TẠP CHÍ KHOA HỌC
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM TP HỒ CHÍ MINH
Tập 22, Số 6 (2025): 1027-1038
Website: https://journal.hcmue.edu.vn
ISSN: 2734-9918

HO CHI MINH CITY UNIVERSITY OF EDUCATION
JOURNAL OF SCIENCE
Vol. 22, No. 6 (2025): 1027-1038
https://doi.org/10.54607/hcmue.js.22.6.4620(2025)

Bài báo nghiên cứu

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA SODIUM CHLORIDE LÊN MỘT SỐ CHỈ TIÊU SINH TRƯỞNG, SINH LÍ, SINH HOÁ VÀ HÌNH THÁI GIẢI PHẪU CỦA CÂY CAM XOÀN (*Citrus sinensis* L.) TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY *IN VITRO*

***Lương Thị Lệ Thơ*[1*], *Bùi Thị Lan*[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*
[*]*Tác giả liên hệ: Lương Thị Lệ Thơ – Email: tholtl@hcmue.edu.vn*
Ngày nhận bài: 28-11-2024; Ngày nhận bài sửa: 23-3-2025; Ngày nhận đăng: 22-5-2025

TÓM TẮT

Cam xoàn (Citrus sinensis L.*) là giống cam ngọt có giá trị kinh tế cao và được sử dụng trong hỗ trợ điều trị các triệu chứng như táo bón, tiêu đờm và giảm mệt mỏi. Tuy nhiên, khí hậu nước ta ngày càng khắc nghiệt, hạn hán và xâm nhập mặn diễn ra một cách phức tạp gây hậu quả nghiêm trọng đến việc trồng và sản xuất cam xoàn. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá phản ứng của Cam xoàn khi chịu tác động của các mức độ mặn khác nhau trong điều kiện nuôi cấy mô in vitro. Hạt giống sau khi khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 5 phút được rửa lại với nước cất vô trùng và đưa vào môi trường MS bổ sung NaCl ở nồng độ 2-10 g/L. Quá trình nuôi cấy kéo dài 8 tuần, trong đó các chỉ tiêu sinh trưởng, sinh lí và sinh hóa được theo dõi định kì mỗi 2 tuần. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ muối tăng cao làm suy giảm khả năng sinh trưởng và hiệu suất quang hợp của cây. Ngược lại, hàm lượng proline, độ dày biểu bì, lớp cutin lá và mức độ lignin hóa ở tế bào nhu mô vỏ, nội bì rễ tăng lên rõ rệt dưới áp lực mặn. Đáng chú ý, độ dày thành tế bào bao bó mạch có xu hướng giảm khi nồng độ NaCl vượt quá ngưỡng nhất định. Những phát hiện từ nghiên cứu này cung cấp cơ sở khoa học quan trọng cho việc tuyển chọn và nhân giống các dòng Cam xoàn có khả năng kháng mặn, góp phần nâng cao hiệu quả sản xuất trong bối cảnh biến đổi khí hậu toàn cầu.*

Từ khóa: giải phẫu; Citrus sinensis; sinh trưởng; *in vitro;* NaCl, stress mặn

1. Giới thiệu

Cam xoàn (*Citrus sinensis* L.) cùng họ với Cam mật, đều thuộc nhóm Cam ngọt (*Citrus sinensis*) (Pham, 2000). Cam xoàn được trồng chủ yếu ở khu vực Tây Nam Bộ, bao gồm các tỉnh An Giang, Tiền Giang, Hậu Giang, Bến Tre và Vĩnh Long (Dak Nong Newspaper, 2020). Tinh dầu chiết xuất từ lá cam thuộc nhóm nguyên liệu có giá trị cao, được ứng dụng rộng rãi trong các ngành công nghiệp thực phẩm, dược liệu và chế tạo hương liệu (del

Cite this article as: Luong, T. L. T., Bui, T. L., & Luu, T. P. K. (2025). Effects of sodium chloride on growth, physiological, biochemical and morphological anatomic characteristics of sweet orange (*Citrus sinensis* L.) under *in vitro* culture conditions. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science, 22*(6), 1027-1038. https://doi.org/10.54607/hcmue.js.22.6.4620(2025)

Carmen Razola-Díaz et al., 2021). Ngoài ra, lá Cam kích mạnh tỉ vị, tiêu đờm, quả Cam giúp giải khát, giảm mệt mỏi, mát phổi, lợi tiểu và trị táo bón (Liu et al., 2021). Vỏ quả cam chứa các hợp chất mang vị cay nhẹ cùng hương thơm đặc trưng và tính ấm, có khả năng làm dịu các cơn đau dạ dày cũng như kích thích chức năng tiêu hóa, qua đó cải thiện cảm giác thèm ăn (Gupta et al., 2023).

Hạn hán kéo dài đi kèm với xâm nhập mặn ngày càng phức tạp đã gây ra những tác động tiêu cực nghiêm trọng đến sinh kế và hoạt động sản xuất ở vùng đồng bằng sông Cửu Long (Tran et al., 2021). Xâm nhập mặn gây thiệt hại cho cây ăn trái trong đó có cây Cam xoàn do cây có múi là loại cây nhạy cảm với muối (Gulia et al., 2024). Ứng suất mặn làm gián đoạn quá trình hấp thụ nước qua rễ, dẫn đến tích tụ Na^+ và Cl^- trong mô cây gây độc ion và phá vỡ cân bằng nội môi, đồng thời kích hoạt stress oxy hóa và stress thẩm thấu (Yildiz et al., 2023). Bên cạnh đó, stress mặn còn cản trở sự sinh trưởng và phát triển của thực vật bằng cách ức chế quá trình quang hợp làm thay đổi lượng đường như sucrose, fructose và glycolysis (Van Zelm et al., 2020). Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu đánh giá tác động của stress mặn do sodium chlrodie (NaCl) lên các chỉ tiêu sinh trưởng, sinh lí – sinh hóa và các đặc điểm hình thái – giải phẫu của cây Cam xoàn nuôi cấy *in vitro*. Kết quả nghiên cứu sẽ cung cấp cơ sở khoa học vững chắc để phát triển các biện pháp cải thiện chất lượng cây Cam xoàn trong quy trình sản xuất tại những vùng đất chịu ảnh hưởng xâm nhập mặn.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Hạt giống Cam xoàn (*Citrus sinensis* L.) được cung cấp từ vườn trồng Cam xoàn thuộc huyện Vũng Liêm, tỉnh Vĩnh Long.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp khảo sát ảnh hưởng của NaCl đến sự sinh trưởng của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) trong điều kiện nuôi cấy in vitro

Hạt Cam xoàn sau khi tách khỏi quả được rửa sạch bằng dung dịch xà phòng loãng, rồi rửa lại nhiều lần với nước cất vô trùng. Tiếp đó, hạt được đưa vào tủ cấy và khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1 % trong 5 phút, sau khi kết thúc xử lí, hạt được rửa với nước cất vô trùng để loại bỏ dư lượng hóa chất (Dong & Nguyen, 2017). Vỏ hạt sau khi khử trùng được rạch nhẹ để lộ phôi, rồi cấy lên môi trường MS có bổ sung NaCl ở các mức 0 (đối chứng), 2, 4, 6, 8 và 10 g/L. Các chỉ tiêu được theo dõi định kì 2 tuần 1 lần.

- Chiều cao cây: đo từ bề mặt thạch đến đỉnh ngọn của cây bằng đơn vị cm.
- Số lá: thống kê số lượng tại tuần 2, 4, 6 và 8 sau khi cấy.
- Chiều dài lá thứ 3: đo từ gốc lá tới ngọn lá bằng đơn vị cm (Luong et al., 2024).
- Chiều rộng lá thứ 3: đo theo chiều ngang ở giữa lá tại vị trí có kích thước lớn nhất bằng đơn vị cm (Luong et al., 2024).
- Số rễ: thống kê số lượng tại tuần 2, 4, 6 và 8 sau khi cấy.
- Chiều dài rễ: đo từ gốc đến đỉnh rễ của rễ dài nhất bằng đơn vị cm.

- Sinh khối tươi, sinh khối khô: cân mẫu ngay sau khi thu để xác định sinh khối tươi; sau đó sấy ở 80 °C đến khi khối lượng không đổi để xác định sinh khối khô (Vu et al., 2012).
- Cường độ quang hợp ($\mu molO_2/dm^2$/giờ) xác định bằng điện cực oxy trong buồng đo LeafLab2 (Hansatech) với cường độ chiếu 2 000 lux, nhiệt độ 25 °C, ghi nhận sự thay đổi hàm lượng O_2 theo thời gian (Huynh et al., 2022).
- Hàm lượng proline: chiết xuất từ mô mầm và lá, thực hiện phản ứng màu, đo độ hấp thụ tại bước sóng 520 nm, so sánh với đường chuẩn proline theo phương pháp được mô tả bởi Paquin và Lechasseur (1979).
- Quan sát biến đổi hình thái – giải phẫu: sau 8 tuần nuôi cấy, mẫu được nhuộm kép và quan sát dưới kính hiển vi theo quy trình của Tran (1981).

Mỗi nghiệm thức tiến hành 10 ống nghiệm, 1 hạt Cam xoàn/ ống nghiệm, lặp lại 3 lần.

2.2.2. Điều kiện nuôi cấy

Tất cả các nghiệm thức được nuôi trong buồng cấy với cường độ chiếu sáng 2 500 ± 500 lux, chu kì quang năng 12 giờ sáng/12 giờ tối, độ ẩm tương đối duy trì ở mức 60 ± 5 % và nhiệt độ phòng ổn định ở mức 22 ± 2 °C.

2.2.3. Phương pháp xử lí số liệu

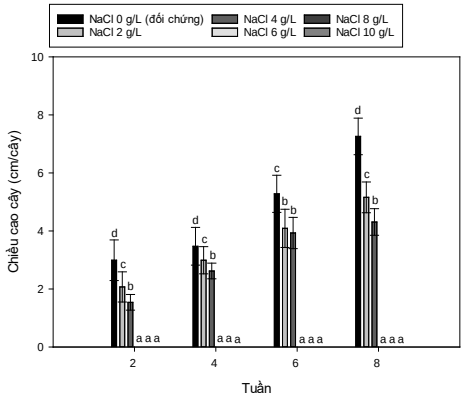
Dữ liệu thu thập được nhập và phân tích bằng phần mềm SPSS for Windows phiên bản 20. Phân tích phương sai (ANOVA) được tiến hành để kiểm định sự khác biệt giữa các nghiệm thức; các giá trị khác nhau về mặt thống kê ở mức ý nghĩa $P \leq 0,05$ được kí hiệu bằng các chữ cái khác nhau.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của NaCl lên các chỉ tiêu sinh trưởng của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) trong điều kiện nuôi cấy in vitro

Các kết quả thí nghiệm về tác động của NaCl lên khả năng sinh trưởng của giống Cam xoàn *in vitro* sau 8 tuần nuôi cấy được minh họa trong Hình 1-5, dựa trên các chỉ tiêu sau:

3.1.1. Chiều cao cây



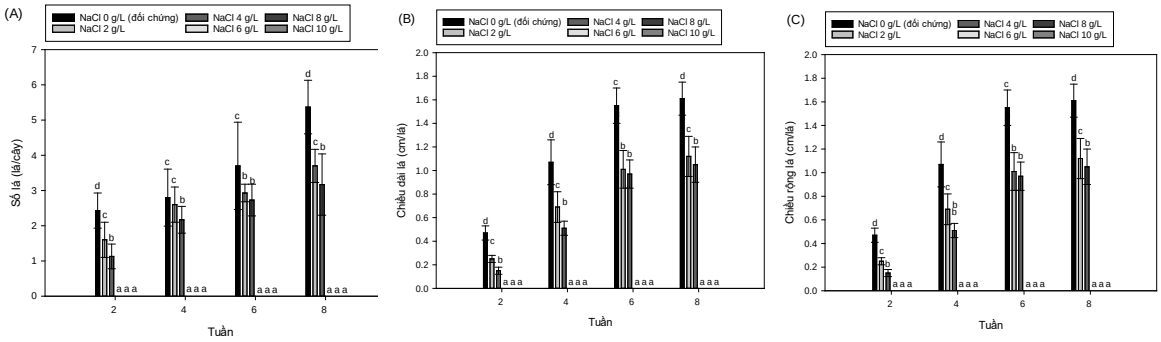
Hình 1. *Ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ khác nhau đến chiều cao cây của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) sau 8 tuần nuôi cấy in vitro. Các chữ cái a, b, c, d chỉ sự khác biệt ở mức ý nghĩa thống kê (p < 0,05)*

Sau 8 tuần nuôi cấy, ở các nghiệm thức bổ sung NaCl với nồng độ 2 g/L và 4 g/L, chiều cao cây đều giảm so với nghiệm thức đối chứng. Chiều cao cây dao động từ 5,16 cm

-4,31 cm so với nghiệm thức đối chứng đạt 7,26 cm, ự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê so với cả đối chứng và các nghiệm thức khác (Hình 1 và Hình 5). Ở nghiệm thức bổ sung NaCl với nồng độ từ 6 g/L-10 g/L, cây nảy mầm nhưng không sinh trưởng thành cây con.

3.1.2. Số lá, chiều dài lá, chiều rộng lá

Sau tám tuần nuôi cấy *in vitro* trên môi trường MS chứa các nồng độ NaCl khác nhau, tất cả các chỉ tiêu liên quan đến đặc điểm lá đều cho thấy sự biến đổi rõ rệt do stress mặn (Hình 2).

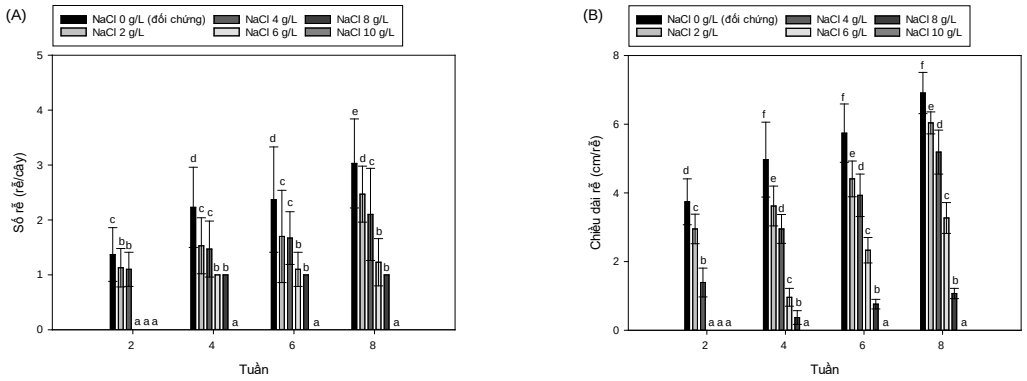


Hình 2. *Ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ khác nhau đến (A) số lá; (B) chiều dài lá; (C) chiều rộng lá của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) sau 8 tuần nuôi cấy in vitro. Các chữ cái a, b, c, d chỉ sự khác biệt ở mức ý nghĩa thống kê (p < 0,05)*

Ở nghiệm thức đối chứng (0 g/L NaCl), trung bình mỗi cây xuất hiện 5,37 lá, với chiều dài 2,03 cm và chiều rộng 1,61 cm. Khi bổ sung 2 g/L và 4 g/L NaCl, các thông số này đều suy giảm rõ rệt: số lá trung bình giảm xuống còn 3,70 và 3,17 lá; chiều dài lá lần lượt còn 1,62 cm và 1,45 cm; chiều rộng lá còn 1,12 cm và 1,05 cm. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức này và đối chứng cũng như các mức muối cao hơn 6-10 g/L đều đạt ý nghĩa thống kê (Hình 2 và Hình 5). Ở nồng độ NaCl từ 6 g/L trở lên, dù hạt vẫn có thể nảy mầm, nhưng không phát triển thành cây con nên không hình thành lá.

3.1.3. Số rễ, chiều dài rễ

Kết quả sau tám tuần nuôi cấy *in vitro* trên môi trường MS bổ sung NaCl ở các mức khác nhau cho thấy tất cả các chỉ tiêu về sinh trưởng rễ đều bị ảnh hưởng rõ rệt bởi stress mặn (Hình 3).

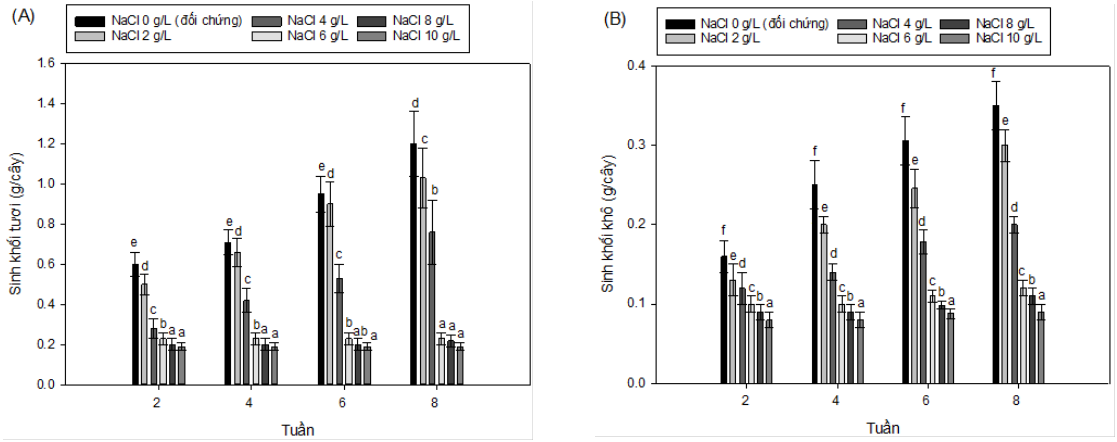


Hình 3. *Ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ khác nhau đến (A) số rễ; (B) chiều dài rễ của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) sau 8 tuần nuôi cấy in vitro. Các chữ cái a, b, c, d chỉ sự khác biệt ở mức ý nghĩa thống kê (p < 0,05)*

Ở nghiệm thức bổ sung 2 g/L và 4 g/L NaCl, số lượng và chiều dài rễ đều giảm so với đối chứng. Cụ thể, số rễ trung bình dao động từ 1,00 đến 2,47 rễ, trong khi ở nghiệm thức đối chứng đạt 3,03 rễ; chiều dài rễ dài nhất giảm xuống còn 1,07-6,04 cm, so với 6,91 cm ở đối chứng. Các khác biệt này đều có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (Hình 3 và Hình 5).

3.1.4. Sinh khối tươi, sinh khối khô

Sinh khối tươi và khô của Cam xoàn, vốn phụ thuộc vào sự phát triển của rễ, thân và lá, cũng bị suy giảm rõ rệt dưới tác động của stress mặn. Khi bổ sung NaCl với nồng độ từ 2 g/L đến 10 g/L vào môi trường MS, sinh khối tươi dao động từ 1,03 g xuống còn 0,19 g, trong khi sinh khối khô giảm từ 0,30 g xuống còn 0,09 g. Ở nghiệm thức đối chứng, sinh khối tươi và khô lần lượt đạt 1,20 g và 0,35 g. Sự khác biệt về sinh khối giữa các nghiệm thức có muối và đối chứng đều đạt mức ý nghĩa thống kê (Hình 4 và Hình 5).

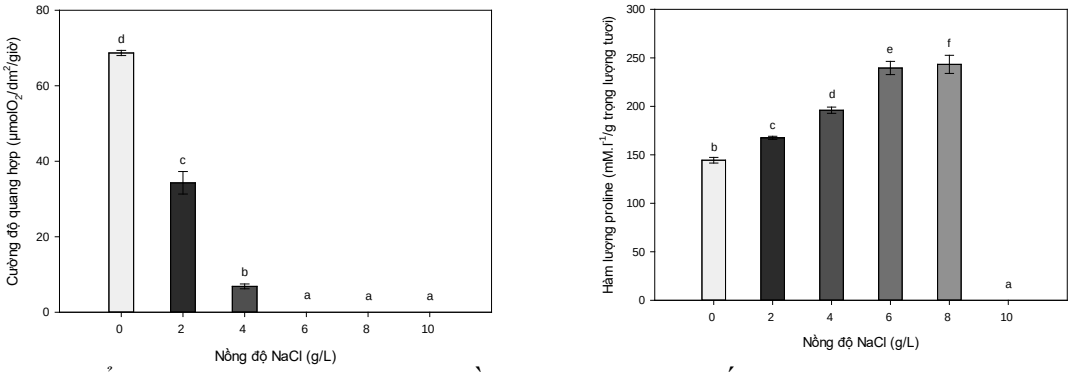


Hình 4. *Biểu đồ thể hiện ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ khác nhau đến (A) sinh khối tươi; (B) sinh khối khô của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) sau 8 tuần nuôi cấy in vitro. Các chữ cái a, b, c, d chỉ sự khác biệt ở mức ý nghĩa thống kê (p < 0,05)*

Hình 5. *Ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ (A) 0 g/L (đối chứng); (B) 2 g/L; (C) 4 g/L; (D) 6 g/L; (E) 8 g/L; (F) 10 g/L đến sự sinh trưởng của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) sau 8 tuần nuôi cấy in vitro*

3.2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của NaCl đến các chỉ tiêu sinh lí, sinh hoá của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) trong điều kiện nuôi cấy in vitro

Các chỉ tiêu về cường độ quang hợp và hàm lượng proline của giống Cam xoàn đánh giá sau 8 tuần nuôi cấy *in vitro* trên môi trường MS bổ sung NaCl ở các mức độ khác nhau, được thể hiện ở Hình 6.

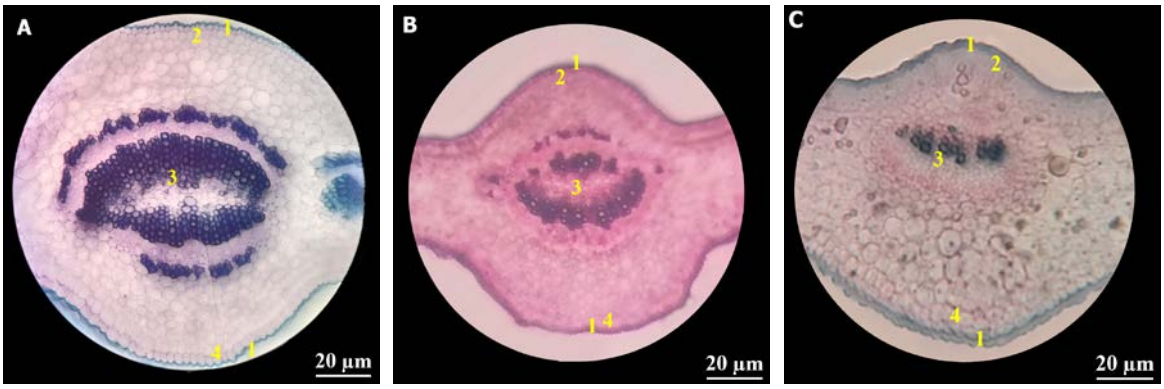


Hình 6. *Ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ khác nhau đến cường độ quang hợp (A) và hàm lượng proline (B) của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) sau 8 tuần nuôi cấy in vitro. Các chữ cái a, b, c, d chỉ sự khác biệt ở mức ý nghĩa thống kê (p < 0,05)*

Kết quả đo cường độ quang hợp của cây Cam xoàn nuôi cấy *in vitro* trong điều kiện stress mặn sau 8 tuần cho thấy hiệu suất quang hợp bị suy giảm đáng kể so với nghiệm thức đối chứng. Ở nghiệm thức bổ sung NaCl 2 g/L và 4 g/L có cường độ quang hợp lần lượt là 34,3 µmolO_2/dm^2/giờ và 6,58 µmolO_2/dm^2/giờ. Đặc biệt, ở nghiệm thức với nồng độ NaCl 6 g/L - 10 g/L, nồng độ muối ảnh hưởng nhiều đến cây khiến hạt không sinh trưởng thành cây, do đó, cường độ quang hợp là 0 µmolO_2/dm^2/giờ v sự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê so với cả đối chứng và các nghiệm thức khác (Hình 6). Tương tự vậy, hàm lượng proline tăng dần từ nghiệm thức NaCl 2 g/L đến 8 g/L. Tuy nhiên, ở nghiệm thức nồng độ NaCl 10 g/L, cây Cam xoàn không sinh trưởng nên không xác định được hàm lượng proline. Hàm lượng proline tăng mạnh nhất ở nghiệm thức bổ sung NaCl 8 g/L là 243,3 $mM.l^{-1}$/g trọng lượng tươi (Hình 6).

3.3. Kết quả khảo sát hưởng của NaCl đến hình thái giải phẫu của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) trong điều kiện nuôi cấy in vitro

3.3.1. Hình thái giải phẫu lá

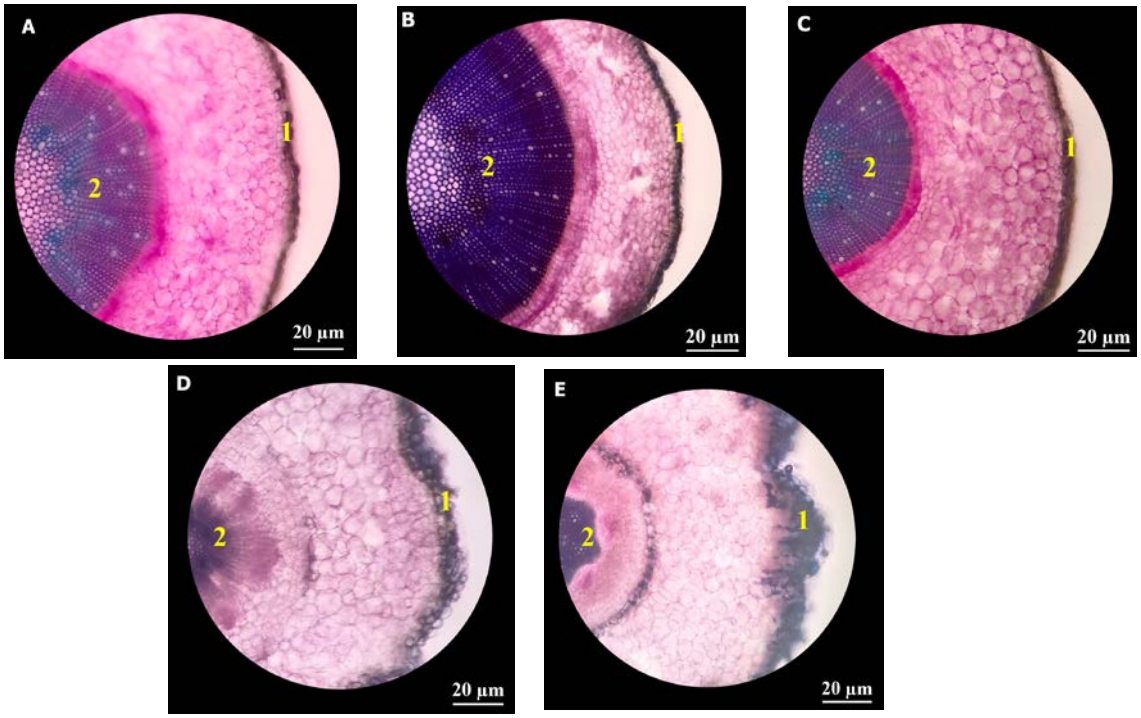


Hình 7. *Ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ (A) 0 g/L (đối chứng); (B) 2 g/L; (C) 4 g/L đến hình thái giải phẫu lá của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) sau 8 tuần nuôi cấy in vitro*

Chú thích: (1) Cutin; (2) Biểu bì trên; (3) Bó mạch; (4) Biểu bì dưới

Phẫu thức cắt ngang của lá Cam xoàn trên môi trường MS có bổ sung NaCl ở các nồng độ tăng dần cho thấy biểu bì và lớp cutin dày lên rõ rệt khi muối tăng cao. Ngược lại, thành tế bào của các tế bào bao bó mạch mỏng dần theo mức độ NaCl, dẫn đến giảm độ dày gân lá (Hình 7). Điều này cho thấy khả năng sinh trưởng và phát triển của cây giảm trong điều kiện stress mặn.

3.3.2. Hình thái giải phẫu rễ



Hình 8. *Ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ (A) 0 g/L (đối chứng); (B) 2 g/L; (C) 4 g/L; (D) 6 g/L; (E) 8 g/L đến hình thái giải phẫu rễ của giống Cam xoàn (Citrus sinensis L.) sau 8 tuần nuôi cấy in vitro*

Chú thích: (1) Biểu bì; (2) Bó mạch

Phẫu thức cắt ngang của rễ Cam xoàn xử lí với các nồng độ NaCl khác nhau cho thấy lớp biểu bì có mức độ lignin hóa gia tăng tương ứng theo nồng độ muối. Đặc biệt ở nghiệm thức bổ sung NaCl 8 g/L, biểu bì của rễ bị hoá lignin nhiều nhất (Hình 8). Đồng thời, do ảnh hưởng bởi nồng độ muối nên rễ kém phát triển dẫn tới các bó mạch giảm.

3.4. Thảo luận

Để thích ứng với điều kiện stress, thực vật sẽ giảm tăng trưởng để chống chịu trước những biến đổi có hại của môi trường sống (Liu et al., 2019). Stress mặn gây rối loạn cân bằng nước trong quá trình sinh trưởng và sản xuất các loại ROS (Reactive Oxygen Species - các dạng oxy hoạt hóa) gây hạn chế sự sinh trưởng của cây (Khan & Bano, 2018). Rễ là cơ quan chính giúp cây hút nước và các chất dinh dưỡng từ đất, đồng thời cảm nhận độ mặn để cây phản ứng nhanh chóng nhằm duy trì chức năng sống của cây (Arif et al., 2020). Khi chịu áp lực mặn, khả năng hấp thu ion khoáng của rễ bị suy giảm, dẫn đến việc vận chuyển và phân phối các sản phẩm quang hợp trong mạch libe bị cản trở, gây rối loạn tính thấm màng

tế bào (Hoang et al., 2006). Hệ quả là sinh trưởng rễ chậm lại dưới điều kiện stress mặn. Ở nồng độ muối cao, hàm lượng các hợp chất hữu cơ đóng vai trò điều tiết thẩm thấu trong tế bào tăng lên, đồng thời hoạt tính của các chất điều hòa sinh trưởng nội sinh chẳng hạn như abscisic acid cũng thay đổi. Những biến động này ảnh hưởng đến sức trương tế bào và độ mở khí khổng, từ đó kìm hãm sự phát triển chung của cây (Xue et al., 2021).

Lá là cơ quan phản ứng nhanh nhất đối với các điều kiện bất lợi của môi trường (Kumar et al., 2020). Ở cây có múi, lượng Cl^- dư thừa sẽ gây rụng lá (Walker, 1986), độc tính Na^+ và Cl^- gây ra hạn sinh lí bằng cách giảm khả năng thẩm thấu của dung dịch trong môi trường (Khan et al., 2019). Trong điều kiện mặn, độ dày biểu bì và lớp cutin tăng để giúp cây cải thiện hiệu quả sử dụng nước và tăng không gian hấp thụ Na^+ trong biểu bì lá (Zoric et al., 2020). Chiều rộng của các bó mạch và độ dày của các tế bào bao bó mạch đều bị ảnh hưởng bởi độ mặn. Nguyên nhân là do sự suy giảm hàm lượng nước của cây bởi stress mặn làm ảnh hưởng đến hiệu quả quang hợp của cây (Gabash et al., 2023).

Rễ có thể chống lại điều kiện do stress mặn gây ra bằng thay đổi cấu trúc giải phẫu của rễ là sự lắng đọng của các polyme kị nước như cutin và suberin trên thành tế bào (Shahid et al., 2020). Quá trình stress mặn còn gia tăng hiện tượng lignin hóa, từ đó gia tăng độ bền cơ học của tế bào và nâng cao khả năng chống chịu trước các điều kiện bất lợi của môi trường (Hamedi et al., 2022). Bên cạnh đó, đường kính của các bao bó mạch giảm khi tăng độ mặn dẫn đến sự hút nước của rễ giảm (Nejadhabibvash & Rezaee., 2021). Kết quả này phù hợp với quan sát rằng, khi bổ sung NaCl ở các mức độ khác nhau, tất cả các chỉ tiêu sinh trưởng của cây trên môi trường có độ mặn tăng đều giảm rõ rệt.

Khi NaCl được thêm vào môi trường nuôi cấy *in vitro* ở các nồng độ khác nhau, tất cả các chỉ tiêu sinh trưởng đều suy giảm, kéo theo giảm cả sinh khối tươi và sinh khối khô tương ứng. Điều này phù hợp với kết quả của Ghaleb và cộng sự (2010), trong đó nồng độ NaCl tăng cao làm giảm đáng kể số lá, chiều cao, trọng lượng tươi và trọng lượng khô của cây Chanh Volkamer và Cam chua sau hai tháng nuôi cấy (Ghaleb et al., 2010).

Stress mặn ảnh hưởng đến hoạt động của enzyme, sắc tố quang hợp, protein màng thylakoid làm tăng hoạt động của enzyme chlorophyllase phân hủy diệp lục (Shahid et al., 2020; Hao et al., 2021). Nồng độ muối cao còn làm tăng áp suất thẩm thấu của môi trường (Zhao et al., 2021). Do đó, khi cây gặp điều kiện stress mặn với nồng độ muối cao, thế nước của cây lớn hơn thế nước của môi trường, từ đó làm hạn chế sự hút nước của rễ (Zhao et al., 2021). Sự suy giảm khả năng hút nước của rễ dẫn đến thiếu nước nội bào, kích hoạt cơ chế đóng khí khổng, làm giảm thoát hơi nước và hạn chế quá trình khuếch tán CO_2 vào lá, từ đó làm suy giảm cường độ quang hợp (Ahluwalia et al., 2021). Đồng thời, stress mặn gây cản trở quá trình tổng hợp sắc tố quang hợp dẫn đến lá bị vàng (Parvin et al., 2019). Đồng thời, khi cây gặp điều kiện bất lợi của môi trường thì trong cây sẽ tích lũy proline để chống chịu với stress (Gosh et al., 2022). Proline giúp bảo vệ cây khỏi stress bằng cách giải độc ROS

và điều chỉnh cân bằng nội môi trong cây, cải thiện quá trình quang hợp trong điều kiện stress mặn (Moukhtari et al., 2020).

4. Kết luận

Tất cả các chỉ tiêu sinh trưởng gồm chiều cao cây, số lượng lá, chiều dài và chiều rộng lá, số rễ, chiều dài rễ, cũng như sinh khối tươi và sinh khối khô đều giảm dần theo mức tăng của NaCl so với nghiệm thức đối chứng.

Các chỉ tiêu về sinh lí, sinh hoá như hàm lượng proline, cường độ quang hợp đều ảnh hưởng bởi stress mặn. Hàm lượng proline tỉ lệ thuận với nồng độ muối, ngược lại, cường độ quang hợp giảm dần theo chiều tăng nồng độ NaCl.

Dưới điều kiện stress mặn, cả cấu trúc và hình thái giải phẫu của lá và rễ đều biến đổi rõ rệt. Cụ thể, khi nồng độ NaCl tăng lên, độ dày lớp biểu bì và lớp cutin ở lá gia tăng, trong khi độ dày của các tế bào bao bó mạch giảm dần. Ở rễ, quá trình lignin hóa biểu bì diễn ra mạnh hơn và kích thước cũng như số lượng bó mạch đều suy giảm theo mức muối tăng. Đáng lưu ý, tại các nghiệm thức chứa 6 g/L, 8 g/L và 10 g/L NaCl, sinh trưởng của cây Cam gần như bị ức chế hoàn toàn, làm hạt không thể nảy mầm và phát triển thành cây con.

❖ ***Tuyên bố về quyền lợi:*** *Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahluwalia, O., Singh, P. C., & Bhatia, R. (2021). A review on drought stress in plants: Implications, mitigation and the role of plant growth promoting rhizobacteria. *Resources, Environment and Sustainability, 5,* Article 100032. https://doi.org/10.1016/j.resenv.2021.100032

Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A., & Hayat, S. (2020). Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry, 156,* 64-77. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.042

Dak Nong Newspaper. (26/4/2020), *Cam xoan là cam gi? Ban co biet cach phan biet Cam xoan và Cam mat* [*What is a diamond orange? Do you know how to distinguish between diamond orange and honey orange?*]. Retrieved from https://baodaknong.vn/cam-xoan-la-cam-gi-ban-co-biet-cach-phan-biet-cam-xoan-va-cam-mat-175903.html

del Carmen Razola-Díaz, M., Guerra-Hernández, E. J., García-Villanova, B., & Verardo, V. (2021). Recent developments in extraction and encapsulation techniques of orange essential oil. *Food Chemistry, 354,* Article 129575. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129575

Dong, T. K. C., & Nguyen, T. L. (2018). Research on propagation process of Southern Nui Danh ginseng by tissue culture. *Vietnam Agricultural Science and Technology Magazine, 2(*87), 45-60.

El Moukhtari, A., Cabassa-Hourton, C., Farissi, M., & Savouré, A. (2020). How does proline treatment promote salt stress tolerance during crop plant development?. *Frontiers in plant science, 11,* Article 1127. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01127

Gabash, H. M., AL-Rabea'a, J. A. R., & Mohammed, K. H. (2023). Response of anatomical traits to environmental stresses in the leaves of local orange seedlings (*Citrus sinensis* L). *Journal of Global Innovations in Agricultural Sciences*, *11*, 439-445. https://doi.org/10.22194/JGIAS/23.1123

Ghaleb, W. S., Sawwan, J. S., Akash, M. W., & Al-Abdallat, A. M. (2010). In vitro response of two Citrus rootstocks to salt stress. *International Journal of Fruit Science*, *10*(1), 40-53. https://doi.org/10.1080/15538361003676777

Ghosh, U. K., Islam, M. N., Siddiqui, M. N., Cao, X., & Khan, M. A. R. (2022). Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms. *Plant Biology*, *24*(2), 227-239. https://doi.org/10.1111/plb.13363

Giulia, M., Ivana, P., Andrea, B., Sefora, F., Fabio, A., Daria, C., Malfa, S. L., Gentile, A., Arbona, V., & Alberto, C. (2024). Novel and widely spread citrus rootstocks behavior in response to salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, Article 105835. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2024.105835

Gupta, A. K., Dhua, S., Thakur, R., Ncama, K., Sithole, N. J., Magwaza, L. S., & Mishra, P. (2023). Orange. In *Fruits and their roles in nutraceuticals and functional foods* (pp. 250-278). CRC Press.

Hamedi, B., Ghasemi Pirbalouti, A., & Rajabzadeh, F. (2022). Responses to morpho-physiological, phytochemical, and nutritional characteristics of damask rose (*Rosa damescena* Mill.) to the applied of organic and chemical fertilizers. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *53*(17), 2156-2169. https://doi.org/10.1080/00103624.2022.2070634

Hao, S., Wang, Y., Yan, Y., Liu, Y., Wang, J., & Chen, S. (2021). A review on plant responses to salt stress and their mechanisms of salt resistance. *Horticulturae*, *7*(6), Article 132. https://doi.org/10.3390/horticulturae7060132

Hoang, M. T., Vu, Q. S., & Nguyen, K. T. (2006). *Giao trinh Sinh ly thuc vat* [*Plant Physiology*]. University of Education Publishers.

Huynh, C. H., Tran, T. T. H., Do, T. K. (2022). Study on the salinity tolerance in *Citrus latifolia* (Yu. Tanaka) Tanaka. *Science & Technology Development Journal – Natural Sciences*, *6*(2), 2023-2033. https://doi.org/10.32508/stdjns.v6i2.1021

Khan, N., & Bano, A. (2018). Effects of exogenously applied salicylic acid and putrescine alone and in combination with rhizobacteria on the phytoremediation of heavy metals and chickpea growth in sandy soil. *International Journal of Phytoremediation*, *20*(5), 405-414. https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1381940

Khan, N., Bano, A., & Babar, M. A. (2019). The stimulatory effects of plant growth promoting rhizobacteria and plant growth regulators on wheat physiology grown in sandy soil. *Archives of Microbiology*, *201*(6), 769-785. https://doi.org/10.1007/s00203-019-01644-w

Kumar, A., Memo, M., & Mastinu, A. (2020). Plant behaviour: an evolutionary response to the environment?. *Plant Biology*, *22*(6), 961-970. https://doi.org/10.1111/plb.13149

Liu, C., Zhao, X., Yan, J., Yuan, Z., & Gu, M. (2019). Effects of salt stress on growth, photosynthesis, and mineral nutrients of 18 pomegranate (*Punica granatum*) cultivars. *Agronomy*, *10*(1), Article 27. https://doi.org/10.3390/agronomy10010027

Liu, N., Li, X., Zhao, P., Zhang, X., Qiao, O., Huang, L., Guo, L. & Gao, W. (2021). A review of chemical constituents and health-promoting effects of citrus peels. *Food Chemistry, 365*, Article 130585. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130585

Luong, T. L. T., Do, T. T. H., Luu, T. P. K. (2024). *Investigating the effects of salinity stress on leaf morphological indicators of king mandarin* (*Citrus nobilis* Lour.) *under in vitro cultural conditions*. In Proceedings National Biotechnology Conference 2024, Hue University, Vietnam.

Luong, T. L. T., Do, T. T. H., & Luu, T. P. K. (2024). Investigating the effects of salinity stress on leaf morphological indicators of king mandarin (*Citrus nobilis* Lour.) under *in vitro* cultural conditions. In *Proceedings of the National Biotechnology Conference 2024* . Hue University, Vietnam.

Mansoor Hameed, M. H., Muhammad Ashraf, M. A., Nargis Naz, N. N., & Al-Qurainy, F. (2010). Anatomical adaptations of *Cynodon dactylon* (L.) Pers., from the salt range Pakistan, to salinity stress. I. Root and stem anatomy. *Pakistan Journal of Botany*, *42*(1), 279-289.

Nejadhabibvash, F., & Rezaee, M. B. (2021). The effect of salinity on seed germination, early seedling growth and anatomical structure of Beta vulgaris. *Nova Biologica Reperta*, *7*(4), 419-430. https://doi.org/10.29252/nbr.7.4.419

Paquin, R., & Lechasseur, P. (1979). Observations sur une méthode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*, *57*(18), 151-154. https://doi.org/10.1139/b79-233

Parvin, K., Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Nahar, K., Mohsin, S. M., & Fujita, M. (2019). Comparative physiological and biochemical changes in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under salt stress and recovery: Role of antioxidant defense and glyoxalase systems. *Antioxidants*, *8*(9), Article 350. https://doi.org/10.3390/antiox8090350

Pham, H. H. (2000). *Cay co Viet Nam (Quyen 2)* [*Vietnamese plants and trees (Volume 2)*]. Young Publishers.

Shahid, M. A., Sarkhosh, A., Khan, N., Balal, R. M., Ali, S., Rossi, L., Gómez, C., Mattson, N., Nasim, W. & Garcia-Sanchez, F. (2020). Insights into the physiological and biochemical impacts of salt stress on plant growth and development. *Agronomy*, *10*(7), Article 938. https://doi.org/10.3390/agronomy10070938

Tran, C. K. (1981). *Thuc tap hinh thai & giai phau thuc vat* [*Morphology and anatomy of seed plants*]. Professional University and High School Publishing House. (pp. 44-105).

Tran, T. A., Dang, T. D., & Nguyen, T. H. (2021). Moving towards sustainable coastal adaptation: Analysis of hydrological drivers of saltwater intrusion in the Vietnamese Mekong Delta. *Science of the Total Environment, 770,* Article 145125. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145125

Van Zelm, E., Zhang, Y., & Testerink, C. (2020). Salt tolerance mechanisms of plants. *Annual Review of Plant Biology*, *71*(1), 403-433. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100005

Vu, V. V., Vu, V. T., & Hoang, M. T. (2012). *Sinh ly thuc vat* [*Plant Physiology*]. Vietnam Education Publishing House.

Walker, R. R. (1986). Sodium exclusion and potassium-sodium selectivity in salt-treated trifoliate orange (*Poncirus trifoliata*) and Cleopatra mandarin (*Citrus reticulata*) plants. *Functional Plant Biology*, *13*(2), 293-303. https://doi.org/10.1071/PP9860293

Xue, F., Liu, W., Cao, H., Song, L., Ji, S., Tong, L., & Ding, R. (2021). Stomatal conductance of tomato leaves is regulated by both abscisic acid and leaf water potential under combined water and salt stress. Physiologia Plantarum, *172*(4), 2070-2078. https://doi.org/10.1111/ppl.13441

Yildiz, M., Poyraz, İ., Çavdar, A., Özgen, Y., & Beyaz, R. (2020). *Plant responses to salt stress*. IntechOpen.

Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C., & Wang, P. (2021). Regulation of plant responses to salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(9), Article 4609. https://doi.org/10.3390/ijms22094609

Zorić, L., Milić, D., Karanović, D., & Luković, J. (2020). Anatomical adaptations of halophytes within the Southern Pannonian Plain Region. In *Handbook of halophytes: From molecules to ecosystems towards biosaline agriculture* (pp. 1-27). Springer.

EFFECTS OF SODIUM CHLORIDE ON GROWTH, PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL ANATOMIC CHARACTERISTICS OF SWEET ORANGE (*Citrus sinensis* L.) UNDER *IN VITRO* CULTURE CONDITIONS

Luong Thi Le Tho[1*], Bui Thi Lan[1], Luu Tang Phuc Khang[2]

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

[2]Chiang Mai University, Thailand

[*]Corresponding author: Luong Thi Le Tho – Email: tholtl@hcmue.edu.vn

Received: November 28, 2024; Revised: March 23, 2025; Accepted: May 22, 2025

ABSTRACT

Citrus sinensis L. *is a sweet orange cultivar of high economic value, traditionally used to alleviate symptoms such as constipation, phlegm accumulation, and fatigue. However, climate change manifesting as prolonged droughts and increasingly severe saltwater intrusion in Vietnam poses a significant challenge to its cultivation. This study was conducted to evaluate the responses of Citrus sinensis to different salinity levels under in vitro tissue culture conditions. Seeds were surface-sterilized in 0.1 % $HgCl_2$ for five minutes, rinsed with sterile distilled water, and cultured on MS medium supplemented with NaCl at concentrations of 2–10 g/L. Cultures were maintained for eight weeks, with growth, physiological, and biochemical parameters recorded at two-week intervals. The results showed that higher salinity significantly reduced plant growth and photosynthetic performance. In contrast, proline content, epidermal thickness, cuticle layer thickness, and lignification of cortical and endodermal cells in roots increased markedly under salt stress. Notably, the thickness of vascular bundle sheath cell walls tended to decrease when NaCl exceeded a certain threshold. These findings provide important scientific evidence for the selection and propagation of salt-tolerant Cam xoàn lines, thereby contributing to improved production sustainability under global climate change.*

Keywords: anatomy; Citrus sinensis; growth; *in vitro;* NaCl, drought stress