

TCCS

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

TCCS 781: 2021/BVTV

Xuất bản lần 1

**PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN NHANH SÂU NON
RUỒI ĐỤC QUẢ, SÂU NON NGÀI HẠI QUẢ
TRÊN QUẢ TƯƠI MỌNG, MỀM (ANH ĐÀO, DÂU TÂY,
VIỆT QUẤT, NHO) NHẬP KHẨU**

*Method for quick detection of fruit fly larvae and moth larvae of import fresh fruits
(cherry, strawberry, blueberry, grapes)*

HÀ NỘI – 2021



A handwritten signature in black ink is located in the bottom right corner of the page.

Lời nói đầu



Cơ quan soạn thảo: Trung tâm Giám định kiểm dịch thực vật

Cơ quan đề nghị ban hành: Trung tâm Giám định kiểm dịch thực vật

Cơ quan trình duyệt: Phòng Kế hoạch

Cơ quan xét duyệt ban hành: Cục Bảo vệ thực vật

Quyết định ban hành số: 1262/QĐ-BVTV ngày 30 tháng 6 năm 2021

của Cục trưởng Cục Bảo vệ thực vật

Phương pháp phát hiện nhanh sâu non ruồi đục quả, sâu non ngài hại quả trên quả tươi mọng, mềm (anh đào, dâu tây, việt quất, nho) nhập khẩu

Method for quick detection of fruit fly larvae and moth larvae of import fresh fruits (cherry, strawberry, blueberry, grapes)

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định về phương pháp phát hiện nhanh sâu non ruồi đục quả, sâu non ngài hại quả trên quả tươi mọng, mềm (anh đào, dâu tây, việt quất, nho) nhập khẩu.

2 Tài liệu viện dẫn

Tài liệu viện dẫn dưới đây là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn có ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các phiên bản sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 12709-1:2019. Quy trình giám định côn trùng và nhện nhỏ gây hại thực vật. Phần 1: Yêu cầu chung.

3 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ thông thường trong phòng thử nghiệm sinh học và các thiết bị, dụng cụ sau:

3.1 Kính lúp soi nổi có độ phóng đại từ 10 lần đến 40 lần

3.2 Kính lúp cầm tay

3.3 Tủ lạnh có thể vận hành từ (-)10 °C đến 5 °C

3.4 Lưới inox kích thước mắt lưới (0,3 cm x 0,3 cm)

3.5 Sổ ghi chép

3.6 khay

3.7 Ống nghiệm có nắp

3.8 Hộp nhựa

3.9 Dụng cụ thủy tinh cốc thủy tinh có dung tích thích hợp; bình định mức có dung tích thích hợp; đĩa thủy tinh

3.10 Lọ thủy tinh nút mài có dung tích thích hợp

BK

3.11 Panh mềm

3.12 Bút lông

3.13 Túi đựng mẫu

3.14 Túi zip dày

3.15 Giấy ghi nhãn

3.16 Bút viết không trôi (bút chì mềm 2B hoặc bút không trôi trong cón)

3.17 Con lăn gỗ

4 Hóa chất

Chỉ sử dụng các hóa chất loại tinh khiết dùng cho phân tích và nước cất, trừ khi có quy định khác.

4.1 Dung dịch nước đường vàng

4.2 Ethanol (C₂H₅OH) 99,8 %

4.3 Dung dịch ethanol (C₂H₅OH) 70 %

4.4 Dung dịch nước muối

5 Lấy mẫu và chuẩn bị dung dịch

5.1. Lấy mẫu

- Lấy mẫu theo TCVN 12709-1:2019 (điều 5.1)

5.2 Chuẩn bị dung dịch

5.2.1. Dung dịch nước đường vàng

- Thành phần:

Đường vàng	171,7 g
Nước cất	1000 ml

- Chuẩn bị :

Hòa tan các thành phần trên vào nước cất lần lượt theo thứ tự.

5.2.2. Dung dịch nước muối

- Thành phần:

Muối trắng	92,5 g
Nước cất	1000 ml

- Chuẩn bị :

Hòa tan các thành phần trên vào nước cất lần lượt theo thứ tự.

5.2.3. Dung dịch ethanol (C_2H_5OH) 70 %

- Thành phần:

Ethanol (C_2H_5OH) 99,8 %	30,14 ml
Nước cất	69,86 ml

- Chuẩn bị:

Hòa tan các thành phần trên vào nước cất lần lượt theo thứ tự

CHÚ THÍCH: Các dung dịch cần được chuẩn bị trước ít nhất 24 giờ để đảm bảo muối hoặc đường vàng tan hết. Khuấy đều dung dịch một lần nữa ngay trước khi sử dụng. Có thể hòa tan muối hoặc đường vàng trong nước ấm để tăng độ hòa tan của dung dịch.

6 Phương pháp phát hiện

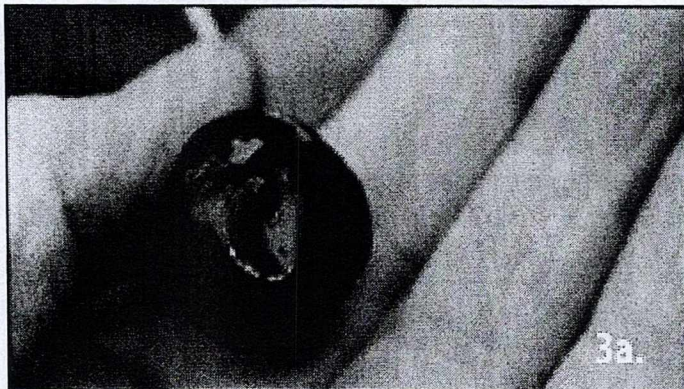
Bước 1: Chuẩn bị mẫu quả tươi mọng, mềm

Để thu sâu non của sâu đục quả và sâu non ngài hại quả trên các quả tươi mọng, mềm cần chú ý chọn các quả có triệu chứng như sau :

Đối với quả tươi mọng, mềm bị gây hại bởi sâu non ruồi đục quả: quả có thể bị mềm, bề mặt quả lõm vào, xuất hiện các vết châm trên quả, có vết hoại tử xung quanh lỗ đục do ruồi cái dùng ống đẻ trứng châm vào biểu bì quả để đẻ; ở những loại quả có hàm lượng đường cao sẽ xuất hiện giọt keo đường cạnh vết châm. Sâu non gây hại bên trong của quả làm cho quả có màu vàng không đều và thối rữa. Sâu non đẫy sức (cuối tuổi 3) thường đục quả chui ra ngoài để hóa nhộng.

Đối với quả tươi mọng, mềm bị gây hại bởi sâu non ngài hại quả: sâu non ngài hại quả đục vào bên trong quả, ăn trong thịt quả nhưng loại trừ phần vỏ quả, quả bị hại chỉ còn lại vỏ nên rất dễ phát hiện bằng mắt thường.

Các mẫu quả thu được đặt trong túi đựng mẫu (3.13) bảo quản ở ngăn mát tủ lạnh (3.3)



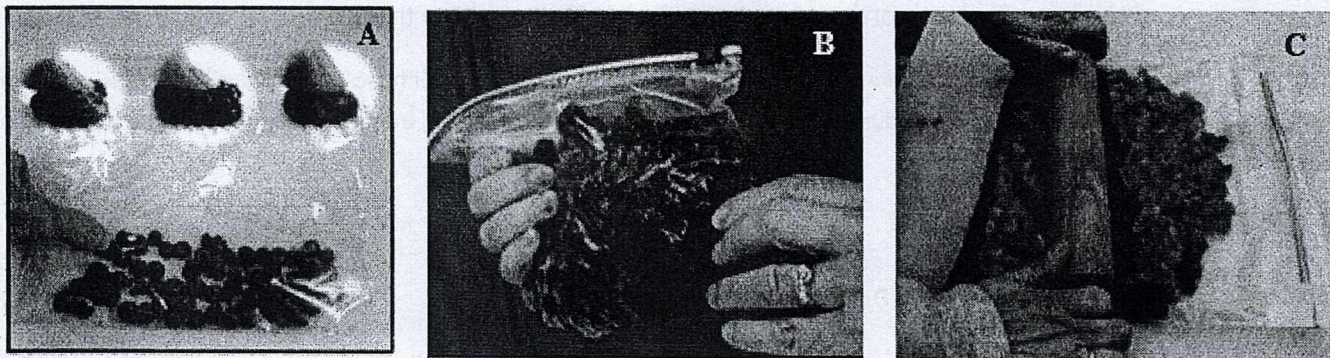
Hình 1 - Triệu chứng trên quả do sâu non ruồi đục quả gây ra



Hình 2 - Thu thập mẫu quả

Bước 2 : Làm nát mẫu quả

Mẫu quả được cho vào trong túi zip dày (3.14) và đóng miệng túi (hình 2). Các túi mẫu được ghi nhãn (3.15) thông tin hoặc kí hiệu mẫu bằng bút viết không trôi (3.16). Đặt túi trên bề mặt cứng và ấn nhẹ từng quả để làm vỡ quả (hình 3A). Dùng tay bóp nhẹ vào từng quả (hình 3B); cũng có thể dùng con lăn gỗ (3.18) hoặc các dụng cụ tương tự để làm nát mẫu quả (hình 3C). Chú ý nhẹ tay tránh làm chết sâu non bên trong quả.

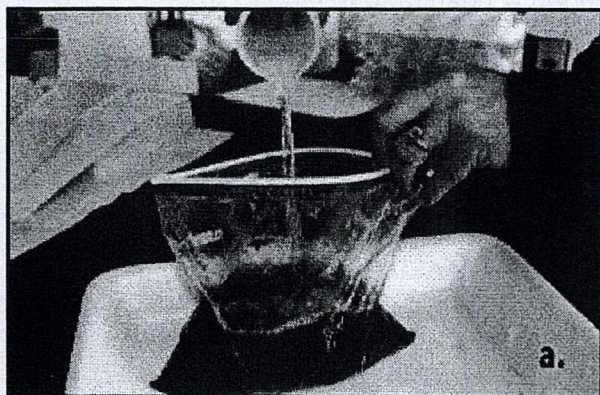


A, B - Làm nát mẫu bằng tay ; C - Làm nát mẫu quả bằng con lăn gỗ

Hình 3 - Phương pháp làm nát mẫu quả

Bước 3: Ngâm mẫu trong dung dịch

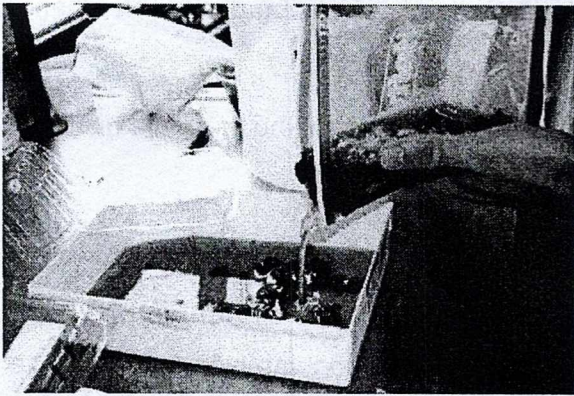
Đổ trực tiếp dung dịch nước đường vàng (4.1), hoặc dung dịch nước muối (4.4) đã pha sẵn vào túi zip dày (3.14) chứa mẫu quả đã vỡ nát (hình 4). Đóng miệng túi zip tránh không khí đi vào phía trong túi sẽ làm sâu non bò lên thành túi, lắc nhẹ để toàn bộ dung dịch ngấm vào mẫu quả (hình 5). Sau đó đổ toàn bộ ra khay (3.6) (hình 6). Đổ thêm dung dịch ngập toàn bộ phần quả đã làm nát. Dùng thìa thủy tinh (3.9) khuấy nhẹ. Tiếp đó sử dụng lưới inox (3.4) đặt bên trên khay (3.6) để lượng quả làm nát không nổi lên (hình 7). Mẫu được ngâm trong dung dịch từ 10 phút đến 15 phút.



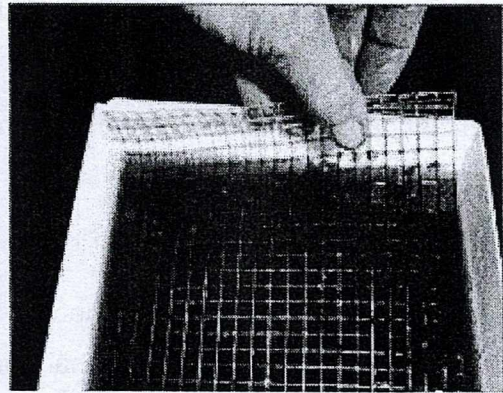
Hình 4 - Đổ dung dịch vào túi zip



Hình 5 - Đóng miệng túi zip



Hình 6 - Đổ mẫu quả ra khay



Hình 7 - Dùng lưới ngăn vỏ quả tươi để
quan sát

Sự khác nhau giữa dung dịch nước đường vàng và dung dịch nước muối:

- Cả dung dịch nước đường vàng (4.1) và dung dịch nước muối (4.4) đều thúc đẩy sâu non thoát ra khỏi mẫu quả. Sâu non sau khi thoát ra khỏi mẫu quả sẽ nổi lên mặt nước. Đối với những thí nghiệm chỉ cần quan sát sự hiện diện của sâu non thì sự lựa chọn giữa dung dịch nước đường vàng (4.1) và dung dịch nước muối (4.4) không quan trọng.
- Dung dịch nước đường vàng (4.1) có thể là chất hấp dẫn một số loại côn trùng khác, và có màu đậm hơn làm cho việc phát hiện sâu non khó hơn. Tuy nhiên, dung dịch nước đường vàng (4.1) giữ cho sâu non sống lâu hơn. Dung dịch nước muối (4.4) sẽ kích thích, làm cho sâu non nhanh chóng thoát ra khỏi mẫu quả nhưng sẽ giết chết sâu non nhanh hơn

Bước 4 : Kiểm tra sự có mặt của sâu non

Sử dụng bút lông (3.12), panh mềm (3.11) gạt nhẹ mảnh vỏ của quả để tìm sâu non nổi trên bề mặt dung dịch. Kiểm tra sự có mặt của sâu non dưới kính lúp soi nổi (3.1) hoặc kính lúp cầm tay (3.2) có đủ nguồn sáng. Nên kiểm tra trong khoảng 15 phút, tránh để quá lâu. Nếu thời gian kiểm tra kéo quá dài, sâu non có thể chết và chìm xuống đáy khay (3.6). Trong quá trình kiểm tra có thể khuấy đều để sâu non bên trong có thể dễ dàng tách ra khỏi phần vỏ quả và tiếp tục dùng lưới đặt trên khay để vỏ quả không nổi lên.

Sau khi kiểm tra lần 1, có thể đổ trở lại phần dung dịch (đã kiểm tra sâu non) và mảnh vỏ quả vào túi đựng mẫu (3.13) hoặc hộp nhựa (3.8), sau 24 giờ, làm lại quy trình trên để kiểm tra lần 2.

Bước 5 : Thu và bảo quản mẫu sâu non dùng cho giám định

Khi phát hiện sâu non của ruồi đục quả hoặc sâu non ngài hại quả, sâu non được thu bắt và bảo quản trong dung dịch ethanol trong ống nghiệm có nắp (3.7) hoặc lọ thủy tinh nút mài (3.10).

Đối với mẫu giám định bằng phương pháp hình thái, giải phẫu được bảo quản trong dung dịch ethanol 70% (4.3).

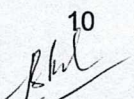
TCCS 781: 2021/BVTV

Đối với mẫu giám định bằng phương pháp sinh học phân tử được bảo quản trong dung dịch ethanol 99,8 % (4.2).

Các mẫu phải có nhãn ghi đầy đủ thông tin: tên hàng hóa, ngày thu mẫu, người thu mẫu, địa điểm thu mẫu, xuất xứ của hàng hóa.

7. Giám định

Giám định các mẫu sấu non thu được theo bộ tiêu chuẩn TCVN 12709 hoặc chuyển về phòng thí nghiệm sinh học để giám định bằng hình thái hoặc sinh học phân tử tùy thuộc vào hiện trạng mẫu và khả năng định loại của phòng thí nghiệm.



Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Amy J. Drewes, Adam Cave and Jana Lee, 2014. A detail guide for testing fruit for presence of spotted wing drosophila (SWD) larvae.
- [2] Wee L. Yee, 2014. Comparison of the Brown Sugar, Hot Water, and Salt Methods for Detecting Western Cherry Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) Larvae in Sweet Cherry. Florida Entomologist 97(2):422-430. 2014 <https://doi.org/10.1653/024.097.0212>
- [3] TCVN 1-2 : 2008, Phần 2: Quy định về trình bày và thể hiện nội dung tiêu chuẩn quốc gia.
- [4] TCVN 12709-1:2019. Quy trình giám định côn trùng và nhện nhỏ hại thực vật - Phần 1: Yêu cầu chung
-

