BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

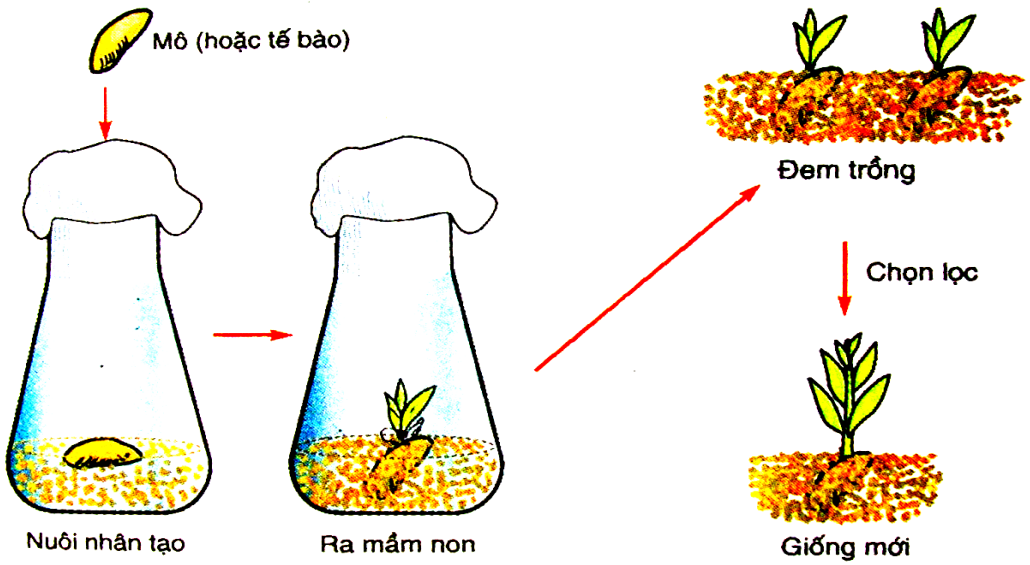
# GIÁO TRÌNH MÔ ĐUN

# VI NHÂN GIỐNG CÂY LÂM NGHIỆP TỰ CHỌN

## MÃ SỐ: 06

## NGHỀ: VI NHÂN GIỐNG CÂY LÂM NGHIỆP

**Trình độ: Sơ cấp nghề**



**TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN**

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm

**MÃ TÀI LIỆU: MĐ 06**

# LỜI GIỚI THIỆU

*Vi nhân giống cây lâm nghiệp là nghề sản xuất giống cây lâm nghiệp chất lượng cao đáp ứng nhu cầu trồng rừng kinh doanh ở Việt Nam, trong chương trình đào tạo nghề ngắn hạn cho lao động nông thôn từ nay đến năm 2020, nhằm trang bị cho học viên một số kiến thức và kỹ năng cơ bản để thực hiện các bước công việc nhân giống cây lâm nghiệp bằng vi nhân giống.*

*Giáo trình Vi nhân giống cây lâm nghiệp được xây dựng và phát triển theo các bước: phân tích nghề, phân tích công việc và xây dựng chương trình, giáo trình dạy nghề theo mô đun.*

*Giáo trình mô đun: Vi nhân giống cây lâm nghiệp tự chọn là mô đun cuối cùng của chương trình dạy nghề: Vi nhân giống cây lâm nghiệp nhằm rèn luyện các kỹ năng thực hiện các bước công việc vi nhân giống cây lâm nghiệp. Mô đun được biên soạn dưới dạng quy trình Vi nhân giống cho 4 loài cây lâm nghiệp. Mô đun có thể dạy độc lập theo nhu cầu của người học.*

*Giáo trình mô đun gồm 4 Quy trình: Quy trình 1: Vi nhân giống cây Bạch đàn; Quy trình 2: Vi nhân giống cây Keo lai; Quy trình 3: Vi nhân giống cây Keo lá tràm; Quy trình 4: Vi nhân giống cây Tếch. Mỗi học viên/nhóm học viên được lựa chọn và thực hiện 01 quy trình vi nhân giống cho một loài cây cụ thể.*

*Để hoàn thành giáo trình chúng tôi nhận được sự giúp đỡ của các nhà khoa học ở các viện nghiên cứu, các cán bộ kỹ thuật ở các cơ sở sản xuất, các giảng viên ở các trường đại học, cao đẳng, dạy nghề và khoa Lâm nghiệp Trường Đại học Nông - Lâm Bắc Giang. Nhân dịp này cho phép chúng tôi gửi lời cảm ơn đến lãnh đạo Bộ Nông nghiệp & PTNT, các viện nghiên cứu, các trường, các nhà khoa học, các cán bộ kỹ thuật, các thày cô giáo đã tham gia chương trình và đóng góp nhiều ý kiến quý báu, tạo điều kiện thuận lợi để chúng tôi hoàn thành giáo trình này.*

*Trong quá trình biên soạn giáo trình mô đun chắc chắn không tránh khỏi những thiếu sót. Chúng tôi rất mong nhận được những ý kiến đóng góp của quý báu của các nhà khoa học, các nhà quản lý và các bạn đọc để hiệu chỉnh và hoàn thiện giáo trình phục vụ sự nghiệp đào tạo nghề ngắn hạn cho lao động nông thôn ở nước ta.*

Tham gia biên soạn

1. Chủ biên : TS. Nguyễn Văn Vượng
2. TS. Nghiêm Xuân Hội
3. ThS. Vũ Thị Tâm
4. ThS. Nguyễn Thị Thanh Nguyên

# MỤC LỤC

**TIÊU ĐỀ** **TRANG**


LỜI GIỚI THIỆU ..... 1
MỤC LỤC ..... 2
CÁC THUẬT NGỮ CHUYÊN MÔN, CHỮ VIẾT TẮT ..... 4
MÔ ĐUN VI NHÂN GIỐNG CÂY LÂM NGHIỆP TỰ CHỌN ..... 5
Bài 1: VI NHÂN GIỐNG CÂY BẠCH ĐÀN ..... 5
Mục tiêu: ..... 5
A. Giới thiệu quy trình vi nhân giống Bạch đàn ..... 5
B. Các bước tiến hành vi nhân giống cây Bạch đàn ..... 6
1. Chuẩn bị các điều kiện cần thiết ..... 6
1.1. Chuẩn bị trang thiết bị, dụng cụ phục vụ vi nhân giống ..... 6
1.2. Kiểm tra các điều kiện cần thiết trong hệ thống phòng nuôi cấy, nhà lưới, vườn ươm ..... 7
1.3. Chuẩn bị môi trường để nuôi cấy ..... 8
2. Tiến hành vi nhân giống cây Bạch đàn ..... 9
*2.1. Giai đoạn chuẩn bị* ..... 9
*2.2. Tái sinh mẫu nuôi cấy* ..... 9
*2.3. Nhân nhanh chồi* ..... 9
*2.4. Tạo cây hoàn chỉnh.* ..... 10
*2.5. Ra cây và chăm sóc cây con ngoài vườn ươm* ..... 10
Mục tiêu: ..... 16
A. Giới thiệu quy trình vi nhân giống cây Keo lai ..... 16
B. Các bước tiến hành vi nhân giống Keo lai ..... 16
1. Chuẩn bị các điều kiện cần thiết ..... 16
1.1. Chuẩn bị trang thiết bị, dụng cụ phục vụ vi nhân giống ..... 16
1.2. Kiểm tra các điều kiện cần thiết trong hệ thống phòng nuôi cấy, nhà lưới, vườn ươm ..... 17
1.3. Chuẩn bị môi trường để nuôi cấy ..... 18
2. Tiến hành vi nhân giống  cây Keo lai ..... 19
*2.1. Giai đoạn chuẩn bị* ..... 19
*2.2. Tái sinh mẫu nuôi cấy* ..... 20
*2.3. Nhân nhanh chồi* ..... 20
*2.4. Tạo cây hoàn chỉnh.* ..... 21
*2.5. Ra cây và chăm sóc cây con ngoài vườn ươm* ..... 21
Bài 3: VI NHÂN GIỐNG CÂY KEO LÁ TRÀM ..... 27
Mục tiêu: ..... 27
A. Giới thiệu quy trình vi nhân giống cây Keo lá tràm ..... 27
B. Các bước tiến hành vi nhân giống Keo lá tràm ..... 27
1. Chuẩn bị các điều kiện cần thiết ..... 27
1.1. Chuẩn bị trang thiết bị, dụng cụ phục vụ vi nhân giống ..... 27

1.2. Kiểm tra các điều kiện cần thiết trong hệ thống phòng nuôi cấy, nhà lưới, vườn ươm ..... 28
1.3. Chuẩn bị môi trường để nuôi cấy ..... 29
2. Tiến hành vi nhân giống  Cây Keo lá tràm ..... 30
*2.1. Giai đoạn chuẩn bị* ..... 30
*2.2. Tái sinh mẫu nuôi cấy* ..... 31
*2.3. Nhân nhanh chồi* ..... 31
*2.4. Tạo cây hoàn chỉnh.* ..... 32
*2.5. Ra cây và chăm sóc cây con ngoài vườn ươm* ..... 32
Bài 4: VI NHÂN GIỐNG CÂY TẾCH ..... 37
Mục tiêu: ..... 37
A. Giới thiệu quy trình vi nhân giống cây Tếch ..... 37
B. Các bước tiến hành vi nhân giống cây Tếch ..... 38
1. Chuẩn bị các điều kiện cần thiết ..... 38
1.1. Chuẩn bị trang thiết bị, dụng cụ phục vụ vi nhân giống ..... 38
1.2. Kiểm tra các điều kiện cần thiết trong hệ thống phòng nuôi cấy, nhà lưới, vườn ươm ..... 38
1.3. Chuẩn bị môi trường để nuôi cấy ..... 39
2. Tiến hành vi nhân giống cây Tếch ..... 40
*2.1. Giai đoạn chuẩn bị* ..... 40
*2.2. Tái sinh mẫu nuôi cấy* ..... 41
*2.3. Nhân nhanh chồi* ..... 41
*2.4. Tạo cây hoàn chỉnh.* ..... 41
*2.5. Ra ngôi và chăm sóc cây con ngoài vườn ươm* ..... 41
C. Bài tập và sản phẩm thực hành của học viên ..... 43
Lấy mẫu vi nhân giống cây Tếch ..... 43
Pha chế các loại môi trường vi nhân giống cây Tếch ..... 44
Cấy khởi đầu cây Tếch ..... 44
Cấy nhân chồi cây Tếch ..... 44
Cấy tạo rễ ..... 45
Ra cây và chăm sóc cây Tếch vi nhân giống tại vườn ươm ..... 45
D. Ghi nhớ: ..... 46
HƯỚNG DẪN GIẢNG DẠY MÔ ĐUN ..... 47
I. Vị trí, tính chất của mô đun: ..... 47
II. Mục tiêu: ..... 47
III. Nội dung chính của mô đun: ..... 47
IV. Hướng dẫn thực hiện bài thực hành ..... 48
1. Nguồn lực cần thiết, ..... 48
2. Cách tổ chức thực hiện ..... 48
3. Thời gian: 83 giờ ..... 48
4. Tiêu chuẩn sản phẩm ..... 48
V. Yêu cầu về đánh giá kết quả học tập ..... 48
VI. Tài liệu tham khảo ..... 50

# CÁC THUẬT NGỮ CHUYÊN MÔN, CHỮ VIẾT TẮT

MĐ: Mô đun

LT: lý thuyết

TH: thực hành

KT: kiểm tra

# MÔ ĐUN VI NHÂN GIỐNG CÂY LÂM NGHIỆP TỰ CHỌN

**Mã số mô đun: MĐ 06**

**Giới thiệu mô đun:**

Đây là mô đun cuối của chương trình dạy nghề nghề ngắn hạn Vi nhân giống cây lâm nghiệp, nhằm rèn luyện các kỹ năng thực hiện các bước công việc vi nhân giống một loài cây lâm nghiệp quan trọng đại diện cho vùng, được giảng dạy sau mô đun 05. Mô đun 06 cũng có thể giảng dạy độc lập theo yêu cầu của người học. Nội dung được biên soạn dưới dạng quy trình cho 04 loài cây đáp ứng nhu cầu thực tiễn sản xuất của vùng. Mỗi học viên/nhóm học viên được lựa chọn và thực hiện 01 quy trình vi nhân giống cho một loài cây cụ thể. Mô đun được tiến hành trong phòng thí nghiệm và vườn ươm cây lâm nghiệp. Kết quả của mô đun được đánh giá bằng chất lượng sản phẩm giống cây tạo ra trong quá trình thực tập của học viên vào cuối khóa học.

## Bài 1:

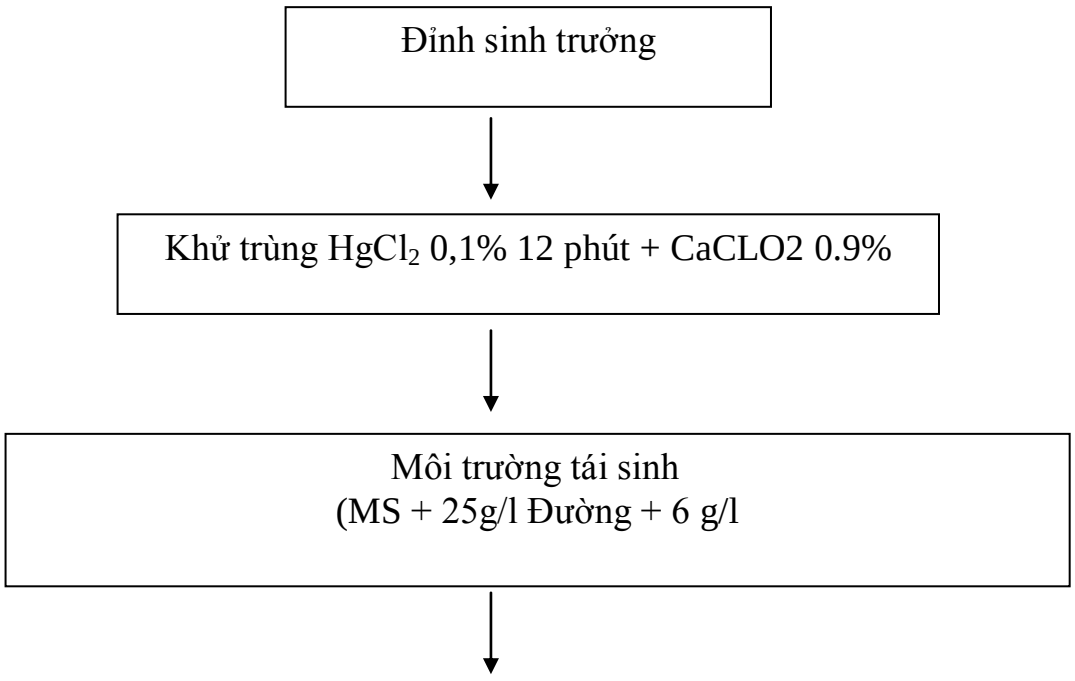
## VI NHÂN GIỐNG CÂY BẠCH ĐÀN

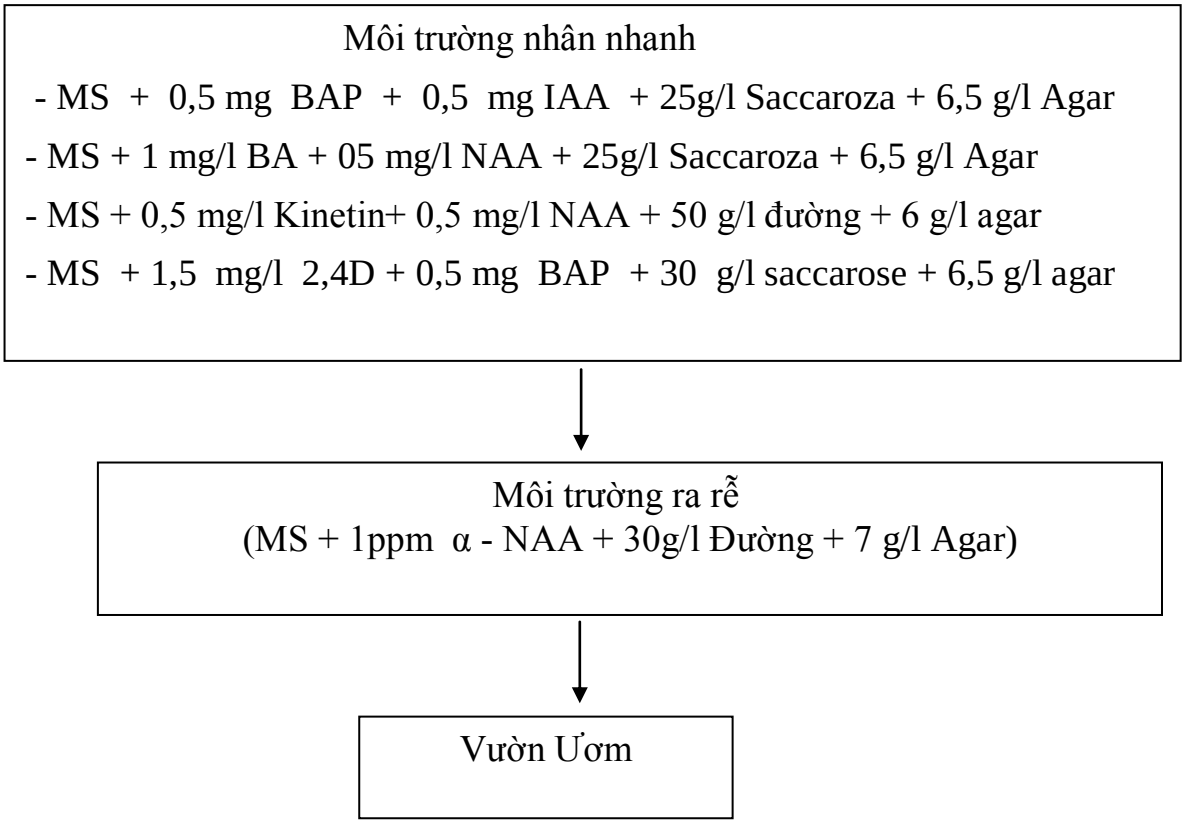
**Mã bài: MĐ 06 - 01**

**Mục tiêu:** *Sau khi học xong học viên có khả năng:*

Thực hiện được các bước công việc theo đúng Quy trình vi nhân giống cây Bạch đàn.

**A. Giới thiệu quy trình vi nhân giống Bạch đàn**






**B. Các bước tiến hành vi nhân giống cây Bạch đàn**

**1. Chuẩn bị các điều kiện cần thiết**

**1.1. Chuẩn bị trang thiết bị, dụng cụ phục vụ vi nhân giống**

Đây là bước đầu tiên đảm bảo cho quá trình vi nhân giống cây Bạch đàn được diễn ra thuận lợi. Bước này bao gồm chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, nguyên liệu và hóa chất.

* Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ:

- Nồi autoclave, tủ cấy vô trùng
- Bếp gas (bếp từ hoặc lò vi sóng)
- Nồi nấu môi trường
- Cốc thủy tinh
- Ống đong
- Ống nghiệm, chai thủy tinh
- Đũa thủy tinh
- Cân kỹ thuật
- Máy đo pH, giấy đo pH
- Phễu, giá rót môi trường

- Bông không thấm nước
- Giấy báo, nilon, dây cao su

* Chuẩn bị nguyên liệu:

- Nước cất
- Các chất khử trùng ($HgCl_2$ ; $CaClO_2$ )
- Agar
- Đường glucose (hoặc saccarose)
- Các loại dung dịch mẹ

**1.2. Kiểm tra các điều kiện cần thiết trong hệ thống phòng nuôi cấy, nhà lưới, vườn ươm**

Trước khi tiến hành các thao tác pha chế môi trường vi nhân giống: Phòng cấy, tủ cấy, dụng cụ cấy phải được khử trùng nhằm hạn chế sự xâm nhiễm nguồn tạp nhiễm vào mẫu cấy trong quá trình vi nhân giống.

* Phòng cấy: phải luôn sạch sẽ vì vậy cần:

- Quét dọn lau sạch sàn, xung quanh tường bằng nước sạch (có thể xông formol để khử trùng trước đó vài ngày)
- Bật quạt thông gió, điều hòa

* Tủ cấy:

- Dùng bông thấm cồn lau sạch bên trong, bên ngoài tủ
- Phủ màn tối kín tủ
- Bật đèn tử ngoại, quạt trong thời gian từ 15-30 phút
- Lấy màn che khỏi tủ
- Tắt đèn tử ngoại đợi sau thời gian 15 - 30 phút mới thực hiện các thao tác bên trong tủ cấy.

*Lưu ý khi sử dụng đèn tử ngoại:*

- Trong thời gian bật đèn tử ngoại không được làm việc trong phòng
- Không được nhìn trực tiếp vào đèn khi đang bật
- Bật, tắt đèn theo đúng thời gian quy định mới được vào phòng làm việc

* Dụng cụ cấy: Bình tam giác, kéo, dao cấy các loại,... được bao gói và khử trùng khô ở nhiệt độ 160 - 170$^0$C trong 1,5 - 2 giờ hoặc hấp khử trùng hơi nước trong nồi autoclave, dụng cụ sau khử trùng phải để vào vị trí sạch sẽ nếu chưa sử dụng ngay.

* Kiểm tra các điều kiện cần thiết của vươn ươm: mức độ cứng trắc của khung nhà lưới, khả năng điều chỉnh ánh sáng của vật liệu làm mái che; ô, khoảnh

được phân chia thuận tiện cho việc chăm sóc cây mầm, hệ thống cung cấp nước tưới.

* Kiểm tra số lượng, chất lượng các chất tham gia phối trộn làm giá thể để ra ngôi cây con (đất, phân bón …)

**1.3. Chuẩn bị môi trường để nuôi cấy**

- Môi trường tạo chồi
- Môi trường nhân nhanh
- Môi trường tạo cây hoàn chỉnh (môi trường ra rễ)

Pha chế môi trường theo các bước sau:

Bước 1: Kiểm tra lại các dụng cụ, nguyên liệu

Bước 2: Căn cứ vào công thức của môi trường và thể tích cần pha, tính toán thể tích các dung dịch mẹ, agar, đường, chất điều tiết sinh trưởng, các phụ gia khác

Bước 3: Đong chính xác các dung dịch mẹ vào ống đong, lên thể tích bằng nước cất

Bước 4: Trộn hỗn hợp các dung dịch

- Đun nóng hỗn hợp đã lên thể tích trong nồi pha chế môi trường
- Khuấy tan đường
- Khuấy cho agar hòa tan
- Bổ sung các chất điều tiết sinh trưởng theo công thức pha chế

Bước 5: Phân phối môi trường vào ống nghiệm hoặc chai thủy tinh

- Rót hỗn hợp môi trường vào cốc có miệng để dễ đổ vào ống nghiệm, chai
- Dùng phễu phân phối nhanh môi trường và các ống nghiệm: lượng môi trường chiếm khoảng 1/7 ống nghiệm (tương đương khoảng 3 - 4ml/một ống nghiệm), đối với chai thủy tinh từ 10 - 15ml nếu đổ vào ống nghiệm thì phễu được cố định trên một giá đỡ.

*Lưu ý:*

- Thao tác cần nhanh gọn để hạn chế sự đông thạch
- Khi phân môi trường hạn chế môi trường dính trên miệng ống nghiệm, nếu bị dính phải lau sạch.

Bước 6. Làm nút bông cho các ống nghiệm, chai thủy tinh đã có môi trường.

Lấy một lượng bông vừa đủ sao cho nút bông sau khi làm xong không quá chặt hay quá lỏng, phần nút bông trong ống nghiệm, chai thủy tinh tròn đều, Bước 7: Chuyển các ống nghiệm hoặc bình thủy tinh có môi trường vào nồi khử trùng

Bước 8: Khử trùng môi trường

Các ống, chai môi trường sau khi đã nút bông được đưa vào nồi hấp khử trùng để tiêu diệt hoàn toàn các nguồn nhiễm tạp trong môi trường, môi trường sau khi hấp khử trùng xong phải đảm bảo vô trùng tuyệt đối và không làm giảm chất lượng môi trường.

Hấp khử trùng ở nhiệt độ $121^0$C trong 30 phút. Sau khi hấp thanh trùng, tiến hành lắc đều môi trường trước khi để cố định tại một vị trí sạch sẽ.

**2. Tiến hành vi nhân giống cây Bạch đàn**

***2.1. Giai đoạn chuẩn bị***

- Mẫu nuôi cấy được lấy ngoài vườn cây mẹ vào buổi sáng của những ngày nắng, ít gió.
- Cắt mẫu dài 7-10 cm trên cành của các cây mẹ sinh trưởng và phát triển khỏe, sạch sâu bệnh, có kiểu hình phù hợp với mục đích nhân giống.
- Rửa sạch mẫu cấy dưới vòi nước lã nhiều lần, đưa vào phòng thí nghiệm tiến hành khử trùng thô.
- Tiến hành khử trùng tinh trong phòng vô trùng: Mẫu cấy đã rửa sạch cho vào dung dịch cồn $75^0$ trong khoảng thời gian ½ phút sau đó rửa lại bằng nước cất vô trùng từ 4- 6 lần. Khử trùng lần 2 bằng dung dịch chlorua thuỷ ngân 0,1% để tiêu độc trong 8-12 phút, lấy ra dùng nước sạch rửa 4- 6lần.
- Dùng panh và kéo cắt bỏ hết các phần không cần thiết của mẫu cấy. Mẫu cấy có chiều dài 3-5cm và có ít nhất 2 mắt ngủ. Đem cấy vào môi trường tạo chồi.

***2.2. Tái sinh mẫu nuôi cấy***

Môi trường tái sinh có thể là:
(MS + 25g/l Đường + 6 g/l

Tùy loại hóa chất phòng thí nghiệm sẵn có chúng ta có thể sử dụng một trong các môi trường tái sinh nói trên. Nuôi cấy ở nhiệt độ 24 ± $2^0$C, cường độ chiếu sáng 600 - 3.000lux, thời gian chiếu sáng 12 - 14giờ/ngày.

***2.3. Nhân nhanh chồi***

Sau 4 tuần thân mầm được tách từ cụm chồi, loại bỏ các lá úa và phần callus còn bám vào và chuyển sang môi trường nhân nhanh.

Các môi trường tối ưu sử dụng cho quá trình nhân nhanh:

- MS + 0.5 ppm Kinetin +0,5 mg/l IAA + 30g/l đường + 6 g/l Agar
- MS + 0,5 mg/l BAP +0,5 mg/l &NAA + 30 g/l đường + 6 g/l agar
- MS + 0,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l IAA + 30g/l đường + 6 g/l Agar

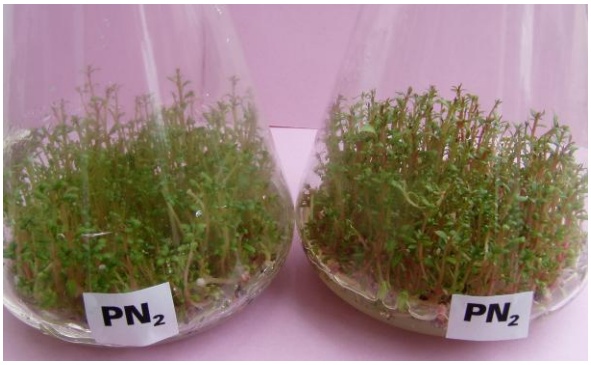
Các mẫu nuôi cấy sau một số lần nhân nhanh thì khả năng đẻ chồi tăng lên nhưng chất lượng chồi giảm đi rất mạnh thể hiện là số chồi rất nhiều nhưng chồi rất nhỏ, yếu, khả năng ra rễ kém khi ra vườn ươm tỷ lệ chết rất cao.

Cấy chuyển 8 - 10 lần. Các mẫu sau cấy chuyển 5 - 6 lần thì nên giảm nồng độ chất điều tiết sinh trưởng 50%.

Trên môi trường nhân này ta tiếp tục nhân các mẫu thêm 4 – 5 lần nữa rồi loại bỏ mẫu

***2.4. Tạo cây hoàn chỉnh.***

Chồi sau 4 - 5 lần cấy ta chọn lấy những chồi khỏe mạnh cao khoảng 2 cm, có từ 3 - 5 lá đủ tiêu chuẩn cắt, cấy sang môi trường tạo rễ rồi loại bỏ toàn bộ mẫu đó thay thế bằng loạt mẫu mới.




**Hình 1: Mẫu Bạch đàn để cấy tạo rễ**

Môi trường tốt nhất để tạo rễ cho chồi là :

- MS + 1mg/l NAA + 30g/l đường + 7g Agar/l
- MS + 1mg/l IAA + 30g/l đường + 7g Agar/l
- MS + 1mg/l IBA + 30g/l đường + 7g Agar/l

Sau cấy khoảng 4 tuần sẽ ra rễ dài 2 - 3cm.

***2.5. Ra cây và chăm sóc cây con ngoài vườn ươm***

- Cây được huấn luyện bằng cách đặt ống nghiệm (bình cây) trong điều kiện ánh sáng và nhiệt độ tự nhiên với cường độ ánh sáng từ 3.000-10.000 lux, nếu lớn hơn 10.000 lux cần phải che bớt lượng ánh sáng.
- Thời gian huấn luyện khoảng 6-8 ngày để cây con quen dần với điều kiện tự nhiên.
- Khi thân chuyển sang màu của tự nhiên, lá xoè ra đầy đủ thì có thể tiến hành cấy chuyển vào bầu đất.
- *Chú ý*: Không nên kéo dài thời gian huấn luyện vì để lâu rễ sẽ bị đen, lá úa vàng. Khi đó tỷ lệ sống khi cấy vào bầu đất sẽ không cao.

**2.5.1. Ra ngôi**

*Tạo dung dich hồ rễ:*

- Trộn đất tầng B với dung dịch thuốc tím $KnMO_4$ 0,1%, tỷ lệ 1 đất/1 nước trước khi hồ rễ ít nhất 12 giờ.
- Khi dùng rửa thuốc tím bằng nước sạch từ 3 - 4 lần và tạo cho đất ở dạng hồ loãng để hồ rễ cây.

*Tạo bầu:*

- Vỏ bầu được làm bằng nilon có kích thước 7 cm x 11 cm, không có đáy, hoặc có đáy thì phải đục lỗ ở đáy hoặc xung quanh để thoát nước
- Ruột bầu: Dùng đất tầng B đập nhỏ, sàng bỏ rễ cây và các tạp chất khác.

*Xử lý bầu:*

- Trước khi cấy cây 12 - 24 giờ, bầu đất phải được xử lý bằng dung dịch thuốc tím 0,1%
- Dùng ô doa tưới đều lên bề mặt bầu cho thấm sâu 1,5 - 2 cm.
- Chú ý: mùa có nguy cơ nấm bệnh cao dùng thuốc tím có nồng độ cao hơn (0,2 - 0,3%).

*Thao tác ra ngôi:* cần nhẹ nhàng, cẩn thận tránh làm tổn thương cho cây.

- Lấy cây mầm từ trong lọ ra bằng cách đổ ra lòng bàn tay
- Nhặt từng cây một cho ra khỏi nền nuôi cấy
- Rửa sạch thạch bằng nước sạch
- Hồ rễ bằng đất đã được khử trùng
- Cấy cây đã hồ rễ vào bào đất như cấy cây con từ hạt.
- Khi cấy để rễ thẳng và xoè ra tự nhiên, không bị cuốn lại với nhau hoặc bị gập lên trên mặt bầu.

### 2.5.2. Chăm sóc cây vi nhân giống sau khi cấy

- Tuần đầu tiên sau cấy cần theo dõi độ ẩm, ánh sáng và nhiệt độ. Nhiệt độ thích hợp từ 25 - 30$^0$C, độ ẩm từ 85 - 90%, cần chú ý điều chỉnh ánh sáng cho cây quang hợp, những ngày trời nắng chú ý phải che giâm để giảm bớt ánh sáng trực xạ, tốt nhất là che giâm từ 7 - 10 ngày sau khi cấy, độ tàn che 50 - 60%.
- Sau cấy 3 tuần thì bón thúc bằng cách tưới phân NPK (5:10:3) nồng độ 0,3%, 5-7 ngày tưới 1 lần, sau khi tưới xong cần tưới rửa lại bằng nước sạch.
- Phun phòng bệnh bằng dung dịch bellate nồng độ 5g/10lít nước phun cho 100 m$^2$, một tuần một lần, nếu phát hiện nấm bệnh cần phun nồng độ cao hơn và thời gian ngắn hơn có thể 3-5 ngày một lần tuỳ theo tình trạng bệnh.
- Phân loại cây con: Sau khi cấy được 45 - 50 ngày cần tiến hành phân loại cây con để có chế độ chăm sóc phù hợp tạo ra các luống cây đồng đều đảm bảo đủ tiêu chuẩn xuất vườn.
- Hãm cây: Ngừng tưới phân trước khi đi trồng 2 tuần. Trong trường hợp phải lưu giữ cây ở vườn ươm lâu hơn thì rất hạn chế tưới phân và nước để hãm cây.

**C. Bài tập và sản phẩm thực hành của học viên**

**Bài tập 1:**

**Lấy mẫu vi nhân giống Bạch đàn**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ pha chế một loại môi trường vi nhân giống Bạch đàn

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả sản phẩm cần đạt được:*

+ Mẫu cắt dài 7-10 cm trên cành của các cây mẹ sinh trưởng và phát triển khỏe, sạch sâu bệnh.

+ Mẫu cấy được rửa sạch bẩn cơ giới và khử trùng bằng dung dịch chlorua thuỷ ngân 0,1%

+ Mẫu đem nuôi cấy có chiều dài 3-5cm và có ít nhất 2 mắt ngủ.

**Bài tập 2:**

**Pha chế các loại môi trường vi nhân giống Bạch đàn**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ pha chế một loại môi trường vi nhân giống Bạch đàn

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả sản phẩm cần đạt được:*

+ Pha chế được môi trường vi nhân giống Bạch đàn theo đúng quy trình

+ Môi trường sau khi pha chế đủ tiêu chuẩn để sử dụng

**Bài tập 3:**

**Cấy khởi đầu cây Bạch đàn**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ nuôi cấy khởi đầu 5 mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được đoạn chồi đủ tiêu chuẩn để nuôi cấy

+ Thực hiện nuôi cấy khởi đầu đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 4:**

**Cấy nhân chồi Bạch đàn**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ cấy chuyền, nhân nhanh 5 bình mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình mẫu đạt tiêu chuẩn để cấy nhân chồi

+ Thực hiện cấy nhân chồi đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo hệ số nhân, chất lượng chồi, tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 5:**

**Cấy tạo rễ**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ cấy tạo rễ 5 bình chồi mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình mẫu đạt tiêu chuẩn để cấy

+ Thực hiện cấy tạo rễ đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo tỷ lệ ra rễ, số lượng rễ, chất lượng rễ, tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 6:**

**Ra cây và chăm sóc cây Bạch đàn vi nhân giống tại vườn ươm**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ ra cây và chăm sóc cho 5 bình cây Bạch đàn vi nhân giống đã qua huấn luyện

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình cây đã huấn luyện đạt yêu cầu

+ Thực hiện ra cây và chăm sóc cây Bạch đàn vi nhân giống ở vườn ươm đúng với quy trình

+ Cây Bạch đàn vi nhân giống sau khi ra cây đảm bảo tỷ lệ sống và chất lượng cây con xuất vườn

| Tiêu chí đánh giá | Cách thức đánh giá | Điểm |
|---|---|---|
| 1. Lấy mẫu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| 2. Pha chế môi trường nuôi cấy | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| 3. Cấy khởi đầu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |
| 4. Cấy nhân chồi | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |
| 5. Cấy tạo rễ | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1 |
| 6. Ra cây và chăm sóc cây ở vườn ươm | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |

**D. Ghi nhớ:**

- Cách lấy mẫu
- Môi trường vi nhân giống Bạch đàn
- Quy trình vi nhân giống Bạch đàn:
  + Cấy khởi đầu
  + Cấy nhân chồi
  + Cấy tạo rễ
  + Ra cây và chăm sóc cây ở vườn ươm

**Bài 2:**

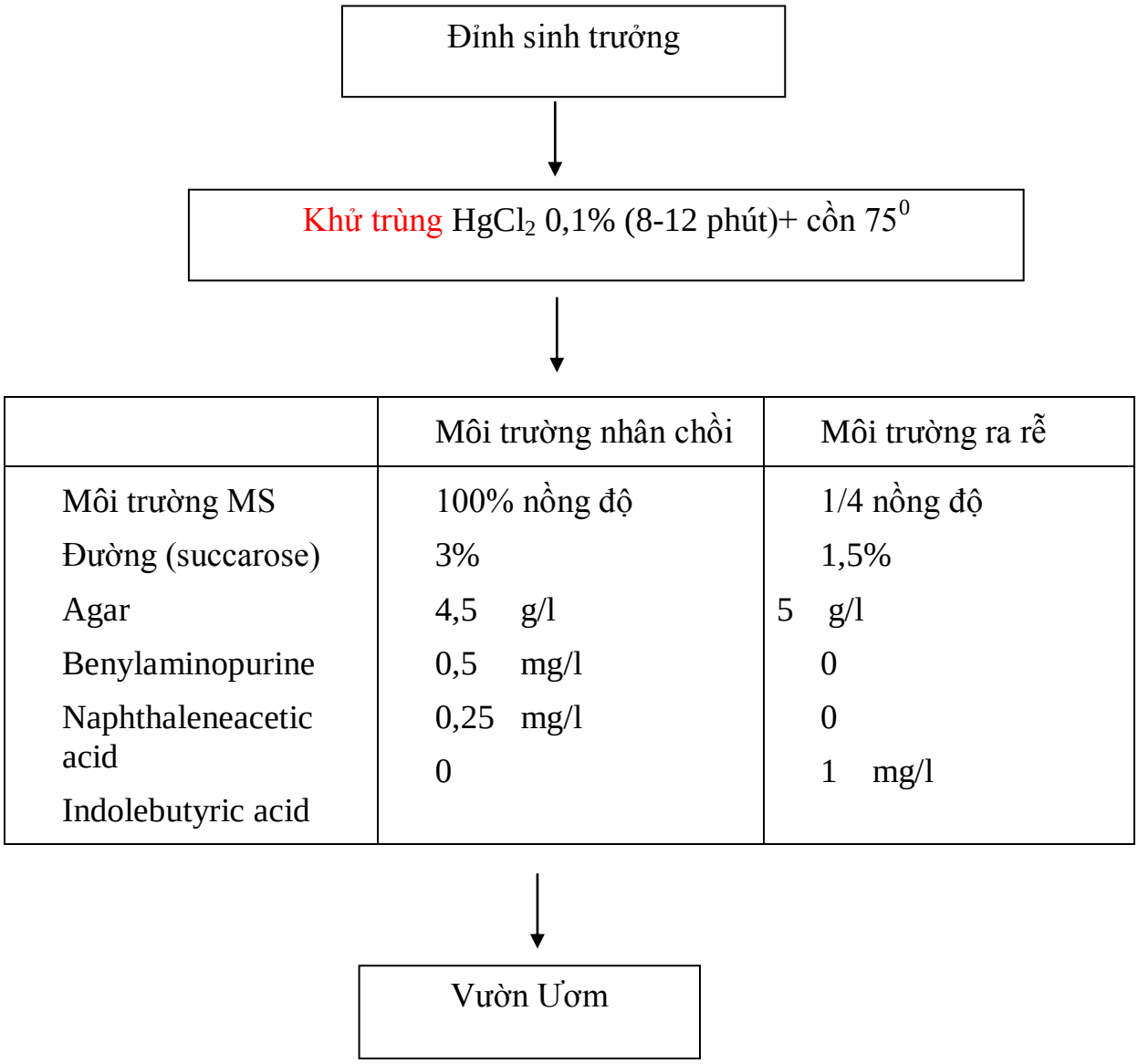
# VI NHÂN GIỐNG CÂY KEO LAI

**Mã bài: MĐ 06 - 02**

**Mục tiêu:** *Sau khi học xong học viên có khả năng:*

Tiến hành được các bước công việc thực hiện Quy trình vi nhân giống cây Keo lai

## A. Giới thiệu quy trình vi nhân giống cây Keo lai




| | Môi trường nhân chồi | Môi trường ra rễ |
|---|---|---|
| Môi trường MS | 100% nồng độ | 1/4 nồng độ |
| Đường (succarose) | 3% | 1,5% |
| Agar | 4,5 g/l | 5 g/l |
| Benylaminopurine | 0,5 mg/l | 0 |
| Naphthaleneacetic acid | 0,25 mg/l | 0 |
| Indolebutyric acid | 0 | 1 mg/l |




## B. Các bước tiến hành vi nhân giống Keo lai

### 1. Chuẩn bị các điều kiện cần thiết

### 1.1. Chuẩn bị trang thiết bị, dụng cụ phục vụ vi nhân giống

Đây là bước đầu tiên đảm bảo cho quá trình vi nhân giống cây Keo lai được diễn ra thuận lợi. Bước này bao gồm chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, nguyên liệu và hóa chất.

* Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ:

- Nồi autoclave, tủ cấy vô trùng
- Bếp gas (bếp từ hoặc lò vi sóng)
- Nồi nấu môi trường
- Cốc thủy tinh
- Ống đong
- Ống nghiệm, chai thủy tinh
- Đũa thủy tinh
- Cân kỹ thuật
- Máy đo pH, giấy đo pH
- Phễu, giá rót môi trường
- Bông không thấm nước
- Giấy báo, nilon, dây cao su

* Chuẩn bị nguyên liệu:

- Nước cất
- Các chất khử trùng ($HgCl_2$ ; nước Javen )
- Agar
- Đường glucose (hoặc saccarose)
- Các loại dung dịch mẹ

**1.2. Kiểm tra các điều kiện cần thiết trong hệ thống phòng nuôi cấy, nhà lưới, vườn ươm**

Trước khi tiến hành các thao tác pha chế môi trường vi nhân giống: Phòng cấy, tủ cấy, dụng cụ cấy phải được khử trùng nhằm hạn chế sự xâm nhiễm nguồn tạp nhiễm vào mẫu cấy trong quá trình vi nhân giống.

* Phòng cấy phải luôn sạch sẽ vì vậy cần:

- Quét dọn lau sạch sàn, xung quanh tường bằng nước sạch (có thể xông formol để khử trùng trước đó vài ngày)
- Bật quạt thông gió, điều hòa

* Tủ cấy:

- Dùng bông thấm cồn lau sạch bên trong, bên ngoài tủ
- Phủ màn tối kín tủ

- Bật đèn tử ngoại, quạt trong thời gian từ 15 - 30 phút
- Lấy màn che khỏi tủ
- Tắt đèn tử ngoại đợi sau thời gian 15-30 phút mới thực hiện các thao tác bên trong tủ cấy.

*Lưu ý khi sử dụng đèn tử ngoại:*

- Trong thời gian bật đèn tử ngoại không được làm việc trong phòng
- Không được nhìn trực tiếp vào đèn khi đang bật
- Bật, tắt đèn theo đúng thời gian quy định mới được vào phòng làm việc

* Dụng cụ cấy: Bình tam giác, kéo, dao cấy các loại,... được bao gói và khử trùng khô ở nhiệt độ 160 - 170$^0$C trong 1,5 - 2 giờ hoặc hấp khử trùng hơi nước trong nồi autoclave, dụng cụ sau khử trùng phải để vào vị trí sạch sẽ nếu chưa sử dụng ngay.

* Kiểm tra các điều kiện cần thiết của vươn ươm: mức độ cứng trắc của khung nhà lưới, khả năng điều chỉnh ánh sáng của vật liệu làm mái che; ô, khoảnh được phân chia thuận tiện cho việc chăm sóc cây mầm, hệ thống cung cấp nước tưới.

* Kiểm tra số lượng, chất lượng các chất tham gia phối trộn làm giá thể để ra ngôi cây con (đất, phân bón …)

**1.3. Chuẩn bị môi trường để nuôi cấy**

- Môi trường tạo chồi
- Môi trường nhân nhanh
- Môi trường tạo cây hoàn chỉnh (môi trường ra rễ)

Pha chế môi trường theo các bước sau:

Bước 1: Kiểm tra lại các dụng cụ, nguyên liệu

Bước 2: Căn cứ vào công thức của môi trường và thể tích cần pha, tính toán thể tích các dung dịch mẹ, agar, đường, chất điều tiết sinh trưởng, các phụ gia khác

Bước 3: Đong chính xác các dung dịch mẹ vào ống đong, lên thể tích bằng nước cất

Bước 4: Trộn hỗn hợp các dung dịch

- Đun nóng hỗn hợp đã lên thể tích trong nồi pha chế môi trường
- Khuấy tan đường
- Khuấy cho agar hòa tan
- Bổ sung các chất điều tiết sinh trưởng theo công thức pha chế

Bước 5: Phân phối môi trường vào ống nghiệm hoặc chai thủy tinh

- Rót hỗn hợp môi trường vào cốc có miệng để dễ đổ vào ống nghiệm, chai

- Dùng phễu phân phối nhanh môi trường và các ống nghiệm: lượng môi trường chiếm khoảng 1/7 ống nghiệm (tương đương khoảng 3- 4ml/một ống nghiệm), đối với chai thủy tinh từ 10-15ml nếu đổ vào ống nghiệm thì phễu được cố định trên một giá đỡ.

*Lưu ý:*

- Thao tác cần nhanh gọn để hạn chế sự đông thạch
- Khi phân môi trường hạn chế môi trường dính trên miệng ống nghiệm, nếu bị dính phải lau sạch.

Bước 6. Làm nút bông cho các ống nghiệm, chai thủy tinh đã có môi trường.

Lấy một lượng bông vừa đủ sao cho nút bông sau khi làm xong không quá chặt hay quá lỏng, phần nút bông trong ống nghiệm, chai thủy tinh tròn đều, Bước 7: Chuyển các ống nghiệm hoặc bình thủy tinh có môi trường vào nồi khử trùng

Bước 8: Khử trùng môi trường

Các ống, chai môi trường sau khi đã nút bông được đưa vào nồi hấp khử trùng để tiêu diệt hoàn toàn các nguồn nhiễm tạp trong môi trường, môi trường sau khi hấp khử trùng xong phải đảm bảo vô trùng tuyệt đối và không làm giảm chất lượng môi trường.

Hấp khử trùng ở nhiệt độ $121^0$C trong 30 phút. Sau khi hấp thanh trùng, tiến hành lắc đều môi trường trước khi để cố định tại một vị trí sạch sẽ.

## 2. Tiến hành vi nhân giống cây Keo lai

### *2.1. Giai đoạn chuẩn bị*

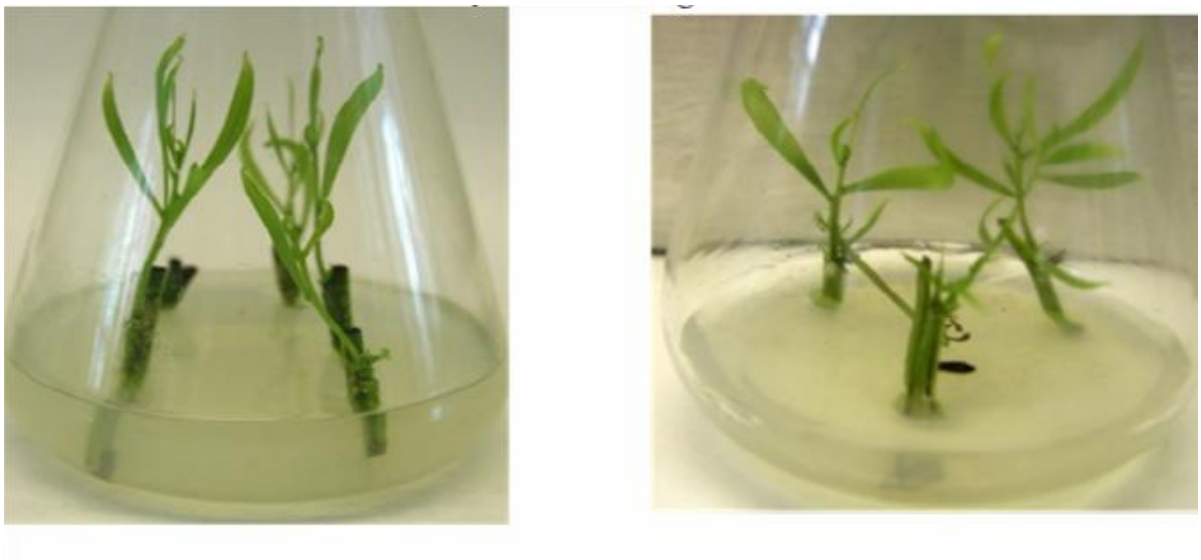
- Mẫu nuôi cấy được lấy ngoài vườn cây mẹ vào buổi sáng của những ngày nắng, ít gió.
- Cắt mẫu dài 7-10 cm trên cành của các cây mẹ sinh trưởng và phát triển khỏe, sạch sâu bệnh, có kiểu hình phù hợp với mục đích nhân giống.
- Rửa sạch mẫu cấy dưới vòi nước lã nhiều lần, đưa vào phòng thí nghiệm tiến hành khử trùng thô.
- Tiến hành khử trùng tinh trong phòng vô trùng: Tiến hành khử trùng tinh trong phòng vô trùng: Mẫu cấy đã rửa sạch cho vào dung dịch cồn $75^0$ trong khoảng thời gian ½ phút sau đó rửa lại bằng nước cất vô trùng từ 4- 6 lần. Khử trùng lần 2 bằng dung dịch chlorua thuỷ ngân 0,1% để tiêu độc trong 8-12 phút, lấy ra dùng nước sạch rửa 4- 6lần.
- Chú ý: Trong quá trình khử trùng có thể kết hợp Javen và $HgCl_2$ để khử trùng kép theo đó nước Javen 1/8 sử dụng trong 10 phút, rửa bằng nước cất vô trùng 2 lần rồi khử trùng tiếp lần 2 bằng dung dịch HgCl2 0,1% trong 8 phút, rửa sạch mẫu bằng nước vô trùng 3 lần. $HgCl_2$ là hóa chất rất độc nên phải chú ý đảm bảo an toàn trong và sau quá trình khử trùng.

- Dùng panh và kéo cắt bỏ hết các phần không cần thiết của mẫu cấy. Mẫu cấy có chiều dài 3-5cm và có ít nhất 2 mắt ngủ. Đem cấy vào môi trường tạo chồi.

### *2.2. Tái sinh mẫu nuôi cấy*

Môi trường tái sinh là:

- MS + 25g/l Saccaroza + 6 g/l Agar
- Tùy loại hóa chất phòng thí nghiệm sẵn có chúng ta có thể sử dụng một trong các môi trường tái sinh nói trên. Nuôi cấy ở 24 ± $2^0$C, cường độ chiếu sáng 600 - 3.000lux, thời gian chiếu sáng 12 - 16 giờ/ngày.



**Hình 2: Mẫu Keo lai cấy khởi đầu**

### *2.3. Nhân nhanh chồi*

Sau 4 tuần thân mầm được tách từ cụm chồi, loại bỏ các lá úa và phần callus còn bám vào và chuyển sang môi trường nhân nhanh.

Các môi trường tối ưu sử dụng cho quá trình nhân nhanh:

- MS + 0.5 ppm Kinetin +0,5 mg/l IAA + 30g/l đường + 6 g/l Agar
- MS + 0,5 mg/l BAP +0,25 mg/l &NAA + 30 g/l đường + 6 g/l agar
- MS + 0,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l IAA + 30g/l đường + 6 g/l Agar

Trong đó môi trường tốt nhất: MS + 0,5 mg/l BAP +0,25 mg/l &NAA + 30 g/l đường + 6 g/l agar

Các mẫu nuôi cấy sau một số lần nhân nhanh thì khả năng đẻ chồi tăng lên nhưng chất lượng chồi giảm đi rất mạnh thể hiện là số chồi rất nhiều nhưng chồi rất nhỏ, yếu, khả năng ra rễ kém khi ra vườn ươm tỷ lệ chết rất cao.

Cấy chuyển 8 - 10 lần. Các mẫu sau cấy chuyển 5 - 6 lần thì nên giảm nồng độ chất điều tiết sinh trưởng 50%.

Trên môi trường nhân này ta tiếp tục nhân các mẫu thêm 4 - 5 lần nữa rồi loại bỏ mẫu

***2.4. Tạo cây hoàn chỉnh.***

Chồi sau 4 - 5 lần cấy ta chọn lấy những chồi khỏe mạnh cao khoảng 2 cm, có từ 3 - 5 lá đủ tiêu chuẩn cắt, cấy sang môi trường tạo rễ rồi loại bỏ toàn bộ mẫu đó thay thế bằng loạt mẫu mới.

Môi trường tốt nhất để tạo rễ cho chồi là :

- 1/4 MS+ 1mg/l NAA + 30g/l đường + 7g Agar/l

-1/4 MS + 1mg/l IAA + 30g/l đường + 7g Agar/l

- 1/4 MS + 1mg/l IBA + 30g/l đường + 7g Agar/l

Trong đó tốt nhất: 1/4 MS + 1mg/l IAA + 30g/l đường + 7g Agar/l

Sau cấy khoảng 4 tuần sẽ ra rễ dài 2 - 3cm.

***2.5. Ra cây và chăm sóc cây con ngoài vườn ươm***

- Cây được huấn luyện bằng cách đặt ống nghiệm (bình cây) trong điều kiện ánh sáng và nhiệt độ tự nhiên với cường độ ánh sáng từ 3.000-10.000 lux, nếu lớn hơn 10.000 lux cần phải che bớt lượng ánh sáng.
- Thời gian huấn luyện khoảng 6-8 ngày để cây con quen dần với điều kiện tự nhiên.
- Khi thân chuyển sang màu của tự nhiên, lá xoè ra đầy đủ thì có thể tiến hành cấy chuyển vào bầu đất.

*Chú ý*: Không nên kéo dài thời gian huấn luyện vì để lâu rễ sẽ bị đen, lá úa vàng. Khi đó tỷ lệ sống khi cấy vào bầu đất sẽ không cao.

**Hình 3: Cây Keo lai rửa sạch thạch để cấy vào bầu**

### 2.5.1. Ra ngôi

*Tạo dung dich hồ rễ:*

- Trộn đất tầng B với dung dịch thuốc tím $KnMO_4$ 0,1%, tỷ lệ 1 đất/1 nước trước khi hồ rễ ít nhất 12 giờ.
- Khi dùng rửa thuốc tím bằng nước sạch từ 3 - 4 lần và tạo cho đất ở dạng hồ loãng để hồ rễ cây.

*Tạo bầu:*

- Vỏ bầu được làm bằng nilon có kích thước 7 cm x 11 cm, không có đáy, hoặc có đáy thì phải đục lỗ ở đáy hoặc xung quanh để thoát nước
- Ruột bầu: Dùng đất tầng B đập nhỏ, sàng bỏ rễ cây và các tạp chất khác.

*Xử lý bầu:*

- Trước khi cấy cây 12 - 24 giờ, bầu đất phải được xử lý bằng dung dịch thuốc tím 0,1%
- Dùng ô doa tưới đều lên bề mặt bầu cho thấm sâu 1,5 - 2 cm.
- Chú ý: mùa có nguy cơ nấm bệnh cao dùng thuốc tím có nồng độ cao hơn (0,2 - 0,3%).

*Thao tác ra ngôi:* cần nhẹ nhàng, cẩn thận tránh làm tổn thương cho cây.

- Lấy cây mầm từ trong lọ ra bằng cách đổ ra lòng bàn tay
- Nhặt từng cây một cho ra khỏi nền nuôi cấy
- Rửa sạch thạch bằng nước sạch
- Hồ rễ bằng đất đã được khử trùng
- Cấy cây đã hồ rễ vào bào đất như cấy cây con từ hạt.
- Khi cấy để rễ thẳng và xoè ra tự nhiên, không bị cuốn lại với nhau hoặc bị gập lên trên mặt bầu.

### 2.5.2. Chăm sóc cây vi nhân giống sau khi cấy

- Tuần đầu tiên sau cấy cần theo dõi độ ẩm, ánh sáng và nhiệt độ. Nhiệt độ thích hợp từ 25-30$^0$C, độ ẩm từ 85-90%, cần chú ý điều chỉnh ánh sáng cho cây quang hợp, những ngày trời nắng chú ý phải che giâm để giảm bớt ánh sáng trực xạ, tốt nhất là che giâm từ 7-10 ngày sau khi cấy, độ tàn che 50 - 60%.
- Sau cấy 3 tuần thì bón thúc bằng cách tưới phân NPK (5:10:3) nồng độ 0,3%, 5-7 ngày tưới 1 lần, sau khi tưới xong cần tưới rửa lại bằng nước sạch.
- Phun phòng bệnh bằng dung dịch bellate nồng độ 5g/10lít nước phun cho 100 m$^2$, một tuần một lần, nếu phát hiện nấm bệnh cần phun nồng độ cao hơn và thời gian ngắn hơn có thể 3-5 ngày một lần tuỳ theo tình trạng bệnh.

- Phân loại cây con: Sau khi cấy được 45 - 50 ngày cần tiến hành phân loại cây con để có chế độ chăm sóc phù hợp tạo ra các luống cây đồng đều đảm bảo đủ tiêu chuẩn xuất vườn.
- Hãm cây: Ngừng tưới phân trước khi đi trồng 2 tuần. Trong trường hợp phải lưu giữ cây ở vườn ươm lâu hơn thì rất hạn chế tưới phân và nước để hãm cây.

## C. Bài tập và sản phẩm thực hành của học viên

### Bài tập 1:

### Lấy mẫu vi nhân giống Keo lai

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ pha chế một loại môi trường vi nhân giống Keo lai

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả sản phẩm cần đạt được:*

+ Mẫu cắt dài 7-10 cm trên cành của các cây mẹ sinh trưởng và phát triển khỏe, sạch sâu bệnh.

+ Mẫu cấy được rửa sạch bẩn cơ giới và khử trùng bằng dung dịch chlorua thuỷ ngân 0,1%

+ Mẫu đem nuôi cấy có chiều dài 3-5cm và có ít nhất 2 mắt ngủ.

### Bài tập 2:

### Pha chế các loại môi trường vi nhân giống Keo lai

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ pha chế một loại môi trường vi nhân giống Keo lai

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả sản phẩm cần đạt được:*

+ Pha chế được môi trường vi nhân giống Keo lai theo đúng quy trình

+ Môi trường sau khi pha chế đủ tiêu chuẩn để sử dụng

**Bài tập 3:**

**Cấy khởi đầu cây Keo lai**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ nuôi cấy khởi đầu 5 mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được đoạn chồi đủ tiêu chuẩn để nuôi cấy

+ Thực hiện nuôi cấy khởi đầu đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 4:**

**Cấy nhân chồi Keo lai**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ cấy chuyền, nhân nhanh 5 bình mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình mẫu đạt tiêu chuẩn để cấy nhân chồi

+ Thực hiện cấy nhân chồi đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo hệ số nhân, chất lượng chồi, tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 5:**

**Cấy tạo rễ**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ cấy tạo rễ 5 bình chồi mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của

mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình mẫu đạt tiêu chuẩn để cấy

+ Thực hiện cấy tạo rễ đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo tỷ lệ ra rễ, số lượng rễ, chất lượng rễ, tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 6:**

**Ra cây và chăm sóc cây Keo lai vi nhân giống tại vườn ươm**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ ra cây và chăm sóc cho 5 bình cây Keo lai vi nhân giống đã qua huấn luyện

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình cây đã huấn luyện đạt yêu cầu

+ Thực hiện ra cây và chăm sóc cây Keo lai vi nhân giống ở vườn ươm đúng với quy trình

+ Cây Keo lai vi nhân giống sau khi ra cây đảm bảo tỷ lệ sống và chất lượng cây con xuất vườn

| **Tiêu chí đánh giá** | **Cách thức đánh giá** | **Điểm** |
|---|---|---|
| 1. Lấy mẫu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| 2. Pha chế môi trường nuôi cấy | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| 3. Cấy khởi đầu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |
| 4. Cấy nhân chồi | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |

| Tiêu chí đánh giá | Cách thức đánh giá | Điểm |
|---|---|---|
| 1. Lấy mẫu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| 5. Cấy tạo rễ | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1 |
| 6. Ra cây và chăm sóc cây ở vườn ươm | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |

**D. Ghi nhớ:**

- Cách lấy mẫu
- Môi trường vi nhân giống Keo lai
- Quy trình vi nhân giống Keo lai:
  + Cấy khởi đầu
  + Cấy nhân chồi
  + Cấy tạo rễ
  + Ra cây và chăm sóc cây ở vườn ươm

**Bài 3:**

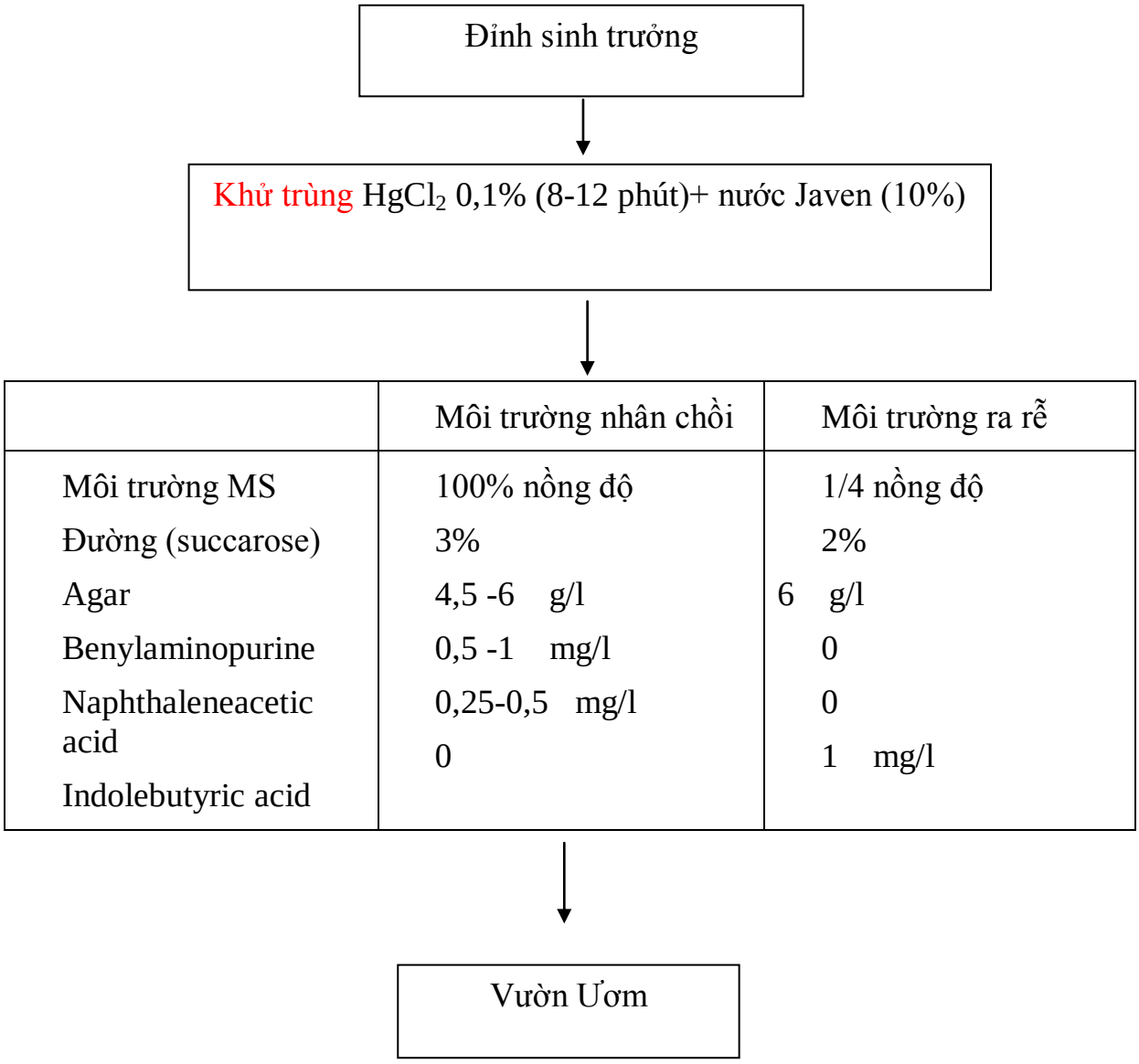
# VI NHÂN GIỐNG CÂY KEO LÁ TRÀM

**Mã bài: MĐ 06 – 03**

**Mục tiêu:** *Sau khi học xong học viên có khả năng:*

- Thực hiện được các bước công việc theo đúng quy trình vi nhân giống cây Keo lá tràm

## A. Giới thiệu quy trình vi nhân giống cây Keo lá tràm




| | Môi trường nhân chồi | Môi trường ra rễ |
|---|---|---|
| Môi trường MS | 100% nồng độ | 1/4 nồng độ |
| Đường (succarose) | 3% | 2% |
| Agar | 4,5 -6 g/l | 6 g/l |
| Benylaminopurine | 0,5 -1 mg/l | 0 |
| Naphthaleneacetic acid | 0,25-0,5 mg/l | 0 |
| Indolebutyric acid | 0 | 1 mg/l |




## B. Các bước tiến hành vi nhân giống Keo lá tràm

### 1. Chuẩn bị các điều kiện cần thiết

### 1.1. Chuẩn bị trang thiết bị, dụng cụ phục vụ vi nhân giống

Đây là bước đầu tiên đảm bảo cho quá trình vi nhân giống cây Keo la tràmđược diễn ra thuận lợi. Bước này bao gồm chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, nguyên liệu và hóa chất.

* Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ:

- Nồi autoclave, tủ cấy vô trùng
- Bếp gas (bếp từ hoặc lò vi sóng)
- Nồi nấu môi trường
- Cốc thủy tinh
- Ống đong
- Ống nghiệm, chai thủy tinh
- Đũa thủy tinh
- Cân kỹ thuật
- Máy đo pH, giấy đo pH
- Phễu, giá rót môi trường
- Bông không thấm nước
- Giấy báo, nilon, dây cao su

* Chuẩn bị nguyên liệu:

- Nước cất
- Các chất khử trùng ($HgCl_2$ ; nước Javen )
- Agar
- Đường glucose (hoặc saccarose)
- Các loại dung dịch mẹ

**1.2. Kiểm tra các điều kiện cần thiết trong hệ thống phòng nuôi cấy, nhà lưới, vườn ươm**

Trước khi tiến hành các thao tác pha chế môi trường vi nhân giống: Phòng cấy, tủ cấy, dụng cụ cấy phải được khử trùng nhằm hạn chế sự xâm nhiễm nguồn tạp nhiễm vào mẫu cấy trong quá trình vi nhân giống.

* Phòng cấy phải luôn sạch sẽ vì vậy cần:

- Quét dọn lau sạch sàn, xung quanh tường bằng nước sạch (có thể xông formol để khử trùng trước đó vài ngày)
- Bật quạt thông gió, điều hòa

* Tủ cấy:

- Dùng bông thấm cồn lau sạch bên trong, bên ngoài tủ
- Phủ màn tối kín tủ

- Bật đèn tử ngoại, quạt trong thời gian từ 15-30 phút
- Lấy màn che khỏi tủ
- Tắt đèn tử ngoại đợi sau thời gian 15-30 phút mới thực hiện các thao tác bên trong tủ cấy.

*Lưu ý khi sử dụng đèn tử ngoại:*

- Trong thời gian bật đèn tử ngoại không được làm việc trong phòng
- Không được nhìn trực tiếp vào đèn khi đang bật
- Bật, tắt đèn theo đúng thời gian quy định mới được vào phòng làm việc

* Dụng cụ cấy: Bình tam giác, kéo, dao cấy các loại,... được bao gói và khử trùng khô ở nhiệt độ 160 - 170$^0$C trong 1,5 - 2 giờ hoặc hấp khử trùng hơi nước trong nồi autoclave, dụng cụ sau khử trùng phải để vào vị trí sạch sẽ nếu chưa sử dụng ngay.

* Kiểm tra các điều kiện cần thiết của vươn ươm: mức độ cứng trắc của khung nhà lưới, khả năng điều chỉnh ánh sáng của vật liệu làm mái che; ô, khoảnh được phân chia thuận tiện cho việc chăm sóc cây mầm, hệ thống cung cấp nước tưới.

* Kiểm tra số lượng, chất lượng các chất tham gia phối trộn làm giá thể để ra ngôi cây con (đất, phân bón …)

**1.3. Chuẩn bị môi trường để nuôi cấy**

- Môi trường tạo chồi
- Môi trường nhân nhanh
- Môi trường tạo cây hoàn chỉnh (môi trường ra rễ)

Pha chế môi trường theo các bước sau:

Bước 1: Kiểm tra lại các dụng cụ, nguyên liệu

Bước 2: Căn cứ vào công thức của môi trường và thể tích cần pha, tính toán thể tích các dung dịch mẹ, agar, đường, chất điều tiết sinh trưởng, các phụ gia khác

Bước 3: Đong chính xác các dung dịch mẹ vào ống đong, lên thể tích bằng nước cất

Bước 4: Trộn hỗn hợp các dung dịch

- Đun nóng hỗn hợp đã lên thể tích trong nồi pha chế môi trường
- Khuấy tan đường
- Khuấy cho agar hòa tan
- Bổ sung các chất điều tiết sinh trưởng theo công thức pha chế

Bước 5: Phân phối môi trường vào ống nghiệm hoặc chai thủy tinh

- Rót hỗn hợp môi trường vào cốc có miệng để dễ đổ vào ống nghiệm, chai

- Dùng phễu phân phối nhanh môi trường và các ống nghiệm: lượng môi trường chiếm khoảng 1/7 ống nghiệm (tương đương khoảng 3- 4ml/một ống nghiệm), đối với chai thủy tinh từ 10-15ml nếu đổ vào ống nghiệm thì phễu được cố định trên một giá đỡ.

*Lưu ý:*

- Thao tác cần nhanh gọn để hạn chế sự đông thạch
- Khi phân môi trường hạn chế môi trường dính trên miệng ống nghiệm, nếu bị dính phải lau sạch.

Bước 6. Làm nút bông cho các ống nghiệm, chai thủy tinh đã có môi trường.

Lấy một lượng bông vừa đủ sao cho nút bông sau khi làm xong không quá chặt hay quá lỏng, phần nút bông trong ống nghiệm, chai thủy tinh tròn đều, phần ngoài không bị xơ, kích thước nút bông bên trong ống nghiệm từ 3-4cm, kích thước bên ngoài 2-3cm

Bước 7: Chuyển các ống nghiệm hoặc bình thủy tinh có môi trường vào nồi khử trùng

Bước 8: Khử trùng môi trường

Các ống, chai môi trường sau khi đã nút bông được đưa vào nồi hấp khử trùng để tiêu diệt hoàn toàn các nguồn nhiễm tạp trong môi trường, môi trường sau khi hấp khử trùng xong phải đảm bảo vô trùng tuyệt đối và không làm giảm chất lượng môi trường.

Hấp khử trùng ở nhiệt độ $121^0$C trong 30 phút. Sau khi hấp thanh trùng, tiến hành lắc đều môi trường trước khi để cố định tại một vị trí sạch sẽ.

## 2. Tiến hành vi nhân giống Cây Keo lá tràm

### *2.1. Giai đoạn chuẩn bị*

- Mẫu nuôi cấy được lấy ngoài vườn cây mẹ vào buổi sáng của những ngày nắng, ít gió.
- Cắt mẫu dài 7-10 cm trên cành của các cây mẹ sinh trưởng và phát triển khỏe, sạch sâu bệnh, có kiểu hình phù hợp với mục đích nhân giống.
- Rửa sạch mẫu cấy dưới vòi nước lã nhiều lần, đưa vào phòng thí nghiệm tiến hành khử trùng thô.
- Tiến hành khử trùng tinh trong phòng vô trùng: Tiến hành khử trùng tinh trong phòng vô trùng: Mẫu cấy đã rửa sạch cho vào dung dịch cồn $75^0$ trong khoảng thời gian ½ phút sau đó rửa lại bằng nước cất vô trùng từ 4- 6 lần. Khử trùng lần 2 bằng dung dịch nước Javen (10%). Khử trùng lần 3 chlorua thuỷ ngân 0,1% để tiêu độc trong 8-12 phút, lấy ra dùng nước sạch rửa 4- 6 lần. .

- Dùng panh và kéo cắt bỏ hết các phần không cần thiết của mẫu cấy. Mẫu cấy có chiều dài 3-5cm và có ít nhất 2 mắt ngủ. Đem cấy vào môi trường tạo chồi.

### *2.2. Tái sinh mẫu nuôi cấy*

Môi trường tái sinh tối ưu có thể là:

MS + 25g/l Saccaroza + 6 g/l Agar

Nuôi cấy ở 24 ± $2^0$C, cường độ chiếu sáng 600 - 3.000lux, thời gian chiếu sáng 12 - 14 giờ/ngày.

Sau 8 - 10 tuần trên môi trường tái sinh các mẫu nuôi cấy sẽ hình thành chồi hay callus.

### *2.3. Nhân nhanh chồi*

Sau 4 tuần thân mầm được tách từ cụm chồi, loại bỏ các lá úa và phần callus còn bám vào và chuyển sang môi trường nhân nhanh.

Các môi trường tối ưu sử dụng cho quá trình nhân nhanh:

- MS +0,5 mg/ 6 BAP + 0.25mg &NAA + 30g/l đường + 6 g/l Agar
- MS + 0,75 mg/l BAP +0,25 mg/l &NAA + 30 g/l đường + 6 g/l agar
- MS + 1mg/l BAP + 0,25 mg/l &NAA + 30g/l đường + 6 g/l Agar
- MS +0,5 mg/ 6 BAP + 0.5mg &NAA + 30g/l đường + 6 g/l Agar
- MS + 0,75 mg/l BAP +0,5 mg/l &NAA + 30 g/l đường + 6 g/l agar
- MS + 1mg/l BAP + 0,5 mg/l &NAA + 30g/l đường + 6 g/l Agar

Các mẫu nuôi cấy sau một số lần nhân nhanh thì khả năng đẻ chồi tăng lên nhưng chất lượng chồi giảm đi rất mạnh thể hiện là số chồi rất nhiều nhưng chồi rất nhỏ, yếu, khả năng ra rễ kém khi ra vườn ươm tỷ lệ chết rất cao.

Cấy chuyển 8 - 10 lần. Các mẫu sau cấy chuyển 5 - 6 lần thì nên giảm nồng độ chất điều tiết sinh trưởng 50%.

Trên môi trường nhân này ta tiếp tục nhân các mẫu thêm 4 - 5 lần nữa rồi loại bỏ mẫu

**Hình 4: Mẫu Keo lá tràm để cấy nhân chồi**

### *2.4. Tạo cây hoàn chỉnh.*

Chồi sau 4 - 5 lần cấy ta chọn lấy những chồi khỏe mạnh cao khoảng 2 cm, có từ 3 - 5 lá đủ tiêu chuẩn cắt, cấy sang môi trường tạo rễ rồi loại bỏ toàn bộ mẫu đó thay thế bằng loạt mẫu mới.

Môi trường tốt để tạo rễ cho chồi là :

-1/4 MS + 1mg/l NAA + 30g/l đường + 7g Agar/l

- 1/4MS + 1mg/l IAA + 30g/l đường + 7g Agar/l

- 1/4MS + 1mg/l IBA + 30g/l đường + 7g Agar/l

Môi trường tối ưu nhất: - 1/4MS + 1mg/l IAA + 30g/l đường + 7g Agar/l

Sau cấy khoảng 4 tuần sẽ ra rễ dài 2 - 3cm.

### *2.5. Ra cây và chăm sóc cây con ngoài vườn ươm*

- Cây được huấn luyện bằng cách đặt ống nghiệm (bình cây) trong điều kiện ánh sáng và nhiệt độ tự nhiên với cường độ ánh sáng từ 3.000-10.000 lux, nếu lớn hơn 10.000 lux cần phải che bớt lượng ánh sáng.
- Thời gian huấn luyện khoảng 6-8 ngày để cây con quen dần với điều kiện tự nhiên.
- Khi thân chuyển sang màu của tự nhiên, lá xoè ra đầy đủ thì có thể tiến hành cấy chuyển vào bầu đất.
- *Chú ý*: Không nên kéo dài thời gian huấn luyện vì để lâu rễ sẽ bị đen, lá úa vàng. Khi đó tỷ lệ sống khi cấy vào bầu đất sẽ không cao.

#### 2.5.1. Ra ngôi

*Tạo dung dich hồ rễ:*

- Trộn đất tầng B với dung dịch thuốc tím $KnMO_4$ 0,1%, tỷ lệ 1 đất/1 nước trước khi hồ rễ ít nhất 12 giờ.
- Khi dùng rửa thuốc tím bằng nước sạch từ 3 - 4 lần và tạo cho đất ở dạng hồ loãng để hồ rễ cây.

*Tạo bầu:*

- Vỏ bầu được làm bằng nilon có kích thước 7 cm x 11 cm, không có đáy, hoặc có đáy thì phải đục lỗ ở đáy hoặc xung quanh để thoát nước
- Ruột bầu: Dùng đất tầng B đập nhỏ, sàng bỏ rễ cây và các tạp chất khác.

*Xử lý bầu:*

- Trước khi cấy cây 12 - 24 giờ, bầu đất phải được xử lý bằng dung dịch thuốc tím 0,1%
- Dùng ô doa tưới đều lên bề mặt bầu cho thấm sâu 1,5 - 2 cm.

- Chú ý: mùa có nguy cơ nấm bệnh cao dùng thuốc tím có nồng độ cao hơn (0,2 - 0,3%).

*Thao tác ra ngôi:* cần nhẹ nhàng, cẩn thận tránh làm tổn thương cho cây.

- Lấy cây mầm từ trong lọ ra bằng cách đổ ra lòng bàn tay
- Nhặt từng cây một cho ra khỏi nền nuôi cấy
- Rửa sạch thạch bằng nước sạch
- Hồ rễ bằng đất đã được khử trùng
- Cấy cây đã hồ rễ vào bào đất như cấy cây con từ hạt.
- Khi cấy để rễ thẳng và xoè ra tự nhiên, không bị cuốn lại với nhau hoặc bị gập lên trên mặt bầu.

### 2.5.2. Chăm sóc cây vi nhân giống sau khi cấy

- Tuần đầu tiên sau cấy cần theo dõi độ ẩm, ánh sáng và nhiệt độ. Nhiệt độ thích hợp từ 25-30$^0$C, độ ẩm từ 85-90%, cần chú ý điều chỉnh ánh sáng cho cây quang hợp, những ngày trời nắng chú ý phải che giâm để giảm bớt ánh sáng trực xạ, tốt nhất là che giâm từ 7-10 ngày sau khi cấy, độ tàn che 50 - 60%.
- Sau cấy 3 tuần thì bón thúc bằng cách tưới phân NPK (5:10:3) nồng độ 0,3%, 5-7 ngày tưới 1 lần, sau khi tưới xong cần tưới rửa lại bằng nước sạch.
- Phun phòng bệnh bằng dung dịch bellate nồng độ 5g/10lít nước phun cho 100 m$^2$, một tuần một lần, nếu phát hiện nấm bệnh cần phun nồng độ cao hơn và thời gian ngắn hơn có thể 3-5 ngày một lần tuỳ theo tình trạng bệnh.
- Phân loại cây con: Sau khi cấy được 45 - 50 ngày cần tiến hành phân loại cây con để có chế độ chăm sóc phù hợp tạo ra các luống cây đồng đều đảm bảo đủ tiêu chuẩn xuất vườn.
- Hãm cây: Ngừng tưới phân trước khi đi trồng 2 tuần. Trong trường hợp phải lưu giữ cây ở vườn ươm lâu hơn thì rất hạn chế tưới phân và nước để hãm cây.

## C. Bài tập và sản phẩm thực hành của học viên

**Bài tập 1:**

**Lấy mẫu vi nhân giống Keo lá tràm**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ pha chế một loại môi trường vi nhân giống Keo lá tràm

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của

mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả sản phẩm cần đạt được:*

+ Mẫu cắt dài 7-10 cm trên cành của các cây mẹ sinh trưởng và phát triển khỏe, sạch sâu bệnh.

+ Mẫu cấy được rửa sạch bẩn cơ giới và khử trùng bằng dung dịch chlorua thuỷ ngân 0,1%

+ Mẫu đem nuôi cấy có chiều dài 3-5cm và có ít nhất 2 mắt ngủ.

**Bài tập 2:**

**Pha chế các loại môi trường vi nhân giống Keo lá tràm**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ pha chế một loại môi trường vi nhân giống Keo lá tràm

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả sản phẩm cần đạt được:*

+ Pha chế được môi trường vi nhân giống Keo lá tràm theo đúng quy trình

+ Môi trường sau khi pha chế đủ tiêu chuẩn để sử dụng

**Bài tập 3:**

**Cấy khởi đầu cây Keo lá tràm**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ nuôi cấy khởi đầu 5 mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được đoạn chồi đủ tiêu chuẩn để nuôi cấy

+ Thực hiện nuôi cấy khởi đầu đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 4:**

**Cấy nhân chồi Keo lá tràm**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ cấy chuyền, nhân nhanh 5 bình mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình mẫu đạt tiêu chuẩn để cấy nhân chồi

+ Thực hiện cấy nhân chồi đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo hệ số nhân, chất lượng chồi, tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 5:**

**Cấy tạo rễ**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ cấy tạo rễ 5 bình chồi mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình mẫu đạt tiêu chuẩn để cấy

+ Thực hiện cấy tạo rễ đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo tỷ lệ ra rễ, số lượng rễ, chất lượng rễ, tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 6:**

**Ra cây và chăm sóc cây Keo lá tràm vi nhân giống tại vườn ươm**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ ra cây và chăm sóc cho 5 bình cây Keo lá tràm vi nhân giống đã qua huấn luyện

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình cây đã huấn luyện đạt yêu cầu

+ Thực hiện ra cây và chăm sóc cây Keo lá tràm vi nhân giống ở vườn ươm đúng với quy trình

+ Cây Keo lá tràm vi nhân giống sau khi ra cây đảm bảo tỷ lệ sống và chất lượng cây con xuất vườn

| **Tiêu chí đánh giá** | **Cách thức đánh giá** | **Điểm** |
|---|---|---|
| 1. Lấy mẫu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| 2. Pha chế môi trường nuôi cấy | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| 3. Cấy khởi đầu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |
| 4. Cấy nhân chồi | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |
| 5. Cấy tạo rễ | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1 |
| 6. Ra cây và chăm sóc cây ở vườn ươm | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |

**D. Ghi nhớ:**

- Cách lấy mẫu
- Môi trường vi nhân giống Keo lá tràm
- Quy trình vi nhân giống Keo lá tràm:

+ Cấy khởi đầu

+ Cấy nhân chồi

+ Cấy tạo rễ

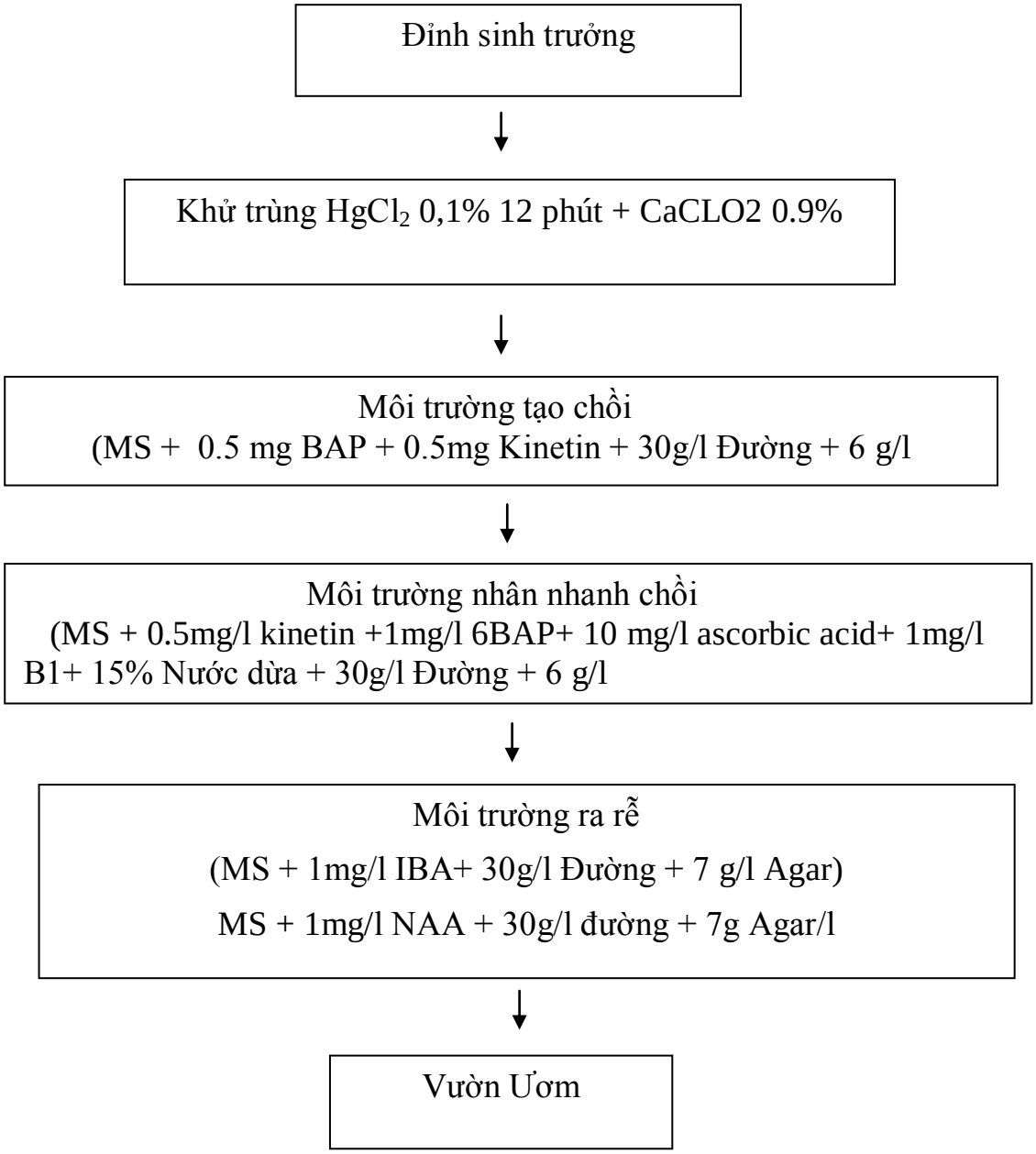
+ Ra cây và chăm sóc cây ở vườn ươm

## Bài 4:
## VI NHÂN GIỐNG CÂY TẾCH
## Mã bài: MĐ 06 – 04

**Mục tiêu:** *Sau khi học xong học viên có khả năng:*

Tiến hành được các bước công việc theo đúng Quy trình vi nhân giống cây Tếch

### A. Giới thiệu quy trình vi nhân giống cây Tếch



## B. Các bước tiến hành vi nhân giống cây Tếch

### 1. Chuẩn bị các điều kiện cần thiết

### 1.1. Chuẩn bị trang thiết bị, dụng cụ phục vụ vi nhân giống

Đây là bước đầu tiên đảm bảo cho quá trình vi nhân giống cây Tếch được diễn ra thuận lợi. Bước này bao gồm chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, nguyên liệu và hóa chất.

* Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ:

- Nồi autoclave, tủ cấy vô trùng
- Bếp gas (bếp từ hoặc lò vi sóng)
- Nồi nấu môi trường
- Cốc thủy tinh
- Ống đong
- Ống nghiệm, chai thủy tinh
- Đũa thủy tinh
- Cân kỹ thuật
- Máy đo pH, giấy đo pH
- Phễu, giá rót môi trường
- Bông không thấm nước
- Giấy báo, nilon, dây cao su

* Chuẩn bị nguyên liệu:

- Nước cất
- Các chất khử trùng ($HgCl_2$ ; $CaClO_2$ )
- Agar
- Đường glucose (hoặc saccarose)
- Các loại dung dịch mẹ

### 1.2. Kiểm tra các điều kiện cần thiết trong hệ thống phòng nuôi cấy, nhà lưới, vườn ươm

Trước khi tiến hành các thao tác pha chế môi trường và vi nhân giống: Phòng cấy, tủ cấy, dụng cụ cấy phải được khử trùng nhằm hạn chế sự xâm nhiễm nguồn tạp nhiễm vào mẫu cấy trong quá trình vi nhân giống.

* Phòng cấy phải luôn sạch vì vậy cần:

- Quyét dọn lau sạch sàn, xung quanh tường bằng nước sạch (có thể xông formol để khử trùng trước đó vài ngày)
- Bật quạt thông gió, điều hòa

* Tủ cấy:

- Dùng bông thấm cồn lau sạch bên trong, bên ngoài tủ
- Phủ màn tối kín tủ
- Bật đèn tử ngoại, quạt trong thời gian từ 15-30 phút
- Lấy màn che khỏi tủ
- Tắt đèn tử ngoại đợi sau thời gian 15-30 phút mới thực hiện các thao tác bên trong tủ cấy.

*Lưu ý khi sử dụng đèn tử ngoại:*

- Trong thời gian bật đèn tử ngoại không được làm việc trong phòng
- Không được nhìn trực tiếp vào đèn khi đang bật
- Bật, tắt đèn theo đúng thời gian quy định mới được vào phòng làm việc

* Dụng cụ cấy sử dụng trong vi nhân giống (bình tam giác, kéo, dao cấy các loại,...) được bao gói và khử trùng khô ở nhiệt độ 160-170$^0$C trong 1,5-2 giờ hoặc hấp khử trùng hơi nước trong nồi autoclave, dụng cụ sau khử trùng phải để vào vị trí sạch sẽ nếu chưa sử dụng ngay.

* Kiểm tra các điều kiện cần thiết của vươn ươm: mức độ cứng trắc của khung nhà lưới, khả năng điều chỉnh ánh sáng của vật liệu làm mái che; ô, khoảnh được phân chia thuận tiện cho việc chăm sóc cây mầm, đặc biệt là hệ thống cung cấp nước.

* Kiểm tra số lượng, chất lượng các chất tham gia phối trộn làm giá thể ra cây (đất, phân bón …)

**1.3. Chuẩn bị môi trường để nuôi cấy**

Vi nhân giống cây Tếch thường sử dụng 3 loại môi trường chính là:

- Môi trường tạo chồi
- Môi trường nhân nhanh
- Môi trường tạo cây hoàn chỉnh (môi trường ra rễ)

Phương pháp pha chế môi trường tuân thủ theo các bước sau:

Bước 1: Kiểm tra lại các dụng cụ, nguyên liệu

Bước 2: Căn cứ vào công thức của môi trường và thể tích cần pha tính toán toán thể tích các dung dịch mẹ, agar, đường, chất điều tiết sinh trưởng, các phụ gia khác

Bước 3: Đong chính xác các dung dịch mẹ vào ống đong, lên thể tích bằng nước cất

Bước 4: Trộn hỗn hợp các dung dịch

- Đun nóng hỗn hợp đã lên thể tích trong nồi pha chế môi trường

- Khuấy tan đường
- Khuấy cho agar hòa tan
- Bổ sung các chất điều tiết sinh trưởng theo công thức pha chế

Bước 5: Phân phối môi trường vào ống nghiệm hoặc chai thủy tinh

- Rót hỗn hợp môi trường vào cốc có miệng để dễ đổ vào ống nghiệm, chai
- Dùng phễu phân phối nhanh môi trường vào các ống nghiệm: lượng môi trường chiếm khoảng 1/7 ống nghiệm (tương đương khoảng 3 - 4ml/một ống nghiệm), đối với chai thủy tinh từ 10 - 15ml nếu đổ vào ống nghiệm thì phễu được cố định trên một giá đỡ.

*Lưu ý:*

- Thao tác cần nhanh gọn để hạn chế sự đông thạch
- Khi phân môi trường hạn chế môi trường dính trên miệng ống nghiệm, nếu bị dính phải lau sạch.

Bước 6. Làm nút bông cho các ống nghiệm, chai thủy tinh đã có môi trường.

Lấy một lượng bông vừa đủ sao cho nút bông sau khi làm xong không quá chặt hay quá lỏng, phần nút bông trong ống nghiệm, chai thủy tinh tròn đều, Bước 7: Chuyển các ống nghiệm hoặc bình thủy tinh có môi trường vào nồi khử trùng

Bước 8: Khử trùng môi trường

- Các ống, chai môi trường sau khi đã nút bông xong được đưa vào nồi hấp khử trùng để tiêu diệt hoàn toàn các nguồn nhiễm tạp trong môi trường, môi trường sau khi hấp khử trùng xong phải đảm bảo vô trùng tuyệt đối và không làm giảm chất lượng môi trường.
- Chế độ hấp khử trùng ở nhiệt độ $121^0$C trong 30 phút. Sau khi quá trình hấp thanh trùng tiến hành lắc đều môi trường trước khi để cố định tại một vị trí sạch sẽ.

## 2. Tiến hành vi nhân giống cây Tếch

### *2.1. Giai đoạn chuẩn bị*

- Mẫu nuôi cấy được lấy ngoài vườn cây mẹ vào buổi sáng của những ngày nắng, ít gió.
- Cắt mẫu có chiều dài 7-12cm trên cành của các cây mẹ sinh trưởng và phát triển khỏe, sạch sâu bệnh, có kiểu hình phù hợp với mục đích nhân giống.
- Rửa sạch mẫu cấy dưới vòi nước lã nhiều lần, đưa vào phòng thí nghiêm tiến hành khử trùng thô.
- Tiến hành khử trùng tinh trong phòng vô trùng: Tiến hành khử trùng tinh trong phòng vô trùng: Mẫu cấy đã rửa sạch cho vào dung dịch cồn $75^0$ trong khoảng thời gian ½ phút sau đó rửa lại bằng nước cất vô trùng từ 4- 6 lần.

Khử trùng lần 2 bằng dung dịch chlorua thuỷ ngân 0,1% để tiêu độc trong 8-12 phút, lấy ra dùng nước sạch rửa 4- 6lần.

- Dùng panh và kéo cắt bỏ hết các phần không cần thiết của mẫu cấy. Mẫu cấy có chiều dài 3-5cm và có ít nhất 2 mắt ngủ, đem cấy vào môi trường tạo chồi.

### *2.2. Tái sinh mẫu nuôi cấy*

Môi trường tái sinh tối ưu có thể là:

- MS + 0,5 mg BAP + 0,5 mg IAA + 25g/l Saccaroza + 6,5 g/l Agar

- MS + 1 mg/l BA + 05 mg/l NAA + 25g/l Saccaroza + 6,5 g/l Agar

- MS + 0,5 mg/l Kinetin+ 0,5 mg/l NAA + 50 g/l đường + 6 g/l agar

- MS + 1,5 mg/l 2,4D + 0,5 mg BAP + 30 g/l saccarose + 6,5 g/l agar

Tùy loại hóa chất phòng thí nghiệm sẵn có chúng ta có thể sử dụng một trong các môi trường tái sinh nói trên. Nuôi cấy ở 24 ± $2^0$C, cường độ chiếu sáng 600 - 3.000lux, thời gian chiếu sáng 12 - 14 giờ/ngày.

### *2.3. Nhân nhanh chồi*

Sau 4 tuần thân mầm được tách từ cụm chồi, loại bỏ các lá úa và phần callus còn bám vào và chuyển sang môi trường nhân nhanh.

Các môi trường tối ưu sử dụng cho quá trình nhân nhanh:

(MS + 0.5mg/l kinetin +1mg/l 6BAP+ 10 mg/l ascorbic acid+ 1mg/l B1+ 15% Nước dừa + 30g/l Đường + 6 g/l

### *2.4. Tạo cây hoàn chỉnh.*

Chồi sau 4-5 lần cấy ta chọn lấy những chồi khỏe mạnh cao khoảng 2 cm, có từ 3 - 5 lá đủ tiêu chuẩn cắt, cấy sang môi trường tạo rễ rồi loại bỏ toàn bộ mẫu đó thay thế bằng loạt mẫu mới.

Môi trường tốt nhất để tạo rễ cho chồi là :

(MS + 1mg/l IBA+ 30g/l Đường + 7 g/l Agar)

MS + 1mg/l NAA + 30g/l đường + 7g Agar/l

Sau cấy khoảng 4 tuần sẽ ra rễ dài 2 - 3cm.

### *2.5. Ra ngôi và chăm sóc cây con ngoài vườn ươm*

Cây được huấn luyện bằng cách đặt ống nghiệm (bình cây) trong điều kiện ánh sáng và nhiệt độ tự nhiên với cường độ ánh sáng từ 5.000 - 10.000 lux, nếu lớn hơn 10.000 lux cần phải che bớt lượng ánh sáng.

Thời gian huấn luyện khoảng 6-8 ngày để cây con quen dần với điều kiện tự nhiên. Khi thân chuyển sang màu của tự nhiên, lá xoè ra đầy đủ thì có thể tiến hành cấy chuyển vào bầu đất.

*Chú ý*: Không nên kéo dài thời gian huấn luyện vì để lâu rễ sẽ bị đen, lá úa vàng. Khi đó tỷ lệ sống khi cấy vào bầu đất sẽ không cao.

**Hình 5: Mẫu cây Tếch để ra ngôi**

### *2.5.1. Ra ngôi*

*Tạo dung dich hồ rễ:*

- Trộn đất tầng B với dung dịch thuốc tím $KnMO_4$ 0,1%, tỷ lệ 1 đất/1 nước trước khi hồ rễ ít nhất 12 giờ.
- Khi dùng rửa thuốc tím bằng nước sạch từ 3 - 4 lần và tạo cho đất ở dạng hồ loãng để hồ rễ cây.

*Tạo bầu:*

- Vỏ bầu được làm bằng nilon có kích thước 7 cm x 11 cm, không có đáy, hoặc có đáy thì phải đục lỗ ở đáy hoặc xung quanh để thoát nước
- Ruột bầu: Dùng đất tầng B đập nhỏ, sàng bỏ rễ cây và các tạp chất khác.

*Xử lý bầu:*

- Trước khi cấy cây 12 - 24 giờ, bầu đất phải được xử lý bằng dung dịch thuốc tím 0,1%
- Dùng ô doa tưới đều lên bề mặt bầu cho thấm sâu 1,5 - 2 cm.
- Chú ý: mùa có nguy cơ nấm bệnh cao dùng thuốc tím có nồng độ cao hơn (0,2 - 0,3%).

*Thao tác ra ngôi:* cần nhẹ nhàng, cẩn thận tránh làm tổn thương cho cây.

- Lấy cây mầm từ trong lọ ra bằng cách đổ ra lòng bàn tay
- Nhặt từng cây một cho ra khỏi nền nuôi cấy
- Rửa sạch thạch bằng nước sạch
- Hồ rễ bằng đất đã được khử trùng
- Cấy cây đã hồ rễ vào bào đất như cấy cây con từ hạt.

- Khi cấy để rễ thẳng và xoè ra tự nhiên, không bị cuốn lại với nhau hoặc bị gập lên trên mặt bầu.

### *2.5.2. Chăm sóc cây vi nhân giống sau khi cấy*

- Tuần đầu tiên sau cấy cần theo dõi độ ẩm, ánh sáng và nhiệt độ. Nhiệt độ thích hợp từ 25-30$^0$C, độ ẩm từ 85-90%, cần chú ý điều chỉnh ánh sáng cho cây quang hợp, những ngày trời nắng chú ý phải che giâm để giảm bớt ánh sáng trực xạ, tốt nhất là che giâm từ 7-10 ngày sau khi cấy, độ tàn che 50 - 60%.
- Sau cấy 3 tuần thì bón thúc bằng cách tưới phân NPK (5:10:3) nồng độ 0,3%, 5-7 ngày tưới 1 lần, sau khi tưới xong cần tưới rửa lại bằng nước sạch.
- Phun phòng bệnh bằng dung dịch bellate nồng độ 5g/10lít nước phun cho 100 m$^2$, một tuần một lần, nếu phát hiện nấm bệnh cần phun nồng độ cao hơn và thời gian ngắn hơn có thể 3-5 ngày một lần tuỳ theo tình trạng bệnh.
- Phân loại cây con: Sau khi cấy được 45 - 50 ngày cần tiến hành phân loại cây con để có chế độ chăm sóc phù hợp tạo ra các luống cây đồng đều đảm bảo đủ tiêu chuẩn xuất vườn.

Hãm cây: Ngừng tưới phân trước khi đi trồng 2 tuần. Trong trường hợp phải lưu giữ cây ở vườn ươm lâu hơn thì rất hạn chế tưới phân và nước để hãm cây.

## C. Bài tập và sản phẩm thực hành của học viên

### Bài tập 1:

### Lấy mẫu vi nhân giống cây Tếch

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ pha chế một loại môi trường vi nhân giống cây Tếch

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả sản phẩm cần đạt được:*

  + Mẫu cắt dài 7-10 cm trên cành của các cây mẹ sinh trưởng và phát triển khỏe, sạch sâu bệnh.

  + Mẫu cấy được rửa sạch bẩn cơ giới và khử trùng bằng dung dịch chlorua thuỷ ngân 0,1%

  + Mẫu đem nuôi cấy có chiều dài 3-5cm và có ít nhất 2 mắt ngủ.

**Bài tập 2:**

**Pha chế các loại môi trường vi nhân giống cây Tếch**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ pha chế một loại môi trường vi nhân giống cây Tếch

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả sản phẩm cần đạt được:*

+ Pha chế được môi trường vi nhân giống cây Tếch theo đúng quy trình

+ Môi trường sau khi pha chế đủ tiêu chuẩn để sử dụng

**Bài tập 3:**

**Cấy khởi đầu cây Tếch**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ nuôi cấy khởi đầu 5 mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được đoạn chồi đủ tiêu chuẩn để nuôi cấy

+ Thực hiện nuôi cấy khởi đầu đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 4:**

**Cấy nhân chồi cây Tếch**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ cấy chuyền, nhân nhanh 5 bình mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình mẫu đạt tiêu chuẩn để cấy nhân chồi

+ Thực hiện cấy nhân chồi đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo hệ số nhân, chất lượng chồi, tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 5:**

**Cấy tạo rễ**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ cấy tạo rễ 5 bình chồi mẫu

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình mẫu đạt tiêu chuẩn để cấy

+ Thực hiện cấy tạo rễ đúng với quy trình

+ Mẫu sau khi cấy đảm bảo tỷ lệ ra rễ, số lượng rễ, chất lượng rễ, tỷ lệ sống và tỷ lệ vô trùng

**Bài tập 6:**

**Ra cây và chăm sóc cây Tếch vi nhân giống tại vườn ươm**

- *Cách thức:* chia các nhóm nhỏ (5 – 6 học viên/nhóm), mỗi nhóm nhận nhiệm vụ ra cây và chăm sóc cho 5 bình cây Tếch vi nhân giống đã qua huấn luyện

- *Thời gian hoàn thành:* 4 giờ/1 nhóm

- *Hình thức trình bày:* thực hành tại chỗ

- *Phương pháp đánh giá:* kỹ năng vận dụng lý thuyết vào thực hành của mỗi học viên trong nhóm và thái độ thực hành của học viên.

- *Kết quả cần đạt được:*

+ Chọn được bình cây đã huấn luyện đạt yêu cầu

+ Thực hiện ra cây và chăm sóc cây Tếch vi nhân giống ở vườn ươm đúng với quy trình

+ Cây Tếch vi nhân giống sau khi ra cây đảm bảo tỷ lệ sống và chất lượng cây con xuất vườn

| Tiêu chí đánh giá | Cách thức đánh giá | Điểm |
|---|---|---|
| 1. Lấy mẫu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| 2. Pha chế môi trường nuôi cấy | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| 3. Cấy khởi đầu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |
| 4. Cấy nhân chồi | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |
| 5. Cấy tạo rễ | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1 |
| 6. Ra cây và chăm sóc cây ở vườn ươm | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |

**D. Ghi nhớ:**

- Cách lấy mẫu
- Môi trường vi nhân giống cây Tếch
- Quy trình vi nhân giống cây Tếch:
  + Cấy khởi đầu
  + Cấy nhân chồi
  + Cấy tạo rễ
  + Ra cây và chăm sóc cây ở vườn ươm

# HƯỚNG DẪN GIẢNG DẠY MÔ ĐUN

**I. Vị trí, tính chất của mô đun :**

- Vị trí: Mô đun 06 là mô đun chuyên môn nghề cuối cùng trong chương trình dạy nghề trình độ sơ cấp nghề: Vi nhân giống cây lâm nghiệp; được giảng dạy sau mô đun 05. Mô đun 06 cũng có thể giảng dạy độc lập theo yêu cầu của người học.

- Tính chất: Là mô đun thực hành tổng hợp nhằm rèn luyện các kỹ năng thực hiện các bước công việc vi nhân giống một loài cây lâm nghiệp đại diện cho vùng. Nội dung được biên soạn dưới dạng quy trình cho 04 loài cây đáp ứng nhu cầu thực tiễn sản xuất của vùng. Mỗi học viên/nhóm học viên được lựa chọn và thực hiện 01 quy trình vi nhân giống cho một loài cây cụ thể. Mô đun được tiến hành trong phòng thí nghiệm và vườn ươm cây lâm nghiệp.

**II. Mục tiêu:** *Sau khi học xong mô đun này học viên có khả năng:*

- *Thành thạo các bước công việc vi nhân giống một loài cây lâm nghiệp đại diện cho vùng.*
- *Tạo ra được sản phẩm cây lâm nghiệp bằng vi nhân giống*

**III. Nội dung chính của mô đun:**

| Mã bài | Tên bài | Loại bài dạy | Địa điểm | Thời gian | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Tổng số | Lý thuyết | Thực hành | Kiểm tra* |
| MĐ06-1 | - Quy trình vi nhân giống cây Bạch đàn | Thực hành | Phòng thí nghiệm và vườn ươm | 82 | 0 | 80 | 2 |
| MĐ06-2 | - Quy trình vi nhân giống cây Keo lai | Thực hành | Phòng thí nghiệm và vườn ươm | 82 | 0 | 80 | 2 |
| MĐ06-3 | - Quy trình vi nhân giống cây Keo lá tràm | Thực hành | Phòng thí nghiệm và vườn ươm | 82 | 0 | 80 | 2 |
| MĐ06-4 | - Quy trình | Thực hành | Phòng | 82 | 0 | 80 | 2 |

| Mã bài | Tên bài | Loại bài dạy | Địa điểm | Thời gian | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Tổng số | Lý thuyết | Thực hành | Kiểm tra* |
| | vi nhân giống cây Tếch | | thí nghiệm và vườn ươm | | | | |
| | Kiểm tra hết mô đun | | | 2 | | | 2 |
| | **Cộng** | | | **84** | | | **84** |

## IV. Hướng dẫn thực hiện bài thực hành

### 1. Nguồn lực cần thiết,

- Quy trình vi nhân giống cây lâm nghiệp: 04
- Vườn cây mẹ để lấy mẫu vi nhân giống: 01
- Phòng thí nghiệm vi nhân giống cây lâm nghiệp: 01 (Bao gồm đầy đủ thiết bị, vật tư, hóa chất và dụng cụ phục vụ vi nhân giống)
- Vườn ươm cây lâm nghiệp: 01

### 2. Cách tổ chức thực hiện

Chia lớp theo 5 - 6 học viên/nhóm.

**3. Thời gian:** 83 giờ

### 4. Tiêu chuẩn sản phẩm

Cây vi nhân giống sinh trưởng khỏe, sạch sâu bệnh tại vườn ươm

## V. Yêu cầu về đánh giá kết quả học tập

Đánh giá 06 tiêu chí thực hiện 1 trong 4 Quy trình vi nhân giống cây lâm nghiệp tự chọn được đánh giá theo bảng sau:

| Tiêu chí đánh giá | Cách thức đánh giá | Điểm |
|---|---|---|
| 1. Lấy mẫu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| 2. Pha chế môi trường nuôi cấy | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| 3. Cấy khởi đầu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học | 2 |

| Tiêu chí đánh giá | Cách thức đánh giá | Điểm |
|---|---|---|
| 1. Lấy mẫu | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1,5 |
| | viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | |
| 4. Cấy nhân chồi | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |
| 5. Cấy tạo rễ | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 1 |
| 6. Ra cây và chăm sóc cây ở vườn ươm | Quan sát, theo dõi từng bước thực hiện của học viên để đánh giá mức độ đạt được của học viên. | 2 |

## VI. Tài liệu tham khảo


1. Trung tâm nghiên cứu cây nguyên liệu giấy - Tổng công ty giấy Việt Nam (2003), Giáo trình công nghệ nuôi cấy mô tế bào.
2. Viện di truyền nông nghiệp (1995), Giáo trình hướng dẫn thực tập công nghệ nuôi cấy mô tế bào.

**DANH SÁCH BAN CHỦ NHIỆM CHỈNH SỬA**
**CHƯƠNG TRÌNH DẠY NGHỀ TRÌNH ĐỘ SƠ CẤP**

*(Kèm theo Quyết định số 2949 /BNN-TCCB ngày 03 tháng 11 năm 2010 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn)*

**1. Chủ nhiệm:** Ông Nghiêm Xuân Hội - Hiệu trưởng Trường Cao đẳng Nông Lâm
**3. Thư ký:** Ông Nguyễn Văn Vượng - Trưởng khoa Trường Cao đẳng Nông Lâm
**4. Các ủy viên:**
- Ông Triệu Văn Khôi, Giảng viên Trường Cao đẳng Nông Lâm
- Ông Trần Minh Cảnh, Giảng viên Trường Cao đẳng Nông Lâm
- Ông Đặng Văn Tặng, Kỹ sư Trung tâm Cây lâm nghiệp, cây ăn quả Bắc Giang./.

**DANH SÁCH HỘI ĐỒNG NGHIỆM THU**
**CHƯƠNG TRÌNH, GIÁO TRÌNH DẠY NGHỀ TRÌNH ĐỘ SƠ CẤP**

*(Theo Quyết định số 3495 /QĐ-BNN-TCCB ngày 29 tháng 12 năm 2010 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn)*

**1. Chủ tịch:** Ông Trần Văn Dư - Phó hiệu trưởng Trường Cao đẳng Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Bắc Bộ
**2. Thư ký:** Bà Đào Thị Hương Lan - Phó trưởng phòng Vụ Tổ chức cán bộ, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn
**3. Các ủy viên:**
- Bà Kiều Thị Thuyên - Trưởng bộ môn Trường Cao đẳng Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Bắc Bộ
- Ông Phạm Xuân Mạnh - Trưởng khoa Nông Lâm Trường Cao đẳng nghề Cơ điện - Xây dựng và Nông Lâm Trung Bộ
- Ông Nguyễn Viết Khoa - Phó trưởng phòng Trung tâm Khuyến nông Quốc gia./.