

UỶ BAN NHÂN DÂN TỈNH NAM ĐỊNH
SỞ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ VÀ MÔI TRƯỜNG

BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HIỆN DỰ ÁN

“Xây dựng phòng nuôi cấy mô tế bào thực vật và chuyển giao công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật ứng dụng vào tỉnh Nam Định”

Cấp quản lý : Bộ Khoa học, công nghệ và môi trường

Cơ quan chủ quản : Ủy ban nhân dân tỉnh Nam Định

Cơ quan chủ trì : Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường

Nam Định 2-2002

UỶ BAN NHÂN DÂN TỈNH NAM ĐỊNH
SỞ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ VÀ MÔI TRƯỜNG

BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HIỆN DỰ ÁN

“Xây dựng phòng nuôi cấy mô tế bào thực vật và chuyển giao công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật ứng dụng vào tỉnh Nam Định”

Cấp quản lý : Bộ Khoa học, công nghệ và môi trường

Cơ quan chủ quản : Ủy ban nhân dân tỉnh Nam Định

Cơ quan chủ trì : Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường

Nam Định 2-2002

BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HIỆN DỰ ÁN

TÊN DỰ ÁN:

“Xây dựng phòng nuôi cấy mô tế bào thực vật và chuyển giao công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật ứng dụng vào tỉnh Nam Định”

THUỘC CHƯƠNG TRÌNH : XÂY DỰNG MÔ HÌNH ỨNG DỤNG KHCN PHỤC VỤ PHÁT TRIỂN KINH TẾ - XÃ HỘI NÔNG THÔN VÀ MIỀN NÚI GIẢI ĐOẠN 1998 - 2002.

- Cấp quản lý:

Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường.

- Cơ quan chủ quản dự án:

Ủy ban nhân dân tỉnh Nam Định.

- Cơ quan chủ trì dự án:

Sở khoa học, Công nghệ và Môi trường.

- Chủ nhiệm dự án : TS . Đào Huy Quý

- Những người tham gia thực hiện:

KS : Nguyễn Văn Bảo : Phòng quản lý KHCN

KS : Trần Kim Oanh : Chi cục TC-ĐL-CI

KS : Hoàng Xuân Huy: Phòng quản lý Môi trường

- Cơ quan chuyển giao công nghệ:

Trường đại học nông nghiệp I Hà Nội

CÁC KHÁI NIỆM CHUNG VÀ THUẬT NGỮ CHUYÊN NGÀNH.

1. Nuôi cấy mô tế bào thực vật :

Nuôi cấy mô tế bào thực vật là phạm trù khái niệm chung cho việc nuôi cấy tất cả các nguyên vật liệu thực vật hoàn toàn sạch các vi sinh vật, phải được nuôi cấy trên môi trường dung dịch nhân tạo trong điều kiện vô trùng trong đó bao gồm :

- Nuôi cấy cây non và cây trưởng thành
- Nuôi cấy các cơ quan: Lá, thân, rễ, hoa, quả
- Nuôi cấy phôi: Phôi non và phôi trưởng thành
- Nuôi cấy mô sẹo(callus): gồm các tế bào không phân hoá, phát sinh từ các bộ phận khác nhau của cây.
- Nuôi cấy tế bào trần (Protoplast) là nuôi cấy phần bên trong tế bào thực vật sau khi tách vỏ tế bào.

Nuôi cấy mô tế bào thực vật còn gọi là nuôi cấy thực vật In vitro (trong ống nghiệm) để phân biệt với các quá trình nuôi trồng thực vật trong điều kiện tự nhiên theo phương pháp truyền thống.

2. Các thuật ngữ chuyên ngành ;

Cấy chuyển : Chuyển mô tế bào hay mẫu thực vật nuôi cấy sang bình có chứa môi trường mới, kết hợp với việc tách nhỏ hay pha loãng mật độ mẫu để nhân số lượng.

Chồi phụ – chồi bất định : (adventitious shoot, bud) : Là chồi hay mầm phát triển từ mô khác, không phải từ hợp tử

Phát sinh cơ quan : (Organogenesis) là quá trình xuất hiện cơ quan thực vật như rễ, chồi từ mô nuôi cấy hay mô sẹo

Phân hoá phôi : Là quá trình phát triển cây hoàn chỉnh từ mô sẹo hay tế bào đơn.

Đối với cây khoai tây người ta thường phân biệt các loại giống như sau:

Giống gốc : là giống không có vi rút:	0% vi rút.
Giống siêu nguyên chủng:	0% vi rút
Giống nguyên chủng : Có	<3 % vi rút
Giống cấp 1 có từ	3- 4 % vi rút
Giống cấp 2	< 10 % vi rút
Những Giống có	> 10% vi rút phải thay thế.

PHẦN I : MỞ ĐẦU

I.ĐẶC ĐIỂM TÌNH HÌNH.

Nam Định nằm ở nam châu thổ sông Hồng, Đông giáp với Thái Bình, Tây giáp với Ninh Bình, Nam giáp vịnh bắc bộ, Bắc giáp với tỉnh Hà Nam. Diện tích tự nhiên 166900 ha bằng 0.52% diện tích cả nước. Đất nông nghiệp 94.859 ha (chiếm 57% diện tích tự nhiên). Cơ cấu hành chính gồm : Thành phố Nam Định là đô thị loại II và 9 huyện : Vụ Bản, Nam Trực , Mỹ Lộc, Trực Ninh , Xuân Trường, Ý Yên, Hải Hậu, Nghĩa Hưng với 210 xã, thị trấn và 15 phường. Dân số tính đến 1/4/1999 có 478.652 hộ 1.911.067 người trong đó có 81 % số hộ sản xuất nông nghiệp. Nam Định nằm giữa cái nôi của nền văn minh sông Hồng, vùng đất có nhiều dấu ấn lịch sử văn hoá lâu đời.

Từ sau khi mạnh dạn đưa tiến bộ kỹ thuật vào sản xuất, bằng phương pháp áp dụng công nghệ mới trong lĩnh vực công nghệ sinh học như : Các giống mới, kỹ thuật thâm canh mới, sản lượng lương thực và cây màu tăng đáng kể từ 596.000 tấn lương thực năm 1991 lên 950.000 tấn năm 1997 và trên 1 triệu tấn năm 1999. Bình quân lương thực đầu người năm 1995 : 446 kg; năm 1996 : 449,5 kg; năm 1997: 493 kg; năm 2000 : 535 kg năm 2001 : 530 kg .

Trong sản xuất nông nghiệp ngoài trồng lúa là chính (2vụ) còn có cây màu vụ đông. Diện tích trồng màu ở Nam Định 14.395 ha, tập trung các cây màu có giá trị kinh tế cao ở vụ đông là cây khoai tây, cây lạc vv...

Số liệu thống kê dưới đây cho biết kết quả trồng khoai tây vụ đông qua các năm 1999-2001.

Đơn vị	1999			2000			2001		
	D.tích (Ha)	Năng suất Tạ/ ha	S.lượng (Tấn)	D.tích (Ha)	Năng suất Tạ/ ha	S.lượng (Tấn)	D.tích (Ha)	Năng suất Tạ/ ha	S.lượng (Tấn)
Ý Yên	1.300	98	12740	1.097	196	11.628	1.388	133	18.394
Vụ Bản	521	80	4.168	453	80	3.624	610	84	5.125
Nam Trực	449	92	4.130	456	139	6.338	616	140	8.624
Vùng khác	453	87	3.951	3.306	93,3	3.087	666	100	6.220
Toàn tỉnh	2.733	91,6	24.989	2.333	107,5	24.668	3.275	117	38.363

Qua bảng số liệu cho ta thấy : diện tích dành cho khoai tây toàn tỉnh mới sử dụng rất ít, năng suất cao nhất chỉ đạt 140 tạ/ ha(ở Nam Trực), nguyên nhân chính là do giống bị thoái hoá và chưa đảm bảo chất lượng.

Thực hiện Nghị quyết TW II (khoá VIII) về phát triển KHCN nhằm đưa nước ta phát triển theo hướng CNH- HĐH, được sự chỉ đạo của Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường; tỉnh Nam Định đã triển khai nhiều hoạt động nghiên cứu KHCN trong đó có nhiệm vụ : ứng dụng công nghệ sinh học phục vụ cho sản xuất (thuộc chương trình ứng dụng KHCN phát triển kinh tế xã hội nông thôn miền núi).

***Tính cấp thiết của việc triển khai dự án:**

Trong những năm qua, cùng với các giống mới, phân bón và thuốc hoá học mới, hàng loạt công nghệ trong sinh học và nông học đã được du nhập vào Việt Nam : Công nghệ thuỷ canh, công nghệ nhân nhanh in vitro,

công nghệ bảo quản các sản phẩm tươi vv.. Để có thể sử dụng công nghệ này một cách có hiệu quả, giải quyết được những vấn đề thiết thực của sản xuất, việc nghiên cứu ứng dụng một cách thích hợp nhất các công nghệ trên trong điều kiện hoàn cảnh của địa phương là điều hết sức có ý nghĩa.

Trong các công nghệ trên, Kỹ thuật nuôi cấy mô được ứng dụng rộng rãi trên thế giới để bảo quản giống, tạo nguồn giống sạch bệnh, nhân nhanh giống mới đối với cây ăn quả, cây hoa, cây cảnh, cây lâm nghiệp, dược liệu và cây công nghiệp. Việt Nam giai đoạn 1991-1996, một loạt các công nghệ nhân giống bằng cấy mô đã được hoàn thiện và đang chuyển giao vào sản xuất, đó là công nghệ nhân nhanh giống chuối, 'mía, khoai tây, dưa , bạch đàn...

Ở Nam Định các loại giống lúa có năng suất cao, được nhập từ Trung Quốc hiện nay địa phương đã tự sản xuất được. Năng suất lúa ngày càng lên cao, tăng giá trị sản lượng trên một đơn vị diện tích gieo trồng; Song các loại giống cây màu, đặc biệt là khoai tây thì chưa có điều kiện nhân và giữ được những giống sạch bệnh, những giống tốt phục vụ cho sản xuất có năng suất cao và phục vụ xuất khẩu. Các giống khoai tây nội địa đã qua nhiều năm sản xuất hầu hết bị nhiễm virus, làm cho năng suất và hiệu quả thấp.

Giống tốt là tiền đề để tăng năng suất và hướng đầu tư có hiệu quả phát triển sản xuất Nông nghiệp. Nguyên nhân chính của việc giảm năng suất là do thiên tai, thiếu dinh dưỡng liên tục, do nguồn bệnh như nấm khuẩn, tuyến trùng, vi rút, trong đó bệnh vi rút gây hiện tượng giảm năng suất và hiệu quả nghiêm trọng đối với cây trồng. Hiện nay người ta đã phát hiện ra 650 loại vi rút gây bệnh, như loại vi rút gây khảm lá, vv. Vi rút là căn bệnh không thể chữa được và khó phát hiện vì nó xảy ra thường xuyên trong cơ thể thực vật và vi rút có mặt trong tất cả các tế bào nên không thể tránh được sự lan truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác. Để khắc phục hiện tượng thoái hoá giống do vi rút chúng ta cần phải xây dựng hệ thống sản xuất giống sạch

bệnh và chống vi rút, nhập nội các giống sạch bệnh, chọn lọc cá thể sạch, hoặc nuôi cấy đỉnh sinh trưởng vv, Hiện nay công nghệ nuôi cấy mô được coi là hiệu quả nhất, đây là khâu quan trọng cho việc tạo giống sạch bệnh.

Về tiềm năng đất đai trồng mì 1, Nam Định có rất nhiều khả năng: có diện tích trồng màu rất lớn (14.395 ha), nông dân đã trồng cây khoai tây nhiều năm, có kinh nghiệm trong sản xuất. Song khâu giống là rất quan trọng thì chưa thể có giải pháp hữu hiệu. Chính vì vậy hầu hết những giống khoai tây bà con đang trồng là các giống đã bị nhiễm bệnh, (giống khoai thường tén, khoai Trung quốc, cho năng suất và hiệu quả thấp và qua mỗi năm lại bị thoái hoá và dẫn đến làm giảm năng suất, Những năm gần đây một số huyện như : Vụ Bản, Ý Yên, Nghĩa Hưng, nông dân mua giống khoai tây của Trung Quốc, giống gieo từ hạt, có loại trồng từ củ, vv song chất lượng chưa bảo đảm, thị trường tiêu thụ hạn chế, và không xuất khẩu được.

Ở HTX Cốc Thành Vụ Bản, bà con nông dân đã trồng khoai tây Hà Lan để xuất khẩu, có giá trị kinh tế cao. Nhưng công tác giữ và bảo quản giống còn hạn chế. Vụ đông xuân năm 2000-2001 hầu hết giống khoai tây Hà Lan do nhập từ củ về bị nhiễm bệnh héo xanh, cây chết hàng loạt, gây tổn thất không nhỏ cho bà con nông dân và làm cho những người trồng cây khoai tây hoang mang, lo sợ.

Một số giống cây quý khác có giá trị kinh tế cao như chuối Ngự hoàng hiện đang bị thoái hoá do quá trình nhiễm bệnh, năng suất và chất lượng giảm sút, cần phải được giữ và bảo quản nguồn giống này khỏi bị thoái hoá.vv

Chính từ những điều kiện trên công tác nhân nhanh và giữ giống cây sạch bệnh phục vụ cho sản xuất của bà con nông dân là vô cùng quan trọng và cần thiết. Nó giúp cho người sản xuất có giống cây sạch bệnh cho năng suất

cao và có giá trị về mặt kinh tế và xuất khẩu, cải thiện đời sống cho nông dân.

Để giải quyết được những vấn đề trên cần phải áp dụng công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật để giúp cho công tác giữ và bảo quản giống mới, phục tráng những giống cây đã bị thoái hoá, nhân nhanh các giống mới sạch bệnh giúp cho phát triển sản xuất tại địa phương.

Ngày 20/12/1998 UBND tỉnh Nam Định giao cho Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường lập dự án xây dựng phòng nuôi cấy mô TBTV và chuyển giao công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật vào tỉnh Nam Định được Hội đồng KHCN cấp nhà nước phê duyệt đề cương và Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường cho triển khai thực hiện.

II. NHỮNG CĂN CỨ PHÁP LÝ ĐỂ THỰC HIỆN DỰ ÁN.

- Nghị quyết TW II (ngày 2/1/1997 khoá VIII) về định hướng phát triển KHCN

- Theo chương trình ứng dụng TBKT trong xây dựng mô hình phát triển Kinh tế- xã hội nông thôn, miền núi và Sự chỉ đạo của Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường về việc triển khai các nhiệm vụ trên tại quyết định số 1129/ QĐBKHCNMT ngày 11/8/2000)

- Thực hiện tinh thần nghị quyết đại hội đảng bộ lần thứ 16 của tỉnh đảng bộ Nam Định, Sự chỉ đạo của UBND tỉnh về ứng dụng công nghệ mới trong lĩnh vực công nghệ sinh học phục vụ cho sản xuất nhằm bảo quản các giống cây quý, sạch bệnh và nhân nhanh các giống mới phục vụ cho sản xuất đại trà của tỉnh tại tờ trình số 44/VP5 ngày 5/5/2000 gửi Bộ KHCN&MT

- Trong kế hoạch xây dựng nhà 5 tầng của sở KHCN&MT đã được UBND tỉnh phê duyệt có nội dung xây dựng trung tâm ứng dụng khoa học công nghệ và kiểm định chất lượng hàng hoá.

- Ngày 15/5/2000 Hội đồng khoa học cấp nhà nước tại Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường đã thông qua dự án : “ Xây dựng phòng nuôi cấy mô tế bào thực vật và chuyển giao công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật vào tỉnh Nam Định” do Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường đề xuất.

III. MỤC TIÊU CỦA DỰ ÁN :

- Xây dựng cơ sở vật chất kỹ thuật phòng nuôi cấy mô tế bào thực vật của tỉnh phục vụ cho nhu cầu nhân nhanh giống sạch bệnh bằng công nghệ cấy mô để có được giống cây có chất lượng cao như : các giống khoai tây sạch bệnh có năng suất cao, các giống hoa có giá trị thương mại phục vụ cho sản xuất và xuất khẩu. Duy trì và giữ các giống cây ăn quả như : chuối ngự hoàng khỏi bị thoái hoá và sạch bệnh.

- Từng bước đưa công nghệ nuôi cấy mô ứng dụng vào sản xuất nông, lâm nghiệp nâng cao năng suất cây trồng, tăng giá trị kinh tế trên một đơn vị diện tích gieo trồng , tăng thu nhập cho bà con nông dân.

- Đào tạo đội ngũ cán bộ tiếp thu công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật trên địa bàn tỉnh Nam Định để phục vụ cho sự phát triển kinh tế của địa phương, thực hiện CNH và HĐH đất nước.

IV. NỘI DUNG CỦA DỰ ÁN

* Nội dung bao gồm:

1. Thiết kế xây dựng các phòng thí nghiệm diện tích 100 m²

- Mua sắm trang thiết bị máy móc, đảm bảo đủ hoá chất, nguyên liệu cho phòng nuôi cấy mô.

2. Xây dựng nhà lưới để nhân giống và bảo quản giống cây mô trong khuôn viên Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường tỉnh Nam Định và nhà màn tại trung tâm giống cây trồng Vụ Bản

3. Đào tạo các cán bộ kỹ thuật tại Trường Đại học NN I Hà Nội đảm bảo có khả năng thực hiện các kỹ thuật cơ bản nhân giống một số loại cây hoa và cây màu như nội dung đã đề ra.

4. Sản xuất thử nghiệm một số cây : khoai tây, địa lan, chuối ngự hoàng.

5. Xây dựng điểm triển khai ứng dụng : Mô hình chuyển cây từ in vitro trong phòng thí nghiệm ra điều kiện tự nhiên, Phối hợp với Trung tâm giống cây trồng Vụ Bản.

PHẦN II. KẾT QUẢ THỰC HIỆN DỰ ÁN .

Đã thực hiện được các nội dung đề ra như sau :

1. Hoàn chỉnh việc thiết kế xây dựng khu tầng 3 nhà 5 tầng để làm phòng thí nghiệm nuôi cấy mô TBTV.

- Mua sắm một số trang thiết bị máy móc và hoá chất cần thiết phục vụ cho việc nhân nhanh giống khoai tây sạch bệnh, hoa lan và cây chuối vv.

2. Xây dựng nhà lưới tại Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường và nhà màn tại Trung tâm giống cây trồng Vụ Bản để nhân giống cây

3. Đào tạo một số cán bộ KHKT phục vụ cho dự án.

4. Tiến hành nhân nhanh giống khoai tây sạch bệnh và hoa trong phòng thí nghiệm và đưa ra nhà màn chuẩn bị giống phục vụ cho sản xuất.

5. Tiến hành triển khai mô hình đưa cây khoai tây ra sản xuất tại nhà màn thuộc trung tâm giống cây trồng Vụ Bản

I. THỰC HIỆN XÂY DỰNG PHÒNG THÍ NGHIỆM :

1. Quá trình thực hiện :

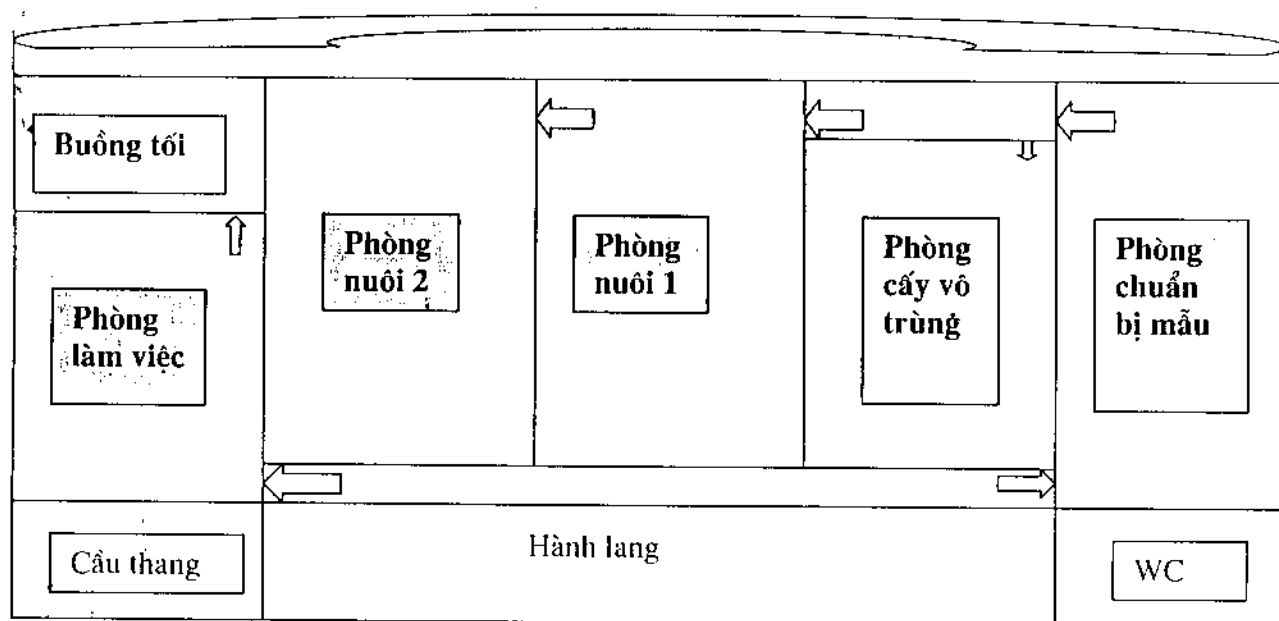
Căn cứ vào nguồn kinh phí ban đầu, Ban chủ nhiệm dự án đã khảo sát tham quan các đơn vị tỉnh bạn đã có phòng thí nghiệm nuôi cấy mô như : Sở

Trung tâm giống cây trồng Vụ bản đã cử các kỹ sư và cán bộ kỹ thuật trực tiếp tham gia cùng phối hợp với Bộ phận nuôi cấy mô của Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường để thực hiện, Phòng trồng trọt thuộc sở Nông nghiệp và phát triển nông thôn Nam Định cũng trực tiếp thực hiện những nội dung và mục tiêu dự án đề ra.

2. Kết quả thực hiện :

2.1 Kết quả xây dựng phòng thí nghiệm của Dự án.

Sơ đồ mặt bằng phòng thí nghiệm



Sau khi nghiên cứu xem xét căn cứ vào đặc thù riêng của phòng thí nghiệm, Ban chủ nhiệm dự án và lãnh đạo sở thống nhất bố trí mặt bằng như sơ đồ trên và bố trí các phòng bao gồm 5 phòng chính ; Phòng chuẩn bị mẫu, phòng cấy vô trùng, 2 phòng nuôi và 1 phòng kho và làm việc.

Khoa học, Công nghệ và Môi trường tỉnh Lạng Sơn, Nghệ An, Cao Bằng, Thái Bình .v.v và các Trung tâm công nghệ sinh học thuộc trường Đại học nông nghiệp I Hà Nội, Viện công nghệ sinh học thuộc Trung Tâm khoa học tự nhiên và công nghệ Quốc gia, Viện di truyền thuộc Bộ NN-PTNT, để nghiên cứu các mô hình và vận dụng vào thực tế của tỉnh. Qua nghiên cứu các mô hình của các nơi, căn cứ vào tình hình thực tế của địa phương và trình độ đội ngũ cán bộ hiện có tại sở; Theo đề xuất của Hội đồng KH-CN cấp nhà nước tại hội nghị xét duyệt đề cương dự án , Ban chủ nhiệm dự án và lãnh đạo sở thống nhất chọn Viện sinh học nông nghiệp thuộc trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội là đơn vị chuyển giao công nghệ về các loại cây Khoai tây, hoa lan, chuối ngự hoàng và tham mưu mua sắm trang thiết bị của dự án. Viện công nghệ sinh học (thuộc TTKHTN&CNQG) là đơn vị chuyển giao các công nghệ của các loại cây khác như : tre măng, rau sạch vv. Theo sự chỉ dẫn của các chuyên gia, giáo sư, tiến sỹ trong lĩnh vực công nghệ sinh học đã có nhiều kinh nghiệm và căn cứ vào thực tế nguồn kinh phí của dự án, Ban chủ nhiệm dự án đã quyết định thiết kế tầng 3 nhà 5 tầng theo kiểu phòng thí nghiệm và mua các loại thiết bị cần thiết phục vụ cho dự án :

****Tổ chức thực hiện dự án:***

Thành lập Ban chủ nhiệm dự án Gồm : Giám đốc dự án và bộ phận nuôi cấy mô theo chế độ trung tập, kiêm nhiệm gồm có các đồng chí là chuyên viên của sở và cán bộ kỹ thuật của Chi cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng.

Các cán bộ dự án đã phối hợp chặt chẽ với các chuyên gia của trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội, Viện Công nghệ sinh học, các chuyên gia từ trường đại học nông nghiệp I và các viện đã trực tiếp về chuyển giao công nghệ cho công nhân tại Vụ Bản và phối hợp chặt chẽ với Ban chủ nhiệm dự án để giải quyết những phát sinh về mặt kỹ thuật trong quá trình thực hiện.

* (Phòng chuẩn bị)

Nuôi cấy in vitro là nuôi cấy trong điều kiện vô trùng. Nếu không đảm bảo tốt điều đó, mẫu nuôi cấy hoặc môi trường sẽ bị nhiễm, mô nuôi cấy sẽ bị chết. Điều kiện vô trùng có ý nghĩa quyết định thành bại đối với nuôi cấy in vitro. Phòng chuẩn bị : Diện tích 20 m² được bố trí gọn, lát gạch men, sơn tường và thoáng mát. Nhiệm vụ chuẩn bị môi trường nuôi cấy: bao gồm pha chế môi trường, đun nấu môi trường và hấp môi trường khử trùng trong các thiết bị có nhiệt độ 120°C và áp suất 1,2-1,5 at chuẩn bị mẫu vô trùng đưa vào cấy, chuẩn bị vô trùng các dụng cụ thí nghiệm, hấp, sấy các chai, lọ thuỷ tinh, nút dây bình và vệ sinh các dụng cụ thí nghiệm. Đây là khâu chuẩn bị quan trọng cho việc nhân các giống cây đảm bảo độ vô trùng cao, tránh hiện tượng nhiễm khuẩn hàng loạt.

Phòng chuẩn bị được bố trí các dụng cụ thí nghiệm bao gồm : Tủ sấy, nồi hấp, máy cất nước, cân kỹ thuật, kính hiển vi, hoá chất và các dụng cụ phục vụ thí nghiệm vv..

- Tủ sấy : Dùng để khử trùng khô 300 °C sấy ở nhiệt độ 160 °C trong 2h

- Nồi hấp cao áp tiệt trùng : Khử trùng ướt nguyên tắc dùng hơi nước quá nhiệt độ để khử trùng các bào tử nấm thường sử dụng áp suất 1.1-1.3 at nhiệt độ 120°C .

Các loại thiết bị như máy cất nước 2 lần và hệ thống trao đổi ion 5-10l/h, các loại cân kỹ thuật, có độ chính xác 10⁻² cân phân tích độ chính xác 10⁻⁴ để cân các loại hoá chất pha môi trường cấy mô và nuôi cây khi đưa ra giá thể.

- Máy đo độ pH để đo môi trường

- Tủ lạnh để đựng hoá chất, để đảm bảo cho giữ cho các chất dùng để pha đa lượng và vi lượng được nguyên chất, không bị biến đổi tính chất hoá học khi đem pha môi trường nuôi cấy.

- Giá hoặc tủ để hoá chất

- Bàn thí nghiệm để pha môi trường, bếp ga để đun môi trường
- Các dụng cụ đồng, đo hoá chất để pha môi trường.

*** Phòng cấy vô trùng.**

Sau khi mẫu đã được chuẩn bị đưa vào phòng cấy để nhân nhanh ra hàng loạt các bình thí nghiệm khác, công việc này được thực hiện trong tủ cấy vô trùng đảm bảo các tiêu chuẩn kỹ thuật.

Hiện tại phòng cấy chúng tôi bố trí 3 bốc cấy, tủ hút ẩm và máy điều hoà không khí đảm bảo điều kiện tiêu chuẩn kỹ thuật phục vụ việc cấy mẫu vào ống nghiệm

Phòng cấy bố trí có các thiết bị sau:

- Tủ cấy (Laminare) dùng để cấy mẫu đưa vào bình tam giác
- Máy điều hoà nhiệt độ để bảo đảm nhiệt độ phòng cấy luôn ổn định
- Giá để môi trường,
- Xe đẩy để chuyển mẫu sang phòng nuôi sau khi cấy

*** Phòng nuôi .**

Thiết kế và bố trí 02 phòng 18 m², Là phòng để bình cấy mẫu, yêu cầu vô trùng, nhiệt độ duy trì từ 20°-25 °c, 16h chiếu sáng/ngày và 8h tối. Cường độ chiếu sáng 2000- 4000 lux.

Yêu cầu có các giá để bình : Để các bình mẫu sau khi cấy , cần có máy hút ẩm , máy hút bụi giữ nhiệt độ trong phòng luôn ổn định

Hiện tại đã bố trí có 8 giá để bình cấy, có đủ ánh sáng, có máy điều hoà nhiệt độ để giữ nhiệt độ theo quy trình kỹ thuật và máy hút ẩm .

*** Nhà màn và nhà lưới:**

- Xây dựng nhà lưới tại Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường có diện tích 100 m² để nhân các loại hoa. Nhà lưới được xây dựng và thiết kế theo đúng quy trình kỹ thuật có mái che mưa bằng nhựa trắng và có thể cung cấp đủ ánh sáng khi mùa đông.

- Xây dựng nhà màn diện tích 360 m² tại trung tâm giống cây trồng Vụ Bản để nhân các giống cây khoai tây sạch bệnh, đã tiến hành nhân khoai tây từ cây in vitro từ phòng thí nghiệm đưa ra trong 2 vụ đông năm 2000 và năm 2001.

2.2 Các trang thiết bị của phòng thí nghiệm :

Căn cứ vào nguồn kinh phí, điều kiện thực tế của địa phương và qua ý kiến tham mưu của các cơ quan chuyển giao công nghệ của dự án , các thiết bị phục vụ cho phòng nuôi cấy mô đã được trang bị như sau :

Bảng 1
CÁC THIẾT BỊ DỤNG CỤ VÀ HOÁ CHẤT ĐÃ TRANG BỊ

TT	Tên thiết bị	Nước SX	Số lượng	Ghi chú
I.	Thiết bị			
1	Tủ cấy vô trùng	Việt- Nga	3	Không khí hồi lưu
2	Nồi hấp cao áp Bk 75	Nga	1	
3	Kính hiển vi soi nổi Model ST 620-21149	Mỹ	1	
4	Cân phân tích điện tử Model AB 204S - 200g	METLER Thụy Sĩ	1	Độ chính xác 10 ⁻⁴
5	Tủ sấy Model T12	HERAEUS Đức	1	110 lít
6	Máy hút ẩm National	Nhật	1	
7	Tủ đựng hoá chất	VN	1	
8	Cột trao đổi ion	VN	1	
9	Tủ sấy 150-200 lít	TQ	1	
10	pH mét	TSỹ	1	
11	Máy cất nước 2 lần	Đức	1	
12	Máy điều hoà	Nhật	4	
13	Tủ lạnh National	Nhật	2	
14	Máy khuấy từ	NT	1	
15	Máy lắc	-	1	
16	Cân kỹ thuật 200g hiện số	Mỹ	1	Độ chính xác 10 ⁻²
Các loại dụng cụ và vật tư kỹ thuật khác				
1	Bàn thí nghiệm	VN	2	

2	Giá 5 tầng để nuôi cây	VN	8	
3	Xe đẩy Inox	VN	3	
4	Ghế quay Inox	VN	9	
5	Khay quả đậu	VN	2	
6	Kẹp phân tích	VN	2	
7	Dao cán liên	VN	2	
8	Cán dao	VN	4	
9	Lưỡi dao tách mẫu	VN	4	
10	Kéo P16	VN	3	
11	Bộ bàn ghế và máy vi tính	ĐNA	1	
12	Bếp ga	Nhật	1	

III Dụng cụ thủy tinh				
1	Bình tam giác 250 ml miệng rộng	TQ	4000	Chịu nhiệt
2	Bình tam giác 100 ml	Anh	130	
3	Pi pét 10cc	Vn	10	
4	Định mức 50cc	Vn	5	
5	Định mức 100cc	TQ	5	
6	Đèn cồn	TQ	3	
7	Ống đong 100 cc	Anh	5	
8	Cốc đong nhựa (500 ml)	Anh	2	
IV	máy vi tính	ĐNA	1	
V	Hoá chất các loại	TQ-Vn		

II. Tình hình và kết quả thực hiện về mặt công nghệ :

1. Công tác đào tạo công nghệ nuôi cấy mô:

Để tiếp thu công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường đã ký hợp đồng với viện sinh học nông nghiệp (thuộc Trường Đại học nông nghiệp I Hà Nội) và cử 4 đồng chí kỹ sư, đến trường Đại học nông nghiệp I để thực hiện việc chuyển giao công nghệ và học tập hai đợt. Viện sinh học nông nghiệp đã cử các giáo sư, tiến sỹ trực tiếp giảng dạy và chuyển giao công nghệ nuôi cấy mô TBTv cho cán bộ

tham gia học tập .Với rất nhiều nội dung các thầy đã trực tiếp giảng dạy : Lý thuyết cơ bản của sinh học thực vật; kỹ thuật và lý thuyết cơ bản nuôi cấy mô tế bào thực vật; kỹ thuật nuôi cấy mô các cây : khoai tây, chuối ngự hoàng, các loại hoa phong lan, địa lan, cẩm chướng,vv.. Thực hành pha chế các loại môi trường nuôi cấy trong phòng thí nghiệm, kỹ thuật thực hành trên đồng ruộng,vv

Năm 2002 Viện công nghệ sinh học tiếp tục truyền đạt cho chúng tôi những kiến thức và công nghệ nhân giống măng tre làm rau sạch vv..

Đơn vị đã tiếp thu được các nội dung :

- Kỹ thuật và lý thuyết cơ bản của nuôi cấy mô TBTV
- Phương pháp và kỹ thuật nhân nhanh giống khoai tây sạch bệnh.
- Nhân các loài hoa Phong lan, Địa lan, Cẩm chướng.
- Nhân và giữ giống chuối Ngự hoàng

- Triển khai thực tế kết quả nhân giống trong phòng thí nghiệm đưa ra ngoài đồng ruộng tại trại giống cây trồng Vụ Bản. Chúng tôi đã trồng thành công 2 vụ khoai tây nhân giống từ phòng thí nghiệm nuôi cấy mô trong vụ đông năm 2000 và năm 2001. Kết quả thu được 5.0 tấn khoai tây giống sạch bệnh.

Bước đầu chúng tôi đã nắm được những nét cơ bản của công nghệ nuôi cấy mô và thực hiện việc nhân các giống hoa phong lan, địa lan, chuối Ngự hoàng trong phòng thí nghiệm. Hiện nay đang tiếp tục triển khai và nhân thử nghiệm giống tre măng làm rau sạch. Xin trình bày một số nét cơ bản của nuôi cấy mô tế bào thực vật mà chúng tôi đã thực hiện như sau :

1.1 Mục đích chính của nuôi cấy mô tế bào thực vật :

Kỹ thuật nhân nhanh in vitro có những ưu việt mà các phương pháp khác không có được, đó là : Có thể nhân giống cây trồng ở quy mô công nghiệp (kể cả trên các đối tượng khó nhân bằng phương pháp thông

thường), phương pháp có hệ số nhân rất cao và cho ra các cá thể hoàn toàn đồng nhất về mặt di truyền .

Kỹ thuật nhân nhanh được ứng dụng vào các mục đích :

- Duy trì và nhân nhanh các kiểu gen quý làm vật liệu cho công tác giống
- Nhân nhanh các loài hoa khó trồng bằng hạt.
- Duy trì nhân nhanh các dòng bố mẹ và các dòng lai để tạo hạt giống cây rau, hoa và cây trồng khác.

Với phương pháp này nhiều giống cây, hoa (lan, cẩm chướng, đồng tiền, cúc...) cây lương thực, thực phẩm (khoai tây, súp lơ, măng tây, cò dầu, mía, cà phê, ...), cây ăn quả (chuối, dứa, dâu tây,) cây lâm nghiệp (bạch đàn, thông, tùng, dứa sợi...) đã được phổ biến rất nhanh vào trong sản xuất .

1.2. Các giai đoạn chính nhân nhanh giống in vitro :

Một trong những ưu việt của phương pháp nhân in vitro là việc sử dụng các mô nuôi cấy ở kích thước nhỏ. Ở kích thước này, sự tương tác giữa các tế bào trong mô đơn giản hơn. Tác động của các phương pháp sẽ hiệu quả hơn, mô nuôi cấy dễ phân hoá và sau đó dễ tái sinh.

Nuôi cấy mô chia làm 3 giai đoạn :

Giai đoạn 1 :Cấy khởi động: Là giai đoạn khử trùng, đưa mẫu vào nuôi cấy in vitro. Giai đoạn này cần đảm bảo các yêu cầu : Tỷ lệ nhiễm thấp, tỷ lệ sống cao, mô tồn tại sinh trưởng tốt. Khi lấy mẫu cần chọn đúng loại mô, đúng giai đoạn phát triển của cây. Quan trọng nhất là mô phân sinh đỉnh, đỉnh chồi nách và sau đó là đỉnh chồi hoa và cuối cùng là đoạn thân, mảnh lá, đoạn rễ, mô sẹo. Chồi ngọn, chồi nách được sử dụng để nhân nhanh các giống cây như : Măng tây, dứa, khoai tây, thuốc lá, hoa cúc.... Chồi non nảy mầm từ hạt nhiều khi cũng được sử dụng. Đối với mẫu dễ bị hoá nâu khi nuôi cấy, có thể bổ sung vào môi trường than hoạt tính hay ngâm mẫu trước khi cấy vào hỗn hợp axit ascorbic và axit Citric (25 - 150 mg/l) .

Giai đoạn 2 : Nhân nhanh : Là giai đoạn kích thích mô nuôi cấy phát sinh thành nhiều chồi. Sau đó tạo cây hoàn chỉnh bằng cách đưa các chồi vào môi trường tạo rễ .

Vấn đề là phải xác định được môi trường và điều kiện ngoại cảnh thích hợp để có hiệu quả cao nhất. Chế độ nuôi cấy thường là (25 - 27) °C và 16 giờ chiếu sáng/ ngày, tuy nhiên đối với mỗi loại đối tượng nuôi cấy đòi hỏi chế độ khác nhau : Nhân nhanh súp lơ cần quang chu kỳ chiếu sáng 9 giờ /1 ngày, nuôi nhanh phong lan ở giai đoạn đầu cần che tối để tạo rễ cho chồi.

Giai đoạn 3 : Thích ứng cây in vitro ngoài đất. Để đưa cây từ ống nghiệm ra đất có tỷ lệ sống cao cần đảm bảo theo yêu cầu :

Cây trong ống nghiệm đã đạt được những tiêu chuẩn hình thái nhất định (số lá, số rễ, chiều cao cây).

Có giá thể tiếp nhận cây in vitro thích hợp : Giá thể tối sẫm, thoát nước Phải giữ ẩm cho cây khi mới đưa từ ống nghiệm ra, cần che chắn để giữ ẩm và tránh ánh sáng quá mạnh.

*Quy trình công nghệ nhân nhanh cây khoai tây, kỹ thuật nhân giống và bảo quản giống chuối, kỹ thuật nhân phong lan, địa lan và các loại môi trường sử dụng cho các loại cây trên chúng tôi trình bày trong quy trình công nghệ riêng (có kèm theo báo cáo này).

Trong quá trình đào tạo và chuyển giao công nghệ chúng tôi đã được thực hành tại trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội, Nuôi cấy các loại hoa phong lan, cẩm chướng và địa lan, nhân nhanh và trồng khoai tây giống từ phòng thí nghiệm và ra nhà màng. Về cơ bản các kỹ thuật chúng tôi được hướng dẫn đầy đủ và nắm bắt được, đã triển khai nhân nhanh giống khoai tây tại phòng thí nghiệm đưa ra nhà màng tại Vụ Bản 2000-2001

Tháng 3/2002 Viện công nghệ sinh học tiếp tục đào tạo cho các cán bộ về kỹ thuật cơ bản của nhân giống măng tre luồng dùng làm rau sạch và

trồng cây trong dung dịch. Hiện nay sở đang triển khai nhân tre măng làm rau sạch trong phòng thí nghiệm để hoàn chỉnh quy trình kỹ thuật sau này có thể nhân rộng phục vụ cho sản xuất đại trà.

2. Triển khai công nghệ nhân giống khoai tây.

2.1 Quá trình thực hiện :

Để thực hiện việc nhân nhanh giống khoai tây sạch bệnh bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật chúng tôi chọn giống khoai tây Diamond của Hà Lan. giống khoai được trường đại học NN I Hà Nội nhập về từ cây trong ống nghiệm. Giống được qua kiểm chứng của trường hoàn toàn sạch bệnh và đảm bảo các tiêu chuẩn kỹ thuật. Đây là giống khoai hiện đang được xuất khẩu sang một số nước và có giá trị về mặt kinh tế . Nông dân huyện Vụ Bản đang trồng giống khoai này phục vụ cho xuất khẩu, nhưng nguồn giống phải nhập qua đơn vị tư nhân, chưa rõ độ sạch bệnh và giá thành cao. Vì vậy chúng tôi đã chọn giống khoai này để nhân thử để xác định khả năng có thể nhân nhanh ở điều kiện sinh thái của địa phương, đồng thời để hoàn thiện quy trình kỹ thuật và trên cơ sở đó tính toán khả năng có thể phục vụ sản xuất tại địa phương.

2.1.1. Trong phòng thí nghiệm:

- Thực hiện theo quy trình như sau để nhân nhanh cây và tạo củ.

***Đối với cây In vitro**

- Duy trì nhiệt độ của phòng nuôi cấy : 22-25°C,
- Quang chu kỳ 16 giờ chiếu sáng và 8 giờ tối/ ngày; Cường độ ánh sáng 3000 lux.

- Môi trường sử dụng cho nhân nhanh

* MS + 2% đường +10% nước dừa

* MS + 2% đường +10% nước dừa + 6.5g agar (tùy loại agar).

* Và MS + 2% đường + (0,1 – 0,3 mg IAA)/lít

***Đối với củ in vitro:**

Chọn những bình cây đủ tiêu chuẩn(cây cao từ 7-10 cm, có khoảng 8-10 lá cây khỏe mập. Gạn bỏ phần môi trường còn lại, rót môi trường tạo củ với lượng 50-70 ml/bình (bình môi trường đặc thì rót trực tiếp dung dịch tạo củ vào).

Chuyển những bình đã rót dung dịch tạo củ vào điều kiện tối hoàn toàn, ở nhiệt độ từ 25-30°C.

Sau 2 tháng thu hoạch củ in vitro

Môi trường chúng tôi thực hiện là : MS + 12% Đường.

- Kết quả sản xuất cây và củ in vitro trong phòng thí nghiệm năm 2000

Bảng 2

TT	Nội dung	số bình	Số(cây)	Ghi chú
1	Cây in vitro	6000	40.000	Cây khỏe, lá xanh
2	Củ in vitro	300	2000	Kích thước 5- 8mm

Nhận xét : Giai đoạn đầu chúng tôi đã tiến hành nhân nhanh giống khoai tây Hà Lan(giống được lấy từ Trường Đại học nông nghiệp I Hà Nội) , hoàn toàn sạch bệnh và chúng tôi tiến hành nhân trong phòng thí nghiệm với các điều kiện kỹ thuật như đã trình bày thu được 40.000 cây và một số củ in vitro, cây khỏe mạnh.

Tuy nhiên để có được kết quả trên trong suốt thời gian triển khai đã có rất nhiều khó khăn đó là : Ban đầu cây khô cằn, không phát triển, hiện tượng quăn đầu lá rất nhiều, cây bị dễ nhánh, vống dạng kim, và mỗi nhánh lại phát triển thành nhiều nhánh khác vv.. hiện tượng bị nhiễm khuẩn trong bình rất nhiều, do môi trường, do nguồn nước, do kỹ thuật cấy chuyển kém và do khâu khử trùng không đảm bảo. Có thời kỳ cây chết hàng loạt do bị teo ngọn trong bình sau khi cấy mới được 7 ngày vv.. và nhiều nguyên nhân khác nữa. đặc biệt khâu khó khăn nhất là giai đoạn đưa cây từ bình thí nghiệm ra nhà màn là cực kỳ khó khăn bởi vì cây đang sống trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ điều kiện thuận lợi, phải chuyển sang môi trường tự thích

nghi với điều kiện khí hậu tự nhiên, nhiệt độ và ánh sáng không bảo đảm đã dẫn đến chết hàng loạt..vv Trường đại học NNI đã cử cán bộ trực tiếp về hướng dẫn và cùng làm, nhưng cũng không có kết quả khả quan. Cuối cùng chúng tôi cũng tìm ra được một trong các nguyên nhân quan trọng đó là do thời tiết (nhiệt độ, độ ẩm,,) là yếu tố cơ bản quyết định sự sinh trưởng của khoai tây từ nuôi cấy mô. Thời điểm cây có thể sinh trưởng tốt nhất khi đưa cây từ phòng thí nghiệm ra nhà màng thời tiết phải có nhiệt độ dưới 25 °C.

2.1.2. Kết quả trồng khoai tây nuôi cấy mô tại nhà màng

a. Nhân nhanh khoai tây bằng phương pháp trồng trong các giá thể nhựa có chứa dung dịch.

Chuyển cây từ trong in vitro ra ngoài điều kiện tự nhiên là giai đoạn cuối cùng của quy trình nhân nhanh giống cây trồng nuôi cấy mô tế bào thực vật. Giai đoạn này là tối quan trọng, quyết định tính ứng dụng thực tế của một quy trình nhân giống vô tính in vitro. Vì từ đây cây phải sống từ lập hoàn toàn bằng bộ rễ và bộ lá của mình, đối lập hoàn toàn với các điều kiện tối thích trong phòng. Chính vì vậy, công việc chuyển cây khoai tây in vitro ra ngoài điều kiện tự nhiên cần đảm bảo các yêu cầu sau đây để cây đạt tỉ lệ sống cao nhất:

+ Tiêu chuẩn cây: Cây cao từ 5-7cm, có 3-4 lá và có rễ đầy đủ trước khi lấy cây ra khỏi bình cần để cây ra ngoài điều kiện tự nhiên (Để ở hành lang 3-5 ngày). Đây là việc huấn luyện cây thích ứng với điều kiện ngoại cảnh

+ Giá thể sạch thoáng khí, giữ ẩm. Chế độ chăm sóc phù hợp.

Chúng tôi đã sử dụng các điều kiện để trồng thủy canh như sau:

- Hộp xốp để đựng dung dịch trồng cây dung tích từ 15-30 lít
- Ni lông đen để lót hộp xốp tránh nước thấm và tạo môi trường tối cho bộ rễ phát triển.
- Trấu hun dùng làm giá thể để trồng cây

- Rổ nhựa để đựng bầu hun (rổ có kích thước đúng bằng kích thước hộp xốp). Độ dày lớp bầu 5-7 cm.

- lưới cách ly côn trùng : Hộp xốp phải được đặt trong lưới cách ly.

- Dung dịch dinh dưỡng trồng cây : dùng môi trường Knop.

*** Cách trồng cây :**

- Khi lấy cây ra khỏi bình cần lấy nhẹ nhàng, tránh dập nát, rửa cây bằng nước sạch 2-3 lần (mục đích rửa sạch dinh dưỡng môi trường). điều này rất quan trọng, nếu không làm cẩn thận thì cây sẽ nhiễm khuẩn rất nhanh.

- Phân loại cây trước khi trồng (Cây nhỏ trồng riêng, cây to trồng riêng).

- Độ sâu trồng vào bầu hun là 3 cm

- Khi trồng xong tưới ngay bằng phun mù, sau đó đậy lại bằng hộp nhựa trong (1-2 ngày)

Chú ý : Mục nước của dung dịch : Đáy rổ vừa chạm dung dịch là được, tránh ngập nước quá sâu, nếu không cây sẽ chết vì ngập úng và đáy rổ không chạm dung dịch. Trong suốt quá trình trồng luôn giữ dung dịch ở mức này.

Kết quả thực hiện trong nhà màn trên các loại giá thể cho kết quả như sau:

Bảng 3

Thời gian	Số giá thể	Số cây/giá thể	Tổng số cây	số sống	tỷ lệ %
1-15/10	50 giá thể bầu hun có ngâm nước dung dịch Knop	50	2500	1.512 cây	60.5
1-15/10	50 giá thể bầu hun không dung dịch	50	2.500	1.252	45.1
1-15/10	50 giá thể đất xốp lẫn phân	50	2500	950	38.0
	Cộng	150	7.500	3.714	49.52

Nhận xét : Do thời tiết nhiệt độ ngoài trời cao, nhiệt độ trung bình 25-29⁰c, độ ẩm 75% vì vậy cây chưa thích nghi với thời tiết, tỷ lệ sống trung bình đạt 49.52%.

Những cây trồng trong giá thể có dung dịch knop (50 rổ) tỷ lệ sống cao 60,5%, các giá thể có trấu hun nhưng không ngâm trong dung dịch mà chỉ tưới cho cây bằng dung dịch Knop ngày tưới 3 lần thì tỷ lệ sống thấp hơn : 49.1% những cây trong giá thể đất có lẫn phân ủ mục và đất tơi xốp tỷ lệ sống thấp nhất :38 %.

Tỷ lệ sống còn ở mức thấp do nhiều nguyên nhân khác nhau, song theo chúng tôi nguyên nhân chính là do điều kiện thời tiết nhiệt độ cao trên 25 °c.

b. Nhân khoai tây bằng bốn mạ trong nhà cách ly :

Tạo bốn mạ là phương pháp giảm cạnh giống như một số cây trồng khác, nhằm mục đích nhân nhanh chóng trong thời gian ngắn tạo ra quần thể cây đồng nhất về mặt di truyền. Tạo bốn mạ khoai tây đã sử dụng các giá thể sau:

- Giá thể trồng là trấu hun, độ dày từ 5-7 cm.
- Chiều rộng của bốn mạ 1.5 m nhằm thao tác dễ dàng.
- Ni lon đen để trải xuống nền đất sau đó đổ trấu hun lên (mục đích tránh mất nước và sâu bệnh từ đất.
- Tiêu chuẩn cây để tạo bốn mạ : Khi cây mẹ có 5-7 lá thật thì có thể cắt ngọn để giâm được. Khi cắt phần ngọn phải có từ 2-3 lá thật.
- Dụng cụ cắt và thao tác cắt :

Dùng lưỡi dao cạo là tốt nhất. Trước khi cắt cần phải khử trùng dao bằng cách nhúng vào cồn và hơ lên ngọn lửa đèn cồn, khi dao nguội mới sử dụng.

- Từ các ngọn cắt sau 15 ngày có thể nhân tiếp và giâm vào bốn mạ khác. Cứ như vậy từ 1 bốn mạ có thể cắt 3- 4 lần.

- Mật độ trồng trong bồn mạ tùy theo yêu cầu. Nếu dùng để nhân tiếp thì trồng dày (3 x5 cm). Nếu dùng cây để trồng ra ruộng thì trồng thưa hơn 5x5 cm.

- Chăm sóc cây trong bồn mạ :

Khi trồng xong phải tưới ngay bằng cách phun sương, nếu trời nắng nóng thì phải tưới nhiều lần trong ngày. Sau trồng từ 2-3 ngày thì tưới dinh dưỡng bằng dung dịch Knop cứ 3 ngày phun dinh dưỡng 1 lần.

Kết quả thực hiện trồng trong bồn mạ :

Bảng 4

Thời vụ	Tổng số cây	số lần cắt ngọn	Kết quả (cây)	Hệ số nhân
30.9	5000 cây	0	3000	0,6
15.10	3000-	1	2500	0,83
30.10	2500-	1	3000	1,2

Diện tích trồng là $10 \text{ m}^2 \times 500 \text{ cây/ m}^2 = 5000 \text{ cây}$

Nhận xét : Cây trồng trong bồn mạ ban đầu do thời tiết không ổn định nhiệt độ ngoài trời luôn ở mức trên 25°C nên cây chết nhiều. Khi đem trồng 5000 cây đến 15.10 còn sống 3000 cây và tiến hành cắt ngọn thu được 2500 cây, đến 30.10 tiếp tục cắt ngọn thu được 3000 cây. tỷ lệ sống đạt tới 60%.

Quy trình áp dụng trồng trong bồn mạ điều quan trọng nhất là phải có nilon che 3-5 ngày đầu tránh mất nước cho cây và không được tưới dung dịch trong 2 ngày đầu. Bắt đầu ngày thứ 3 mới sử dụng dung dịch knop hoặc 1/10 MS phun cho cây luôn giữ đảm bảo độ ẩm.

Khi tiến hành cắt ngọn tốt nhất là dùng thuốc Zinep khử trùng lưỡi dao. Nếu hơi trên ngọn đèn cồn phải để nguội tránh cho cây bị thương.

c. Tỷ lệ sống của giống khoai tây Diamond (Hà Lan) tại các thời điểm khác nhau trong 3 môi trường(% sống của cây)

Bảng 5

Thời vụ	Đất (% sống)		Bồn mạ (% sống)		Dung dịch. (% sống)	
	Nam Định	T.Tâm CNSH	Nam Định	T.Tâm CNSH	Nam Định	T.Tâm CNSH
30.7	7.0	9.09	8.0	0	35	53.3
15.8	7.1	10	8.5	-	36	22.6
30.8	12.0	22.6	15.0	-	65	96
15.9	13.5	21	16.0	-	56.0	97.33
30.9	25.0	44.44	30.0	-	66.5	100.00
15.10	38.0	83.11	45.1	-	60.5	100.00
30.10	46.0	98.7	66.3	-	60.5	100.00

Nhận xét : Do thời tiết khí hậu không ổn định, nhiệt độ cao hơn trong phòng thí nghiệm từ 5-10 °c nên cây chưa kịp thích nghi ngay với điều kiện thời tiết, hơn nữa trong giai đoạn đang thử nghiệm có cây chưa đủ điều kiện kỹ thuật không thể tồn tại được. Tỷ lệ sống của cây khoai tây in vitro khi đưa ra trồng trên nền đất + phân luôn thấp hơn so với trồng trong bồn mạ và trồng trong thủy canh một cách rõ rệt. Tỷ lệ sống cao nhất là trồng trong thủy canh.

Tỷ lệ sống của cây khoai tây trồng tại Nam Định thấp hơn so với cây trồng tại viện sinh học nông nghiệp của trường Đại học NN I Hà Nội . Điều này nguyên nhân chủ yếu là sự yếu kém về công nghệ so với các chuyên gia có nhiều kinh nghiệm, song cũng do điều kiện khí hậu thời tiết ở Nam Định khác so với ở Hà Nội trong giai đoạn nghiên cứu.

Song điều quan trọng là bước đầu tạo cho đội ngũ cán bộ khoa học kỹ thuật yên tâm tin tưởng vào công nghệ mình đã tiếp thu và khả năng ứng dụng công nghệ này tại địa phương.

Tạo cho cây sớm có điều kiện thích nghi với môi trường, đồng thời tạo hệ số nhân nhanh bằng phương pháp cắt ngọn vừa kinh tế, vừa tạo được cây khoẻ mạnh để trồng ra ruộng.

d. Theo dõi quá trình ảnh hưởng của điều kiện trồng trọt đến quá trình sinh trưởng và phát triển của cây khoai tây.

Bảng 6

Thời vụ ra cây	Điều kiện trồng	Chiều cao cây (Cm)		Số lá (Lá /cây)		Diện tích lá (cm ² /lá)	
		Ban đầu	15 ngày sau	Ban đầu	15 ngày sau	Ban đầu	15 ngày sau
15.8	Đất	5.52	7.71	5.8	7.5	0.38	0.40
	Thủy canh	5.40	11.5	5.80	11.80	0.38	0.76
15.9	Đất	6.30	10.5	5.90	9.50	0.45	0.60
	Thủy canh	6.31	13.8	5.80	13.80	0.45	1.01
15.10	Đất	6.10	11.0	5.85	10.80	0.45	0.88
	Thủy canh	6.20	15.0	5.75	13.0	0.42	1.17

Nhận xét : Qua bảng trên cho ta thấy : Cây trồng trong dung dịch môi trường MS hoặc knop phát triển nhanh hơn trồng ở đất thông thường, sau 15 ngày cây trồng trong dung dịch có chiều cao, số lá và diện tích lá hơn cao hơn so với cây trồng từ đất. Đây là điều kiện thuận lợi cho việc cắt ngọn nhân trong bồn mạ có chứa dung dịch, tạo điều kiện cho việc giảm giá thành cây giống.

2.1.3. Kết quả sản xuất giống siêu nguyên chủng tại nhà màn cách ly 360m² vụ đông năm 2000

Nhằm hoàn thiện quy trình sản xuất và xác định khả năng thích nghi với điều kiện sinh thái của cây khoai tây in vitro tại địa bàn Nam Định, chúng tôi tiến hành trồng thử nghiệm trên diện tích 360 m². Theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng và phát triển và đánh giá năng suất, chất lượng, khả năng chống chịu sâu bệnh vv..

Chế độ chăm bón cho cây : Từ lý thuyết và qua thực tế chúng tôi có một số thay đổi khi bón phân cho cây (Theo bảng sau)

Bảng 7

Thời kỳ bón	Loại phân (kg/ha)					
	Phân chuồng	Cao	NPK	urê	Supe lân	KCL
Bón lót	10.000	500			400	
Trồng 7 ngày				150	160	35
Sau 15 ngày				150		
Sau 30 ngày			330	150		100
Sau 45 ngày						100
Tổng số	10.000	500	330	450	560	235

Nhận xét : So với khuyến cáo của Trường Đại học NNI Chúng tôi bón lượng cao hơn (Tại NNI :urê 250-300; supelân 400-450 kali 150-200). Chủ yếu do chất đất ở đây nghèo dinh dưỡng, song nhận thấy rằng ; cây in vitro hoàn toàn có thể thích nghi với chế độ bón phân trên, cây sinh trưởng mạnh, qua theo dõi thấy hình thành tia củ sớm (sau 15 ngày).

Giai đoạn từ sau trồng 7 ngày đến 40 ngày cây khoai tây sinh trưởng phát triển rất mạnh, đồng thời qua theo dõi sự hình thành tia củ rất sớm (15

ngày đối với cây invitro và 30 ngày với cây củ invitro, vì vậy cần bón tập trung vào giai đoạn này

- Mặc dù được trồng trong nhà cách ly được xử lý hoá chất song cây khoai tây vẫn có thể bị nhiễm một số sâu bệnh (Bệnh mốc sương trong điều kiện thời tiết ẩm và thiếu ánh sáng) nên nhất thiết phải phun thuốc định kỳ và phun khi phát hiện sớm. Trong quá trình sử dụng thuốc BVTV cũng phải chú ý tới nồng độ cho từng giai đoạn và từng đối tượng. Qua sử dụng chúng tôi nhận thấy nếu sử dụng thuốc trừ nhện đỏ (Ortus), trừ rệp (Vidi thoate)

***Một số chỉ tiêu hình thái của cây**

Qua theo dõi tại Trung tâm giống cây trồng Vụ Bản năm 2000 và năm 2001 chúng tôi thấy các kết quả thu được như sau:

Bảng 8

TT	Chỉ tiêu theo dõi	Củ SNC - 2000	Củ NC - 2001
1	Chiều cao cây (cm)	50	55
2	Thân chính/ củ giống (số thân)	3	4
3	Số nhánh đẻ (thân phụ/ khóm)	5	7
4	Đường kính thân chính (cm)	0.7	0.9
5	Màu sắc thân lá	Xanh nhạt	Xanh nhạt
6	Giai đoạn hình thành củ (ngày)	40	40

Nhận xét : Qua theo dõi chúng tôi thấy giống khoai tây Diamond có khả năng sinh trưởng và phát triển khoẻ mặc dầu giai đoạn đầu cây trông có vẻ yếu, khả năng chống chịu bệnh tật cũng tốt, lớn nhanh vào giai đoạn sau khi đã trồng được 30 ngày.

Bảng theo dõi kết quả các chỉ tiêu cây và củ invitro từ khi trồng đến khi thu hoạch - Vụ đông năm 2000

Bảng 9

Đảng

Giống	Thời vụ	Số củ /gốc (củ)	P củ/ gốc (g)	Trọng lượng củ		Mật độ trồng cây/m ²		Năng suất Lý thuyết T/ha	Năng suất thực tế
				Max (Gr)	Min (Gr)	Lý thuyết	T.ỉ lệ		
Cây invitro									
-	15.12. 2000	5.6	42.8	5.0	3.0				
-	15.1. 2001	6.12	48.5	40	10				
-	15.2. 2001	12.3	62.7	65	13	23	18	12.0	7.4
Củ in vitro									
	15.12 .2000	7.6	45.5	8.0	3.5				
	15.1. 2001	9.5	79	66	6.0				
	15.2. 2001	14.6	168.5	120	20	23	9.6	14.5	9.3

Tổng số củ thu được 220 kg/ 360 m² loại giống nguyên chủng sạch bệnh trong vụ đông năm 2000 năng suất củ giống nguyên chủng :7,4 tấn/ ha

Kết quả trên cho ta thấy năng suất giống siêu nguyên chủng vụ đầu như vậy là tương đối cao, song kích thước củ không đồng đều,

2.1.4. Kết quả sản xuất giống nguyên chủng - Vụ đông năm 2001

Bảng 10

TT	Loại giống đưa ra trồng	P.củ (gr)		P.tb/gốc (Gr)	Năng suất Tấn /ha	Ghi chú
		Min	Max			
1	Củ siêu nguyên chủng	5	85	250	7.02	130kg/180m ²
2	Củ nguyên chủng	5	105	300	8.64	160kg/180 m ²

Tổng số củ thu hoạch được trên 1 sào (360m²) vụ đông : 290 kg

Nhận xét :

- Giống trồng từ củ in vitro cho năng suất cao hơn, củ to và cây chống chịu với thời tiết tốt hơn.

- Tạo củ in vitro trong phòng thí nghiệm khó hơn vì dễ bị nhiễm bệnh, song đảm bảo tỷ lệ sống cao hơn.

- Do yêu cầu cần nhân nhanh, nên phải kết hợp phương pháp nhân nhanh trong bình ống nghiệm và phương pháp tạo củ để có đủ giống cung cấp cho sản xuất.

2.1.5. Phòng trừ sâu bệnh.

Mặc dù có lưới để cách ly côn trùng nhưng chúng ta vẫn không khống chế được 100%, mặt khác lưới chỉ ngăn được côn trùng chứ không ngăn được nấm khuẩn. Do đó vẫn phải quan tâm đến công tác phòng trừ sâu bệnh. Khoai tây có hai loại bệnh nguy hiểm là bệnh sương mai và bệnh héo xanh,

a.Bệnh héo xanh : Do vi khuẩn xâm nhập vào hệ thống mạch dẫn của cây làm phần gốc giáp mặt đất bị thối, nhưng phần trên lá vẫn xanh. Bệnh này khó trừ được vì vi khuẩn trong đất xâm nhiễm vào. Khi cây bị hại thì nhổ bỏ.

b. Bệnh mốc sương: Đây là bệnh phổ biến của cây họ cà. Bệnh gây hại ở tất cả các giai đoạn của cây. Bệnh phát sinh và phát triển trong điều kiện thời tiết âm u ít ánh sáng, độ ẩm không khí cao, bệnh hại chủ yếu ở mặt dưới của lá. bệnh phát sinh đầu tiên ở lá, lá bị bệnh có các đốm nhỏ li ti màu trắng sau đó lá bị mềm nhũn và hỏng. Khi bệnh đã phát triển mạnh thì các bộ phận khác cũng bị hại.

Cách phòng trừ : Tốt nhất là phun phòng định kỳ (15 ngày/ lần) bằng dung dịch Boocdô 1% , khi phun thì phun vào mặt dưới của lá.

c.Nhện đỏ : Phát sinh trong điều kiện thời tiết khô hanh $18^{\circ}\text{C}-25^{\circ}\text{C}$. Triệu chứng bị hại ở ngọn cây chuyển từ màu xanh sang màu đồng đỏ. Nhện phát triển nhanh do đó cần phải thường xuyên kiểm tra và phun thuốc phòng 15 ngày/ lần bằng Polytril . hoặc ortus, trừ rệp bằng Vidi thoate

d.Bọ trĩ : Phát triển mạnh trong điều kiện thời tiết khô hanh $18^{\circ}-25^{\circ}$, Bọ trĩ hại ở mặt dưới lá, lá bị hại sẽ xoắn lại và lớp biểu bì của lá bị rộp lên (như sâu vẽ bùa hại lá cam quýt) do đó cần thường xuyên kiểm tra và phun thuốc phòng bằng polytril hoặc sheppra.

Qua theo dõi chúng tôi thấy xuất hiện một số bệnh và tỷ lệ mắc bệnh của chúng như sau:

Bảng 11

Các loại bệnh	Nhện đỏ (%)	Bọ trĩ (%)	Bệnh mốc sương (%)	Bệnh héo xanh (%)
Sau trồng 10 ngày	0	0	0	0
Sau trồng 30 ngày	0	0	0	1-4
Thu hoạch	1-2	5-7	1-2	4-6

Nhận xét : Thời kỳ đầu thời tiết không có ảnh hưởng nhiều, cây được che chắn nên côn trùng không gây hại được. Chủ yếu là bệnh của cây phát sinh như héo xanh tỷ lệ : 1% và xuất hiện nhện đỏ trên lá. Khi thu hoạch tỷ lệ héo xanh tăng lên tới 6%.

2.2 Kết quả thực hiện về mặt công nghệ :

Qua quá trình thực hiện áp dụng công nghệ nhân giống khoai tây bằng phương pháp in vitro chúng tôi thấy :

Quy trình công nghệ đã áp dụng hoàn toàn phù hợp trong điều kiện hiện nay tại Nam Định và có nhận xét một số yếu tố sau :

****Đối với cây in vitro trong phòng thí nghiệm :***

Chủ yếu áp dụng môi trường MS nhưng kết hợp giữa môi trường lỏng và môi trường đặc để nhân nhanh phục vụ cho kịp thời vụ.

Bởi vì : Nếu chỉ dùng phương pháp tạo củ in vitro trong phòng thí nghiệm thì có đặc điểm là cây khỏe, giống tốt, dễ trồng, dễ bảo quản nhưng lượng củ tạo ra trong cùng thời gian ít hơn so với nhân cây .

Phương pháp nhân nhanh cây có ưu điểm tạo ra lượng cây nhiều, nhanh trong cùng thời gian, đảm bảo đủ cho yêu cầu đề ra, song có nhược điểm là khi đem ra thủy canh cây thích nghi với điều kiện sinh thái kém hơn củ, dễ chết và tỷ lệ sống thấp hơn, giá thành sẽ cao hơn vv.

Như vậy theo chúng tôi nên kết hợp cả hai phương pháp trên căn cứ vào tình hình thực tế của sản xuất.

2.3. Hiệu quả kinh tế - xã hội:

a.Hiệu quả kinh tế : Đây là giai đoạn đầu của việc đầu tư cơ sở vật chất kỹ thuật để hình thành phòng thí nghiệm và tiếp thu công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật từ các cơ sở, viện và các trường Đại học trong nước, nhằm ứng dụng các công nghệ tiên tiến phục vụ cho sản xuất của địa phương. Dự án đang trong giai đoạn đầu nên chưa có hiệu quả kinh tế ngay, mà nó sẽ là

hiệu quả kinh tế về sau, nhằm phục vụ cho nhiệm vụ phát triển kinh tế xã hội của tỉnh.

Tính giá thành cây giống qua phòng thí nghiệm (từ khi đưa cây vào phòng thí nghiệm cho đến khi đưa cây ra nhà màn)

Bảng 12

Nội dung	Chi phí dung dịch (1000 đ)	Tiền điện, nước (1000 đ)	Khấu hao (1000 đ)	Giống gốc (1000 đ)	Chi khác (1000 đ)	Tổng số cây (cây)	Giá thành (đ/cây)
Cây invitro	1.650	2.500	5.500	2.000	9.500	20.000	1.057

Tính giá thành cây giống in vitro qua việc nhân bốn mạ ở các thời gian

Bảng 13

Thời vụ	Điều kiện trồng	Chi phí dung dịch (đ)	Chi phí giá thể	Chi phí 100 cây gốc(đ)	Chi phí khác (đ)	Σ.số cây (cây)	Giá thành (đ/ cây)
15.8. 2000	Thủy canh	12.500	18.000	15.000	15.000	300	201
	Đất	3500	6.000	15.000	15.000	50	790
15.9. 2000	Thủy canh	12.500	18.000	15.000	15.000	250	242
	Đất	3500	6000	15000	15000	66	598
15.10 2000	Thủy canh	12.500	18.000	15.000	15.000	350	172
	Đất	3500	6000	15000	15000	55	987
15.11 2000	Thủy canh	12.500	18.000	15.000	15.000	450	134
	Đất	3500	6000	15000	15000	50	790

Bình quân : Giá thành trồng trong dung dịch thủy canh : 179 đồng /cây

- Giá thành trồng trên giá thể đất tơi xấp xỉ phân : 791 đồng / cây

Nhận xét : Qua bảng trên ta thấy : Cây nhân qua bốn mạ giá thành rẻ hơn nhân từ đất qua từng thời gian. Điều này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu năm 1998 của Trung tâm công nghệ sinh học Hà Nội.

Giá thành khi đưa cây ra ruộng: 1.057 đồng + 179 đồng = 1.236 đồng / cây.

Giá thành trồng trên đồng ruộng tại Vụ Bản.

Bảng 14

TT	Nội dung	Thành tiền	Ghi chú
1	Giống nguyên chủng	10.000.000	
2	Phân bón các loại	6.100.000	
3	Công kỹ thuật và các chi phí khác	9.980.000.	
4	Khấu hao thiết bị tài sản vv	6.900.000	
	Tổng cộng	32.980.000	

Sản phẩm 510 kg thu được của 2 vụ năm 2000 và năm 2001: (220+290) kg;

Giá thành 1 kg củ nguyên chủng sạch bệnh $32.980/510 = 64.000$ đồng/kg

Nhận xét : Đây là giai đoạn đầu của việc nhân thử cây giống và đang trong quá trình tiếp thu công nghệ mới, vì vậy số cây sống còn thấp, tỷ lệ khấu hao thiết bị máy móc còn cao. Ảnh hưởng của thời tiết khí hậu đến tỷ lệ sống của cây đáng kể cho nên giá thành cây giống chưa thể đáp ứng ngay với thị trường tiêu thụ.

Khi sản xuất củ giống cấp 1 phục vụ cho nông dân giá thành sẽ giảm xuống từ 5-7 lần . Hiện nay giá thành 1 kg củ giống khoai tây Hà lan trên thị

trường là 10-11.000 đồng / kg, như vậy giá thành củ sạch bệnh dự kiến đạt được là $64000/5 = 12.000$ đồng/kg. Điều này có thể đáp ứng được cho sản xuất về kinh tế tại địa phương.

b. Hiệu quả xã hội :

- Bước đầu đã xây dựng được phòng thí nghiệm có các trang thiết bị đủ điều kiện cho việc thực hiện việc nuôi cấy mô tế bào thực vật
- Đào tạo được đội ngũ cán bộ KHKT bước đầu tiếp thu được thành tựu khoa học kỹ thuật mới phục vụ cho nhiệm vụ chung của tỉnh .
- Giúp bà con nông dân sớm làm quen với thành tựu khoa học, các giống mới, sớm ứng dụng các thành tựu khoa học kỹ thuật vào sản xuất, tăng thu nhập trên một đơn vị diện tích.
- Có thể nhân nhanh các giống khoai tây , phục vụ kịp thời cho sản xuất đại trà của bà con nông dân địa phương, đồng thời giúp nông dân sớm tiếp thu khoa học kỹ thuật mới.

3. Hoa lan

Trong các giống hoa chúng tôi tập trung nhân giống và sản xuất hoa phong lan là loại hoa quý tộc hiện nay nó đang trở thành đối tượng nghiên cứu và sản xuất. Nhu cầu tiêu thụ trên thị trường là rất lớn, là loại hoa lâu tàn, dễ bảo quản. Nó thường xuyên có trong cuộc sống của nhiều người.

a. Kỹ thuật nhân giống và nuôi cấy hoa lan

1.1.Một số phương pháp nhân giống :

* Nhân giống bằng phương pháp hữu tính, thông qua thụ phấn và thụ tinh nhân tạo,

* Nhân giống bằng phương pháp vô tính:
là phương pháp tách các bụi lớn thành bụi nhỏ, tách mầm, chồi đặt vào các giá thể thích hợp vv..

* Nhân bằng phương pháp nuôi cấy invitro. từ gieo hạt dùng môi trường nuôi cấy trong môi trường MS với PH =5; điều kiện môi trường 16 h

chiếu sáng 8 h tối nhiệt độ 22-27°C. Khi hạt đã nảy mầm qua giai đoạn tạo Protocorm, tạo lá đầu tiên chúng ta phải cấy chuyển sang môi trường khác vì mục đích nhân giống thì nhân bằng protocorm cây sinh trưởng phát triển thuận lợi hơn. Chú ý khi gieo hạt chọn quả không bị sâu, quả của cây khỏe mạnh, không non và không già quá.

* Nuôi cấy bằng định sinh trưởng hoặc mắt ngủ : Định sinh trưởng cấy trong môi trường lỏng (như môi trường gieo hạt) và lắc để cây phát triển
ưu điểm của phương pháp này là : tạo ra số lượng lớn cây giống đồng nhất và sạch bệnh

Sau khi lan lớn có đủ kích cỡ lá từ 3-4 lá , cao 5-7 cm và 5-7 rễ chúng ta cho ra vườn ươm, lưu ý trước khi cho ra ngoài phải để cây trong bình 2 ngày trong điều kiện bình thường.

b. Kỹ thuật trồng :

Trồng trong các giá thể gồm than, củi, gạch xốp và xơ dừa xé nhỏ. Yêu cầu ngoại cảnh : Cây con cường độ ánh sáng tán xạ che mái bằng lưới nylon đen (30% ánh sáng trực xạ). sau khi trồng lên chậu 1-2 ngày mới tưới cho cây. Nước chỉ được tưới ướt mặt lá, giá thể phải tương đối khô.

Sau 2 tuần mới phun dinh dưỡng, trước khi phun dinh dưỡng tưới nước lã qua 1 lần.

c. Phòng và điều trị bệnh :

Lan thường bị các bệnh :

*.Thối khuẩn :

Do vi khuẩn và do chế độ tưới nước không hợp lý

Điều trị : Dùng streptomycin + penicilin

*.Bệnh Thán thư :

Do nấm : xuất hiện chấm đen ở đầu lá

Điều trị : Anvin thuốc của Anh hãng Ciba hoặc Boóc đô 0.5% phun vào đầu mùa đông.

d..Kết quả trồng lan :

Hiện tại Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường đã nhân giống các loại lan trong bình thí nghiệm và đưa ra nhà màn cách ly đảm bảo tỷ lệ sống cao.

Bảng 15

TT	Tên các loài hoa lan	SL	Ghi chú
1	Hồ điệp	2000 cây	Hiện đang trồng trong nhà màn
2	Van đa	200-	NT
3	Hoàng y mỹ nương	150-	NT
4	Catlaya	1000-	Phòng thí nghiệm
3	Các loại địa lan	200-	Nhà lưới

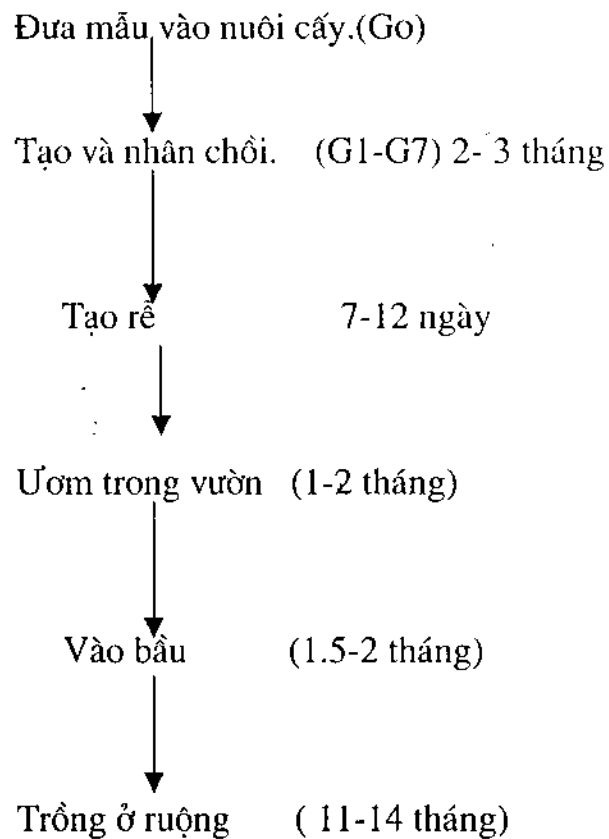
Nhận xét : Lan là loại cây phát triển chậm, môi trường nhân trong phòng thí nghiệm hay bị nhiễm khuẩn, số lần cấy chuyển chỉ được tới 7 lần vì vậy quá trình nhân kết quả không cao. Hiện tại sở KH-CN-MT đang thực hiện cấy một số cây lan từ hạt nhưng tốc độ phát triển chậm.

4. Cây chuối :

a. Chuối ngự hoàng:

Hiện nay chuối Ngự hoàng là giống chuối có giá trị cao về kinh tế. Thơm, ngon và được nhiều người ưa thích. Song qua nhiều năm giống chuối này cũng bị thoái hoá và mai một do hiện tượng nhiễm bệnh. để khắc phục hiện tượng trên chúng ta phải giữ giống và làm sạch bệnh bằng phương pháp nuôi cấy mô.

b. Phương pháp nhân giống chuối như sau :



Môi trường cơ bản của việc nuôi cấy mẫu chuối cũng là MS có bổ xung thêm BA 5 mg/l và IAA 0,5 mg/l nước dừa 10-15% thời gian chiếu sáng 8 h /ngày. Sau 15 ngày chồi tiềm ẩn, sau 45 ngày có thể tách chồi được. sau đó chọn chồi khỏe, lớn, huỷ đỉnh sinh trưởng , kích thích chồi nách tăng nhanh. Cắt mảnh thành từng miếng có từ 3-6 chồi cấy chuyển sang môi trường Go, sau đó đưa sang môi trường tạo rễ, sau 7-12 ngày là ra rễ, để 15 – 30 ngày đưa ra vườn ươm. Khi cây có từ 2-3 rễ và cao 10-12 cm lấy ra khỏi bình, rửa sạch thạch, cấy vào giá thể ươm.

Hiện tại Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường đã nuôi cấy thành công trong phòng thí nghiệm chuối ngự hoàng để giữ giống khi cần thiết sẽ phát triển thành quy mô rộng.

IV.KINH PHÍ SỬ DỤNG:

Kinh phí sử dụng cho dự án được tính và Bộ cấp trong 3 năm 1999-2000 và 2001 như sau:

Tổng kinh phí cho 3 năm là 801 triệu

Trong đó chia ra :

***Địa phương** : Năm 1999 cấp : 200 triệu

Năm 2000 : 131 triệu (Dùng cho xây dựng nhà lưới và nhân giống khoai tây tại sở)

70 triệu cho dự án xây dựng nhà màn tại Vụ Bản do Trung tâm giống cây trồng Vụ Bản thực hiện

* **TW** : Năm 2000 : 170 triệu

Năm 2001 : 230 triệu

Kinh phí sử dụng cho dự án được thể hiện qua bảng tổng hợp sau :

T T	Nội dung	Kế hoạch	Thực hiện	Trong đó	
				TW	ĐP
1	Nhà lưới tại sở	60.0	63.0	0	63.0
2	Nhà màn tại Vụ Bản	35.0	35.0	0	35.0
3	Thiết bị máy móc	320.0	398.8	298.6	100.2
4	Dụng cụ thủy tinh	50.0	32.6	2.5	30.1
5	Hoá chất	30.0	26.9	12.5	14.4
6	Giống cây	20.0	4.0	0	4.0
7	Tham quan , học tập	30.0	19.7	5.0	14.7
8	Chuyển giao công nghệ	80.0	75	35	40
9	Thuê nhân công , phân bón, thuốc trừ sâu bệnh các loại tại Vụ bản	35.0	35.0	0	35.0
10	Thuê công KT	25.0	19.5	8.4	11.1
11	Hội thảo	12.0	11.0	11.0	0

12	Quản lý phí	15.0	15.0	8.0	7.0
13	Vận chuyển bốc xếp	5.0	3.6	1.6	2.0
14	Vật rẻ phục vụ TN	5.0	5.2	3.1	2.1
15	Nghiệm thu 2 cấp	9.0	9.0	5.5	3.5
16	Dụng cụ vật tư TN	42.0	20.7	6.7	14.0
17	Các chi phí khác	28.0	27.0	2.1	24.9
	Tổng cộng	801.0	801.0	400.0	401.0

Nhận xét:

Phần kinh phí Bộ cấp chủ yếu dùng mua máy móc thiết bị và một số dụng cụ phục vụ thí nghiệm.

- Các loại thiết bị trang bị cho phòng thí nghiệm đã được được Hội đồng khoa học cấp nhà nước thẩm định rất kỹ và được các chuyên gia của trường Đại học nông nghiệp I tham mưu. Do vậy tất cả thiết bị đều rất cần thiết và phù hợp. Do giá cả thay đổi theo từng thời điểm và kinh phí bộ cấp không đảm bảo thời gian nên có thay đổi tăng phần kinh phí thiết bị và giảm các kinh phí của các nội dung khác cho phù hợp.

- Tất cả các thiết bị trước khi mua đều được sở tài chính vật giá thẩm định về giá, Kho bạc nhà nước xem xét rất kỹ và chỉ tiết trước khi chuyển tiền mua thiết bị, có hợp đồng cụ thể với đơn vị cung cấp của Bộ KHCN&MT và từng thời điểm được nghiệm thu một cách cẩn thận.

- Kinh phí sử dụng cho từng hạng mục dự án hợp lý và tiết kiệm.

- Kinh phí sử dụng cho phần thuê công kỹ thuật còn thấp do ngay từ đầu chưa thấy hết công việc cụ thể cần phải làm và phần độc hại cho cán bộ tham gia trực tiếp trong phòng thí nghiệm do chịu ảnh hưởng của tia cực tím và các hoá chất độc hại

Phần III

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

I. Kết luận.

1. Phòng thí nghiệm phục vụ cho dự án :

Phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tế bào thực vật hoàn toàn có đủ điều kiện để triển khai các công việc nhân nhanh các giống cây sạch bệnh trong phòng thí nghiệm để phục vụ cho quy hoạch vùng sản xuất nguyên liệu của tỉnh. Thiết bị phù hợp với điều kiện hiện tại và có đủ khả năng và điều kiện để làm các công việc của việc nuôi cấy mô tế bào thực vật.

Việc áp dụng các công nghệ mới trong lĩnh vực công nghệ sinh học tại địa phương bước đầu có thể thực hiện được đã mang lại niềm tin cho việc cải tạo và phục tráng các loại giống đã bị thoái hoá và nhân nhanh các giống mới, tạo tiền đề cho sự phát triển và tiếp thu thành tựu KHKT tiên tiến trong giai đoạn mới.

2 . Đối với cây khoai tây :

- Hiện tại công nghệ nhân nhanh giống cây khoai tây sạch bệnh trong phòng thí nghiệm bằng phương pháp in vitro là hoàn toàn có khả năng thực hiện được tại Nam Định . Cây trồng đảm bảo tỷ lệ sống 40-50% trong điều kiện khí hậu thời tiết dưới 25 °c, nếu nhiệt độ cao hơn tỷ lệ sống thấp, song nên nhân giống để tạo củ từ trong phòng thí nghiệm để cây sống khoẻ mạnh và phù hợp với điều kiện thời tiết tốt hơn, kết hợp với nhân nhanh cây invitro khi sản xuất yêu cầu.

- Cây đưa từ phòng thí nghiệm ra nhà màng nên trồng theo phương pháp thủy canh, đảm bảo tỷ lệ sống cao hơn và giá thành hạ hơn so với trồng trên nền giá thể đất + phân.

- Cây nhân từ phòng thí nghiệm ra trồng trên đất màu và đất hai lúa tại huyện vụ Bản là hoàn toàn phù hợp, cây chịu đựng được thời tiết và cho năng suất cao hơn so với các loại giống cũ đã thoái hoá.

Giá thành cây nhân bằng phương pháp nuôi cấy mô ban đầu còn cao, chưa có lãi, thậm chí phải bù lỗ cho các đơn vị thử nghiệm để đạt hiệu quả và giữ giống sạch bệnh.

3. Đối với các loại hoa :

Trước mắt tiếp tục nhân giống lan và mở rộng bổ xung thêm một số giống mới cho phong phú. Lan là loại hoa yêu cầu kỹ thuật cao trong việc nhân giống và quá trình chăm sóc, nuôi dưỡng. Môi trường cấy rất dễ bị nhiễm bệnh, chu kỳ nhân không quá 7 lần, vì vậy rất dễ bị ảnh hưởng nguồn giống. Cần tiếp tục đầu tư mua thêm các giống mới, củng cố thêm kinh nghiệm về kỹ thuật, tăng cường sự giúp đỡ của các chuyên gia tại các trường Đại học, các viện đầu ngành để củng cố và phát triển thêm.

4. Đối với cây chuối :

Hiện nay có thể nhân và giữ giống trong phòng thí nghiệm song chỉ dừng lại ở mức độ giữ giống khỏi bị thoái hoá và khi thị trường có nhu cầu mới nhân tiếp.

Với kinh phí và kinh nghiệm ban đầu còn hạn chế, song được sự tham mưu đắc lực của các chuyên gia, lòng nhiệt tình của cán bộ được giao nhiệm vụ và sự tìm tòi học tập các đơn vị bạn , bước đầu đã đạt được mục tiêu và nội dung của dự án đề ra : thiết bị máy móc , dụng cụ và vật tư kỹ thuật, hoá chất và các dụng cụ khác đều phù hợp với phòng thí nghiệm hiện có, phù hợp với công nghệ và trình độ sử dụng trang thiết bị của cán bộ. Hệ thống thiết bị đã chạy hoàn chỉnh, hiện đang được khai thác và sử dụng.

Bước đầu tiếp thu một phần rất nhỏ về công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật mà chủ yếu là nhân nhanh một số giống cây khoai tây, cây hoa lan vv..

nhằm tạo tiền đề cho tiếp thu các thành tựu khoa học kỹ thuật sau này. Đây là giai đoạn đầu của dự án xây dựng phòng thí nghiệm nuôi cấy mô chúng tôi đã hoàn thành nhiệm vụ

II. Đề xuất :

1. Tỉnh cần có chương trình quy hoạch vùng chuyên sản xuất các loại giống cây, hoa..phục vụ cho sản xuất đại trà của địa phương, hình thành một hệ thống sản xuất giống hoàn chỉnh từ nuôi cấy mô cho đến nhân thử nghiệm và sản xuất giống cấp I cho sản xuất, có chính sách trợ giá ban đầu cho đơn vị sản xuất thử nghiệm.

2 Đào tạo tiếp đội ngũ cán bộ cho đủ khả năng thực hiện các công nghệ mới hiện có.

3. Có chính sách khuyến khích các cán bộ tham gia thực hiện chương trình khi có hiệu quả.

4. Tăng cường công tác khuyến nông thông qua các phương tiện thông tin đại chúng, mở các lớp tập huấn kỹ thuật cho nông dân đồng thời với việc hỗ trợ và cho vay vốn để đưa giống nuôi cấy mô và giống sạch bệnh được áp dụng rộng rãi trong địa phương.

Ban chủ nhiệm dự án xin chân thành cảm ơn sự quan tâm chỉ đạo và tạo điều kiện của Bộ Khoa học, công nghệ và môi trường, Vụ quản lý KHCN; UBND tỉnh, sự giúp đỡ nhiệt tình của các cơ quan chuyển giao công nghệ như : Viện sinh học nông nghiệp thuộc Trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội, Viện công nghệ sinh học(TTKHTN&CNQG), Trung tâm giống cây trồng Vụ Bản, sở nông nghiệp phát triển nông thôn, các đơn vị trong và ngoài tỉnh đã tạo mọi điều kiện cho chúng tôi thực hiện nhiệm vụ đề ra.

Sở Khoa học, công nghệ và môi trường



GIÁM ĐỐC
ĐÀO HUY QUÝ

Mục lục

TT	Nội dung	Trang
1	Báo cáo kết quả thực hiện dự án	2
2	Các khái niệm và thuật ngữ chuyên ngành	3
	Phần I Phần mở đầu	4
I	Đặc điểm tình hình	6
II	Những căn cứ pháp lý để thực hiện dự án	8
III	Mục tiêu của dự án	9
IV	Nội dung của dự án	9
	Phần II kết quả thực hiện dự án	10
I	Thực hiện xây dựng phòng thí nghiệm	10
	1. Quá trình thực hiện	10
	2. Kết quả thực hiện	12
	2.1. Kết quả xây dựng phòng thí nghiệm	13
	2.2. Các trang bị của phòng thí nghiệm	15
II	Tình hình kết quả về công nghệ	16
1.	Công tác đào tạo nuôi cấy mô	16
2.	Triển khai công nghệ nhân giống khoai tây	20
	2.1. Quá trình thực hiện	20
	2.1.1. Trong phòng thí nghiệm	21
	2.1.2. Kết quả trồng khoai tây tại nhà màn	22
	2.1.3. Kết quả sản xuất giống siêu nguyên chủng tại nhà màn năm 2000	28
	2.1.4. Kết quả sản xuất giống siêu nguyên chủng tại nhà màn năm 2001	31
	2.1.5. Phòng trừ sâu bệnh	31

2.2 .Kết quả về mặt công nghệ	33
2.3 .Hiệu quả kinh tế xã hội	34
2.3.1.Hiệu quả kinh tế	35
2.3.2.Hiệu quả xã hội	36
III Hoa lan	37
IV Cây chuối	39
IV Kinh phí sử dụng	41
Phần III Kết luận và đề xuất	43
I Kết luận	43
II Đề xuất	46

