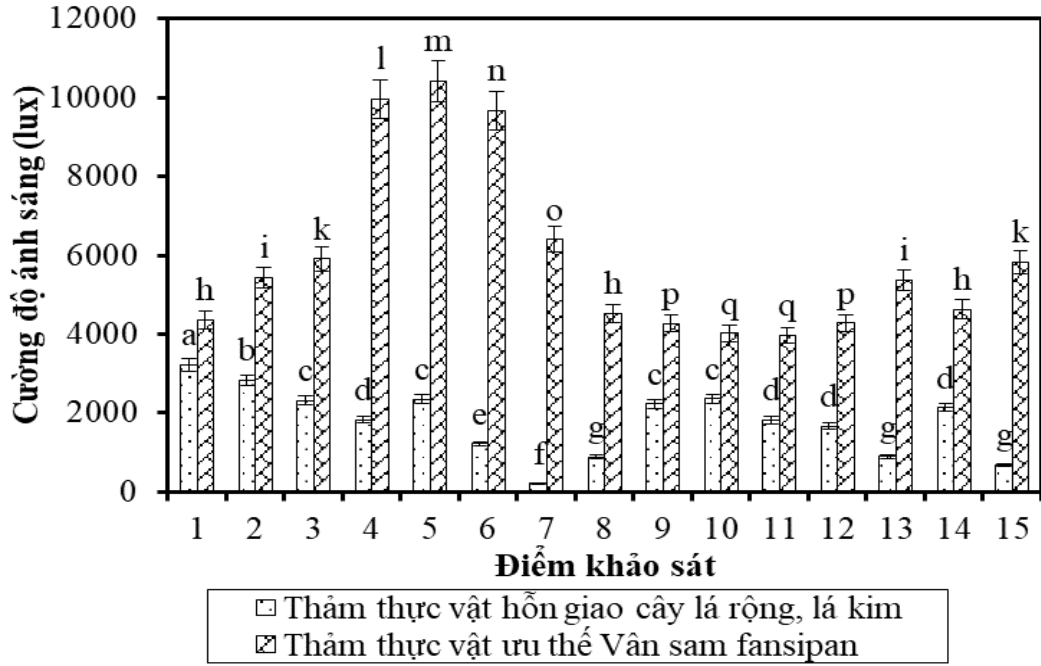
Bảng 3. 3. Cường độ ánh sáng tại khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên

Stt điểm	TTV hỗn giao cây lá rộng, lá kim (2.600 - 2.700 m)			TTV ưu thế Vân sam fansipan (2.700 -2.950 m)		
	Ldt (lux)	Lnt (lux)	Ltđ (%)	Ldt (lux)	Lnt (lux)	Ltđ (%)
1.	3223	60720	5,31	4359	14792	29,47
2.	2827	78096	3,62	5428	19323	28,09
3.	2314	70024	3,30	5903	15025	39,29

Stt điểm	TTV hỗn giao cây lá rộng, lá kim (2.600 - 2.700 m)			TTV ưu thế Vân sam fansipan (2.700 -2.950 m)		
	Ldt (lux)	Lnt (lux)	Ltđ (%)	Ldt (lux)	Lnt (lux)	Ltđ (%)
4.	1832	68922	2,66	9957	17948	55,48
5.	2348	72562	3,24	10400	18446	56,38
6.	1215	9034	13,45	9664	12506	77,27
7.	212	10361	2,05	6399	18686	34,24
8.	888	61504	1,44	4523	19215	23,54
9.	2236	70093	3,19	4271	19210	22,23
10.	2356	68520	3,44	4017	18662	21,53
11.	1822	71298	2,56	3965	17438	22,74
12.	1658	63418	2,61	4283	18223	23,50
13.	895	66589	1,34	5366	19329	27,76
14.	2135	70876	3,01	4630	19057	24,30
15.	689	65220	1,06	5826	22063	26,41
TB	1777	60482	3,49	5933	17995	34,15
	Std		16,36			2,95

Ghi chú: Ldt: Cường độ ánh sáng dưới tán thảm thực vật; Lnt (lux): cường độ ánh sáng ở khu vực ngoài trồng; Ltđ (lux): cường độ ánh sáng tương đối với Ltđ (%) = $Ldt/Lnt \times 100$; TB: Trung bình; Std: Sai tiêu chuẩn

Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy, cường độ ánh sáng tương đối trung bình (với độ tin cậy 95 %) trong thảm thực vật hỗn giao cây lá rộng, lá kim là 3,49 % (với độ lệch chuẩn là 2,95 %), thấp hơn rất nhiều so với cường độ ánh sáng tương đối trung bình trong thảm thực vật khu vực ưu thế cây lá kim là 34,15 % (độ lệch chuẩn 16,36 %). Điều này phù hợp với hiện trạng của các thảm thực vật tại khu vực nghiên cứu. Bởi lẽ, tại khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên và mọc lẫn với các loài cây lá rộng (thảm thực vật hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim), độ tàn che là 0,73 lớn hơn trong thảm thực vật ưu thế cây lá kim (Vân sam fansipan) với độ tàn che 0,36 (hình 3.26).



Hình 3.27. Cường độ ánh sáng tương đối ở tại khu vực nghiên cứu

3.2.4. Đặc điểm nhiệt độ không khí tại khu vực nghiên cứu

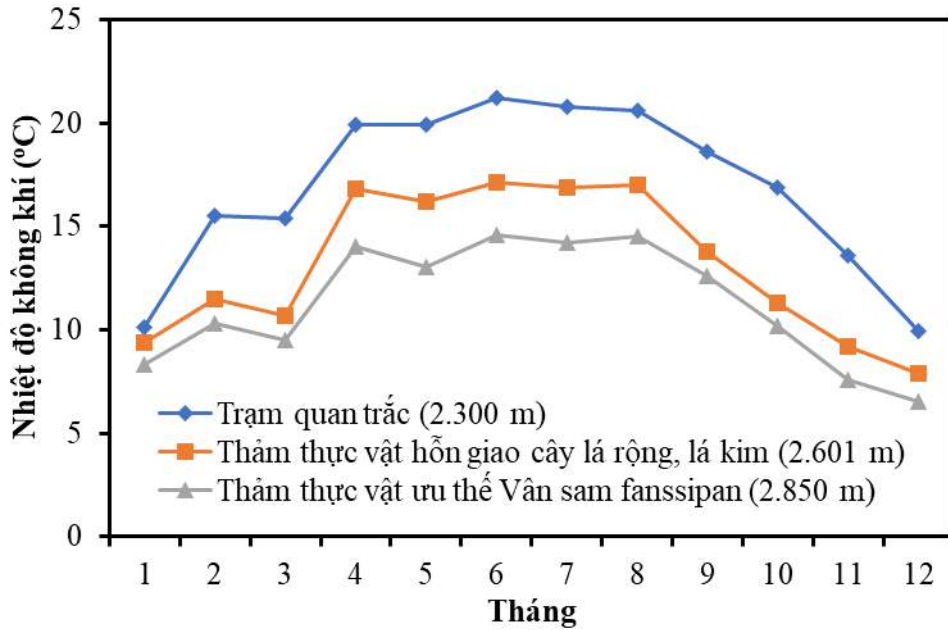
Nhiệt độ là một yếu tố sinh thái có vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất cũng như tổng hợp dinh dưỡng. Đối với loài thực vật, nếu nhiệt độ giảm xuống dưới 5 °C hoặc tăng quá 50 °C thì chúng rơi vào giai đoạn ngừng trao đổi chất [139]. Do vậy, yếu tố sinh thái này luôn được quan tâm trong công tác nghiên cứu bảo tồn và phát triển thực vật nói chung (bảng 3.4).

Bảng 3.4. Kết quả tổng hợp đặc điểm nhiệt độ không khí tại khu vực nghiên cứu.

STT	Trạm quan trắc (2.300 m)	TTV hỗn giao cây lá rộng, lá kim (2.601 m)	TTV ưu thế VSF (2.850 m)
	T ⁰ C	T ⁰ C	T ⁰ C
1	10,1	9,4	8,3
2	15,5	11,5	10,3
3	15,4	10,7	9,5
4	19,9	16,8	14
5	19,9	16,2	13
6	21,2	17,1	14,6

STT	Trạm quan trắc (2.300 m)	TTV hỗn giao cây lá rộng, lá kim (2.601 m)	TTV ưu thế VSF (2.850 m)
	T ⁰ C	T ⁰ C	T ⁰ C
7	20,8	16,9	14,2
8	20,6	17,0	14,5
9	18,6	13,8	12,6
10	16,9	11,3	10,2
11	13,6,	9,2	7,6
12	9,9	7,9	6,5
TB Năm	17,16	13,15	11,28
Std	4,03	3,53	2,90

Kết quả nghiên cứu cho ta thấy rằng, nhiệt độ không khí thấp nhất từ tháng 12 (7,9 °C) đến tháng 1 (9,4 °C) năm sau tại khu vực độ cao 2.601 m nơi phân loài Vân sam fansipan phân bố rải rác (khu vực thuộc TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim). Ở đai độ cao thấp hơn khoảng 300 m (tại khu vực 2.300 m) nhiệt độ thấp nhất cũng từ tháng 12 (9,9 °C) đến tháng 1 năm sau (10,1 °C). Còn ở đai cao hơn gần 300 m (tại khu vực ưu thế Vân sam fansipan ở độ cao 2.850 m) nhiệt độ thấp nhất từ tháng 11 (7,6 °C) đến tháng 12 (6,5 °C). Điều này cũng đã Trương Ngọc Kiểm khẳng định về sự thay đổi nhiệt độ theo đai cao. Tác giả cũng nhấn định rằng tại dãy Hoàng Liên Sơn thì càng lên cao nhiệt độ không khí càng giảm ở cùng một thời điểm nhất định [139]. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, tháng có nhiệt độ cao nhất là tháng 6 theo thứ tự tương ứng với các độ cao 2.300 m, 2.600 m và 2.850 m là 21,2⁰C, 17,1⁰C, 14,6⁰C.



Hình 3.28 Nhiệt độ không khí tại khu vực nghiên cứu

Thông qua hình 3.27 trên còn cho chúng ta thấy rằng, càng lên đai cao nhiệt độ càng giảm và ngược lại. Đây là sự thể hiện của quy luật tự nhiên (nhiệt độ giảm dần theo độ cao: cứ lên cao thêm 100 m nhiệt độ giảm từ 0,6 – 1 °C) [134].

3.2.5. Đặc điểm độ ẩm không khí tại khu vực nghiên cứu

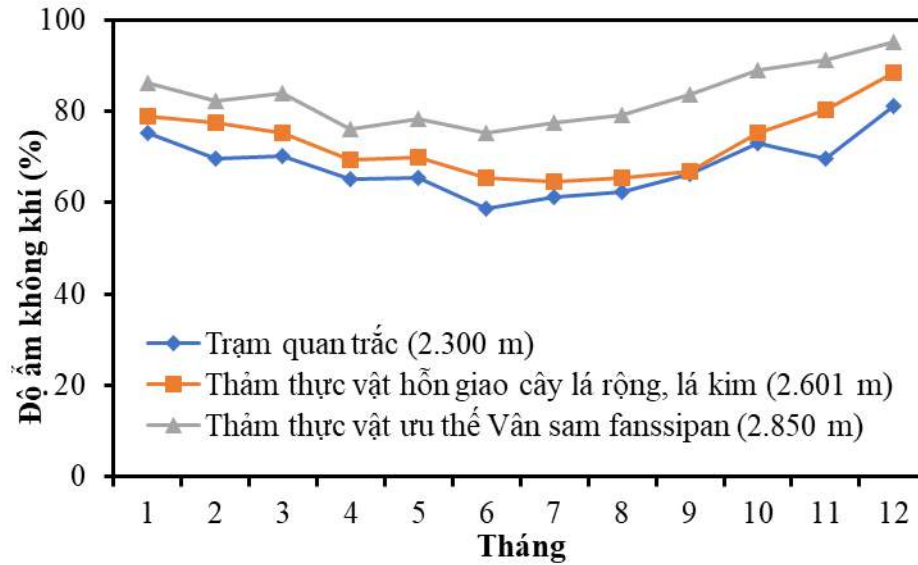
Ngoài nhiệt độ thì độ ẩm cũng là nhân tố sinh thái quan trọng ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất cũng như quá trình quang hợp của thực vật. Do đó việc nắm được đặc điểm của nhân tố sinh thái này tại khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên sẽ giúp cho chúng ta có cơ sở khoa học thực hiện công tác bảo tồn và phát triển phân loài này. Bảng 3.5 trình bày kết quả nghiên cứu về độ ẩm khu vực phân bố phân loài Vân sam fansipan.

Bảng 3.5. Kết quả nghiên cứu đặc điểm độ ẩm không khí tại khu vực nghiên cứu

Stt	Trạm quan trắc (2.300m)	TTV hỗn giao cây lá rộng, lá kim (2.601m)	TTV ưu thế VSF (2.850m)
	Wkk (%)	Wkk (%)	Wkk (%)
1	75,2	78,8	86,2
2	69,6	77,5	82,1
3	70,1	75,1	83,8
4	65,1	69,2	76,1

Stt	Trạm quan trắc (2.300m)	TTV hỗn giao cây lá rộng, lá kim (2.601m)	TTV ưu thế VSF (2.850m)
	Wkk (%)	Wkk (%)	Wkk (%)
5	65,3	69,8	78,2
6	58,8	65,3	75,3
7	61,3	64,6	77,6
8	62,2	65,5	79,2
9	66,3	66,7	83,5
10	73,1	75,2	88,9
11	69,6	80,2	91,1
12	81,2	88,4	95,2
Tổng	817,8	876,3	997,2
Trung bình	68,15	73,03	83,1
Std (sai số)	6,35	7,40	6,29
S²	40,28	54,78	39,51

Số liệu ở bảng 3.5 cho thấy, ở cùng thời điểm, độ ẩm không khí tăng dần theo độ cao, tức là tỷ lệ thuận. Độ ẩm không khí cao nhất vào cuối năm (tháng 12) cho đến đầu của năm sau (tháng 1). Thực tế cho thấy, trong một thời điểm tại khu vực thị trấn Sapa đang mưa, nhưng trên khu vực gần đỉnh Fansipan trời lại nắng ráo, tuy nhiên tại khu vực gần đỉnh Fansipan (khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên) thường xuyên có gió lớn kéo theo mây mù khoảng chừng 1-2 phút, có lẽ hiện tượng này là một trong các nguyên nhân chính làm cho độ ẩm không khí luôn ở mức cao so với các đai thấp hơn (hình 3.28).



Hình 3.29 Độ ẩm không khí tại khu vực nghiên cứu

Bên cạnh đó, với mức ý nghĩa ($P_value=0,0000175$) hay nói cách khác với độ tin cậy khoảng 99%, với giả thuyết (H_0) độ ẩm không khí (Wkk) theo các đai tại khu vực nghiên cứu là giống nhau. Nhưng theo kết quả phân tích trong bảng 3.6 phân tích thống kê với yếu tố (factor) là đai cao (ở 3 mức: 2300m; 2600m và 2900m) sau ta có $F=15,54993 > F_t = 3,284918$ nên giả thuyết trên bị bác bỏ. Do đó ta có thể khẳng định rằng với độ tin cậy khoảng 99%, Wkk có sự khác biệt theo các đai độ cao tại khu vực nghiên cứu (giá trị trung bình). Mặt khác, theo sự chênh lệch trung bình của các nhóm (between group với MS có giá trị là 697,5475) và sự chênh lệch trung bình của nội bộ nhóm (within group với MS có giá trị là 44,85856) có sự sai khác lớn. Điều này chứng tỏ, sự chênh lệch độ ẩm không khí theo các đai từ 2.300-2.600-2.900 m là rất đáng kể (hình 3.28).

Bảng 3.6. Kết quả phân tích thống kê về Wkk (%) tại khu vực nghiên cứu

Anova: Single Factor (Phân tích thống kê 1 yếu tố)					
SUMMARY					
Groups (Nhóm)	Count (đếm)	Sum (tổng)	Average (trung bình)	Variance (phương sai)	
(2300m)	12	817.8	68.15	40.28273	
(2600m)	12	876.3	73.025	54.78205	
(2900m)	12	997.2	83.1	39.51091	
ANOVA					

Anova: Single Factor (Phân tích thống kê 1 yếu tố)						
<i>Source of Variation</i> (nguồn của sự khác biệt)	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between (giữa) Groups (các nhóm)	1395.095	2	697.5475	15.54993	1.75E-05	3.284918
Within Groups (nhóm nội bộ)	1480.333	33	44.85856			
Total (tổng)	2875.428	35				

3.3. Đặc điểm cấu trúc thảm thực vật khu vực phân bố tự nhiên và đặc điểm tái sinh tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan

3.3.1. Đặc điểm cấu trúc thảm thực vật khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan

Thảm thực vật (TTV) được các nhà khoa học ví như lá phổi xanh của sự sống trên trái đất [106]. Nó không những điều hòa khí hậu (thải khí oxy và hấp thụ khí các bonic) mà còn có tác dụng điều tiết nguồn nước, chống khô hạn vào mùa khô và hạn chế lũ ống, lũ quét cho các vùng núi cao, đồng thời là mái nhà cho các sinh vật khác sinh sống [136]. Thảm thực vật là môi trường của mỗi loài thực vật trong đó. Do đó, để có cơ sở khoa học và thực tiễn cho việc bảo tồn và phát triển phân loài Vân sam fansipan tại vườn quốc gia Hoàng Liên, thì việc nghiên cứu đặc điểm cấu trúc TTV nơi Vân sam fansipan phân bố tự nhiên là rất cần thiết.

Qua điều tra khảo sát theo tuyến và kết hợp với khung phân loại TTV của UNESCO năm 1973 [120] ghi nhận được 02 kiểu thảm thực vật chính tại khu vực phân loài Vân sam fansipan phân bố tự nhiên, gồm: 01. Thảm thực vật hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim (Vân sam fansipan) á nhiệt đới trên núi đất tại đai từ 2.600 – 2.700 m; 02. Thảm thực vật ưu thế cây lá kim (Vân sam fansipan) á nhiệt đới trên núi đá xen lẫn đất tại đai từ 2.700 – 2.950 m, cụ thể như sau:

3.3.1.1. Đặc điểm cấu trúc thảm thực vật hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim á nhiệt đới núi đất ở độ cao 2.600 – 2.700 m

a. Đặc điểm cấu trúc tầng ưu thế sinh thái

Tầng ưu thế sinh thái có chiều cao (H_{vn}) trung bình khoảng 8,4 m và cấp đường kính ngang ngực (D_{1,3}) trung bình khoảng 24,3 cm, mật độ cây (N_{cây/ha})

trung bình khoảng 1.050 cây/ha, thành phần gồm một số loài chính sau: Dạ hợp (*Magnolia cathcartii* (Hook. f. & Thomson) Noot. Blumea), Chè rừng (*Camellia* sp.), Hồng quang (*Rhodoleia championii* Hook.f.), Đỗ quyên (*Rhododendron madennii* Richard B.), Hôi (*Illicium tsai* A.C. Smith.), Thích (*Acer campbelii* var. *fansipanense* Gagnep.), Thích chân ngắn (*Acer brevipes* Gagnep.), Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang, K.L Fu & Nan Li) Rushforth), Vối thuốc (*Schima wallichii* (DC.) Korth.), Sồi (*Lithocarpus* sp.), Dẻ gai (*Castanopsis* sp.), Súm (*Eurya distichophylla* Hermol.), Liên đàn (*Lindera* sp.), một số loài trong chi Ngũ gia bì (*Schefflera*), Tô hạp (*Altingia chinensis* (Benth.) Olive ex Hance.), Dung lá xoan (*Symplocos glauca* var. *epapiellata* Nooteb.), Vai (*Daphniphyllum chartaceum* Rosent.) và một số loài khác thuộc các họ như Magnoliaceae, Lauraceae, Theaceae, Aceraceae, Fagaceae, Sabiaceae, Rosaceae, Aralliaceae, Euphorbiaceae, Symplocaceae, Elaeocarpaceae. Tầm quan trọng của những loài chính ở tầng này được thể hiện bởi công thức tổ thành (gồm các loài có chỉ số IVI>5%): *Magnolia cathcartii* (10.01) + *Camellia* sp. (7.01) + *Acer campbelii* var. *fansipanense* (6.33) + *Rhodoleia championii* (5.33) + *Rhododendron madennii* (5.08) + *Schima wallichii* (5.00) + các loài khác (67.57). Kết quả chi tiết được trình bày ở bảng 3.7; hình 3.28 và hình 3.29 phản ánh phần nào đặc trưng của tầng ưu thế sinh thái này.

b. Đặc điểm cấu trúc tầng cây gỗ tái sinh dưới tán TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim.

Khi nghiên cứu phục hồi hệ sinh thái rừng tự nhiên, ngoài việc nghiên cứu về các loài cây gỗ ở tầng tán (tầng ưu thế sinh thái) thì rất cần quan tâm nghiên cứu về đặc điểm tái sinh dưới tán rừng của các loài cây gỗ. Tại kiểu TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim thành phần cây tái sinh gồm một số loài chính sau: *Magnolia cathcartii* (Hook. f. & Thomson) Noot., Blumea), *Rhodoleia championii* Hook.f., *Acer campbelii* var. *fansipanense* Gagnep., *Eurya distichophylla* Hermol., *Schima wallichii* (DC.) Korth., các loài trong chi Đỗ quyên (*Rhododendron*), các loài trong chi Ngũ gia bì (*Schefflera*), một số loài trong họ Dẻ (Fagaceae), họ Long não (Lauraceae), họ Hoa hồng (Rosaceae), họ Dung (Symplocaceae), họ Thanh phong (Sabiaceae).

c. Đặc điểm tầng cây bụi thảm tươi

Ở tầng cây bụi thảm tươi của kiểu TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim có xuất hiện một số loài trong chi Sơn sâm (*Vaccinium*); Hoàng liên gai (*Berberis wallichiana* DC.); Trúc (*Sinarundinria petelotii* (A. Camusa) A. Camus); Lắc kia bắc (*Slackia tonkinensis* Pellegr.); Báo xuân (*Chirita macrophylla* Wall.); Cao cẳng

(*Ophiopogon* sp.); Kim cang (*Smilax* spp.); Cói (*Carex* sp.); Râu ông lão (*Clematis* sp.); ngoài ra còn một số loài trong họ Mua (Melastomataceae); họ Hòa thảo (Poaceae); họ Hoa chuông (Campanulaceae); họ Đỗ Quyên (Ericaceae); họ Ban (Hypericaceae); họ Ngũ gia bì (Aralliaceae).

Ngoài ra trong thảm thực vật này còn có các loài thực vật ngoại tầng như dây leo, Rêu, Thông đất, Quyển bá bám ở các thân cây, vách đá.

Bảng 3.7. Danh sách các loài thực vật tầng ưu thế sinh thái của TTV hỗn giao cây lá rộng lá kim tại khu vực nghiên cứu ở độ cao 2.600 – 2.700 m.

STT	Tên		Độ phong phú tương đối (%)	Độ ưu thế tương đối (%)	Tần số tương đối (%)	IVI (%)
	Phổ thông	Khoa học				
1	Giỏi xanh	<i>Magnolia cathcartii</i> (Hook.f. & Thomson) Noot., Blumea 31(1): 88 (1985)	8,25	14,73	7,04	10,01
2	Chè rừng	<i>Camelia</i> sp.	5,71	11,10	4,23	7,01
3	Thích	<i>Acer brevipes</i> Gagnep.	6,83	6,56	5,63	6,34
4	Hồng Quang	<i>Rhodoleia championii</i> Hook.f.	5,87	6,60	3,52	5,33
5	Đỗ quyên	<i>Rhododendron madennii</i> Richard B.	5,24	3,68	6,34	5,09
6	Vối thuốc	<i>Schima wallichii</i> (DC.) Korth.	1,90	7,48	5,63	5,01
7	Sồi	<i>Lithocarpus</i> sp1.	5,24	5,73	3,52	4,83
8	Vân sam fansipan	<i>Abies delvayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i> (Q. P. Xiang, L.K. Fu & Nan Li) Rushforth	5,71	3,51	4,93	4,72
9	Đỗ quyên	<i>Rhododendron aboretum</i> var. <i>cinnamomum</i> (Wall.	5,24	3,22	5,63	4,70

STT	Tên	Độ phong phú	Độ ưu thế tương	Tần số tương	IVI (%)	
		ex G. Don) Lindl.				
10	Hồi núi	<i>Illicium tsai</i> L. C. Sm.	5,24	4,38	4,23	4,62
11	Súm	<i>Eurya distichophylla</i> Hermol.	5,08	2,07	6,34	4,50
12	Bùi	<i>Ilex</i> sp.	4,13	5,29	3,52	4,31
13	Sôi	<i>Lithocarpus</i> sp2.	5,56	2,37	4,93	4,29
14	Thích	<i>Acer campbellii</i> var. <i>fansipanense</i> Gagnep.	6,19	3,01	3,52	4,24
15	Đỗ quyên	<i>Rhododendron</i> sp.	5,08	2,79	3,52	3,80
16	Dẻ gai	<i>Castanopsis</i> sp.	2,38	3,54	3,52	3,15
17	Dẻ cau	<i>Quercus</i> sp.	2,22	3,80	2,11	2,71
18	Quế lá cứng	<i>Cinnamomum durifolium</i> Kost.	1,90	1,75	4,23	2,63
19	Ngũ gia bì	<i>Schefflera</i> sp1.	2,38	1,16	4,23	2,59
20	Ngũ gia bì	<i>Schefflera</i> sp2.	1,90	1,59	3,52	2,34
21	Sp	<i>Prunus</i> sp2.	2,38	1,31	2,82	2,17
22	Dung	<i>Symplocos</i> sp1.	1,90	1,75	2,11	1,92
23	Liên đàn	<i>Lindera</i> sp.	1,75	1,75	2,11	1,87
24	Đào núi	<i>Prunus</i> sp1.	1,90	0,81	2,82	1,85



Hình 3.30 TTV rừng hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim ở độ cao 2.625m



Hình 3.31 TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim ở độ cao 2.650 m

3.3.1.2. Đặc điểm cấu trúc thảm thực vật ưu thế cây lá kim á nhiệt đới trên núi đá xen lẫn đất ở độ cao 2.700-2.950 m

a. Đặc điểm tầng ưu thế sinh thái

Khu vực từ 2.700 – 2.950 m, kiểu thảm ưu thế cây lá kim (Vân sam fansipan) này mọc theo từng dải và từng đám không liên tục do vậy việc tiếp cận và cách lập ô tiêu chuẩn đại diện cũng phụ thuộc theo sự phân bố này. Kiểu thảm thực vật này gồm 2 tầng tán chính đó là tầng ưu thế sinh thái (hay còn gọi là tầng cây gỗ lớn) và tầng cây bụi thảm tươi, cụ thể như sau: Tầng ưu thế sinh thái gồm chủ yếu quần thể phân loài Vân sam fansipan mọc tập trung với nhau có chiều cao vút ngọn trung bình khoảng 6,4 m; đường kính bình quân ở vị trí 1.3 m khoảng 29,7 cm. Trong khi đó một số loài mọc cùng sau đây có chiều cao vút ngọn ($H_{tb_{vn}}$) khoảng 4,2 m, gồm một số loài sau: *Rhododendron valentinianum* Richard B.; *Rhododendron hainamense* Merr.; *Eurya distichophylla* Hermol.; *Camellia* sp.; ngoài ra còn gặp một vài loài trong họ Đỗ quyên (Ericaceae), họ Chè (Theaceae), họ Hồi (Illiaceae), họ Ngũ gia bì (Aralliaceae) (hình 3. 31); ngoài ra vai trò của các loài cây gỗ trong tầng ưu thế của kiểu TTV này còn được thể hiện qua công thức tổ thành các loài thực vật thuộc tầng ưu thế có chỉ số quan trọng (IVI%) $\geq 5\%$, cụ thể sau đây là công thức tổ thành tầng ưu thế sinh thái: *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (42,24%) + *Rhodoleia championii* (9,08%) + *Rhododendron madennii* (8,39%) + *Pieris formosa* (8,08%) + *Camellia* sp. (6,35%) + *Eurya distichophylla* (6,28%) + các loài khác (19,59%).



Hình 3.32 TTV ưu thế cây lá kim (Vân sam fansipan) á nhiệt đới

Thảo luận: Trương Ngọc Kiêm cho rằng quy luật đai cao xu hướng chung là càng lên cao thì chiều cao vút ngọn của các loài thực vật thân gỗ càng giảm xuống; số loài giảm và đồng thời số cá thể của mỗi quần thể tăng [139]. Kết quả nghiên cứu ở đây cũng thể hiện sự tương đồng với nhận định này (hình 3.31, bảng 3.8).

Bảng 3.8. Danh sách các loài thực vật tầng ưu thế sinh thái của TTV ưu thế Vân sam fansipan (ưu thế cây lá kim) ở độ cao 2.700 – 2.950 m

STT	Tên		Độ phong phú tương đối (%)	Độ ưu thế tương đối (%)	Tần số tương đối (%)	IVI (%)
	Phổ thông	Khoa học				
1	Dung	<i>Symplocos glauca</i> Nooteb var. Epapiela.	2,13	2,10	5,68	3,31
2	Chè rừng	<i>Camelia sp.</i>	6,93	5,29	6,82	6,35
3	Thích	<i>Acer brevipes</i> Gagnep.	4,00	1,61	3,41	3,01
4	Hồng Quang	<i>Rhodoleia championii</i> Hook.f.	9,33	9,95	7,95	9,08
5	Đỗ quyên	<i>Rhododendron madennii</i> Richard B.	8,80	2,72	13,64	8,39
6	Vân sam fansipan	<i>Abies delvayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i> (Q.P. Xiang, L.K.Fu & Nan Li) Rushforth.	45,87	63,80	17,05	42,24
7	Đỗ quyên	<i>Rhododendron aboretum</i> var. <i>cinnamomum</i> (Wall. Ex G. Don) Lindl.	4,27	3,56	6,82	4,88
8	Hồi núi	<i>Illicium tsai</i> L. C. Sm.	2,13	2,10	5,68	3,31
9	Súm	<i>Eurya distichophylla</i> Hermol.	5,60	3,02	10,23	6,28

STT	Tên		Độ phong phú tương đối (%)	Độ ưu thế tương đối (%)	Tần số tương đối (%)	IVI (%)
	Phổ thông	Khoa học				
10	Húng	<i>Pieris formosa</i> (Wall.) D. Don	6,13	4,47	13,64	8,08
11	Ngũ gia bì	<i>Schefflera</i> sp1.	2,13	0,76	3,41	2,10
12	Đào núi	<i>Prunus</i> sp1.	2,67	0,61	5,68	2,98

b. Đặc điểm tầng cây gỗ tái sinh

Tuy rằng tại kiểu TTV này, phân loài Vân sam fansipan chiếm ưu thế ở tầng ưu thế sinh thái (chỉ số quan trọng - IVI% là 42%), cây con của nó lại rất ít gặp ở tầng cây gỗ tái sinh, chủ yếu bắt gặp một số loài trong chi Đỗ quyên (*Rhododendron*); Chè rừng (*Camellia* sp.); Ngũ gia bì (*Schefflera* sp.); ngoài ra còn có thể bắt gặp một số loài trong họ Đỗ quên (Ericaceae), họ Chân danh (Celastraceae), họ Chè (Theaceae). Tầng này có chiều cao trung bình 1,2 m.

c. Đặc điểm tầng cây bụi thảm tươi



Hình 3.33 Đặc điểm cây bụi thảm tươi dưới tán TTV ưu thế Vân sam fansipan

Tầng cây bụi thảm tươi trong kiểu TTV này bao gồm chủ yếu là Trúc lùn (*Sinarundianria petelotii* (A. Camusa) A. Camus) chiếm 85%, trung bình chiều cao đạt 0,7m; độ che phủ 95%; thi thoảng gặp một số loài trong chi Ngáy (*Rubus*); một số loài trong chi Chân danh (*Euonymus*); một số loài trong chi Hoàng liên (*Berberis*); một số loài trong chi *Vaccinum*; một số loài trong chi Cói (*Carex*); một số loài trong họ Poaceace (hình 3.32 3.33).



Hình 3.34 Đặc điểm cây bụi thảm tươi dưới tán TTV ưu thế Vân sam fansipan

Trong nghiên cứu mối quan hệ tương hỗ giữa các loài thực vật xung quanh loài nghiên cứu, thì việc xác định loài thân thuộc là công việc rất phổ biến của các công trình nghiên cứu về sinh học bảo tồn. Trước đây, các tác giả thường sử dụng phương pháp của Sorencen, phương pháp này được Nguyễn Nghĩa Thìn tổng hợp thành tài liệu nghiên cứu đa dạng sinh vật [117]. Tuy nhiên, phương pháp này chỉ xác định được khả năng có mặt của các loài trong một khu vực mà không xác định được vai trò của chúng trong khu vực nghiên cứu. Do đó trên cơ sở xác định loài ưu thế thông qua chỉ số quan trọng (IVI, %), ta lựa chọn những loài thân thuộc của phân loài Vân sam fansipan là những loài vừa có mặt ở cả hai đai (cao và thấp) và đồng thời có giá trị IVI lớn 5% (tức là những loài tham gia vào công thức tổ thành) (bảng 3.9).

Bảng 3.9. Kết quả tổng hợp các chỉ số của các loài thực vật tầng ưu thế của cả 2 kiểu TTV tại KVNC

Loài	Độ phong phú tương đối (%)		Độ ưu thế tương đối (%)		Tần số tương đối (%)		Chỉ số quan trọng IVI (%)	
	A	B	A	B	A	B	A	B
1. <i>Abies delvayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i> (Q.P. Xiang, L.K. Fu & Nan Li) Rushforth	5,71	45,87	3,51	63,8	4,93	17,05	4,72	42,24
2. <i>Acer brevipes</i> Gagnep.	6,83	4	6,56	1,61	5,63	3,41	6,34	3,01
3. <i>Camellia</i> sp.	5,71	6,93	11,1	5,29	4,23	6,82	7,01	6,35
4. <i>Eurya distichophylla</i> Hermol.	5,08	5,6	2,07	3,02	6,34	10,23	4,5	6,28
5. <i>Illicium tsai</i> L.C. Sm.	5,24	2,13	4,38	2,1	4,23	5,68	4,62	3,31
6. <i>Prunus</i> sp1.	1,9	2,67	0,81	0,61	2,82	5,68	1,85	2,98
7. <i>Rhododendron aboretum</i> var. <i>cinnamomum</i> (Wall. Ex G. Don) Lindl.	5,24	4,27	3,22	3,56	5,63	6,82	4,7	4,88
8. <i>Rhodoleia championii</i> Hook.f.	5,87	9,33	6,6	9,95	3,52	7,95	5,33	9,08
9. <i>Rhododendron maddenii</i> Richard B.	5,24	8,8	3,68	2,72	6,34	13,64	5,09	8,39
10. <i>Schefflera</i> sp1.	2,38	2,13	1,16	0,76	4,23	3,41	2,59	2,1
11. <i>Magnolia cathcartii</i> (Hook.f. & Thomson) Noot.,	8,25	-	14,73	-	7,04	-	10,01	-

Loài	Độ phong phú tương đối (%)		Độ ưu thế tương đối (%)		Tần số tương đối (%)		Chỉ số quan trọng IVI (%)	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Blumea 31(1): 88 (1985)								
12. <i>Schima wallichii</i> (DC.) Korth.	1,9	-	7,48	-	5,63	-	5,01	-
13. <i>Lithocarpus</i> sp1.	5,24	-	5,73	-	3,52	-	4,83	-
14. <i>Ilex</i> sp.	4,13	-	5,29	-	3,52	-	4,31	-
15. <i>Lithocarpus</i> sp2.	5,56	-	2,37	-	4,93	-	4,29	-
16. <i>Acer campbelii</i> var. <i>fansipanense</i> Gagnep.	6,19	-	3,01	-	3,52	-	4,24	-
17. <i>Rhododendron</i> sp.	5,08	-	2,79	-	3,52	-	3,8	-
18. <i>Castanopsis</i> sp.	2,38	-	3,54	-	3,52	-	3,15	-
19. <i>Quercus</i> sp.	2,22	-	3,8	-	2,11	-	2,71	-
20. <i>Cinnamomum durifolium</i> Kost.	1,9	-	1,75	-	4,23	-	2,63	-
21. <i>Schefflera</i> sp2.	1,9	-	1,59	-	3,52	-	2,34	-
22. <i>Prunus</i> sp2.	2,38	-	1,31	-	2,82	-	2,17	-
23. <i>Symplocos</i> sp1.	1,9	-	1,75	-	2,11	-	1,92	-
24. <i>Symplocos glauca</i> Nooteb var. <i>epapiela</i> .	-	2,13	-	2,1	-	5,68	-	3,31
25. <i>Pieris formosa</i> (Wall.) D. Don	-	6,13	-	4,47	-	13,64	-	8,08

Kết quả phân tích các chỉ số trong bảng 3.9 trên cho chúng ta thấy, với mức ý nghĩa ($P_value \leq 0.005$) vai trò của các loài thực vật trong tầng ưu thế sinh thái có sự khác nhau đáng kể tại mỗi kiểu TTV thuộc khu vực nghiên cứu. Trong số khoảng 25 loài chiếm tầng ưu thế, thì có khoảng 10 loài gi nhận sự có mặt ở cả 2 kiểu TTV. Tuy nhiên, mức độ vai trò thể hiện qua chỉ số quan trọng (IVI) trong 10 loài này có giá trị khác nhau hoàn toàn, đặc biệt có 6 loài có chỉ số $IVI > 5\%$, gồm: 1. *Abies delvayi* subsp. *fansipanensis*; 2. *Camellia* sp.; 3. *Eurya distichophylla*; 4. *Rhodoleia championii*; 5. *Rhododendron maddenii*; 6. *Pieris formosa*.

Điều này cho chúng ta biết được 6 loài không những có vai trò quan trọng tại khu vực phân bố tự nhiên của Vân sam fansipan mà nó còn thể hiện sự thân thuộc với nhau. Kết quả phân tích về chỉ số quan trọng (IVI) không những chứng minh vai trò quan trọng của các loài cây gỗ tham gia vào cấu trúc tầng ưu thế của TTV mà còn biểu thị mức độ thân thuộc của các loài trong các kiểu thảm thực vật với nhau (bảng 3.10).

Bảng 3.10. Bảng tổng hợp các loài thực vật quan trọng tại khu vực Vân sam fansipan phân bố tự nhiên

STT	Tên loài		Tên họ	IVI (%) TB
	Phổ thông	Khoa học		
1.	Vân sam fansipan	<i>Abies delvayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i> (Q.P. Xiang, L.K. Fu & Nan Li) Rushforth	Pinaceae	23,48
2.	Hồng quang	<i>Rhodoleia championii</i> Hook.f.	Hamameliaceae	7,205
3.	Đỗ quỳên	<i>Rhododendron maddenii</i> Richard B.	Ericaceae	6,74
4.	Chè rừng	<i>Camellia</i> sp.	Theaceae	6,68
5.	Súm	<i>Eurya distichophylla</i> Hermol.	Theaceae	5,39
6.	Đỗ quỳên	<i>Rhododendron aboretum</i> var. <i>cinnamomum</i> (Wall. Ex G. Don) Lindl.	Ericaceae	4,79
7.	Thích	<i>Acer brevipes</i> Gagnep.	Aceraceae	4,675
8.	Hồi	<i>Illicium tsai</i> L. C. Sm.	Illiciaceae	3,965

STT	Tên loài		Tên họ	IVI (%) TB
	Phổ thông	Khoa học		
9.	Đào rừng	<i>Prunus</i> sp1.	Rosaceae	2,415
10.	Ngũ gia bì	<i>Schefflera</i> sp1.	Araliaceae	2,345

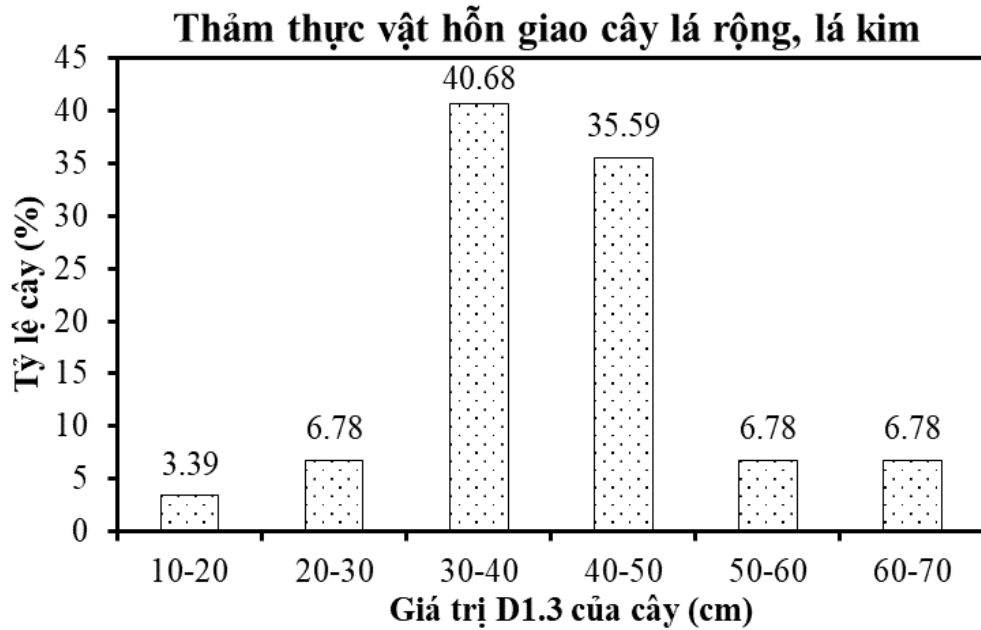
3.3.1.3. Đặc điểm phân bố cây theo cấp đường kính của các quần thể Vân sam fansipan tại VQG Hoàng Liên

Kết quả điều tra (bảng 3.11) và phân tích (hình 3.35 & 3.36) cho thấy, sự phân bố về số lượng cá thể của các quần thể Vân sam fansipan theo cấp đường kính ngang ngực ($D_{1.3}$, cm) ở hai kiểu thảm nói trên, cụ thể ở kiểu thảm thực vật ưu thế cây lá kim (đai cao 2.700 – 2.950 m) có 3 cấp đường kính, trong đó mật độ cây tập trung ở cấp đường kính 20 – 30cm (43 cây/75 cây điều tra, chiếm 58%; tại kiểu này không ghi nhận cây có cấp đường kính từ 50 – 60 cm & 60 - 70 cm; trong khi đó, ở kiểu TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim (đai thấp từ 2.600 – 2.700 m) bao gồm 5 cấp đường kính; trong đó mật độ cây tập trung ở cấp đường kính từ 30 – 40 cm & từ 40 – 50 cm, chiếm lần lượt là 40,68 % & 35,59 %). Qua đây ta có thể khẳng định rằng cây Vân sam fansipan có cấp đường kính 70 cm là những cây già nhất tại khu vực nghiên cứu và chỉ ghi nhận tại đai thấp 2.600 – 2.700 m. Ngoài ra, thông qua dữ liệu về phân bố mật độ theo cấp đường kính của phân loài Vân sam fansipan (bảng 3.11), là cơ sở vững chắc cho dự đoán chiều hướng phát triển của các quần thể này trong tương lai từ đó giúp chúng ta có kế hoạch hợp lý trong công tác bảo tồn và phát triển chúng.

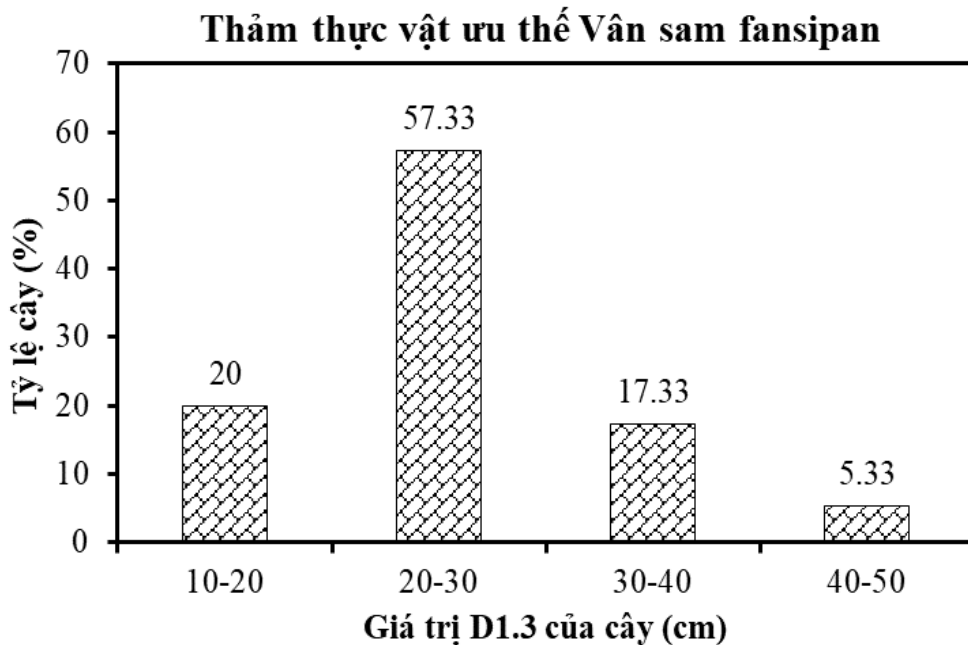
Bảng 3.11. Phân bố cây Vân sam fansipan theo cấp đường kính ($D_{1.3}$, cm)

$D_{1.3}$ cm	TTv Hỗn giao LR, LK (2.600 – 2.700 m)		TTV ưu thế VS (2.700 - 2.950 m)	
	N_cây	Tỷ lệ %	N_cây	Tỷ lệ %
10-20	2	3,39	15	20
20-30	4	6,78	43	57,33
30-40	24	40,68	13	17,33
40-50	21	35,59	4	5,33
50-60	4	6,78	-	-
60-70	4	6,78	-	-

Tổng	59	100	75	100
-------------	-----------	------------	-----------	------------



Hình 3.35. Tỷ lệ % số cây Vân sam fansipan theo các cấp đường kính ngang ngực (D1,3 cm) tại kiểu TTV hỗn giao cây lá rộng cây lá kim (2.600 – 2.700 m)



Hình 3.36 Tỷ lệ % số cây Vân sam fansipan theo cấp đường ở vị trí 1,3 mét (D1,3,cm) tại kiểu TTV ưu thế cây lá kim (2.700 – 2.950 m)

3.3.2. Đặc điểm tái sinh tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan

Để đánh giá sự phát triển bền vững của các quần xã thực vật trong một hệ sinh thái hay trong một vùng lãnh thổ nhất định, nghiên cứu tái sinh tự nhiên là một nhiệm vụ quan trọng không thể thiếu [42, 43, 24, 51, 52]. Phân loài Vân sam fansipan (hay còn gọi là Sam lạnh theo dân tộc H'Mông ở Sapa) là một loài thực vật

thuộc ngành hạt trần (Pinophyta), một trong những ngành mà hạt của chúng thường chứa dầu béo rất khó bảo quản, và yêu cầu khắt khe về điều kiện nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng tự nhiên trong việc tái sinh tự nhiên bằng hạt.

Chính vì vậy, để phục vụ công tác quy hoạch, bảo tồn và phát triển phân loài này tại dãy Hoàng Liên Sơn, chúng ta cần phải nắm được đặc điểm tái sinh tự nhiên của chúng.

Nhìn chung, tại khu vực phân bố tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan đã tiến hành 3 tuyến điều tra với tổng số 30 ô tiêu chuẩn, cụ thể như sau: 01 tuyến ven suối từ độ cao 2.580 – 2.820 m có độ dài khoảng 2,5km với 10 ô tiêu chuẩn (kích thước 400m²; lập 5 ô dạng bản kích thước 4x4m trong phạm vi mỗi ô tiêu chuẩn); 01 tuyến đi qua khu vực quần thể ưu thế Vân sam fansipan từ 2.937m xuống 2.750 m có chiều dài khoảng 2,2 km với 10 ô tiêu chuẩn (kích thước 400 m²; lập 5 ô dạng bản kích thước 4x4m trong mỗi ô tiêu chuẩn); 01 tuyến đi qua khu vực TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim (Vân sam fansipan) từ độ cao 2.568 – 2.682 m, có chiều dài khoảng 1,5km với 10 ô tiêu chuẩn (kích thước 400 m²; lập 5 ô dạng bản kích thước 4x4m trong mỗi ô tiêu chuẩn). Kết quả đã ghi nhận được 9/30 ô tiêu chuẩn bắt gặp cây con Vân sam fansipan với tổng số 25 cây, kết quả được trình bày trong Bảng 3 (xem phần phụ lục 01).



Hình 3.37. Thảm thực vật ưu thế Vân sam fansipan

Kết quả điều tra và phân tích số liệu cho thấy:

- Tỷ lệ bắt gặp cây con Vân sam fansipan tái sinh tự nhiên có chiều cao vút ngọn nhỏ hơn 1m (H_{vn} – m < 1m) tại khu vực nghiên cứu là rất ít với tỷ lệ số ô tiêu chuẩn ghi nhận sự có mặt của một vài cây con tái sinh trong tổng số ô tiêu chuẩn (9 OTC/30 OTC) là khoảng 30%.

- Tỷ lệ chất lượng sinh trưởng tốt trong số cây con tái sinh đạt 15/25 cây chiếm 60%, đây là điều rất đáng mừng, nó cho thấy tại khu vực nghiên cứu có triển vọng tốt thực hiện thành công công tác bảo tồn và phát triển loài này. Đặc biệt là khu vực ven suối có sự sạt lở đất và khu vực thảm thực vật ưu thế cây lá kim ở độ cao từ 2.700 - 2.950 m nơi mà quần thể Vân sam fansipan mọc tập trung thành từng đám, chiếm tầng ưu thế sinh thái của thảm thực vật nơi đây (hình 3.33).

- Đối với tuyến đi qua TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim ở độ cao từ 2.568 – 2.682m, thiết lập 10 ô tiêu chuẩn nhưng chỉ bắt gặp 2 cá thể Vân sam fansipan tái sinh (hình 3.34). Mặt khác, chất lượng cây con tái sinh ở mức xấu. Có thể lý giải cho điều này thông qua một số nhân tố chính sau: Độ tàn che của TTV nơi đây là rất cao tới 70-80% (Hình 3.36); Tầng thảm mục rất dày, nên khi hạt nảy mầm trên lớp thảm mục không có đủ điều kiện về nhiệt độ, độ ẩm, để đảm bảo cho phân loài này phát triển trong giai đoạn đầu; Hơn nữa, hạt của nhóm thông có hàm lượng dầu béo rất cao nên khi hạt rơi xuống đất gặp điều kiện nhiệt độ không thuận lợi thì có thể làm cho sức nảy mầm giảm. Ngoài ra, độ che phủ cao (khoảng 90%) của tầng cây bụi thảm tươi (hình 3.37) cũng là nguyên nhân hạn chế sự phát triển của cây con tái sinh nói chung và cây con Vân sam fansipan nói riêng. Đây cũng là điều dễ hiểu đúng với quy luật tái sinh của các loài trong họ Pinaceae, chúng ta thường bắt gặp ở những nơi có nhiều ánh nắng – ngoài tán, có độ dốc cao, ít thảm tươi cây bụi. Ngược lại rất hiếm thấy cây con của các loài trong họ Thông tái sinh dưới tán của chúng.



Hình 3.38 Độ tàn che TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim ở độ cao 2.600 m



Hình 3.39 Độ che phủ tầng cây bụi thảm tươi dưới tán TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim ở độ cao 2.600 m



Hình 3.40 Lớp thảm mục tại khu vực nghiên cứu (2.600 – 2.700 m)



Hình 3.41 Cây con tái sinh ở lòng suối

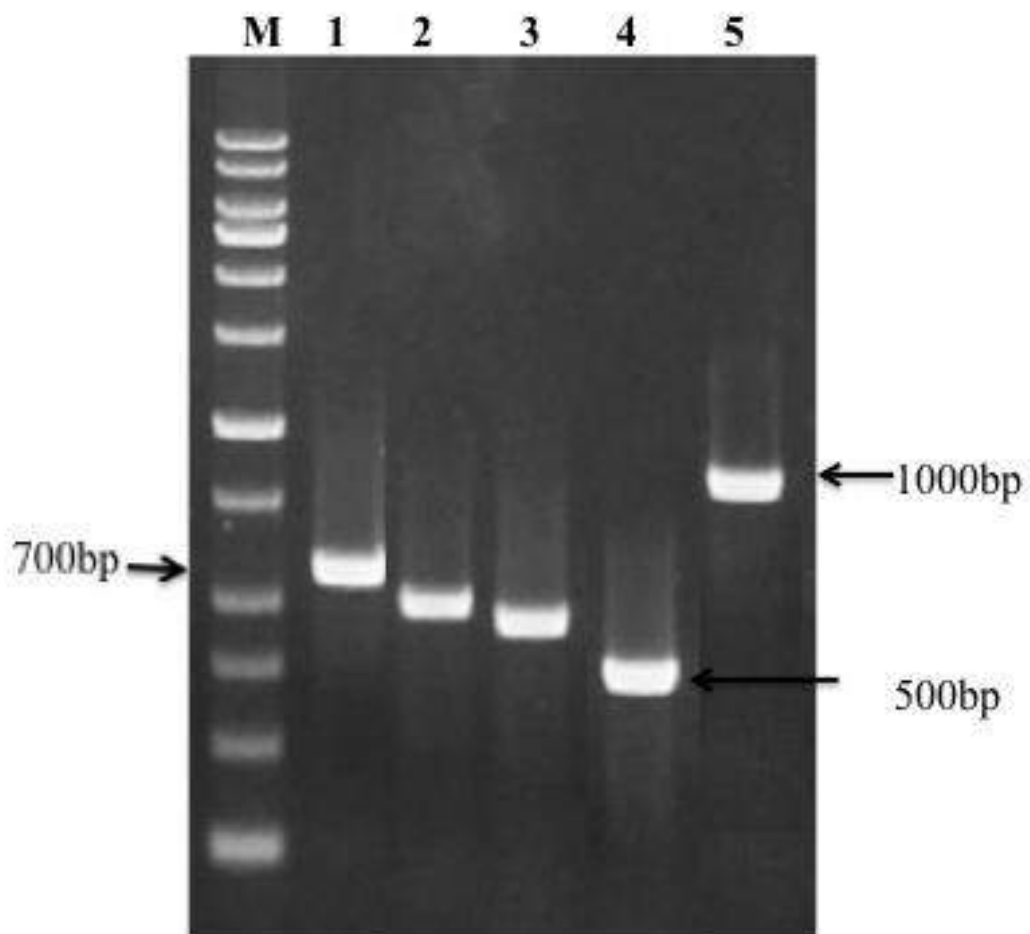


Hình 3.42 Cây con tái sinh dưới tán TTV hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim

Hình 3.40 và hình 3.41 cho chúng ta thấy rằng chất lượng cây con Vân sam fansipan tái sinh tại kiểu thảm thực vật này (lòng suối và dưới tán rừng) là rất kém. Thực tế nhận thấy rằng cây con Vân sam fansipan tái sinh ở khu vực lòng suối khó có thể tồn tại lâu dài, bởi vì giá thể của chúng bám sống vào thời điểm này mà là rêu mọc trên nền đá là rất mong manh, chỉ cần một vài đợt mưa tạo ra dòng chảy ... sẽ cuốn theo cả rêu và cây con tái sinh. Do vậy, bài học kinh nghiệm là khi bắt gặp chúng dưới lòng suối thì nên di chuyển chúng lên nơi có điều kiện thích hợp để trồng; còn những cây đang tái sinh tại khu vực TTV có độ che phủ lớn (thiếu ánh sáng – hình 3.41) hoặc có tầng thảm mục dày (thiếu đất – hình 3.39) thì nên phát quang thực bì xung quanh tạo không gian hoặc đào hố trồng chúng xuống đất (tầng A) để chúng vừa có ánh sáng và vừa có giá thể đất đảm bảo đủ điều kiện sinh trưởng.

3.4. Kết quả nghiên cứu đặc điểm di truyền của phân loài Vân sam fansipan

Kết quả khuếch đại 5 vùng gen (*rps18-rp120*, *trnL-trnF*, *trnH-psbA*, *rbcL* và *nad5*) bằng PCR



Hình 3.43 Kết quả kiểm tra sản phẩm PCR 5 vùng gen trên gel agarose

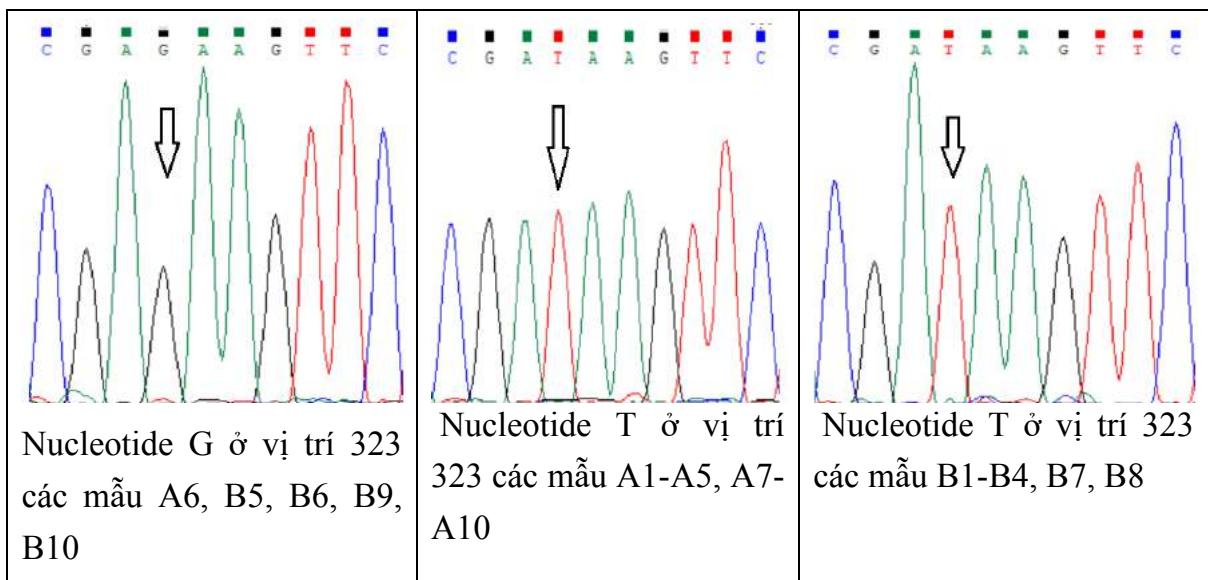
(Lane M: ADN ladder 1kb plus (Invitrogen), Lane 1: gen *rbcL*, Lane 2: : *trnH-psbA*, Lane 3: gen *rps18-rpl20*, Lane 4: *trnL-trnF*, Lane 5: gen *nad5*)

Kết quả điện di kiểm tra trên gel agarose cho thấy sản phẩm PCR khuếch đại 5 vùng gen đều cho vạch đậm và sắc nét, các vạch đều có kích thước tương ứng với kích thước lý thuyết của các vùng gen, chứng tỏ phản ứng PCR đã được thực hiện tốt, môi sử dụng có độ đặc hiệu cao. Để kiểm tra độ chính xác của sản phẩm PCR cũng như để phân tích các đặc điểm phân tử của các vùng gen này, sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch và tiến hành đọc trình tự trên máy ABI 3100, sử dụng kit Bigdye terminator 3.1.

Kết quả giải trình tự từng vùng gen sau đó được kiểm tra bằng chức năng Blast trên NCBI. Kết quả kiểm tra chứng tỏ các sản phẩm PCR thu được chính xác là các đoạn ADN tương ứng với các vùng gen nghiên cứu.

- *Kết quả phân tích đặc điểm phân tử 5 vùng gen nghiên cứu*

Tổng cộng nghiên cứu đã sử dụng 96 trình tự của 21 mẫu nghiên cứu của hai quần thể để xây dựng lên khối dữ liệu phân tử cho các phân tích di truyền. Kết quả của việc sắp xếp giống hàng thu được kích thước của các khối dữ liệu đơn *rps18-rpl20*, *trnL-trnF*, *trnH-psbA*, *rbcL* và *nad5* lần lượt là 449, 405, 700, 700, 980 bps. Qua phân tích các khối dữ liệu đơn, chúng tôi nhận thấy rằng, trình tự cùng một gen của các mẫu nghiên cứu có sự tương đồng cao với chỉ một vài vị trí khác biệt.

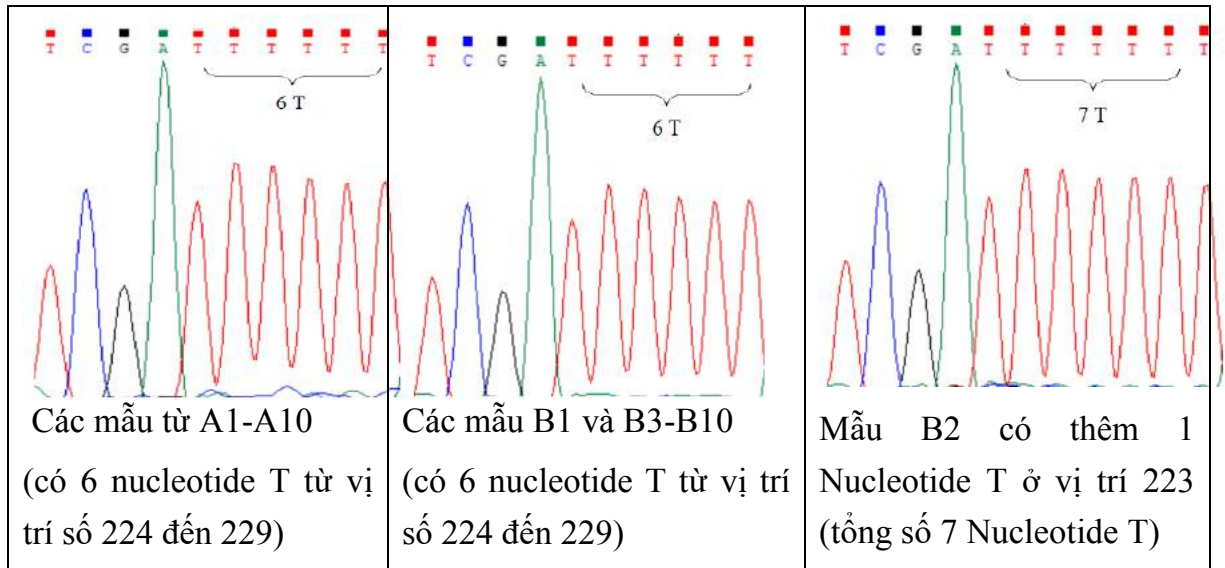


Hình 3.44 Nucleotide sai khác ở vị trí 323 ở các mẫu nghiên cứu

- Kết quả so sánh trình tự 5 vùng gen giữa 10 mẫu của quần thể A và 10 mẫu của quần thể B cho thấy 3 gen *rbcL*, gen *trnH-psbA*, gen *nad5* không thấy có sự sai khác nào giữa các mẫu của 2 quần thể này.

Gen *rps18-rpl20* của các mẫu nghiên cứu có sự tương đồng cao, tuy vậy vẫn có một số nucleotit không giống nhau khi so sánh vị trí các axit amin của nucleotit giữa các mẫu nghiên cứu, phát hiện thấy có sự sai khác ở vị trí số 323: ở mẫu A6, B5, B6, B9, và B10, vị trí này là G, trong khi ở các mẫu còn lại vị trí này lại là T (hình 3.43).

Đối với gen *trnL-trnF*: Phát hiện thấy 1 nucleotide T được thêm vào vị trí số 223 của mẫu B2, các mẫu còn lại không thấy có Nucleotide T này (hình 3.44)



Hình 3. 45 Nucleotide sai khác ở vị trí 223 ở các mẫu nghiên cứu

Kết quả này cho thấy giữa 2 quần thể Vân sam fansipan phân bố tại 2 độ cao khác nhau đã có 1 chút khác biệt về di truyền. Cụ thể, quần thể Vân sam fansipan phân bố ở độ cao 2.700 - 2.950 m (quần thể B) đa dạng hơn so với quần thể Vân sam fansipan phân bố ở độ cao 2.600 - 2.700 m (quần thể A).

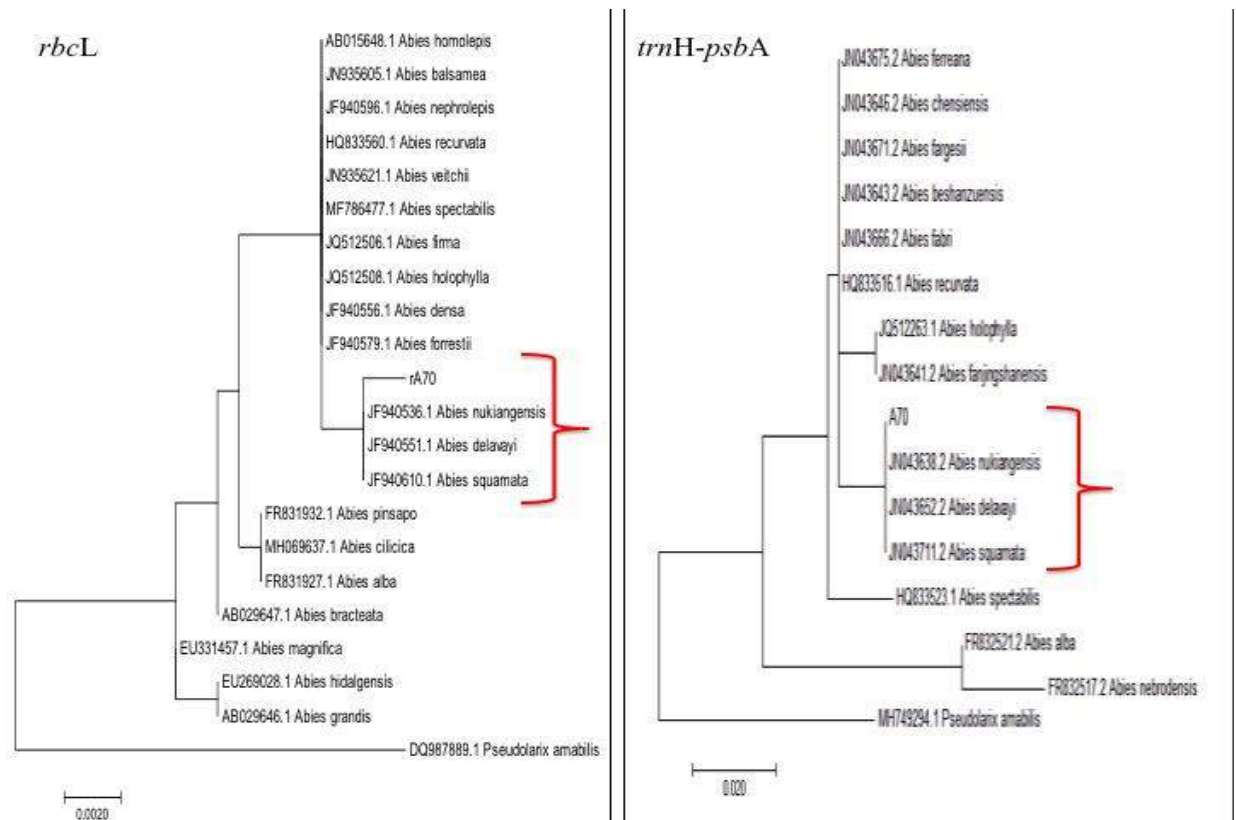
- Kết quả so sánh trình tự 2 vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* với loài Vân sam *Abies nukiangensis* phân bố ở Trung Quốc cho thấy, vùng gen *rbcL* dài 700bp của Vân sam fansipan có một vị trí của Nucleotide số 455 là T, khác biệt với loài *Abies nukiangensis* phân bố ở Trung Quốc ở vị trí này là G.

Còn vùng gen *trnH-psbA* có hai Nucleotide không giống với loài *Abies nukiangensis* lần lượt là vị trí Nucleotide số 332 và 503 (C->A). (hình 3.45).

<i>rbcL</i>			<i>trnH-psbA</i>		
		22466]			113334 45]
#rA70		519512]	[238453795 80]
#JF940536.1 <i>Abies_nukiangensis</i>		477592]	#A70		9908912375 53]
#JF940551.1 <i>Abies_delavayi</i>		GGCGAA	...T..		CCCTGGCCAC GC
#JF940579.1 <i>Abies_forrestii</i>		...	#JN043638.2 <i>Abies_nukiangensis</i>	A... .A
#JF940610.1 <i>Abies_squamata</i>		C..T..	#JN043652.2 <i>Abies_delavayi</i>	A... .A
#JF940556.1 <i>Abies_densa</i>		C..T..	#JN043711.2 <i>Abies_squamata</i>	A... .A
#JQ512508.1 <i>Abies_holophylla</i>		C..T..	#JQ512263.1 <i>Abies_holophylla</i>	C.A..T .A
#JQ512506.1 <i>Abies_firma</i>		C..T..	#HQ833516.1 <i>Abies_recurvata</i>	C.A... .A
#MF786477.1 <i>Abies_spectabilis</i>		C..T..	#HQ833523.1 <i>Abies_spectabilis</i>	C.A.T... .A
#JN935621.1 <i>Abies_veitchii</i>		C..T..	#JN043666.2 <i>Abies_fabri</i>	C.A... .A
#FR831932.1 <i>Abies_pinsapo</i>		CC.T.C	#JN043643.2 <i>Abies_beshanzuensis</i>	C.A... .A
#HQ833560.1 <i>Abies_recurvata</i>		C..T..	#JN043671.2 <i>Abies_fargesii</i>	C.A... .A
#JF940596.1 <i>Abies_nephrolepis</i>		C..T..	#FR832521.2 <i>Abies_ferrea</i>	T.C.A..G .A
#AB015648.1 <i>Abies_homolepis</i>		C..T..	#FR832517.2 <i>Abies_nebrodensis</i>		TTT.CTA.G .A
#MH069637.1 <i>Abies_cilicica</i>		CC.T.C	#JN043641.2 <i>Abies_fanjingshanensis</i>	C.A..T .A
#JN935605.1 <i>Abies_balsamea</i>		C..T..	#JN043646.2 <i>Abies_chensiensis</i>	GC.A... .A
#AB029647.1 <i>Abies_bracteata</i>		CC.T.T			
#FR831927.1 <i>Abies_alba</i>		CC.T.C			
#EU331457.1 <i>Abies_magnifica</i>		CC.T.C			
#EU269028.1 <i>Abies_hidalgensis</i>		CCTTCI			
#AB029646.1 <i>Abies_grandis</i>		CCTTCI			

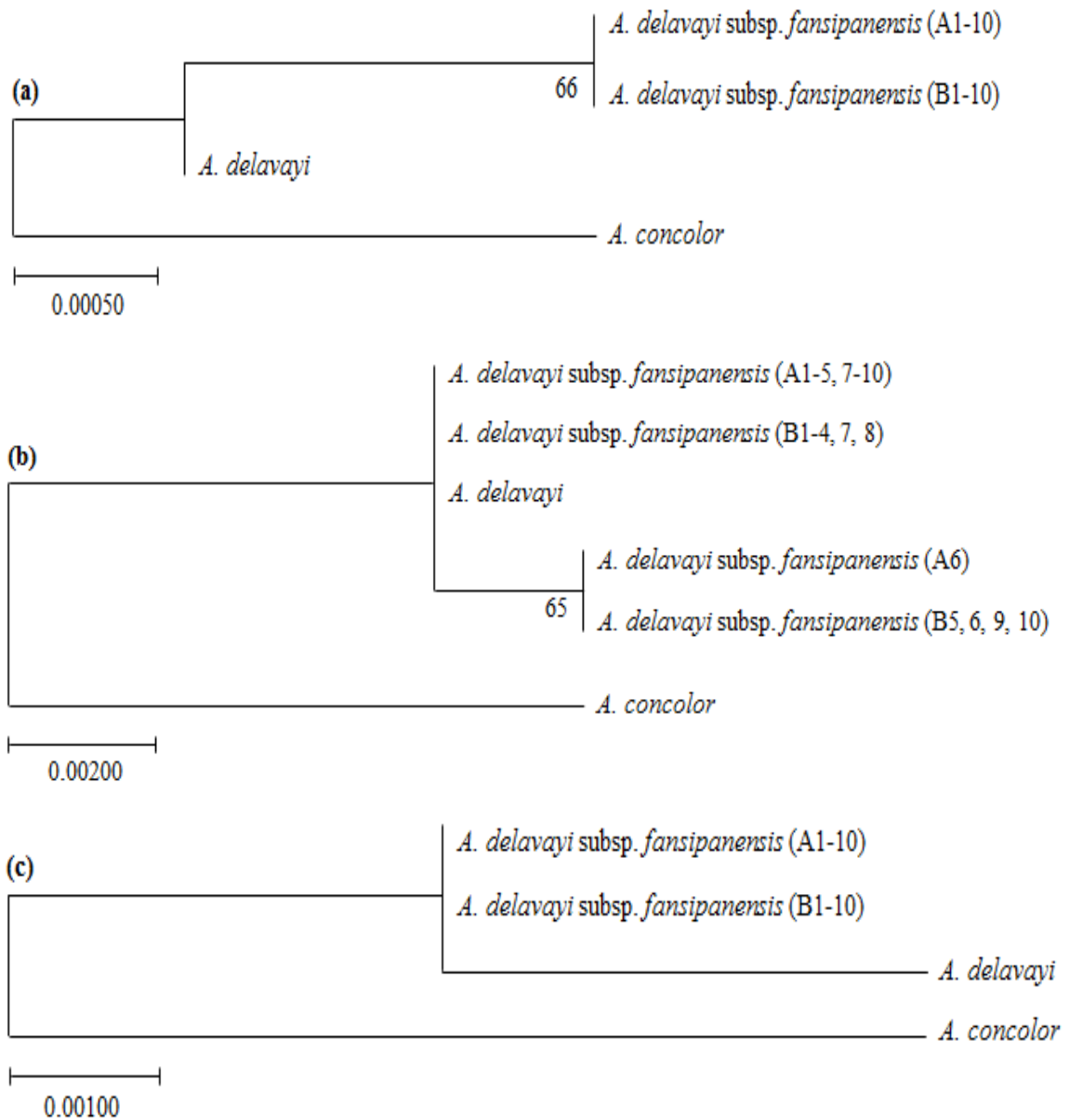
Hình 3.46. Vị trí các Nucleotide sai khác trên vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA*

Mối quan hệ gần gũi được phân tích thông qua dữ liệu về di truyền cho thấy loài Vân sam fansipan có đặc điểm di truyền gần giống nhất với một số loài trong chi *Abies*, đó là *A. delavayi*, *A. nukiangensis* và *A. squamata* (hình 3.46). Trong đó, khoảng cách di truyền giữa loài Vân sam fansipan so với *A. nukiangensis* và *A. delavayi* đều là 0,001, so với *A. squamata* là 0,014.



Hình 3.47 Sơ đồ quan hệ di truyền của mẫu Vân sam fansipan (ký hiệu A70) với một số loài Vân sam khác dựa trên phân tích trình tự gen *rbcL* và *trnH-psbA*

Kết quả so sánh 3 vùng gen *rps18-rpl20*, *trnL-trnF* và *nad5* cũng cho thấy Vân sam fansipan có quan hệ gần gũi nhất với loài *A. delavayi* với khoảng cách di truyền đều nằm trong khoảng 0.001 (hình 3.47).



Hình 3.48 Sơ đồ mối quan hệ di truyền hình cây giữa các mẫu Vân sam fansipan (quần thể A và quần thể B) so với loài *A. delavayi* và *A. concolor*

Như vậy kết quả nghiên cứu đặc điểm di truyền 5 vùng gen (*rps18-rp120*, *trnL-trnF*, *trnH-psbA*, *rbcL* và *nad5*) của loài Vân sam fansipan cho thấy loài này có mối quan hệ gần gũi nhất với loài *A. delavayi* với khoảng cách di truyền là 0.001. Tìm thấy 2 Nucleotide sai khác trên gen *trnH-psbA* (vị trí số 332 và 503) và 1 Nucleotide sai khác (vị trí số 445) giữa loài Vân sam fansipan và loài vân sam Trung quốc (*A. nukiangensis*).

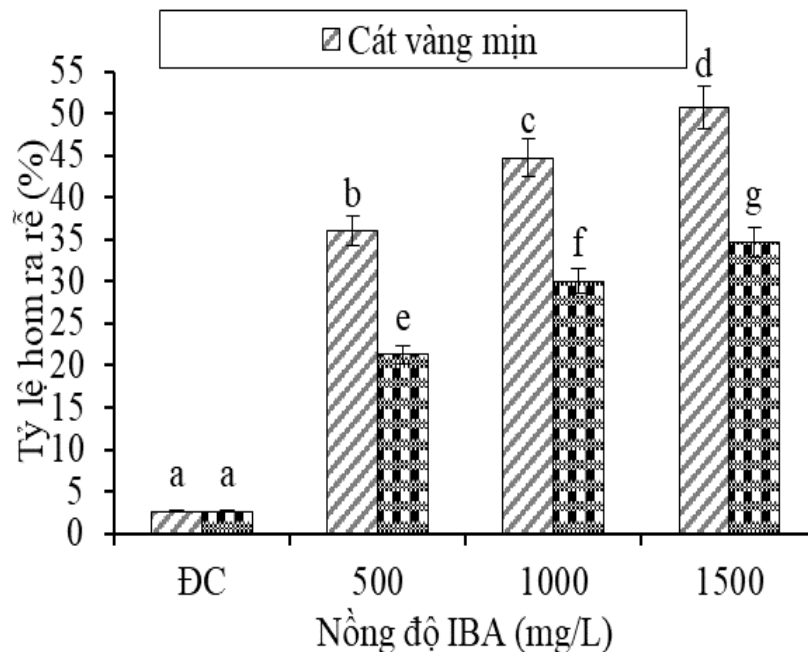
Quần thể Vân sam fansipan phân bố ở độ cao 2.700 - 2.950 m cho thấy có sự đa dạng Nucleotide cao hơn so với quần thể phân bố ở độ cao 2.600 - 2.700 m.

3.5. Kết quả nghiên cứu kỹ thuật giâm hom, cách thức bảo quản hạt giống và trồng thử nghiệm cây con ra môi trường tự nhiên

Nhân giống Vân sam fansipan bằng hom đã được thử nghiệm bằng các phương án khác nhau: sử dụng IBA với các nồng độ khác nhau gồm 500 mg/L, 1000 mg/L và 1500 mg/L để kích thích phát triển lá non và rễ ở hom Vân sam fansipan; sử dụng hai giá thể khác nhau là giá thể đất mùn trộn lẫn đất tầng A và giá thể cát vàng mịn. Nghiên cứu này thành công sẽ đóng vai trò quan trọng trong việc nhân giống và bảo tồn nguồn gen quý hiếm của phân loài Vân sam fansipan ở Vườn Quốc gia Hoàng Liên – Sa Pa.

3.5.1. Kết quả nghiên cứu kỹ thuật nhân giống bằng hom

3.5.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến tỷ lệ ra rễ của hom Vân sam fansipan



Hình 3.49 Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến tỷ lệ ra rễ của Vân sam fansipan

Ghi chú: ĐC: đối chứng; Các chữ cái khác nhau trên các cột đồ thị của cùng một loại giá thể biểu thị sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các công thức xử lý IBA; Các chữ cái khác nhau trên hai cột ở cùng một nồng độ xử lý IBA biểu thị sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các giá thể

Kết quả thu được cho thấy (hình 3.48), trong cả hai phương án sử dụng giá thể thí nghiệm có sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa kết quả đối chứng với kết quả của các công thức xử lý bằng nồng độ IBA khác nhau cho hom Vân sam fansipan. Nhìn chung, số hom ra rễ tỷ lệ thuận với nồng độ IBA. Sau thời gian 12 tháng thí nghiệm hom nhân giống trên giá thể cát vàng mịn cho tỷ lệ ra rễ cao nhất khi sử dụng IBA nồng độ 1.500 (mg/L) đạt 50,67%; nồng độ IBA 1.000 (mg/L) cho kết quả cao thứ hai (đạt 44,67%); tiếp theo là công thức sử dụng IBA nồng độ 500

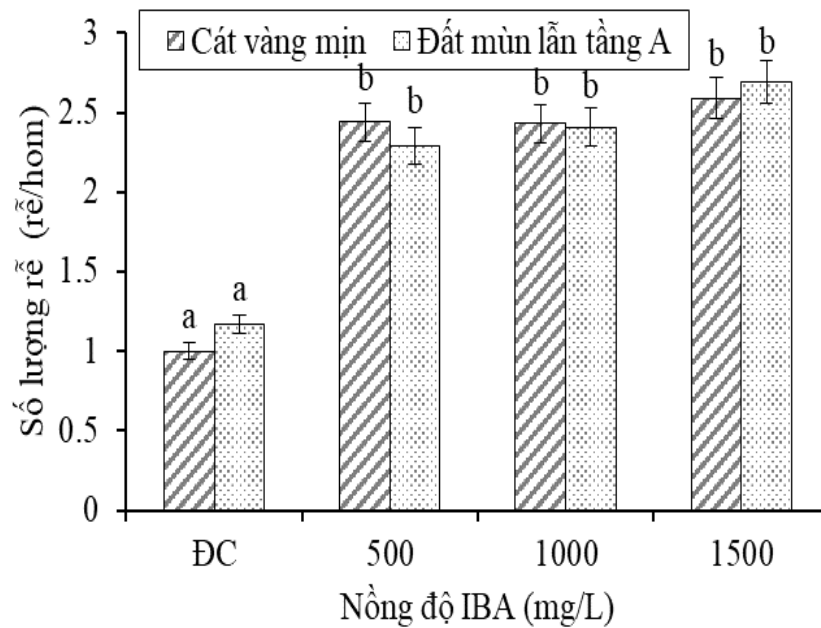
(mg/L) (đạt 36%); Kết quả thấp nhất thuộc về đối chứng (2,67%). Khi nhân giống hom trên giá thể đất mùn lẫn đất tầng A cũng thu được kết quả tương tự, tỷ lệ ra rễ đạt được lần lượt là 34,67%; 30%; 21,33% khi có xử lý IBA, cao hơn rõ rệt so với đối chứng là 2,67%. Các giá trị thu được tương đồng với các giá trị đã công bố của các tác giả khác. Ví dụ kết quả của Nguyễn Sinh Khang [142] cho thấy hiệu quả ra rễ hom của loài *Taxus chinensis* (trung bình 85%), và nồng độ 1.500 mg/L của IBA ảnh hưởng nhiều nhất đến khả năng ra rễ của hom. Công bố của Quách Văn Toàn Em và Mai Thị Kim Yến [143] cho thấy, cành giâm cây Cóc đỏ (*Lumnitzera littorea*) tăng tỷ lệ ra rễ khi được xử lý IBA, trong đó công thức thí nghiệm xử lý 50 (mg/L) IBA cho tỷ lệ ra rễ cao nhất, đạt 77,78%. Bùi Văn Hương [144] đã nhân giống loài Hoàng liên ô rô ở Vườn Quốc gia Hoàng Liên, huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai, tỷ lệ ra rễ tăng theo nồng độ IBA từ 500 -1500 (mg/L), đạt từ 18,67-23,67%. Như vậy, việc xử lý IBA giúp tăng số hom ra rễ, kết quả này rất có ý nghĩa trong công tác nhân giống các loài thực vật, rất cần ứng dụng cho các loài gen quý và hiếm.

Kết quả phân tích cũng cho thấy, giá thể cát vàng mịn và giá thể đất mùn trộn lẫn đất tầng A cho kết quả tốt hơn, khác biệt có ý nghĩa ở cùng nồng độ IBA được sử dụng. Trong đó, tỷ lệ hom ra rễ khi sử dụng cát vàng mịn cao hơn so với tỷ lệ hom ra rễ khi sử dụng đất mùn trộn lẫn đất tầng A, lần lượt là 40,75%; 32,84% và 31,58% tương ứng khi sử dụng các nồng độ các nồng độ: 1.500 mg/L; 1000 mg/L và 500 mg/L đối với IBA. Trong khi đó các công thức đối chứng sử dụng giá thể đất mùn trộn lẫn đất tầng A và giá thể cát vàng mịn không xử lý IBA không cho thấy sự khác nhau có ý nghĩa. Như vậy kết quả đã cho thấy, việc xử lý IBA có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ ra rễ của các hom, các hom Vân sam fansipan được nhân giống trên cát vàng mịn có nhiều hom ra rễ hơn nhiều so với các hom Vân sam fansipan được nhân giống trên đất mùn trộn lẫn đất tầng A trong cùng phương án xử lý IBA.

3.5.1.2 Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ IBA đến số lượng rễ của Vân sam fansipan

Hình 3.49 cho thấy ảnh hưởng của nồng độ IBA đến số lượng rễ của các hom Vân sam fansipan trong trường hợp sử dụng đất mùn trộn lẫn đất tầng A và trong trường hợp sử dụng cát vàng mịn. Từ hình 3.49 ta thấy, các hom được xử lý IBA có số lượng rễ cao hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với đối chứng không có IBA và không có sự khác nhau có ý nghĩa về số lượng rễ của các hom Vân sam fansipan được xử lý với các nồng độ IBA khác nhau và nhân giống trên cùng một loại giá thể (vàng mịn hoặc đất mùn trộn lẫn đất tầng A). Đặc biệt, các hom nhân giống trên cát vàng mịn và nhân giống trên đất mùn trộn lẫn đất tầng A không có sự sai khác về số lượng rễ

ở cả đối chứng và các công thức xử lý IBA với các nồng độ khác nhau (500, 1.000 và 1.500 mg/L). Sau thời gian 12 tháng các hom đối chứng có khoảng 1 rế/hom, thấp hơn đáng kể so với các hom được xử lý IBA với số lượng trung bình từ 2,29 đến 2,69 rế/hom. Theo nghiên cứu của Bùi Văn Hương, việc xử lý hom Hoàng liên bằng IBA với các nồng độ 500, 1.000 và 1.500 mg/L làm tăng số lượng rế của hom từ 4,67-7,67 rế/hom [142]. Như vậy, các hom Vân sam fansipan nhân giống trên đất mùn trộn lẫn đất tầng A và trên cát vàng mịn phát triển rế tốt hơn khi được xử lý IBA. Đây là một kết quả quan trọng phục vụ cho công tác nhân giống phân loài Vân sam fansipan.



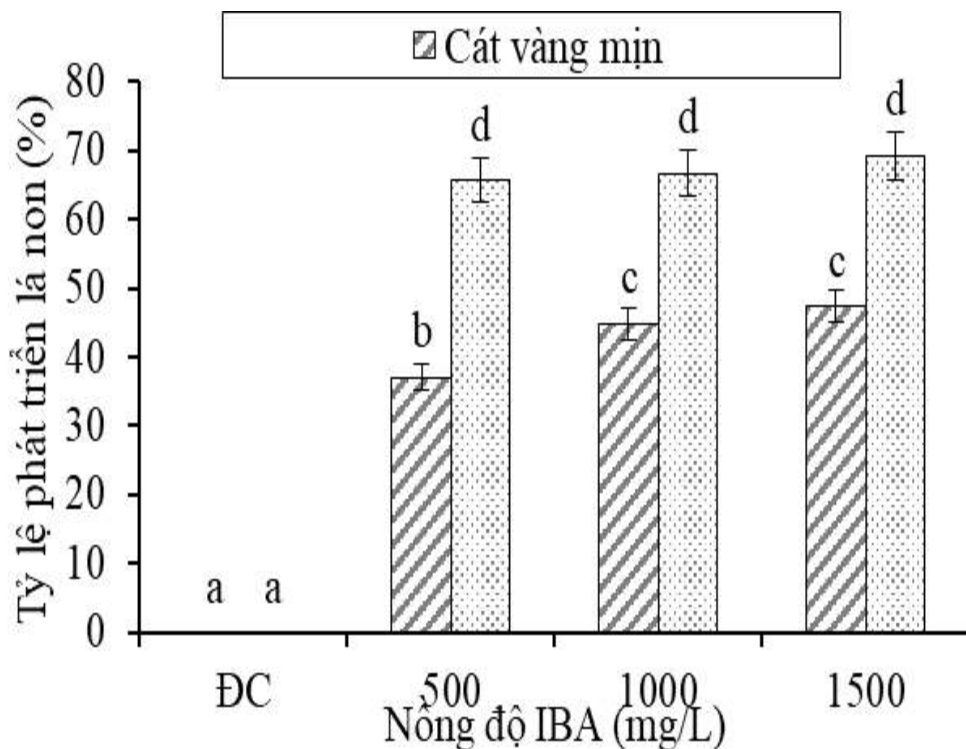
Hình 3.50 Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến số lượng rế của Vân sam fansipan

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên các cột của cùng một loại giá thể biểu thị sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các công thức xử lý IBA; Các chữ cái khác nhau trên hai cột ở cùng một nồng độ xử lý IBA biểu thị sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các giá thể

3.5.1.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể cấy hom đến sự phát triển lá non của Vân sam fansipan

Hình 3.50 trình bày ảnh hưởng của giá thể cấy hom (đất mùn trộn lẫn đất tầng A và cát vàng mịn) đến sự phát triển lá non của Vân sam fansipan. Kết quả nghiên cứu phát hiện sự sai khác ($p < 0,05$) giữa các hom được xử lý IBA so với đối chứng ở cả hai giá thể sử dụng để nhân giống (đất mùn trộn lẫn đất tầng A và cát vàng mịn). Tỷ lệ phát triển lá non ở các hom nhân giống trên giá thể cát vàng mịn gia tăng cùng với sự gia tăng nồng độ IBA. Sau 12 tháng thí nghiệm có 37,04% số hom Vân sam fansipan phát triển lá non khi xử lý ở nồng độ 500 mg/L IBA, có

44,78% số hom Vân sam fansipan phát triển lá non khi xử lý ở nồng độ 1.000 mg/L IBA, và có 47,37% (cao nhất) số hom Vân sam fansipan phát triển lá non khi xử lý ở nồng độ 1.500 mg/L IBA. Trong khi đó ở đối chứng các hom Vân sam fansipan không phát triển lá non. Các hom Vân sam fansipan nhân giống trên giá thể đất mùn trộn lẫn đất tầng A cũng thu được kết quả tương tự, tương ứng với các công thức xử lý 500, 1.000 và 1.500 mg/L IBA thu được tỷ lệ hom phát triển lá non lần lượt là 65,63%; 66,67% và 69,23%. So sánh tỷ lệ phát triển lá non của các hom Vân sam fansipan được nhân giống trên các giá thể khác nhau ở cùng điều kiện xử lý IBA cho thấy, giá thể đất mùn trộn lẫn đất tầng A cho các hom Vân sam fansipan điều kiện sinh trưởng tốt hơn ($p < 0,05$) so với cát vàng mịn. Nguyên nhân chính có lẽ là do cát vàng có kích thước lớn nên có khả năng giữ nước và các chất dinh dưỡng kém hơn đất mùn.



Hình 3.51 Ảnh hưởng của giá thể dùng để cấy hom đến sự phát triển lá non của VSF

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên các cột của cùng một loại giá thể biểu thị sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các công thức xử lý IBA; Các chữ cái khác nhau trên hai cột ở cùng một nồng độ xử lý IBA biểu thị sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các giá thể

Như vậy, từ kết quả thí nghiệm có thể rút ra kết luận cho việc nhân giống Vân sam fansipan như sau: (1) Trước hết, để giâm hom ra rễ sử dụng giá thể cát vàng mịn; (2) Sau đó chuyển các hom đã ra rễ sang giá thể đất mùn trộn lẫn đất tầng A với tỷ lệ (65 và 35%). Khi chuyển cây con từ giá thể cát vàng mịn sang giá thể

đất mùn trộn lẫn đất tầng A cần chú ý các điều kiện độ ẩm không khí, nhiệt độ phù hợp.

Nhận xét chung

Việc xử lý IBA làm gia tăng tỷ lệ ra rễ, số lượng rễ và tỷ lệ hom giống phát triển lá non trong nhân giống phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q.P.Xiang, L.K.Fu & Nan Li) Rushforth) và công thức xử lý 1.500 mg/L IBA cho giá trị cao nhất. Sau 12 tháng thí nghiệm, trên giá thể cát vàng mịn các hom Vân sam fansipan có tỷ lệ ra rễ đạt 50,67%, với số lượng rễ trung bình 2,59 rễ/hom và tỷ lệ phát triển lá non đạt 47,37%. Trong khi đó, giá thể đất mùn trộn lẫn đất tầng A cho kết quả về tỷ lệ hom ra rễ, số lượng rễ trung bình và tỷ lệ hom phát triển lá non tương ứng lần lượt là: 34,46%; 2,69 rễ/hom và 69,23%. Như vậy, việc nhân giống Vân sam fansipan đạt hiệu quả cao khi xử lý hom bằng IBA ở nồng độ 1.500mg/L, cho tỷ lệ % số lượng hom ra rễ cao trên giá thể cát vàng mịn; giá thể đất mùn trộn lẫn với đất tầng A lại giúp cây hom (đã ra rễ) phát triển tốt hơn so với những cây hom (đã ra rễ) trên giá thể cát vàng mịn (thời gian theo dõi 5 tháng sau khi kiểm tra ra rễ).

3.5.2. Kết quả nghiên cứu cách thức bảo quản hạt giống Vân sam fansipan

3.5.2.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của việc bảo quản hạt giống đến khả năng nảy mầm của hạt Vân sam fansipan



Hình 3.52 Hạt giống (1), cây con (2) Vân sam fansipan ở TN 3

Theo như một số nhận định từ các chuyên gia trong và ngoài nước nhận định về đặc tính của hạt của các loài nhóm Thông, chúng dễ mất sức nảy mầm ở nhiệt độ thường, nên đa số họ thu hạt và gieo luôn, hoặc thu xong lựa chọn hạt chắc tốt không sâu mọt, cho vào tủ âm dưới 25 độ bảo quản được 5 năm [121, 122, 5].

Tuy nhiên để có thêm cơ sở khoa học cho nhận định này, thiết kế 3 nghiệm thức và 1 đối chứng với tổng số hạt 360 hạt được bảo quản với thời gian 3 tháng (từ

tháng 11/2017 - 2/2018), cụ thể các công thức và các bước tiến hành thí nghiệm nêu rõ ở phần phương pháp. Kết quả nhân giống với 3 lần lặp lại được tổng hợp, trình bày trong bảng 3.12.

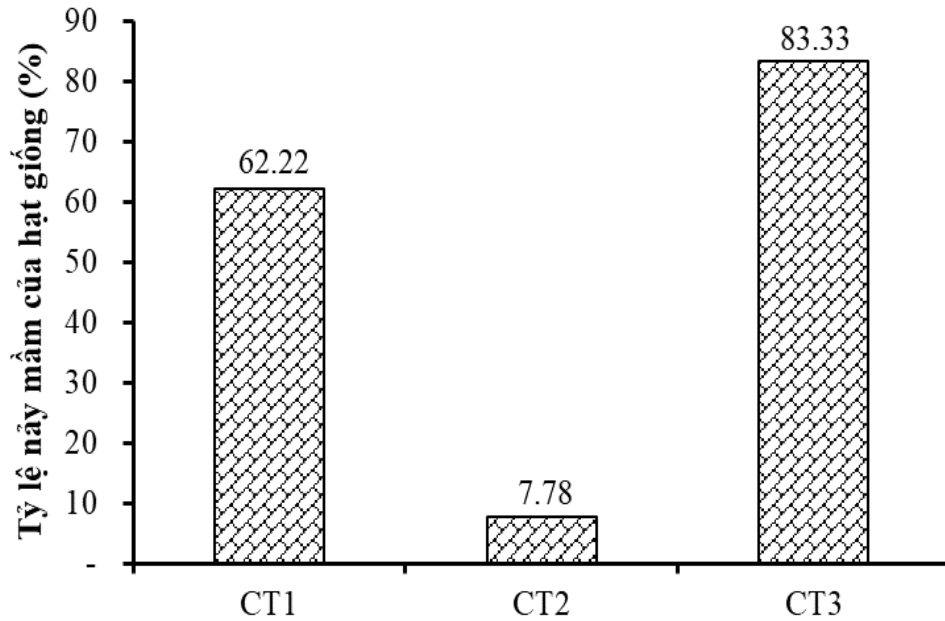
Bảng 3.12. Tỷ lệ nảy mầm của hạt Vân sam fansipan theo các công thức nghiệm

Số TT	Tên công thức	Số hạt gieo	Số hạt nảy mầm	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Ghi chú
1	CT1 (3 lần lặp)	90	56	62,22	Mầm khỏe
2	CT2 (3 lần lặp)	90	7	7,80	Mầm yếu
3	CT3 (3 lần lặp)	90	75	83,33	Mầm khỏe
4	Đối chứng (3 lần lặp)	90	0	0	
Tổng		360	138		

Qua quá trình thực hiện thí nghiệm và tính toán kết quả thu được (bảng 3.12), có thể khẳng định rằng việc bảo quản sau khi thu hoạch hạt Vân sam fansipan là rất cần thiết và cấp bách. Cụ thể, sau thời gian 22-35 ngày phần lớn hạt ở 3 công thức bảo quản nảy mầm hết, sau đó không có cây mầm mới. Kết quả tổng hợp cho thấy đối với công thức đối chứng là hạt phơi và bảo quản ở nhiệt độ bình thường (theo phương pháp truyền thống như bảo quản lúa gạo của bà con sau thu hoạch) thì qua ba lần gieo hạt đều cho kết quả không mong đợi tức là không có hạt nào nảy mầm.

Hạt được bảo quản ở nhiệt độ -10°C (CT3) cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất trong các công thức nghiệm với 75/90 hạt nảy mầm (83,33%); Công thức 2 là bảo quản hạt trong túi bóng kín ở nhiệt độ thường (CT2) cho tỷ lệ nảy mầm thấp nhất trong 3 công thức nghiệm với 7/90 hạt nảy mầm (7,80%); với công thức 1 hạt được bảo quản ở tủ lạnh nhiệt độ $4-5^{\circ}\text{C}$ cho kết quả nảy mầm tương đối cao với 56/90 hạt nảy mầm đạt 62,22% (hình 3.52).

Qua đây, cho chúng ta biết được hạt vân sam là loại hạt rất khó bảo quản giống, để bảo quản tốt chúng ta cần rất tốn kinh phí với tủ lạnh $4-5^{\circ}\text{C}$ hoặc thậm chí để cho hiệu quả cao nhất chúng ta phải dùng tới tủ cấp đông -10°C thì cho hiệu quả cao trong việc nhân giống từ hạt. Đây cũng là minh chứng quan trọng trong việc lý giải tại sao quần thể này tái sinh tự nhiên rất kém (5 -7cây/ha).

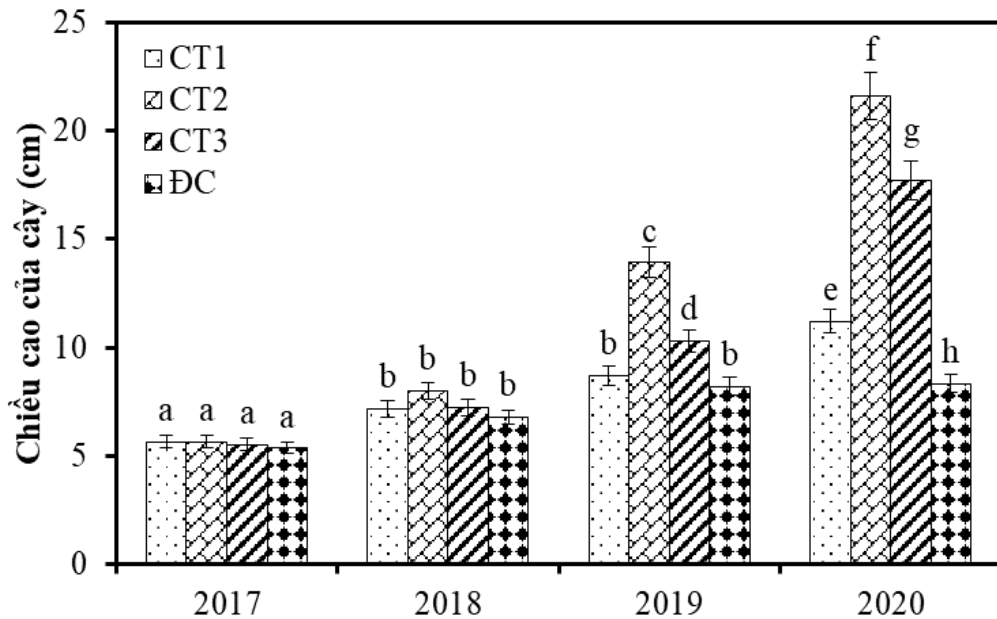


Hình 3.53 Tỷ lệ nảy mầm của hạt Vân sam fansipan theo các công thức TN

3.5.2.2. Ảnh hưởng của việc bảo quản tới khả năng sinh trưởng cây con

Việc bảo quản hạt giống sau thu hoạch là vấn đề quan trọng của nền nông nghiệp nước ta nói riêng và toàn thế giới nói chung. Nhiều chuyên gia đã nghiên cứu và nói rằng lợi ích của công tác bảo quản hạt giống sau thu hoạch là giúp cho hạt giống không bị nhiễm các loại nấm gây bệnh, giúp loại bỏ các loài côn trùng có hại, đồng thời giúp cho cây mầm chắc khỏe có sức sinh trưởng tốt, từ đó sẽ tạo ra cây giống cho năng suất cao. Đối với nhóm Thông, hạt của chúng có hàm lượng dầu béo rất cao, chúng dễ bị phân hủy ở nhiệt độ cao. Do đó, việc bảo quản hạt Vân sam fansipan không những có vai trò phòng chống các loại sâu bệnh hại mà còn có vai trò quan trọng trong việc làm hạn chế sự phân hủy dầu béo trong hạt (một trong những nguyên nhân chính làm giảm hoặc mất khả năng nảy mầm của phôi mầm).

Kết quả theo dõi sinh trưởng được tổng hợp ở bảng 5,6,7,8 (phụ lục 01), kết quả được xử lý thống kê và thể hiện ở hình 3.53 ở trên, với mức ý nghĩa ($P < 0,05$), sinh trưởng trung bình của các cây con thuộc công thức TN3 (CT3) đều vượt trội so với 2 công thức còn lại. Tuy nhiên, cây con ở công thức 2 cũng sinh trưởng khá tốt, không có cây nào bị chết, riêng công thức 1 phần lớn cây con đều có sức sinh trưởng kém. Điều này, đã chứng minh được tầm quan trọng của việc bảo quản, lưu giữ sau thu hoạch hạt giống cho các loài thuộc nhóm thông nói chung và hạt Vân sam fansipan nói riêng.



Hình 3.54 Kết quả theo dõi chiều cao của cây con Vân sam fansipan theo các công thức nghiệm từ tháng thứ 1 đến tháng thứ 5 (giá trị trung bình)

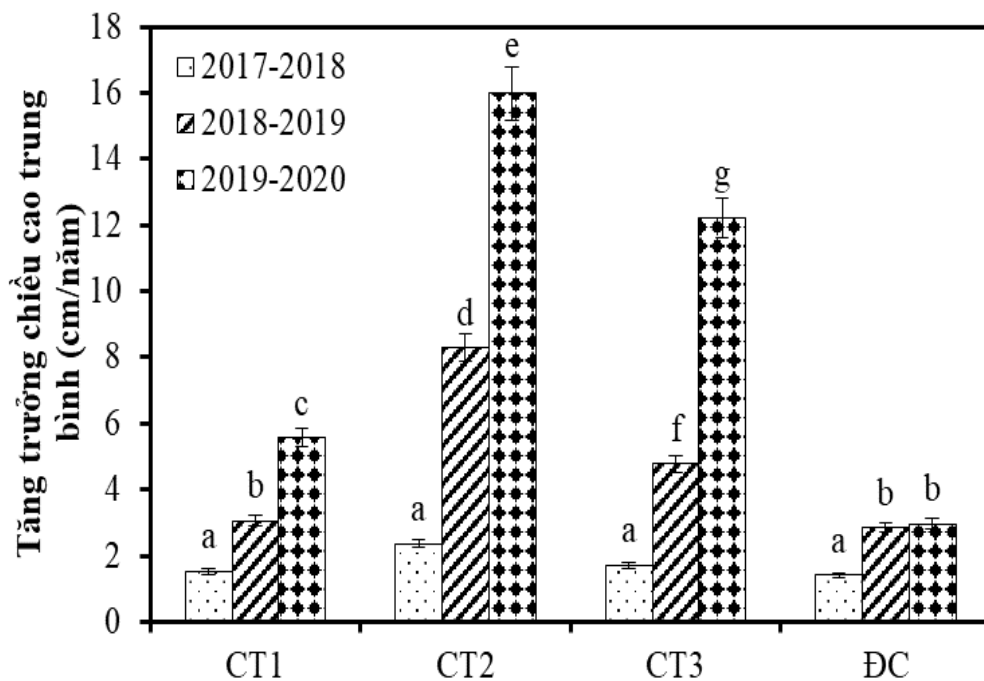
3.5.3. Thử nghiệm trồng cây con Vân sam fansipan ra môi trường tự nhiên từ phương pháp gieo hạt (cây con Vân sam fansipan từ vườn 1 năm tuổi)



Hình 3.55 Cây con Vân sam fansipan tại vườn ươm

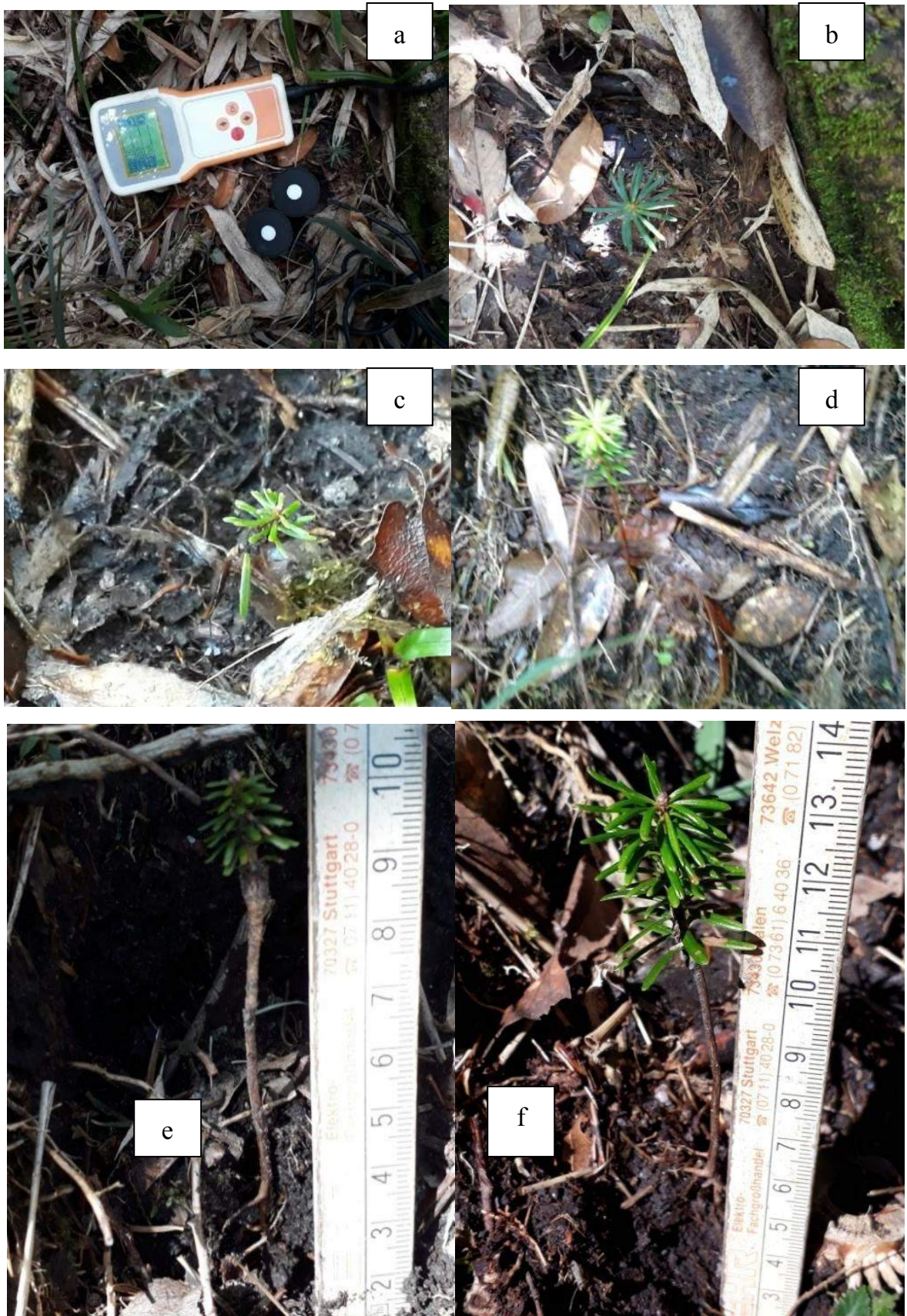
Trên cơ sở nghiên cứu về quy luật tái sinh tự nhiên của một số loài thuộc họ Thông (Pinaceae) từ một số công trình gần đây [7, 25, 44, 46, 51, 53, 114] và kinh nghiệm thực tế ghi nhận được rằng: Cây con tái sinh nhóm Thông nói chung và phân loài Vân sam fansipan nói riêng rất cần ánh sáng (tái sinh chỗ trống), địa hình độ dốc từ 10% trở lên (có sự xáo trộn đất tầng A), riêng đối tượng nghiên cứu còn có

yếu tố độ cao từ 2.600 – 2.950 m, độ ẩm không khí trung bình đạt trên 70%. Tác giả phân tích và lựa chọn các công thức trồng thử nghiệm cây con Vân sam fansipan được gieo từ hạt ra môi trường tự nhiên (minh họa Hình 3.54), với các công thức nghiệm được nêu ở phần phương pháp (CT1 trồng dưới tán rừng hỗn giao cây lá rộng, cây lá kim; CT2 trồng ở khu vực có nhiều ánh sáng, độ dốc khoảng 20%; độ tàn che khoảng 0,35; ít thảm tươi cây bụi; CT3 trồng ở khu vực thảm thực vật ưu thế Vân sam fansipan; tầng thảm tươi dày đặc; độ dốc khoảng 30%). Kết quả nghiên cứu sinh trưởng của 35 cây con Vân sam fansipan từ năm 2018-2020 được tổng hợp các bảng 5,6,7,8 (phần phụ lục 01).



Hình 3.56 Tăng trưởng trung bình theo chiều cao của 35 cây con Vân sam fansipan được trồng từ năm 2017 ở trong và ngoài khu vực phân bố tự nhiên.

Từ hình 3.55 trên cho thấy sinh trưởng (ΔH_{tb}) của các cây con Vân sam fansipan (1 năm tuổi được gieo từ hạt) sau 3 năm trồng thử nghiệm ra môi trường tự nhiên cả trong và ngoài khu phân bố tự nhiên của chúng dao động từ 4,3-10,6 cm. Trong đó có 5 cây thể hiện tăng trưởng trung bình (ΔH_{tb}) nhỏ hơn không tức là 5 cây bị chết (chiếm 14,29%, trong đó công thức 1 có 3 cây chết và 2 cây chết trong lô đối chứng), còn 30 cây sống (chiếm 85,71%). Ngoài ra, qua hình trên còn biểu thị sự tăng trưởng trung bình (ΔH_{tb}) của cây con Vân sam fansipan tăng dần theo thứ tự từ lô đối chứng < công thức 1 < công thức 3 < công thức 2.



Hình 3.57. Gồm: a,b _ CT 3 ; c _ DC ; d , f _ CT 2 ; e _ CT 1 được đo tháng 1/2018



Hình 3.58 Cây con năm 2020 ở công thức 2 (CT 2) và lô đối chứng (DC)

Kết quả xử lý số liệu theo dõi sinh trưởng của các cây con Vân sam fansipan được trồng từ năm 2017 đến 2020 theo các công thức thí nghiệm bằng phần mềm thống kê chuyên dụng (Anova Analysis) trong excel được tổng hợp trong bảng 3.13. Qua đó, cho ta nắm được độ tin cậy hay mức ý nghĩa kết quả nghiên cứu với các đại lượng trung bình cũng như sai số, độ lệch chuẩn, phương sai, giá trị nhỏ nhất, giá trị lớn nhất, là có sự khác nhau ở các công thức TN và theo thời gian từ 2018-2020. Kết quả cũng cho thấy ở công thức TN 2 (CT 2) cho giá trị trung bình lớn nhất với mức ý nghĩa ($P < 0,05$), tức là với độ tin cậy 95%, cây con ở công thức TN2 có sức sống và sinh trưởng tốt nhất với tỷ sống 100%, và tương tự với mức ý nghĩa ($P < 0,05$) cây con ở công thức 1 và lô đối chứng có tỷ lệ chết cao nhất và sức sống, khả năng sinh trưởng kém nhất với tỷ lệ chết lần lượt là 30% và 40%. Sự sai khác về chiều cao sinh trưởng ở các công thức TN và lô đối chứng được thể ở các bảng 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 dưới đây.

Bảng 3.13. Bảng tính kết quả thống kê các kết quả theo dõi

Các chỉ số thống kê	Các công thức thí nghiệm											
	Ct1			Ct2			Ct3			DC		
	h1 cm	h2 cm	h3 cm	h1 cm	h2 cm	h3 cm	h1 cm	h2 cm	h3 cm	h1 cm	h2 cm	h3 cm
Mean (trung bình)	7,16	8,70	11,21	7,99	13,92	21,62	7,22	10,29	17,73	6,78	8,20	8,32
Standard Error (sai số)	0,25	1,58	2,49	0,36	0,62	0,42	0,19	0,34	0,64	0,51	0,85	3,44
Median (trung vị)	7,35	10,90	15,80	7,75	13,40	21,55	7,25	10,60	18,25	6,50	8,80	12,30
Mode (yếu vị)	7,50	0,00	0,00	#N/A	#N/A	#N/A	7,30	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A	0,00
Standard Deviation (độ lệch chuẩn)	0,79	5,01	7,86	1,13	1,96	1,33	0,61	1,09	2,03	1,14	1,91	7,69
Sample Variance (phương sai mẫu)	0,63	25,05	61,81	1,27	3,84	1,76	0,37	1,19	4,13	1,30	3,64	59,16
Kurtosis (độ nhọn)	-1,46	0,02	-1,31	0,49	-0,62	-0,99	-0,61	-0,37	1,07	0,61	-2,04	-3,15
Skewness (độ lệch)	-0,08	-1,18	-0,92	1,05	0,50	0,32	0,38	-0,45	-0,95	0,80	-0,01	-0,49
Range (phạm vi)	2,20	13,50	17,30	3,50	6,10	4,00	1,80	3,60	7,10	3,00	4,40	15,70
Minimum (nhỏ nhất)	6,00	0,00	0,00	6,80	11,20	19,80	6,40	8,30	13,50	5,50	6,20	0,00
Maximum (lớn nhất)	8,20	13,50	17,30	10,30	17,30	23,80	8,20	11,90	20,60	8,50	10,60	15,70
Sum (tổng)	71,60	87,00	112,10	79,90	139,20	216,20	72,20	102,90	177,30	33,90	41,00	41,60
Count (đếm)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	5,00	5,00	5,00
Confidence Level (95,0%) (độ tin cậy)	0,57	3,58	5,62	0,81	1,40	0,95	0,43	0,78	1,45	1,41	2,37	9,55

Bảng 3.14. Kiểm tra sự sai khác giữa sự sinh trưởng của cây con VSF trồng theo CT1 và CT2

F-Test Two-Sample for Variances (Kiểm định phương sai 2 mẫu nghiên cứu)		
	CT1	CT2
Mean (trung bình)	3,383333333	8,88
Variance (phương sai)	19,85709877	1,171654321
Observations(giá trị quan sát)	10	10
df	9	9
F	16,94791579	
P(F<=f) one-tail	0,000127992	Giả thuyết
F Critical one-tail	3,178893105	
Kết luận: $F=16,9479 > f_{t=3,1789}$, trái với giả thuyết với mức ý nghĩa ($P=0,000127992$), tức là có sự sai khác đáng kể về sinh trưởng của các cây con trồng ở 2 khu vực (CT 1 và CT 2)		

Bảng 3.15. Kiểm tra sự sai khác giữa sự sinh trưởng của cây con VSF trồng theo CT1 và CT3

F-Test Two-Sample for Variances (Kiểm định phương sai 2 mẫu)		
	CT 1	CT 3
Mean (trung bình)	3.3833333	6.226667
Variance (phương sai)	19.857099	1.083654
Observations (quan sát)	10	10
df	9	9
F	18.3242	
P(F<=f) one-tail	9.288E-05	$F > f_t$, Bác Ho
F Critical one-tail	3.1788931	
Bác Ho (không có sự sai khác về sinh trưởng của 2 công thức) với mức ý nghĩa $P=0.00009288$		
Tức là với mức ý nghĩa trên, ta có thể khẳng định rằng sinh trưởng theo chiều cao của cây con Vân sam fansipan ở hai công thức (1 và 3) có sự khác biệt		
Từ giá trị của phương sai ở hai công thức ta có thể khẳng định sinh trưởng của các cá thể trồng theo công thức 3 có sự đồng đều hơn ở công thức 1 rất lớn.		

Bảng 3.16. Kiểm tra sự sai khác giữa sự sinh trưởng của cây con Vân sam fansipan tại CT 1,2,3 và lô đối chứng

F-Test Two-Sample for Variances (Kiểm định phương sai 2 mẫu)		
	Đối chứng	Trung bình công thức thí nghiệm 1,2,3
Mean (trung bình)	2.406666667	6.163333333
Variance (phương sai)	10.613	2.399617284
Observations (giá trị quan sát)	5	10
df	4	9
F	4.422788613	
P(F<=f) one-tail	0.02989576	F>ft, Bác Ho
F Critical one-tail	3.633088512	
Bác Ho; Vì $F=4,422789 > f=3,633089$ nên giả thuyết sinh trưởng trung bình của các cây con ở công thức 1,2,3 và ở lô đối chứng là như nhau (H_0) với mức ý nghĩa ($P=0.029896$) bị bác bỏ, tức là có sự sai khác về sinh trưởng của cây con ở hai điều kiện (trong vùng phân bố tự nhiên và ngoài vùng phân bố tự nhiên-Đối chứng)		

Theo dữ liệu tính toán phương sai về sinh trưởng ở lô đối chứng và khu vực phân bố tự nhiên của đối tượng nghiên cứu cho ta thấy, phương sai ở lô đối chứng =10,613 > phương sai ở khu phân bố tự nhiên của chúng. Điều này chứng tỏ sinh trưởng của các cây con tại lô đối chứng (ngoài vùng phân bố tự nhiên của Vân sam fansipan) không đồng đều, có sự khác biệt lớn. Mặt khác theo kết quả sinh trưởng trung bình giữa 2 khu vực này, cho chúng ta thấy rằng mặc dù được trồng cùng độ cao (2.900 m) nhưng tốc độ tăng trưởng của chúng kém hơn rất nhiều so với các cá thể cùng tuổi được trồng ở điều kiện tự nhiên vốn có của nó. Do đó, càng chứng minh cho giả thuyết để bảo tồn phân loài Vân sam fansipan nói riêng và các loài sinh vật nói chung, vấn đề nghiên cứu về đặc điểm sinh thái (nhu cầu về sinh thái) của chúng là rất cần thiết và cấp bách.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

Về đặc điểm sinh học, phân loài Vân sam fansipan ra chồi non từ tháng 2 cho đến tháng 5; ra nón từ giữa tháng 5 và nón chín vào tháng 12. Sự ra chồi non có mối tương quan chặt chẽ với cấp đường kính ở vị trí 1,3 m (tỷ lệ nghịch) tại đai thấp và đai cao (với hệ số tương quan $R^2=0,759$), cấp đường kính D1,3 từ 20 – 50 cm ra chồi dài nhất. Trong khi đó, sự ra nón của phân loài này lại có sự tương quan lỏng lẻo với cấp đường kính D1,3 ở đai thấp (tỷ lệ thuận) và chặt chẽ ở đai cao (với hệ số tương quan $R^2=0,415$), chu kỳ ra nón thất thường.

Về đặc điểm sinh thái, taxon này có khu phân bố hẹp, hiện nay chỉ mới phát hiện được khoảng 100 ha ở độ cao 2.600-2.950 m tại khu vực đỉnh Fansipan, Sapa - Lào Cai. Đây là vùng khí hậu á nhiệt đới và ôn đới núi cao. Cụ thể, đã định lượng được một số nhân tố sinh thái thích hợp cho các cá thể, quần thể của phân loài Vân sam fansipan sinh trưởng và phát triển gồm:

- Ánh sáng: cường độ ánh sáng tương đối dao động từ 3,49-34,15%.
- Không khí: Độ ẩm không khí trung bình dao động từ 64-92,5% và nhiệt độ không khí trung bình tháng dao động từ 6,5 – 17,1 °C.
- Điều kiện địa hình và thổ nhưỡng: Vân sam fansipan phát triển tốt ở sườn Đông của đỉnh Fansipan và thích nghi với địa hình có độ dốc từ 17 – 45 %; đất thịt nhẹ có độ dày từ 22-75 cm; độ ẩm đất từ 70 – 90 %; Kali dễ tiêu từ 0,22 – 0,402 mg/g; Ni tơ dễ tiêu dao động từ 0,25 – 0,34 mg/g; độ pH (Kcl) dao động từ 4,13 – 5,01; Sắt trao đổi (Fe^{2+}) dao động từ 1641,30 – 3341,41 mg/kg; Can xi trao đổi dao động từ 199,8 – 1502,8 mg/kg; Ma giê trao đổi dao động từ 113,1 – 322,4 mg/kg; đặc biệt hàm lượng mùn (độ phì nhiêu) dao động từ 34,08 – 72,5 %.
- Thảm thực vật tại khu vực phân bố tự nhiên của VSF ghi nhận 2 kiểu TTV chính: 01 TTV hỗn giao cây lá rộng, lá kim gồm 3 tầng (Tầng ưu thế sinh thái; tầng cây gỗ tái sinh và tầng cây bụi thảm tươi); 02 TTV ưu thế cây lá kim gồm 3 tầng (tầng ưu thế sinh thái; tầng cây gỗ tái sinh; tầng cây bụi thảm tươi).
- Tổ thành các loài thực vật chiếm tầng ưu thế sinh thái tại 2 kiểu TTV gồm: công thức tổ thành của TTV đai thấp: *Magnolia cathcartii* (10,1 %) + *Camelia* sp. (7,01 %) + *Acer campbelii* var *fansipanense* (6,33 %) + *Rhodoleia championii* (5,33 %) + *Rhododendron madennii* (5,08 %) + *Schima wallichii* (5,0 %) + các loài khác (67,57 %) và công thức tổ thành của

TTV đai cao: *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (42,24%) + *Rhodoleia championii* (5,08 %) + *Rhododendron madennii* (8,39 %) + *Pieris formosa* (8,08 %) + *Camellia* sp. (6,35 %) + *Eurya distichophylla* (6, 28 %) + các loài thực vật khác (19,59 %).

Kết quả nghiên cứu đặc điểm tái sinh của Vân sam fansipan cho thấy, khả năng tái sinh tự nhiên của phân loài là từ hạt (không ghi nhận tái sinh từ chồi); số lượng cây tái sinh rất ít (25 cây), 60% cây con có sinh trưởng tốt; chủ yếu bắt gặp chúng sinh trưởng tốt ở những nơi mới bị sạt lở, có nhiều lỗ trống.

Về đặc điểm di truyền, phân loài Vân sam fansipan có mối quan hệ di truyền gần gũi nhất với loài *A. delavayi* và *A. nukiangensis* với khoảng cách di truyền là 0.001. Một số vị trí Nucleotide sai khác trên 5 vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA*; *rps18-rpl20*; *nad5*; *trnL-trnF* của 20 mẫu Vân sam fansipan đã được phát hiện không những có ý nghĩa quan trọng trong việc xác định chính xác vị trí phân loại của chúng mà còn chỉ ra được sự đa dạng gen của quần thể phân bố ở đai cao (2.950 m) cao hơn so với quần thể ở đai thấp (2.600m) – đây là định hướng quan trọng cho việc lựa chọn nguồn giống thích nghi với sự biến đổi khí hậu. Tuy nhiên, còn chưa khẳng định được các Nucleotide sai khác trên có ý nghĩa di truyền hay chỉ là sai khác do khoảng cách địa lý. Đã đăng ký trình tự vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* của loài Vân sam fansipan lên Genbank với mã số truy cập lần lượt là MK783132 và MK783131.

Về nhân giống bảo tồn, trong quá trình nhân giống bằng hom chất điều hòa sinh trưởng thực vật IBA với các nồng độ khác nhau đã được sử dụng. Kết quả của việc xử lý IBA đã làm gia tăng tỷ lệ hom ra rễ, số lượng rễ trên hom và tỷ lệ hom giống phát triển lá non đối với Vân sam fansipan. Kết quả tốt nhất đã thu được ở những công thức xử lý 1.500 (mg/L) IBA; Kết quả phân tích ảnh hưởng việc xử lý IBA đến kết quả giâm hom gợi ý quy trình dâm hom như sau: Trước hết, để giâm hom ra rễ sử dụng giá thể cát vàng mịn; Sau đó chuyển các hom đã ra rễ sang giá thể đất mùn trộn lẫn đất tầng A với tỷ lệ (65% và 35%); Kết quả nhân giống bằng hạt cho thấy việc bảo quản sau thu hoạch hạt Vân sam fansipan không những có ảnh hưởng rất lớn đến khả năng nảy mầm của hạt mà còn ảnh hưởng đến sức sinh trưởng của cây con thu được từ chúng. Bảo quản hạt Vân sam fansipan ở điều kiện - 10°C cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất (83.3%) và sinh trưởng tốt nhất (hvn: 5,1 cm/5 tháng);

Kết quả trồng thử nghiệm cây con từ hạt của Vân sam fansipan ra môi trường tự nhiên cho thấy có thể đạt được tỷ lệ cây sống tương đối cao (xấp xỉ 86%) nếu trồng ở khu vực có nhiều ánh sáng, độ dốc khoảng 20%, độ tàn che khoảng 0,35 và ít thảm tươi cây bụi.

2. KIẾN NGHỊ

- Cần đánh giá lại tình trạng cấp độ bảo tồn của phân loài Vân sam fansipan trên cơ sở dữ liệu của luận án.

- Cần tiến hành nghiên cứu khẩn trương các giải pháp hỗ trợ tái sinh bằng hạt tự nhiên tại thực địa và triển khai trồng bảo tồn bằng các giải pháp giảm thiểu để bảo tồn phân loài Vân sam fansipan.

ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Luận án đã đóng góp mới cho khoa học các dẫn liệu liên quan đến phân loài Vân sam fansipan một cách định lượng gồm: Đặc điểm sinh thái khu vực phân bố và nhu cầu sinh thái cây con Vân sam fansipan, hiện trạng quần thể Vân sam fansipan, chất lượng và hiện trạng phân bố của cây con tái sinh tự nhiên có chiều cao <1m; Đặc điểm di truyền của 20 cá thể Vân sam phân bố ngẫu nhiên từ 2.600 – 2.950 m (với 5 vùng gen khác nhau) và mối quan hệ gần gũi với một số loài trong họ Pinaceae.

Đóng góp mới cho khoa học và thực tiễn về tỷ lệ thành công và kỹ thuật nhân giống Vân sam fansipan bằng hom tại địa điểm phân bố tự nhiên của loài.

Đóng góp mới cho khoa học và thực tiễn dẫn liệu về khả năng và kỹ thuật bảo quản hạt Vân sam fansipan.

Đóng góp mới cho thực tiễn về kỹ thuật trồng cây con Vân sam fansipan ra môi trường tự nhiên (tại chỗ và chuyển chỗ).

Giải mã trình tự 5 vùng gen *rbcL*, *trnH-psbA*; *rps18-rpl20*; *nad5*; *trnL-trnF* loài Vân sam fansipan.

DANH SÁCH CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA NGHIÊN CỨU SINH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

- [1] **H. M. Nguyen***, V. S. Nguyen, V. N. Le, T. T. H. Huynh and T. H. Do, 2022, A novel study on bio-ecological and genetic characteristics of *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* distributed at different altitudes on Fansipan - Mountain, Lào Cai province, Viet Nam, *Journal of Animal & Plant Sciences*, 32 (5), 1331-1346.
- [2] **Nguyễn Hùng Mạnh**, Lại Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Hồng Mai, Nguyễn Thị Phương Trang*, 2021, Nguyễn Văn Sinh, Xác định đặc điểm vùng gen rbcL và trnH-psbA của phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang) Rushforth ở Việt Nam, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 63 (3), 28-32.
- [3] **Nguyễn Hùng Mạnh***, Nguyễn Văn Sinh, Lại Thị Thu Hằng, Phí Công Thường, Lê Văn Nhân, Vương Trọng Kha, Lê Tú Anh, 2020, Nghiên cứu nhân giống phân loài Vân sam fansipan (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q. P. Xiang, L. K. Fu & Nan Li) Rushforth tại vườn quốc gia Hoàng Liên, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 2020, 21, 112-116.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 2007, Sách đỏ Việt Nam (Phần thực vật), *Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ*, Hà Nội.
2. Nghị định số 32/2006/NĐ-CP ngày 30/3/2006 về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý hiếm, 2006, Chính phủ nước CHXHCN Việt Nam.
3. Nghị định 84/2021/NĐ-CP của Chính phủ ngày 22/9/2021, sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định số 06/2019/NĐ-CP ngày 22 tháng 01 năm 2019 của Chính phủ về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm và thực thi Công ước về buôn bán quốc tế các loài động vật, thực vật hoang dã nguy cấp, 2019, Chính phủ nước CHXHCN Việt Nam.
4. Farjon A., Rushforth K.D., 1989, A classification of *Abies* Miller (*Pinaceae*), *Notes R Bot Gard Edinburgh*, 46, pp. 59-77.
5. Nguyễn Tiến Hiệp, Phan Kế Lộc, Nguyễn Đức Tố Lưu, Philip Lan Thomas, Aljos Farjon, Leonid Averyanov, Jacinto Regalado, 2004, Hiện trạng bảo tồn các loài Thông Việt Nam, Báo cáo dự án Fauna and Flora - International Vietnam Programme.
6. Báo cáo tổng kết khoa học, Vườn quốc gia Hoàng Liên, 2015.
7. Hoàng Văn Sâm, 2013, Thành phần loài và hiện trạng bảo tồn thực vật ngành hạt trần tại VQG Hoàng Liên, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 2, pp. 36-43.
8. Nguyễn Đức Tố Lưu và Philip Ian Thomas, 2004, Cây lá kim Việt Nam, *NXB. Thế giới*, Hà Nội.
9. Phan Kế Lộc, Nguyễn Sinh Khang, Phạm Văn Thế, Nguyễn Thị Thanh Hương, L.V. Averyanov, 2013, Trích yếu được cập nhật hóa Thông mọc tự nhiên ở Việt Nam, *Hội nghị Khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 5*.
10. Phan Ke Loc, Pham Van The, Phan Ke Long, Regalado J., Averyanov L.V., Maslin B., 2017, Native conifers of Vietnam – A review, *Pakistan Journal of Botany*, 49(5), pp.2037-2068.
11. Xiang Q.P., 1997, *Abies fansipanensis* - A new species of the genus *Abies* from Vietnam, *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 35(4), pp. 356-359.

12. Nguyễn Thị Phương Trang, 2012, Đa dạng di truyền quần thể và bảo tồn hai loài Pơ mu (*Fokienia hodginsii* (Dunn.) A. Henry et H. Thomas) và Sa mộc dầu, Luận Án Tiến Sĩ, Hà Nội.
13. Miller, 1754: The Gymnosperm Database at: <http://www.conifers.org/pi/Abies.php>.
14. Semerikova S.A., Semerikov V.L., 2014, Molecular phylogenetic analysis of the genus *Abies* (*Pinaceae*) based on the nucleotide sequence of chloroplast ADN, *Russian Journal of Genetics*, 50(1), pp. 7-19.
15. Andrzej L.A., Maciej F., Jaroslaw B., 2001, Genetic variation of *Abies alba* Mill. In polish part of Sudety MTS, *Acta Societa Botanicorum Poloniae*, 70(3), pp. 215-219.
16. Xiang Q.P., Xiang Q.Y. (Jenny), Guo Y.Y., and Zhang X.C., 2009, Phylogeny of *Abies* (*Pinaceae*) inferred from nrITS sequence data, *Taxon*, 58(1), pp.141-152.
17. Larionova A.Y., Ekart A.K., and Kravchenko A.N., 2007, Genetic diversity and population structure of Siberian fir (*Abies sibirica* Leder.) in Middle Siberia, Russia, *Eurasian Journal of Forest Research*, 10(2), pp.185-192.
18. Aquirre-Planter E., Furnier G.R., and Eguiarte L.E., 2000, Low levels genetic variation within and high levels of genetic differentiation among populations of species of *Abies* from southern Mexico and Guatemala, *American Journal of Botany*, 87, pp. 362-371.
19. Shea K.L., and Furnier G.R., 2002, Genetic variation and population structure in central and isolated populations of balsam fir, *Abies balsamea* (*Pinaceae*), *American Journal of Botany*, 76, pp. 1395-1403.
20. Sách đỏ Việt Nam (Phần thực vật), 1996, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
21. Lê Đồng Tấn, 2000, Nghiên cứu quá trình phục hồi tự nhiên một số quần xã thực vật sau nương rẫy tại Sơn La phục vụ cho việc khoanh nuôi, Luận án Tiến sĩ, Hà Nội.
22. Phùng Ngọc Lan, 1986, Lâm sinh học, tập 1, *NXB Nông nghiệp*, Hà Nội.
23. Trần Xuân Thiệp, 1996, Đánh giá hiệu quả của phương thức khai thác chọn tại lâm trường Hương Sơn, Hà Tĩnh, Luận án Tiến sĩ, Hà Nội.
24. Phạm Ngọc Thường, 2002, Nghiên cứu đặc điểm tái sinh tự nhiên và đề xuất một số giải pháp kỹ thuật lâm sinh phục hồi rừng sau nương rẫy ở hai tỉnh Thái Nguyên và Bắc Kạn, Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, Hà Nội.

25. Hard G., 1975, *Vegetationsdynamik und Verwaltungsprozesse auf den Brachflaechen Mitteleuropas*, *Die Erde* 106, pp. 243-276, Berlin.
26. Hort A. (Ed), 1916, *Theophrastus. An enquiry into plants. Book IV. Of the trees and plants special to particular districts and positions*. Heinemann, London.
27. Dureau de La Malle, A.J.C.A., 1825, Memoire sur l'Alternance ou sur ce probleme: la succession alternative dans la reproduction des especes vegetales vivant en societe, est elle une loi generale de la nature? *Annales des Sciences Naturelles*, 5, pp. 353-381.
28. Warming E., and Vahl M., 1909, *Ecology of plants. An Introduction to the Study of Plant-Communities*. Oxford University Press, Oxford.
29. Burschel P. und Huss J. 1997, *Grundriss des Waldbaus*. Pareys Studentexte 49. Parey Buchverlag, Berlin.
30. Wolf G., 1980, Zur Gehoelzansiedlung und -ausbreitung auf Brachflaechen. – *Natur u. Landschaft* 55, (10), pp. 375-380.
31. Miles J., 1987, Vegetation succession: past and present perceptions. In: A.J. Gray, M.J. Crawley and P.J. Edwards (eds): *Colonization, Succession and Stability*. Blackwell, Oxford, pp. 1-29.
32. Schiefer J., 1981, Brachversuche in Baden-Wuerttemberg. Vegetations- und Standortsentwicklung auf 16 verschiedenen Versuchsflaechen mit unterschiedlichen Behandlungen (Beweidung, Mulchen, kontrolliertes Brennen, ungestoerte Sukzession). Beihefte zu den Veroeffentlichungen fuer Naturschutz und Lanschaftspflege in Baden-Wuerttemberg 22, Germany.
33. Schmidt W., 1981, Ungestoerte und gelenkte Sukzession auf Brachaeckern, *Scripta Geobotanica* XV.
34. Thornburgh D.A., 1981, Succession in the mixed evergreen forests of Northwestern California. In: *Forest succession and Stand development research in the Northwest*, Proceedings of the symposium at Corvallis, Oregon.
35. Iffert B., 1983, *Nettoprimaerproduktion und Umsatz der oberirdischen Pflanzenmasse einer nicht mehr genutzten Glatthaferwiese unter dem Einfluss der ungestoerten Sukzession und des Mulchens*. Dissertation, Justus-Liebig-Universitaet Giessen.
36. Jukola-Sulonen E.L., 1983, Vegetation successsion of abandoned hay fields in central Finland. A quantative approach. *Communicationes Instituti forestalis Fenniae*, pp. 112, 1-85.

37. Alaback P.B., 1984, Plant succession following logging in the sitka spruce Western Hemlock forests of Southeast Alaska, Implications for management. General Technical Report, Forest Service.
38. Thai Van Trung, 1993, Réhabilitation des écosystèmes forestiers dégradés par les herbicides au Sud Vietnam. Journées du Programme ,Environnement' CNRS à Lyon 13, 14, 15 Janvier: 'Les écosystèmes intertropicaux'. Fonctionnement et usages.
39. Trần Đình Lý, Đỗ Hữu Thư, 1995, Nghiên cứu xác định diện tích và hệ thống biện pháp kỹ thuật khoanh nuôi rừng. Báo cáo kết quả dự án KN.03.11 trong chương trình phục hồi rừng và phát triển lâm nghiệp KN.03, Hà Nội. Việt Nam.
40. Phạm Đình Tam, 1987, Khả năng tái sinh tự nhiên dưới tán các dạng rừng thứ sinh vùng Hương Sơn – Hà Tĩnh, Thông tin khoa học kỹ thuật lâm nghiệp, Hà Nội, 1, 23-26
41. Đinh Quang Diệp, 1993, Góp phần nghiên cứu tiến trình tái sinh tự nhiên ở rừng khộp Easup-Đắc Lắc, Luận án Tiến sĩ, Hà Nội.
42. Nguyễn Ngọc Lung, Nguyễn Ngọc Bình, 1993, Quy luật tái sinh phục hồi sau nương rẫy trong phát triển kinh tế môi trường bền vững vùng núi cao, Tài liệu Hội thảo khoa học mô hình phát triển kinh tế - Môi trường, Hà Nội.
43. Nguyễn Duy Chuyên, 1995, Nghiên cứu quy luật phân phối cây tái sinh tự nhiên rừng lá rộng thường xanh hỗn loài vùng Quỳnh Châu, Nghệ An, Công trình khoa học kỹ thuật điều tra quy hoạch rừng (1991-1995), NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
44. Trần Đình Lý, Đỗ Hữu Thư, 1997, Khả năng tái sinh tự nhiên thảm thực vật vùng núi Sa Pa, Tạp chí Lâm nghiệp, 2, tr. 12-13.
45. Lâm Cố Phúc, 1996, Nghiên cứu một số biện pháp xây dựng rừng phòng hộ đầu nguồn sông Đà tại Lâm trường Púng Luông – Mường Chải tỉnh Yên Bái, Luận án Tiến sĩ, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, Hà Nội.
46. Lê Ngọc Công, 2003, Nghiên cứu quá trình phục hồi rừng bằng khoanh nuôi trên một số thảm thực vật tại Thái Nguyên, Luận án Tiến sĩ, Viện ST&TNS, Viện KH&CNVN, Hà Nội.
47. Thái Văn Trùng, 1978, Thảm thực vật rừng Việt Nam, NXB Khoa học và Kỹ Thuật, Hà Nội.
48. Vũ Tiến Hình, 1991, Về đặc điểm tái sinh rừng tự nhiên, Tạp chí Lâm nghiệp, (2), tr. 3-4.

49. Nguyễn Văn Trương, 1983, Quy luật cấu trúc rừng gỗ hỗn loài, *NXB Khoa học và Kỹ thuật*, Hà Nội.
50. Richards P.W., 1976, Rừng mưa nhiệt đới (bản dịch tập I, II, III), *NXB Khoa học và Kỹ Thuật*, Hà Nội.
51. Đỗ Văn Trường, Nguyễn Bá Tâm, 2017, Nghiên cứu tính đa dạng, phân bố và hiện trạng bảo tồn các loài Thông tại KBTN Pù Luông, Thanh Hóa, *Hội nghị toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 7*, tr. 1018-1026.
52. Nguyễn Hải Tuất, 2006, Phân tích thống kê trong Lâm nghiệp. Giáo trình thống kê Lâm nghiệp. *NXB. Khoa học và Kỹ thuật*, Hà Nội.
53. Ahlquist, Jon E., 1999, A commentary on 30 years of collaboration. *The Auk*, 116, (3).
54. Corbin K.W., Ferguson A., Wilson A.C., Brush A.H., Ahlquist J.E., 1974, Genetic polymorphism in New Guinea starlings of the genus *Aplonis*. *Condor*, 76, pp. 307-18
55. Miyamoto M.M., Goodman M., 1986, Biomolecular systematics of eutherian mammals: phylogenetic patterns and classification. *Systematics Zool*, 35, pp. 230-240.
56. Miyamoto M.M., Koop B.F., Slightom J.L., Goodman, Tennat, 1988, Molecular systematics of higher primates: genealogical relationships and classification. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 85, pp. 7627-763.
57. Avise C.J., 1992, Molecular population structure and the biogeographic history of regional fauna: a case history with lessons for conservation biology. *Oikos*, 63, pp. 62-76.
58. Avise C.J., 1995, Mitochondrial ADN polymorphism and a connection between genetics and demography of relevance to conservation. *Conservation Biology*, 9, pp. 686-690.
59. Avise C.J., 1993, *Molecular Markers Natural History and Evolution*. Publ House Chapman and Hall, 82.
60. Tsumura Y. and Suyama Y., 1998, Differentiation of mitochondrial and polymorphisms in populations of five Japanese *Abies* species, *Evolution*, 52, pp. 1031-1042.
61. Aquirre-Planter E., Furnier G.R., and Eguiarte L.E., 2000, Low levels genetic variation within and high levels of genetic differentiation among populations of

- species of *Abies* from southern Mexico and Guatemala, *American Journal of Botany*, 87, pp. 362-371.
62. Shea K.L., 1990, Genetic variation between and within populations of Engelmann spruce and subalpine fir. *Genom*, 33, pp. 1-8.
63. Maria I.Z., Rosana P.V.B., Jose B.P., Lazaro J.C., Alexandre S.G.C., Roland V., 2003, Genetic structure and gene flow in *Eugenia dysenterica* DC in the Brazillian Cerrado utilizing SSR markers, *Genetics and Molecular Biology*, 26(4), pp. 449-457.
64. Bahulikar R.A., Lagn M.D., Kulkarnu B.G., Pandit S.S., Suresh H.S., Rao M. K.V., Ranjekar P.K., Gupta V.S., 2004, Genetic diversity among spatially isolated populations of *Eurya nitida* Korth (Theaceae) based on inter-single sequence repeats, *Current Science*, 86(6), pp. 824-831.
65. Shao Y.Z., Chen Y., Zhang X.C., Xiang Q.P., 2019, Species delimitation and phylogeography of *Abies delavayi* complex: Inferred from morphological, molecular and climatic data, *Journal of Systematics and Evolution*, 00, pp. 1-13.
66. Ban N. T. (ed.), 2003, Checklist of plant species of Vietnam, V2, Agri. Hou., Hanoi.
67. Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2006, Một số loài cây bị đe dọa ở Việt Nam. *NXB. Nông nghiệp*, tập 2, Hà Nội.
68. Nguyễn Đức Thành và Henry Nguyễn, 1999, Nghiên cứu đa dạng phân tử ở lúa bằng kỹ thuật đa hình các chuỗi lặp đơn giản (SSR), *Tạp chí Sinh học*, 21(1), tr. 107-112.
69. Giang L.T.H., Hong P.N., Tuan M.S., Harada K., 2003, Genetic variation of *Avicennia marina* (Fask.) Vierh (*Avicenniaceae*) in Vietnam revealed by microsatellite and AFLP markers, *Genes & Genetic Systems*, 78, pp. 399-407.
70. Trần Thị Hòa, L. Triest, Trần Thị Vân, Lê Đình Khả, J. Koskela, Nguyễn Huy Sơn, Trần Hồ Quang, 2003, Sự biến đổi isozyme trong quần thể loài Giáng hương (*Pterocarpus macrocarpus* Kurz.) của Việt Nam. *Tạp chí Công nghệ sinh học*, 1(3), pp. 363-376.
71. Nguyễn Thị Phương Trang, Nguyễn Hùng Mạnh, Bùi Thu Hà, 2022, Nghiên cứu xác định các vùng EST-SSR đặc trưng của loài Sâm ngọc linh (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv.) bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới, *Tạp chí Khoa học công nghệ*, 64 (3), tra. 16-20.

72. Nguyễn Thuý Hạnh, Nguyễn Đức Thành, Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2005, Nghiên cứu mối quan hệ di truyền của 12 loài thuộc chi *Dipterocarpus* (*Dipterocarpaceae*) dựa trên các chỉ thị phân tử. *Kỷ yếu khoa học toàn quốc “Công nghệ sinh học trong nghiên cứu cơ bản”*. Trường ĐH Nông nghiệp 1 Hà Nội, tr. 89-92.
73. Wang X.R., Szmidt A.E. and Nguyen Hoang Nghia, 2000, The phylogenetic position of the endemic flat-needle pine *Pinus krempfii* (*Pinaceae*) from Vietnam base on PCR-RFLP analysis of chloroplast ADN, *Plant Systematics and Evolution*, 220, pp. 21-36.
74. Quách Thị Liên, Nguyễn Đức Thành và Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2004, Sử dụng các chỉ thị RAPD và ADN lục lạp trong nghiên cứu quan hệ di truyền của một số xuất xứ cây Lim xanh *Erythrophloeum fordii* Oliv. *Kỷ yếu Hội nghị toàn quốc “Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống”*. NXB.Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 464-468.
75. Nguyễn Hoàng Nghĩa, Nguyễn Thuý Hạnh, Nguyễn Đức Thành, 2005, Kết quả bước đầu đánh giá đa dạng di truyền của 3 xuất xứ Lim xanh bằng chỉ thị phân tử RAPD và ADN lục lạp. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, tr. 80-81.
76. Đinh Thị Phòng, Đỗ Tiến Phát, Nguyễn Văn Phụng, Phí Hồng Hải, 2009, Đa dạng di truyền 19 mẫu Giỏi bằng chỉ thị RAPD và ADN lục lạp. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 7(1), tr. 75-83.
77. Vũ Thị Thu Hiền, Lê Anh Tuấn, Trần Thị Việt Thanh, Phí Hồng Hải, Đinh Thị Phòng, 2009, Phân tích mối quan hệ di truyền giữa các xuất xứ Pơ mu *Fokienia hodginsii* bằng chỉ thị RAPD và ADN lục lạp. *Kỷ yếu Hội nghị Khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 3*. NXB. Nông nghiệp, tr. 122-128.
78. Phan Ke Long, Nguyen Thi Phuong Trang, Leonid V.Averyanov and Phan Ke Loc, 2011, Molecular characterisation of *Calocedrus rupestris* (Averyanov LV. Nguyen HT, Phan KL, 2008 (*Cupressaceae*)) based on ITS1 partial sequence, *Journal of Genomics and Molecular research*, 4 (10).
79. Nguyễn Đức Thành, Nguyễn Văn Phụng, Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2009, Đa dạng di truyền của loài Sao mạng (*Hopea reticulate Tardicu*) dựa trên phân tích một số chuỗi ADN lục lạp và chỉ thị RAPD. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 7(2), tr. 203-210.
80. Nguyễn Thị Thuý Hằng, 2012, Xác định tên một số loài thuộc chi tre (*Bambusa Schreb.*) do biến đổi hình thái ở Việt Nam bằng kỹ thuật phân tích ADN, Luận Văn thạc sỹ Khoa học, Đại học Quốc gia Hà Nội.

81. Vanderbank M., Fay M.F., Chase M.W., 2002, Molecular Phylogenetics of *Thymelaeaceae* with particular reference to African and Australian genera. *Taxon*, 51(2), pp. 329-339.
82. Nguyen Minh Tam, Nguyen Thi Hoa and Nguyen T. Phuong Trang, 2011, Genetic diversity of an endangered species, *Fokienia hodginsii* (*Cupressaceae*). *African Journal of Biotechnology*, 10(71), pp. 15838-15844.
83. Triest L., 2008, Molecular ecology and biogeography of Mangrove trees towards conceptual insights on gene flow and barriers: A review, *Aquatic Botany*, 89, pp. 138-154.
84. Keiding T.J. and Graudal B., 1989, Phylogenetics of Pinus (*Pinaceae*) based on nuclear ribosomal ADN internal transcribed spacer sequences, *Molecular Phylogenetic Evolution*, 11(1), 95-109.
85. Zobbel L. and Talbert J., 1984, Principles of Wildlife Conservation, Oregon State University, Corvallis, Oregon.
86. Lê Đình Khả, Nguyễn Hoàng Nghĩa, Nguyễn Xuân Liệu, 2006, Cải thiện giống cây rừng và quản lý giống cây rừng ở Việt Nam. Bộ NNPTNT, FSSP&P và GTZ, Hà Nội, tr. 87-104.
87. Leonid K., Sklar G. Schiller G., 2002, Diversity among Circum-Mediterranea population of Aleppo pine differentiation from Brutiapine in their isoenzymes: Additional results, *Silvae Genetica*, 51(1), pp. 35-41.
88. Boyle T.J.B., and Boontawee B., 1995, *Measuring and Monitoring Biodiversity in Tropical and Temperate Forest*. CIFOR, pp. 379.
89. Bryant P.J., 1997, Biodiversity and consevation, (<http://darwin.bio.uci.edu>).
90. FAO, Rome, 1993, Conservation of genetic resources in tropical forest management. Principles and concepts, *Forestry Paper*, No 107.
91. FAO/UNEP, Rome, 1975, Report on a pilot study on the Methodology of Conservation of Forest Genetic Resources, pp. 117.
92. Uma Shaaker R., Ganeshaiyah K.N. and Bawa K.S. (Eds), 2001, Forest Genetic Resources: Status, Threats and Consevation Strategies, Oxford & IBH, New Delhi.
93. IUCN, 2001, Red List Categories and Criteries, version 3.1. Gland, Switzerland, pp. 32.
94. IUCN, 2013, Red list of Threatened Species, World Conservation Press, (<http://www.iucnredlist.org>).

95. Drysdale N., John K. and Yapa J., 1993, Sampling strategies for genetic variation in ex situ collections of endangered plant species. In: D.A. Falk and K.E. Holsinger, *Genetics and Conservation of rare plants*, Oxford Univ. Press, pp. 100-119.
96. State of the art Review on consevation of Forest Tree Species in Tropical Asia and the Pacific, ITTO, 2000a, pp. 98.
97. Morgante M., Hanafey M. and Powell W., 2002, Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive ADN in plant genomes, *Nature Genetic*, 30 (2), pp. 194-200.
98. Changtragoon N., 2004, An ADN barcode for land plants, *PNAS* August 4, 106 (31), pp. 12794-12797.
99. Kemp J., Namkoong O., Wadsworth R., 1993, Population genetic consequences of small population size: implication for plant conservation, *Annual Review of Ecology and System*, 24, pp. 217-242.
100. Geburek R., 1997, A primer of Consevation Biology, Sunderland, Massachsetts USA.
101. Lakshmikumaran M., Srivastava P.S. and Singh A., 2001, Application of molecula marker technologies for genome analysis and assessment of genetic diversity in forest tree species.
102. Lee, S.L. 2000, Genetic Diversity of Tropical Tree Species, *Shorea leprosula* Miq. (*Dipterocarpaceae*) in Malaysia: Implication for Consevation of genetic Resources and Tree Improvement, *Biotropica*, 32(2), pp. 213-224.
103. Lee S.L., Ang K.C., Muhammad N., 2000, Genetic Diversity of *Dryobalanops aromatica* Gaertn. (*Dipterocarpaceae*) in Peninsular Malaysia and its Pertinence to Genetic Consevation and Tree Impruvement, *Forest Genetic*, 7(3), pp. 211-219.
104. Lee S.L., Wickneswari R., Mahani M. K., Zakri A. H., 2001, Comperative genetic diversity studies of *Shorea leprosula* (*Dipterocarpaceae*) using RAPD and Allozyme markers, *Journal of Tropical Forest Science*, 13(1), pp. 202-215.
105. Nguyễn Nghĩa Thìn, 1997, Cẩm nang nghiên cứu đa dạng sinh vật, *NXB. Nông nghiệp*, Hà Nội.
106. Thái Văn Trùng, 1998, Thảm thực vật rừng Việt Nam. *NXB. Khoa học và Kỹ thuật*, Hà Nội.
107. Đinh Thị Phòng, Trần Thị Liễu, Vũ Thị Thu Hiền, 2016, *Thông số về tính đa dạng di truyền quần thể tự nhiên loài đỉnh tùng (Cephalotaxus mannu Hook. F.) ở*

- Tây nguyên, Việt Nam bằng chỉ thị SSR. *Tạp chí Công nghệ sinh học* 14(2). tr.245-252.
108. Nguyen Minh Tam and Nguyen Thi PhuongTrang, 2012, Molecular identification of *Cupressaceae (coniferales)* in Vietnam based on: 18S – rADN sequence, *African Journal of Biotechnology*, 11 (18), pp. 4158 -4162.
109. Nguyễn Sinh Khang, Phạm Văn Thế, Nguyễn Tiên Vinh, Nguyễn Quang Hiều, Nguyễn Tiến Hiệp và Nguyễn Trường Sơn, 2011, Nhân giống Thông đỏ bắc (*Taxus chinensis (Pilg.) Rehder*) tại Khu bảo tồn thiên nhiên Bát Đại Sơn, huyện Quán Bạ, tỉnh Hà Giang. *Hội Nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 4*, tr. 654-660.
110. Trần Minh Tuấn, 2002, Nghiên cứu nhân giống bằng hom loài Phi ba mũi ở VQG Ba Vì, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 1, 79.
111. Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2006, Một số loài cây bị đe dọa ở Việt Nam. *NXB. Nông nghiệp*, tập 2, Hà Nội.
112. Lê Đình Khả, Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2003, Nhân giống Thông đỏ pà cò (*Taxus chinensis*) bằng hom trong Chọn tạo giống và nhân giống cho một số loài cây trồng rừng chủ yếu ở Việt Nam, *NXB. Nông nghiệp*, Hà Nội, tr. 223-226.
113. Trần Vinh, 2009, Ảnh hưởng của chất điều hoà sinh trưởng IBA và NAA đến sự ra rễ của hom Thủy tùng, *Tạp chí kinh tế sinh thái*, (29).
114. Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2004, Các loài cây lá kim ở Việt nam. *NXB. Nông nghiệp*, Hà Nội.
115. Nguyễn Tiến Bân (chủ biên), 2001, Danh lục các loài thực vật Việt Nam (Tập 1), *NXB. Nông nghiệp*, Hà Nội, tr. 1158-1161.
116. Hiep N.H., Loc P.K., Luu N.Đ.T., Thomas P.L., Farjon A., Averyanov L.V. and Jacinto R., 2004, Vietnam Conifers: Conservation status review, VietNam.
117. Nguyễn Nghĩa Thìn, 2007, Các phương pháp nghiên cứu thực vật. *NXB. Đại học quốc gia Hà Nội*, Hà Nội.
118. Hà Quang Khải, 2002, Giáo Trình Đất Lâm Nghiệp. *NXB. Khoa học và Kỹ Thuật*, Hà Nội.
119. Klotzbücher T., Marxen A., Vetterlein D., Jahn R., Schneiker J., Türke M., Nguyen Van Sinh, Nguyen Hung Manh, Ho Van Chien, Marquez L., Villareal S. and Victor Bustamante J., 2015, Plant-available silicon in rice paddy soils of Vietnam and the Philippines within the LEGATO project, *Basic and Applied Ecology*, 16, pp. 665-673.

120. UNESCO, 1973, International classification and Mapping of vegetation, Paris.
121. Curtis J.T., McIntosh R.P., An Upland Forest Continuum in the Prairie-Forest Border Region of Wisconsin. *Ecology*, 32, pp. 476-496.
122. Hoheisel H., 1976, Strukturanalyse und Waldtypengliederung im primaeren Wolkenwald 'San Eusebio' in der Nordkordillere der venezolanischen Anden. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Forstlichen Fakultät der Georg-August-Universität zu Göttingen, Göttingen.
123. Đào Châu Hà, 2007, Tái sinh tự nhiên và thành phần loài cây gỗ trong một quần xã rừng tại vườn Quốc Gia Cúc Phương, Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 2, NXB. *Nông nghiệp*, tr. 375 - tr 381.
124. Doyle J.J., Doyle J.L. and Hortorium L.H.B., 1990, Isolation of plant ADN from fresh tissue. *Focus*, 12, pp. 13-15.
125. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C. and Tamura K., 2018, MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, pp. 1547-1549.
126. Saitou N., Nei M., 1987, The neighbor-joining method: a new method for reconstruction of phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, pp. 406-25.
127. Phạm Hoàng Hộ, 1993, Cây cỏ Việt Nam. NXB. *Montreal*, 1,2,3, Hà Nội.
128. Võ Văn Chi, 2012, Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB *Y học*, 2, 1156, Hà Nội.
129. Võ Văn Hồng, Trần Văn Hùng, 2006, Cẩm nang ngành lâm nghiệp, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, Hà Nội.
130. Sylvia D.M., Jeffry J.F., Peter G.H., Zuberer D., 2005, "Biological control of soilborne plant pathogens and nematodes," in *Principles and Applications of Soil Microbiology*. Upper Saddle River, NJ: Pearson Education, pp. 564-565 and 633-635.
131. Đỗ Đình Sâm, Nguyễn Ngọc Bình, 2000, Đánh giá tiềm năng sản xuất đất lâm nghiệp Việt Nam, NXB. *Nông nghiệp*, 188tr, Hà Nội.
132. Pankhurst C.E., Bernard M.D., Gupta V., 2007, Biological Indicators of Soil Health, CABI International, Oxon, UK.
133. Rudakov, 1951, Ecological Perspectives on Soil Microbial Community Involved in Nitrogen Cycling, Foreign Languages Publishing House, Peasedown St. John, United Kingdom.

134. Lipson D. A., 2007, Relationships between Temperature Responses and Bacterial Community Structure along seasonal and Altitudinal Gradients. *FEMS Microbiology Ecology*, 59, pp. 418-427.
135. Brady N.C. and Weil R.R., 2002, The nature and properties of soils, thirteenth edition. Pearson Education, Inc., Upper Saddle River, New Jersey 07458, USA.
136. Fierer N., Bradford M.A. and Jackson R.B., 2007, Toward an Ecological Classification of Soil Bacteria, *Ecology*, 88(6), pp.1354-1364.
137. Pankhurst C.E., Bernard M.D., Gupta V., 2007, Biological Indicators of Soil Health, CABI International, Oxon, UK.
138. Trần Đình Lý, Trần Thế Bách, Bùi Thu Hà, Nguyễn Hùng, 2019, Sinh thái thảm thực vật, *NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, Hà Nội.
139. Trương Ngọc Kiểm, 2015, Nghiên cứu sự thay đổi một số nhân tố chủ đạo theo các đai độ cao ở dãy Hoàng Liên Sơn (thuộc tỉnh Lào Cai) phục vụ bảo tồn Đa dạng Sinh học (thực vật bậc cao có mạch) và phát triển du lịch sinh thái, Luận án Tiến sĩ Sinh học, Hà Nội.
140. O dum E.P., 1978, Cơ sở Sinh thái học tập 1 (bản dịch), *NXB, Đại học và Trung học chuyên nghiệp*, Hà Nội
141. Neil C., Jane R., Lisa U., Michael C., Steve W., Peter M. & Rob J., 2011, *Biology*. Eighth Edition.
142. Nguyễn Sinh Khang, Phạm Văn Thế, Nguyễn Tiến Vinh, Nguyễn Quang Hiếu, Nguyễn Tiến Hiệp, Nguyễn Trường Sơn, 2011, Nhân giống Thông đỏ bắc (*Taxus chinensis* (Pilg.) Rehder) tại Khu bảo tồn thiên nhiên Bát Đại Sơn, huyện Quán Bạ, tỉnh Hà Giang. *Hội Nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 4*, 654-660.
143. Quách Văn Toàn Em, Mai Thị Kim Yến, 2015, Nghiên cứu sự ảnh hưởng của IBA và NAA đến giâm cành Cóc đỏ (*Lumnitzera littorea* Jack Voigt). *Tạp chí Khoa học ĐHSPT Thành phố Hồ Chí Minh*, 5(70), tr. 158-167.
144. Bùi Văn Hương, Bùi Văn Thanh, Nguyễn Thị Vân Anh, Phạm Thanh Huyền, 2016, Nghiên cứu nhân giống loài Hoàng Liên Ô rô lá dày (*Mahonia bsealei* (Fortune) pynaert bằng phương pháp giâm hom). *Hội Nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 7*, tr. 1247-1251.

PHỤ LỤC 01

Bảng 1. Kết quả ra chồi, nón của phân loài Vân sam fansipan tại thảm thực vật hỗn giao cây lá rộng lá kim ở độ cao từ 2.600 – 2.700 m

STT cây	D1.3	Sinh trưởng		Tổng số nón	OTC
		(Hn-cm)	(Hctb-cm)		
29.	20	18	10	6	7
40.	20	15	8	5	10
44.	23	10	7,5	6	11
28.	26	15	8,5	0	6
27.	28	15	8,5	0	6
39.	29	10	7,5	8	9
38.	31	10	7	10	9
22.	34	12	7	0	5
34.	34	12	7	0	8
21.	36	12	6,5	0	5
33.	36	12	6,5	6	8
37.	36	8	6,5	6	9
41.	36	12	6	6	10
6.	38	12	5	0	1
8.	38	10	6	0	2
59.	38	9	5,5	3	5
13.	38	12	6	12	3
23.	38	10	6,5	8	5
24.	38	10	6	6	5
45.	38	12	5,5	0	11
48.	38	10	5	0	12
51.	38	12	5,5	0	14
54.	38	9	6	6	15
55.	38	8	5,5	3	15
56.	38	10	6	5	15
43.	39	5	5,5	7	11
16.	40	10	6,5	0	4
36.	40	5	5	0	9
50.	40	10	5	0	13

15.	41	8	5	6	4
19.	41	10	5	0	4
52.	41	10	5	7	14
5.	42	8	5	3	1
7.	42	10	6	0	2
9.	42	8	5	0	2
20.	42	8	4,5	5	5
25.	42	9	4,5	3	5
30.	42	8	3,5	0	7
32.	42	8	5	0	8
46.	42	8	3,5	0	12
49.	42	12	4,5	9	13
53.	42	10	5	11	14
57.	42	8	5	5	15
58.	42	8	5,5	0	15
4.	43	8	3	0	1
12.	43	7	4	3	3
31.	45	5	3	3	7
2.	46	8	4	5	1
1.	48	6	3,5	15	1
14.	48	6	2,5	10	3
3.	50	5	2,5	0	1
10.	60	5	2	0	2
11.	60	5	2,5	20	2
35.	60	0	2	16	8
47.	60	0	2	13	12
18.	68	0	1,5	18	4
17.	70	0	1,5	15	4
26.	70	0	2	18	6
42.	70	0	2	16	10
Trung bình	41,90	8,53	5,03	5,15	

Bảng 2. Kết quả ra chồi, nón của phân loài Vân sam fansipan tại thảm thực vật ưu thế cây lá kim từ độ cao 2.700 – 2.950 m

STT cây	D1.3 (cm)	Sinh trưởng		Tổng số nón	OTC
		(Hn-cm)	(Hctb-cm)		
1.	32	8	5	15	1
2.	18	15	8	5	1
3.	25	11	7,5	8	1
4.	24	12	8,5	0	1
5.	17	16	8,5	0	1
6.	19	14	7,5	6	1
7.	22	12	7	8	1
8.	24	11	7	0	1
9.	27	10	7	0	2
10.	28	8	6,5	0	2
11.	26	9	6,5	6	2
12.	32	8	6,5	12	2
13.	20	14	6	6	2
14.	36	8	5	0	2
15.	33	10	6	0	2
16.	28	11	6	10	2
17.	42	6	6,5	16	2
18.	46	6	6	16	2
19.	41	7	5,5	0	2
20.	38	6	5	0	3
21.	36	6	5,5	0	3
22.	26	9	6	8	3
23.	28	8	5,5	10	3
24.	36	7	6	12	3
25.	38	5	5,5	15	4
26.	42	6	6,5	0	4
27.	28	9	5	0	4

28.	26	10	5	0	4
29.	24	8	5	8	4
30.	26	10	5	0	5
31.	32	10	5	12	5
32.	36	8	5	15	5
33.	38	6	6	0	5
34.	26	10	5	0	5
35.	24	12	4,5	8	6
36.	20	15	4,5	6	6
37.	18	16	3,5	0	6
38.	25	10	5	0	6
39.	22	12	3,5	0	6
40.	19	14	4,5	5	7
41.	28	10	5	10	7
42.	26	10	5	10	7
43.	26	11	5,5	0	7
44.	25	12	3	0	7
45.	26	9	4	11	7
46.	25	6	5	8	7
47.	20	16	8	0	7
48.	20	15	10	6	7
49.	28	12	8	12	7
50.	26	15	10	8	8
51.	30	12	8	0	8
52.	18	16	10	5	8
53.	23	14	6	0	8
54.	27	9	5	0	8
55.	28	8	6	0	8
56.	21	10	7	8	8
57.	19	13	8	0	9
58.	18	15	10	8	9
59.	22	12	6	0	9

60.	20	14	6	0	9
61.	36	8	5	6	9
62.	32	6	5,5	0	9
63.	30	10	3,5	12	9
64.	21	12	4	9	9
65.	27	10	5	0	9
66.	22	12	6	8	9
67.	20	15	8	0	10
68.	25	10	6	0	10
69.	20	16	5	6	10
70.	26	12	5	8	10
71.	28	9	6	0	10
72.	27	10	5	11	10
73.	27	9	5	0	10
74.	28	8	6	0	10
75.	26	10	5	0	10
Trung bình	26,92	10,52	5,98	4,70	

Bảng 3. Kết quả tổng hợp về đặc điểm tái sinh tự nhiên của phân loài Vân sam fansipan - *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis*

STT	Tên loài	Hvn (m)	Sinh trưởng			OTC
			Tốt	Trung bình	Xấu	
1.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,5		X		2
2.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,6	X			2
3.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,35			X	3
4.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,3			x	3
5.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,45		X		3
6.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,85	X			9

7.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,7	X			12
8.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,55		X		12
9.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,7	X			18
10.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,65	X			18
11.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,7	X			18
12.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,75	X			18
13.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,6	X			18
14.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,7	X			19
15.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,8	X			19
16.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,65	X			19
17.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,65	X			19
18.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,7	X			19
19.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,6		X		20
20.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,5		X		20
21.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,5		X		20
22.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,8	X			20
23.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,75	X			20
24.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,3			X	25
25.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,25			X	28

Bảng 4. Danh sách các loài trên GenBank được dùng để so sánh

TT	Danh sách	Genbank Code	
		<i>rbcL</i>	<i>trnH-psbA</i>
1	<i>Abies delavayi</i>	JF940551.1	JN043652.2
2	<i>Abies squamata</i>	JF940610.1	JN043711.2
3	<i>Abies nukiangensis</i>	JF940536.1	JN043711.2
4	<i>Abies forrestii</i>	JF940579.1	
5	<i>Abies holophylla</i>	JQ512508.1	JQ512263.1
6	<i>Abies densa</i>	JF940556.1	
7	<i>Abies spectabilis</i>	MF786477.1	HQ833523.1
8	<i>Abies firma</i>	JQ512506.1	
9	<i>Abies veichii</i>	JN935621.1	
10	<i>Abies pinsapo</i>	FR831932.1	
11	<i>Abies recurvata</i>	HQ833560.1	HQ833516.1
12	<i>Abies alba</i>	FR832521.2	FR832521.2
13	<i>Abies nephrolepis</i>	JF940596.1	
14	<i>Abies homolepis</i>	AB015648.1	
15	<i>Abies cilicica</i>	MH069637.1	
16	<i>Abies balsamea</i>	JN935605.1	
17	<i>Abies bracteata</i>	AB029647.1	
18	<i>Abies magnifica</i>	EU331927.1	
19	<i>Abies hidalgensis</i>	EU269028.1	
20	<i>Abies grandis</i>	AB029646.1	
21	<i>Abies fabri</i>		JN043666.2
22	<i>Abies fargesii</i>		JN043671.2
23	<i>Abies beshanzuensis</i>		JN043643.2
24	<i>Abies ferreana</i>		JN043675.2
25	<i>Abies nebrodensis</i>		FR832517.2
26	<i>Abies fanjingshanensis</i>		JN043641.2
27	<i>Abies chensiensis</i>		JN043646.2

Bảng 5. Kết quả đo chiều cao của công thức 1

STT cây	2017	2018	2019	2020	Ghi chú
	Ho (cm)	H1 (cm)	H2 (cm)	H3 (cm)	
1.	5,5	7,5	12,3	17,3	
2.	5	6,3	11,5	16,5	
3.	6	8,2	13,5	17,2	
4.	5,5	6	0	0	Chết
5.	5,8	8,2	10,3	15,1	
6.	5,3	7,5	8,8	12,5	
7.	5,8	6,5	0	0	Chết
8.	6	7,7	12,5	17	
9.	5,5	7,2	11,6	16,5	
10.	6	6,5	6,5	0	Chết

Bảng 6: Kết quả đo chiều cao của công thức 2

STT cây	2017	2018	2019	2020	Ghi chú
	Ho (cm)	H1 (cm)	H2 (cm)	H3 (cm)	
1.	6	7,5	15,2	23,8	
2.	5,6	7,1	13,3	20,7	
3.	5,8	10,3	17,3	21,5	
4.	5,2	7,2	12	20,5	
5.	5,8	8,2	14,6	22,2	
6.	6	9,3	16,5	23,3	
7.	5	7	13,1	21,6	
8.	5,5	6,8	11,2	19,8	
9.	5,6	8,5	12,5	20,3	
10.	5,8	8	13,5	22,5	

Bảng 7: Kết quả đo chiều cao của công thức 3

STT cây	2017	2018	2019	2020	Ghi chú
	Ho (cm)	H1 (cm)	H2 (cm)	H3 (cm)	
1.	5,3	6,5	8,3	13,5	
2.	5,8	7,5	9,7	15,5	
3.	5	8,1	11,2	18,3	
4.	5,8	7,2	10,8	16,8	
5.	6	6,8	11,1	19,1	
6.	5	6,4	9,2	17,6	
7.	5,5	7,3	10,5	18,2	
8.	5	6,9	9,5	18,5	
9.	5,8	7,3	10,7	19,2	
10.	6	8,2	11,9	20,6	

Bảng 8: Kết quả đo chiều cao của lô đối chứng

STT cây	2017	2018	2019	2020	Ghi chú
	Ho (cm)	H1 (cm)	H2 (cm)	H3 (cm)	
1.	5,5	7,2	8,8	13,6	
2.	5	6,5	9,1	12,3	
3.	5,3	6,2	6,3	0	Chết
4.	5	5,5	6,2	0	Chết
5.	6	8,5	10,6	15,7	

Bảng 9: Danh mục các thiết bị chính, hóa chất chủ yếu liên quan đến luận án NCS

STT	Tên thiết bị, hóa chất	Ghi chú
1.	Máy xác định tọa độ cầm tay GPS	
2.	Máy đo cường độ ánh sáng (lux)	
3.	Máy đo độ ẩm, nhiệt độ không khí	Volcraft (BL-20TRH)
4.	Máy đo chiều cao Bumpeli	
5.	Điện thoại smartphone có ứng dụng Locusmap pro-4.3	Galaxy Samsung A12
6.	Thước dây có độ chia nhỏ tới mm	

7.	Thước kẹp đo kích thước đến mm	(xuất xứ
8.	Kéo cắt cành	(xuất xứ Trung Quốc)
9.	Túi bầu	
10.	Túi bóng zip	(xuất xứ của Đức)
11.	Dụng cụ lấy mẫu đất chuyên dụng	(xuất xứ của Đức)
12.	Chất điều hòa sinh trưởng IBA (Indole – 3 Butyric Acid)	Xuất xứ Đức
13.	Thuốc diệt nấm Viben – C 50BTN	
14.	Lưới che sáng 65%	
15.	Ống eppendorf	
16.	Đầu tít	
17.	Kẹp	
18.	Giấy lau	
19.	Giấy parafilm	
20.	Găng tay	
21.	Khẩu trang	
22.	Đèn cồn	
23.	Tủ lạnh	
24.	Micropipet đơn kênh	
25.	Cân phân tích	
26.	Bể ổn nhiệt	
27.	Máy li tâm	
28.	Máy nghiền mẫu	
29.	Giấy vẽ trắc đồ chuyên dụng	
30.	Bút chì	

PHỤ LỤC 02

Ảnh 01. Chất kích thích ra rễ IBA dạng bột



Ảnh 02. Thí nghiệm giâm hom Vân sam fansipan



Ảnh 03. Cắm hom trên giá thể cát vàng mịn



Ảnh 04. Cắm hom trên giá thể đất mùn trộn lẫn đất tầng A



Ảnh 05. Lô thí nghiệm với bầu cát vàng mịn



Ảnh 06. Kiểm tra sự ra rễ ở giá thể cát vàng mịn



Ảnh 07. Kiểm tra sự ra rễ ở lô đất mùn pha đất tầng A



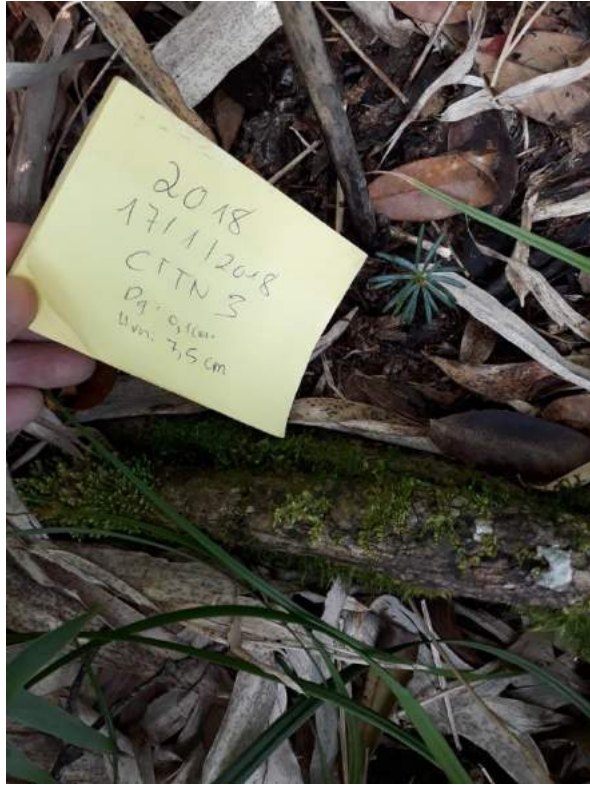
Ảnh 08. Kiểm tra sự ra lá non hom Vân sam



Ảnh 09. Kiểm tra sự ra lá non của hom Vân sam



Ảnh 10. Cây con Vân sam trồng theo công thức 2



Ảnh 11. Cây con trồng theo công thức 3



Ảnh 12. Cây con trồng theo công thức 1



Ảnh 13. Cây con trồng theo công thức 3



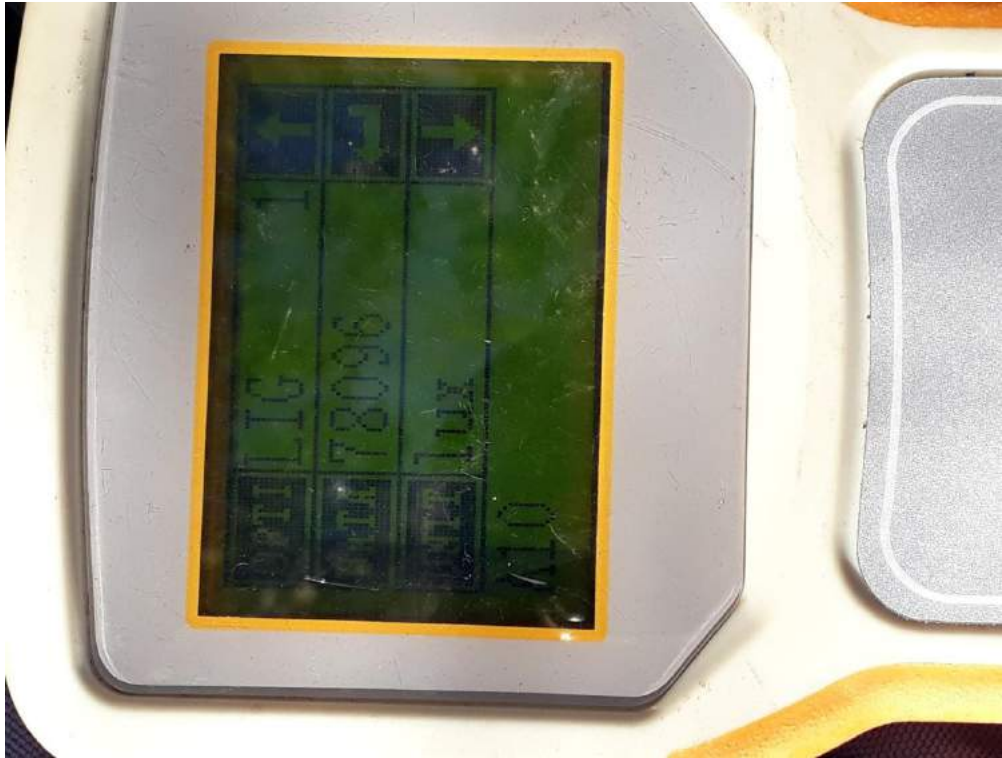
Ảnh 14. Cây con trồng theo công thức 1



Ảnh 15. Cây con trồng theo công thức 2



Ảnh 16. Đo ánh sáng dưới tán theo công thức 1



Ảnh 17. Đo Ánh sáng ngoài trời theo công thức 1



Ảnh 18. Đo nhiệt độ và độ ẩm không khí theo công thức 1



Ảnh 19. Cây con VSF theo lô đối chứng



Ảnh 20. Cảnh Vân sam fansipan dùng nhân giống



Ảnh 21. Nón Vân sam fansipan



Ảnh 22. Thử nghiệm bảo tồn công thức 2, 2017



Ảnh 23. Hiện trạng TTV hỗn giao cây lá rộng, lá kim tại 2.600 – 2.700 m



Ảnh 24. TTV hỗn giao cây lá rộng, lá kim 2.600 – 2.700 m



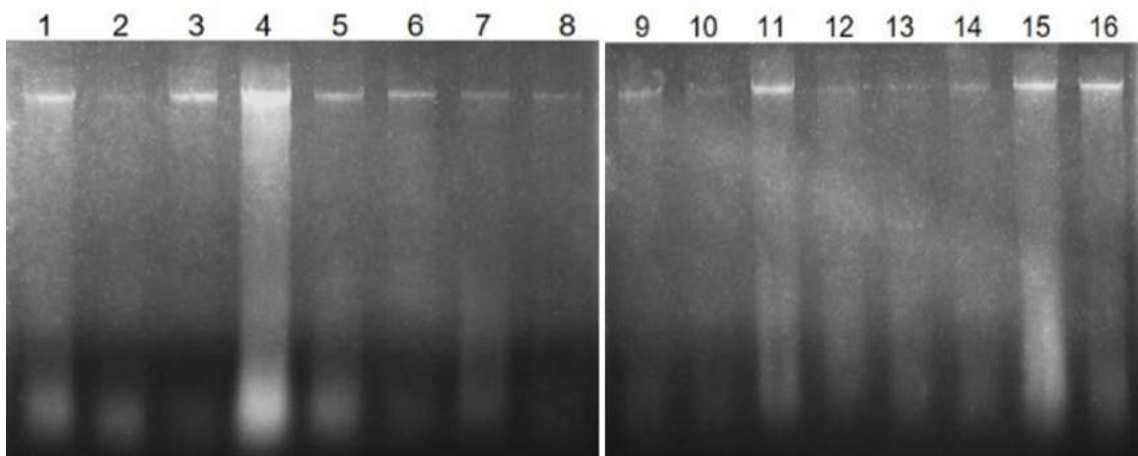
Ảnh 25. Tuyết tại đỉnh Fansipan



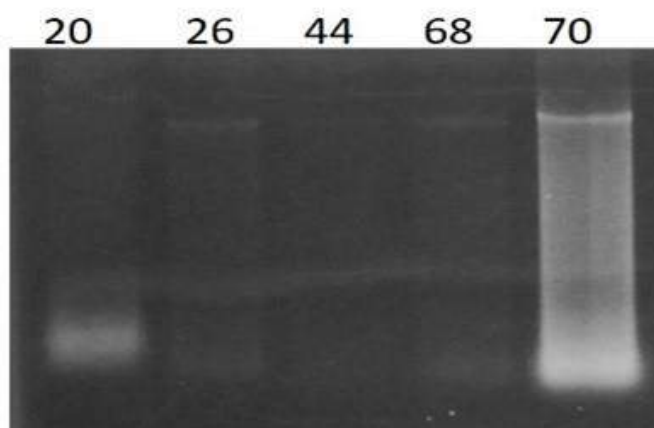
Ảnh 26. TTV ưu thế Vân sam fansipan tại 2.800 m



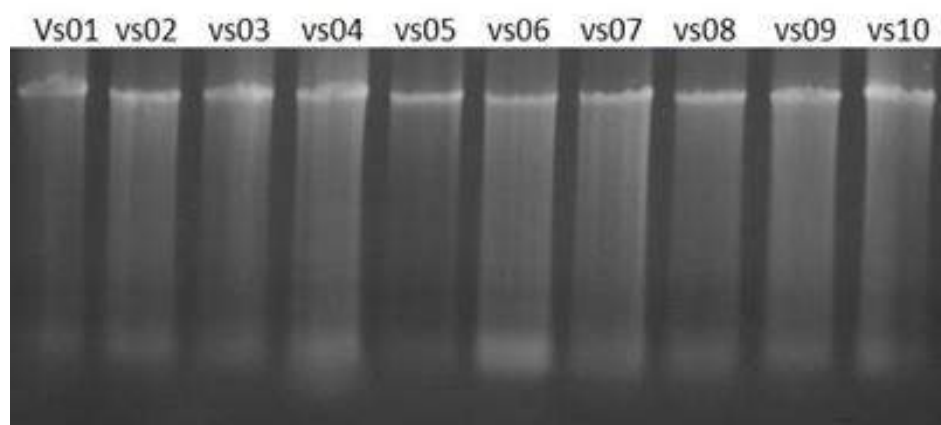
Ảnh 27. TTV ưu thế Vân sam fansipan



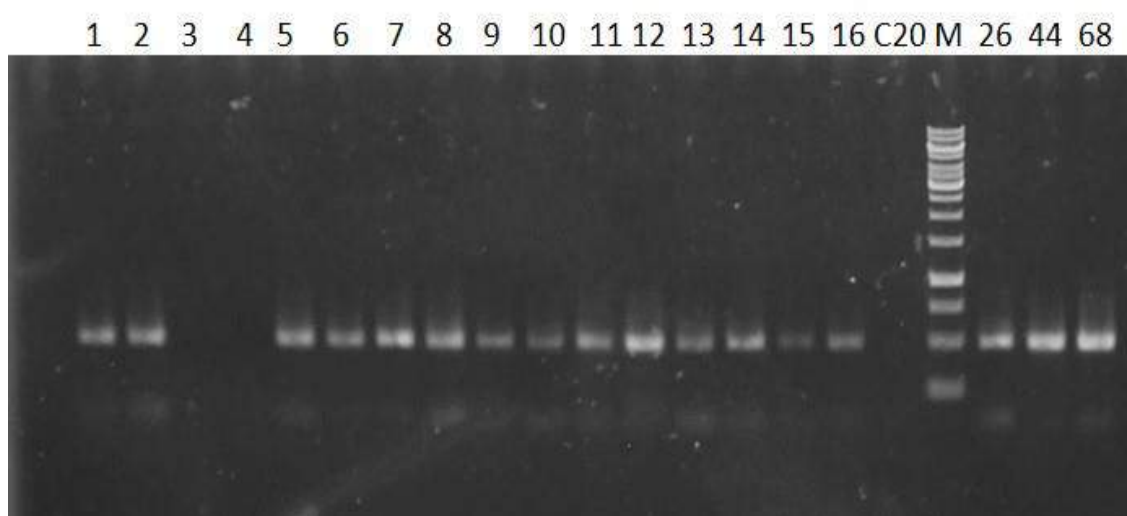
Ảnh 28. ADN tách từ các mẫu Vân sam fansipan khô bảo quản Silicagel (A₁₋₁₆)



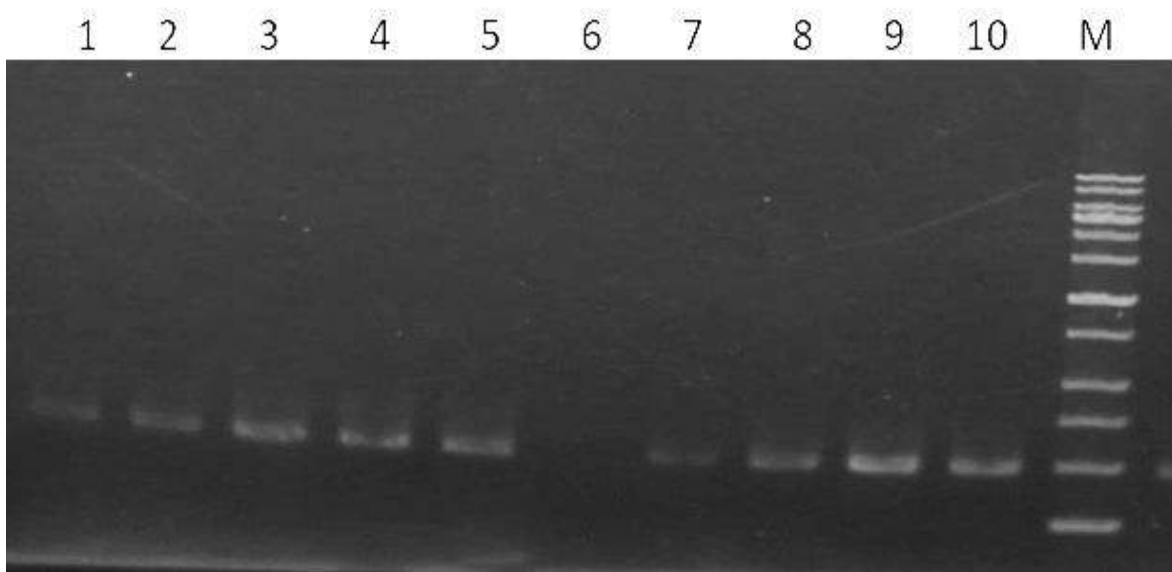
Ảnh 29. Tách ADN từ các mẫu Vân sam fansian tươi (C20, C26, C44, C68, C70)



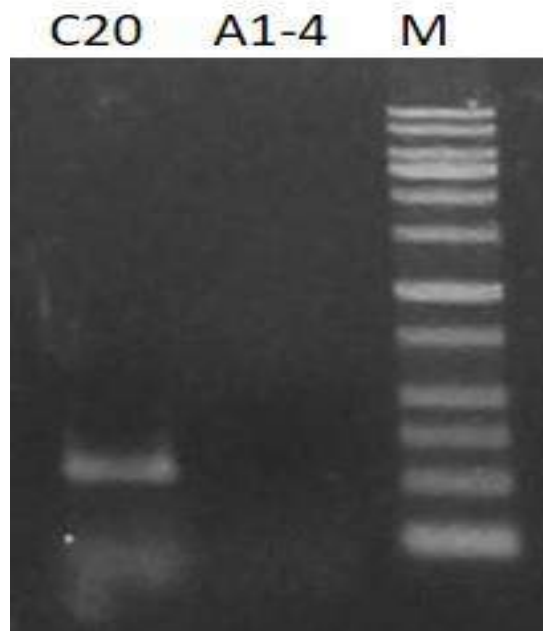
Ảnh 30. Tách ADN từ các mẫu Vân sam fansian khô bảo quản bằng Silicagel (Vs01-Vs10)



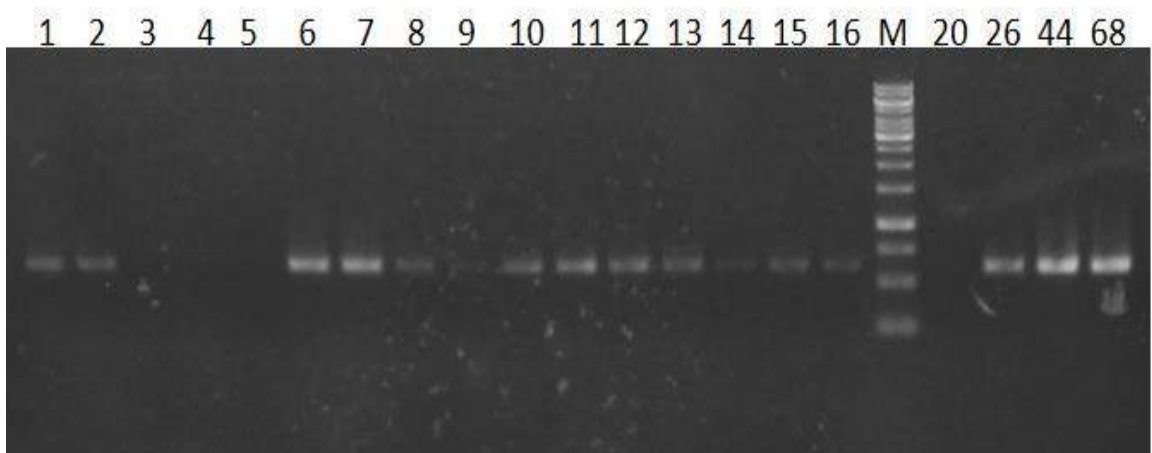
Ảnh 31. PCR quả PCR nhân đoạn trnL-trnF từ 16 mẫu Vân sam fansian (A1_1-
A1_16)
Và C20, C26, C44, C68



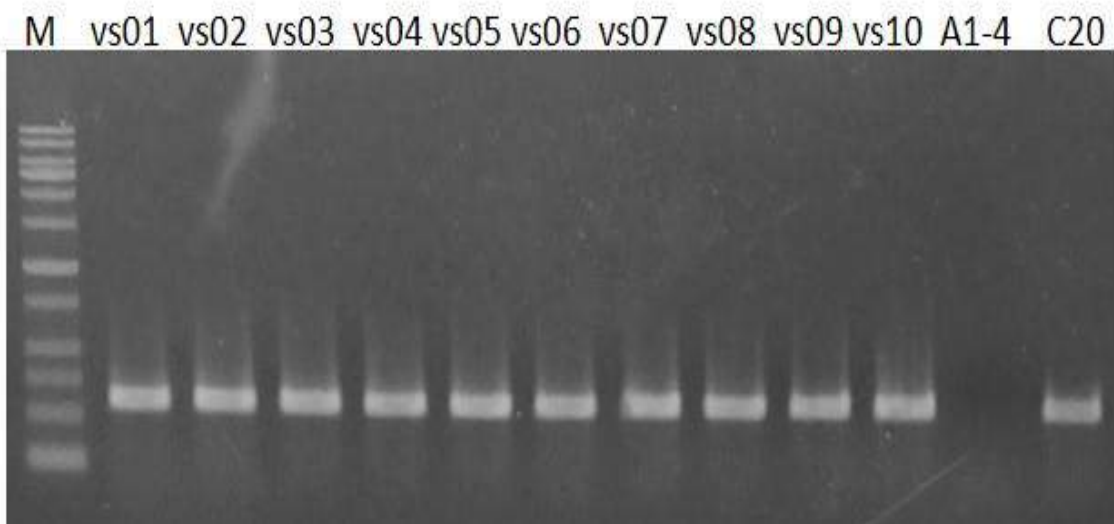
Ảnh 32. Kết quả PCR nhân đoạn trnL – trnF từ 10 mẫu Vân sam fansipan (VS01-Vs10, A1-4 và C20)



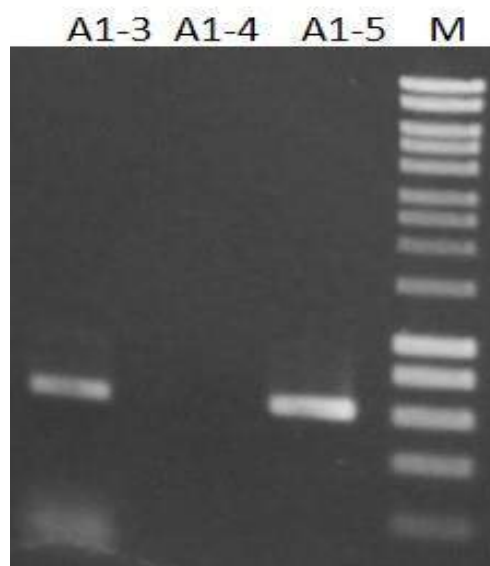
Ảnh 33. Kết quả PCR nhân đoạn trnL – trnF lại các mẫu Vân sam fansipan (C20, A1-4)



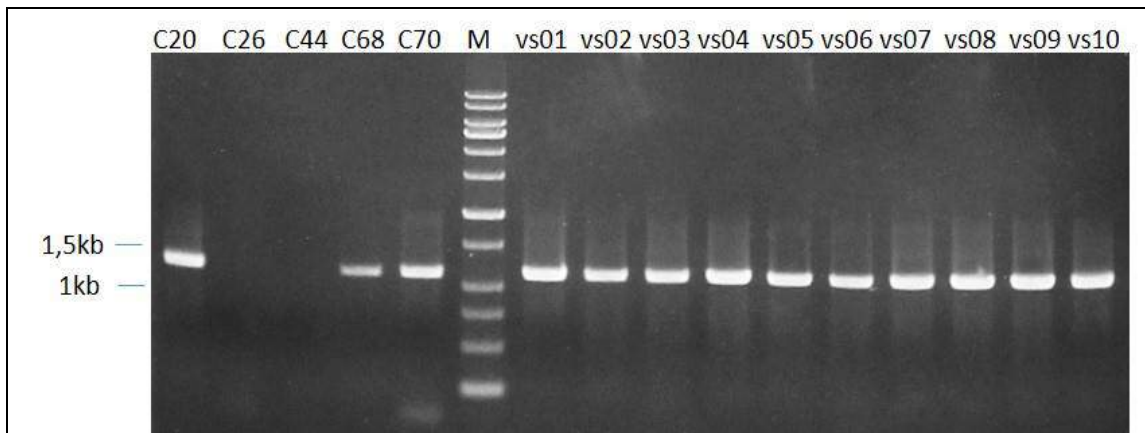
Ảnh 34. Kết quả PCR nhân đoạn rps18-rpl20 từ 20 mẫu Vân sam fansipan (A1_1- A1_16 và C20, C26, C44, C68)



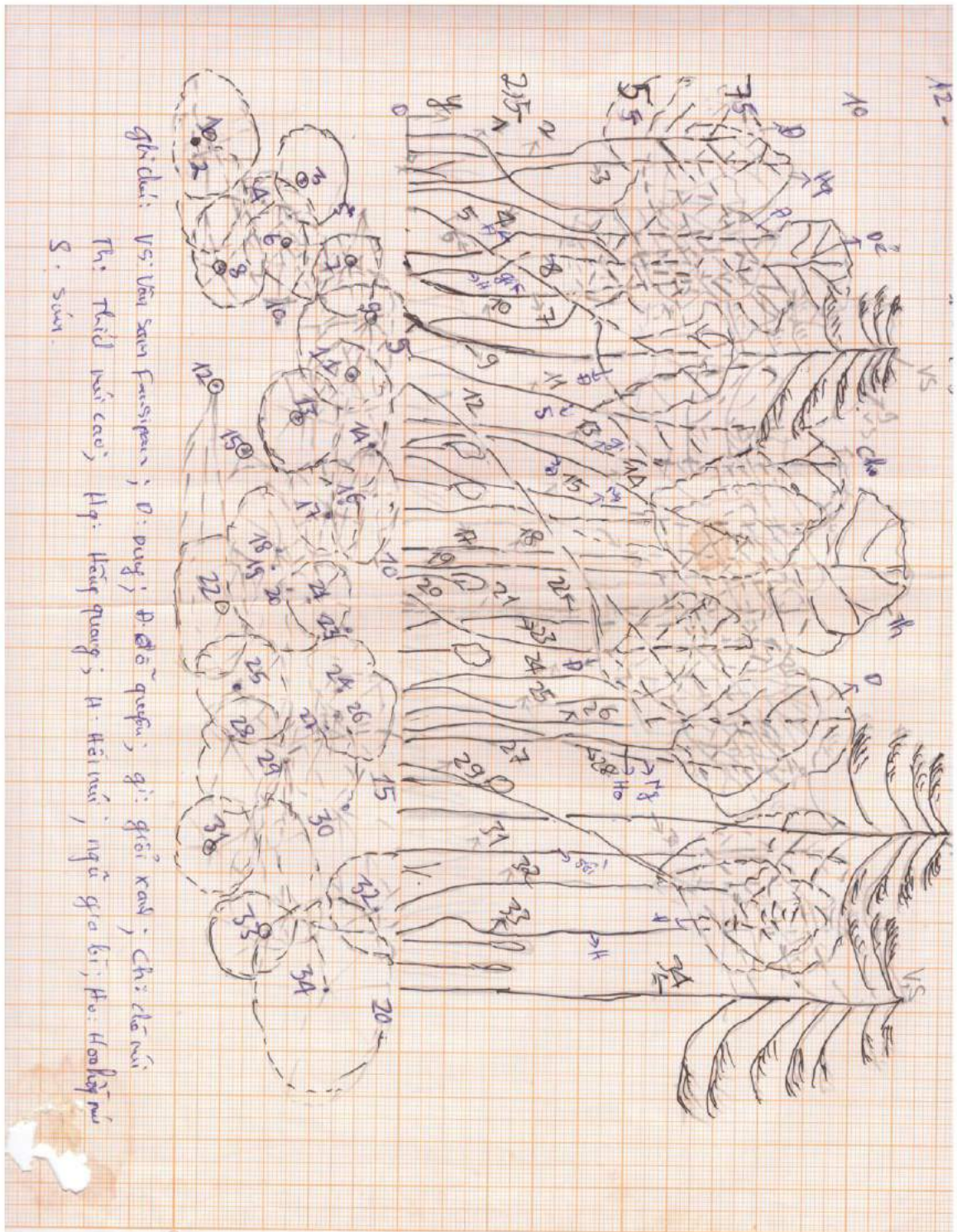
Ảnh 35. Kết quả PCR 12 mẫu Vân sam fansipan (VS01-Vs10, A1-4 và C20)



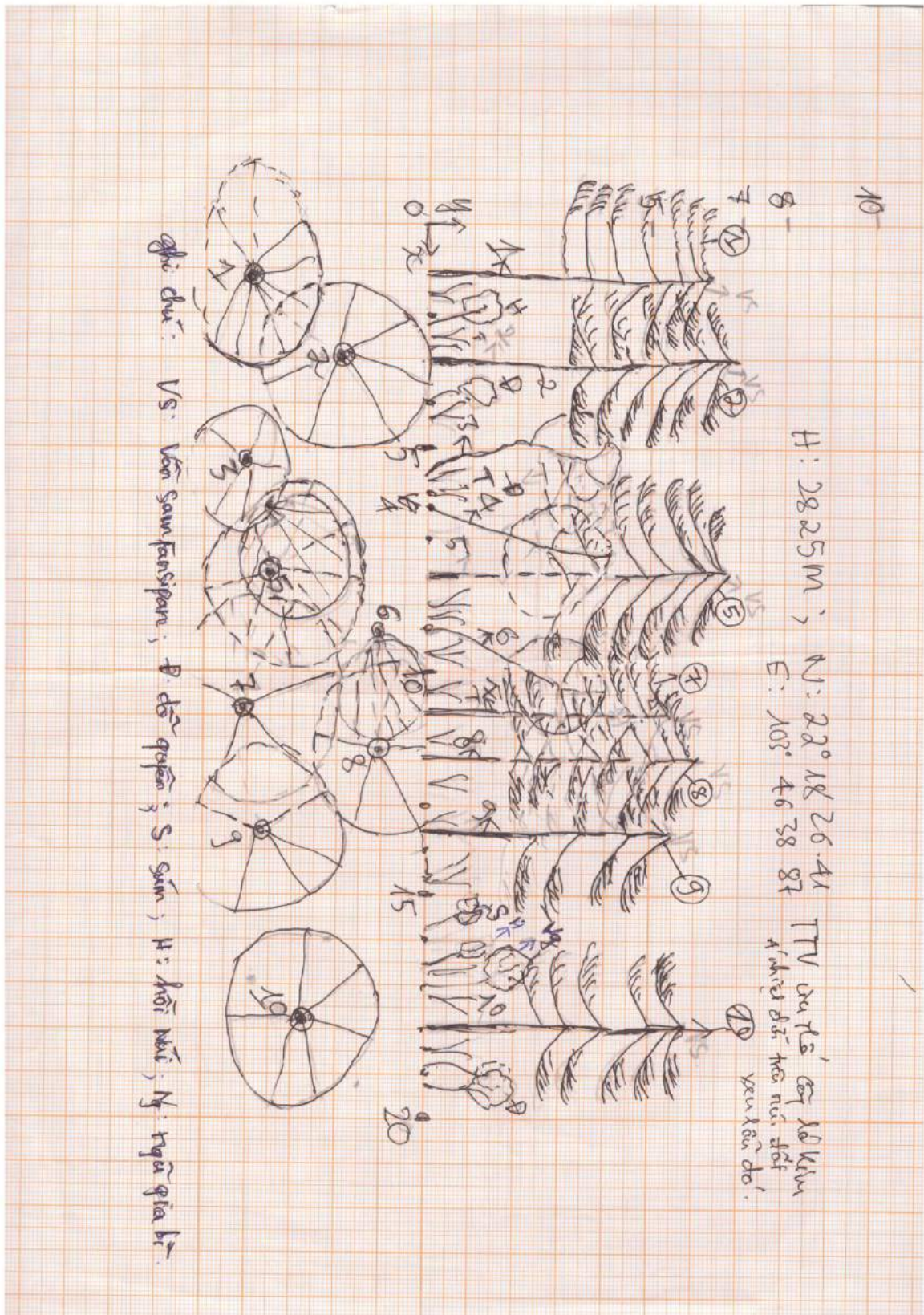
Ảnh 36. Kết quả PCR lại các mẫu Vân sam fansipan (A1-3,4, 5)



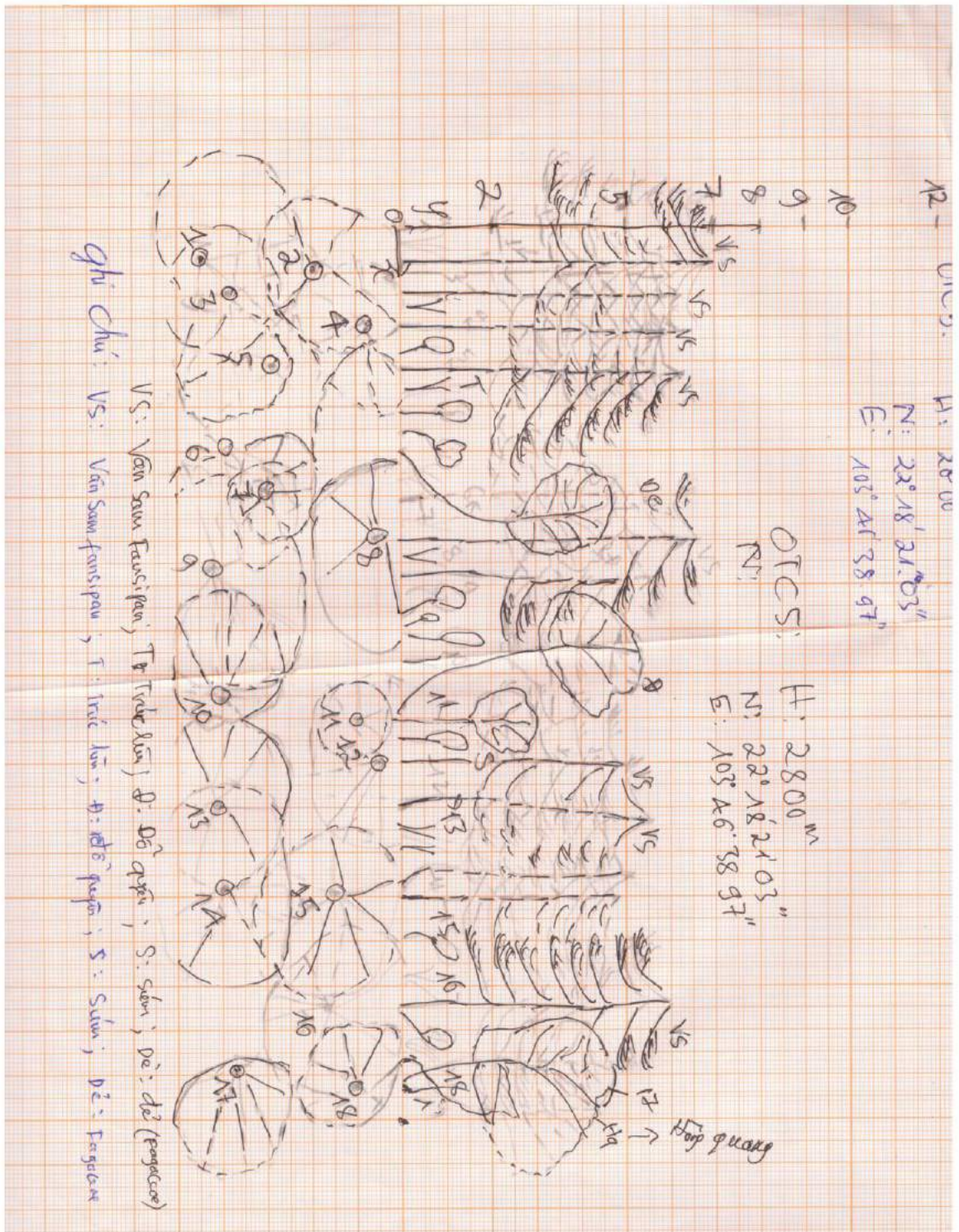
Ảnh 37. Kết quả PCR nhân đoạn *nad5* các mẫu vân sam tươi (VS01-VS10 và C20, C26, C44, C68, C70)



Trắc đồ 02. TTV hỗn giao cây lá rộng lá kim tại 2.601m



Trắc đồ 04. TTV ưu thế cây lá kim tại 2.825m



Trắc dò 05. TTV ưu thế cây lá kim tại 2.800 m

PHỤ LỤC 01

Bảng 1. Kết quả ra chồi, nón của phân loài Vân sam fansipan tại thảm thực vật hỗn giao cây lá rộng lá kim ở độ cao từ 2.600 – 2.700 m

STT cây	D1.3	Sinh trưởng		Tổng số nón	OTC
		(Hn-cm)	(Hctb-cm)		
29.	20	18	10	6	7
40.	20	15	8	5	10
44.	23	10	7,5	6	11
28.	26	15	8,5	0	6
27.	28	15	8,5	0	6
39.	29	10	7,5	8	9
38.	31	10	7	10	9
22.	34	12	7	0	5
34.	34	12	7	0	8
21.	36	12	6,5	0	5
33.	36	12	6,5	6	8
37.	36	8	6,5	6	9
41.	36	12	6	6	10
6.	38	12	5	0	1
8.	38	10	6	0	2
59.	38	9	5,5	3	5
13.	38	12	6	12	3
23.	38	10	6,5	8	5
24.	38	10	6	6	5
45.	38	12	5,5	0	11
48.	38	10	5	0	12
51.	38	12	5,5	0	14
54.	38	9	6	6	15
55.	38	8	5,5	3	15
56.	38	10	6	5	15
43.	39	5	5,5	7	11
16.	40	10	6,5	0	4
36.	40	5	5	0	9
50.	40	10	5	0	13

STT cây	D1.3	Sinh trưởng		Tổng số nón	OTC
		(Hn-cm)	(Hctb-cm)		
15.	41	8	5	6	4
19.	41	10	5	0	4
52.	41	10	5	7	14
5.	42	8	5	3	1
7.	42	10	6	0	2
9.	42	8	5	0	2
20.	42	8	4,5	5	5
25.	42	9	4,5	3	5
30.	42	8	3,5	0	7
32.	42	8	5	0	8
46.	42	8	3,5	0	12
49.	42	12	4,5	9	13
53.	42	10	5	11	14
57.	42	8	5	5	15
58.	42	8	5,5	0	15
4.	43	8	3	0	1
12.	43	7	4	3	3
31.	45	5	3	3	7
2.	46	8	4	5	1
1.	48	6	3,5	15	1
14.	48	6	2,5	10	3
3.	50	5	2,5	0	1
10.	60	5	2	0	2
11.	60	5	2,5	20	2
35.	60	0	2	16	8
47.	60	0	2	13	12
18.	68	0	1,5	18	4
17.	70	0	1,5	15	4
26.	70	0	2	18	6
42.	70	0	2	16	10
Trung bình	41,90	8,53	5,03	5,15	

Bảng 2. Kết quả ra chồi, nón của phân loài Vân sam fansipan tại thảm thực vật ưu thế cây lá kim từ độ cao 2.700 – 2.950 m

STT cây	D1.3 (cm)	Sinh trưởng		Tổng số nón	OTC
		(Hn-cm)	(Hctb-cm)		
1.	32	8	5	15	1
2.	18	15	8	5	1
3.	25	11	7,5	8	1
4.	24	12	8,5	0	1
5.	17	16	8,5	0	1
6.	19	14	7,5	6	1
7.	22	12	7	8	1
8.	24	11	7	0	1
9.	27	10	7	0	2
10.	28	8	6,5	0	2
11.	26	9	6,5	6	2
12.	32	8	6,5	12	2
13.	20	14	6	6	2
14.	36	8	5	0	2
15.	33	10	6	0	2
16.	28	11	6	10	2
17.	42	6	6,5	16	2
18.	46	6	6	16	2
19.	41	7	5,5	0	2
20.	38	6	5	0	3
21.	36	6	5,5	0	3
22.	26	9	6	8	3
23.	28	8	5,5	10	3
24.	36	7	6	12	3
25.	38	5	5,5	15	4
26.	42	6	6,5	0	4
27.	28	9	5	0	4
28.	26	10	5	0	4
29.	24	8	5	8	4
30.	26	10	5	0	5
31.	32	10	5	12	5
32.	36	8	5	15	5
33.	38	6	6	0	5
34.	26	10	5	0	5
35.	24	12	4,5	8	6
36.	20	15	4,5	6	6
37.	18	16	3,5	0	6
38.	25	10	5	0	6

STT cây	D1.3 (cm)	Sinh trưởng		Tổng số nón	OTC
		(Hn-cm)	(Hctb-cm)		
39.	22	12	3,5	0	6
40.	19	14	4,5	5	7
41.	28	10	5	10	7
42.	26	10	5	10	7
43.	26	11	5,5	0	7
44.	25	12	3	0	7
45.	26	9	4	11	7
46.	25	6	5	8	7
47.	20	16	8	0	7
48.	20	15	10	6	7
49.	28	12	8	12	7
50.	26	15	10	8	8
51.	30	12	8	0	8
52.	18	16	10	5	8
53.	23	14	6	0	8
54.	27	9	5	0	8
55.	28	8	6	0	8
56.	21	10	7	8	8
57.	19	13	8	0	9
58.	18	15	10	8	9
59.	22	12	6	0	9
60.	20	14	6	0	9
61.	36	8	5	6	9
62.	32	6	5,5	0	9
63.	30	10	3,5	12	9
64.	21	12	4	9	9
65.	27	10	5	0	9
66.	22	12	6	8	9
67.	20	15	8	0	10
68.	25	10	6	0	10
69.	20	16	5	6	10
70.	26	12	5	8	10
71.	28	9	6	0	10
72.	27	10	5	11	10
73.	27	9	5	0	10
74.	28	8	6	0	10
75.	26	10	5	0	10
Trung bình	26,92	10,52	5,98	4,70	

Bảng 3. Kết quả tổng hợp về đặc điểm tái sinh tự nhiên của phân loài Vân sam
fansipan - *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis*

STT	Tên loài	Hvn (m)	Sinh trưởng			OTC
			Tốt	Trung bình	Xấu	
1.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,5		X		2
2.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,6	X			2
3.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,35			X	3
4.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,3			x	3
5.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,45		X		3
6.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,85	X			9
7.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,7	X			12
8.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,55		X		12
9.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,7	X			18
10.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,65	X			18
11.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,7	X			18
12.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,75	X			18
13.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,6	X			18
14.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,7	X			19
15.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,8	X			19
16.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,65	X			19
17.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,65	X			19
18.	<i>Abies delavayi</i> subsp. <i>fansipanensis</i>	0,7	X			19

STT	Tên loài	Hvn (m)	Sinh trưởng			OTC
19.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,6		X		20
20.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,5		X		20
21.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,5		X		20
22.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,8	X			20
23.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,75	X			20
24.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,3			X	25
25.	<i>Abies delavayisubsp. fansipanensis</i>	0,25			X	28

Bảng 4. Danh sách các loài trên GenBank được dùng để so sánh

TT	Danh sách	Genbank Code	
		<i>rbcL</i>	<i>trnH-psbA</i>
1	<i>Abies delavayi</i>	JF940551.1	JN043652.2
2	<i>Abies squamata</i>	JF940610.1	JN043711.2
3	<i>Abies nukiangensis</i>	JF940536.1	JN043711.2
4	<i>Abies forrestii</i>	JF940579.1	
5	<i>Abies holophylla</i>	JQ512508.1	JQ512263.1
6	<i>Abies densa</i>	JF940556.1	
7	<i>Abies spectabilis</i>	MF786477.1	HQ833523.1
8	<i>Abies firma</i>	JQ512506.1	
9	<i>Abies veichii</i>	JN935621.1	
10	<i>Abies pinsapo</i>	FR831932.1	
11	<i>Abies recurvata</i>	HQ833560.1	HQ833516.1
12	<i>Abies alba</i>	FR832521.2	FR832521.2
13	<i>Abies nephrolepis</i>	JF940596.1	
14	<i>Abies homolepis</i>	AB015648.1	
15	<i>Abies cilicica</i>	MH069637.1	
16	<i>Abies balsamea</i>	JN935605.1	
17	<i>Abies bracteata</i>	AB029647.1	
18	<i>Abies magnifica</i>	EU331927.1	
19	<i>Abies hidalgensis</i>	EU269028.1	
20	<i>Abies grandis</i>	AB029646.1	
21	<i>Abies fabri</i>		JN043666.2

22	<i>Abies fargesii</i>	JN043671.2
23	<i>Abies beshanzuensis</i>	JN043643.2
24	<i>Abies ferreana</i>	JN043675.2
25	<i>Abies nebrodensis</i>	FR832517.2
26	<i>Abies fanjingshanensis</i>	JN043641.2
27	<i>Abies chensiensis</i>	JN043646.2

Bảng 5. Kết quả đo chiều cao của công thức 1

STT cây	2017	2018	2019	2020	Ghi chú
	Ho (cm)	H1 (cm)	H2 (cm)	H3 (cm)	
1.	5,5	7,5	12,3	17,3	
2.	5	6,3	11,5	16,5	
3.	6	8,2	13,5	17,2	
4.	5,5	6	0	0	Chết
5.	5,8	8,2	10,3	15,1	
6.	5,3	7,5	8,8	12,5	
7.	5,8	6,5	0	0	Chết
8.	6	7,7	12,5	17	
9.	5,5	7,2	11,6	16,5	
10.	6	6,5	6,5	0	Chết

Bảng 6: Kết quả đo chiều cao của công thức 2

STT cây	2017	2018	2019	2020	Ghi chú
	Ho (cm)	H1 (cm)	H2 (cm)	H3 (cm)	
1.	6	7,5	15,2	23,8	
2.	5,6	7,1	13,3	20,7	
3.	5,8	10,3	17,3	21,5	
4.	5,2	7,2	12	20,5	
5.	5,8	8,2	14,6	22,2	
6.	6	9,3	16,5	23,3	
7.	5	7	13,1	21,6	
8.	5,5	6,8	11,2	19,8	
9.	5,6	8,5	12,5	20,3	
10.	5,8	8	13,5	22,5	

Bảng 7: Kết quả đo chiều cao của công thức 3

STT cây	2017	2018	2019	2020	Ghi chú
	Ho (cm)	H1 (cm)	H2 (cm)	H3 (cm)	
1.	5,3	6,5	8,3	13,5	
2.	5,8	7,5	9,7	15,5	
3.	5	8,1	11,2	18,3	
4.	5,8	7,2	10,8	16,8	
5.	6	6,8	11,1	19,1	
6.	5	6,4	9,2	17,6	
7.	5,5	7,3	10,5	18,2	
8.	5	6,9	9,5	18,5	
9.	5,8	7,3	10,7	19,2	
10.	6	8,2	11,9	20,6	

Bảng 8: Kết quả đo chiều cao của lô đối chứng

STT cây	2017	2018	2019	2020	Ghi chú
	Ho (cm)	H1 (cm)	H2 (cm)	H3 (cm)	
1.	5,5	7,2	8,8	13,6	
2.	5	6,5	9,1	12,3	
3.	5,3	6,2	6,3	0	Chết
4.	5	5,5	6,2	0	Chết
5.	6	8,5	10,6	15,7	

Bảng 9: Danh mục các thiết bị chính, hóa chất chủ yếu liên quan đến luận án NCS

STT	Tên thiết bị, hóa chất	Ghi chú
1.	Máy xác định tọa độ cầm tay GPS	
2.	Máy đo cường độ ánh sáng (lux)	
3.	Máy đo độ ẩm, nhiệt độ không khí	Volcraft (BL-20TRH)
4.	Máy đo chiều cao Bumblei	
5.	Điện thoại smartphone có ứng dụng Locusmap pro-4.3	Galaxy Samsung A12
6.	Thước dây có độ chia nhỏ tới mm	
7.	Thước kẹp đo kích thước đến mm	(xuất xứ
8.	Kéo cắt cành	(xuất xứ Trung Quốc)
9.	Túi bầu	
10.	Túi bóng zip	(xuất xứ của Đức)
11.	Dụng cụ lấy mẫu đất chuyên dụng	(xuất xứ của Đức)
12.	Chất điều hòa sinh trưởng IBA (Indole – 3 Butyric Acid)	Xuất xứ Đức

STT	Tên thiết bị, hóa chất	Ghi chú
13.	Thuốc diệt nấm Viben – C 50BTN	
14.	Lưới che sáng 65%	
15.	Ống eppendorf	
16.	Đầu tít	
17.	Kẹp	
18.	Giấy lau	
19.	Giấy parafilm	
20.	Găng tay	
21.	Khẩu trang	
22.	Đèn cồn	
23.	Tủ lạnh	
24.	Micropipet đơn kênh	
25.	Cân phân tích	
26.	Bể ổn nhiệt	
27.	Máy li tâm	
28.	Máy nghiền mẫu	
29.	Giấy vẽ trục đồ chuyên dụng	
30.	Bút chì	

PHỤ LỤC 02



Ảnh 01. Chất kích thích ra rễ IBA dạng bột



Ảnh 02. Thí nghiệm giâm hom Vân sam fansipan



Ảnh 03. Cắm hom trên giá thể cát vàng mịn



Ảnh 04. Cắm hom trên giá thể đất mùn trộn lẫn đất tầng A



Ảnh 05. Lô thí nghiệm với bầu cát vàng mịn



Ảnh 06. Kiểm tra sự ra rễ ở giá thể cát vàng mịn



Ảnh 07. Kiểm tra sự ra rễ ở lô đất mùn pha đất tầng A



Ảnh 08. Kiểm tra sự ra lá non hom Vân sam



Ảnh 09. Kiểm tra sự ra lá non của hom Vân sam



Ảnh 10. Cây con Vân sam trông theo công thức 2



Ảnh 11. Cây con trông theo công thức 3



Ảnh 12. Cây con trồng theo công thức 1



Ảnh 13. Cây con trồng theo công thức 3



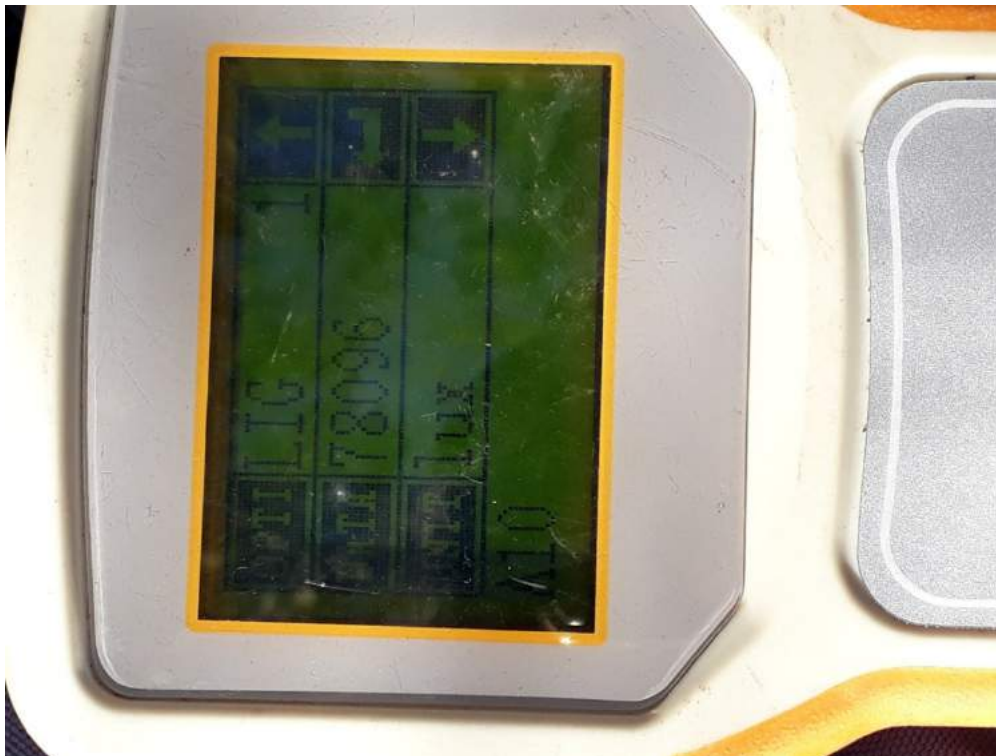
Ảnh 14. Cây con trồng theo công thức 1



Ảnh 15. Cây con trồng theo công thức 2



Ảnh 16. Đo ánh sáng dưới tán theo công thức 1



Ảnh 17. Đo Ánh sáng ngoài trời theo công thức 1



Ảnh 18. Đo nhiệt độ và độ ẩm không khí theo công thức 1



Ảnh 19. Cây con VSF theo lô đối chứng



Ảnh 20. Cảnh Vân sam fansipan dùng nhân giống



Ảnh 21. Nón Vân sam fansipan



Ảnh 22. Thử nghiệm bảo tồn công thức 2, 2017



Ảnh 23. Hiện trạng TTV hỗn giao cây lá rộng, lá kim tại 2.600 – 2.700 m



Ảnh 24. TTV hỗn giao cây lá rộng, lá kim 2.600 – 2.700 m



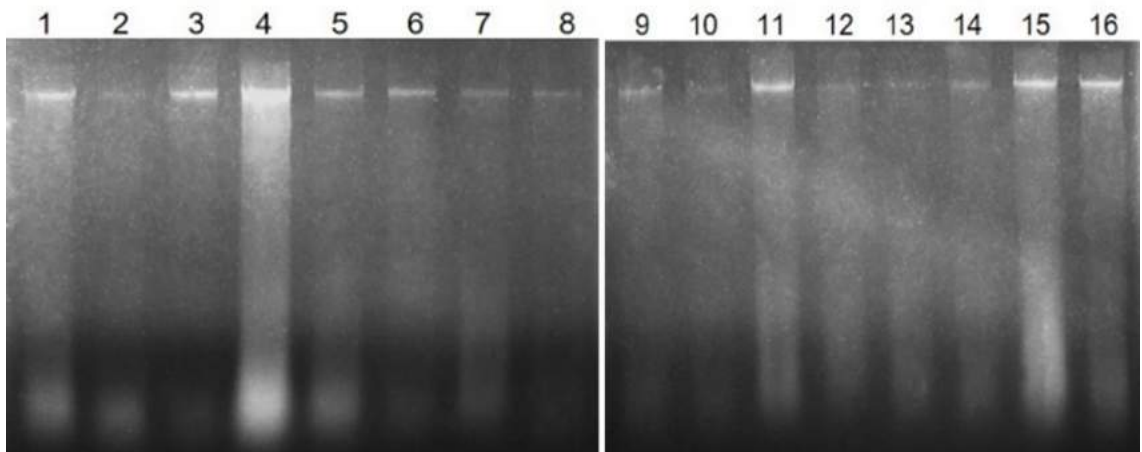
Ảnh 25. Tuyết tại đỉnh Fansipan



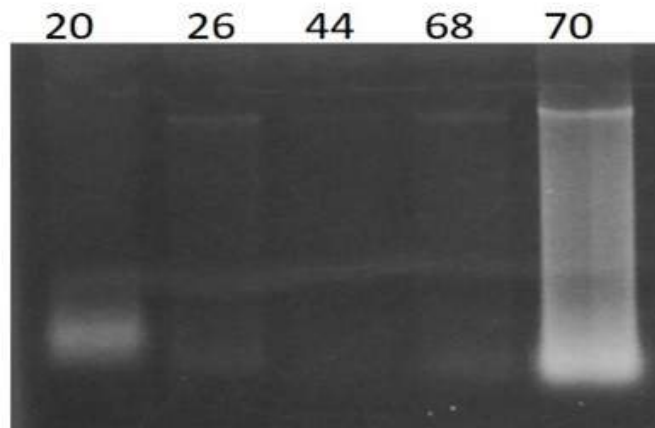
Ảnh 26. TTV ưu thế Vân sam fansipan tại 2.800 m



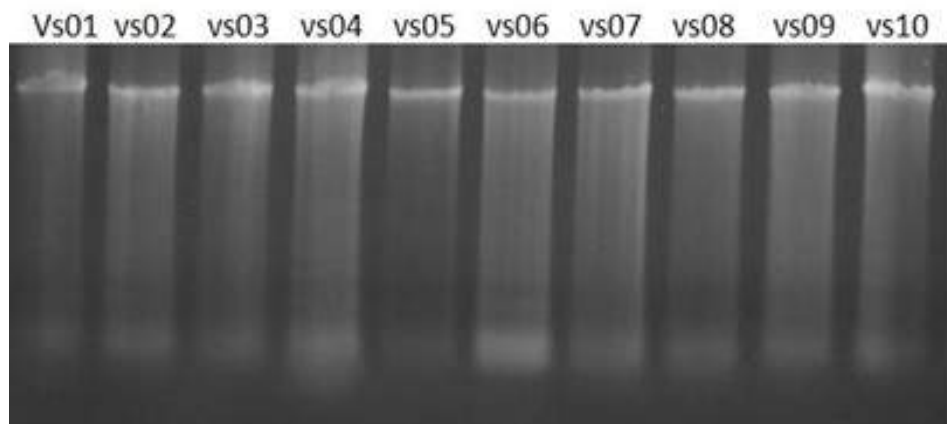
Ảnh 27. TTV ưu thế Vân sam fansipan



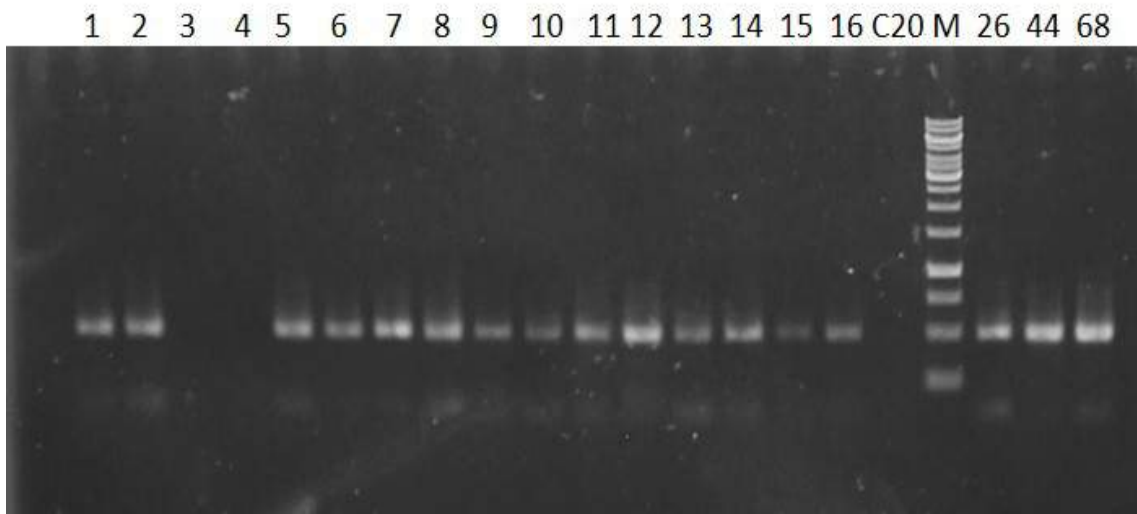
Ảnh 28. ADN tách từ các mẫu Vân sam fansipan khô bảo quản Silicagel (A₁₋₁₆)



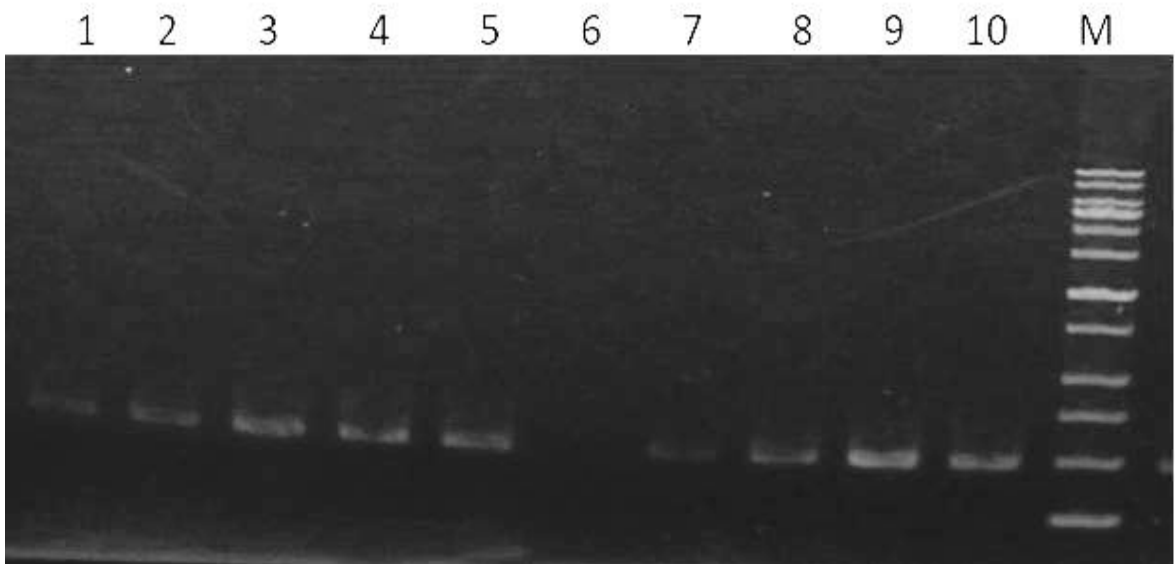
Ảnh 29. Tách ADN từ các mẫu Vân sam fansipan tươi (C20, C26, C44, C68, C70)



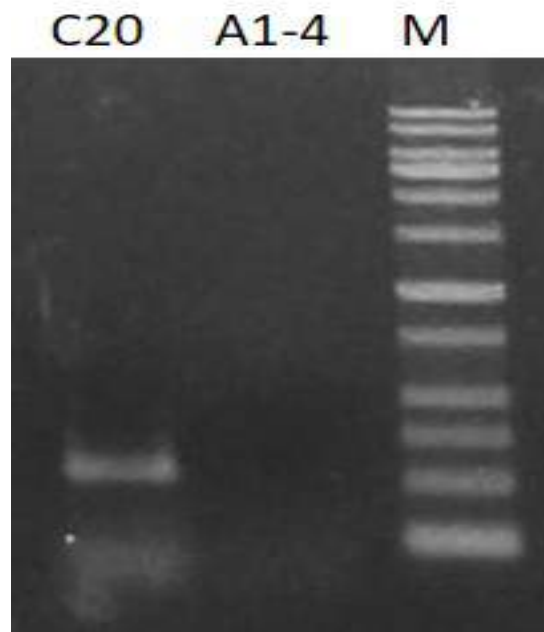
Ảnh 30. Tách ADN từ các mẫu Vân sam fansipan khô bảo quản bằng Silicagel (Vs01-Vs10)



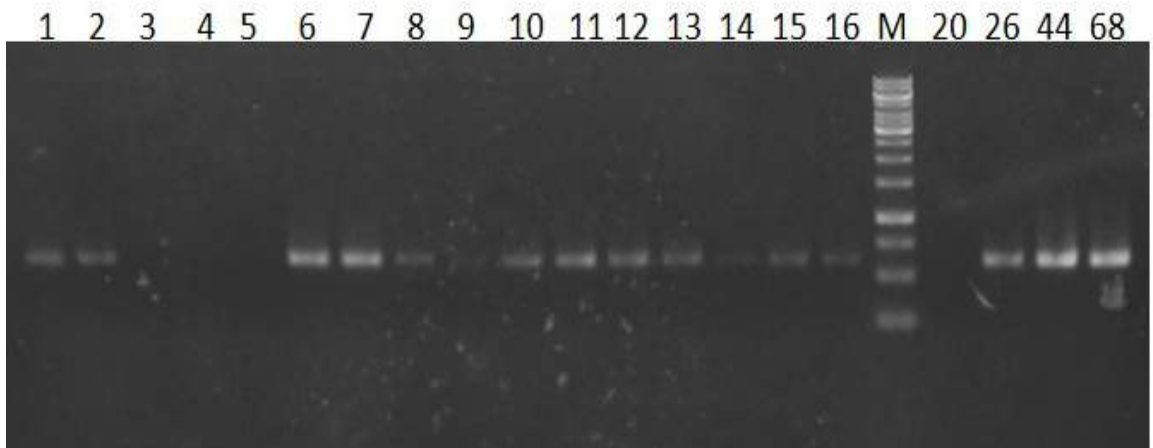
Ảnh 31. PCR quả PCR nhân đoạn trnL-trnF từ 16 mẫu Vân sam fansipan (A1_1-A1_16) Và C20, C26, C44, C68



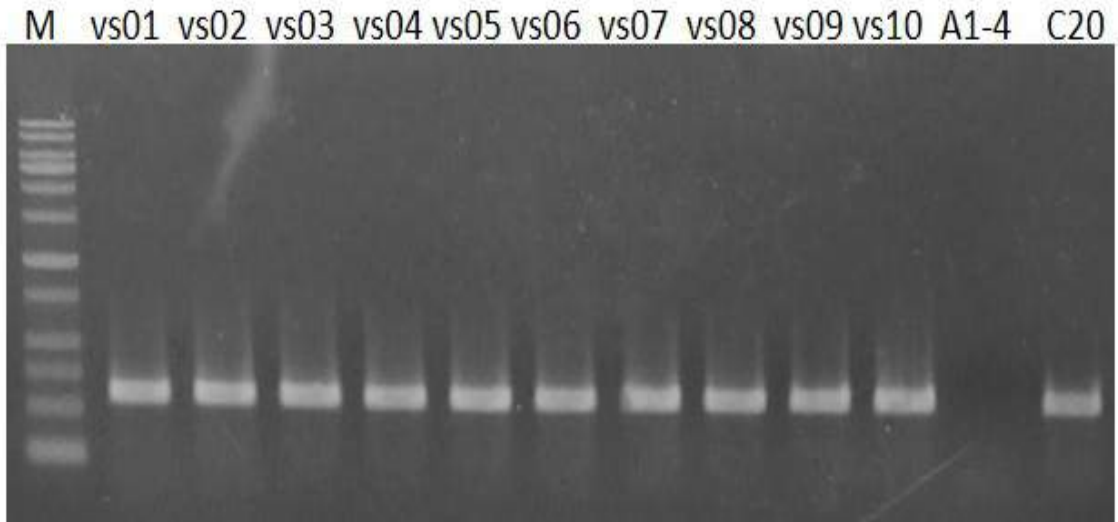
Ảnh 32. Kết quả PCR nhân đoạn trnL – trnF từ 10 mẫu Vân sam fansipan (VS01-Vs10, A1-4 và C20)



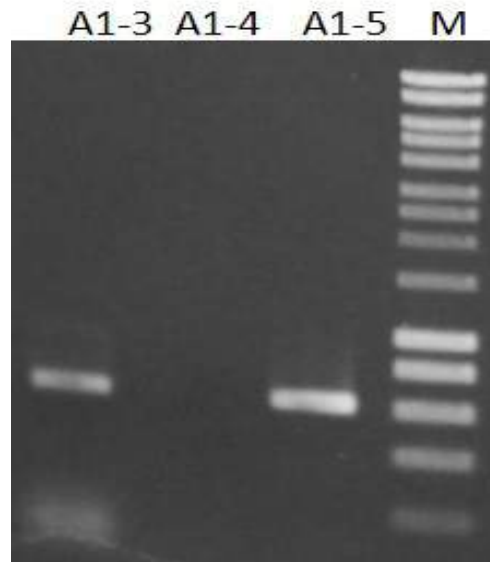
Ảnh 33. Kết quả PCR nhân đoạn trnL – trnF lại các mẫu Vân sam fansipan (C20, A1-4)



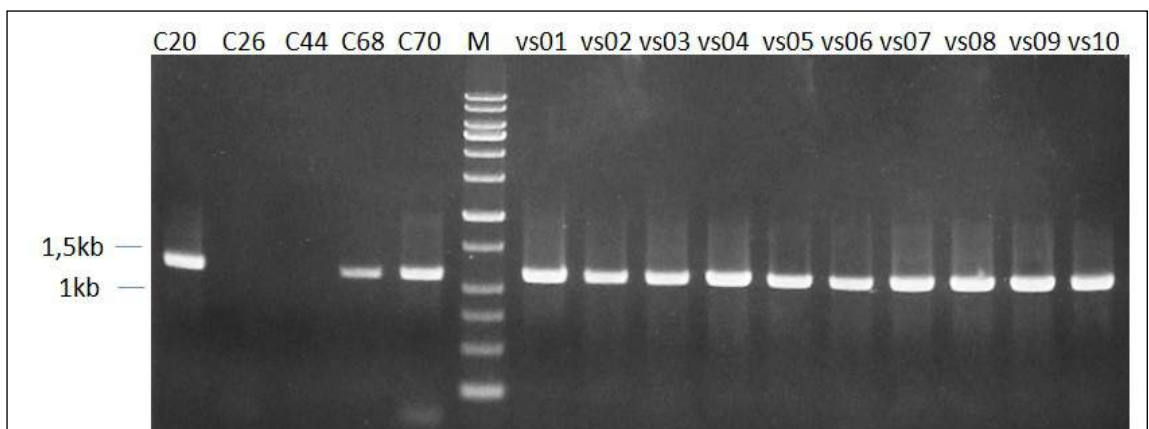
Ảnh 34. Kết quả PCR nhân đoạn rps18-rpl20 từ 20 mẫu Vân sam fansipan (A1_1- A1_16 và C20, C26, C44, C68)



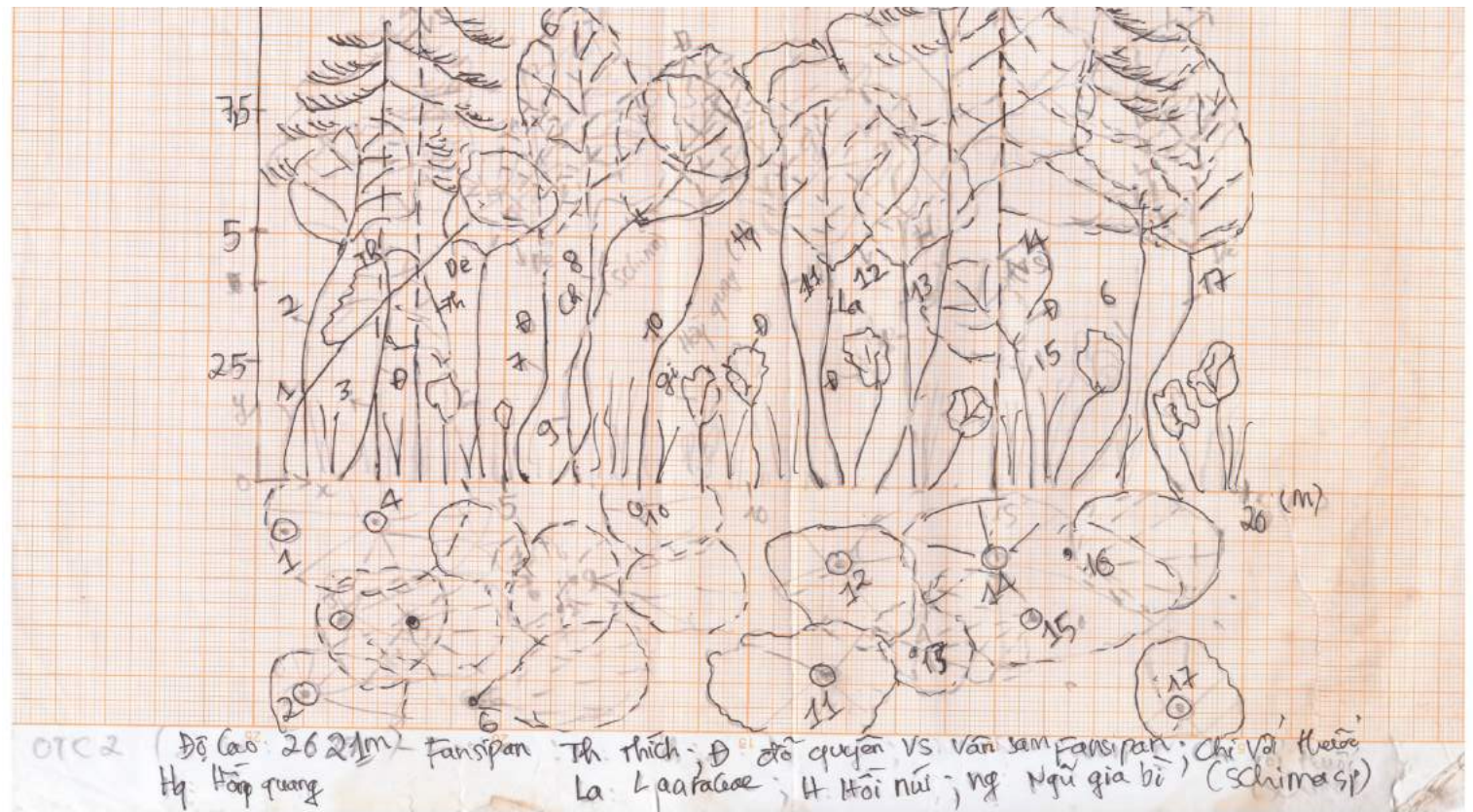
Ảnh 35. Kết quả PCR 12 mẫu Vân sam fansipan (VS01-Vs10, A1-4 và C20)



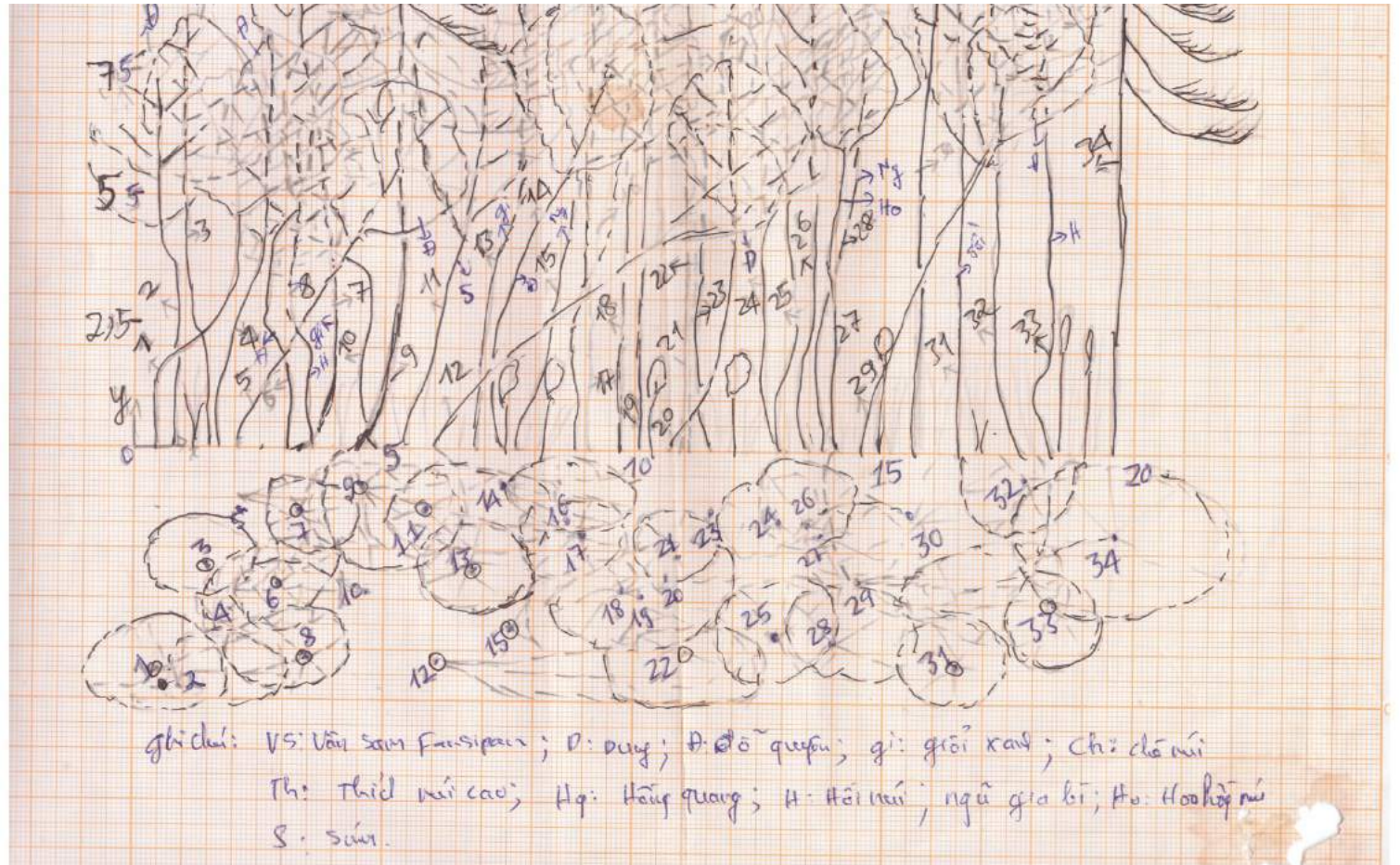
Ảnh 36. Kết quả PCR lại các mẫu Vân sam fansipan (A1-3,4, 5)



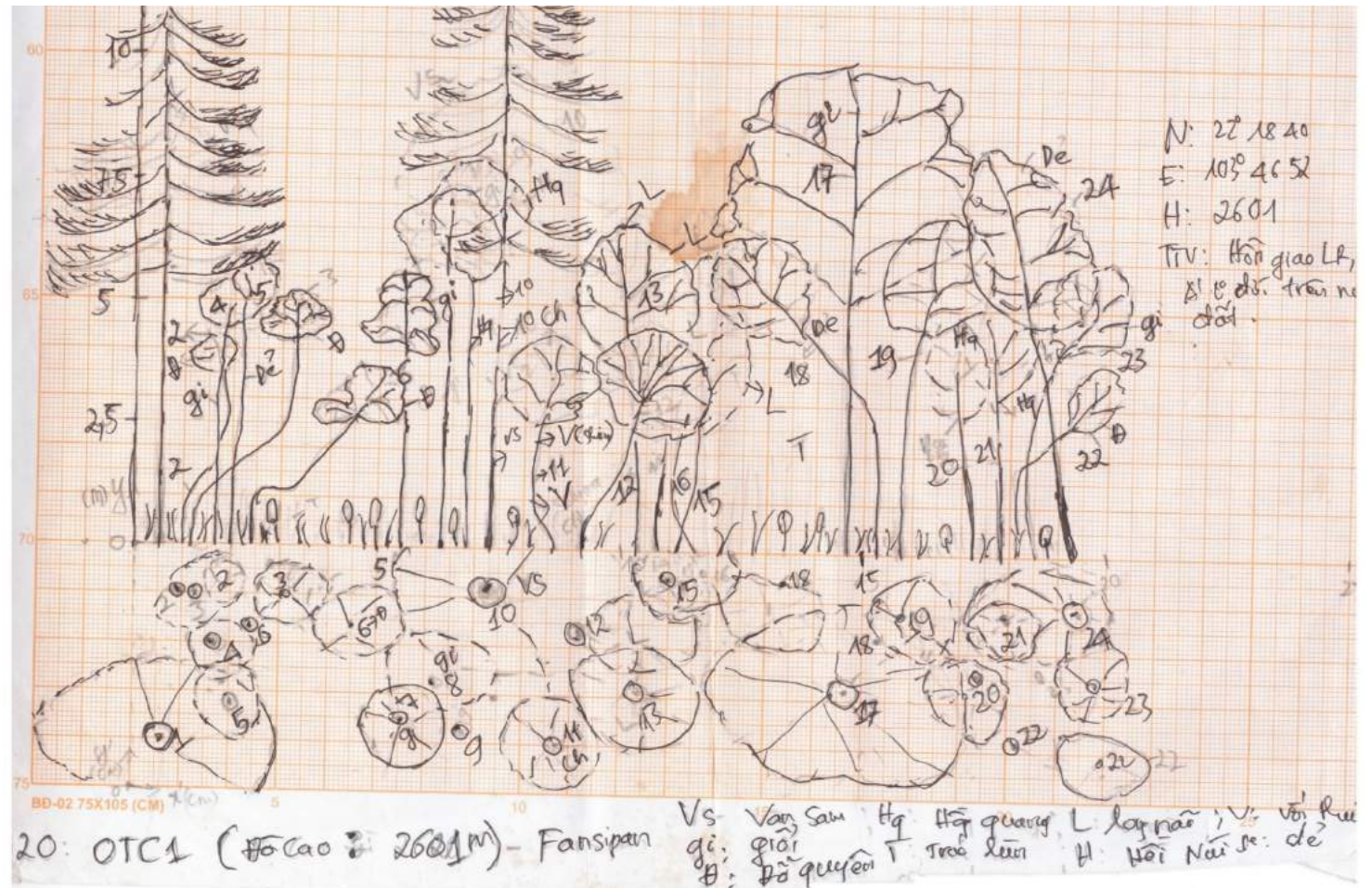
Ảnh 37. Kết quả PCR nhân đoạn nad5 các mẫu vân sam tươi (VS01-VS10 và C20, C26, C44, C68, C70)



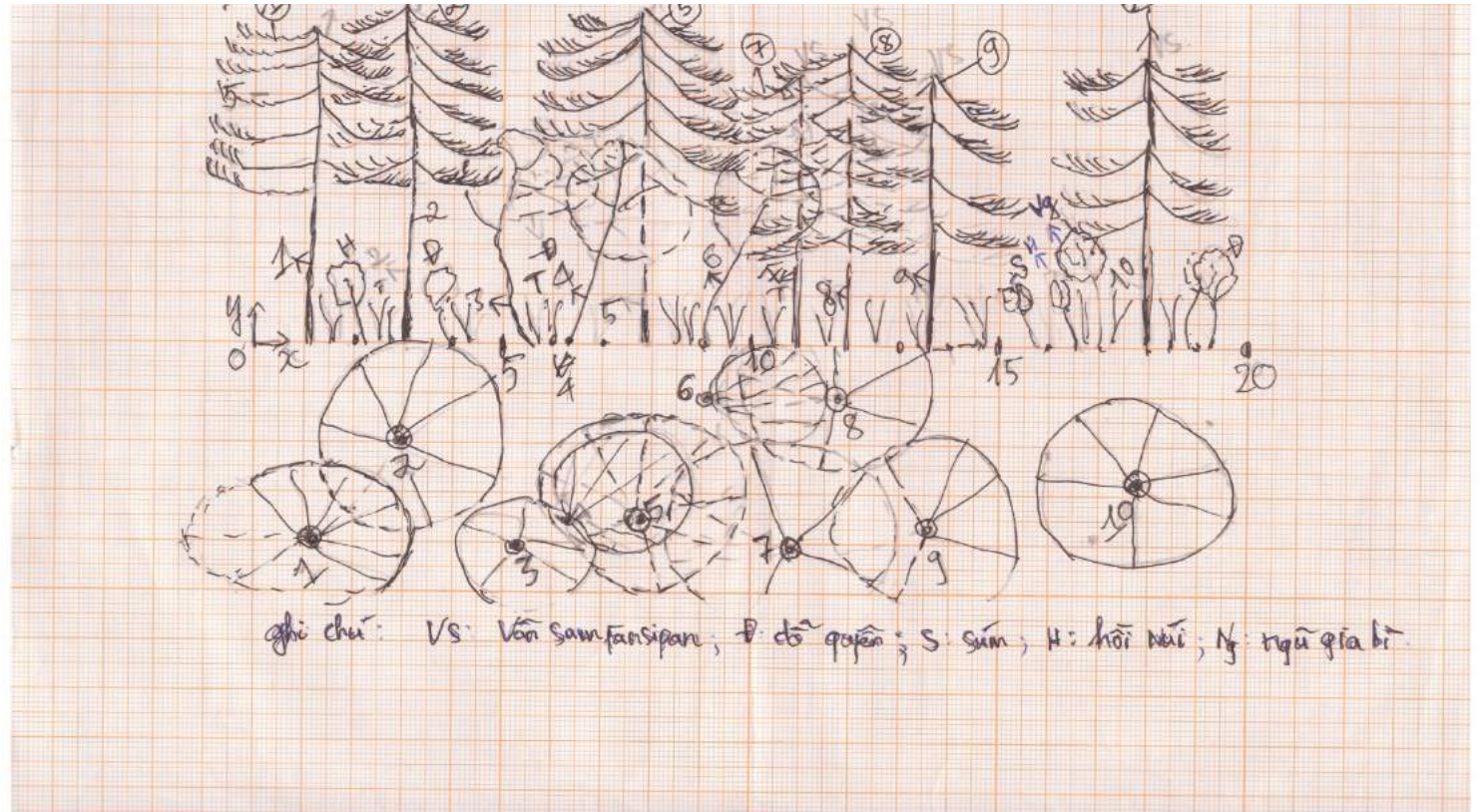
Trắc dò 01. TTV hỗn giao cây lá rộng lá kim tại 2.621m



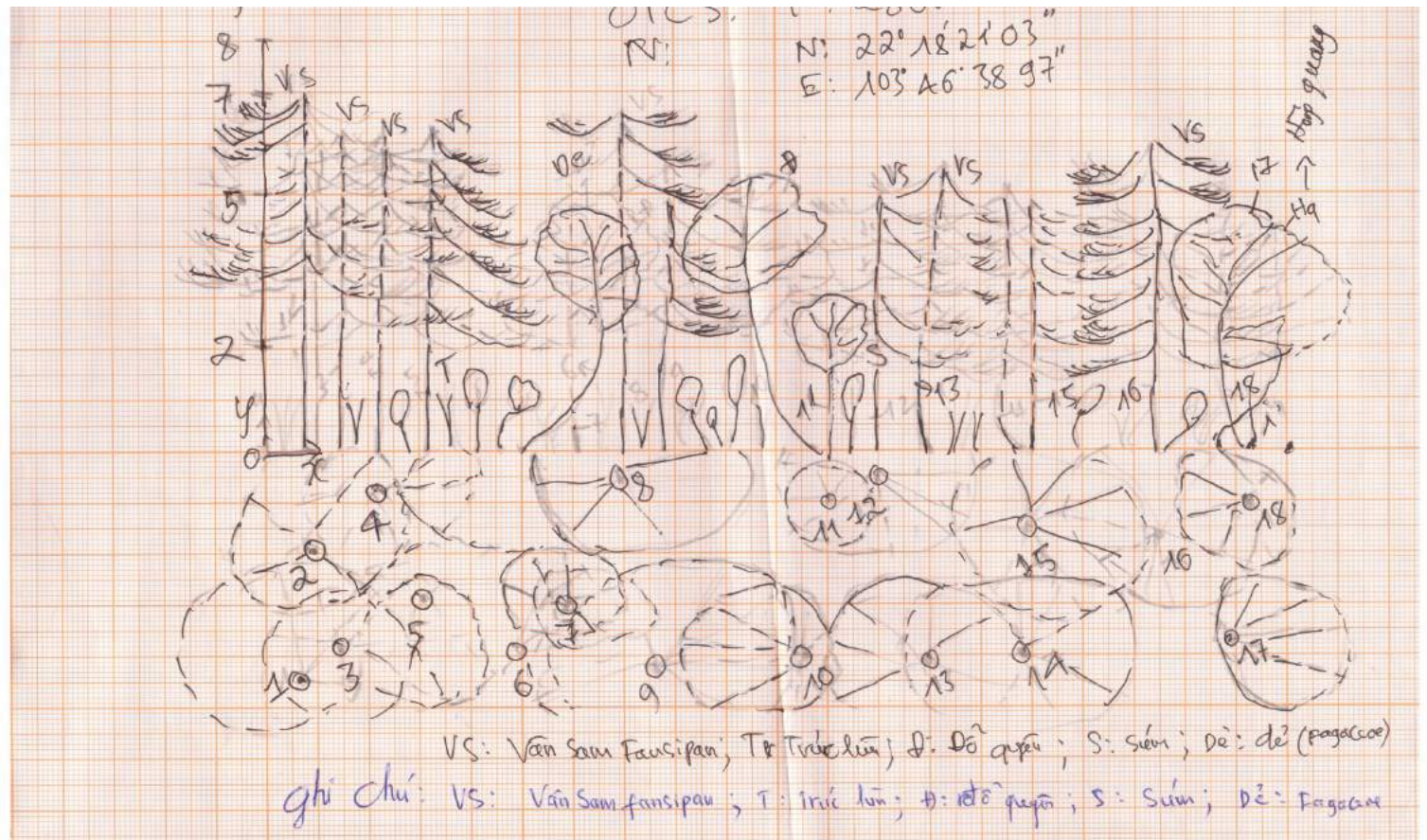
Trắc đồ 02. TTV hỗn giao cây lá rộng lá kim tại 2.601m



Trắc đồ 03. TTV hôn giao cây lá rộng lá kim tại 2.601m



Trắc đồ 04. TTV ưu thế cây lá kim tại 2.825m



Trắc đồ 05. TTV ưu thế cây lá kim tại 2.800 m