

định hàng hóa nếu muốn tham gia giám định phục vụ công tác quản lý nhà nước cần cung cấp cho cơ quan quản lý nhà nước các tài liệu về việc đã đáp ứng các điều kiện, tiêu chuẩn nêu tại Phần II của Thông tư này và chịu trách nhiệm về tính đầy đủ và đúng đắn của các tài liệu này.

2. Khi có nhu cầu trưng dụng doanh nghiệp giám định thực hiện việc giám định hàng hóa phục vụ nhiệm vụ quản lý của mình, cơ quan nhà nước căn cứ vào điều kiện, tiêu chuẩn quy định tại Phần II của Thông tư này, đối chiếu với các tài liệu nói tại điểm 1 Phần III do doanh nghiệp giám định cung cấp để có quyết định trưng dụng thích hợp.

3. Khi cơ quan nhà nước quyết định trưng dụng giám định, cần có văn bản trưng dụng giám định với những nội dung chính sau:

- a) Tên hàng hóa được yêu cầu giám định;
- b) Nội dung giám định (ghi rõ chỉ tiêu, yêu cầu);
- c) Quy định phương pháp kiểm tra, thử nghiệm.

4. Các quy định về chứng thư giám định, giá trị pháp lý của chứng thư giám định được thực hiện theo quy định tại Chương III Nghị định số 20/1999/NĐ-CP ngày 12 tháng 4 năm 1999 của Chính phủ về kinh doanh dịch vụ giám định hàng hóa.

5. Phí giám định do cơ quan trưng dụng giám định trả cho doanh nghiệp giám định theo quy định của Nhà nước. Trong trường hợp Nhà nước không quy định thì thực hiện theo sự thỏa thuận của cơ quan trưng dụng giám định với doanh nghiệp giám định.

IV. ĐIỀU KHOẢN THI HÀNH

Thông tư này có hiệu lực thi hành sau 15 ngày, kể từ ngày ký và thay thế Thông tư số 45/2001/TT-BKHCMNT ngày 25 tháng 7 năm 2001 của Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường.

Trong quá trình thực hiện, nếu có khó khăn vướng mắc cần được phản ánh về Bộ Khoa học và Công nghệ để xem xét giải quyết./.

KT. Bộ trưởng Bộ Khoa học
và Công nghệ
Thủ trưởng

BÙI MẠNH HẢI

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

**QUYẾT ĐỊNH của Bộ trưởng Bộ Nông
nghiệp và Phát triển nông thôn
số 142/2002/QĐ-BNN ngày 06/12/2002
về việc ban hành Tiêu chuẩn ngành.**

BỘ TRƯỞNG BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

Căn cứ Nghị định số 73/CP ngày 01 tháng 11 năm 1995 của Chính phủ về chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và tổ chức bộ máy của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn;

Căn cứ Nghị định số 86/CP ngày 08 tháng 12 năm 1995 của Chính phủ quy định phân công trách nhiệm quản lý nhà nước về chất lượng hàng hóa;

Căn cứ Quyết định số 135/QĐ-BNN-KHCN của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ban hành ngày 01/10/1999 về việc ban hành Quy chế lập, xét duyệt và ban hành Tiêu chuẩn ngành;

Xét đề nghị của Vụ trưởng Vụ Khoa học công nghệ và chất lượng sản phẩm,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Nay ban hành tiêu chuẩn sau:

10 TCN 549-2002: Quy trình kiểm dịch nhập khẩu cây có múi.

10 TCN 550-2002: Quy trình xử lý một số giống cây ăn quả nhập nội bằng thuốc Methyl bromide.

Điều 2. Quyết định này có hiệu lực sau 15 ngày, kể từ ngày ký.

Điều 3. Các Chánh văn phòng Bộ, Vụ trưởng Vụ Khoa học công nghệ và chất lượng sản phẩm, Thủ trưởng các đơn vị liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

KT. Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và
Phát triển nông thôn
Thư trưởng

BÙI BÁ BỔNG

**QUYẾT ĐỊNH của Bộ trưởng Bộ Nông
nghiệp và Phát triển nông thôn
số 143/2002/QĐ-BNN ngày 06/12/2002
về việc ban hành Tiêu chuẩn ngành.**

**BỘ TRƯỞNG BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ
PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN**

Căn cứ Nghị định số 73/CP ngày 01 tháng 11 năm 1995 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và tổ chức bộ máy của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn;

Căn cứ Nghị định số 86/CP ngày 08 tháng 12 năm 1995 của Chính phủ quy định phân công trách nhiệm quản lý nhà nước về chất lượng hàng hóa;

Xét đề nghị của Vụ trưởng Vụ Khoa học công nghệ và chất lượng sản phẩm,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Nay ban hành Tiêu chuẩn ngành sau:

10 TCN 551-2002: Quy định tạm thời về hạt giống lúa lai 2 dòng, yêu cầu kỹ thuật.

10 TCN 552-2002: Quy phạm khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống khoai tây.

10 TCN 553-2002: Quy phạm khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống đậu tương.

10 TCN 554-2002: Quy phạm khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống lúa.

10 TCN 555-2002: Quy phạm khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống lạc.

10 TCN 556-2002: Quy phạm khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống ngô.

10 TCN 557-2002: Quy phạm khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống cà chua.

Điều 2. Nay ban hành Tiêu chuẩn ngành:

- 10 TCN 558-2002: Quy phạm khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lúa thay thế Tiêu chuẩn 10 TCN 309-98: Quy phạm khảo nghiệm giống lúa.

Điều 3. Quyết định có hiệu lực sau 15 ngày, kể từ ngày ký.

Điều 4. Các Chánh văn phòng, Vụ trưởng Vụ Khoa học công nghệ và chất lượng sản phẩm, Thủ trưởng các đơn vị có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

KT. Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và
Phát triển nông thôn
Thư trưởng

BÙI BÁ BỔNG

TIÊU CHUẨN NGÀNH
10 TCN 549- 2002

QUY TRÌNH KIỂM DỊCH NHẬP KHẨU GIỐNG CÂY CÓ MÚI
Hà Nội - 2002

Cơ quan biên soạn: Trung tâm Kiểm dịch thực vật Sau nhập khẩu I

Cơ quan đề nghị ban hành: Vụ Khoa học Công nghệ CLSP & Cục Bảo vệ thực vật

Cơ quan trình duyệt: Vụ Khoa học Công nghệ và CLSP

Cơ quan xét duyệt, ban hành: Bộ Nông nghiệp và PTNT

Quyết định số: 142/QĐ-BNN ngày 06 tháng 12 năm 2002 của

Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

TIÊU CHUẨN NGÀNH 10 TCN 549 - 2002

QUI TRÌNH KIỂM DỊCH NHẬP KHẨU GIỐNG CÂY CÓ MÚI.

Import quarantine procedure for citrus variety.

1. Phạm vi và đối tượng áp dụng.

- Quy trình này áp dụng cho việc Kiểm dịch thực vật đối với các lô giống cây có múi nhập khẩu vào lãnh thổ Việt Nam qua các cửa khẩu đường bộ, đường thủy, đường sắt, đường hàng không, các cơ sở Kiểm dịch thực vật Sau nhập khẩu và các cơ sở cách ly khác trong phạm vi cả nước.

2. Thuật ngữ định nghĩa.

Trong qui trình này các thuật ngữ dưới đây được hiểu như sau:

- Cây có múi: Bao gồm cây ăn quả thuộc họ Rutaceae.
- Giống cây có múi: Bao gồm hạt, cây và các bộ phận của cây có múi có thể dùng để nhân làm giống.
- Giống cây có múi nhập nội: Là những giống cây có múi được nhập khẩu vào lãnh thổ Việt Nam.
- Điều kiện cách ly: Là điều kiện tách biệt với bên ngoài khi trồng cây, các tác nhân sinh học không thể lan truyền ra ngoài và xâm nhập từ ngoài vào trong.
- Kiểm dịch Sau nhập khẩu: Là biện pháp kỹ thuật kiểm tra sinh vật hại tiềm ẩn của lô giống nhập khẩu trong điều kiện cách ly.
- Sinh vật hại tiềm ẩn: Là những sinh vật hại đi theo giống nhập nhưng bằng mắt thường và phương tiện thô sơ chưa phát hiện được.

3. Trình tự các bước kiểm dịch.

3.1. Kiểm dịch tại cửa khẩu.

3.1.1. Kiểm tra hồ sơ giấy tờ.

- Thực hiện theo qui định hiện hành của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.
- Các giấy tờ có liên quan (Nếu có)

3.1.2. Kiểm tra lô giống nhập khẩu.

Việc kiểm tra lô giống nhập khẩu được áp dụng theo TCVN 4731- 89; 10 TCN 336 - 98; 10 TCN 337 - 98; 10 TCN 338 - 98.

3.2. Kiểm dịch Sau nhập khẩu.

3.2.1. Kiểm tra sơ bộ sinh vật hại trên lô giống nhập khẩu.

3.2.2. Xử lý trước gieo trồng.

- Nếu là cây nuôi cấy mô thì không phải xử lý.

- Nếu là hạt giống phải được ngâm ngay trong dung dịch 8- Hydroxyquinoline Sunphat 1% trong 3 phút.

- Nếu là cây, các bộ phận của cây hoặc các loại sản phẩm khác:

+ Phải được khử trùng bằng Methyl Bromide (CH_3Br);

+ Nhúng trong dung dịch Sodium Hypochlorite ($\text{NaClO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) có chứa 1% clo trong 2 phút;

3.2.3. Gieo trồng: Các vật liệu giống được nhân trồng trong điều kiện cách ly.

3.2.4. Kiểm tra sinh vật tiềm ẩn: Kiểm tra các vật liệu giống đã nhập khẩu ở cơ sở Kiểm dịch thực vật Sau nhập khẩu nhằm xác định các sinh vật gây hại tiềm ẩn. Riêng đối với các bệnh Vi khuẩn, Virus, Viroid và Mycoplasma sử dụng một trong các phương pháp cụ thể sau để chẩn đoán:

+ PCR - Phản ứng chuỗi Polymerasa (Polymerasa Chain Reaction)

+ ELISA - Men liên kết miễn dịch (Enzyme - Linked Immuno - Sorbent Assays)

+ Chỉ thị sinh học (Biological Indexing)

(Các phương pháp này được giới thiệu trong phụ lục kèm theo).

3.2.5. Thời gian kiểm tra.

Thời gian kiểm tra tại cơ sở Kiểm dịch thực vật Sau nhập khẩu từ 9 - 12 tháng.

3.2.6. Kết quả kiểm tra.

Danh mục các Đối tượng Kiểm dịch thực vật và các sinh vật hại tiềm ẩn đã phát hiện được trên giống cây có múi nhập khẩu.

3.2.7. Kết luận.

1) Tình hình dịch hại

2) Xử lý lô giống.

3) Cấp giấy chứng nhận Kiểm dịch thực vật Sau nhập khẩu (nếu đủ điều kiện).

PHỤ LỤC:

KIỂM DỊCH THỰC VẬT SAU NHẬP KHẨU

1. Kiểm tra Kiểm dịch Sau nhập khẩu.		
Bảng 1. Các phương pháp kiểm tra.		
Phản ứng chuỗi Polymerasa		Sử dụng chẩn đoán một số loại bệnh ẩn.
Men liên kết miễn dịch		Virus tàn lụi cam quýt (Citrus tristeza closterovirus)
		<i>Xylella fastidiosa</i>
		<i>Spiroplasma citri</i>
		Virus lùn Satsuma (Satsuma dwarf ilarvirus)
		Virus nhỏ lá cam quýt (Citrus tatter leaf capillovirus)
Chỉ thị sinh học		
Các loài	Các giống cây chỉ thị	
<i>Citrus sinensis</i>	Cam	Tổ hợp Virus bệnh đốm (Psorosis complex)
		<i>Spiroplasma citri</i>
		<i>Liberobacter asiaticum</i>
		<i>Liberobacter africanum</i>
<i>Citrus limon</i>	Chanh Eureka	Virus tàn lụi cam quýt (Citrus tristeza closterovirus)
		Virus quần lá cam quýt (Citrus leaf rugose virus)
		Virus khảm lá (Citrus variegation ilarvirus)
<i>Citrus medica L.</i>	Chanh Yên	<i>Viroid vẩy vỏ (Citrus exocortis viroid)</i>
<i>Citrus aurantifolia</i>	Chanh Tây ấn	Virus tàn lụi cam quýt (Citrus tristeza closterovirus)
		Virus biến dạng gân lá (Citrus veination virus)
<i>Poncirus trifoliata X C. sinensis</i>	Chanh ba lá hoặc quất Swingle	Bệnh nhỏ lá cam quýt (Citrus tatter leaf capillovirus)

1.1. Phương pháp PCR.

Mỗi loài sinh vật có cấu trúc DNA khác nhau và trong cùng một giống giữa các loài cũng có sự khác nhau. Trong một giống, DNA của các loài có những đoạn cấu trúc giống nhau, nhưng có những đoạn có cấu trúc khác nhau mà cấu trúc này đặc trưng cho loài này mà những loài khác không có. Đây là cơ sở di truyền để phân biệt giữa loài này và loài khác. Phương pháp PCR chính là nhằm nhân lên gấp bội số lượng các đoạn DNA đặc trưng để từ đó có thể chẩn đoán chính xác được các loài.

1.2. Phương pháp ELISA.

Kỹ thuật này cơ bản được dựa trên sự kết hợp giữa men với các kháng thể hoặc kháng nguyên thành vật đánh dấu men sau đó chúng lại có phản ứng với kháng nguyên hoặc kháng thể tương ứng thành hợp chất miễn dịch của men đánh dấu. Men kết hợp tại hợp chất miễn dịch khi gặp chất đệm sẽ thúc đẩy phản ứng thủy phân chất đệm tạo ra màu vàng. Tốc độ của phản ứng thủy phân càng nhanh, màu vàng càng rõ, chứng tỏ men càng nhiều, điều này cũng chứng tỏ nồng độ của kháng nguyên càng cao. Do tính đặc hiệu của phản ứng ELISA ta có thể xác định được đặc tính của kháng nguyên.

Bộ Kit để kiểm tra có thể sử dụng cho các bệnh sau:

- *Xylella fastidiosa*
- *Spiroplasma citri*
- Lùn Satsuma (*Satsuma dwarf ilarvirus*)
- Tàn lụi cây có múi (*Citrus tristeza closterovirus*)
- Virus nhỏ lá cây có múi (*Citrus tatter leaf capillovirus*)

1.3 Chỉ thị sinh học

Dùng cây chỉ thị để xác định những bệnh ẩn của cây có múi ở hai mức nhiệt độ:

* Nhiệt độ 18 - 25oC (tốt nhất là 20 - 22 oC) cho các tác nhân gây bệnh sau:

- Virus tàn lụi cây có múi (*Viruses Citrus tristeza closterovirus*)
- Virus biến dạng gân lá cây có múi (*Citrus veination virus*)
- Virus khảm lá (*Citrus veneration ilarvirus*)
- Virus quăn lá cây có múi (*Citrus leaf rugose virus*)
- Virus bé lá cây có múi (*Citrus tatter leaf capillovirus*)

* Nhiệt độ 25 - 35oC (tốt nhất là 30 - 35 oC) cho tác nhân gây bệnh:

- Viroid vảy vỏ cây có múi (*citrus exocortis viroid*)
- Viroid mạch dẫn cây có múi (*citrus cachexia viroid*)
- *Spiroplasma citri*
- *Liberobacter asiaticum*

- <i>Liberobacter africanum</i>			
Bảng 1.3.1 Số cây chỉ thị cần nhân giống.			
Dải nhiệt độ	Cây chỉ thị	Số chậu ((15cm)	Số cây trong chậu
Lạnh 18-25oC	Cam ngọt	3	5
	Chanh Eureka	2	5
	Chanh Tây ấn	2	5
	Chanh Rusk	2	5

Nóng 25-35oC	Cam ngọt	3	5
	Chanh yên	2	2

Bảng 1.3.2. Cây chỉ thị dùng cho việc kiểm tra bệnh.		
Bệnh	Cây chỉ thị thích hợp	Cây chỉ thị khác
Cachexia (Xyloporosis)	Chanh yên	- Chanh sân - Poncirus trifoliata
Virus quần lá (Citrus leaf rugose)	Chanh Tây ấn	- <i>Citrus limon</i> - <i>Bưởi đỏ Duncan</i>
Virus khảm lá (Citrus variegation)	Chanh yên	Đậu tương và đậu đen
Giòn lá (Crinkly leaf)	Chanh Eureka	-
Cristacortis	Cam ngọt	- Quýt Orlando - Cam chua
Vảy vỏ (Exocortis)	Chanh yên	Chanh sân
Greening and Dieback	Cam ngọt	- Quýt Sexton - Bưởi Duncan
Impetratura	Cam ngọt	Bưởi
Tổ hợp bệnh đốm Virus (Psorosis complex)	Cam ngọt	- Quýt Homosassa, Emperor - Chanh Tây ấn
Đốm vòng dòngB (Ringspot (Psorosis B))	Cam ngọt	-
Lùn Satsuma (Satsuma dwarf)		- Quýt Satsuma - Sesamum indicum
Stubborn	Cam ngọt	- Quýt Sexton - Bưởi Duncan
Nhỏ lá/Lùn cây (Tatter leaf/ stunt)	Chanh ba lá và quýt Swingle	- Chanh Troyer - Đậu đen (<i>Vigna cylindrica</i>) - <i>Citrus excelsa</i> - <i>Nicotiana clevelandii</i>
Hai chủng tàn lụi cam quýt (Tristeza - stem pitting and seedling yellows)	Chanh Tây ấn Chanh Eureka Chanh Mexica	- Cam đắng ngọt Seville - Cam chua (<i>Citrus aurantium</i>)
Biến dạng gân/U thân gỗ (Vein enation/ woody Gall)	Chanh Tây ấn	Chanh sân

Bảng 1.3.3. Triệu chứng bệnh trên cây chỉ thị						
Dải nhiệt độ	Bệnh	Cam ngọt	Chanh Eureka	Chanh Tây ấn	Chanh ba lá, hoặc quýt	Chanh yên
	Quăn lá (Citrus leaf rugose)		CF	LP		
	Biến dạng gân lá (Citrus variegation)		AS			
	Giòn lá (Crinkly leaf)		AS			LP
	Cristacortis	OL				
	Impietratura	OL				
Lạnh	Đốm lá dòng A (Psorosis A)	CF				
	Đốm lá dòng B (Psorosis B)	OL				
	Nhỏ lá/lùn (Tatter leaf / stunt)				CM &S	
	Đốm tàn lụi (Tristeza – stem pitting)			CVF&WP		
	Vàng tàn lụi (Tristeza – yellows)		LY & S			
	Biến dạng/u thân gỗ (Veination / woody gall)			VE		
	Exocortis					LE
Nóng	Greening and dieback	VY & LM				
	Stubborn	CM				

AS - Asteroid spots (đốm dạng sao)

CF - Chlorotic flecks (đốm vàng)

CM - Chlorotic mottling (đốm mất màu vàng gân)

CVF - Chlorotic vein flecking (đốm màu)

LE - Leaf epinasty

LM - Leaf mottle (đốm lá)

LP - Leaf puckering (nhăn lá)

LY - Leaf yellowing (vàng lá)

OL - Oak leaf pattern (dải sùi lá)

S - Stunting (lùn cây)

VE - Veination (biến dạng gân)

VY - Vein yellowing (vàng gân)

WP - Wood pitting (Đốm thân gỗ)

2. Nhân giống, chăm sóc và bảo quản tại cơ sở Sau nhập khẩu.

2.1. Nhân gốc ghép và cây chỉ thị.

Các hạt được gieo để làm cây chỉ thị sinh học hoặc gốc ghép được lấy từ các cơ sở sạch bệnh có uy tín, các hạt này đem gieo trong khay và để ở nhiệt độ 20 - 25°C. Cây chỉ thị là chanh yên (*Citrus medica* L.) được nhân giống từ cành ở nhiệt độ 30 - 35°C. Cây được trồng trong hỗn hợp chất độn (của Trường Đại học California) theo tỷ lệ thể tích phù hợp gồm: 1 than bùn : 1 cát hoặc bột đá và phân vô cơ được tiệt trùng theo phương pháp Paster (ở 60°C trong 30 phút) có thể thêm vào nhiều nhất 10% vỏ trấu (tính theo thể tích).

Trước khi sử dụng làm cây chỉ thị hoặc gốc ghép không bón thúc cho cây. Sau đó chuyển chúng vào chậu hoặc túi nilon có chứa 250 – 300g hỗn hợp chất nền theo công thức của Trường Đại học California. Nếu cây biểu hiện triệu chứng thiếu dinh dưỡng thì sẽ bón bổ sung bằng hỗn hợp chất độn với tỷ lệ 1 máu khô và bột xương: 1 Dolomit. Sau đưa cây được ghép trồng trong điều kiện nhiệt độ 30 - 35°C.

2.2. Nhân giống từ mắt ghép.

Hai cây được nhân giống từ mắt ghép trên gốc chanh Sần. Ba đến bốn tuần sau khi ghép mắt, cắt các chồi nách của chanh sần để tập trung cho mắt ghép phát triển.

Chọn một cây làm cây chỉ thị. Nếu cần thì tiến hành ghép đỉnh sinh trưởng. Cây con được nhân lên từ cây chỉ thị sẽ được trả lại cho chủ hàng.

2.3. Phòng trừ dịch hại.

Sử dụng thuốc hoá học, dầu thực vật và thuốc sinh học để phòng trừ sinh vật hại trong nhà kính. Các sinh vật hại thường có nhện hai chấm, nhện to bụng, rệp phân, rệp sáp. Chú ý rệp muội đen trên cây có mùi phải được sớm diệt trừ triệt để nhằm ngăn chặn việc truyền Virus.

3. Loại bỏ các tác nhân gây bệnh và nhân giống.

Ghép đỉnh sinh trưởng là kỹ thuật nhân dòng các giống cây có mùi đã được loại bỏ bệnh, cùng với khả năng tạo ra những dòng mới sạch Virus và các tác nhân gây bệnh khác. Tất cả cây có mùi mới phải được ghép đỉnh sinh trưởng ít nhất một lần trước khi xuất ra khỏi cơ sở Kiểm dịch Sau nhập khẩu. Điều này có nghĩa là đảm bảo sạch *Xanthomonas campestris* pv. *citrumelo*, *phytoplasma*, *Viroid* và *Virus*. Các bước kiểm tra được làm nhiều lần đến khi cho kết quả kiểm tra khẳng định là sạch bệnh. Những gốc ghép được sản xuất từ các tổ chức trên thế giới có chứng nhận đạt tiêu chuẩn thì không cần phải ghép lại ở Việt Nam.

3.1. Mắt ghép dùng ghép đỉnh sinh trưởng.

Việc ghép đỉnh sinh trưởng được thực hiện ngay lập tức khi có mắt ghép thích hợp được đưa tới.

Nếu có chồi ghép mới nhập không thích hợp cho việc ghép ban đầu các mắt ghép được ghép vào thân một cây mẹ và sau đó chọn mắt ghép và thời điểm thích hợp nhất để tiến hành ghép.

3.2. Xử lý mắt ghép để ghép đỉnh sinh trưởng.

Tiệt trùng bề mặt mắt ghép trước khi bắt đầu ghép. Nhúng mắt ghép trong dung dịch Ethanol 70 % trong 2 phút, sau đó nhúng trong dung dịch Clorin (Cl₂) 0,2% hoặc Sodium hypochlorite trong 10 phút. Bảo quản mắt ghép ở nhiệt độ 26°C trong cát ẩm đã tiệt trùng với chu kỳ chiếu sáng 16 giờ đến khi đem ra sử dụng.

3.3. Sản xuất gốc ghép để ghép đỉnh sinh trưởng.

Sử dụng chanh ba lá, chanh sần và bưởi *Citrus grandis* (Chỉ dùng cho các giống bưởi Pomelo) làm gốc ghép.

Lấy hạt từ quả tươi sau đó rửa sạch thịt quả. Tách bỏ lớp vỏ ngoài của hạt và bảo quản trong giấy lọc ẩm đến khi đem ra sử dụng. Khử trùng bề mặt hạt trong dung dịch Clorin 0,5 % hoặc Sodium hypochlorite (Có chứa 1% clo) trong 10 phút. Sau đó rửa kỹ trong nước đã tiệt trùng tối thiểu 3 lần. Đưa hạt vô trùng vào trong môi trường Agar sạch để trong buồng cấy, sau đó đưa vào tủ ẩm ở 26 oC trong bóng tối.

Nếu hạt không dùng ngay sau khi đã tách khỏi quả, ta phơi trên giá đỡ. Hạt được tiệt trùng bề mặt và được bảo quản bằng cách nhúng trong dung dịch Clorin 1 % hoặc Sodium hypochlorite. Sau đó tiến hành làm như đối với hạt tươi.

Sau 4 - 5 ngày hạt sẽ mọc. Chuẩn bị những ống nghiệm để trồng cây giữ trong môi trường đồng nhất có chứa môi trường hỗn hợp Murshige và Skoog + đường + agar, tiệt trùng ở 121oC trong 20 phút. Đặt hạt nảy mầm lên bề mặt agar trong các ống nghiệm nuôi cấy khi chồi bắt đầu mọc.

Khi chồi ghép đạt đến độ dài thích hợp 3 - 4 cm, sau 10 - 12 ngày đưa những ống nghiệm này vào trong buồng tối ở 4 - 7oC. Chọn các cây thẳng đưa vào buồng lạnh để ghép chồi đỉnh. Thời gian lưu giữ cây con là một năm.

3.4 Ghép đỉnh sinh trưởng.

Ngâm dụng cụ trong cồn 70% khoảng 1 giờ trước khi dùng. Chuẩn bị các mẫu dao cạo và tra vào cán. Nhúng dao cắt vào chất tẩy và sau đó làm sạch bằng cồn và hơi khô giữa mỗi lần cắt. Không làm cháy lưỡi dao sau khi nhúng cồn. Thay đổi lưỡi dao khi chúng bị cùn.

Tiệt trùng bề mặt cành ghép trực tiếp khi đang ở trên cây bằng dung dịch Clorin 0,5 % hoặc Sodium hypochlorite trong 5-10 phút, tùy thuộc vào điều kiện của cành ghép. Nếu chúng đã được tiệt trùng và trồng trong cát, chúng có thể được sử dụng ngay. Nếu chúng bị nhiễm bẩn thì đặt chúng trên vải màn và xử lý trong dung dịch Chlorin 0,01 % hoặc Sodium hypochlorite trong 1 phút sau đó rửa cẩn thận 3 lần trong nước lọc.

Cắt tia lá mầm và chồi bên, mở vết ghép hình chữ T và tiến hành ghép.

Loại bỏ hết lá ở cành ghép để lộ mô phân sinh. Sử dụng một lưỡi dao cho một mô phân sinh. Đặt mô phân sinh lên vết ghép và đóng nắp vết ghép lại. Đặt cây con trong giấy lọc và trồng trong ống nghiệm có hỗn hợp môi trường Murshige và Skoog + đường + muối sắt hoà tan + White's vitamin. Xử lý môi trường ở nhiệt độ 121oC trong 10 phút.

Giữ cây con ở nhiệt độ 28 oC với chu kỳ chiếu sáng là 16 giờ. Chăm sóc cây tối thiểu 4 - 6 tuần hoặc có thể dài hơn. Cây con có thể cần được cắt tia mầm ở giai đoạn sinh trưởng trong ống nghiệm và có thể chuyển vào môi trường mới.

3.5. Chuyển cây con đã được ghép đỉnh sinh trưởng ra khỏi ống nghiệm.

Sau 4 - 6 tuần, khi mắt ghép đã mọc chồi được 1 cm cùng với 2 lá, đưa cây con ra khỏi ống nghiệm, tia bớt rễ và trồng cây trong chậu có chứa hỗn hợp chất độn. Giữ cây trong điều kiện ánh sáng yếu trong tuần đầu tiên. Duy trì ẩm độ cao trong vài ngày đầu bằng cách dùng tấm nhựa che phủ cây con. Khi cây cứng cáp ta loại bỏ dần tấm nhựa che phủ. Có thể sử dụng các biện pháp tương tự như trên nếu thấy mắt ghép còn xanh nhưng chưa phát triển. Hàng ngày tưới 2g/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Kiểm tra các dòng ghép để khẳng định đã loại bỏ hết các bệnh.

3.6. Môi trường nuôi cấy. Môi trường	Các hợp chất	Hàm lượng	
		Rắn	Lỏng
Dung dịch muối cơ bản	KNO ₃	1,90 g/l	1,90 g/l
Murashige & Skoog	NH ₄ NO ₃	1,65 g/l	1,65 g/l
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440 mg/l	440 mg/l
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370 mg/l	370 mg/l
	KH ₂ PO ₄	170 mg/l	170 mg/l
	MnSO ₄ .H ₂ O	16,9 mg/l	16,9 mg/l
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6 mg/l	8,6 mg/l
	H ₃ BO ₃	6,2 mg/l	6,2 mg/l
	KI	0,82 mg/l	0,82 mg/l
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25 mg/l	0,25 mg/l
	CuSO ₄ -.5H ₂ O	0,025 mg/l	0,025 mg/l
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025 mg/l	0,025 mg/l
Muối sắt hoà tan	Na ₂ -EDTA	-	37,3 mg/l
	FeSO ₄ .7H ₂ O	-	27,8 mg/l
Một số chất khác	Myo-I-Inositol	-	37,3 mg/l
	Nicotinic	-	27,8 mg/l
	Pyridoxine	-	100,0 mg/l
	Thiamine HCl	-	1,0 mg/l
Đường	Sucrose	30 g/l	1,00,2 mg/l
Agar	Agar	10 g/l	75 g/l

PHỤ LỤC
KIỂM DỊCH THỰC VẬT SAU NHẬP KHẨU

1. Kiểm tra Kiểm dịch Sau nhập khẩu.

Bảng 1. Các phương pháp kiểm tra.

Phản ứng chuỗi Polymerasa		Sử dụng chẩn đoán một số loại bệnh ẩn.
Men liên kết miễn dịch		<i>Citrus tristeza closterovirus</i> (Virus tàn lụi cam quýt)
		<i>Xylella fastidiosa</i>
		<i>Spiroplasma citri</i>
		<i>Satsuma dwarf ilarvirus</i> (Virus lùn Satsuma)
		<i>Citrus tatter leaf capillovirus</i> (Virus nhỏ lá cam quýt)
Chỉ thị sinh học		
Các loài	Các giống cây chỉ thị	
<i>Citrus sinensis</i>	Maltese Blood or Ruby Blood	Psorosis complex (Tổ hợp Virus bệnh đốm)
(Cam)		<i>Spiroplasma citri</i>
		<i>Liberobacter asiaticum</i>
		<i>Liberobacter africanum</i>
<i>Citrus limon</i>	Lambert Eureka (Chanh Eureka)	<i>Citrus tristeza closterovirus</i> , yellows strain (Virus tàn lụi cam quýt)
(Chanh)		<i>Citrus leaf rugose virus</i> (Virus quăn lá cam quýt)
		<i>Citrus variegation ilarvirus</i>
<i>Citrus medica L.</i> (Chanh yên)	Etrog (Chanh Yên)	<i>Citrus exocortis viroid</i> (Viroid vẩy vỏ)
<i>Citrus aurantifolia</i>	West Indian lime (Chanh Tây ấn)	<i>Citrus tristeza closterovirus-stem pitting strain</i> (Virus tàn lụi cam quýt)
(Quýt)		<i>Citrus veination virus</i> (Virus biến dạng gân lá)
<i>Poncirus trifoliata X C. sinensis</i>	Rusk or Swingle, Citrange (Rusk or Swingle chanh)	<i>Citrus tatter leaf capillovirus</i> (Nhỏ lá cam quýt)

1.1. Phương pháp PCR.

Mỗi loài sinh vật có cấu trúc DNA khác nhau và trong cùng một giống giữa các loài cũng có sự khác nhau. Trong một giống, DNA của các loài có những đoạn cấu trúc giống nhau, nhưng có những đoạn có cấu trúc khác nhau mà cấu trúc này đặc trưng cho loài này mà những loài khác không có. Đây là cơ sở di truyền để phân biệt giữa loài này và loài khác. Phương pháp PCR chính là nhằm nhân lên gấp bội số lượng các đoạn DNA đặc trưng để từ đó có thể chẩn đoán chính xác được các loài.

1.2. Phương pháp ELISA.

Kỹ thuật này cơ bản được dựa trên sự kết hợp giữa men với các kháng thể hoặc kháng nguyên thành vật đánh dấu men sau đó chúng lại có phản ứng với kháng nguyên hoặc kháng thể tương ứng thành hợp chất miễn dịch của men đánh dấu. Men kết hợp tại hợp chất miễn dịch khi gặp chất đệm sẽ thúc đẩy phản ứng thủy phân chất đệm tạo ra màu vàng. Tốc độ của phản ứng thủy phân càng nhanh, màu vàng càng rõ, chứng tỏ men càng nhiều, điều này cũng chứng tỏ nồng độ của kháng nguyên càng cao. Do tính đặc hiệu của phản ứng ELISA ta có thể xác định được định lượng và định tính của kháng nguyên.

Bộ Kit để kiểm tra có thể sử dụng cho các bệnh sau:

- *Xylella fastidiosa*
- *Spiroplasma citri*
- Satsuma dwarf ilarvirus (Lùn Satsuma)
- Citrus tristeza closterovirus (Tàn lụi cây có múi)
- Citrus tatter leaf capillovirus (Virus nhỏ lá cây có múi)

1.3 Chỉ thị sinh học

Dùng cây chỉ thị để xác định những bệnh ẩn của cây có múi ở hai mức nhiệt độ:

* Nhiệt độ 18 - 25oC (tốt nhất là 20 - 22 oC) cho các tác nhân gây bệnh sau:

- Viruses Citrus tristeza closterovirus (Virus tàn lụi cây có múi)
- Citrus veination virus (Virus biến dạng gân lá cây có múi)
- Citrus viregation ilarvirus.
- Citrus leaf rugose virus (Virus quăn lá cây có múi)
- Citrus tatter leaf capillovirus (Virus bé lá cây có múi)

* Nhiệt độ 25 - 35oC (tốt nhất là 30 - 35 oC) cho tác nhân gây bệnh:

- citrus exocortis viroid (Viroid vảy vỏ cây có múi)
- citrus cachexia viroid (Viroid mạch dẫn cây có múi)
- *Spiroplasma citri*
- *Liberobacter asiaticum*

- <i>Liberobacter africanum</i>			
Bảng 1.3.1 Số cây chỉ thị cần nhân giống.			
Dải nhiệt độ	Cây chỉ thị	Số chậu (15cm)	Số cây trong chậu
Lạnh 18-25oC	Sweet Orange (Cam ngọt)	3	5
	Eureka Lemon (Chanh Eureka)	2	5
	West Indian Lime (Chanh Tây ấn)	2	5
	Rusk Citrange (Chanh Rusk)	2	5
Nóng 25-35oC	Sweet Orange (Cam ngọt)	3	5

	Etrog Citron Rooted (Chanh yên)	2	2
--	---------------------------------	---	---

Bảng 1.3.2. Cây chỉ thị cho kiểm tra bệnh.		
Bệnh	Cây chỉ thị thích hợp	Cây chỉ thị khác
Cachexia (Xyloporosis)	Etrog citron (Chanh yên)	Rough lemon (Chanh sần) Poncirus trifoliata
Citrus leaf rugose (Virus quần lá)	West Indian lime (Chanh Tây ấn)	<i>Citrus limon</i> <i>Duncan grapefruit Red (Buổi đỏ Duncan)</i>
Citrus variegation (Virus biến dạng)	Etrog citron (Chanh yên)	Bean and cowpea (Đậu tương và đậu đen)
Crinkly leaf (Gìon lá)	Eureka lemon (Chanh Eureka)	-
Cristacortis	Sweet orange (Cam ngọt)	Orlando tangelo (Quýt Orlando) Sour orange (Cam chua)
Exocortis (Vảy vò)	Etrog citron (Chanh yên)	Rough lemon (Chanh sần)
Greening and Dieback (chết khô)	Sweet orange (Cam ngọt)	Sexton tangelo (Quýt Sexton) Duncan grapefruit (Buổi Duncan)
Impietratura	Sweet orange (Cam ngọt)	Grapefruit (Buổi)
Psorosis complex (Tổ hợp bệnh đốm Virus)	Sweet orange (Cam ngọt)	Homosassa, Emperor mandarin (Quýt Homosassa, Emperor) West Indian lime (Chanh Tây ấn)
Ringspot (Psorosis B) (Đốm vòng dòngB)	Sweet orange (Cam ngọt)	-
Satsuma dwarf (Lùn Satsuma)		Satsuma mandarin (Quýt Satsuma) Sesamum indicum
Stubborn	Sweet orange (Cam ngọt)	Sexton tangelo (Quýt Sexton) Duncan grapefruit (Buổi Duncan)
Tatter Leaf/ Stunt (Nhỏ lá/Lùn cây)	Citrange (Chanh)	Troyer citrange (Chanh Troyer) Citrus excelsa cowpea Nicotiana clevelandii
Tristeza - Stem pitting and Seedling Yellows (2 chủng tàn lụi cam quýt)	West Indian lime (Chanh Tây ấn) Eureka lemon (Chanh Eureka) Sour orange (Cam chua) Mexica lime (Chanh Mexico)	Bitter sweet seville (Cam đắng ngọt Seville) Sweet orange (Cam ngọt)

Vein Enation/ Woody Gall (Biến dạng gân/U thân gỗ)	West Indian lime (Chanh Tây ấn)	Rough lemon (Chanh sần)
---	------------------------------------	-------------------------

Bảng 1.3.3. Triệu chứng bệnh trên cây chỉ thị						
Dải nhiệt độ	Bệnh	Sweet Orange (Cam ngọt)	Eureka Lemon (Chanh Eureka)	West Indian Lime (Chanh Tây ấn)	Citrange cv Rusk or Swingle (Chanh, bưởi hoặc quýt)	Citrus medica L. (Chanh yên)
	Citrus leaf rugose (Quăn lá)		CF	LP		
	Citrus variegation (Biến dạng gân lá)		AS			
	Crinkly leaf (Gìon lá)		AS			LP
	Cristacortis	OL				
	Impietratura	OL				
Lạnh	Psorosis A (Đốm lá dòng A)	CF				
	Psorosis B (Đốm lá dòng B)	OL				
	Tatter Leaf / Stunt (Nhỏ lá/lùn)				CM &S	
	Tristeza - Stempitting (Đốm tàn lụi)			CVF&WP		
	Tristeza - Yellows (Vàng tàn lụi)		LY & S			
	Veination / Woody Gall (Biến dạng/u thân gỗ)			VE		
	Exocortis					LE
Nóng	Greening and Dieback (Greening và khô cành)	VY & LM				
	Stubborn	CM				

AS - Asteroid spots (Đốm dạng sao)

CF - Chlorotic flecks (Đốm vàng)

CM - Chlorotic mottling (Đốm mất màu vàng gân)	CVF - Chlorotic vein flecking (Đốm màu vàng gân)
LE - Leaf epinasty	LM - Leaf mottle (Đốm lá)
LP - Leaf puckering (Nhăn lá)	LY - Leaf yellowing (Vàng lá)
OL - Oak leaf pattern (Dải sùi lá)	S - Stunting (Lùn cây)
VE - Veination (Biến dạng gân)	VY - Vein yellowing (Vàng gân)
WP - Wood pitting (Đốm thân gỗ)	

2. Nhân giống, chăm sóc và bảo quản tại cơ sở Sau nhập khẩu.

2.1. Nhân giống ghép và cây chỉ thị.

Các hạt được gieo để làm cây chỉ thị sinh học hoặc gốc ghép được lấy từ các cơ sở sạch bệnh có uy tín, các hạt này đem gieo trong khay và để ở nhiệt độ 20 - 25°C. Cây chỉ thị là chanh yên (*Citrus medica* L.) được nhân giống từ cành ở nhiệt độ 30 - 35°C. Cây được trồng trong hỗn hợp chất độn (của Trường Đại học California) theo tỷ lệ thể tích phù hợp gồm: 1 than bùn : 1 cát hoặc bột đá và phân vô cơ được tiệt trùng theo phương pháp Paster (ở 60°C trong 30 phút, quá trình được lặp lại từ 2-3 lần hoặc xử lý dưới tác dụng của tia phóng xạ) có thể thêm vào nhiều nhất 10% vỏ trấu (tính theo thể tích).

Trước khi sử dụng làm cây chỉ thị hoặc gốc ghép không bón thúc cho cây. Sau đó chuyển chúng vào chậu hoặc túi nilon chứa được 1,5-2,0 kg cơ chất có chứa hỗn hợp theo công thức của Trường Đại học California. Nếu cây biểu hiện triệu chứng thiếu dinh dưỡng thì sẽ bón bổ sung bằng hỗn hợp chất độn với tỷ lệ 1 máu khô và bột xương: 1 Dolomit. Sau đó chanh yên và một số loại cam ngọt được trồng trong điều kiện nhiệt độ 30 - 35°C.

2.2. Nhân giống từ mắt ghép.

Hai cây được nhân giống từ mắt ghép trên gốc chanh sần. Ba đến bốn tuần sau khi ghép mắt, cắt các chồi nách của chanh sần để tập trung cho mắt ghép phát triển.

Chọn một cây làm cây chỉ thị. Nếu cần thì tiến hành ghép đỉnh sinh trưởng. Cây con được nhân lên từ cây chỉ thị sẽ được trả lại cho chủ hàng.

2.3. Phòng trừ dịch hại.

Sử dụng thuốc hoá học, dầu thực vật và thuốc sinh học để phòng trừ sinh vật hại trong nhà kính. Các sinh vật hại thường có nhện hai chấm, nhện to bụng, rệp phấn, rệp sáp. Chú ý rệp muội đen trên cây có múi phải được sớm diệt trừ triệt để nhằm ngăn chặn việc truyền Virus.

3. Loại bỏ các tác nhân gây bệnh và nhân giống.

Ghép đỉnh sinh trưởng là kỹ thuật nhân dòng các giống cây có múi đã được loại bỏ bệnh, cùng với khả năng tạo ra những dòng mới sạch Virus và các tác nhân gây bệnh khác. Tất cả cây có múi mới phải được ghép đỉnh sinh trưởng ít nhất một lần trước khi xuất ra khỏi cơ sở Kiểm dịch Sau nhập khẩu. Điều này có nghĩa là đảm bảo sạch *Xanthomonas campestris* pv. *citrumelo*, phytoplasma, Viroid và Virus. Các bước kiểm tra được làm nhiều lần đến khi cho kết quả kiểm tra khẳng định là sạch bệnh. Những gốc ghép được sản xuất từ các tổ chức trên thế giới có chứng nhận đạt tiêu chuẩn thì không cần phải ghép lại ở Việt Nam.

3.1. Mắt ghép dùng ghép đỉnh sinh trưởng.

Việc ghép đỉnh sinh trưởng được thực hiện ngay lập tức khi có mắt ghép thích hợp được đưa tới.

Nếu có chồi ghép mới nhập không thích hợp cho việc ghép ban đầu các mắt ghép được ghép vào thân một cây mẹ và sau đó chọn mắt ghép và thời điểm thích hợp nhất để tiến hành ghép.

3.2. Xử lý mắt ghép để ghép đỉnh sinh trưởng.

Tiệt trùng bề mặt mắt ghép trước khi bắt đầu ghép. Nhúng mắt ghép trong dung dịch Ethanol 70 % trong 2 phút, sau đó nhúng trong dung dịch Clorin (Clo) 0,2% hoặc Sodium hypochlorite trong 10 phút. Bảo quản mắt ghép ở nhiệt độ 26oC trong cát ẩm đã tiệt trùng với chu kỳ chiếu sáng 16 giờ đến khi đem ra sử dụng.

3.3. Sản xuất gốc ghép để ghép đỉnh sinh trưởng.

Sử dụng chanh ba lá, chanh sần và bưởi *Citrus grandis* (chỉ dùng cho các giống bưởi Pomelo) làm gốc ghép.

Lấy hạt từ quả tươi sau đó rửa sạch thịt quả. Tách bỏ lớp vỏ ngoài của hạt và bảo quản trong giấy lọc ẩm đến khi đem ra sử dụng. Khử trùng bề mặt hạt trong dung dịch Clorin 0,5 % hoặc Sodium hypochlorite (có chứa 1% clo) trong 10 phút. Sau đó rửa kỹ trong nước đã tiệt trùng tối thiểu 3 lần. Đưa hạt vô trùng vào trong môi trường Agar sạch để trong buồng cấy, sau đó đưa vào tủ ẩm ở 26 oC trong bóng tối.

Nếu hạt không dùng ngay sau khi đã tách khỏi quả, ta phơi trên giá đỡ. Hạt được tiệt trùng bề mặt và được bảo quản bằng cách nhúng trong dung dịch Clorin 1 % hoặc Sodium hypochlorite. Sau đó tiến hành làm như đối với hạt tươi.

Sau 4 - 5 ngày hạt sẽ mọc. Chuẩn bị những ống tuýp để trồng cây giữ trong môi trường đồng nhất có chứa môi trường hỗn hợp Murshige và Skoog + đường + agar, tiệt trùng ở 121oC trong 15-20 phút. Đặt hạt nảy mầm lên bề mặt agar trong các ống tuýp nuôi cấy khi chồi bắt đầu mọc.

Khi chồi ghép đạt đến độ dài thích hợp 3 - 4 cm, sau 10 - 12 ngày đưa những ống tuýp này vào trong buồng tối ở 4 - 7oC. Chọn các cây thẳng đưa vào buồng lạnh để ghép chồi đỉnh. Thời gian lưu giữ cây con là một năm.

3.4. Ghép đỉnh sinh trưởng.

Ngâm dụng cụ trong cồn 70% khoảng 1 giờ trước khi dùng. Chuẩn bị các mẫu dao cạo và tra vào cán. Nhúng dao cắt vào chất tẩy và sau đó làm sạch bằng cồn và hơi khô giữa mỗi lần cắt. Không làm cháy lưỡi dao sau khi nhúng cồn. Thay đổi lưỡi dao khi chúng bị cùn.

Tiệt trùng bề mặt cành ghép trực tiếp khi đang ở trên cây bằng dung dịch Clorin 0,5 % hoặc Sodium hypochlorite trong 5-10 phút, tùy thuộc vào điều kiện của cành ghép. Nếu chúng đã được tiệt trùng và trồng trong cát, chúng có thể được sử dụng ngay. Nếu chúng bị nhiễm bẩn thì đặt chúng trên vải màn và xử lý trong dung dịch Chlorin 0,01 % hoặc Sodium hypochlorite trong 1 phút sau đó rửa cẩn thận 3 lần trong nước lọc.

Cắt tia lá mầm và chồi bên, mở vết ghép hình chữ T và tiến hành ghép.

Loại bỏ hết lá ở cành ghép để lộ mô phân sinh. Sử dụng một lưỡi dao cho một mô phân sinh. Đặt mô phân sinh lên vết ghép và đóng nắp vết ghép lại. Đặt cây con trong giấy lọc và trồng trong ống tuýp có hỗn hợp môi trường Murshige và Skoog + đường + muối sắt hoà tan + White's vitamin. Xử lý môi trường ở nhiệt độ 121oC trong 10 phút.

Giữ cây con ở nhiệt độ 28 oC với chu kỳ chiếu sáng là 16 giờ. Chăm sóc cây tối thiểu 4 - 6 tuần hoặc có thể dài hơn. Cây con có thể cần được cắt tỉa mầm ở giai đoạn sinh trưởng trong ống tuýp và có thể chuyển vào môi trường mới .

3.5. Chuyển cây con đã được ghép đỉnh sinh trưởng ra khỏi ống tuýp.

Sau 4 - 6 tuần, khi mắt ghép đã mọc chồi được 1 cm cùng với 2 lá, đưa cây con ra khỏi ống tuýp, tỉa bớt rễ và trồng cây trong chậu có chứa hỗn hợp chất độn. Giữ cây trong điều kiện ánh sáng yếu trong tuần đầu tiên. Duy trì ẩm độ cao trong vài ngày đầu bằng cách dùng tấm nhựa che phủ cây con. Khi cây cứng cáp ta loại bỏ dần tấm nhựa che phủ. Có thể sử dụng các biện pháp tương tự như trên nếu thấy mắt ghép còn xanh nhưng chưa phát triển. Hàng ngày tưới 2g/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Kiểm tra các dòng ghép để khẳng định đã loại bỏ hết các bệnh.

3.6. Môi trường nuôi cấy.	Các hợp chất	Hàm lượng	
		Rắn	Lỏng
Murashige & Skoog dung dịch muối cơ bản	KNO_3	1,90 g/l	1,90 g/l
	NH_4NO_3	1,65 g/l	1,65 g/l
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440 mg/l	440 mg/l
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370 mg/l	370 mg/l
	KH_2PO_4	170 mg/l	170 mg/l
	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	16,9 mg/l	16,9 mg/l
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,6 mg/l	8,6 mg/l
	H_3BO_3	6,2 mg/l	6,2 mg/l
	KI	0,82 mg/l	0,82 mg/l
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25 mg/l	0,25 mg/l
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025 mg/l	0,025 mg/l
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025 mg/l	0,025 mg/l
Muối sắt hoà tan	$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	-	37,3 mg/l
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-	27,8 mg/l
Một số các chất khác	Myo-I-Inositol	-	37,3 mg/l
	Axit Nicotinic	-	27,8 mg/l
	Pyridoxine	-	100,0 mg/l
	Thiamine HCl	-	1,0 mg/l
	Đường Sucrose	30 g/l	1,00,2 mg/l
Agar	Agar	10 g/l	75 g/l