

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG NẢY MẦM CỦA QUẢ CỐC ĐỎ (*LUMNITZERA LITTOREA*) DƯỚI SỰ TÁC ĐỘNG CỦA AXIT GIBBERELIC

QUÁCH VĂN TOÀN EM

Trường Đại học Sư phạm Tp. Hồ Chí Minh

HỒ THANH XUÂN

Trường THPT Ngô Gia Tự Tp. Hồ Chí Minh

Cóc đỏ (*Lumnitzera littorea*) là loài cây ngập mặn, có tên trong sách đỏ Việt Nam (2007). Loài cây này có tốc độ sinh trưởng chậm, tỷ lệ sống của cây con tái sinh trong tự nhiên rất thấp (11,84%), chưa có công trình nào nghiên cứu đầy đủ về sự nảy mầm của loài cóc đỏ. Để bảo tồn và khôi phục loài cây có nguy cơ tuyệt chủng này thì việc nghiên cứu khả năng nảy mầm của quả cóc đỏ là rất cần thiết vì vậy chúng tôi đã tiến hành đề tài “Nghiên cứu khả năng nảy mầm của quả cóc đỏ (*Lumnitzera littorea*) dưới sự tác động của axit gibberellic”.

I. ĐỊA ĐIỂM, THỜI GIAN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 10/2009- 04/2010

2. Địa điểm nghiên cứu: Vườn sinh học, khoa Sinh, trường ĐHSP TP.HCM.

3. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu khả năng tái sinh tối đa theo lý thuyết của quả cóc đỏ.

Nghiên cứu tỷ lệ chắc – lép của quả:

Thu quả từ thực địa → tiến hành cân 500g trong lượng quả → phân loại quả, để riêng quả có kích thước nhỏ, quả bị hư và quả không bị hư. Đối với quả không bị hư tiến hành bóc vỏ quả kiểm tra độ chắc lép của hạt bên trong → đếm số quả chắc, lép → tính tỷ lệ quả chắc và quả lép.

Tỷ lệ chắc – lép của hạt:

+ Tiến hành thu quả, tiến hành bóc vỏ quả thu được 200 hạt → đếm số hạt chắc và hạt lép. Tính tỷ lệ hạt chắc và hạt lép.

+ Thí nghiệm nghiên cứu tỷ lệ chắc lép của quả và hạt được lập lại 3 lần tương ứng với số đợt nghiên cứu tỷ lệ nảy mầm.

Nghiên cứu khả năng sống của phôi:

Sử dụng phẩm nhuộm cacmin indigo 0,2% trong 2 giờ để kiểm tra sự bắt màu của phôi. Thí nghiệm được lập lại ba lần, mỗi lần tiến hành 30 hạt.

Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của loài cóc đỏ

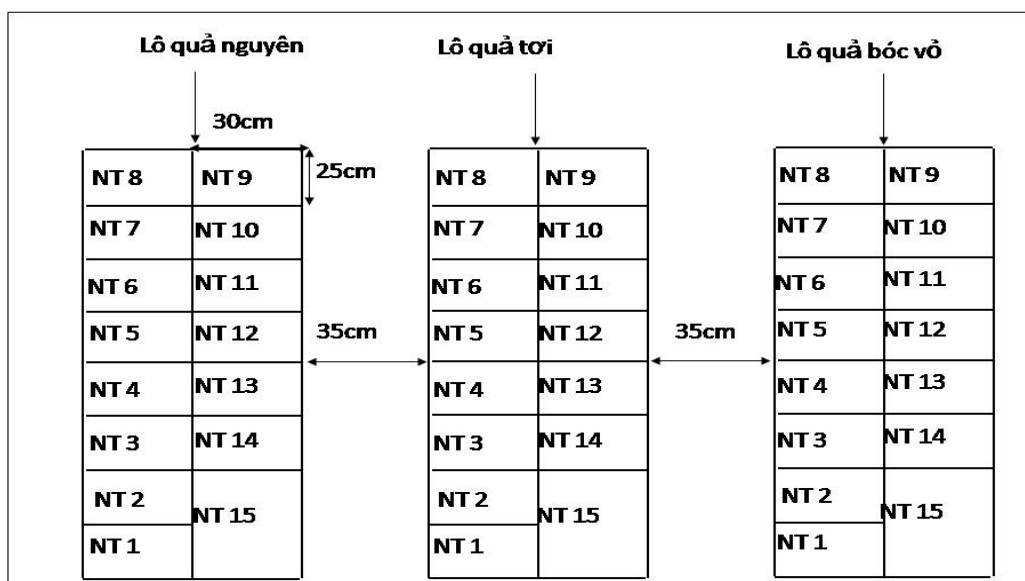
Quá trình phát triển của vỏ quả, hạt Cóc đỏ:

Đối với quá trình phát triển của vỏ quả tiến hành đánh dấu các giai đoạn phát triển của quả ngoài thực địa, thu quả và tính thời gian các giai đoạn phát triển của quả → tiến hành cắt và nhuộm kép mẫu (theo phương pháp của Pauseva, 1974).

Đối với quá trình phát triển của hạt cũng tiến hành đánh dấu ngoài thực địa các giai đoạn phát triển của hạt tương ứng với các giai đoạn phát triển của bầu nhụy, thu hoa, quả ngoài thực địa → bóc vỏ quả và đưa lên kính lúp quan sát các giai đoạn phát triển của hạt.

Tỷ lệ nảy mầm của hạt trong quả Cóc đỏ dưới tác động của axit Gibberellic.

Chuẩn bị lô thí nghiệm: Các lô thí nghiệm được bố trí theo sơ đồ Hình 1, như sau:



Hình 1: Sơ đồ bố trí thí nghiệm

Chuẩn bị quả: Đối với quả nguyên, chọn những quả chín, chắc để tiến hành thí nghiệm. Quả tươi dùng rổ chà để cho các sợi cương mô của vỏ quả tách rời nhau ra. Quả bóc vỏ tiến hành bóc vỏ quả ngoài và vỏ quả giữa.

Xử lý các nghiệm thức (NT): NT1 (Đối chứng) quả được ngâm 1h trong nước thường; NT2 (2 sôi + 3 lạnh); NT3 đến NT15 (Xử lý GA trong 1h) tương ứng với GA từ nồng độ 0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7-0,8-0,9-1,0-3,0-5,0-10 ppm. Sau khi xử lý đem gieo quả trên đất tribat theo đúng từng lô thí nghiệm. Mỗi NT được lập lại ba lần, lần 1 (01/10/2009) – lần 2 (1/12/2009) – lần 3 (25/12/2009).

Nghiên cứu sinh trưởng cây con sau khi vào bầu

Sau khi cây cóc đỏ nảy mầm được khoảng 30 ngày lúc đó cây có chiều cao trung bình 1,3-1,5 cm thì tiến hành bứng cây con vào bầu (kích thước bầu 14-24 cm) và chăm sóc cây con trong vườn ươm.

Thành phần đất vào bầu (Đất 40%, cát 10%, tro trấu 30%, xơ dừa, phân bò 20%).

Sau khi bứng cây con vào bầu, hàng ngày dùng dung dịch dinh dưỡng (Kimura'B và cộng sự, 1989) để tưới cho cây con.

Nghiên cứu tỷ lệ sống của cây con sau khi vào bầu: Đếm số lượng cây con một tháng một lần, tính tỷ lệ sống cây con.

Theo dõi sự tăng trưởng chiều cao của thân cây con sau khi vào bầu:

Tiến hành đo chiều cao thân cây con 1 tháng 1 lần, tăng trưởng chiều cao thân được tính theo công thức: $\Delta H = H_{n+1} - H_n$ (H_n , H_{n+1} : Chiều cao đo ở lần thứ n, n + 1)

Xử lý số liệu: Ứng dụng thống kê toán học trong sinh học và phần mềm Excel 2003 để xử lý số liệu thí nghiệm.

II. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

1. Khả năng tái sinh tối đa (theo lý thuyết) của quả Cóc đỏ

Tỷ lệ chắc lép của quả và hạt, tỷ lệ sống của phôi cho biết khả năng tái sinh của quả. Từ đó có thể tính được tỷ tái sinh tối đa của quả cóc đỏ trong điều kiện tự nhiên, đồng thời qua tỷ lệ chắc lép này còn cho biết khả năng bảo quản quả nếu tỷ lệ lép cao hơn tỷ lệ chắc có nghĩa số lượng những quả và hạt bị hư, bị sâu nhiều sẽ gây khó khăn cho việc cất trữ quả.

Tỷ lệ chắc – lép của quả và hạt

Tỷ lệ chắc – lép của quả, hạt Cóc đỏ

Kết quả nghiên cứu tỷ lệ chắc lép của quả, hạt Cóc đỏ được trình bày trong Bảng 1 sau:

Bảng 1

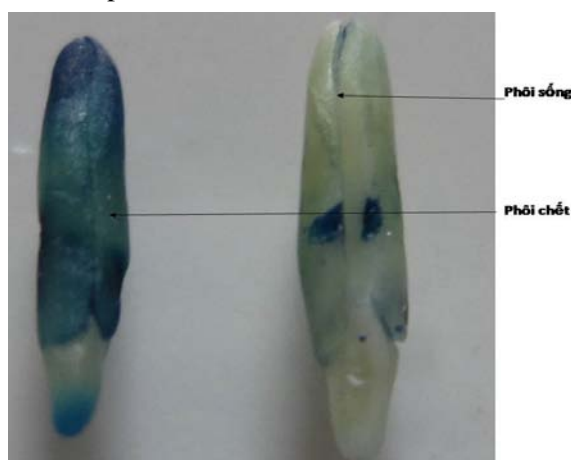
Tỷ lệ quả chắc và quả lép

	Tỷ lệ % quả chắc	Tỷ lệ % quả lép	Tỷ lệ % hạt chắc	Tỷ lệ % hạt lép
Lần 1	38,93	61,07	68	32
Lần 2	41,97	58,03	66	34
Lần 3	43,70	56,29	72	28
Trung bình	41,53 ± 1,96	58,47 ± 1,98	68,67 ± 2,94	31,33 ± 2,94

Qua Bảng 1 nhận thấy tỷ lệ quả chắc thấp hơn so với tỷ lệ quả lép. Tỷ lệ quả chắc chiếm 41,53 ± 1,96% trong khi đó tỷ lệ quả lép chiếm 58,47 ± 1,98%; Tỷ lệ hạt chắc chiếm tỷ lệ 68,67 ± 2,94% cao hơn so với tỷ lệ quả lép chiếm 31,33 ± 2,94%.

Nghiên cứu khả năng sống của phôi

Sự bắt màu của phôi đối với phẩm nhuộm camin indigo 0,2% cho ta biết khả năng sống của phôi do tế bào thực vật có cấu trúc màng là màng kép gồm 2 lớp photpholipit và ở giữa chèn các phân tử protein màng. Màng tế bào có tác dụng như một hàng rào chọn lọc kiểm soát các ion và phân tử qua lại giữa các tế bào và môi trường xuyên qua màng. Khi tế bào chết thì chức năng thẩm chọn lọc của màng không còn nữa. Khi đó các chất có thể qua lại màng một cách tự do. Phôi sống là phôi sau khi nhuộm không bắt màu xanh của phẩm nhuộm, phôi chết là phôi sau khi nhuộm sẽ có màu xanh của phẩm nhuộm.



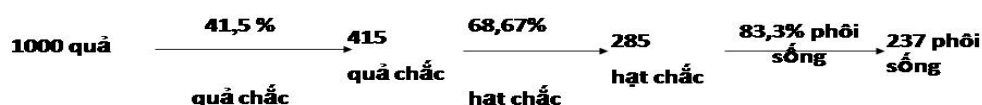
Hình 2: Phôi cóc đỏ sau khi kiểm tra khả năng sống

Kết quả kiểm tra khả năng sống của phôi được trình bày trong Bảng 2 sau:

Bảng 2

Tỷ lệ sống của phôi		
	Tỷ lệ phôi sống (%)	Tỷ lệ phôi chết (%)
Lần 1	83,3	16,7
Lần 2	80	20
Lần 3	86,7	13,3
Trung bình	83,3 ± 2,74	16,7 ± 2,74

Sau khi tính được tỷ lệ chắt lép của quả, hạt và tính tỷ lệ sống của phôi chúng tôi tính được tỷ lệ tái sinh tối đa theo lý thuyết của quả cóc đỏ như sau:



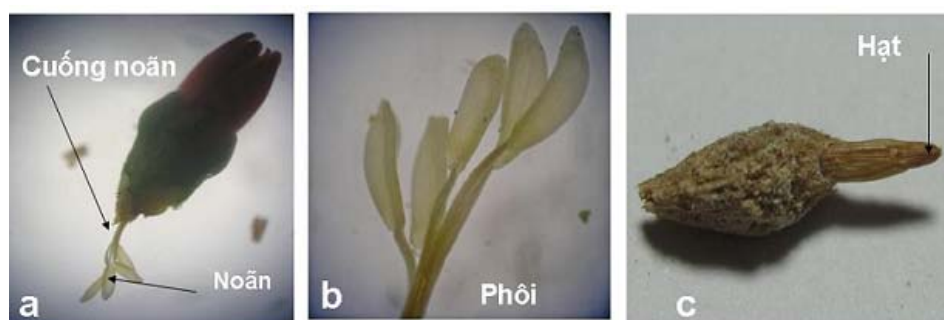
Như vậy tỷ lệ tái sinh tối đa (theo lý thuyết) của quả cóc đỏ là 23,7%. Nhưng trong 23,7% quả này không phải tất cả đều nảy mầm vì khả năng nảy mầm của quả cóc đỏ còn phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện ngoại cảnh.

2. Nghiên cứu hiện tượng học sinh sản của loài cóc đỏ

Thời gian các giai đoạn phát triển của quả

Thời gian từ khi chồi của cụm hoa mới được hình thành cho đến khi hoa nở từ 48 – 54 ngày, thời gian từ khi hoa bắt đầu nở cho đến khi hoa thụ tinh hình thành quả non là 8 – 10 ngày, từ quả non để quả phát triển thành quả già mất 18 – 20 ngày và từ quả già để thu được quả chín, rụng cần thêm khoảng thời gian từ 5 – 7 ngày. Như vậy, tổng thời gian cần thiết cho sự phát triển của quả cóc đỏ từ khi hình thành chồi hoa cho đến khi quả chín rụng là 79 – 91 ngày.

Quá trình phát triển của hạt



Hình 3: Các giai đoạn phát triển của hạt Cóc đỏ

a. Nụ hoa b. Hoa đã rụng cánh hoa c. Quả chín

Qua quá trình nghiên cứu phôi cóc đỏ chúng tôi nhận thấy cóc đỏ là loài đa phôi. Trong quá trình quan sát quả cóc đỏ ở giai đoạn trước thụ tinh chúng tôi nhận thấy có từ 3 – 5 noãn. Khi tiến hành bóc vỏ quả sau khi thụ tinh và quan sát thì trong quả vẫn có từ 3 – 5 phôi, nhưng khi già trong quả chỉ có tối đa một phôi. Điều này chứng tỏ trong quá trình phát triển có lẽ do noãn

không được thụ tinh hay sự tiêu giảm số lượng phôi của quả cóc đỏ do không cung cấp đủ chất dinh dưỡng cho phôi phát triển?!

3. Khả năng nảy mầm của quả dưới tác động của GA

Bảng 3

Kết quả nảy mầm của quả Cóc đỏ ở các nghiệm thức

Nghiệm thức	Quả nguyên		Quả tươi		Quả bóc vỏ		
	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Số ngày bắt đầu nảy mầm	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Số ngày bắt đầu nảy mầm	Tỷ lệ % nảy mầm	Số ngày bắt đầu nảy mầm	
NT1	0,83 ± 0	13,67 ± 0	3,33 ± 1,2	31 ± 4,9	5 ± 2,5	7 ± 1	
NT2	4,17 ± 2,36	32,33 ± 6,9	4,17 ± 1,2	22,3 ± 2,3	7,5 ± 2	9 ± 0,81	
GA3	NT3	0	0	3,33 ± 1,2	26,33 ± 3,3	7,5 ± 4	9,33 ± 0,8
	NT4	4,16 ± 2,36	33 ± 6,98	4,16 ± 1,2	22,33 ± 2,4	12,5 ± 2	7,67 ± 0,5
	NT5	5 ± 2,04	30,67 ± 4,7	4,16 ± 3,1	14,33 ± 10	17,5 ± 2	7,67 ± 0,5
	NT6	5,83 ± 3,11	32 ± 2,82	10 ± 2,04	18,33 ± 4,9	22,5 ± 2	7,67 ± 0,5
	NT7	6,67 ± 3,11	29 ± 7,07	10,83 ± 4	23 ± 2,94	12,5 ± 2	9 ± 0,81
	NT8	6,67 ± 4,25	25,33 ± 1,9	12,5 ± 3,1	18,33 ± 4,9	6,67 ± 3	10,7 ± 0,9
	NT9	9,17 ± 2,35	22,33 ± 2,4	16,67 ± 3	16,67 ± 3,3	9,17 ± 1	10 ± 2,94
	NT10	12,5 ± 2,04	20,67 ± 2,4	20 ± 2,04	15,33 ± 6,2	6,67 ± 3	9 ± 0,81
	NT11	6,67 ± 3,11	25,67 ± 6,2	7,5 ± 4,08	19,67 ± 3,3	8,33 ± 3	9,33 ± 2,1
	NT12	6,67 ± 3,12	33 ± 6,97	7,5 ± 4,08	19,67 ± 3,3	7,5 ± 2	10,33 ± 1
	NT13	5 ± 2,04	26,33 ± 5,6	5 ± 2,04	21,33 ± 2	4,17 ± 1	10,33 ± 1
	NT14	1,67 ± 0	11,33 ± 0	4,16 ± 2,4	22,33 ± 2,4	0	0
	NT15	0,83 ± 0	13,67 ± 0	2,5 ± 2,04	15 ± 10,67	0	0

Qua kết quả nghiên cứu ở Bảng 3, cho thấy:

Xử lý nhiệt độ và tác nhân kích thích GA ở các NT đều cho tỷ lệ nảy mầm cao hơn đối chứng. Như vậy nhiệt độ và GA đều có ảnh hưởng đến khả năng nảy mầm của quả cóc đỏ, nhưng khi xử lý GA ở hầu hết các NT đều cho tỷ lệ nảy mầm cao hơn so với xử lý nhiệt độ. Điều này chứng tỏ hiệu quả tác động của GA cao hơn so với xử lý nhiệt độ.

Đối với quả tươi, các NT xử lý GA thì tỷ lệ nảy mầm của quả luôn cao hơn so với đối chứng. Trong đó, tỷ lệ nảy mầm của quả cóc đỏ tươi cao nhất ở NT10 (nồng độ GA 0,8ppm) đạt 20 ± 2,04%. Nồng độ này cũng là nồng độ thích hợp nhất cho quả cóc đỏ nguyên nảy mầm nhưng tỷ lệ nảy mầm của quả cóc đỏ nguyên chỉ đạt 12,5%. Số ngày quả cóc đỏ tươi bắt đầu nảy mầm ở các NT đều thấp hơn so với quả nguyên. Kết quả này là phù hợp vì ở quả cóc đỏ nguyên vỏ quả liên kết rất chặt làm cho nước, GA và oxi không ngấm vào bên trong hạt do đó làm hạn chế quá trình nảy mầm và làm kéo dài thời gian bắt đầu nảy mầm của quả cóc đỏ nguyên.

Quả cóc đỏ bóc vỏ, NT6 (GA 0,4 ppm) thì tỷ lệ nảy mầm của hạt đạt tỷ lệ cao nhất 22,5 ± 2,04% trong số các NT thí nghiệm. Bởi vì, quả cóc đỏ đã bóc vỏ nên GA và nước có thể ngấm vào bên trong hạt dễ dàng hơn nên chỉ cần nồng độ GA thấp (0,4 ppm) đã là nồng độ thích hợp cho sự nảy mầm của quả cóc đỏ bóc vỏ.

4. Sinh trưởng của cây cóc đỏ con sau khi vào bầu

Tỷ lệ sống của cây cóc đỏ con sau khi bứng vào bầu:

Bảng 4

Tỷ lệ sống của cây cóc đỏ con sau khi bứng vào bầu

Tháng tuổi	Số cây con còn sống	Tỷ lệ sống (%)
Ban đầu	69	
Tháng 1	60	86,95
Tháng 2	54	90
Tháng 3	52	93,6

Tỷ lệ sống của cây con tăng dần qua các tháng thí nghiệm. Kết quả là phù hợp vì ở giai đoạn còn non khả năng chống chịu của cây cóc đỏ con với tác động của điều kiện môi trường kém, thân cây cóc đỏ con lại rất yếu nên dễ bị gãy, dập khi có mưa lớn làm cho cây chết. Số tháng tuổi càng tăng thì khả năng chống chịu của cây con càng cao do đó tỷ lệ sống tăng.

Theo dõi sự tăng trưởng chiều cao của thân cây con sau khi vào bầu:

Bảng 5

Tốc độ tăng trưởng chiều cao của thân cây con sau khi vào bầu

Tháng tuổi	Số lượng	H (cm)	ΔH (cm)
0	69	1,39 \pm 0,73	
1	61	2,35 \pm 0,99	0,96
2	55	4,90 \pm 1,11	2,55
3	53	7,31 \pm 1,22	2,40

Tốc độ tăng trưởng về chiều cao của cây cóc đỏ con được trình bày trong bảng 4 cho thấy: Tốc độ tăng trưởng về chiều cao của cây cóc đỏ con được tưới nước ngọt và dung dịch dinh dưỡng có sự gia tăng theo thời gian. Kết quả là phù hợp, vì cây càng lớn thì quá trình trao đổi chất trong cây diễn ra càng mạnh và hoạt động tổng hợp, tạo mới các cấu trúc bên trong tế bào, mô và toàn bộ cây diễn ra nhanh dẫn đến sự sinh trưởng về kích thước, về sinh khối nhờ đó mà cây lớn lên.

III. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận: Cóc đỏ là loài đa phôi thường có 3 – 5 phôi, nguyên nhân là do sự tăng trưởng của nhiều noãn trong cùng bầu nhụy và trong quá trình phát triển có sự tiêu giảm số lượng phôi để khi quả cóc đỏ già và chín thì trong mỗi quả chỉ còn tối đa một hạt. Vỏ quả có ảnh hưởng đến thời gian nảy mầm và tỷ lệ nảy mầm trung bình của quả cóc đỏ ở các NT. Xử lý nhiệt độ và GA đều làm tăng khả năng nảy mầm của quả cóc đỏ nhưng NT thích hợp nhất cho sự nảy mầm của quả cóc đỏ nguyên và tôi là xử lý GA với nồng độ 0,8ppm. Khi đó tỷ lệ nảy mầm trung bình của quả cóc đỏ nguyên là 12,5 \pm 2,04% và quả cóc đỏ tôi là 20 \pm 2,04%. Đối với quả cóc đỏ bóc vỏ NT kích thích sự nảy mầm đạt tỷ lệ cao nhất 22,5% là xử lý GA với nồng độ 0,4ppm. Qua quá trình theo dõi sự tăng trưởng của cây cóc đỏ con sau khi vào bầu chúng tôi nhận thấy trong môi trường nước ngọt và được tưới dung dịch dinh dưỡng cây cóc đỏ con có tỉ lệ sống đạt 75,35%, cây vẫn có khả năng sinh trưởng tốt.

2. Đề nghị: Cóc đỏ (*Lumnitzera littorea*) là loài có tên trong sách đỏ Việt Nam với cấp bảo động V, tỷ lệ tái sinh trong tự nhiên lại thấp. Đề cung cấp dẫn liệu làm cơ sở cho gia tăng nguồn

cây giống cho việc phục hồi và phát triển loài cây có nguy cơ tuyệt chủng này cần: Nghiên cứu cách bảo quản quả, từ đó có thể gia tăng tuổi thọ của quả, gia tăng tỷ lệ nảy mầm của quả trong điều kiện vườn ươm; Nghiên cứu nguyên nhân tiêu biến phôi trong quá trình phát triển của quả cóc đỏ, từ đó có các biện pháp tác động thích hợp làm nâng cao chất lượng quả, điều này có ý nghĩa rất lớn trong việc gia tăng số lượng cây con tái sinh của quả cóc đỏ trong điều kiện tự nhiên; Nghiên cứu ảnh hưởng của các tác nhân kích thích khác đến sự nảy mầm của quả cóc đỏ như nhiệt độ, ánh sáng... so sánh với các NT tác động GA từ đó tìm ra NT thích hợp nhất cho sự nảy mầm.

**STUDY ON GERMINATION OF *Lumnitzera littorea*
BY THE EFFECT OF GIBBERELIC ACID**

QUACH VAN TOAN EM, HO THANH XUAN

SUMMARY

Lumnitzera littorea is a mangrove species listed in the Red Book Data of Vietnam (2007). This tree has the slow growth rate, low natural survival rate (11.84 %). There is no thorough study on the germination of *Lumnitzera littorea*. The results show that the maximum regeneration rate is 23.7 %. The fruit shell affects the germination time and the average germination rate. Handling the temperature and GA will increase the germination, best at GA of 0.8 pp with the germination rate of the intact fruit of $12,5 \pm 2,04$ % and opened fruit of $20 \pm 2,04$ %. For the peeled fruit, processing GA at 0.4 ppm will induce germination with highest rate of 22.5 %.