

NHÂN GIỐNG CÂY TRÀ HOA VÀNG TAM ĐẢO
(*Camellia tamdaoensis* Ninh et Hakoda)
BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY *IN VITRO*

Nguyễn Thị Hương¹, Nguyễn Văn Việt²

^{1,2}Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Vi nhân giống cây Trà hoa vàng Tam Đảo bằng kỹ thuật nuôi cấy mô đã được nghiên cứu thành công. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sát trùng bề mặt bằng cồn 70⁰ trong 2 phút, khử trùng bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% trong 13 phút và nuôi cấy trên môi trường khởi đầu WPM bổ sung 0,2 mg/l BAP và 30 g/l sucrose, cho tỷ lệ mẫu sạch nảy chồi 86% sau 21 ngày nuôi cấy. Cầm ứng tạo đa chồi trên môi trường WPM bổ sung 0,3 mg/l BAP, 0,2 mg/l Kinetin, 30 g/l đường sucrose và 100 ml/l nước dừa cho tỷ lệ mẫu tái sinh chồi và hệ số nhân chồi đạt cao nhất (95,55% và 4,33). Chồi ra rễ đạt 88,89%, số rễ trung bình 3,67 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình 3,17 cm trên môi trường WPM bổ sung 0,2 mg/l IBA, 0,2 mg/l NAA, 30 g/l sucrose và 100 ml/l nước dừa sau 6 tuần nuôi cấy. Quy trình vi nhân giống này có thể áp dụng để sản xuất hàng loạt cây giống Trà hoa vàng chất lượng tốt, đáp ứng nhu cầu nguồn cây giống Trà hoa vàng hiện nay.

Từ khóa: Cây trà hoa vàng Tam đảo, cụm chồi, nuôi cấy mô, vi nhân giống.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trà hoa vàng Tam Đảo (*Camellia tamdaoensis* Ninh et Hakoda) là một loài thực vật hạt kín trong họ Chè (Theaceae) được phát hiện và công bố vào năm 2007, là loài trà đặc hữu ở Vườn Quốc gia Tam Đảo, Vĩnh Phúc (Trần Ninh, Hakoda Naotoshi, 2010). Cho đến nay các nhà khoa học đã phát hiện được khoảng 30 loài Trà hoa vàng, trong đó có 28 loài được tìm thấy ở Trung Quốc và 24 loài tìm thấy ở Việt Nam (Hà Văn Huân, Nguyễn Văn Phong, 2015). Trong các nghiên cứu đã công bố thành phần các chất có trong Trà hoa vàng có giá trị rất lớn về mặt dược liệu như: giảm khả năng đột quy, phòng chống ung thư, củng cố tính đàn hồi của thành mạch, chống ôxy hóa, điều hòa huyết áp... Ngoài ra hoa của chi *Camellia* to và có nhiều màu sắc rực rỡ: vàng, hồng, trắng và nhiều màu sắc lạ mắt nên đã thu hút được sự quan tâm của các nhà chơi cây cảnh. Tuy nhiên, hiện nay số lượng cá thể Trà hoa vàng Tam Đảo đang suy giảm nghiêm trọng (Trần Ninh, Hakoda Naotoshi, 2010).

Cho đến nay các đề tài nghiên cứu về Trà

hoa vàng Tam Đảo không nhiều, chủ yếu là một số công trình nghiên cứu về đặc điểm hình thái, sinh thái học và giâm hom (Phạm Văn Hoàng và cộng sự, 2016). Mặt khác, do việc khai thác quá mức đối với tất cả các bộ phận của cây từ phía người dân diễn ra trước đó nên số lượng cá thể Trà hoa vàng trong Vườn còn rất ít nên việc lựa chọn ra một phương pháp nhân giống tối ưu các loài Trà hoa vàng là rất cấp thiết. Vật liệu sử dụng trong giâm hom không đáp ứng đủ số lượng nên việc lựa chọn ra một phương pháp nhân giống tối ưu các loài Trà hoa vàng là rất cần thiết. Trong đó kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* có ý nghĩa rất lớn trong công tác nhân giống: có thể nhân số lượng cây lớn trên quy mô công nghệ, sản phẩm sạch bệnh và có tính đồng nhất về hệ số di truyền và hệ số nhân giống (Vũ Văn Vụ và cộng sự, 2009).

II. VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vật liệu nuôi cấy là quả Trà hoa vàng có nguồn gốc từ các cây mẹ đã được tuyển chọn tại Vườn Quốc gia Tam đảo - Vĩnh Phúc.

- Hóa chất dùng để khử trùng mẫu là cồn

70% và HgCl₂ 0,1%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tạo mẫu sạch *in vitro*: Mẫu Trà hoa vàng được tiến hành rửa bằng nước máy, ngâm và lắc mẫu trong dung dịch xà phòng 1% trong khoảng 6 - 8 phút. Sát khuẩn bề mặt bằng cồn 70% khử trùng trong vòng 1 phút. Khử trùng bằng HgCl₂ theo thời gian khác nhau. Khi khử trùng bằng HgCl₂, thời gian khử trùng từ 5 phút trở lên được chia làm 2 lần (5+4, 7+6, 9+6, 10+7) và sau mỗi lần phải rửa sạch mẫu bằng nước cất vô trùng.

Nuôi cấy khởi đầu: Sau khi khử trùng được mẫu sạch, tiến hành tách vỏ quả, cấy mẫu lên môi trường nuôi cấy khởi đầu là WPM bổ sung 0,2 mg/l BAP + 30 g/l saccarose + 6 g/l agar, sau khoảng 21 ngày mẫu bắt đầu tái sinh, chồi đạt 2 - 3 cm được sử dụng làm vật liệu cho các nghiên cứu tiếp theo.

Nhân nhanh chồi: Chồi cây Trà hoa vàng *in vitro* được cắt thành các đoạn có kích thước 2 - 2,5 cm chứa từ 1 - 2 mắt ngủ, cắt bỏ bớt lá và cấy lên môi trường nhân nhanh chồi (MT₁₋₁₀) có hàm lượng chất điều hòa sinh trưởng khác nhau, mẫu được nuôi cấy, sau 6 tuần nuôi cấy bắt đầu tái sinh.

Tạo cây hoàn chỉnh: Các chồi hữu hiệu có chiều cao hơn 2 cm, phát triển đồng đều, dùng kéo hoặc dao sắc tách và cấy lên môi trường kích thích ra rễ tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh với thành phần môi trường là WPM bổ sung NAA (0,0 - 0,3 mg/l) + IBA (0,0 - 0,3 mg/l) + 100 ml/l nước dừa + 30 g/l đường + 6g/l agar. Các bình chồi được nuôi cấy từ 5 - 6 tuần, chồi ra rễ tạo cây hoàn chỉnh, thống kê số rễ trên chồi và đo chiều dài rễ bằng thước.

Tất cả các môi trường nuôi cấy: MS (Murashige and skoogF, 1962), WPM (Woody Plant Medium-Lloyd G, Mc Cown B, 1980),

Knop được điều chỉnh pH 5,8 và khử trùng ở nhiệt độ 118°C trong 15 phút, mẫu sau khi cấy được nuôi dưới ánh sáng gián đèn neon, thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày, cường độ chiếu sáng 2000 - 3000 lux, nhiệt độ phòng nuôi 25 ± 2°C.

Các thí nghiệm được bố trí trong các bình thủy tinh hình tam giác (3 mẫu/bình 200 ml), mỗi công thức thí nghiệm cấy 30 mẫu, lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và phương pháp Duncan, 1995.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU, THẢO LUẬN

3.1. Tạo mẫu sạch *in vitro*

Mẫu quả Trà hoa vàng sau khi được làm sạch được khử trùng bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% với 5 công thức thí nghiệm bố trí khác nhau về thời gian. Sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường nuôi cấy khởi đầu, kết quả cho thấy (bảng 1), tỷ lệ mẫu sạch đạt trên 98% và tỷ lệ mẫu sạch tái sinh 86%, bằng phương pháp khử trùng kép này thì thời gian khử trùng càng dài tỷ lệ mẫu sạch càng cao (tăng từ 33,33 - 98,89%), tỷ lệ mẫu sạch tái sinh (32,22 - 86%) thời gian tái sinh chồi (20 - 24 ngày) phụ thuộc vào từng công thức khử trùng. Tuy nhiên thời gian khử trùng quá dài (17 phút) thì tỷ lệ mẫu sạch tái sinh chồi sẽ giảm xuống (52,22%), thời gian tái sinh chồi dài hơn (25 ngày), điều này cũng tương đối phù hợp với kết quả như chúng ta đã biết, HgCl₂ là một loại hóa chất có tính độc mạnh đối với tế bào thực vật, nếu khử trùng lâu quá thì hóa chất sẽ ngấm vào mô của tế bào thực vật gây độc cho phôi và làm cho phôi bị chết (Vũ Văn Vụ và cộng sự, 2009). Do vậy, công thức khử trùng tốt nhất đối với quả Trà hoa vàng là công thức K3 với thời gian khử trùng 13 phút (lần 1: 7 phút, lần 2: 6 phút), cho tỷ lệ mẫu sạch là 91,11%, tỷ lệ mẫu sạch tái sinh 86% với thời gian tái sinh chồi là 21 ngày.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến tỷ lệ tạo mẫu sạch và khả năng phát sinh chồi

CTTN	Thời gian khử trùng (phút)		Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu sạch tái sinh (%)	Thời gian tái sinh chồi (ngày)
	Lần 1	Lần 2			
K1	0	3	33,33	32,20	20
K2	5	4	73,33	68,90	21
K3	7	6	91,11	86,00	21
K4	9	6	95,56	61,10	23
K5	10	7	98,89	52,22	25

3.2. Nhân nhanh chồi *in vitro*

3.2.1. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến khả năng nhân nhanh chồi

Môi trường dinh dưỡng quyết định tới khả năng nhân nhanh chồi các loại cây. Với mỗi

loài cây khác nhau, môi trường dinh dưỡng dùng để nuôi cấy cũng khác nhau. Do vậy, 4 loại môi trường nền đã được sử dụng nhằm tìm ra công thức môi trường thích hợp nhất cho sự phát triển của chồi Trà hoa vàng Tam đảo.

Bảng 2. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến khả năng nhân nhanh chồi

CTTN	MTDD	Tỷ lệ mẫu tái sinh chồi (%)	Chiều cao cây mầm (cm)	Đặc điểm chồi
TS1	MS	78,89	3,77	Chồi gầy, xanh vàng
TS2	1/2 MS	85,56	4,23	Chồi gầy, xanh hơi vàng
TS3	WPM	94,44	4,53	Chồi mập, tròn đều, xanh đậm
TS4	Knop	81,11	3,93	Chồi mập, xanh hơi vàng

Sau 6 tuần nuôi cấy chồi trên 4 loại môi trường nền cho thấy sự khác nhau rõ rệt về tỷ lệ mẫu tái sinh chồi, chiều cao chồi và chất lượng chồi (bảng 2). Kết quả của sự khác biệt này do giữa 4 loại môi trường có hàm lượng cacbon, khoáng đa lượng, vi lượng và vitamin khác nhau. Thành phần các chất dinh dưỡng sẽ ảnh hưởng trực tiếp tới các quá trình sinh lý, sinh hóa của thực vật từ đó cụm chồi sẽ phát triển khác biệt. Trong 4 môi trường, môi trường WPM là môi trường thích hợp nhất cho tái sinh chồi, chồi mập, khỏe tròn đều có màu xanh thẫm, tỷ lệ mẫu tái sinh chồi đạt 94,44% và chiều cao chồi đạt 4,5 cm Trà hoa vàng.

3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh chồi

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh chồi

CTTN	BAP (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tái sinh chồi (%)	Số chồi TB/mẫu (chồi)	Chiều cao TB/chồi (cm)	Đặc điểm chồi
MT0	-	41,11	1,33	1,10	Chồi cao, nhỏ, lá xanh đậm
MT1	0,1	57,78	1,67	1,37	Chồi cao, nhỏ, lá xanh đậm
MT2	0,2	71,11	2,67	1,53	Chồi cao, mập, lá xanh đậm
MT3	0,3	88,89	3,33	1,93	Chồi cao, mập, lá xanh đậm
MT4	0,4	81,11	2,33	1,63	Chồi cao, mập, lá xanh đậm
MT5	0,5	54,44	2,00	1,50	Chồi cao, mập lá xanh đậm

Chất điều hòa sinh trưởng được sử dụng trong giai đoạn này là các chất thuộc nhóm cytokinin để kích thích sự phân hóa, sinh trưởng và phát triển chồi của mẫu cấy *in vitro*. Lựa chọn các mẫu tái sinh chồi có chồi đã đạt chiều cao từ 4 - 5 cm. Tiến hành cắt thân mầm có kích thước 1,5 - 2 cm, chứa 2 - 3 mắt ngủ cấy chuyển vào môi trường nhân nhanh (môi trường WPM + 100ml/l nước dừa + nồng độ các chất ĐHST khác nhau) nhằm xác định công thức nhân nhanh chồi Trà hoa vàng Tam Đảo.

Sau 6 tuần nuôi cấy, kết quả bảng 3 cho thấy khi cho bổ sung BAP ở các nồng độ khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt tới khả năng nhân nhanh chồi (bảng 3).

Kết quả phân tích phương sai một nhân tố của số chồi TB/mẫu và chiều cao TB/chồi sau 6 tuần nuôi cấy cho $F(\text{tính}) > F(\text{crit})$. Vậy các chỉ tiêu theo dõi có phụ thuộc vào nồng độ BAP sử dụng. Trong đó công thức môi trường đối chứng MT0 cho kết quả thấp nhất với tỷ lệ mẫu tái sinh chồi là 41,11%, số chồi trung bình trên mẫu 1,33 chồi, chồi cao, nhỏ, lá có màu vàng xanh. Khi bổ sung nồng độ BAP tăng (0,1 - 0,3 mg/l) thì tỷ lệ mẫu tái sinh chồi tăng (57,78 - 88,89%), số chồi trung bình trên mẫu tăng (1,67 - 3,33 chồi). Công thức MT3 bổ sung 0,3 mg/l BAP cho kết quả tốt nhất tỷ lệ mẫu tái sinh chồi cao nhất 88,89%, số chồi trung bình trên mẫu 3,33 chồi, chiều cao chồi 1,93 cm chồi cao, mập và lá có màu xanh đậm. Trong thí nghiệm ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh chồi chúng tôi chọn công thức MT3 là công thức là công thức tốt nhất.

3.2.3. Ảnh hưởng tổ hợp của nồng độ BAP và Kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi

Trên cơ sở chọn được môi trường tốt nhất ở mục 3.2.2 là công thức MT3 (0,3 mg/l BAP) chúng tôi tiếp tục thí nghiệm bổ sung Kinetin tương ứng các thang nồng độ khác nhau. Việc bổ sung Kinetin và BAP kết hợp làm cho hệ số nhân của chồi tăng lên rõ rệt. Các chất này thường được sử dụng để kích thích sự phân hóa, sinh trưởng và phát triển chồi của mẫu cây *in vitro*. Tác dụng chủ yếu của chúng là kích thích sự phân chia mạnh mẽ của tế bào, đặc biệt ảnh hưởng rõ rệt lên sự hình thành và phân hóa chồi.

Sau 6 tuần nuôi cấy, kết quả bảng 4 cho thấy khi cho đồng thời tổ hợp BAP và Kinetin vào trong các thí nghiệm, hệ số nhân chồi và chất lượng chồi thu được cao hơn hẳn so với chỉ bổ sung BAP (bảng 3).

Bảng 4. Ảnh hưởng tổ hợp của nồng độ BAP và Kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi

CTTN	Nồng độ ĐHST (mg/l)		Tỷ lệ mẫu TS chồi	Số chồi TB/mẫu	Chiều cao TB/mẫu	Đặc điểm chồi
	BAP	Kinetin				
MT6		0,1	87,78	3,00	1,73	Chồi cao, mập, xanh đậm
MT7		0,2	95,56	4,33	1,97	Chồi cao, mập, xanh đậm
MT8	0,3	0,3	85,56	3,33	1,77	Chồi cao, mập, xanh đậm
MT9		0,4	83,33	2,67	1,63	Chồi cao, mập, xanh đậm
MT10		0,5	81,11	2,33	1,60	Chồi cao, mập, xanh đậm

Môi trường bổ sung 0,3 mg/l BAP + 0,5 mg/l Kinetin cho kết quả thấp nhất với tỷ lệ mẫu tái sinh chồi chỉ đạt 81,11%, số chồi trung bình trên mẫu là 2,33 chồi và chiều cao chồi 1,6 cm. Khi giảm nồng độ Kinetin (0,5 xuống 0,2 mg/l) thì tỷ lệ mẫu tái sinh chồi, số chồi trung bình trên mẫu tăng. Công thức thí nghiệm bổ sung 0,3 mg/l BAP + 0,2 mg/l Kinetin cho kết quả tốt nhất để nhân nhanh chồi Trà hoa vàng với tỷ lệ mẫu tái sinh chồi là

95,56%, số chồi trung bình trên mẫu 4,33 chồi, chiều cao chồi 1,97 cm. Các chồi trên môi trường này cao, mập, lá màu xanh đậm.

3.3. Kích thích chồi ra rễ tạo cây hoàn chỉnh

Tạo cây mô hoàn chỉnh cũng là một bước quan trọng nhằm khép kín quy trình nuôi cấy *in vitro* các công thức thí nghiệm được bố trí với môi trường WPM có bổ sung hai chất ĐHST là IBA và NAA kết quả sau 6 tuần nghiên cứu được ghi trong bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng tổ hợp nồng độ IBA và NAA đến khả năng ra rễ *in vitro*

CTTN	Nồng độ CĐHST (mg/l)		Tỷ lệ mẫu ra rễ (%)	Số rễ TB/mẫu (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
	IBA	NAA				
TR0	-		34,44	1,00	0,83	+
TR1	0,1		51,11	1,33	1,57	+
TR2	0,2		64,44	2,00	2,5	++
TR3	0,3		54,44	1,67	1,8	++
TR4		0,1	52,22	1,33	1,83	+
TR5		0,2	65,56	3,00	2,67	++
TR6		0,3	55,56	2,33	2,13	++
TR7	0,1	0,3	84,44	3,33	2,8	+++
TR8	0,2	0,2	88,89	3,67	3,17	+++
TR9	0,3	0,1	77,78	3,00	2,73	++

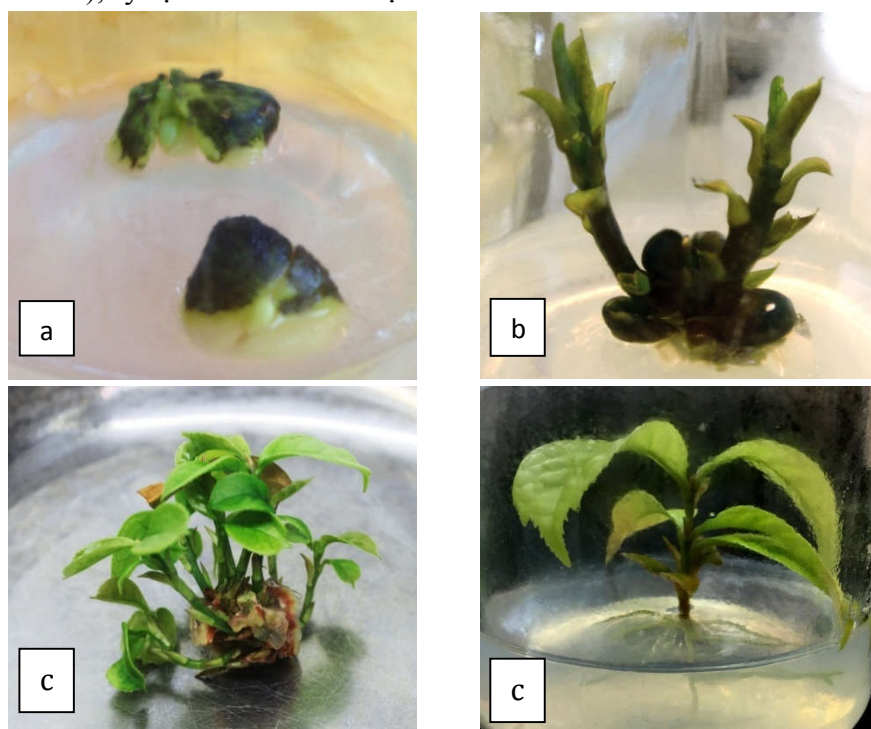
+: rễ sinh trưởng kém; ++: rễ sinh trưởng trung bình; +++: rễ sinh trưởng tốt

Kết quả cho thấy, phần lớn các công thức môi trường đều cho ra rễ, trong đó tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất là 88,89% ở công thức TR8 có bổ sung 0,2 mg/l IBA và 0,2 mg/l NAA, số rễ trung bình trên mẫu 3,67 rễ và chiều dài rễ trung bình đạt 3,16 cm sau 6 tuần nuôi cấy.

Ở môi trường WPM không bổ sung IBA và NAA, chồi Trà hoa vàng vẫn có tỷ lệ ra rễ 34,44% tuy nhiên rễ chỉ dài 0,83 cm, màu trắng nhạt, mỏng. Môi trường bổ sung chỉ IBA hoặc NAA (TR1-TR6), tỷ lệ chồi ra rễ chỉ đạt

51,11 - 65,56% với chiều dài rễ 1,57 - 2,67 cm. Thí nghiệm bổ sung đồng thời cả IBA và NAA cho kết quả cao hơn hẳn so với chỉ bổ sung riêng rẽ IBA hay NAA (tỷ lệ chồi ra rễ 77,78 - 88,89%, số rễ trung bình trên chồi 3 - 3,67 rễ, chiều dài rễ 2,73 - 3,17 và chất lượng rễ tốt).

Như vậy, có thể chọn môi trường WPM bổ sung 0,2 mg/l NAA và 0,2 mg/l IBA là môi trường thích hợp cho nuôi cấy chồi Trà hoa vàng Tam đảo ra rễ tạo cây hoàn chỉnh.



Hình 1. Một số hình ảnh trong quy trình nhân giống Trà hoa vàng tam đảo *in vitro*

Ghi chú: a) Tạo mẫu sạch, b) Cây con Trà hoa vàng nuôi cấy trên môi trường WPM, c) Nhân nhanh chồi trên môi trường MT7, Môi trường tạo rễ TR8

IV. KẾT LUẬN

- Điều kiện khử trùng tốt nhất mẫu quả Trà hoa vàng là khử trùng kép bằng HgCl₂ 0,1% trong 13 phút (lần 1: 7 phút; lần 2: 6 phút). Nuôi cấy trên môi trường: WPM + sucrose 30g/l + agar 5g/l đạt tỷ lệ mẫu sạch cao nhất, tỷ lệ tái sinh 86% với thời gian tái sinh chồi là 21 ngày.

- Nhân nhanh chồi Trà hoa vàng *in vitro* trên môi trường WPM + 0,3 mg/l BAP + 0,2 mg/l Kinetin + 100 ml/l nước dừa + 5 g/l agar + 30 g/l sucrose tỷ lệ mẫu tái sinh chồi là 95,56%, số chồi trung bình trên mẫu 4,33 chồi, chiều cao chồi 1,97 cm. Các chồi trên môi trường này cao, mập, lá màu xanh đậm.

- Ra rễ tạo cây hoàn chỉnh Trà hoa vàng *in vitro* trên môi trường: WPM + 0,2 mg/l NAA + 0,2 mg/l IBA + 100 ml/l nước dừa + 5 g/l agar + 30 g/l sucrose tỷ lệ ra rễ đạt 88,89%, số rễ trung bình trên mẫu 3,67 rễ và chiều dài rễ trung bình 3,17.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Văn Hoàng, Nguyễn Văn Việt, Trần Việt Hà (2016), Nhân giống Trà hoa vàng tam đảo (*Camellia tamdaoensis* Ninh et Hakoda) bằng phương pháp giâm hom. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 11/2016, trang 99-105.
2. Hà Văn Huân, Nguyễn Văn Phong (2015), Xác định đoạn mã vạch ADN cho Trà hoa vàng tam đảo (*Camellia tamdaoensis* Ninh et Hakoda): Loài cây đặc hữu của Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 5:123-130.
3. Trần Ninh, Hakoda Naotoshi (2010), *Các loài Trà ở Vườn Quốc gia Tam đảo*, Hợp tác cộng hòa Liên bang Đức.
4. Vũ Văn Vụ, Nguyễn Mộng Hùng, Lê Hồng Điệp (2009), *Công nghệ sinh học - Tập hai*, Công nghệ sinh học tế bào, NXB. Giáo dục.
5. Murashige T. and Skoog F., (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol plant*, 15: 473-497.
6. Gonbad, Reze Azadi (2012). "Micropropagation of tea (*Camellia sinensis* (L) kuntze) using temporary immersion system". PhD thesis, Universiti Putra Malaysia.

MICROPROPAGATION OF *CAMELLIA TAMDAOENSIS* NINH ET HAKODA

Nguyen Thi Huong¹, Nguyen Van Viet²

^{1,2}*Vietnam National University of Forestry*

SUMMARY

A procedure for micropropagation of *Camellia tamdaoensis* Ninh et Hakoda has been developed. The result showed that the optimal method for fruit sterilization was to soak them in 70% ethanol for 2 minutes, in 0.1% HgCl₂ for 13 minutes. The explants were then grown *in vitro* on WPM basal medium supplemented with 0.2 mg/l benzylaminopurine (BAP), and 30 g/l sucrose, by which the regeneration rate achieved 86 percent after 21 days of culture. Forming multi-buds induction in WPM, 0.3 ml/l BAP, 0.2 ml/l Kinetin, 100 ml coconut milk, 30 g/l sucrose, the coefficient of formed buds and the samples regeneration rate were highest (9.53% and 96.67%). 88.89% buds rooted, the average roots was 3.67/shoot and the average length of roots was 3.17 cm when cultured after 5 weeks in WPM medium supplemented IBA 0.2 mg/l, 0.2 mg/l NAA, 100 ml/l coconut milk, 30 g/l sucrose after 6 weeks. The plantlets were successfully acclimatized under greenhouse conditions with high humidity before being transferred to the field. This procedure can be applied for mass production of *Camellia tamdaoensis* Ninh et Hakoda to meet the commercial demand.

Keywords: *Camellia tamdaoensis* Ninh et Hakoda, micropropagation, multi-shoot, tissue culture.

Ngày nhận bài : 07/7/2017

Ngày phản biện : 14/7/2017

Ngày quyết định đăng : 25/7/2017