

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH CHỒI TỪ HẠT CỦA CÂY CHÈ MÃ DỌ (*Camellia sinensis* var. *madoensis*)

Văn Thị Phương Như^{1,*}, Nguyễn Trần Vũ¹, Nguyễn Khánh Hy¹, Trịnh Thị Huy Trà¹

TÓM TẮT

Chè Mã Dọ (*Camellia sinensis* var. *madoensis*) là một giống chè địa phương phân bố ở tỉnh Phú Yên và Bình Định có giá trị dược liệu và thương phẩm cao. Hiện nay, số lượng cá thể tự nhiên của loài này đang đứng trước nguy cơ cạn kiệt do khai thác quá mức; do đó, phát triển nguồn giống loài cây này là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này, hạt chè Mã Dọ được thu thập và khử trùng với 10% Ca(OCl)₂ bổ sung Tween 20 trong thời gian 20, 30 và 40 phút để đánh giá hiệu quả khử trùng và là vật liệu để khảo sát ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên khả năng nhân nhanh chồi. Kết quả cho thấy, hạt chè Mã Dọ khử trùng với 10% Ca(OCl)₂ trong 40 phút cho hiệu quả khử trùng tối ưu với 100% mẫu sống và nảy mầm sau 10 tuần nuôi cấy. Ngoài ra, chồi đỉnh (1,5 cm) nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 4,0 mg/l BA, 0,8 mg/L IBA và 1,6 mg/L GA₃, 30 g/L sucrose và 7 g/L agar ghi nhận hiệu quả nhân nhanh chồi tới ưu với 8,5 chồi/mẫu cấy và 24, 25 lá so với các nghiệm thức khác sau 12 tuần nuôi cấy. Kết quả của nghiên cứu đã tạo được nguồn mẫu *in vitro* phục vụ công tác nhân giống và bảo tồn loài cây này.

Từ khóa: Chè Mã Dọ, nảy mầm, nhân nhanh chồi, khử trùng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, giâm hom vẫn là phương pháp nhân giống phổ biến nhất trên cây chè. Tuy nhiên, đối với một giống chè mới có phẩm chất tốt với số lượng cá thể ban đầu ít thì phương pháp này chưa mang lại hiệu quả như mong đợi. Vì vậy, nhân giống *in vitro* (nuôi cấy mô) sẽ là phương pháp tối ưu được lựa chọn vì chúng có thể đem lại hệ số nhân giống lớn và cây giống có độ ổn định cao về mặt di truyền. Các công trình nghiên cứu liên quan đến cây chè hiện nay đang tập trung cải thiện hệ số nhân chồi [1], ra rễ *in vitro* [2]. Tại Việt Nam, chè là một trong những cây có giá trị xuất khẩu cao và đứng thứ 5 trên thế giới [3]. Trong những năm gần đây, sản xuất chè ở nước ta có chiều hướng ổn định, năng suất và sản lượng ngày một tăng cao. Hơn nữa, các giống chè ở Việt Nam cũng rất đa dạng, từ các giống địa phương (Shan tuyết, chè hoa vàng, chè búp tím Trung du) đến các giống chè đã được thương mại (PH1, 1A, LDP1, LDP2, TRI 777, Shan Chát Tiên, Keo Am Tích,

Phúc Vân Tiên, Trung Du, Kim Tuyên, Thúy Ngọc, Ô Long Thanh Tâm) [4].

Trong số các loại chè địa phương hiện nay, chè Mã Dọ (*Camellia sinensis* var. *madoensis*) đang đứng trước nguy cơ cạn kiệt, số cây chè Mã Dọ tự nhiên chỉ còn một phần rất nhỏ do các nguyên nhân như: Khai thác quá mức, ô nhiễm môi trường... Chè Mã Dọ mọc tự nhiên rải rác ở khu vực đỉnh núi giáp ranh giữa tỉnh Phú Yên và Bình Định. Ngoài ra, chè Mã Dọ được người dân đưa về trồng tự phát nên sản lượng phục vụ cho tiêu dùng không cao. Trong khi nguồn giống tự nhiên của chè Mã Dọ tại địa phương phục vụ cho công tác nhân giống bằng phương pháp truyền thống như giâm hom hiện rất hạn chế về số lượng cá thể cây mẹ, chất lượng không đồng đều. Việc ứng dụng kỹ thuật nhân giống *in vitro* nhằm giảm thiểu nguy cơ hư hỏng nguồn vật liệu, tối ưu hóa được hiệu quả nhân nhanh, đảm bảo nguồn giống ổn định về chất lượng và số lượng là yêu cầu tất yếu đặt ra. Cho đến nay, nhân giống *in vitro* vẫn chưa được áp dụng trên cây chè Mã Dọ. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát bước đầu tạo nguồn vật liệu *in vitro* ban đầu, khảo sát phương pháp nhân nhanh chồi *in vitro* tạo số

¹ Trường Đại học Phú Yên

* Email: vanthiphuongnhu@pyu.edu.vn

lượng lớn nguồn mẫu giống phục vụ công tác nhân giống và bảo tồn loài cây này trong các nghiên cứu tiếp theo.

2. THỜI GIAN, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 10/2020 – 2/2023.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

Quả chè Mã Dọ (*Camellia sinensis* var. *madoensis*) được thu thập từ những cây chè mọc tự nhiên trên vùng núi đồi Cù Mông thuộc Ban Quản lý Rừng phòng hộ huyện Sông Cầu, tỉnh Phú Yên. Chọn các quả chín sinh lý, không bị lép và không bị sâu, bệnh sử dụng làm vật liệu ban đầu cho thí nghiệm.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thu mẫu

Chọn các quả chè Mã Dọ (*Camellia sinensis* var. *Madoensis*) chín sinh lý, không bị lép và không bị sâu, bệnh sử dụng làm vật liệu ban đầu cho thí nghiệm.

2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của hóa chất và thời gian khử trùng lên khả năng nảy mầm của hạt chè Mã Dọ

Quả chè được rửa sạch dưới vòi nước chảy khoảng 30 phút để loại bỏ bụi bẩn, sau đó được

rửa trong nước xà phòng loãng Sunlight trong khoảng 6 - 8 phút và rửa lại dưới vòi nước chảy trong 1 giờ để khử trùng sơ bộ. Sau khi rửa sạch, cho mẫu vào bình tam giác, rửa lại bằng nước cất 3 - 4 lần và đậy kín. Trong tủ cấy vô trùng, quả chè được cho vào bình tam giác 250 ml vô trùng chứa cồn 70° trong 30 giây và rửa lại bằng nước cất vô trùng 3 lần. Sau đó, quả chè được khử trùng với 10% canxi hypochlorite ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$) bổ sung thêm 2 giọt Tween 20 trong thời gian 20, 30 và 40 phút để đánh giá hiệu quả khử trùng. Quả chè sau khi khử trùng với 10% $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ được rửa lại bằng nước cất vô trùng và hạt chè được tách vỏ sành, thu nhận lá mầm và phôi (Hình 1). Mẫu lá mầm và phôi được nuôi cấy trên trường MS cơ bản bổ sung 0,5 mg/L BA, 30 g/L sucrose và 7 g/L agar. Số liệu ghi nhận sau 10 tuần nuôi cấy bao gồm tỷ lệ mẫu sống (%) và số hạt nảy mầm (hạt). Số lượng mẫu hạt sử dụng là 7 hạt/nghiệm thức, lặp lại 3 lần. Mẫu hạt được xử lý theo quy trình và nuôi cấy trong bình thủy tinh 500 ml chứa môi trường nuôi cấy, bố trí thí nghiệm hoàn toàn ngẫu nhiên.

Tỷ lệ mẫu sống trung bình (%) = (số phôi còn xanh, phát triển/số phôi thí nghiệm) x 100%.

Số hạt nảy mầm trung bình (hạt) = (số hạt có phôi nảy mầm/3 lần lặp lại thí nghiệm).



Hình 1. Quả, hạt và lá mầm chứa phôi chè Mã Dọ

2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên hiệu quả nhân nhanh chồi chè Mã Dọ

Các chồi đỉnh (1,5 cm) thu nhận từ chồi *in vitro* nảy mầm từ hạt được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thực vật (CĐHSTTV) ở nồng độ khác nhau (Bảng 1) và 30 g/L sucrose, 7 g/L agar, điều chỉnh pH về

5,8 để khảo sát khả năng nhân nhanh của chồi chè Mã Dọ. Mẫu chồi đỉnh được cấy trong bình tam giác 250 ml, 3 chồi/bình, mỗi nghiệm thức 3 bình, lặp lại 3 lần. Sau 12 tuần nuôi cấy, các chỉ tiêu theo dõi gồm số chồi trung bình/mẫu (chồi), số lá trung bình/cụm chồi (lá), chiều cao chồi trung bình (mm), khối lượng tươi (mg), khối lượng khô (mg) và hình thái mẫu cấy được ghi nhận.

Bảng 1. Nồng độ các CĐHSTTV và sử dụng trong thí nghiệm nhân nhanh chồi chẻ Mã Dọ

Thí nghiệm	Nồng độ các CĐHSTTV (mg/L)		
	<i>BA</i>	<i>IBA</i>	<i>GA₃</i>
M1	-	0,5	1,0
M2	1,0	0,2	0,4
M3	1,0	0,2	1,6
M4	1,0	0,8	0,4
M5	1,0	0,8	1,6
M6	2,5	-	1,0
M7	2,5	0,5	-
M8	2,5	0,5	1,0
M9	2,5	0,5	2,0
M10	2,5	1,0	1,0
M11	4,0	0,2	0,4
M12	4,0	0,2	1,6
M13	4,0	0,8	0,4
M14	4,0	0,8	1,6
M15	5,0	0,5	1,0

2.3.4. Điều kiện nuôi cấy

Mẫu cấy được nuôi trong phòng nuôi cấy với nhiệt độ khoảng $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm tương đối 50 - 55%, đặt dưới ánh sáng đèn huỳnh quang với quang chu kỳ 14 giờ/ngày và cường độ chiếu sáng 25 - 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$.

2.3.5. Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên và lặp lại 3 lần. Số liệu thu nhận được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và phần mềm SPSS 20.1 với phép thử Duncan (mức ý nghĩa $p < 0,05$).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hóa chất và thời gian khử trùng lên khả năng nảy mầm của hạt chè Mã Dọ

Thủy ngân chlorite (HgCl_2), $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ và natrium hypochlorite (NaClO) thường được biết đến là các chất khử trùng bề mặt được sử dụng phổ biến trong nuôi cấy mô. Tuy nhiên, HgCl_2 có

độc lực cao, dễ bay hơi, gây nguy hiểm cho người sử dụng và môi trường. Trong khi đó, NaClO có hiệu quả khử trùng tương đương với $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, tuy nhiên NaClO có khả năng gây độc cho thực vật [5]. Vì vậy, nghiên cứu này lựa chọn $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ được sử dụng làm chất khử trùng mẫu cấy.

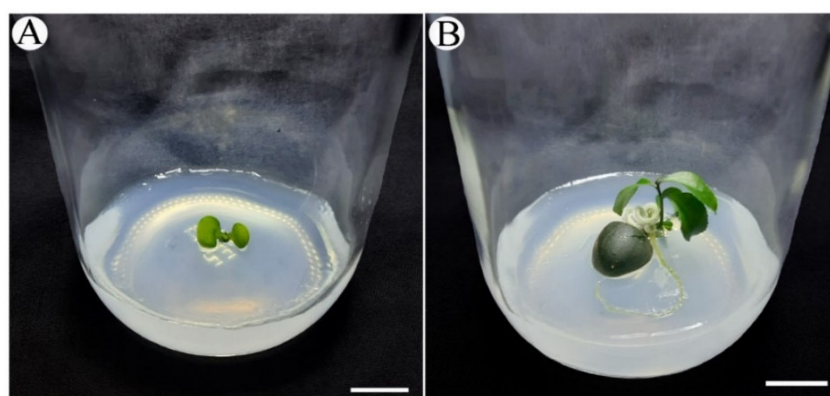
Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến tỷ lệ sống và nảy mầm của hạt chè Mã Dọ sau 10 tuần nuôi cấy

Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống trung bình (%)	Số hạt nảy mầm trung bình (hạt)
20	14,29 [*]	1,00 ^b
30	28,57 ^b	2,00 ^b
40	100,00 ^a	7,00 ^a

Ghi chú: Những chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $p < 0,05$ theo phép thử Duncan.

Bảng 2 cho thấy, tỷ lệ mẫu sống tỷ lệ thuận với thời gian khử trùng. Cụ thể, tỷ lệ mẫu sống lần lượt là 14,29, 28,57 và 100% (tương ứng 20, 30 và 40 phút). Sau 4 tuần nuôi cấy, lá mầm từ các hạt chè không nhiễm đều chuyển sang màu xanh (Hình 2A) và phát triển thành cây con sau 10 tuần nuôi cấy (Hình 2B). Ở các nghiệm thức thời gian khử trùng là 20 và 30 phút, tỷ lệ hạt chè còn sống trung bình chuyển xanh khá thấp để nảy mầm, chiếm 14,29 và 28,57%, tương ứng số hạt có thể nảy mầm được từ số phơi hạt còn sống này lại là rất thấp, 1 -

2 hạt. Từ thực nghiệm cho thấy, số mẫu nhiễm nấm và khuẩn tạp ở 2 nghiệm thức trên chiếm tỷ lệ cao, là nguyên nhân chính gây chết mẫu. Số hạt chè nảy mầm ở ba nghiệm thức cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê; trong đó, hạt chè được khử trùng với 10% $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ trong 40 phút, ghi nhận 7,00 hạt nảy mầm (đạt 100%), cao hơn so với hai nghiệm thức còn lại (Bảng 2). Điều này chứng tỏ thời gian khử trùng mẫu là 40 phút không gây ảnh hưởng nhiều đến sức sống và khả năng nảy mầm của hạt.



Hình 2. Mẫu hạt chè vô trùng được xử lý bằng 10% $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ trong 40 phút

A. Hạt chè sau 4 tuần nuôi cấy; B. Chồi nảy mầm từ hạt chè sau 10 tuần nuôi cấy (Thanh bar: 1 cm).

Trong một nghiên cứu về cây chè *Camellia piquetiana*, khử trùng hạt với 7% $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ trong 20 phút ghi nhận tỷ lệ nảy mầm đạt 100% sau 30 ngày nuôi cấy [6]. Ngoài ra, hạt chè hoa vàng được khử trùng với 7% NaClO trong 30 phút ghi nhận hiệu quả khử trùng tối ưu cho tỷ lệ nhiễm là 0% với 100% mẫu sống và nảy mầm sau 12 tuần nuôi cấy [7]; trong khi đó, hạt chè *Camellia sinensis* khử trùng bằng 4% NaOCl trong 10 phút cho hiệu quả cao hơn các nồng độ chất khử trùng khác được chọn làm phương pháp xử lý mẫu hạt cho nuôi cấy nảy chồi trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS sau 8 tuần nuôi cấy [8]. Do đó, mỗi loài thực vật đáp ứng với loại, nồng độ chất khử trùng và thời gian khử trùng là khác nhau. Từ kết quả thu được trong nghiên cứu này cho thấy, hạt chè Mã Dọ được khử trùng với 10% $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ trong 40 phút là phù hợp để tạo vật liệu chè Mã Dọ vô trùng phục vụ mục đích nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của CĐHSTTV lên hiệu quả nhân nhanh chồi chè Mã Dọ

Kết quả cho thấy tác động tổng hợp của BA, IBA và GA_3 lên khả năng nhân chồi chè Mã Dọ (Bảng 3 và hình 3). Số lượng chồi mới được hình thành tăng dần khi tỷ lệ BA – IBA chênh lệch cao. Ở các nghiệm thức tỷ lệ cytokinin cao hơn auxin từ 5 - 10 lần (M7, M8, M9, M13, M14 và M15) đều cho thấy sự hình thành chồi mới tốt hơn các nghiệm thức còn lại. Nghiệm thức M14 (4,0 mg/l BA, 0,8 mg/L IBA và 1,6 mg/L GA_3) ghi nhận 8,5

chồi/mẫu cấy và 24, 25 lá, đạt hiệu quả nhất so với các nghiệm thức khác. Các chỉ tiêu hình thái ở nghiệm thức này như chiều cao chồi (2,18 cm), khối lượng tươi (137,25 mg) và khối lượng khô (20,93 mg) không có khác biệt so với các nghiệm thức còn lại. Do đó, môi trường nuôi cấy MS bổ sung 4,0 mg/L BA, 0,8 mg/L IBA và 1,6 mg/L GA_3 (M14) là phù hợp cho nhân nhanh chồi chè Mã Dọ.

Việc sử dụng cytokinin nồng độ cao trong thời gian dài có khả năng gây ảnh hưởng tiêu cực đến chiều cao mẫu cấy. Sự hiện diện của GA_3 trong môi trường nuôi cấy nhằm mục đích hỗ trợ cho quá trình kéo dài chồi, làm tăng chiều cao chồi. Tuy nhiên, trong thí nghiệm này, GA_3 không thể hiện tác động rõ ràng. Ở nghiệm thức M1, trong môi trường không có hiện diện của BA, GA_3 có ảnh hưởng lớn đến chiều cao của chồi và chồi có chiều cao lớn nhất (3,08 cm) khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức khác. Ở các nghiệm thức có bổ sung GA_3 ở nhiều mức nồng độ khác nhau, chiều cao chồi không có sự khác biệt với nhau và không có khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức không bổ sung GA_3 . Tác động của BA và GA_3 ở dòng chè Iran 100 cho thấy, không có sự tương tác đáng kể giữa hai CĐHSTTV này [1]. Tổ hợp CĐHSTTV 5 mg/L BA và 1 mg/L GA_3 bổ sung vào môi trường MS cũng được lựa chọn là môi trường tối ưu để thực hiện nhân nhanh đối với chồi đỉnh trà Hoa vàng với hệ số nhân chồi 3,2 lần sau 8 tuần nuôi cấy [7].

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ BA, IBA và GA_3 lên khả năng nhân chồi chè Mã Dọ sau 12 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	Số chồi trung bình/mẫu	Số lá trung bình /cụm chồi	Chiều cao chồi trung bình (cm)	Khối lượng tươi (mg)	Khối lượng khô (mg)	Hình thái mẫu cấy
M1	1,00 ^{d*}	9,50 ^{de}	3,08 ^a	104,00 ^{bc}	25,23 ^{a-d}	Chồi cao, mập, lá mở, màu xanh đậm
M2	3,25 ^{cd}	11,00 ^{cde}	1,83 ^d	119,00 ^{bc}	22,23 ^{b-e}	Chồi mập, lá mở, màu xanh đậm

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

M3	5,25 ^{abc}	13,50 ^{b-e}	2,49 ^{a-d}	119,75 ^{bc}	21,78 ^{b-e}	Chồi cao, mập, lá mở, màu xanh đậm
M4	4,25 ^{bcd}	16,25 ^{b-e}	2,95 ^{ab}	187,75 ^a	31,35 ^a	Chồi cao, mập, lá mở, màu xanh đậm
M5	3,50 ^{bcd}	12,00 ^{cde}	2,71 ^{abc}	132,50 ^{abc}	25,18 ^{a-d}	Chồi cao, mập, lá mở, màu xanh đậm
M6	4,50 ^{bcd}	12,25 ^{cde}	2,21 ^{bcd}	93,75 ^c	16,00 ^{de}	Chồi rõ, lá mở, phiến lá hẹp, màu xanh đậm
M7	6,50 ^{abc}	17,25 ^{a-d}	2,24 ^{a-d}	124,50 ^{bc}	18,93 ^{b-e}	Chồi mập, lá mở, màu xanh đậm
M8	5,63 ^{abc}	17,29 ^{a-d}	2,29 ^{a-d}	113,21 ^{bc}	18,51 ^{b-e}	Chồi mập, lá mở, màu xanh đậm
M9	6,00 ^{abc}	21,25 ^{ab}	2,03 ^{cd}	131,50 ^{abc}	21,20 ^{b-e}	Chồi mảnh, lá mở nhẹ, màu xanh hơi vàng
M10	5,00 ^{abc}	13,25 ^{cde}	2,68 ^{a-d}	105,00 ^{bc}	17,38 ^{cde}	Chồi rõ, lá mở, phiến lá hẹp, màu xanh hơi vàng
M11	2,75 ^{cd}	9,25 ^e	2,39 ^{a-d}	117,75 ^{bc}	21,13 ^{b-e}	Chồi rõ, lá mở, màu xanh đậm
M12	5,50 ^{abc}	18,50 ^{abc}	2,43 ^{a-d}	167,00 ^{ab}	26,13 ^{abc}	Chồi mập, lá mở, màu xanh hơi vàng
M13	5,75 ^{abc}	14,75 ^{b-e}	1,99 ^{cd}	92,25 ^c	14,50 ^e	Chồi mập, lá mở, màu xanh đậm
M14	8,50 ^a	24,50 ^a	2,18 ^{bcd}	137,25 ^{abc}	20,93 ^{b-e}	Nhiều chồi, chồi mập, lá mở, màu xanh hơi vàng
M15	7,25 ^{ab}	21,25 ^{ab}	2,31 ^{a-d}	160,25 ^{ab}	26,88 ^{ab}	Nhiều chồi, chồi mập, lá mở, màu xanh hơi vàng

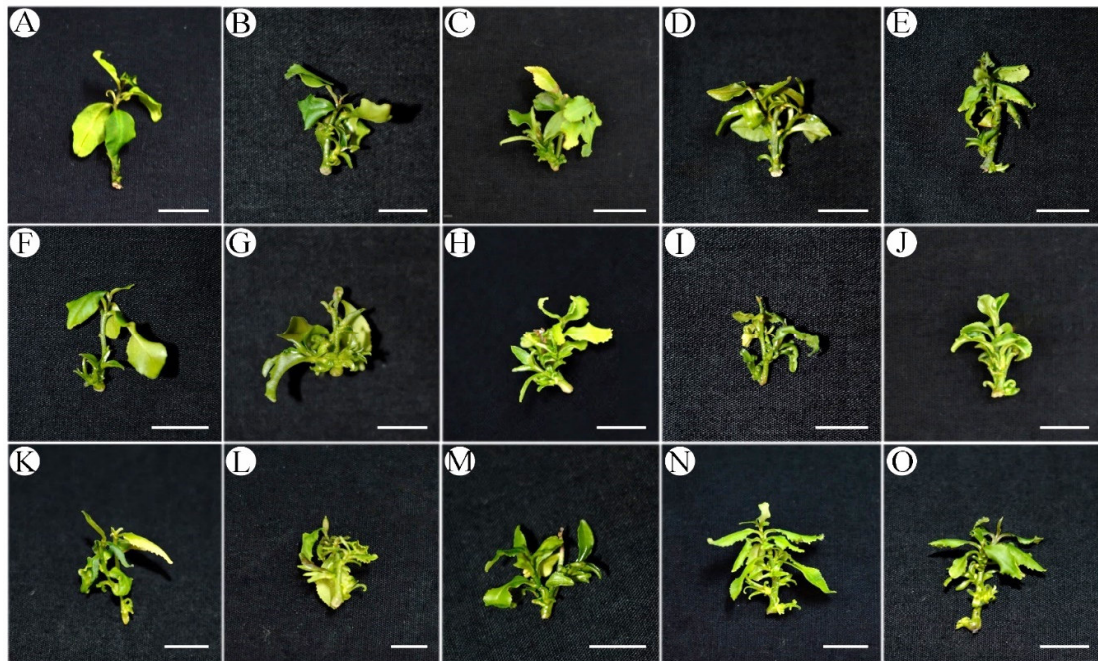
Ghi chú: Những chữ cái khác nhau trên cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $p < 0,05$ theo phép thử Duncan.

Trong số các CĐHSTTV khác nhau, việc bổ sung BA (1 - 6 mg/L) và IBA (0,01 - 2,0 mg/L) hoặc NAA (0,01 - 2,0 mg/L) trong môi trường nuôi cấy là phù hợp cho quá trình nhân nhanh [8]. Điều này phù hợp với kết quả của nghiên cứu này. Một

nghiên cứu khác trên chè *Camellia sinesis* chỉ ra rằng môi trường MS bổ sung 3,0 mg/L BA kết hợp với 0,5 mg/L IBA mang lại hiệu quả nhân nhanh cao [1]. Mặc dù nồng độ CĐHSTTV thấp hơn, nhưng nghiên cứu này không đánh giá tác

động của GA₃ lên hiệu quả nhân nhanh chồi. Tác động của GA₃ trong giai đoạn này chỉ được đánh

giá khi kết hợp với riêng BA trong một vài nghiên cứu trước đây và đều cho kết quả tích cực [1], [9].



Hình 3. Nhân nhanh chồi chè Mã Dọ trên môi trường MS có bổ sung tổ hợp các CĐHSTTV khác nhau sau 12 tuần nuôi cấy

A: 0,0 mg/l BA + 0,5 mg/l IBA + 1,0 mg/l GA₃; B: 1,0 mg/l BA + 0,2 mg/l IBA + 0,4 mg/l GA₃; C: 1,0 mg/l BA + 0,2 mg/l IBA + 1,6 mg/l GA₃; D: 1,0 mg/l BA + 0,8 mg/l IBA + 0,4 mg/l GA₃; E: 1,0 mg/l BA + 0,8 mg/l IBA + 1,6 mg/l GA₃; F: 2,5 mg/l BA + 0,0 mg/l IBA + 1,0 mg/l GA₃; G: 2,5 mg/l BA + 0,5 mg/l IBA + 0,0 mg/l GA₃; H: 2,5 mg/l BA + 0,5 mg/l IBA + 1,0 mg/l GA₃; I: 2,5 mg/l BA + 0,5 mg/l IBA + 2,0 mg/l GA₃; J: 2,5 mg/l BA + 1,0 mg/l IBA + 1,0 mg/l GA₃; K: 4,0 mg/l BA + 0,2 mg/l IBA + 0,4 mg/l GA₃; L: 4,0 mg/l BA + 0,2 mg/l IBA + 1,6 mg/l GA₃; M: 4,0 mg/l BA + 0,8 mg/l IBA + 0,4 mg/l GA₃; N: 4,0 mg/l BA + 0,8 mg/l IBA + 1,6 mg/l GA₃; O: 5,0 mg/l BA + 0,5 mg/l IBA + 1,0 mg/l GA₃ (Thanh bar: 1 cm).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã tạo được nguồn mẫu vô trùng bằng cách khử trùng hạt chè Mã Dọ bằng 10% Ca(OCl)₂ trong 40 phút và thu nhận được chồi *in vitro* khi nuôi cấy phôi chứa lá mầm trên môi trường MS bổ sung 0,5 mg/L BA với tỷ lệ mẫu sống và nảy mầm là 100% sau 10 tuần nuôi cấy. Ngoài ra, mẫu chồi đỉnh nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 4,0 mg/L BA, 0,8 mg/L IBA và 1,6 mg/L GA₃ cho hiệu quả nhân nhanh, chồi đạt tối ưu với số chồi cao nhất (8,5 chồi/mẫu cấy) sau 12 tuần nuôi cấy. Nghiên cứu đã bước đầu tạo nguồn vật liệu *in vitro* phục vụ công tác tối ưu hóa quy trình nhân giống chè Mã Dọ trong các giai đoạn nhân giống tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gonbad R. A, Sinniah U. R, Abdul Aziz M, Mohamad R (2014). Influence of cytokinins in combination with GA₃ on shoot multiplication and elongation of tea clone Iran 100 (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *The Scientific World Journal*, 1 - 9.
2. Bidarigh S., Hatamzadeh A., Azarpour E (2012). The study effect of IBA hormone levels on rooting in micro cuttings of tea (*Camellia sinensis* L.) under *in vitro* culture condition. *World Applied Sciences Journal*, 20(7): 1051 - 1054.
3. Lương Văn Vượng, Phạm Huy Thông, Lê Văn Đức, Lê Hồng Văn (2013). *Kỹ thuật sản xuất và chế biến chè xanh*. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.

4. Ngọc D. V (2012). Breeding of tea plant (*Camellia sinensis*) in Vietnam. *Global Tea Breeding*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 241 - 262.
5. Li W., Khan M. A., Yamaguchi S., Kamiya Y (2005). Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant growth Regulation*, 46(1): 45 - 50.
6. Nguyễn Văn Kết, Nguyễn Thị Cúc, Nguyễn Trung Thành (2014). Khảo sát khả năng nhân giống cây Trà my hoa đỏ (*Camellia piquetiana* (Pierre) Sealy) *in vitro*. *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 30(3): 17 - 25.
7. Đặng Quang Bích, Nguyễn Thị Phương Thảo, Nguyễn Văn Phú, Đinh Trường Sơn, Ninh Thị Thảo, Nguyễn Văn Huân, Trần Văn Lin, Nguyễn Thị Thùy Linh (2017). Quy trình nhân giống cây Trà hoa vàng (*Camellia* sp.). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 15(12): 1664 - 1678.
8. Tapan K. M., Amita B., Anil S., Paramvir S. A (1998). Micropropagation of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) using thidiazuron. *Plant Growth Regulation*, 26: 57 - 61.
9. Widhianata H, Taryono (2019) Organogenesis responses of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) var. *assamica* and *sinensis*. *AIP Conference Proceedings*, AIP Publishing, Yogyakarta, Indonesia, 1 - 9.

RESEARCH ON PROPAGATION FROM THE SEEDS OF THE MA DO TEA TREE
(*Camellia sinensis* var. *madoensis*)

Van Thi Phuong Nhu¹, Nguyen Tran Vu¹,
Nguyen Khanh Hy¹, Trinh Thi Huy Tra¹

¹Phu Yen University

Summary

Ma Do tea (*Camellia sinensis* var. *madoensis*) is a local tea variety distributed in Phu Yen and Binh Dinh provinces with high medicinal and commercial value. Currently, the number of natural individuals of this species is at risk of depletion due to overexploitation; therefore, developing seed sources of this plant species is very necessary. In this study, Ma Do tea seeds were collected and sterilized with 10% Ca(OCl)₂ supplemented with Tween 20 for 20, 30 and 40 minutes to evaluate the disinfection effect and as a material for investigation. Effects of plant growth regulators on the ability to rapidly multiply shoots. The recorded results showed that Ma Do tea seeds sterilized with 10% Ca(OCl)₂ for 40 minutes gave optimal disinfection efficiency with 100% of live samples and germination after 10 weeks of culture. In addition, apical shoots (1.5 cm) were cultured on MS medium supplemented with 4.0 mg/l BA, 0.8 mg/L IBA and 1.6 mg/L GA₃, 30 g/L sucrose and 7 g/L agar recorded rapid shoot multiplication efficiency with 8.5 shoots/explant and 24.25 leaves compared to other treatments after 12 weeks of culture. The results of the study have created a source of *in vitro* samples to serve the propagation and conservation of this plant species.

Keywords: *Ma do tea, germination, bud multiplication, Sterilize.*

Người phản biện: TS. Lưu Ngọc Quyến

Ngày nhận bài: 6/12/2023

Ngày thông qua phản biện: 01/3/2024

Ngày duyệt đăng: 02/4/2024