PHẦN VĂN BẢN QUY PHẠM PHÁP LUẬT

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

Thông tư số 16/2014/TT-BNNPTNT ngày 05 tháng 6 năm 2014 ban hành Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Kiểm dịch và Bảo vệ thực vật

(Tiếp theo Công báo số 625 + 626)

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN 01-173:2014/BNNPTNT

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

National technical regulation on Procedure for identification of Mal secco (Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili*) - Plant quarantine pest of Vietnam

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-173:2014/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 KHÔ CÀNH CAM QUÝT *Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of Mal secco (Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili*) - 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 khô cành cam quýt *Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili - 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 khô cành cam quýt *Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili - 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.

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

Là một kỹ thuật phổ biến trong sinh học phân tử nhằm khuyếch 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 01-22:2010/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] "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) chứa trong các túi ni-lông có lỗ thông khí bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 3 - 5°C.

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.

Máy ly tâm, máy lắc, tủ sấy, tủ định ôn, cân điện, máy trộn dịch, máy PCR, máy điện di, buồng tối và máy chụp ảnh

Bộ dao, kim giải phẫu, panh, kéo, bộ piptet, găng tay, đèn cồn, đĩa petri, ống hút, lam, lamen, bình tam giác, cốc đong, ống ly tâm 1.5ml.

Cồn 70°, cồn tuyệt đối, parafin, lactophenol blue, acid acetic, nước cất vô trùng.

Nitơ lỏng, NaCl, phenol:chloroform:isoamylalcohol (25:24:1), chloroform, isopropanol, Proteinase K, Tris-HCl, EDTA, SDS.

$MgCl_2$,KCl, dNTP, mồi, Taq DNA polymerase, agarose.

2.3. Phương pháp phát hiện và giám định bệnh

2.3.1. Phát hiện và thu thập mẫu bệnh

Khi lá bị nhiễm bệnh gân lá trở nên trong (gân chính hoặc gân phụ), lá cong và biến vàng, chồi non cũng bị biến vàng. Sau đó lá rụng còn lại cuống lá, cành bị héo và bị chết ngọn (hình 1 đến hình 4, phụ lục 1). Đôi khi trên lá rụng các gân chính hoặc gân phụ có thể biến thành màu đỏ.

Cành bị bệnh có màu nâu hoặc màu nâu nhạt và bị nứt ra bệnh nặng đoạn thân và cành khô, có màu xám tro, trên mặt vết bệnh có các hạt nhỏ màu đen (hình 5, phụ lục 1).

Trên thân cây nhiễm bệnh, khi cắt ngang các mô cây hóa màu hồng hoặc nâu với các mô già (hình 6, 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.

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

Bào tử và các quả cành của nấm *P. tracheiphila* có thể quan sát trực tiếp dưới kính hiển vi quang học. Để quan sát rõ cấu trúc của bào tử và quả cành có thể nhuộm bằng lactophenol blue.

Dùng kim khêu nấm khêu bào tử nấm và quả cành trực tiếp từ các bộ phận bị phần nghi ngờ nhiễm bệnh hoặc có triệu chứng điển hình, đặt lên lam đã có 01 giọt lactophenol và đậy lamen. Đặt lam lên kính hiển vi và quan sát đặc điểm hình thái, đo kích thước bào tử nấm và so sánh với đặc điểm bào tử của nấm *P. tracheiphila* (phụ lục 1).

2.3.2.2. Phương pháp để ẩm

Các cành khô, các mẩu thân có triệu chứng bệnh (trên cành có các vùng khô màu xám chì hoặc xám tro, các thân cây mà mạch dẫn hóa màu hồng) để ẩm trong 12 - 24 giờ. Sau đó dùng kim khêu nấm khêu bào tử trực tiếp từ các phần nghi ngờ nhiễm bệnh, đặt lên lam đã có 01 giọt lactophenol. Đặt lam lên kính hiển vi và tìm, quan sát đặc điểm hình thái, đo kích thước bào tử nấm.

Quan sát trên kính hiển vi so sánh với đặc điểm bào tử của nấm *P. tracheiphila* (phụ lục 1).

2.3.2.3. Phương pháp phân lập nấm từ vật liệu nhiễm bệnh

Cắt ở phần rìa vết bệnh một đoạn thân, cành khoảng 20-100mm và nhúng vào cồn tuyệt đối. Sau đó, đốt đoạn thân trên đèn cồn. Khi lửa tắt dùng dao khử trùng cắt ngang hoặc dọc đoạn thân, cành thành những lát mỏng.

Nuôi cấy các lát mỏng trên môi trường PDA hoặc CPA ở 22 - 24^{0}C. Sau 3 - 5 ngày, kiểm tra sắc tố nấm tiết ra trên đĩa môi trường bằng cách soi đĩa lên ánh sáng (hình 9, phụ lục 1). Tiếp theo, cấy truyền làm thuần nấm.

Khêu mẫu nấm đã thuần từ môi trường nuôi cấy đưa lên lam và quan sát dưới kính hiển vi. Quan sát đặc điểm hình thái của bào tử nấm thu được.

So sánh với đặc điểm hình thái của bào tử nấm *P. tracheiphila* (phụ lục 1).

2.3.3. Phương pháp giám định PCR

Sử dụng phương pháp PCR để giám định nấm *P. tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili gây bệnh khô cành cam quýt.

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 khô cành cam quýt *Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili - 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 4).

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 khô cành cam quýt.

Đối với đơn vị lần đầu tiên giám định và phát hiện được bệnh khô cành cam quýt *Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili 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 khô cành cam quýt *Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili 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** (Armenia, Georgia, Iraq, Lebanon, Syria, Israel, Thổ Nhĩ Kì, Yemen), **Châu Phi** (Tunisia, Ai Cập, Libya, Algeria), **Châu Âu** (Hy Lạp, Albania, Hy Lạp, Italy, Liên Bang Nga, Cyprus, Pháp, Bỉ, Hà Lan)

1.2. Ký chủ: Hầu hết các loài thuộc họ Citrus đều mẫn cảm với bệnh nhưng chanh (*Citrus limon*) là loài bị hại nặng nhất. Các loài ký chủ khác là Phật thủ (*Citrus medica), Citrus bergamia, Quýt* (*Citrus reticulata*), Cam chua (*Citrus aurantium), Citrofortunella microcarpa , Citrus aurantiifolia, Citrus jambhiri, Citrus latifolia, Citrus limonia, Citrus macrophylla, Citrus sinensis, Citrus unshiu, Citrus x paradisi,* Quất *(Fortunella) , Poncirus trifoliata*

2. Tên khoa học và vị trí phân loại

Tên tiếng Việt: Bệnh khô cành cam quýt

Tên khoa học: *Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili

Tên khác:

Bakerophoma tracheiphila (Petri) Cif.

Deuterophoma tracheiphila Petri

Vị trí phân loại:

Lớp: Dothideomycetes

Bộ: Pleosporales

Họ: Pleosporaceae

3. Triệu chứng bệnh khô cành cam quýt

Hình 1. Triệu chứng trên lá của bệnh khô cành cam quýt *P. tracheiphila* *(Nguồn: PaDIL, 2012)*

Hình 2. Lá rụng còn lại cuống do bệnh khô cành cam quýt *P. tracheiphila* *(Nguồn: PaDIL, 2012)*

Hình 3. Cành héo do bệnh khô cành cam quýt *P. tracheiphila* *(Nguồn: PaDIL, 2012)*

Hình 4. Chết ngọn do bệnh khô cành cam quýt *P. tracheiphila* *(Nguồn: PaDIL, 2012)*

Hình 5. Vết bệnh có chứa các quả cành nấm *P. tracheiphila* *(Nguồn: PaDIL, 2012)*

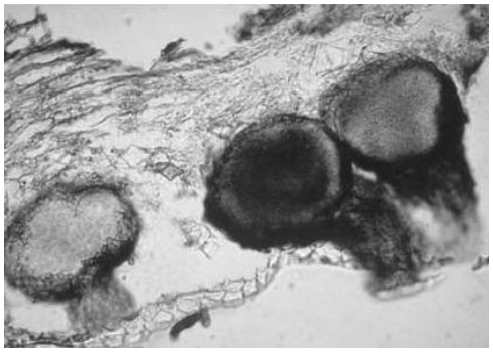
Hình 6. Triệu chứng bó mạch hóa hồng của bệnh khô cành cam quýt *(Nguồn: PaDIL, 2012)*

4. Đặc điểm hình thái bào tử nấm *P. tracheiphila*

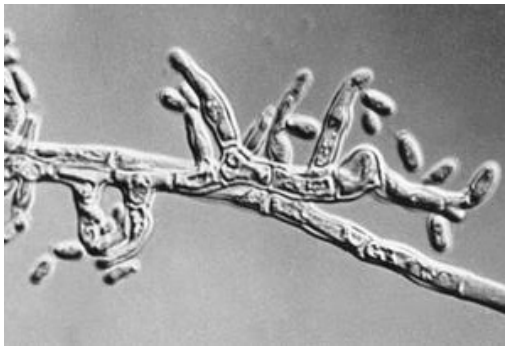
Quả cành hình cầu, hơi kéo dài thành một cổ ngắn có miệng nhỏ, màu đen đường kính 60-165 x 45-150µm (hình 7, phụ lục 1). Các bào tử phân sinh nằm trong quả cành dạng đơn bào, kích thước 0,5-1,5 x 2-4µm.

Bào tử phân sinh được sinh ra từ các tế bào sinh bào tử. Bào tử phân sinh (phialoconidia) đơn bào thường có 1 đến 3 giọt dầu màu trong suốt, dạng thẳng hoặc cong, đầu bào tử tròn kích thước 1,5-3 x 3-8µm thường được sản sinh bởi các tế bào sinh bào tử ở trên các sợi nấm tự do phát triển ở vùng gỗ trên thân lộ ra ngoài, phần mô bị thương hoặc trong mạch dẫn (hình 8, phụ lục 1).

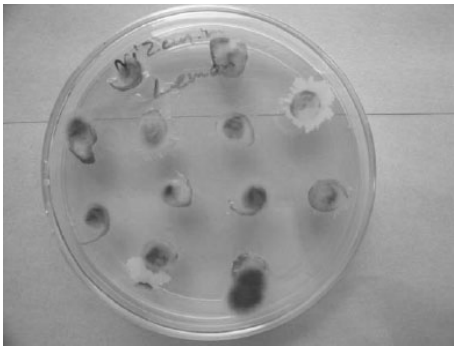
Bào tử đính dạng chồi (blastoconidia) có dạng trứng hoặc dạng quả lê được sinh ra từ mạch dẫn cây ký chủ và trên môi trường nuôi cấy nhân tạo lỏng.



Hình 7. Quả cành
của nấm *P. tracheiphila*
(Nguồn: S. Grasso, 1992)



Hình 8. Bào tử (phialoconidia) của
P. tracheiphila
(Nguồn: EPPO, 2004)



Hình 9. Sắc tố đỏ trên đĩa khi đặt các
lát cành nhiễm bệnh khô cành trên
môi trường PDA
(Nguồn: PaDIL, 2009)

Phụ lục 2
(quy định)
Quy trình giám định bệnh khô cành cam quýt bằng PCR

1. Tách chiết DNA tổng số

1.1. Tách chiết DNA tổng số từ mô cây (mô gỗ, cành, lá)

Nghiền 500mg mô cây bằng chày và cối sứ trong nitơ lỏng. Chuyển 100mg mô nghiền vào ống eppendorf chứa 450µl dịch chiết cây. Trộn đều bằng máy trộn dịch. Ủ ở 65°C trong 1 giờ.Thêm vào ống 300µl NaCl 6M và trộn đều bằng máy trộn dịch. Ly tâm 12.000 vòng/phút trong 15 phút và thu dịch nổi vào ống mới. Thêm phenol:chloroform:isoamylalcohol (25:24:1) vào ống với một thể tích tương đương và trộn đều bằng máy trộn dịch. Ly tâm 12.000 vòng/phút trong 15 phút thu dịch nổi. Thêm chloroform vào ống với một thể tích tương đương và trộn đều bằng máy trộn dịch. Ly tâm 12.000 vòng/phút trong 15 phút thu dịch nổi. Thêm isopropanol vào ống một thể tích tương đương. Ly tâm 12.000 vòng/phút trong 15 phút thu tủa DNA loại bỏ dịch. Thêm vào ống 100µl Ethanol 70% để rửa tủa DNA. Loại bỏ Ethanol để tủa DNA khô tự nhiên trong 10 phút. Hòa tan tủa DNA trong 100µl TE pH8 bảo quản ở 4°C.

1.2. Tách chiết DNA tổng số từ sợi nấm nuôi cấy trên môi trường

Dùng kim khêu nấm vô trùng chuyển sợi nấm từ đĩa nuôi cấy vào ống eppendorf. Nghiền nhỏ nấm bằng chày nhựa vô trùng trong nitơ lỏng. Chuyển hỗn hợp nghiền vào ống eppendorf mới đã chứa 400µl dịch chiết nấm. Trộn đều bằng máy trộn dịch. Thêm vào ống 8µl Proteinase K 20mg/ml lắc nhẹ. Ủ ở 65°C trong 2 giờ hoặc qua đêm.Thêm vào 300µl NaCl 6M trộn bằng máy trộn dịch trong 30 giây. Ly tâm 13.000 vòng/phút trong 30 phút thu dịch phía trên. Thêm isopropanol vào ống với một thể tích tương đương lắc nhẹ. Ủ ở -20°C trong 1 giờ hoặc lâu hơn. Ly tâm 13.000 vòng/phút trong 15 phút thu tủa DNA loại bỏ dịch. Thêm vào 100µl Ethanol 70% để rửa tủa DNA. Loại bỏ ethanol, để tủa DNA khô tự nhiên trong 10 phút. Hòa tan tủa DNA trong 100µl TE pH8 bảo quản ở 4°C.

2. Nhân gen bằng máy PCR

Đoạn mồi sử dụng

Pt-FOR2 (5′-GGATGGGCGCCAGCCTTC-3′)

Pt-REV2 (5′-GCACAAGGGCAGTGGACAAA-3′)

Master mix: 25µl mỗi phản ứng

1.5mM MgCl2,

50mM KCl;

200µM mỗi loại dATP, dCTP, dGTP và dTTP

1.0µM mỗi mồi

10ng DNA tách chiết

0.8µl Taq DNA polymerase

3. Chu trình nhiệt

94°C trong 5 phút	
94°C trong 30 giây	Lặp lại 30 chu kỳ
65°C trong 60 giây	
72°C trong 90 giây	
72°C trong 5 phút	

4. Đọc kết quả

Sản phẩm nhân gen được điện di trong gel agarose 1,5% trong 2,5 giờ hiệu điện thế 3,3 V/cm trong dung môi TAE. Nhuộm gel bằng ethidium bromide và quan sát dưới đèn UV.

Mẫu dương tính cho ra đoạn gen kích thước 378bp.

5. Thành phần dịch chiết dùng cho PCR

5.1. Thành phần dịch chiết cây

0,4 M NaCl; 10 mM Tris-HCl pH 8,0; 2,0 mM EDTA pH 8,0; 400 µg/mL proteinase K; 2% SDS.

5.2. Thành phần dịch chiết nấm

400 mM NaCl; 10 mM Tris-Cl pH 8,0; 2 mM EDTA; 20 g/l SDS.

Phụ lục 3
Một số loại môi trường nuôi cấy nấm

1. Môi trường PDA

Cân 200g khoai tây.

Cắt thành những hình lập phương 1 x 1 x 1cm.

Đun trong 1 giờ.

Lọc qua vải lọc thu nước trong.

Thêm 20g dextrose.

Thêm 15g Agar.

Thêm nước cất cho đủ 1 lít.

2. Môi trường CPA

Rửa sạch mài nhuyễn hoặc nghiền nhỏ cà rốt và khoai tây.

Lấy mỗi loại 20g đun trong nước cất khoảng 1 giờ.

Lọc qua vải lọc chỉ thu lại phần nước trong.

Thêm vào 15g agar.

Thêm nước cất cho đủ 1 lít.

Phụ lục 4
(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 khô cành cam quýt *Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili - 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 01-173: 2014/BNNPTNT 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".

13. Kết quả giám định:

Tên khoa học: *Phoma tracheiphila* (Pertri) Kantachveli & Gikachvili

Lớp: Dothideomycetes

Bộ: Pleosporales

Họ: Pleosporaceae

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 01-174:2014/BNNPTNT

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

National technical regulation on bio-efficacy field trials against canker (Xanthomonas campestris* pv.*citri* (Hasse) Dowson) *on citrus of fungicides

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-174:2014/BNNPTNT do Trung tâm Kiểm định và Khảo nghiệm thuốc bảo vệ 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 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

National technical regulation on bio-efficacy field trials against canker (Xanthomonas campestris* pv.*citri* (Hasse) Dowson) *on citrus 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 loét (*Xanthomonas campestris* pv.*citri* (Hasse) Dowson) hại cây có múi của các loại thuốc trừ bệnh.

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 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 sản xuất cây có múi thường bị bệnh loét gây hại, tại các thời điểm 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 có múi.

Trong thời gian khảo nghiệm không được sử dụng 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 sử dụng 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 xử lý 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 nồng độ khác nhau hoặc theo cách sử dụng khác nhau.

Công thức so sánh là công thức sử dụng một loại thuốc 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 loét hại cây có múi.

Công thức đối chứng là công thức không sử dụng bất kỳ loại thuốc bảo vệ thực vật nào để phòng trừ bệnh loét hại cây có múi. 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 ô khảo nghiệm tối thiểu là $10m^2$ đối với cây trong vườn ươm. Đối với các vườn kinh doanh, kích thước của mỗi ô khảo nghiệm tối thiểu là 5 cây. Số lần nhắc lại 3 - 4 lần.

Khảo nghiệm diện rộng: Diện tích của mỗi ô khảo nghiệm tối thiểu là $30m^2$ đối với cây vườn ươm. Đối với các vườn kinh doanh, kích thước của mỗi ô khảo nghiệm tối thiểu là 15 cây. Số lần nhắc lại là không.

Các ô khảo nghiệm phải có hình dạng vuông hay hình chữ nhật nhưng chiều dài không gấp đôi chiều rộng đối với khảo nghiệm trong vườn ươm.

Giữa các công thức khảo nghiệm phải có dải phân cách rộng 0,5m đối với cây vườn ươm và 1 hàng cây với cây kinh doanh.

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 nồng độ % 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 giai đoạn sinh trưởng của cây cũng như cách thức tác động của từng loại thuốc. Khi không có khuyến cáo của các tổ chức cá nhân đăng ký về lượng nước thuốc, lượng nước thuốc sử dụng từ 600 - 1000 l/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 dùng 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 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 trồng thì số lần xử lý thuốc 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

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

$$+ \text{Chỉ số bệnh (\%)} = \frac{5n_5 + 4n_4 + 3n_3 + 2n_2 + n_1}{5N} \times 100$$

Trong đó:

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

n_2: số lá (quả) bị bệnh ở cấp 2 với > 5 - 10% diện tích lá (quả) bị bệnh.

n_3: số lá (quả) bị bệnh ở cấp 3 với > 10 - 15% diện tích lá (quả) bị bệnh.

n_4: số lá (quả) bị bệnh ở cấp 4 với > 15 - 20% diện tích lá (quả) bị bệnh.

n_5: số lá (quả) bị bệnh ở cấp 5 với > 20% diện tích lá (quả) bị bệnh.

N: tổng số lá (quả) điều tra.

2.3.1.2. Phương pháp điều tra

Với khảo nghiệm trên vườn ươm: Mỗi ô chọn 5 điểm đối với khảo nghiệm diện hẹp và 10 điểm đối với khảo nghiệm diện rộng trên 2 đường chéo góc, mỗi điểm điều tra, quan sát và ghi nhận mức độ bị bệnh toàn bộ số lá của 4 cây cố định. Các điểm điều tra phải cách mép ô khảo nghiệm 0,2m.

Với khảo nghiệm trên vườn cây kinh doanh: Mỗi ô điều tra ngẫu nhiên 3 cây đối với khảo nghiệm diện hẹp và 6 cây đối với khảo nghiệm diện rộng, mỗi cây điều tra, quan sát và ghi nhận mức độ bị bệnh của toàn bộ số lá hoặc quả của 4 cành cấp 3 ở tầng giữa theo 4 hướng cây. Các cành điều tra được cố định trong suốt thời gian khảo nghiệm.

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 đối với cây có múi được đánh giá qua tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh 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 trồng

Đánh giá mọi ảnh hưởng tốt, xấu của thuốc (nếu có) đến sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng 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 trồng 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 sâu 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 sử dụng nồng độ %, 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 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 01-175:2014/BNNPTNT

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ QUY TRÌNH LƯU GIỮ, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN MẪU TRONG KIỂM DỊCH THỰC VẬT

National technical regulation on procedure for preservation and handling of samples in plant quarantine

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-175:2014/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 LƯU GIỮ, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN MẪU TRONG KIỂM DỊCH THỰC VẬT

National technical regulation on procedure for preservation and handling of samples in plant quarantine

I. QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này áp dụng thống nhất trên phạm vi toàn quốc cho việc lưu giữ, bảo quản và vận chuyển mẫu trong công tác kiểm dịch thực vật ở 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 việc lưu giữ, bảo quản và vận chuyển mẫu trong công tác kiểm dịch thực vật ở 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. Thực vật (plant)

Cây và những bộ phận của cây còn sống gồm cả hạt giống và những nguồn gen có khả năng làm giống.

1.3.3. 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.

1.3.4. Sản phẩm thực vật (plant product)

Vật liệu chưa chế biến có nguồn gốc thực vật (kể cả hạt) và các sản phẩm đã chế biến mà bản chất của chúng hoặc quá trình chế biến có thể tạo ra nguy cơ cho sự du nhập và lan rộng của dịch hại.

1.3.5. 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.

1.3.6. Mẫu ban đầu (primary sample)

Là khối lượng mẫu thực vật, sản phẩm thực vật hoặc tàn dư của sản phẩm thực vật được lấy ra từ một vị trí trong lô vật thể.

1.3.7. Mẫu chung (aggregate sample)

Là mẫu gộp các mẫu ban đầu.

1.3.8. Mẫu trung bình (average sample)

Là mẫu được lấy từ mẫu chung theo phương pháp của tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4731:89[1], dùng làm mẫu lưu, mẫu phân tích, mẫu gửi và mẫu tồn.

1.3.9. Mẫu phân tích (sample for testing)

Là mẫu được lấy từ mẫu trung bình theo nguyên tắc đường chéo và được dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm.

1.3.10. Mẫu lưu (stored sample)

Là mẫu được lấy từ mẫu trung bình theo nguyên tắc đường chéo, được lưu lại trong thời gian quy định để làm cơ sở để giải quyết khiếu nại trong công tác kiểm dịch thực vật.

1.3.11. Mẫu gửi (delivered sample)

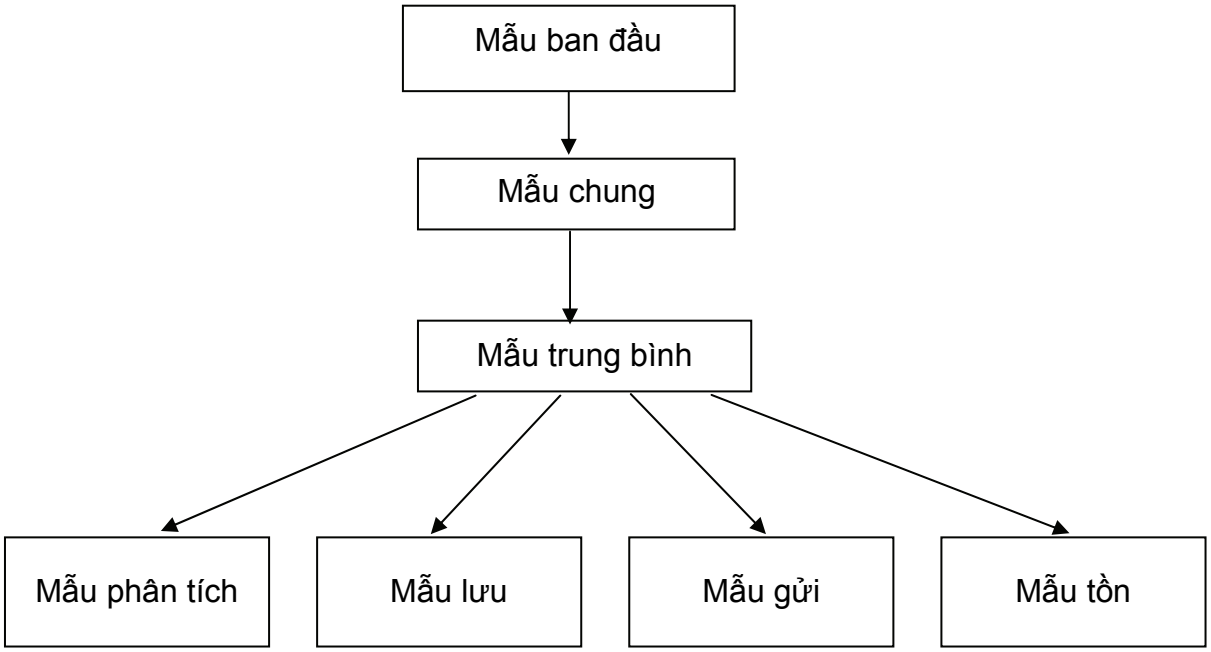
Là mẫu được lấy từ mẫu trung bình theo nguyên tắc đường chéo và được gửi đi giám định hoặc theo dõi sau nhập khẩu hoặc gửi đến cơ quan chức năng (khi có yêu cầu).

1.3.12. Mẫu tồn (contingency sample)

Là phần mẫu còn lại sau khi chia mẫu trung bình theo nguyên tắc đường chéo để có mẫu gửi, mẫu phân tích, mẫu lưu, được dự phòng cho những mục đích khác khi cần.

II. QUY ĐỊNH KỸ THUẬT

2.1. Trình tự chia mẫu trong kiểm dịch thực vật



[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. Quy trình lưu giữ, bảo quản và vận chuyển mẫu là thực vật và sản phẩm thực vật trong kiểm dịch thực vật

2.2.1. Quy trình lưu giữ mẫu là thực vật và sản phẩm thực vật trong kiểm dịch thực vật

2.2.1.1. Thời gian lưu giữ

Đối với củ, quả tươi: Thời gian lưu giữ tối thiểu là 15 ngày.

Đối với rau tươi: Thời gian lưu giữ tối thiểu là 7 ngày.

Đối với hàng hóa là cây, cành, mắt ghép: Thời gian lưu giữ tối thiểu là 15 ngày.

Đối với hoa tươi: Thời gian lưu giữ tối thiểu là 7 ngày.

Hàng hóa là các loại hạt: Thời gian lưu giữ tối thiểu là 3 tháng.

Các sản phẩm thực vật đã qua chế biến: Thời gian lưu giữ tối thiểu là 3 tháng.

Các sản phẩm thực vật khác chưa qua chế biến: Thời gian lưu giữ tối thiểu là 3 tháng.

2.2.2.2. Theo dõi mẫu lưu

- Hàng hóa là rau, củ, quả tươi: Kiểm tra thành phần sinh vật gây hại định kỳ 7 ngày/lần đối với củ, quả tươi và 3 ngày/lần đối với rau tươi. Hết thời gian lưu thì tiến hành hủy mẫu.

- Hàng hóa là cây, cành, mắt ghép, hoa tươi: Kiểm tra thành phần sinh vật gây hại định kỳ 7 ngày/lần đối với cây, cành, mắt ghép và 3 ngày/lần đối với hoa tươi. Hết thời gian lưu thì tiến hành hủy mẫu.

- Hàng hóa là các loại hạt: Mỗi tháng tiến hành kiểm tra định kỳ các hộp lưu mẫu, thống kê thành phần sinh vật hại, tình trạng mẫu. Hết thời hạn lưu, tiến hành hủy mẫu.

- Các sản phẩm thực vật đã qua chế biến: Mỗi tháng tiến hành kiểm tra định kỳ các hộp lưu mẫu, thống kê thành phần sinh vật gây hại, tình trạng mẫu. Hết thời hạn lưu tiến hành hủy mẫu.

- Các sản phẩm thực vật khác chưa qua chế biến: Mỗi tháng tiến hành kiểm tra định kỳ các hộp lưu mẫu, thống kê thành phần sinh vật hại, tình trạng mẫu. Hết thời hạn lưu, tiến hành hủy mẫu.

- Sổ lưu mẫu như quy định của Thông tư số 14/2012/TT-BNNPTNT[2] ngày 27 tháng 3 năm 2012 của Bộ Nông nghiệp và PTNT về sổ giám định và lưu mẫu hàng xuất khẩu, nhập khẩu.

2.2.2. Quy trình bảo quản mẫu là thực vật và sản phẩm thực vật trong kiểm dịch thực vật

2.2.2.1. Hàng hóa là rau, củ, quả tươi

Mẫu được bảo quản trong các túi ni-lông có lỗ thông khí (dùng kim côn trùng số 2 châm vào 1/3 phía trên của túi ni-lông khoảng 5 lỗ/cm^2) và phải bảo quản trong

[2] 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

tủ lạnh hoặc tủ bảo quản rau quả chuyên dùng. Mỗi túi phải đính kèm nhãn ký hiệu của mẫu.

2.2.2.2. Hàng hóa là cây, cành, mắt ghép, hoa tươi

- Đối với mẫu không có giá thể (cành mắt ghép, chồi, hom, hoa tươi), mẫu được giữ ẩm bằng bông hoặc giấy thấm nước, sau đó đặt trong các túi ni-lông có lỗ thông khí (dùng kim côn trùng số 2 châm vào 1/3 phía trên của túi ni-lông khoảng 5 lỗ/cm^2) và để ở điều kiện nhiệt độ phòng. Mỗi túi phải đính kèm nhãn ký hiệu của mẫu.

- Đối với mẫu là cây có kèm các giá thể thì cho toàn bộ cây và giá thể vào trong túi ni-lông có lỗ thông khí và bảo quản ở điều kiện nhiệt độ và ánh sáng trong phòng. Mỗi túi phải đính nhãn ghi ký hiệu mẫu.

2.2.2.3. Hàng hóa là các loại hạt

Mẫu được đặt trong các hộp nhựa có nắp lưới (1cm^2 có từ 630 - 700 mắt lưới). Thành phía trong của hộp nhựa (1/3 khoảng cách tính từ trên nắp xuống) được bôi/phủ một lớp hóa chất ngăn côn trùng bò lên nắp (Fluon hoặc bột đá). Các lọ có dán nhãn ký hiệu mẫu và đặt trong các tủ đựng mẫu lưu (phụ lục 1).

2.2.2.4. Các sản phẩm thực vật đã qua chế biến

Quy trình bảo quản tương tự mục 2.2.2.3.

2.2.2.5. Các sản phẩm thực vật khác chưa qua chế biến

Quy trình bảo quản tương tự mục 2.2.2.3.

2.2.2.6. Nội dung nhãn của mẫu lưu và trang thiết bị, dụng cụ của phòng lưu mẫu *(phụ lục 1)*

2.2.3. Quy trình vận chuyển mẫu là thực vật và sản phẩm thực vật trong kiểm dịch thực vật

2.2.3.1. Phương thức vận chuyển

Mẫu được vận chuyển từ địa điểm lấy mẫu về phòng thí nghiệm để giám định hoặc lưu hoặc gieo trồng trong thời giam sớm nhất có thể bằng bưu điện hoặc các phương tiện thích hợp tuỳ thuộc vào yêu cầu và điều kiện cụ thể.

2.2.3.2. Bảo quản mẫu trong vận chuyển

2.2.3.2.1. Hàng hóa là rau, củ, quả tươi

Khi vận chuyển, các mẫu được đặt riêng vào các túi ni-lông có lỗ thông khí (dùng kim côn trùng số 2 châm vào 1/3 phía trên của túi ni-lông khoảng 5 lỗ/cm^2) có ghi rõ ký hiệu, sau đó đặt vào thùng carton để tránh dập nát. Để bảo quản tốt sản phẩm trong quá trình vận chuyển, nên đặt đá khô vào trong thùng carton (khi nhiệt độ bên ngoài cao trên 20^oC).

2.2.3.2.2. Hàng hóa là cây, cành, mắt ghép, hoa tươi

Khi vận chuyển, các mẫu được đặt riêng vào các túi ni-lông có lỗ thông khí (đối với mẫu không có giá thể thì giữ ẩm bằng bông hoặc giấy thấm nước). Các túi cũng phải đính nhãn ghi ký hiệu mẫu. Các túi được đặt trong thùng cactông để tránh dập nát trong quá trình vận chuyển.

2.2.3.2.3. Hàng hóa là các loại hạt

Khi vận chuyển, các mẫu được đặt riêng trong các hộp nhựa nắp lưới thoáng ($1cm^2$ có từ 630 - 700 mắt lưới). Thành phía trong của hộp nhựa được bôi/phủ một lớp hóa chất ngăn côn trùng bò lên nắp (Fluon hoặc bột đá). Các hộp có dán nhãn ký hiệu mẫu. Các hộp được đặt trong thùng cactông để tránh đổ, vỡ trong quá trình vận chuyển.

2.2.3.2.4. Các sản phẩm đã qua chế biến

Quy trình vận chuyển tương tự mục 2.2.3.2.3.

2.2.3.2.5. Các sản phẩm thực vật khác chưa qua chế biến

Quy trình vận chuyển tương tự mục 2.2.3.2.3.

2.2.3.2.6. Phiếu gửi mẫu: như quy định ở phụ lục 2.

2.3. Quy trình lưu giữ, bảo quản và vận chuyển mẫu là sinh vật gây hại trong kiểm dịch thực vật

2.3.1. Quy trình lưu giữ mẫu là sinh vật gây hại trong kiểm dịch thực vật

2.3.1.1. Côn trùng và nhện

- Hàng hóa có chứa côn trùng và nhện hại, quy trình lưu giữ tương tự mục 2.2.1.

- Côn trùng và nhện hại, thời gian lưu giữ tối thiểu là 3 tháng.

2.3.1.2. Vi sinh vật gây hại như nấm, vi khuẩn, virus, viroids và phytoplasma

- Hàng hóa có triệu chứng nghi là nấm, vi khuẩn, virus, viroids và phytoplasma, quy trình lưu giữ tương tự mục 2.2.1.

- Tiêu bản của nấm, vi khuẩn, thời gian lưu giữ tối thiểu là 3 tháng.

2.3.1.3. Tuyến trùng ký sinh thực vật

- Hàng hóa có triệu chứng nghi là tuyến trùng, quy trình lưu giữ tương tự mục 2.2.1.

- Tiêu bản của tuyến trùng, thời gian lưu giữ tối thiểu là 3 tháng.

2.3.1.4. Cỏ dại

- Hàng hóa có chứa cỏ dại, quy trình lưu giữ tương tự mục 2.2.1.

- Hạt cỏ dại và tiêu bản cây cỏ, thời gian lưu giữ tối thiểu là 3 tháng.

2.3.1.5. Các nhóm sinh vật gây hại khác

Các nhóm sinh vật gây hại khác, phải tiến hành lưu giữ cho đến khi có kết quả giám định.

2.3.2. Quy trình bảo quản mẫu là sinh vật gây hại trong kiểm dịch thực vật

2.3.2.1. Côn trùng và nhện

- Hàng hóa có chứa côn trùng và nhện hại, quy trình bảo quản tương tự mục 2.2.2.

- Côn trùng và nhện:

Các cá thể côn trùng trưởng thành được làm chết trong lọ độc (KCN), tiếp theo sấy ở 45 - 50°C trong 3 - 4 ngày. Sau đó cho vào lọ nút mài kín và để ở nhiệt độ phòng. Các lọ đều được dán nhãn đầy đủ.

Các cá thể sâu non, rệp, bọ trĩ và nhện được cho vào các lọ nút mài kín có chứa dung dịch cồn 70% hoặc dung dịch ngâm sâu non (Chloroform - formalin 10%). Các lọ đều được dán nhãn đầy đủ.

Các tiêu bản lam phải có nhãn ký hiệu mẫu, để trong hộp chuyên dụng đựng tiêu bản lam và được bảo quản ở nhiệt độ phòng.

2.3.2.2. Các vi sinh vật gây hại như nấm, vi khuẩn, virus, viroids và phytoplasma

- Các bộ phận tươi có triệu chứng bệnh (cành, lá, thân, rễ, củ...), mẫu được để trong các túi ni-lông có lỗ thông khí có đính nhãn và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 3 - 5°C.

- Các sản phẩm khô có triệu chứng bệnh (hạt, quả khô,...), mẫu được để trong các túi ni-lông hoặc hộp nhựa kín có nhãn và bảo quản ở nhiệt độ phòng.

- Mẫu đất được cho vào túi ni-lông, có lỗ thông khí, có đính nhãn và để ở những nơi thoáng mát hoặc 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.

2.3.2.3. Tuyến trùng ký sinh thực vật

- Các bộ phận tươi có triệu chứng nghi là tuyến trùng (cành, lá, thân, rễ, củ...) được để trong các túi ni-lông có lỗ thông khí có đính nhãn và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ khoảng 5°C.

- Các sản phẩm khô có triệu chứng nghi là tuyến trùng (hạt, quả khô,...) được để trong các túi ni-lông hoặc hộp nhựa kín có dán nhãn và bảo quản ở nhiệt độ phòng.

- Mẫu đất được cho vào túi ni-lông, có lỗ thông khí, có đính nhãn và để ở những nơi thoáng mát hoặc ở nhiệt độ phòng.

- Dung dịch có tuyến trùng được tách ra từ bộ phận bị hại để trong các lọ kín có dán nhãn và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 5°C - 10°C.

Tiêu bản:

Tiêu bản lam phải có nhãn ký hiệu mẫu, để trong hộp chuyên dụng đựng tiêu bản lam và được bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Tuyến trùng được tách ra từ mẫu hàng hóa được xử lý nhiệt bằng nước nóng ở nhiệt độ 60 - 80°C trong 1 - 2 phút, sau đó cho vào lọ có nút kín chứa một trong ba loại dung dịch dưới đây và bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng. Các lọ có nhãn đầy đủ.

Dung dịch 1: Formalin

Dung dịch Formaldehyde 4%.

Dung dịch 2: Formalin - glycerol (FG)

Formalin (40% formaldehyde): 10ml

Glycerol: 01ml

Nước cất: 89ml

Dung dịch 3: TAF

Triethanolamine: 02ml

Formalin (40% formaldehyde): 07ml

Nước cất: 91ml

2.3.2.4. Cỏ dại

- Hàng hóa có lẫn cỏ dại, phương pháp bảo quản như quy định ở mục 2.2.2.

- Hạt cỏ sàng tách ra từ hàng hóa được phơi khô tự nhiên hoặc sấy ở 50°C cho đến khi độ ẩm đạt 13%, sau đó cho vào các lọ kín, có dán nhãn và bảo quản ở nhiệt độ phòng.

- Cây cỏ tươi: Tiến hành làm tiêu bản ép khô và bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng.

2.3.2.5. Nhóm sinh vật gây hại khác

Các cá thể còn sống của nhóm sinh vật gây hại khác được bảo quản trong các dụng cụ bảo quản mẫu phù hợp với từng loài ở điều kiện nhiệt độ phòng. Các dụng cụ bảo quản mẫu phải có nhãn đầy đủ.

2.3.2.6. Nội dung nhãn của mẫu lưu *(phụ lục 1).*

2.3.3. Quy trình vận chuyển mẫu là sinh vật gây hại trong kiểm dịch thực vật

2.3.3.1. Phương thức vận chuyển

Mẫu được vận chuyển từ địa điểm lấy mẫu về phòng thí nghiệm để giám định hoặc lưu hoặc gieo trồng trong thời giam sớm nhất có thể bằng bưu điện hoặc các phương tiện thích hợp tùy thuộc vào yêu cầu và điều kiện cụ thể.

2.3.3.2. Bảo quản mẫu trong vận chuyển

2.3.3.2.1. Côn trùng và nhện

- Hàng hóa có chứa côn trùng và nhện gây hại, quy trình vận chuyển tương tự mục 2.2.3.

- Côn trùng trưởng thành chết được cho vào các lọ nhỏ hoặc ống nghiệm nắp kín, có nhãn và đóng gói cẩn thận, tránh vỡ khi vận chuyển.

- Dung dịch ngâm sâu non, rệp, bọ trĩ và nhện được cho vào các ống nghiệm nhỏ có nắp kín (chú ý là dung dịch trong ống nghiệm phải đầy), có dán nhãn và đóng gói cẩn thận, tránh vỡ khi vận chuyển.

- Các tiêu bản lam được đính nhãn và cho vào hộp chuyên dụng đựng tiêu bản lam, đóng gói cẩn thận, tránh vỡ hỏng trong quá trình vận chuyển.

2.3.3.2.2. Vi sinh vật gây hại như nấm, vi khuẩn, virus, viroids và phytoplasma

- Hàng hóa có triệu chứng nghi là nấm, vi khuẩn, virus, viroids và phytoplasma, quy trình vận chuyển tương tự mục 2.2.3.

- Các tiêu bản lam được đính nhãn và cho vào hộp chuyên dụng đựng tiêu bản lam, đóng gói cẩn thận, tránh vỡ hỏng trong quá trình vận chuyển.

2.3.3.2.3. Tuyến trùng ký sinh thực vật

- Hàng hóa có triệu chứng nghi là tuyến trùng, quy trình vận chuyển tương tự mục 2.2.3.

- Để vận chuyển, các tiêu bản lam được cho vào hộp chuyên dụng đựng tiêu bản lam, dung dịch có tuyến trùng được đóng vào lọ kín có dán nhãn và đóng gói cẩn thận, tránh vỡ hỏng trong quá trình vận chuyển.

2.3.3.2.4. Cỏ dại

- Hàng hóa có lẫn cỏ dại, quy trình vận chuyển tương tự mục 2.2.3.

- Hạt cỏ dại được cho vào các lọ hoặc ống nghiệm có nắp kín, có ghi nhãn và đóng gói cẩn thận, tránh vỡ khi vận chuyển.

- Tiêu bản ép khô được đóng gói cẩn thận trong thùng cactông để tránh nát, hỏng trong quá trình vận chuyển. Các tiêu bản phải có nhãn đầy đủ.

- Cây cỏ tươi: Mẫu được giữ ẩm bằng bông hoặc giấy thấm nước, sau đó đặt trong các túi ni-lông có lỗ thông khí (dùng kim côn trùng số 2 châm vào 1/3 phía trên của túi khoảng 5 lỗ/1cm^2). Các túi cũng phải đính nhãn ghi ký hiệu mẫu. Các túi được đặt trong thùng carton để tránh dập nát trong quá trình vận chuyển.

2.3.3.2.5. Nhóm sinh vật gây hại khác

- Các cá thể còn sống của nhóm sinh vật gây hại khác phải để trong các dụng cụ bảo quản phù hợp với từng loài trong khi vận chuyển để tránh làm chết hoặc bị thoát ra ngoài. Các dụng cụ phải có nhãn đầy đủ.

- Tiêu bản (khô hoặc ướt) của nhóm sinh vật gây hại khác phải được đóng gói cẩn thận trong thùng carton để tránh đổ vỡ, hỏng. Các tiêu bản phải có nhãn đầy đủ.

2.3.3.2. Phiếu gửi mẫu (phụ lục 2).

III. QUY ĐỊNH VỀ QUẢN LÝ

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 thực hiện việc lưu giữ, bảo quản và vận chuyển mẫu trong công tác kiểm dịch thực vật ở Việt Nam.

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 việc lưu giữ, bảo quản và vận chuyển mẫu trong công tác kiểm dịch thực vật ở 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
(quy định)

A.1. Nhãn dùng cho mẫu lưu và mẫu gửi

A.1.1. Nhãn dùng cho mẫu thực vật và sản phẩm thực vật

1. Tên thực vật/sản phẩm thực vật
2. Ký hiệu mẫu
3. Ngày lấy mẫu
4. Ngày lưu mẫu
5. Người lấy mẫu

A.1.2. Nhãn dùng cho mẫu là sinh vật gây hại

1. Tên ký chủ/hàng hóa
2. Ký hiệu mẫu
3. Ngày lấy mẫu
4. Ngày lưu mẫu
5. Người lấy mẫu

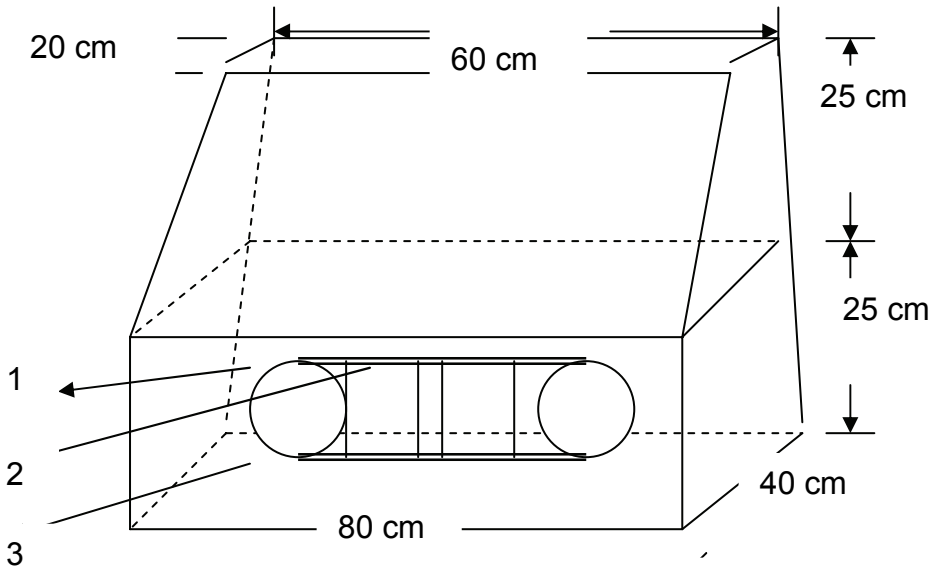
A.2. Thiết bị phòng lưu mẫu

1. Tủ đựng mẫu lưu: Tủ làm bằng khung nhôm hoặc sắt, cửa kính, hai vách bên là lưới để ngăn côn trùng.

2. Quạt thông gió

3. Bàn kiểm tra mẫu:

- Sàng với kích thước mắt sàng từ 0,025 - 3,35mm.
- Lồng để bắt côn trùng (hình 1).
- Hệ thống đèn bàn.
- Khay men, bút lông, panh côn trùng, lọ độc, lúp cầm tay, cồn...



Hình 1. Lồng bắt côn trùng (khung nhôm kính)

1. Ô cho tay thao tác bắt côn trùng; 2. Cánh cửa đẩy; 3. Đáy (để hở)

Phụ lục 2
(quy định)
Mẫu phiếu gửi mẫu

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

....., ngày... tháng... năm 20...

PHIẾU GỬI MẪU GIÁM ĐỊNH SÂU, BỆNH VÀ CỎ DẠI

1. Cơ quan/Đơn vị gửi mẫu:
2. Tên mẫu gửi:
3. Pha phát dục (côn trùng), bộ phận của cây (bệnh và cỏ dại)
4. Số lượng mẫu gửi:
5. Ký hiệu mẫu:
6. Loại hàng hóa xuất, nhập khẩu hoặc loại cây trồng bị hại:
7. Nước xuất/nhập hàng:
8. Cơ quan xuất, nhập khẩu hàng:
9. Phương tiện vận chuyển:
10. Cửa khẩu xuất, nhập:
11. Địa điểm gieo trồng:
12. Ngày lấy mẫu:
13. Người lấy mẫu:
14. Kết quả giám định bước đầu của cơ sở:
15. Yêu cầu của cơ quan/đơn vị gửi mẫu:

Vào sổ số: ngày tháng năm

Thủ trưởng cơ quan/đơn vị gửi mẫu
(Ký, ghi rõ họ và tên, đóng dấu)

Người nhận mẫu
(Ký, ghi rõ họ và tên)

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN 01:176:2014/BNNPTNT

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

National technical regulation on Procedure for identification of groundnut bruchid (Pachymerus pallidus Olivier) - Plant quarantine pest of Vietnam

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-176:2014/BNNPTNT do Trung tâm Giám định Kiểm dịch thực vật vật biên soạn, Cục Bảo vệ thực 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 MỌT LẠC (*Pachymerus pallidus* Olivier) LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of groundnut bruchid* (*Pachymerus pallidus* Olivier) - *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 mọt lạc (*Pachymerus pallidus* Olivier) là dịch hại kiểm dịch thực vật 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 tại Việt Nam (viết tắt là KDTV) thực hiện giám định mọt lạc (*Pachymerus pallidus* Olivier) 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 phải 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. Mọt (weevil)

Là nhóm côn trùng cánh cứng gây hại chủ yếu trên các sản phẩm bảo quản sau thu hoạch.

1.3.4. 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.

1.3.5. 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

2.1.3. 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 01-23:2010/BNNPTNT[1] "Phương pháp kiểm tra các loại hạt xuất nhập khẩu và quá cảnh".

2.1.4. Bảo quản mẫu giám định

Các cá thể côn trùng trưởng thành được làm chết trong lọ độc (KCN), tiếp theo sấy ở 45 - 50°C trong 3 - 4 ngày. Sau đó cho vào lọ nút mài kín và để ở nhiệt độ phòng. Các lọ đều được dán nhãn đầy đủ.

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

- Kính lúp soi nổi, kính hiển vi.
- Kim côn trùng, kim mũi mác.
- Đĩa petri, lọ nút mài, giấy lọc, panh, bút lông.
- Lọ độc (KCN).
- Hồ dán tiêu bản (60g gum arabic + 30g đường + 2ml carbolic acid + 8ml cồn 95% + 45ml nước cất)

2.3. Phương pháp làm tiêu bản mẫu giám định

Tiêu bản giám định được thực hiện với trưởng thành mọt lạc theo phương pháp sau:

- Chuyển mẫu đã sấy từ lọ bảo quản vào đĩa petri và để qua đêm cho mẫu mềm.
- Cắm kim côn trùng số 3 vào gần cạnh đáy của mảnh bìa cứng cắt nhọn (kích thước 11 x 3,5mm), dùng panh gập đỉnh của mảnh bìa (khoảng 1 - 2mm) vuông góc và hướng xuống dưới. Phết hồ dán tiêu bản vào phần đã gập.
- Đặt ngửa trưởng thành trên lam, đầu hướng về bên trái của người làm tiêu bản, dính phần hồ dán của mảnh bìa nhọn vào mặt bên phần ngực giữa của côn trùng (đầu nhọn của kim côn trùng hướng lên phía trên) (phụ lục 1).
- Tiêu bản được cắm vào miếng xốp mỏng để phục vụ việc quan sát và giám định.

2.4. Trình tự giám định

Quan sát mẫu tiêu bản trên kính lúp soi nổi lần lượt các đặc điểm sau:

- Hình dạng và màu sắc râu đầu, số đốt râu.
- Kích thước cơ thể
- Hình dạng mảnh lưng ngực
- Hoa văn trên cánh cứng
- Đốt đùi chân sau, số lượng gai
- Hình dạng đốt chày chân 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.

2.5. Đối chiếu kết quả quan sát với đặc điểm hình thái của mọt lạc (*Pachymerus pallidus* Olivier) (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 loài (*Pachymerus pallidus* Olivier) [chỉ áp dụng đối với các đơn vị đã từng giám định được (*Pachymerus pallidus* Olivier).

2.6. Thẩm định kết quả giám định và báo cáo

Sau khi khẳng định kết quả giám định là mọt lạc (*Pachymerus pallidus* Olivier) 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 mọt lạc.

Đối với đơn vị lần đầu tiên giám định và phát hiện được mọt lạc 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.

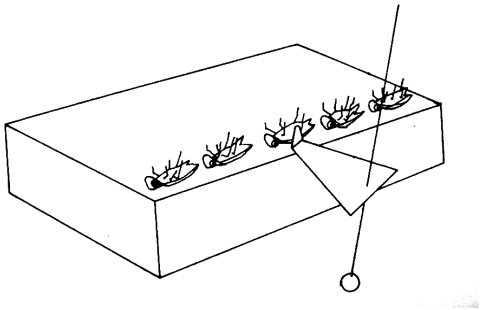
Đơn vị giám định phải lưu mẫu theo Quy chuẩn kỹ thuật hiện hành về thời gian để giải quyết khiếu nại về kết quả giám định (nếu có).

III. TỔ CHỨC THỰC HIỆN

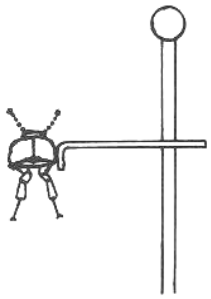
Cục Bảo vệ thực vật có trách nhiệm phổ biến; tổ chức, hướng dẫn và kiểm tra việc thực hiện Quy chuẩn này trong hệ thống tổ chức chuyên ngành Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật cũng như các tổ chức, cá nhân khác có liên quan.

Các tổ chức, cá nhân có hoạt động liên quan đến điều tra, thu thập mẫu, xử lý và bảo quản mẫu mọt lạc 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
Phương pháp làm tiêu bản giám định



Hình 1. Vị trí cắm kim vào mảnh bìa nhọn và dán vào côn trùng (*Nguồn*: Walker A.K. and Crosby T.K, 1988)



Hình 2. Tiêu bản mẫu giám định (*Nguồn*: Walker A.K. and Crosby T.K, 1988)

Phụ lục 2
Thông tin về dịch hại

1. Phân bố và ký chủ

Châu Âu: Greece, Yugoslavia (cũ), Franch.

Châu Á: Israel, India, Indonesia, Jordan, Siria, Turkey, Sri Lanca

Châu Phi: Ghana, Guinea, Egypt, Zaire, Cameroon, Kenya, Lebanon, Senegal, Somalia, Tunisia, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Gambia, Nigeria, Niger, Sudan, Tanzania, Uganda.

Tây Bán cầu**:** Uganda, Haiti, Jamaica, Mexico, USA, Venezuela

Ký chủ: Lạc, đậu.

2. Tên khoa học và vị trí phân loại

- Tên khoa học : *Pachymerus pallidus* Olivier

Tên tiếng Việt : Mọt lạc

Tên khác : *Bruchus pallidus* Ol.,
Caryedon gonagra Ol.,
Caryedon pallidus Ol.,
Caryeborus pallidus Ol.,
Pachymerus acaciae Gyll.,
Caryeborus germani Kust.

- Vị trí phân loại:

Ngành : Arthropoda

Lớp : Insecta

Bộ : Coleoptera

Họ : Bruchidae

Giống : *Pachymerus*

3. Đặc điểm chung

3.1. Họ Bruchidae

- Trưởng thành họ Bruchidae cơ thể hình bầu dục, toàn thân phủ đầy lông ngắn. Tấm lưng ngực hình chuông, bờ trước tròn. Mắt nhô rõ ra khỏi đầu về phía trước, Đầu nhỏ, kiểu miệng dưới. Râu đầu có hai dạng: dạng hình răng cưa và dạng hình răng lược. Cánh cứng không che hết bụng, để lộ đốt bụng cuối. Đùi chân sau, đốt chày thường có gai.

- Sâu non không chân, cong dạng chữ C

- Nhộng dạng nhộng trần

- Trứng thường được đẻ bên ngoài hạt.

3.2. Họ phụ Pachymerinae

- Râu đầu 10 - 12 đốt
- Đốt đùi chân sau phát triển, bờ trong có từ 8 - 12 gai cứng
- Đốt chày chân sau cong hình chữ C.

3.3. Giống *Pachymerus*

- Kích thước trưởng thành từ 3,5 - 7,5mm, hình trụ
- Râu đầu 10 - 12, đốt có màu không đồng nhất
- Đốt đùi chân sau phát triển bờ trong đốt đùi chân sau có từ 8 - 12 gai cứng
- Đốt chày chân sau cong hình chữ C.

4. Đặc điểm nhận dạng mọt lạc *Pachymerus pallidus* Olivier - dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I của Việt Nam

***Trưởng thành*:** Hình oval, dài 4,5 - 5mm, màu nâu đỏ hoặc vàng đỏ, toàn thân phủ đầy lông màu vàng xám, mắt to lồi, màu đen, mắt con đực to hơn mắt con cái.

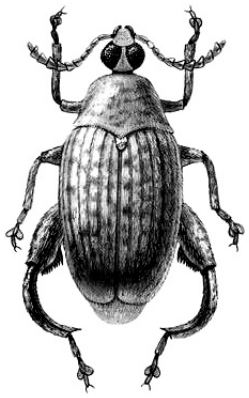
Râu đầu 11 đốt, từ đốt 2 đến đốt 4 về phía gốc và đốt ngoài cùng có màu nâu nhạt, các đốt còn lại có màu nâu đậm. Râu đầu con đực nhỏ kéo dài, ở con cái ngắn hơn 1/2 chiều dài thân.

Mảnh lưng ngực hình chuông, chiều rộng lớn hơn chiều dài, mặt trên có nhiều chấm lõm tròn. Mép trước thu hẹp hình cánh cung, góc sau gần vuông.

Cánh cứng hình oval dài, phía sau hơi thu hẹp lại, phủ lông mịn màu nhạt, góc ngoài cánh cứng nổi lên.Trên đường rãnh thứ 2 và 3 có đốm lông màu đen nhưng chạy đứt quãng, ở 1/3 phần gốc cánh cứng có những đốm lông màu nâu nhạt hơn làm thành hoa văn, đôi khi còn có những đốm lông nhỏ màu đen. Cánh cứng không che hết bụng, để lộ đốt bụng cuối, mặt trên đốt bụng cuối phủ lông tơ màu vàng nhạt.

Chân trước nhỏ, đốt đùi chân sau to mập, bờ trong đốt đùi chân sau có hàng gai cứng nhọn xếp dạng răng cưa (9 gai cứng) màu đen, gai đầu tiên dài nhất các gai sau ngắn dần, đốt chày chân sau rất cong. Bàn chân nhỏ.

Đốt hậu môn của con cái bằng phẳng hơi nghiêng về phía sau.

		
Hình 3. Mảnh lưng ngực	Hình 4. Chân sau	Hình 5. Trưởng thành

(*Nguồn*: *Đối tượng KDTV của Liên Xô, 1995*)

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
Mọt lạc (*Pachymerus pallidus* Olivier) 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 01-176: 2014/BNNPTNT về "Quy trình giám định mọt lạc (*Pachymerus pallidus* Olivier) là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam".

13. Kết quả giám định :

Tên khoa học :

Họ : Bruchidae

Bộ : Coleoptera

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 01-177:2014/BNNPTNT

QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU TRA PHÁT HIỆN SINH VẬT CHÍNH GÂY HẠI CÂY NHÃN, VẢI

National technical Regulation on Surveillance method of Longan, Lychee pests

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-177:2014/BNNPTNT do Phòng Quản lý sinh vật gây hại rừng biên soạn, 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 PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU TRA PHÁT HIỆN SINH VẬT CHÍNH GÂY HẠI CÂY NHÃN, VẢI

National technical Regulation on Surveillance method of Longan, Lychee pests

I. QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này quy định những nguyên tắc, nội dung, phương pháp, chỉ tiêu theo dõi chủ yếu trong điều tra phát hiện sinh vật chính hại nhãn, vải; danh mục các sinh vật chính (phụ lục 1).

1.2. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này bắt buộc áp dụng trong hệ thống tổ chức chuyên ngành Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật; các tổ chức, cá nhân hoạt động liên quan đến điều tra phát hiện sinh vật hại nhãn, vải trên lãnh thổ Việt Nam.

1.3. Giải thích từ ngữ

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

1.3.1. Sinh vật hại (SVH)

Là những sinh vật hoạt động làm giảm số lượng, khối lượng, chất lượng cây trồng nông sản.

1.3.2. Sinh vật hại chính

Là những sinh vật thường xuyên xuất hiện phổ biến và hại nặng hàng năm ở địa phương.

1.3.3. Sinh vật hại chủ yếu

Là những sinh vật hại chính, mà tại thời điểm điều tra có mức độ gây hại cao hoặc có khả năng lây lan nhanh, phân bố rộng trong điều kiện ngoại cảnh thuận lợi.

1.3.4. Yếu tố điều tra chính

Là các yếu tố đại diện bao gồm giống, tuổi cây, địa hình.

1.3.5. Khu vực điều tra

Là vườn nhãn, vải đại diện cho các yếu tố điều tra được chọn cố định để điều tra ngay từ đầu vụ.

1.3.6. Tuyến điều tra

Là tuyến được xác định theo một lịch trình ở khu vực điều tra nhằm thỏa mãn các yếu tố điều tra chính của địa phương.

1.3.7. Điểm điều tra

Là điểm được bố trí ngẫu nhiên trong từng yếu tố điều tra.

1.3.8. Mẫu điều tra

Là số lượng cây hoặc các bộ phận của cây (lá, thân, cành, hoa, quả,…) trên đơn vị điều tra.

1.3.9. Mật độ sinh vật hại

Là số lượng cá thể sinh vật hại trên một đơn vị diện tích hoặc một đơn vị đối tượng khảo sát.

1.3.10. Tỷ lệ bệnh hoặc tỷ lệ hại

Là số lượng cá thể bị hại tính theo phần trăm (%) so với tổng số các cá thể điều tra trong quần thể.

1.3.11. Chỉ số bệnh hoặc chỉ số hại

Là đại lượng đặc trưng cho mức độ hại của từng loại sinh vật hại được biểu thị bằng phần trăm (%) và tính theo phân cấp được quy định (phụ lục 2).

1.3.12. Sinh vật có ích (thiên địch)

Là kẻ thù tự nhiên của các loài sinh vật hại.

1.3.13. Điều tra định kỳ

Là hoạt động điều tra thường xuyên của cán bộ bảo vệ thực vật theo một thời gian định trước trên tuyến điều tra thuộc khu vực điều tra nhằm nắm được diễn biến của SVH cây trồng và thiên địch.

1.3.14. Điều tra bổ sung

Là mở rộng điều tra vào các thời kỳ xung yếu của cây trồng và SVH đặc thù của các vùng sinh thái, nhằm xác định chính xác thời gian phát sinh, diện phân bố và mức độ gây hại của SVH chủ yếu của địa phương đó.

1.3.15. Diện tích nhiễm sinh vật hại

Là diện tích có mật độ, tỷ lệ hại từ 50% trở lên theo mức quy định của quy chuẩn này về mật độ, tỷ lệ hại để thống kê diện tích.

1.3.16. Cành điều tra

Là đoạn cành có chiều dài 30 cm tính từ đầu lá, đầu hoa, đầu quả.

1.3.17. Hình chiếu tán cây

Là hình chiếu của tán lá chiếu vuông góc xuống mặt đất.

II. QUY ĐỊNH KỸ THUẬT

2.1. Yêu cầu kỹ thuật

2.1.1. Điều tra

- Điều tra đầy đủ chính xác diễn biến các loại sinh vật hại, sinh vật có ích chính và các yếu tố ngoại cảnh tác động đến chúng.

2.1.2. Nhận định tình hình

- Đánh giá tình hình sinh vật hiện tại, nhận định khả năng phát sinh, phát triển và gây hại của sinh vật hại chính trong thời gian tới, so sánh với kỳ điều tra liền kề trước và cùng kỳ năm trước.

- Dự báo những loại sinh vật thứ yếu có khả năng phát triển thành đối tượng chính, phân tích nguyên nhân của hiện tượng đó.

2.1.3. Thống kê diện tích

Tổng hợp tính toán diện tích bị nhiễm sinh vật hại, (nhẹ, trung bình, nặng) diện tích mất trắng và diện tích đã được xử lý bằng các biện pháp phòng chống.

2.2. Thiết bị và dụng cụ điều tra

2.2.1. Dụng cụ điều tra ngoài vườn nhãn, vải

- Vợt côn trùng (phụ lục 3).

- Thước dây, thước gỗ điều tra, kính lúp cầm tay, thang chữ A, ống nhòm, băng giấy dính, băng dính, dao, kéo;

- Sổ ghi chép, bút viết, máy tính bỏ túi, túi nilon các cỡ, túi sách tay điều tra;

- Ống tuýp, hộp petri và hóa chất cần thiết;

- Bẫy đèn, bẫy bả, kính đeo mắt.

2.2.2. Thiết bị trong phòng thí nghiệm

- Kính lúp hai mắt soi nổi, kính hiển vi, lam, lamen;

- Tủ lạnh, tủ định ôn, máy ôn, ẩm kế tự ghi;

- Máy tính với phần mềm có liên quan;

- Máy khuấy, máy lắc, máy rây.

2.2.3. Trang bị bảo hộ lao động

- Mũ, ủng, áo mưa, găng tay, khẩu trang.

2.3. Phương pháp điều tra

2.3.1. Thời gian điều tra

- Điều tra định kỳ: 7 ngày một lần theo tuyến điều tra trong khu vực điều tra cố định ngay từ đầu vụ vào các ngày thứ 2, thứ 3 hàng tuần.

- Điều tra bổ sung: Tiến hành trước và trong cao điểm xuất hiện gây hại của từng loại sinh vật gây hại cây nhãn, vải.

2.3.2. Yếu tố điều tra

Chọn đại diện theo giống, tuổi cây, địa hình.

2.3.3. Khu vực điều tra

- Chọn khu vực điều tra có diện tích từ 5 ha trở lên đại diện cho các yếu tố điều tra.

2.3.4. Điểm điều tra

Mỗi yếu tố điều tra 10 điểm ngẫu nhiên hoặc nằm ngẫu nhiên trên đường chéo của khu vực điều tra. Điểm điều tra phải cách đường biên ít nhất 1 hàng cây.

2.3.5. Số mẫu điều tra của một điểm và cách điều tra.

2.3.5.1. Sinh vật hại cành *(cành lá, cành hoa, cành quả)*

Điều tra 4 hướng ở tầng giữa, mỗi hướng 2 cành (lá, hoa, quả)/1 cây/điểm.

* Sâu đục cuống quả: Điều tra số quả bị hại, tính tỷ lệ % quả bị hại.

Riêng điều tra mật độ trưởng thành, chọn cành cấp 1, đoạn cành điều tra tính từ thân ra 100 cm, tính mật độ con trưởng thành/cành.

* Bọ xít: Điều tra mật độ trưởng thành và bọ xít non trên cành, tính mật độ con trưởng thành (non)/cành.

* Sâu đo: Điều tra mật độ sâu trên cành, tính mật độ con/cành.

* Xén tóc: Điều tra số cành bị hại, tính tỷ lệ % cành bị hại.

* Ve sầu bướm nâu: Điều tra mật độ trưởng thành và sâu non trên cành, tính mật độ con trưởng thành và sâu non/cành.

* Sâu đục gân lá: Điều tra số lá (kép) bị hại, tính tỷ lệ (%) lá bị hại.

* Sâu cuốn lá: Điều tra mật độ sâu trên cành, tính mật độ con/cành.

* Nhện lông nhung: Điều tra số cành lá, cành hoa bị hại, tính tỷ lệ (%) cành lá, cành hoa bị hại.

* Bướm chích hút quả: Điều tra số quả bị hại, tính tỷ lệ % quả bị hại.

* Bệnh chổi rồng: Đếm số chồi bị bệnh, tính tỷ lệ % số chồi bị bệnh.

* Bệnh sương mai: Điều tra số lá, cành hoa, số quả bị hại, tính tỷ lệ % số lá, cành hoa và quả bị hại.

* Bệnh thán thư: Điều tra số lá, cành hoa, số quả bị hại, tính tỷ lệ % cành lá, cành hoa, số quả bị hại.

* Bệnh biến màu quả: Điều tra số quả bị hại, tính tỷ lệ % quả bị hại.

2.3.5.2. Sinh vật hại thân: *Điều tra 3 cây/điểm.*

* Sâu tiện vỏ: Điều tra số cây bị hại, tính tỷ lệ % cây bị hại.

2.3.5.3. Sinh vật hại rễ

Mỗi điểm điều tra ngẫu nhiên 1 hố (kích thước theo phụ lục 3), là điểm giữa của bán kính hình chiếu tán.

2.3.6. Cách điều tra

2.3.6.1. Ngoài vườn nhãn, vải

- Quan sát từ xa đến gần, sau đó điều tra trực tiếp trên cây. Dùng vợt để thu bắt các loại côn trùng gây hại có hoạt động bay, nhảy trên bề mặt tán cây và sinh vật có ích hoạt động bay, nhảy trên mặt tán cây nhãn, vải.

Theo dõi mật độ, tỷ lệ hại, phân cấp hại và ghi nhận giai đoạn phát triển của sinh vật hại.

- Thu mẫu để theo dõi ký sinh: Trong quá trình điều tra phát hiện sinh vật hại cần xác định mật độ, tỷ lệ ký sinh của sinh vật có ích. Đối với các loại sinh vật có ích

cần thu về phòng để theo dõi ở pha sâu non, nhộng, trưởng thành: 30 cá thể; pha trứng: 30 ổ trứng và 50 quả trứng đối với trứng đơn.

- Đối với các loại sinh vật hại hoặc sinh vật có ích mới cần phải thu mẫu để theo dõi, giám định hoặc gửi đến cơ quan chuyên môn để giám định.

2.3.6.2. Trong phòng

Theo dõi phân tích những mẫu sinh vật hại đã thu được trong quá trình điều tra và xác định các loài sinh vật ký sinh, tỷ lệ ký sinh trên từng giai đoạn phát triển của sinh vật hại.

2.3.7. Các chỉ tiêu theo dõi, công thức tính

- Mật độ sinh vật hại (số lượng sinh vật hại/đơn vị mẫu điều tra)

$$\text{- Mật độ sinh vật hại} = \frac{\text{Tổng số sinh vật hại điều tra được}}{\text{Tổng số đơn vị mẫu điều tra}}$$

$$\text{- Tỷ lệ phát dục (\%)} = \frac{\text{Tổng số cá thể ở từng pha}}{\text{Tổng số cá thể điều tra}} \times 100$$

$$\text{- Tỷ lệ hại (\%)} = \frac{\text{Số đơn vị mẫu điều tra bị hại}}{\text{Tổng số đơn vị mẫu điều tra}} \times 100$$

- Mật độ thiên địch (con/mẫu điều tra)

$$\text{Mật độ thiên địch} = \frac{\text{Số thiên địch theo dõi được}}{\text{Tổng số mẫu điều tra}}$$

$$\text{- Tỷ lệ ký sinh (\%)} = \frac{\text{Số cá thể bị ký sinh ở từng pha}}{\text{Tổng số cá thể theo dõi ở từng pha}} \times 100$$

$$\text{- Chỉ số hại (\%)} = \frac{\Sigma[(N1 \times 1) + ... + (Nn \times n)]}{N \times K} \times 100$$

Trong đó :

N1: là số mẫu điều tra bị hại ở cấp 1

Nn: là số mẫu điều tra bị hại ở cấp n

N: là tổng mẫu điều tra

K: là cấp hại cao nhất của thang phân cấp

- Diện tích nhiễm sinh vật hại (ha)

Căn cứ để tính diện tích nhiễm sinh vật hại (nhẹ, trung bình, nặng, mất trắng) bao gồm:

- Tổng diện tích và cơ cấu diện tích giống, tuổi cây, địa hình.

- Số liệu điều tra của từng yếu tố liên quan.

- Quy định mật độ, tỷ lệ để thống kê diện tích nhiễm.

+ Diện tích nhiễm nhẹ là diện tích có mật độ, tỷ lệ hại từ 50 đến 100% mức quy định.

+ Diện tích nhiễm trung bình là diện tích có mật độ, tỷ lệ hại trên 100 đến 200% mức quy định.

+ Diện tích nhiễm nặng là diện tích có mật độ, tỷ lệ hại trên 200% mức quy định.

+ Diện tích mất trắng: Là tổng số diện tích cộng dồn sinh vật hại làm giảm trên 70% năng suất (dùng để thống kê cuối các đợt dịch hoặc cuối mỗi vụ sản xuất).

+ Tổng số diện tích cây nhãn, vải bị nhiễm sinh vật hại nào đó, là tổng diện tích nhiễm nặng, diện tích nhiễm trung bình, diện tích nhiễm nhẹ và diện tích bị mất trắng.

- Công thức tính diện tích bị nhiễm một loại sinh vật hại theo từng yếu tố điều tra:

$$X\ (ha) = \frac{N \times b}{B}$$

Trong đó:

X: là diện tích bị nhiễm sinh vật hại của một yếu tố điều tra.

N: là tổng diện tích trồng cây nhãn, vải của yếu tố điều tra trên vùng điều tra.

B: là tổng số điểm điều tra.

b: là số điểm điều tra bị nhiễm sinh vật hại của yếu tố điều tra.

- Diện tích bị nhiễm sinh vật hại ở từng mức (nhẹ, trung bình, nặng) được tính theo công thức sau:

$$X_i\ (ha) = \frac{N \times Ci}{B}$$

Trong đó:

X_i: là diện tích bị nhiễm sinh vật hại ở mức i (nhẹ, trung bình, nặng) đối với yếu tố điều tra.

N: là tổng diện tích trồng cây nhãn, vải của yếu tố điều tra trên vùng điều tra.

B: là tổng số điểm điều tra.

C_i: là số điểm điều tra bị nhiễm sinh vật hại ở cấp độ i (nhẹ, trung bình, nặng) đối với yếu tố điều tra.

2.3.8. Sổ theo dõi, ghi chép, báo cáo

- Sổ theo dõi dịch hại và thiên địch vào bẫy.
- Sổ ghi chép số liệu điều tra sinh vật hại và sinh vật có ích định kỳ, bổ sung.
- Sổ theo dõi diễn biến diện tích nhiễm sinh vật hại thường kỳ, hàng năm.
- Sổ theo dõi số liệu khí tượng.
- Các báo cáo thực hiện theo quy định chung của ngành Bảo vệ thực vật.

III. QUY ĐỊNH VỀ TỔ CHỨC THỰC HIỆN

- Cục Bảo vệ thực vật có trách nhiệm tổ chức triển khai việc phổ biến, hướng dẫn áp dụng Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia này tới các tổ chức, cá nhân có hoạt động liên quan đến điều tra phát hiện sinh vật hại nhãn, vải trên lãnh thổ Việt Nam.

- Các tổ chức, cá nhân có hoạt động liên quan đến điều tra phát hiện dịch hại nhãn, vải trên lãnh thổ Việt Nam có trách nhiệm thực hiện đúng các quy định trong Quy chuẩn kỹ thuật.

Phụ lục 1
Danh mục sinh vật hại, giai đoạn, vị trí cây bị hại và mật độ, tỷ lệ hại làm cơ sở thống kê diện tích nhiễm

TT	Sinh vật hại		Giai đoạn sinh trưởng	Mật độ, tỷ lệ hại
	Tên Việt Nam	Tên khoa học		
1	Bọ xít nâu (vải)	*Tessaratoma papillosa* Drury	Các gđ sinh trưởng	1 con trưởng thành/cành 5 con non/cành
2	Sâu đục gân lá	*Conopomorpha litchiella* Bradley	Các gđ sinh trưởng	25% lá
3	Nhện lông nhung	*Eriophyes litchii* Keifer	Các gđ sinh trưởng	25% cành hoa 25% cành lá
4	Rệp	*Aspidiotus* sp.	Các gđ sinh trưởng	25% cành
5	Rầy chổng cánh vân nâu	*Corngenapsylla sinica* Yang & Li	Các gđ sinh trưởng	25% cành
6	Sâu hồng	*Zeuzera coffea* Nietner	cành	25% cành
7	Bọ trĩ	*Scirtothrips dorsalis*		25% cành
8	Sâu đục cuống quả	*Conopomorpha sinensis* Bradley	Quả	1 con trưởng thành/cành 5% quả
9	Ve sầu bướm nâu	*Ricania speculum*	Các gđ sinh trưởng	2 con trưởng thành/cành 2 con non/cành
10	Ngài chích hút quả	*Eudocima fullonia* C.	Quả	5% số quả
11	Ruồi đục quả	*Bactrocera dorsalis* H	Quả	5% số quả
12	Sâu đo củi	*Buzura suppessaria* Guenee	Cành hoa Các gđ sinh trưởng	0,5 con/cành hoa; 2 con/cành quả, cành lá
13	Sâu cuốn lá	*Statherotis discana* Felder & Rogenhofer	Các gđ sinh trưởng	2 con/cành lá

TT	Sinh vật hại		Giai đoạn sinh trưởng	Mật độ, tỷ lệ hại
	Tên Việt Nam	Tên khoa học		
14	Sâu tiện vỏ	*Arbela dea* Swinhoe	Các gđ sinh trưởng	35% cây
15	Xén tóc	*Agriona germari* Hope	Cành	25% cành
16	Bệnh sương mai	*Phytophthora* sp.	Cành hoa, quả non	25% cành lá 25% cành hoa, quả
17	Bệnh thán thư	*Gloeosporium* sp.	Cành lá, cành hoa, quả	25% cành lá 25% cành hoa, số quả

Phụ lục 2
Phân cấp hại

Phân cấp hại được quy định thống nhất theo thang 9 cấp đối với từng loài dịch hại như sau:

- Những loài bệnh hại trên thân, cành, lá, hoa.

Cấp 1: từ 1 đến 10% diện tích lá, thân, cành, quả hoặc số hoa bị hại;

Cấp 3: từ > 10% đến 20% diện tích lá, thân, cành, quả hoặc số hoa bị hại;

Cấp 5: từ > 20% đến 30% diện tích lá, thân cành, quả hoặc số hoa bị hại;

Cấp 7: từ > 30% đến 40% diện tích lá, thân, cành, quả hoặc số hoa bị hại;

Cấp 9: từ > 40% diện tích lá, thân, cành, quả hoặc số hoa bị hại.

+ Đối với các loại dịch hại khác và các dịch hại do sinh vật chích hút có kích thước cơ thể nhỏ (rệp,…)

Cấp 1: nhẹ (Xuất hiện rải rác)

Cấp 2: trung bình (Phân bố dưới 1/3 diện tích lá,… bị hại)

Cấp 3: nặng (Phân bố trên 1/3 diện tích lá,... bị hại)

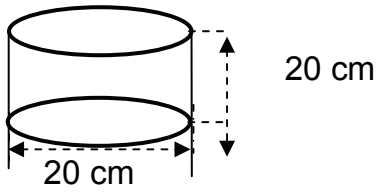
+ Đối với các loài dịch hại gốc rễ:

Cấp hại	***Tỷ lệ bị hại***
Cấp 1 (nhẹ)	≤ 1/3 số rễ bị hại
Cấp 2 (trung bình)	> 1/3 - < 2/3 số rễ bị hại
Cấp 3 (nặng)	≥ 2/3 số rễ bị hại

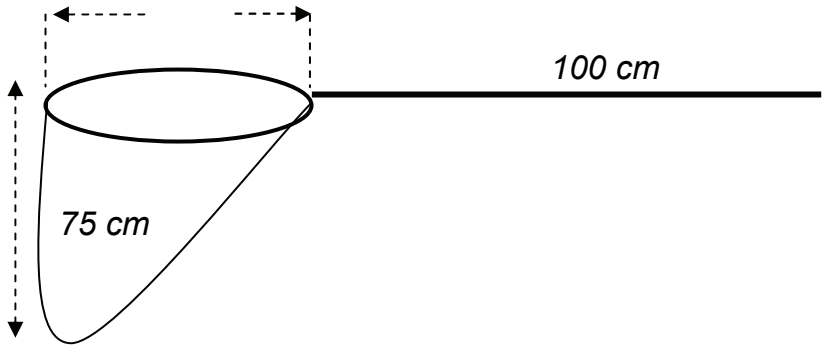
Phụ lục 3
Một số dụng cụ điều tra ngoài thực địa

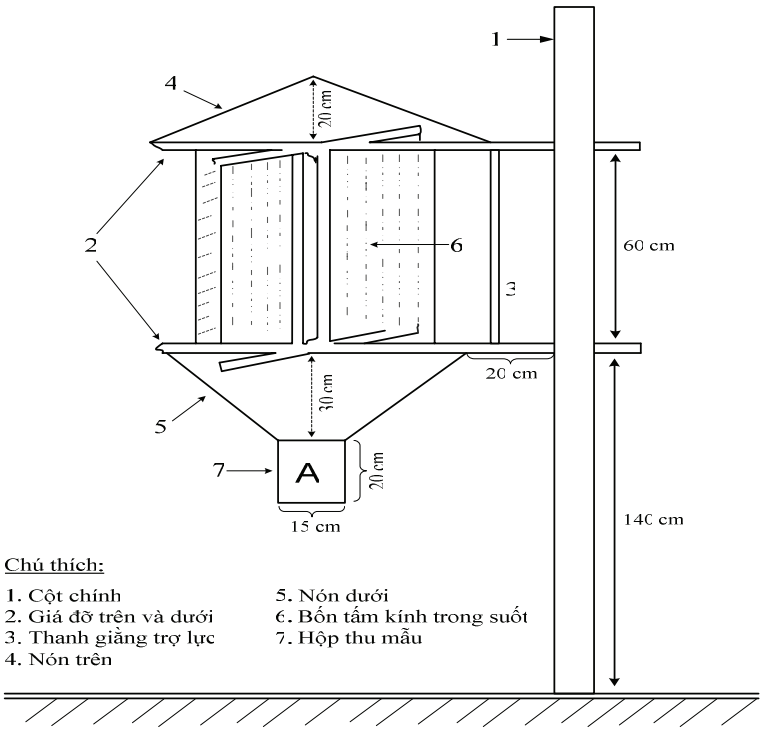
- Vợt, hố điều tra, bẫy đèn;

Hố điều tra



Vợt côn trùng



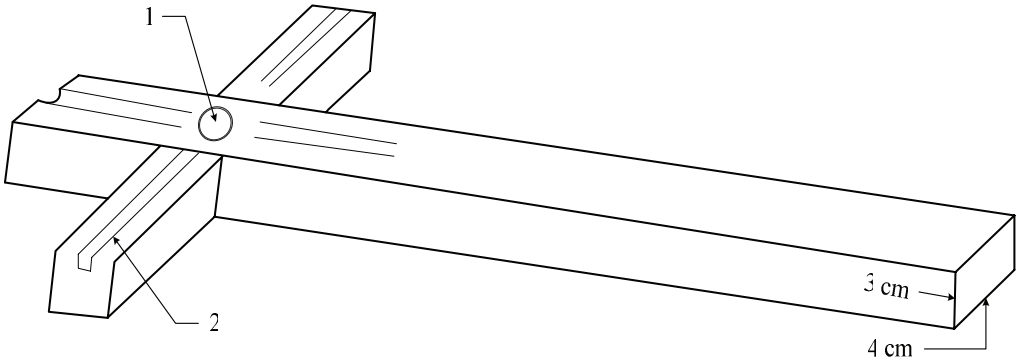


Mẫu lắp đặt bẫy đèn dùng bóng Neon (tốt nhất là bóng đèn 40W trở lên)

Ghi chú:

Đường kính nón trên 80 cm, cao 20 cm; đường kính nón dưới 60 cm, cao 30 cm; 4 tấm kính cao 62 cm, rộng 20 cm, dày 0,5 cm.

Hộp A, bên trong có một hộp nhỏ để đựng mẫu.



1. Vị trí lắp đui đèn; 2. Rãnh lắp kính sâu 1 cm, dài 20 cm

Mẫu bẫy đèn dùng bóng Neon dài 120 cm, tốt nhất là bóng đèn 40W trở lên

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

QCVN 01-178:2014/BNNPTNT

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

National technical regulation on bio-efficacy against gummy stem blight (Mycosphaerella melonis* (Passerini) Chui & Walker) *on watermelon of fungicides

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-178:2014/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 NỨT THÂN CHẢY NHỰA *(Mycosphaerella melonis* (Passerini) Chui & Walker*)* HẠI CÂY DƯA HẤU CỦA CÁC THUỐC TRỪ BỆNH

National technical regulation on bio-efficacy against gummy stem blight (Mycosphaerella melonis* (Passerini) Chui & Walker*) on watermelon 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 để đánh giá hiệu lực phòng trừ bệnh nứt thân chảy nhựa (*Mycosphaerella melonis* (Passerini) Chui & Walker) hại cây dưa hấu của các thuốc trừ bệnh trên đồng ruộng.

1.2. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng cho các tổ chức, cá nhân 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 hấu thường bị bệnh nứt thân chảy nhựa 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 dưa hấu.

Trong thời gian khảo nghiệm không được sử dụng bất kỳ một loại thuốc 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 khác nhau hoặc theo các 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 nứt thân chảy nhựa hại cây dưa hấu.

Công thức đối chứng là công thức không sử dụng bất kỳ loại thuốc bảo vệ thực vật nào để phòng trừ bệnh nứt thân chảy nhựa dưa hấu. 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 30m^2 - 50m^2, số lần nhắc lại 3 - 4 lần.

Khảo nghiệm diện rộng: Diện tích của mỗi ô khảo nghiệm từ 300m^2 - 500m^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 hàng cây dưa hấu.

2.2. Tiến hành xử lý thuốc

2.2.1. Lượng thuốc và lượng nước 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 dưa hấu cũng như cách thức tác động của từng loại thuốc. Khi không có khuyến cáo của các tổ chức cá nhân đăng ký về lượng nước pha thuốc, lượng nước pha thuốc thì sử dụng từ 500 - 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 phun rải 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 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 trồng 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

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

$$+ \text{Chỉ số bệnh (\%)} = \frac{5n_5 + 4n_4 + 3n_3 + 2n_2 + n_1}{5N} \times 100$$

Trong đó:

n_1: số dây bị bệnh ở cấp 1: Dây có < 3 lá bị bệnh

n_2: số dây bị bệnh ở cấp 2: Dây có 3 - 4 lá bị bệnh

n_3: số dây bị bệnh ở cấp 3: Dây có vết bệnh nứt ở thân < 3 cm hoặc < 3 lá bị khô cháy

n_4: số dây bị bệnh ở cấp 4: Dây có vết bệnh nứt ở thân > 3 - 5 cm hoặc 3 - 4 lá bị khô cháy

n_5: số dây bị bệnh ở cấp 5: Dây có cuống quả bị bệnh hoặc có vết bệnh nứt ở thân > 5 cm hoặc > 4 lá bị khô cháy.

N - Tổng số dây điều tra

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 4 dây cố định, các điểm này nằm cách mép ô khảo nghiệm ít nhất 1 hàng dưa hấu.

2.3.1.3. Thời điểm điều tra

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

2.3.1.4. Xử lý số liệu

Hiệu lực phòng trừ của thuốc trừ bệnh nứt thân chảy nhựa hại cây dưa hấu được đánh giá qua tỷ lệ và chỉ số bệnh tại các lần điều tra.

Những 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 trồng

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

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… phải mô tả.

Nếu thuốc làm ảnh hưởng đến sinh trưởng, phát triển cây dưa hấu 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 dưa hấu

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	Dây và 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 dưa hấu bị ngộ độc thuốc, cần xác định bao nhiêu ngày sau thì 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 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 trồng 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 01-179:2014/BNNPTNT

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

National technical regulation on Procedure for identification of South American leaf blight of rubber (Microcyclus ulei* (Henn.) Arx) *- Plant quarantine pest of Vietnam

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-179:2014/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 RỤNG LÁ CAO SU NAM MỸ *Microcyclus ulei* (Henn.) Arx LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of South American leaf blight of rubber (Microcyclus ulei* (Henn.) Arx) *- 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 rụng lá cao su Nam Mỹ *Microcyclus ulei* (Henn.) Arx- 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 rụng lá cao su Nam Mỹ *Microcyclus ulei* (Henn.) Arx.- 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.

1.3.4. 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 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

[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.

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] "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.

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.

Bộ dao, kim giải phẫu, panh, kéo, đèn cồn, đĩa petri, lam, lamen

Cồn 70%, lactophenol.

2.3. Phương pháp phát hiện và giám định bệnh

2.3.1. Phương pháp phát hiện và thu thập mẫu bệnh

Trên lá non (giai đoạn lá đỏ đồng): lá đổi màu và biến dạng. Các vết bệnh không có hình dạng nhất định và phát triển ở mặt dưới của lá (hình 1, phụ lục 1). Bệnh nặng lá có thể co lại và rụng. Cuống lá vẫn đính trên cây vài ngày sau mới rụng.

Trên lá non: bề mặt vết bệnh điển hình phủ lớp mốc màu xám đen. (hình 2, phụ lục 1). Lá bị bệnh nhỏ và biến dạng so với lá khỏe. Mặt trên của lá ở những điểm tương ứng với vết bệnh sẽ biến vàng.

Trên lá trưởng thành: vết bệnh tạo thành các u lồi hình nhẫn ở mặt trên của lá.

Trên lá già: mô ở phần trung tâm vết bệnh chết hoại có màu trắng như giấy và sau đó rời ra để lại các lỗ thủng trên lá (hình 3, phụ lục 1).

Nấm còn gây hại các bộ phận khác của cây như gân chính, cuống lá, chùm hoa, quả và thân. Thân bị nhiễm bệnh, cây có thể bị chết ngọn.

2.3.2. Phương pháp giám định bệnh

Dùng kim khêu nấm khêu bào tử nấm trực tiếp từ các lớp mốc trên các phần nghi ngờ nhiễm bệnh, đặt lên lam đã có 01 giọt lactophenol. Đặt lam lên kính hiển vi tìm và quan sát đặc điểm hình thái, đo kích thước bào tử nấm.

So sánh với đặc điểm và kích thước của bào tử nấm *Microcyclus ulei* (Henn.) Arx (phụ lục 1)

III. THẨM ĐỊNH KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH VÀ BÁO CÁO

Sau khi khẳng định kết quả giám định bệnh rụng lá cao su Nam Mỹ *Microcyclus ulei* (Henn.) Arx) 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 bệnh rụng lá cao su Nam Mỹ *Microcyclus ulei* (Henn.) Arx).

Đối với đơn vị lần đầu tiên giám định và phát hiện được bệnh rụng lá cao su Nam Mỹ *Microcyclus ulei* (Henn.) Arx 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 rụng lá cao su Nam Mỹ 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: Chỉ phân bố ở châu Mỹ: Brazil, Belize, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Haiti, Honduras, Nicaragua, Panama, Trinidad và Tobago, Bolivia, Colombia, Ecuador, French Guiana, Guyana, Peru, Suriname, Venezuela, Dominica, Mexico

1.2. Ký chủ

Kí chủ chính là cao su (*Hevea brasiliensis*) ngoài ra còn kí sinh trên *H. benthamiana, H. camargoana, H. camporum, H. guianensis, H. pauciflora* và *H. spruceana*, và loài lai giữa các loài trên.

2. Tên khoa học và vị trí phân loại

Tên tiếng Việt : Bệnh rụng lá cao su Nam Mỹ

Tên khoa học: *Microcyclus ulei* (Henn.) Arx

Tên khác:

Passalora heveae Massee, nom. nud. [anamorph]
Aposphaeria ulei Henn. [anamorph]
Dothidella ulei Henn. [teleomorph]
Fusicladium heveae K. Schub. & U. Braun [anamorph]
Fusicladium macrosporum J. Küyper [anamorph]
Melanopsammopsis ulei (Henn.) Stahel [teleomorph]

Vị trí phân loại:

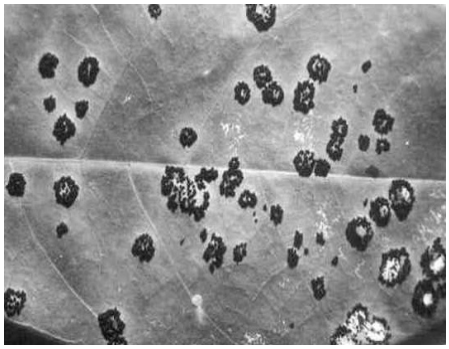
Lớp: Dothideomycetes
Bộ: Capnodiales
Họ: Mycosphaerellaceae

3. Triệu chứng bệnh rụng lá cao su Nam Mỹ (SALB) M. *ulei*.

Hình 1. Giai đoạn đầu của bệnh SALB trên lá non
(Nguồn: FAO, 2012)

Hình 2. Vết bệnh SALB trên mặt dưới của lá

(Nguồn: CABI, 2012)



Hình 3. Vết bệnh SALB trên lá già

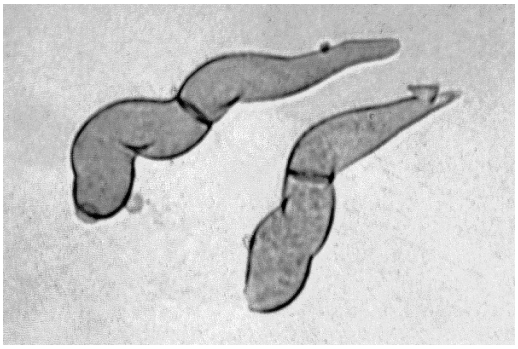
(Nguồn: FAO, 2012)

4. Đặc điểm hình thái nấm *M. ulei* gây bệnh rụng lá cao su Nam Mỹ.

Giám định nấm chủ yếu dựa trên đặc điểm hình thái của bào tử nấm. Nấm *M. ulei* thuộc lớp nấm túi (Ascomycete), nấm sản sinh 3 loại bào tử: Bào tử phân sinh; bào tử phấn và bào tử túi.

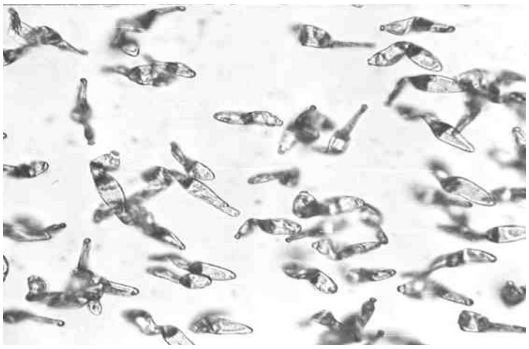
Bào tử phân sinh có vách ngăn (2 tế bào) hoặc có một số ít là đơn bào. Bào tử có hình gậy, tế bào phía trên to hơn tế bào phía dưới, phần đuôi cụt và bào tử có dạng xoắn đặc trưng (hình 4). Bào tử có màu trong suốt khi còn non sau đó xám dần theo thời gian. Kích thước của bào tử khá đa dạng 23-65 x 5-10µm (Chee); 23-62 x 5-10µm (Holliday); 12-30 x 5-8µm (Langford). Trong điều kiện khô thì bào tử teo lại (hình 5) và sẽ căng lên khi gặp ẩm độ cao.

Bào tử phấn có dạng chày một đầu to hơn (12 - 25µm) đầu kia (2 - 5µm). Bào tử dài 6 - 10µm. Bào tử túi 2 tế bào có vách ngăn thắt lại. Tế bào có kích thước không đồng đều 3-5 x 10-15 µm (Langford, 1945); 2-5 x 12-20 µm (Holliday, 1970); 12-20 x 2-5 µm (Chee and Holliday, 1986).



Hình 4. Bào tử phân sinh nấm *M. ulei*

(Nguồn: CABI, 2012)



Hình 5. Bào tử phân sinh nấm *M. ulei* khi bị khô

(Nguồn: FAO, 2012)

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
Bệnh rụng lá cao su Nam Mỹ *Microcyclus ulei* (Henn.) Arx 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 01-179: 2014/BNNPTNT 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".

13. Kết quả giám định:

Tên khoa học: *Microcyclus ulei* (Henn.) Arx

Lớp: Dothideomycetes

Bộ: Capnodiales

Họ: Mycosphaerellaceae

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 01-180:2014/BNNPTNT

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

National technical regulation on Procedure for identification of Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey - *Plant quarantine pests of Vietnam

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-180:2014/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 TUYẾN TRÙNG THỐI THÂN, RỄ CỌ DẦU, DỪA *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey - *Plant quarantine pest of Vietnam

I. QUY ĐỊNH CHUNG

1.1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này quy định 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.

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 tại Việt Nam (viết tắt là KDTV) thực hiện giám định tuyến trùng thối thân, rễ cọ dầu, dừa *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey là dịch hại kiểm dịch thực vật (KDTV) 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 (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. Tuyến trùng ký sinh thực vật (phytonematoda)

Là những loài tuyến trùng chủ yếu sống trong đất và có quan hệ chặt chẽ với thực vật đang phát triển và trong các tàn dư, sản phẩm thực vật sau thu hoạch. Chúng sống và ký sinh ở tất cả các phần của thực vật bao gồm rễ, củ, thân, lá, hoa, quả và hạt của các thực vật đang phát triển.

1.3.4. Mẫu (sample)

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

1.3.5. Tiêu bản (specimen)

Là mẫu vật điển hình tiêu biểu của một loại 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 mẫu chuẩn 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", QCVN 01-22:2010/BNNPTNT "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 dịch hại cây trồng".

2.1.2. Bảo quản mẫu giám định

Mẫu được lưu giữ và bảo quản như sau:

- Các bộ phận tươi có triệu chứng nghi là tuyến trùng (rễ, thân, lá, chồi, hoa, quả) được để trong các túi ni-lông có lỗ thông khí, có đính nhãn và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ khoảng 5°C.

- Mẫu đất được giữ ẩm bằng cách cho vào túi ni-lông có lỗ thông khí, có đính nhãn và để ở những nơi thoáng mát hoặc ở nhiệt độ phòng.

- Dung dịch có tuyến trùng được tách ra từ bộ phận bị hại thường được định hình trong dung dịch Formalin hoặc TAF để trong các lọ kín có dán nhãn và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 5 - 10°C.

- Tiêu bản lam phải có nhãn ký hiệu mẫu, để trong hộp chuyên dụng đựng tiêu bản lam và được bảo quản ở nhiệt độ phòng.

2.2. Thiết bị, dụng cụ, hóa chất dùng làm tiêu bản và giám định

- Kính lúp soi nổi có độ phóng đại 10 - 40 lần (10x - 40x), kính hiển vi có thước đo, có độ phóng đại 40 - 1.000 lần (40x - 1000x).

- Một số dụng cụ, hóa chất cần thiết khác:

+ Chậu thủy tinh có dung tích 4 lít, cốc thủy tinh 500ml, 250ml, 100ml, chén thủy tinh 4ml, đũa thủy tinh, khay men, giấy lọc, kéo, paraffin, keo dính tiêu bản,…

+ Kim gắp tuyến trùng, đĩa đồng hồ, kim dầm mẫu, đĩa petri, lam, lamen.

+ Rây lọc tuyến trùng có đường kính mắt rây là: 25μm, 75μm, 150μm, 250μm, 700μm, 1.000μm, lưới lọc có đường kính mắt lưới 2mm.

---

[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.

+ Máy ly tâm, tủ định ôn, bình hút ẩm.

+ Dung dịch $ZnSO_4$ hoặc $MgSO_4$ hoặc đường saccazosa (tỷ trọng 1,18), formaldehyde (40%), glycerol (tinh khiết), triethanolamine (tinh khiết), nước cất.

2.3. Phương pháp tách lọc tuyến trùng

2.3.1. Phương pháp tách tuyến trùng từ các bộ phận của cây

2.3.1.1. Phương pháp kiểm tra trực tiếp

Các bộ phận của cây (rễ, thân, lá, chồi, hoa, quả) được rửa sạch. Chọn các bộ phận của cây có vết tổn thương, biến màu (lưu ý mẫu tế bào có mầu đỏ) cắt nhỏ đặt vào đĩa petri. Chú ý các vết đục của côn trùng, thu thập côn trùng và ấu trùng của côn trùng môi giới truyền bệnh vì tuyến trùng có thể thu được trong ruột, xoang cơ thể và vùng cơ quan đẻ trứng của môi giới truyền tuyến trùng. Thêm nước vào đĩa để giữ cho mẫu không bị khô. Đặt đĩa petri có mẫu dưới kính lúp soi nổi có độ phóng đại từ 10 đến 40 lần.

Dùng kim dầm nhẹ mẫu và quan sát tìm tuyến trùng. Nếu phát hiện thấy tuyến trùng, dùng kim gắp tuyến trùng lên lam và quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại từ 40 - 1.000 lần.

2.3.1.2. Phương pháp lọc tĩnh

Mẫu thực vật (rễ, thân, lá, chồi, hoa, quả) được rửa sạch, cắt thành những đoạn thật nhỏ (khoảng 0,5mm). Chú ý các vết đục của côn trùng, thu thập côn trùng và ấu trùng của côn trùng môi giới truyền bệnh. Đặt mẫu đã cắt lên trên rây có đường kính 0,75μm và thêm nước vừa xâm xấp rây. Sau 24 - 48 giờ, đổ nước dưới rây vào cốc thủy tinh. Dùng ống hút lấy dung dịch thu được ở cốc thủy tinh cho vào đĩa đồng hồ và kiểm tra dưới kính lúp soi nổi có độ phóng đại từ 10 - 40 lần. Nếu phát hiện thấy tuyến trùng, dùng kim gắp tuyến trùng lên lam và quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại 40 - 1.000 lần. Kiểm tra lần lượt cho đến khi hết nước trong cốc thủy tinh.

2.3.1.3. Phương pháp ly tâm

Mẫu thực vật (rễ, thân, lá, chồi, hoa, quả) được rửa sạch, cắt thành từng đoạn 0,5cm, trộn đều và cân lấy 5 - 10 gram (tùy theo lượng mẫu có). Chú ý các vết đục của côn trùng, thu thập côn trùng và ấu trùng của côn trùng môi giới truyền bệnh. Thêm 250ml nước sạch, nghiền nhỏ mẫu bằng máy xay sinh tố. Lọc qua rây có đường kính 1200μm, dùng vòi nước nhỏ rửa sạch từ phía trên xuống cho đến khi phần mẫu nghiền phía trên rây sạch. Thu phần nước phía dưới và thêm nước cho đủ 1 lít, khuấy đều.

Lấy 100ml dung dịch thu được ở trên cho vào ống nghiệm. Thêm 01 thìa cà phê bột cao lanh vào ống và khuấy đều bằng máy khuấy. Đặt ống nghiệm vào máy ly tâm và ly tâm với vận tốc 1.800 vòng/phút trong 4 phút. Sau đó, bỏ phần dung dịch phía trên, giữ lại phần cặn phía dưới. Thêm dung dịch $ZnSO_4$ hoặc $MgSO_4$ hoặc đường saccazosa (cao hơn 1cm so với bề mặt của lớp cặn) và khuấy đều trong 1 phút. Tiếp tục ly tâm với vận tốc 1.800 vòng/phút trong 4 phút.

Đổ phần dung dịch phía trên của ống ly tâm qua rây lọc có đường kính 5μm vào cốc thủy tinh để kiểm tra. Dùng ống hút lấy dung dịch thu được ở cốc thủy tinh cho

vào đĩa đồng hồ và kiểm tra dưới kính lúp soi nổi có độ phóng đại từ 10 - 40 lần. Nếu phát hiện thấy tuyến trùng, dùng kim gắp tuyến trùng lên lam và quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại 40 - 1.000 lần. Kiểm tra lần lượt cho đến khi hết nước trong cốc thủy tinh.

Rửa phần trên rây bằng nước sạch và dùng bình xịt nước để rửa, thu tuyến trùng bám dính trên rây vào cốc thủy tinh và tiến hành kiểm tra tuyến trùng tương tự như trên.

2.3.2. Phương pháp tách tuyến trùng từ đất

2.3.2.1. Phương pháp rây Cobb

Cân 100 gram đất cho vào chậu thủy tinh, cho thêm 2 - 3 lít nước vào chậu thủy tinh và ngâm trong 1 - 2 giờ cho đất tan. Khuấy đều đất và nước, để lắng trong 10 giây. Sau đó lọc qua rây có đường kính 1.000μm, rửa sạch rây và phần cặn trên rây. Dung dịch được thu vào chậu thủy tinh thứ 2. Bỏ phần cặn còn lại trên rây và trong chậu thủy tinh ban đầu. Quá trình này lặp lại 2 - 3 lần nhằm loại bỏ cát, sạn, rác và đá.

Khuấy đều dung dịch đã thu được ở trên và tiếp tục lọc bằng rây có đường kính 700μm, dung dịch được thu vào chậu thủy tinh. Phần cặn trên rây được rửa sạch và cho vào cốc thủy tinh. Tiếp tục lọc dung dịch thu được ở chậu thủy tinh qua các rây có đường kính 250μm, 150μm và 25μm. Phần cặn trên rây cũng được rửa sạch và cho vào cốc thủy tinh. Riêng với rây 25μm có thể lọc lại 3 - 4 lần.

Nếu lượng nước thu được trong cốc thủy tinh quá đầy, để lắng trong 2 giờ và đổ bớt nước phía trên. Tiếp đó, chuyển dung dịch trên sang rây lọc tĩnh. Sau 24 - 48 giờ, đổ nước dưới rây vào cốc thủy tinh. Dùng ống hút lấy dung dịch thu được ở cốc thủy tinh cho vào đĩa đồng hồ và kiểm tra dưới kính lúp soi nổi có độ phóng đại từ 10 - 40 lần. Nếu phát hiện thấy tuyến trùng, dùng kim gắp tuyến trùng lên lam và quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại 40 - 1.000 lần. Kiểm tra lần lượt cho đến khi hết nước trong cốc thủy tinh.

2.3.2.2. Phương pháp phễu lọc Baermann cải tiến

Chuẩn bị khay và lưới lọc có đường kính mắt lưới 2mm. Đặt lớp giấy lọc lên trên mặt lưới. Cân lượng đất cần kiểm tra (tối thiểu là 100gram) và rải đều trên mặt giấy. Thao tác đặt giấy và rải đất phải thật nhẹ để tránh rách, thủng giấy lọc. Đổ nước theo mép khay sao cho nước vừa ướt đất. Sau 24 - 48 giờ, đổ nước dưới rây vào cốc thủy tinh và kiểm tra dần bằng đĩa đồng hồ dưới kính lúp soi nổi có độ phóng đại từ 10 - 40 lần. Nếu phát hiện thấy tuyến trùng, dùng kim gắp tuyến trùng lên lam và quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại 40 - 1.000 lần. Kiểm tra lần lượt cho đến khi hết nước trong cốc thủy tinh.

Chú ý: Lưới lọc phải có chân hoặc quai (gác lên thành khay) để khi đặt trong khay, đáy của lưới lọc không chạm sát đáy khay.

2.3.2.3. Phương pháp ly tâm

Cân 100 gram đất vào cốc thủy tinh, thêm 250ml nước, khuấy đều. Lọc qua rây có đường kính 1.200μm, dùng vòi nước rửa kỹ phần trên rây, loại bỏ phần cặn còn lại trên rây. Thu phần nước dưới rây, thêm nước cho đủ 1 lít và khuấy đều.

Lấy 100 ml dung dịch thu được ở trên vào ống nghiệm. Thêm 01 thìa cà phê bột cao lanh vào ống và khuấy đều bằng máy khuấy. Đặt ống nghiệm vào máy và ly tâm với vận tốc 1.800 vòng/phút trong 4 phút.

Bỏ phần dung dịch phía trên, giữ lại phần cặn phía dưới. Thêm dung dịch $ZnSO_4$ hoặc $MgSO_4$ hoặc đường saccazosa (cao hơn 1cm so với bề mặt của lớp cặn). Khuấy đều trong 1 phút. Tiếp tục ly tâm với vận tốc 1.800 vòng/phút trong 4 phút.

Đổ dung dịch phía trên qua rây lọc có đường kính 5μm. Rửa phần trên rây bằng nước sạch và dùng bình xịt nước để rửa, thu tuyến trùng bám dính trên rây vào cốc.

Dùng ống hút lấy dung dịch thu được ở cốc thủy tinh cho vào đĩa đồng hồ và kiểm tra dưới kính lúp soi nổi có độ phóng đại từ 10 - 40 lần. Nếu phát hiện thấy tuyến trùng, dùng kim gắp tuyến trùng lên lam và quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại 40 - 1.000 lần. Kiểm tra lần lượt cho đến khi hết nước trong cốc thủy tinh.

2.4. Phương pháp làm tiêu bản tuyến trùng

2.4.1. Dung dịch bảo quản tuyến trùng

Tuyến trùng ký sinh thực vật thu được từ một trong các phương pháp tách lọc nêu trên được đưa vào một trong ba loại dung dịch dưới đây để bảo quản tuyến trùng.

Để tiêu bản tuyến trùng giữ được hình dáng đặc trưng, trước khi cho vào dung dịch bảo quản nên xử lý nhiệt tuyến trùng bằng nước nóng ở nhiệt độ 70 - 80°C trong 5 phút.

- Dung dịch 1: Formalin

  Dung dịch Formadehyde 4%.

- Dung dịch 2: Formalin - glycerol (FG)

Formalin (40% - Formaldehyde):	10ml
Glycerol:	01ml
Nước cất:	89ml

- Dung dịch 3: TAF

Triethanolamine:	02ml
Formalin (40% - formaldehyde):	07ml
Nước cất:	91ml

2.4.2. Phương pháp xử lý và làm tiêu bản tuyến trùng

2.4.2.1. Phương pháp xử lý tuyến trùng

- Dung dịch xử lý:

Dung dịch 1:	Cồn (96%)	20ml
	Glycerol	01ml
	Nước cất	79ml
Dung dịch 2:	Cồn (96%)	95ml
	Glycerol	05ml

- Cách tiến hành:

Gắp tuyến trùng từ dung dịch bảo quản vào chén thủy tinh có chứa 0,5ml dung dịch xử lý (dung dịch 1). Đặt chén này trong bình hút ẩm đậy kín có chứa 1/10 thể tích cồn 96°. Bình hút ẩm được đặt trong tủ ấm ở điều kiện nhiệt độ cố định 40°C với thời gian tối thiểu là 12 giờ.

Lấy chén thủy tinh ra khỏi bình hút ẩm, thêm dung dịch 2. Đậy nắp một phần miệng chén để cồn bay hơi từ từ. Chén thủy tinh có chứa tuyến trùng tiếp tục giữ trong tủ ấm ở điều kiện nhiệt độ cố định 40°C. Sau 2 - 3 giờ bổ sung thêm dung dịch 2 vào chén thủy tinh cho gần đầy, làm lại 2 - 3 lần. Tới khi tuyến trùng chỉ còn lại trong Glycerol có thể sử dụng làm tiêu bản được.

Hoặc đặt chén thủy tinh chứa tuyến trùng trong glycerol nguyên chất trên trong bình hút ẩm có chứa vôi. Bảo quản lâu dài để làm tiêu bản cố định.

2.4.2.2. Phương pháp làm tiêu bản

Lấy lam kính sạch và làm vòng parapin hoặc sáp ong (đường kính khoảng 1cm) trên lam kính. Cho 1 giọt glycerol nguyên chất vào giữa vòng parapin hoặc sáp ong. Dùng kim gắp, gắp 5 con tuyến trùng (đã xử lý trong dung dịch cố định) đặt vào giữa giọt glycerol, chỉnh cho các cá thể tuyến trùng nằm cùng một hướng. Đậy lamen và đặt lam kính trên bàn nhiệt cho parapin hoặc sáp ong tan chảy. Nhấc nhanh lam kính và đặt ra chỗ mát. Gắn keo bảo vệ.

2.5. Trình tự giám định

2.5.1. Quan sát tiêu bản dưới kính hiển vi có độ phóng đại từ 40 - 1.000 lần các chỉ tiêu sau

- Hình dạng kim hút, môi, đuôi, tuyến thực quản, đường bên của tuyến trùng, gai giao cấu của con đực, cơ quan sinh sản, tử cung sau của con cái.

- Hình dạng và đo kích thước của tuyến trùng cái và đực.

- Hình dạng trứng.

2.5.2. Đối chiếu kết quả quan sát và kết quả đo đếm được với đặc điểm hình thái và giải phẫu của tuyến trùng thối thân, rễ cọ dầu, dừa *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey (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 cá thể có các đặc điểm phân loại như trên có thể cho phép kết luận là tuyến trùng *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey (chỉ áp dụng đối với các đơn vị đã từng giám định được tuyến trùng *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey.

III. THẨM ĐỊNH KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH VÀ BÁO CÁO

Sau khi khẳng định kết quả giám định là *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey 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 *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey.

Đối với đơn vị lần đầu tiên giám định và phát hiện được *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey 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 tuyến trùng thối thân, rễ cọ dầu, dừa 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. Tuyến trùng thối thân, rễ cọ dầu, dừa Rhadinaphelenchus cocophilus (Cobb) Goodey

1.1. Phân bố và ký chủ

- Phân bố: Bệnh phân bố hạn chế ở Tây bán cầu (Trinidad và Tobago) và Mỹ la tinh (Dominic Republic, Venezuela, Guyana, Surinam, Colombia, Ecuador, Peru, Mexico, Brazil, Panama, Nicaragua, Costarica, Belize, Honduras, El Salvador và Guatemala).

- Ký chủ: Phạm vi ký chủ hẹp chủ yếu trên các cây cọ, cọ dầu, dừa: Dừa, cọ dầu châu phi, cọ lùn.

1.2. Tên khoa học và vị trí phân loại:

- Tên khoa học: *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey
- Tên tiếng Việt: Tuyến trùng thối thân, rễ cọ dầu, dừa
- Vị trí phân loại

Ngành: giun tròn

Lớp: Nematoda

Bộ: Aphelenchida

Bộ phụ: Aphelenchina

Họ: **Aphelenchoididae**

2. Đặc điểm nhận dạng

2.1. Đặc điểm chung

- Tuyến trùng hình giun dài, rất mảnh, vùng môi nhẵn, phẳng và cao. Nút chân kim hút rất mờ, có bốn đường bên. Diều hình bầu dục, hơi vuông, tuyến thực quản rất mảnh.

- Con cái có hai buồng trứng, lỗ sinh dục nằm ở nửa cuối thân. Nhìn từ mặt bụng, lỗ sinh dục có dạng khe, nhìn như hình chữ C. Túi sau dạ con thon dài. Đuôi thon dài, gần thành dạng hình trụ. Mút đuôi tròn.

- Con đực: đuôi cong nhọn, gần có dạng trụ ở phía trước, dạng nón ở phía sau, mút đuôi nhọn. Vây bao quanh đuôi

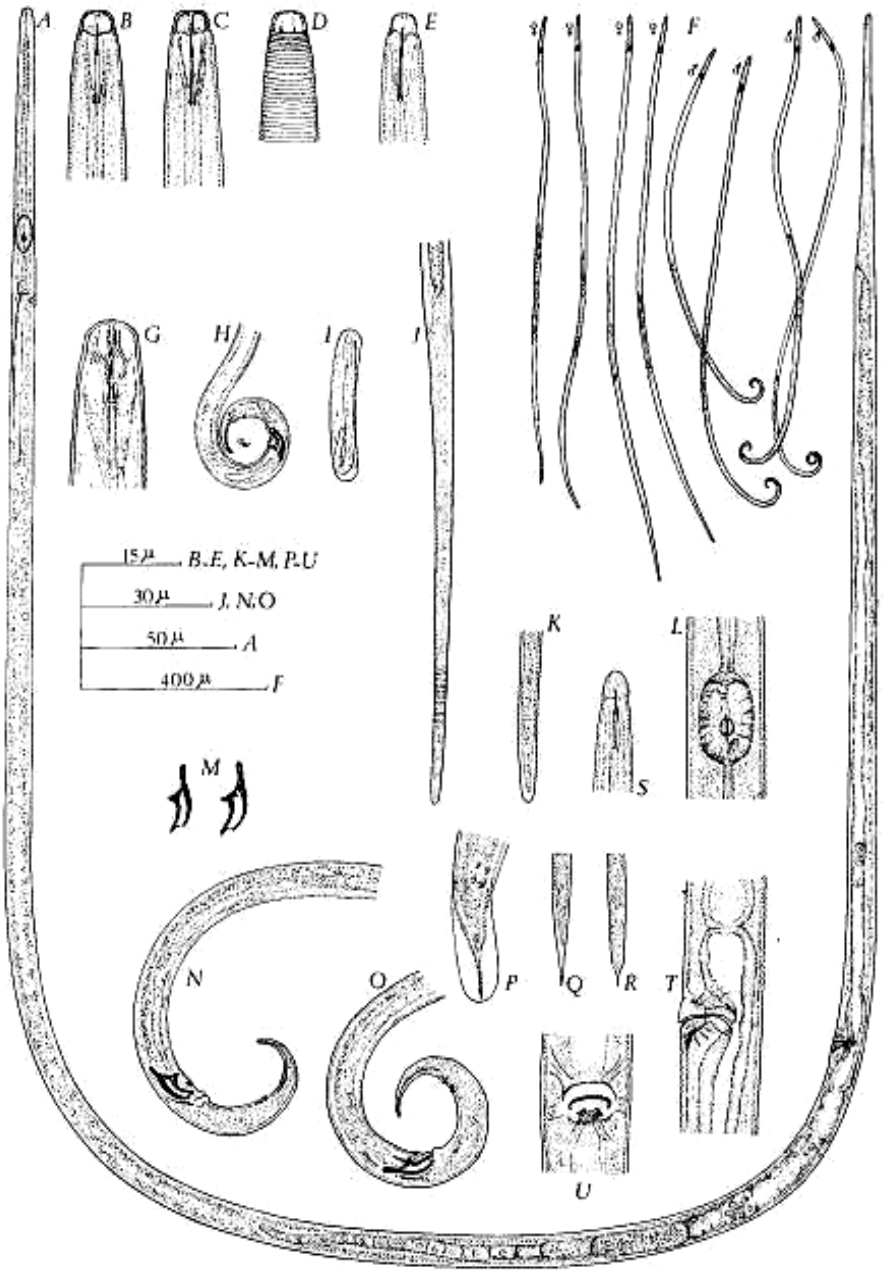
2.2. Đặc điểm nhận dạng tuyến trùng *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey là dịch hại kiểm dịch thực vật nhóm I của Việt Nam

- Trứng: Hình bầu dục, dài.

- Ấu trùng: Hình giun, đầu cao, dạng vòm, không phân chia với phần thân. Đuôi ấu trùng tuổi 2 và 3 hình nón, mút đuôi dạng mấu nhọn sắc. Ấu trùng tuổi 4 có đuôi khác nhau giữa cá thể đực và cái (dạng lưỡng hình): ở ấu trùng cái, mút đuôi tròn, trong khi ở ấu trùng đực mút đuôi nhọn sắc.

- Con cái: L = 0,97 - 1,18 mm, a = 78 - 96; b = 8,7, c = 9,5 - 13,2, V = 64 - 68%, kim hút = 10 - 13µm.

- Con đực: L = 0,84 - 1,16 mm, a = 100 - 179, b = 6,5, c = 24 - 35, T = 50 - 68%, kim hút = 15,3 (10,7 - 13,8)µm.



Hình 1. Tuyến trùng *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey
A,F: Tuyến trùng trưởng thành; B-D,G: đầu con cái; E: đầu con đực;
H,N,O: đuôi con đực; I: trứng; J: đuôi con cái; K: mút đuôi con cái;
L: diều giữa con cái; M: gai giao vĩ; P: vây đuôi nhìn từ mặt lưng;
Q,R: mút đuôi ấu trùng; S: đầu ấu trùng; T: Lỗ sinh dục nhìn từ mặt bên;
U: Lỗ sinh dục nhìn từ mặt bụng

(Nguồn: Brathwaite C.W.D. và Siddiqi M.R., 1975)

Trong đó:

L: Tổng chiều dài cơ thể
a: Chiều dài cơ thể/chiều rộng lớn nhất (thường là vị trí vulva)
b: Chiều dài cơ thể/chiều dài từ đỉnh đầu cơ thể đến van ruột - thực quản
c: Chiều dài cơ thể/chiều dài đuôi
V: Chiều dài cơ thể từ đỉnh đến vulva x 100/chiều dài cơ thể
T: Chiều dài từ lỗ huyệt đến đỉnh của tinh hoàn x 100/chiều dài cơ thể

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
Tuyến trùng *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb) Goodey
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 :

Phương pháp giám định: Theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-180: 2014/BNNPTNT 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"

12. Kết quả giám định

Tên khoa học:
Bộ: Aphelenchida
Bộ phụ: Aphelenchina
Họ: Aphelenchoididae
Giống: *Rhadinaphelenchus*
Loài: *R. cocophilus*

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 01-181:2014/BNNPTNT

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

National technical regulation on Procedure for identification of Potato wart disease (Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival*) - Plant quarantine pest of Vietnam

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

QCVN 01-181:2014/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 UNG THƯ KHOAI TÂY (*Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival) LÀ DỊCH HẠI KIỂM DỊCH THỰC VẬT CỦA VIỆT NAM

National technical regulation on Procedure for identification of Potato wart disease (Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival*) - 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 ung thư khoai tây (*Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival) 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 ung thư khoai tây (*Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival - là dịch hại kiểm dịch thực vật (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 PTNT.

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.

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 01-21:2010/BNNPTNT[1] "Phương pháp kiểm tra củ, quả 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". Riêng đối với mẫu đất, phải lấy ở độ sâu tối thiểu 50cm.

2.1.2. Bảo quản mẫu

Các bộ phận tươi nghi có triệu chứng bệnh (lá, thân, rễ, củ...) được để trong các túi ni-lông có lỗ thông khí có đính nhãn và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 3 - 5°C.

Mẫu đất được cho vào túi ni-lông, có lỗ thông khí, có đính nhãn và để ở những nơi thoáng mát hoặc 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.

2.1.3. Thiết bị dụng cụ, hóa chất

Kính lúp soi nổi có độ phóng đại 10 - 40 lần (10 - 40x), kính hiển vi có độ phóng đại 40 - 1000 lần

Máy ly tâm, máy lắc, tủ sấy, tủ định ôn, cân điện.

Bộ dao, kim giải phẫu, panh, kéo, dao lam, bộ rây lọc đất

Đèn cồn, đĩa petri, ống hút, lam, lamen, bình tam giác, cốc đong, giấy lọc

Axit lactic 98%, chloroform, $CaCl_2$, lactoglycerol.

2.3. Phương pháp phát hiện và giám định bệnh

2.3.1. Phát hiện và thu thập mẫu bệnh

Trên phần gốc thân: U có màu trắng hoặc xanh lá (nếu lộ sáng) tới màu nâu, khi thành thục các u này chuyển thành màu đen và sau đó bị thối. (hình 1, phụ lục 1)

Trên lá: cuống lá phình to tạo dạng "cánh". (hình 2, phụ lục 1)

Trên củ: Các u sưng lúc đầu có màu trắng tới nâu và sẽ chuyển sang màu đen khi bị thối và sẽ rời ra khỏi củ (hình 3, 4, phụ lục 1) Các u sưng có nhiều hình dạng khác nhau, có thể là hình cầu hay dạng hoa súp lơ, kích thước các u sưng có thể

[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.

từ 1 - 8cm nhưng đôi khi có thể to bằng nắm tay. Bệnh gây hại trên mắt củ nhưng nếu bị nặng toàn bộ củ có thể trở thành các khối u sưng. Nếu bệnh nhiễm sớm trong giai đoạn củ mới phát triển củ sẽ bị biến dạng và trở nên xốp hơn. Vào cuối giai đoạn sinh trưởng của củ, các u sưng có thể bị khô hoặc thối hay rời ra khỏi củ vì vậy đôi khi triệu chứng trên củ mới thu hoạch rất khó nhận biết. Trong quá trình bảo quản trong kho các vết bệnh lại phát triển thành u sưng và u sưng có màu tương tự như vỏ củ khoai tây.

Trên rễ củ: Triệu chứng tương tự như trên củ.

Trên rễ tơ: Nấm không gây hại trên rễ tơ của khoai tây nhưng có gây hại trên rễ tơ của một số kí chủ phụ khác như cà chua.

2.3.2. Phương pháp giám định

2.3.2.1. Đối với củ, thân, lá và rễ

Dùng dao lam cắt lát các phần nghi ngờ, độ dày của lát cắt nên nhỏ hơn 1mm và có độ dài 3mm. Đặt lát cắt thu được lên lam kính, nhỏ một giọt axit lactic lên lát cắt và đậy lamen. Quan sát và đo đếm đặc điểm hình thái của bào tử dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 40 lần.

So sánh với đặc điểm hình thái của bào tử đông của nấm *Synchytrium endobioticum* (hình 5, 6 phụ lục 1)

Chú ý: *Nếu lát cắt quá dày sẽ rất khó quan sát cấu trúc của bào tử. Có thể dàn mỏng lát cắt bằng kim khêu nấm trước khi đậy lamen hoặc hơ lam kính lên đèn cồn để loại bỏ bóng khí trong tiêu bản.*

2.3.2.2. Đối với mẫu đất

Mẫu đất được để khô tự nhiên. Hòa tan 100 g đất đã khô vào 900ml nước, ngâm trong 24 giờ để đất rã ra hoàn toàn. Đổ hỗn hợp thu được qua bộ sàng 6 rây (kích thước lỗ rây lần lượt là 500, 250, 125, 71, 40 và 25µm). Các hỗn hợp thu được phía trên rây 40 và 25µm được rửa trên giấy lọc. Sau khi rửa sạch và để khô, phần thu được trên giấy lọc sẽ được cho vào ống ly tâm 50ml. Thêm vào ống ly tâm 15ml dịch Chloroform hoặc $CaCl_2$ khuấy đều, ly tâm 3000 vòng/phút trong 15 phút. Thu phần dung dịch và lọc qua giấy lọc. Hòa phần thu được trên giấy lọc vào 1ml lactoglycerol.

Dùng ống hút lấy dung dịch thu được ở trên nhỏ lên lam và kiểm tra dưới kính hiển vi. Quan sát và đo đếm đặc điểm hình thái của bào tử dưới kính hiển vi so sánh với đặc điểm hình thái của bào tử đông của nấm *Synchytrium endobioticum* (phụ lục 1)

III. THẨM ĐỊNH KẾT QUẢ GIÁM ĐỊNH VÀ BÁO CÁO

Sau khi khẳng định kết quả giám định là bệnh ung thư khoai tây (*Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival) thuộc danh mục dịch hại KDTV 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 bệnh ung thư khoai tây (*Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival).

Đối với đơn vị lần đầu tiên giám định và phát hiện được bệnh ung thư khoai tây (*Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival) 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 bệnh ung thư khoai tây (*Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival) 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 *(Armenia, Bhutan; Trung Quốc, Nepal, Ấn Độ, Thổ Nhĩ Kì),* Châu Phi *(Tunisia, Algeria; Nam Phi),* Châu Mỹ *(Canada, Bolivia; Ecuador, Falkland Islands, Peru),* Châu Âu *(Liên bang Nga; Ba Lan; Thụy Sỹ; Cộng hòa Séc; Siberia, Áo; Belarus; Bulgaria; Phần Lan; Đức; Ireland; Italy; Latvia; Luxembourg; Montenegro; Hà Lan; NaUy; Romania; Slovakia; Slovenia; Thụy Điển; Ukraine; Vương Quốc Anh)* và Châu Đại Dương *(New Zealand).*

1.2. Ký chủ

Khoai tây *Solanum tuberosum*, cây lu lu đực (nightshade), cà chua. Ngoài ra, trong lây nhiễm nhân tạo nấm còn ký sinh trên một số loại cây như *Schizanthus* sp., *Capsicastrum nanum*, *Physalis franchetii*, *Datura sp*. và *Solanum dulcamara.*

2. Tên khoa học và vị trí phân loại

Tên tiếng Việt: Bệnh ung thư khoai tây

Tên khoa học: *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival.

Tên khác:

Chrysophlyctis endobiotica Schilb.

Synchytrium solani Massee

Vị trí phân loại:

Lớp: Chytridiomycetes.

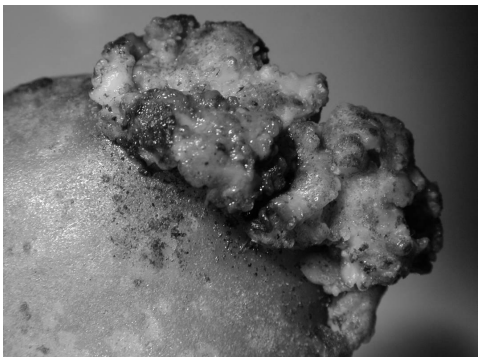
Bộ: Chytridiales

Họ: Synchytriaceae

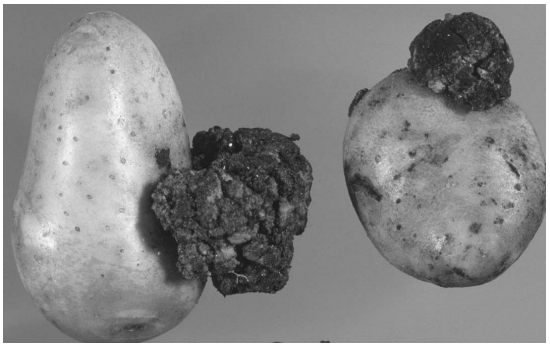
3. Triệu chứng của bệnh ung thư khoai tây

Hình 1. Triệu chứng bệnh ung thư khoai tây *S. endobioticum* trên đồng ruộng *(Nguồn: Hans Stachewicz)*

Hình 2. Triệu chứng bệnh ung thư khoai tây *S. endobioticum* trên lá *(Nguồn: Hans Stachewicz)*



Hình 3. U sưng do nấm *S. endobioticum* dưới mặt đất giai đoạn chưa thành thục *(Nguồn: Plant Health & Environment Lab)*

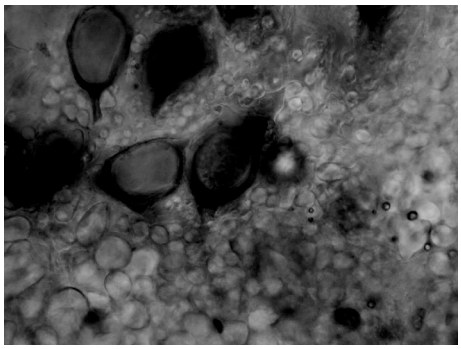


Hình 4. U sưng do nấm *S. endobioticum* trên củ đã thành thục *(Nguồn: Defra)*

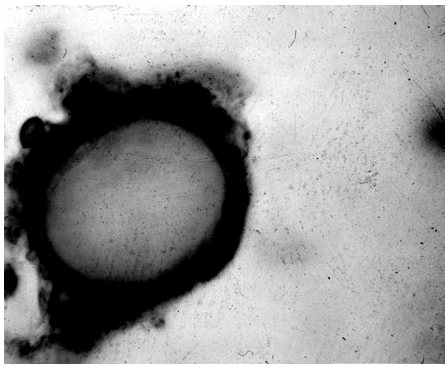
4. Đặc điểm hình thái bào tử nấm *Synchytrium endobioticum*

Bào tử đông có vách dày màu vàng nâu ở trong mô cây. Bào tử gần như chiếm hết tế bào ký chủ. Bào tử có 3 lớp vách, vách dày bên ngoài của bào tử có dạng nhăn (nếu nhìn trên bề mặt), có độ dày không đồng đều và có các đỉnh góc cạnh khá rõ ràng. Bào tử đông có đường kính từ 25 - 75µm (trung bình là 50µm). Các góc cạnh rõ ràng ở vách ngoài là đặc điểm chính để giám định nấm *Synchytrium endobioticum* phân biệt bào tử nấm với các cấu trúc hoặc vi sinh vật khác nằm trong u sưng hoặc trong đất.

Bào tử mùa hè có kích thước tương tự như bào tử đông nhưng trong suốt và có vách ngăn mỏng. Các bào tử này thường không xuất hiện ở các u trưởng thành. Chúng không có các đỉnh góc cạnh đặc trưng như bào tử đông và loại bào tử này không sử dụng để giám định bằng hình thái.



Hình 5. Bào tử đông *S.endobioticum* *(Nguồn: EPPO, 2012)*

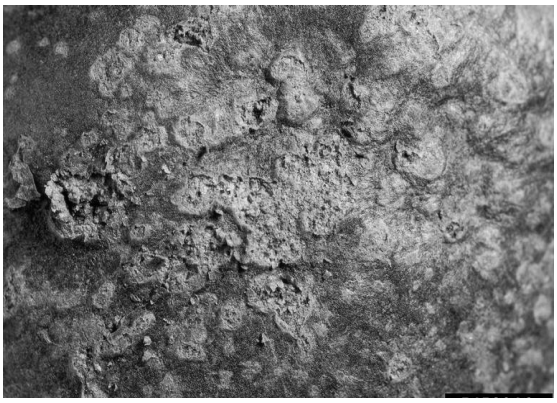


Hình 6. Bào tử đông *S.endobioticum* bất hoạt *(Nguồn: EPPO, 2012)*

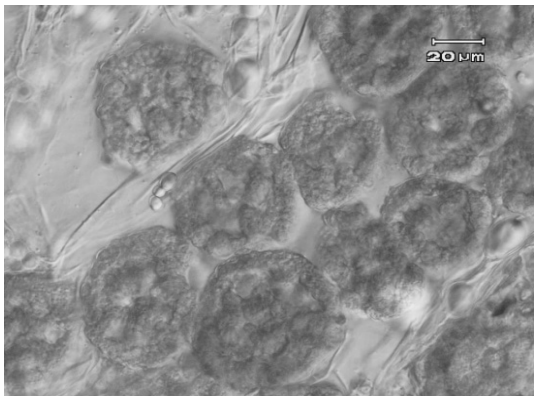
5. Phân biệt giữa nấm *Synchytrium endobioticum và* một số loại nấm giống *Synchytrium* hoặc nấm khác có biểu hiện triệu chứng bệnh tương tự

Một số loại *Synchytrium* kí sinh trên cỏ có thể có mặt trong đất trồng khoai tây nhưng ít khi xuất hiện trên các u sưng. Những loài này cấu tạo bào tử không có các đỉnh góc cạnh như bào tử đông của *Synchytrium endobioticum*.

Bệnh ghẻ bột khoai tây (*Spongospora subterranea*) gây triệu chứng các vết ghẻ không có hình dạng nhất định trên củ khoai tây (hình 7). Kiểm tra dưới kính hiển vi các khối bào tử (spore balls) của nấm *S. subterranea* có dạng trứng, bất định hoặc thuôn dài, có dạng xốp. Khối bào tử có chứa các bào tử riêng lẻ co cụm sát vào nhau (hình 8)

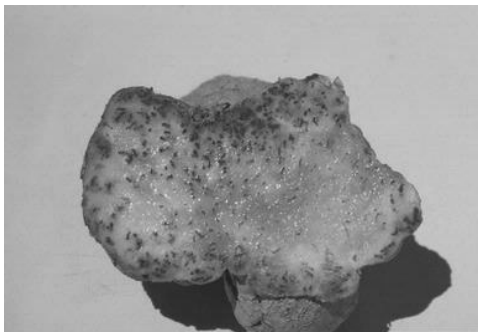


Hình 7. Vết bệnh ghẻ bột khoai tây
(Nguồn: USDA,2012)

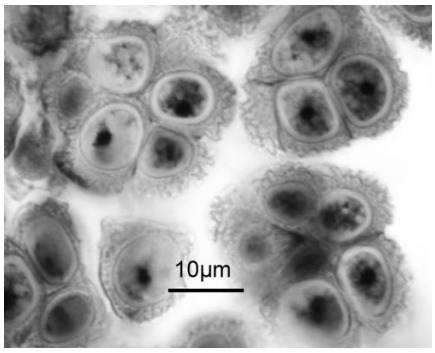


Hình 8. Bào tử *S. subterranea* (40X)
(Nguồn: Lucid, 2010)

Bệnh than đen khoai tây *(Thecaphora solani)*: bệnh cũng gây các khối u sùi trên củ nhưng các u sưng này chứa những bào tử màu đen. (hình 9, 10)



Hình 9. Triệu chứng bệnh than đen khoai tây (*T. solani*)
(Nguồn: USDA, 2012)



Hình 10. Bào tử nấm bệnh than đen khoai tây (*T. solani*)
(Nguồn: USDA, 2012)

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
Bệnh ung thư khoai tây *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival.
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 01-181:2014/BNNPTNT về "Quy trình giám định bệnh ung thư khoai tây *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival - là dịch hại kiểm dịch thực vật của Việt Nam".
13. Kết quả giám định :

Tên khoa học: *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Percival.
Lớp: Chytridiomycetes.
Bộ: Chytridiales
Họ: Synchytriaceae
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)*

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