PHẦN VĂN BẢN QUY PHẠM PHÁP LUẬT

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN	**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM Độc lập - Tự do - Hạnh phúc**
Số: 16/2014/TT-BNNPTNT	*Hà Nội, ngày 05 tháng 6 năm 2014*

THÔNG TƯ
Ban hành Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Kiểm dịch và Bảo vệ thực vật

Căn cứ Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật ngày 29 tháng 6 năm 2006;

Căn cứ Pháp lệnh Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật số 36/2001/PL-UBTVQH10 ngày 25/7/2001;

Căn cứ Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 01 tháng 8 năm 2007 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật;

Căn cứ Nghị định số 199/2013/NĐ-CP ngày 26 tháng 11 năm 2013 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn;

Xét đề nghị của Cục trưởng Cục Bảo vệ thực vật;

Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ban hành Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về Kiểm dịch và Bảo vệ thực vật.

Điều 1. Ban hành kèm theo Thông tư này Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về lĩnh vực Kiểm dịch và Bảo vệ thực vật:

1. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Quy trình giám định bệnh phấn đen lúa mỳ *Tilletia indica* Mitra là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Ký hiệu: QCVN 01-159:2014/BNNPTNT

2. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Khảo nghiệm trên đồng ruộng hiệu lực phòng trừ bệnh thán thư *(Colletotrichum* spp.*)* hại cây ớt của các thuốc trừ bệnh.

Ký hiệu: QCVN 01-160:2014/BNNPTNT

3. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Quy trình giám định bệnh thối loét cà chua *Claviabacter michiganensis subsp. michiganensi* (Smith) Davis *et al.* là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Ký hiệu: QCVN 01-161:2014/BNNPTNT

4. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Quy trình giám định bọ trĩ cam *Scirtothrips aurantti* Faure là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Ký hiệu: QCVN 01-162:2014/BNNPTNT

5. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Quy trình giám định cây kế đồng *Cirsium arvense* (L.) Scop. là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Ký hiệu: QCVN 01-163:2014/BNNPTNT

6. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Khảo nghiệm trên đồng ruộng hiệu lực phòng trừ bệnh chết cây con hại dưa chuột của các thuốc trừ bệnh.

Ký hiệu: QCVN 01-164:2014/BNNPTNT

7. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Quy trình giám định cỏ ma ký sinh thuộc chi *Striga* là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Ký hiệu: QCVN 01-165:2014/BNNPTNT

8. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Phương pháp điều tra phát hiện dịch hại lúa.

Ký hiệu: QCVN 01-166:2014/BNNPTNT

9. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây ngô.

Ký hiệu: QCVN 01- 167:2014/BNNPTNT

10. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Phương pháp điều tra phát hiện dịch hại trên cây lạc, đậu tương.

Ký hiệu: QCVN 01-168:2014/BNNPTNT

11. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây rau họ hoa thập tự.

Ký hiệu: QCVN 01-169:2014/BNNPTNT

12. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Khảo nghiệm trên đồng ruộng hiệu lực phòng trừ dòi đục lá (*Liriomyza sativae* Blanchard) hại ớt của các thuốc trừ sâu.

Ký hiệu: QCVN 01-170:2014/BNNPTNT

13. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Khảo nghiệm trên đồng ruộng hiệu lực phòng trừ bệnh gỉ sắt (*Puccinia chrysanthemi* Roze) hại cây hoa cúc của các thuốc trừ bệnh.

Ký hiệu: QCVN 01-171:2014/BNNPTNT

14. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Phương pháp điều tra phát hiện sinh vật chính hại cây hồ tiêu.

Ký hiệu: QCVN 01-172:2014/BNNPTNT

15. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Quy trình giám định bệnh khô cành cam quýt *Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Ký hiệu: QCVN 01-173:2014/BNNPTNT

16. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Khảo nghiệm trên đồng ruộng hiệu lực phòng trừ bệnh loét (*Xanthomonas campestris* pv.*citri* (Hasse) Dowson) hại cây có múi của các thuốc phòng trừ bệnh.

Ký hiệu: QCVN 01-174:2014/BNNPTNT

17. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Quy trình lưu giữ, bảo quản và vận chuyển mẫu trong kiểm dịch thực vật.

Ký hiệu: QCVN 01-175:2014/BNNPTNT

18. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Quy trình giám định Mọt lạc *Pachymerus pallidus* Olivier là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Ký hiệu: QCVN 01-176:2014/BNNPTNT

19. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Phương pháp điều tra phát hiện sinh vật chính gây hại cây nhãn, vải.

Ký hiệu: QCVN 01-177:2014/BNNPTNT

20. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Khảo nghiệm trên đồng ruộng hiệu lực phòng trừ bệnh nứt thân chảy nhựa (*Mycosphaerella melonis* (Passerini) Chui & Walker*)* hại cây dưa hấu của các thuốc trừ bệnh.

Ký hiệu: QCVN 01-178:2014/BNNPTNT

21. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Quy trình giám định bệnh rụng lá cao su Nam Mỹ *(Microcyclus ulei* (Henn.) Arx là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Ký hiệu: QCVN 01-179:2014/BNNPTNT

22. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Quy trình giám định tuyến trùng thối thân, rễ cọ dầu, dừa *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Ký hiệu: QCVN 01-180:2014/BNNPTNT

23. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Quy trình giám định bệnh ung thư khoai tây *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Ký hiệu: QCVN 01-181:2014/BNNPTNT

Điều 2. Thông tư này có hiệu lực kể từ ngày 05 tháng 11 năm 2014.

Điều 3. Vụ trưởng Vụ Khoa học Công nghệ và Môi trường, Cục trưởng Cục Bảo vệ thực vật, Thủ trưởng các cơ quan, tổ chức và cá nhân có liên quan chịu trách nhiệm tổ chức thực hiện.

Trong quá trình thực hiện, nếu có vấn đề vướng mắc, đề nghị các cơ quan, tổ chức, cá nhân kịp thời phản ánh về Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn để Bộ nghiên cứu, sửa đổi, bổ sung./.

KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG

Lê Quốc Doanh

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN 01-159:2014/BNNPTNT

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ QUY TRÌNH GIÁM ĐỊNH BỆNH PHẤN ĐEN LÚA MỲ *Tilletia indica* Mitra LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of Karnal bunt of wheat (Tilletia indica* Mitra*) - Plant quarantine pest of Vietnam

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-159:2014/BNNPTNT do Trung tâm Giám định Kiểm dịch thực vật biên soạn, Cục Bảo vệ thực vật trường trình duyệt, Bộ Nông nghiệp & PTNT ban hành tại Thông tư số 16/2014/TT-BNNPTNT ngày 05 tháng 6 năm 2014.

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ QUY TRÌNH GIÁM ĐỊNH BỆNH PHẤN ĐEN LÚA MỲ *Tilletia indica* Mitra LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of Karnal bunt of wheat (Tilletia indica* Mitra*) - Plant quarantine pest of Vietnam

I. QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này quy định quy trình giám định bệnh phấn đen lúa mỳ *Tilletia indica* Mitra - là dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I của Việt Nam

1.2. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng đối với các tổ chức, cá nhân Việt Nam hoặc nước ngoài có hoạt động liên quan đến lĩnh vực bảo vệ và kiểm dịch thực vật thực hiện giám định bệnh phấn đen lúa mỳ *Tilletia indica* Mitra - là dịch hại kiểm dịch thực vật (KDTV) nhóm I thuộc Danh mục dịch hại KDTV của Việt Nam.

1.3. Giải thích từ ngữ

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

1.3.1. Dịch hại kiểm dịch thực vật (plant quarantine pest):

Là loài dịch hại có nguy cơ gây hại nghiêm trọng tài nguyên thực vật trong một vùng mà ở đó loài sinh vật này chưa xuất hiện hoặc xuất hiện có phân bố hẹp và phải được kiểm soát chính thức.

1.3.2. Thực vật (plant):

Là cây và những bộ phận của cây còn sống, kể cả hạt giống và sinh chất có khả năng làm giống.

1.3.3. Mẫu (sample):

Là khối lượng thực vật, sản phẩm thực vật hoặc tàn dư của sản phẩm thực vật được lấy ra theo một quy tắc nhất định.

1.3.8. Tiêu bản (specimen):

Là mẫu vật điển hình tiêu biểu của dịch hại được xử lý để dùng cho việc định loại, nghiên cứu, giảng dạy, phổ biến kỹ thuật và trưng bày thành các bộ sưu tập.

1.3.9. Phản ứng chuỗi trùng hợp hoặc phản ứng khuếch đại gen (Polymerase Chain Reaction - PCR):

Là kỹ thuật phổ biến trong sinh học phân tử nhằm khuếch đại (tạo ra nhiều bản sao) một đoạn DNA mà không cần sử dụng các sinh vật sống.

II. QUY ĐỊNH KỸ THUẬT

2.1. Phương pháp thu thập và bảo quản mẫu

2.1.1. Thu thập mẫu

Đối với hàng xuất, nhập khẩu, quá cảnh hoặc vận chuyển, bảo quản trong nước: Tiến hành lấy mẫu theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4731:89[1] "Kiểm dịch thực vật - phương pháp lấy mẫu", quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-23:2010/BNNPTNT[1] "Phương pháp kiểm tra các loại hạt xuất, nhập khẩu và quá cảnh".

Đối với cây trồng ngoài đồng ruộng: Lấy mẫu theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-38/2010/BNNPTNT[1] "Phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng".

2.1.2. Bảo quản mẫu

Các bộ phận tươi (bông) có triệu chứng bệnh chứa trong các túi ni-lông có lỗ thông khí bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 3 - 5°C.

Mẫu hạt được chứa trong các túi ni-lông hoặc hộp nhựa kín và bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Các tiêu bản lam của nấm được dán nhãn, để trong hộp chuyên dụng đựng tiêu bản lam và bảo quản ở nhiệt độ phòng.

2.2. Thiết bị dụng cụ, hóa chất

Kính lúp soi nổi có độ phóng đại 10 - 40 lần, kính hiển vi có độ phóng đại 40 - 1.000 lần.

Lưới lọc (kích thước mắt lưới 53µm, 20µm), bình tam giác, máy ly tâm, máy lắc, tủ sấy, tủ định ôn, cân điện, bể ổn nhiệt, máy PCR, máy điện di, hệ thống chụp ảnh…

Bộ dao, kim giải phẫu, panh, kéo, bộ micro pipet.

Đèn cồn, đĩa petri, ống hút, lam, lamen, cốc đong, giấy parafilm.

Cồn 70°, lactophenol, acid lactic, nước cất vô trùng, Tween 20, Na_2HPO_4, KH_2PO_4, Glycerol, ethylium bromide, agarose, cycloheximide.

Kít chiết tách DNA, kit PCR

2.3. Phương pháp phát hiện và giám định bệnh

2.3.1. Phát hiện và thu thập mẫu bệnh

Cây nhiễm bệnh thấp hơn, bông ngắn, số lượng hạt trên bông giảm (hình 1, phụ lục 1). Nấm chỉ gây bệnh trên một số hạt trên bông, các hạt nhiễm bệnh thường bị lép.

Ban đầu có chấm đen nhỏ dưới phần nội nhũ và rãnh hạt.

Khi xâm nhiễm trên hạt, nấm làm cho hạt có mùi tanh (do trimethylamine) tương tự như nấm *T. tritici, T. foetida và T. controversa*. Hạt bị xâm nhiễm từ phần rốn hạt và chạy dọc theo đường rãnh hạt (không gây nhiễm nội nhũ), hạt có thể bị vỡ hoàn toàn hoặc bị nứt một phần (hình 2, phụ lục 1). Khi bệnh nặng, mô dọc theo rãnh hạt và vùng tiếp giáp nội nhũ bị thay thế bởi các bào tử. Mày hạt bị tách ra làm cho hạt bị nhiễm bệnh lộ ra ngoài, cả hạt và phần mày hạt có thể bị rụng khỏi bông.

---

[1] Trường hợp các văn bản viện dẫn trong quy chuẩn này sửa đổi, bổ sung hoặc thay thế thì thực hiện theo quy định của văn bản mới.

2.3.2. Phương pháp giám định bằng đặc điểm hình thái nấm gây bệnh

2.3.2.1. Phương pháp kiểm tra trực tiếp

Dùng kim khêu nấm khêu lớp bào tử trên hạt đặt lên lam kính đã có sẵn một giọt axit lactic và đậy lamen.

Đặt lam lên kính hiển vi và quan sát đặc điểm hình thái và đo kích thước của bào tử nấm.

Đối chiếu với hình dạng và kích thước bào tử phấn đen lúa mỳ *Tilletia indica* Mitra (phụ lục 1).

2.3.2.2. Phương pháp rửa quay ly tâm

Lấy 50g hạt lúa mỳ cho vào bình tam giác 250ml. Thêm vào bình 100ml dung dịch Tween-20 nồng độ 0,01%, đậy nắp bình (có thể bao kín bằng giấy parafilm). Đặt bình tam giác lên máy lắc hoặc lắc bằng tay trong vòng 3 phút để các bào tử rời ra khỏi hạt lúa mỳ. Chuẩn bị một bình lọc bao gồm một bình tam giác, một phễu trong đó có 1 lưới lọc kích thước 53µm. Đổ dịch và hạt lúa mỳ lên phễu của bình tam giác đã chuẩn bị. Dùng bình phun nước cất rửa hạt lúa mì còn ở trên lưới 3 lần (mỗi lần dùng 20 - 50ml nước cất). Tiếp tục rửa hạt lúa mì bằng nước cất đến khi lượng nước trong bình đạt từ 300 - 400ml. Bỏ lưới lọc, rửa phễu lọc 2 lần bằng nước cất mỗi lần 10 - 20ml nước.

Chuẩn bị bộ lọc thứ 2 bao gồm 1 bình tam giác; 1 phễu trong đó có đặt một lưới lọc 20µm (lưới lọc này có thể ngâm trong nước trước để có hiệu quả lọc tốt hơn). Rót dịch thu được ở trên qua bộ lọc đã chuẩn bị. Rửa bình chứa dịch 2 lần bằng 10ml nước cất. Nghiêng lưới lọc một góc 30 - 35° rửa nhẹ nhàng lưới lọc bằng nước cất sao cho phần cặn còn lại trên lưới lọc dồn sang bên cạnh của lưới lọc. Dùng công tơ hút hút dịch và cặn trên lưới lọc vào ống ly tâm. Ly tâm dịch thu được ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 3 phút. Phần cặn thu được sau ly tâm hòa tan lại trong nước cất để đạt dung tích khoảng 50 - 100µl.

Hút dịch lên lam kính, đậy lamen quan sát và đo đếm đặc điểm hình thái của bào tử nấm gây bệnh trên kính hiển vi và so sánh với đặc điểm bào tử của nấm *Tilletia indica* (phụ lục 1)

Lưu ý: *Trong trường hợp mẫu hạt đã qua xử lý hóa chất diệt nấm, hạt phải được ngâm trong NaOH (0,2% hoặc 1%) trong 24 giờ trước khi rửa, quay ly tâm*

2.3.2. Phương pháp giám định PCR

Sử dụng phương pháp PCR để giám định đối với nấm gây bệnh phấn đen lúa mỳ *Tilletia indica* Mitra.

Quy trình chi tiết như phụ lục 2.

III. THẨM ĐỊNH KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH VÀ BÁO CÁO

Sau khi khẳng định kết quả giám định bệnh phấn đen lúa mỳ *Tilletia indica* Mitra - là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam, đơn vị giám định phải gửi báo cáo về Cục Bảo vệ thực vật kèm theo phiếu kết quả giám định (phụ lục 3).

Tất cả các đơn vị thuộc hệ thống Bảo vệ và KDTV phải lưu giữ, quản lý và khai thác dữ liệu về kết quả điều tra, báo cáo và giám định bệnh phấn đen lúa mỳ *Tilletia indica* Mitra.

Đối với đơn vị lần đầu tiên giám định và phát hiện được bệnh phấn đen lúa mỳ *Tilletia indica* Mitra phải gửi mẫu hoặc tiêu bản về Trung tâm Giám định kiểm dịch thực vật để thẩm định.

Đơn vị giám định phải đảm bảo thời gian lưu mẫu theo quy định hiện hành.

IV. TỔ CHỨC THỰC HIỆN

Cục Bảo vệ thực vật có trách nhiệm phổ biến; tổ chức, hướng dẫn và kiểm tra việc thực hiện Quy chuẩn này trong hệ thống tổ chức chuyên ngành Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật cũng như các tổ chức, cá nhân khác có liên quan;

Các tổ chức, cá nhân có hoạt động liên quan đến điều tra, thu thập mẫu, xử lý và bảo quản mẫu bệnh phấn đen lúa mỳ tại Việt Nam phải tuân theo quy định của quy chuẩn này cũng như các quy định của pháp luật có liên quan hiện hành.

Phụ lục 1
Thông tin về dịch hại

1. Phân bố và ký chủ

1.1. Phân bố

Trong nước: Bệnh chưa có ở Việt Nam

Trên thế giới: Châu Á *(Ấn Độ, Afghanistan, Iraq, Nepal, Iran, Pakistan),* Châu Phi *(Nam Phi),* Châu Mỹ *(Kenya, Hoa Kì, Mexico).*

1.2. Ký chủ: Lúa Mỳ (*Triticum aestivum*) Ngoài ra trong lây nhiễm nhân tạo nấm còn ký sinh trên *Aegilops* spp., *Bromus* spp., *Lolium* spp. và *Oryzopsis.*

2. Tên khoa học và vị trí phân loại

Tên tiếng Việt : Bệnh phấn đen lúa mỳ

Tên khoa học: *Tilletia indica* Mitra

Tên khác: *Neovossia indica* (Mitra) Mundk.

Vị trí phân loại:

Lớp: Ustilaginomycetes

Bộ: Tilletiales

Họ: Tilletiaceae

3. Triệu chứng bệnh phấn đen lúa mỳ

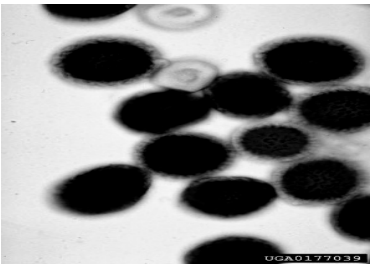
Hình 1. Bông lúa mì nhiễm bệnh
(Nguồn: CABI, 2012)

Hình 2. Hạt lúa mỳ nhiễm bệnh
(Nguồn: CABI, 2012)

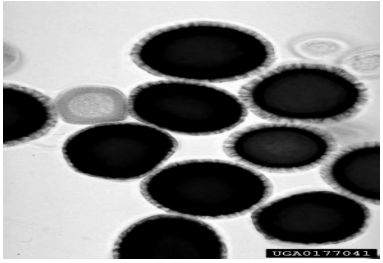
4. Đặc điểm hình thái bào tử nấm *Tilletia indica*

Bào tử đông (Teliospore) dạng cầu tới gần cầu, đường kính thông thường 22 - 47µm, có thể lớn hơn (35 - 41µm); Màu sắc từ vàng cam nhạt tới nâu tới nâu đậm, đỏ nâu; một số bào tử có màu đen hoặc màu đen mờ. Gai dày đầu gai nhọn hoặc tù, một số trường hợp đầu hơi cong, độ dài gai 1,5-5,0µm. Bề mặt gai có dạng vỏ não với những rãnh hẹp. Các gai được bao bọc bởi một màng mỏng trong suốt (hình 3 hình 4).

Tế bào bất dục: hình cầu tới gần cầu hoặc hình giọt lệ, màu vàng nâu, 10 - 28 x 48µm, có hoặc không có đỉnh nhỏ (gai ngắn), vách tế bào mượt dày khoảng 7 µm và tạo phiến.



Hình 3. Bề mặt bào tử *T. indica*
(Nguồn: EPPO, 2012)

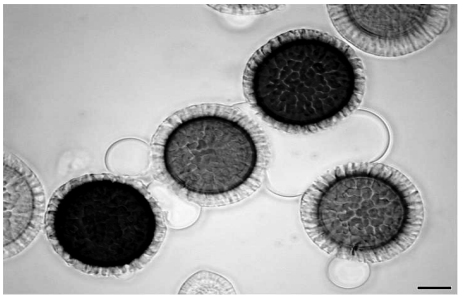


Hình 4. Bào tử *T. indica* quan sát ở điểm giữa
(Nguồn: EPPO, 2012)

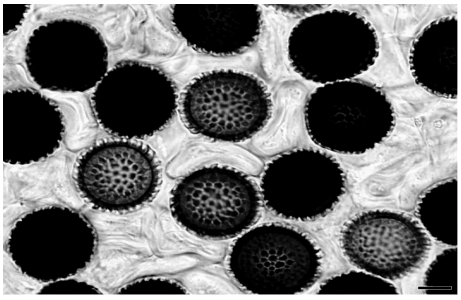
5. Phân biệt với một số nấm Tilletia khác

Bào tử đông của *T. indica* có thể bị nhầm lẫn bởi một số loài Tilletia lẫn tạp trong hạt lúa mỳ như: *T. walkeri* (hình 5) và *T. horrida* (hình 6) có thể phân biệt như sau.

	T. horrida	*T. walkeri*	*T. indica*
Kích thước bào tử to nhất (µm)	<36	36-45	45-50
Kích thước trung bình (µm)	24-28	30-31	35-41
Màu sắc bào tử đông	Vàng nhạt tới màu hạt dẻ nhạt hoặc đậm (tới đen mờ)	Vàng nhạt tới nâu đỏ (không có màu đen đục)	Màu cam nhạt nhưng chủ yếu là màu đỏ nâu đậm tới đen mờ
Hình thái và phân bố gai	Gai nhọn, nhìn bề mặt có nhiều góc cạnh; ít khi có dạng rãnh vỏ não hoặc hiếm khi có dạng bụi. Đầu gai nhọn, có thể trở thành cụt, ít khi cong	Dạng thô; dạng vân tương tự vỏ não không hoàn hảo hoặc bụi dày. Gai dạng nón tới cụt	Gai dày, có dạng vỏ não. Đầu gai nhọn hoặc gẫy đầu



Hình 5. Bào tử *T. walkeri*
(thước 10um)
Nguồn:PaDIL, 2012



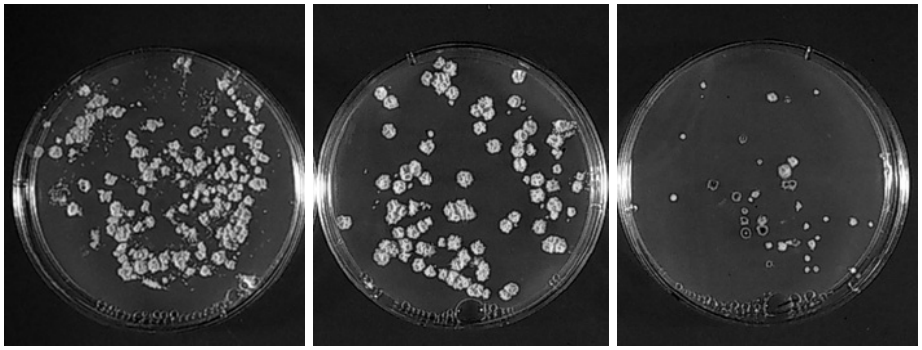
Hình 6. Bào tử *T. horrida*
(thước 10um)
Nguồn:PaDIL, 2012

Phụ lục 2
(quy định)
Quy trình giám định nấm *T. indica* bằng PCR

1. Nhân sinh khối

Rửa sạch bào tử thu được ở phương pháp rửa bằng cách rửa bằng nước cất trên lưới lọc 20µm. Hút dịch thu được vào ống mới thêm nước cất cho đủ 3ml ngâm qua đêm ở 21^0C. Ly tâm 4000 vòng/phút trong 3 phút. Loại bỏ dịch trong ống chỉ thu phần cặn ly tâm. Hòa tan cặn ly tâm trong nước xà phòng 10%, thay nắp mới và lắc nhẹ ống ly tâm. Ly tâm ở 4000 vòng/phút trong 1 phút loại bỏ dịch rửa. Thêm vào 1ml nước cất vô trùng để rửa cặn ly tâm (Ly tâm và rửa 2 lần). Tiếp tục ly tâm 1200g trong 5 phút loại bỏ dịch rửa. Hòa tan lại cặn ly tâm trong 1ml nước cất vô trùng. Trang 200µl dịch hòa tan ở bước 10 lên môi trường Agar (WA) nuôi cấy ở 21^0C chu kỳ ánh sáng 12giờ tối/12giờ sáng trong 5 ngày. Bọc các đĩa môi trường bằng giấy parafilm hoặc cho vào túi bóng, tiếp tục nuôi cấy trong 7 - 14 ngày.

Kiểm tra sự nảy mầm của bào tử. Cắt miếng thạch có bào tử nảy mầm gắn trên nắp hộp petri trong đó chứa 5ml môi trường khoai tây dextrose lỏng (potato dextrose broth), nuôi cấy ở 21^0C chu kỳ ánh sáng 12giờ tối/12giờ sáng trong 2-3 ngày. Kiểm tra sự hình thành bào tử đảm trên bề mặt môi trường nếu chưa thấy nuôi cấy thêm 5 ngày. (hình 7). Dùng kim khêu vô trùng lấy những màng nấm trong môi trường đặt trên các miếng giấy lọc vô trùng để loại bỏ môi trường bám dính. Đặt các màng nấm vào các ống để tách chiết DNA.



T. indica *T. walkeri* *T. horrida*

Hình 7. Tản nấm trên môi trường PDA sau 14 ngày

Nguồn: EPPO, 2007

2. Tách chiết DNA

0,1g nấm thu được cho vào ống ly tâm 2ml. Thêm vào 1ml nước tinh kiết dùng trong công nghệ phân tử (MGW) nghiền đều bằng chày thủy tinh hoặc chày nhựa vô trùng. Ủ trong 30 giây.Tách DNA bằng kít tách chiết DNA tổng số của nấm.

3. Giám định bằng PCR

- Cặp mồi sử dụng

Mồi xuôi Tin 3 (5′-CAA TGT TGG CGT GGC GGC GC-3′)

Mồi ngược Tin 4 (5′-CAA CTC CAG TGA TGG CTCCG-3′).

- Master mix:

20,2 µL of MGW

2,5 µL of 10 X PCR buffer chứa 15 mM MgCl2

0,25 µL dNTPs [10 mM]

0,1 µL AmpliTaq [5 U µL−1]

0,1 µL of mỗi mồi [25 µM]

1,0 µL dịch DNA chiết tách từ nấm

- Chu trình nhiệt

94°C trong 1 phút,

25 chu kỳ: 94°C trong 15 giây, 65°C trong 15 giây và 72°C trong 15 giây,

72°C trong 6 phút.

- Đọc kết quả:

- Điện di bằng agarose gel 2% Mẫu dương tính sẽ cho đoạn gen có kích thước 414kbp.

Phụ lục 3

(quy định)

Mẫu phiếu kết quả giám định

Cơ quan Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật	**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM** **Độc lập - Tự do - Hạnh phúc** *** *..... ngày... tháng... năm 20…..*

PHIẾU KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH

Bệnh phấn đen lúa mỳ *Tilletia indica* Mitra - là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam

1. Tên hàng hóa :
2. Nước xuất khẩu :
3. Xuất xứ :
4. Phương tiện vận chuyển : Khối lượng:
5. Địa điểm lấy mẫu :
6. Ngày lấy mẫu :
7. Người lấy mẫu :
8. Tình trạng mẫu :
9. Ký hiệu mẫu :
10. Số mẫu lưu :
11. Người giám định :

12. Phương pháp giám định: Theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-159: 2014/BNNPTNT về "Quy trình giám định bệnh phấn đen lúa mỳ *Tilletia indica* Mitra - là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam".

13. Kết quả giám định :

Tên khoa học: *Tilletia indica* Mitra

Lớp: Ustilaginomycetes

Bộ: Tilletiales

Họ: Tilletiaceae

Là dịch hại kiểm dịch thực vật thuộc danh mục dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

TRƯỞNG PHÒNG KỸ THUẬT *(Hoặc người giám định)* *(Ký, ghi rõ họ và tên)*	**THỦ TRƯỞNG ĐƠN VỊ** *(Ký, ghi rõ họ và tên, đóng dấu)*

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN 01-160:2014/BNNPTNT

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ KHẢO NGHIỆM TRÊN ĐỒNG RUỘNG HIỆU LỰC PHÒNG TRỪ BỆNH THÁN THƯ *(Colletotrichum* spp.*)* HẠI CÂY ỚT CỦA CÁC THUỐC TRỪ BỆNH

National technical regulation on bio-efficacy against* anthracnose *(Colletotrichum* spp.) *on chilli of fungicides

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-160:2014/BNNPTNT do Trung tâm Kiểm định và Khảo nghiệm thuốc bảo vệ thực vật phía Bắc biên soạn, Cục Bảo vệ thực vật trình duyệt, Bộ Nông nghiệp & PTNT ban hành tại Thông tư số 16/2014/TT-BNNPTNT ngày 05 tháng 6 năm 2014.

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ KHẢO NGHIỆM TRÊN ĐỒNG RUỘNG HIỆU LỰC PHÒNG TRỪ BỆNH THÁN THƯ *(Colletotrichum* spp.*)* HẠI CÂY ỚT CỦA CÁC THUỐC TRỪ BỆNH

National technical regulation on bio-efficacy against* anthracnose *(Colletotrichum* spp.*) on chilli of fungicides

I. QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này quy định những nguyên tắc, nội dung và phương pháp chủ yếu để đánh giá hiệu lực phòng trừ bệnh thán thư *(Colletotrichum* spp.) hại cây ớt của các thuốc phòng trừ bệnh trên đồng ruộng.

1.2. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng cho các cơ quan, tổ chức thực hiện khảo nghiệm thuốc bảo vệ thực vật.

1.3. Giải thích từ ngữ

Những thuật ngữ trong quy chuẩn này được hiểu như sau:

1.3.1. Dịch hại

Là bất cứ loài, chủng hoặc biotype của tác nhân gây tổn hại thực vật, động vật hoặc hoặc gây bệnh cho thực vật hoặc sản phẩm thực vật (FAO, 1995; IPPC, 1997).

1.4. Điều kiện khảo nghiệm

Khảo nghiệm phải được tiến hành tại các cơ sở có đủ điều kiện theo quy định hiện hành về khảo nghiệm thuốc bảo vệ thực vật của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

Khảo nghiệm được bố trí trên những ruộng cây ớt thường bị bệnh thán thư gây hại, tại các thời gian có điều kiện thuận lợi cho bệnh phát triển và ở các địa điểm đại diện cho các vùng sinh thái.

Điều kiện trồng trọt (đất, phân bón, giống cây trồng, mật độ trồng...) phải đồng đều trên toàn khu khảo nghiệm và phù hợp với tập quán canh tác tại địa phương.

Các khảo nghiệm trên diện hẹp và diện rộng phải được tiến hành ở ít nhất 2 vùng sản xuất nông nghiệp (phía Bắc và phía Nam) đại diện cho khu vực sản xuất cây ớt.

Trong thời gian khảo nghiệm không được sử dụng bất kỳ một loại thuốc phòng trừ bệnh nào khác trên khu khảo nghiệm (bao gồm cả các công thức và dải phân cách). Nếu khu khảo nghiệm bắt buộc phải sử dụng thuốc để trừ các đối tượng gây hại khác như: sâu, cỏ dại, điều hòa sinh trưởng… thì thuốc được sử dụng để trừ đối tượng này phải không làm ảnh hưởng đến thuốc cần khảo nghiệm, không làm ảnh hưởng đến đối tượng khảo nghiệm và phải được phun rải đều trên tất cả các ô khảo nghiệm, kể cả ô đối chứng. Các trường hợp trên (nếu có) phải được ghi chép lại.

Khi xử lý thuốc không để thuốc ở ô khảo nghiệm này tạt sang ô khảo nghiệm khác.

II. QUY ĐỊNH KỸ THUẬT

2.1. Phương pháp khảo nghiệm

2.1.1. Bố trí công thức khảo nghiệm

Khảo nghiệm được bố trí theo phương pháp khối ngẫu nhiên đầy đủ hoặc theo các phương pháp khác đã được quy định trong thống kê sinh học.

Mỗi khảo nghiệm phải thực hiện theo các công thức sau:

Công thức khảo nghiệm là công thức sử dụng các loại thuốc định khảo nghiệm ở những liều lượng hoặc theo cách sử dụng khác nhau.

Công thức so sánh là công thức sử dụng một loại thuốc phòng trừ bệnh đã được đăng ký trong danh mục thuốc bảo vệ thực vật được phép sử dụng ở Việt Nam và đang được sử dụng phổ biến, có hiệu quả ở địa phương để phòng trừ bệnh thán thư hại cây ớt.

Công thức đối chứng là công thức không sử dụng bất kỳ loại thuốc bảo vệ thực vật nào để phòng phòng trừ bệnh thán thư hại cây ớt. Với khảo nghiệm là thuốc phun: công thức đối chứng được phun bằng nước lã.

2.1.2. Diện tích ô khảo nghiệm và số lần nhắc lại

Khảo nghiệm diện hẹp: Diện tích của mỗi ô khảo nghiệm từ 30 m^2 - 50 m^2, số lần nhắc lại 3 - 4 lần.

Khảo nghiệm diện rộng: Diện tích của mỗi ô khảo nghiệm từ 300 m^2 - 500 m^2, không nhắc lại.

Các ô khảo nghiệm phải có dạng hình vuông hay hình chữ nhật nhưng chiều dài phải không vượt quá hai lần chiều rộng.

Giữa các công thức khảo nghiệm phải có dải phân cách ít nhất là 1 luống cây ớt.

2.2. Tiến hành xử lý thuốc

2.2.1. Lượng thuốc và lượng nước thuốc sử dụng

Lượng thuốc sử dụng được tính bằng kg; lít chế phẩm hoặc gam hoạt chất trên đơn vị diện tích 1 ha.

Với dạng thuốc thương phẩm pha với nước để phun: Lượng nước sử dụng phải theo hướng dẫn cụ thể đối với từng loại thuốc, phù hợp với từng giai đoạn sinh trưởng của cây ớt cũng như cách thức tác động của từng loại thuốc. Trong trường hợp không có khuyến cáo của các tổ chức cá nhân đăng ký về lượng nước thuốc, lượng nước thuốc sử dụng từ 400 - 600 lít/ha.

Các số liệu về lượng thuốc thành phẩm và lượng nước sử dụng (l/ha) phải được ghi rõ.

2.2.2. Dụng cụ xử lý thuốc

Dụng cụ xử lý thuốc: Bình bơm động cơ, bình bơm tay đeo vai, cốc đong, cân, pipet…

Khi xử lý thuốc, phải sử dụng các công cụ phun, rải thuốc thích hợp đảm bảo yêu cầu của khảo nghiệm, ghi chép đầy đủ tình hình vận hành của công cụ phun rải thuốc để đảm bảo yêu cầu kỹ thuật.

2.2.3. Thời điểm và số lần xử lý thuốc

Thời điểm và số lần xử lý thuốc thực hiện đúng theo hướng dẫn sử dụng của từng loại thuốc khảo nghiệm và phù hợp với mục đích khảo nghiệm.

Khi không có khuyến cáo cụ thể thời điểm xử lý thuốc thì tùy theo mục đích khảo nghiệm, các đặc tính hóa học, phương thức tác động của thuốc và đặc điểm sinh trưởng của cây trồng thì số lần xử lý từ 1 - 2 lần cách nhau 5 ngày. Xử lý thuốc lần đầu khi tỷ lệ bệnh khoảng 5%.

2.3. Điều tra và thu thập số liệu

2.3.1. Chỉ tiêu, phương pháp và thời điểm điều tra

2.3.1.1. Chỉ tiêu điều tra

$$+ \text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = \frac{\text{Số quả (lá) bị bệnh}}{\text{Tổng số quả (lá) điều tra}} \times 100$$

$$+ \text{Chỉ số bệnh (\%)} = \frac{9n_9 + 7n_7 + 5n_5 + 3n_3 + n_1}{9\,N} \times 100$$

Trong đó:

n_1: số (quả) lá bị bệnh ở cấp 1 với ≤ 5 % diện tích (quả) lá bị bệnh

n_3: số (quả) lá bị bệnh ở cấp 3 với > 5 - 15% diện tích (quả) lá bị bệnh

n_5: số (quả) lá bị bệnh ở cấp 5 với >15 - 25% diện tích (quả) lá bị bệnh

n_7: số (quả) lá bị bệnh ở cấp 7 với >25 - 50% diện tích (quả) lá bị bệnh

n_9: số (quả) lá bị bệnh ở cấp 9 với > 50% diện tích (quả) lá bị bệnh

N: tổng số (quả) lá điều tra.

(Xem thêm Phân cấp chỉ số bệnh phụ lục 3)

2.3.1.2. Phương pháp điều tra

Mỗi ô chọn 5 điểm cố định nằm trên 2 đường chéo góc (đối với khảo nghiệm diện hẹp) và 10 điểm (đối với khảo nghiệm diện rộng), mỗi điểm điều tra toàn bộ số (quả) lá trên 4 cây cố định, các điểm này nằm cách mép ô khảo nghiệm ít nhất 1 hàng cây ớt.

2.3.1.3. Thời điểm điều tra

Thời điểm và số lần điều tra ngay trước mỗi lần xử lý thuốc và sau lần xử lý thuốc cuối 5, 10 ngày.

2.3.1.4. Xử lý số liệu

Hiệu lực phòng trừ của thuốc phòng trừ bệnh thán thư cây ớt được đánh giá qua tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh tại các lần điều tra.

Các số liệu thu được qua khảo nghiệm diện hẹp phải được xử lý bằng các phương pháp thống kê thích hợp.

2.3.1.5. Đánh giá tác động của thuốc đến cây ớt

Đánh giá ảnh hưởng của thuốc khảo nghiệm (nếu có) đến sự sinh trưởng và phát triển của cây ớt theo thang phân cấp (phụ lục 1).

Những chỉ tiêu có thể đo đếm được phải biểu thị bằng các số liệu cụ thể theo các phương pháp điều tra phù hợp.

Các chỉ tiêu đánh giá được bằng mắt như độ cháy lá, quăn lá, sự thay đổi màu sắc lá… phải mô tả.

Khi thuốc làm ảnh hưởng đến sinh trưởng, phát triển cây ớt phải theo dõi và ghi nhận ngày cây phục hồi trở lại.

2.3.1.6. Quan sát và ghi chép về thời tiết

Ghi chép các số liệu về nhiệt độ, ẩm độ, lượng mưa trong suốt thời gian khảo nghiệm theo số liệu thời tiết tại trạm khí tượng gần nhất.

III. QUY ĐỊNH VỀ QUẢN LÝ THỰC HIỆN

3.1. Báo cáo và công bố kết quả

3.1.1. Đánh giá mức độ độc của thuốc đối với cây trồng (Phụ lục 1)

3.1.2. Nội dung báo cáo (Phụ lục 2)

3.2. Tổ chức quản lý, thực hiện

Đơn vị thực hiện khảo nghiệm phải hoàn toàn chịu trách nhiệm về số liệu đưa ra trong báo cáo và có trách nhiệm lưu giữ số liệu thô của khảo nghiệm.

Căn cứ yêu cầu quản lý, Cục Bảo vệ thực vật có trách nhiệm kiến nghị Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn sửa đổi, bổ sung quy chuẩn này khi cần thiết.

Phụ lục 1

Bảng phân cấp mức độ độc của thuốc khảo nghiệm đối với cây ớt

Cấp	Triệu chứng nhiễm độc
1	Cây chưa có biểu hiện ngộ độc
2	Ngộ độc nhẹ, sinh trưởng của cây giảm nhẹ
3	Có triệu chứng ngộ độc nhẹ nhìn thấy bằng mắt
4	Triệu chứng ngộ độc nhưng chưa ảnh hưởng đến năng suất
5	Cành lá biến màu hoặc cháy, thuốc gây ảnh hưởng đến năng suất
6	Thuốc làm giảm năng suất ít
7	Thuốc gây ảnh hưởng nhiều đến năng suất
8	Triệu chứng ngộ độc tăng dần tới làm chết cây
9	Cây bị chết hoàn toàn

Nếu cây ớt bị ngộ độc thuốc, cần xác định bao nhiêu ngày sau thì phục hồi.

Phụ lục 2
Nội dung chính cho bản báo cáo khảo nghiệm

1. Tên khảo nghiệm
2. Yêu cầu của khảo nghiệm
3. Điều kiện khảo nghiệm:
   - Đơn vị khảo nghiệm
   - Tên cán bộ tiến hành khảo nghiệm
   - Thời gian khảo nghiệm
   - Địa điểm khảo nghiệm
   - Nội dung khảo nghiệm
   - Đặc điểm khảo nghiệm
   - Đặc điểm đất đai, canh tác, giống cây trồng …
   - Đặc điểm thời tiết trong quá trình khảo nghiệm
   - Tình hình phát sinh và phát triển của bệnh hại cây ớt trong khu thí nghiệm
4. Phương pháp khảo nghiệm:
   - Công thức khảo nghiệm
   - Phương pháp bố trí khảo nghiệm
   - Số lần nhắc lại
   - Kích thước ô khảo nghiệm
   - Dụng cụ phun, rải thuốc
   - Lượng thuốc sử dụng kg, lít thuốc thương phẩm/ha hay g(kg) hoạt chất/ha
   - Lượng nước thuốc sử dụng (l/ha)
   - Ngày xử lý thuốc
   - Phương pháp điều tra và đánh giá hiệu lực của các loại thuốc khảo nghiệm
5. Kết quả khảo nghiệm:
   - Các bảng số liệu
   - Đánh giá hiệu lực của từng loại thuốc
   - Nhận xét tác động của từng loại thuốc đến cây ớt và các ảnh hưởng khác (xem phụ lục)

6. Kết luận: Nhận xét về hiệu lực và ảnh hưởng của thuốc khảo nghiệm đối với cây ớt phải căn cứ vào số liệu thu được

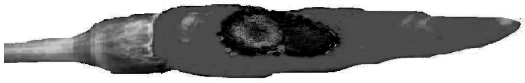
Phụ lục 3

Phân cấp chỉ số bệnh thán thư hại cây ớt

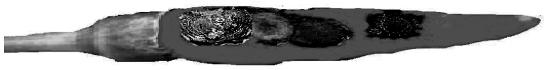
Cấp 1: ≤ 5% diện tích quả bị bệnh

Cấp 3: > 5 - 15% diện tích quả bị bệnh

Cấp 5: > 15 - 25% diện tích quả bị bệnh



Cấp 7: > 25 - 50% diện tích quả bị bệnh



Cấp 9: > 50% diện tích quả bị bệnh

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN 01-161:2014/BNNPTNT

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ QUY TRÌNH GIÁM ĐỊNH BỆNH THỐI LOÉT CÀ CHUA *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis* (Smith) Davis *et al.* LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of tomato canker (Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et al.) - Plant Quarantine pest of Vietnam

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-161:2014/BNNPTNT do Trung tâm giám định Kiểm dịch thực vật biên soạn, Cục Bảo vệ thực vật trình duyệt, Bộ Nông nghiệp & PTNT ban hành tại Thông tư số 16/2014/TT-BNNPTNT ngày 05 tháng 6 năm 2014.

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ QUY TRÌNH GIÁM ĐỊNH BỆNH THỐI LOÉT CÀ CHUA *Clavibacter michiganensis* subsp*. michiganensis* (Smith) Davis *et al.* LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of tomato canker (Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et al.) - Plant Quarantine pest of Vietnam

I. QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này quy định quy trình giám định bệnh thối loét cà chua (*Clavibacter michiganensis* subsp*. michiganensis* (Smith) Davis *et a*l.) là dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I của Việt Nam

1.2.Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng đối với các tổ chức, cá nhân Việt Nam hoặc nước ngoài có hoạt động liên quan đến lĩnh vực bảo vệ và kiểm dịch thực vật thực hiện giám định bệnh thối loét cà chua (*Clavibacter michiganensis* subsp*. michiganensis* (Smith) Davis *et a*l.) là dịch hại kiểm dịch thực vật (KDTV) nhóm I thuộc Danh mục dịch hại KDTV của Việt Nam**.**

1.3. Giải thích từ ngữ

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

1.3.1. Dịch hại kiểm dịch thực vật (plant quarantine pest)

Là loài dịch hại có nguy cơ gây hại nghiêm trọng tài nguyên thực vật trong một vùng mà ở đó loài sinh vật này chưa xuất hiện hoặc xuất hiện có phân bố hẹp và phải được kiểm soát chính thức.

1.3.2. Thực vật (plant)

Là cây và những bộ phận của cây còn sống, kể cả hạt giống và sinh chất có khả năng làm giống.

1.3.3. Mẫu (sample)

Là khối lượng thực vật, sản phẩm thực vật hoặc tàn dư của sản phẩm thực vật được lấy ra theo một quy tắc nhất định.

1.3.8. Tiêu bản (specimen)

Là mẫu vật điển hình tiêu biểu của dịch hại được xử lý để dùng cho việc định loại, nghiên cứu, giảng dạy, phổ biến kỹ thuật và trưng bày thành các bộ sưu tập.

1.3.9. **Xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzyme ((Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay - ELISA) hay (Enzyme Immuno Assay - EIA)**

Là một kỹ thuật sinh hóa để phát hiện kháng thể hay kháng nguyên trong mẫu cần phân tích.

1.3.10. Phản ứng chuỗi trùng hợp hoặc phản ứng khuếch đại gen (Polymerase Chain Reaction - PCR)

Là một kỹ thuật trong sinh học phân tử nhằm khuếch đại (tạo ra nhiều bản sao) một đoạn DNA mà không cần sử dụng các sinh vật sống

II. QUY ĐỊNH KỸ THUẬT

2.1. Phương pháp thu thập và bảo quản mẫu

2.1.1.Thu thập mẫu

Đối với hàng xuất, nhập khẩu, quá cảnh hoặc vận chuyển, bảo quản trong nước: Tiến hành lấy mẫu theo tiêu chuẩn gia TCVN 4731:89[1] "Kiểm dịch thực vật - phương pháp lấy mẫu", quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-21:2010/BNNPTNT[1] "Phương pháp kiểm tra củ, quả xuất nhập khẩu và quá cảnh", QCVN 01-23:2010/BNNPTNT[1] "Phương pháp kiểm tra các loại hạt xuất, nhập khẩu và quá cảnh", QCVN 01-22:2010/BNNPTNT[1] "Phương pháp kiểm tra cây xuất nhập khẩu và quá cảnh".

Đối với cây trồng ngoài đồng ruộng: Lấy mẫu theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-38/2010/BNNPTNT[1] về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng

2.1.2. Bảo quản mẫu

Các bộ phận tươi có triệu chứng bệnh (cành, lá, thân, quả...) chứa trong các túi ni-lông có lỗ thông khí bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 3 - 5°C.

Mẫu hạt được chứa trong các túi ni-lông hoặc hộp nhựa kín và bảo quản ở nhiệt độ phòng.

2.2. Thiết bị, dụng cụ, hóa chất

Máy ly tâm, máy lắc, tủ sấy, tủ định ôn, cân điện tử, máy ủ, máy rửa, bể ổn nhiệt, hệ thống ELISA, PCR, máy điện di, hệ thống chụp ảnh, tủ lạnh và tủ âm sâu.

Bộ dao, kim giải phẫu, panh, kéo, bộ micro pipet, túi ni-lông, bản ELISA

Đèn cồn, đĩa petri, ống hút, lam, lamen, cốc đong, giấy parafilm.

Na_2CO_3, $NaHCO_3$, NaN_3, NaCl, KCl, $MgCl_2.6H_2O$, $HN(CH_2CH_2OH)_2$, $MgSO_4.7H_2O$, KH_2PO_4, K_2HPO_4, Na_2HPO_4, NaOH,

Cồn tuyệt đối, cồn 70% nước cất vô trùng, Tween 20, glycerol, ethylium bromide, agarose, cycloheximide. môi trường NGA (Nutrient Glucose Agar) hoặc YPGA (Yeast Peptone Glucose Agar). Kít PCR, kháng thể

2.3. Phương pháp phát hiện và giám định bệnh

2.3.1. Phát hiện và thu thập mẫu bệnh

Trên lá, vết bệnh ban đầu là những đốm màu xanh nhợt có dạng giọt dầu ở phần phiến lá giữa các gân lá. Các vết này nhanh chóng khô đi tạo ra các vết chết hoại có màu trắng hoặc màu nâu (hình 1, phụ lục 1). Khi bệnh từ phiến lá xâm nhiễm vào hệ thống mạch dẫn một số lá chét ở một phía của lá kép bị héo rũ (hình 2, phụ lục 1).

---

[1] Trường hợp các văn bản viện dẫn trong quy chuẩn này sửa đổi, bổ sung hoặc thay thế thì thực hiện theo quy định của văn bản mới.

Trên thân cây, triệu chứng bệnh có thể là các sọc vàng, đôi khi thân bị nứt dọc theo các đốt thân (hình 3, phụ lục 1). Bó mạch của các cây nhiễm bệnh có màu vàng sậm hoặc nâu (hình 4, phụ lục 1).

Trên quả, triệu chứng thường bắt đầu từ những đốm nhỏ hơi lồi lên, vết bệnh có viền hoặc quầng trắng. Các vết bệnh phát triển to ra và có màu nâu ở tâm vết bệnh tạo ra dạng "mắt chim" (hình 5, phụ lục 1).

Trên hạt, bệnh không biểu hiện triệu chứng.

2.3.2. Phân lập vi khuẩn

2.3.2.1. Tách chiết vi khuẩn

Tách chiết vi khuẩn từ mô cây (lá, thân, quả): Cắt một đoạn mô cây đã được khử trùng bề mặt bằng cồn 70^0 ngâm trong nước cất vô trùng 30 phút hoặc nghiền nhỏ mô cây trong nước cất vô trùng.

Tách chiết vi khuẩn từ hạt: Lượng mẫu tối thiểu để tách chiết là 2.000 hạt (khoảng 7g). Hạt được cho vào bình tam giác có chứa 20ml dịch chiết hạt (phụ lục 2) và lắc mạnh bằng tay trong 20 - 30 giây. Sau đó, đưa bình tam giác có dịch chiết hạt lên máy lắc và lắc trong 36 - 48 giờ với tốc độ 150 vòng/phút.

2.3.2.2. Phân lập vi khuẩn trên môi trường nhân tạo

Trải đều 1ml dịch chiết thu được từ mô cây hoặc từ hạt trên môi trường bán đặc hiệu và nuôi cấy ở 26°C trong 8 ngày. Theo dõi sự xuất hiện của khuẩn lạc. Khuẩn lạc của vi khuẩn *C. michiganensis* subsp*. michiganensis* có màu vàng sáng, phồng, có dạng tròn đôi khi có dạng bất định.

Các khuẩn lạc điển hình được cấy truyền trên môi trường NGA (Nutrient Glucose Agar) hoặc YPGA (Yeast Peptone Glucose Agar)

2.3.3. Giám định bằng phương pháp ELISA (chỉ áp dụng đối với mẫu quả, cây, vi khuẩn nuôi cấy trên môi trường nhân tạo)

2.3.3.1. Chuẩn bị dịch mẫu

Mẫu mô cây (quả, thân, lá): lấy một mẫu nhỏ mô cây (quả hoặc thân hoặc lá) ngâm trong 1ml nước cất khoảng 15 - 20 phút. Sau đó nước chứa vi khuẩn được ly tâm 13.000 vòng/phút trong 5 phút thu tủa vi khuẩn. Hòa tan tủa vi khuẩn thu được trong 1ml dung dịch đệm chiết mẫu (phụ lục 2).

Đối với vi khuẩn nuôi cấy trên môi trường nhân tạo: Hòa tan một phần khuẩn lạc trong 1ml dung dịch đệm chiết mẫu.

2.3.3.2. Quy trình giám định bằng phương pháp ELISA

Nhỏ vào mỗi giếng ELISA 100µl dịch mẫu đã chuẩn bị. Bọc bản giếng bằng túi ni-lông ủ ở 37°C qua đêm (khoảng 4 - 6 giờ). Sau đó, nhỏ thêm vào mỗi giếng 200µl dung dịch đệm cố định mẫu (phụ lục 2). Bọc bản giếng bằng túi ni-lông ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng. Rửa giếng bằng đệm rửa (phụ lục 2) ba lần sau đó loại sạch đệm rửa bằng cách vỗ nhẹ bản giếng trên giấy thấm. Thêm vào mỗi giếng 100µl kháng thể. Bọc bản giếng bằng túi ni-lông ủ 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Rửa giếng bằng đệm rửa tám lần sau đó loại sạch đệm rửa bằng cách vỗ nhẹ bản giếng trên giấy thấm.

Thêm vào mỗi giếng 100µl Enzym gắn. Bọc bản giếng bằng túi ni-lông ủ 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Rửa giếng bằng đệm rửa tám lần sau đó loại sạch đệm rửa bằng cách vỗ nhẹ bản giếng trên giấy thấm. Thêm vào mỗi giếng 100µl đệm cơ chất (phụ lục 2). Ủ 1 giờ ở nhiệt độ phòng.

Đọc kết quả bằng mắt thường hoặc bằng máy đọc ở bước sóng 405nm.

2.3.4. Giám định bằng phương pháp PCR

2.3.4.1. Tách chiết DNA

Tách chiết DNA từ vi khuẩn đã phân lập (xem mục 2.3.2.2): Dùng que cấy vi khuẩn lấy một khuẩn lạc trên môi trường cho vào ống eppendorf đã chứa 100µl nước cất vô trùng khuấy đều để hòa tan khuẩn lạc. Tiếp theo để ống eppendorf ở nhiệt độ 95°C trong 15 phút trong bể ổn nhiệt sau đó đặt ngay lên đá lạnh. Ly tâm dịch vi khuẩn trong 5 - 10 giây.

Tách chiết DNA từ dịch vi khuẩn (xem mục 2.3.2.1): Cho 100µl dịch chiết vi khuẩn vào ống eppendorf và để ở nhiệt độ 95°C trong 15 phút trong bể ổn nhiệt sau đó đặt ngay lên đá lạnh. Tiếp theo, ly tâm dịch chiết trong 5 - 10 giây.

2.3.4.2. Quy trình giám định bằng PCR

Đoạn mồi sử dụng

PSA-4: 5′-TCA TTG GTC AAT TCT GTC TCC C -3′

PSA-R: 5′-TAC TGA GAT GTT TCA CTT CCC C -3′

Chu trình nhiệt :

<table>
<tr><td colspan="2">94°C trong 2,5 phút</td></tr>
<tr><td>94°C trong 30 giây</td><td rowspan="3">Lặp lại 30 chu kỳ</td></tr>
<tr><td>63°C trong 20 giây</td></tr>
<tr><td>72°C trong 45 giây</td></tr>
<tr><td colspan="2">72°C trong 10 phút</td></tr>
</table>

Đọc kết quả sản phẩm được điện di bằng gel agarose 2% trong đệm TAE, nhuộm bản gel trong dung dịch ethydium bromide và quan sát dưới đèn UV.

Mẫu dương tính cho đoạn gen kích thước 270bp.

III. THẨM ĐỊNH KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH VÀ BÁO CÁO

Sau khi khẳng định kết quả giám định bệnh thối loét cà chua *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al. là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam, đơn vị giám định phải gửi báo cáo về Cục Bảo vệ thực vật kèm theo phiếu kết quả giám định (phụ lục 3).

Đối với đơn vị lần đầu tiên giám định và phát hiện được bệnh thối loét cà chua (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.) phải gửi mẫu hoặc tiêu bản về Trung tâm Giám định kiểm dịch thực vật để thẩm định.

Tất cả các đơn vị thuộc hệ thống Bảo vệ và KDTV phải lưu giữ, quản lý và khai thác dữ liệu về kết quả điều tra, báo cáo và giám định bệnh thối loét cà chua là dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I của Việt Nam.

Đơn vị giám định phải đảm bảo thời gian lưu mẫu theo quy định hiện hành.

IV. TỔ CHỨC THỰC HIỆN

Cục Bảo vệ thực vật có trách nhiệm phổ biến; tổ chức, hướng dẫn và kiểm tra việc thực hiện Quy chuẩn này trong hệ thống tổ chức chuyên ngành Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật cũng như các tổ chức, cá nhân khác có liên quan;

Các tổ chức, cá nhân có hoạt động liên quan đến điều tra, thu thập mẫu, xử lý và bảo quản mẫu bệnh thối loét cà chua tại Việt Nam phải tuân theo quy định của quy chuẩn này cũng như các quy định của pháp luật có liên quan hiện hành.

Phụ lục 1
Thông tin về dịch hại

1. Phân bố và ký chủ

1.1. Phân bố

Trong nước: Bệnh chưa có ở Việt Nam

Trên thế giới: Châu Á *(Israel, Thổ Nhĩ Kì, Armenia, Azerbaijan, Trung Quốc, Ấn độ, Indonesia, Iran; Nhật Bản, Hàn Quốc, Syria), Châu Phi (Nam Phi, Ai Cập, Kenya, Madagascar, Togo, Uganda, Zambia, Morocco, Tanzania; Tunisia; Zimbabwe),* Châu Mỹ *(Canada, Hoa Kì, Uruguay, Costa Rica, Cuba, Dominica, Dominican Republic, Grenada; Guadeloupe, Panama; Argentina, Brazil bang Pernambuco, Sao Paulo, Colombia, Peru, Chile, Ecuador),* Châu Âu *(Pháp, Hy Lạp, Liên bang Nga, Thuỵ Sỹ, Cộng hòa Séc, Lithuania, Hà Lan, Belarus, Ba Lan, Romania, Tây Ba Nha, Bulgaria, Cyprus, Đức, Hungary, Italy, Serbia, Slovenia, Ukraine, Liên bang Nam Tư…)* và Châu Đại Dương *(Australia, New Zealand).*

1.2. Ký chủ: Ký chủ chính là cây Cà chua *Solanum lycopersicum*, ngoài ra còn gây hại trên ớt ngọt *Capsicum annuum* ký chủ dại họ cà như *Solanum douglasii*, S. *nigrum* and S. *triflorum* (Bradbury, 1986)

2. Tên khoa học và vị trí phân loại

- Tên tiếng Việt:

Bệnh thối loét cà chua

- Tên khoa học:

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et a*l.

- Tên khác:

Corynebacterium michiganense pv. *michiganense* (Smith) Dye & Kemp

Corynebacterium michiganense (Smith) Jensen

- Vị trí phân loại:

Lớp: Actinobacteria.

Bộ: Actinomycetales

Họ: Microbacteriaceae

Giống: Clavibacter

C. michiganensis subsp. *michiganensis* là một vi khuẩn hảo khí, hình gậy cong, không di động, gram dương.

3. Triệu chứng bệnh thối loét cà chua

Hình 1. Triệu chứng trên lá của bệnh thối loét cà chua
(Nguồn: CABI,2012)

Hình 2. Triệu chứng héo lá một bên của bệnh thối loét cà chua
(Nguồn: CABI,2012)

Hình 3. Triệu chứng vỡ thân của bệnh thối loét cà chua
(Nguồn: CABI,2012)

Hình 4. Triệu chứng trên bó mạch của bệnh thối loét cà chua
(Nguồn: CABI,2012)

Hình 5. Triệu chứng trên quả của bệnh thối loét cà chua
(Nguồn: CABI,2012)

4. Đặc điểm vi khuẩn gây bệnh thối loét cà chua

C. michiganensis subsp. *michiganensis* là một vi khuẩn hảo khí, gram dương, hình gậy cong, không di động.

Vi khuẩn phát triển chậm trên môi trường nutrient gluco agar (NGA) hoặc yeast peptone glucose agar (YPGA), khuẩn lạc có màu vàng, tròn, sáng, mịn.

Phụ lục 2

1. Dịch chiết hạt

Na_2HPO_4 : 4,26 g

KH_2PO_4 : 2,72 g

Nước cất : 1000ml

pH : 7,0

Hòa tan các thành phần trên vào 1.000 ml nước cất khử trùng ở 121°C trong 15 phút. Khử trùng Tween 20 riêng rẽ để nguội tới 60°C. Thêm Tween 20 với nồng độ 0.02%.

Thêm vào 200mg cycloheximide (1.0 ml dung dịch 200 mg/ml trong 70% ethanol)

2. Dung dịch đệm chiết mẫu

Na_2CO_3 : 1,59g

$NaHCO_3$: 2,93g

NaN_3 : 0,2g

Hòa tan các thành phần trên trong 1000ml nước cất, chỉnh pH 9,6 bảo quản ở 4^0C.

3. Dung dịch đệm rửa

NaCl : 8,0g

Na_2HPO_4 : 1,15g

KH_2PO_4 : 0,2g

KCl : 0,2g

Tween-20 : 0,5g

Hòa tan các thành phần trên trong 1000ml nước cất, chỉnh pH 7,4

4. Dung dịch đệm cố định mẫu

Na_2HPO_4 : 1,15g

KCl : 0,2g

KH_2PO_4 : 0,2g

NaCl : 8,0g

NaN_3 : 0,2g

Hòa tan các thành phần trên trong 930ml nước cất, chỉnh pH 7,4 thêm nước cất cho đủ 1000ml. Trước khi dùng cho thêm 5g sữa khô không béo/lít đệm đã pha.

5. Dung dịch đệm cơ chất

$MgCl_2.6H_2O$: 0,1g

NaN_3 : 0,2g

$HN(CH_2CH_2OH)_2$: 97ml

Hòa tan trong 800ml nước chỉnh pH về 9,8. Thêm nước cất cho đủ 1000ml. Bảo quản ở 4^0C. Trước khi dùng thêm viên cơ chất để đạt nồng độ 1mg/ml.

Phụ lục 3
(quy định)
Mẫu phiếu kết quả giám định

Cơ quan Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật	**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM** **Độc lập - Tự do - Hạnh phúc** *** *..... ngày... tháng... năm 20…..*

PHIẾU KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH
Bệnh thối loét cà chua *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et a*l. **- là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam**

1. Tên hàng hóa :
2. Nước xuất khẩu :
3. Xuất xứ :
4. Phương tiện vận chuyển : Khối lượng:
5. Địa điểm lấy mẫu :
6. Ngày lấy mẫu :
7. Người lấy mẫu :
8. Tình trạng mẫu :
9. Ký hiệu mẫu :
10. Số mẫu lưu :
11. Người giám định :
12. Phương pháp giám định : Theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-161: 2014/BNNPTNT về "Quy trình giám định bệnh thối loét cà chua *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et al.* là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam".
13. Kết quả giám định :

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et al*.

Lớp: Actinobacteria.
Bộ: Actinomycetales
Họ: Microbacteriaceae
Giống: Clavibacter

Là dịch hại kiểm dịch thực vật thuộc danh mục dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

TRƯỞNG PHÒNG KỸ THUẬT *(Hoặc người giám định)* *(Ký, ghi rõ họ và tên)*	**THỦ TRƯỞNG ĐƠN VỊ** *(Ký, ghi rõ họ và tên, đóng dấu)*

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN 01-162:2014/BNNPTNT

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ QUY TRÌNH GIÁM ĐỊNH BỌ TRĨ CAM (*Scirtothrips aurantii* Faure) LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of South African citrus thrips (Scirtothrips aurantii* Faure*) - Plant quarantine pest of Vietnam

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-162:2014/BNNPTNT do Trung tâm Giám định Kiểm dịch thực vật biên soạn, Cục Bảo vệ thực vật trình duyệt, Bộ Nông nghiệp & PTNT ban hành tại Thông tư số 16/2014/TT-BNNPTNT ngày 05 tháng 6 năm 2014.

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ QUY TRÌNH GIÁM ĐỊNH BỌ TRĨ CAM (*Scirtothrips aurantii* Faure) LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of South African citrus thrips (Scirtothrips aurantii* Faure*) - Plant quarantine pest of Vietnam

I. QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này áp dụng thống nhất trên phạm vi toàn quốc cho việc giám định bọ trĩ cam (*Scirtothrips aurantii* Faure) là dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I của Việt Nam.

1.2. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng đối với mọi tổ chức, cá nhân Việt Nam hoặc nước ngoài có hoạt động liên quan đến lĩnh vực bảo vệ và kiểm dịch thực vật (viết tắt là KDTV) tại Việt Nam thực hiện giám định bọ trĩ cam (*Scirtothrips aurantii* Faure) là dịch hại KDTV nhóm I thuộc Danh mục dịch hại KDTV của Việt Nam ban hành kèm theo Quyết định số 73/2005/QĐ-BNN ngày 14/11/2005 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

1.3. Giải thích từ ngữ

Những thuật ngữ trong quy chuẩn này được hiểu như sau:

1.3.1. Dịch hại kiểm dịch thực vật (plant quarantine pest)

Là loài sinh vật hại có nguy cơ gây hại nghiêm trọng tài nguyên thực vật trong một vùng mà ở đó loài sinh vật này chưa xuất hiện hoặc xuất hiện có phân bố hẹp và được kiểm soát chính thức.

1.3.2. Côn trùng (insect)

Là động vật không xương sống thuộc ngành chân đốt, cơ thể pha trưởng thành gồm 3 phần: đầu, ngực và bụng. Ngực mang 3 đôi chân.

1.3.3. Mẫu (sample)

Là khối lượng thực vật, sản phẩm thực vật, tàn dư của sản phẩm thực vật hoặc đất được lấy ra theo một quy tắc nhất định.

1.3.4. Tiêu bản (specimen)

Là mẫu vật điển hình tiêu biểu của dịch hại được xử lý để dùng cho việc định loại, nghiên cứu, giảng dạy, phổ biến kỹ thuật và trưng bày thành các bộ sưu tập.

II. QUY ĐỊNH KỸ THUẬT

2.1. Phương pháp thu thập và bảo quản mẫu

2.1.1. Thu thập mẫu

- Đối với hàng hóa xuất, nhập khẩu, quá cảnh hoặc vận chuyển, bảo quản trong nước: Tiến hành lấy mẫu theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4731:89[1] "Kiểm dịch thực vật - Phương pháp lấy mẫu", quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-21:2010/BNNPTNT[1] "Phương pháp kiểm tra củ, quả xuất nhập khẩu và quá cảnh"; QCVN 01-22:2010/BNNPTNT[1] "Phương pháp kiểm tra cây xuất nhập khẩu và quá cảnh".

- Đối với cây trồng ngoài đồng ruộng: Lấy mẫu theo phương pháp của quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-38:2010/BNNPTNT[1] "Phương pháp điều tra phát hiện sinh vật hại cây trồng".

2.1.2. Bảo quản mẫu giám định

Mẫu giám định chưa làm tiêu bản được ngâm trong cồn 70%.

2.2. Dụng cụ, hóa chất phục vụ làm tiêu bản và giám định

- Kính lúp soi nổi, kính hiển vi, bàn gia nhiệt.

- Đèn cồn, ống nghiệm, đĩa petri, lọ nút mài, ống nhỏ giọt, kim côn trùng, lam, lamen, bút lông, đũa thủy tinh.

- Dung dịch NaOH hoặc KOH 5%, cồn 70%, nước cất.

- Keo Hoyer's để cố định mẫu (phụ lục 1).

2.3. Phương pháp làm tiêu bản mẫu giám định

Tiêu bản giám định được thực hiện với trưởng thành bọ trĩ cam theo phương pháp sau:

- Ngâm mẫu bọ trĩ trong dung dịch KOH 5% ở nhiệt độ phòng trong thời gian 1 giờ đối với mẫu nhạt màu, 4 - 5 giờ đối với mẫu đậm màu.

- Rửa mẫu bằng nước cất sau đó rửa lại bằng cồn 70% 2 - 3 lần để loại bỏ KOH.

- Nhỏ 1 giọt keo Hoyer's lên chính giữa lam. Dùng kim côn trùng đặt mẫu trưởng thành vào trong giọt Hoyer's, luồn mũi kim xuống phía dưới cánh, đẩy cánh trước và cánh sau tách ra không xếp chồng lên nhau. Đậy lamen lên trên, tránh tạo bọt khí.

- Mẫu lam được sấy trên bàn gia nhiệt ở nhiệt độ 40°C trong 6 - 8 giờ.

2.4. Trình tự giám định

Quan sát mẫu tiêu bản trên kính lúp hiển vi lần lượt các đặc điểm sau:

- Hình dạng râu đầu, số đốt râu.

- Các lông phía đầu.

- Các lông trên ngực giữa.

- Các lông trên đường vân cánh trước.

---

[1] Trường hợp các văn bản viện dẫn trong quy chuẩn này sửa đổi, bổ sung hoặc thay thế thì thực hiện theo quy định của văn bản mới.

- Hàng lông nhỏ phía cuối các đốt bụng.

- Vệt tối màu ở giữa các đốt bụng.

2.5. Đối chiếu kết quả quan sát với đặc điểm hình thái của bọ trĩ cam (*Scirtothrips aurantii* Faure*)* (phụ lục 2)

Thông thường, số lượng cá thể nghiên cứu phải đảm bảo là 30 (n=30). Trong trường hợp số lượng cá thể ít hơn hoặc chỉ phát hiện duy nhất một cá thể trưởng thành có các đặc điểm nhận dạng như trên có thể cho phép kết luận là *Scirtothrips aurantii* Faure (chỉ áp dụng đối với các đơn vị đã từng giám định được *Scirtothrips aurantii* Faure).

2.6. Thẩm định kết quả giám định và báo cáo

Sau khi khẳng định kết quả giám định là bọ trĩ cam (*Scirtothrips aurantii* Faure) thuộc danh mục dịch hại KDTV nhóm I của Việt Nam, đơn vị giám định phải gửi báo cáo về Cục Bảo vệ thực vật kèm theo phiếu kết quả giám định (phụ lục 2).

Tất cả các đơn vị thuộc hệ thống Bảo vệ và KDTV phải lưu giữ, quản lý và khai thác dữ liệu về kết quả điều tra, báo cáo và giám định bọ trĩ cam.

Đối với đơn vị lần đầu tiên giám định và phát hiện được bọ trĩ cam phải gửi mẫu hoặc tiêu bản về Trung tâm Giám định kiểm dịch thực vật để thẩm định và báo cáo Cục Bảo vệ thực vật trước khi công bố và xử lý dịch theo quy định của pháp luật hiện hành.

Đơn vị giám định phải lưu mẫu theo Quy chuẩn kỹ thuật hiện hành về thời gian để giải quyết khiếu nại về kết quả giám định (nếu có).

III. TỔ CHỨC THỰC HIỆN

Cục Bảo vệ thực vật có trách nhiệm phổ biến, tổ chức, hướng dẫn và kiểm tra việc thực hiện Quy chuẩn này trong hệ thống tổ chức chuyên ngành Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật cũng như các tổ chức, cá nhân khác có liên quan.

Các tổ chức, cá nhân có hoạt động liên quan đến điều tra, thu thập, xử lý và bảo quản mẫu bọ trĩ cam (*Scirtothrips aurantii* Faure) là dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I tại Việt Nam phải tuân theo quy định của quy chuẩn này cũng như các quy định của pháp luật có liên quan hiện hành.

Phụ lục 1
Cách pha dung dịch Hoyer's

Thành phần keo Hoyer's:

Gum Arabic	: 15g
Chloral hydrate	: 75g
Nước cất	: 25ml
Glycerin	: 5ml

Cách pha Hoyer's: Cho gum Arabic vào nước cất, khuấy đều đến khi tan hết, cho chloral hydrate và để hỗn hợp hòa tan hoàn toàn. Cuối cùng cho glycerin vào hỗn hợp và khuấy đều.

Phụ lục 2
Thông tin về dịch hại

1. Phân bố và ký chủ

- Phân bố: Bọ trĩ cam có phân bố ở châu Á (Yemen), châu Phi (Angola, Ai Cập, Cape Verde, Kenya, Malawi, Mauritius, Nigeria, Nam Phi, Senegal, Sudan, Swaziland, Tanzania, Uganda, Zimbabwe), Châu Úc (Úc).

- Ký chủ: Ký chủ chính của bọ trĩ cam là cây trồng thuộc giống *Citrus* (cam, chanh…), ngoài ra loài này còn gây hại trên xoài (*Mangifera indica*), chè (*Camellia sinensis*), chuối (*Musa paradisiaca*) và nhiều loại cây trồng khác.

2. Tên khoa học và vị trí phân loại

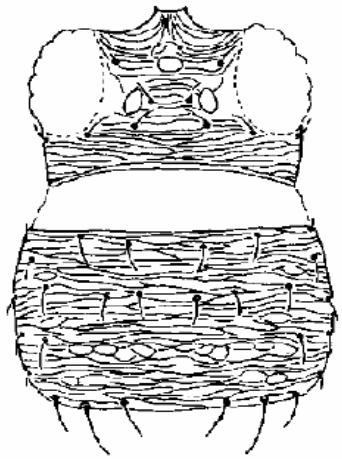
- Tên khoa học : *Scirtothrips aurantii* Faure
- Tên tiếng Việt : Bọ trĩ cam
- Tên khác : *Scirtothrips acaciae* Moulton
- Vị trí phân loại :

Ngành : Arthropoda
Lớp : Insecta
Bộ : Thysanoptera
Họ : Thripidae
Giống : *Scirtothrips*

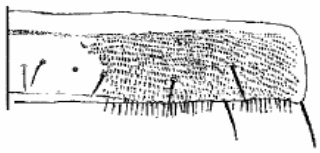
3. Đặc điểm chung của giống *Scirtothrips*

Trưởng thành bọ trĩ giống *Scirtothrips* có các đặc điểm phân biệt với các giống khác thuộc họ Thripidae như sau:

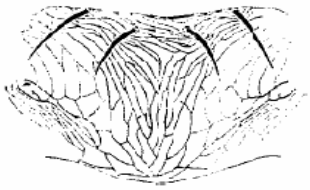
- Ngực có nhiều lông cứng xếp thẳng hàng (Hình 1a).
- Phía mép các đốt bụng trước có nhiều lông nhỏ xếp song song thành hàng (Hình 1b).
- Phía giữa các đốt bụng sau có lông cứng.
- Phía mép trên ngực giữa có hai đôi lông cứng (Hình 1c).



1a



1b



1c

Hình 1. Đặc điểm giống *Scirtothrips (Nguồn: EPPO PM7/56)*

4. Đặc điểm nhận dạng bọ trĩ cam (*Scirtothrips aurantii* Faure) - dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I của Việt Nam

- Trưởng thành cái:

+ Râu đầu có 8 đốt, 2 đốt cuối nhỏ, thót lại (Hình 2a).

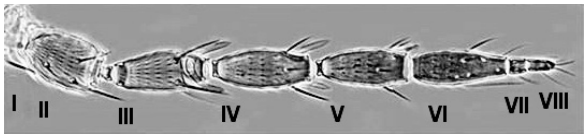
+ Đôi lông III nằm dưới mắt đơn trên cùng, nằm trong hình tam giác nối giữa 3 mắt đơn (Hình 2b).

+ Phía mép ngực giữa có hai đôi lông cứng (Hình 2c).

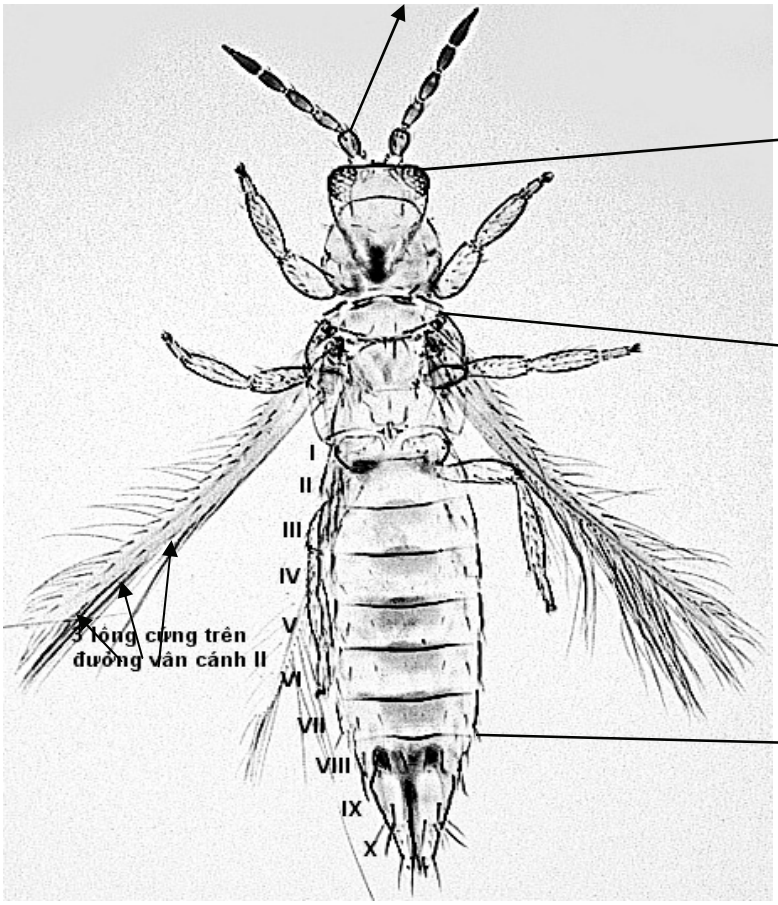
+ Trên đường vân thứ 2 của cánh trước có 3 lông cứng (Hình 2d).

+ Mép giữa các đốt bụng màu nâu đậm, xung quanh mép có các vệt màu nâu (Hình 2d).

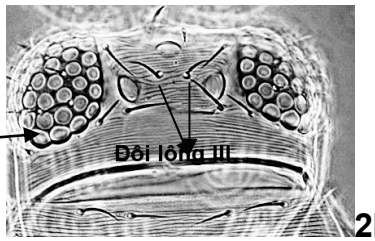
+ Đốt bụng VIII có một hàng lông nhỏ song song chạy thành một đường liền giữa 2 mép ngoài (Hình 2e), ở đốt bụng IX không có hàng lông này.



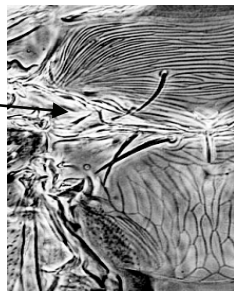
2a



2d

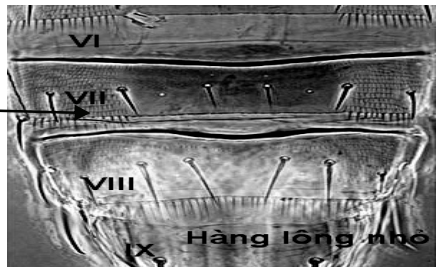


2b



2c

2e

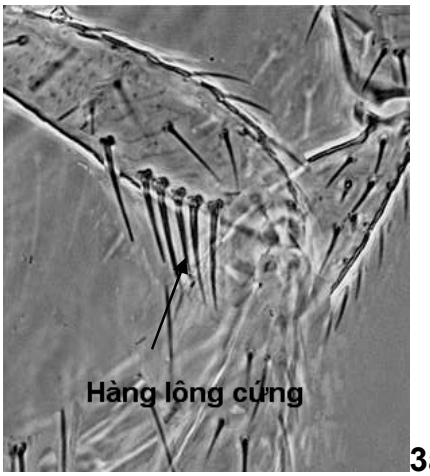


Hình 2. Trưởng thành cái *Scirtothrips aurantii*
(Nguồn: EPPO PM7/56)

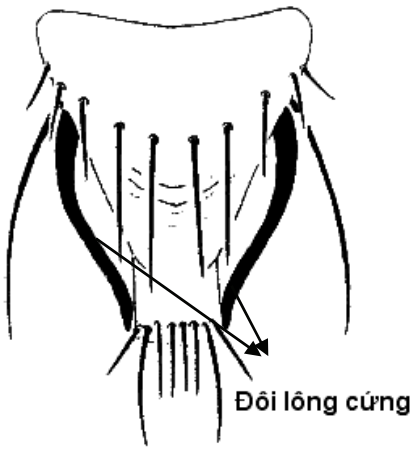
- Trưởng thành đực:

+ Đốt đùi chân sau có hàng lông cứng (Hình 3a).

+ Phía bên đốt bụng IX có một đôi lông cứng uốn cong, đậm màu (Hình 3b).



3a



3b

Hình 3. Trưởng thành đực *Scirtothrips aurantii*

(Nguồn: EPPO PM7/56)

Phụ lục 3
(quy định)
Mẫu phiếu kết quả giám định

Cơ quan Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật ……..	**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM** **Độc lập - Tự do - Hạnh phúc** ***

....., ngày... tháng... năm 20....

PHIẾU KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH
Bọ trĩ cam (*Scirtothrips aurantii* Faure) là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam

1. Tên hàng hóa :
2. Nước xuất khẩu :
3. Xuất xứ :
4. Phương tiện vận chuyển : Khối lượng:
5. Địa điểm lấy mẫu :
6. Ngày lấy mẫu :
7. Người lấy mẫu :
8. Tình trạng mẫu :
9. Ký hiệu mẫu :
10. Số mẫu lưu :
11. Người giám định :

12. Phương pháp giám định: Theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-162:2014/BNNPTNT về "Quy trình giám định bọ trĩ cam (*Scirtothrips aurantii* Faure) là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam".

13. Kết quả giám định :

Tên khoa học :

Họ : Thripidae

Bộ : Thysanoptera

Là dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I thuộc danh mục dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

TRƯỞNG PHÒNG KỸ THUẬT *(Hoặc người giám định)* *(Ký, ghi rõ họ và tên)*	**THỦ TRƯỞNG ĐƠN VỊ** *(Ký, ghi rõ họ và tên đóng dấu)*

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN 01-163:2014/BNNPTNT

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ QUY TRÌNH GIÁM ĐỊNH CÂY KẾ ĐỒNG [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of Canada thistle* [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] *- Plant quarantine pest of Vietnam

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-163:2014/BNNPTNT do Trung tâm Giám định biên soạn, Cục Bảo vệ thực vật trình duyệt, Bộ Nông nghiệp & PTNT ban hành tại Thông tư số 16/2014/TT-BNNPTNT ngày 05 tháng 6 năm 2014.

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ QUY TRÌNH GIÁM ĐỊNH CÂY KẾ ĐỒNG [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of Canada thistle* [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] - *Plant quarantine pest of Vietnam

I . QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này áp dụng thống nhất trên phạm vi toàn quốc cho việc giám định cây kế đồng [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] là dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I của Việt Nam.

1.2. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng đối với mọi tổ chức, cá nhân của Việt Nam hoặc nước ngoài có hoạt động liên quan đến lĩnh vực bảo vệ và kiểm dịch thực vật (KDTV) tại Việt Nam thực hiện giám định cây kế đồng [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] là dịch hại KDTV nhóm I thuộc Danh mục dịch hại KDTV của Việt Nam.

1.3. Giải thích từ ngữ

Những thuật ngữ trong quy chuẩn này được hiểu như sau:

1.3.1. Dịch hại kiểm dịch thực vật (plant quarantine pest)

Loài sinh vật gây hại có nguy cơ gây tác hại nghiêm trọng tài nguyên thực vật trong một vùng, mà ở đó loài sinh vật này chưa có mặt hoặc có mặt với phân bố hẹp và được kiểm soát chính thức.

1.3.2. Cỏ dại (weed)

Là những thực vật mọc lẫn với cây trồng, ngoài ý muốn của con người, tranh chấp nước, ánh sáng và các chất dinh dưỡng của cây trồng, ảnh hưởng đến sinh trưởng phát triển của cây, làm xấu đất, tăng chi phí sản xuất. Ngoài ra cỏ dại còn là ký chủ của nhều côn trùng và bệnh gây hại cho cây trồng.

1.3.3. Mẫu (sample)

Là khối lượng thực vật, sản phẩm thực vật, tàn dư của sản phẩm thực vật hoặc đất được lấy ra theo một quy tắc nhất định.

1.3.4. Tiêu bản (specimen)

Là mẫu vật điển hình tiêu biểu của dịch hại được xử lý để dùng cho việc định loại, nghiên cứu, giảng dạy, phổ biến kỹ thuật và trưng bày thành các bộ sưu tập.

1.3.5. Rễ cây (root)

Là thành phần quan trọng của cơ quan sinh dưỡng ở dưới đất làm nhiệm vụ hấp thụ thức ăn trong đất, giữ cây đứng thẳng, đôi khi làm nhiệm vụ sinh sản, dự trữ và đồng hóa.

1.3.6. Căn hành (rhizome)

Là thân cây bò dài dưới mặt đất, có nhiều rễ ở các đoạn và có chồi ngọn.

1.3.7. Thân cây (stem)

Là bộ phận mang lá, là phần chính của cây, đứng trung gian giữa lá và rễ, lớn lên do chồi, làm nhiệm vụ nâng đỡ và dẫn nhựa theo hai chiều.

1.3.8. Lá cây (leaf)

Là cơ quan dinh dưỡng của thực vật, có chất diệp lục giữ chức năng quang hợp và thoát hơi nước.

1.3.9. Hoa (flower)

Là một cành đặc biệt, sinh sản có hạn, mang các lá, làm nhiệm vụ bảo vệ, hấp dẫn sâu bọ và sinh sản

1.3.10. Quả bế (achene)

Là dạng quả có vỏ cứng, khi chín không mở ra, quả khô nhỏ, có một hạt.

II. QUY ĐỊNH KỸ THUẬT

2.1. Phương pháp thu thập và bảo quản mẫu

2.1.1. Thu thập mẫu

- Đối với hàng hóa xuất, nhập khẩu, quá cảnh hoặc vận chuyển, bảo quản trong nước: Tiến hành lấy mẫu theo phương pháp lấy mẫu của tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4731:89[1] "*Kiểm dịch thực vật - phương pháp lấy mẫu*", quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-21:2010/BNNPTNT[1] "*Phương pháp kiểm tra củ, quả xuất nhập khẩu và quá cảnh*", QCVN 01-22:2010/BNNPTNT[1] "*Phương pháp kiểm tra cây xuất nhập khẩu và quá cảnh*", QCVN 01-23:2010/BNNPTNT[1] "*Phương pháp kiểm tra các loại hạt xuất nhập khẩu và quá cảnh*".

- Điều tra ngoài đồng ruộng: Điều tra và lấy mẫu theo phương pháp của Viện Bảo vệ thực vật về *Phương pháp điều tra cơ bản dịch hại nông nghiệp và thiên địch của chúng* (Phương pháp nghiên cứu Bảo vệ thực vật, tập 1, nhà xuất bản Nông nghiệp năm 1997.)

2.1.2. Bảo quản mẫu giám định

Mẫu giám định được bảo quản như sau :

- Tiêu bản ngâm: Mẫu vật sau khi thu hái được ngâm trong dung dịch ngâm mẫu.

- Tiêu bản khô: Mẫu vật sau khi thu hái được ép, sấy, phơi rồi khâu dính trên giấy bìa.

- Tiêu bản hạt: Mẫu quả và hạt được phơi ngoài trời hoặc sấy khô trong tủ sấy nhưng tránh phơi trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời hoặc sấy ở nhiệt độ quá cao; nhiệt độ thích hợp là duy trì ở 45^0C - 60^0C cho khô dần đến khi thủy phần hạt nhỏ hơn 13%, sau đó chuyển sang lọ nút mài kín để trong tủ định ôn hoặc phòng có máy hút ẩm.

---

[1] Trường hợp các văn bản viện dẫn trong quy chuẩn này sửa đổi, bổ sung hoặc thay thế thì thực hiện theo quy định của văn bản mới.

2.2. Phương pháp làm tiêu bản giám định

2.2.1. Dụng cụ, hóa chất phục vụ làm tiêu bản và giám định

- Kính lúp soi nổi có độ phóng đại từ 10 - 60 lần.

- Lọ nút mài, đĩa petri, hộp tiêu bản, lọ ngâm mẫu, khung gỗ ép mẫu

- Bìa cứng, xốp, panh, bút lông, dao, kéo

- Hóa chất ngâm mẫu: $CuSO_4$ dạng tinh thể, H_2SO_4 đậm đặc, Na_2SO_4 dạng tinh thể, H_2SO_3 đậm đặc, cồn 90%, cồn 70%, focmol, parafin.

2.2.2. Làm mẫu tiêu bản ngâm

Tiêu bản ngâm giám định được thực hiện với cây kế đồng (bao gồm toàn bộ cây và các bộ phận của cây như: rễ, thân, lá hoa, quả và hạt) theo phương pháp sau:

Mẫu cây cỏ thu được đem ngâm trong dung dịch $CuSO_4$ 10% trong 24 giờ. Sau đó vớt mẫu vật ra, ngâm rửa lại trong chậu nước sạch và ngâm lại vào dung dịch cố định. Gắn kín nắp lọ bằng parafin và cứ 6 tháng thay dung dịch một lần.

Dung dịch cố định: có thể sử dụng 1 trong 2 loại sau:

Dung dịch 1: 8 ml H_2SO_4,
1 lít nước cất
10 gram Na_2SO_4 pha trong 50 ml nước cất

Dung dịch 2 : 85 gram $CuSO_4$
28,4 ml H_2SO_3
2485 ml nước cất

2.2.3. Làm mẫu tiêu bản khô

Tiêu bản khô giám định được thực hiện với cây kế đồng (bao gồm toàn bộ cây và các bộ phận của cây như: rễ, thân, lá hoa, quả và hạt) theo phương pháp sau:

- Ép mẫu: Mẫu cây ngay sau khi thu hái phải vuốt phẳng, cố gắng giữ đúng hình dạng tự nhiên đặt vào giữa hai tờ báo trong khung kẹp ép. Các mẫu được ngăn cách bởi một bìa cứng thấm nước. Số lượng mẫu xếp ở mỗi kẹp tiêu bản chỉ vừa đủ để gấp cặp gỗ lại, buộc dây và đưa vào bàn ép. Bàn ép gồm hai mảnh gỗ dày, nặng, diện tích 40 x 60cm, bắt ốc vít ở 4 mép. Ép nặng khoảng 4 - 5kg. Trong những ngày đầu mới ép phải thường xuyên thay giấy báo để tránh độ ẩm quá cao làm hỏng mẫu.

- Phơi, sấy mẫu: Phơi ngoài trời hoặc sấy khô trong tủ sấy nhưng tránh phơi trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời hoặc sấy ở nhiệt độ quá cao; nhiệt độ thích hợp là duy trì ở 45^0C - 60^0C. Phần quả và hạt phơi sấy riêng.

- Khâu mẫu đã phơi, sấy khô vào giấy cứng để phục vụ việc quan sát và giám định.

2.3. Giám định

Quan sát, đo kích thước mẫu thu thập được và mẫu tiêu bản trên kính lúp soi nổi lần lượt đặc điểm các bộ phận sau:

- Rễ: Hình dạng, cấu tạo

- Thân: Chiều cao, cách phân nhánh, hình dạng, màu sắc.

- Lá: Cách sắp xếp, cách đính lá và hình dạng của lá.

- Hoa: Cấu tạo, hình dạng, kích thước, màu sắc.

- Quả bế (hạt): Kích thước, hình dạng, màu sắc của quả; kích thước, hình dạng, màu sắc của túm lông đầu.

2.4. Đối chiếu kết quả quan sát với đặc điểm hình thái của cây kế đồng [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] (phụ lục 1)

Thông thường, số lượng cá thể nghiên cứu phải đảm bảo là 30 (n=30). Trong trường hợp số lượng cá thể ít hơn hoặc chỉ phát hiện duy nhất một cây trưởng thành có các đặc điểm nhận dạng như trên có thể cho phép kết luận là loài cây kế đồng [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] [chỉ áp dụng đối với các đơn vị đã từng giám định được cây kế đồng [*Cirsium arvense* (L.) Scop.]

III. THẨM ĐỊNH KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH VÀ BÁO CÁO

Sau khi khẳng định kết quả giám định là cây kế đồng [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] thuộc danh mục dịch hại KDTV nhóm I của Việt Nam, đơn vị giám định phải gửi báo cáo về Cục Bảo vệ thực vật kèm theo phiếu kết quả giám định (phụ lục 2).

Tất cả các đơn vị thuộc hệ thống Bảo vệ và KDTV phải lưu giữ, quản lý và khai thác dữ liệu về kết quả điều tra, báo cáo và giám định cây kế đồng.

Đối với đơn vị lần đầu tiên giám định và phát hiện được cây kế đồng phải gửi mẫu hoặc tiêu bản về Trung tâm Giám định kiểm dịch thực vật để thẩm định và báo cáo Cục Bảo vệ thực vật trước khi công bố và xử lý dịch theo quy định của pháp luật hiện hành.

Đơn vị giám định phải lưu mẫu theo Quy chuẩn kỹ thuật hiện hành về lưu giữ và bảo quản mẫu để giải quyết khiếu nại về kết quả giám định (nếu có).

IV. TỔ CHỨC THỰC HIỆN

Cục Bảo vệ thực vật có trách nhiệm phổ biến; tổ chức, hướng dẫn và kiểm tra việc thực hiện Quy chuẩn này trong hệ thống tổ chức chuyên ngành Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật cũng như các tổ chức, cá nhân khác có liên quan;

Các tổ chức, cá nhân có hoạt động liên quan đến điều tra, thu thập mẫu, xử lý và bảo quản mẫu cây kế đồng [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] tại Việt Nam phải tuân theo quy định của quy chuẩn này cũng như các quy định của pháp luật có liên quan hiện hành.

Phụ lục 1
Thông tin về dịch hại

1. Phân bố

- Phân bố: Châu Âu (Albani, Áo, Belarus, Bỉ, Bungari, Rumani, Croatia, Cộng hòa Séc, Slovakia, Đan Mạch, Estonia, Pháp, Đức, Hungary, Italy, Latvia, Moldova, Hà Lan, Ba Lan, Tây Ban Nha, Bồ Đào Nha, Secbia, Thụy Điển, Thụy Sĩ, Ukraina, Liên bang Nga, Na Uy, Anh, Iceland, Ireland).

Châu Á (Afganistan, Acmenia, Aizecbaizan, Trung Quốc, Georgia, Ấn Độ, Iran, Nhật Bản, Hàn Quốc, Lebanon, Pakistan, Thổ Nhĩ Kỳ, Turkmenistan.)

Châu Phi (Angola, Nam Phi, Sudan, Swaziland, Tunisia, Zimbabwe.

Bắc Mỹ (Canada, Mexico, USA.). Nam Mỹ (Chile).

Châu Đại Dương (Australia, New Zealand).

2. Tên khoa học và vị trí phân loại

- Tên khoa học : *Cirsium arvense* (L.) Scop.
- Tên tiếng Việt : Cây kế đồng
- Tên khác : *Cirsium incanum* Bieb.
  Cirsium lanatum Spreng.
  Cnicus arvensis Hoffm.
  Cirsium setosum (Willd.) Bieb.
- Vị trí phân loại:

Giới : Viridiplantae
Ngành : Spermatophyta
Lớp : Dicotyledonae
Bộ : Asterales
Họ : Asteraceae
Chi : *Cirsium*

3. Phương thức gây hại

- Phương thức gây hại: Loài *Cirsium arvense* (L.) Scop. cạnh tranh dinh dưỡng với cây trồng do bộ rễ và căn hành rất phát triển, tốc độ sinh trưởng nhanh, khả năng cạnh tranh lấn chiếm lớn làm ảnh hưởng đến năng suất và phẩm chất cây trồng. Lá cây có nhiều gai sắc nhọn gây ảnh hưởng đến đồng cỏ chăn nuôi gia súc.

4. Những cây trồng bị cạnh tranh

- Cây kế đồng cạnh tranh với rất nhiều loài cây trồng; những cây trồng quan trọng gồm: ngô, đậu Hà Lan, đậu tương, bông, lanh, kê, lúa miến, đại mạch, mạch ba góc, yến mạch, kiều mạch, lúa mạch đen, lúa mỳ, đậu, khoai tây, cà rốt...

5. Đặc điểm nhận dạng cây kế đồng [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] - dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I của Việt Nam

- Cây kế đồng có hệ thống rễ sợi phát triển, ăn sâu từ 2 - 5m. Căn hành (thân bò dài ở dưới mặt đất có nhiều rễ ở các đoạn và có chồi ngọn) màu trắng hoặc màu vàng nhạt bò lan rộng theo chiều ngang đến 5 m hoặc hơn.

- Thân thẳng, mảnh, có rãnh, màu xanh, phân nhánh, cao từ 30 - 150 cm. Khi còn non thân nhẵn hoặc có lông mỏng, càng lớn thân càng nhiều lông và nhiều chồi mọc lên từ căn hành.

- Lá mọc cách, không cuống; Hình dạng và cấu tạo lá cũng rất đa dạng thuôn hoặc hình mác, mép lá có thể nguyên hoặc xẻ thùy không đều và có gai cứng ở mép lá.

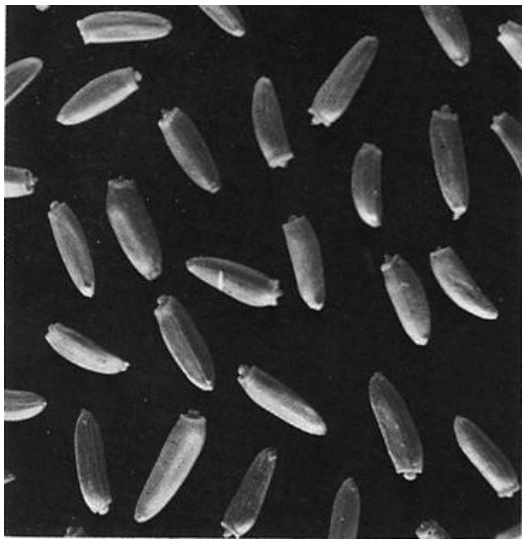
- Là cây phân tính, hoa đầu mọc thành cụm dạng ngù ở ngọn, có hoa đực và hoa cái mọc trên đầu riêng rẽ. Hoa rất nhiều, có từ 1 - 5 hoa trên mỗi nhánh, hoa đực dạng hình cầu, hoa cái dạng cái bình. Tổng bao cao 10 - 20mm, có nhiều lá bắc xếp lợp, không có gai. Hoa dạng ống, màu hồng tía đến hồng nhạt hoặc trắng. Hoa cái dài 23 - 26mm, ống hoa dài 20 - 23mm, thùy 2mm, nhụy phát triển, bao phấn tiêu giảm hoặc không có bao phấn. Hoa đực dài 12 - 14mm, ống dài 7 - 8,5mm, thùy 3 - 4mm, có hoặc không có nhụy, bầu tiêu giảm, bao phấn dài 4mm, hạt phấn có đường kính 42 - 44µm.

- Quả bế thuôn dẹt, thẳng hoặc hơi cong, nhẵn bóng, có rãnh chạy dọc, ở giữa đỉnh của hạt lồi lên dạng hình chóp. Hạt dài 2,5 - 4 x 1mm, màu vàng rơm, nâu sáng đến nâu tối. Đỉnh hạt có túm lông màu trắng nhưng đôi khi có màu nâu, dạng lông chim, dài 2mm, dễ rụng.

Hình 1. Thân, lá, hoa, quả *Cirsium arvense*

(Nguồn: CABI, Crop Protection Compendium, 2007

Hình 2. Phân loại *Cirsium arvense*
(1. Rễ; 2. Tổng bao hoa; 3. Hoa; 4. Quả bế; 5. Cây non)
(Nguồn: The world's worst weed, LeRoy G. Holm, 1977)



Hình 3. Quả bế *Cirsium arvense* (hạt)
(Nguồn: An illustrated taxonomy manual of weed seeds, Richahrd J. Delorit, 1970)

Phụ lục 2
(quy định)
Mẫu phiếu kết quả giám định

Cơ quan Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật ……..	**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM** **Độc lập - Tự do - Hạnh phúc** ***

....., ngày... tháng... năm 20....

PHIẾU KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH
Cây kế đồng [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam

1. Tên hàng hóa :
2. Nước xuất khẩu :
3. Xuất xứ :
4. Phương tiện vận chuyển : Khối lượng:
5. Địa điểm lấy mẫu :
6. Ngày lấy mẫu :
7. Người lấy mẫu :
8. Tình trạng mẫu :
9. Ký hiệu mẫu :
10. Số mẫu lưu :
11. Người giám định :

12. Phương pháp giám định: Theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-163: 2014/BNNPTNT về "Quy trình giám định Cây kế đồng [*Cirsium arvense* (L.) Scop.] là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam".

13. Kết quả giám định :

Tên khoa học : *Cirsium arvense* (L.) Scop.
Họ : Asteraceae
Bộ : Asterales

Là dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I thuộc danh mục dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

TRƯỞNG PHÒNG KỸ THUẬT *(Hoặc người giám định)* *(Ký, ghi rõ họ và tên)*	**THỦ TRƯỞNG ĐƠN VỊ** *(Ký, ghi rõ họ và tên, đóng dấu)*

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN 01-164:2014/BNNPTNT

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ KHẢO NGHIỆM TRÊN ĐỒNG RUỘNG HIỆU LỰC PHÒNG TRỪ BỆNH CHẾT CÂY CON HẠI DƯA CHUỘT CỦA CÁC THUỐC TRỪ BỆNH

National technical regulation on bio-efficacy against damping-off on cucumber of fungicides

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-164:2014/BNNPTNT do Trung tâm Kiểm định và Khảo nghiệm thuốc bảo vệ thực vật phía Bắc biên soạn, Cục Bảo vệ thực vật trình duyệt, Bộ Nông nghiệp & PTNT ban hành tại Thông tư số 16/2014/TT-BNNPTNT ngày 05 tháng 6 năm 2014.

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ KHẢO NGHIỆM TRÊN ĐỒNG RUỘNG HIỆU LỰC PHÒNG TRỪ BỆNH CHẾT CÂY CON HẠI DƯA CHUỘT CỦA CÁC THUỐC TRỪ BỆNH

National technical regulation on bio-efficacy against damping-off on cucumber of fungicides

I. QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này quy định những nguyên tắc, nội dung và phương pháp chủ yếu để đánh giá hiệu lực phòng trừ bệnh chết cây con (*Rhizoctonia solani* Kuhn*, Fusarium solani* (Mart) Appel & Wollned-Emened Snyder & Hansen*, Pythium spp., Phytophthora spp.*) đối với cây dưa chuột của các loại thuốc trừ bệnh trên đồng ruộng.

1.2. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng cho các cơ quan, tổ chức thực hiện khảo nghiệm thuốc bảo vệ thực vật.

1.3. Giải thích từ ngữ

Những thuật ngữ trong quy chuẩn này được hiểu như sau:

1.3.1. Dịch hại

Là bất cứ loài, chủng hoặc biotype của tác nhân gây tổn hại thực vật, động vật hoặc hoặc gây bệnh cho thực vật hoặc sản phẩm thực vật (FAO, 1995; IPPC, 1997).

1.4. Điều kiện khảo nghiệm

Khảo nghiệm phải được tiến hành tại các cơ sở có đủ điều kiện theo quy định hiện hành về khảo nghiệm thuốc bảo vệ thực vật của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

Khảo nghiệm được bố trí trên những ruộng dưa chuột thường bị bệnh chết cây con gây hại, tại các thời gian có điều kiện thuận lợi cho bệnh phát triển và ở các địa điểm đại diện cho các vùng sinh thái.

Điều kiện trồng trọt (đất, phân bón, giống cây trồng, mật độ trồng) phải đồng đều trên toàn khu khảo nghiệm và phù hợp với tập quán canh tác tại địa phương.

Các khảo nghiệm trên diện hẹp và diện rộng phải được tiến hành ở ít nhất 2 vùng sản xuất nông nghiệp (phía Bắc và phía Nam) đại diện cho khu vực sản xuất.

Trong thời gian khảo nghiệm không được dùng bất kỳ một loại thuốc trừ bệnh khác trên khu khảo nghiệm (bao gồm cả các công thức và dải phân cách). Nếu khu khảo nghiệm bắt buộc phải sử dụng thuốc để trừ các đối tượng gây hại khác như: sâu, cỏ dại, điều hòa sinh trưởng... thì thuốc được dùng để trừ các đối tượng này phải không làm ảnh hưởng đến thuốc cần khảo nghiệm, không làm ảnh hưởng đến đối tượng khảo nghiệm và phải được phun rải đều trên tất cả các ô khảo nghiệm, kể cả ô đối chứng. Các trường hợp trên (nếu có) phải được ghi chép lại.

Khi xử lý thuốc không để thuốc ở ô khảo nghiệm này tạt sang ô khảo nghiệm khác.

II. QUY ĐỊNH KỸ THUẬT

2.1. Phương pháp khảo nghiệm

2.1.1. Bố trí công thức khảo nghiệm

Khảo nghiệm được bố trí theo phương pháp khối ngẫu nhiên đầy đủ hoặc theo các phương pháp khác đã được quy định trong phương pháp thí nghiệm trên đồng ruộng.

Mỗi khảo nghiệm phải thực hiện theo các công thức sau:

Công thức khảo nghiệm là công thức dùng các loại thuốc khảo nghiệm ở các nồng độ, liều lượng khác nhau hoặc cách dùng khác nhau.

Công thức so sánh là công thức dùng một loại thuốc trừ bệnh chết cây con đã được đăng ký trong danh mục thuốc bảo vệ thực vật được phép sử dụng ở Việt Nam và đang được dùng phổ biến, có hiệu quả ở địa phương để trừ bệnh chết cây con hại dưa chuột.

Công thức đối chứng là công thức không dùng bất kỳ loại thuốc bảo vệ thực vật nào để phòng trừ bệnh chết cây con. Với khảo nghiệm là thuốc phun: công thức đối chứng được phun bằng nước lã.

2.1.2. Diện tích ô khảo nghiệm và số lần nhắc lại

Khảo nghiệm diện hẹp: Diện tích của mỗi ô khảo nghiệm từ 30 m^2 - 50 m^2, số lần nhắc lại 3 - 4 lần.

Khảo nghiệm diện rộng: Diện tích của mỗi ô khảo nghiệm từ 300 m^2 - 500 m^2, không nhắc lại.

Các ô khảo nghiệm phải có dạng hình vuông hay hình chữ nhật nhưng chiều dài phải không vượt quá hai lần chiều rộng.

Giữa các công thức khảo nghiệm phải có dải phân cách ít nhất là 1 luống dưa chuột.

2.2. Tiến hành xử lý thuốc

2.2.1. Lượng thuốc và lượng nước thuốc sử dụng

Lượng thuốc dùng được tính bằng kg hoặc lít chế phẩm hoặc gam hoạt chất trên đơn vị diện tích 1 ha.

Với dạng thuốc thương phẩm pha với nước để phun: Lượng nước dùng phải theo hướng dẫn cụ thể đối với từng loại thuốc, phù hợp với từng giai đoạn sinh trưởng của cây dưa chuột cũng như cách thức tác động của từng loại thuốc. Trong trường hợp không có khuyến cáo của các tổ chức cá nhân đăng ký về lượng nước thuốc, lượng nước thuốc thường dùng từ 400 - 500 lít/ha.

2.2.2. Dụng cụ xử lý thuốc

Dụng cụ xử lý thuốc: Bình bơm động cơ, bình bơm tay đeo vai, cốc đong, cân, pipet…

Khi xử lý thuốc, phải dùng các dụng cụ phun, rải thuốc thích hợp đảm bảo yêu cầu của khảo nghiệm, ghi chép đầy đủ tình hình vận hành của dụng cụ phun rải thuốc để đảm bảo yêu cầu kỹ thuật.

2.2.3. Thời điểm và số lần xử lý thuốc

Thời điểm và số lần xử lý thuốc thực hiện đúng theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất và đăng ký.

Khi không có khuyến cáo cụ thể thời điểm xử lý thuốc thì tùy theo mục đích khảo nghiệm, các đặc tính hóa học, phương thức tác động của thuốc và đặc điểm sinh trưởng của cây dưa chuột thì số lần xử lý từ 1 - 2 lần cách nhau 7 ngày. Xử lý lần đầu khi tỷ lệ bệnh khoảng 5%.

2.3. Điều tra và thu thập số liệu

2.3.1. Chỉ tiêu, phương pháp và thời điểm điều tra

2.3.1.1. Chỉ tiêu điều tra

$$\text{Tỷ lệ cây chết (\%)} = \frac{\text{Số cây bị chết}}{\text{Tổng số cây điều tra}} \times 100$$

2.3.1.2. Phương pháp điều tra

Mỗi ô chọn 5 điểm nằm trên 2 đường chéo góc (đối với khảo nghiệm diện hẹp) và 10 điểm (đối với khảo nghiệm diện rộng), mỗi điểm điều tra 20 cây các điểm này nằm cách mép ô khảo nghiệm ít nhất 1 hàng dưa chuột.

2.3.1.3. Thời điểm điều tra

Thời điểm và số lần điều tra ngay trước mỗi lần xử lý thuốc và 7, 14 ngày sau xử lý thuốc lần cuối.

2.3.1.4. Xử lý số liệu

Hiệu lực phòng trừ của thuốc trừ bệnh chết cây con hại cây dưa chuột được đánh giá qua tỷ lệ cây bị chết tại các lần điều tra.

Các số liệu của khảo nghiệm diện hẹp phải được xử lý bằng các phương pháp thống kê thích hợp.

2.3.1.5. Đánh giá tác động của thuốc đến cây dưa chuột

Đánh giá mọi ảnh hưởng tốt, xấu của thuốc (nếu có) đến sự sinh trưởng và phát triển của cây dưa chuột theo thang phân cấp (phụ lục 1).

Phương pháp đánh giá:

Những chỉ tiêu nào đo đếm được phải biểu thị bằng các số liệu cụ thể theo các phương pháp điều tra phù hợp.

Các chỉ tiêu đánh giá được bằng mắt như độ cháy lá, quăn lá, sự thay đổi màu sắc lá... thì phải được mô tả.

Nếu thuốc làm ảnh hưởng đến sinh trưởng, phát triển cây dưa chuột phải theo dõi và ghi nhận ngày cây phục hồi trở lại.

2.3.1.6. Quan sát và ghi chép về thời tiết

Ghi chép các số liệu về nhiệt độ, ẩm độ, lượng mưa trong suốt thời gian khảo nghiệm theo số liệu thời tiết tại trạm khí tượng gần nhất.

III. QUY ĐỊNH VỀ QUẢN LÝ THỰC HIỆN

3.1. Báo cáo và công bố kết quả

3.1.1. Đánh giá mức độ độc của thuốc đối với cây trồng (Phụ lục 1)

3.1.2. Nội dung báo cáo (Phụ lục 2)

3.2. Tổ chức quản lý, thực hiện

Đơn vị thực hiện khảo nghiệm phải hoàn toàn chịu trách nhiệm về số liệu đưa ra trong báo cáo và có trách nhiệm lưu giữ số liệu thô của khảo nghiệm.

Căn cứ yêu cầu quản lý, Cục Bảo vệ thực vật có trách nhiệm kiến nghị Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn sửa đổi, bổ sung quy chuẩn này khi cần thiết.

Phụ lục 1

Bảng phân cấp mức độ độc của thuốc khảo nghiệm đối với cây trồng

Cấp	Triệu chứng nhiễm độc
1	Cây chưa có biểu hiện ngộ độc.
2	Ngộ độc nhẹ, sinh trưởng của cây giảm nhẹ.
3	Có triệu chứng ngộ độc nhẹ nhìn thấy bằng mắt.
4	Triệu chứng ngộ độc nhưng chưa ảnh hưởng đến năng suất.
5	Cành lá biến màu hoặc cháy, thuốc gây ảnh hưởng đến năng suất.
6	Thuốc làm giảm năng suất ít.
7	Thuốc gây ảnh hưởng nhiều đến năng suất.
8	Triệu chứng ngộ độc tăng dần tới làm chết cây.
9	Cây bị chết hoàn toàn.

Nếu cây bị ngộ độc thuốc, cần xác định bao nhiêu ngày sau thì cây phục hồi.

Phụ lục 2
Nội dung chính báo cáo khảo nghiệm

1. Tên khảo nghiệm.

2. Yêu cầu của khảo nghiệm.

3. Điều kiện khảo nghiệm:

- Đơn vị khảo nghiệm.
- Tên cán bộ tiến hành khảo nghiệm
- Thời gian khảo nghiệm.
- Địa điểm khảo nghiệm.
- Nội dung khảo nghiệm.
- Đặc điểm khảo nghiệm.
- Đặc điểm đất đai, canh tác, giống cây trồng...
- Đặc điểm thời tiết trong quá trình khảo nghiệm.
- Tình hình phát sinh và phát triển của bệnh hại cây trồng trong khu thí nghiệm.

4. Phương pháp khảo nghiệm:

- Công thức khảo nghiệm.
- Phương pháp bố trí khảo nghiệm.
- Số lần nhắc lại.
- Kích thước ô khảo nghiệm.
- Dụng cụ phun, rải thuốc.
- Lượng thuốc dùng nồng độ %, kg, lít thuốc thương phẩm/ha hay g (kg) hoạt chất/ha.
- Lượng nước thuốc dùng (l/ha).
- Ngày xử lý thuốc.
- Phương pháp điều tra và đánh giá hiệu lực của các loại thuốc khảo nghiệm.

5. Kết quả khảo nghiệm:

- Các bảng số liệu.
- Đánh giá hiệu lực của từng loại thuốc.
- Nhận xét tác động của từng loại thuốc đến cây trồng, sinh vật có ích và các ảnh hưởng khác (xem phụ lục).

6. Kết luận: Nhận xét về hiệu lực và ảnh hưởng của thuốc khảo nghiệm đối với cây trồng phải căn cứ vào số liệu thu được.

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN 01-165:2014/BNNPTNT

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ QUY TRÌNH GIÁM ĐỊNH CỎ MA KÝ SINH THUỘC CHI *STRIGA* LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of Witchweeds (Striga genus) - Plant quarantine pests of Vietnam

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-165:2014/BNNPTNT do Trung tâm Kiểm dịch thực vật biên soạn, Cục Bảo vệ thực vật trình duyệt, Bộ Nông nghiệp & PTNT ban hành tại Thông tư số 16/2014/TT-BNNPTNT ngày 05 tháng 6 năm 2014.

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ QUY TRÌNH GIÁM ĐỊNH CỎ MA KÝ SINH THUỘC CHI *STRIGA* LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of Witchweeds (Striga genus) - Plant quarantine pests of Vietnam

I. QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này áp dụng thống nhất trên phạm vi toàn quốc cho việc giám định các loài cỏ ma ký sinh thuộc chi *Striga* là dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I và nhóm II của Việt Nam.

1.2. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng đối với mọi tổ chức, cá nhân của Việt Nam hoặc nước ngoài có hoạt động liên quan đến lĩnh vực bảo vệ và kiểm dịch thực vật (KDTV) tại Việt Nam thực hiện giám định cỏ ma ký sinh thuộc chi Striga là dịch hại KDTV nhóm I và nhóm II thuộc Danh mục dịch hại KDTV của Việt Nam.

1.3. Giải thích từ ngữ

Những thuật ngữ trong quy chuẩn này được hiểu như sau:

1.3.1. Dịch hại kiểm dịch thực vật (plant quarantine pest)

Loài sinh vật gây hại có nguy cơ gây tác hại nghiêm trọng tài nguyên thực vật trong một vùng, mà ở đó loài sinh vật này chưa có mặt hoặc có mặt với phân bố hẹp và được kiểm soát chính thức.

1.3.2. Cỏ dại (weed)

Là những thực vật mọc lẫn với cây trồng, ngoài ý muốn của con người, tranh chấp nước, ánh sáng và các chất dinh dưỡng của cây trồng, ảnh hưởng đến sinh trưởng phát triển của cây, làm xấu đất, tăng chi phí sản xuất. Ngoài ra cỏ dại còn là ký chủ của nhiều côn trùng và bệnh gây hại cho cây trồng.

1.3.3. Thực vật ký sinh (parasitic plant)

Là những thực vật sống phụ thuộc một phần hoặc hoàn toàn vào những thực vật khác.

1.3.4. Thực vật bán ký sinh (semi - parasitic plant)

Là những thực vật chỉ sống ký sinh một phần, có quá trình quang hợp và có khả năng tự tổng hợp chất diệp lục.

1.3.5. Ký chủ (host)

Là những thực vật cung cấp một phần hay toàn bộ chất dinh dưỡng đảm bảo sự tồn tại, sinh trưởng, phát triển của thực vật ký sinh.

1.3.6. Mẫu (sample)

Là khối lượng thực vật, sản phẩm thực vật, tàn dư của sản phẩm thực vật hoặc đất được lấy ra theo một quy tắc nhất định.

1.3.7. Tiêu bản (specimen)

Là mẫu vật điển hình tiêu biểu của dịch hại được xử lý để dùng cho việc định loại, nghiên cứu, giảng dạy, phổ biến kỹ thuật và trưng bày thành các bộ sưu tập.

II. QUY ĐỊNH KỸ THUẬT

2.1. Phương pháp thu thập và bảo quản mẫu

2.1.1. Thu thập mẫu

- Đối với hàng hóa xuất, nhập khẩu, quá cảnh hoặc vận chuyển, bảo quản trong nước: Tiến hành lấy mẫu theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4731:89[1] "*Kiểm dịch thực vật - phương pháp lấy mẫu*", quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-21:2010/BNNPTNT[1] "*Phương pháp kiểm tra củ, quả xuất nhập khẩu và quá cảnh*", QCVN 01-22:2010/BNNPTNT[1] "*Phương pháp kiểm tra cây xuất nhập khẩu và quá cảnh*", QCVN 01-23:2010/BNNPTNT[1] "*Phương pháp kiểm tra các loại hạt xuất nhập khẩu và quá cảnh*".

- Đối với cây trồng ngoài đồng ruộng: Lấy mẫu trên những cây trồng là ký chủ của các loài cỏ ma theo phương pháp của Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-38/2010/BNNPTNT[1] "*Phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng*".

2.1.2. Bảo quản mẫu giám định

Mẫu giám định được bảo quản như sau:

- Tiêu bản ngâm: mẫu vật sau khi thu hái được ngâm trong dung dịch ngâm mẫu.

- Tiêu bản khô: Mẫu vật sau khi thu hái được ép, sấy, phơi rồi khâu dính trên giấy bìa.

- Tiêu bản hạt: Mẫu quả và hạt được phơi, sấy ngoài trời hoặc sấy khô trong tủ sấy nhưng tránh phơi trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời hoặc sấy ở nhiệt độ quá cao; nhiệt độ thích hợp là duy trì ở 45^0C - 60^0C cho khô dần đến khi thủy phần hạt nhỏ hơn 13%, sau đó chuyển sang lọ nút mài kín để trong tủ định ôn hoặc phòng có máy hút ẩm.

2.2. Phương pháp làm tiêu bản mẫu giám định

2.2.1. Dụng cụ, hóa chất phục vụ làm tiêu bản và giám định

- Kính lúp soi nổi có độ phóng đại từ 10 - 70 lần.

- Lọ nút mài, đĩa petri, hộp tiêu bản, lọ ngâm mẫu, khung gỗ ép mẫu

- Bìa cứng, xốp, panh, bút lông, dao, kéo

- Hóa chất ngâm mẫu: $CuSO_4$ tinh thể, H_2SO_4 đậm đặc, Na_2SO_4 tinh thể, H_2SO_3 đậm đặc, cồn 90%, cồn 70%, focmol, parafin.

2.2.2. Làm mẫu tiêu bản ngâm

Tiêu bản giám định được thực hiện với các loài cỏ ma (bao gồm toàn bộ cây và các bộ phận của cây như: rễ, thân, lá hoa, quả và hạt) theo phương pháp sau:

---

[1] Trường hợp các văn bản viện dẫn trong quy chuẩn này sửa đổi, bổ sung hoặc thay thế thì thực hiện theo quy định của văn bản mới.

Mẫu cây cỏ thu được đem ngâm trong dung dịch $CuSO_4$ 10% trong 24 giờ. Sau đó vớt mẫu vật ra, ngâm rửa lại trong chậu nước sạch và ngâm lại vào dung dịch cố định. Gắn kín nắp lọ bằng parafin và cứ 6 tháng thay dung dịch một lần.

Dung dịch cố định: có thể sử dụng 1 trong 2 loại sau

Dung dịch 1: 8 ml H_2SO_4,

1 lít nước cất

10 gram Na_2SO_4 pha trong 50 ml nước cất

Dung dịch 2 : 85 gram $CuSO_4$

28,4 ml H_2SO_3

2485 ml nước cất

2.2.3. Làm mẫu tiêu bản khô

Tiêu bản giám định được thực hiện với các loài cỏ ma (bao gồm toàn bộ cây và các bộ phận của cây như: rễ, thân, lá hoa, quả và hạt) theo phương pháp sau:

- Ép mẫu: Mẫu cây ngay sau khi thu hái phải vuốt phẳng, cố gắng giữ đúng hình dạng tự nhiên đặt vào giữa hai tờ báo trong khung kẹp ép. Các mẫu được ngăn cách bởi một bìa cứng thấm nước. Số lượng mẫu xếp ở mỗi kẹp tiêu bản chỉ vừa đủ để gấp cặp gỗ lại, buộc dây và đưa vào bàn ép. Bàn ép gồm hai mảnh gỗ dày, nặng, diện tích 40 x 60cm, bắt ốc vít ở 4 mép. Ép nặng khoảng 4 - 5 kg. Trong những ngày đầu mới ép phải thường xuyên thay giấy báo để tránh độ ẩm quá cao làm hỏng mẫu.

- Phơi, sấy mẫu: Phơi ngoài trời hoặc sấy khô trong tủ sấy nhưng tránh phơi trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời hoặc sấy ở nhiệt độ quá cao; nhiệt độ thích hợp là duy trì ở 45^0C - 60^0C. Phần quả và hạt phơi sấy riêng

- Khâu mẫu đã phơi, sấy khô vào giấy cứng để phục vụ việc quan sát và giám định. Quả và hạt cho vào túi nilon nhỏ và đính vào bên cạnh mẫu.

2.3. Giám định

Quan sát, đo kích thước mẫu thu thập được và mẫu tiêu bản trên kính lúp soi nổi lần lượt đặc điểm các bộ phận sau:

- Rễ: Hình dạng, cấu tạo

- Thân: Chiều cao, cách phân nhánh, hình dạng, màu sắc.

- Lá: Cách sắp xếp, cách đính lá và hình dạng của lá

- Hoa: Cấu tạo, hình dạng, kích thước, màu sắc

- Quả: Kích thước, hình dạng, màu sắc của quả.

- Hạt: Kích thước, hình dạng, màu sắc của hạt.

2.4. Đối chiếu kết quả quan sát với đặc điểm hình thái của các loài cỏ ma ký sinh thuộc chi *Striga* là dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I và nhóm II của Việt Nam (phụ lục 1).

Thông thường, số lượng cá thể nghiên cứu phải đảm bảo là 30 (n=30). Trong trường hợp số lượng cá thể ít hơn hoặc chỉ phát hiện duy nhất một cây trưởng thành có các đặc điểm nhận dạng như trên có thể cho phép kết luận là loài cỏ ma ký sinh thuộc chi *Striga* là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam [chỉ áp dụng đối với các đơn vị đã từng giám định được loài cỏ ma ký sinh thuộc chi *Striga* là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam].

III. THẨM ĐỊNH KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH VÀ BÁO CÁO

Sau khi khẳng định kết quả giám định là loài cỏ ma ký sinh thuộc chi *Striga* là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam, đơn vị giám định phải gửi báo cáo về Cục Bảo vệ thực vật kèm theo phiếu kết quả giám định (phụ lục 2).

Tất cả các đơn vị thuộc hệ thống Bảo vệ và KDTV phải lưu giữ, quản lý và khai thác dữ liệu về kết quả điều tra, báo cáo và giám định loài cỏ ma ký sinh thuộc chi *Striga* là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Đối với đơn vị lần đầu tiên giám định và phát hiện được loài cỏ ma ký sinh thuộc chi *Striga* là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam phải gửi mẫu hoặc tiêu bản về Trung tâm Giám định kiểm dịch thực vật để thẩm định và báo cáo Cục Bảo vệ thực vật trước khi công bố và xử lý dịch theo quy định của pháp luật hiện hành.

Đơn vị giám định phải lưu mẫu theo Quy chuẩn kỹ thuật hiện hành về thời gian để giải quyết khiếu nại về kết quả giám định (nếu có).

IV. TỔ CHỨC THỰC HIỆN

Cục Bảo vệ thực vật có trách nhiệm phổ biến; tổ chức, hướng dẫn và kiểm tra việc thực hiện Quy chuẩn này trong hệ thống tổ chức chuyên ngành Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật cũng như các tổ chức, cá nhân khác có liên quan;

Các tổ chức, cá nhân có hoạt động liên quan đến điều tra, thu thập mẫu, xử lý và bảo quản mẫu loài cỏ ma ký sinh thuộc chi *Striga* là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam tại Việt Nam phải tuân theo quy định của quy chuẩn này cũng như các quy định của pháp luật có liên quan hiện hành.

Phụ lục 1
Thông tin về dịch hại

1. Loài *Striga hermonthica* (Del.) Benth.(1836)

1.1. Phân bố

Châu Á: Cam-pu-chia, Ả rập-xê-út, Syria, Yemen

Châu Phi: Ăng-go-la, Be-nin, Bu-ki-na Fa-so, Burundi, Ca-mơ-run, Cộng hòa Trung Phi, Chad, Công gô, Ai cập, Ethiopia, Gambia, Ghana, Guinea Bissau, Guinea, Kenya, Madagascar, Malawi, Mali, Mauritania, Morocco, Mozambique, Namibia, Niger, Nigeria, Rwanda, Senegal, Nam Phi, Sudan, Swaziland, Tazania, Togo, Uganda, Zambia, Zimbabwe

1.2. Tên khoa học và vị trí phân loại

- Tên khoa học : *Striga hermonthica* (Del.) Benth.
- Tên tiếng Việt : Cỏ ma ký sinh Ai Cập
- Tên khác : *Buchnera hermontheca* Del.
  Striga senegalensis Benth.
- Vị trí phân loại:

Giới : Viridiplantae

Ngành : Spermatophyta

Lớp : Dicotyledonae

Bộ : Scrophulariales

Họ : Scrophulariaceae

Chi : *Striga*

1.3. Phương thức gây hại

Sau khi nảy mầm, rễ ký sinh hình thành các lông hút để tiếp xúc và xâm nhập vào rễ ký chủ, hình thành các rễ mút (đỉnh rễ) phát triển tiến dần vào tới mô mạch của ký chủ. Cây ký sinh hút đường, nước, các amino axít và muối khoáng từ ký chủ để phát triển thông qua hệ thống rễ. Khi còn ở dưới mặt đất, việc hấp thụ dinh dưỡng của cây ký sinh hoàn toàn phụ thuộc vào cây ký chủ. Khi cây ký sinh mọc lên khỏi mặt đất, có ánh sáng mặt trời, diệp lục được hình thành (lá xanh phát triển), quá trình quang hợp bắt đầu xảy ra, nhưng hiệu quả chỉ bằng khoảng 20%, do đó cây ký sinh vẫn sống dựa vào ký chủ trong suốt quá trình sinh trưởng và phát triển của nó.

1.4. Ký chủ

- Ký chủ gồm các loài: cỏ, kê, mía, ngô, cao lương, lúa miến, kê chân vịt...

1.5. Đặc điểm nhận dạng cỏ ma ký sinh Ai Cập [*Striga hermonthica* (Del.) Benth.] - dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I của Việt Nam

- Rễ kém phát triển, hình thành các vòi hút, giác bám ăn sâu vào rễ ký chủ.

- Là cây thân thảo, cao từ 15 - 100 cm, phân nhánh, có lông.

- Lá ở dưới mọc đối, lá ở trên mọc cách, hình mác hoặc hình elip, dài 2 - 8 cm, rộng đến 1 cm.

- Hoa mọc ở đầu của nhánh, không cuống. Lá bắc dài 1 - 2 cm, rộng 3 mm. Đài hình ống, dài đến 1 cm, có 5 gân, đài có 5 răng dài 2 - 3 mm. Tràng có 4 thùy, màu hồng với những chấm trắng ở họng. Nhị và nhụy khuất trong ống tràng. Mỗi nhánh có thể sinh ra hàng trăm hoa nhưng chỉ có 6 - 10 hoa nở cùng lúc.

- Quả nang dài đến 1 cm, chứa hàng trăm hạt rất nhỏ.

- Hạt dài khoảng 0,3 mm, rộng 0,2 mm.

Hình 1. Cây cỏ ma *Striga hermonthica* gây hại trên lúa miến
(Nguồn: CABI, Crop Protection Compendium, 2007)

Hình 2. Ngọn cỏ ma *Striga hermonthica* mang hoa
(Nguồn: CABI, Crop Protection Compendium, 2007)

Hình 3. Hạt cỏ ma *Striga hermonthica*
(Nguồn: CABI, Crop Protection Compendium, 2007)

2. Loài *Striga densiflora* (Benth.) Benth.

2.1. Phân bố

Châu Phi: Nigieria, South Africa, Zimbabwe

Châu Á: Bangladesh, Trung Quốc, Yunnan, Ấn Độ, Gujarat, Karnataka, Maharashtra, Rajasthan, Tamil Nadu, Uttar Pradesh, Indonesia, Oman, Pakistan

2.2. Tên khoa học và vị trí phân loại

- Tên khoa học : *Striga densiflora* (Benth.) Benth.
- Tên tiếng Việt : Cỏ ma ký sinh S.d
- Tên khác : *Buchnera densiflora* Benth.
- Vị trí phân loại:

Giới : Viridiplantae
Ngành : Spermatophyta
Lớp : Dicotyledonae
Bộ : Scrophulariales
Họ : Scrophulariaceae
Chi : *Striga*

2.3. Phương thức gây hại

Sau khi nảy mầm, rễ ký sinh hình thành các lông hút để tiếp xúc và xâm nhập vào rễ ký chủ, hình thành các rễ mút (đỉnh rễ) phát triển tiến dần vào tới mô mạch của ký chủ. Cây ký sinh hút đường, nước, các amino axít và muối khoáng từ ký chủ để phát triển thông qua hệ thống rễ. Khi còn ở dưới mặt đất, việc hấp thụ dinh dưỡng của cây ký sinh hoàn toàn phụ thuộc vào cây ký chủ. Khi cây ký sinh mọc lên khỏi mặt đất, có

ánh sáng mặt trời, diệp lục được hình thành (lá xanh phát triển), quá trình quang hợp bắt đầu xảy ra, nhưng hiệu quả chỉ bằng khoảng 20%, do đó cây ký sinh vẫn sống dựa vào ký chủ trong suốt quá trình sinh trưởng và phát triển của nó.

2.4. Ký chủ

- Ký chủ gồm các loài: cỏ, kê, mía, ngô, lúa miến.

2.5. Đặc điểm nhận dạng cỏ ma ký sinh S.d [*Striga densiflora* (Benth.) Benth.] - dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I của Việt Nam

- Rễ kém phát triển, hình thành các vòi hút, giác bám ăn sâu vào rễ ký chủ.

- Thân cao khoảng 30 cm, thẳng, ít phân nhánh.

- Lá hẹp (rộng hơn lá của loài *S. asiatica*), có lông, cong ở phía dưới.

- Hoa tập trung ở đầu nhánh; lá bắc dài hơn đài. Đài dài 5 - 6 cm, có 5 gân; thùy đài dài gần bằng ống đài. Hoa màu trắng hơi xanh, dài khoảng 1 cm. Bao phấn màu xanh đen. Đài dài 6 mm, có 5 gân.

- Quả nang thuôn dài, dài khoảng 5 mm, chứa vài trăm hạt.

- Hạt có kích thước 0,2 x 0,3 mm.

Hình 4. Cây cỏ ma *Striga densiflora* (Benth.) Benth. (bên trái)
(Nguồn: CABI, Crop Protection Compendium, 2007)

Hình 5. Phần ngọn cỏ ma *Striga densiflora* mang hoa
(Nguồn: CABI, Crop Protection Compendium, 2007)

3. Loài *Striga angustifolia* (Don.) Saldanha

3.1. Phân bố

Châu Á: Bangladesh, Bhutan, Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, Myanmar, Nepal, Oman, Pakistan, Sri Lanka, Việt Nam.

Châu Phi: Ethiopia, Malawi, Mozambique, Nam Phi, Swaziland, Tazania, Zambia, Zimbabwe.

3.2. Tên khoa học và vị trí phân loại

- Tên khoa học : *Striga angustifolia* (Don.) Saldanha
- Tên tiếng Việt : Cỏ ma ký sinh S.a
- Tên khác : *Buchnera angustifolia* Benth.
  Buchnera euphrasioides Benth.
  Striga euphrasioides (Benth) Benth.
- Vị trí phân loại:

Giới : Viridiplantae

Ngành : Spermatophyta

Lớp : Dicotyledonae

Bộ : Scrophulariales

Họ : Scrophulariaceae

Chi : *Striga*

3.3. Phương thức gây hại

Sau khi nảy mầm, rễ ký sinh hình thành các lông hút để tiếp xúc và xâm nhập vào rễ ký chủ, hình thành các rễ mút (đỉnh rễ) phát triển tiến dần vào tới mô mạch của ký chủ. Cây ký sinh hút đường, nước, các amino axít và muối khoáng từ ký chủ để phát triển thông qua hệ thống rễ. Khi còn ở dưới mặt đất, việc hấp thụ dinh dưỡng của cây ký sinh hoàn toàn phụ thuộc vào cây ký chủ. Khi cây ký sinh mọc lên khỏi mặt đất, có ánh sáng mặt trời, diệp lục được hình thành (lá xanh phát triển), quá trình quang hợp bắt đầu xảy ra, nhưng hiệu quả chỉ bằng khoảng 20%, do đó cây ký sinh vẫn sống dựa vào ký chủ trong suốt quá trình sinh trưởng và phát triển của nó.

3.4. Ký chủ

- Ký chủ gồm các loài: lúa gạo, mía, lúa miến.

3.5. Đặc điểm nhận dạng cỏ ma ký sinh S.a [*Striga angustifolia* (Don.) Saldanha] - dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm II của Việt Nam

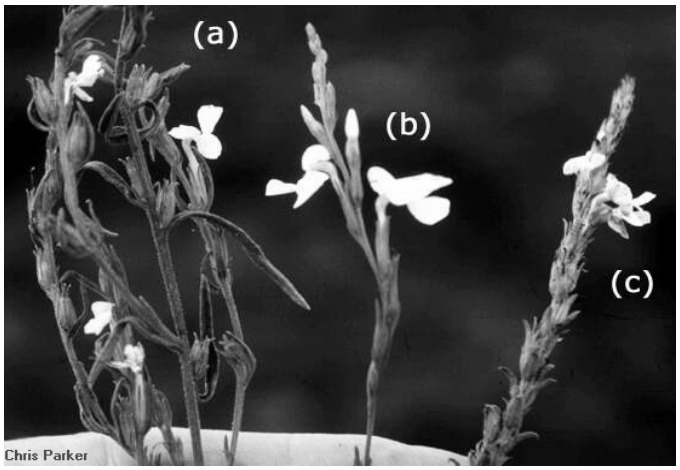
- Thân thảo, thẳng, gần vuông, có gai (ráp), cao từ 15 - 45 cm, phân nhánh hoặc không phân nhánh ở nửa trên của cây.

- Lá không cuống, mọc đối xứng thẳng, kích thước 1 - 5 cm x 2 - 5 mm. Lá ở dưới nhỏ hơn. Lá hình mác hẹp, ráp, dài đến 4 cm.

- Hoa mọc ở nách lá trong cuống lá bắc, cuống hoa dài khoảng 1 mm, lá bắc tương tự như lá nhưng ngắn hơn; tràng hoa màu trắng, màu kem hoặc màu xanh nhạt. Loài này rất giống với loài *S. asiatica* nhưng khác ở chỗ đài của nó dài hơn và có 15 gân

- Quả nang mở dài 5 - 6 mm, ngắn hơn đài.

- Hạt dài 0,5 mm (to hơn hạt của loài *S. asiatica*), có những nét khía.



Hình 6. Phân biệt 03 loài cỏ ma
a. *S. asiatica*; b. *S.angustifolia*; c. *S. densiflora*
(Nguồn: CABI, Crop Protection Compendium, 2007)

4. Loài *Striga asiatica* (L.) Kuntze

4.1. Phân bố

Châu Á: Căm-pu-chia, Ả rập xê út, Syria, Yemen, Việt Nam

Châu Phi: Angola, Benin, Burkina Faso, Burundi, Cameroon, Cộng hòa Trung Phi, Chad, Công gô, Ai Cập, Ethiopia, Gambia, Ghana, Guinea Bissau, Guinea, Kenya, Madagascar, Malawi, Mali, Mauritania, Morocco, Mozambique, Namibia, Niger, Nigeria, Rwanda, Senegal, Nam Phi, Sudan, Swaziland, Tazania, Togo, Uganda, Zambia, Zimbabwe

4.2. Tên khoa học và vị trí phân loại

- Tên khoa học : *Striga asiatica* (L.) Kuntze
- Tên tiếng Việt : Cỏ ma ký sinh S.l
- Tên khác *Striga lutea Lour.*
  Buchnera asiatica L.
  Striga gracilis MIQ.
  Striga parvula MIQ.
  Striga spanopheana MIQ.
  Buchnera coccinea Benth.

Striga coccinea (Benth.) Benth.
Striga pusila Hochst.
Striga zangebarica Klotsch
Buchnera hirsuta Benth.
Campuleia coccinea Hook.
Striga phoenicea Benth.
Striga hirsuta

- Vị trí phân loại:

Giới : Viridiplantae
Ngành : Spermatophyta
Lớp : Dicotyledonae
Bộ : Scrophulariales
Họ : Scrophulariaceae
Chi : *Striga*

4.3. Phương thức gây hại

Sau khi nảy mầm, rễ ký sinh hình thành các lông hút để tiếp xúc và xâm nhập vào rễ ký chủ, hình thành các rễ mút (đỉnh rễ) phát triển tiến dần vào tới mô mạch của ký chủ. Cây ký sinh hút đường, nước, các amino axít và muối khoáng từ ký chủ để phát triển thông qua hệ thống rễ. Khi còn ở dưới mặt đất, việc hấp thụ dinh dưỡng của cây ký sinh hoàn toàn phụ thuộc vào cây ký chủ. Khi cây ký sinh mọc lên khỏi mặt đất, có ánh sáng mặt trời, diệp lục được hình thành (lá xanh phát triển), quá trình quang hợp bắt đầu xảy ra, nhưng hiệu quả chỉ bằng khoảng 20%, do đó cây ký sinh vẫn sống dựa vào ký chủ trong suốt quá trình sinh trưởng và phát triển của nó.

4.4. Ký chủ

- Ký chủ gồm các loài: lúa gạo, ngô, mía, lúa miến, kê chân vịt, kê, cỏ họ Poaceae

4.5. Đặc điểm nhận dạng cỏ ma ký sinh S.I [*Striga asiatica* (L.) Kuntze] - **dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm II của Việt Nam**

- Rễ kém phát triển, hình thành các vòi hút, giác bám ăn sâu vào rễ ký chủ.

- Chiều cao của cây rất đa dạng, có thể vài cen-ti-mét cho đến 30 - 40 cm Thân ở dưới đất hình tròn, ở phía trên hình vuông, có nhiều lông cứng. Với những cây phát triển mạnh, thân cây có thể phân nhiều nhánh, nhưng với những cây nhỏ hoặc những kiểu sinh thái khác cây có thể không phân nhánh.

- Lá thẳng, không cuống, màu xanh, hình mác hẹp, kích thước 10 - 40 x 1 - 4 mm, phủ lông dạng vảy; những lá ở phía dưới mọc đối xứng, những lá ở phía trên mọc cách.

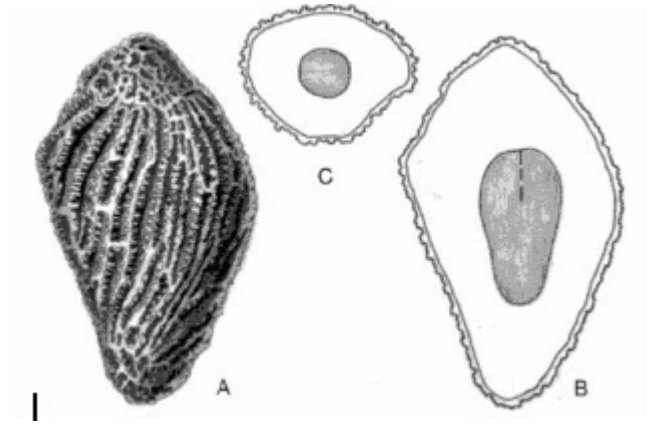
- Hoa tự thẳng, mọc ở tận cùng của nhánh; phần nhánh mang hoa dài 10 - 15 cm. Hoa không cuống hoặc cuống ngắn, phủ bởi lông vảy, ở cuống mỗi hoa có 1 lá bắc

nhỏ và 2 lá bắc rất nhỏ. Đài hình ống, dài đến 6 mm, có 10 gân và cũng có thể có 11 - 14 gân nhưng không bao giờ có đến 15 gân như loài *S. angustifolia*. Tràng hình ống, uốn cong, dài khoảng gấp 2 lần chiều dài của đài, rộng 5 - 10 mm. Màu sắc của hoa có nhiều biến đổi: màu đỏ, màu vàng, màu trắng, màu hồng hoặc màu đỏ tía.

- Quả nang mở dài khoảng 5 mm, màu đen, hình elip chứa hàng trăm hạt.

- Hạt nhỏ, màu nâu kích thước 0,2 - 0,3 mm; trọng lượng hạt khoảng 5 µg.

Hình 7. Cây cỏ ma *Striga asiatica* với các màu hoa khác nhau
(Nguồn: CABI, Crop Protection Compendium, 2007)



Hình 8. Hạt cỏ *Striga asiatica*
(A. Hạt; B. Vị trí của phôi; C. Tiết diện ngang của hạt)
(Nguồn: Identification of Disseminules Listed in the Federal Noxious Weed Act, 1988)

Phụ lục 2
(quy định)
Mẫu phiếu kết quả giám định

Cơ quan Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật ……..	**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM** **Độc lập - Tự do - Hạnh phúc** ***

....., ngày... tháng... năm 20....

PHIẾU KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH
Cỏ ma ký sinh thuộc chi *Striga* là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam

1. Tên hàng hóa :
2. Nước xuất khẩu :
3. Xuất xứ :
4. Phương tiện vận chuyển : Khối lượng:
5. Địa điểm lấy mẫu :
6. Ngày lấy mẫu :
7. Người lấy mẫu :
8. Tình trạng mẫu :
9. Ký hiệu mẫu :
10. Số mẫu lưu :
11. Người giám định :
12. Phương pháp giám định : Theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-165: 2014/BNNPTNT về "Quy trình giám định cỏ ma ký sinh thuộc chi *Striga* là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam".
13. Kết quả giám định :

Tên khoa học :
Họ : Scrophulariaceae
Bộ : Scrophulariales

Là dịch hại kiểm dịch thực vật thuộc danh mục dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

TRƯỞNG PHÒNG KỸ THUẬT *(Hoặc người giám định)* *(Ký, ghi rõ họ và tên)*	**THỦ TRƯỞNG ĐƠN VỊ** *(Ký, ghi rõ họ và tên, đóng dấu)*

(Xem tiếp Công báo số 625 + 626)

VĂN PHÒNG CHÍNH PHỦ XUẤT BẢN

Địa chỉ:	Số 1, Hoàng Hoa Thám, Ba Đình, Hà Nội
Điện thoại liên hệ:	
- Nội dung:	080.44417; Fax: 080.44517
- Phát hành:	080.48543
Email:	congbao@chinhphu.vn
Website:	http://congbao.chinhphu.vn
In tại:	Xí nghiệp Bản đồ 1- Bộ Quốc phòng

Giá: 10.000 đồng