NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA STRESS MẶN ĐẾN CHỈ TIÊU HÌNH THÁI LÁ CÂY CAM SÀNH (*Citrus nobilis* Lour.) TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY *IN VITRO*

Lương Thị Lệ Thơ[1*], Đỗ Thị Tuyết Hoa[1], Lưu Tăng Phúc Khang[2]

[1]*Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam*

[2]*Đại học Chiang Mai, Thái Lan*

TÓM TẮT

Cam sành (*Citrus nobilis* Lour.) là một trong các loại cây ăn quả đem lại giá trị dinh dưỡng và kinh tế cao. Quả Cam sành giúp cải thiện sức đề kháng của cơ thể chống lại bệnh tật nhờ chứa nhiều chất dinh dưỡng và các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học. Hiện nay, hạn mặn diễn ra ngày càng nhiều và phức tạp gây thiệt hại lớn cho việc trồng trọt ở các tỉnh miền Tây trong đó có ảnh hưởng đến việc trồng cây Cam sành. Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của stress mặn lên một số chỉ tiêu hình thái của lá cây Cam sành trong điều kiện *in vitro*. NaCl được bổ sung vào môi trường Murashige and Skoog ở các nồng độ khác nhau (0, 1, 3, 5, 7 và 9 g/L), theo dõi các chỉ tiêu vào ngày 20, 40 và 60 sau nuôi cấy. Kết quả cho thấy, stress mặn ảnh hưởng xấu đến sự sinh trưởng của lá Cam, trong đó nồng độ NaCl từ 5 g/L đến 9 g/L mẫu cấy không có lá. Ở nghiệm thức NaCl 1 g/L và 3 g/L màu sắc lá nhạt, số lá, chiều dài, chiều rộng lá và diện tích lá lần lượt là 2,00 – 1,00 lá; 1,65 – 0,81 cm; 1,24 – 0,06 cm; 1,54 – 0,04 cm^2, thấp hơn nghiệm thức đối chứng đạt 3,07 lá, chiều dài lá đạt 2,35 cm, chiều rộng lá đạt 1,84 cm và diện tích lá đạt 3,21 cm^2.

Từ khóa: Cam sành, hình thái, *in vitro*, lá, NaCl, stress mặn.

MỞ ĐẦU

Cam sành (*Citrus nobilis* Lour.) là cây ăn quả có vai trò quan trọng trong ngành trồng trọt ở Việt Nam nhờ giá trị kinh tế cao và giàu chất dinh dưỡng, vitamin C, các chất chống oxy hóa,… giúp tăng sức đề kháng cho cơ thể chống lại nhiều loại bệnh tật (Luu et al.,*et al.,* 2023). Đồng bằng sông Cửu Long là vùng sản xuất cam lớn nhất nước, hiện đang chịu xâm nhập mặn nghiêm trọng, bất thường và được dự báo sẽ diễn biến xấu hơn trong những năm tiếp theo (National Agency for Science and Technology Information, 2016) gây thiệt hại nặng nề đến năng suất cam quýt. Stress mặn gây hạn sinh lý, mất cân bằng ion trong cây, tích lũy lượng lớn ion Na^+ và Cl^- gây độc cho cây, do đó ảnh hưởng xấu đến sinh trưởng, năng suất và sinh khối của thực vật (Khuong *et al.,* 2018). Đồng thời, ion Cl^- đặc biệt độc đối với cây có múi (Khalid *et al.,* 2022).

Một trong những biện pháp giúp cải thiện giống cây trồng nâng cao khả năng chống chịu với mặn là chọn ra các giống cây trồng chống chịu mặn cao dựa vào các đặc điểm di truyền số lượng trong đó có chỉ tiêu về số lượng lá (Khuong *et al.,* 2018). Lá là cơ quan có ảnh hưởng rất lớn sự sinh trưởng của thực vật. Bề mặt lá là nơi diễn ra hoạt động quang hợp giúp cung cấp chất hữu cơ để cây sinh trưởng và phát triển; sự thoát hơi nước ở lá là động lực chính cho quá trình hút nước và khoáng của cây. Lá cũng có những biến đổi về hình thái và giải phẫu để đáp ứng với stress của môi trường (Khuong *et al.,* 2018). Tuy nhiên, các nghiên cứu về sự biến đổi hình thái lá trong điều kiện mặn còn hạn chế. Do đó, nghiên cứu các chỉ tiêu về lá trong môi trường stress mặn *in vitro* giúp đánh giá mức độ thiệt hại do stress mặn gây ra cho cây trồng. Từ những luận giải trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát khả năng chịu mặn của Cam sành dưới tác động của NaCl ở các nồng độ khác nhau, từ đó cung cấp cơ sở khoa học để áp dụng giải pháp phù hợp có thể hạn chế tác hại của mặn cho quy trình trồng cây Cam sành ở những vùng đất bị xâm nhập mặn.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu nghiên cứu

Hạt giống cây Cam sành *Citrus nobilis* Lour. được cung cấp từ vườn cam thuộc thị xã Bình Minh, thành phố Vĩnh Long.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp khảo sát ảnh hưởng của NaCl đến sự chỉ tiêu lá của cây Cam sành (Citrus nobilis Lour.) trong điều kiện nuôi cấy in vitro

Thí nghiệm được tiến hành trên môi trường Murashige và Skoog (1962) (MS) chứa 20 g/L đường và 7 g/L agar, pH môi trường dao động từ 5,6 đến 5,8 . Môi trường được hấp khử trùng ở 121°C trong 40 phút.

Sau khi được lấy ra khỏi quả, hạt Cam sành được khử trùng bên ngoài tủ cấy bằng cách lắc mẫu bằng xà phòng loãng 1% và rửa sạch mẫu bằng nước cất vô trùng. Tiếp tục đưa hạt Cam sành đã rửa vào tủ cấy để khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 5 phút (Marak & Laska, 2010); rửa sạch mẫu bằng nước cất vô trùng; sau đó, cấy mẫu vào ống nghiệm chứa 10 mL môi trường nuôi cấy MS có bổ sung NaCl ở các nồng độ khác nhau: 0 (đối chứng), 1, 3, 5, 7 và 9 g/L. Theo dõi các chỉ tiêu: số lá, chiều dài lá, chiều rộng lá, diện tích lá, quan sát hình thái sau 20, 40, 60 ngày nuôi cấy.

- Số lá: thống kê số lượng lá vào ngày 20, 40 và 60 sau khi cấy.

- Chiều dài lá: đo từ gốc lá tới ngọn lá bằng đơn vị cm.

- Chiều rộng lá: đo theo chiều ngang ở giữa lá tại vị trí có kích thước lớn nhất bằng đơn vị cm.

- Diện tích lá: chiều dài lá x chiều rộng lá x hệ số hiệu chỉnh (π/4) (Wang *et al.,* 2007).

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi nghiệm thức tiến hành 10 ống nghiệm, mỗi ống nghiệm cấy 1 hạt Cam.

Phương pháp khảo sát cấu tạo giải phẫu

Nghiên cứu tập trung vào phân tích hình thái giải phẫu của cấu trúc giải phẫu gân lá chính do tác động của mặn đến sinh trưởng của lá có thể được xác định dựa vào kích thước của các cấu trúc như lớp biểu bì, lớp cutin và bó dẫn chính (nằm ở gân chính của lá).

Phương pháp chuẩn bị tiêu bản vi phẫu: phiến lá được cắt ngang thủ công bằng dao lam một đoạn 1/3 đáy phiến, gồm gân giữa và một ít hai bên phiến lá chính thức. Sau đó, chọn các lát cắt thật mỏng để nhuộm màu. Phương pháp nhuộm màu được thực hiện theo Trần Công Khánh (1981). Vi phẫu sau khi cắt được ngâm và tẩy sạch mẫu bằng dung dịch Javel 50 % từ 15 - 30 phút để loại hết chất nguyên sinh của tế bào. Rửa sạch Javel bằng nước cất. Tiếp đó, sử dụng Acetic acid 1 % trong vòng 5 phút để loại bỏ hết Javel còn sót lại trong mẫu. Tiếp tục rửa sạch hết mùi Acetic acid loãng bằng nước cất. Nhuộm đỏ trong dung dịch Carmine - phèn (1 g Carmine + 10 g phèn chua + 200 mL nước cất) khoảng 25-30 phút. Rửa mẫu trong nước cất và nhuộm mẫu bằng dung dịch Methylene blue 1 % trong khoảng 1 phút. Tiến hành quan sát mẫu dưới kính hiển vi quang học trong giọt glycerin (vách tế bào bằng cellulose sẽ bắt màu hồng; vách tế bào hóa gỗ, hóa suberin bắt màu xanh) và so sánh các đặc điểm vi phẫu của giữa các nghiệm thức.

Điều kiện nuôi cấy

Tất cả các nghiệm thức nuôi cấy đều được thực hiện ở điều kiện chiếu sáng 2500 ± 500 lux, độ ẩm 60% ± 5% và nhiệt độ $28^0C \pm 2^0C$.

Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả số liệu được xử lý theo phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố bằng phần mềm phần mềm SPSS phiên bản 26 dùng cho Windows. Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức xác suất $P \leq 0,05$ (P: probability).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của NaCl lên các chỉ tiêu sinh trưởng của lá cây Cam sành (*Citrus nobilis* Lour.) trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*

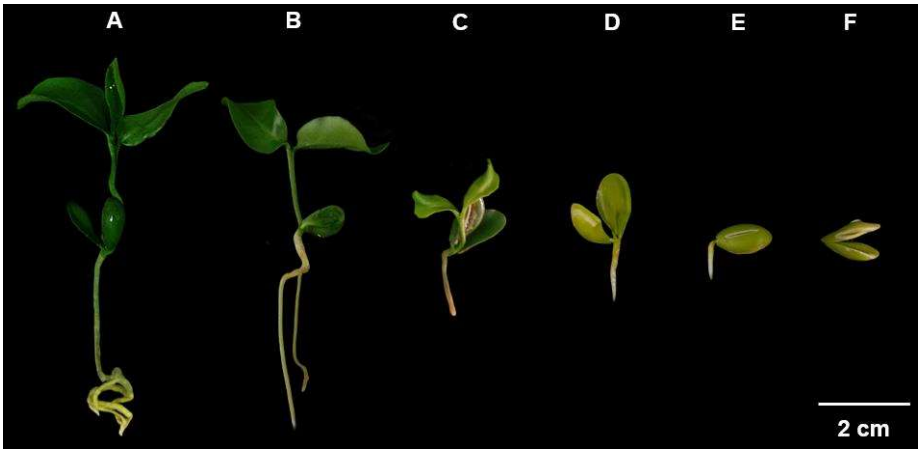
Bảng 1. Kết quả ảnh hưởng của NaCl đến các chỉ tiêu sinh trưởng của lá cây Cam sành (*Citrus nobilis* Lour.) trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*

Chỉ tiêu	Thời gian (ngày)	Nồng độ NaCl (g/L)					
		0	1	3	5	7	9
Số lá (lá/cây)	20	$2,00 \pm 0,00^c$	$1,30 \pm 0,47^b$	$0,00 \pm 0,00^a$	-	-	-
	40	$2,53 \pm 0,51^c$	$1,33 \pm 0,48^b$	$0,83 \pm 0,79^a$	-	-	-
	60	$3,07 \pm 0,83^c$	$2,00 \pm 0,00^b$	$1,00 \pm 0,79^a$	-	-	-
Chiều dài lá (cm)	20	$0,52 \pm 0,09^c$	$0,35 \pm 0,10^b$	$0,00 \pm 0,00^a$	-	-	-
	40	$2,24 \pm 0,41^c$	$1,06 \pm 0,32^b$	$0,21 \pm 0,05^a$	-	-	-
	60	$2,35 \pm 0,39^c$	$1,65 \pm 0.24^b$	$0,81 \pm 0,14^a$	-	-	-
Chiều rộng lá (cm)	20	$0,27 \pm 0,12^c$	$0,09 \pm 0,04^b$	$0,00 \pm 0,00^a$	-	-	-
	40	$1,62 \pm 0,26^c$	$0,45 \pm 0,27^b$	$0,06 \pm 0,21^a$	-	-	-
	60	$1,84 \pm 0,39^c$	$1,24 \pm 0,27^b$	$0,06 \pm 0,02^a$	-	-	-

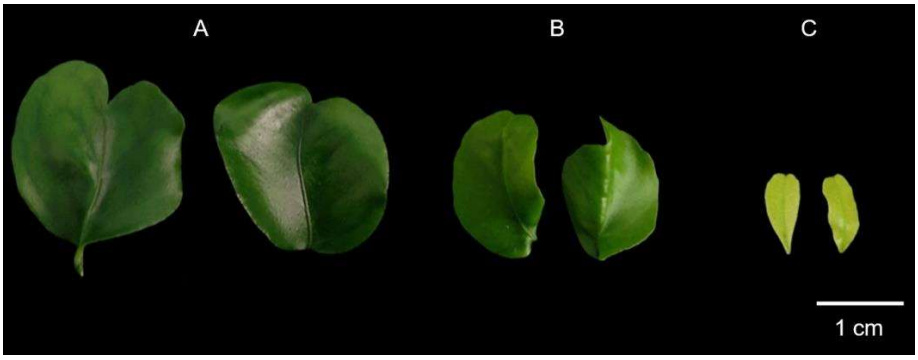
Diện tích lá (cm^2)	20	$0,10 \pm 0,05^c$	$0,02 \pm 0,01^b$	$0,00 \pm 0,00^a$	-	-	-
	40	$2,75 \pm 0,79^c$	$0,38 \pm 0,29^b$	$0,01 \pm 0,00^a$	-	-	-
	60	$3,21 \pm 0,72^c$	$1,54 \pm 0,43^b$	$0,04 \pm 0,02^a$	-	-	-

**Chú thích: (-) không sinh trưởng. Các chữ cái a, b, c, chỉ sự khác biệt về các chỉ tiêu theo dõi ở các nghiệm thức bổ sung NaCl ở các nồng độ khác nhau ở mức ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).*

Sau 60 ngày nuôi cấy *in vitro* trong môi trường stress mặn với NaCl ở các nồng độ khác nhau cho thấy các chỉ tiêu về lá đều giảm ở các nghiệm thức có bổ sung NaCl so với nghiệm thức đối chứng. Ở nghiệm thức đối chứng, cây Cam sành *in vitro* không chịu ảnh hưởng gây mặn của NaCl, sinh trưởng tốt qua các tuần nên màu sắc lá xanh tốt, cây sinh trưởng tốt nhất trong tất cả các nghiệm thức. Số lá, chiều dài, chiều rộng lá diện tích lá ở các nghiệm thức được bổ sung NaCl dao động lần lượt từ 0,00 – 2,00 lá; 0,00 – 1,65 cm; 0,00 – 1,24 cm; 0,00 – 1,54 cm^2 (Hình 1). Trong đó, ở nồng độ NaCl 1 g/L, cây Cam sành *in vitro* bắt đầu bị ảnh hưởng bởi stress mặn nên sinh trưởng kém hơn, lá nhỏ hơn và màu sắc lá hơi nhạt hơn so với nghiệm thức đối chứng. Khi tăng nồng độ NaCl trong môi trường nuôi cấy đến 3 g/L, cây Cam sành *in vitro* sinh trưởng kém hơn rõ rệt, kích thước lá nhỏ hơn và xanh nhợt nhạt (Hình 2). Ở các nghiệm thức được bổ sung NaCl ở nồng độ 5 g/L và 7 g/L, do chịu ảnh hưởng nặng nề của stress mặn làm cây sinh trưởng yếu, sau 60 ngày cây Cam *in vitro* không ra lá (Hình 1). Nghiệm thức được bổ sung NaCl với nồng độ 9 g/L, hạt Cam sành *in vitro* không nảy mầm.



Hình 1. Ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ (A) 0 g/L (đối chứng); (B) 1 g/L; (C) 3 g/; (D) 5 g/L; (E) 7g/L; (F) 9g/L đến sự sinh trưởng của cây Cam sành *(Citrus nobilis* Lour) trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy

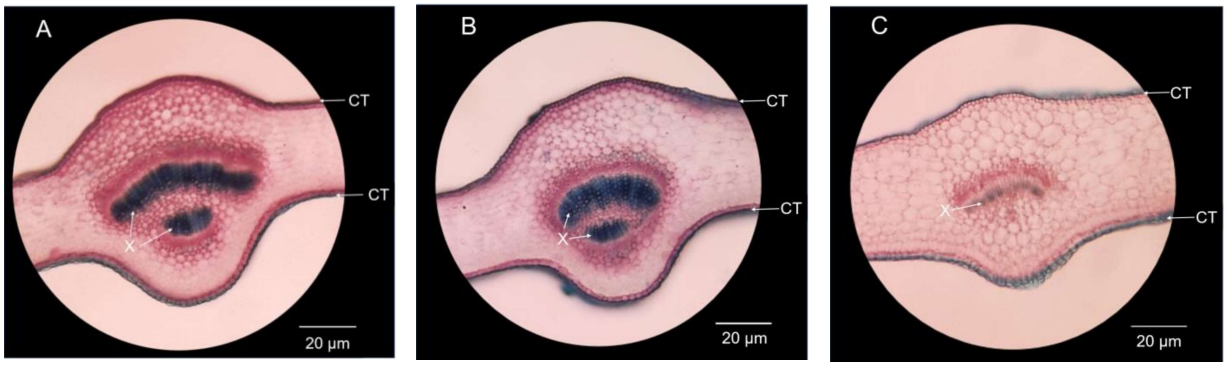


Hình 2. Ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ (A) 0 g/L (đối chứng); (B) 1 g/L; (C) 3 g/L đến hình dạng và màu sắc của lá cây Cam sành *(Citrus nobilis* Lour) trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ khác nhau đến đặc điểm vi phẫu của cây Cam sành (*Citrus nobilis* Lour.) trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*

Hình thái giải phẫu lá

Dưới tác động của các nồng độ muối khác nhau, hình thái giải phẫu lá của cây Cam sành trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* bị ảnh hưởng bởi stress mặn. Sau 60 ngày nuôi cấy, độ dày lớp biểu bì, độ dày lớp cutin của lá Cam sành càng tăng theo chiều tăng nồng độ muối nhưng kích thước gân chính càng nhỏ. Bó dẫn chính của lá Cam sành cũng chịu ảnh hưởng của nồng độ muối. Nồng độ NaCl càng cao, kích thước bó dẫn càng nhỏ, số lượng mạch xylem trong bó dẫn càng giảm, khoảng cách giữa các mạch xylem trong gân chính càng xa (Hình 3). Độ dài cung xylem ở nồng độ NaCl 1 g/L và 3 g/L ngắn hơn so với nghiệm thức đối chứng, đặc biệt ở nồng độ NaCl 3g/L không có sự xuất hiện của cung xylem dưới (Hình 3C).



Hình 3. Ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ A) 0 g/L (đối chứng); (B) 1 g/L; (C) 3 g/L đến hình thái giải phẫu của gân chính lá cây Cam sành (*Citrus nobilis* Lour) trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* tại giai đoạn 60 ngày tuổi. (CT: cutin, X: xylem)

THẢO LUẬN

Theo Khuong *et al (*2018), dưới ảnh hưởng của hạn sinh lý do stress mặn gây ra, thực vật có một số sự thay đổi trong đặc điểm hình thái và giải phẫu để ngăn chặn sự mất nước do thoát hơi nước ở lá như giảm số lượng và diện tích lá, lá dày hơn do phát triển mô mềm dự trữ nước, bề mặt biểu bì có lớp cutin dày hơn và giảm hình thành mô dẫn.

Với đặc tính không thấm nước, lớp cutin phủ ngoài bề mặt lá dày hơn giúp giảm sự thoát hơi nước hiệu quả (Khuong *et al.,* 2018). Trong điều kiện stress mặn, độ dày lớp biểu bì tăng lên cũng góp phần làm giảm tốc độ thoát hơi nước (Keshavarzi và Esna-Ashari, 2022). Sự tăng độ dày của lớp cutin, lớp biểu bì, lớp lục mô làm tăng độ dày của lá (Khuong *et al.,* 2018), đây là cơ chế giúp lá tăng khả năng giữ nước và trung hòa độc tính của muối (Prado *et al* 2017). Gân chính của lá liên thông với hệ mạnh dẫn của thân và hệ thống gân phụ phân nhánh từ gân chính. Bó dẫn của gân chính gồm xylem có chức năng dẫn truyền nước và khoáng cho lá quang hợp, và phloem dẫn truyền các sản phẩm quang hợp đến nơi sử dụng (Khuong *et al.,* 2018). Như vậy cấu trúc và kích thước của gân chính lá có ảnh hưởng đến năng suất quang hợp và sự trao đổi chất dinh dưỡng trong cây, từ đó ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây. Trong điều kiện mặn, cây khó hấp thu được nước dưới áp lực thẩm thấu cao do muối gây ra, sự thoát hơi nước giảm, khí khổng đóng dẫn đến thiếu nguyên liệu cho quang hợp, sản phẩm quang hợp được tổng hợp ít hơn, do đó giảm sự hình thành mô dẫn, giúp tăng diện tích của lớp lục mô, góp phần tăng khả năng giữ nước cho lá. Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu, nồng độ muối càng cao, lá càng dày và đường kính bó dẫn ở gân chính càng ngắn. Kết quả nghiên cứu tương tự trên loài *Citrus sinensis* L., theo đó ở độ mặn cao làm tăng các thông số giải phẫu của lá như độ dày lớp biểu bì trên và dưới, độ dày lục mô, độ dày của phiến lá,… và khoảng cách giữa các bó xylem trong gân chính, tuy nhiên làm giảm đường kính mạch dẫn và số lượng hàng xylem trên mỗi bó gân chính (Gabash *et al.,* 2023).

Sự thoát hơi nước giảm ảnh hưởng xấu đến dinh dưỡng khoáng trong cây do thoát hơi nước là động lực cho quá trình hút nước và khoáng ở rễ (Khuong *et al.,* 2018), từ đó làm mất cân bằng các chất dinh dưỡng thiết yếu. Do chênh lệch giữa thế nước và áp suất thẩm thấu dưới áp lực của stress mặn, cây vẫn hấp thu được nước nhưng đồng thời trong quá trình hút nước và khoáng, ion muối theo mạch dẫn được vận chuyển đến các tế bào khác trong cây làm áp suất thẩm thấu trong tế bào cao và tế bào lá cũng bị ảnh hưởng. Stress mặn làm tăng hàm lượng Na^+, Cl^- nhưng làm giảm hàm lượng Ca^{2+} và Mg^{2+} ở cây *Citrus* (Othman *et al.,* 2023). Trong cây, Na^+ được vận chuyển chủ động nhờ ATP (Khuong *et al.,* 2018), hàm lượng cao của ion này trong lá làm tăng áp suất thẩm thấu của lá, dẫn đến lá khó hấp thu nước. Sức căng trương nước có ý nghĩa trong sự phát triển về kích thước của tế bào. Do đó, nồng độ muối càng cao, kích thước lá càng nhỏ. Bên cạnh đó, Mg là nguyên tử trung tâm của phân tử diệp lục nên có ảnh hưởng cơ bản đến kích thước, cấu trúc và chức năng của lục lạp (Khuong *et al.,* 2018). Cùng với sự thiếu hụt Mg, mặn còn gây tích lũy Reactive Oxygen Spieces (các dạng oxy hoạt hóa – ROS), làm ức chế sự tổng hợp và tích lũy diệp lục (Agathokleous *et al.,*2020), từ đó làm giảm hàm lượng các sắc tố quang

hợp, khiến cho các lá bị nhạt màu và điều này cũng ảnh hưởng xấu đến quá trình quang hợp của cây. Các quá trình sinh lý như quang hợp, hút nước và khoáng bị suy giảm dẫn đến lá thiếu các chất dinh dưỡng thiết yếu để phát triển, ảnh hưởng xấu đến sự sinh trưởng của lá. ROS còn làm tăng sự phân giải lipid cấu trúc màng, làm tổn thương DNA, protein, khiến các phản ứng sinh hóa trong tế bào bị suy giảm. Do đó, ảnh hưởng xấu đến sự chuyển hóa tế bào khiến cho cây chậm mọc lá. Lá trưởng thành quang hợp mạnh, lá non quang hợp kém hơn (Khuong *et al.,* 2018). Càng tăng nồng độ NaCl sinh trưởng của cây càng giảm, cây chậm mọc lá, diện tích lá nhỏ. Sự giảm diện tích và số lượng lá của cây Cam ba lá *Poncirus trifoliata* trong điều kiện mặn cũng đã được ghi nhận (Samy và Hoday, 2015).

KẾT LUẬN

Sự sinh trưởng của cây Cam sành *Citrus nobilis* Lour. nuôi cấy *in vitro* bị suy giảm dưới tác động của NaCl. Nồng độ muối càng cao, sự sinh trưởng của cây Cam càng giảm.

Ở nghiệm thức đối chứng không bổ sung NaCl cây Cam sành *in vitro* phát triển tốt nhất. Ở các nghiệm thức được bổ sung NaCl, cây Cam sành *in vitro* phát triển kém hơn, thể qua số lượng lá và kích thước lá giảm, màu sắc lá nhạt dần theo chiều tăng của nồng độ NaCl. Ở nghiệm thức với nồng độ NaCl 9 g/L hạt Cam không nảy mầm, nồng độ NaCl 5 g/L và 7 g/L gây stress nặng nề nên cây Cam *in vitro* không ra lá.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Agathokleous E, Feng Z, Peñuelas J (2020). Chlorophyll hormesis: are chlorophylls major components of stress biology in higher plants?. *Sci Total Environ* , *726*: 138637.

Gabash HM, AL-Rabea'a JAR, Mohammed KH (2023). Response of anatomical traits to environmental stresses in the leaves of local orange seedlings (*Citrus sinensis* L). *J Glob Innov Agric Soc Sci* , 11: 439-445.

Keshavarzi M, Esna-Ashari M (2022). Anatomical Changes in Root and Aerial Organs of Grapevine (*Vitis vinifera* cv. Yaghooti) Affected by Salinity. *Plant Prod* , *45*(2): 169-180.

Khalid MF, Morillon R, Anjum MA, Ejaz S, Rao MJ, Ahmad S, Hussain S (2022). Volkamer lemon tetraploid rootstock transmits the salt tolerance when grafted with diploid kinnow mandarin by strong antioxidant defense mechanism and efficient osmotic adjustment. *J Plant Growth Regul* , *41*(3): 1125-1137.

Khương Thị Thu Hương, Lê Thị Vân Anh, Trần Khánh Vân (2018). *Giáo trình Sinh lý thực vật. Tập 1: Phần lý thuyết*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

Lưu Minh Châu, Bùi Thị Ngọc Bích, Thái Dương Ngọc Duyên, Trần Thúy An, Nguyễn Huỳnh Anh Thư, Đoàn Thị Kiều Tiên, Trần Thị Giang, Trần Bạch Long, Huỳnh Xuân Phong, Nguyễn Ngọc Thạnh (2023). Xác định hàm lượng phenolic, flavonoid và khả năng chống oxy hóa của quả cam sành (*Citrus nobilis*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*, *228*(13): 374-382.

Marak CK, Laskar MA (2010). Analysis of phenetic relationship between *Citrus indica* Tanaka and a few commercially important citrus species by ISSR markers. *Sci Hortic* , *124*(3): 345-348.

National Agency for Science and Technology Information. (2016). Salinity intrusion in the Mekong Delta: Causes, impacts and response solutions.

Othman YA, Hani MB, Ayad JY, St Hilaire R (2023). Salinity level influenced morpho-physiology and nutrient uptake of young *citrus* rootstocks. *Heliyon*, *9*(2): 1-11.

Samy M, Shaimaa F, Hoda AK (2015). Effect of salicylic acid on growth and physiological status of salt stressed sour orange seedlings (*Citrus aurantium* L.). *Alex J Agric Sci* , *60*(3), 229-239.

Trần Công Khánh (1981). *Thực tập hình thái & giải phẫu thực vật*. Nhà xuất bản Đại học và trung học chuyên nghiệp. Hà Nội.

Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culturé. *Physiol Plant* , 15: 473-497.

Wang FM, Huang JF, Tang YL, Wang XZ (2007). New vegetation index and its application in estimating leaf area index of rice. *Rice Sci* , 14(3): 195-203.

INVESTIGATING THE EFFECTS OF SALINITY STRESS ON LEAF MORPHOLOGICAL INDICATORS OF KING MANDARIN (*Citrus nobilis* Lour.) UNDER *IN VITRO* CULTURAL CONDITIONS

Luong Thi Le Tho[1*], Do Thi Tuyet Hoa[1], Luu Tang Phuc Khang[2]

[1]*Ho Chi Minh City University of Education, Vietnam*

[2]*Chiang Mai University, Thailand*

SUMMARY

Citrus nobilis Lour. is one of the fruit trees that offer high nutritional and economic value. King mandarin fruit helps improve the body's resistance against diseases due to its rich content of nutrients and biologically active natural compounds. Currently, drought and saltwater intrusion are becoming more frequent and complicated, causing great damage to cultivation in the Western provinces, including affecting the cultivation of King mandarin trees. In this study, we investigated the effects of salt stress on several growth, physiological and biochemical indicators of King mandarin under *in vitro* conditions using NaCl at different concentrations (0, 1, 3, 5, 7 and 9 g/L). The results showed that the presence of NaCl in the culture medium negatively affects the growth of King mandarin leaves. At NaCl concentrations from 5 g/L to 9 g/L, no leaves appeared. The treatments with NaCl concentrations of 1 g/L and 3 g/L, leaf color gradually faded with increasing salt concentration, the number of leaves, leaf length, leaf width and leaf area respectively were 1.00 – 2.00 leaves; 0.81 – 1.65 cm; 0.06 – 1.24 cm; 0.04 – 1.54 cm^2, lower than the control treatment reached 3.07 leaves, 2.35 cm in leaf length, 1.84 cm in leaf width and leaf area was 3.21 cm^2.

Keywords: King mandarin, morphology, *in vitro,* leaf, NaCl, salinity stress.

[*] Author for corespondence: Tel: 0909.661.256; Email: tholtl@hcmue.edu.vn