

TCVN 14130: 2024

Xuất bản lần 1

**GIỐNG CÂY LÂM NGHIỆP – YÊU CẦU KỸ THUẬT CỦA
PHỤC TRÁNG GIỐNG**

Forest Tree cultivar – Technical requirements for reinvigoration

HÀ NỘI - 2024

Lời nói đầu

TCVN 14130: 2024 do Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng Quốc gia thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Giống cây lâm nghiệp – Yêu cầu kỹ thuật của phục tráng giống

Forest Tree cultivar – Technical requirements of reinvigoration

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm tra các công đoạn phục tráng bằng phương pháp nuôi cấy mô cho các giống keo và bạch đàn được công nhận.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau đây là cần thiết để áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 11570-2: 2016, *Giống cây lâm nghiệp – Cây giống Keo - Phần 2: Keo lai*.

TCVN 11570-3: 2017, *Giống cây lâm nghiệp – Cây giống Keo - Phần 3: Keo lá liềm và Keo lá tràm*.

TCVN 11571-1: 2017, *Giống cây lâm nghiệp – Cây giống Bạch đàn - Phần 1: Bạch đàn lai*.

TCVN 11571-2: 2017, *Giống cây lâm nghiệp – Cây giống Bạch đàn - Phần 2: Bạch đàn urophylla và Bạch đàn camaldulensis*.

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau:

3.1

Cây đầu dòng (Original ortet)

Cây được đánh giá và công nhận từ quần thể của một giống cây trồng lâm nghiệp, để cung cấp vật liệu nhân giống vô tính.

3.2

Chồi bánh tẻ (Semi-hardwood shoot)

Chồi của cây ở giai đoạn nửa hóa gỗ có độ tuổi không quá 2 tháng tính từ thời điểm cắt tạo chồi.

3.3

Chồi hữu hiệu (Effective shoot)

Chồi có chiều dài trung bình từ 2,0 cm trở lên, thân, lá và ngọn rõ ràng, có nhiều hơn 2 cặp lá, không có mô sẹo.

3.4

Chồi thứ cấp (Secondary shoot)

Còn được gọi là chồi bên, mọc ra từ nách lá, có thể phát triển thành một nhánh bên từ thân chính.

3.5

Chồi vượt (Flushed shoot)

Chồi sinh trưởng tốt nhất trong cụm chồi mọc ra từ thân chính sau khi đã cắt đoạn thân ngọn.

3.6

Cấy chuyển (Passage hoặc Subculture)

Quá trình chuyển tế bào, mô hay mẫu vật nuôi cấy sang bình nuôi có chứa môi trường mới kết hợp với tách nhỏ hoặc làm loãng mật độ để nhân số lượng.

3.7

Giống gốc (Original germplasm)

Giống được nhân lần đầu từ cây trội, cây đầu dòng của một giống đã được công nhận hoặc giống phục tráng (bao gồm: hạt giống, củ giống, rễ, thân, cành, mắt ghép, chồi hoặc mô, cây mô trong bình và cây con) để làm vật liệu nhân giống hoặc để xây dựng các vườn giống, rừng giống.

3.8

Giống phục tráng (Re-invigorated cultivar)

Giống được nhân từ cây trội, cây đầu dòng chọn lọc lại từ giống đã công nhận và được áp dụng các biện pháp kỹ thuật nhằm duy trì, khôi phục các tính trạng ban đầu của giống gốc, khắc phục hiện tượng giống thoái hóa, giảm sút năng suất, chất lượng.

3.9

Nuôi cấy mô (Tissue culture)

Kỹ thuật cấy và nuôi mô thực vật trong điều kiện nhân tạo (*in vitro*) nhằm điều khiển phân hóa về hình thái và chức năng của chúng.

4 Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm tra

Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm tra các công đoạn phục tráng các giống keo, bạch đàn bằng phương pháp nuôi cấy mô được quy định như sau:

Bảng 1 – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm tra đối với vật liệu đầu vào cho quá trình phục tráng giống

Chỉ tiêu	Yêu cầu kỹ thuật	Phương pháp kiểm tra
1. Nguồn gốc giống	Từ cây đầu dòng của các giống đã được công nhận	Xác định dựa trên hồ sơ nguồn gốc giống và hồ sơ thiết kế trồng rừng
2. Tình trạng sinh trưởng	Cây sinh trưởng tốt, cứng cáp, khỏe mạnh, thân thẳng, lá xanh	Quan sát bằng mắt thường tại hiện trường
3. Tình trạng sâu bệnh hại	Không có biểu hiện sâu bệnh hại	Quan sát bằng mắt thường tại hiện trường

Bảng 2 – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm tra đối với công đoạn cắt tạo chồi

Chỉ tiêu	Yêu cầu kỹ thuật	Phương pháp kiểm tra
1. Vị trí cắt tạo chồi	Đối với keo: tối đa 2 m tính từ gốc. Đối với Keo lá trà có thể cắt cành để tạo chồi.	Đo bằng thước chuyên dụng
	Đối với bạch đàn: không quá 0,3 m tính từ gốc	
2. Mùa cắt tạo chồi	Vào mùa mưa, cụ thể: -Từ tháng 4 đến tháng 8 đối với miền Bắc và miền Nam -Từ tháng 8 đến tháng 10 đối với miền Trung	Kiểm tra nhật ký công việc liên quan đến thời điểm cắt tạo chồi
CHÚ THÍCH: Tham khảo mục A.1 – Phụ lục A		

Bảng 3 – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm tra đối với vật liệu đưa vào nuôi cấy mô

Chỉ tiêu	Yêu cầu kỹ thuật	Phương pháp kiểm tra
1. Loại chồi	Chồi vượt	Quan sát bằng mắt thường tại hiện trường
2. Tình trạng chồi	Chồi bánh tẻ khỏe mạnh, không có triệu chứng bị sâu bệnh hại, chưa xuất hiện các mầm chồi thứ cấp	Quan sát bằng mắt thường tại hiện trường

Bảng 4 – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp kiểm tra đối với chồi sau phục tráng giống

Chỉ tiêu	Yêu cầu kỹ thuật	Phương pháp kiểm tra
1. Hình thái chồi	Chồi xanh, mọc thẳng, lá mở, ít nhất 2 đốt thân	Quan sát bằng mắt thường cho toàn bộ bình nuôi cấy
2. Hệ số nhân chồi	Đối với keo: tối thiểu 2 lần	
	Đối với bạch đàn: tối thiểu 4 lần	
3. Tỷ lệ chồi hữu hiệu	Đạt tối thiểu 30%	Xác định bằng số chồi hữu hiệu trên tổng số chồi mới tạo thành
4. Tình trạng chồi	Chồi khỏe mạnh, không có biểu hiện bị nhiễm nấm, khuẩn	Quan sát bằng mắt thường cho toàn bộ bình nuôi cấy
5. Số lần cấy chuyển	Không quá 8 lần	Xác định dựa vào nhật ký công việc

Bảng 5 – Yêu cầu kỹ thuật đối với cây hoàn chỉnh sau phục tráng giống

Đối tượng	Yêu cầu kỹ thuật
1. Keo lai	Theo TCVN 11570-2: 2016
2. Keo lá liềm và Keo lá tràm	Theo TCVN 11570-3: 2017
3. Bạch đàn lai	Theo TCVN 11571-1: 2016
4. Bạch đàn urophylla và Bạch đàn camaldulensis	Theo TCVN 11571-2: 2017

5 Kết luận kiểm tra

Quá trình phục tráng giống đạt yêu cầu khi 100% mẫu kiểm tra phù hợp với yêu cầu kỹ thuật được quy định tại điều 4 trước khi đưa vào sản xuất theo các quy định hiện hành.

6 Thông tin kèm theo

- Tên giống phục tráng
- Thời điểm phục tráng
- Đơn vị thực hiện phục tráng
- Thời hạn sử dụng của giống

Phụ lục A

(Tham khảo)

Các công đoạn phục tráng giống keo, bạch đàn bằng phương pháp nuôi cấy mô

A.1 Xử lý tạo chồi

- Các cây đầu dòng của các giống đã được công nhận được xử lý tạo chồi bằng cách cưa ngang thân ở độ cao không quá 2 m tính từ gốc đối với keo và 0,3 m tính từ gốc đối với bạch đàn. Riêng đối với Keo lá tràm có thể tiến hành cắt tạo chồi ở các cành để đảm bảo sự phát triển của chồi non.
- Sau khi các chồi non phát triển từ thân cây mẹ thì được thu về để tiến hành khử trùng và tái sinh chồi cho nuôi cấy mô.
- Chồi được cắt tốt nhất vào mùa sinh trưởng của cây (mùa mưa), cụ thể từ tháng 4 đến tháng 8 đối với miền Bắc và miền Nam, tháng 8 đến tháng 10 đối với miền Trung.

A.2 Khử trùng mẫu vật và tái sinh chồi

- Mẫu vật được khử trùng bằng cách:
 - + Cắt bỏ lá, rửa mẫu vật dưới vòi nước chảy bằng chổi lông mềm.
 - + Rửa vật liệu bằng dung dịch tẩy rửa loăng, rửa lại dưới vòi nước chảy, và tráng qua nước cất vô trùng.
 - + Lắc trong cồn 70 % trong 45 đến 60 giây, sau đó tráng bằng nước cất vô trùng 2 đến 3 lần.
 - + Ngâm vật liệu trong dung dịch $HgCl_2$ nồng độ từ 0,05 đến 0,1 % với thời gian 5 đến 7 phút và rửa sạch bằng nước cất vô trùng.
 - + Dùng panh và dao sắc (vô trùng) cắt mẫu vật thành các đoạn mẫu dài 2 đến 4 cm, có chứa ít nhất 1 mắt ngủ, cắm các đoạn mẫu vào môi trường tái sinh chồi ban đầu theo phương thẳng đứng.
- Mẫu vật được theo dõi, quan sát, loại bỏ những mẫu chết và bị nhiễm nấm hoặc vi khuẩn hàng ngày.
- Sau 25 đến 35 ngày, chồi được nuôi dưỡng tốt và đạt độ dài 1,5 đến 2,5 cm, cắt hạ và cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh chồi.

A.3 Nhân chồi

- Đối với keo : Cụm chồi sau khi tái sinh được tách và làm sạch bằng dao (hoặc kéo) thành từng cụm nhỏ (từ 5 đến 8 chồi) sau đó cắm các cụm chồi nhỏ ngập 3 đến 5 mm vào môi trường theo phương thẳng.
- Đối với bạch đàn : Cụm chồi được tách và cắt chồi thành các đoạn ngắn chứa ít nhất 1 mắt ngủ, sau đó cấy các đoạn chồi theo phương nằm ngang trên mặt thạch của bình nuôi cấy
- Loại bỏ mẫu nhiễm nấm, khuẩn mỗi lần cấy chuyển.
- Chu kỳ cấy chuyển là từ 15 đến 25 ngày đối với bạch đàn và 25 đến 35 ngày đối với các loài keo.
- Sau 8 chu kỳ cấy chuyển cần hủy mẫu cũ và sử dụng vật liệu mới.

A.4 Ra rễ *in vitro*

- Chồi được lựa chọn cấy ra rễ lá chồi có từ 2 đốt lá trở lên, chiều cao trên 1,5 cm ; cây thẳng, cứng cáp, lá mở, xanh

TCVN 14130: 2024

- Cấy đơn chồi, cắm chân chồi ngập 3 đến 5 mm môi trường theo phương thẳng đứng, khoảng cách cây giữa các chồi 0,5 đến 0,8 cm sao cho lá không giao nhau hạn chế sự tiếp nhận ánh sáng.
- Bình cây ra rễ hoàn chỉnh sau 15 đến 20 ngày.

A.5 Huấn luyện cây

- Bình cây ra rễ hoàn chỉnh được chuyển ra khu huấn luyện (huấn luyện từ 7 đến 10 ngày) trước khi cấy cây vào giá thể.

A.6 Hồ rễ và cấy cây vào giá thể

- Lấy cây mầm từ trong lọ, rửa bằng nước cho sạch hết thạch, xử lý bằng thuốc diệt nấm trong 3 đến 5 phút.
- Cây con được cấy vào bầu đất hoặc cấy trên luống cát:
 - + Cấy cây vào bầu đất : Dùng que cấy cắm vào giữa bầu đất để tạo lỗ có độ sâu 2 đến 3 cm sao cho tương ứng với chiều dài của rễ, dùng ngón tay cái và ngón trỏ giữ cho cây thẳng đứng, đưa nhẹ cây vào lỗ bầu (không được làm cong rễ, hoặc rễ lòi lên trên mặt bầu, khi cấy không được làm đứt gãy rễ chính), lấy que cấy ấn nhẹ xung quanh gốc để rễ cây tiếp xúc với đất, cây đến đâu dùng ô doa tưới nhẹ đến đó.
 - + Cấy cây vào luống cát : Cây con cũng có thể được cấy vào luống cát sông (các hàng cách nhau từ 3 đến 4 cm, các cây cách nhau 1 đến 2 cm). Luống cát sông cần phải được xử lý thuốc diệt nấm hoặc dung dịch thuốc tím (KMnO_4) 0,5 % trước khi cấy cây từ 1 đến 2 ngày.

A.7 Môi trường nuôi cấy

- Môi trường cơ bản cho nuôi cấy mô keo và bạch đàn là môi trường Murashige & Skoog cải tiến (kí hiệu là MS*)
- Môi trường phải được hấp vô trùng ở nhiệt độ 121°C trong 20 phút và điều chỉnh pH bằng 5,8.
- Môi trường nhân chồi keo là MS* + BAP (Benzyl Amino Purine) 1,5 đến 2,0 mg/l + NAA (1-Naphthyl Acetic acid) 0,1 đến 0,5 mg/l + đường sucrose 30 g/l + agar.
- Môi trường nhân chồi bạch đàn là MS* + BAP 1,5 đến 2,0 mg/l + NAA 0,1 đến 0,5 mg/l + IBA (Indole-3-Butyric Acid) 0,1 đến 0,5 mg/l + đường sucrose 30g/l + agar.

A.8 Môi trường vật lý

- Nhiệt độ: ban ngày trong phòng duy trì từ 25 đến 28°C, ban đêm từ 17 đến 20°C.
- Ánh sáng: từ 2000 đến 3000 lux. Thời gian chiếu sáng biến động từ 8 đến 12 h/ngày

A.9 Bầu cấy cây

Hỗn hợp ruột bầu phải tơi xốp, không lẫn đá, sỏi cuội, có khả năng giữ ẩm tốt và đủ nguồn dinh dưỡng. Hỗn hợp ruột bầu phải được xử lý không bị nhiễm các loại nấm và vi khuẩn gây hại.

- Các yêu cầu cụ thể đối với hỗn hợp ruột bầu như sau:
 - + $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$: 5,0 đến 6,5.
 - + Thành phần cơ giới đất theo thể tích:
 - Cát: không quá 10 %.

Sét: không quá 30 %.

Tỉ lệ chất độn thô (phân chuồng hoai, than bùn, than trấu...): tối thiểu 10 % theo thể tích.

- Túi bầu:
 - + Chất liệu : polyetylen có độ dày 0,2 mm.
 - + Hình dạng : hình khối trụ tròn.
 - + Kích thước (*đường kính x chiều cao*): tối thiểu 6 x 10 cm.
 - + Lỗ thoát nước được phân bố đều ở xung quanh và đáy của túi bầu, 6 đến 8 lỗ/bầu với kích thước lỗ 6 đến 8 mm, có thể dùng túi bầu không đáy có cùng chất liệu, hình dạng và kích thước.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1]. Báo cáo tổng kết dự án SXTN “Hoàn thiện quy trình công nghệ phục tráng và nhân giống bằng nuôi cấy mô cho 6 giống keo lai tự nhiên đã được công nhận”, Viện Khoa học lâm nghiệp Việt Nam, 2016.
- [2]. Báo cáo tổng kết dự án SXTN “Hoàn thiện công nghệ vi nhân giống quy mô công nghiệp và sản xuất các giống Keo lá tràm Clt18, Clt57 và Clt98”, Viện Khoa học lâm nghiệp Việt Nam, 2020.
- [3]. Báo cáo tổng kết đề tài “Nghiên cứu nhân nhanh giống Keo lai tự nhiên, Keo lai nhân tạo, bạch đàn uro, bạch đàn lai nhân tạo (mới chọn tạo) và Lát hoa bằng công nghệ tế bào”, Trung tâm Nghiên cứu Giống cây rừng, 2011.
- [4]. Nghị định 27/2021/NĐ-CP ngày 25/3/2021 của Chính phủ về quản lý giống cây trồng lâm nghiệp.
- [5]. Thông tư 22/2021/TT-BNNPTNT ngày 29/12/2021 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn về việc quy định danh mục loài cây trồng lâm nghiệp chính; công nhận giống và nguồn giống cây trồng lâm nghiệp.
- [6]. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 1-1: 2008, Xây dựng tiêu chuẩn - Phần 1: Quy trình xây dựng tiêu chuẩn quốc gia do ban kỹ thuật tiêu chuẩn thực hiện.
- [7]. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 1-2: 2008, Xây dựng tiêu chuẩn - Phần 2: Quy định về trình bày và thể hiện nội dung tiêu chuẩn quốc gia.
-