

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN  
VỤ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ VÀ MÔI TRƯỜNG

**TCVN 12709-2-6: 2019**

Xuất bản lần 1

TỔNG CỤC TIÊU CHUẨN BỘ LƯỢNG CHẤT LƯỢNG  
**BẢN GỐC TCVN**  
KHÔNG SẠC ĐƯỢC ĐỂ PHÁT HÀNH

**QUY TRÌNH GIÁM ĐỊNH CÔN TRÙNG VÀ NHỆN NHỎ  
HẠI THỰC VẬT**

**PHẦN 2-6: YÊU CẦU CỤ THỂ ĐỐI VỚI RUỒI ĐỤC QUẢ GIỐNG *Bactrocera***

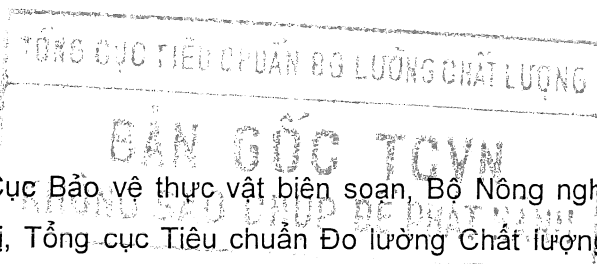
*Procedure for identification of insect and mite pests*

*Part 2-6: Particular requirements for genus *Bactrocera**

HÀ NỘI – 2019



## Lời nói đầu



TCVN 12709-2-6: 2019 do Cục Bảo vệ thực vật biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ TCVN 12709 *Quy trình giám định côn trùng và nhện nhỏ hại thực vật* gồm các phần sau đây:

- TCVN 12709-1 : 2019, Phần 1: *Yêu cầu chung*
- TCVN 12709-2-1 : 2019, Phần 2-1: *Yêu cầu cụ thể đối với mọt to vòi *Caulophilus oryzae* (Gyllenhal)*
- TCVN 12709-2-2 : 2019, Phần 2-2: *Yêu cầu cụ thể đối với mọt thóc *Sitophilus granarius* Linnaeus*
- TCVN 12709-2-3 : 2019, Phần 2-3: *Yêu cầu cụ thể đối với mọt cứng đốt (*Trogoderma granarium* Everts), mọt da vệt thận (*Trogoderma inclusum* Leconte) và mọt da ăn tạp (*Trogoderma variable* Ballion)*
- TCVN 12709-2-4 : 2019, Phần 2-4: *Yêu cầu cụ thể đối với rệp sáp vảy San Jose' *Diaspidiotus perniciosus* (Comstock) Danzig*
- TCVN 12709-2-5 : 2019, Phần 2-5: *Yêu cầu cụ thể đối với ruồi đục quả giống *Anastrepha**
- TCVN 12709-2-6 : 2019, Phần 2-6: *Yêu cầu cụ thể đối với ruồi đục quả giống *Bactrocera**





Quy trình giám định côn trùng và nhện nhỏ hại thực vật  
Phần 2-6: Yêu cầu cụ thể đối với ruồi đục quả giống *Bactrocera*

*Procedure for identification of insect and mite pests*

*Part 2-6: Particular requirements for genus Bactrocera*

## 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các yêu cầu cụ thể đối với quy trình giám định ruồi đục quả sọc trắng *Bactrocera albistrigata* (de Meijere), ruồi đục quả bầu bí *Bactrocera depressa* Shiraki, ruồi đục quả Queensland *Bactrocera tryoni* (Froggatt) và ruồi đục quả Nhật Bản *Bactrocera tsuneonis* (Miyake)

## 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 hại thực vật - Phần 1: Yêu cầu chung*

## 3 Thiết bị, dụng cụ

Ngoài các thiết bị và dụng cụ cơ bản dùng trong phòng thí nghiệm cần có thêm các dụng cụ và thiết bị sau:

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

3.2 Kính hiển vi có thước đo, có độ phóng đại từ 40 lần đến 1 000 lần

3.3 Bàn gia nhiệt có dải nhiệt từ 20 °C đến 100 °C

3.4 Tủ định ôn có thể vận hành ở nhiệt độ từ 0 °C đến 50 °C.

3.5 Tủ sấy có thể vận hành từ 0 °C đến 100 °C

3.6 Tủ lạnh có thể vận hành từ -10 °C đến 5 °C

3.7 Ống nghiệm có nắp

3.8 Hộp nhựa có nắp lưới

3.9 Dụng cụ thủy tinh cốc thủy tinh có dung tích thích hợp; ống nghiệm thủy tinh có đường kính ( $\varphi$  2cm)

**3.10** Lọ thủy tinh nút mài có dung tích phù hợp

**3.11** Kim côn trùng đầu nhọn và đầu gập (dạng chữ L)

**3.12** Panh mềm

**3.13** Bút lông

**3.14** Lam

**3.15** Lamén

**3.16** Đèn cồn

**3.17** Bình thủy tinh chống ẩm

**3.18** Bẫy các loại bẫy pheromone, bẫy protein

**3.19** Túi đựng mẫu

**3.20** Hộp đựng tiêu bản lam

## **4 Hóa chất**

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

**4.1** Dung dịch Natri Hydroxit (NaOH) 10 % hoặc Kali Hydroxit (KOH) 10 % (xem A.1 TCVN 12709-1: 2019)

**4.2** Cồn (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) 99,8 %

**4.3** Dung dịch cồn (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) 70 % (xem A.2 TCVN 12709-1: 2019)

**4.4** Dung dịch Hoyer's (xem A.15 TCVN 12709-1: 2019)

**4.5** Bôm Canada

**4.6** Keo dính mẫu

**4.7** Dung dịch Formalin - glycerol (FG) (xem A.17 TCVN 12709-1: 2019)

**4.8** Dung dịch tổng hợp (xem A.18 TCVN 12709-1: 2019)

**4.9** Fluon

**4.10** Thymol

## **5 Lấy mẫu và bảo quản mẫu**

**5.1** Lấy mẫu

- Lấy mẫu theo TCVN 12709-1:2019, điều 5.1.1 và 5.1.2

- Thu các cá thể ở các giai đoạn phát dục của ruồi đục quả thuộc giống *Bactrocera* (trưởng thành, sâu non, nhộng) phục vụ giám định dựa vào ký chủ, triệu chứng hại và tập tính gây hại của ruồi đục quả.

Ruồi đục quả thuộc giống *Bactrocera* là côn trùng gây hại nghiêm trọng trên nhiều loại cây ăn quả (xem phụ lục A). Triệu chứng gây hại của các loài ruồi đục quả này thường là: 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 (như đào) sẽ xuất hiện giọt keo 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. Trưởng thành thường bị hấp dẫn bởi các loại bẫy như bẫy pheromon, bẫy protein. Vì vậy, có thể dựa vào đặc điểm sinh học và tập tính gây hại của giống *Bactrocera* để thu các pha phát dục phục vụ giám định.

+ Thu sâu non: Thu các cá thể sâu non các tuổi bằng cách bỏ các quả có triệu chứng hại của ruồi đục quả. Riêng pha sâu non tuổi 3 đẫy sức cũng có thể kiểm tra bằng mắt thường hoặc kính lúp cầm tay thu trực tiếp từ bao bì, khe kẽ bao bì bên ngoài quả.

+ Nhộng: Kiểm tra trực tiếp bằng mắt thường hoặc kính lúp cầm tay để thu nhộng ngoài bao bì hoặc trong khe, kẽ của bao bì đựng quả.

+ Thu bắt trưởng thành bằng các loại bẫy: bẫy pheromone, bẫy protein (3.18)

+ Thu trứng: Thu trứng bằng cách bỏ các quả có triệu chứng hại của ruồi đục quả, nuôi trứng để thu sâu non.

- Mẫu hàng hóa: Đặt mẫu trên lưới thưa bên trên lớp cát hoặc đất bên trong hộp nhựa có nắp lưới (3.8), để ở nhiệt độ phòng. Các hộp nhựa có dán nhãn ký hiệu mẫu và đặt trong các tủ đựng mẫu lưu ở điều kiện nhiệt độ phòng.

## 5.2 Xử lý mẫu

- Đối với trưởng thành: trước khi giám định hoặc bảo quản, trưởng thành được làm chết bằng phương pháp xử lý lạnh.

+ Xử lý lạnh: Trưởng thành ruồi đục quả thu được cho vào trong túi đựng mẫu (3.19) hoặc ống nghiệm có nắp (3.7) cho vào ngăn đá tủ lạnh (3.6) từ 1 giờ đến 3 giờ.

- Đối với sâu non: trước khi giám định hoặc bảo quản, sâu non được làm chết bằng phương pháp xử lý lạnh hoặc xử lý nước nóng.

+ Xử lý lạnh: Sâu non thu được cho vào trong túi đựng mẫu (3.19) hoặc ống nghiệm có nắp (3.7) cho vào ngăn đá tủ lạnh (3.6) từ 1 giờ đến 3 giờ.

+ Xử lý nước nóng: Cho mẫu sâu non vào cốc thủy tinh (3.9) và đổ trực tiếp nước nóng 100 °C lên mẫu và để trong thời gian từ 3 phút đến 7 phút.

- Mẫu hàng hóa: Đặt mẫu hàng hóa trên lưới thưa bên trên lớp cát hoặc đất bên trong hộp nhựa có nắp lưới (3.8), để ở nhiệt độ phòng. Các hộp nhựa có dán nhãn ký hiệu mẫu và đặt trong các tủ đựng mẫu lưu ở điều kiện nhiệt độ phòng.

### 5.3 Bảo quản

Mẫu giám định và mẫu lưu sau giám định được bảo quản như sau :

- Mẫu hàng hóa: Đặt mẫu trên lưới thưa bên trên lớp cát hoặc đất bên trong hộp nhựa có nắp lưới (3.8), để ở nhiệt độ phòng. Các hộp nhựa có dán nhãn ký hiệu mẫu và đặt trong các tủ đựng mẫu lưu ở điều kiện nhiệt độ phòng.

- Đối với trường thành: Trường thành sau khi được xử lý để trong tủ sấy (3.5) ở nhiệt độ 40 °C đến 45 °C từ 5 ngày đến 7 ngày. Chuyển mẫu vào lọ thủy tinh nút mài (3.10) đặt trong bình thủy tinh chống ẩm (3.17) hoặc trong hộp đựng mẫu. Các mẫu được lưu giữ trong phòng tiêu bản có nhiệt độ nhỏ hơn 20 °C, ẩm độ nhỏ hơn 50 % hoặc trong tủ định ôn (3.4).

- Đối với sâu non, nhộng: Sâu non, nhộng sau khi được xử lý được cho vào các lọ nút thủy tinh mài (3.10) chứa dung dịch Formalin - glycerol (FG) (4.7) hoặc dung dịch tổng hợp (4.8)

- Đối với tiêu bản lam: Tiêu bản lam được dán nhãn, để trong hộp đựng tiêu bản lam (3.20) và đặt trong phòng tiêu bản có nhiệt độ nhỏ hơn 20 °C, ẩm độ không khí nhỏ hơn 50 % , hoặc trong tủ định ôn (3.4).

## 6 Giám định

Giám định ruồi đục quả sọc trắng, ruồi đục quả bầu bí, ruồi đục quả Queensland và ruồi đục quả Nhật Bản bằng phương pháp quan sát các đặc điểm hình thái dưới kính lúp soi nổi (3.1) và kính hiển vi (3.2). Định loại đến loài đối với mẫu giám định là pha sâu non tuổi 3 và pha trưởng thành.

### 6.1 Pha sâu non

#### 6.1.1 Làm tiêu bản lam

##### Bước 1: Xử lý mẫu làm tiêu bản lam

- Cho cá thể sâu non cần giám định vào ống nghiệm thủy tinh (3.9) chứa 5 ml dung dịch Natri Hydroxit (NaOH) 10 % hoặc Kali Hydroxit (KOH) 10 % (4.1) đun trên đèn cồn (3.16) từ 15 phút đến 20 phút (vừa đun vừa lắc ống nghiệm); hoặc cho mẫu vào cốc thủy tinh (3.9) có chứa 10 ml dung dịch Natri Hydroxit (NaOH) 10 % hoặc Kali Hydroxit (KOH) 10 % (4.1) đun trên bàn gia nhiệt ở 60 °C (3.3) từ 15 phút đến 20 phút.

- Vớt mẫu đã xử lý ra, nhỏ vào một giọt dung dịch Hoyer's (4.4) hoặc Bôm Canada (4.5) hoặc nước cất trên lam (3.14) dưới kính lúp soi nổi (3.1).

##### Bước 2 : Dùng kim côn trùng tách lấy bộ phận cần quan sát

###### - Tiêu bản móc miệng

+ Dùng kim côn trùng đầu nhọn (3.11) và panh mềm (3.12) tách nhẹ lấy phần đầu