**THUYẾT MINH DỰ THẢO TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

Dự thảo TCVN: TCVN 12195-2-…..:2025. Quy trình giám định nấm gây bệnh thực vật: Phần 2: Yêu cầu cụ thể đối với quy trình giám định nấm đốm đen *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Aa

**I. THÔNG TIN CHUNG**

**Tổ chức chủ trì biên soạn:** Trung tâm kiểm dịch thực vật sau nhập khẩu I.

Địa chỉ: phố Viên, phường Đông Ngạc, thành phố Hà Nội

Điện thoại: 02438362307 Fax: 028.38226370

E-mail: kdtvsnk1\_ ttbvtv@mae.gov.vn

Tên cơ quan chủ quản: Cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật

**Thời gian xây dựng:** 2024 - 2025

**II. TÓM TẮT TÌNH HÌNH ĐỐI TƯỢNG TCVN; LÝ DO VÀ MỤC ĐÍCH XÂY DỰNG**

**2.1. Tóm tắt tình hình đối tượng TCVN**

*2.1.1. Tình hình đối tượng tiêu chuẩn ngoài nước*

*a) Phổ ký chủ và lan truyền*

Bệnh đốm đen là bệnh gây hại nghiêm trọng đối với các loài cây có múi. Bệnh gây hại nặng tại Úc, Trung Quốc và Nam Phi. Tại Úc, bệnh xuất hiện và gây hại phổ biến trên 80% các vườn trồng cam. Bệnh đốm đen cây có múi được ghi nhận đầu tiên tại nước Úc vào năm 1895 trên cây cam *Citrus sinensis* (Benson, 1895). Đến nay, *Phyllosticta citricarpa* được ghi nhận hiện diện tại nhiều quốc gia trồng cam quýt trên các châu lục trên thế giới như Châu Á: Trung Quốc, Nhật Bản, Hồng Kông, Ấn Độ, Indonesia, Myanmar, Philippines; Châu Âu: Nga; Châu Đại Dương: Úc; Châu Mỹ: Argentina, Brazil, Uruguay, Cuba, Mỹ; Châu Phi: Angola, Ai Cập, Ghana, Kenya, Zimbabwe, Uganda, Tunisia. Ở Nam Phi, 90% quả từ cây không được áp dụng các biện pháp phòng chống bệnh đều không đủ điều kiện xuất khẩu và thiệt hại năng suất cũng có thể lên tới 80. Quá trình nảy mầm của bào tử bị kích thích bởi axit citric. Tuổi thọ của bào tử phân sinh khác nhau từ nước này qua nước khác. Ở Úc, bào tử phân sinh mới tạo ra được cho là mất khả năng nảy mầm 1 tháng, nhưng ở Nam Phi, bào tử phân sinh có thể duy trì khả năng nảy mầm đến 5 tháng. Bào tử phân sinh xâm nhập vào cả quả không bị tổn thương và quả bị tổn thương thông qua các vết trầy xước do mưa hoặc côn trùng gây hại. Bào tử phân sinh lan truyền qua nước và đòi hỏi phải có những giọt nước cho sự nảy mầm và phát tán (CABI, 2023).

Phổ ký chủ của loài Phyllosticta citricarpa tương đối hẹp, chủ yếu giới hạn trong nhóm cây có múi. Các loài cảm nhiễm bao gồm cam chua (*Citrus aurantium*), chanh vàng (*Citrus limon*), bưởi (*Citrus maxima*), quýt (*Citrus reticulata*), cam ngọt (*Citrus sinensis*) và chanh yên (*Citrus medica*). Ngoài các loài thuộc chi Citrus, nấm còn được ghi nhận có thể hiện diện trên cây ổi (*Psidium guajava*) và xoài (*Mangifera indica*), tuy nhiên vai trò ký chủ của hai loài này vẫn chưa được xác định rõ về mặt dịch tễ học

*b) Gây hại và triệu chứng*

Bệnh đốm đen do nấm *P. citricarpa* gây ra có thể ảnh hưởng đến lá, cành và quả của nhiều loài cam quýt với các triệu chứng đa dạng, trong đó triệu chứng phổ biến nhất là đốm cứng (hard spot) có các vết hoại tử lõm, màu nâu nhạt với viền nhô cao màu nâu đỏ sẫm, thường chứa quả cành. Ngoài ra còn có các triệu chứng khác như đốm “virulent” – là những vết hoại tử lõm không có viền rõ ràng, thường xuất hiện trên quả đã chín; rạm giả (false melanose), gồm những nốt sần nhỏ màu đen, thường tạo thành hình dạng giống vết nước mắt; tàn nhang, đốm nứt hoặc đốm “freckle”. Triệu chứng trên lá và cành hiếm khi xuất hiện ở cam, quýt và các giống thương mại khác, nhưng lại thường thấy trên chanh, với đặc trưng là các vết hoại tử nhỏ, tròn, lõm và có quầng vàng bao quanh. Triệu chứng phát triển khi nhiệt độ tăng, cường độ ánh sáng cao, hạn hán và sức sống của cây kém. Cây già thường có nhiều đốm đen hơn cây non.

*2.1.2. Tình hình đối tượng tiêu chuẩn trong nước*

*a) Thiệt hại do nấm đốm đen cây có múi gây ra*

Trong các đối tượng dịch hại mới được phát hiện trên cây có múi, bệnh đốm đen (do nấm *Phyllosticta citricarpa* gây ra) rất ít được đề cập ở Việt Nam. Loại bệnh này mới được phát hiện từ năm 2014 trên cây bưởi. Đến năm 2015 đã phát hiện sự gây hại của chúng trên hầu hết các giống cam, quýt, bưởi, chanh trồng ở tỉnh Hòa Bình với mức độ gây hại khác nhau, trong đó, hại nặng nhất trên các giống bưởi đỏ, bưởi Diễn. Nguồn bệnh tồn tại trên những bộ phận của cây bị bệnh, chủ yếu trên lá, sản sinh rất nhiều bào tử rồi phát tán ra xung quanh, bám dính lên những cây khác, gặp điều kiện thuận lợi bào tử sẽ nảy mầm, bám rễ vào bề mặt vỏ quả thông qua các khí khổng hoặc các túi tinh dầu trên bề mặt lá, quả để gây hại. Nguồn bệnh có thể xâm nhập vào quả ngay từ khi quả còn non nhưng bệnh thường thể hiện triệu chứng lây lan và gây hại mạnh trong điều kiện thời tiết ẩm (Trần Thị Nga và cs, 2017).

*b) Nghiên cứu về các kỹ thuật chẩn Phyllosticta citricarpa*

Ngoài kỹ thuật chuẩn đoán bằng hình thái, phản ứng chuỗi Polymerase (Polymerase chain reaction - PCR) là kỹ thuật được sử dụng phổ biến nhất hiện nay để phát hiện và chẩn đoán nấm gây bệnh đốm đen có múi tại Việt Nam. Hầu hết các tác giả đều sử dụng cặp mồi đặc hiệu của nấm *Phyllosticta citricarpa* được thiết kế để khuếch đại các đoạn trình tự mong muốn nằm trên các vùng gen của nấm như ITS được khuếch đại bằng phản ứng PCR với hai primer ITS4 (5' – TCCTCCGCTTATTGATATGC – 3’) và ITS5 (5' – GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG - 3').

- Xét nghiệm miễn dịch hấp thụ liên kết với Enzyme (Enzyme-linked immunosorbent assays – ELISA): chưa có nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật ELISA trong chẩn đoán và phát hiện nấm gây bệnh đốm đen có múi tại Việt Nam.

- Phản ứng tổng hợp chuỗi polymerase thời gian thực (Real-time polymerase chain reaction – Realtime PCR): chưa có nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật Realtime PCR trong chẩn đoán phát hiện nấm gây bệnh đốm đen cây có múi tại Việt Nam.

2.2. Lý do và mục đích xây dựng TCVN

- Lý do:

+ Việc xây dựng được quy trình giám định kịp thời và chính xác nấm gây bệnh đốm đen *Phyllosticta citricarpa* sẽ đóng vai trò quan trọng trong việc dự tính, dự báo sự xuất hiện, phát sinh và phát tán của bệnh, ứng dụng trong công tác Bảo vệ và Kiểm dịch thực vật, từ đó làm giảm thiệt hại cho ngành trồng cây có múi của Việt Nam nói riêng và cho nền Nông nghiệp nói chung.

- Mục đích:

+ Nhằm đáp ứng yêu cầu về hài hoà đối với các nước trong khu vực và quốc tế về các biện pháp kiểm dịch thực vật, đồng thời là cơ sở khoa học và pháp lý để giải quyết những tranh chấp liên quan đến giám định sinh vật gây hại thực vật ở trong nước và quốc tế.

+ Là cơ sở khoa học và pháp lý để thực hiện thống nhất trong toàn quốc; thực hiện trách nhiệm của nước thành viên của Công ước quốc tế về bảo vệ thực vật (IPPC) và của Tổ chức thương mại thế giới (WTO).

+ Hiện nay, nhiều nước trên thế giới như Hoa Kỳ, Nhật Bản, New Zealand, liên minh Châu Âu (EU),… yêu cầu trái cây tươi (bưởi, chanh, cam, quýt,…) phải không nhiễm nấm đốm *đen Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Aa thì mới cho phép nhập khẩu. Vì vậy, việc phát hiện tác nhân gây bệnh này trên đồng ruộng cũng như trong lô trái cây tươi xuất khẩu sẽ góp phần quan trọng trong việc đảm bảo lưu thông việc xuất khẩu nông sản từ Việt Nam sang thị trường các nước trên thế giới.

**III. GIẢI THÍCH NHỮNG NỘI DUNG CỦA DỰ THẢO TCVN**

1. Nêu tóm tắt những chương, phần chính của tiêu chuẩn/quy chuẩn; Dự thảo tiêu chuẩn Việt Nam gồm các phần chính sau:

1. Phạm vi áp dụng

2. Tài liệu viện dẫn

3. Thiết bị, dụng cụ

4. Hoá chất

5. Lấy mẫu và bảo quản mẫu

6. Phát hiện và triệu chứng điển hình của bệnh

7. Giám định nấm gây bệnh

8. Báo cáo kết quả

Phụ lục

Thư mục tài liệu tham khảo

2. Giải thích những quy định trong tiêu chuẩn/quy chuẩn (*Giải thích, làm rõ căn cứ khoa học và thực tiễn của từng chỉ tiêu/quy định tại phần nội dung kỹ thuật của dự thảo; Tổng hợp, nghiên cứu tài liệu kỹ thuật; đánh giá thực trạng, tiến hành lấy mẫu phân tích, thử nghiệm, khảo nghiệm, áp dụng thử (nếu có) để xác định các mức giới hạn của đặc tính kỹ thuật; phân tích, đánh giá mức độ rủi ro của đối tượng quản lý để xác định phương thức quản lý phù hợp trong dự thảo quy chuẩn)*

Bố cục chung của TCVN: Bố trí dự thảo bám sát, đảm bảo đủ các nội dung chính được trình bày dựa trên hướng dẫn của TCVN 1-2: 2008; và phù hợp với điều kiện thực tế hoạt động kiểm dịch thực vật của Việt Nam.

Tên TCVN được phê duyệt là: “TCVN 12195-2-…..:2025. Quy trình giám định nấm gây bệnh thực vật: Phần 2: Yêu cầu cụ thể đối với quy trình giám định nấm đốm đen *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Aa”.

Điều 1 Phạm vi áp dụng: Tự xây dựng để phù hợp với yêu cầu thực tế của công tác KDTV và Danh mục đối tượng KDTV của Việt Nam quy định tại Thông tư 04/2023/TT-BNNPTNT.

Điều 3 Thiết bị, dụng cụ: Tham khảo Điều 3 của TCVN 12195-1-…..:2019 và đưa ra các thiết bị dùng cho giám định nấm đốm đen *Phyllosticta citricarpa.*

Mặt khác, việc ghi và bố trí mục 3 cũng được tuân thủ theo quy định hướng dẫn của TCVN 01-2:2008 và Nghị định 86/2012/NĐ-CP.

Điều 4: Tham khảo Điều 4 của 12195-1-…..:2019 và đưa ra các hóa chất cần thiết sử dụng cho giám định nấm đốm đen *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Aa*.* Mặt khác, việc ghi và bố trí mục 4 cũng được tuân thủ theo quy định hướng dẫn của TCVN 01-2:2008 và Nghị định 86/2012/NĐ-CP.

Điều 5 Lấy mẫu và bảo quản mẫu: Lấy mẫu thực hiện theo điều 5.1 của TCVN 12195-1-…..:2019

Điều 6 Phát hiện và triệu chứng điển hình của bệnh: được xây dựng dựa trên các tài liệu nghiên cứu khoa học, các bài báo đã được công bố trong và ngoài nước.

Điều 7 Giám định nấm gây bệnh: được xây dựng dựa trên các tài liệu nghiên cứu khoa học, các bài báo đã được công bố trong và ngoài nước, kèm theo kết quả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm và kết quả so sánh liên phòng.

Điều 8 Báo cáo kết quả: Theo hướng dẫn của tiêu chuẩn quốc tế khung về giám định dịch hại thuộc diện điều chỉnh ISPM 27 Diagnostic protocols for regulated pests, TCVN 12195-1-…..:2019 và các quy định trong kiểm dịch thực vật hiện hành. Trong đó, quy định các nội dung cơ bản cần có đối với việc báo cáo kết quả sau khi định loại.

Phụ lục: Tham khảo nội dung các thông tin chung về loài nấm đốm đen *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Aa*.*

**Tài liệu chính làm căn cứ xây dựng TCVN:**

* Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 12195-1:2019 “Quy trình giám định nấm gây bệnh thực vật – Phần 1: Yêu cầu chung”.
* ISMP 27 (2016) Diagnostic protocols for regulated pests “DP 5: *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Aa on fruit”.
* Tiêu chuẩn Châu Âu OEPP/EPPO PM 7/017 (3):2020 “Diagnostic protocols for regulated pests: *Phyllosticta citricarpa* (formerly *Guignardia citricarpa*)”.

+ Bonants, P.J.M., Carroll, G.C., de Weerdt, M., van Brouwershaven, I.R. & Baayen, R.P. 2003. Development and validation of a fast PCR-based detection method for pathogenic isolates of the Citrus Black Spot fungus, Guignardia citricarpa. European Journal of Plant Pathology, 109:503–513

**3. Nêu tính ưu việt và những điểm cần chú ý của dự thảo tiêu chuẩn/quy chuẩn đối với các cơ quan, tổ chức, cá nhân góp ý dự thảo**

*3.1. Tính ưu việt của dự thảo Tiêu chuẩn*

Tiếp cận chuẩn mực quốc tế, hài hòa với hệ thống: Cấu trúc, phương pháp lấy mẫu, giám định tuân thủ theo hướng dẫn. Điều này giúp Việt Nam tăng cường khả năng công nhận lẫn nhau trong việc thực hiện công tác giám định sinh vật gây hại thực vật, thuận lợi cho xuất khẩu nông sản có nguồn gốc thực vật và hội nhập quốc tế.

Xây dựng quy trình giám định đối với nấm đốm đen *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Aa không chỉ là cơ sở khoa học trong giải quyết tranh chấp giám định KDTV mà còn là căn cứ để thực hiện hiệu quả công tác kiểm tra KDTV và quản lý, phòng trừ sinh vật gây hại, góp phần bảo vệ sản xuất nông nghiệp trong nước.

Đồng thời ban hành một cơ sở khoa học làm tài liệu tham khảo cho các đối tượng nghiên cứu khoa học.

*3.2 Những điểm cần chú ý của dự thảo Tiêu chuẩn đối với các cơ quan, tổ chức, cá nhân góp ý dự thảo*

Nhằm hoàn thiện Dự thảo Tiêu chuẩn quốc gia về “TCVN 12195-2-…..:2025. Quy trình giám định nấm gây bệnh thực vật: Phần 2: Yêu cầu cụ thể đối với quy trình giám định nấm đốm đen *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Aa”, các cơ quan, tổ chức và cá nhân được đề nghị tập trung góp ý vào các nội dung chính sau:

a) Tính đầy đủ, hợp lý và khả thi của thiết bị, dụng cụ và hóa chất sử dụng trong tiêu chuẩn

- Các thiết bị, dụng cụ và hóa chất sử dụng để thực hiện giám định nấm gây bệnh đốm đen đã đầy đủ hay chưa.

- Các phòng thí nghiệm về chẩn đoán, giám định tại Việt Nam có khả năng đầu tư, mua sắm các thiết bị, hóa chất để thực hiện công tác giám định hay không.

b) Lấy mẫu và bảo quản mẫu, phát hiện bệnh

- Phương pháp lấy mẫu và bảo quản mẫu đã phù hợp hay chưa

- Mô tả triệu chứng điển hình của bệnh để bước đầu có thể phát hiện sự gây hại của nấm đốm đen trên đồng ruộng hoặc trên sản phẩm cây trồng nông sản đã đầy đủ chưa

c) Giám định nấm gây bệnh

- Các phương pháp giám định (giám định bằng phướng pháp hình thái, giám định bằng PCR và phân tích trình tự gen, giám định bằng phương pháp Realtime PCR) đưa ra trong Tiêu chuẩn quốc gia có phù hợp để phát hiện và giám định nấm đốm đen hay không

- Quy trình thực hiện giám định (tách chiết DNA tổng số, chu kỳ nhiệt, phân tích kết quả,...) đã đầy đủ chưa

d) Các phụ lục

- Thông tin chung về sinh vật gây hại (Phụ lục A) có đầy đủ và cần bổ sung thông tin gì không.

- Phụ lục B về phương pháp chuẩn bị các loại dung dịch đã chính xác chưa.

- Phụ lục C về mẫu phiếu kết quả giám định đã phù hợp chưa.

đ) Ngôn ngữ và cách diễn đạt trong tiêu chuẩn

- Cách trình bày, diễn giải các thuật ngữ chuyên môn, ký hiệu có rõ ràng, nhất quán và dễ hiểu đối với cán bộ kỹ thuật, tổ chức giám định không.

- Cần rà soát các lỗi đánh máy, từ ngữ chưa thống nhất giữa phần kỹ thuật và phụ lục.

|  |  |
| --- | --- |
|  | Hà Nội, ngày tháng năm 2025  Ban soạn thảo  (Ký tên) |

**Trần Văn Chiến**