ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

LÊ NGUYỄN THỚI TRUNG

NGHIÊN CỨU BẢO TỒN VÀ PHÁT TRIỂN CÁC LOÀI THIÊN NIÊN KIỆN (*HOMALOMENA* SPP.) Ở TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

LUẬN ÁN TIẾN SĨ LÂM SINH

HUẾ - 2026

ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

LÊ NGUYỄN THỚI TRUNG

NGHIÊN CỨU BẢO TỒN VÀ PHÁT TRIỂN CÁC LOÀI THIÊN NIÊN KIỆN (*HOMALOMENA* SPP.) Ở TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Chuyên ngành: Lâm sinh
Mã số: 9620205

LUẬN ÁN TIẾN SĨ LÂM SINH

Người hướng dẫn:
PGS.TS TRƯƠNG THỊ BÍCH PHƯỢNG
PGS. TS. TRẦN NAM THẮNG

HUẾ - 2026

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Tỉnh Thừa Thiên Huế (nay là thành phố Huế) là một trong những trung tâm đa dạng sinh học của khu vực miền Trung với diện tích rừng tự nhiên lớn (205.602,31 ha), tỷ lệ che phủ cao (đạt 57,15%) và đã ghi nhận hơn 1.126 loài cây thuốc. Đây là tiềm năng quan trọng cho phát triển kinh tế dược liệu gắn với bảo tồn đa dạng sinh học và sinh kế bền vững cho cộng đồng địa phương.

Các loài Thiên niên kiện có giá trị cao về y học, dược học và công nghiệp nhờ chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học và tinh dầu có giá trị. Đây là nguồn nguyên liệu trong y học cổ truyền, công nghiệp dược phẩm, mỹ phẩm và chế biến tinh dầu. Trong khi đó, nguồn nguyên liệu hiện nay gần như hoàn toàn phụ thuộc vào khai thác từ rừng tự nhiên, dẫn đến suy giảm nhanh quần thể ngoài tự nhiên, nguy cơ suy giảm nguồn gen và ảnh hưởng khả năng tái sinh của loài. Đáng chú ý, hai loài Thiên niên kiện lá hình thìa (*Homalomena pierreana*) và Thiên niên kiện lá lớn (*H. pendula*) đã được ghi nhận trong Sách Đỏ Việt Nam (2007), cho thấy nguy cơ suy giảm nguồn tài nguyên và cần có các biện pháp bảo tồn. Vì vậy, việc nghiên cứu bảo tồn và phát triển các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.) là yêu cầu cấp thiết nhằm bảo tồn nguồn gen, duy trì đa dạng sinh học, chủ động nguồn nguyên liệu phục vụ ngành dược và

góp phần thực hiện mục tiêu phát triển vùng nguyên liệu dược liệu trong nước.

2. Mục tiêu nghiên cứu

2.1. Mục tiêu chung

Xây dựng cơ sở khoa học về phân bố, định danh các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.); nhân giống và gây trồng Thiên niên kiện lá lớn *(Homalomena pendula)* phục vụ bảo tồn và phát triển nguồn dược liệu dưới tán rừng tự nhiên tại tỉnh Thừa Thiên Huế (nay là thành phố Huế).

2.2. Mục tiêu cụ thể

(1) Xác định đặc điểm phân bố, sinh học, sinh thái, hiện trạng khai thác, sử dụng và định danh các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.) tại thành phố Huế dựa trên đặc điểm hình thái và chỉ thị phân tử.

(2) Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống giâm hom và nuôi cấy mô loài Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*).

(3) Nghiên cứu kỹ thuật trồng loài Thiên niên kiện lá lớn dưới tán rừng tự nhiên, đánh giá chất lượng và hàm lượng hoạt chất của tinh dầu, đồng thời đề xuất giải pháp bảo tồn và phát triển bền vững.

3. Ý nghĩa của luận án

3.1. Ý nghĩa khoa học

Luận án bổ sung cơ sở dữ liệu về phân bố, đặc điểm sinh học và sinh thái học của các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.) ở tỉnh Thừa Thiên Huế (nay là thành

phố Huế). Kết quả nghiên cứu về đặc điểm hình thái kết hợp với chỉ thị phân tử góp phần bổ sung cơ sở khoa học cho việc phân loại và định danh các loài thuộc chi *Homalomena*.

Kết quả nghiên cứu về nhân giống và kỹ thuật trồng loài Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*) dưới tán rừng góp phần bổ sung cơ sở khoa học cho việc bảo tồn và phát triển các loài Thiên niên kiện theo hướng kết hợp bảo tồn tại chỗ (*in situ*) và bảo tồn chuyển chỗ (*ex situ*).

3.2. Ý nghĩa thực tiễn

Luận án góp phần chủ động nguồn cây giống thông qua việc hoàn thiện kỹ thuật nhân giống bằng giâm hom và nuôi cấy *in vitro* Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*).

Mô hình trồng thực nghiệm loài Thiên niên kiện lá lớn dưới tán rừng tự nhiên cung cấp cơ sở thực tiễn cho việc phát triển vùng nguyên liệu cây dược liệu, góp phần bảo tồn nguồn tài nguyên Thiên niên kiện, nâng cao hiệu quả sử dụng tài nguyên rừng.

4. Những đóng góp mới của luận án

- Định danh và bổ sung dữ liệu phân tử đối với Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*) tại thành phố Huế: xác định được 03 loài Thiên niên kiện gồm *H. pendula, H. occulta* và *H. tonkinensis* trên cơ sở kết hợp đặc điểm hình thái và dữ liệu phân tử; đồng thời đăng ký 04 trình tự gen *rbcL* của *H. pendula* trên Ngân hàng Gen quốc tế GenBank

với mã số PP516859–PP516862, góp phần bổ sung dữ liệu tham chiếu phục vụ định danh và nghiên cứu bảo tồn nguồn gen của loài.

- Xác định được quy trình nhân giống Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*) bằng phương pháp giâm hom và nuôi cấy in vitro: đối với giâm hom từ thân rễ, hom ngọn dài 5 cm xử lý BAP 100 mg/L cho tỷ lệ ra rễ 99,66%, tỷ lệ bật mầm 99,82% và tỷ lệ cây xuất vườn 96,51%; đối với nuôi cấy in vitro, môi trường MS bổ sung 2,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L NAA + 60 g/L khoai tây nghiền cho hệ số nhân chồi cao nhất, đạt 5,9 chồi/mẫu, tạo cơ sở chủ động nguồn giống phục vụ nghiên cứu bảo tồn và phát triển loài.

- Xây dựng và thử nghiệm mô hình trồng Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*) dưới tán rừng tự nhiên: sau 12 tháng trồng, mô hình đạt tỷ lệ sống 97,6%; cây sinh trưởng và phát triển tốt, đồng thời tinh dầu từ thân rễ có hàm lượng linalool đạt 47,68–54,47% và các chỉ tiêu cảm quan, hóa lý đạt yêu cầu theo Dược điển Việt Nam V, bước đầu cho thấy triển vọng phát triển loài dưới tán rừng tự nhiên.

CHƯƠNG I. TỔNG QUAN CÁC VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

1.1. Tài nguyên cây dược liệu và định hướng bảo tồn và phát triển cây dược liệu dưới tán rừng ở Việt Nam

1.1.1. Tài nguyên dược liệu trên thế giới

1.1.2. Hiện trạng tài nguyên dược liệu ở Việt Nam

1.1.3. Hiện trạng tài nguyên dược liệu ở thành phố Huế

1.2. Tổng quan các nghiên cứu về chi *Homalomena*

1.2.1. Tổng quan các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.)

1.2.2. Đặc điểm phân bố của chi Homalomena

1.2.3. Phân loại chi Homalomena dựa trên sinh học phân tử

1.2.4. Các loài thuộc chi Homalomena ở Việt Nam

1.3. Đặc điểm sinh học, sinh thái, giá trị sử dụng và tình trạng bảo tồn các loài Thiên niên kiện

1.3.1. Đặc điểm thực vật chi Homalomena

1.3.2. Đặc điểm vi phẫu chi Homalomena

1.3.3. Thành phần hoá học

1.3.4. Tác dụng dược lý của chi Homalomena

1.4. Các nghiên cứu về nhân giống, trồng và bảo tồn các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.)

1.4.1. Các nghiên cứu về nhân giống

1.4.2. Các nghiên cứu về đặc điểm sinh học và hóa sinh

Từ các tài liệu đã công bố, cây Thiên niên kiện (*H. occulta*) đã được nghiên cứu nhiều, bao gồm cả nghiên cứu phân loại, thành phần hoạt chất, tác dụng dược lý, xây dựng các mô hình trồng... Tuy nhiên, các loài Thiên niên kiện khác mới chỉ có các nghiên cứu riêng lẻ, chưa có sự đồng bộ hay nghiên cứu mang tính hệ thống. Loài Thiên niên kiện lá lớn (*H. pendula*) đã được xác định có mặt tại huyện Phong Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế nhưng cũng chưa được nghiên cứu đầy đủ. Các nghiên cứu trên cây này hiện nay tập trung chủ yếu vào đánh giá thành phần hợp chất, tác dụng dược lý của các hợp chất tách chiết từ cây tự nhiên.

CHƯƠNG II. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

Các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.*)*, thuộc họ Ráy (Araceae) được ghi nhận/phát hiện/công bố, phân bố tự nhiên ở vùng rừng tự nhiên ở thành phố Huế.

Thời gian: 2022 - 2026.

2.2. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1. Điều tra phân bố, đặc điểm sinh học, sinh thái và hiện trạng khai thác sử dụng của các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.) ở thành phố Huế.

Nội dung 2. Nghiên cứu đặc điểm hình thái, giải phẫu và định danh các loài Thiên niên kiện.

Nội dung 3. Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống loài Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*) bằng phương pháp giâm hom và nuôi cấy *in vitro*.

Nội dung 4. Nghiên cứu kỹ thuật trồng loài Thiên niên kiện lá lớn dưới tán rừng tự nhiên; đánh giá sinh trưởng, tỷ lệ sống và chất lượng, hàm lượng hoạt chất của tinh dầu sau trồng; đề xuất giải pháp phát triển bền vững.

2.3. Cách tiếp cận nghiên cứu

Tiếp cập nghiên cứu theo nguyên tắc sinh thái học; nguyên tắc bảo tồn và phát triển; tiếp cận theo phương pháp điều tra chuyên ngành; phương pháp thực nghiệm; nguyên tắc kế thừa và có sự tham gia của cộng đồng (PRA)

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Nội dung 1: Điều tra phân bố, đặc điểm sinh học, sinh thái và hiện trạng khai thác sử dụng của các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.) ở thành phố Huế.

Phương pháp thu thập và tổng hợp tài liệu thứ cấp.

Phương pháp điều tra thực địa phân bố và đặc điểm sinh thái: 50 tuyến, 50 ô tiêu chuẩn (10 x 10 m^2)

Phương pháp điều tra phỏng vấn cộng đồng về khả năng phân bố, trồng, thu hái các loài Thiên niên kiện.

Phương pháp xây dựng bản đồ phân bố

Xử lý số liệu

2.4.2. Nội dung 2: Nghiên cứu đặc điểm hình thái, giải phẫu và định danh các loài Thiên niên kiện

Phương pháp hình thái học và giải phẫu thực vật

Phương pháp phân tích các vùng gen chỉ thị, định danh bằng chỉ thị phân tử và xây dựng cây phả hệ

2.4.3. Nội dung 3: Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống loài Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*) bằng phương pháp giâm hom và nuôi cấy *in vitro*.

a. Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống bằng giâm hom

Thí nghiệm 1: Đánh giá ảnh hưởng của NAA và BAP đến khả năng sinh trưởng của hom

Thí nghiệm 2: Đánh giá ảnh hưởng của chiều dài hom đến khả năng sinh trưởng

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu anh hưởng của vị trí cắt hom đến khả năng tái sinh

Xử lý số liệu

b. Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống bằng nuôi cấy mô

Chuẩn bị và khử trùng mẫu

Tái sinh chồi *in vitro*

Nhân nhanh chồi *in vitro*

Tạo cây *in vitro*

Đánh giá ảnh hưởng của giá thể đến sinh trưởng của cây con ra ngôi

Xử lý số liệu

2.4.4. Nghiên cứu kỹ thuật trồng loài Thiên niên kiện lá lớn dưới tán rừng tự nhiên; đánh giá sinh trưởng, tỷ lệ sống và chất lượng, hàm lượng hoạt chất của tinh dầu sau trồng; đề xuất giải pháp phát triển bền vững

a. Nghiên cứu kỹ thuật trồng loài Thiên niên kiện lá lớn dưới tán rừng

Phương pháp phân tích mẫu đất, mẫu nước

Thiết kế mô hình trồng

Theo dõi đánh giá sinh trưởng, phát triển và năng suất

b. Đánh giá chất lượng và hàm lượng hoạt chất của tinh dầu cây Thiên niên kiện lá lớn sau trồng

Phương pháp xác định tro của dược liệu

Phương pháp chiết xuất

Phương pháp xác định thành phần hóa học của tinh dầu

CHƯƠNG III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm phân bố, sinh thái và hiện trạng khai thác các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.) ở thành phố Huế

Kết quả khảo sát của 118 điểm có loài Thiên niên kiện trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế có sự phân bố theo trạng thái rừng: rừng giàu với 21 điểm chiếm 17,8%; rừng trung bình 49 điểm chiếm 41,53%; rừng phục hồi 39 điểm chiếm 33,05% và rừng nghèo 9 điểm chiếm 7,62%

Các loài Thiên niên kiện phân bố từ độ cao 95 m đến 1.120 m, nhiều nhất ở đai cao 100-300 m với 41 điểm; đai cao 300-600 m với 26 điểm; đai cao 600-900 m với 41 điểm; đai cao trên 900 m với 7 điểm và 01 điểm ở độ cao 95 m. Sự phân bố theo độ dốc từ độ dốc 1,72 đến 47^0, gồm độ dốc dưới 10^0 với 23 điểm; độ dốc từ $10\text{-}20^0$ với 38 điểm; độ dốc từ $20\text{-}30^0$ với 34 điểm; độ dốc từ $30\text{-}47^0$ với 23 điểm.

Sự phân bố theo các yếu tố sinh thái đặc trưng: nhiệt độ bình quân 22-26^{o}C; độ ẩm trung bình từ 85-88%; lượng mưa trung bình năm từ 4.200-5.100 mm. Loại đất phổ biến là đất feralit màu đỏ vàng trên đá sét và biên chất (Fs) và đất feralit màu vàng đỏ trên đá macma acid (Fa). Độ dày tầng đất trung bình (80-150 cm), nhiều vùng phân bố độ dày tầng đất mỏng (50-70 cm), nhiều quần thể phân bố ở tầng đất rất mỏng, trên đá (10-20 cm). Trạng thái thực bì chủ yếu là rừng thường xanh nghèo đến giàu, có độ tàn che từ 0,3 trở lên, khu vực ven khe suối đến vùng rừng có độ

dày tầng đất cao, ẩm thường xuyên. Độ tàn che tầng cây gỗ từ 0,3 trở lên, phổ biến từ 0,4-0,8.

Đánh giá hiện trạng quần thể: 29 quần thể (chiếm 24,58%) có mật độ rất cao; 32 quần thể (chiếm 27,12%) mật độ cao; 39 quần thể (chiếm 33,05%), mật độ trung bình; 15 quần thể (chiếm 12,71%) mật độ thấp và 3 quần thể (chiếm 2,54%) mật độ rất thấp.

Kết quả tổng hợp điều tra, phân bố của các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.*)* được xác định: Đặc trưng khí hậu của vùng phân bố có nhiệt độ trung bình từ 22-25^{o}C; độ ẩm trung bình từ 86-88%; lượng mưa trung bình năm từ 4.500-5.000 mm. Độ cao phân bố tập trung từ 100 đến 750 m so với mực nước biển, cá biệt có nơi lên tới 965 m; tập trung ở vùng ven khe suối; Độ dốc phổ biến từ 15-20 độ; trên đất feralit mà đỏ vàng trên đá sét và biên chất (Fs) và đất feralit màu vàng đỏ trên đá macma acid (Fa). Độ dày tầng đất trung bình (60-300cm). Trạng thái thực bì chủ yếu là rừng thường xanh nghèo đến giàu, có độ tàn che từ 0,3 trở lên, phổ biến từ 0,5-0,8.

Kết quả xây dựng bản đồ phân cấp vùng sinh thái phù hợp của các loài Thiên niên kiện tại tỉnh Thừa Thiên Huế có 159 khu vực thích hợp cao với tổng diện tích là 36.380 ha; mức thích hợp với tổng diện tích 248.166 ha và không thích hợp là 185.499 ha.

3.2. Nghiên cứu đặc điểm hình thái, giải phẫu và định danh các loài Thiên niên kiện

3.2.1. Đặc điểm thực vật học của các loài Thiên niên kiện

Dựa trên đặc điểm hình thái và chỉ thị phân tử đã xác định được 03 loài gồm Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*), Thiên niên kiện hoa ẩn (*H. occulta*) và Thiên niên kiên bắc bộ (*H. tonkinensis*) tỉnh Thừa Thiên Huế.

3.2.2. Đặc điểm chỉ thị phân tử các loài Homalomena

3.2.3.1. Định danh mẫu thu thập bằng chỉ thị phân tử

Nghiên cứu đã lựa chọn các loại chỉ thị khác nhau để định danh các loài khác nhau, *mat*K cho loài *H. occulta, rbc*L cho loài *H. pendula* và *H. tonkinensis*, trên cơ sở các trình tự tương ứng đã công bố trên ngân hàng gen

3.2.3.2. Đặc điểm các vùng gen chỉ thị của loài H. pendula

Đối với trình tự vùng *trn*L-*trn*F, cả 5 mẫu đều có sản phẩm khuếch đại, kết quả phân tích cho thấy 5 mẫu này không có sự khác biệt, tương đồng 99,43% với trình tự *trn*L-*trn*Fcủa loài *H. pendula* (mã số GenBank: KU727660.1, độ dài vùng bao phủ là 340 bp), tương đồng 98,62% với loài *H. occulta* (NC_054336.1).

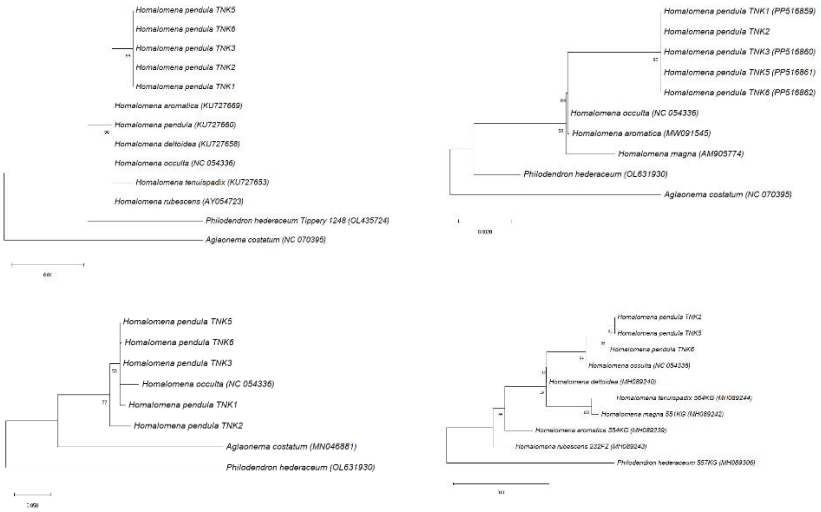
Tương tự, 5 trình tự gen *rbc*L thu từ 5 mẫu nghiên cứu cũng có mức độ tương đồng 100%, đồng thời tương đồng 99,65% so với gen *rbc*L của loài *H. occulta* (NC_054336.1), 99,63% gen *rbc*L của loài *H. aromatica* (MW091545.1).

Ngược lại với 2 vùng gen trên, kết quả phân tích vùng gen *trn*H-*psb*A cho thấy có 22 vị trí khác nhau giữa 5 mẫu, trong đó có 21 điểm xuất hiện ở mẫu TNK2 và TNK6. Trình

tự vùng gen *trn*H-*psb*A của các mẫu TNK1, TNK2, và TNK6 tương đồng lần lượt là 92,35%, 92,09%, và 91,93% so với trình tự *trn*H-*psb*A của loài *H. occulta* (NC_054336.1). V

Đối với vùng *trn*Q-*rps*16, chỉ có 3/5 mẫu được khuếch đại và phân tích trình tự (TNK2, TNK5, và TNK6), các trình tự này có mức tương đồng 100%. So với các loài khác đã được công bố, các trình tự này tương đồng 98,73% so với loài *H. occulta* (NC_054336.1), 96,71% so với *H. deltoidea* (MH089240.1), 95,73% so với *H. rubescens* (MH089243.1), và 95,55% so với loài *H. aromatica* (MH089239.1).

Cây phát sinh chủng loài thể hiện ở hình 3.16



Hình 3.16. Cây phả hệ các loài Homalomena được xây

dựng dựa trên các trình tự DNA barcode. (A. trn*L*-trn*F* *, B.* rbc*L, C.* trn*H*-psb*A* *, D.* trn*Q*-rps*16)*

3.3. Nhân giống loài Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*) bằng phương pháp giâm hom và nuôi cấy *in vitro*

3.3.1. Nhân giống bằng phương pháp giâm hom

3.3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ NAA và BAP đến tỷ lệ sống và chỉ tiêu sinh trưởng cây giống

Đối với NAA, ở công thức xử lý 150 mg/L cho hiệu quả cao nhất, cây ra rễ sau 3 ngày xử lý, tỷ lệ ra rễ 97,14%, tỷ lệ bật mầm 97,45%. Trong khi đó, khi xử lý với BAP nồng độ 100 mg/L mang lại kết quả tốt nhất, cây ra rễ sau 2 ngày với tỷ lệ 98,42%, tỷ lệ bật mầm đạt 99,36% và tỷ lệ xuất vườn lên tới 91,04%. Như vậy, BAP cho hiệu quả cao hơn NAA.

3.3.1.2. Ảnh hưởng của chiều dài hom giống đến tỷ lệ sống và chỉ tiêu sinh trưởng cây giống

Hom giống được cắt thành các đoạn có chiều dài khác nhau (1 cm, 3 cm, 5 cm và 7 cm) trước khi giâm hom. Kết quả cho thấy các đoạn hom dài (5-7 cm) cho hiệu quả cao hơn các đoạn hom ngắn. Đối với hom có chiều dài 5 cm, các chỉ số như ngày ra rễ (4), bật mầm (3), tỷ lệ ra rễ (98,63%), tỷ lệ bật mầm (97,87%), tỷ lệ xuất vườn (89,88%), … đều cho kết quả cao nhất.

3.3.1.3. Ảnh hưởng của vị trí cắt hom đến tỷ lệ sống và chỉ tiêu sinh trưởng cây giống

Kết quả đánh giá khả năng sinh trưởng của từng loại hom giống cho thấy cả ba vị trí cắt hom (gốc, thân và ngọn) đều có tỷ lệ ra rễ và bật mầm rất cao, đạt gần 100%. Như vậy, tất cả các vị trí cắt hom đều có thể sử dụng cho quá trình nhân giống. Tuy nhiên, có sự khác biệt đáng kể về chất lượng của cây giống. Đối với hom ngọn, các giá trị trung bình về chiều dài chồi (6,70 cm), số lượng rễ (34,67) và chiều dài rễ (19,86 cm) đều đạt cao nhất.

3.3.2. Nhân giống bằng kỹ thuật nuôi cấy mô

3.*3.2.1. Khử trùng mẫu*

Ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1%: Khi tăng thời gian khử trùng từ 10-50 phút cho kết quả tỷ lệ nhiễm giảm từ 97,0% xuống còn 26,7%, tuy nhiên tỷ lệ mẫu chết tăng 0,0% lên đến 50%. Tỷ lệ mẫu sống giảm (100-50,0%) khi tăng thời gian khử trùng tăng từ 10-50 phút, khi thời gian khử trùng là 50 phút tỷ lệ mẫu sống giảm chỉ còn 50,0%. Như vậy, khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% trong 30 phút cho hiệu quả khử trùng tốt với tỷ lệ sống 66,7%.

Ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng NaClO 1,5%: khi tăng thời gian khử trùng từ 10-50 phút cho kết quả tỷ lệ mẫu nhiễm giảm từ 100,0% xuống còn 30,0%, nhưng giảm 100% xuống 46,7% khi tăng thời gian khử trùng tăng từ 10-50 phút. Như vậy, khử trùng bằng Javel 1,5% trong 40 phút cho hiệu quả khử trùng với tỷ lệ sống 63,4%.

Ảnh hưởng của thời gian khử trùng kết hợp bằng $HgCl_2$ 0,1% với Javel 1,5%: Sử dụng kết hợp 30 phút $HgCl_2$ 0,1%

với Javel 1,5% ở các khoảng thời gian khác nhau đã ảnh hưởng đến tỷ lệ mẫu nhiễm, tỷ lệ mẫu chết và tỷ lệ mẫu sống của mẫu. Cụ thể, khử trùng với 30 phút $HgCl_2$ 0,1% và tăng thời gian Javel 1,5% từ 10-50 phút cho kết quả tỷ lệ mẫu nhiễm giảm từ 36,7% xuống 0%, tuy nhiên tỷ lệ mẫu chết tăng từ 43,3% lên 80%, tỷ lệ mẫu sống giảm từ 56,7% xuống 20%. Như vậy, khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% trong 30 phút kết hợp với NaClO 1,5% trong 30 phút cho hiệu quả khử trùng tốt với tỷ lệ sống sạch là 43,3%.

3.3.2.2. Tái sinh chồi

Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tạo chồi sau 4 tuần**:** Môi trường bổ sung 1,0 mg/L BAP không có khác biệt về số chồi tái sinh trên môi trường không bổ sung ĐHST. Tăng nồng độ ĐHST lên đến 2,0 mg/L BAP số chồi tái sinh thu được là tốt nhất đạt 2,5 chồi, chiều cao trung bình 1,2 cm.

Ảnh hưởng của KIN đến khả năng tạo chồi sau 4 tuần**:** Khi tăng nồng độ KIN từ 0,0-1,0 mg/L, số chồi/mẫu, chiều cao chồi thu được đều tăng. Môi trường MS bổ sung 1,0 mg/L KIN cho hiệu quả tốt đối với khả năng tạo chồi *in vitro* từ đoạn thân rễ, với số chồi/mẫu đạt 1,5 chồi, chiều cao trung bình 0,9 cm. Tăng nồng độ KIN lên 3,0 mg/L số chồi giảm xuống còn 0,7 chồi/mẫu, chiều cao giảm còn 0,3 cm. Trên môi trường bổ sung 2 mg/L BAP có 100% mẫu tái sinh chồi, số chồi là 2,5; chiều cao trung bình là 1,2 cm. Trong khi trên môi trường bổ sung 1 mg/L KIN có 100% mẫu tái sinh chồi, số chồi/mẫu đạt 1,5; chiều cao trung bình

0,9 cm. Như vậy, BAP cho hiệu quả cao hơn so với KIN.

3.3.2.3. Nhân nhanh chồi in vitro

Ảnh hưởng của BAP đến hiệu quả nhân nhanh chồi, hệ số nhân chồi cây Thiên niên kiện lá lớn đạt cao nhất ở nồng độ 2,0 mg/L BAP, số chồi đạt 2,4 chồi, chiều cao chồi 2,7 cm và số lá 2,1 lá so với môi trường đối chứng không bổ sung ĐHST có số chồi 1,0 chồi, chiều cao 1,7 cm với số lá/chồi 1,4 lá

Ảnh hưởng của KIN có ảnh hưởng đến hiệu quả nhân nhanh chồi cây Thiên niên kiện lá lớn, hệ số nhân chồi đạt cao nhất ở nồng độ 1,0 mg/L KIN với số chồi là 1,8 chồi, chiều cao chồi 2,5 cm và số lá 2,1 lá so với môi trường đối chứng có số chồi 1,0 chồi, chiều cao 1,7 cm với số lá/chồi 1,4 lá.

Ảnh hưởng của BAP kết hợp với NAA: Hệ số nhân chồi cây Thiên niên kiện lá lớn đạt cao nhất ở nồng độ 2,0 mg/L BAP với 0,5 mg/L NAA có số chồi 2,9 chồi, chiều cao chồi 3,2 cm và số lá đạt 3,2.

Ảnh hưởng của KIN kết hợp với NAA đến khả năng nhân chồi: Chồi *in vitro* Thiên niên kiện lá lớn sau 8 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/l KIN kết hợp với NAA (0-1,0 mg/L). Hệ số nhân chồi đạt cao nhất ở nồng độ 1,0 mg/L KIN kết hợp với 0,25 mg/L NAA, số chồi đạt 2,4; chiều cao chồi đạt 2,8 cm và số lá là 2,6.

Ảnh hưởng của BAP kết hợp với NAA và khoai tây: Do KIN kết hợp với NAA không mang lại hiệu quả như khi

kết hợp KIN với BAP, vì vậy sử dụng công thức 2,0 mg/L BAP và NAA 0,5 mg/L để kết hợp khoai tây nghiền (20 - 100 g/L) kết quả hệ số nhân chồi đạt cao nhất ở nồng độ 2,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L NAA + 60 g/L khoai tây nghiền, với số chồi đạt 5,9, chiều cao chồi 3,9 cm và số lá 3,2 lá so với môi trường đối chứng có số chồi là 2,9; chiều cao 3,2 cm với số lá/chồi 3,2 lá. Bổ sung khoai tây nghiền với nồng độ 60 g/L vào môi trường MS + 2,0 mg/L BAP + 0,2 mg/L NAA đã làm gia tăng đáng kể số chồi/mẫu, tuy nhiên, chiều cao và số lá/chồi không có thay đổi rõ rệt .

3.3.2.4. Tạo rễ

Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ *in vitro* cây Thiên niên kiện lá lớn đạt cao nhất ở nồng độ 1,0 mg/L NAA với số rễ 2,8 rễ/chồi, chiều dài 2,72 cm. Tăng nồng độ NAA làm giảm số rễ/chồi, thấp nhất là 2,0 rễ/chồi ở môi trường bổ sung 2,0 mg/L NAA.

Ảnh hưởng của IBA đến tạo rễ cho thấy nồng độ 0,5 mg/L IBA cho hiệu quả cao nhất với số rễ đạt 3,3 rễ/chồi, chiều dài 3,26 cm. Tăng nồng độ IBA làm giảm số rễ/chồi và thấp nhất là 1,9 rễ/chồi ở môi trường bổ sung 2,0 mg/L IBA.

3.3.2.5. Đánh giá ảnh hưởng của giá thể đến sinh trưởng của cây con ra ngôi

Trên tất cả giá thể tỷ lệ sống của cây Thiên niên kiện lá lơn ra đất đều rất tốt, đạt 100%. Trên giá thể đất, xơ dừa và

tro trấu (1:1:1) cây phát triển tốt nhất, cho số lá mới đạt 3,5 lá và chiều cao cây tăng thêm 3,9 cm.

Tóm lại, nhân giống *in vitro* cây Thiên niên kiện lá lớn cho thấy khử trùng mẫu bằng $HgCl_2$ 0,1% trong 30 phút kết hợp Javel 1,5% trong 30 phút cho tỷ lệ mẫu sạch đạt 43,3% sau 4 tuần nuôi cấy. Môi trường cơ bản MS bổ sung 2,0 mg/L BAP thích hợp để tái sinh chồi Thiên niên kiện, đạt 100% mẫu tái sinh chồi, với số chồi là 2,5 chồi sau 4 tuần nuôi cấy. Môi trường cơ bản MS bổ sung kết hợp 2,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L NAA + 60 g/L khoai tây sau 8 tuần nuôi cấy số chồi/mẫu là 5,9 chồi, chiều cao chồi/mẫu là 3,2 cm và số lá/chồi là 3,2 lá. Môi trường cơ bản MS bổ sung 0,5 mg/L IBA thích hợp cho chồi *in vitro* ra rễ, sau 8 tuần nuôi cấy, số rễ trung bình đạt 3,3 rễ/chồi, chiều dài 3,26 cm. Cây con được trồng vào giá thể đất, xơ dừa và tro trấu (1:1:1) cho tỷ lệ sống 100%. Sau 8 tuần cho số lá mới đạt 3,1 lá và chiều cao cây tăng thêm 3,3 cm.

3.4. Nghiên cứu kỹ thuật trồng loài Thiên niên kiện lá lớn dưới tán rừng tự nhiên; đánh giá sinh trưởng, tỷ lệ sống và chất lượng, hàm lượng hoạt chất của tinh dầu sau trồng; đề xuất giải pháp phát triển bền vững

3.4.1. Đặc điểm thổ nhưỡng, sinh thái, lập địa vùng trồng

Các điều kiện sinh thái khoảnh 1, tiểu khu 36 (bản Khe Trăn) và khoảnh 1, tiểu khu 41 (thôn Lưu Hiền Hòa) dự kiến xây dựng mô hình trồng Thiên niên kiện lá lớn dưới tán rừng nhìn chung đáp ứng tốt yêu cầu sinh thái của loài.

Trong đó, nhiệt độ bình quân năm (24°C) và độ dày tầng đất (>80 cm) đều được đánh giá ở mức thích hợp cao tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình sinh trưởng, phát triển cây. Các nhân tố như độ cao, độ ẩm không khí, trạng thái thực bì và độ tàn che được đánh giá từ mức thích hợp trung bình đến thích hợp cao. Độ cao dao động trong khoảng 80–150 m, kết hợp với độ tàn che từ 0,3–0,5 tạo điều kiện ánh sáng, nhiệt độ và độ ẩm dưới tán rừng phù hợp với đặc tính sinh thái của loài cây ưa bóng phù hợp với đặc tính sinh thái của loài Thiên niên kiện lá lớn.

Các chỉ tiêu hóa học, dinh dưỡng và chất lượng môi trường đất tại hai khu vực dự kiến trồng có sự tương đồng về đặc điểm đất đai, mức độ phù hợp của điều kiện đất đối với sinh trưởng và phát triển của loài.

3.4.2. Xây dựng mô hình trồng cây Thiên niên kiện lá lớn dưới tán rừng tự nhiên

3.4.2.1. Biện pháp kỹ thuật trồng, chăm sóc và bảo vệ cây Thiên niên kiện lá lớn

Để triển khai xây dựng mô hình trồng, sử dụng các biện pháp kỹ thuật lâm sinh gồm:

a. Xử lý thực bì

b. Làm đất, bón phân

c. Trồng cây

d. Chăm sóc

e. Quản lý bảo vệ cây trồng

3.4.2.2. Đánh giá sinh trưởng và năng suất trồng cây Thiên

niên kiện lá lớn dưới tán rừng

Kết quả sau 12 tháng tiến hành trồng cây Thiên niên kiện dưới tán rừng tự nhiên: tỷ lệ sống đạt 97,6%; chiều cao đạt 22,5cm; số lá đạt 6,2; đường kính củ trung bình là 1,73 cm; chiều dài trung bình là 9,57 cm và trọng lượng củ trung bình đạt 25,73 gram.

Cây Thiên nhiên kiện lá lớn trồng tại bản Khe Trăn và thôn Lưu Hiền Hòa không có sự khác biệt đáng kể về đường kính củ và chiều dài củ. Đối với trọng lượng củ bản Khe Trăn có cân nặng trung bình cao hơn so với thôn Lưu Hiền Hòa (28,24 g so với 23,55 g). Như vậy, về mặt năng suất, Thiên niện kiện lá lớn trồng ở bản Khe Trăn tốt hơn ở thôn Lưu Hiền Hòa.

3.4.3. Các giải pháp bảo tồn, khai thác sử dụng và phát triển bền vững loài Thiên niên kiện lá lớn ở tỉnh Thừa Thiên Huế

Giải pháp về quản lý nguồn giống

Giải pháp về các biện pháp kỹ thuật trong nhân giống, phục hồi và gây trồng

Giải pháp về Định hướng khai thác và sử dụng bền vững loài Thiên niên kiện lá lớn

3.4.4. Đánh giá hàm lượng một số hoạt chất chính của cây Thiên niên kiện lá lớn

3.4.4.1. Thành phần hóa học của thân rễ

Thành phần hóa học từ thân rễ cây Thiên niên kiện lá lớn sau trồng 12 tháng đã xác định được sự có mặt của 36 hợp chất trong thành phần tinh dầu ở Lưu Hiền Hòa. Trong

đó, sabinene (6,06%), linalool (47,68%), terpinen-4-ol (5,43%) và α-cadinol (5,36%) là các hợp chất có hàm lượng lớn. Tại bản Khe Trăn có 30 hợp chất trong đó, linalool (54,47%) và α-cadinol (7,38%) là các hợp chất có hàm lượng lớn trong thành phần của tinh dầu.

3.4.4.2. Đánh giá thành phần hóa học của tinh dầu từ thân rễ Thiên niên kiện lá lớn gây trồng so với tự nhiên

Thành phần hóa học từ thân rễ Thiên niên kiện được thu hái trong tự nhiên và cây Thiên niên kiện lá lớn trồng mô hình cho thấy cây bố mẹ được thu hái trong tự nhiên (TNK) đã xác định được sự có mặt của 27 hợp chất. Trong đó, các hợp chất linalool (60,63%), terpinen-4-ol (4,01%) và α-cadinol (6,73%) là các hợp chất chính và điển hình của tinh dầu. Các mẫu tinh dầu Thiên niện kiện được nhân trồng sau 01 năm ở Lưu Hiền Hòa và Khe Trăn cũng đã xác định được sự có mặt của các hợp chất này với hàm lượng linalool (47,68%), terpinen-4-ol (5,43%) và α-cadinol (5,36%) ở Lưu Hiền Hòa và hàm lượng linalool (54,47%), terpinen-4-ol (3,85%) và α-cadinol (7,38%) ở Khe Trăn.

3.4.4.3. Đánh giá các chỉ tiêu cảm quan và hóa lý của Thiên niên kiện

Các chỉ tiêu cảm quan và hóa lý cho thấy, các chỉ tiêu về trạng thái, màu sắc, mùi vị, độ ẩm, định tính bằng sắc ký bản mỏng và tro toàn phần đều đạt so với yêu cầu của DĐVN 5. Hàm lượng tinh dầu chiết được chỉ đạt 2,24%, thấp hơn nhiều so với yêu cầu của DĐVN 5 là ≥

4%. Điều này có thể do thời gian trồng còn khá ngắn (1 năm), chưa đủ để dược liệu tích lũy đủ các hoạt chất theo yêu cầu của Dược điển. hàm lượng các kim loại nặng (chì, asen, thủy ngân và cadimi) trong mẫu tích lũy trong dược liệu từ 0,024 mg/L đến 0,077 mg/L.

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. KẾT LUẬN

1. Các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.) ở tỉnh Thừa Thiên Huế, chủ yếu phân bố ở khu vực ẩm ướt, ven khe suối dưới tán rừng tự nhiên có độ cao 100–800 m, độ dốc 15–20 độ, trên đất feralit (Fs, Fa) với độ dày trung bình, trong điều kiện nhiệt độ 22–25°C, độ ẩm 85–88% và lượng mưa 4.235–5.112 mm/năm; độ tàn che 0,4–0,8.

2. Đã xác định được 03 loài Thiên niên kiện ở tỉnh Thừa Thiên Huế dựa trên đặc điểm hình thái và định danh phân tử gồm loài Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula),* loài Thiên niên kiện hoa ẩn (*H. occulta*) và loài Thiên niên kiện bắc bộ (*H. tonkinensis*).

3. Đã đăng ký và công bố 4 trình tự gen *rbcL* của loài Thiên niên kiện lá lớn trên GenBank (mã số PP516859–PP516862).

4. Đã xác định được kỹ thuật giâm hom cây Thiên niên kiện lá lớn từ thân rễ: sử dụng hom ngọn, dài 5 cm, xử lý với BAP nồng độ 100 mg/l cho kết quả tốt nhất, cây ra rễ sau 5 ngày với tỷ lệ đạt 99,66%, tỷ lệ bật mầm đạt 99,82% và tỷ lệ xuất vườn đạt 96,51%.

5. Đã xác định được môi trường tối ưu cho việc nuôi cấy trong ống nghiệm loài Thiên niên kiện lá lớn từ mẫu thân rễ tự nhiên, đó là môi trường MS bổ sung chất điều hòa sinh trưởng (BAP, NAA) và chất hữu cơ (khoai tây nghiền) với công thức: môi trường MS + 2,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L NAA + 60 g/L khoai tây đã kích thích cụm chồi phát triển mạnh mẽ và đạt hệ số nhân chồi tối ưu (5,9 chồi/mẫu). Ngoài ra, cây con ra rễ ổn định trong ống nghiệm được cấy trên giá thể bằng hỗn hợp đất, xơ dừa và tro trấu (tỷ lệ 1:1:1) đạt tỷ lệ sống tuyệt đối 100%.

6. Đã xây dựng thành công 2 mô hình trồng cây Thiên niên kiện lá lớn dưới tán rừng tự nhiên tại thôn Lưu Hiền Hòa và bản Khe Trăn, với mật độ tương ứng 2.500 cây/ha và 1.600 cây/ha. Sau 12 tháng trồng, cây sinh trưởng và phát triển tốt, tỷ lệ sống đạt 97,6%, chiều cao đạt 22,5 cm, số lá đạt 6,2 lá/cây; củ có đường kính trung bình 1,73 cm, chiều dài trung bình 9,57 cm và trọng lượng trung bình đạt 25,73 g.

7. Tinh dầu từ thân rễ cây Thiên niên kiện lá lớn sau 12 tháng trồng có hàm lượng linalool (47,68%), terpinen-4-ol (5,43%) và α-cadinol (5,36%) ở Lưu Hiền Hòa và linalool (54,47%), terpinen-4-ol (3,85%) và α-cadinol (7,38%) ở Khe Trăn. Các chỉ tiêu về cảm quan, hóa lý ở hai mô hình đều đạt so với yêu cầu theo quy định của DĐVN V.

4.2. KIẾN NGHỊ

Tiếp tục có những nghiên cứu tiếp theo trong việc bảo tồn và phát triển các loài Thiên niên kiện tạo thành sản phẩm hàng hóa phục vụ phát triển thị trường.

Tăng cường quản lý và bảo tồn: Cần có các biện pháp khoanh vùng bảo vệ nghiêm ngặt các khu vực có quần thể Thiên niên kiện tự nhiên tập trung, để tránh nguy cơ tuyệt chủng nguồn gen quý.

Đẩy mạnh nghiên cứu nhân giống và trồng trọt: Tiếp tục hoàn thiện quy trình kỹ thuật nhân giống quy mô lớn và xây dựng các mô hình trồng thử nghiệm dưới tán rừng hoặc theo hướng nông lâm kết hợp.

Mở rộng nghiên cứu: Cần theo dõi hàm lượng tinh dầu theo mốc thời gian phát triển (24 tháng, 36 tháng, 48 tháng) để xác định thời điểm thu hoạch tối ưu và nghiên cứu sâu hơn về thử nghiệm lâm sàng và cơ chế tác động của các hợp chất sesquiterpenoids mới phân lập từ các loài Thiên niên kiện nhằm phát triển các dòng sản phẩm dược liệu đặc hữu chất lượng cao.

Xây dựng tiêu chuẩn chất lượng: Đề xuất các cơ quan chức năng phối hợp xây dựng và ban hành tiêu chuẩn chất lượng cụ thể (dược điển) cho từng loài Thiên niên kiện phổ biến để kiểm soát tốt hơn thị trường dược liệu, tránh tình trạng nhầm lẫn giữa các loài trong thu mua và chế biến

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

TT	Tên bài báo	Tên tạp chí, số	Tác giả	Xếp hạng
1	Identification and micropropagation of *Homalomena pendula*, an endangered medicinal plant.	Plant Cell Tiss Organ Cult 158, 40 (2024). DOI: https://doi.org/10.1007/s11240-024-02835-0	**Le Nguyen Thoi Trung,** Nguyen Hoang An, Phan Thi Thao Nguyen, Ho Nhat Quang, Hoang Tan Quang, Ton Nu Minh Thi, Hoang Xuan Thao, Tran Nam Thang, Truong Thi Bich Phuong.	SCIE (Q1)
2	Đặc trưng phân bố các loài Thiên niên kiện (*Homalomena spp.*) theo các yếu tố sinh thái ở tỉnh Thừa Thiên Huế.	Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (pISSN: 2588-1191; eISSN: 2615-9708). Tập 134, Số 3B, 2025, Tr. 39–54, DOI:	**Lê Nguyễn Thới Trung**, Trần Nam Thắng, Lê Văn Hiền, Trương Thị Bích Phượng	HDCD GSNN

		10.26459/hueunijard.v134i3B.7751		
3	Potential DNA barcoding for identification of large leaf Homalomena (*Homalomena pendula* (Blume) Bakh.f.)	Advancements in Life Sciences Vol 13, 2, 2026 DOI: https://doi.org/10.62940/als.v13i2.3932	**Le Nguyen Thoi Trung,** Hoang Tan Quang, Truong Thi Bich Phuong, Tran Nam Thang.	Scopus (Q3)

HUE UNIVERSITY
UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND FORESTRY

LE NGUYEN THOI TRUNG

RESEARCH ON THE CONSERVATION AND DEVELOPMENT OF HOMALOMENA SPECIES IN THUA THIEN HUE PROVINCE

DOCTORAL DISSERTATION IN FORESTRY

HUE - 2026

HUE UNIVERSITY
UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND FORESTRY

LE NGUYEN THOI TRUNG

RESEARCH ON THE CONSERVATION AND DEVELOPMENT OF HOMALOMENA SPECIES IN THUA THIEN HUE PROVINCE

Major: Forestry
Code: 9620205

DOCTORAL DISSERTATION IN FORESTRY

Supervisors: Assoc. Prof. Dr. Truong Thi Bich Phuong
Assoc. Prof. Dr. Tran Nam Thang

HUE - 2026

INTRODUCTION

1. Rationale

Thua Thien Hue Province (now Hue City) is a biodiversity center in Central Vietnam, with a large area of natural forests (205,602.31 ha), a high forest coverage rate (57.15%), and more than 1,126 recorded medicinal plant species. This creates strong potential to develop the medicinal plant economy while promoting biodiversity conservation and sustainable livelihoods for local communities.

Homalomena species have high medicinal, pharmaceutical, and industrial value due to their rich content of bioactive compounds and valuable essential oils. They serve as sources of raw materials for traditional medicine, the pharmaceutical and cosmetics industries, and essential oil production. However, the current supply of raw materials is almost entirely dependent on harvesting from natural forests, leading to a rapid decline in wild populations, a risk of genetic resource loss, and reduced natural regeneration capacity. Notably, two species, Homalomena pierreana and H. pendula, have been listed in the Vietnam Red Data Book (2007), indicating the declining status of these plant resources and the need for conservation measures. Therefore, research on the conservation and development of Homalomena species is urgently needed to conserve genetic resources, maintain biodiversity, ensure a stable supply of raw materials for the pharmaceutical sector, and contribute to the development of domestic medicinal plant production areas.

2. Research Objectives

2.1. General objective

To establish a scientific basis for the distribution and identification of Homalomena species; and to develop propagation and cultivation techniques for big-leaved Homalomena (Homalomena pendula) to support the conservation and development of medicinal plant resources under natural forest canopies in Thua Thien Hue Province (now Hue City).

2.2. Specific objectives

(1) To determine the distribution, biological and ecological characteristics, current status of harvesting and use, and identify Homalomena species in Hue City based on morphological characteristics and molecular markers.

(2) To investigate cutting propagation and tissue culture techniques for big-leaved Homalomena (Homalomena pendula).

(3) To investigate cultivation techniques for big-leaved Homalomena under natural forest canopies, evaluate the quality and active compound content of its essential oil, and propose solutions for its conservation and sustainable development.

3. Significance Of The Dissertation

3.1 **Scientific significance**

The dissertation provides additional data on the distribution, biological characteristics, and ecology of Homalomena species in Thua Thien Hue Province (now Hue City). The findings on morphological characteristics combined with molecular markers provide a scientific basis for the classification and identification of species in the genus Homalomena.

The findings on propagation and cultivation techniques for big-leaved Homalomena (Homalomena pendula) under

forest canopies provide an additional scientific basis for the conservation and development of Homalomena species through a combination of in situ and ex situ conservation.

3.2. Practical significance

The dissertation helps ensure a stable supply of planting materials by improving propagation techniques through cuttings and in vitro culture for big-leaved Homalomena (Homalomena pendula).

The experimental cultivation model of big-leaved Homalomena under natural forest canopies provides a practical basis for developing medicinal plant material production areas, contributing to the conservation of Homalomena resources and improving the efficiency of forest resource use.

4. New Contributions Of The Dissertation

- Identification and addition of molecular data for big-leaved Homalomena (Homalomena pendula) in Hue City: Three Homalomena species, including H. pendula, H. occulta, and H. tonkinensis, were identified based on a combination of morphological characteristics and molecular data. In addition, four rbcL gene sequences of H. pendula were registered with the international GenBank database under accession numbers PP516859–PP516862, providing additional reference data for species identification and genetic resource conservation research.

- Development of a propagation protocol for big-leaved Homalomena (Homalomena pendula) using cuttings and in vitro culture: For rhizome cuttings, 5-cm-long tip cuttings treated with 100 mg/L BAP achieved a rooting rate of 99.66%, a

sprouting rate of 99.82%, and a nursery survival rate of 96.51%. For in vitro culture, MS medium supplemented with 2.0 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA + 60 g/L mashed potato produced the highest shoot multiplication rate, reaching 5.9 shoots per explant. These results provide a basis for ensuring a stable supply of planting materials for the conservation and development of the species.

- Establishment and testing of a cultivation model for big-leaved Homalomena (Homalomena pendula) under natural forest canopies: After 12 months of cultivation, the model achieved a survival rate of 97.6%. The plants showed good growth and development, while the essential oil from the rhizomes had a linalool content of 47.68–54.47%. Its organoleptic and physicochemical properties met the requirements of the Vietnamese Pharmacopoeia V, initially indicating the potential for developing the species under natural forest canopies.

CHAPTER I. LITERATURE REVIEW

1.1. Medicinal plant resources and orientations for the conservation and development of medicinal plants under forest canopies in Vietnam

1.1.1. Medicinal plant resources in the world

1.1.2. Current status of medicinal plant resources in Vietnam

1.1.3. Current status of medicinal plant resources in Hue City

1.2. Overview of studies on the genus Homalomena

1.2.1. Overview of Homalomena species (*Homalomena* spp.)

1.2.2. Distribution characteristics of the genus Homalomena

1.2.3. Molecular classification of the genus Homalomena

1.2.4. Species of the genus Homalomena in Vietnam

1.3. Biological and ecological characteristics, use values, and conservation status of Homalomena species

1.3.1. Botanical characteristics of the genus Homalomena

1.3.2. Anatomical characteristics of the genus Homalomena

1.3.3. Chemical composition

1.3.4. Pharmacological effects of the genus Homalomena

1.4. Studies on the propagation, cultivation, and conservation of Homalomena species (*Homalomena* spp.)

1.4.1. Studies on propagation

1.4.2. Studies on biological and biochemical characteristics

Based on published studies, Homalomena occulta has been extensively studied, including research on its classification, active compounds, pharmacological effects, and cultivation models. However, other Homalomena species have only been studied individually, without comprehensive or systematic research. (H. pendula) has been identified in Phong Dien District, Thua Thien Hue Province, but it has not yet been adequately studied. Current studies on this species have mainly focused on evaluating the compounds and pharmacological effects of compounds extracted from naturally growing plants.

CHAPTER II. RESEARCH SUBJECTS, CONTENTS AND METHODS

2.1. Research subjects and scope

The Homalomena species (*Homalomena* spp.), belonging to the family Araceae, were recorded, identified, or reported as naturally distributed in natural forest areas of Hue City.

Time: 2022 - 2026.

2.2. Research contents

Content 1. Investigation of the distribution, biological and ecological characteristics, and current status of harvesting and use of *Homalomena* species in Hue City.

Content 2. Study of the morphological and anatomical characteristics and identification of Homalomena species.

Content 3. Study of propagation techniques for big-leaved Homalomena (*Homalomena pendula*) using cuttings and *in vitro* culture.

Content 4. Study of cultivation techniques for big-leaved Homalomena under natural forest canopies; evaluation of growth, survival rate, and the quality and active compound content of essential oil after cultivation; and proposal of solutions for sustainable development.

2.3. Research approach

The research approaches included ecological principles; principles for conservation and development; a specialized survey approach; experimental methods; and the principles of inheritance and community participation through Participatory Rural Appraisal (PRA)

2.4. Research Methods

2.4.1. Content 1: Investigation of the distribution, biological and ecological characteristics, and current status of harvesting and use of Homalomena species in Hue City.

Methods for collecting and reviewing secondary data.

Field survey methods for distribution and ecological characteristics: 50 transects and 50 sample plots (10×10 m^2).

Community interviews to investigate the distribution, cultivation, and harvesting of Homalomena species.

Methods for developing distribution maps

Data analysis

2.4.2. Content 2: Study of the morphological and anatomical characteristics and identification of Homalomena species

Methods of plant morphology and anatomy

Methods for analyzing marker gene regions, identification using molecular markers, and constructing phylogenetic trees

2.4.3. Content 3: Study of propagation techniques for big-leaved Homalomena (*Homalomena pendula*) using cuttings and *in vitro* culture.

a. Study of propagation techniques using cuttings

Experiment 1: Evaluation of the effects of NAA and BAP on the growth of cuttings

Experiment 2: Evaluation of the effects of cutting length on growth

Experiment 3: Study of the effects of cutting position on regeneration

Data analysis

b. Study of propagation techniques using tissue culture

Sample preparation and sterilization

In vitro shoot regeneration

In vitro rapid shoot multiplication

In vitro plantlet production

Evaluation of the effects of substrates on the growth of acclimatized plantlets

Data analysis

2.4.4. Study of cultivation techniques for big-leaved Homalomena under natural forest canopies; evaluation of growth, survival rate, and the quality and active compound content of essential oil after cultivation; and proposal of solutions for sustainable development

a. Study of cultivation techniques for big-leaved Homalomena under natural forest canopies

Methods for analyzing soil and water samples

Cultivation model design

Monitoring and evaluation of growth, development, and yield

b. Evaluation of the quality and active compound content of essential oil from big-leaved *Homalomena* after cultivation

Method for determining the ash content of medicinal plant materials

Extraction method

Method for determining the chemical composition of essential oil

CHAPTER III. RESEARCH RESULTS

3.1. Distribution, ecological characteristics, and current status of harvesting of Homalomena species in Hue City

Survey results from 118 locations where Homalomena species were recorded in Thua Thien Hue Province showed differences in distribution according to forest status: rich forests with 21 locations, accounting for 17.8%; medium forests with 49 locations, accounting for 41.53%; recovering forests with 39 locations, accounting for 33.05%; and poor forests with 9 locations, accounting for 7.62%.

Homalomena species were distributed at elevations ranging from 95 m to 1,120 m, with the highest number of locations recorded at elevations of 100–300 m (41 locations), followed by 300–600 m (26 locations), 600–900 m (41 locations), and above 900 m (7 locations), with one location at an elevation of 95 m. In terms of slope, the species were distributed across slopes ranging from 1.72° to 47°, including slopes below 10° with 23 locations; slopes of 10–20° with 38 locations; slopes of 20–30° with 34 locations; and slopes of 30–47° with 23 locations.

The distribution was associated with the following characteristic ecological factors: mean annual temperature of 22–26°C; mean humidity of 85–88%; and mean annual rainfall of 4,200–5,100 mm. The predominant soil types were red-yellow feralitic soil on shale and metamorphic rocks (Fs) and yellow-red feralitic soil on acidic igneous rocks (Fa). The average soil depth was 80–150 cm, while many areas had shallow soil layers of 50–70 cm, and many populations occurred on very shallow soils over rocks (10–20 cm). The vegetation was mainly poor to rich evergreen forests, with a canopy cover of 0.3 or higher, particularly in areas along streams and in forests with deep, continuously moist soil. The canopy cover of the tree layer was 0.3 or higher, most commonly ranging from 0.4 to 0.8.

Population status assessment showed that 29 populations (24.58%) had very high density; 32 populations (27.12%) had high density; 39 populations (33.05%) had medium density; 15 populations (12.71%) had low density; and 3 populations (2.54%) had very low density.

Based on the survey and distribution data, the distribution characteristics of Homalomena species (*Homalomena* spp.) were determined as follows: the climatic conditions of the distribution areas had a mean temperature of 22–25°C, mean humidity of 86–88%, and mean annual rainfall of 4,500–5,000 mm. The distribution was mainly concentrated at elevations of 100–750 m above sea level, with some locations reaching 965 m, particularly in areas along streams. The common slope range was 15–20°. The species occurred mainly on red-yellow feralitic soil on shale and metamorphic rocks (Fs) and yellow-red feralitic soil on acidic igneous rocks (Fa). The average soil depth was 60–300 cm. The vegetation was mainly poor to rich evergreen forests, with a canopy cover of 0.3 or higher, most commonly ranging from 0.5 to 0.8.

The ecological suitability zoning map for Homalomena species in Thua Thien Hue Province identified 159 highly suitable areas, with a total area of 36,380 ha; moderately suitable areas with a total area of 248,166 ha; and unsuitable areas covering 185,499 ha.

3.2. Study of the morphological, anatomical, and identification characteristics of Homalomena species

3.2.1. Botanical characteristics of Homalomena species

Based on morphological characteristics and molecular markers, three species were identified as follows in Thua Thien Hue Province: big-leaved Homalomena (Homalomena pendula), hidden-flowered Homalomena (H. occulta), and Northern Vietnamese Homalomena (H. tonkinensis).

3.2.2. Molecular marker characteristics of Homalomena species

3.2.3.1. Identification of collected samples using molecular markers

Different molecular markers were used to identify different species: *matK* for *H. occulta* and *rbcL* for *H. pendula* and *H. tonkinensis*, based on the corresponding sequences published in the GenBank database.

3.2.3.2. Characteristics of marker gene regions of H. pendula

For the *trnL-trnF* region, all five samples produced amplification products. The analysis showed that these five samples had no differences, with 99.43% similarity to the *trnL-trnF* sequence of *H. pendula* (GenBank accession number: KU727660.1, with a covered region of 340 bp) and 98.62% similarity to *H. occulta* (NC_054336.1).

Similarly, the five *rbcL* gene sequences obtained from the five study samples showed 100% similarity to each other, and 99.65% similarity to the rbcL gene of *H. occulta* (NC_054336.1) and 99.63% similarity to the rbcL gene of *H. aromatica* (MW091545.1).

In contrast to the two gene regions above, analysis of the *trnH-psbA* region showed 22 variable sites among the five samples, of which 21 occurred in samples TNK2 and TNK6. The *trnH-psbA* sequences of samples TNK1, TNK2, and TNK6 showed 92.35%, 92.09%, and 91.93% similarity, respectively, to the *trnH-psbA* sequence of *H. occulta* (NC_054336.1). V

For the *trnQ-rps16* region, only 3/5 samples were successfully amplified and sequenced (TNK2, TNK5, and TNK6), and these sequences showed 100% similarity. Compared with other published species, these sequences showed

98.73% similarity to *H. occulta* (NC_054336.1), 96.71% similarity to *H. deltoidea* (MH089240.1), 95.73% similarity to *H. rubescens* (MH089243.1), and 95.55% similarity to *H. aromatica* (MH089239.1).

The phylogenetic tree is presented in Figure 3.16

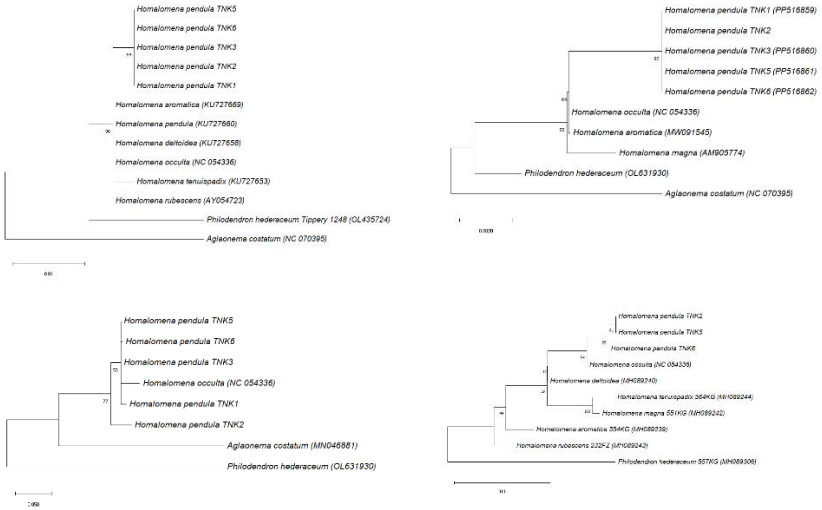


Figure 3.16. Phylogenetic tree of Homalomena species constructed based on DNA barcode sequences. (A. trnL-trnF, B. rbcL, C. trnH-psbA, D. trnQ-rps16)

3.3. Propagation of Big-Leaved Homalomena (Homalomena pendula) Using Cuttings and In Vitro Culture

3.3.1. Propagation Using Cuttings

3.*3.1.1. Effects of NAA and BAP Concentrations on Survival Rate and Growth Parameters of Cuttings*

For NAA, at 150 mg/L, NAA treatment produced the best results, with rooting occurring after 3 days of treatment, a

rooting rate of 97.14%, and a sprouting rate of 97.45%. Meanwhile, BAP treatment at 100 mg/L produced the best results, with rooting observed after 2 days, a rooting rate of 98.42%, a sprouting rate of 99.36%, and a nursery-ready rate of up to 91.04%. Therefore, BAP was more effective than NAA.

3.3.1.2. Effects of Cutting Length on Survival Rate and Growth Parameters of Cuttings

The cuttings were prepared at different lengths (1 cm, 3 cm, 5 cm, and 7 cm) before planting. The results showed that longer cuttings (5–7 cm) were more effective than shorter cuttings. For 5-cm cuttings, the indicators, including days to rooting (4 days), days to sprouting (3 days), rooting rate (98.63%), sprouting rate (97.87%), and nursery-ready rate (89.88%), all showed the highest values.

3.3.1.3. Effects of Cutting Position on Survival Rate and Growth Parameters of Cuttings

The evaluation of the growth performance of cuttings from different positions showed that all three cutting positions (basal, middle, and tip) had very high rooting and sprouting rates, reaching nearly 100%. Therefore, all cutting positions can be used for propagation. However, there were significant differences in the quality of the resulting plantlets. For tip cuttings, the mean shoot length (6.70 cm), number of roots (34.67), and root length (19.86 cm) were all the highest.

3.3.2. Propagation Using Tissue Culture Techniques

3.*3.2.1. Sample Sterilization*

Effect of sterilization time using 0.1% $HgCl_2$: Increasing the sterilization time from 10 to 50 minutes reduced the

contamination rate from 97.0% to 26.7%. However, the mortality rate increased from 0.0% to 50%. The survival rate decreased from 100% to 50.0% as the sterilization time increased from 10 to 50 minutes. At a sterilization time of 50 minutes, the survival rate decreased to only 50.0%. Therefore, sterilization with 0.1% $HgCl_2$ for 30 minutes provided effective sterilization, with a survival rate of 66.7%.

Effect of sterilization time using 1.5% NaClO: Increasing the sterilization time from 10 to 50 minutes reduced the contamination rate from 100.0% to 30.0%, while the survival rate decreased from 100% to 46.7%. Therefore, sterilization with 1.5% Javel for 40 minutes provided effective sterilization, with a survival rate of 63.4%.

Effect of combined sterilization time using 0.1% $HgCl_2$ and 1.5% Javel: Combining 30 minutes of treatment with 0.1% $HgCl_2$ with different treatment durations using 1.5% Javel affected the contamination, mortality, and survival rates of the samples. Specifically, treatment with 0.1% $HgCl_2$ for 30 minutes, followed by increasing the treatment time with 1.5% Javel from 10 to 50 minutes, reduced the contamination rate from 36.7% to 0%. However, the mortality rate increased from 43.3% to 80%, while the survival rate decreased from 56.7% to 20%. Therefore, treatment with 0.1% $HgCl_2$ for 30 minutes combined with 1.5% NaClO for 30 minutes provided effective sterilization, with a clean survival rate of 43.3%.

3.3.2.2. Shoot Regeneration

Effect of BAP on shoot formation after 4 weeks: The medium supplemented with 1.0 mg/L BAP showed no

difference in the number of regenerated shoots compared with the medium without PGRs. Increasing the BAP concentration to 2.0 mg/L resulted in the best shoot regeneration, with 2.5 shoots and a mean height of 1.2 cm.

Effect of KIN on shoot formation after 4 weeks: As the KIN concentration increased from 0.0 to 1.0 mg/L, both the number of shoots per sample and shoot height increased. MS medium supplemented with 1.0 mg/L KIN was effective in inducing in vitro shoot formation from rhizome segments, producing 1.5 shoots per sample with a mean shoot height of 0.9 cm. When the KIN concentration was increased to 3.0 mg/L, the number of shoots decreased to 0.7 per sample, while shoot height decreased to 0.3 cm. On the medium supplemented with 2 mg/L BAP, 100% of the samples regenerated shoots, with 2.5 shoots per sample and a mean shoot height of 1.2 cm. Meanwhile, on the medium supplemented with 1 mg/L KIN, 100% of the samples regenerated shoots, with 1.5 shoots per sample and a mean shoot height of 0.9 cm. Therefore, BAP was more effective than KIN.

3.3.2.3. In Vitro Shoot Multiplication

Effect of BAP: The highest shoot multiplication rate of big-leaved Homalomena was obtained at 2.0 mg/L BAP, with 2.4 shoots, a shoot height of 2.7 cm, and 2.1 leaves, compared with the control medium without PGRs, which produced 1.0 shoot, a shoot height of 1.7 cm, and 1.4 leaves per shoot.

Effect of KIN: KIN affected the shoot multiplication of big-leaved Homalomena. The highest shoot multiplication rate was obtained at 1.0 mg/L KIN, with 1.8 shoots, a shoot height of 2.5 cm, and 2.1 leaves, compared with the control medium, which

produced 1.0 shoot, a shoot height of 1.7 cm, and 1.4 leaves per shoot.

Effect of BAP combined with NAA: The highest shoot multiplication rate of big-leaved Homalomena was obtained with 2.0 mg/L BAP combined with 0.5 mg/L NAA, producing 2.9 shoots, a shoot height of 3.2 cm, and 3.2 leaves.

Effect of KIN combined with NAA on shoot multiplication: *In vitro* shoots of big-leaved Homalomena were cultured for 8 weeks on MS medium supplemented with 1.0 mg/L KIN combined with NAA (0–1.0 mg/L). The highest shoot multiplication rate was obtained with 1.0 mg/L KIN combined with 0.25 mg/L NAA, producing 2.4 shoots, a shoot height of 2.8 cm, and 2.6 leaves.

Effect of BAP combined with NAA and potato: Since KIN combined with NAA was less effective than KIN combined with BAP, 2.0 mg/L BAP and 0.5 mg/L NAA were combined with mashed potato (20–100 g/L). The highest shoot multiplication rate was obtained with 2.0 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA + 60 g/L mashed potato, producing 5.9 shoots, a shoot height of 3.9 cm, and 3.2 leaves, compared with the control medium, which produced 2.9 shoots, a shoot height of 3.2 cm, and 3.2 leaves per shoot. Adding mashed potato at 60 g/L to MS medium supplemented with 2.0 mg/L BAP + 0.2 mg/L NAA significantly increased the number of shoots per sample; however, shoot height and the number of leaves per shoot did not change significantly.

3.3.2.4. Root Induction

Effect of NAA on *in vitro* root induction: The highest root

induction in big-leaved Homalomena was obtained at 1.0 mg/L NAA, with 2.8 roots per shoot and a root length of 2.72 cm. Increasing the NAA concentration reduced the number of roots per shoot, with the lowest value of 2.0 roots per shoot recorded on the medium supplemented with 2.0 mg/L NAA.

Effect of IBA on root induction: A concentration of 0.5 mg/L IBA produced the best results, with 3.3 roots per shoot and a root length of 3.26 cm. Increasing the IBA concentration reduced the number of roots per shoot, with the lowest value of 1.9 roots per shoot recorded on the medium supplemented with 2.0 mg/L IBA.

3.3.2.5. Evaluation of the Effects of Substrates on the Growth of Acclimatized Plantlets

The survival rate of big-leaved Homalomena plantlets was 100% on all substrates. The plants grew best in the substrate consisting of soil, coconut coir, and rice husk ash (1:1:1), producing 3.5 new leaves and an increase in plant height of 3.9 cm.

In summary, in vitro propagation of big-leaved Homalomena showed that sterilization with 0.1% $HgCl_2$ for 30 minutes combined with 1.5% Javel for 30 minutes resulted in a clean sample rate of 43.3% after 4 weeks of culture. MS basal medium supplemented with 2.0 mg/L BAP was suitable for shoot regeneration of Homalomena, resulting in 100% shoot regeneration, with 2.5 shoots after 4 weeks of culture. MS basal medium supplemented with 2.0 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA + 60 g/L potato produced 5.9 shoots per sample, a shoot height of 3.2 cm, and 3.2 leaves per shoot after 8 weeks of culture. MS

basal medium supplemented with 0.5 mg/L IBA was suitable for root induction of in vitro shoots. After 8 weeks of culture, the mean number of roots reached 3.3 roots per shoot, with a root length of 3.26 cm. Plantlets grown in a substrate of soil, coconut coir, and rice husk ash (1:1:1) had a survival rate of 100%. After 8 weeks, the number of new leaves reached 3.1, and plant height increased by 3.3 cm.

3.4. Study of Cultivation Techniques for Big-Leaved Homalomena Under Natural Forest Canopies; Evaluation of Growth, Survival Rate, Quality, and Active Compound Content of Essential Oil After Cultivation; and Proposal of Solutions for Sustainable Development

3.4.1. Soil, Ecological, and Site Characteristics of the Cultivation Areas

The ecological conditions of Compartment 1, Sub-compartment 36 (Khe Tran Village) and Compartment 1, Sub-compartment 41 (Luu Hien Hoa Village), where models for cultivating big-leaved Homalomena under forest canopies are planned, generally meet the ecological requirements of the species. The mean annual temperature (24°C) and soil depth (>80 cm) were both assessed as highly suitable, providing favorable conditions for plant growth and development. Factors such as elevation, air humidity, vegetation status, and canopy cover were assessed as ranging from moderately suitable to highly suitable. The elevation ranges from 80–150 m, combined with a canopy cover of 0.3–0.5, providing suitable light, temperature, and humidity conditions under the forest canopy

for this shade-loving species, which are consistent with the ecological characteristics of big-leaved *Homalomena*.

The soil chemical, nutrient, and environmental quality indicators at the two proposed cultivation sites showed similar soil characteristics and similar levels of suitability for the growth and development of the species.

3.4.2. Establishment of a Cultivation Model for Big-Leaved Homalomena Under Natural Forest Canopies

3.4.2.1. Technical Measures for Planting, Care, and Protection of Big-Leaved Homalomena

To establish the cultivation model, the following silvicultural techniques were applied:

a. Vegetation clearing

b. Soil preparation and fertilization

c. Planting

d. Care and maintenance

e. Management and protection of planted trees

3.4.2.2. Evaluation of Growth and Yield of Big-Leaved Homalomena Cuvated Under ltiForest Canopies

After 12 months of cultivation under natural forest canopies, the survival rate of Homalomena plants reached 97.6%; plant height reached 22.5 cm; the number of leaves reached 6.2; the mean rhizome diameter was 1.73 cm; the mean rhizome length was 9.57 cm; and the mean rhizome weight was 25.73 g.

Big-leaved Homalomena plants cultivated in Khe Tran Village and Luu Hien Hoa Village showed no significant difference in rhizome diameter or rhizome length. However, the

mean rhizome weight in Khe Tran Village was higher than that in Luu Hien Hoa Village (28.24 g compared with 23.55 g). Therefore, in terms of yield, big-leaved Homalomena cultivated in Khe Tran Village performed better than that cultivated in Luu Hien Hoa Village.

3.4.3. Solutions for the Conservation, Sustainable Harvesting and Use, and Sustainable Development of Big-Leaved Homalomena in Thua Thien Hue Province

Solutions for managing planting materials

Solutions for technical measures in propagation, restoration, and cultivation

Solutions for orientations for the sustainable harvesting and use of big-leaved Homalomena

3.4.4. Evaluation of the Content of Some Major Active Compounds in Big-Leaved Homalomena

3.4.4.1. Chemical Composition of the Rhizomes

The chemical composition of the rhizomes of big-leaved Homalomena after 12 months of cultivation showed the presence of 36 compounds in the essential oil at Luu Hien Hoa. Among them, sabinene (6.06%), linalool (47.68%), terpinen-4-ol (5.43%), and α-cadinol (5.36%) were the compounds present at high concentrations. At Khe Tran Village, 30 compounds were identified, among which linalool (54.47%) and α-cadinol (7.38%) were present at high concentrations in the essential oil.

3.4.4.2. Evaluation of the Chemical Composition of Essential Oil from Cultivated Big-Leaved Homalomena Rhizomes Compared with Naturally Growing Plants

The chemical composition of the rhizomes of naturally growing Homalomena and cultivated big-leaved Homalomena showed that 27 compounds were identified in the naturally collected parent plants (TNK). Among them, linalool (60.63%), terpinen-4-ol (4.01%), and α-cadinol (6.73%) were the major and characteristic compounds of the essential oil. These compounds were also identified in the essential oil samples from big-leaved Homalomena cultivated for one year at Luu Hien Hoa and Khe Tran, with linalool (47.68%), terpinen-4-ol (5.43%), and α-cadinol (5.36%) at Luu Hien Hoa, and linalool (54.47%), terpinen-4-ol (3.85%), and α-cadinol (7.38%) at Khe Tran.

3.4.4.3. Evaluation of Sensory and Physicochemical Parameters of Homalomena

The sensory and physicochemical parameters showed that the parameters for appearance, color, odor and taste, moisture content, identification by thin-layer chromatography, and total ash content all met the requirements of the Vietnamese Pharmacopoeia V. The extracted essential oil content was only 2.24%, considerably lower than the requirement of the Vietnamese Pharmacopoeia V (≥4%). This may be because the cultivation period was relatively short (1 year), which was not sufficient for the medicinal material to accumulate the active compounds required by the Pharmacopoeia. The concentrations of heavy metals (lead, arsenic, mercury, and cadmium) accumulated in the medicinal material samples ranged from 0.024 mg/L to 0.077 mg/L.

CHAPTER 4. CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

4.1. CONCLUSIONS

1. Homalomena species (*Homalomena* spp.) in Thua Thien Hue Province are mainly distributed in moist areas along streams under natural forest canopies at elevations of 100–800 m, on slopes of 15–20°, on feralitic soils (Fs, Fa) with moderate soil depth, under conditions of 22–25°C temperature, 85–88% humidity, and annual rainfall of 4,235–5,112 mm; the canopy cover ranges from 0.4 to 0.8.

2. Three Homalomena species in Thua Thien Hue Province were identified based on morphological characteristics and molecular identification, including big-leaved Homalomena (*Homalomena pendula*), hidden-flowered Homalomena (*H. occulta*), and Northern Vietnamese Homalomena (*H. tonkinensis*).

3. Four *rbcL* gene sequences of big-leaved Homalomena were registered and published on GenBank (accession numbers PP516859–PP516862).

4. The cutting propagation technique for big-leaved Homalomena from rhizomes was determined: using 5-cm apical cuttings treated with 100 mg/L BAP produced the best results, with rooting occurring after 5 days at a rate of 99.66%, a sprouting rate of 99.82%, and a nursery-ready rate of 96.51%.

5. The optimal medium for in vitro culture of big-leaved Homalomena from naturally collected rhizome explants was determined to be MS medium supplemented with plant growth regulators (BAP and NAA) and an organic supplement (mashed

potato), with the formula MS medium + 2.0 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA + 60 g/L mashed potato. This medium strongly stimulated shoot cluster development and achieved the optimal shoot multiplication rate of 5.9 shoots per sample. In addition, stably rooted in vitro plantlets were transferred to a substrate consisting of soil, coconut coir, and rice husk ash (1:1:1), achieving a 100% survival rate.

6. Two cultivation models for big-leaved Homalomena were successfully established under natural forest canopies in Luu Hien Hoa Village and Khe Tran Village, with planting densities of 2,500 plants/ha and 1,600 plants/ha, respectively. After 12 months of cultivation, the plants showed good growth and development, with a survival rate of 97.6%, a mean plant height of 22.5 cm, and 6.2 leaves per plant. The rhizomes had a mean diameter of 1.73 cm, a mean length of 9.57 cm, and a mean weight of 25.73 g.

7. 7.After 12 months of cultivation, the essential oil from the rhizomes of big-leaved Homalomena contained linalool (47.68%), terpinen-4-ol (5.43%), and α-cadinol (5.36%) in Luu Hien Hoa, and linalool (54.47%), terpinen-4-ol (3.85%), and α-cadinol (7.38%) in Khe Tran. The sensory and physicochemical parameters of both cultivation models met the requirements specified in the Vietnamese Pharmacopoeia V.

4.2. RECOMMENDATIONS

Further research should be conducted on the conservation and development of Homalomena species to develop commercial products for market development.

Strengthen management and conservation: Strict protection

measures should be implemented in areas with concentrated natural populations of Homalomena to reduce the risk of loss of valuable genetic resources.

Promote propagation and cultivation research: The technical procedures for large-scale propagation should be further improved, and pilot cultivation models should be developed under forest canopies or using agroforestry systems.

Expand research: Essential oil content should be monitored at different stages of plant development (24, 36, and 48 months) to determine the optimal harvesting time. Further studies should also be conducted on clinical trials and the mechanisms of action of newly isolated sesquiterpenoid compounds from Homalomena species to develop high-quality, locally specific medicinal products.

Develop quality standards: Relevant authorities should coordinate to develop and promulgate specific quality standards (pharmacopoeial standards) for each common Homalomena species to better control the medicinal plant market and avoid confusion among species during collection and processing.

LIST OF PUBLISHED WORKS ON THE RESEARCH RESULTS OF THE DISSERTATION

No.	Article Title	Journal Title, Issue	Authors	Ranking
1	Identification and micropropagation of *Homalomena pendula*, an endangered medicinal plant.	Plant Cell Tiss Organ Cult 158, 40 (2024). DOI: https://doi.org/10.1007/s11240-024-02835-0	**Le Nguyen Thoi Trung,** Nguyen Hoang An, Phan Thi Thao Nguyen, Ho Nhat Quang, Hoang Tan Quang, Ton Nu Minh Thi, Hoang Xuan Thao, Tran Nam Thang, Truong Thi Bich Phuong.	SCIE (Q1)
2	Distribution Characteristics of Homalomena Species (*Homalomena* spp.) According to Ecological Factors in Thua Thien Hue Province	Hue University Journal of Science: Agriculture and Rural Development (pISSN: 2588-1191; eISSN: 2615-9708) Vol. 134, No. 3B,	Le Nguyen Thoi Trung, Tran Nam Thang, Le Van Hien, Truong Thi Bich Phuong	HDCD GSNN

		2025, pp. 39–54, DOI: 10.26459/hueunijard.v134i3B.7751		
3	Potential DNA barcoding for identification of large leaf Homalomena (*Homalomena pendula* (Blume) Bakh.f.)	Advancements in Life Sciences Vol 13, 2, 2026 DOI: https://doi.org/10.62940/als.v13i2.3932	**Le Nguyen Thoi Trung,** Hoang Tan Quang, Truong Thi Bich Phuong, Tran Nam Thang.	Scopus (Q3)