

Số: /QĐ-TCLN-KH&HTQT Hà Nội, ngày tháng năm 2021

QUYẾT ĐỊNH

**Công nhận tiến bộ kỹ thuật “Kỹ thuật nhân giống các gia đình
Keo tai tượng bằng nuôi cấy *in vitro*”**

TỔNG CỤC TRƯỞNG TỔNG CỤC LÂM NGHIỆP

Căn cứ Quyết định số 28/2017/QĐ-TTg ngày 03/7/2017 của Thủ tướng Chính phủ về chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Tổng cục Lâm nghiệp trực thuộc Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn;

Căn cứ Thông tư số 04/2018/TT-BNNPTNT ngày 03/5/2018 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn quy định tiêu chí, trình tự, thủ tục công nhận tiến bộ kỹ thuật trong nông nghiệp;

Căn cứ văn bản số 671/KHLN-KH ngày 22/12/2020 của Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam về việc đề nghị công nhận tiến bộ kỹ thuật;

Căn cứ biên bản họp ngày 18/01/2021 của Hội đồng tư vấn thẩm định tiến bộ kỹ thuật được thành lập theo Quyết định số 465/QĐ-TCLN-KH&HTQT ngày 31/12/2020; văn bản đề nghị số 136/KHLN-KH ngày 02/4/2021 của Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam kèm theo bản giải trình tiếp thu ý kiến và hồ sơ đề nghị công nhận tiến bộ kỹ thuật đã được bổ sung, hoàn thiện;

Xét đề nghị của Vụ trưởng Vụ Khoa học, Công nghệ và Hợp tác quốc tế.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Công nhận tiến bộ kỹ thuật “Kỹ thuật nhân giống các gia đình Keo tai tượng bằng nuôi cấy *in vitro*” kèm theo bản tóm tắt nội dung của tiến bộ kỹ thuật tại Phụ lục đính kèm.

Nhóm tác giả của tiến bộ kỹ thuật: TS. La Ánh Dương, PGS.TS. Phí Hồng Hải, ThS. Lưu Thị Quỳnh, TS. Nghiêm Quỳnh Chi, ThS. Triệu Thị Thu Hà và ThS. Đồng Thị Ứng.

Tổ chức có tiến bộ kỹ thuật được công nhận: Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.

Điều 2. Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, nhóm tác giả của tiến bộ kỹ thuật và các tổ chức, cá nhân liên quan có trách nhiệm hướng dẫn, phổ biến tiến bộ kỹ thuật nêu trên để áp dụng vào sản xuất.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký ban hành.

Điều 4. Chánh Văn phòng Tổng cục Lâm nghiệp; Vụ trưởng Vụ Khoa học, Công nghệ và Hợp tác quốc tế; Viện trưởng Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp; Giám đốc Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam; Nhóm tác giả; Thủ trưởng các tổ chức có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 4;
- TCT Nguyễn Quốc Trị (để b/cáo);
- Vụ KHCN&MT;
- Lưu: VT, KH&HTQT.

**KT. TỔNG CỤC TRƯỞNG
PHÓ TỔNG CỤC TRƯỞNG**

Phạm Văn Điền

Phụ lục:
**KỸ THUẬT NHÂN GIỐNG CÁC GIA ĐÌNH KEO TAI TƯỢNG BẰNG
NUÔI CÂY IN VITRO**

*(Ban hành kèm theo Quyết định số /QĐ-TCLN-KH&HTQT ngày tháng 4
năm 2021 của Tổng cục trưởng Tổng cục Lâm nghiệp)*

1. Tên tiến bộ kỹ thuật:

Kỹ thuật nhân giống các gia đình Keo tai tượng bằng nuôi cây *in vitro*.

2. Tác giả

Nhóm tác giả của tiến bộ kỹ thuật: TS. La Ánh Dương, PGS.TS. Phí Hồng Hải, ThS. Lưu Thị Quỳnh, TS. Nghiêm Quỳnh Chi, ThS. Triệu Thị Thu Hà và ThS. Đồng Thị Ứng.

Tổ chức có tiến bộ kỹ thuật được công nhận: Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.

Địa chỉ: Số 46 đường Đức Thắng, phường Đức Thắng, quận Bắc Từ Liêm, thành phố Hà Nội.

Điện thoại: (024) 38.389.031

Fax: (024) 38.389.722

Email: iftib@vafs.gov.vn

3. Xuất xứ của tiến bộ kỹ thuật

Tiến bộ kỹ thuật là kết quả nghiên cứu của các nhiệm vụ khoa học công nghệ do Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam chủ trì thực hiện trong giai đoạn 2011-2020, bao gồm:

i) Đề tài khoa học công nghệ cấp Bộ: “Nghiên cứu chọn và nhân giống Keo tai tượng (*Acacia mangium* Will.) và Keo lá liềm (*Acacia crassiparva*) phục vụ trồng rừng kinh tế”, Thời gian thực hiện: 2011 – 2015, chủ nhiệm đề tài: PGS.TS. Phí Hồng Hải.

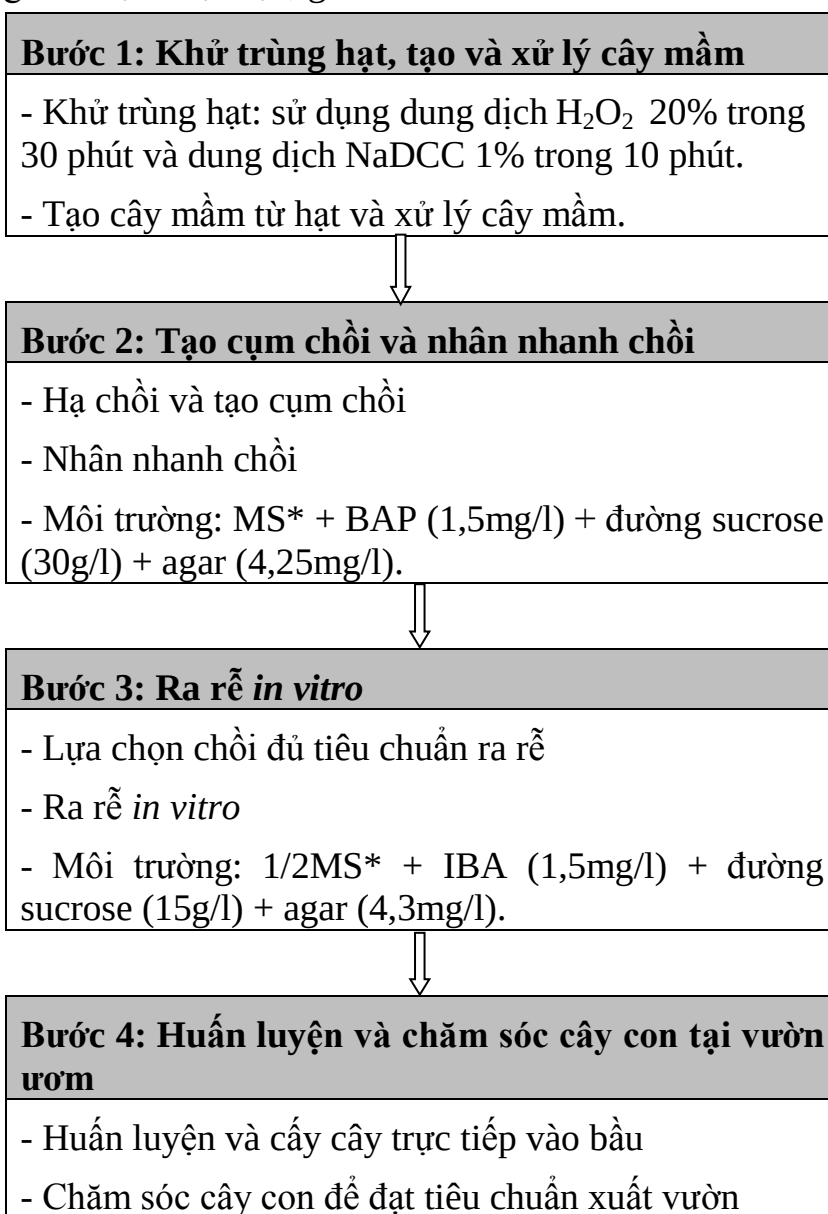
ii) Đề tài khoa học công nghệ cấp Bộ: “Nghiên cứu chọn giống Keo tai tượng có năng suất cao chống chịu bệnh mục ruột phục vụ trồng rừng gỗ lớn cho vùng Đông Bắc Bộ, Bắc Trung Bộ và Nam Trung Bộ”. Thời gian thực hiện: 2016-2020, chủ nhiệm đề tài: TS. La Ánh Dương.

4. Tóm tắt nội dung của tiến bộ kỹ thuật

4.1. Nội dung của tiến bộ kỹ thuật

Tiến bộ kỹ thuật nhân giống bằng nuôi cấy *in vitro* từ hạt của các gia đình

Keo tai tượng đã được chọn lọc, gồm các bước sau:



Sơ đồ: Quy trình nhân giống bằng nuôi cấy *in vitro* từ hạt của các gia đình Keo tai tượng

Các nội dung kỹ thuật chi tiết theo từng bước được mô tả như sau:

Bước 1: Kỹ thuật khử trùng và xử lý mầm

- Khử trùng hạt:

+ Hạt được rửa sạch dưới vòi nước chảy, sau đó lắc bằng nước xà phòng loãng, tráng nước cất vô trùng 3 - 5 lần.

+ Ngâm hạt trong cồn 70⁰ trong 2 phút, tráng 3 - 4 lần bằng nước cất và ngâm hạt trong dung dịch oxi già (H_2O_2) 20% trong thời gian 30 phút, tráng lại 3-5 lần bằng nước cất. Cuối cùng ngâm hạt trong dung dịch Natri

Dichloroisocyanurate (NaDCC) 1% trong thời gian 10 phút và tráng lại bằng nước cất (3 - 5 lần).

- Tạo cây mầm từ hạt và xử lý cây mầm:

Dùng dao cắt ở đầu không chứa phôi để hạt dễ nảy mầm và đặt hạt trong bình trụ có lót 2 lớp giấy thấm đã được khử trùng, thấm ẩm bằng nước cất vô trùng. Hạt sẽ nảy mầm sau 3 - 5 ngày.

Cây mầm đạt chiều cao 3 – 5 cm sau 7 – 10 ngày được cắt bỏ phần rễ và cấy vào môi trường MS* bổ sung BAP (1,5mg/l). Cắm phần gốc ngập 2 - 3 mm vào môi trường theo phương thẳng đứng.

Theo dõi sự phát triển của chồi, định kỳ loại bỏ mẫu nhiễm.

Bước 2: Kỹ thuật tạo cụm chồi và nhân nhanh chồi

- Tạo cụm chồi:

+ Cụm chồi bắt đầu xuất hiện sau 22 - 25 ngày, cần tiến hành cấy chuyển để tạo cụm chồi mới.

+ Dùng panh gấp cụm chồi ra khỏi bình nuôi và cắt bỏ hoàn toàn phần mô sẹo ở gốc và loại bỏ lá chết, cắm vào môi trường nhân chồi theo phương thẳng đứng, mỗi bình tam giác 250ml cắm 3 - 5 cụm chồi.

+ Theo dõi sự phát triển của chồi, định kỳ loại bỏ mẫu nhiễm.

+ Tiếp tục bước cấy này 3 - 4 chu kỳ để đạt được số cụm chồi tiêu chuẩn, chuẩn bị cho quá trình nhân nhanh chồi.

- Nhân nhanh chồi:

+ Các cụm chồi khỏe mạnh và không bị nhiễm nấm, khuẩn được tách thành từng cụm chồi nhỏ (3 - 5 chồi) và cấy vào môi trường nhân chồi. Cấy ngập phần gốc cụm chồi sâu 3 - 5 mm theo phương thẳng đứng.

+ Môi trường nhân chồi : MS* + BAP (1,5mg/l) + đường sucrose (30g/l) + agar (4,25mg/l).

+ Theo dõi sự phát triển của chồi và định kỳ loại bỏ những mẫu bị nhiễm nấm, khuẩn.

+ Chu kỳ mỗi lần cấy chuyển là 25 ngày và số lần cấy chuyển tối đa là 7 lần. Nếu đến lần cấy chuyển thứ 8 sẽ bắt đầu xuất hiện hiện tượng già hóa chồi với hệ số nhân chồi thấp và chồi không đạt tiêu chuẩn về chiều cao, lá và thân mất dần diệp lục.

Bước 3: Kỹ thuật ra rễ *in vitro*

- + Chồi hữu hiệu được chọn là chồi từ 2 đốt lá trở lên, chiều cao > 1,5 cm; cây thẳng, cứng cáp, lá mở và xanh, được chuyển sang môi trường ra rễ.
- + Môi trường ra rễ : 1/2MS* + IBA (1,5mg/l) + đường sucrose (15g/l) + agar (4,3mg/l).
- + Cấy đơn chồi, ngập 3 - 5mm vào môi trường theo phương thẳng, khoảng cách cây giữa các chồi 0,5 - 0,8 cm.
- + Cây bắt đầu ra rễ sau 3 – 5 ngày và ra rễ hoàn chỉnh sau 7 - 10 ngày.

Bước 4: Kỹ thuật huấn luyện và chăm sóc cây con tại vườn ươm

- Huấn luyện cây con:

- + Thời gian huấn luyện: 20-30 ngày
- + Bình chồi ra rễ (5 - 7 ngày) được chuyển ra khu huấn luyện có mái che để giúp cây thích nghi dần với điều kiện tự nhiên.
- + Khi thân cây và lá chuyển từ màu xanh nhạt sang màu xanh đậm thì tiến hành cấy cây vào bầu đất.

- Cấy và chăm sóc cây con tại vườn ươm:

- + Cây con được rửa sạch agar (cắt bớt rễ nếu rễ quá dài) và ngâm trong dung dịch thuốc tím 0,1% hoặc trong các loại dung dịch chống nấm khác từ 3 - 5 phút sau đó đưa ra khay mang di cấy cây vào bầu đất. Trong quá trình cấy cây vào bầu, 3 - 5 phút/lần dùng bình phun sương tưới nhẹ trên mặt lá để tránh cây trong khay bị mất nước.
- + Từng cây được cấy trực tiếp vào bầu, với thành phần ruột bầu (89% đất đồi sàng kỹ và sơ dừa vụn + 10% phân chuồng hoai + 1% phân lân). Bầu đất được xử lý bằng dung dịch thuốc tím 0,1% hoặc dung dịch chống nấm khác, tưới đều lên bề mặt bầu trước khi cấy cây.
- + Sau khi đã cấy cây vào bầu, tùy thuộc vào thời tiết mà tiến hành tưới nước bằng bình phun sương để giữ ẩm cho cây và bầu đất, đảm bảo cây mới cấy không bị héo. Trong thời gian 7 - 10 ngày đầu luống bầu cần được che sáng 90%, sau đó là 75% và phun sương giữ đủ ẩm cho luống, duy trì nhiệt độ $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ trong 2 tuần kế tiếp. Khi cây được 20-30 ngày có thể bỏ hoàn toàn lưới che.
- + Định kỳ làm cỏ phá váng (25 - 30 ngày/ lần). Theo dõi sự phát triển của cây (phun phân bón lá, sulphate đồng khi thấy cây vàng lá; phun thuốc diệt sâu,

bệnh hại khi thấy cây xuất hiện sâu, bệnh hại).

+ Đảo bầu, bấm tỉa chồi bất định (*chỉ để một chồi ngọn phát triển tốt*), và cắt bỏ 1/3 phần lá sau 1,5 - 2,0 tháng. Loại bỏ cây bị chết, cây sinh trưởng kém trước khi xuất vườn.

Tiêu chuẩn cây con xuất vườn:

+ Cây khỏe mạnh, không sâu bệnh hại, thân lá không bị gãy dập, độ đồng đều cao, bầu đất không bị vỡ, bẹp.

+ Chiều cao thân cây: 25 – 35 cm.

+ Đường kính cổ rễ: 0,3 - 0,4 cm.

+ Thời gian từ lúc cấy cây vào bầu tới khi cây xuất vườn: 3-3,5 tháng.

4.2. Phạm vi ứng dụng

Các tổ chức, cá nhân, hộ gia đình sản xuất cây giống Keo tai tượng trên phạm vi cả nước.

4.3. Điều kiện ứng dụng

Các tổ chức, cá nhân sản xuất cây giống Keo tai tượng bằng nuôi cấy *in vitro* phải đảm bảo các điều kiện sau:

- Nguồn vật liệu (hạt) ban đầu có nguồn gốc rõ ràng và có chất lượng di truyền đã được cải thiện.

- Điều kiện cơ sở hạ tầng, máy móc trang thiết bị và hóa chất nuôi cấy đầy đủ và đảm bảo.

- Nhân lực: Đội ngũ cán bộ có năng lực và nắm được các kỹ thuật phòng thí nghiệm và vườn ươm.

- Các đơn vị sản xuất ứng dụng tiến bộ kỹ thuật cần tuyệt đối tuân thủ nghiêm ngặt điều kiện vô trùng phòng thí nghiệm.