



CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN:2024/BNNPTNT

**QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA
VỀ CHẤT LƯỢNG VẬT LIỆU NHÂN GIỐNG CHUỐI**

National Technical Regulation on Planting Material Quality of Banana

HÀ NỘI - 2024

Lời nói đầu

QCVN:2024/BNNPTNT do Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam biên soạn và trình duyệt, Bộ Khoa học và Công nghệ thẩm định, Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ban hành theo Thông tư số ... /2024/TT-BNNPTNT ngày ... tháng ... năm 2024.

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ CHẤT LƯỢNG VẬT LIỆU NHÂN GIỐNG CHUỐI

National Technical Regulation on Planting Material Quality of Banana

I. QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này quy định yêu cầu kỹ thuật, yêu cầu quản lý về chất lượng vật liệu nhân giống loài chuối (*Musa spp.*) theo phương pháp nuôi cấy mô.

Đối với trường hợp nhập khẩu vật liệu nhân giống, áp dụng mã số HS (cây chuối để làm giống) quy định tại Mục 11, Thông tư 11/2021/TT-BNNPTNT.

1.2. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng đối với các cơ quan quản lý nhà nước; tổ chức, cá nhân sản xuất, buôn bán, nhập khẩu vật liệu nhân giống chuối; và các tổ chức, cá nhân khác có liên quan.

1.3. Giải thích từ ngữ

Trong quy chuẩn này các từ ngữ dưới đây được hiểu như sau:

1.3.1. Vật liệu nhân giống gồm: chồi, hoa cung cấp vật liệu phục vụ nuôi cấy mô và cây giống nuôi cấy mô.

1.3.2. Cây giống: là cây con được sản xuất theo phương pháp nuôi cấy mô.

1.3.3. Lô giống: Một lượng xác định vật liệu nhân giống của một quần thể chuối đồng nhất về mặt di truyền (giống/dòng), có cùng quy trình sản xuất, chế biến và bảo quản trong cùng một điều kiện, cùng phẩm cấp về chất lượng.

1.3.4. Bản mô tả giống: Bản công bố các thông tin về giống chuối do tổ chức, cá nhân đứng tên đăng ký cấp Quyết định công nhận lưu hành biên soạn theo Mẫu số 02.CN Phụ lục II ban hành kèm theo Nghị định 94/2019/NĐ-CP ngày 13/12/2019 của Chính phủ.

II. QUY ĐỊNH KỸ THUẬT

2.1. Quy định về chất lượng chồi và hoa chuối phục vụ nuôi cấy mô

Các chỉ tiêu và phương pháp đánh giá, thử nghiệm chất lượng chồi và hoa chuối phục vụ nuôi cấy mô quy định tại Bảng 1.

Bảng 1 - Các chỉ tiêu và phương pháp đánh giá, thử nghiệm chất lượng chồi, hoa

TT	Chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức giới hạn	Phương pháp đánh giá, thử nghiệm
1.1	Virus gây bệnh chùn ngọn/đọt (<i>Bunchy Top Virus</i>)	-	không phát hiện	Lấy ngẫu nhiên 50 mẫu lá của 50 chồi, hoặc 50 bẹ hoa của 50 hoa, từ lô mẫu gộp để phân tích sự hiện diện của virus. Trường hợp lô mẫu gộp không đủ 50 cá thể thì thu mỗi chồi/hoa 1 lá hoặc 1 bẹ hoa. Có thể phân tích sự hiện diện của virus trong từng mẫu chồi/hoa hoặc mẫu gộp. Phát hiện virus bằng kĩ thuật PCR (Phụ lục 1) hoặc ELISA (Phụ lục 2).
1.2	Virus gây bệnh khảm lá (<i>Cucumber Mosaic Virus</i>)	-	không phát hiện	Lấy ngẫu nhiên 50 mẫu lá của 50 chồi, hoặc 50 bẹ hoa của 50 hoa, từ lô mẫu gộp để phân tích sự hiện diện của virus. Trường hợp lô mẫu gộp không đủ 50 cá thể thì thu mỗi chồi/hoa 1 lá hoặc 1 bẹ hoa. Có thể phân tích sự hiện diện của virus trong từng mẫu chồi/hoa hoặc mẫu gộp. Phát hiện virus bằng kĩ thuật PCR (Phụ lục 1) hoặc ELISA (Phụ lục 2).

2.2. Quy định về chất lượng cây chuối giống nuôi cấy mô

Các chỉ tiêu và phương pháp đánh giá, thử nghiệm chất lượng cây chuối giống nuôi cấy mô quy định tại Bảng 2.

Bảng 2 – Các chỉ tiêu và phương pháp đánh giá, thử nghiệm chất lượng cây giống chuối nuôi cấy mô

TT	Chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức giới hạn	Phương pháp đánh giá, thử nghiệm
2.1	Virus gây bệnh chùn ngọn/đọt	-	không phát hiện	Lấy 50 mẫu lá của 50 cây ngẫu nhiên từ lô mẫu gộp để phân tích

TT	Chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức giới hạn	Phương pháp đánh giá, thử nghiệm
	(<i>Bunchy Top Virus</i>)			<p>sự hiện diện của virus. Trường hợp lô mẫu gộp không đủ 50 chồi, hoa thì thu toàn bộ</p> <p>Có thể phân tích mẫu lá của từng cây hoặc mẫu gộp.</p> <p>Phát hiện virus bằng kĩ thuật PCR (Phụ lục 1) hoặc ELISA (Phụ lục 2).</p>
2.2	Virus gây bệnh khảm lá (<i>Cucumber Mosaic Virus</i>)	-	không phát hiện	<p>Lấy 50 mẫu lá của 50 cây ngẫu nhiên từ lô mẫu gộp để phân tích sự hiện diện của virus. Trường hợp lô mẫu gộp không đủ 50 cây thì thu mỗi cây 1 lá.</p> <p>Có thể phân tích mẫu lá của từng cây hoặc mẫu gộp.</p> <p>Phát hiện virus bằng kĩ thuật PCR (Phụ lục 1) hoặc ELISA (Phụ lục 2).</p>
2.3	Nấm gây bệnh héo vàng Panama (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Cubense</i>)	-	không phát hiện	<p>Lấy 50 mẫu rễ của 50 cây ngẫu nhiên từ lô mẫu gộp để phân tích sự hiện diện của nấm. Trường hợp lô mẫu gộp không đủ 50 cây thì thu mỗi cây tối thiểu 2 rễ.</p> <p>Có thể phân tích mẫu rễ của từng cây hoặc mẫu gộp.</p> <p>Phát hiện virus bằng kĩ thuật PCR (Phụ lục 3).</p>

2.2. Quy định về lấy mẫu kiểm tra chất lượng vật liệu nhân giống: thực hiện theo TCVN 14147:2024 về lấy mẫu vật liệu nhân giống cây trồng.

III. QUY ĐỊNH VỀ QUẢN LÝ

3.1. Phương thức đánh giá hợp quy

3.1.1. Phương thức đánh giá hợp quy: áp dụng phương thức 7 theo quy định tại Thông tư số 28/2012/TT-BKHCN và Thông tư số 02/2017/TT-BKHCN sau khi đã thực hiện kiểm định lô giống.

3.1.2. Nội dung, trình tự và nguyên tắc sử dụng phương thức đánh giá hợp quy: thực hiện theo quy định tại Phụ lục II của Thông tư số 28/2012/TT-BKHCN.

3.2. Đánh giá hợp quy

3.2.1. Lấy mẫu

- a) Lấy mẫu chồi, hoa, cây giống nuôi cấy mô được thực hiện theo TCVN 14147:2024, đảm bảo tính đại diện cho toàn bộ lô vật liệu nhân giống.
- b) Lấy mẫu do người được tập huấn và được cấp Giấy chứng nhận tập huấn nghiệp vụ lấy mẫu theo quy định tại Thông tư số 26/2019/TT-BNNPTNT thực hiện.

3.2.2. Thử nghiệm mẫu chồi, hoa

- a) Chỉ tiêu thử nghiệm quy định tại Bảng 1 (với chồi , hoa) và Bảng 2 (với cây giống nuôi cấy mô).
- b) Phương pháp thử nghiệm quy định tại Bảng 1 (với chồi , hoa) và Bảng 2 (với cây giống nuôi cấy mô).
- c) Thử nghiệm mẫu chồi, hoa, cây giống nuôi cấy mô tại tổ chức thử nghiệm được chỉ định.
- d) Việc thử nghiệm được thực hiện tối thiểu một lần trước khi xuất bán.

3.2.3. Kết luận về sự phù hợp

- a) Lô giống phù hợp với quy định tại Bảng 1 (với chồi , hoa) và Bảng 2 (với cây giống nuôi cấy mô) nếu số lượng mẫu thử nghiệm có kết quả nằm trong giới hạn cho phép.
- b) Lô giống không phù hợp với quy định tại Bảng 1 (với chồi , hoa) và Bảng 2 (với cây giống nuôi cấy mô) nếu số lượng mẫu thử nghiệm có kết quả nằm ngoài giới hạn cho phép.

3.3. Công bố hợp quy

3.3.1. Biện pháp công bố hợp quy

3.3.1.1. Đối với vật liệu nhân giống sản xuất trong nước:

Công bố hợp quy được thực hiện theo một trong các biện pháp sau:

- a) Kết quả tự đánh giá sự phù hợp của tổ chức, cá nhân;
- b) Kết quả chứng nhận của tổ chức chứng nhận đã đăng ký hoặc được thừa nhận theo quy định của pháp luật;
- c) Kết quả chứng nhận của tổ chức chứng nhận được chỉ định theo quy định của pháp luật.

3.3.1.2. Đối với vật liệu nhân giống nhập khẩu:

Công bố hợp quy được thực hiện dựa trên kết quả chứng nhận của tổ chức chứng nhận được chỉ định. Hoạt động công bố hợp quy đối với vật liệu nhân giống nhập khẩu là việc tổ chức, cá nhân thực hiện quy định về kiểm tra nhà nước giống cây trồng nhập khẩu theo quy định tại Thông tư 26/2019/TT-BNNPTNT.

Trường hợp miễn giảm kiểm tra nhà nước bao gồm:

- Vật liệu nhân giống tạm nhập khẩu để trưng bày, giới thiệu tại hội chợ triển lãm thương mại.
- Vật liệu nhân giống tạm nhập - tái xuất không tiêu thụ và sử dụng tại Việt Nam.
- Vật liệu nhân giống quá cảnh, chuyển khẩu, trung chuyển

3.3.2. Hồ sơ công bố hợp quy

3.3.2.1. Trường hợp công bố hợp quy dựa trên kết quả chứng nhận của tổ chức chứng nhận hợp quy được chỉ định, hồ sơ gồm:

- a) Bản công bố hợp quy (theo mẫu tại Phụ lục 8 ban hành kèm theo quy chuẩn này);
- b) Bản sao giấy chứng nhận hợp quy của 01 lô giống đại diện cho một giống kèm theo mẫu dấu hợp quy do tổ chức chứng nhận được chỉ định cấp.

3.3.2.2. Trường hợp công bố hợp quy dựa trên kết quả tự đánh giá hợp quy của tổ chức, cá nhân sản xuất giống, hồ sơ gồm:

- a) Bản công bố hợp quy (theo mẫu tại Phụ lục 8 ban hành kèm theo quy chuẩn này);
- b) Báo cáo đánh giá hợp quy (theo mẫu tại Phụ lục 7 ban hành kèm theo quy chuẩn này) của 01 lô giống tương ứng đại diện cho một giống trong vòng 6 tháng tính từ ngày phát hành;
- c) Bản sao biên bản kiểm định giống (theo mẫu tại Phụ lục 4 ban hành kèm theo quy chuẩn này) của lô giống tương ứng;
- d) Bản sao biên bản lấy mẫu giống (theo mẫu tại Phụ lục 5 ban hành kèm theo quy chuẩn này) của lô giống tương ứng;
- đ) Bản sao phiếu kết quả thử nghiệm mẫu giống (theo mẫu tại Phụ lục 6 ban hành kèm theo quy chuẩn này) của 01 lô giống tương ứng đại diện cho một giống trong vòng 6 tháng tính từ ngày phát hành phiếu kết quả thử nghiệm giống của tổ chức thử nghiệm được chỉ định tính đến thời điểm nộp hồ sơ công bố hợp quy.

3.3.3. Tiếp nhận hồ sơ đăng ký công bố hợp quy

QCVN:2024/BNNPTNT

Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn nơi tổ chức, cá nhân có trụ sở chính đăng ký hoạt động sản xuất, kinh doanh giống cây trồng thực hiện tiếp nhận hồ sơ đăng ký công bố hợp quy, ban hành Thông báo tiếp nhận hồ sơ công bố hợp quy (theo mẫu tại Phụ lục 8 ban hành kèm theo quy chuẩn này).

3.3.4. Công bố hợp quy

Tổ chức, cá nhân sản xuất giống công bố hợp quy một lần cho một giống.

Khi có thay đổi về nội dung của ít nhất một thành phần hồ sơ công bố hợp quy hoặc có bất kỳ sự thay đổi nào về tính năng, công dụng, đặc điểm của sản phẩm, hàng hóa, dịch vụ đã công bố hợp chuẩn đối với giống đã công bố thì tiến hành công bố lại.

3.3.5. Xử lý hồ sơ công bố hợp quy

Thực hiện theo quy định tại Điều 15 Thông tư số 28/2012/TT-BKHCHN.

3.3.6. Dấu hợp quy và sử dụng dấu hợp quy

Dấu hợp quy và sử dụng dấu hợp quy thực hiện theo quy định tại Khoản 2 Điều 4 Thông tư số 28/2012/TT-BKHCHN.

3.4. Ghi nhãn

- Nội dung bắt buộc thể hiện trên nhãn hàng hóa: Theo quy định tại khoản 5, Điều 1 Nghị định số 111/2021/NĐ-CP ngày 09/12/2021 của Chính phủ.

- Nội dung ghi nhãn: Theo quy định tại Điều 10, Nghị định 94/2019/NĐ-CP ngày 13/12/2019 của Chính phủ.

3.5. Truy xuất nguồn gốc

Tổ chức, cá nhân sản xuất, nhập khẩu, buôn bán giống cây trồng phải ghi chép, lưu giữ hồ sơ truy xuất nguồn gốc lô vật liệu nhân giống như sau:

3.5.1. Đối với tổ chức, cá nhân sản xuất lô giống

- Ghi chép và lưu giữ các thông tin về quá trình sản xuất (tên đơn vị/cá nhân sản xuất, thời gian sản xuất; phương pháp sản xuất...); nguồn gốc lô giống (tên giống, loại vật liệu nhân giống...); kết quả giám định vi sinh vật gây bệnh; các tiêu chuẩn quốc gia, quy chuẩn kỹ thuật quốc gia, tiêu chuẩn quốc tế, tiêu chuẩn khu vực, tiêu chuẩn cơ sở được áp dụng (nếu có).

- Lập và lưu hồ sơ truy xuất nguồn gốc lô giống gồm: hợp đồng và hóa đơn mua bán liên quan (nếu có); tài liệu liên quan đến chất lượng lô giống (Tài liệu ghi chép các

thông tin về quá trình sản xuất, nguồn gốc lô giống, kết quả giám định vi sinh vật gây bệnh); các tiêu chuẩn quốc gia, quy chuẩn kỹ thuật quốc gia, tiêu chuẩn quốc tế, tiêu chuẩn khu vực, tiêu chuẩn cơ sở được áp dụng (nếu có).

3.5.2. Đối với tổ chức, cá nhân nhập khẩu lô giống

Lưu hồ sơ truy xuất nguồn gốc lô giống bao gồm: tờ khai hải quan; các tài liệu liên quan đến lô giống nhập khẩu (tên giống, nguồn gốc, khối lượng, tài liệu kiểm định lô giống...); hợp đồng mua bán vật liệu nhân giống; danh mục hàng hóa (Packing list); hóa đơn (Invoice); giấy chứng nhận hợp quy lô giống nhập khẩu; nhãn hiệu, mã ký hiệu, mã QR, số sê-ri (nếu có).

3.5.3. Đối với tổ chức, cá nhân buôn bán lô giống

Lưu hồ sơ truy xuất nguồn gốc lô giống bao gồm: hợp đồng và hóa đơn mua bán vật liệu nhân giống; bản sao báo cáo đánh giá hợp quy hoặc giấy chứng nhận hợp quy lô giống; bản sao tài liệu liên quan đến chất lượng lô giống (Tài liệu ghi chép các thông tin về quá trình sản xuất, nguồn gốc lô giống, kết quả giám định vi sinh vật gây bệnh); các tiêu chuẩn quốc gia, quy chuẩn kỹ thuật quốc gia, tiêu chuẩn quốc tế, tiêu chuẩn khu vực, tiêu chuẩn cơ sở được áp dụng (nếu có); thời hạn sử dụng của lô giống (nếu có); nhãn hiệu, mã ký hiệu, mã QR, số sê-ri (nếu có).

3.5.4. Thời hạn lưu hồ sơ: 12 tháng kể từ ngày xuất bán.

3.6. Yêu cầu khác

Trong trường hợp các văn bản viện dẫn hoặc hướng dẫn quy định tại quy chuẩn này có sự thay đổi, bổ sung hoặc được thay thế thì thực hiện theo quy định tại văn bản mới.

IV. TRÁCH NHIỆM CỦA TỔ CHỨC, CÁ NHÂN

4.1. Tổ chức, cá nhân sản xuất, nhập khẩu, buôn bán vật liệu nhân giống:

4.1.1. Công bố tiêu chuẩn áp dụng không được trái với quy định của Quy chuẩn này;

4.1.2. Công bố hợp quy, ghi nhãn, truy xuất nguồn gốc theo quy định tại quy chuẩn này và các văn bản quy phạm pháp luật có liên quan.

4.1.3. Chịu trách nhiệm về sự phù hợp của vật liệu nhân giống đã được đánh giá hợp quy, công bố hợp quy.

4.1.4. Chỉ sử dụng dấu hợp quy đối với giống cây trồng đã công bố hợp quy trước khi lưu thông trên thị trường.

QCVN:2024/BNNPTNT

4.1.5. Khi phát hiện sự không phù hợp của giống đã công bố hợp quy trong quá trình lưu thông hoặc sử dụng, tổ chức, cá nhân phải:

4.1.5.1. Kịp thời thông báo bằng văn bản về sự không phù hợp với Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn nơi ban hành Thông báo tiếp nhận hồ sơ công bố hợp quy và Cục Trồng trọt; thu hồi và không được đưa ra lưu thông trên thị trường các vật liệu nhân giống không phù hợp theo quy định.

4.1.5.2. Tiến hành các biện pháp khắc phục sự không phù hợp; thông báo bằng văn bản cho Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn nơi ban hành Thông báo tiếp nhận hồ sơ công bố hợp quy và Cục Trồng trọt về kết quả khắc phục sự không phù hợp trước khi tiếp tục đưa vật liệu nhân giống vào lưu thông trên thị trường.

4.2. Người kiểm định, người lấy mẫu, tổ chức thử nghiệm, tổ chức chứng nhận hợp quy giống có trách nhiệm thực hiện theo quy định tại quy chuẩn này và các văn bản quy phạm pháp luật có liên quan quy định trách nhiệm của người kiểm định, người lấy mẫu, tổ chức thử nghiệm, tổ chức chứng nhận.

V. TỔ CHỨC THỰC HIỆN

5.1. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn giao Cục Trồng trọt: hướng dẫn và kiểm tra việc thực hiện quy chuẩn kỹ thuật này; trình Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn điều chỉnh, bổ sung Quy chuẩn kỹ thuật này khi cần thiết; chỉ định và quản lý hoạt động tổ chức thử nghiệm, tổ chức chứng nhận hợp quy giống cây trồng trên phạm vi cả nước; kiểm tra, xử lý vi phạm, giải quyết khiếu nại, tố cáo về đánh giá hợp quy, chứng nhận hợp quy, công bố hợp quy giống cây trồng trên cả nước.

5.2. Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn các tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương có trách nhiệm: tổ chức kiểm tra, thanh tra, giải quyết khiếu nại, tố cáo về đánh giá hợp quy, chứng nhận hợp quy, công bố hợp quy giống cây trồng trên địa bàn; tiếp nhận hồ sơ công bố hợp quy, thông báo tiếp nhận hồ sơ công bố hợp quy của tổ chức, cá nhân sản xuất giống cây trồng trên địa bàn và gửi 01 bản về Cục Trồng trọt Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn để tổng hợp.

5.3. Trong trường hợp các tiêu chuẩn, văn bản quy phạm pháp luật viện dẫn tại quy chuẩn này được sửa đổi, bổ sung hoặc thay thế thì áp dụng quy định tại văn bản mới./.

Phụ lục 1**PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN VIRUS GÂY BỆNH CHÙN NGỌN/ ĐỘT
(*Bunchy Top Virus*) BẰNG KỸ THUẬT PCR****Tách chiết AND tổng số**

Bước 1: Thu mẫu từ nguồn cần đánh giá

Bước 2: Cắt 0,5 g mô tế bào từ nguồn mẫu trên cho vào nitơ lỏng để nghiền cùng với 2,7 ml đệm chiết ADN + 0,3 ml Sarkosyl (10 %). Đến khi thành dung dịch mịn.

Bước 3: Chuyển hỗn hợp sang ống ly tâm 1,5 ml và ủ ở 55 °C trong 1 giờ

Bước 4: Ly tâm ở 6.000 vòng/phút trong 5 phút

Bước 5: Chuyển 0,8 ml dịch trong phía trên sang 1 ống ly tâm khác. Sau đó, bổ sung 100 µl dung dịch NaCl 5M và 100 µl dung dịch CTAB/NaCl (10% CTAB trong 0,7M NaCl). Ủ mẫu ở 65°C trong 10 phút.

Bước 6: Bổ sung 0,5 ml hỗn hợp dung dịch Chloroform/Isoamyl alcohol (24:1). Trộn kỹ, ly tâm ở tốc độ 6.000 vòng trong 5 phút. Chuyển 0.6 ml dịch trong phía trên sang 1 ống ependoff khác.

Bước 7: Bổ sung 360 µl isopropanol. Để 30 phút trong -20 °C. Ly tâm ở tốc độ 12.000 vòng trong 15 phút ở 4 °C.

Bước 7. Rửa kết tủa 2 lần với cồn 70°. Bổ sung 100 µl dung dịch đệm TE. Bảo quản ADN ở -20 °C.

Phản ứng PCR

- Các hoá chất dùng cho phân tích một mẫu bệnh BBTV bao gồm:

Nước cất khử trùng 2 lần	15,0 µl
Đệm PCR	2,5 µl
dNTP _s 10mM	0,5 µl
Cặp mồi (50ng/ µl)	1,0 µl
Enzyme Taq polymerase (2U/ µl)	0,5 µl
Khuôn mẫu ADN	2,5 µl
Tổng dung dịch pha PCR/mẫu	22 µl

Trình tự mồi C1-CR:

F: 5'-GGAAGAAGCCTCTCATCTGCTTCAGAGAGC-3'

R: 5'-CAGGCGCACACCTTGAGAAACGAAAGGGAA-3'

Chu kỳ của phản ứng PCR

Nhiệt độ	Thời gian	Số chu kỳ
94 °C	4 phút	1 chu kỳ
94 °C	1 phút	
50 °C	1 phút	30 chu kỳ
72 °C	2 phút	
72 °C	10 phút	1 chu kỳ
4 °C		Bảo quản

Đọc kết quả

Điện di sản phẩm PCR trên Gel Agarose 1,4 % với đệm TAE và nhuộm trong dung dịch chứa 0,5 mg/ml Ethidium Bromide. Gel được chạy trong thiết bị điện di với đệm TAE ở điện thế 100 V trong 30 phút. Gel được kiểm tra bằng hệ thống phân tích ảnh điện di.

Phụ lục 2
CHẨN ĐOÁN NHANH BỆNH KHÂM LÁ (*Cucumber Mosaic Virus*)
BẢNG KỸ THUẬT ELISA

Bước 1: Chuẩn bị hộp ẩm

Bước 2: Coat Capture antibody vào bản đĩa

Capture antibody được pha loãng với đệm cacbonat (Carbonate Coating Buffer). 5 µl Capture antibody/1 ml đệm cacbonat. Hút 100 µl Capture antibody đã chuẩn bị vào mỗi giếng.

Bước 3: Ủ bản đĩa trong hộp ẩm 4 giờ ở nhiệt độ phòng hoặc ủ qua đêm trong tủ lạnh. Không ủ quá 24 giờ.

Bước 4: Rửa bản đĩa 2 lần với PBST 1X

Bước 5: Coat mẫu dịch nghiền

Nghiền mẫu với General extract buffer (GEB) với tỷ lệ 1 : 10 (w/v) trong chày cối sứ. Hút 100 µl dịch nghiền mẫu vào mỗi giếng, kí hiệu mẫu trên bản đĩa.

Bước 6: : Ủ bản đĩa trong hộp ẩm 2 giờ ở nhiệt độ phòng hoặc ủ qua đêm trong tủ lạnh.

Bước 7: Rửa bản đĩa 7 lần với PBST 1X

Bước 8: Thêm 100 µl dung dịch enzyme conjugate vào mỗi giếng. Ủ bản đĩa 2 giờ ở nhiệt độ phòng.

Chuẩn bị: dung dịch enzyme conjugate được pha trong dung dịch ECI buffer với tỷ lệ 1: 200.

Bước 9: Rửa bản đĩa 8 lần với PBST 1X

Bước 10: Thêm 100 µl dung dịch PNP vào mỗi giếng. Ủ trong tối, không quá 1 giờ ở nhiệt độ phòng, sau đó đọc kết quả

(Chuẩn bị: viên PNP được pha trong dung dịch PNP buffer với tỷ lệ 1 ml/1 ml)

Bước 11: Đọc kết quả

Căn cứ vào màu vàng đặc trưng của phản ứng ở mẫu đối chứng dương và màu trong suốt ở đối chứng âm. So sánh mẫu kiểm tra với mẫu đối chứng, mẫu có màu vàng tương ứng với mẫu đối chứng dương là mẫu nhiễm bệnh và tương tự với mẫu không bị nhiễm bệnh.

Kết quả được đọc bằng máy đọc ELISA ở bước sóng 405 nm.

Phụ lục 3

PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN BỆNH HÉO VÀNG Panama
(*Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*)

1. Phân lập mẫu nấm

Mẫu cần phân tích được khử trùng bề mặt bằng ethanol 70 %, để khô trong buồng cấy vô trùng, rồi cắt thành đoạn 5 mm đặt lên môi trường nuôi cấy PDA có bổ sung streptomycin sulphate (100 mg/l) hoặc môi trường Komada II, ở 22-25 °C (Komada, 1975). Sử dụng kính hiển vi để xác định hình thái bào tử nấm sau 5-7 ngày nuôi cấy. Nấm được phân lập thuần dựa trên kỹ thuật phân lập đơn bào tử.

2. Tách chiết DNA

Sau 10 ngày nuôi cấy ở 22-25 °C, trên môi trường PDA, lấy khoảng 100mg sợi nấm sẽ được chuyển vào ống 2ml để nghiền và tách chiết DNA theo hướng dẫn của kit tách chiết DNA (Plant/fungi DNA isolation kit – Norgen Biotek Corp), hoặc áp dụng tách DNA như phụ lục 1. Kiểm tra độ tinh sạch DNA tách chiết từ mẫu nấm thông qua điện di trên Agarose gel 1 %. Mẫu DNA tinh sạch được lưu giữ ở -20 °C.

3. Phản ứng PCR

Phản ứng PCR được thực hiện với cặp mồi Foc-TR4

+F:5'-CAC GTT TAA GGT GCC ATG AGA G-3';

+R: 5'-CGC ACG CCA GGA CTG CCT CGT GA-3'),

Theo chu trình nhiệt sau:

Nhiệt độ	Thời gian	Chu kỳ
95 °C	2 phút	1
95 °C	30 giây	35
68 °C	30 giây	
72 °C	1 phút	
72 °C	10 phút	1
4 °C	Bảo quản	∞

Phụ lục 4

BIÊN BẢN KIỂM ĐỊNH GIỐNG CÂY TRỒNG

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

....., ngày.....thángnăm

BIÊN BẢN KIỂM ĐỊNH GIỐNG CÂY TRỒNG

Số: /BBKD-

- Tên người kiểm định: Mã số/Số CCCD người kiểm định:
- Đơn vị công tác (nếu có):
- Địa chỉ : Điện thoại : Fax: E-mail:

A. Thông tin chung:

1. Chủ lô giống:

- Địa chỉ: Điện thoại: Fax: Email:

2. Loài cây trồng: Tên giống: Cấp giống (nếu có):

3. Địa điểm sản xuất:

4. Nguồn giống:

- Tổ chức, cá nhân sản xuất & cung ứng:
- Mã lô cây giống:
- Tổ chức chứng nhận hợp quy/Tổ chức tự đánh giá hợp quy:
- Mã số Giấy chứng nhận hợp quy/Báo cáo tự đánh giá hợp quy:
- Ngày cấp/lập:

B. Kết quả kiểm định:

.....

C. Kết luận:

.....

D. YÊU CẦU KHÁC

Đại diện chủ lô giống
(Ký tên, đóng dấu nếu có)

Người kiểm định
(Ký, ghi rõ họ và tên)

Thủ trưởng đơn vị kiểm định
(Ký tên, đóng dấu)

Phụ lục 7

BÁO CÁO ĐÁNH GIÁ HỢP QUY LÔ CÂY GIỐNG CÂY TRỒNG

TÊN CƠ QUAN CHỦ QUẢN (nếu có)
TÊN TỔ CHỨC, CÁ NHÂN

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Số:/BCĐGHQ-.....

....., ngày ... tháng năm

BÁO CÁO
ĐÁNH GIÁ HỢP QUY LÔ VẬT LIỆU NHÂN GIỐNG GIỐNG CÂY TRỒNG

1. Tổ chức, cá nhân báo cáo:.....

Địa chỉ, Điện thoại, Fax, Email, Website

2. Tên loài, tên giống cây trồng:

3. Số hiệu quy chuẩn kỹ thuật áp dụng:

4. Mã lô vật liệu nhân giống được đánh giá hợp quy:

5. Kết quả đánh giá:

5.1. Kiểm định lô vật liệu nhân giống

- Ngày lấy mẫu :

- Địa điểm lấy mẫu:

- Họ và tên người lấy mẫu:

- Đơn vị quản lý người lấy mẫu:

- Ngày kiểm định:

- Địa điểm kiểm định:

- Họ và tên người kiểm định:

- Đơn vị quản lý người kiểm định:

- Biên bản kiểm định số: ngày tháng năm

- Kết quả kiểm định:

5.2. Thử nghiệm mẫu

- Ngày lấy mẫu :

- Địa điểm lấy mẫu:

- Họ và tên người lấy mẫu:

- Đơn vị quản lý người lấy mẫu:

- Tên tổ chức thử nghiệm:

- Phiếu kết quả thử nghiệm mẫu giống số: ngày tháng năm

- Kết quả thử nghiệm:

6. Các nội dung khác (nếu có):.....

7. Kết luận:

Lô vật liệu nhân giống ... có chất lượng phù hợp quy chuẩn kỹ thuật sốdo Bộ Nông nghiệp và PTNT ban hành ngày tháng năm .

...(tổ chức, cá nhân)... cam kết chất lượng lô cây giống.... phù hợp quy chuẩn kỹ thuật, tiêu chuẩn công bố áp dụng và hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về chất lượng sản phẩm, hàng hóa và kết quả tự đánh giá.

Người lập báo cáo
(ký và ghi rõ họ tên)

Xác nhận của lãnh đạo tổ chức/cá nhân
(ký tên, chức vụ, đóng dấu)

Phụ lục 8
BẢN CÔNG BỐ HỢP QUY

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

BẢN CÔNG BỐ HỢP QUY
Số

Tên tổ chức, cá nhân:
Địa chỉ:
Điện thoại: Fax:
E-mail:

CÔNG BỐ:

Vật liệu nhân giống cây trồng (loài, tên giống, đặc tính của giống)

.....

Phù hợp với quy chuẩn kỹ thuật (*số hiệu, ký hiệu, tên gọi*)

.....

.....

Thông tin bổ sung (*phương thức đánh giá sự phù hợp,...*):

.....

Hình thức đánh giá hợp quy :

+ Tổ chức chứng nhận đánh giá (bên thứ ba): Tên tổ chức chứng nhận/tổ chức chứng nhận được chỉ định, số giấy chứng nhận, ngày cấp giấy chứng nhận;

+ Tự đánh giá (bên thứ nhất): Số ký hiệu báo cáo, ngày lãnh đạo tổ chức, cá nhân ký xác nhận báo cáo tự đánh giá.

.... (Tên tổ chức, cá nhân) cam kết và chịu trách nhiệm về tính phù hợp của (loài, tên giống) do mình sản xuất, kinh doanh, bảo quản, vận chuyển, sử dụng, khai thác.

....., ngày ... tháng ... năm

Đại diện Tổ chức, cá nhân
(Ký tên, chức vụ, đóng dấu)

Phụ lục 9

THÔNG BÁO TIẾP NHẬN HỒ SƠ CÔNG BỐ HỢP QUY

TÊN CƠ QUAN CHỦ QUẢN
TÊN CƠ QUAN TIẾP NHẬN
CÔNG BỐ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Số:/TB-.....

....., ngày ... tháng năm

THÔNG BÁO
TIẾP NHẬN HỒ SƠ CÔNG BỐ HỢP QUY

..... (Tên cơ quan tiếp nhận công bố) xác nhận đã tiếp nhận hồ sơ công bố hợp quy số ngày tháng năm của:..... (tên tổ chức, cá nhân)

địa chỉ tổ chức, cá nhân:

cho Giống cây trồng (loài, tên giống, cấp giống, đặc tính của giống) :

phù hợp quy chuẩn kỹ thuật (số hiệu, ký hiệu, tên gọi của quy chuẩn kỹ thuật)

Thông báo này ghi nhận sự cam kết của tổ chức, cá nhân. Thông báo này không có giá trị chứng nhận cho giống phù hợp với quy chuẩn kỹ thuật tương ứng.

(Tên tổ chức, cá nhân) phải hoàn toàn chịu trách nhiệm về tính phù hợp của giống... do mình sản xuất, buôn bán, bảo quản, vận chuyển, sử dụng, khai thác.

Nơi nhận:

- Tổ chức, cá nhân;
- Cơ quan chủ quản (để báo cáo);
- Lưu: Cơ quan tiếp nhận hồ sơ.

**Đại diện có thẩm quyền của
Cơ quan tiếp nhận công bố**
(ký tên, chức vụ, đóng dấu)

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Bộ Nông nghiệp và PTNT (2019), Thông tư 17/2019/TT-BNNPTNT ngày 15 tháng 11 năm 2019: Ban hành danh mục loài cây trồng chính.
- [2] Bộ Nông nghiệp và PTNT (2002), 10 TCN 530-2002 Cây giống chuối tiêu nhân bằng phương pháp nuôi cấy mô, Ban hành theo Quyết định số 47/2002/QĐ-BNN ngày 10/6/2002.
-