

with Song Gianh microbial organic fertilizer (HCVS) was an important technical solution for improving of economic efficiency in ginger production. Results of this study showed that the doses of HCVS significantly influenced on the growth of ginger variety G10. The substrate formula with 25 kg of red yellow soil + 2 g N + 2 g P₂O₅ + 3 g K₂O + 1 kg of rice husk + 80 g HCVS for bag was the most suitable for increasing root growth, number of tubers, weight of tubers/bag, improving dry matter, essential oils and oleoresins. The bag ginger cultivation was considered to be the most suitable for improving the productivity, quality and efficiency of bag ginger cultivation in the North.

Keywords: Bag planting, efficiency, microbial organic fertilizer, productivity, Song Gianh

Ngày nhận bài: 19/6/2018
Ngày phản biện: 23/6/2018

Người phản biện: PGS. TS. Lê Như Kiều
Ngày duyệt đăng: 16/7/2018

ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ VÀ THỜI GIAN XỬ LÝ COLCHICINE TẠO CÂY TỨ BỘI TRÊN PHÔI HẠT QUÝT HỒNG (*Citrus reticulata*)

Nguyễn Thị Nga¹ và Trần Thị Oanh Yến¹

TÓM TẮT

Mục đích thí nghiệm là xác định nồng độ (ND) và thời gian xử lý Colchicine tạo đột biến tứ bội hiệu quả cao trên phôi hạt quýt Hồng (*Citrus reticulata* Blanco) *in vitro*. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại gồm 30 nghiệm thức. Các nghiệm thức là tổ hợp của 6 nồng độ Colchicine (0,00 (ĐC); 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 và 0,05%) và 5 mức thời gian xử lý (TGXL) (6; 12; 18; 24 và 30 giờ). Chồi sau xử lý 60 ngày, lấy mẫu rễ non nhuộm và quan sát nhiễm sắc thể (NST) trên tiêu bản tạm thời. Kết quả xử lý Colchicine cho thấy, ở nồng độ 0,02% và thời gian xử lý 6 giờ cho hiệu quả tứ bội đạt cao nhất (30,7%).

Từ khóa: Quýt Hồng, Colchicine, nhiễm sắc thể, cây tứ bội

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quýt Hồng (*Citrus reticulata* Blanco) thuộc họ Rutaceae, là một trong những giống quýt có giá trị kinh tế cao. Bên cạnh hương vị thơm ngon, màu sắc đẹp thì loại quả này vẫn còn nhược điểm như nhiều hạt, khô đầu múi, kích cỡ quả không đồng nhất (Trần Văn Hậu và *ctv.*, 2014). Không hoặc ít hạt là một trong những tiêu chí chính trong chọn tạo giống cam, quýt và đây là tiêu chí được cả thị trường quả tươi và chế biến nước quả ưa chuộng. Do đó, để quýt Hồng phát huy tiềm năng kinh tế và tiếp cận thị trường xuất khẩu, nhất là thị trường trái cây tươi, thì phẩm chất quả và vấn đề không hoặc ít hạt là một trong những yếu tố quan trọng cần cải thiện ở giống quýt Hồng.

Có nhiều nguyên nhân hình thành quả không hạt trên cây có múi như: tính bất dục của hạt phấn hay noãn, sự phát triển không bình thường của phôi ở giai đoạn đầu của sự phát triển hay cây tam bội... (Trần Thị Oanh Yến và *ctv.*, 2008). Tất cả các cây có múi tam bội đều cho quả không hạt. Có nhiều phương pháp tạo cây tam bội ở cây có múi, một trong những phương pháp đó là cây tứ bội thụ tinh với cây nhị bội. Để có cây tứ bội, Colchicine là một trong những phương pháp dễ dàng sử dụng trong việc xử

lý ở tế bào đang nhân sinh khối như phôi mầm, chồi non,... Tuy nhiên, việc xác định liều lượng và thời gian xử lý cũng như bộ phận xử lý là cần thiết. Xuất phát từ những vấn đề trên, thí nghiệm “Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian xử lý Colchicine tạo cây tứ bội trên phôi hạt quýt Hồng được thực hiện.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Phôi hạt thuộc giống quýt Hồng thu trên cây đang cho trái ổn định, năng suất cao và cây sinh trưởng tốt; đặc biệt cây không nhiễm bệnh vàng lá gân xanh (Greening).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Xử lý tạo cây tứ bội bằng Colchicine *in vitro*: Hạt quýt Hồng được gieo trong môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962) có bổ sung agar 8 g/l và Colchicine với các mức độ theo nghiệm thức thí nghiệm. Sau thời gian xử lý, cấy chuyển phôi hạt sang môi trường nuôi phôi là môi trường MS bổ sung agar 8 g/l, than hoạt tính 1 g/l, đường saccharose 30 g/l, NAA 1 mg/l và pH môi trường ở mức 5,7. Thí nghiệm thừa số 2 nhân tố gồm 30 nghiệm thức là tổ

¹ Bộ môn Chọn tạo giống - Viện Cây ăn quả miền Nam

hợp của 6 mức nồng độ colchicine (%): 0,00 (ĐC); 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05 và 5 mức thời gian xử lý (giờ): 6; 12; 18; 24 và 30 giờ. Bố trí kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên hoàn toàn (RCBD), 3 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức/lần lặp lại gồm 25 phôi hạt. Phôi hạt được nuôi ở nhiệt độ $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, chiếu sáng 10 giờ/ngày. Theo dõi tỷ lệ (%) mọc chồi sau 60 ngày xử lý.

- Xác định mức bội thể bằng phương pháp khảo sát nhiễm sắc thể: Dựa theo Nguyễn Nghĩa Thìn (2006). Rễ non xử lý bằng 8-oxyquinolin nồng độ 0,002 M từ 2 - 4 giờ, cố định trong dung dịch Cacnua. Vật mẫu được rửa sạch bằng nước cất và làm mủn bằng HCl 1N, sau đó được nhuộm bằng Axêtocacmin và quan sát dưới kính hiển vi độ phóng đại 40X. Theo dõi tỷ lệ cây tứ bội (%) trên tỷ lệ sống, hiệu quả tứ bội (%). Hiệu quả tứ bội (%) = tỷ lệ sống (%) × tỷ lệ cây tứ bội (%) / 100.

- Xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm Excel và phần mềm SPSS 20.0 để thống kê, dùng phép thử Duncan để so sánh các giá trị trung bình các nghiệm thức.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian thực hiện: Từ tháng 12/2016 đến tháng 09/2017.

- Địa điểm:

+ Thí nghiệm xử lý colchicine trên phôi hạt quýt Hồng *in vitro* thực hiện tại phòng thí nghiệm nuôi cấy mô thuộc Bộ môn Chọn tạo giống - Viện Cây ăn quả miền Nam.

+ Khảo sát nhiễm sắc thể xác định cây tứ bội thực

hiện tại phòng thí nghiệm phân tích mẫu thuộc Bộ môn Chọn tạo giống - Viện Cây ăn quả miền Nam.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ mọc chồi

Thời gian và nồng độ Colchicine xử lý trên phôi hạt quýt Hồng có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng sống và mọc chồi của phôi. Kết quả đánh giá ảnh hưởng riêng lẻ của từng yếu tố thời gian và nồng độ phản ánh ở Bảng 1 cho thấy, trung bình số phôi mọc chồi giảm khi nồng độ và thời gian xử lý tăng. Kết quả này tương tự nghiên cứu của các tác giả khác khi nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian và nồng độ xử lý colchicine đến khả năng sống của các đối tượng thực vật khác nhau như quýt (Elyazid and El-Shereif, 2014), hoa *Phlox drummondii* (Tiwari and Mishra, 2012); hoa cẩm chướng gấm (*Dianthus chinensis*) (Nguyễn Thị Lý Anh và ctv., 2014)... Kết quả thí nghiệm cho thấy: nồng độ Colchicine 0,01% có tỷ lệ mọc chồi giảm còn (56,5%); thấp nhất là colchicine 0,05% chỉ đạt 13,3% phôi mọc chồi (đối chứng 100%). Ở thời gian xử lý 6 giờ có 73,3% phôi mọc chồi, khi xử lý đến 30 giờ chỉ 26,0% phôi mọc chồi. Qua thống kê cho thấy, khi xử lý Colchicine ở nồng độ 0,03 - 0,05% tỷ lệ mọc chồi thấp (dao động từ 13,3 - 18,7%) và khác biệt với các nghiệm thức xử lý Colchicine nồng độ 0,01 và 0,02%. Khi xét về thời gian xử lý cho thấy, khi xử lý 6 giờ tỷ lệ sống cao (73,3%) và khác biệt với các nghiệm thức xử lý 12, 18, 24 và 30 giờ (37,3; 33,8; 26,9 và 26,0%).

Bảng 1. Tỷ lệ mọc chồi của phôi hạt quýt Hồng 60 NSXL

Nồng độ colchicine (%)	Thời gian xử lý (giờ)					Trung bình
	6	12	18	24	30	
0,00 (ĐC)	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0a
0,01	98,7 ^a	68,0 ^b	56,0 ^{bcd}	40,0 ^{cde}	20,0 ^{efgh}	56,5b
0,02	89,3 ^a	14,7 ^{fghi}	29,3 ^{defg}	10,7 ^{ghi}	10,7 ^{ghi}	30,9c
0,03	58,7 ^{bc}	8,0 ^{hij}	6,7 ^{hij}	8,0 ^{hij}	12,0 ^{ghi}	18,7d
0,04	54,7 ^{bcd}	17,3 ^{efghi}	4,0 ^{hij}	2,7 ^{ij}	8,0 ^{bji}	17,3d
0,05	38,7 ^{cdef}	16,0 ^{fghi}	6,7 ^{hij}	0,0 ^l	5,3 ^{hij}	13,3d
Trung bình	73,3a	37,3b	33,8bc	26,9d	26,0cd	
F (lặp lại)			ns			
F (NĐ)			**			
F (TG)			**			
F (NĐ × TG)			**			
CV (%)			17,1			

Ghi chú: Số liệu chuyển sang arcsin $x^{1/2}$ trước khi thống kê; Các ký tự theo sau các giá trị số giống nhau không khác ở mức ý nghĩa thống kê; ns: khác biệt không có ý nghĩa; **: khác biệt có ý nghĩa ở mức 1%.

Kết quả Bảng 1 còn cho thấy, khi tăng nồng độ, tăng thời gian xử lý không phải luôn tăng hay giảm tỷ lệ nảy mầm của phôi hạt. Ở Colchicine 0,02% xử lý 12 giờ có tỷ lệ mọc chồi giảm thấp khác biệt có ý nghĩa với 6 giờ và đồng thời tỷ lệ này cũng thấp hơn so với 18 giờ. Hay ở nồng độ Colchicine 0,05% xử lý 24 giờ không có chồi mọc (phôi chết 100%) trong khi đó xử lý 30 giờ có 5,3% chồi mọc.

Ở nồng độ Colchicine 0,01% và thời gian xử lý 18 - 24 giờ khác biệt không ý nghĩa so với nghiệm thức nồng độ colchicine 0,03 - 0,05%, thời gian xử lý 6 giờ. Điều này có nghĩa nồng độ thấp thì thời gian xử lý kéo dài và ngược lại. Theo Vũ Đình Hòa và cộng tác viên (2005), khi xử lý gây đa bội bằng hóa chất, những liều lượng kết hợp thời gian xử lý cho giá trị xung quanh LD₅₀ là những liều lượng mà

tại đó có thể xác định được sự tối ưu. Như vậy, tỷ lệ đạt ngưỡng xung quanh giá trị 50% trong thí nghiệm này là nồng độ Colchicine 0,01% xử lý từ 18 - 24 giờ và nồng độ Colchicine 0,02 xử lý 6 - 12 giờ và từ 0,03 - 0,04% xử lý 6 giờ.

3.2. Chiều dài chồi

Kết quả Bảng 2 cho thấy nồng độ Colchicine là yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của dài chồi. Mặc dù không có sự khác biệt qua thống kê giữa các nghiệm thức xử lý so với đối chứng, tuy nhiên, ở trung bình nồng độ, các nghiệm thức xử lý Colchicine có chiều dài chồi không khác biệt nhau nhưng khác biệt với đối chứng (không xử lý). Không có sự tương tác giữa nồng độ và thời gian xử lý đến sự phát triển chiều dài chồi.

Bảng 2. Chiều dài chồi của phôi hạt quýt Hồng 60 NSXL

Nồng độ Colchicine (%)	Thời gian xử lý (giờ)					Trung bình
	6	12	18	24	30	
0,00	40,5	39,1	38,5	41,5	36,7	39,3 ^a
0,01	26,6	15,4	19,4	17,1	25,0	20,7 ^b
0,02	12,4	6,3	15,1	21,7	24,4	16,0 ^b
0,03	21,2	10,5	17,8	26,5	13,9	18,0 ^b
0,04	12,9	11,5	13,8	16,2	16,2	13,9 ^b
0,05	16,0	19,2	6,2	-	16,8	14,5 ^b
Trung bình	21,6	17,0	18,4	24,3	22,2	
<i>F (lặp lại)</i>			<i>ns</i>			
<i>F (NĐ)</i>			**			
<i>F (TG)</i>			<i>ns</i>			
<i>F (NĐ × TG)</i>			<i>ns</i>			
<i>CV (%)</i>			33,5			

Ghi chú: Các ký tự theo sau các giá trị số giống nhau thì không khác ở mức ý nghĩa thống kê; *ns*: khác biệt không có ý nghĩa; **: khác biệt có ý nghĩa ở mức 1%.

3.3. Khảo sát nhiễm sắc thể

Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian xử lý colchicine đến khả năng gây đa bội trên phôi hạt quýt Hồng: Theo Yamamoto và cộng tác viên (2008), Saryawada và cộng tác viên (2011), số lượng NST cây có múi là 2n = 18. Trên cơ sở đó, kết quả khảo sát NST được ghi nhận ở Bảng 3 cho thấy, xử lý Colchicine đã tạo đa dạng về mức bội thể của quýt Hồng. Ngoài dạng cây nhị bội (cây bình thường) và dạng tứ bội (mà mục đích thí nghiệm mong muốn tạo ra) thì còn có thể đa bội khảm. Thể khảm được xác định trên cùng một mẫu quan sát, một số tế bào có NST 2n = 18, số tế bào khác có NST 2n = 36 (Hình 1). Tuy nhiên, thể khảm chỉ xuất hiện ở nồng độ

Colchicine 0,01 - 0,02% với tỷ lệ cao nhất là 8,9% ở nghiệm thức 9 (NT9). Theo Elyazid và cộng tác viên (2014) chưa ghi nhận thể khảm nhưng theo Dermen và Emsweller (1961) thì hiện tượng thể khảm có thể xảy ra. Theo Hà Thị Thúy và cộng tác viên (2003), khi tạo các dạng tứ bội thể ở các giống cây ăn quả có múi địa phương đã báo cáo trong 19 cá thể có biểu hiện đa bội thì có 13 cá thể thuộc thể khảm. Dạng nhị bội, tất cả các nghiệm thức có tỷ lệ nhị bội dao động từ 13,3 - 100% ngoại trừ NT29 (không có chồi sống) và NT24 (không có cây nhị bội). Ở các nồng độ xử lý colchicine từ 0,01 - 0,05% đều ghi nhận xuất hiện cây tứ bội ngoại trừ nghiệm thức 29 (Bảng 3). Tỷ lệ tứ bội cao nhất đạt 100% ở NT24, thấp nhất là

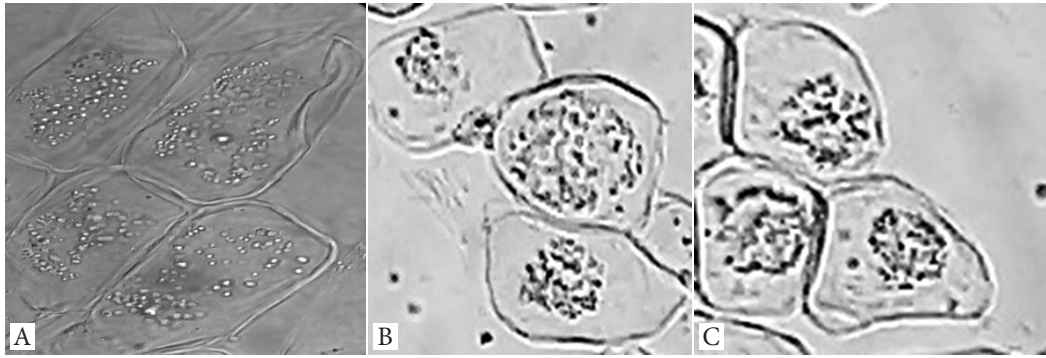
NT20 (8,3%). Hiệu quả tứ bội đạt cao nhất ở NT11 (30,7%), thấp nhất là NT15; NT20 và NT23 (1,3%) và có một nghiệm thức không có hiệu quả tứ bội là NT29. Nhìn chung, có một số nghiệm thức tỷ lệ tứ bội khá cao nhưng tỷ lệ sống thấp nên hiệu quả tứ bội vì vậy rất thấp (NT12 và NT24).

Elyazid và El-Shereif (2014) ngâm hạt quýt trong dung dịch Colchicine (0,01; 0,05; 0,1 và 0,2%) ở ba mức thời gian (12, 24 và 48 giờ) đạt hiệu quả tứ bội cao nhất là 33,5%; ở nồng độ Colchicine 0,01% xử lý

trong 48 giờ trong khi nồng độ cao hơn nhưng hiệu quả tứ bội lại thấp. Thực tế thí nghiệm này đã cho thấy nồng độ Colchicine 0,02% xử lý 6 giờ cho kết quả cao nhất (Bảng 3). Nồng độ Colchicine cao hơn hay thời gian xử lý dài hơn đã cho hiệu quả tứ bội thấp. Tương tự, Surson và cộng tác viên (2015) cũng nhận xét xử lý colchicine trên hạt quýt có ngưỡng nồng độ và thời gian tối ưu mà tại đó sẽ cho hiệu quả tứ bội cao, nếu vượt qua ngưỡng tối ưu thì tỷ lệ tứ bội càng thấp.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ và TGXL Colchicine gây đa bội trên phôi hạt quýt Hồng

Nghiệm thức	Nồng độ Col (%)	Thời gian (giờ)	Tỷ lệ cây theo độ bội (%)			Hiệu quả tứ bội (%)
			Nhị bội 2n=2x	Đa bội khảm	Tứ bội 2n=4x	
NT1	0,00	6	100,0	0	0	0
NT2		12	100,0	0	0	0
NT3		18	100,0	0	0	0
NT4		24	100,0	0	0	0
NT5		30	100,0	0	0	0
NT6	0,01	6	79,8	6,7	13,5	13,3
NT7		12	60,6	3,9	35,5	24,0
NT8		18	68,4	7,1	24,5	13,3
NT9		24	61,7	8,9	29,4	12,0
NT10		30	60,0	0	40,0	8,0
NT11	0,02	6	60,8	4,5	34,7	30,7
NT12		12	13,3	0	86,7	12,0
NT13		18	60,6	0	39,4	10,7
NT14		24	53,3	0	46,7	4,0
NT15		30	88,9	0	11,1	1,3
NT16	0,03	6	69,1	0	30,9	17,3
NT17		12	25,0	0	75,0	4,0
NT18		18	41,7	0	58,3	4,0
NT19		24	30,0	0	70,0	4,0
NT20		30	91,7	0	8,3	1,3
NT21	0,04	6	54,4	0	45,6	24,0
NT22		12	52,2	0	47,8	8,0
NT23		18	50,0	0	50,0	1,3
NT24		24	0,0	0	100	2,7
NT25		30	58,3	0	41,7	2,7
NT26	0,05	6	69,6	0	30,4	12,0
NT27		12	41,3	0	58,7	8,0
NT28		18	33,3	0	66,7	4,0
NT29		24	-	-	-	-
NT30		30	50,0	0	50,0	2,7



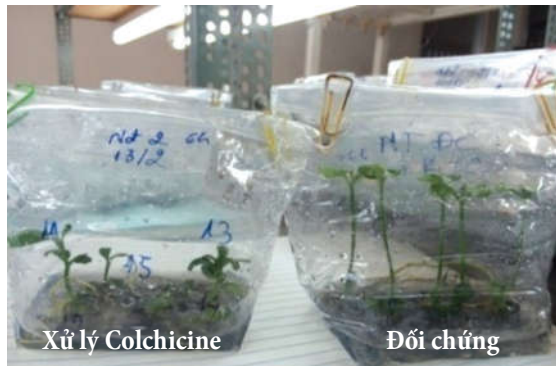
A: NST $4n = 36$; B: thể khảm; C: NST $2n = 18$

Hình 1. Nhiễm sắc thể của tế bào rễ khi xử lý colchicine trên phôi hạt

3.4. Một số đặc điểm hình thái của cây tứ bội so với cây nhị bội *in vitro*

Hầu hết các cây tứ bội có đường kính thân chồi to, chiều cao cây thấp hơn cây nhị bội (đối chứng). Các cây tứ bội có phiến lá dày, màu xanh đậm, cuống lá không có cánh lá, rìa lá hình răng cưa, lá dạng bầu tròn, khoảng cách đóng lá trên thân gần nhau (đóng lá nhật). Những ghi nhận này tương tự như những ghi nhận từ nhiều kết quả nghiên cứu về xử lý colchicine trên những đối tượng thực vật khác nhau. Khaing và cộng tác viên (2007) nhận xét các cây tứ bội đều có lá dày, hình bầu dục lá ngắn hơn và tròn

hơn so với dạng cây ban đầu. Trên quýt, Elyazid và El-Shereif (2014), Surson và cộng tác viên (2015) đã nhận định những cây con có nguồn gốc từ hạt khi xử lý Colchicine đều có dạng cây lùn, thân ngắn và lá hình bầu dục hoặc tròn, trong khi đó cây không xử lý có chiều cao cao hơn, lá dài và có màu xanh hơi vàng. Mba và cộng tác viên (2011) cho biết ở giai đoạn đầu của quá trình hình thành thể biến dị đa bội, ảnh hưởng của colchicine có thể gây cho cây con biểu hiện như rễ ngắn, lá dày, cây con chậm phát triển chiều cao và có thể dẫn đến chết.



Hình 2. Ảnh hưởng của Colchicine đến chiều dài chồi



Hình 3. Cây tứ bội sau xử lý Colchicine

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Colchicine đã gây ảnh hưởng đến tỷ lệ nảy mầm, chiều dài cây, hình thái cây và gây ra biến dị đa bội khi xử lý trên phôi mầm hạt quýt Hồng *in vitro*. Thời gian và nồng độ xử lý khác nhau có ảnh hưởng trên phôi khác nhau, tăng nồng độ và tăng thời gian thì tỷ lệ sống giảm, chồi phát triển chậm. Colchicine ở nồng độ 0,02% thời gian xử lý 6 giờ đã cho hiệu quả tứ bội đạt cao nhất (30,7%).

4.2. Đề nghị

Tiếp tục chăm sóc các cây đã được xác định tứ bội nhằm dùng làm vật liệu phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Thị Lý Anh, Nguyễn Thị Thanh Phương, Hồ Thị Thu Thanh, Lê Hải Hà, Nguyễn Thị Hân, 2014. Tạo dòng cảm chương gấm (*Dianthus chinensis*) đa bội bằng xử lý colchicine *in vitro*. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 12(8): 1322-1330.

- Trần Văn Hâu, Trần Hữu Hiếu và Trần Sỹ Hiếu**, 2014. Sự tương quan giữa hai nhân tố, tuổi cây và năng suất với hiện tượng trái chai và khô đầu múi trên trái quýt Hồng (*Citrus reticulata* Blanco) tại huyện Lai Vung tỉnh Đồng Tháp. *Tạp chí Khoa học*, số 4: 127-134.
- Vũ Đình Hòa, Vũ Văn Liết và Nguyễn Văn Hoan**, 2005. *Giáo trình chọn giống cây trồng*. Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội, 158 trang.
- Nguyễn Nghĩa Thìn**, 2006. *Thực vật có hoa*. NXB ĐHQG Hà Nội, 151 trang.
- Hà Thị Thúy, Trần Ngọc Thanh và Đỗ Năng Vịnh**, 2003. Nghiên cứu tạo các dạng tứ bội thể ở các giống cây ăn quả có múi địa phương. *Tạp chí Di truyền học và Ứng dụng*, số 4 năm 2003.
- Trần Thị Oanh Yến, Nguyễn Ngọc Thi, Nguyễn Nhật Trường và Nguyễn Minh Châu**, 2008. Báo cáo kết quả tuyển chọn giống cam mật không hạt. Báo cáo công nhận giống - Cục Trồng trọt, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.
- Dermen, H., and S.L. Emsweller**, 1961. *The use of colchicine in plant breeding*. Historic, Archive Document. Agricultural Research Service, U. S, Department of Agriculture. 10 pages.
- Elyazid, D. and A.R. El-Shereif**, 2014. *In Vitro* Induction of Polyploidy in *Citrus reticulata* Blanco. *American J. Plant Sci.*, 5, 1679-1685.
- Khaing, T.T., A.L.T. Perera, V.A. Sumanasinghe and D.S.A. Wijesundara**, 2007. Improvement of *Gymnostachyum species* by Induced Mutation. *Trop. Agric. Res.*, 19: 265-272.
- Mba, C., A. Kodyma, R. Afzaa, B.P. Forster, Y. Ukaid and H. Nakagawae**, 2011. Methodology for Physical and Chemical Mutagenic Treatments. In: Q.Y. Shu, B.P. Forster, H. Nakagawa. Plant Mutation Breeding and Biotechnology. Joint FAO/IAEA Programme. *Nuclear Techniques in Food and Agriculture*, 169-180.
- Murashige, T. and F. Skoog**, 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Rao, S.R., M. Hynniewta and S.K. Malik**, 2011. Karyological studies in ten species of *Citrus* (Linnaeus, 1753) (Rutaceae) of North-East India-Comp. *Cytogen*, 5(4): 277-287.
- Surson, S., S. Sithaphanit and N. Wongma**, 2015. In vivo Induction of Tetraploid in Tangerine Citrus Plants (*Citrus reticulata* Blanco) with the Use of Colchicine. *Pakistan J. Bio. Sci.*, 18: 37-41.
- Tiwari A. K. and S. K. Mishra**, 2012. Effect of colchicine on mitotic polyploidization and morphological characteristics of *Phlox drummondii*. *Afri. J. Biotech.*, 11(39): 9336-9342.
- Yamamoto, M., A. Asadi Abkenar, R. Matsumoto, T. Kubo and S. Tominaga**, 2008. CMA Staining Analysis of Chromosomes in Citrus Relatives, Clymenia, Eremocitrus and Microcitrus. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 77 (1): 24-27.

Influence of colchicine concentrations and treatment time on seed embryos to produce tetraploid seedlings on Hong mandarin (*Citrus reticulata*)

Nguyen Thi Nga, Tran Thi Oanh Yen

Abstract

The purpose of the experiment was to determine the Colchicine concentrations and treating time on germinated seeds of Hong mandarin *in vitro* to produce seedlings having tetraploid mutation. The experiment was arranged in completely randomized block design with 3 replications and 30 treatments. The treatments consisted of 6 concentrations of Colchicine (0.00; 0.01; 0.02; 0.03; 0.04 and 0.05%) and 5 time intervals (6; 12; 18; 24 and 30 hours). The young root samples were collected and dyed for observing chromosomes after 60 days of culturing Colchicine treated embryos. Results of Colchicine treatment showed that the highest ratio (30.7%) of tetraploid was recorded at the concentration of 0.02% and the treatment time of 6 hours for tetraploid .

Keywords: Hong mandarin, Colchicine, chromosome, tetraploid

Ngày nhận bài: 25/6/2018

Ngày phản biện: 2/7/2018

Người phản biện: TS. Nguyễn Ngọc Thi

Ngày duyệt đăng: 16/7/2018

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA BÓN VÔI VÀ BIOCHAR VỎ TRÁU ĐẾN TỔNG ASEN Ở CÂY ĐẬU NÀNH TRONG VÙNG ĐỀ BAO TẠI AN PHÚ - AN GIANG

Nguyễn Văn Chương¹, Nguyễn Trung Chính²

TÓM TẮT

Trong nhiều nghiên cứu trước đây, việc sử dụng nước giếng khoan nhiễm Asen (As) làm cho đất, cây trồng bị nhiễm As nghiêm trọng. Nghiên cứu ảnh hưởng của vôi và biochar vỏ trấu đến tổng As trong cây đậu nành được tiến hành trong vụ Đông Xuân 2017 ở vùng đề bao tại An Phú, An Giang, bao gồm các nội dung: (i) Ảnh hưởng bón vôi, biochar vỏ trấu đến pH và EC trong đất; (ii) Ảnh hưởng bón vôi, biochar vỏ trấu lên sự hấp thu As trong cây đậu nành. Thí nghiệm tiến hành với 4 nghiệm thức và 4 lần lặp lại. Kết quả cho thấy, nghiệm thức bón vôi kết hợp biochar vỏ trấu làm tăng pH và EC trong đất; hàm lượng As trong rễ (0,836 mg.kg⁻¹), thân lá (0,830 mg.kg⁻¹), hạt (0,06 mg.kg⁻¹) thấp hơn đối chứng lần lượt là 33,1%; 32,5%; 44,5%. Như vậy, việc bón vôi kết hợp biochar vỏ trấu làm giảm hàm lượng As và tăng năng suất ở cây đậu nành.

Từ khóa: Cây đậu nành, biochar vỏ trấu, vôi, Asen (As)

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kết quả khảo sát của Viện Vệ sinh - Y tế Công cộng TP. Hồ Chí Minh (2002 - 2005) cho thấy một số tỉnh thuộc ảnh hưởng của sông Mê Kông đã có dấu hiệu ô nhiễm As trong nước ngầm. Trong đó, tại một số huyện như An Phú, Phú Tân, Tân Châu thuộc tỉnh An Giang có hàm lượng As trong nước ngầm của một số giếng từ 830 ppb đến 1070 ppb. Đặc biệt, các xã thuộc huyện An Phú tỉnh An Giang có 97,30% số giếng điều tra bị ô nhiễm As với hàm lượng cao hơn 100 ppb (253 mẫu trên tổng số 260 mẫu khảo sát). Sử dụng lâu dài nước ô nhiễm As để tưới tiêu làm cho hàm lượng asen trong đất nông nghiệp tăng dần (Meharg *et al.*, 2003). Do tình hình bao đề đất nông nghiệp tại huyện An Phú - An Giang đã hạn chế sử dụng nguồn nước sông, người nông dân bắt buộc phải sử dụng nước giếng khoan bị nhiễm As để tưới cho cây trồng, làm cho đất trồng có hàm lượng trung bình As là 7,89 mg.kg⁻¹ (Nguyễn Văn Chương và Ngô Ngọc Hưng, 2011). Bằng cách này, As được cây hấp thu và tích lũy vào các hạt, chẳng hạn như gạo, lúa mì và cây ăn quả khi chúng được trồng trên đất bị ô nhiễm As (Roychowdhury *et al.*, 2002). Sự hiện diện của As trong nước thủy lợi, trong đất ở mức cao có thể cản trở sự phát triển bình thường của cây trồng với các triệu chứng ngộ độc như giảm sinh khối (Barrachina, 1995), thiệt hại năng suất, ức chế sự nảy mầm, giảm chiều cao cây, năng suất quả và ngũ cốc thấp hơn, héo và hoại tử phiến lá (Frans *et al.*, 1988), giảm diện tích lá và quang hợp (Knauer *et al.*, 1999). Khi As vào cơ thể người theo đường ăn uống, hô hấp hoặc qua da sẽ ảnh hưởng đến thần kinh, tim mạch, hệ tiêu hoá, hô hấp, gây rối loạn

máu và các vấn đề sinh sản (Scragg, 2006). Chính vì vậy, việc tìm ra các biện pháp bón phân nhằm giảm As trên cây đậu nành trồng tại An Phú - An Giang là cần thiết. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của vôi và biochar vỏ trấu đến sự hút thu As lên cây đậu nành.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Đất trồng bố trí thí nghiệm tại xã Quốc Thái, huyện An Phú, tỉnh An Giang là đất phù sa ngọt trong đề bao, có thành phần cơ giới nhẹ, tơi xốp, thoát nước tốt, thích hợp với nhiều loại cây trồng như: ngô, đậu, rau màu. Cụ thể về đặc tính lý hóa như Bảng 1.

Bảng 1. Đặc tính lý hóa của ruộng đất thí nghiệm (Quốc Thái, tháng 11/2017)

TT	Chỉ tiêu	Đơn vị	Giá trị
1	pH H ₂ O		7,36
2	Cát	%	2,8
3	Thịt	%	60,7
4	Sét	%	36,5
5	N	%	0,144
6	C	%	1,23
7	C/N		8,54
8	EC	µS/cm	215
9	P tổng số	%P ₂ O ₅	0,11
10	P dễ tiêu	mgP/kg	16,0
11	As	mg.kg ⁻¹ đất khô	32,4

¹ Khoa Nông nghiệp và Tài nguyên thiên nhiên - Trường Đại học An Giang

² Sinh viên cao học CH2KHCT - Trường Đại học An Giang