ĐẶC TÍNH HÌNH THÁI THỰC VẬT CỦA CÂY CAM RỪNG ĐƯỢC PHÁT HIỆN TẠI TỈNH KHÁNH HÒA

Lê Đặng Công Toại[1], Phan Đức Ngại[2*]

[1]Sở Khoa học và Công nghệ Khánh Hòa, [2]Trường Đại học Khánh Hòa

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 05/11/2024

Ngày phản biện: 07/11/2024

Ngày duyệt đăng: 25/11/2024

[*]Tác giả chính:

phanducngai@ukh.edu.vn

Title:

Morphological Characteristics of Wild orange Discovered in Khanh Hoa Province

Từ khóa:

Cam rừng, hình thái thực vật, tinh dầu, gen

Keywords:

Wild orange, plant morphology, essential oils, genes.

TÓM TẮT: *Khảo sát được thực hiện với mục tiêu mô tả đặc tính hình thái thực vật của cây Cam rừng được phát hiện tại tỉnh Khánh Hòa. Các chỉ tiêu và phương pháp khảo sát được tham khảo theo mô tả cho cây cam quýt của IPGRI (1999) bằng cách mô tả đặc tính cây; thu 30 mẫu lá, hoa, 10 mẫu trái chín; Phân tích di truyền phân tử (gene); Phân tích hàm lượng tinh dầu trong lá và vỏ quả cây Cam rừng. Kết quả cho thấy, cây Cam rừng Khánh Hòa có tên khoa học là Citrus hystrix* DC.*, tên đồng danh Citrus macroptera* Montrouz*. và có tên phổ thông tiếng Việt là Chúc, là loài có tính thích nghi cao, khả năng chống chịu tốt với điều kiện ngoại cảnh và có giá trị tinh dầu rất cao trung bình 2,3% trong lá và 6,8% trong vỏ quả, tuy nhiên số cá thể trong tự nhiên còn rất ít. Kết quả nghiên cứu cung cấp dữ liệu khoa học cho việc đánh giá, lưu giữ, bảo tồn, khai thác hiệu quả nguồn gene hoang dại Cam rừng.*

ABSTRACT:*.This study described the plant morphology of Wild Orange discovered in Khanh Hoa province. The description of plant morphology was based on IPGRI (1999) descriptors for Citrus spp. by describing tree characteristics; Collect 30 samples of leaves and flowers, 10 samples of ripe fruit; Molecular genetic analysis (gene); Analysis of essential oil content in leaves and fruit peels of Wild Orange trees. The results showed that the Khanh Hoa forest orange tree has the scientific name Citrus hystrix* DC.*, the same name Citrus macroptera* Montrouz*. and has a common Vietnamese name of Chuc, is a highly adaptable species, has good resistance to external conditions and has a very high essential oil value, an average of 2.3% in leaves and 6.8% in oil. pods, but the number of individuals in the wild is very small. The research results provide scientific data for the evaluation, storage, conservation, and effective exploitation of wild orange genetic resources.*

1. Giới thiệu vấn đề nghiên cứu

Theo báo cáo quốc gia về đa dạng sinh học năm 2011 [1], Việt Nam là một trong những nước có đa dạng sinh học cao của thế giới với nhiều kiểu hệ sinh thái, các loài sinh vật, nguồn gen phong phú và đặc hữu. Đến nay, khoảng 49.200 loài sinh vật đã được xác định gồm 7.500 loài/chủng vi sinh vật; 20.000 loài thực vật trên cạn và dưới nước; 10.500 loài động vật trên cạn; 2.000 loài động vật không xương sống và cá ở nước ngọt; trên 11.000 loài sinh vật biển. Tại Khánh Hòa các nhà khoa học đã điều tra, sưu tập và tổng hợp được 2.442 loài động thực vật; trong đó đã trực tiếp thu thập 1.100 mẫu vật và đã định loại được trên 700 loài. Đáng chú ý, trong số này có khoảng trên 100 loài được ghi nhận mới, trong đó 23% ở Hòn Hèo, 30% ở Hòn Bà, 26% ở Giang Ly, còn lại rải rác ở các điểm rừng khác trong tỉnh [2]. Tuy nhiên, theo các nhà khoa học, đây chưa phải là con số cuối cùng, bởi còn đến 40% diện tích rừng ở Khánh Hòa chưa được khảo sát, khám phá [3]. Sự đa dạng sinh học rừng của Khánh Hòa đã hình thành nên nhiều loài thực vật quý hiếm và mang tính đặc thù rất cao, bên cạnh những loài đã được phát hiện và khai thác còn có nhiều loài chưa được khai thác sử dụng hiệu quả, trong đó có cây Cam rừng. Cây Cam rừng trước đây phân bố tự nhiên rất nhiều tại khắp vùng rừng núi ở Ninh Hòa, Khánh

Hòa… dưới dạng những quần thể lớn có nơi đến hàng trăm, hàng nghìn cá thể. Tuy nhiên, do diện tích rừng bị thu hẹp trong nhiều năm gần đây, nên hiện nay số lượng cá thể tồn tại trong rừng suy giảm và chỉ còn tồn tại ở những khu vực hẻo lánh, khó tiếp cận. Cam rừng còn được gọi là cây "cam khọt". Trong tự nhiên, loài cam này là cây thân gỗ, phổ biến mọc cao 4-5 m, nhưng cũng có những cây cao trên 10 m, đường kính thân từ 15-30 cm, có những gốc cả người ôm. Hình thái lá, gai, quả trông giống như quả cam Sành nhưng có vỏ dày hơn, tinh dầu vỏ quả nhiều và rất cay. Cây phân bố trong tự nhiên từ nơi đồi cao khô cằn đến bên bờ suối đá và ngay cả ở khu vực ngập trong nước mùa mưa [4].

Theo thông tin thu thập được từ những người đi rừng tại Đá Bàn (xã Ninh Sơn, thị xã Ninh Hòa), hiện nay trong tự nhiên cây Cam rừng vẫn còn tồn tại mặc dù không được quan tâm, không được chăm sóc và thường xuyên bị chặt phá xâm lấn rừng của người dân. Điều này chứng tỏ tính thích nghi cao, khả năng chống chịu tốt với điều kiện ngoại cảnh. Đây là một đặc tính quý, một ưu thế cạnh tranh. Vì vậy, để cung cấp dữ liệu khoa học cho việc đánh giá, lưu giữ, bảo tồn, khai thác hiệu quả nguồn gene hoang dại Cam rừng cần có nghiên cứu về "Điểm sinh học của Cam rừng Khánh Hòa"

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Điều tra Khảo sát sơ bộ hiện trạng phân bố Cam rừng Khánh Hòa

- Phỏng vấn những người đi rừng để có thông tin về cây Cam rừng tại Ninh Hòa (Đá Bàn), khu vực núi hòn hèo (Ninh Đa, Ninh Phú); Diên Khánh, Khánh Vĩnh. Tiến hành điều tra, khảo sát sơ bộ thực tế tại các điểm mà người dân nhìn thấy; đánh dấu vị trí phân bố trên bản đồ trắng (hành chính) của xã. Số lượng: Ninh Hòa 20 phiếu; Diên Khánh 5 phiếu; Khánh Vĩnh 5 phiếu.

- Thu mẫu (lá, hoa, quả) của 10 cá thể và mô tả đặc điểm hình thái thực vật học.

2.2. Xác định loài Cam rừng Khánh Hòa

* Xác định loài qua mô tả đặc điểm hình thái:

Các chỉ tiêu và phương pháp khảo sát dựa theo mô tả cho cây cam quýt (Citrus) của IPGRI (1999) [5] gồm các chỉ tiêu: Đặc tính cây, Đặc tính lá, Đặc tính hoa, Đặc tính quả, Đặc tính hột.

2.3. Phân tích di truyền phân tử (gene) để định danh loài

- Thu mẫu: thu mẫu lá từ 3 cây, mỗi cây 1 mẫu, địa điểm thu mẫu tại rừng Đá Bàn, Ninh Sơn, Ninh Hòa, Khánh Hòa.

- Gửi mẫu: bảo quản trong túi nilon có chứa silica hút ẩm ở nhiệt độ khoảng 200C, gửi Trung tâm Tài nguyên Dược liệu - Viện Dược liệu.

- Giám định tên khoa học dựa trên mức độ tương đồng trình tự và phân nhóm di truyền giữa các mẫu DV-161123 và các loài thuộc chi Citrus.Tìm kiếm và so sánh trình tự nghiên cứu với các trình tự tương đồng trên ngân hàng Genbank (NCBI) bằng chương trình BLAST.

- Vật liệu:

Phương pháp giám định mẫu Cam rừng:

+ Mẫu tham chiếu: Trình tự vùng ITS được công bố trên Genbank của các mẫu giống/loài thuộc chi Citrus và mẫu đại diện Magnoliophyta (mẫu ngoại - outgroup).

+ Các mẫu giám định **DV-161123**: DNA tổng số từ các mẫu giám định **DV - 161123_01, DV-161123_02 và DV-161123_03**.

* DNA của các mẫu nội kiểm hiện đang được lưu giữ tại Trung tâm Tài nguyên Dược liệu.

- Kỹ thuật:

+ Tách chiết DNA tổng số từ các mẫu giám định bằng kit DNeasy của Qiagen (Đức).

+ Khuếch đại PCR vùng trình tự ITS bằng cặp mồi 18S10/C26A.

+ Giải trình tự Sanger vùng trình tự ITS và phân tích so sánh trình tự vùng ITS của các mẫu giám định với bộ dữ liệu trình tự vùng ITS của các mẫu tham chiếu.

2.4. Phân tích hàm lượng tinh dầu trong lá và vỏ quả

Xác định mật số túi dầu trên bề mặt lá và vỏ quả

+ Vật liệu: 3 mẫu quả cam được cung cấp với đặc điểm hình thái như hình 1,2,3: Với các đặc điểm đáy quả hơi lồi, lõm, bằng; 03 mẫu lá lấy 3 vị trí khác nhau trên phiến lá.

+ Dụng cụ: dao lam, thước kẹp, kính lúp soi nổi, máy ảnh

+ Kỹ thuật:

Vỏ quả: Phân tích tiến hành trên 3 mẫu quả. Mỗi mẫu quả cam được tiến hành thu mẫu vỏ tại 3 phần: đầu quả, thân quả, đáy quả, mỗi phần thu 2 mẫu và được đánh dấu. Mỗi mẫu vỏ được cắt với diện tích khoảng 1 cm2, sau đó được đo đạc và hiệu chỉnh lại diện tích bằng công thức Heron. Các mẫu vỏ cam sau đó được chụp ảnh dưới kính soi nổi để đếm số lượng túi tiết tinh dầu, từ mật độ túi tiết tại các phần của mẫu cam sử dụng phương pháp thống kê để so sánh sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Lá cam: Mỗi mẫu cam đại diện được lấy lá để đo đếm tinh dầu, mỗi lá lấy 3 điểm, mỗi điểm 1cm2 ở phần phiến lá. Mẫu 1: Gần cuống lá bên trái gân lá chính; Mẫu 2: gần cuối phiến lá; Mẫu 3: Gần cuống lá bên phải gân lá chính. Tiến hành, phân tích và xử lý số liệu như làm đối với vỏ quả.

Xác định hàm lượng tinh dầu trong lá và vỏ quả:

- Tinh dầu trong dược liệu được định lượng bằng cách cất kéo hơi nước trong dụng cụ cất như mô tả ở hình 2.12. Dịch cất được hứng vào một ống chia độ, sử dụng xylen để giữ lại tinh dầu, pha nước được chảy tự động trở lại bình cất.

- Dụng cụ: Dụng cụ định lượng tinh dầu bao gồm các bộ phận sau:

+ Một bình cầu thủy tinh đáy tròn có cổ ngắn với đường kính trong khoảng 29 mm.

+ Bộ phận ngưng cất nối kín được với bình cất, được làm từ thủy tinh có hệ số giãn nở thấp, bao gồm các bộ phận sau:

Khóa K’ có một lỗ thông khí, nhánh K có một lỗ đường kính khoảng 1 mm trùng khớp với lỗ thông khí, bề mặt cuối của nhánh K là thủy tinh mài có đường kính trong 10 mm.

Bầu hình quả lê J có thể tích 3 ml. Ống JL chia vạch đến 0.01 ml. Bầu tròn L có thể tích khoảng 2 ml. M là một vòi 3 nhánh.

Điểm nối B cao hơn 20 mm so với vạch chia độ trên cùng.

+ Bộ phận đốt nóng có thể điều chỉnh được nhiệt độ.

+ Giá đỡ thẳng đứng với vòng đỡ nằm ngang có gắn vật liệu cách điện.

- Tiến hành: Cho một thể tích dung môi cất theo quy định vào bình cất, thêm vài mảnh đá bọt và lắp bộ ngưng cất vào. Thêm nước qua phễu N tới mức B. Mở khóa K’, dùng pipet cho vào 1 ml xylen (TT) trừ khi có chỉ dẫn khác (tựa đầu pipet vào phía cuối của nhánh K). Đóng khóa K’ sao cho lỗ thông trùng khớp. Đun bình cho đến sôi, sau đó nếu không có chỉ dẫn gì khác thì điều chỉnh tốc độ cất sao cho cất được 2 ml/min đến 3 ml/min. Xác định tốc độ cất như sau: Mở vòi 3 nhánh M để hạ mức dịch cất trong ống đến vạch (a) của bầu (J), khóa vòi M lại và xác định thời gian cần thiết để cất được đến vạch (b).

Mở vòi M và tiếp tục cất, điều chỉnh nhiệt độ đun để có tốc độ cất theo quy định, cất trong 30 min. Ngừng cất, đọc thể tích xylen trong ống hứng chia độ khi nhiệt độ ống hứng trở về nhiệt độ phòng.

Cho vào bình cất một lượng mẫu theo qui định và tiếp tục cất với thời gian và tốc độ cất như quy định của chuyên luận riêng. Ngừng cất, đọc thể tích hỗn hợp tinh dầu và xylen trong ống hứng chia độ khi nhiệt độ ống hứng trở về nhiệt độ phòng. Thể tích đọc được lần này trừ đi thể tích xylen sẽ cho thể tích tinh dầu trong lượng mẫu định lượng.

Tính toán kết quả thu được biểu thị theo ml tinh dầu có trong một kg mẫu thử hoặc theo phần trăm (số ml tinh dầu trong 100 g mẫu thử). Các số liệu chỉ tiêu được tính trung bình và độ lệch chuẩn bằng phần mềm Excel 2016.

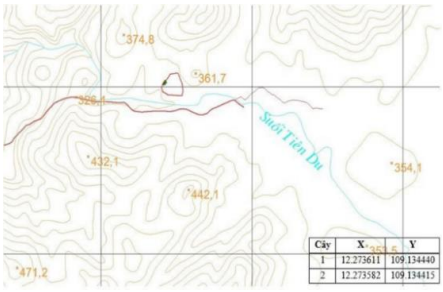
3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Phân bố Cam rừng Khánh Hòa Kết quả điều tra 30 người dân có nghề nghiệp mưu sinh liên quan đến rừng tại Ninh Hòa, Khánh Vĩnh và Diên Khánh và khảo sát trực tiếp đã xác định được 19 cá thể Cam rừng phân bố ở tại khu vực Đá Bàn xã Ninh Sơn, núi Hòn Hèo xã Ninh Phú. Điều này cho thấy, số lượng cây Cam rừng tồn tại trọng tự nhiên rất ít, phân bố rải rác trong rừng sâu, hẻo lánh (Hình 1, 2, 3, 4).

Hình 1. Vị trí phân bố 5 cây Cam rừng tại núi Ông Tượng xã Ninh Sơn

Hình 2. Vị trí phân bố 7 cây Cam rừng tại sông Đá Bàn xã Ninh Sơn

Hình 3. Vị trí phân bố 5 cây Cam rừng tại Suối Dứa xã Ninh Sơn



Hình 4. Vị trí phân bố 2 cây Cam rừng tại núi Hòn Hèo xã Ninh Phú

3.2. Đặc tính cây về thân cành

Kết quả khảo sát thân cành của 10 cá thể Cam rừng cho thấy, cây Cam rừng có chiều dài gai dao động từ 10-20 mm (trung bình 15 mm) và dạng gai thẳng; đọt non có màu đỏ sẫm, chồi không có lông, cấu trúc mặt thân có rãnh và gân dọc.

Kết quả khảo sát đặc điểm hình thái lá ở Bảng 1 cho thấy, về đặc tính cây Cam rừng có dáng thẳng đứng, tán dạng elip, có mật độ cành dày và mật độ gai cao. Gai Cam rừng có dạng thẳng dài từ 10 – 31 mm (trung bình 19,7mm). Đọt non có màu đỏ sẫm bề mặt chồi không có lông. Các cây Cam rừng khảo sát là những cây đã lâu năm gần như ít chịu tác động của con người trong việc khai thác phát rừng làm nương rẫy, cây phát triển tự nhiên không khống chế nên có chiều cao tương đối lớn, chiều cao 10 cây khảo sát đạt từ 4-7 m (trung bình 5,1m). Tương ứng cho đường kính thân đo được từ 14 – 32 cm (trung bình 23,4 cm).

Bảng 1. Đặc điểm thân cành của cây Cam rừng

Đặc điểm thân cành	
Tình trạng cây	Tốt
Dáng cây	Thẳng đứng
Dạng tán	Elip
Mật độ cành	Dày
Mật độ gai	cao
Chiều dài gai	10-31 mm
Dạng gai	Thẳng
Màu đọt non	Đỏ sẫm
Bề mặt chồi	Không có lông
Cấu trúc mặt thân	Có rãnh và gân dọc

Hình 4. Thân – Cành Cam rừng

Chiều cao	4-7 m
Đường kính thân	14-32 cm

3.3. Đặc tính lá

Kết quả khảo sát đặc điểm hình thái lá ở Bảng 2 cho thấy, lá của Cam rừng thuộc kiểu lá đơn, có màu xanh đậm, không có điểm màu trên lá. Đỉnh đầu lá có dạng tròn và dạng có khía, màu mặt trên sáng hơn mặt dưới và cuống lá ngắn hơn phiến lá.

Gân lá từ bằng phẳng đến lồi lên, phiến lá có dạng hình cầu, rìa phiến lá lượn sóng, cánh cuống lá có dạng hình tim ngược và không xẻ thuỳ.

Độ dài cuống lá dao động từ 4-5 cm (trung bình 4,5 cm), độ dày của lá trung bình 1 mm, phiến lá có chiều dài trung bình 42,5 mm (dao động từ 35-50 mm), chiều rộng trung bình 36 mm (dao động từ 30-40 mm), tỷ số dài/rộng phiến lá trung bình 1,2 và số gân lá trung bình 7,4 gân/lá (dao động từ 7-8 gân/lá).

Bảng 2. Đặc điểm hình thái lá

Đặc điểm hình thái lá	
Kiểu lá	Đơn
Màu lá	Xanh đậm
Sự điểm màu trên lá	Không
Đỉnh đầu lá	Tròn-Có khía
Màu mặt trên so với mặt dưới	Sáng hơn
Cuống lá	Cuống lá ngắn hơn phiến lá
Dài cuống lá	4-5 cm
Độ dày của lá	1 mm
Gân chìm hay nổi ở mặt trên	Lồi lên-Bằng phẳng
Số gân lá	7-8
Hình dạng phiến lá	Dạng cầu
Dạng rìa phiến lá	Lượn sóng
Chiều dài phiến lá	35-50 mm
Chiều rộng phiến lá	30-40 mm
Tỉ số dài/rộng phiến lá	1,2
Góc của đáy lá	Tù
Góc của đỉnh lá	Tù
Cánh cuống lá	Có
Chiều dài cánh cuống lá	5-6 cm
Chiều rộng cánh cuống lá	3,5-4,5 cm
Dạng cánh cuống lá	Hình tim ngược
Xẻ thuỳ	Không

3.4. Đặc tính Hoa

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, hoa của Cam rừng có cách xếp hoa thành phát hoa, hoa mọc ở vị trí nách lá, phát hoa chùm (1-3 hoa), hoa lưỡng tính, có màu trắng khi hoa búp và hoa nở, bao phấn màu vàng.

Cuống hoa dài trung bình 0,7 mm (dao động từ 0,5-1 mm), đường kính đài hoa trung bình 5 mm. Hoa có 5 cánh, chiều dài

cánh hoa trung bình 8,3 mm, chiều rộng trung bình 4 mm. Số nhị hoa dao động từ 25-30 nhị (trung bình 27,1 nhị), chiều dài chỉ nhị trung bình 6,7 mm (dao động từ 5-8 mm), chiều dài bao phấn trung bình 3 mm.

Kích thước bộ phận cái của hoa Cam rừng có các đặc điểm như: Chiều dài vòi nhuỵ trung bình 2 mm, đường kính nuốm nhuỵ trung bình 2 mm, Dày nuốm

nhuỵ trung bình 2,5 mm, bầu noãn cao 5 mm, đường kính bầu noãn trung bình 4 mm, tỷ số chiều cao/đường kính bầu noãn trung bình 1,25.

Bảng 3. Đặc điểm hình thái hoa của cây Cam rừng

Đặc điểm hình thái hoa Cam rừng	
Sắp xếp hoa	Thành phát hoa
Vị trí hoa	Nách lá
Loại phát hoa	Chùm (1-3 hoa)
Loại hoa	Lưỡng tính
Dài cuống hoa	0,5-1 mm
Đường kính đài	5 mm
Màu hoa búp	Trắng
Màu hoa nở	Trắng
Số cánh/hoa	5
Màu bao phấn	Vàng
Dài cánh hoa	7-10 mm
Rộng cánh hoa	4 mm
Số nhị hoa	25-30
Chiều dài chỉ nhị	5-8 mm
Chiều dài bao phấn	3 mm
Dài vòi nhuỵ	2 mm
Đường kính nuốm nhuỵ	2 mm
Dày nuốm nhuỵ	2-3 mm
Chiều cao bầu noãn	5 mm
Đường kính bầu noãn	4 mm
Tỷ số chiều cao bầu noãn/đường kính bầu noãn	1,25

3.5. Đặc tính Quả

Kết quả Bảng 4 cho thấy, quả Cam rừng có dạng hình cầu đến elip, đáy quả hơi lõm, đỉnh quả có các dạng nhọn-tròn-hơi lõm, khi chín quả có các màu xanh-vàng, sáng vàng và vàng, vỏ quả mấp mô, trung quả bì có màu trắng và thịt quả có màu xanh.

Quả có chiều cao trung bình 67,3 mm (dao động từ 50-80 mm), chiều rộng quả trung bình 68,8 mm (dao động từ 50-80 mm), trung bình vỏ quả dày 3 mm, quả Cam rừng có số múi dao động từ 14-15 múi/quả (trung bình 14,5 múi/quả), đường kính lõi trung bình 6 mm, quả Cam rừng có trọng lượng trung bình 204 g (dao động từ 160-250 g).

Hạt của Cam rừng có dạng hình thoi-hình nêm-hình trứng, bề mặt hạt mịn và có màu kem, tử diệp có màu trắng và là loại đơn phôi.

Bảng 4. Đặc điểm hình thái quả của Cam rừng

Đặc điểm hình thái quả Cam rừng	
Hình dạng quả	Cầu-Elip
Dạng đáy quả	Hơi lõm
Dạng đỉnh quả	Nhọn-Tròn-Hơi lõm
Màu sắc quả khi chín	Xanh – vàng, Sáng vàng, Vàng
Độ sần vỏ quả	Mấp mô
Chiều cao quả	50-80 mm
Đường kính quả	50-80 mm
Độ dày vỏ	3 mm
Màu trung quả bì	Trắng
Số múi	14-15
Đường kính lõi	6 mm
Màu thịt quả	Xanh
Hình dạng hạt	Hình thoi-Hình nêm-Hình trứng
Bề mặt hạt	Mịn
Màu hạt	Kem
Màu tử diệp	Trắng
Loại phôi	Đơn phôi
Trọng lượng quả	160-250 g

Hình 5. Hình ảnh thân cành, lá, hoa, quả, hạt của Cam rừng

3.6. Phân tích di truyền phân tử (gene) để định danh loài

Mức độ tương đồng trình tự ITS (%) của các mẫu giám định DV-161123 so với các mẫu nội kiểm:

Bảng 5. Mức độ tương đồng trình tự ITS (%) của các mẫu Cam rừng

Mẫu giám định	Mẫu tham chiếu (Mã Genbank)	Mức độ tương đồng (%)
DV-161123_01	Citrus macroptera (MW512535)	99,244
	Citrus hystrix (AB56052)	99,076
DV-161123_02	Citrus macroptera (MW512535)	99,178
	Citrus hystrix (FJ641958)	99,178
DV-161123_03	Citrus macroptera (MW512535)	99,424
	Citrus hystrix (FJ641958)	99,424

Các mẫu giám định DV-161123 được phân nhóm cùng các mẫu thuộc loài Citrus hystrix DC. / Citrus macroptera Montrouz., tách biệt với các loài khác của chi Citrus (giá trị tin cậy của phân tích phân nhóm – Support value: 0,749).

Trình tự vùng ITS của mẫu DV-161123_01 tương đồng 99,076 – 99,244% với các mẫu tham chiếu Citrus hystrix DC. / Citrus macroptera Montrouz.

Trình tự vùng ITS của mẫu DV-161123_02 tương đồng 99,178% với các mẫu tham chiếu Citrus hystrix DC. / Citrus macroptera Montrouz.

Trình tự vùng ITS của mẫu DV-161123_03 tương đồng 99,424% với các mẫu tham chiếu Citrus hystrix DC. / Citrus macroptera Montrouz.

Kết quả: Các mẫu giám định DV-161123_01, DV-161123_02 và DV 161123_03 có tên khoa học là *Citrus hystrix* DC., tên đồng danh *Citrus macroptera* Montrouz. và có tên phổ thông tiếng Việt là Chúc.

3.7. Hàm lượng tinh dầu trong lá và vỏ quả

3.7.1. Mật số túi tinh dầu trên vỏ quả Cam rừng

Kết quả tại bảng 7 cho thấy mật số túi tiết tinh dầu ở mẫu 3 tức quả có đáy lồi cho kết quả cao nhất dao động (203,26 - 235,8) túi/cm^2 trung bình 211 túi/cm^2, mẫu 1 đáy lõm trung bình 172,7 túi/cm^2 và mẫu 2 đáy bằng có trung bình 174,0 túi/cm^2. Kết quả xử lý thống kê cho thấy mật số túi tiết tinh dầu ở mẫu đáy lõm và đáy bằng sai khác không có ý nghĩa, hay nói cách khác mật số túi tinh dầu trên vỏ quả ở dạng đáy lõm và đáy bằng là như nhau; mật số túi tiết tinh dầu trên vỏ quả ở mẫu quả đáy lồi sai khác có ý nghĩa với mẫu đáy lõm và đáy bằng hay vỏ quả đáy lồi có mật số túi tinh dầu cao nhất 211 túi/cm^2, cao hơn vỏ quả đáy lõm và đáy bằng.

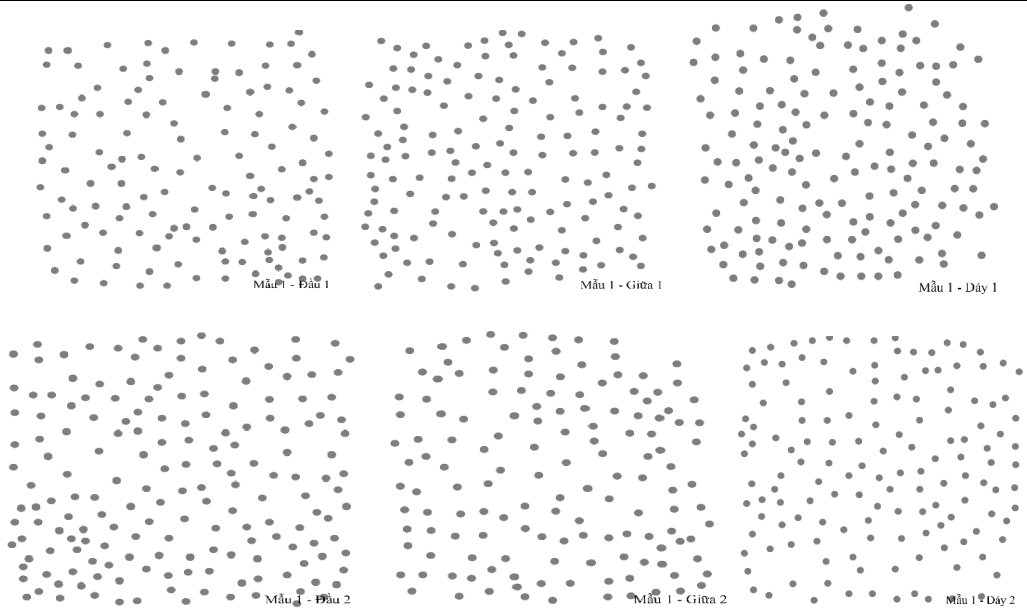
Bảng 6. Kết quả đo diện tích mẫu vỏ quả Cam rừng

Mẫu	Phần	Mã Số	Cạnh 1	Cạnh 2	Cạnh 3	Cạnh 4	Diện tích (mm^2)
Mẫu 1 (đáy lõm)	Đầu	1N1	8,58	9,52	9,44	8,71	81,95
		1N2	9,42	9,56	9,96	9,48	92,21
	Thân	1G1	9,34	9,34	9,33	9,78	89,22
		1G2	9,70	8,37	9,38	9,30	84,17
	Đáy	1Đ1	9,48	9,74	9,55	9,59	91,96
		1Đ2	9,15	9,02	9,52	9,64	87,03
	Đầu	2N1	9,69	9,51	9,54	8,84	88,16
		2N2	9,73	9,70	10,49	10,21	100,54

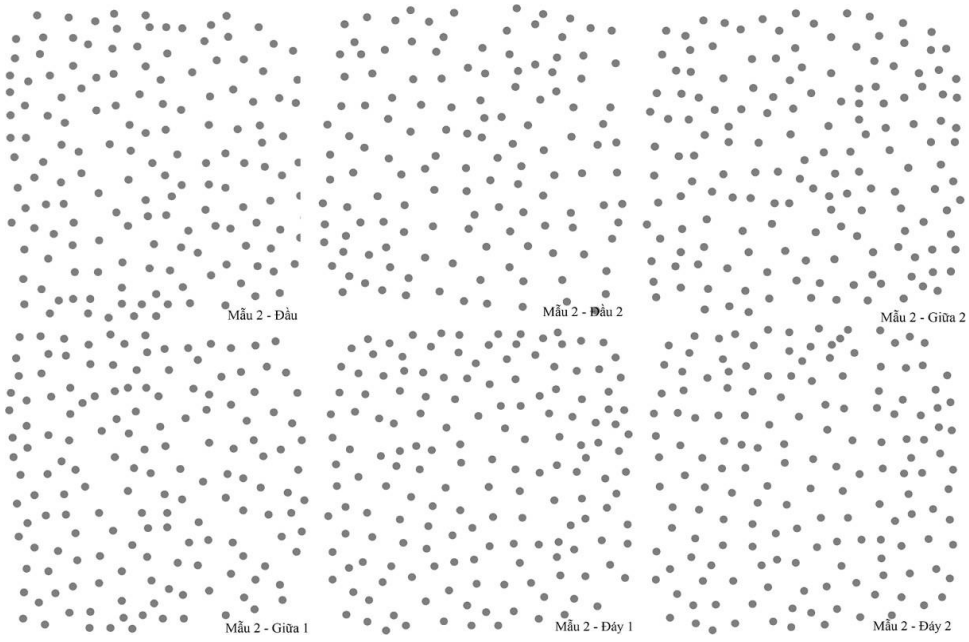
Mẫu 2 (đáy bằng)	Thân	2G1	9,08	8,67	9,12	9,33	81,85
		2G2	8,91	8,89	8,70	9,46	80,74
	Đáy	2Đ1	9,78	9,07	10,17	8,72	88,69
		2Đ2	9,57	9,85	10,1	9,69	96,05
	Đầu	3N1	9,46	9,63	8,82	9,43	87,05
		3N2	10,41	9,20	10,43	9,56	97,72
Mẫu 3 (đáy lồi)	Thân	3G1	10,2	9,94	10,43	9,31	99,23
		3G2	9,57	10,49	9,80	9,94	98,89
	Đáy	3Đ1	9,92	9,05	9,64	9,34	89,91
		3Đ2	9,19	9,24	9,95	9,67	90,39

Bảng 7. Kết quả đếm số lượng túi tiết tinh dầu trên bề mặt các mẫu vỏ cam

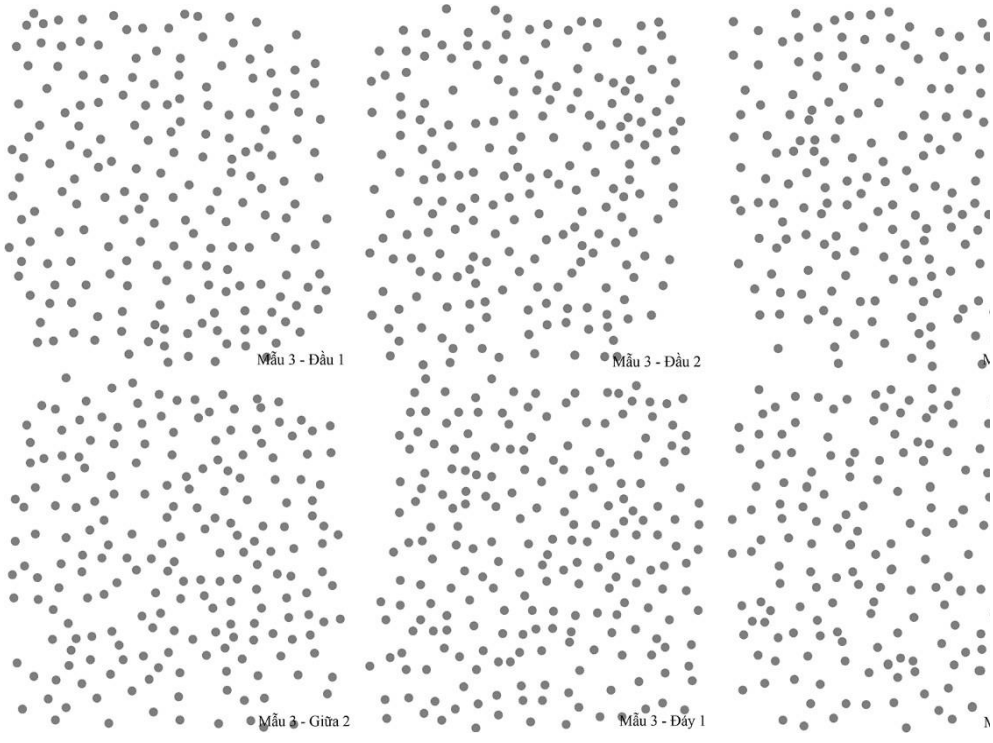
Vị trí	**Mẫu 1** (đáy lõm)	**Mẫu 2** (đáy bằng)	**Mẫu 3** (đáy lồi)
Phần đầu	165,95	178,08	215,97
	190,87	132,29	203,63
Phần thân	174,85	189,38	203,57
	168,7	196,93	203,26
Phần đáy	177,25	181,53	235,8
	158,57	165,54	203,57
TB	**172,7**	**174,0**	**211,0**



Hình 6. Biểu đồ hiển thị mật độ túi tiết tinh dầu các mẫu vỏ cam (Mẫu 1 – quả đáy lõm)



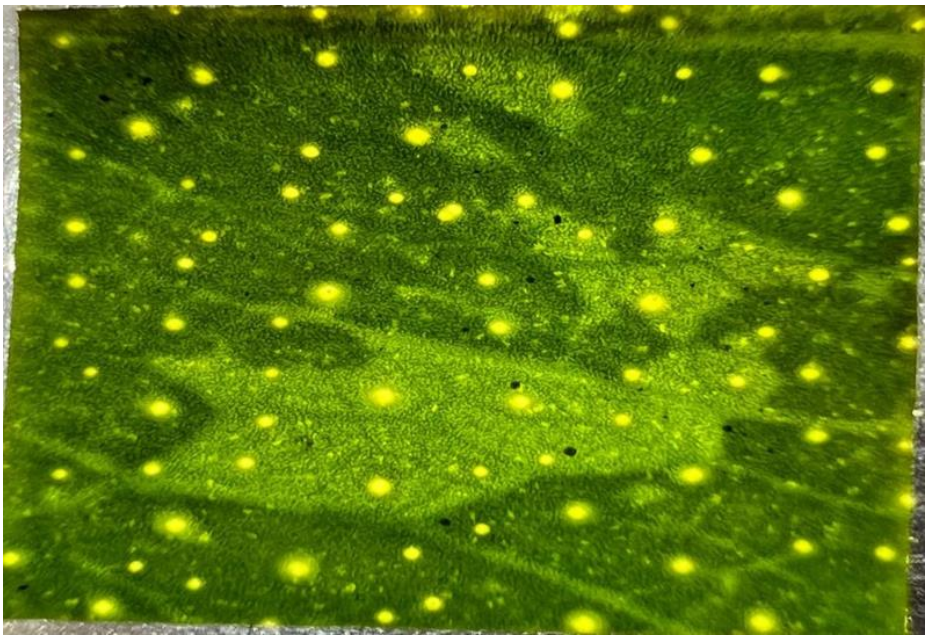
Hình 7. Biểu đồ hiển thị mật độ túi tiết tinh dầu các mẫu vỏ cam (Mẫu 2 – quả đáy bằng)



Hình 8. . Biểu đồ hiển thị mật độ túi tiết tinh dầu các mẫu vỏ cam (Mẫu 3 – quả đáy lồi)

3.7.2. Mật số túi tiết tinh dầu ở mẫu lá Cam rừng

Kết quả soi túi tiết tinh dầu trên phần phiến lá được thống kê trong bảng sau:



Hình 9. Hình ảnh túi tiết tinh dầu trên phiến lá

Bảng 8. Kết quả đo diện tích mẫu lá cam

Phần phiến lá	Mã Số	Cạnh 1	Cạnh 2	Cạnh 3	Cạnh 4	Diện tích (mm^2)
Mẫu lá 1	L1.1	9,58	9,74	10,25	9,93	97,45
	L1.2	10,41	9,56	9,96	9,78	98,45
Mẫu lá 2	L2.1	9,67	9,66	9,65	9,78	93,87
	L2.2	9,90	9,90	9,85	9,98	98,14
Mẫu lá 3	L3.1	10,03	9,97	9,90	10,13	100,12
	L3.2	9,75	9,52	9,59	9,65	92,68

Bảng 9. Kết quả mật số túi tiết tinh dầu trên bề mặt lá cam

Phần phiến lá	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	TB
Mật số túi tinh dầu ($túi/cm^2$)	90,3	76,7	85,0	
	90,4	75,4	87,4	
TB	90,35	76,05	86,2	84,2

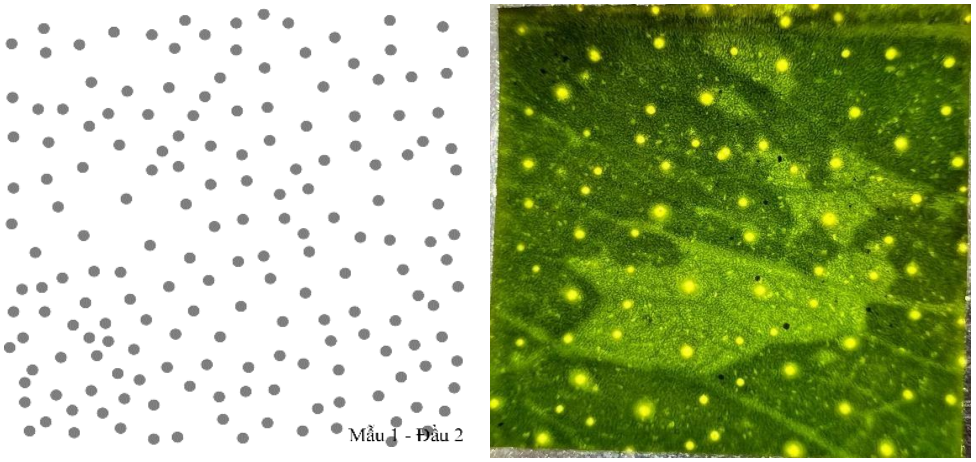
Kết quả cho thấy mật số túi tinh dầu trên bề mặt phiến lá cao nhất là 90,4 $túi/cm^2$ và thấp nhất là 75,4 $túi/cm^2$. Qua xử lý thống kê so sánh cặp giá trung bình mẫu 1 và mẫu 2 khác biệt có ý nghĩa, mẫu 2 và mẫu 3 khác biệt có ý nghĩa, mẫu 1 và mẫu 3 sai khác không có ý nghĩa hay nói cách khác phiến lá lấy tại vị trí gần cuống lá có mật độ túi tinh dầu cao hơn phiến lá lấy tại vị trí cuối lá. Xét trên cả phiến lá mật độ túi tinh dầu của Cam rừng đạt trung bình 84,2 $túi/cm^2$.

3.7.3. Hàm lượng tinh dầu trong lá và vỏ quả Cam rừng

Kết thúc quá trình cất, đọc thể tích hỗn hợp tinh dầu và xylen trong ống hứng chia độ, sau khi trừ phần thể tích xylen ta có được thể tích tinh dầu và tính toán được kết quả hàm lượng tinh dầu trong lá trung bình 2,3% và hàm lượng tinh dầu trung bình trong vỏ quả là 6,8%. Hàm lượng tinh dầu 6,8% trong vỏ quả là rất cao so với các loài trong chi như vỏ Cam sành *(Citrus sinensis Osbeck* L.*) 4,2%* [6]; 2,49% tinh dầu trong vỏ cam và 2,20% tinh dầu trong vỏ bưởi [7]; hàm lượng tinh dầu vỏ quả bưởi Năm Roi *(Citrus grandis (L.) Osbeck)* đạt cao nhất 1,8% [8].

Bảng 10. Hàm lượng tinh dầu trong lá và vỏ quả của Cam rừng

Mẫu	Hàm lượng tinh dầu (%)	
	Trong lá	**Vỏ quả**
1	2,3	7,6
2	2,2	6,9
3	2,3	5,9
TB	2,3	6,8



A B

Hình 10. Hình ảnh túi tiết tinh dầu trên vỏ quả (A) và phiến lá (B)

4. Kết luận

Cây Cam rừng Khánh Hòa có tên khoa học là Citrus hystrix DC., tên đồng danh Citrus macroptera Montrouz. và có tên phổ thông tiếng Việt là Chúc, là loài có tính thích nghi cao, khả năng chống chịu tốt với điều kiện ngoại cảnh và có giá trị tinh dầu rất cao trung bình 2,3% trong lá và 6,8% trong vỏ quả, tuy nhiên số cá thể trong tự nhiên còn rất ít. Kết quả nghiên cứu cung cấp dữ liệu khoa học cho việc đánh giá, lưu giữ, bảo tồn, khai thác hiệu quả nguồn gene hoang dại Cam rừng.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin gởi lời cảm ơn chân thành đến Sở Khoa học và Công nghệ Khánh Hòa, Trung tâm Thông tin và Ứng dụng khoa học công nghệ Khánh Hòa - Sở Khoa học và Công nghệ Khánh Hòa, các đồng nghiệp trong nhóm nghiên cứu đã cung cấp dữ liệu, góp ý và hỗ trợ cho chúng tôi hoàn thành bài báo này.

Tài liệu tham khảo

1. Bộ tài Nguyên và Môi trường, *Báo cáo Quốc gia về Đa dạng sinh học*. Hà Nội: NXB Khoa học Tự nhiên, 2011.
2. Ngọc Khánh. (12:04, 25/04/2014). *Đa dạng sinh học rừng Khánh Hòa*. Báo Khánh Hòa, https://baokhanhhoa.vn/xa-

hoi/201404/da-dang-sinh-hoc-rung-khanh-hoa-2308627/

3. Đặng Ngọc Lệ Thy, Nguyễn Thị Hàn Thy, *Tổng hợp tư liệu khoa học về đa dạng sinh học tỉnh Khánh Hòa phục vụ biên soạn tài liệu GD địa phương trong trường phổ thông*, Sở Giáo dục và Đào tạo Khánh Hòa, 2020.
4. Phạm Hoàng Hộ. *Cây cỏ Việt Nam*, quyển II. Hà Nội: Nhà xuất bản Trẻ, 2003. 954 trang.
5. IPGRI, *Descriptors for Citrus*, International Plant Genetic Resources Institute. Rome. Italy. pp. 28-51, 1999.
6. Phan Thị Anh Đào, Nguyễn Văn Đạt, Huỳnh Thị Bích Hồng, Nguyễn Thanh Duy, *Tối ưu bước đầu quy trình chưng cất lôi cuốn hơi nước tinh dầu từ vỏ Cam sành (Citrus sinensis Osbeck L.) và đánh giá chất lượng tinh dầu*, Tạp chí khoa học và công nghệ Đại học Nguyễn Tất Thành, tập 7, số 1 (2023), trang 9-14.
7. Trần Thị Phả, Vũ Văn Biển, Nguyễn Thị Hảo, Hứa Văn Đáo, Vương Văn Ánh, *Kết quả bước đầu nghiên cứu xây dựng mô hình chưng cất tinh dầu cam, bưởi phục vụ xử lý rác thải xốp*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ, tập 122, sô 8 (2014), trang 117-121.
8. Huỳnh Xuân Phong, Mai Kim Ngân, Trần Thị Thảo Nguyên, Lưu Minh Châu, Nguyễn Ngọc Thạnh, Bạch Long Giang, Mai Huỳnh Cang, Nguyễn Tấn Dũng và Nguyễn Văn Ây, *Thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật gây bệnh của tinh dầu vỏ bưởi Năm Roi (Citrus grandis (L.) Osbeck)*, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ ,tập 57, Số chuyên đề Công nghệ thực phẩm (2021): 189-19