

**ph¬ng ph,p ®iÒu tra ph,t hiÖn
bÖnh hÐo rò ng«**

Erwinia stewarti E.F.Smith

1. Ph¹m vi vµ ®èi tîng ,p dông:

Ti^au chuÈn nµy ®íc ,p dông trong viÖc ®iÒu tra bÖnh hÐo rò ng« trong c«ng t,c KiÓm dÞch thûc vËt è c,c vïng trång ng« vµ mét sè c©y nh: C©y cêm g¹o (Croix lacrima Filei), cá ®u«i chã (Setaria lutarens), cá Goa-t^a-ma-la (Tripsacum laxum), cá Euchlaene mexicana còng nh ®Et ®ai gieo trång, c,c ph¬ng tiÖn chÕ biÖn, b¶o qu¶n, vËn chuyÓn nh÷ng c©y vµ bé phËn cña c©y ®ã nh»m ph,t hiÖn bÖnh hÐo rò ng« do vi khuÈn Erwinia stewarti E.F. Smith g©y nªn, cã hay kh«ng hiÖn diÖn vµ nÖu cã thx è nh÷ng vÞ trÝ nµo, ph©n bè ®Ön ranh giíi nµo trong vïng ®iÒu tra.

2. Ph¬ng ph,p ®iÒu tra:

2.1. ®iÒu tra trong kho vµ ph¬ng tiÖn vËn t¶i:

Trong c,c ph¬ng tiÖn lu chøa, chÕ biÖn vËn chuyÓn, c©y vµ c,c bé phËn cña c©y nªu t¹i môc 1 trªn ®©y ®íc quan s,t lÊy mÉu theo ph¬ng ph,p quy ®Pnh t¹i TCVN 4731-89 (KiÓm dÞch thûc vËt - Ph¬ng ph,p lÊy mÉu). Trong qu, trxnh ®iÒu tra ph¶i chó ý c,c bé phËn c©y nghi bÞ nhiÔm bÖnh vµ c¶ r,c r i, tµn t thûc vËt trong c,c ph¬ng tiÖn ®ã (kÓ c¶ bao bx, ®å chìn lt).

2.2. ®iÒu tra è n¬i gieo trång:

ViÖc ®iÒu tra nh÷ng c©y nªu t¹i môc 1 trªn ®©y è c,c n¬i gieo trång ®íc thûc hiÖn theo nh÷ng quy ®Pnh sau ®©y:

2.2.1. X,c ®Pnh diÖn ®iÒu tra:

DiÖn ®iÒu tra bao gồm nh÷ng diÖn tÝch ®Et ®ai hoÆc sè l ng t i b u vµ ch u v¹i gieo trång c,c c©y nªu t¹i ®iÓm 1 trªn ®©y bÞ nhiÔm hoÆc nghi bÞ nhiÔm bÖnh hÐo rò ng«. M i ®¬n vÞ diÖn ®iÒu tra kh«ng l n h¬n 10 ha hoÆc 5.000 t i b u hay 1.000 ch u v¹i, n u l n h¬n thx chia ra l m nhi u ®¬n vÞ nh  ®Ó tiÖn h nh ®iÒu tra.

2.2.2. X,c ®Pnh ®iÓm ®iÒu tra:

M i diÖn ®iÒu tra ph¶i c a diÖn tÝch  t nh t 1 m² vµ c a  t nhất 1 c©y, n»m trong diÖn ®iÒu tra . N u diÖn ®iÒu tra c a diÖn tÝch 10 m² thx to n b  diÖn tÝch ®ã l u m t ®iÓm ®iÒu tra. Tr ng h p c©y trång trong t i b u hoÆc

chüß v¹i thx mçi ®iÓm ®iÒu tra gäm Ýt nhêt lµ 5 tói bÇu hoÆc 1 chüß v¹i vµ cã Ýt nhêt lµ mét c©y. NÕu cã 10 tói bÇu hoÆc 10 chüß v¹i thx toµn bé sè tói bÇu vµ chüß v¹i ®ã lµ mét ®iÓm ®iÒu tra. SiÓm ®iÒu tra, tÝnh theo quy ®Þnh t¹i phô lôc sè 1 kìm theo ti^au chuÈn nµy.

NÕu cã nhiÒu ®iÓm ®iÒu tra thx c,c ®iÓm ®ã ph¶i ®îc ph©n bè ®Òu tr^an diÖn ®iÒu tra (theo ®êng chÐo gäc hoÆc zÝch z^{3/4}c hoÆc h×nh bµn cê). Mét sè ®iÓm ®iÒu tra cã thÓ ®îc tËp trung vµo n-i cã nhiÒu kh¶ n^{..}ng bÞ nhiÔm bÖnh hÐo rò ng».

2.2.3. *TiÕn hµnh ®iÒu tra vµ thu thËp mÉu:*

2.2.3.1. Ph¶i quan s,t toµn bé diÖn ®iÒu tra tõ xa ®Õn gÇn, tõ réng ®Õn hÑp. Chó ý nh÷ng c©y cã biÓu hiÖn kh,c thêng, tiÕp ®ã, ph¶i quan s,t toµn bé ®iÓm ®iÒu tra, chó ý nh÷ng c©y cã dÊu hiÖu nghi bÞ lo¹i vi khuÈn nµy g©y h¹i nh: Cßi cäc, tµn lôi, thËp lín, kh«ng ra hoa kÖt tr,i, c©y ng« cã hoa ®ùc bÞ biÖn mÇu, nh÷ng l, e gÇn phÝa gèc cã ®èm xanh, vµng s,ng theo sàc vµ g©n l, kÐo dµi xuèng th©n c©y.

2.2.3.2. T¹i mçi ®iÓm ®iÒu tra cã tõ 6 c©y trë l^an thx sè lïng c©y ®îc quan s,t, t×m tßi, thu thËp mÉu vËt nghi bÞ nhiÔm bÖnh e tÊt c¶ c,c bé phËn tr^an mÆt ®Êt, ®Êt b,m dÝnh vµ tµn d cña c,c c©y ®ã ph¶i chiÓm Ýt nhêt lµ 40% tæng sè c©y trong ®iÓm ®ã vµ Ýt nhêt lµ mét c©y ®îc ®µo l^an ®Ó xem c,c bé phËn díi ®Êt. NÕu t¹i mét ®iÓm ®iÒu tra cã 5 c©y trë xuèng thx tÊt c¶ sè c©y nµy ph¶i ®îc xem xDt c,c bé phËn tr^an mÆt ®Êt vµ Ýt nhêt cã mét c©y ®îc ®µo l^an ®Ó xem c,c bé phËn díi ®Êt.

2.3. *Ph¬ng ph,p lu gi÷ vµ b¶lo qu¶n mÉu vËt:*

Mét sè c©y vµ bé phËn c©y bÞ bÖnh hoÆc nghi bÞ bÖnh hÐo rò ng« ®îc thu thËp, Đp kh« hoÆc ng©m trong dung dÞch gi÷ ®îc h×nh d¹ng vµ mÇu s^{3/4}c ®Ó lµm ti^au b¶n. Mét sè c©y vµ bé phËn c©y ®ã ph¶i ®îc gi÷ nguy^an tr¹ng nh khi thu thËp, ®Ó chuyÓn gõi ®Õn n-i ph©n tÝch, gi,m ®Þnh. Ti^au b¶n ph¶i ghi nh·n râ rµng sao cho kh«ng bÞ lÉn lén. Vi khuÈn ph¶i ®îc lµm thµnh ti^au b¶n lam- la-mel cè ®Þnh ®Ó lu gi÷. Thêi gian lu gi÷ ti^au b¶n Ýt nhêt lµ 3 n^{..}m.

2.4. *Ph¬ng ph,p ph©n tÝch gi,m ®Þnh:*

Chän nh÷ng h¹t (ng«) lÐp, nh^{..}n nheo nhng vá h¹t cßn lµnh lÆn hoÆc t×m giät dÞch tiÖt ra e chç vÖt c^{3/4}t ngang th©n, l,, l, bao b^{3/4}p vµ chç tiÕp gi,p phÇn cuèng b^{3/4}p víi th©n (ng«). Ph¶i t,ch ®îc vi khuÈn tõ c,c vËt thÓ bÞ nhiÔm vµ ph©n lËp, nu«i cÊy vi khuÈn trong m«i trêng nh©n t¹o vµ ®Þnh lo¹i vi khuÈn so víi mÉu chuÈn vµ tµi liÖu chuy^an m«n theo nh÷ng ®Æc ®iÓm n^au t¹i phô lôc sè 2 kìm theo ti^au chuÈn nµy. ViÖc ®Þnh lo¹i vi khuÈn nµy chñ yÕu theo ph¬ng ph,p sinh ho, vµ so s,nh h×nh th,i. N-i cã ®iÒu kiÖn thx ,p dông ph¬ng ph,p ELISA hoÆc ph©n tÝch gen.

2.5. *Dông cô ®iÒu tra:*

a) Thíc ®o cã thang chia tñi ®¬n vÞ mm.

b) KÝnh hiÓn vi soi næi (Stereo microscope) víi ®é phäng ®¹i 10 - 20 lÇn vµ kÝnh hiÓn vi quang häc víi ®é phäng ®¹i tõ 15 x 40 ®Õn 15 x 90 lÇn.

- c) Dao, kĐo, mòi m,c, panh, chæi l«ng, bót l«ng, ®inh ghim, hép ti u b n, kÑp ti u b n v  c,c thiết bị d ng c  kh,c c n cho ph n t ch vi khuẩn.
- d) T m v i nh a có 1,0m x 1,5m, t i polyeten ®Ó l y m u, ® ng m u.
- (*) B nh thu  tinh,  ng tuýp, ® a h p b ng thu  tinh, chai, l , b nh ® ng.
- e) Ho, ch t ng m gi  m u v t b  h i, ho, ch t v  v t li u l m m i tr ng nh n t o v  th  nghi m, ho, ch t nhu m v  l m m u lam.
- g) X ng, bay, k m, vam, xi n l y m u.
- h) B t, gi y v  c,c lo i keo d,n.
- i) C,c m,y m c, d ng c  ghi h nh (n u có).

3. Ghi chép v  c,o k t quả ®i u tra:

3.1. C,c ch  ti u ®i u tra t ng lo i ® i t ng ® u ph i ® c ghi chép vào s e ®i u tra theo th t nh sau:

1. N i thu th p m u.
2. S  l ng ®i u tra.... .
3. Di n t ch di n ®i u tra.
4. S  l ng v  s  ®  ph n b  ® m ®i u tra.
5. S  l ng m u v t v  ti u b n ®  thu th p.
6. S  l ng ti u b n, m u v t ®  lu gi  ho c chuy n g i ® n n i ph n t ch, gi,m ® nh.
7. Ng y th ng thu th p.
8. K t quả gi,m ® nh.
9. Ng y, th ng chuy n g i.
10. Ng i, c  quan gi,m ® nh.

3.2. K t quả ®i u tra ® c l p th nh bi n b n theo ph  lục 2 c n TCVN 4731-89 v  theo m u 5 (kho n 5 c n ®i u 3) t i Quy ® nh ban hành kèm theo Quyết ® nh s  191/NN - BVTM/QS, ng y 31/3/1994 c n B  N ng nghiệp v  C ng nghiệp Th c ph m (n y l u B  N ng nghiệp v  Ph,t tri n N ng th n).

3.3. Vi c b,o c,o, c ng b  k t quả ®i u tra ph i ® c th c hiện theo ® ng quy ® nh c n kho n 2a, §i u 14; §i u 15 ; §i u 16 c n Ph,p l nh B o v  Ki m d ch th c v t hi n h nh; Kho n 2, §i u 13 c n §i u l  Ki m d ch th c v t hi n h nh.

Phô lôc sè 1

B¶ng tÝnh sè lîng ®iÓm ®iÒu tra

DiÖn tÝch, sè lîng cña diÖn ®iÒu tra (DT = diÖn tÝch, T = Sè lîng tói bÇu, chËu v¹i)	Sè lîng ®iÓm ®iÒu tra Ýt nhÊt
10	SiÒu tra toµn bé
>100	1 - 5
> 1000 (**)	5 $\frac{DT(T) - 100}{50}$
> 1000 (**)	23 $\frac{DT(T) - 1.000}{150}$
> 1 ha (**)	83 $\frac{DT - 1}{0,05}$

ChØ lÊy sè
®¬n vP (ch½n)
(*)

(*) 1/ DT vµ T lµ: DiÖn tÝch diÖn ®iÒu tra tÝnh theo m² hoÆc ha vµ theo sè lîng tói bÇu hoÆc chËu v¹i.

2/ ChØ lÊy ®¬n vP ch½n, vÝ dô: DiÖn ®iÒu tra lµ h¬n 100 m² (nh 101 m² ... 149 m²) nhng cha ®Ön 150 m² thx sè lîng ®iÓm ®iÒu tra còng chØ lµ 5 v× sè diÖn tÝch lín h¬n ®ä (101 - 100 hoÆc 149 - 100) kh«ng chia ch½n cho 50, nh:

$$\frac{149 - 100}{50} = 0,98 \text{ thx lµ cha ®ñ ch½n 1. Nhng nÕu diÖn tÝch diÖn ®iÒu tra b»ng 150 m² thx tæng sè ®iÓm ®iÒu tra sї lµ:}$$

$$5 \frac{150 - 100}{50} = 6$$

§èi víi sè lîng tói bÇu, chËu v¹i còng vËy.

(**). NÕu lín h¬n 10ha thx khoanh thµnh nh÷ng diÖn tÝch b»ng hoÆc nhá h¬n 10 ha vµ tÝnh sè lîng ®iÓm ®iÒu tra theo b¶ng trªn ®Cºy. NÕu h¬n 5.000 tói bÇu vµ 1.000 chËu v¹i thx còng lµm nh vËy.

Phô lôc 2

Mét sè ®Æc ®iÓm chÝnh cña vi khuÈn

(Erwinia stewarti E.F Smith)

Hä: Pseudomonaceae

Bé: Eubacteriales.

Vi khuÈn gram ©m, h×nh que (trùc khuÈn), kh«ng cã bµo tö, cã kÝch thíc 0,5-0,7x1,0-2,0 micron, ®øng riæng rí tõng c, thÓ hoÆc hîp l¹i thµnh tõng cÆp, kh«ng chuyÓn ®éng, kh«ng cã l«ng roi.

Sinh trëng chËm trong m«i trêng aga, h, o khÝ, c,c khuÈn l¹c nhá bĐ, rxa mĐp khuÈn l¹c ®Òu, ®«i khi è gi÷a lâm s u d¹ng miÖng nói l a, è m«i trêng n c th t sinh trëng chËm, m u v ng, kh«ng l m lo·ng aga, t¹o ra axit trong ®êng glucoza, lactoza v u trong glixerin, kh«ng kh  nitrat kh«ng t¹o thµnh H₂S v u indola, kh«ng thu  ph n tinh b t, kh«ng ho, l ng gelatin v u kh«ng t¹o ra axit trong gelatin, ®  nhiệt thÝch hîp nh t cho vi khuÈn n y ph,t triÓn l  30° - 33°C, c  thÓ ch u ® c 8° - 9°C v u b  ch t khi nhiệt ®  cao h-n 53°C. Ph,t triÓn t t trong m«i trêng U-sin-xki, y u trong m«i trêng Pherma, kh«ng ph,t triÓn trong m«i trêng K n.