Project ID 452

Competitive Research Grant

Sub-Project Completion Report

on

Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving the safety and quality of high value exportable fresh betel leaf

Project Duration

May 2016 to September 2018

Center for Advanced Research in Sciences (CARS),
University of Dhaka, Dhaka-1000, Bangladesh

Submitted to
Project Implementation Unit-BARC, NATP 2
Bangladesh Agricultural Research Council
Farmgate, Dhaka-1215

September 2018

Competitive Research Grant (CRG)

Sub-Project Completion Report

on

Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving the safety and quality of high value exportable fresh betel leaf

Project Duration

May 2016 to September 2018

Center for Advanced Research in Sciences (CARS),
University of Dhaka, Dhaka-1000, Bangladesh

Submitted to
Project Implementation Unit-BARC, NATP 2
Bangladesh Agricultural Research Council
Farmgate, Dhaka-1215

September 2018

Citation:

M.L. Bari and M. A. A. Mamun. 2019. Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving the safety and quality of high value exportable fresh betel leaf. A report of Competitive Research Grant Sub-Project under National Agricultural Technology Program-Phase II Project (NATP-2), Bangladesh Agricultural Research Council (BARC), Farmgate, Dhaka, Bangladesh.

Project Implementation Unit
National Agricultural Technology Program-Phase II Project (NATP-2)
Bangladesh Agricultural Research Council (BARC)
New Airport Road, Farmgate, Dhaka – 1215
Bangladesh

Edited and Published by:

Project Implementation Unit
National Agricultural Technology Program-Phase II Project (NATP-2)
Bangladesh Agricultural Research Council (BARC)
New Airport Road, Farmgate, Dhaka – 1215
Bangladesh

Acknowledgement

The execution of CRG sub-project has successfully been completed by Center for Advanced Research in Sciences (CARS), University of Dhaka, using the research grant of USAID Trust Fund and GoB through Ministry of Agriculture. We would like to thank to the World Bank for arranging the grant fund and supervising the CRGs by BARC. It is worthwhile to mention the cooperation and quick responses of PIU-BARC, NATP 2, in respect of field implementation of the sub-project in multiple sites. Preparing the project completion report required to contact a number of persons for collection of information and processing of research data. Without the help of those persons, the preparation of this document could not be made possible. All of them, who made it possible, deserve thanks. Our thanks are due to the Director PIU-BARC, NATP 2 and his team who given their whole hearted support to prepare this document. We hope this publication would be helpful to the agricultural scientists of the country for designing their future research projects in order to technology generation as well as increasing production and productivity for sustainable food and nutrition security in Bangladesh. It would also assist the policy makers of the agricultural sub-sectors for setting their future research directions.

Published in: September 2018

Printed by:

Acronyms and Abbreviations

ADB	Asian Development Bank
ADP	Annual Development Programme
AFSA	Asian Food Safety & Security Association
AMR	Antimicrobial Resistance
AVRDC	Asian Vegetable Research and Development Center
BARC	Bangladesh Agricultural Research Council
BARI	Bangladesh Agricultural Research Institute
BCSIR	Bangladesh Council for, Scientific and Industrial Research
BFSA	Bangladesh Food Safety Authority
BSA	Bismuth Sulfite Agar
BVAPEA	Bangladesh Fruits, Vegetables & Allied Products Exporters Association
CARS	Center for Advanced Research in Sciences
CCA	Calcinated Calcium
CDC	Center for Diseases Control
CFU	Coloney Forming Unit
CHR	Chromocult coliform agar
CRG	Competetive Research Grant
DAE	Department of Agriculture Extension
DU	University of Dhaka
EU	European Union
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	Food and Drug Administration
FGD	Focus Group Discussion
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points
HIEFP	high intensity electric field pulses
IPH	Institute of Public Health
ISO	International Standardization Organization
MHA	Mullar Hinton Agar
MSW	Marine Shell Waste
MSP	Marine Shell Powder
NATP	National Agricultural Technology Program
NFSL	National Food Safety Laboratory
NGO	Non-Governmental Organization
NSAP	Non-Selective Agar Plate
PCR	Project Completion Report
PDA	Potato Dextrose Agar
PPW	Plant Protection Wing
PQW	Plant Quarantine Wing
R&D	Research and Development
RF	Radio Frequency
SAP	Selective Agar Plate
SDG	Sustainable Development Goal
TABC	Total Aerobic Bacterial Count
TSP	Triple Super Phosphate
UAO	Upa-Zilla Agriculture Officer
UV	Ultraviolet Radiation
WHO	World Health Organization

Table of Contents

Sl No.	Description	Page No.
	Cover page	i
	Citation	Ii
	Acronyms	Iii
	Table of Contents	Iv
	Executive Summary	v
	Sub-project Description	7
	Title of the Project	
3.1	Justification of undertaking the sub-project	7
3.2	Sub-project objective (s)	7
3.3	Methodology in brief	7
3.4	Results and discussion	8
3.5	Research highlight/findings	8
4	Implementation Position	8
4.1	Procurement:	8
4.2	Establishment/renovation facilities:	8
4.3	Training/study tour/ seminar/workshop/conference organized:	8
4.4	Financial and physical progress	9
4.5	Achievement of Sub-project by objectives:	9
4.6	Materials Development/Publication made under the Sub-project:	10
4.7	Technology/Knowledge generation/Policy Support (as applied):	10
4.8	Information regarding Desk and Field Monitoring	11
4.9	Field Monitoring (time & No. of visit, Team visit and output):	11
4.10	Lesson Learned/Challenges (if any)	11
4.11	Challenges (if any)	11
5	Introduction	13
5.1	Use of Betel leaf	13
5.2	Areas of betel leaf cultivation in Bangladesh	15
5.3	Betel leaf cultivation procedure	15
5.4	Possible sources of microbial contamination in betel leaf production chain	16
5.5	Post-harvest contaminations & interventions	17
5.6	References	21
6	Materials (Laboratory scale study)	23
6.1	Techniques of sample collection & preparation & microbiological analysis	23
6.2	Field study (Part-A)	30
6.2.1	Results	32
6.2.2	Discussion	52
6.2.3	Conclusion	54
6.3	Awareness building program & Improvement of hygiene and sanitation (Part-B)	54
6.3.1	Recommendation, further requirement and conclusion	57
Annex-1	Study area visit & workshop with farmers, Jhenaidah	59
Annex-2	Study area visit & workshop with farmers, Kushtia	59
Annex-3	Study area visit & workshop with farmers, Barishal	60
Annex-4	Hygiene Awareness program Participants, jhenaidah	61

Annex-5	Hygiene Awareness program Participants, Kushtia	62
Annex-6	Export Association's initiatives	63
Annex-7	Activities of BVAPEA in response to the EU compliance of betel leaf export resumption	65
Annex-8	Cross check of betel leaf microbial analysis report from two different laboratories	67
Annex-9	Visiting laboratories to be selected for betel leaf analysis	69
Annex-10	List of farmers in the project area	70
Annex-11	Betel leaf production guidelines (in Bangla)	84

Executive Summary

The presence of foodborne pathogen in betel leaf represents a major threat from the public health point of view and is an important export obstacle for Bangladesh. Number of factors including 1) lack basic knowledge and awareness in safe handling practices during production and post-harvest operations; 2) inadequacy of postharvest specific infrastructure such packing houses; 3) pre-cooling, sorting and storage facilities; 4) lack of auxiliary industries for the production of packaging materials, tools and equipment; 5) deterioration of produce quality owing to rough handling, improper packaging; 6) overloading and damage during transportation; 7) lack of cold chain systems; 8) unskilled farmers coupled with poor technical extension and training facilities, and 9) poor access to market information, were found responsible for the poor quality and unsafe betel leaf. Cleaning and sanitization practices have become standard postharvest handling operations, which could substantially reduce the major post-harvest problem. Chlorine is the most widely used sanitizer for fresh vegetables and fruits, however, it reacts with organic matter of the produce to form highly carcinogenic trihalomethanes; consequently, use of chlorine is being banned in several countries including EU. Thus, researcher around the world searching for alternative non-chlorine sanitizers for washing fresh produces. In the meantime, our collaborative research with Japan have developed a non-chlorine sanitizer, calcinated calcium derived from natural shell waste aggregates, which proved to be effective in eliminating foodborne pathogens, environmental contaminants and pesticide residues, from the surfaces of fruits and vegetables and enhancing produce quality and shelf life, but, very limited or no study on the decontamination of pathogens in betel leaf was found in the literature. In addition, this non-chlorine sanitizer is safe, cheap and doesn't pose any adverse impact in people or in the environments. Thus, this cost effective, broad spectrum disinfectant is the solution for the food safety challenges facing the horticulture industry and the smallholder farmers will be benefitted by cost reduction and increased productivity. Therefore, this commercial scale/ actual field level study was undertaken to evaluate the effectiveness of this non-chlorine sanitizers (CCa 0.01%) in eliminating foodborne pathogens and improving the safety and quality of fresh betel leaf. This project also aimed in introducing cleaning and sanitization practices, andvalue chain linkages of farmers and stakeholders of Betel leaf value chain. Furthermore, this project firmly adheres to the global, regional and national 'Save Food' initiatives and contributes to the United Nations Sustainable Development Goal (SDG) 1, 2, & 3 which targets a 50% reduction of food loss and waste including postharvest losses by 2030.

Project ID 452

Competitive Research Grant

Sub-Project Completion Report

on

Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving the safety and quality of high value exportable fresh betel leaf

Project Duration

May 2016 to September 2018

Center for Advanced Research in Sciences (CARS),
University of Dhaka, Dhaka-1000, Bangladesh

Submitted to
Project Implementation Unit-BARC, NATP 2
Bangladesh Agricultural Research Council
Farmgate, Dhaka-1215

September 2018

Competitive Research Grant (CRG)

Sub-Project Completion Report

on

Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving the safety and quality of high value exportable fresh betel leaf

Project Duration

May 2016 to September 2018

Center for Advanced Research in Sciences (CARS),
University of Dhaka, Dhaka-1000, Bangladesh

Submitted to
Project Implementation Unit-BARC, NATP 2
Bangladesh Agricultural Research Council
Farmgate, Dhaka-1215

September 2018

[Back page of inner cover page]
Citation

Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving the
safety and quality of high value exportable fresh betel leaf
Project Implementation Unit
National Agricultural Technology Program-Phase II Project (NATP-2)
Bangladesh Agricultural Research Council (BARC)
New Airport Road, Farmgate, Dhaka – 1215
Bangladesh

Edited and Published by:

Project Implementation Unit
National Agricultural Technology Program-Phase II Project (NATP-2)
Bangladesh Agricultural Research Council (BARC)
New Airport Road, Farmgate, Dhaka – 1215
Bangladesh

Acknowledgement
The execution of CRG sub-project has successfully been completed by Center for Advanced Research in Sciences (CARS), University of Dhaka, using the research grant of USAID Trust Fund and GoB through Ministry of Agriculture. We would like to thanks to the World Bank for arranging the grand fund and supervising the CRGs by BARC. It is worthwhile to mention the cooperation and quick responses of PIU-BARC, NATP 2, in respect of field implementation of the sub-project in multiple sites. Preparing the project completion report required to contact a number of persons for collection of information and processing of research data. Without the help of those persons, the preparation of this document could not be made possible. All of them, who made it possible, deserve thanks. Our thanks are due to the Director PIU-BARC, NATP 2 and his team who given their whole hearted support to prepare this document. We hope this publication would be helpful to the agricultural scientists of the country for designing their future research projects in order to technology generation as well as increasing production and productivity for sustainable food and nutrition security in Bangladesh. It would also assist the policy makers of the agricultural sub-sectors for setting their future research directions.

Published in: September 2018

Printed by: [Name of press with full address]

Acronyms and Abbreviations

ADB	Asian Development Bank	HIEFP	high intensity electric field pulses
ADP	Annual Development Programme	IPH	Institute of Public Health
AFSA	Asian Food Safety & Security Association	ISO	International Standardization Organization
AMR	Antimicrobial Resistance	MHA	Mullar Hinton Agar
AVRDC	Asian Vegetable Research and Development Center	MSW	Marine Shell Waste
BARC	Bangladesh Agricultural Research Council	MSP	Marine Shell Powder
BARI	Bangladesh Agricultural Research Institute	NATP	National Agricultural Technology Program
BCSIR	Bangladesh Council for, Scientific and Industrial Research	NFSL	National Food Safety Laboratory
BFSA	Bangladesh Food Safety Authority	NGO	Non-Governmental Organization
BSA	Bismuth Sulfite Agar	NSAP	Non-Selective Agar Plate
BVAPEA	Bangladesh Fruits, Vegetables & Allied Products Exporters Association	PCR	Project Completion Report
CARS	Center for Advanced Research in Sciences	PDA	Potato Dextrose Agar
CCA	Calcinated Calcium	PPW	Plant Protection Wing
CDC	Center for Diseases Control	PQW	Plant Quarantine Wing
CFU	Coloney Forming Unit	R&D	Research and Development
CHR	Chromocult coliform agar	RF	Radio Frequency
CRG	Competetive Research Grant	SAP	Selective Agar Plate
DAE	Department of Agriculture Extension	SDG	Sustainable Development Goal
DU	University of Dhaka	TABC	Total Aerobic Bacterial Count
EU	European Union	TSP	Triple Super Phosphate
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations	UAO	Upa-Zilla Agriculture Officer
FDA	Food and Drug Administration	UV	Ultraviolet Radiation
FGD	Focus Group Discussion	WHO	World Health Organization
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points		

Table of Contents

Sl No.	Description	Page No.
1	Cover page	1
2	Executive Summary	6
3	Sub-project Description	7
3.1	Justification of undertaking the sub-project	7
3.2	Sub-project objective (s)	7
3.3	Methodology in brief	7
3.4	Results and discussion	8
3.5	Research highlight/findings	8
4	Implementation Position	8
4.1	Procurement:	8
4.2	Establishment/renovation facilities:	8
4.3	Training/study tour/ seminar/workshop/conference organized:	8
4.4	Financial and physical progress	9
4.5	Achievement of Sub-project by objectives:	9
4.6	Materials Development/Publication made under the Sub-project:	10
4.7	Technology/Knowledge generation/Policy Support (as applied):	10
4.8	Information regarding Desk and Field Monitoring	11
4.9	Field Monitoring (time & No. of visit, Team visit and output):	11
4.10	Lesson Learned/Challenges (if any)	11
4.11	Challenges (if any)	11
5	Introduction	13
5.1	Use of Betel leaf	13
5.2	Areas of betel leaf cultivation in Bangladesh	15
5.3	Betel leaf cultivation procedure	15
5.4	Possible sources of microbial contamination in betel leaf production chain	16
5.5	Post-harvest contaminations & interventions	17
5.6	References	21
6	Materials (Laboratory scale study)	23
6.1	Techniques of sample collection & preparation & microbiological analysis	23
6.2	Field study (Part-A)	30
6.2.1	Results	32
6.2.2	Discussion	52
6.2.3	Conclusion	54
6.3	Awareness building program & Improvement of hygiene and sanitation (Part-B)	54
6.3.1	Recommendation, further requirement and conclusion	57
Annex-1	Study area visit & workshop with farmers, Jhenaidah	59
Annex-2	Study area visit & workshop with farmers, Kushtia	59
Annex-3	Study area visit & workshop with farmers, Barishal	60
Annex-4	Hygiene Awareness program Participants, jhenaidah	61
Annex-5	Hygiene Awareness program Participants, Kushtia	62
Annex-6	Export Association's initiatives	63
Annex-7	Activities of BVAPEA in response to the EU compliance of betel leaf export resumption	65
Annex-8	Cross check of betel leaf microbial analysis report from two different laboratories	67
Annex-9	Visiting laboratories to be selected for betel leaf analysis	69
Annex-10	List of farmers in the project area	70
Annex-11	Betel leaf production guidelines (in Bangla)	84

Executive Summary

The presence of foodborne pathogen in betel leaf represents a major threat from the public health point of view and is an important export obstacle for Bangladesh. Number of factors including 1) lack basic knowledge and awareness in safe handling practices during production and post-harvest operations; 2) inadequacy of postharvest specific infrastructure such packing houses; 3) pre-cooling, sorting and storage facilities; 4) lack of auxiliary industries for the production of packaging materials, tools and equipment; 5) deterioration of produce quality owing to rough handling, improper packaging; 6) overloading and damage during transportation; 7) lack of cold chain systems; 8) unskilled farmers coupled with poor technical extension and training facilities, and 9) poor access to market information, were found responsible for the poor quality and unsafe betel leaf. Cleaning and sanitization practices have become standard postharvest handling operations, which could substantially reduce the major post-harvest problem. Chlorine is the most widely used sanitizer for fresh vegetables and fruits, however, it reacts with organic matter of the produce to form highly carcinogenic trihalomethanes; consequently, use of chlorine is being banned in several countries including EU. Thus, researcher around the world searching for alternative non-chlorine sanitizers for washing fresh produces. In the meantime, our collaborative research with Japan have developed a non-chlorine sanitizer, calcinated calcium derived from natural shell waste aggregates, which proved to be effective in eliminating foodborne pathogens, environmental contaminants and pesticide residues, from the surfaces of fruits and vegetables and enhancing produce quality and shelf life, but, very limited or no study on the decontamination of pathogens in betel leaf was found in the literature. In addition, this non-chlorine sanitizer is safe, cheap and doesn't pose any adverse impact in people or in the environments. Thus, this cost effective, broad spectrum disinfectant is the solution for the food safety challenges facing the horticulture industry and the smallholder farmers will be benefitted by cost reduction and increased productivity. Therefore, this commercial scale/ actual field level study was undertaken to evaluate the effectiveness of this non-chlorine sanitizers (CCa 0.01%) in eliminating foodborne pathogens and improving the safety and quality of fresh betel leaf. This project also aimed in introducing cleaning and sanitization practices, andvalue chain linkages of farmers and stakeholders of Betel leaf value chain. Furthermore, this project firmly adheres to the global, regional and national 'Save Food' initiatives and contributes to the United Nations Sustainable Development Goal (SDG) 1, 2, & 3 which targets a 50% reduction of food loss and waste including postharvest losses by 2030.

CRG Sub-Project Completion Report (PCR)

A. Sub-project Description

1. **Title of the CRG sub-project:** Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving the safety and quality of high value exportable fresh betel leaf
2. **Implementing organization:** Center for Advanced Research in Sciences (CARS), University of Dhaka, Dhaka-1000, Bangladesh
3. **Name and full address with phone, cell and E-mail of PI/Co-PI (s):**

Md. Latiful Bari, Ph.D. Center for advanced Research in Sciences, University of Dhaka Dhaka-1000, Bangladesh; Tel: 8801971560560; Fax: 8802-8615583;
E-mail: latiful@du.ac.bd
Md. Arafat-Al-Mamun, Ph.D. Center for advanced Research in Sciences, University of Dhaka Dhaka-1000, Bangladesh; Tel: 8801971560560; Fax: 8802-8615583;
E-mail: arafat@du.ac.bd

4. **Sub-project budget (Tk):**

4.1 Total: Taka_14,81,614.00 (Fourteen lakhs eighty-one thousand six hundred and four)

4.2 Revised (if any): _____N/A_____

5. **Duration of the sub-project:**

5.1 Start date (based on LoA signed): 17 May 2016

5.2 End date: 30 September 2018

6. **Justification of undertaking the sub-project:** The presence of foodborne pathogen in betel leaf represents a major threat from the public health point of view and is an important export obstacle for Bangladesh that causes huge economical loss to the betel leaf farmers. In order to reduce the economic loss and to comply with food safety requirements of export, this field level study was undertaken to assess the effectiveness of non-chlorine sanitizers in eliminating foodborne pathogens and improving the safety and quality of fresh betel leaves at farm level.
7. **Sub-project goal:** Safe betel leaves production for human consumption
8. **Sub-project objective (s):**
   a) To identify the point of contamination during production and processing in the project area and prepare a safe betel leaf production and processing guidelines for export.
   b) To evaluate the use of non-chlorine sanitizers against food borne pathogen during postharvest processing to improve the quality and safety of betel leaf at commercial scale.
   c) To introduce improved hygiene and sanitation practices in strengthening postharvest management of the project beneficiaries in value chain of betel leaf.
9. **Implementing location (s):** Ujirpur, Barishal District, Kaligonj, Jhenaidah District, and Veramara, Kushtia district
10. **Methodology in brief:** There are two parts of the study

a) Identification of the point of contamination along the existing betel leaf value chain and production practices. These activities were done jointly with Department of Agricultural Extension (DAE), and Bangladesh Fruits, Vegetables & Allied Products Exporters Association (BFVAPEA). The potentiality of improved tools and methods were assessed and validated in intensive growing areas (farm site/local market; as applicable) of betel leaf and/or city markets (wholesale/retail outlet; as applicable) along the value chain.

b) Safety and quality of the produce throughout the value chain: The cleaning and sanitation practices using non-chlorine sanitizers or technology along with microbial quality and safety of fresh betel leaf throughout the value chain was done to prepare a guideline for safe betel leaf production and processing.

11. **Results and discussion:** _____Please see section 6.2.1 for results and discussions

12. Research highlight/findings (Bullet point – max 10 nos.):

i) Development of safe betel leaf production guidelines at the field level.

ii) Development of non-chlorine sanitizers and washing practices in eliminating pathogens from betel leaf surfaces at commercial level

iii) Introduction of low-cost hygiene improvement technology to the farmers to improve personal hygiene at the farm level.

B. Implementation Position

1. Procurement:

Description of equipment and capital items	PP Target		Achievement		Remarks
	Phy (#)	Fin (Tk)	Phy (#)	Fin (Tk)	
(a) Office equipment	0	0	0	0	Not
(b) Lab & field equipment	0	0	0	0	required
(c) Other capital items	0	0	0	0	

2. Establishment/renovation facilities:

Description of facilities	Newly established		Upgraded/refurbished		Remarks
	PP Target	Achievement	PP Target	Achievement	
	0	0	0	0	
Not done	0	0	0	0	Not
	0	0	0	0	required
	0	0	0	0	

3. Training/study tour/ seminar/workshop/conference organized:

Description	Number of participants			Duration (Days/weeks/ months)	Remarks
	Male	Female	Total		
(a) Training					
Training on biosafety and biosecurity at field level officers	13	7	20	Feb 03, 2018	Dhaka
(b) Workshop					
Workshop on safe betel leaf	80	1	80	20th May 2017	(Jhinaidah

production practices at the field level				21th May 2017	& (Kushtia
Workshop on safe betel leaf production practices at the field level	40	1	40	June 6-7, 2017	Barishal,
Introduction of low-cost hygiene improvement materials to improve personal hygiene practices of farmers at the field levels	80	0	80	November 18-21, 2017	Kustia & Jhinaidah
Introduction of low-cost hygiene improvement materials to improve personal hygiene practices of farmers at the field levels	40	0	40	November 25, 2017	Barishal

C. Financial and physical progress

Fig in Tk

Items of expenditure/activities	Total approved budget	Fund received	Actual expenditure	Balance/ unspent	Physical progress (%)	Reasons for deviation
A. Contractual staff salary	362460	362460	362460	0	100	
B. Field research/lab expenses and supplies	826654	802921	867475	-40821	100	additional Work done
C. Operating expenses	92500	88750	92500	-3750	100	
D. Vehicle hire and fuel, oil & maintenance	25000	24500	24500	500	100	
E. Training/workshop/seminar etc.	75000	48408	75000	-33047	100	
F. Publications and printing	70000	58100	70000	-11900	100	
G. Miscellaneous	30000	27170	27649	2351	100	
H. Capital expenses	0	0	0	0	0	N/A

D. Achievement of Sub-project by objectives: (Tangible form)

Specific objectives of the sub-project	**Major technical activities performed in respect of the set objectives**	**Output (i.e. product obtained, visible, measurable)**	**Outcome (short term effect of the research)**
1) To identify the point of contamination during production and processing in the project area	Conducted survey to get the baseline data of project area. Identification of present challenges for export in betel leaf chain by FGD Source of contamination determination by site visit, field sample analysis Field visit was also done for farmers selection in the project area Farmers personal hygiene practices were done and motivation and awareness	Established value chain linkage Safe betel leaf production guidebook / Training manual development	Safe betel leaf production would be possible. Increase income & livelihood of farmers Export resumption can be done

	program done to improve it		
b) To evaluate the use of non-chlorine sanitizers against food borne pathogen during postharvest processing to improve the quality and safety of betel leaf at commercial scale.	Laboratory scale effectivity of washing betel leaf with CCa was established then introduced this non-chlorine sanitizers to farmers Train and aware them of its use at commercial scale	Development of non-chlorine sanitizers in eliminating pathogens from betel leaf surfaces Increased knowledge & capacity development	Increased knowledge & capacity development
c)To introduce improved hygiene and sanitation practices in strengthening postharvest management of the project beneficiaries in value chain of betel leaf.	Low cost hygiene technology was introduced. Train and aware them of its use at the field and house level	Improvement of sanitation and hygiene at rural level	Improvement of sanitation and hygiene in the community

E. Materials Development/Publication made under the Sub-project:

Publication	Number of publications		Remarks (e.g. paper title, name of journal, conference name, etc.)
	Under preparation	Completed and published	
Technology bulletin/ booklet/leaflet/flyer etc.	leaflet/flyer		Leaflet of safe betel production
Journal publication	paper	Not yet submit	Evaluation of non-chlorine sanitizers in eliminating bacterial and fungal pathogens from betel leaf- Field level study
Conference paper		Abstract	Poster presented at 4th AFSA conferences on August 10-12, SiemReap Cambodia.
Information development	Guide book	Draft prepared and under review	Safe Betel leaf cultivation Guide (English & Bangla)
Other publications, if any		Billboard	Billboard for Does or Don't awareness

F. Technology/Knowledge generation/Policy Support (as applied):

i. Generation of technology (Commodity & Non-commodity)

Development of safe betel leaf production guide book for farmers

ii. **Generation of new knowledge that help in developing more technology in future**

Development of effective non-chlorine sanitizers for fresh betel leaf

iii. Technology transferred that help increased agricultural productivity and farmers' income

Sanitizer's availability helps in increased productivity and farmers' income

iv. Policy Support

The guide book helps in food safety policy and quality of fresh betel leaf production

G. Information regarding Desk and Field Monitoring

i) **Desk Monitoring [description & output of consultation meeting, monitoring workshops/seminars etc.):**

Description	Meeting	Monitoring	Workshops/seminars
Monitoring team	3	2	4
PIU-BARC, NATP-2	4	2	4
Internal Monitoring (DU team)	0	2	0
DAE team & Export Association	2	2	1

ii) **Field Monitoring (time & No. of visit, Team visit and output):**

Team visit	Date(s) & time of visit	Number of visit	output
Technical Division/ Unit, DAE & BARI	May 20, 2017 9:00- 16:00 May 21, 2017 9:00- 12:00	2	Data and field sample collection
Project members + DAE	29, June 2017 9:00- 16:00 30, June 2017 9:00- 16:00	2	Field visit and data collection
Project members + DAE	7, July 2017 9:00- 16:00 8, July 2017 9:00- 16:00	2	Sanitizer distribution & training to use
Project members + DAE	02, Sept 2017 9:00- 12:00 10, Sept 2017 9:00- 12:00	2	Sample collection & field visit
DAE team & Export Association	26, Dec, 2017 9:00- 16:00 18, Feb, 2018 9:00- 16:00	2	Sample collection & testing

H. Lesson Learned/Challenges (if any)

i) Billboard set up and provides demonstration to the farmers is found effective
ii) A low cost "Tipi- Tap hand washing" tips were found effective and acceptable to the farmers since it does not costs anything to the farmers
iii) the non-chlorine sanitizers were found effective & accepted by the farmers

I. Challenges (if any)

i) Money disbursement was not timely due to the administrative delay of the University of Dhaka. It took more than 2 months to receive in getting the fund when needed was the most serious constrains and hence delayed the project work by 3 months.

ii) Unexpected rain: July 15 - Sept 01, 2017: we were unable to do field experiment, however, lab research and other works were done during this period.

iii) No budget was kept for safe betel leaf production "guideline in both Bangla/ English**.**

Signature of the Principal Investigator
Date …….

Seal

Counter signature of the Head of the organization/authorized representative
Date ……..
Seal

5. Introduction

Foodborne illnesses associated with the consumption of contaminated fresh products (such as betel leaf) has been increased significantly and recently becoming a potential food safety issue worldwide (Gomes et al. 2009; Gorny 2006). Contamination can occur at any stage of production such as pre-harvest or post-harvest (Semenov et al. 2010; Goldberg et al. 2011; Bernstein 2011). Although the mechanism of internalization of bacteria into plant parts are still poorly understood (Auty et al. 2005), but some studies reported the internalization of bacteria into the plant part and subsequent translocation to leaf and other aerial parts of the plant (Goldberg et al. 2011; Zhuang et al. 1995; Avila Quezada et al. 2010; Hirneisen et al. 2012; Zheng et al. 2013; Bernstein et al. 2007a; Bernstein et al. 2007b). Both the plant and bacteria related factors contribute to its internalization (Erickson et al. 2010; Gu et al. 2011). If this is true, then washing fresh produce with antimicrobials or non-chlorine sanitizers will not able to eliminate these bacteria (Ibarra-Sanchez et al. 2004; Jablasone et al. 2005; Donkor et al. 2010).

Salmonella spp. is one of the most common pathogens associated with fresh produce related foodborne illness (Sivapalasingam et al. 2004; Lapidot et al. 2006). Recent reports clearly demonstrate that Salmonella not only survive passively, but also infect plants actively (Wiedemann et al., 2015; Schikora et al. 2012; Fakruddin, et al., 2017). Moreover, infection of plants depends on the active suppression of the host immune responses by *Salmonella* (Schikora et al. 2012). Most studies on *Salmonella* plant interactions suggested an epiphytic lifestyle of *Salmonella* on plants (Berger et al. 2010).

Betel leaf (*Piper betle L.*) is a masticatory with important socio-cultural and ceremonial use in south and Southeast Asia. It is also an economically important export commodity. Betel leaf is consumed raw through chewing mainly by South-Asian populations living worldwide. Betel leaf pose significant nutritional values and medicinal properties and is traditionally known to be useful for the treatment of various diseases like bad breath, boils and abscesses, conjunctivitis, constipation, headache, hysteria, itches, mastitis, mastoiditis, leucorrhoea, otorrhoea, ringworm, swelling of gum, rheumatism, abrasion, cuts and injuries etc. as folk medicine (Khanra 1997). Further, the essential oil contained in the leaves possesses antibacterial, anti-protozoan and antifungal properties (Hoque et al. 2011). Betel leaf is a product that is regularly consumed fresh and raw, but is difficult to decontaminate, as a result, like other fresh produces, can be a common vehicle of transmission of enteropathogenic bacteria (Berger et al. 2010). It is mainly produced in Bangladesh and India and exported worldwide. Due to the contamination of betel leaf with *Salmonella* spp., betel leaf exportation has been reduced and suspended since 2015 to till date from EU (Montanari 2015). However, recently, Sunzid et al., (2017) reported non-chlorine sanitizers could be applicable in decontaminating pathogens from betel leaf. *Salmonella* contamination in betel leaf, pose great public health risk to the consumer. Hence, pattern of *Salmonella* contamination, typees of *Salmonella* spp and to evaluate potential decontamination methods to neutralize *Salmonella* spp. in contaminated betel leaf.

5.1. Use of betel leaf

Betel leaf is an excellent mouth-freshener Several health benefit have been reported and thus Asian people eat the leaves with nut and lime, Chewing betel leaves stimulates the release of saliva which contains many important enzymes helps in food digestion. Chewing betel leaves maintains the levels of ascorbic acid in the saliva which is an excellent antioxidant

and helps in reducing free radicals formation that ultimately preventing cancer. Extracts of betel leaves are known to have gastroprotective activity and help in preventing gastric ulcers (Arawwawala LD et al, 2014). Betel leaves also use in various Ayurvedic medicines for treating warts. (Shekhar numburi UR et al, 2014). Betel leaves extracts possess anti-diabetic property (Arambewela LS et al, 2005), analgesic properties, healing properties, and also known to cure constipation.

i) Nutritional contents

Table 1: Nutritional composition of Fresh betel leaf (P. Guha, 2006).

Constituents	Approximate Composition
Water	8.5-9.0 %
Protein	3-3.5 %
Fat	0.4-1.0 %
Minerals	2.3-3.3 %
Fiber	2.3 %
Chlorophyll	0.01-0.25 %
Carbohydrate	0.5-6.10 %
Nicotinic Acid	0.63-0.89 mg/100g
Vitamin C	0.005-0.01 %
Vitamin A	1.9-2.9 mg/100g
Thiamin	10-70 µg/100g
Riboflavin	1.9-30 µg/100g
Tannin	0.1-1.3 %
Nitrogen	2.0-7.0 %
Phosphorus	0.05-0.6 %
Potassium	1.1-4.6 %
Calcium	0.2-0.5 %
Iron	0.005-0.007 %
Iodine	3.4 µg/100gm
Essential oil	0.08-0.2 %
Energy	44 kcal/100gm

ii. Nonfood uses of betel leaf

Betel leaf is also used for other purposes except as food. It is used in religious, medicinal, decorative purposes in social and cultural programs. Betel nut chewing is an important cultural practice in some regions in south and south-east Asia and the Asia Pacific. It has traditionally played an important role in social customs, religious practices and cultural rituals. well-prepared betel leaf is still regarded as an excellent mouth freshener and mild vitalizer, routinely served on the social, cultural and religious occasions like marriage, Puja (religious festivals), Sraddha ceremony (religious function performed after cremation) etc. It is also used as a special item offered to the guests in order to show respect and for such traditional use of betel leaf in Bangladesh, the leaf really stands alone without any parallel even today (P. Guha et al, 2006). Some people from these regions who have settled in other countries have continued their cultural practice of chewing betel leaf.

5.2 Areas of betel leaf cultivation in Bangladesh

Within local varieties, farmers mainly cultivated Mohanali, Chailtagota and Cherifuli in Barisal, Mithapaan, Dholshi in Chittagong, Banglapaan, Mithapaan in Rajshahi and Mistipaan, Khilipaan in Kushtia district, Mistipaan and Khilipaan in Jhenaidah district.

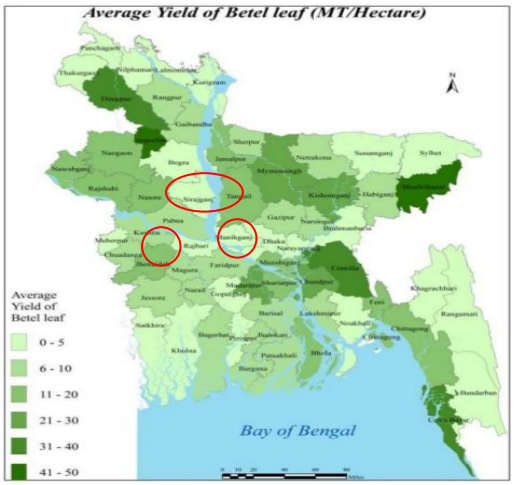


Figure 1: Betel leaf cultivated areas in Bangladesh. Red spotted places are sample collection areas.

5.3 Betel leaf cultivation procedure

Respondent farmers prepared their land without ploughing by spading for betel leaf cultivation. The most appropriate planting time of the betel leaf is at the end of the rainy season mostly from July to October by the farmers. The respondent farmers used betel leaf vine as seed which was mostly local (Jhenaidah, Kushtia, Borishal) variety. They harvest on average 123845 to 172841 of betel leaf seed (vine) per hectare. The average plant to plant distance was found 15.24-20.32cm and line to line spacing of betel leaf vine were found to be 45.72-55.88 cm in Barishal. But in Jhenaidah and Kustia the line to line spacing were found 81.28-91.44 cm. The average number of earthing up, application of oilcake, weeding, spraying and irrigation were 1.96, 4.23, 1.86, 5.82 and 6.02 respectively (Table 4). In Table-4, the

average number of irrigation was 6.02. But in Northern area, it was more than 19 time because of the dryness of the soil and the farmers of that area irrigated their betel leaf plot by manually carrying water with different pots. For this reason more number of irrigation was needed (Islam et al, 2015).

Table 2: Agronomic practices of betel leaf production followed in the study areas.

Agronomic practices (On Average)	Locations		
	Barisal	Kustia	Others area
Month of plantation (%):			
July	50	-	37
August		20	5
September	33	_	11
October	17	80	47
Earthing of soil (No./year)	3.4	1.0	2.0
Oilcake application (No./year)	5.0	3.8	4.2
Weeding (No./year)	1.9	1.6	1.9
Insecticides use (No./year)	4	2.7	5.9
Irrigation (No./year)	1.9	2.2	6.0
Number of vine per ha	165820	134652	149290
Plant distance (cm)	15.24	19.82	17.38

Recent betel leaf export statistics in Bangladesh:

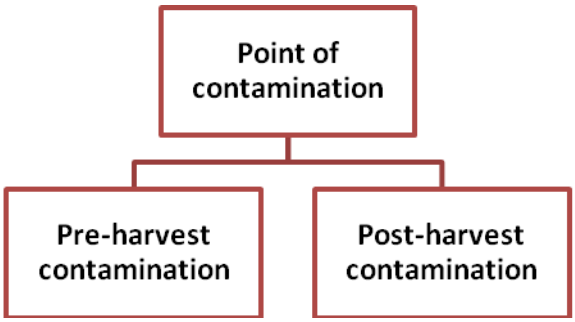
Betel leaf export statement (Period: 01-07- 2016 to 25-01-2017)

SL. No.	Name of Country	Quantity (MT)
1.	KSA	2788.99
2.	Labalon	4.5
3.	Jardan	6.977
4.	Malaysia	4.7
5.	Taiwan	0.9
6.	Pakistan	35.224
7.	Canada	14.683
Total		2855.874

Sources: Plant Quarantine Center HSIA, Dhaka

5.4 Possible sources of microbial contamination in betel leaf production chain

Scientists found that the remarkable sources of produce contamination in the supply chain both at the pre-harvest (in the field) and post-harvest (carrying & processing) stages.



Important points of microbial contamination may occur in farm which can reduce production of betel leaf. These include: contaminated irrigation water, animal waste fertilizer, wild and domestic animals, post harvest washing in contaminated water, improper handling and storage, improper packaging, contamination from other foods in food production area, unsanitary equipments and facilities, ill worker (FAO/WHO, 2008).

5.4.1 Pre-harvest contamination

Waste water contaminates betel leaf with pathogenic microorganisms (Brackett, 1999; Solomon *et al.,* 2002; Kumar *et al*., 2015). *Salmonella spp*., *Campylobacter spp*., *Shigella spp*. contaminates fresh fruits and vegetables through contact with contaminated water or sewage (Orenushi, Olorunfemi, 2011; Kumar *et al.*, 2015). Contamination with *E. coli* and *Salmonella spp.* occurred on farms through the use of contaminated irrigation water and manure (Chang and Fang, 2007). *Salmonella spp.* can survive in agricultural soil where betel leaves are grown. It has been long been known that the use of contaminated manure can help pathogens to grow, resulting in various human diseases. So, raw manures should not be applied to the cultivated land. The potential sources for the pathogenic contamination of betel leaf from the use of manure depends on numerous factors like that,

- Presence of Pathogen in the animal feces.
- Occurance of Pathogen at the treatment/storage/processing period of manure.

5.4.2. Irrigation water as a source of contamination

Water can be an important source of contamination in the betel leaf cultivated field. Possible sources are nearby animal manures and irrigation from a contaminated source. The risk associated with using water from a range of sources that vary in microbiological quality for irrigation of produce has been assessed and the need for improved guidelines recognized (Hamilton *et al.,* 2006). During the production of fresh-cut vegetables, the washing step has been identified as a potential pathway for dispersion of microorganisms, and more specifically *Escherichia coli*, to the end product (Holvoet *et al*., 2012). Although washing with potable water helps to remove microorganisms to a certain extent, sanitizers have also been applied to enhance the disinfection of the produce (WHO, 2005). The microbial quality of agricultural water is an important issue of concern in the pre harvest and post harvest food safety of edible

horticulture commodities and minimally processed produce. Most commercial field fresh vegetables producers use commercial production include gypsum, soil sulfur, and sulfuric acid which are generally recognized as free of microbial risk. Properly composted manures or municipal biosolids are generally not a source of microbial pathogens on fresh produce. Producers, who farm adjacent to lands where manure is used, must be aware of the potential risks from runoff or flooding. No raw animal manure or leachate from raw material should be used to supplement the soil. Prevention of contamination of fruits and vegetables with pathogenic microorganisms should be the goal of everyone involved in both the pre-harvest and post-harvest phases of delivering produce to the consumers.

5.5. Post-harvest contaminations & Interventions

Postharvest contamination of betel leaf includes handling, storage, transportation and cleaning. During these practice conditions cross contamination can occur to the betel leaf from other agricultural materials or from the workers. Poor handling can contaminate betel leaf, which will offer a favourable environment to the microorganisms to grow. This contamination can also occur during packaging and transport. The presence of cut and damaged surfaces provides an opportunity for contamination and growth of microorganisms and entering into plant tissues (Francis and O Beirine, 1999). Post-harvesting process, ranging from storage and rinsing to cutting, are also possible sources of contamination (Wachtel and Charkowaski, 2002). Packaging and handling systems have been developed in many countries to move products from farm to consumer expeditiously in order to minimize quality. Procedures include lowering temperature to slow respiration and senescence, maintaining optimal relative humidity to reduce water loss without accelerating decay, adding chemical preservatives to reduce physiological and microbial losses, and maintaining an optimal gaseous environment to slow respiration and senescence (Wills *et al*. 1989; Tigist *et al.*, 2011; Workneh *et al*., 2011). Packaging is one of the most commonly used postharvest practice that puts them into unitized volumes which are easy to handle while also protecting them from hazards of transportation and storage (Burdon, 2001). Modified atmosphere packaging for storage and transportation of fresh produce is commonly achieved by packing them in plastic films. Storage in plastic films with different kinds of combinations of materials, perforation and inclusions of chemicals and individual seal packaging are types of modified atmosphere storage (Burdon, 2001; Irtwange, 2006).

5.5.1. Disinfecting the washing water

Washing betel leaf with approved sanitizer is an important factor to reduce contaminants and maintain quality thus sanitized water to produce superior quality water for controlling microbial contaminants on fresh betel leaves and avoiding cross contamination (FDA 2008; Allende *et al*., 2008; Lopez-Galvez *et al*., 2009). Washing with only water was able to remove debries from the surface but were unable to reduce microorganisms from the betel leaf.

5.5.2 Washing and sanitizing materials

Various inorganic and organic washing and sanitizing agents are used to reduce bacterial load on betel leaf and each agent has distinct advantages and disadvantages. The effectiveness of these sanitizers depends upon the type of protocol, and other variables. Traditional methods involve various chemical (chlorine based and non-chlorine compound) and physical treatments include ultrasound, high pressure (HP), high intensity electric field pulses (HIEFP), ultraviolet radiation (UV), radio frequency (RF), and ionizing radiation, etc. The chlorine water has been widely used during the last 30 years to clean and sanitizing vegetables at commercial scale, and mechanical treatment of the surface by brush or spray washers, followed by rinsing with potable water. The rinse step may include a sanitizer treatment. Water used for washing and sanitizing purposes must be clean so that it does not become a vehicle for contamination.

Efficacy of the method used to reduce microbial populations is usually dependent upon the type of treatment, type and physiology of the target microorganisms, characteristics of produce surfaces (cracks, crevices, hydrophobic tendency, texture) exposure time and concentration of cleaner/sanitizer, pH, and temperature. It should be noted that the concentration level of sanitizers or other intervention methods may be limited by unacceptable sensory impact on the produce. Washing efficiency varies with produce, type of washing system, type of soil associated with vegetables, contact time, and water temperature. In one study, brush-washing of oranges in plain water reduced the surface microbial population approximately 60 to 70% compared to 90% reduction when a sanitizer was included (Winniczuk, 1994). Although tap water wash reduce soil, and other debris on the vegetable, but unable to eliminate all the microorganisms present on the betel leaf surfaces.

5.5.3 Calcinated calcium

Calcinated calcium is derived from marine shell waste (MSW) by baking followed by pyrolysis; The resultant powder consisting of 98% CaO and 2% $CaCO_3$; The CaO possess antibacterial and antifungal activity against a broad range of microorganism including spores and toxins (Sawai *et al.,* 2002). As the marine shell powder (MSP) was produced from natural sources and biodegradable in nature thus, donot poses any harm to the environment (Sawai *et al.,* 2001).

5.5.4. Production of calcinated calcium

Marine shell waste (MSW) is a natural product can also be produced from oyster shells. To obtain calcinated calcium, oyster shells are baked and then pyrolyzed and ground to a mesh size of 5-15 μm.

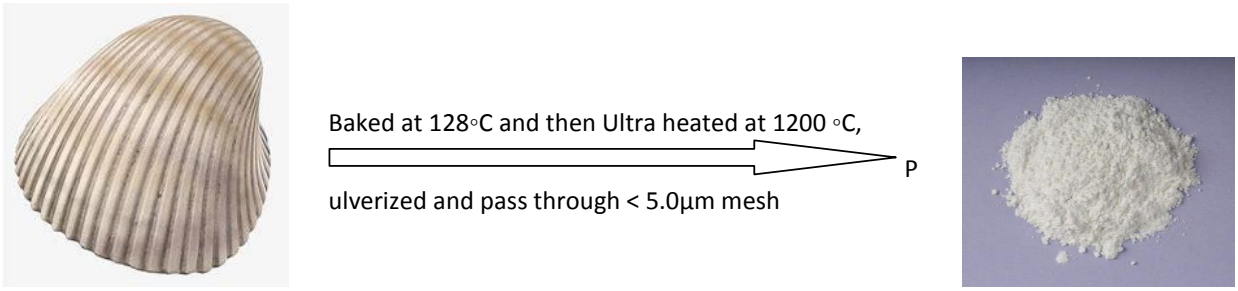


Figure 2: Production of marine shell powder (MSP).

The heated scallop shell powder exhibits bactericidal actions against both of Gram positive and Gram negative bacteria (Sawai *et al.,* 2001). Heated scallop shell powder has inhibitory effects against the pathogenic spores of *Bacillus* and *Clostridium* species which is an important step in food processing, because these spores can be stayed dormant for long time and causes harms to human (Sawai *et al.,* 2001). Some studies reported that calcinated calcium is effective in inactivating *E. coli* on radish sprouts, and shredded cabbage (Lilia Fransisca, Bin Zhou, 2011; Bari and others 1999; Gandhi and Matthews, 2003).

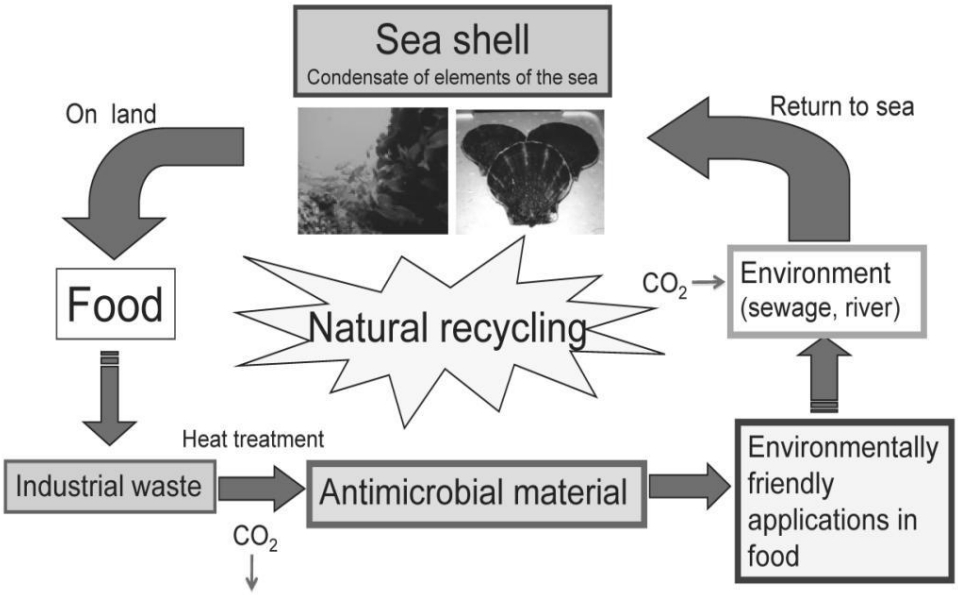


Figure 3: Natural recycling of scallop shell.

Calcinated calcium is already a proven effective non-chlorine sanitizer (Asada et al., 2001; Bari et al, 1999, 2002; Fukuyama et al 2014) and is safe for food and non-food uses. It was found to kill 25 types of microorganisms within one minute, including gram positive, gram negative, and multi-drug resistant bacteria; mycobacteria; enveloped and non-enveloped, large and small viruses; and fungi (Xing et al, 2013; Ahmed et al, 2015, 2016; Gautam et al, 2016; Rahman et al, 2016). In addition, it washed out pesticides, chlorine, and wax and sterilizes bacteria. Furthermore, calcinated calcium sanitizing is cost-effective based on cost-benefit analysis; it is also environment-friendly and enhances food safety. It is a potent substitute for chlorine, a widely used sanitizer around the world but is being banned in some countries due to

health concerns. Chlorine reacts with organic matter in the produce to form highly carcinogenic trihalomethanes.

5.6 References

1) Ahmed, S., Bari, M.L., Rahman, M.A., Islam, M.N., Goffar, M.A., Acedo, A.L., Easdown, W., Hughes, J. d'A. and Keatinge, J.D.H. 2016. Development of low-cost novel sanitizers for fresh vegetables. Acta Horticulturae (in press).
2) Ahmed, S., Akand, N.R., Islam, M.T., Al-Mamun, A. andBari, M.L. 2015. Effectiveness of scallop powder ice in reducing bacterial load on fresh whole fish and in the melted ice water. LWT Food Science and Technology 64:270-274.
3) Asada, T., Kimura T., Omichi M. and Oikawa, K. 2001. Bactericidal Effect of calcium oxide and calcined shell calcium on Legionella pneumophila. Journal of Health Science 47(4): 414-418.
4) Auty M, Duffy G, O'Beirne D, McGovern A, Gleeson E, Jordan K. In situ localization of Escherichia coli O157:H7 in food by confocal scanning laser microscopy. J Food Protect. 2005; 68: 482–6.
5) Avila-Quezada G, Sanchez E, Gardea-Bejar AA, Acedo-Felix E. Salmonella spp. and Escherichia coli: survival and growth in plant tissue. New Zealand J Crop Horticul Sci. 2010; 38(2): 47–55.
6) Bari, M. L. Y. Inatsu, S. Kawasaki, E. Nazuka and K. Isshiki. 2002. Calcinated calcium killing of E. coli O157:H7, Salmonella and Listeria monocytogenes on the surface of tomatoes. Journal of Food Protection 65 (11):1706-1711.
7) Bari, M. L. H. Kusunoki, H. Furukawa, H. Ikeda, K. Isshiki, and T. Uemura. 1999. Inhibition of growth of Escherichia coli O157:H7 in fresh radish (Raphanus Sativus L) sprout production by calcinated calcium. Journal of Food. Protection 62(2):128-132.
8) Berger CN, Sodha SV, Shaw RK, Griffin PM, Pink D, Hand P, Frankel G. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. Environ Microbiol. 2010; 12 (9):2385–97.
9) Bernstein N. Potential for contamination of crops by microbial human pathogens introduced to the soil by irrigation with treated-effluent. Israel J Plant Sci. 2011; 59: 115–23.
10) Bernstein N, Sela S, Neder-Lavon S. Assessment of contamination potential of lettuce by Salmonella enterica serovar Newport added to the plant growing medium. J Food Protect. 2007a; 70: 1717–22.
11) Bernstein N, Sela S, Neder-Lavon S. Effect of irrigation regimes on persistence of Salmonella enterica serovar Newport in small experimental pots designed for plant cultivation. Irrig Sci. 2007b; 26:1–8.
12) Donkor ES, Lanyo R, Kayang BB, Quaye J, Edoh DA. Internalizations of microbes in vegetables: Microbial load of Ghanaian vegetables and the relationship with different water sources of irrigation. Pakistan J Biol Sci. 2010; 13(17): 857–61.
13) Erickson MC, Webb CC, Diaz-Perez JC, Phatak SC, Silvoy JJ, Davey L, et al. Surface and internalized Escherichia coli O157:H7 on field-grown spinach and lettuce treated with spray-contaminated irrigation water. J Food Protect. 2010; 73: 1023–29.
14) Fakruddin, M., Sultana, R., Hossain, M.N. et al. FoodContamination (2017) 4: 6. https://doi.org/10.1186/s40550-017-0051-0
15) Fukuyama S, Watanabe Y, Kondo N, Nishinomiya T, Kawamoto S, Isshiki K, Murata M. 2009. Efficiency of sodium hypochlorite and calcinated calcium in killing Escherichia coli O157:H7, Salmonella spp., and Staphylococcus aureus attached to freshly shredded cabbage. Bioscience,Biotechnology and Biochemistry73(1):9-14.

16) Gautam, D.M., Tripathi, K.M., Mouylin, C., Buntong, B., Rahman, M.A., Bari, M.L., Acedo, A.L., Easdown, W., Hughes, J. d'A. and Keatinge, J.D.H. 2016. Effectiveness of non-chlorine sanitizers in enhancing quality and shelf life of tomato in Bangladesh, Cambodia and Nepal. Acta Horticulture (in press).
17) Goldberg D, Kroupitski Y, Belausov E, Pinto R, Sela S. Salmonella Typhimurium internalization is variable in leafy vegetables and fresh herbs. Intl J Food Microbiol. 2011; 145: 250–7.
18) Gomes C, Da Silva P, Moreira RG, Castell-Perez E, Ellis EA, Pendleton M. Understanding E. coli internalization in lettuce leaves for optimization of irradiation treatment. Intl J Food Microbiol. 2009; 135: 238–47.
19) Gómez-López VM, Alicia M, Ana A, Beuchat LR, GIL MI. Postharvest. Handling Conditions Affect Internalization of Salmonella in Baby Spinach during Washing. J. Food Prot.. 2013; 76(7): 1145–51.
20) Gu G, Cevallos-Cevallos JM, van Bruggen AHC. Ingress of *Salmonella enterica* Typhimurium into Tomato Leaves through Hydathodes. PLoS One.2011;8(1):53470.
21) Hirneisen KA, Sharma M, Kniel KE. Human enteric pathogen internalization by root uptake into food crops. Foodborne Pathogen Dis. 2012; 9(5):395–405.
22) Hoque MM, Ratilla S, Shishir MA, Bari ML, Inatsu Y, Kawamoto S. Antibacterial activity of ethanol extract of betel leaf (Piper betle L.) against some food borne pathogens. Bangladesh J Microbiol. 2011; 28 (2): 58–63.
23) Husna AA, Islam MA, Rahman MT, Khatun MM. Efficacy of vinegar, sorbitol and sodium benzoate in mitigation of Salmonella contamination in betel leaf. J Adv Vet Anim Res. 2015; 2(2):190–4.
24) Ibarra-Sanchez LS, Alvarado-Casillas S, Rodriguez-Garcia MO, Martinez-Gonzales NE, Castillo A. Internalization of bacterial pathogens in tomatoes and their control by selected chemicals. J Food Protect. 2004; 67(7):1353–8.
25) Islam M, Doyle MP, Phatak SC, Millner P, Jiang X. Persistence of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 in soil and on leaf lettuce and parsley grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. J Food Protect. 2004; 67(7):1365–70.
26) Jablasone J, Warriner K, Griffiths M. Interactions of Escherichia coli O157:H7, Salmonella typhimurium and Listeria monocytogenes plants cultivated in a gnotobiotic system. Intl J Food Microbiol. 2005; 99: 7–18.
27) Khanra S. Paan Vittik Silpakendra (In Bengali). "Betel Leaf Based Industry". Nabanna Bharati. 1997; 30(2):169.
28) Lapidot A, Romling U, Yaron S. Biofilm formation and the survival of Salmonella Typhimurium on parsley. Intl J Food Microbiol. 2006; 109:229–33.
29) Montanari F. Managing Risks in Imports of Non-Animal Origin: The EU System of Reinforced Border Surveillance, Risk Regulation in Non-Animal Food Imports: The European Union Approach, 29–56. Cham: Springer International Publishing; 2015. p. 39. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-14014-8_2.
30) Rahman, M.A., M.A. Goffar, T.A.A. Nasrin, M.L. Bari, A. Acedo, W. Easdown, J.A. Hughes and J.D.H. Keatinge.2016. Integrating non-chlorine sanitizing, precooling and modified atmosphere packaging in low-cost cooling systems for brinjal (Solanum melongena). Acta Horticulturae (in Press)
31) Schikora A, Garcia AV, Hirt H. Plants as alternative hosts for Salmonella. Trends Plant Sci. 2012; 17(5):245–9.

32) Sivapalasingam S, Friedman CR, Cohen L, Tauxe RV. Fresh produce: a growing cause of outbreaks of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. J Food Protect. 2004; 67: 2342–53.
33) Sunzid Ahmed, Sharmin Zaman, Razu Ahmed, Md. Nazim Uddin, Antonio Acedo Jr. Md. Latiful Bari (2017). Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving the safety and quality of fresh betel leaf. LWT - Food Science and Technology 78 (2017) 77-81.
34) Wiedemann A, Virlogeux-Payant I, Chausse A-M, Schikora A, Velge P. Interactions of Salmonella with animals and plants. Front Microbiol. 2015; 5: 792. doi: 10.3389/fmicb.2014.00791
35) Xing, R.., Yukun, Q., Xiaohong, G., Song, L., Huahua, Y. and Pengcheng, L. 2013. Comparison of antifungal activities of scallop shell, oyster shell and their pyrolyzed products. Egyptian Journal of Aquatic Research 39: 83-90.
36) Zheng J, Allard S, Reynolds S, Millner P, Arce G, Blodgett RJ, Brown EW. Colonization and Internalization of Salmonella enterica in Tomato Plants. Appl Environ Microbiol. 2013; 79 (8):2494–502.
37) Zhuang RY, Beuchat LR, Angulo FJ. Fate of Salmonella Montevideo on and in raw tomatoes as affected by temperature and treatment with chlorine. Appl Environ Microbiol. 1995; 61: 2127–31.

Materials and Methods

(Laboratory scale study)

6.1 Sample Collection, preparation, microbiological analysis, Identification of Bacteria, inoculation study and statistical analysis.

Betel leaf samples were collected from the study areas (Jhenaidah, Kushtia, Borishal district) and commercial samplese also purchase and analyzed. These farms were visited several times during the period of April, 2017 to June, 2018 to collect samples. Soil, irrigation water and betel leaf samples were taken to the laboratory in sample collection bags by maintaining temperature (4^0C) into cool box. Injured or dirty samples were discarded and fresh betel leaf samples were used for experiment on the same day at room temperature (25^0C). Ten (25g) grams of betel leaf samples were weighted by an electric balance (ABS 220-4N, Shimadzu Corporation, Japan) and used for each lab experiment according to ISO 6576. Each experiment was repeated at least three times and the average results were given in the table and figure through the text.

Sample Treating Agents

1. Marine shell waste powder (MSP) solution (0.01%) was used for dipping/washing betel leaf for 40 sec followed by rinse with sterile water to remove the residual effect.
2. Chlorine solution (200 ppm) was used for comparison, since this sanitizers has been widely using around the world.
3. In addition, another non-chlorine sanitizer H_2O_2 (0.5%) solution was also used for better comparison.
4. Apart from these, sterile tap water was also taken to wash the betel leaf considered as control group.

Preparation of sanitizer solutions

All the sanitizer solutions used in this study were prepared instantly or immediately before application. These solutions were prepared as like below:

1. Calcinated calcium (CCa) solution (pH11.3 ± 0.2) concentration 0.01g/L (0.01%), was prepared using distilled water; The pH was determined using a p^H meter.
2. H_2O_2 (0.5%) was prepared by adding 30% H_2O_2 in distilled water.
3. Chlorine solution 200 ppm was prepared by adding chlorine into distilled water.

Washing Method

In each experimental condition, 25.0 g betel leaf was dipped separately in 1.0 L of each sanitizer solution in previously sterile plastic beaker (2 L). Washing was carried out for 1 minute at room temperature with gentle agitation by hand rubbing. After washing, the solution was decanted & the sample was rinsed with sterile tap water to remove the residual washing solution. After that the betel leaves were placed distinctly on specifically labelled sterile perforated tray to drain off the excessive water & placed in laminar flow biosafety cabinet for drying at 4 hours. Microbiological analysis was done before and after washing with these sanitizers at different intervals and survival bacterial population was determined by different selective and non- selective culture media. Physical parameters such as color change, weight loss, suface browning etc. were also observed.

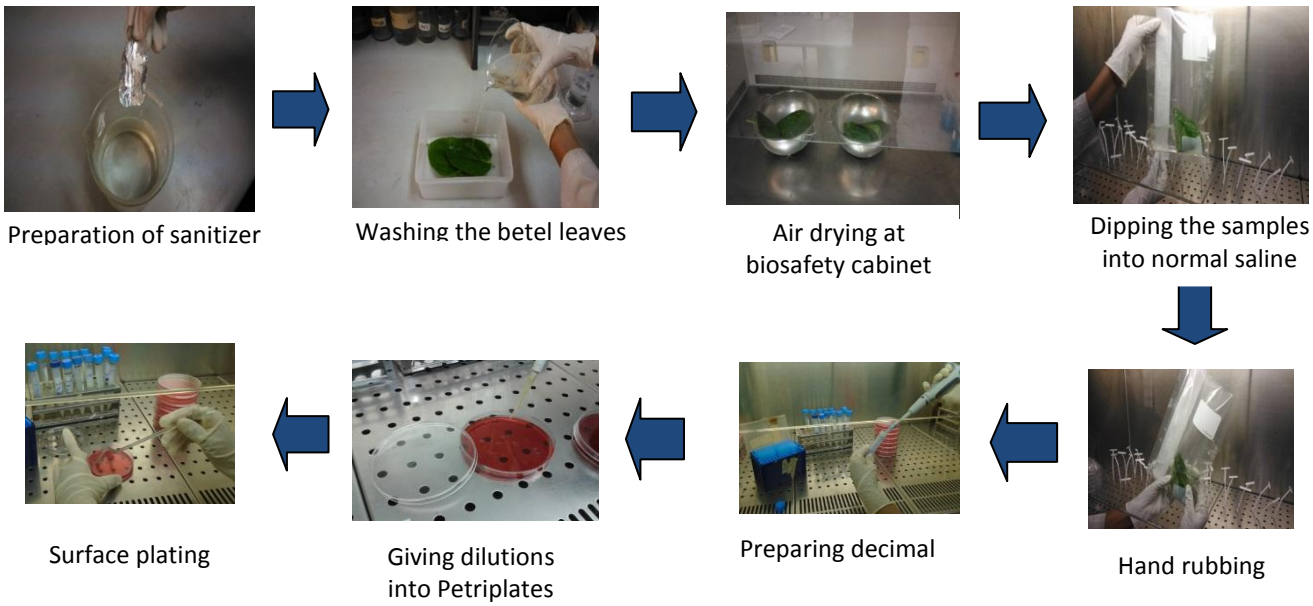


Figure 3: Laboratory procedure of washing and microbiological analysis.

Microbiological analysis of soil and betel leaf

Total aerobic bacterial, *Escherichia coli, coliform Salmonella spp.* count

Ten (10 g) grams of sample was placed in a stomacher bag with 90 ml of sterile saline water. The mixture was then gently hand rubbed for 90 seconds and serial decimal dilution was prepared with sterile normal saline. Decimal dilution was prepared up to 10^{-6} and the samples (0.1ml) both diluted and undiluted were then spread plated on Tryptic soy agar (Oxoid Ltd., Hampshire, England) for total aerobic bacterial count, Chromocult coliform agar (CHR) medium for *E. coli* count, Bismuth sulfite agar (BSA, Oxoid, England) medium for *Salmonella* count and incubated at 37ºC for 24 hours for total aerobic bacterial count. On the following day colonies were counted from surface plated Petridishes and target bacteria was isolated on SAP from both Petridishes and enrichment broth. Next day the pure target colonies were picked from the SAP (selective agar plate) to NSAP (Non selective agar plate). Then identification of *E. coli* was further confirmed through set of biochemical tests (TSI Test, Indole Test, MR Test, VP Test, Citrate Test, and EMB Test).

Identification of bacteria

Bacterial colonies grown on NSAP (Non selective agar plate) were identified by several biochemical tests.

Biochemical analysis

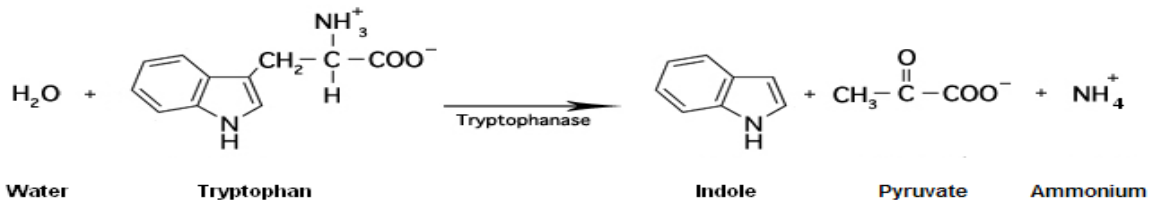
Biochemical tests were performed for the identification of bacteria from CHR and BSA media. Blue round colony was picked from CHR media and black colony from BSA media transferring growth into TSA media individually. After incubation for 18 to 24 hours, a gentle colony was analysed for TSI Test, Indole Test, MR Test, VP Test, Citrate Test, and EMB Test.

TSI Test:

In Triple sugar (lactose, Sucrose, Glucose) iron agar test, ratio of lactose, glucose, Sucrose is 10: 10:1. When glucose is fermented it turns the Butt yellow but remaining the slant red. When lactose and Sucrose is fermented huge amount of acid production causes butt and slant to turning into yellow from red. Ferrous Sulfate iron is the indicator of H2S production. A discrete single colony of bacteria is taken by a sterilized needle. Then stabbing at the middle of the slant, next slightly streaked over the TSI slant. Then capped the tube and placed into the incubator at 37°C for 18-24 hours.

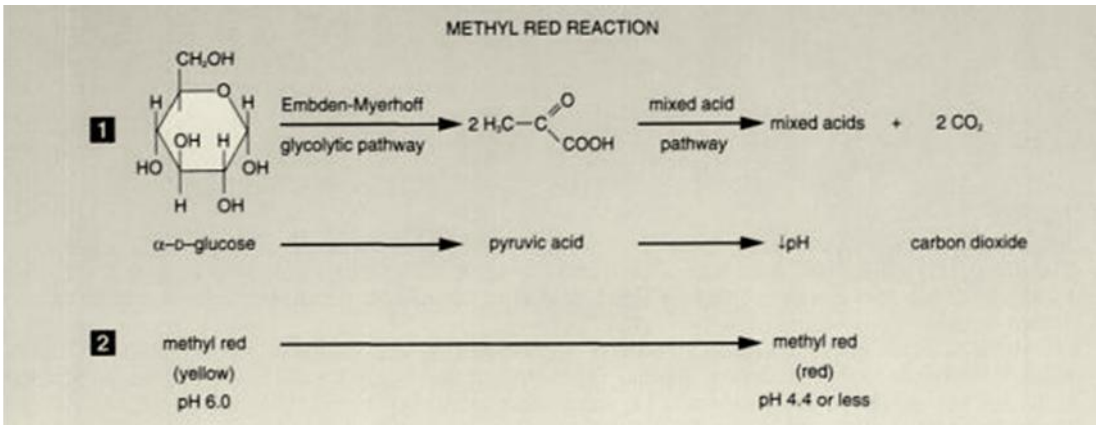
Indole Test:

Indole test is performed to observe the ability of the organism to produce indole from tryptophan. The target organism is at first inoculated into the tryptophan broth. Then placed the test tube into 37^0 C for 18-24 hours. Next day hazy broth media was observed. Then adding 0.5 ml of Kovac's reagent into the test tube. If a red ring is observed into the test tube that indicates positive test and no color change for negative test.



MR Test:

Methyl red Test is performed to determine the ability of the organism to produce mixed acids (acetic, lactic, succinic) in significant amount. If large amount of acid is formed that leads to decrease of PH (below 4.4) .As methyl red is used as an indicator in this aspect it turns the culture media red when acid is produced .When acid is not produced that causes no PH change and the culture broth remains yellow after addition of methyl red.

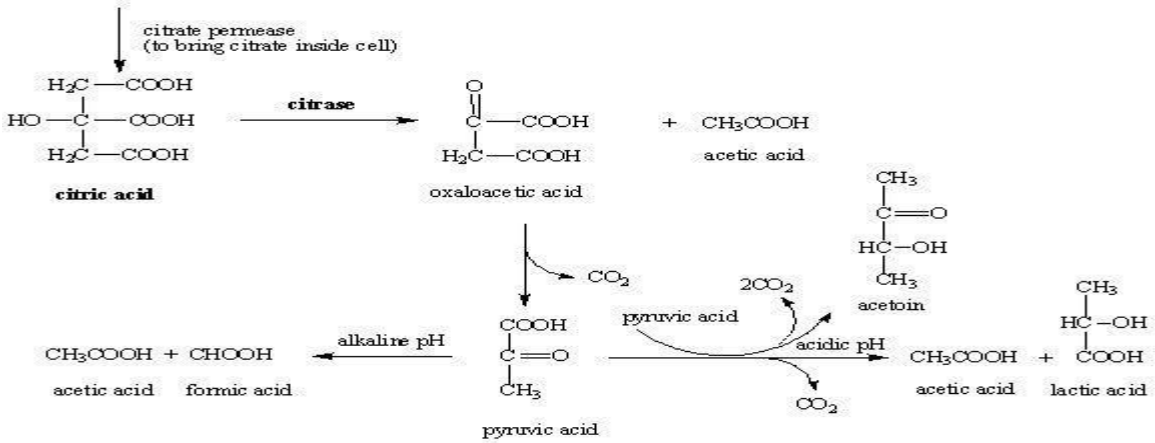


VP Test:

Voges – proskauer test is named after two microbiologists who observe that in some organism acetoin (acetyl methyl carbinol) is formed from pyruvic acid which is a degradation product of glucose. These leads to formation of acids, which in the presence of atmospheric oxygen and KOH convert acetoin into diacetyl. This leads to formation of red color complex and no color change for negative results.

Citrate Test:

Citrate Test is performed to determine the ability of the organisms to use sodium citrate as its only carbon source and $NH_4H_2PO_4$ as its nitrogen source. For this test a well developed colony was taken from the culture media and then streaking it into citrate plate and then placing the plates into incubator for 18-24 hours. Positive result was appearing for blue colonies and no color change for negative result.



EMB Test:

EMB is selective for Gram negative bacteria. For this test a well developed colony was taken from the culture media and then streaking it into EMB plate. Then, placed the plate into incubator for 18-24 hours. Positive result was appeared for golden greenish colonies and black / no color change for negative result.

Stock preservation:

For stock preservation isolated bacteria were grown on TSB by overnight (O/N) cultivation into the incubator. Then 700 µL bacterial solutions (O/N cultivated in TSB) were taken into an eppendorf and 300µL sterile 20% glycerol was added in that bacterial solution. This eppendorf was preserved at -20°C until further analysis.

Antibiotic sensitivity test

Antibiogram or antibiotic sensitivity test is performed to determine the sensitivity of a particular bacterium against antibiotic. At first a well developed colony of *salmonella* and *E. coli* was taken. Then the colony was diluted into normal saline and mixing the colony using vortex. Then the bacterial culture was grown into a MHA media and small disks of different antibiotics placed into the plate and placing the plate into incubator for 18-24 hour incubation. Then observing the result after the required time and the diameter of zone of inhibition was measured. By this way antibiotic sensitivity was determined against Amoxicillin (10 µg), Ampicillin (10 µg), Cefixime (30 µg), Erythromycin (15 µg), Tetracyclin (30 µg), Kanamycin (30 µg), Streptomycin (10 µg), Azithromycin (15 µg), Aztreonam (30 µg), Nalidixic acid (30 µg) etc. antibiotics.

Inoculation Study

In the inoculation study, rifampicin resistant bacteria were used for spike of the betelleaf and recovered on to both non-selective Tryptic Soy agar (Oxoid Ltd., Hampshire, England), and selective Bismuth sulfite agar (BSA, Oxoid, England) and Chromocult coliform agar (CHR) supplemented with rifampicin (50 µg). In this study pure culture of *Escherichia coli* and *Salmonella* was made resistant to rifampicin (50 µg), by periodically culturing these bacteria in Tryptic Soy Broth (Oxoid Ltd., Hampshire, England) containing rifampicin for three continuous/ consecutive days (three successive transfer). The bacterial cells were collected by centrifuging the culture broth containing falcon tubes at 3000 rpm for 10 minutes. Bacterial pellets were then collected and mixed with sterile distilled water, which was used to dip betel leaf for 60 minutes.

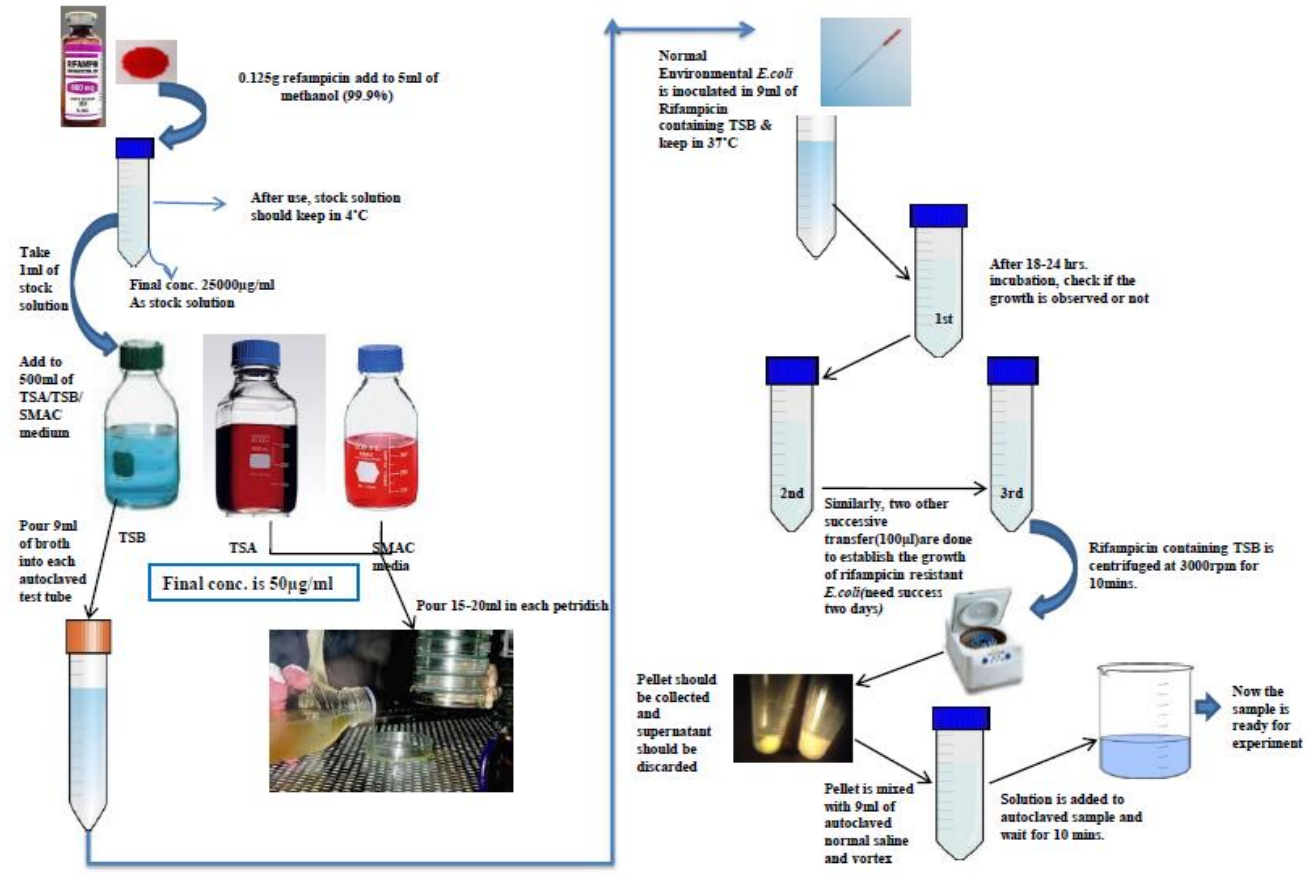


Figure 3.2: Inoculum preparation protocol for challenge test.

Cocktail bacterial challenge test with high and low inoculums

The *E. coli* and *Salmonella typhimurium* isolated from various fresh produces were chosen for the challenge test. Rifampicin resistant strains were prepared by adopting the above mentioned bacteria individually in tryptic soya broth, as described by Inatsu, et al,. 2007) Briefly, each individual bacterium was grown in TSB media supplemented with 50 mg/ml of rifampicin, after three successive inoculations, bacterial cells were collected by centrifugation (3000 rpm; 10 min) and were washed three times with sterile saline water and finally re-suspended in sterile water and initial bacterial count was determined. Similarly all the inoculums were prepared and pooled together to get a cocktail of 5 bacterial strains and hold for 30 min. Low (4.0-5.0 log CFU/ml individual marker bacteria) inoculums cocktail solution were prepared and used for the experiment. One hundred (100) grams of betel leaf samples were dipped into inoculum separately, stir slowly for 5 min and then transferred to a sterile perforated tray and dried in bio-safety cabinet for 4 h at 22 ± 2^0C. The dried low inoculum betel leaf samples were then stored at 4^0C for overnight and subjected to wash with different sanitizers.

Isolation, purification and identification of fungi associated with fresh and diseased Betel leaf

Fungi associated with the fresh and diseased betel leaf were isolated following tissue planting method (CAB 1968). Isolation Steps are like following -

(a) Preparation of inoculums

(b) Surface sterilization

(c) Plating
(d) Inoculation

For both the methods of isolation, surface sterilized inocula were used. One hundred pieces inocula, each measuring 2 mm are cut with a sterilized scissors from the diseased leaf parts of the betel leaf and kept in a sterile petri plate. The inocula were washed with sterile water and then surface sterilized by dipping in 10% chlorine solution, CCa and H_2O_2 for 2.0 minutes separately followed by washed with sterile water for 3 minutes. Finally, the inocula were placed inside the folds of a sterile blotting paper to remove the excess surface water. The surface sterilized inocula thus prepared were used for isolation of fungi.

Tissue planting method

The associated fungi were isolated from the infected surface sterilized inocula following the process as mentioned earlier. A total of 60 inocula were placed in 20 sterilized Petriplates containing PDA medium. Each Petriplate contained 15 ml of PDA medium with an addition of 1 drop (ca 0.03 ml) of lactic acid which was used to check the bacterial growth and incubated in an incubator (25 ± 2° C) for 7 days.

In both the methods fungi growing out of the inocula were identified in situ whenever possible and transferred to PDA slants. The isolates were purified following dilution plate method (Anon.1968), maintained on PDA slants and stored at 10 ± 0.5°C in an incubator for future studies. Cultures were maintained by Sub-culturing after 4 weeks of intervals. Percentage frequency of occurrence of the fungal isolates was calculated by adopting the following formula of Spurr and Welty (1972):

$$\% \text{ frequency} = \frac{\text{Total number of inocula from which a fungal isolate was observed}}{\textit{Total number of inocula}}$$

Morphological studies of the fungal isolates were made in order to determine their identity. For microscopic observation, fungal structure like mycelia, spore bearing structures and spores were mounted in lactophenol. In case of hyaline structures, a little amount of aniline blue (cotton blue) was added to the mounted fluid. A clean Cover Slip was placed over the material and excess fluid was removed by blotting paper and examined under microscope (Motic BA200). The microscopic structural view of the fungi was taken by a digital camera. The diagram of microscopic structures was drawn with the aid of camera lucida. Identities of the Isolates were determined following standard literature (Thom and Raper 1945, Raper and Thom 1949, Booth, 1971, Ellis 1971, 1976, Ellis and Ellis 1997, Barnett and Hunter 1972, Sutton 1980).

Calculation

The fungi toxicity of the plant parts extracts in terms of percentage inhibition of mycelia growth was calculated by using the following formula:

$$I = \frac{C-T}{T} \times 100$$

Where, I = Percent growth inhibition

C = growth in control

T = growth in treatment

Statistical analysis

All trials were replicated three times. Reported plate counts observed in all agar media were converted into CFU/g and the numbers represent the mean values obtained from three individual trials, with each of these values obtained from duplicated samples. Data were subjected to analysis of variance using Microsoft Excel program (Redmond, Washington, DC, USA). Significant differences of plate count data were established by the least significant difference at the 5% level of significance.

Field study:

6.2 PART-A

Inception meeting & discussion (May 7, 2017):

A kickoff meeting with the project team was done at the Center for Advanced Research in Sciences (CARS), DU at 10:00AM to find the expert and other project planning activities. The activities includes a team formation with appropriate expertise, study area & betel leaf field selection, farmer selection, field visit day and time, and collection of samples from the field etc. Firstly, a team to be formed with appropriate expertise to accomplish the following activities: - i) Project area survey ii) Arrange workshop all stakeholders; iii) Field visit and select farmers; iv) Collect samples from the fields. The team member consists of 4 experts from different agencies 1) one expert from plant protection wing, DAE involved in exportation of betel leaf from Bangladesh; 2) One extension expert from World Vegetable Center (AVRDC), who have adequate knowledge in field visit and provide training to the farmers; 3) One horticulture expert from Bangladesh Agriculture Research Institute (BARI); 4) One expert from Bangladesh fruits and vegetables and allied products export association (BFVAPEA).

Study area & betel leaf farm selection (May 10, 2017):

The betel leaf study area was selected by considering the accessibility from Dhaka to reach the study area and come back to Dhaka in a day. There are many betel leaf farms in the proposed study districts. For farm selection, willingness of farmers to improve, & willingness and helping attitude of local DAE officials was also taken into account before selecting three study area in three districts, they are:-

1) Dist: Kushtia; Thana: Veramara; Village: Kulchera

2) Dist: Jhenaidah Thana: Shailkupa, Village: Uttar Putia
3) Dist: Barisal Thana: Ujirpur ; Village: Gutia

Farmer selection:

Forty (40) farmers (relatively new) from each location/village who were willing to produce safe betel leaf to get premium price were selected. Thus, total 120 farmers were selected for safe betel leaf production as per our guidance.

Field study Task 1:

Prior activities of scheduled project area survey:

a) **Traceability booklet collection:** The traceability booklet written in Bengali was collected from Mr. Monjurul Islam, Advisor, Bangladesh Fresh vegetables and allied products export Association (BVAPEA). Total 150 copies were kindly provided for the sake of this project. Mr. Harun-or-Rashid, laboratory assistant of CARS went to BVAPEA office at Fakirapool, Motijheel C/A to collect the booklet and bring to our office on May 07, 2017.

b) **Team formation (May 10th 2017):** A team was formed to accomplish the field survey and selection, farmer selection, collection of samples, and discussion with farmers to identify the problems. Mr. Monjurul Islam, Advisor, Bangladesh Fresh vegetables and allied products export Association (BVAPEA) committed to help this project voluntarily. The Team Member consist of the following 4 experts:

1) Dr. Nazim Uddin, post-harvest specialist, BARI
2) Dr. Razu Ahmed, Agriculture extension official, World Veg Center.
3) Ms. Quamrun Nahar, Plant protection Officials, DAE
4) Ms. Munni Ahmed, Women Entrepreneur of Agrofood Business

c) **Communication with Local DAE and Unnyan Dhara officials:** The team members communicated with local DAE officers and requested them to find new betel leaf farmers and their presence during the scheduled visit. The same request was made to Mr. Shahidul Islam, Executive director, Unnyan Dhara (a local NGO). Both the officials agreed and given their kind consent on this initiative.

d) **List of selected farmers at Jhinaidah, Kushtia, Barishal study area:** A total 120 farmers were selected in three districts. See Annex 10, 11 & 12 for the complete list.

Field study Task 2:

a) **Project area survey (Jhinaidah & Kushtia):** The expert team members were unanimously decided to visit Jhinaidah & Kushtia on May 19-21, 2017 to accomplish the following objectives:

b) **The objectives were:**

i) Conduct survey in project area to check the baseline information of the project area.

ii) Arrange workshop to ensure the presence of all actors of betel leaf supply chain to identify the challenges for exporting betel leaf

iii) Identify the contamination sources of betel leaf in collaboration with local Department of Agriculture Extension (DAE) officials

iv) Collect the sample from project area to evaluate the existing quality of the soil, irrigation water and betel leaf samples.

Inception meeting with farmers:

Photo: Images of first discussion meeting with farmers Ms. Quamrun Nahar, Plant protection Officials, DAE

c) Sample collection: Random sampling collection methods were followed. From Jhenaidah study area Total 33 samples of betel leaf (11), field soil (11) and irrigation water (11) samples were collected. From Kushtia similar numbers of each sample were collected aseptically into sterilized sample bags/containers and maintained the refrigeration temperatures in the project area and then transported to CARS laboratory on 22nd May for microbial analysis.

Images of field soil collection in Shailokupa, Jhenaidha for Lab test

6.2.1. Results of study area-1

Table 1: Microbial analysis of **betel leaf samples** collected from betel leaf cultivation lands at Jhenaidah study area

Sample No.:	Sample pH	Microbiological parameters					
		TABC	Coliform	E. coli		Salmonella sp.	
				BE	AE	BE	AE
1	4.65	5.59 ± 0.02	4.44 ± 0.04	<1.0	A	<1.O	A
2	4.39	5.64 ± 0.04	4.44 ± 0.06	<1.0	A	<1.0	A
3	4.58	5.07 ± 0.00	<1.0	<1.0	A	<1.0	A
4	5.01	5.45 ± 0.10	5.34 ± 1.38	<1.0	A	<1.0	A
5	4.77	5.67 ± 0.07	6.23 ± 0.00	<1.0	P	<1.0	A
6	4.96	4.57 ± 0.38	3.25 ± 0.51	<1.0	A	<1.0	A
7	4.51	4.74 ± 0.14	3.54 ± 0.14	<1.0	A	<1.0	A
8	4.50	5.72 ± 0.02	4.22 ± 0.26	<1.0	A	<1.0	A
9	4.36	5.30 ± 0.42	3.74 ± 0.01	<1.0	A	<1.0	A
10	4.66	4.98 ± 0.40	3.59 ± 0.00	<1.0	A	<1.0	A
11	4.19	6.47 ± 0.00	4.47 ± 0.85	<1.0	A	<1.0	A

Table 2: Microbial Quality of **soil samples** collected from betel leaf cultivation lands at Jhenaidah study area

Sample No.:	Sample pH	Microbiological parameters					
		TABC	Coliform	E. coli		Salmonella sp.	
				BE	AE	BE	AE
1	6.97	6.72 ± 1.02	5.24±0.91	<1.0	A	<1.0	A
2	5.93	6.5 ± 0.00	5.46±0.20	<1.0	P	<1.0	P
3	7.01	7.01 ± 0.08	5.39±0.35	<1.0	A	<1.0	A
4	7.32	6.77 ± 0.37	4.99±0.39	<1.0	P	<1.0	P
5	6.68	6.27 ± 1.60	5.67±0.09	<1.0	A	<1.0	A
6	6.93	6.5 ± 0.00	5.76±0.03	<1.0	A	<1.0	P
7	7.29	7.53 ± 1.32	5.20±0.0	<1.0	P	<1.0	P
8	7.00	6.8 ± 0.22	5.04 ± 0.11	<1.0	A	<1.0	A
9	7.14	7.52 ± 0.17	5.11 ± 0.50	<1.0	P	<1.0	A
10	6.33	7.21 ± 0.42	5.36 ± 0.17	<1.0	P	<1.0	A
11	6.78	6.65 ± 0.01	4.36 ± 0.39	<1.0	A	<1.0	A

Table 3: Microbial Quality of irrigation water samples **collected from betel leaf cultivation farmers at Jhenaidah study area**

Sample No.:	Sample pH	Microbiological parameters					
		TABC	Coliform	E. coli		Salmonella sp.	
				BE	AE	BE	AE
1	6.97	6.72 ± 1.02	5.24±0.91	<1.0	A	<1.0	A
2	5.93	6.5 ± 0.00	5.46±0.20	<1.0	P	<1.0	P
3	7.01	7.01 ± 0.08	5.39±0.35	<1.0	A	<1.0	A
4	7.32	6.77 ± 0.37	4.99±0.39	<1.0	P	<1.0	P
5	6.68	6.27 ± 1.60	5.67±0.09	<1.0	A	<1.0	A
6	6.93	6.5 ± 0.00	5.76±0.03	<1.0	A	<1.0	P
7	7.29	7.53 ± 1.32	5.20±0.0	<1.0	P	<1.0	P
8	7.00	6.8 ± 0.22	5.04 ± 0.11	<1.0	A	<1.0	A
9	7.14	7.52 ± 0.17	5.11 ± 0.50	<1.0	P	<1.0	A
10	6.33	7.21 ± 0.42	5.36 ± 0.17	<1.0	P	<1.0	A
11	6.78	6.65 ± 0.01	4.36 ± 0.39	<1.0	A	<1.0	A

Table 4: Betel leaf, irrigation water and field soil samples were collected from the following farmers Jhenaidah study area for microbial analysis

Sample No.	Farmers name	Village name	Details descriptions of the fields
01	Mr. Asadul	Bittipara	
02	Rafikul Islam	Bittipara	
03	Mr. Monjer Ali	Putimari	No information provided
04	Mr. Sekhandar	Putimari	Tall betel leaf tree, cowdung-50 kg applied to the field
05	Mr. Ashraful	Putimari	Betel leaf
06	Karim Mulla	Putimari	
07	Md. Nur-e-Alam Siddique	Putimari	
08	Md. Abdul Shafi	Putimari	
09	Md. Hassan	Putimari	Roadside land
10	Md. Dablu mandal	Kulchara	
11	Md. Kabir Uddin	Kulchara	No information provided
12	Masud Rana	Veramara	
13	Mr. Faruk	Veramara	Tall betel leaf tree
14	Mr. Miramul Islam	Veramara	
15	Mr. Jahangir Hossain	Veramara	Leaf

Microbial Quality of field soil samples (Shailokupa, Jhenaidha)

Sample No.:	Sample pH	Microbiological parameters					
		TABC	Coliform	*E. coli*		*Salmonella* sp.	
				BE	AE	BE	AE
1	6.97	6.72 ± 1.02	5.24±0.91	<1.0	A	<1.0	A
2	5.93	6.5 ± 0.00	5.46±0.20	<1.0	P	<1.0	P
3	7.01	7.01 ± 0.08	5.39±0.35	<1.0	A	<1.0	A
4	7.32	6.77 ± 0.37	4.99±0.39	<1.0	P	<1.0	P
5	6.68	6.27 ± 1.60	5.67±0.09	<1.0	A	<1.0	A
6	6.93	6.5 ± 0.00	5.76±0.03	<1.0	A	<1.0	P
7	7.29	7.53 ± 1.32	5.20±0.0	<1.0	P	<1.0	P
8	7.00	6.8 ± 0.22	5.04 ± 0.11	<1.0	A	<1.0	A
9	7.14	7.52 ± 0.17	5.11 ± 0.50	<1.0	P	<1.0	A
10	6.33	7.21 ± 0.42	5.36 ± 0.17	<1.0	P	<1.0	A
11	6.78	6.65 ± 0.01	4.36 ± 0.39	<1.0	A	<1.0	A

Presence of E.coli

Presence of Salmonella

Jhenaidah Soil Sample Analysis & recommendation

Pathogens of Interest	Detected in field number					
	F-2	F-4	F-6	F-7	F-9	F-10
Escherichia coli	Yes	Yes	-	Yes	Yes	Yes
Salmonella spp	Yes	Yes	Yes	Yes	-	-

This observation suggested that the field soil was grossly contaminated with animal feces in the study area.

Total number of soil samples was: 11
Contaminated field with pathogens were= 54 %

Field contaminated with E-coli= 45%
Field contaminated with Salmonella= 36%
Field contaminated with both pathogens= 27%

Immediate recommendation was:
1) Apply 1.0% (w/v) Eco powder in the field every alternative day in a week (3 days only) and after 7 days test the soil again.
2) Monitoring the field for animal entry into the field

d) Visual observation & recommendation by the team members

Applying Eco-powder in the soil

After recommended treatment

Application of 1.0% (w/v) Eco powder in the field every alternative day in a week (3 days only) using spray and after the treatment the results were.

Pathogens of Interest	Detected in field number					
	F-2	F-4	F-6	F-7	F-9	F-10
Escherichia coli	-	-	-	-	-	-
Salmonella spp	-	-	-	-	-	-

Monitoring of animal entry into the production field results

Animal types	Morning to noon	noon to sunset	Sunset to sunrise
Hens/goose/ birds	-	Hens 3 together 4:23 PM	Birds 5:00
Cats/dogs	-	-	Cats at sunset
Goats /cows	-	-	-

Results of study area-2

Table 1: Microbial quality of **soil samples** collected from betel leaf field during 1st visit to Kushtia study area on May 21th 2017.

Sample No.:	Sample pH	Microbiological parameters					
		TABC	Coliform	E. coli		Salmonella sp.	
				BE	AE	BE	AE
K1	6.78	6.32 ± 0.22	5.21±0.31	<1.0	A	<1.0	A
K2	5.89	6.45 ± 0.00	5.52±0.20	<1.0	P	<1.0	P
K 3	7.12	7.01 ± 0.08	5.43±0.25	<1.0	A	<1.0	A
K 4	7.22	6.57 ± 0.17	4.96±0.29	<1.0	P	<1.0	P
K 5	6.98	6.27 ± 0.10	5.74± 0.09	<1.0	A	<1.0	A
K 6	6.94	6.51 ± 0.00	5.75 ± 0.03	<1.0	A	<1.0	P
K 7	7.12	7.13 ± 0.22	5.29 ± 0.0	<1.0	P	<1.0	P
K 8	7.05	6.84 ± 0.22	5.14 ± 0.11	<1.0	A	<1.0	A
K 9	7.11	7.42 ± 0.17	5.11 ± 0.20	<1.0	P	<1.0	A
K 10	6.66	7.11 ± 0.43	5.16 ± 0.12	<1.0	P	<1.0	A
K 11	6.67	6.75 ± 0.01	4.86 ± 0.21	<1.0	A	<1.0	A

ii) Data Analysis and interpretation of the results:

The average total aerobic bacterial count was recorded in the range of 7.53 ± 1.32 to 6.58 ± 0.22 log CFU/g and coliform count was recorded in the range of 6.75 ± 0.14 to 5.15 ± 0.21 log CFU/g, in soil samples analyzed. Both the TABC and TCC were found within the standard level for Agriculture soil. On the other hand, *E. coli* which is an indicator bacterium of fecal contamination was observed in sample 6, 9 & 10 field soil samples, and *Salmonella* spp was found in sample 2, 4, 6 & 7 field soil samples observed after enrichment. Thus, 2, 4 & 7 field soil was found contaminated with both *Escherichia coli* and *Salmonella*. The pH of the soil sample was within the 6.29-7.53, which is standard pH of agriculture soil. This observation suggested that the field soil was grossly contaminated with animal feces.

Pathogens of Interest	**Detected in field number**					
	F-2	**F-4**	**F-6**	**F-7**	**F-9**	**F-10**
Escherichia coli	**Yes**	**Yes**	**-**	**Yes**	**Yes**	**Yes**
Salmonella spp	**Yes**	**Yes**	**Yes**	**Yes**	**-**	**-**

- Total number of soil samples was: 11;
- Contaminated field with pathogens were= 54 %
- Field contaminated with E. coli= 45%;
- Field contaminated with Salmonella= 36%
- Field contaminated with both pathogens= 27%

Immediate recommendations to the farmers were:

1) Apply 1.0% (w/v) Eco powder in the field every alternative day in a week (3 days only) and after 7 days test the soil again.
2) Monitoring the field for animal entry into the field

Eco-powder sent to Farmers:

The required amount of Eco-powder was sent to the farmers of field 2, 4 & 7 (*E. coli* and *salmonella* positive field) and 6, 9 & 10 through currier services and advised to spray 1.0% Eco-powder in the field to inactivate bacteria in the field soil. The user manual written in Bengali was also provided to AO at Jhinaidah. After 2 weeks of application of Eco-powder, the soil samples from 2, 4 & 5 field and 6, 9 & 10 were collected and analyzed.

Table: 2: Application of 1.0% (w/v) Eco powder in the field every alternative day in a week (3 days only) using spray and after the treatment the results were as follows:

Pathogens of Interest	**Detected in field number**					
	F-2	**F-4**	**F-6**	**F-7**	**F-9**	**F-10**
Escherichia coli	-	-	-	-	-	-
Salmonella spp	-	-	-	-	-	-

No pathogens were detected after application of 1.0% eco-powder. This finding suggested that eco powder were able to kill pathogens in the field. If eco-powder kills the pathogens in field soil, then what about the beneficial bacteria in the soil? This research questions comes? Thus need to solve by doing additional experiment. Thus a laboratory scale pot experiment was done to see the impact of CCa in inactivating beneficial bacteria in the field soil. Initial results showed that substantial reduction (4.0 log CFU/g) of Rizubium spp, Azotobacter, phosphobacter, pseudomonas spp was evident compared to control samples. Therefore, mixed microbial inoculums as activator was applied to readily recover of the soil health.

Table 3: Monitoring of animal entry into the production field results

Animal types	**Morning to noon**	**noon to sunset**	**Sunset to sunrise**
Hens/goose/ birds	-	**Hens 3 together 4:23 PM**	**Birds 5:00**
Cats/dogs	-	-	**Cats at sunset**
Goats /cows	-	-	-

For doing this experiment, five volunteers were contacted through Unnyan Dhara NGO, 2 of them were female volunteers, whom worked upto the sunset and 3 others (night guard) male volunteers watched whole 24-h. and the observation results showed that hens and stray cats enters into the betel leaf fields, which might be the reason of contamination. In addition, a group of birds were flying during the sunset over the field, might excrete feces and consequently contaminate the soil.

Table 3: Microbial quality of **irrigation water samples** collected from betel leaf field during 1st visit to Kushtia study area on May 19th 2017.

Sample No.:	**Sample pH**	**Microbiological parameters**					
		TABC	Coliform	*E. coli*		*Salmonella* sp.	
				BE	AE	BE	AE
1	6. 88	5.18 ± 0.0	2.8 ± 0.03	<1.0	A	<1.0	A
2	6.96	4.70 ± 0.0	<1.0	<1.0	A	<1.0	A
3	7.02	4.72 ± 0.31	3.12 ± 0.04	<1.0	A	<1.0	A
4	7.02	5.02 ± 0.0	2.75 ± 0.06	<1.0	A	<1.0	A
5	7.08	5.06 ± 0.0	2.84 ± 0.07	<1.0	A	<1.0	A

Results: All the irrigation sample was found acceptable and absence of E. coli and salmonella was evident at Jhenaidah project area. Therefore, more samples should be collected and tested from similar and other places year round to see the exact water quality round the year.

Table 1: Microbial quality of **betel leaf samples** collected from betel leaf field during 1st visit to Kushtia study area on May 19th 2017.

Sample No.:	Sample pH	Microbiological parameters					
		TABC	Coliform	E. coli		Salmonella sp.	
				BE	AE	BE	AE
1	4.55	5.50 ± 0.12	4.34 ± 0.04	<1.0	A	<1.O	A
2	4.32	5.44 ± 0.04	4.34 ± 0.06	<1.0	A	<1.0	A
3	4.51	5.67 ± 0.03	<1.0	<1.0	A	<1.0	A
4	5.23	5.15 ± 0.12	5.32 ± 0.18	<1.0	A	<1.0	A
5	4.34	5.47 ± 0.09	6.14 ± 0.00	<1.0	P	<1.0	A
6	4.67	4.47 ± 0.21	3.60 ± 0.31	<1.0	A	<1.0	A
7	4.77	4.24 ± 0.11	3.56 ± 0.14	<1.0	A	<1.0	A
8	4.65	5.62 ± 0.12	4.22 ± 0.26	<1.0	A	<1.0	A
9	4.56	5.35 ± 0.12	3.24 ± 0.01	<1.0	A	<1.0	A
10	4.60	4.68 ± 0.20	3.79 ± 0.00	<1.0	A	<1.0	A
11	4.70	6.77 ± 0.00	4.17 ± 0.25	<1.0	A	<1.0	A

Results: None of the sample tested found positive for *E. coli* and *Salmonella* initially. However, only one (No-5) sample was found positive for E. coli, which might be due to the contamination from the betel leaf handlers. Therefore, personal hygiene improvement and awareness on food safety is required to reduce this kind of contaminations.

RESULTS OF TASK-3

TASK 3:

a) **Project area survey (Barishal):** The expert team members were unanimously decided to visit Barishal on June 6-7, 2017 to accomplish the above mentioned objectives.

b) **Sample collection:** Total 24 samples were collected from Barishal aseptically. Random sampling methods were done. Each of 24 betel leaf, 24 soils and 24 irrigation water samples from Barishal into sterilized containers and maintained the refrigeration temperatures in the project area and then transported to CARS Laboratory on 8th June for microbial analysis.

c) **Visual observation & recommendation by the team members:** The team members find some betel leaf plants were infected with diseases at Barishal area and the pod of betel leaf was severely damages and spoiled. They also collected the diseased /infected betel leaf and given to our laboratory for identification.

We have isolated a fungus from the infected part of diseased betel leaf plant collected from Barishal project area. The fungus identified was *Phytophthora palmivora*, which was not found in the uninfected green parts of the plant. The photograph shows the fungi Phytophthora palmivora on Saboraud's Dextrose Agar medium supplemented with antibiotic.

Study area: Dist: Barisal Thana: Ujirpur ; & Village: Gutia

The following Sample was collected by Dr. Razu Ahmed visited the farmer's field, house and adjacent areas on June 7, 2017. Five representative samples of Betel leaf, 5 samples of irrigation water and 5 samples of betel leaf, and 5 samples field soil were collected. Farmers Name and address is given in the following Tables (from where betel leaf, soil and irrigation samples were collected).

Sample Number	Farmers Name & contact number	Village Name	Thana	District	Land size	comments
1	Mr. Karim Ullah	Gutia	Ujirpur	Barisal		
2	Rafiqul Islam	Gutia	Ujirpur	Barisal		
3	Md. Noor Alam Siddique	Gutia	Ujirpur	Barisal		
4	Md. Hasan	Gutia	Ujirpur	Barisal		
5	Md. Abdul Shafi	Gutia	Ujirpur	Barisal		

Sample collection:

Microbial Quality of field soil samples (Ujirpur Barishal)

Fig. Images of field soil collection in Ujirpur Barishal for Lab test

Table 1: Microbial Quality of Betel leaf samples of Ujirpur Barishal

Sample Number	Sample pH	Microbiological parameters (log CFU/g)					
		TABC	Colliform	*E. coli*		*Salmonella* spp.	
				BE	AE	BE	AE
01	5.10	6.64 ± 0.62	4.04 ± 0.14	<1.0	A	<1.0	A
02	5.02	5.84±0.04	3.78 ± 0.05	<1.0	A	<1.0	A
03	4.07	6.19 ± 0.22	3.85 ± 0.10	<1.0	A	<1.0	A
04	4.69	5.87 ± 0.14	3.34 ± 0.20	<1.0	A	<1.0	A
05	5.00	6.30 ± 0.42	4.23 ± 0.32	<1.0	A	<1.0	A

Results: The average total aerobic bacterial count and coliform count was recorded in the range of 6.64 ± 0.62 to 5.84 ± 0.04 log CFU/g and 4.23 ± 0.32 to 3.34 ± 0.20 log CFU/g, respectively. These values were slightly higher than that of recommended level. However, no *E.coli* or *Salmonella* spp was found in any of the sample tested even after enrichment. This

observation confirms that *E.coli* or salmonella was not present in the betel leaf tested. The pH of the betel leaf sample was within the 4.07-5.10, which is standard pH of betel leaf.

Irrigation water sample collection for Lab test

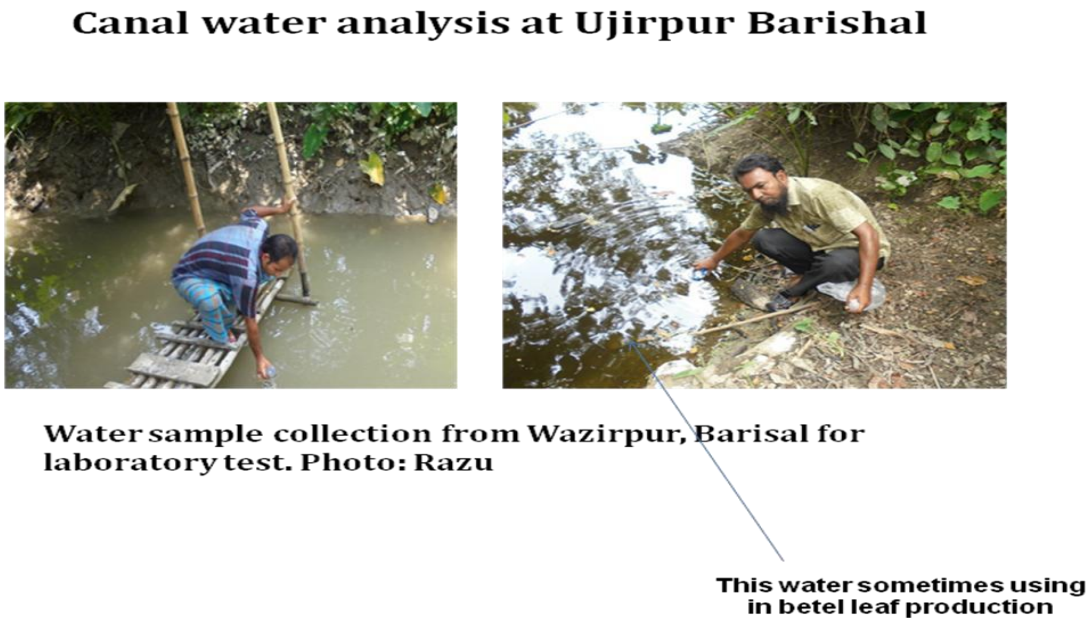


Table 2: Microbial Quality of irrigation water samples used in the study area

Sample No.:	Sample pH	Microbiological parameters					
		TABC	Coliform	*E. coli*		*Salmonella* sp.	
				BE	AE	BE	AE
1	6.59	6.38 ± 0.0	2.6 ± 0.07	<1.0	A	<1.0	P
2	6.87	3.84 ± 0.0	<1.0	<1.0	A	<1.0	A
3	6.97	3.82 ± 0.31	3.04 ± 0.04	<1.0	A	<1.0	A
4	7.02	3.00 ± 0.0	2.23 ± 0.0	<1.0	A	<1.0	A
5	7.14	3.00 ± 0.0	2.64 ± 0.0	<1.0	A	<1.0	A

Results: The average total aerobic bacterial count and coliform count was recorded in the range of 6.38 ± 0.00 to 3.00 ± 0.00 log CFU/g and 3.04 ± 0.32 to <1.0 log CFU/g, respectively in irrigation water samples. These values were slightly higher than that of recommended level for irrigation water. However, no *E.coli* or *Salmonella* spp was found in any of the irrigation water sample tested even after enrichment. This observation confirms that *E.coli* or salmonella was not present in the irrigation water sample tested. The pH of the irrigation water sample was within the 7.14-6.59, which is standard pH of irrigation water.

Table 3: Microbial analysis of soil samples from Betel leaf cultivation fields

Sample No.:	Sample pH	Microbiological parameters					
		TABC	Coliform	*E. coli*		*Salmonella* sp.	
				BE	AE	BE	AE
1	6.88	7.73 ± 0.36	5.15 ± 0.21	<1.0	A	<1.0	A
2	6.90	6.58 ± 0.22	5.3 ± 0.12	<1.0	A	<1.0	A
3	6.79	7.42 ± 0.59	5.3 ± 0.00	<1.0	A	<1.0	A
4	6.69	7.02 ± 0.25	6.67 ± 0.15	<1.0	A	<1.0	A
5	7.10	6.87 ± 0.38	6.75 ± 0.14	<1.0	A	<1.0	A

Results: The average total aerobic bacterial count and coliform count was recorded in the range of 7.73 ± 0.36 to 6.58 ± 0.22log CFU/g and 6.75 ± 0.14 to 5.15 ± 0.21 log CFU/g, respectively in soil samples. These values were slightly higher than that of recommended level for Agriculture soil. In addition, *E.coli* which is an indicator bacterium of fecal contamination was observed in sample 4 & 5 field soil. Furthermore, *Salmonella* spp was found in sample 2, 4 & 5 field soil of soil sample tested after enrichment. This observation suggested that the field soil was contaminated with animal feces. The pH of the soil sample was within the 7.10-6.69, which is standard pH of agriculture soil.

Recommendation: The farmers of field 2, 4 & 5 (E.coli and salmonella positive field) were advised to spray 1.0% Eco-powder in the field to inactivate bacteria in the field soil. The required amount of Eco-powder was sent to the farmers through currier services with methods of use the eco-powder. After 2 weeks of application of Eco-powder, the soil samples from 2, 4 & 5 field were collected and analyzed.

Action research (Trace back of farmers' field)

Table: The *Salmonella* and *E.coli* was detected in the soil samples collected from the following farmers land in the project area.

Project Area	Soil sample No	Name of farmer	Village	Upazilla	Districts
Wazirpur, Barisal	B2	Md. Rafiqul	Gutia	Wazirpur	Barisal
	B4	Md. Hasan			
	B5	Md. Abdul Shafi			
Shailokupa, Jhenaidha	J2	Md. Kabir Uddin	Kulchera	Shailokupa	Jhenaidha
	J9	Karim Mulla	Uttar Putia		
	J10	Masud Rana	Kulchera		
Veramara, Khustia	K4	Md. Ashraful	Veramara	Veramara	Khustia
	K7	Md. Asadul			

The Eco-powder was sent to those farmers (3 farmers at Barishal, 3 farmers at Jhenaidah, and 2 farmers at Kushtia) on July 17, 2017 for application in the field by spray methods and recommended dose rate 1.0% for every alternative day in a week (3 days only).

The procedure was also given to the farmers and Dr. Razu and I planned to visit the farmers on 25th July 2017. However, due to uninterrupted rain all over Bangladesh followed by flood, we were unable to go to field visit. Thus we were not able to do this experiment. Since this is field work and we need at least 7 consecutive sunny days to do this experiments. In addition, Eid-ul Adha started and completed on 7th September 2017. On 29th August, 2017, I myself visited Jhenaidah and Kushtia to give a demonstration on how to use the Eco-powder and their concentration, by spray methods. The farmers applied this spray on 3rd September 2017, and collected soil samples before spray and stored it at DAE official's refrigeration. We visited the field on 10th September, 2017 and collected the samples after 7 days of eco-powder applications. Both the samples were transported to CARS laboratory by maintaining the temperature in a cool box on 11th September, 2017.

After recommended treatment for Barishal

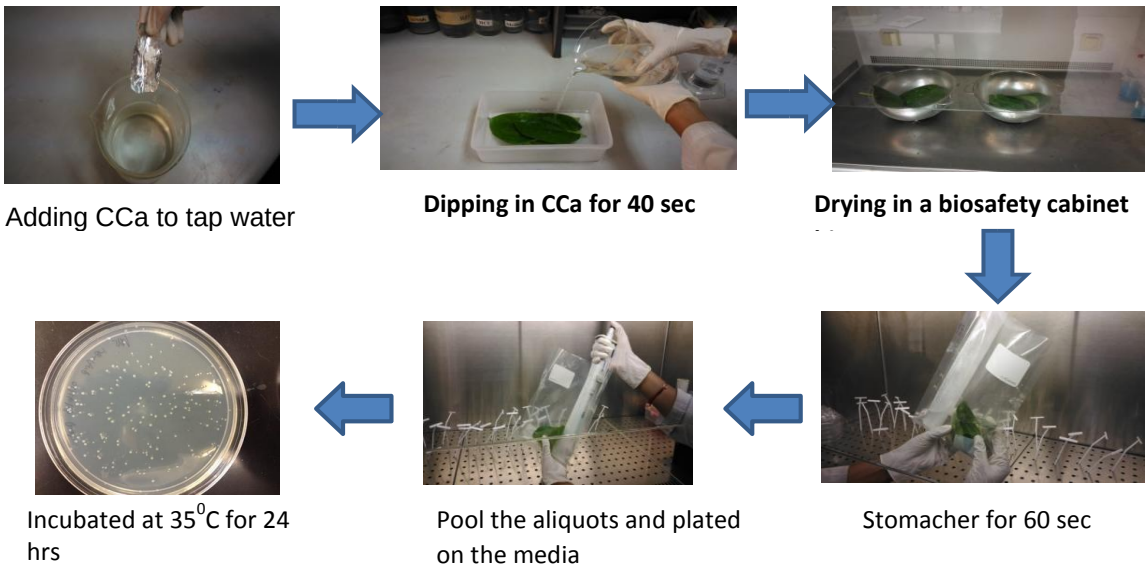
Application of 1.0% (w/v) Eco powder in the field every alternative day in a week (3 days only) using spray and after the treatment the results were.

Pathogens of Interest	Detected in field number				
	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5
Escherichia coli	-	Yes	-	Yes	Yes
Salmonella spp	-	-	-	Yes	Yes

Monitoring of animal entry into the production field results

Animal types	Morning to noon	noon to sunset	Sunset to sunrise
Hens/goose/ birds	-	Hens 3 together 4:23 PM	Birds 5:00
Cats/dogs	-	-	Cats at sunset
Goats /cows	-	-	-

Laboratory Scale washing betel leaf with sanitizers



Washing procedure

After reaching to the laboratory both of the samples were divided into two (20 leaves each) groups, among which one was kept unwashed to examine the load of surface microorganisms and the other groups were allowed to be washed for 2 mins with immediately prepared 0.01% CCa solution in sterile distilled water. Instantly after the CCa treatment all the samples were simply rinsed with sterile distilled water and allowed for air drying for 4 hrs on aseptic perforated trays.

Table 1: Microbiological analysis of treated and untreated betel leaf samples

Sample ID	Condition	Microbiological parameters						
		TABC	TCC		E. coli		Salmonella spp.	
			BE	AE	BE	AE	BE	AE
Monirul Jhenaidah	Unwashed	4.23	4.07	ND	<1.0	P	<1.0	P
	0.01% CCa wash	2.08	1.36	ND	<1.0	A	<1.0	A
Porshulah Kushtia	Unwashed	4.13	4.23	ND	<1.0	P	<1.0	P
	0.01% CCa wash	2.03	1.87	ND	<1.0	A	<1.0	A

TABC: Total aerobic bacterial count
TCC: Total coliform count
BE: Before enrichment
AE: After enrichment
P: Present
A: Absent

Conclusion task 1 2 & 3:

The results of this study suggested that, washing betel leaf samples with 0.01% CCa, was able to reduce resident aerobic bacteria, total coliform bacteria significantly and reduced pathogenic bacteria population to below detection limit. This finding suggested that all the 0.01% CCa solution used in this experiment could be useful in improving the safety and quality of betel leaf. Use of 0.01% CCa is preferable because CCa of its organic source of origin, biodegradablity without leaving any residual hazards to environment and human health compared to other synthetic sanitizers in worldwide use. Thus, the results of this study demonstrate the great potential of CCa as a substitute of chlorine for sanitizing fresh betel leaf.

ISOLATION OF FUNGI ASSOCIATED WITH FRESH & DISEASED BETEL LEAF

Table 4: List of fungi isolated from betel leaf.

Sl. No.	Name of fungi isolated from (Fresh leaf)	Name of fungi isolated from (diseased leaf)
1	*Aspergillus flavus*	*Aspergillus flavus*
2	*Colletotrichum gloeosporioides*	*Colletotrichum gloeosporioides*
3	*Cladosporium spp.*	*Curvularia lunata*
4	*Nigrospora spp.*	*Cladosporium spp.*
5	*Pestaloptiosis guepinii*	*Nigrospora spp.*
6	*T1(Sterile mycellia)*	*Pestalotiopsis* guepinii
7	*T2(Sterile mycellia)*	*Sterile mycelia*

4.1 Morphological characteristics of fungi

Pestalotiopsis spp. ***Colletotrichum spp.*** ***Nigrospora spp.***

Figure 4.2: Microscopic (Motic BA 200) view of different fungi.

Table 4.3: Morphological characteristics of fungi observed under microscope (Motic BA 200).

Type of fungi isolated in betel leaf	Hypha	Characteristic spore	Origin of spore
Aspergillus flavus	Typically radiate, later split to form loose columns, biseriate but had some heads with phialides born directly on the vesicle	Globose to subglobose, pale green and conspicuously echinulate were observed	Conidiophores were hyaline and coarsely roughened, more noticed near the vesicle
Colletotrichum gloeosporioides	Septate and oil globules.	Appressoria were clavate or irregular, sometimes becoming complex	Conidia were hyaline, straight and obtuse at the apex
Curvularia lunata	Septate, dematiaceous	Individual three or more transverse divisions or septa, curved appearance, having broad points at either end, middle of the curve is often larger than those toward the end	Conidiophores macronematous, mononematous, straight, flexous, often geniculate, sometimes nodose, brown, solitaryor in fascieles
Cladosporium spp.	Erect, straight or flexuose, unbranched or branched only in the apical region, with geniculate sympodial elongation	Dark spores are normally one to two celled and occur in long, branching chains	Conidiophores and conidia are equally pigmented, dark-pigmented conidia that are formed in simple or branching chains
Nigrospora spp.	Septate hyaline hyphae	A distinctive large, dark brown (nearly black), globose spore	Hyaline or slightly pigmented conidiophores and conidia
Pestalotiopsis guepinii	Septate, branched, dark brown, cylindrical or lageniform	Spores (conidia) 4- to 5celled, with the two or three central cells dark brown, and with two or more apical appendages or hairs	Conidia fusiform, straight or slightly curved, mostly 3 euseptate : basal cells hyaline, truncate, endogenous, cellular

Aspergillus flavus *Colletotrichum* *Pestalotiopsis*

Figure 4.4: Pure culture of fungi (A: *Aspergillus flavus*; B: *Colletotrichum gloeosporioides*; C: *Pestalotiopsis guepinii*).

4.5 Percent frequencies of fungi

Fungi are isolated from the betel leaves in different intervals and calculation of their percent frequencies are given in the table 4.15.

Table 4.6: Percent frequency of isolated fungi into fresh betel leaf of Borishal, Jhenaidah and Kushtia at different intervals**.**

		Name of the fungi	Per cent frequency of isolated fungi into fresh betel leaf of Barishal at different intervals (%)		
			18.03.18	22.03.18	25.03.18
Fresh betel leaf	Barishal	*Aspergillus flavus*	66.66	50	62.5
		Cladosporium spp.	-	16.66	-
		T_1(Sterile mycellia)	16.66	16.66	25
		T_2(Sterile mycellia)	16.66	16.66	12.5
	Jhenaidah	*Aspergillus flavus*	41.67	-	-
		Nigrospora spp.	41.67	-	-
		Pestaloptiosis guepinii	-	8.34	-
		Sterile mycelia	16.66	91.67	100
	Kushtia	*Aspergillus flavus*	60	53.84	50
		Colletotrichum gloeosporioides	20	-	14.28
		Sterile mycelia	13.33	30.76	-
		Sterile mycelia	6.66	15.34	35.71

"-" respective fungus did not show mycelia growth.

Table 4.6: Percent frequency of isolated fungi into diseased betel leaf of Barishal, Jhenaidah and Kushtia at different intervals**.**

	Name of the fungi		Per cent frequency of isolated fungi into fresh betel leaf of Jhenaidah at different intervals.		
			18.03.18	22.03.18	25.03.18
Diseased betel leaf	Barishal	*Colletotrichum gloeosporioides*	20	46.66	20
		Nigrospora spp.	-	13.33	10

		Curvularia lunata	13.33	13.33	10
		Aspergillus flavus	13.33	13.33	20
		Pestalotiopsis guepinii	26.67	6.66	30
		Cladosporium spp.	-	6.66	10
		T_1 Sterile mycelia	26.67	-	-
	Jhenaidah	*Colletotrichum gloeosporioides*	13.33	93.33	33.34
		Nigrospora spp.	40	-	8.33
		Curvularia lunata	20	-	8.33
		Pestalotiopsis guepinii	26.67	6.66	50
	Kushtia	*Aspergillus flavus*	6.67	6.67	13.34
		Colletotrichum gloeosporioides	40	33.34	6.66
		Nigrospora spp.	6.67	-	13.34
		Curvularia lunata	26.67	53.34	66.66
		Pestalotiopsis guepinii	13.33	6.67	-

Table 4.7: Comparative analysis of presence of fungas into fresh and diseased betel leaf of Barishal, Jhenaidah and Kushtia (%).

Name of the fungi		Average per cent frequency of isolated fungi (%)		
		Barishal	Jhenaidah	Kushtia
Fresh betel leaf	*Aspergillus flavus*	59.72	41.67	55
	Nigrospora spp.	-	41.67	-
	Pestaloptiosis guepinii	-	8.34	-
	Colletotrichum gloeosporioides	-	-	17
	Cladosporium spp.	16.66	-	-
	T_1(Sterile mycellia)	19.44	69.44	22.05
	T_2(Sterile mycellia)	15.27	-	35.71

Diseased betel leaf	*Colletotrichum gloeosporioides*	29	46.67	27
	Nigrospora spp.	11.66	24	10.01
	Curvularia lunata	12.22	14	48.89
	Aspergillus flavus	15.55	-	8.89
	Pestalotiopsis guepinii	21.11	27.78	10
	Cladosporium spp.	8.33	-	-
	T_2(Sterile mycelia)	26.67	-	-

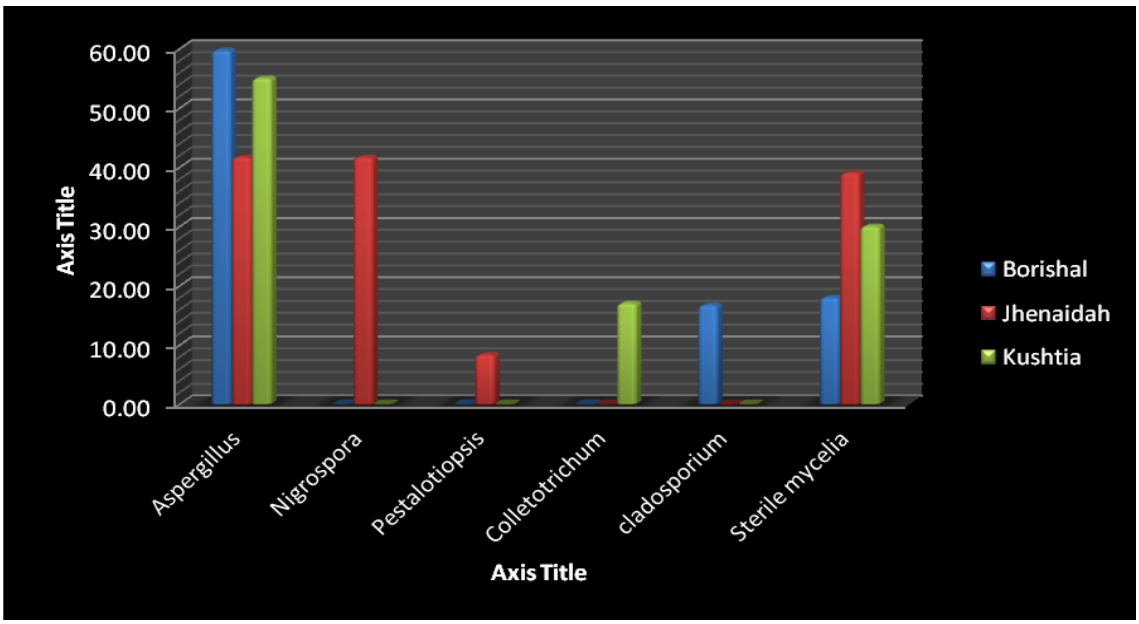


Figure 4.7: Mean per cent frequency of fungi associated with fresh betel leaf from Barishal, Jhenaidah, Kushtia.

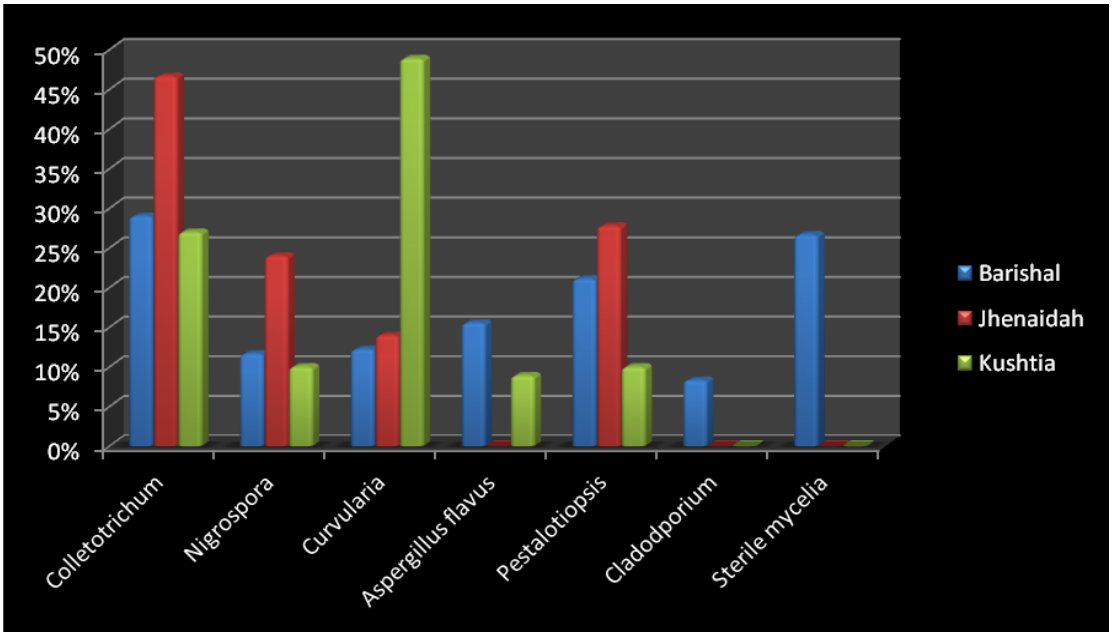


Figure 4.7: Mean per cent frequency of fungi associated with diseased betel leaf from Barishal, Jhenaidah and Kushtia (%).

From the above data it can be said that *Aspergillus flavus* is present at highest quantity but this fungus is not pathogenic. Pathogenic fungi *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, *Pestalotiopsis guepinii* are present in betel leaf of both Jhenaidah, Kushtia and Barishal district.

4.8 Evaluating effectiveness of sanitizers for fungi

Evaluation of effectiveness of chemical sanitizers (Calcinated calcium, 0.5% H_2O_2, 200 ppm chlorine) on *Cholletotrichum gloeosporioides, Curvularia lunata and Pestalotiopsis guepinii* is presented on table 4.8.

Table 4.8: Effectiveness of different sanitizers in eradicating fungi from betel leaf.

Sample ID	Non wash	Distilled water wash		Different sanitizers					
				0.01% CCA		0.5% H_2O_2		200 ppm Cl_2	
		BW	AW	BW	AW	BW	AW	BW	AW
Barishal	P	P	P	P	A	p	P	P	p
Jhenaidah	P	P	P	P	A	P	P	P	P
Kushtia	p	P	P	p	A	P	P	p	P

BW = Before wash, AW = After wash, CCa = Calcinated calcium, H_2O_2 = hydrogen peroxide, P = Presence of fungi, A = absence of fungi.

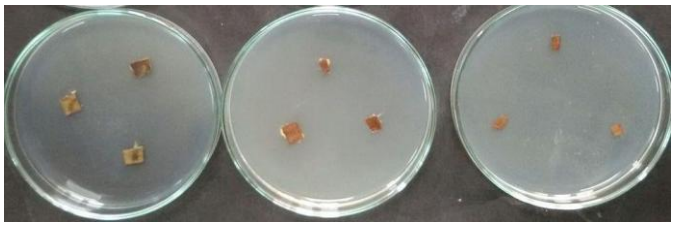


Figure 4.9: CCa treated betel leaves

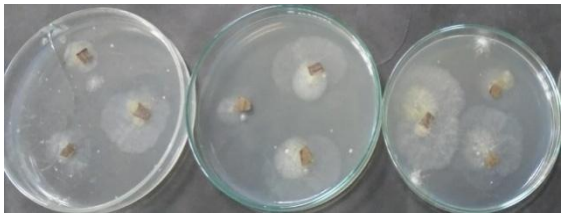


Figure 4.10: H_2O_2 treated betel leaves.

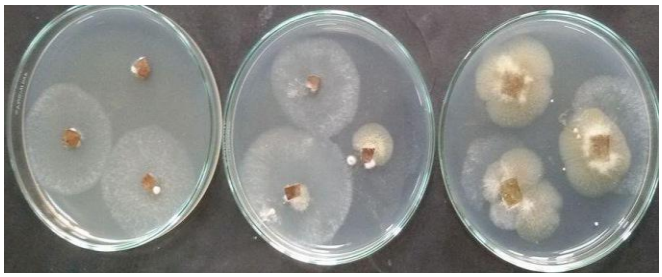


Figure 4.11: Cl_2 treated betel leaves.

From the result it is gained that calcinated calcium is an effective antifungal agent compared to hydrogen peroxide and chlorine. Hydrogen peroxide and chlorine cannot eradicate fungi completely from betel leaf.

6.2.2 Discussion

In Bangladesh, the existing production practices, irrigation water, holding containers and conditions, transportation, personal hygiene of producer, vendor and handlers throughout the value chain have the potentials to contaminate betel leaves. Besides production practices of betel leaf, washing the leaf is the last step to ensure safety of the leaf, thus have importance in reducing fresh produce borne illness, because washing step can either reduce or may contaminate vegetables depending on the quality of washing water. Washing water may become contaminated from food handlers, animals' manure and fecal sources. Many researchers identified washing is the critical point of contamination by bacteria including coliform, *Escherichia coli, Salmonella* spp., to the produce (Holvoet et al., 2012; Hernandez-Brenes, 2002, FAO/WHO, 1984). Thus, washing betel leaf with supply water is not sufficient to eliminate all the microorganisms from the betel leaf's surfaces. In addition, the environmental hazard present in the environment may attached to the surface of the produce which may cause degradation and spoilage of the produces (Oliveira, et al., 2011; Beuchat, L. R., 2002). Many studies reported that *E. coli, Salmonella* spp, etc. are among the pathogens that are mostly concern worldwide for fresh produce (CDC, 2007, 2008).

There are other sources of contamination like personal hygiene and handling practices of the vendor, the holding container used to sell betel leaf and the quality of spray water for keeping betel leaf fresh, these can cause cross contamination, and creating higher microbial loads in the betel leaf samples analyzed. In this study, soil and betel leaf samples were collected from the field of Jhenaidah, Kushtia and Barishal district. The study results revealed

that the soil samples containing Coliform (5.0 log CFU/g) with *E. coli, Salmonella* spp. and unwashed betel leaf samples were also contaminated with Coliform (5.0 log CFU/g); E. coli and *Salmonella* spp. (Table 4.1, 4.2, 4.3). Furthermore, some of these *Salmonella* spp. and E. coli are showing resistance against multiple antibiotics which is creating a challenging situation (Table 4.8, 4.9). *Salmonella* spp. are showing resistance against Amoxicillin (10 µg), Ampicillin (10 µg), Cefixime (30 µg), Erythromycin (15 µg), Tetracyclin (30 µg), Kanamycin (30 µg), Streptomycin (10 µg) etc. antibiotics. On the other hand, E. coli showing resistance against Amoxicillin (10 µg), Ampicillin (10 µg), Cefixime (30 µg), Erythromycin (15 µg), Kanamycin (30 µg) etc. antibiotics. After washing the betel leaf samples with different sanitizers, the calcinated calcium 0.01% and chlorine water 200 ppm was found more effective in eliminating microorganisms compare to other sanitizers such as 0.5% H_2O_2 used in this study (Table 4.4).

Calcinated calcium helps to eradicating bacterial spores of many gram positive and gram-negative bacteria. This is creating an alkaline environment after dissolving into distilled water and causes damage to the bacterial cell wall. Calcinated calcium is produced from CaO which has bactericidal action on bacterial cell wall (Sawai et al., 2001). This is cheaper and easy to get powder substance compared to other chemical sanitizers (0.5% H_2O_2, 200 ppm chlorine) which are expensive and having some harmful effects on people. The effectiveness of these sanitizers was evaluated by performing a challenge test with low inoculums of *E. coli* (~5 log CFU/g) and *Salmonella* spp. (~5 log CFU/g). The result of this challenge test showed that calcinated calcium is more effective compared to 0.5% H_2O_2 and chlorine solution (Table 4.5). In addition, fungi associated with diseased betel leaf and their percent frequencies of occurrence are shown in table 4.13. Total 8 fungi were isolated from the betel leaf. From these *Aspergillus flavus, Colletotrichum gloeosporioides, Curvularia lunata, Cladosporium spp., Nigrospora spp., Pestalotiopsis guepinii* were exclusively isolated from diseased betel leaf. Among the isolated fungi *Colletotrichum gloeosporioides, Curvularia lunata, Pestalotiopsis guepinii* were pathogenic to both for plants and humans (Hyde, K.D. et al, 2009).

Table 4.15 presenting the per cent frequency of fungi associated with fresh betel leaf from Jhenaidah, Kushtia and Barishal. Betel leaf samples of Jhenaidah and Kushtia contains *Pestalotiopsis guepinii* and *Colletotrichum gloeosporioides* respectively. Table 4.6 presenting the percent frequency of fungi associated with diseased betel leaf from Jhenaidah, Kushtia and Barishal. All of the samples from these districts contain pathogenic fungi *Colletotrichum gloeosporioides, Curvularia lunata, Pestalotiopsis guepinii* (Hyde, K.D. et al, 2009). Table 4.7 presenting comparative percent frequency of fungi associated with diseased betel leaf from these 3 districts. From that study it was observed that the highest frequency of *Colletotrichum gloeosporioides* and *pestalotiopsis guepinii* is found in Jhenaidah district and *Curvularia lunata* in Kushtia district. From above results it was observed that, highest percentage of *Colletotrichum gloeosporioides* was found in Jhenaidah > Borishal > Kushtia respectively. For *Curvularia lunata* the percentage ratio was Kushtia > Jhenaidah > Borishal respectively. For Pestalotiopsis guepinii the frequency ratio was Jhenaidah > Borishal and Kushtia respectively. So, it can be said that the percentage of pathogenic fungi is highest in Jhenaidah district compared to Kushtia and Barishal. After using different sanitizers (0.01% CCA, 0.5% H_2O_2, 200 ppm chlorine) it was observed that 0.01% CCA is more effective in eradicating fungus from betel leaf than 0.5% H_2O_2 and 200 ppm chlorine (Table 4.10).

So, it can be concluded that calcinated calcium possess both antibacterial and antifungal activity. It was observed that the soil samples as well as irrigation water of the study

area were contaminated with coliform, *E. coli* and Salmonella spp. therefore, microorganisms can be transffred to betel leaf, from field soil or from the irrigation water and some of these bacterial pathogens are showing resistance against multiple antibiotics. These betel leaves are also containing *Colletotrichum gloeosporioides, Curvularia lunata, Pestalotiopsis guepinii* etc. pathogenic fungi and use of 0.01% CCa is sufficient in eliminating both of the pathogenic bacteria and fungi. In Bangladesh, studies on betel leaf is limited and very small cultivable land to produce fresh betel leaves, on the other hand, people of Bangladesh like festival, programmes etc and betel leaf is a common item of any cultural programs. Thus, safe betel leaf to be produced for domestic consumption too.

6.2.3 Conclusion:

This research study finds that,

- The personal hygiene and handling practices of the vendor, the holding container were used to sell other vegetables, and the quality of spray water for keeping betel leaf fresh, is the source of cross contamination.
- The commercial betel leaf samples were found grossly contaminated with multiple pathogens that could lead to foodborn illness of the consumers.
- Washing commercial betel leaf with 0.01% CCa solution was found suitable to improve the safety and quality of betel leaf compared to distilled water, 0.5% H_20_2, 200 ppm chlorine etc.
- Plant extracts are able to control fungal growth of betel leaves.

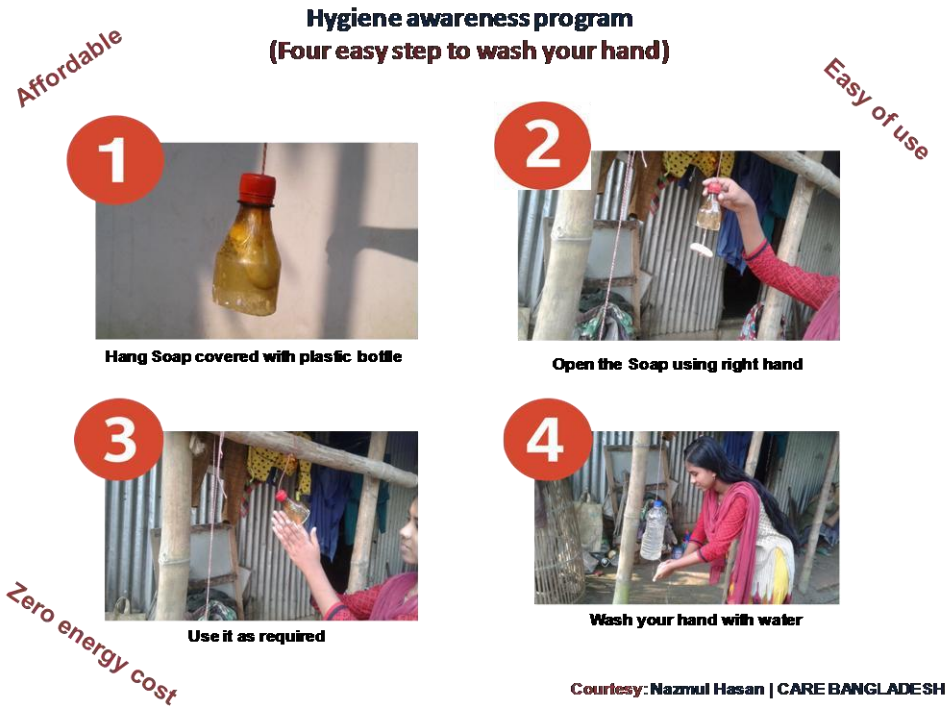
6.3. Awareness building program & Improvement of hygiene and sanitation (PART-B)

The tippy tap method:-

The tippy tap is a hands-free way to wash your hands that is especially appropriate for rural areas where there is no running water. It is operated by a foot lever and thus reduces the chance for bacteria transmission as the user touches only the soap. It uses only 40 millilitres of water to wash your hands versus 500 millilitres using a mug. Additionally, the used “waste” water can go to plants or back into the water table.

While the tippy tap is a great technology, it is just that – a technology. It is important to recognize that there is a difference between great technology and adoption of the technology. However, it is a great tool that can help kick start the conversation about hand washing with soap and helps increase this behavior and it does so in a fun and easy manner that is especially appealing to children.

The first ‘official’ tippy tap was built in the eighties by Dr. Jim Watt in Zimbabwe using a gourd. Since then, many variations have come into existence depending on local materials and aesthetics.



Awareness building program using Tippy Tap methods has been conducting in all the three project area in a regular basis to improve the personnel hygiene status of farmers and farmers started to use this simple technology in their fields. Following are the photo and video demonstration.

Awareness demonstration using Tippy top method

Awareness program on hand wash (Tippy top method) in Shailokupa, Jhenaidha

Awareness program on hand wash (Tippy Top method) in Veramara, Khustia

Establishment of Tippy tap hand wash method in the field

Set up of Tippy tap hand wash method at betel leaf field in Shailokupa, Jhenaidha

using this tool as it People started cost nothing!!

In Use at betel leaf farm

Do's or Don'ts awareness program for fields

The farmers are learning the technologies to produce safe betel leaf by seeing the signboard established in each study area. (Shailokupa, Jhenaidha).

Awareness build up by establishing the signboard in Veramar, Khustia

6.3.1. Recommendation and further requirement

- Although the field soil is grossly contaminated, but less contamination was evident in betel leaf samples.
- Irrigation water sometimes found contaminated thus sanitizer could be used to decontaminate water.
- Application of 1.0% CCa in the field was found effectively decontaminate the pathogens from the field.
- Monitoring water quality on a regular basis and maintaining improved personal hygiene could substantially reduce pathogens.
- Post harvest washing the betel leaf with CCa would be effective in killing pathogens than any other organic sanitizers at the laboratory scale.
- Thus, further research in washing the betel leaf by CCa at commercial scale need to be done to reproduce the data.

- Hands on training in washing practices, improved personal hygiene practices, availability of low-cost sanitizers are the main contributory factors in eliminating pathogens in betel leaf.

Conclusion:

Improving the safety and quality of fresh betel leaf production require integrated approach by combining, postharvest wash step, introduction of good cleaning and sanitization practices, and capacity building of farmers and stakeholders who directly involved in the value chain of Betel leaf.

Title of Project:	**Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving Safety and quality of high value exportable fresh betel leaf**		
Funding agency	**PIU-BARC-NATP2**		
Program Type	**Study area visit & workshop with farmers**		
Place	**Shailkupa , Jhenaidah** **Participants number: 40 persons**		
Date: 20 May 2017 (Saturday)			
Time	Activity	Proposed work to be considered	Facilitator
9:00 – 10:00	Field Visit at betel leaf field (Random 15 field)	New/ old field, Sanitation, drainage system, type of fertilizer, source of irrigation, pest status, presence of cow dung, fencing, animal presence	Project Team
10:00 –10:30	Farmer's house visit (random 3-5)	Sanitation condition of whole house, availability of soap at toilet, children's deification system, hand wash, use of cow dung, hand wash practice	
10:30–11:00	Snacks		
11:00 -13: 00	Discussion	Traceability booklet, *Salmonella & E-coli*, Sanitation in house & field, using fertilizer, export potential, export system	
13:00 –14:00	Lunch		

Annex-2

Title of Project:	**Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving Safety and quality of high value exportable fresh betel leaf**		
Funding agency	**PIU-BARC-NATP2**		
Program Type	**Study area visit & workshop with farmers**		
Place	**Veramara, Khustia** **Participants number: 40 persons**		
Date: 21 May 2017 (Sunday)			
Time	Activity	Proposed work to be considered	Facilitator
9:00 – 10:00	Field Visit at betel leaf field (Random 35 field)	New/ old field, Sanitation, drainage system, type of fertilizer, source of irrigation, pest status, presence of cow dung, fencing, animal presence	Project Team
10:00 –10:30	Farmer's house visit (random 3-5)	Sanitation condition of whole house, availability of soap at toilet, children's deification system, hand wash, use of cow dung, hand wash practice	
10:30–11:00	Snacks		
11:00 -13: 00	Discussion	Traceability booklet, *Salmonella & E-coli*, Sanitation in house & field, using fertilizer, export potential, export system	
13:00 –14:00	Lunch		

ANNEX-3

Title of Project:	**Effectiveness of non-chlorine sanitizers in improving Safety and quality of high value exportable fresh betel leaf**
Funding agency	**PIU-BARC-NATP2**
Program Type	**Study area visit & workshop with farmers**
Place	**Ujirpur, Barishal** **Participants number: 40 persons**
Date: 6-7 June, 2017 (Tuesday-Wednesday)	

Time	Activity	Proposed work to be considered	Facilitator
9:00 – 10:00	Field Visit at betel leaf field (Random 35 field)	New/ old field, Sanitation, drainage system, type of fertilizer, source of irrigation, pest status, presence of cow dung, fencing, animal presence	Project Team
10:00 –10:30	Farmer's house visit (random 3-5)	Sanitation condition of whole house, availability of soap at toilet, children's deification system, hand wash, use of cow dung, hand wash practice	
10:30–11:00	Snacks		
11:00 -13: 00	Discussion	Traceability booklet, *Salmonella & E-coli*, Sanitation in house & field, using fertilizer, export potential, export system	
13:00 –14:00	Lunch		

ANNEX-4

Shailokupa, Jhenaidha
Hygiene Awareness program Participants
Date: 20 October 2017

Sl. No	Name	Village	Cell No
1	Md. Bilal Hossein	Kulchara	01943149212
2	Md. Altaf Hossein	Kulchara	01964463688
3	Md. Hamidul Islam	Bittipara	01714670679
4	Md. Jahidul Islam	Bittipara	01993077535
5	Md. Shariful Islam	Bittipara	01689346203
6	Md. Ujir Hossain	Bittipara	01762275355
7	Md. Rafiqul Islam	Bittipara	01768092562
8	Md . Jhontu Hossain	Bittipara	01992212716
9	Md. Monirul Islam	Kajipara	01611758317
10	Mintu Hossain	Kajipara	01679337386
11	Md. Selim Hossain	Bittipara	01946849518
12	Osman Jorddar	Bittipara	Not Available
13	Md. Mojnu Biswas	Bittipara	01729540701
14	Md. Kobir Uddin	Kulchara	01709924265
15	Shafiuddin	Putimari	01739371750
16	Abdul Haque	Putimati	01626446235
17	Md. Rafiqul Islam	Putimari	01864556708
18	Karim	Putimati	01725081192
19	Md. Asadul	Bittipara	01986850384
20	Rebeka Khatun	Bittipara	01913170185
21	Md. Hassan	Putimari	01739371750
22	Md. Rahajuddin	Putimari	01928242173
23	Nur Alom Siddique	Putimari	01735889722
24	Monjer Ali	Putimari	01611266967
25	Modhu Biswas	Putimari	01915230243
26	Md. Boshir	Putimari	01915230243
27	Shafiqul Islam	Putimari	01957850820
28	Rahim Uddin	Kajipara	01879435550
29	Sattar Mondol	Kajipara	01795191295
30	Gomir Hossain	Kajipara	01727727862
31	Shahidul Islam	Kajipara	01913593742
32	Masum Uddin	Kajipara	01795191295
33	Md. Jahidul Islam	Kulchara	01912441519
34	Md. Dablu Mondol	Kulchara	01985804898
35	Md. Rafiqul Islam	Kulchara	01937871026
36	Md. Rajaul Islam	Kulchara	01728400020
37	Md. Kamrul Hassan	Kulchara	01757518586
38	Jahirul Islam	Kulchara	0192114414
39	Liton Mondol	Kulchara	Not Available

Annex-5

Veramara, Kushtia

Hygiene Awareness program Participants

Date: 21 October 2017

Sl. No.	Name of the farmer	Village	Cell No.
40	Md. Rohidul	Nawda Khemirdibar	01720686407
41	Bulbul	Nawda Khemirdibar	Not Available
42	Md. Abu Musa	Nawda Khemirdibar	01716279050
43	Alal Hossain	Nawda Khemirdibar	01750436423
44	Md. Jahangir	Nawda Khemirdibar	01749965973
45	Md. Anisur Rahman	Nawda Khemirdibar	01734662534
46	Md. Porosh Ullah	Nawda Khemirdibar	01735663262
47	Md. Siddik	Nawda Khemirdibar	01732070418
48	Asadul	Nawda Khemirdibar	01747312448
49	Mojammel	Nawda Khemirdibar	Not Available
50	Md. Jomirul	Nawda Khemirdibar	01779878223
51	Md. Atiar Rahman	Nawda Khemirdibar	01737101278
52	Rokibul	Nawda Khemirdibar	01749634275
53	Bacchu S/O Mojnu	Nawda Khemirdibar	01765182509
54	Siddiq	Nawda Khemirdibar	01916626776
55	Md. Haydar	Nawda Khemirdibar	Not Available
56	Md. Hamed	Nawda Khemirdibar	Not Available
59	Md. Surrjo mia	Nawda Khemirdibar	01927042446
60	Ayub Ali	Nawda Khemirdibar	01727034541
61	Md. Monjil, S/O late Mojir Uddin	Nawda Khemirdibar	Not Available
62	Alauddin	Nawda Khemirdibar	01719582455
63	Usman	Nawda Khemirdibar	01781325275
64	Jahangir	Nawda Khemirdibar	01753545569
65	Mamun	Nawda Khemirdibar	01735919083
66	Belal	Nawda Khemirdibar	01755878273
67	Asadul	Nawda Khemirdibar	01737813930
68	Ajadul	Nawda Khemirdibar	01723422193
69	Asmot Ali	Nawda Khemirdibar	01754865681
70	Ahad Ali	Nawda Khemirdibar	Not Available
71	Rejawl	Nawda Khemirdibar	01742134217
72	Md. Babul Ali	Nawda Khemirdibar	Not Available
73	Md. Ujjal Hossen	Nawda Khemirdibar	01932165434
74	Bacchu S/O Gofur	Nawda Khemirdibar	01731324086
75	Ziarul S/O Intaj Ali	Nawda Khemirdibar	01734210264
76	Monirul S/O Ishhaq	Nawda Khemirdibar	01747452627

x= no mobile phone

ANNEX-6

Export Association's initiatives
Betel leaves Export status 2018 (as of April 2018)

Sl.	Activities	Description	Remarks
1.	Selection of production site	With the help DAE Field Services Wing and Plant Quarantine Wing production site has been selected such as Kushtia- Hatia and Veramara Zinaidah- Sailokupa, RajshahiMohanpur Barisal-Uzirpur Tentative next site will be selected: Chuadanga, Bagerhat, Jessor, Sylhet, Chandpur, Moulovibazar, Munshiganj, Narshindhi, and Natore.	PQW and Association have been visited some places.
2.	Farmer selection and registration with exporter	By the help of UAO, 100 potential farmers have been selected cluster wise and lead farmer has been register with lead exporter.	Done
3.	Training	Primary awareness training has been completed in different selected areas	Continue
4.	Soil and irrigation water	Soil and irrigation water have been tested in some selected areas	Done
5.	Fertilization	Mustard oilcake has been used except cow dung.	Continue
6.	Inspection and Monitoring	Some field has been inspected by PQW and association. Some field have been monitored as identify the factor that cause of salmonella at production level.	Continue
7.	Sample collection and analysis	3 times sample has been collected from different selected field and analyzed, some has found contaminated with few salmonella sp and some sample has found no contamination. But when the sample has been washed with calcinated calcium the salmonella has removed.	Sample collection and analyzed according with the relevant standard of ISO and guide lines of Codex Alimentarius according to the reference method EN/ISO 6579
8.	Certification on food safety, issued and declared by competent gov authority that have to be attached	Present competent authority of Bangladesh is Institute of Public Health, Directorate General of Health Services, Ministry of Health and Family Welfare. Unfortunately, though they have modern equipment but yet they do not have specific man power in the section. Center for Advance Research in Sciences (CARS) of Dhaka University, Food microbiology lab are well equipped and have the right person but not yet accredited internationally. Prof. Dr. Latiful Bari has analyzed sample as ISO standard and guidelines of Codex Alimentarius according to the reference method EN/ISO 6579. WAFFEN Research Lab, Tejgaon Commercial Area, Dhaka is a private research professional organization is working on microorganism for food safety issues. Yet they applied	For sample analyzing we can use the lab ii and iii but competent authority Institute of Public Health must have to be issued certificate.

		for accreditation at BAB will take 2/3 months to get accredited. But they have sophisticated lab for detection of salmonella and reduction strategy.	
9.	Harvesting	At the time of harvest farmers will be used hand glove, harvesting dress, crates, use sanitizer, maintain HACCP roles and regulation so that betel leaf cannot be contaminated by bacterial salmonella. Harvesting will be conducted with the presence of SAAO.	To be done
10.	Transportation	Harvested betel leaf will be transported with cover van. The loaded van will be off loaded at Dhaka central pack house. Involve all the people need to be trained up for safe handling, transportation and post harvest management. All the way need to be used sanitizer so that betel leaf will free from salmonella.	To be done
11.	Washing, Sorting, Grading and Packing	At central pack house betel leaf will washed with calcinated calcium then washed with clean water and then selected trained worker will made final sorting grading and packing. Carton need to be sanitized before final packing. Plant Quarantine Officials will monitor the activities in central pack house.	To be done
12.	Phytosanitary Certificate	Finally plant quarantine officials will issue Phytosanitary Certificate subject to the health certificate issued from competent authority (Institute of Public Health) of Bangladesh on *Salmonella* status of the sample. Then the betel leaf will be ready for exporting to European countries including UK.	To be done

ANNEX-7

Activities of Bangladesh Fresh vegetables and Allied products export Association (BVAPEA) in response to the EU compliance of betel leaf export resumption

Mr. Monjurul Islam, Advisor, Bangladesh Fresh Vegetables and Allied Products Export Association (BVAPEA).

DD, export and association consultant are DD, export and SAAO, are busy with field visiting session with farmers visiting betel leaf field in Kushtia

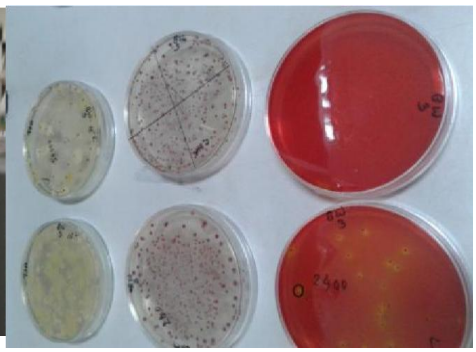
DD Plant Quarantine and Deputy Sec retary of Ministry of Commerce is visiting farmers field

observing how the traceability is recording in production level

DD Plant Quarantine exchange views with farmers during the training to farmers on how to control the *Salmonella* in field level

Laboratory work and visiting different laboratory to see the protocol of *Salmonella* detection and discussing EU compliance on betel leaf export to resume.

Sample collected from the field are hygienically marked and sent for microbial testing at CARS & Advisor of BFVAPEA is working at microbiology lab together with Ph.D. students at CARS. BCSIR.



Dr. Latiful Bari is discussing about the result Salmonella is being examined on findings and future plan for exporting betel leaf selective growth media to ensure the to EU countries, samples were contaminated or not.

ANNEX-8

Cross check of betel leaf microbial analysis report from two different laboratories

BFVAPEA Result

Dated: 11/03/2017

To
The advisor
Bangladesh Fruits, Vegetables &Allied Products Exporters association (BFVAPEA)

Dear Sir

In response to your letter Ref: BFVAPEA/3262/2017 on dated 06/03/2017, I am attaching herewith the analysis results of the supplied samples. The following are the results and its interpretation of the data of Betel leaf sample:

Results: A1 sample

Sample Name & ID; and sources
A1= Control. (no wash); A1= DW wash, ; A1= Treatment by BFVAPEA
A1= CARS CCa wash ; A1 Average weight betel leaf sample: 5.0 gm
A1 Sample pH (average): 4.805

Table 1: Microbiological analysis of betel leaf samples A1

Microorganisms	A1 (Log CFU/gm)							
	Control		DW Wash		Treatment by BFVAPEA		CARS CCa Wash	
	BE[1]	AE[2]	BE	AE	BE	AE	BE	AE
TABC	5.12 ±0.29	ND[3]	4.56 ± 0.03	ND	4.44 ± 0.27	ND	3.64 ± 0.22	ND
Coliform	<1.0	ND	<1.0	ND	2.06 ± 0.00	ND	<1.0	ND
E. coli	A[4]	A	A	A	A	A	A	A
Salmonella sp.	A	A	A	A	A	A	A	A

1= Before Enrichment (BE); 2= After Enrichment (AE); 3= Not Done (ND); 4= Absent (A) ; 5= Present (P)

Interpretation:

The microbial quality of supplied betel leaf samples (A1) was determined and the results were presented in Table 1. It was observed that on an average 5.12 log CFU/g of total aerobic bacteria population; less than detection level of coliform bacteria count was recorded in control betel leaf samples. Furthermore, neither the presence of *E. coli* or *Salmonella* spp., before and after enrichment was observed in the control betel leaf samples analyzed; this finding suggested that commercial betel leaf were of good quality. Washing the betel leaf samples with DW was able to reduce 0.5 log CFU/g of resident bacteria, and reduction of resident bacteria increased slightly with BFVAPEA treatment, and highest reduction 1.5 log CFU/g was observed with 0.01%CCa treatment. Interestingly, 2.0 log CFU/g of coliform bacteria was observed after BFVAPEA treatment, which might be working error in the laboratory or in the field. After enrichment no *E. coli* or *Salmonella* spp was observed in the non-treated or treated betel leaf sample. This finding suggested that

0.01% CCa could be able to reduce microorganisms better compared to BFVAPEA treatments.

Results: A2 sample

Sample Name & ID; and sources
A2= Control. (no wash): A2= DW wash.
A2= Treatment by BFVAPEA: A2= CARS CCa wash
A2 Average weight betel leaf sample: 5.0 gm
A2 Sample pH(average): 5.005

Table2: Microbiological analysis of betel leaf samples A2

Microorganisms	A1 (Log CFU/gm)							
	Control		DW Wash		Treatment		CCa Wash	
	BE	AE	BE	AE	BE	AE	BE	AE
TABC	4.95 ±0.28	ND	4.56 ± 0.01	ND	4.34 ± 0.07	ND	4.58 ± 0.01	ND
Coliform	<1.0	ND	<1.0	ND	<1.0	ND	<1.0	ND
E. coli	A	A	A	A	A	A	A	A
Salmonella sp.	A	P	A	A	A	P	A	A

1= Before Enrichment (BE); 2= After Enrichment (AE); 3= Not Done (ND); 4= Absent (A) ; 5= Present (P)

Interpretation:

The microbial quality of supplied betel leaf samples (A2) was determined and the results were presented in Table 2. Compared to A1 samples, irrespective of washing solution used less reduction of resident bacteria was observed in A2 sample. Coliform bacteria and E.coli was not observed throughout the study. On the other hand, salmonella was evident after enrichment in control and BFVAPEA treatment sample. However, CCa wash showed no *Salmonella* before and after the enrichment. This finding suggested that CCa were able to eliminate *Salmonella* spp. completely if present any.

Final comments: A1 sample is passed the International safety regulation however,

A2 sample did not pass as the sample contains *Salmonella* spp.

জীবনের জন্য বিজ্ঞান

BANGLADESH COUNCIL OF SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH (BCSIR)

বাংলাদেশ বিজ্ঞান ও শিল্প গবেষণা পরিষদ (বিসিএসআইআর)

Laboratories/Institute/Center: Institute of Food Science & Technology (IFST)

ANALYSIS REPORT

ASC Ref No	: Mar2017001022	Unit (Lab/Inst.) Ref No	: ifst366
Lab/Sample ID	: 1022	Number of Sample	: 1
Sample Description	: Test of Betel leaf A1	Test Commencement date	: 09/03/2017
Client's Details	: S. M. Jahangir Hossain BFVAPEA House#28/1/C, Culvert Road, Dhaka-1000	Test Completion date	: 21/03/2017

Details:

01	*Salmonella sp.* /25g	Not detected

Comments: Salmonella sp. was not detected in the supplied betel leaves sample.

21.03.17

Analyst
Md Nur Hossain
Scientific Officer
Institute of Food Science & Technology (IFST)
BCSIR, Dhaka-1205

22/3/17

Supervisor
MONZUR MORSHED AHMED
Principal Scientific Officer (PSO)
Institute of Food Science & Technology (IFST)
BCSIR, Dhaka-1205

22.3.17

Director/Officer In-Charge
Dr. Md. Zahurul Haque
Director (In-charge)
Institute of Food Science and Technology
BCSIR, Dhaka-1205

Note:

a. The results reported here is based only on the supplied sample's in this laboratory
b. Any complain about test report will not be acceptable after one month from the date of issuing of the said report.
c. This report/result shall not be reproduced/published without prior approval of the authority.

Analytical Service Cell (ASC)
Dr. Qudrat-I-Khuda Road, Dhanmondi, Dhaka-1205,Bangladesh
Telephone:9671108,Fax: 880-02-9671108 E-mail:asc@bcsir.gov.bd

21st of March 2017 10:26 AM

ANNEX-9

Visiting laboratories to be selected for betel leaf analysis

Visited DU, WAFFEN RESEARCH LAB and National Food Safety Lab, a team headed by Mr Ahsan Ullah, DAE, and These labs are doing sample research with the standard EN/ISO 6579

Team visited National Food Safety Laboratory and discussing about their standard

Head of DU, WAFFEN & NFSL laboratory has ensured they are capable to analysis with the standard EN/ISO 6579.

WAFFEN RESEARCH LAB, running by professionals is the best place to do the test was assumed

সংযুক্তি-১০

ঝিনাইদাহ জেলার, শৈলকুপা উপজেলায়, বিত্তিপারা গ্রা মের চু ক্তিবদ্ধ পান চাষিদের হালনাগাত তালিকা

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ধ কৃষকদের বছর ব্যপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
০১	নাম : মোঃ ঝন্টু বিশ্বাস পিতা : আইনাল বিশ্বাস গ্রাম : বিত্তিপারা উপজেলা : শৈলকুপা, জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৬২৫০০০৬৩২	সালমোলিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত,রপ্তানী যোগ্য পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০২	নাম : মোঃ আরশাদুল পিতা : মোঃ রাইহান গ্রাম : বিত্তিপারা উপজেলা : শৈলকুপা, জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯৩০৫৪৭৫০১	সালমোলিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত,রপ্তানী যোগ্য পান উৎপাদন	৩৩ শতক
০৩	নাম : মোঃ হামিদুল ইসলাম পিতা : মোঃ শফিমন্ডল গ্রাম : বিত্তিপারা উপজেলা : শৈলকুপা , জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৬৩০৮৩৮৩৯০	সালমোলিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত,রপ্তানী যোগ্য পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০৪	নাম : মোঃ জাহিদুল ইসলাম পিতা : ইসরাত আলী গ্রাম : বিত্তিপারা উপজেলা : শৈলকুপা,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯৪৬৮৪৫৯১৮	সালমোলিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত,রপ্তানী যোগ্য পান উৎপাদন	১০০ শতক
০৫	নাম : মোঃ সেলিম মন্ডল পিতা : টাফসার আলী গ্রাম : বিত্তিপারা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭৬৮০৯২৫৬২	সালমোলিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত,রপ্তানী যোগ্য পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০৬	নাম : মোঃ উজির আলী পিতা : মোহাম্দ আলী গ্রাম : বিত্তিপারা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : 01986850384	সালমোলিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত,রপ্তানী যোগ্য পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০৭	নাম : মোঃ মনজু বিশ্বাস পিতা : খোরশেদ বিশ্বাস গ্রাম : বিত্তিপারা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯১৩১৭০১৮৫	সালমোলিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত,রপ্তানী যোগ্য পান উৎপাদন	৪৫ শতক
০৮	নাম : মোঃ রফিকুল ইসলাম পিতা : মোনাফ উদ্দিন গ্রাম : বিত্তিপারা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯২৫৫৫১২৪৩	সালমোলিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত,রপ্তানী যোগ্য পান উৎপাদন	৮০ শতক
০৯	নাম : মোঃ শরিফুল উসলাম পিতা : মোঃ গনি সরদার গ্রাম : বিত্তিপারা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৬৮৯৩৪৬২০৩	সালমোলিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত,রপ্তানী যোগ্য পান উৎপাদন	৩৩ শতক
১০	নাম : রেবেকা বেগম পিতা : মোঃ জহর আলী মন্সী গ্রাম : বিত্তিপারা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯২৫৫৬১২৪৩	সালমোলিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত,রপ্তানী যোগ্য পান উৎপাদন	৫০ শতক
মোট	১০ জন চাষী মিলে একটি গ্রপ নং-১	মোট জমি	=৬০৯ শতক

ঝিনাইদাহ জেলার, শৈলকুপা উপজেলায়, কুলচরা গ্রামের চুক্তিবদ্ধ পান চাষিদের হালনাগাত তালিকা

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ধ কৃষকদের বছর ব্যাপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
০১	নাম : মোঃ জহিরুল ইসলাম পিতা : বিশ্বাস মন্ডল গ্রাম : কুলচরা উপজেলা : শৈলকুপা, জেলা ঝিনাইদা মোবাইল :০১৭৩৪১৮৬৬৯২	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
০২	নাম : মোঃ কামরুল হাছান পিতা : মোঃ আবুল মন্ডল গ্রাম : কুলচরা উপজেলা : শৈলকুপা, জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯৮৫৮০৪৮৯৮	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
০৩	নাম : মোঃ রেজাউল ইসলাম পিতা : মোঃ উমবাত মন্ডল গ্রাম : কুলচরা উপজেলা : শৈলকুপা , জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭৫৭৫১৮৫৮৬	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪৫ শতক
০৪	নাম : মোঃ আফতাব হোসেন পিতা : জায়নুল উদ্দিন গ্রাম : কুলচরা উপজেলা : শৈলকুপা,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯৬৪৪৬৩৬৮৮	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০৫	নাম : মোঃ কবির উদ্দিন পিতা : টুকাল মন্ডল গ্রাম : কুলচরা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭০৯৯২৪২৬৫	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
০৬	নাম : শ্রিরি বিপুল সাহ পিতা : শ্রিরি মনরনজন সাহ গ্রাম : কুলচরা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭৩৫১৩৯৪২৫	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
০৭	নাম : মোঃ রফিকুল ইসলাম পিতা : মোঃ আনোয়ার হোসেন গ্রাম : কুলচরা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭৩৫১৩৯৪২৫	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
০৮	নাম : মোঃ জহিরুল ইসলাম পিতা : মোঃ মোরশেদ গ্রাম : কুলচরা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭২৮৫৪৪২৪০	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
০৯	নাম : মোঃ লিটন মিয়া পিতা : মোঃ অহেদ গ্রাম : কুলচরা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯৫০৪২০৬৭০	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
১০	নাম : মোঃ ডাবলুর রাহমান পিতা : মোঃ মাহাবুব গ্রাম : কুলচরা উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯৯৭০৯৯২৪৮৪	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
মোট	১০ জন চাষী মিলে একাট গ্রপ নং -২	মোট জমি	=৩৭৩ শতক

ঝিনাইদাহ জেলার, শৈলকুপা উপজেলায়, কাজী পাড়া গ্রা মের চু ক্তিবদ্ব পান চাষিদের হালনাগাত তালিকা

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ব কৃষকদের বছর ব্যপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
০১	নাম : মোঃ রহিম উদ্দিন পিতা : মোঃ রবিউল ইসলাম গ্রাম : কাজী পাড়া উপজেলা : শৈলকুপা, জেলা ঝিনাইদা মোবাইল :০১৮৭৯৪৩৫৫৫০	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০২	নাম : মোঃ সাইদুল ইসলাম পিতা : মোঃ তাজুল ইসলাম গ্রাম : কাজী পাড়া উপজেলা : শৈলকুপা, জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯৩৬৬৫৪৬৫৬	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫৫ শতক
০৩	নাম : মোঃ শহিদূল পিতা : মোঃ এহাছান গ্রাম : কাজী পাড়া উপজেলা : শৈলকুপা , জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯১৩৫৯৩৭৪২	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
০৪	নাম : মোঃ ছাত্তার মন্ডল পিতা : হোসেন আলী গ্রাম : কাজী পাড়া উপজেলা : শৈলকুপা,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭৯৫১৯১২৯৫	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	১০০ শতক
০৫	নাম : মোঃ আবদূল রাজ্জাক পিতা : রহিম মন্ডল গ্রাম : কাজী পাড়া উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭৩১৫৪৭৬০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	১০০ শতক
০৬	নাম : মোঃ ইমদাদুল পিতা : নেয়াব আলী গ্রাম : কাজী পাড়া উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭২৭৭২৭৮২৬	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০৭	নাম : মোঃ মাছুম উদ্দিন পিতা : মোঃ মষ্টু মন্ডল গ্রাম : কাজী পাড়া উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭৯৫১৯১২৯৫	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
মোট	০৭ জন চাষী মিলে একাট গ্রপ নং -৩	মোট জমি	=৪৮৬ শতক

ঝিনাইদাহ জেলার, শৈলকুপা উপজেলায়, পুটিমারী গ্রামের চুক্তিবদ্ব পান চাষিদের হালনাগাত তালিকা

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ব কৃষকদের বছর ব্যপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
০১	নাম : মোঃ মধু বিশ্বাস পিতা : মোঃ তাজুল বিশ্বাস গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা, জেলা ঝিনাইদা মোবাইল :০১৯১৫২৩০২৪৩	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০২	নাম : মোঃ বছির উদ্দিন পিতা : মোঃ তাজুল বিশ্বাস গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা, জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯১৫২৩০২৪৩	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
০৩	নাম : মোঃ সেকান্দার পিতা : মোঃ আকবর বিশ্বাস গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা , জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯৩৩৯০৭৩৮১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৭৫ শতক
০৪	নাম : মোঃ আফতাব হোসেন পিতা : জায়নুল উদ্দিন গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯৬৪৪৬৩৬৮৮	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
০৫	নাম : মোঃ আশরাফুল পিতা : মোঃ মুকুল বিশ্বাস গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৬১১৪২৪৭২৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০৬	নাম : মোঃ আবদুল ওহাব (হাক) পিতা : মোঃ রামজান মন্ডল গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৬২৬৪৪৬২৩৫	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
০৭	নাম : মোঃ মনজুর আলী পিতা : মোঃ রমজান মন্ডল গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৬১১২৬৬৯৬৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০৮	নাম : মোঃ হাছান পিতা : মোঃ মহিউদ্দিন মুনসী গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭৩৯৩৭৩২৫০	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৮০ শতক
০৯	নাম : মোঃ নজরুল ইসলাম পিতা : মোঃ কিসমত আলী গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭৪৫৮৮৯৭২২	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
১০	নাম : মোঃ রফিকুল ইসলাম পিতা : মোঃ কিসমত আলী গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা ,জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৮৬৪৫৫৬৭০৮	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক

ঝিনাইদাহ জেলার, শৈলকুপা উপজেলায়,পুটিমারী গ্রামের চুক্তিবদ্ব পান চাষিদের হালনাগাত তালিকা

নং	কৃষকদের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ব কৃষকদের বছর ব্যপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
১১	নাম : মোঃ শফিকুল ইসলাম পিতা : মোঃ মজিবুর রহমান গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা, জেলা ঝিনাইদা মোবাইল :০১৬১১৪২৪৭২৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪৫ শতক
১২	নাম : মোঃ করিম মোল্লা পিতা : মোঃ ইসরাত আলী গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা, জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৭২৫০৮১১৯২	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
১৩	নাম : মোঃ আবদুল শফি পিতা : মোঃ মোগবুল হোসেন গ্রাম : পুটিমারী উপজেলা : শৈলকুপা , জেলা ঝিনাইদা মোবাইল : ০১৯২৮২৪২১৭৩	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	১০০ শতক
মোট	১৩ জন চাষী মিলে একাট গ্রপ নং -৪	মোট জমি	=৭১৩ শতক

কুষ্টিয়া জেলার,ভেড়ামারা উপজেলায়,বিভিন্ন গ্রামের চুক্তিবদ্ধ পান চাষিদের হালনাগাত তালিকা

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ধ কৃষকদের বছর ব্য উৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
০১	নাম : মোঃ খাইরুল হক পিতা : মোঃসাফের আলী গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল :০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
০২	নাম : মোঃ আল্লাল হক পিতা : মোর্ঃ আনেজ আলী গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা :ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩০ শতক
০৩	নাম : মোঃ ছিদ্দিক হোসেন পিতা : মোঃ চাদ আলী গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৮০ শতক
০৪	নাম : মোঃ আহাদ আলী পিতা : মোঃ গোলাম মোল্লা গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
০৫	নাম : মোঃ ছিদ্দিক (১) পিতা : রহিম বক্স গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
০৬	নাম : মোঃ হামেদ আলী পিতা : মোঃ হাফিজ উদ্দিন গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
০৭	নাম : মোঃ হায়দার আলী পিতা : মোঃ মোফফর আলী গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০৮	নাম : মোঃ আবু মুছা পিতা : মোঃ আকুল সরদার গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
০৯	নাম : মোঃ রফিকুল ইসলাম পিতা : মোঃ রেজাউল গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
১০	নাম : মোঃ রকুল পিতা : মোঃ আমছের আলী গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
	চলমান পাতা -২		

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ধ কৃষকদের বছর ব্যাপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
১১	নাম : মোঃ বাবলু বারী পিতা : মোঃ সেকান্দার গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল :০১৮	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
১২	নাম : মোঃ মনজু পিতা : মোর্ঃ মাজাহার গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা :ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৯	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২৫ শতক
১৩	নাম : মোঃ ছিয়াদ আলী পিতা : মোঃ আবু নুর গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
১৪	নাম : মোঃ হামেদ আলী (২) পিতা : মৈাঃ সাহাদাৎ গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
১৫	নাম : মোঃ আনিছ উদ্দিন পিতা : মোঃ শহিদুল গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
১৬	নাম : মোঃ আক্কাছ আলী পিতা : মোঃ ফরিদ সরদার গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
১৭	নাম : মোঃ সোহেল পিতা : মোঃ সাইদুর গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
১৮	নাম : মোঃ ফারুক হোসেন পিতা : মোঃ ওহেদ আলী গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
১৯	নাম : মোঃ মামুন পিতা : মোঃ জিন্নাহ গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
২০	নাম : মোঃ বিল্লাল হোসেন পিতা : মোঃ আবদুল মান্নান গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
	চলমান পাতা -৩	৫	

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ধ কৃষকদের বছর ব্যপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
২১	নাম : মোঃ আনিছুর রহমান পিতা : মোঃ রাহাত আলী গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল :০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
২২	নাম : মোঃ আরিফ পিতা : মোঃ আবুল কালাম গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা :ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
২৩+	নাম : মোঃ আক্কাস উদ্দিন পিতা : মোঃ আইয়ুব গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
২৪	নাম : মোঃ পরশ উল্লাহ পিতা : মোঃ হান্নান গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
২৫	নাম : মোঃ জাহানগীর পিতা : মোঃ সিরাজ গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২৫ শতক
২৬	নাম : মোঃ আতিয়ার রহমান পিতা : মোঃ রজব গাইন গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২৫ শতক
২৭	নাম : মোঃ জাহানগীর হোসেন পিতা : মোঃ নুরু মিয়া গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
২৮	নাম : মোঃ সুর্য মিয়া পিতা : মোঃ মোজ্জামেল গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
২৯	নাম : মোঃ আসাদুল পিতা : মোঃ উজির মোল্লা গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
৩০	নাম : মোঃ উজ্জল হোসেন পিতা : মোঃ সাত্তার গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
মোট		মোট জমি	

কুষ্টিয়া জেলার,ভেড়ামারা উপজেলায়,বিভিন্ন গ্রামের চুক্তিবদ্ব পান চাষিদের হালনাগাত তালিকা

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ব কৃষকদের বছর ব্যাপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
৩১	নাম : মোঃ রহিদুল পিতা : মোঃ সাদ আলী গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল :০১৮	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
৩২	নাম : মোঃ শহিদ পিতা : মোঃ মোজাফফর গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা :ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৯	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
৩৩	নাম : মোঃ হান্নান পিতা : মোঃ আবদুল মান্নান গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
৩৪	নাম : মোঃ আমিরুল পিতা : মোঃ আবজাল গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
৩৫	নাম : মোঃ জামিরুল ইসলাম পিতা : মোঃ আবজাল গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
৩৬	নাম : মোঃ মতিউর পিতা : মোঃ গফুর মিয়া গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩৩ শতক
৩৭	নাম : মোঃ আলী পিতা : মোঃ আহাদ আলী গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
৩৮	নাম : মোঃ আলাউদ্দিন পিতা : মোঃ শরিফ উদ্দিন গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
৩৯	নাম : মোঃ হায়দারমত আলী পিতা : মোঃ জলীল উদ্দিন গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
৪০	নাম : মোঃ আসমত আলী পিতা : মোঃ হাফিজ উদ্দিন গ্রাম : নওদা খেমিদিয়া উপজেলা : ভেড়ামারা, জেলা কুষ্টিয়া মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
মোট	৪০ জন চাষী মিলে একাট গ্রপ নং - ১	মোট জমি	=১,৭২৭ শতক

বরিশাল জেলার, উজিরপুর উপজেলায়,বিভিন্ন গ্রামের চুক্তিবদ্ধ পান চাষিদের হালনাগাত তালিকা

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ধ কৃষকদের বছর ব্যাপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
০১	নাম : বিজয় হালদার পিতা : তাবক হালদার গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল :০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৭০ শতক
০২	নাম : জতিন হাওলাদার পিতা : জতিন্দ্র হালদার গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
০৩	নাম : মোঃ মোতালেব খান পিতা : মোঃ গোলাম খান গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	১০০ শতক
০৪	নাম : সুশান্ত হালদার পিতা : হেমন্ত হালদার গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২০ শতক
০৫	নাম : আনিছ খান পিতা : রতন খান গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	১০০ শতক
০৬	নাম : আজিজ খান পিতা : শরিফ আলী খান গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
০৭	নাম : দিনেশ বেপারী পিতা : দেবন্দ্র নাত বাপারী গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
০৮	নাম : সংকর হালদার পিতা : হেমন্ত হালদার গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩০ শতক
০৯	নাম : সুজাতা বাপারী পিতা : গোরংগ বাপারী গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩০ শতক

১০	নাম : বেবী মিঃএ পিতা : সুদাংস মিঃএ গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২০ শতক
	চলমান পাতা -২		৫০০

বরিশাল জেলার,উজিরপুর উপজেলায়,বিভিন্ন গ্রামের চুক্তিবদ্ধ পান চাষিদের হালনাগাত তালিকা

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ধ কৃষকদের বছর ব্যপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ ।	জমির পরিমান
১১	নাম : সুবোধ হালদার পিতা : জামিনী হালদার গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল :০১৮	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
১২	নাম : সুরেশ বাপারী (২) পিতা : হেমন্ত বাপারী গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৯	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
১৩	নাম : গীতা রানী পিতা : রতন গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২০ শতক
১৪	নাম : নুরু রারী পিতা : নাজীর রারী গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩০ শতক
১৫	নাম : ফরিদ দফাদার পিতা : জাবেদ আলী গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২০ শতক
১৬	নাম : শিবু প্রসাদ পিতা : সুবাস দালদার গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৩০ শতক
১৭	নাম : আজিজ খান (১) পিতা : কছর উদ্দিন খান গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৮০ শতক
১৮	নাম : বেল্লাল হাং পিতা : মান্নান হাং গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক

১৯	নাম : গৌতাম দাস পিতা : মধুসুদন দাস গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	১০০ শতক
২০	নাম : বেবী রানী পিতা : শুসান্ত হালদার গ্রাম : নিত্যনন্দি উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
	চলমান পাতা -৩		৪৭০

বরিশাল জেলার, উজিরপুর উপজেলায়,বিভিন্ন গ্রামের চুক্তিবদ্ব পান চাষিদের হালনাগাত তালিকা

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ব কৃষকদের বছর ব্যাপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
২১	নাম : গৌতাম দাস (১) পিতা : মধুসুদন দাস গ্রাম : গুটিয়া উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল :০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	১০০ শতক
২২	নাম : মোঃ রফিক হাং পিতা : মোঃ সালাম হাং গ্রাম : গুটিয়া উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২০ শতক
২৩	নাম : নুরু হাওলাদার পিতা : মোঃ সুলতান হাওলাদার গ্রাম : গুটিয়া উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
২৪	নাম : মোঃ শাহিন হাওলাদার পিতা : মোঃ সুলতান হাওলাদার গ্রাম : গুটিয়া উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
২৫	নাম : মোঃ লুৎফুর কবির পিতা : মোঃ আবদুল কাদের হওলাদার গ্রাম : গুটিয়া উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২০ শতক
২৬	নাম : মোঃ ইছাহাক হাঁলাদান পিতা : মোঃ আবদুল ছোবাহান গ্রাম : সংকর পুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২০ শতক
২৭	নাম : মোঃ জজিল পিতা : মোঃ হাছান উদ্দিন গ্রাম : সংকর পুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক

২৮	নাম : মোঃ দুলাল পিতা : মোঃ আবদুল ছোবাহান গ্রাম : সংকর পুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
২৯	নাম : মোঃ আবুল বাসার পিতা : মোঃ হাছান উদ্দিন গ্রাম : সংকর পুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
৩০	নাম : মোঃ বশির হাওলাদার পিতা : মোঃ আবুল বাসার গ্রাম : সংকর পুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
মোট		মোট জমি	৪০০

বরিশাল জেলার, উজিরপুর উপজেলায়,বিভিন্ন গ্রামের চুক্তিবদ্ধ পান চাষিদের হালনাগাত তালিকা

নং	কৃষককের নাম, পিতার নাম,ঠিকানা, মোবাইল, অর্থবা আই.ডি নং ।	চুক্তিবদ্ধ কৃষকদের বছর ব্যপিউৎপাদিত পণ্যর বিবরণ।	জমির পরিমান
৩১	নাম : মোঃ নুর আলম পিতা : মোঃ আবদুল রহিম হাওলাদার গ্রাম : সংকর পুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল :০১৮	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২০ শতক
৩২	নাম : মোঃ কবির খান পিতা : মোঃ সোনামদ্দিন খান গ্রাম : সংকর পুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৯	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	২০ শতক
৩৩	নাম : মোঃ খলিল বাপারী পিতা : মোঃ গনী বাপারী গ্রাম : কমলপুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৬৬ শতক
৩৪	নাম : মোঃ সিরাজ বাপারী পিতা : মোঃ আলম বাপারী গ্রাম : কমলপুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৮০ শতক
৩৫	নাম : মোঃ ফকেহ আলম পিতা : মোঃ দলিল উদ্দিন হাওলাদার গ্রাম : কমলপুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
৩৬	নাম : মোঃ জামান হাওলাদার পিতা : মোঃ দলিল উদ্দিন হাওলাদার গ্রাম : কমলপুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক

৩৭	নাম : মোঃ স্বপন হাওলাদার পিতা : মোঃ রহম আলী হাওলাদার গ্রাম : কমলপুর উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
৩৮	নাম : মোঃ আবদুল আজি হাং পিতা : মোঃ কছর উদ্দিন হাং গ্রাম : তের গ্রেণ উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৫০ শতক
৩৯	নাম : মোঃ এইচ, এম, হালিম পিতা : মোঃ জনাল আবেদীন গ্রাম : তের গ্রেণ উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	৪০ শতক
৪০	নাম : মোঃ নান্না হাওলাদার পিতা : মোঃ কাদের হাওলাদার গ্রাম : তের গ্রেণ উপজেলা : উজির পুর, জেলা বরিশাল মোবাইল : ০১৭	সালমোনিলা ও ইকলি ব্যাক্টেরিয়া জাতীয় ভাইরাজ মুক্ত পান উৎপাদন	১০০ শতক
মোট	৪০ জন চাষী মিলে একাট গ্রপ নং - ১	মোট জমি	=১,৮৮৬ শতক

সংযুক্তি-১১

রপ্তানি মার্কেটের জন্য নিরাপদ পানপাতা
উৎপাদন নির্দেশিকা

" বালাইনাশক ও ক্ষতিকর অনুজীব সংক্রমণ মুক্ত রপ্তানিযোগ্য নিরাপদ পান উৎপাদন "

ভূমিকা

পান পাতা এক ধরনের লতা জাতীয় গাছ থেকে সংগ্রহ করা হয়। বাংলাদেশে পান নামে পরিচিত। পানের আকর্ষণীয় লতা বহুবর্ষজিবী উদ্ভিদ। পান পাতা উষ্ণ ও মৃদু উষ্ণ অঞ্চলে ভাল জন্মে। পান এশিয়া অঞ্চলের মানুষ পছন্দ করে। ইহা ছাড়া সে সকল লোকজন এশিয়া অঞ্চল থেকে বিশ্বের বিভিন্ন দেশে অভিবাসী হইয়ে বসবাস করে তারাও পান পছন্দ করে।সে কারণে পান এখন বাংলাদেশের আঞ্চলিক লোকের জন্যই শুধু চাষ করা হয় না, এটি রপ্তানির জন্যও বাংলাদেশে চাষ করা হইয়ে থাকে।

পান উৎপাদনের প্রধান দেশ বাংলাদেশ, ভারত, শ্রীলংকা। বাংলাদেশের অনেক লোক পৃথিবীর বিভিন্ন দেশে অবস্থান করার সুবাদে আমাদের দেশের পান মধ্যপ্রাচ্যসহ ইউরোপ- ইংল্যান্ড, ফ্রান্, ইতালি, বেলজিয়াম, সুইডেন, ডেনমার্ক, গ্রীস, নেদারল্যান্ড, আইসল্যান্ড, সৌদি আরব, দুবাই, কাতার, কুয়েত, বাহরাইন, ওমান, মালয়েশিয়া, সিঙ্গাপুর, পাকিস্তান, কানাডা রপ্তানি করা হয়। ২০১২-২০১৩ সালে পান রপ্তানি করে বাংলাদেশ আয় করে ৪০ মিলিয়ন আমেরিকান ডলার। মাইক্রোবিয়াল সালমোনেলা ব্যাকটেরিয়া যদিও উদ্ভিদের রাগ নয় তথাপি বিভিন্ন কারণে পানের পাতায় সালমোনেলা সংক্রামণ হতে পারে ফলে যারা পান খান তাদের ডাইরিয়া হতে পারে সে কারণে উৎপাদন থেকে শুরু করে সরবরাহ পর্যন্ত হাইজিনিক অবস্থা রাখা অত্যন্ত প্রয়োজনীয় এবং এটি পানের আমদানি কারকের শর্ত। তাই নিরাপদ, বালাইনাশক এবং জীবানুমুক্ত পান উৎপাদন ও রপ্তানি প্রক্রিয়া সুসম্পন্ন করার জন্য নিম্নোক্ত ধাপগুলি সঠিকভাবে সম্পন্ন করতে হবে।

উৎপাদন পর্যায়ে করণীয়

নিরাপদ, বালাইনাশক ও ক্ষতিকর অনুজীব (সালমোনেলা) সংক্রমণ মুক্ত পান উৎপাদনের জন্য নিম্নোক্ত কাজ গুলো অতি শতর্কতার সাথে স্বাস্থ্যকর উপায়ে ধাপে ধাপে সম্পন্ন করে পান পাতা উৎপাদন করতে হবে।

(ক) পান উৎপাদনের জেলা নির্বাচন (খ) পান উৎপাদনের জায়গা নির্বাচন (গ) জমির ফসল ইতিহাস (ঘ) জমির এলাকার বৈশিষ্ট্য এবং গবাদি পশুর অবস্থান জানা (ঙ) কৃষক নির্বাচন (চ) কৃষি কর্মকর্তা ও কৃষকের প্রশিক্ষণ (ছ) মাটি পরীক্ষা (জ) জমিতে পান চাষের আগে জৈব ও রাসায়নিক সার প্রয়োগ (ঝ) নির্বাচিত এলাকার আবহাওয়া (ঞ) বাংলাদেশে পানের জাত (ট) জমি প্রস্তুতকরণ (ঠ) জমিতে পান উৎপাদনের উপায় (ড) বরজ তৈরী (ঢ) কাটিং নির্বাচন (ণ) জমিতে পানের কাটিং বপন বা প্রোপাগেশন (ত) পান রোপন পদ্ধতি (থ) চারার দূরত (দ) কৃষক ও রপ্তানিকারকের মধ্যে চুক্তি (ধ) কৃষক ও রপ্তানিকারকের নিবন্ধন

(ক) পান উৎপাদনের জেলা নির্বাচন ঃ বাংলাদেশে রপ্তানিযোগ্য পান সাধারণত রাজশাহী, নাটোর, কুষ্টিয়া, সিলেট, ঝিনাইদহ, চুয়াডাঙ্গা, বাগেরহাট, বরিশাল, খুলনা, এবং গোপালগঞ্জ জেলায় চাষ হয়ে থাকে।

(খ) পান উৎপাদনের জায়গা নির্বাচন ঃ প্রথমে উৎপাদন এলাকার ম্যাপ চিহ্নিত করতে হবে। পান পানির প্রতি অতিমাত্রায় সংবেদনশীল বিধায়, সঠিকভাবে পানি নিষ্কাশনের ব্যবস্থা সমপনন উঁচু উর্বর ও প্রচুর পরিমাণ জৈব পদার্থ বিদ্যমান জমি পান চাষের জন্য সর্বাধিক উপযোগী। মাটি সামান্য ক্ষারীয় pH ৭-৭.৫ এবং মাটির পানি ধারণ ক্ষমতা ভাল এমন মাটিই পান চাষের জন্য নির্বাচন করা উত্তম। উপজেলা কৃষি কর্মকর্তার পরামর্শক্রমে জায়গা নির্বাচন করতে হবে।

(গ) জমির ফসল ইতিহাস ঃ জমি নির্বাচন করার সময় অবশ্যই জমিতে আগে কোন ফসল ছিল সেই ফসলের সকল তথ্যাদির রেকর্ড সঠিকভাবে জেনে, যদি এই জমি পান চাষের জন্য অনুকূল হয়, তবে এখানে পান চাষ করার সিদ্ধান্ত্ব নিতে হবে।

(ঘ) জমির এলাকার বৈশিষ্ট্য এবং গবাদি পশুর অবস্থান জানা ঃ রপ্তানিযোগ্য পান চাষের জমি নির্বাচনের আগে জানতে হবে, নির্বাচিত জমির পাশে গবাদি পশু পাখি এবং হাস-মুরগি বিচরণ করে কিনা, এমন কি জমির পাশে পুকুর ও নর্দমা আছে কিনা যাহা থেকে পশু পাখির মাধ্যমে অনুজীব (সালমোনেলা) সংক্রমণ হতে পাওে এবং পানের জমিতে অবস্থান করতে পারে।

(ঙ) কৃষক নির্বাচন ঃ পান চাষের এলাকা নির্বাচন করার পর উপজেলা কৃষি অফিসারের সহযোগিতা এবং উঅউ এর কারিগরি সহযোগিতায় পষঁংঃবৎ রিংব ১৫-২০ জন কৃষক নিয়ে গ্রন্নপ করে কৃষক নেতা নির্বাচন করে কৃষকের নামের তালিকা সংশিস্নষ্ট অফিসে প্রেরণ করতে হবে।

(চ) কৃষি কর্মকর্তা ও কৃষকের প্রশিড়্গণ ঃ নিরাপদ, বালাইনাশক ও ড়্গতিকর অনুজীব (সালমোনেলা) সংক্রমণ মুক্ত পান উৎপাদনের জন্য কৃষক কৃষি কর্মকর্তা ও রপ্তানিকারকদেরকে প্রশিড়্গণের ব্যবস্থা করতে হবে। পান উৎপাদন ও সংগ্রহ পর্যায়ে কৃষক কৃষি কর্মকর্তা কিভাবে উত্তম কৃষি পরিচর্যা এবং বায়োপেসটিসাইড ব্যবহার করে বালাই ও ড়্গতিকর অনুজীব (সালমোনেলা) সংক্রমণ মুক্ত পান উৎপাদন করা যায় সে বিষয়ে প্রশিড়্গণ দিতে হবে। রপ্তানিকারক কিভাবে সংগহোত্তর পানকে স্বাস্থ্য সম্পন্ন উপায়ে ধাপে ধাপে সটিং গ্রেডিং এবং প্যাকিং করে রপ্তানি করা যায় সে বিষয়ে প্রশিড়্গণ দিতে হবে।

(ছ) মাটি পরীড়্গা ঃ পান চাষ করার আগে জমির মাটি পরীড়্গা করে জেনে নিতে হবে জমি পান চাষের জন্য উপযোগী কিনা। জানা থাকলে জমিতে জৈব সার ও রাসায়নিক সার নিয়ন্ত্রণ করার মাধ্যমে কোয়ারেন্টাইন অন্যান্য পোকা ও রোগ দমন করাও সহজ হবে।

(জ) জমিতে পান চাষের আগে জৈব ও রাসায়নিক সার প্রয়োগ ঃ জমি ট্রাক্টরের মাধ্যমে সঠিকভাবে চাষ করতে হবে। প্রতি চাষের মাটি ভালোভাবে সূর্যের তাপে শোকাতে হবে যাতে করে কোন মাইক্রোঅরগানিজম থাকলে মারা যায়। পরিমাণমত সরিষার খৈইল এবং বিভিন্ন প্রকার রাসায়নিক সার প্রয়োগ করতে হবে অথবা মাদা করে মাদায় প্রয়োগ করতে হবে। মনে রাখতে হবে যে কোনভাবে কাঁচা গোবর এবং অন্যান্য গোবর জাতীয় কাঁচা জৈব সার, মাদায় অথবা জমিতে ছিটানো যাবে না। কারণ কাচা গোবর ব্যাকটেরিয়াল সালমোনেলার উৎস্য।

(ঝ) নির্বাচিত এলাকার আবহাওয়া ঃ পান ছায়ামুক্ত স্থান পছন্দ করে। শীতকালের ১২-১৫^{o}ঈ তাপমাত্রা এবং গরমের সময় ২৫-৩৫^{o}ঈ তাপমাত্রা পান চাষের জন্য উপযোগী। বছরে সাধারণত বৃষ্টি ২৫০ সে.মি. এবং বাতাসের আদ্রতা ৭০-৯০% এই ফসলের জন্য উপযোগী।

(ঞ) বাংলাদেশে পানের জাত ঃ বাংলাদেশে বিভিন্ন জাতের পানের চাষ হইয়ে থাকে। মাহানালি, চাটলা গোটা বরিশালে, বাংলা পান রাজশাহী, কুষ্টিয়া এলাকায়, সাচি পান কুষ্টিয়া, ঝিনাইদহ, চুয়াডাঙ্গা, মিঠা পান চিটাগাং এবং গাছ পান সিলেট এলাকায় হয়। তাছাড়া, বাংলাদেশ কৃষি গবেষণা কর্তৃক দুইটি জাত বারি-১ এবং বারি-২ বাংলাদেশে চাষ করা হইয়ে থাকে।

(ট) জমি প্রস্তুতকরণ ঃ ট্রাক্টর দিয়ে চাষ করে সাধারণত পান চাষের জন্য জমি প্রস্তুত করা হইয়ে থাকে। জমি প্রস্তুতের সময় সঠিকভাবে শোকাইয়া নিতে হয় যাতে করে কোন মাইক্রোবিয়াল কন্টামিনেশন থাকলে তাহা কমে যায়।

(ঠ) জমিতে পান উৎপাদনের উপায় ঃ জমিতে দুই ধরনের উপায়ে পান উৎপাদন করা যায়। উন্মুক্ত উপায়ে গাছে এবং বরজ নির্মাণ করে তাছাড়া গ্রীণ হাউজেও পান উৎপাদন করা যেতে পারে। তবে বাংলাদেশে সিলেটে কিছু পাহাড়িয়া এলাকায় খাসিয়ারা উন্মুক্ত উপায়ে গাছে বাণিজ্যিকভাবে পানি উৎপাদন করে থাকে। তাহা ছাড়া কুষ্টিয়া, রাজশাহী, বরিশাল, ঝিনাইদহ, চুয়াডাঙ্গা ও খুলনাতে বরজ তৈয়ার করে রপ্তানিযোগ্য পান চাষ করা হয়ে থাকে।

(ড) (ড) বরজ তৈয়ার ঃ বরজের জমি সাধারণত আয়তাকার হয়। সাইজ সাধারণত 50m×30m আবার কোন কোন বরজ বর্গাকার হতে পারে। বরজ তৈয়ার করা হয়

সাধারণত বাঁশ, ধানের খড়, কলা গাছের মরাপাতা, বাঁশের সিটক ও পাটের সোলার স্টিক, খড় ব্যবহার করে তৈয়ার করা হয়। বরজ তৈয়ার করে যখন খড় দিয়ে ডেকে দেওয়া হয় তখন এটিকে গ্রীণ হাউজের মত দেখা যায়। বরজের উচ্চতা সাধারণত ৩-৫ মিটার হয়। বরজের ছাদ সাধারণত খড় দিয়ে ঢেকে দেওয়া হয়, যা বরজের অবস্থান বরজকে আর্দ্রতা ও অতিরিক্ত তাপমাত্রা থেকে এবং পাখি যাতে জমির ভিতরে না আসতে পারে তাহা থেকে রক্ষা করে। বরজের চারিদিকে সঠিকভাবে বেড়ার তৈয়ার করা হয় যাতে করে গবাদি পশু ও হাস মুরগী জমিতে প্রবেশ করতে না পারে। একটি বরজ কমপক্ষে ৫ বছর পর্যন্ত ভাল থাকে।

(ঢ) কাটিং নির্বাচন ঃ জাত এবং উন্নত কালটিভার দেখে পান প্রোপাগেশনের জন্য এখন জাত নির্বাচন করা উচিত যাহা বাণিজ্যিকভাবে অধিক চাষ আছে এবং অবশ্যই জাতটি বিভিন্ন প্রকার পোকা ও রোগ মুক্ত হতে হবে। বপনের সময় প্রোপাগেশন মেটেরিয়াল যাতে মাইক্রোবিয়াল কন্টামিনেশন না হয় সে দিকে বিশেষভাবে সতর্ক থাকতে হবে

(ণ) **জমিতে পানের কাটিং বপন বা প্রোপাগেশন ঃ** এপ্রিল থেকে জুলাই মাস প্রোপাগেশেনের উপযুক্ত সময়। কান্ডের যে অংশ বীজ হিসাবে ব্যবহার করা হয় সেখানে ৩-৫টি নোড থাকতে হয়। ২-৩টি নোড মাটির নিচে মাদায় দিতে হবে। পান বাইনের এপিকাল এবং মধ্যের অংশ সাধারণত কাটিং এর জন্য ব্যবহার করা হয়। পান রোপনের ৩-৫ মাস পর থেকেই পান সংগ্রহ করা যায়।

(ত) পান রোপন পদ্ধতি ঃ সাধারণত বেডে গর্ত করে গর্তের মধ্যে পানের কাটিং রোপন করা হয়। একটি গর্তে ২-৩টি কাটিং রোপন করা ভাল। পরে খড় দিয়ে ডেকে দিতে হয়। দিনে দুইবার পানি দিতে হবে। পানির উৎস্য অবশ্যই মাইক্রোবিয়াল কন্টামিনেশন মুক্ত হতে হবে। সতর্ক থাকতে হবে যাতে অতিরিক্ত পানি সরবরাহ না হয় অতিরিক্ত পানি দিলে চারা নষ্ট হইয়ে যেতে পারে।

(থ) চারার দূরত্ব ঃ পানের কাটিং সাধারণত জমিতে মাটি উঁচু করে বেড তৈয়ার করে রোপন করতে হয়। প্রতি বেড সাধারণত ৫০ সে.মি. প্রশস্ত এবং ১৫ সে.মি. উচ্চতা হয়। প্রতিবেডে দুই সারিতে কাটিং রোপন করা হয়। একটি কাটিং থেকে অন্য কাটিং এর দূরত্ব সাধারণথ ১৫-২০ সে.মি. এক বেড থেকে অন্য বেডের দূরত্ব হবে ৫০ সে.মি.।

পানে মাইক্রোবিয়াল সংক্রমণের কারণ

পানের জমিতে প্রয়োগকৃত পানি মাইক্রোবিয়াল অরগানিজম যেমন ব্যাকটেরিয়া ইকোলাই, সালমোমেলা এবং অন্যান্য অরগানিজম পরিবহন অথবা উৎস্য থেকে সংক্রমিত হতে পারে। যাহা পরবর্তী সময় পানের ভোক্তাকে আক্রমণ করতে পারে ফলে ডাইরিয়া এমন কি মারা যেতে পারে। মাইক্রোবিয়াল কন্টামিনেশন পানে কোথা থেকে শুরু হইয়েছে যাহা পান ভোক্তাদের মাঝে ছড়িয়ে পড়েছে। ইহা সনাক্ত করা খুবই কঠিন। তাই সনাক্তকরণের জন্য উৎপাদন থেকেই সকল প্রকার তথ্যাদির রেকর্ড সঠিকভাবে লিপিবদ্ধ করে রাখতে হবে যাহা পরবর্তী সময়ে রোগের উৎস্য সনাক্তকরণে সাহায্য করবে। পানে যে মাইক্রোবিয়াল হ্যাজাড যেমন ব্যাকটেরিয়াল সালমোমেলা বিভিন্নভাবে পানির মাধ্যমে পরিবাহিত হয়ে জমিতে এবং পানের পাতায় আসতে পারে।

১. ভূ-পৃষ্ঠ বা মাটির উপরিভাগের পানি ২. মাটির নিচের পানি

২.ভূ-পৃষ্ঠ বা মাটির উপরিভাগের পানি ঃ ভূ-ভাগের উপরের ভাগের পানি যেমন ইন্ডাস্ট্রিয়াল ময়লাযুক্ত পানি, বিভিন্ন সংক্রামিত পরিবাহিত পানি, বৃষ্টির পানি যখন উঁচু থেকে নিচুর দিকে যায় তখন গরু ও মুরগির ও পাখির বৃষ্ঠায় অবস্থিত সালমোনেলা, ইকোলাই পানির মাধ্যমে পানের জমিতে সংক্রমিত হতে পারে।

২. মাটির নিচের পানি ঃ মাটির নিচের পানিতে সাধারণত সাল মোনেলা থাকে না কিন্তু এই পানি যখন উপরে উঠানো হয় যদি পুরাতন টিউবওয়েল থাকে, সেখানে স্যাঁতস্যাঁতে থাকলে ঐ পানিতে সালমোনেলা থাকিলে, ভুগর্ভস্থ থেকে উত্তলিত বিশুদ্ধ পানির সাথে মিশে সালমোনেলা পানের জমিতে সেচের সময় যেতে পারে।

কাজেই পানির মাধ্যমে যাতে পানের জমিতে সালমোনেলা বিস্তার না করতে পারে সে জন্য সেচের পানির উৎস্য অবশ্যই ভাল হতে হবে এবং কৃষককে প্রয়োজনে পানি পরিশোধন করে বিশুদ্ধ পানি পানের জমিতে দিতে হবে।

মাইক্রোবিয়াল সংক্রমণ মুক্ত পান উৎপাদনের উপায়

মাইক্রোবিয়াল সংক্রামক মুক্ত ও নিরাপদ পান উৎপাদন ও রপ্তানির ক্ষেত্রে সালমোনেলা পানির মাধ্যমে যাতে পানের জমিতে না প্রবেশ করতে পারে সেক্ষেত্রে পানের জন্য ব্যবহৃত পানি অবশ্যই বিশুদ্ধ এবং হাইজেনিক হতে হবে। বিশুদ্ধ ও হাইজেনিক পানি পাওয়ার প্রয়োজনীয় করণীয় কাজগুলি ধাপে ধাপে সম্পাদন করতে হবে।

ক) সাধারণ করণীয়। খ) পানে ব্যবহৃত পানির মাইক্রোবিয়াল পরীক্ষা। গ) পান উৎপাদনে সেচ পানি। ঘ) জমিতে পানি দেওয়ার সময় প্রয়োজনীয় সতর্কতা।

ক) সাধারণ করণীয় ঃ সংক্রমণের কারণ সতর্কতার সাথে পানির উৎস নির্বাচন করতে হবে কারণ এটি মাইক্রোবিয়াল প্যাথোজেনের প্রধান উৎস্য।কৃষি জমিতে ব্যবহৃত প্রবাহিত মাটির উপরিভাগের পানি, নদীর পানি, পুকুরের পানি, উন্মুক্তস্থানের পানি, সেচের পানি অধিক পরিমাণ মাইক্রোঅরগানিজম থাকে। ভুগর্ভস্থ পানি মাটির উপরিভাগের পানি অপেক্ষাকৃত কম সংক্রমিত থাকে। সেলো টিউবওয়েল পানি অথবা পুরাতন টিউবওয়েলের পানি সারফেস পানির সাথে মিশে সংক্রমিত হতে পারে।

করণীয় ঃ

- উৎপাদনকারী এবং রপ্তানিকারকের পানির উৎস্য যেমন টিউবওয়েলের অবস্থা ও পানির অবস্থা বিশেষজ্ঞ দ্বারা পরীক্ষা করে, জমিতে পানি সেচের ব্যবস্থা করতে হবে।
- পানি সংক্রমণের উৎস্য খুঁজে চিহ্নিত করে দমনের প্রয়োজনীয় ব্যবস্থা নিতে হবে।
- উৎপাদনকারীকে অবশ্যই বিশুদ্ধ উৎস্য থেকে সেচ দিতে হবে।
- উত্তম কৃষি পরিচর্যার মাধ্যমে চাষ করলে, পানির উৎস্য, জমিতে প্রাণীর প্রবেশ, হাইজেনিক উপায়ে চাষাবাদ ইত্যাদি ব্যাকটেরিয়াল সংক্রমণ রোধ করে।
- মাটি এবং ব্যাকটেরিয়া সংক্রমিত পরিবাহিত পানি যাতে করে পানের জমিতে প্রবেশ করতে না পারে তার ব্যবস্থা নিতে হবে।
- উৎপাদনকারীকে অবশ্যই উত্তম কৃষি পরিচর্যা পদ্ধতিতে পান চাষ করতে হবে যাহা পান পাতাকে মাইক্রোবিয়াল সংক্রামন থেকে রক্ষা করবে।
- যদি প্রয়োজন হয় উৎপাদনকারী এবং রপ্তানিকারককে অবশ্যই পানির মাইক্রোবিয়াল পরীক্ষা করাতে হবে।

খ) জমিতে ব্যবহৃত পানির মাইক্রোবিয়াল পরীক্ষা ঃউৎপাদনকারীকে অবশ্যই উত্তম কৃষি পরিচর্যার মাধ্যমে পান উৎপাদন এবং সেচের জন্য ব্যবহৃত পানির উৎস্য নিরাপদ রাখতে হবে। উৎপাদনকারীকে মাঝে মাঝেই ব্যবহৃত পানিতে সালামাসেলা, ইকোলাই আছে কিনা তাহা পরীক্ষা করতে হবে। উৎপাদনকারী ও রপ্তানিকারক, ইউনিভারসিটি, কৃষি ও মাইক্রোবিয়াল সম্পর্কিত বিশেষজ্ঞের পরামর্শ নিয়ে জমিতে ব্যবহৃত পানি নিরাপদ রাখার ব্যবস্থা করতে হবে

গ) পান উৎপাদনের জন্য জমিতে পানির সেচ ঃ পানের জমিতে পানির প্রয়োজন হয়। জমিতে প্রয়োজনীয় পানির নিষ্কাশন ব্যবস্থাও থাকতে হবে যাতে করে প্রয়োজনের অতিরিক্ত পানি সহজেই বের হয়ে যেতে পারে। ব্যবহৃত পানি অবশ্যই পরিষ্কার এবং মাইক্রোবিয়াল সংক্রমণ মুক্ত হতে হবে।

ঘ) পানি দেওয়ার সময় সতর্কতা ঃ পানের জমি নির্বাচনের আগে সঠিক পানির উৎস্য দেখে নিতে হবে। পানির উৎস্য অবশ্যই গবাদিপশু ও হাসমুরগী যাতে না যেতে পারে ব্যবস্থা রাখতে হবে। সার প্রয়োগ এবং কীটনাশক প্রয়োগের সময় যে পানি ব্যবহার করা হবে তা অবশ্যই সংক্রমণ মুক্ত হতে হবে। পানের পাতায় যে পানি ব্যবহার করা হবে স্প্রে হিসাবে তা অবশ্যই পরীক্ষিত হতে হবে। পানের জমিতে ব্যবহৃত পানি বছরে কমপক্ষে দুইবার পরীক্ষা করে নিতে হবে যেন মাইক্রোবিয়াল সংক্রমণ এবং ভারী ধাতব পদার্থ মুক্ত হয়।

পানের জমিতে জৈব সার ও রাসায়নিক সার প্রয়োগ

পান চাষে জৈব সার ও রাসায়নিক সার একটি প্রয়োজনীয় উপাদান। সুষম জৈব ও রাসায়নিক সার প্রয়োগ ছাড়া রপ্তানিযোগ্য উন্নতমানের পান উৎপাদন করা অসম্ভব। পান উৎপাদন জৈব সার ও রাসায়নিক সারের সঠিক ব্যবহার না করিলে পানে মাইক্রোবিয়াল, ক্যামিকাল ও ফিজিওলজিকাল কন্টামিনেশন হতে পারে।

পানের জমিতে জৈব সারে মাইক্রোবিয়াল সমস্যা: জৈব সারে সাধারণত বিভিন্ন প্রকার মারাত্মক ব্যাকটেরিয়া থাকে যাহা জমিতে প্রয়োগ করিলে পানির মাধ্যমে পানের পাতায় পরিবাহিত হয় আসে এবং হ্যাজার্ড সৃষ্টি করে। যেমন গবাদি পশুর বৃষ্টা, পাখির বৃষ্টা, হাঁস-মুরগীর বৃষ্টা ইকোলাই এবং সালমোনেলা নামক ব্যাকটেরিয়া থাকে। পান খাওয়ার মাধ্যমে মানুষের দেহে আসে এবং রোগ সৃষ্টি করে।

পানের জমিতে জৈব ও রাসায়নিক সার প্রয়োগের সময় ও পরিমাণ: পানের জমিতে ভাল পান উৎপাদনের জন্য সঠিক সময় এবং সঠিক পরিমাণ জৈব ও রাসায়নিক সার প্রয়োগ করতে হবে।

জৈব সার প্রয়োগ ঃ জমিতে পানে কাটিং রোপনের আগে জমি প্রস্তুত করার সময় সকল প্রকার জৈব সার প্রয়োগ করতে হবে। শোধনকৃত জৈব সার পানের জমিতে ব্যবহার করা যেতে পারে। পান উৎপাদনের জন্য উপযুক্ত জৈব সার হলো সারসরিষার খৈল। কারণ সরিষার খৈল, সালমোনেলা ব্যাকটেরিয়া মুক্ত। ১০ টন হেক্টর হিসাবে জমি প্রস্তুত করার সময় সরিষার খৈল জমিতে প্রয়োগ করা হইয়ে থাকে।

রাসায়নিক সার প্রয়োগ ঃ ইউরিয়া ব্যতিত অন্য সকল রাসায়নিক সার টিএসপি ২০০ কেজি/ হেক্টর এমপি ১০০ কেজি / হেক্টর জিপসাম ৫০ কেজি / হেক্টর জিংক সালফেট ১৫ কেজি / হেক্টর হারে ছিটিয়ে দিতে হবে। ২০০ কেজি / হেক্টর ইউরিয়া পানের কাটিং ট্রান্সপ্লান্টিং এর ২ মাস পরে ১২টি কিস্তিতে ১৫ দিন পর পর জমিতে দিতে হবে।

জৈব ও রাসায়নিক সার থেকে মাইক্রোবিয়াল সংক্রমণ রোধ করার উপায়

১. উত্তম কৃষি পরিচর্যার মাধ্যমে পান উৎপাদন ও সংগ্রহকালীন সময়ের মধ্যে জৈব সার প্রয়োগ ও নিয়ন্ত্রণ করে মাইক্রোবিয়াল সংক্রমণ কমানো যায়। উৎপাদনকারীকে অবশ্যই জৈব সার হ্যান্ডলিং এর সময় উত্তম কৃষি পরিচর্যা পদ্ধতি অনুসরণ করা উচিত। যাহা মাইক্রোবিয়াল সংক্রমণকে বাধা প্রদান করে। সার প্রয়োগের ক্ষেত্রে নিম্নলিখিত পদ্ধতি অনুসরণ করিলে সালমোনেলা মুক্ত পান উৎপাদন করা সম্ভব।

ক) জৈব সার পরিশোধন ঃ জৈব সারকে পরিশোধন করে দুই উপায়ে মাইক্রোবিয়াল হ্যাজার্ড কমানো যায়।

প্যাসিভ পরিশোধন ঃ এই পদ্ধতিতে জৈব সার রোদ্রে শোকালে প্রাকৃতিক তাপমাত্রায় বিভিন্ন প্রকার মাইক্রোবিয়ালের মাত্রা কমে যায় এবং রোধ করা যায়।

একটিভ পরিশোধন ঃ জৈব সারকে প্যাস্তোরাইজেশন অথবা অধিক তাপমাত্রায় মাইক্রোবিয়াল অরগানিজমকে মুক্ত করা যায়। এই পদ্ধতিতে ভেজা জৈব সারকে সম্পূর্ণ উপায়ে ব্যাকটেরিয়া মুক্ত করা যায়।

খ) জৈব সার হ্যান্ডলিং এবং স্টোরেজ স্থান ঃ জৈব সারের সংরক্ষণাগার পানের জমির নিকট থাকলে মাইক্রোবিয়াল সংক্রমণের আশংকা বেশি থাকে। জৈব সারের সংরক্ষণাগার ও শোধনের স্থান পান উৎপাদনের জমি এবং হ্যান্ডলিং এরিয়া থেকে দুরে হতে হবে। পান সংগ্রহের সময় জমিতে জৈব সার দেওয়া ঠিক নয় সংক্রমণ হতে পারে।উৎপাদনকারী এবং রপ্তানিকারকগণকে সবসময় উপজেলা কৃষি কর্মকর্তার পরামর্শক্রমে সারের ব্যবহার সঠিকভাবে নিয়ন্ত্রণ করতে হবে।

গ) গবাদি পশু ও পাখির বিষ্ঠা নিয়ন্ত্রণ ঃ গবাদি পশু ও হাঁস-মুরগি যাতে করে পানের জমিতে প্রবেশ না করতে পারে উৎপাদনকারীকে সে ব্যবস্থা করতে হবে। পাখি যাতে করে বারজে বসে বিষ্টনা ছড়ায় সে জন্য অবশ্যই ব্যবস্থা নিতে হবে কারণ পাখির বিষ্টার মাধ্যমে সালমোনেলা পানের পাতায় সংক্রমণ হতে পারে। পানের জমিতে প্রবেশের মুখে স্যানিটাইজার রাখতে হবে যাতে করে জমিতে কর্মরত শ্রমিকের মাধ্যমে জমিতে মাইক্রোবিয়াল সংক্রমিত হতে না পারে।

সার, কীটনাশক প্রয়োগ এবং যন্ত্রপাতি ব্যবহারের সতর্কতা

(ক) সার প্রয়োগের সময় সতর্কতা

- জৈব সার দিতে হবে জমি প্রস্তুত করার সময়।
- মাটির পরীক্ষা করে পরিমিত পরিমাণ সার দিতে হবে।
- ভিজা জৈব সার পানের জমিতে দেওয়া যাবে না।
- পান চাষেসরিষার খৈল হলো উত্তম জৈব সার।
- সকল জৈব ও রাসায়নিক সারের উৎস্য রেকর্ড করতে হবে।
- জৈব ও রাসায়নিক সারের প্রয়োগের দিন, পরিমাণ, সকল রেকর্ড সংরক্ষণ করতে হবে।
- যে সকল যন্ত্রপাতি ব্যবহার করা হবে সবই হাইজেনিক হতে হবে এবং সেনিটাইজার দ্বারা শোধন করতে হবে।
- সারের ষ্টোর এরিয়া পরিষ্কার রাখতে হবে।
- সার এবং পেসটিসাইড আলাদা আলাদা ষ্টোরে রাখতে হবে।

(খ) কীটনাশক প্রয়োগের সময় সতর্কতা

- কীটনাশক সঠিক ডিলার থেকে সংগ্রহ করতে হবে।
- কীটনাশকের ষ্টোর রোম আইসোলেটেড হতে হবে।
- কীটনাশক পরিবেশ ক্ষতিকর হবে না।
- জৈব কীটনাশক ব্যবহার করতে হবে।
- পানে ক্যালসিনেটেড ক্যালসিয়াম স্প্রে করে সালমোনেলা মুক্ত রাখতে হবে।
- কীটনাশক মিশ্রিত পানি অবশ্যই বিশুদ্ধ হবে।
- শ্রমিক কীটনাশক দেওয়ার সময় হাত মোজা, বুট টুপি ও মাস্ক পরে কীটনাশক স্প্রে করতে হবে।
- শ্রমিক অবশ্যই প্রশিক্ষণপ্রাপ্ত হতে হবে।
- সকল প্রকার তথ্যাদি রেকর্ড সংরক্ষণ করতে হবে।
- তারিখ, ফসল নাম, পরিমাণ, কোন পোকার জন্য সব রেকর্ড রাখতে হবে।

সার, কীটনাশক প্রয়োগ এবং যন্ত্রপাতি ব্যবহারের সতর্কতা

(ক) সার প্রয়োগের সময় সতর্কতা

- জৈব সার দিতে হবে জমি প্রস্তুত করার সময়।
- মাটির পরীক্ষা করে পরিমিত পরিমাণ সার দিতে হবে।
- ভিজা জৈব সার পানের জমিতে দেওয়া যাবে না ।
- পান চাষেসরিষার খৈল হলো উত্তম জৈব সার।
- সকল জৈব ও রাসায়নিক সারের উৎস রেকর্ড করতে হবে।
- জৈব ও রাসায়নিক সারের প্রয়োগের দিন, পরিমাণ, সকল রেকর্ড সংরক্ষণ করতে হবে।
- যে সকল যন্ত্রপাতি ব্যবহার করা হবে সবই জীবাণুমুক্ত হতে হবে এবং সেনিটাইজার দ্বারা শোধন করতে হবে।
- সার সংরক্ষণের জায়গা পরিষ্কার রাখতে হবে।
- সার এবং কীটনাশক আলাদা আলাদা ষ্টোরে রাখতে হবে।

(খ) কীটনাশক প্রয়োগের সময় সতর্কতা

- কীটনাশক সঠিক ডিলার থেকে সংগ্রহ করতে হবে।
- কীটনাশক সংরক্ষণের রুম আলাদা হতে হবে।
- কীটনাশক পরিবেশ ক্ষতিকর হবে না।
- জৈব কীটনাশক ব্যবহার করতে হবে।
- পানে সানিটাইজার স্প্রে করে সালমোনেলা মুক্ত রাখতে হবে।
- কীটনাশক মিশ্রিত পানি অবশ্যই বিশুদ্ধ হবে।
- শ্রমিক কীটনাশক দেওয়ার সময় হাত মোজা, বুট টুপি ও মাস্ক পরে কীটনাশক স্প্রে করতে হবে।
- শ্রমিক অবশ্যই প্রশিক্ষণপ্রাপ্ত হতে হবে।
- সকল প্রকার তথ্যাদি রেকর্ড সংরক্ষণ করতে হবে।
- তারিখ, ফসলের নাম, পরিমাণ, কোন পোকার জন্য কি কীটনাশক সব রেকর্ড রাখতে হবে।

(গ) পানের জমি পরিষ্কার রাখা : পানের জমি যাতে জীবাণু দ্বারা দূষিত না হয় সে জন্য পানের বরাজ নিম্নোক্ত উপায়ে জীবাণুমুক্ত রাখতে হবে ঃ

- বিড়াল, হাঁস-মুরগী যাতে জমিতে বিচরণ করতে না পারে সে ব্যবস্থা নিতে হবে।
- ব্যবহৃত সমস্ত যন্ত্রপাতি, মাঠে ব্যবহারের আগে ও পরে সেনিটাইজার দ্বারা শোধন করে নিতে হবে।
- জমিতে প্রবেশের সময় গেটে স্যানিটাইজার ব্যবহার করতে হবে।
- যেখানে পান সংগ্রহ করে রাখা হয় সেখানে গবাদি পশুর বিচরণ নিয়ন্ত্রণ করতে হবে।
- শ্রমিক মাঠে কাজ করার সময় অবশ্যই স্যানিটাইজার ব্যবহার করবে।

(ঘ) যন্ত্রপাতিঃ

- সকল যন্ত্রপাতি সঠিকভাবে কাজ করে কিনা তা জানতে হবে।
- যন্ত্রপাতিকে ক্যালিব্রেশন করে ব্যবহার উপযোগী করে নিতে হবে।
- যন্ত্রপাতি ব্যবহার করার পর পরিষ্কার করতে হবে।
- যন্ত্রপাতি সঠিকভাবে স্যানিটাইজার দ্বারা শোধন করতে হবে এবং মাঝে মাঝে পর্যবেক্ষণ করতে হবে।

পান উৎপাদনের সময় সংগনিরোধ পোকামাকড় ও রোগ দমন

যদি পান বিভিন্ন প্রকার পোকা ও রোগ জীবাণু দ্বারা আক্রান্ত হয়ে থাকে, তাহলে সঙ্গরোধ পোকামাকড় ও রোগবালাই দমন করে রপ্তানিযোগ্য পান উৎপাদন করতে হবে। ভোক্তা যেহেতু পান সরাসরি গ্রহণ করে থাকে তাই, সকল রোগ বালাই দুর করার জন্য জৈব কীটনাশক ব্যবহার করা উচিত। যদি রাসায়নিক কীটনাশক একান্তই দেওয়ার প্রয়োজন হয় তবে সবুজ ব্রান্ডের কীটনাশক ব্যবহার করা যেতে পারে এবং কীটনাশক স্প্রে করার অন্তত সাতদিন পর জমি থেকে পান সংগ্রহ করা যেতে পারে। উপজেলা কৃষি কর্মকর্তা, কৃষি সম্প্রসারণ কর্মকর্তাদের পরামর্শক্রমে পানের জমিতে নির্দিষ্ট পোকা দমনের জন্য নির্দিষ্ট কীটনাশক নির্বাচন করে সঠিক মাত্রায় ব্যবহার করতে হবে। কীটনাশকের নাম, তারিখ, পরিমাণ যাবতীয় তথ্যাদি রেকর্ড কিপিং বইয়ে সঠিকভাবে সংরক্ষণ করতে হবে।

রপ্তানিযোগ্য সংগনিরোধ পোকামাকড় ও রোগ দমনে অনুসরণীয় বিষয়াবলি টেবিলে উপস্থাপন করা হলো।

পানের পোকামাকড় দমন

পোকার নাম ছবি	আক্রমণের স্থান ও ক্ষতির ধরন	দমন পদ্ধতি
(ক) মাকড় (mites)	ছোট লাল রংয়ের পোকা পানের কচি পাতায় আক্রমণ করে এবং রস শোষণ করে। পানের পাতা কুকড়ে যায় এব গুণগতমান কমে যায়।	ইকোমেক ১.৮ ই.সি ১ মিলি/ লিটার পানিতে মিশিয়ে স্প্রে করতে হবে। অথবা সবুজ ব্যান্ডের সিনথেটিক পেসটিসাইড সুমিথিয়ন ২ মিলি/ ১ লিটার পানিতে মিশিয়ে স্প্রে করতে হবে।

(খ) সাদা মাছি (white fly) 	ক্ষুদ্রাকৃতির সাদা পোকা কচি পাতার রস শোষণ করে, পাতার নিচের অংশে অবস্থান করে পানপাতা নষ্ট করে মান কমে যায়।	বায়োপ্যাসটিসাইড ইকোমেক ১ মিলি/ লিটার ১০ দিন পরপর ২ বার পানিতে মিশিয়ে পাতার নিচের অংশে স্প্রে করতে হবে। অথবা সুমিথিয়ন ২ মিলি/ লিটার পানিতে স্প্রে করতে হবে।
(গ) কালো মাছি (black fly) 	পোকা ক্ষুদ্র কালো বর্ণেরই পোকার নিম্ফ পানের কচি পাতা ও ডগায় রস শোষণ করে। পাতার বাজার মূল্য কমিয়ে দেয়।	বায়োপ্যাসটিসাইড ইকোমেক ১ মিলি/ লিটার ১০ দিন পরপর ২ বার পানিতে মিশিয়ে পাতার নিচের অংশে স্প্রে করতে হবে। অথবা সুমিথিয়ন ২ মিলি/ লিটার পানিতে স্প্রে করতে হবে।
(ঘ) ছাতরা পোকা (mealy bug)	এই পোকা এক প্রকার সাদা গুড়া পদার্থে ঢাকা থাকে। পূর্ণাঙ্গ পোকা ও নিম্ফ উভয় কচি ডগা ও পাতার রস চুষে খায়। পাতা ছোট হয় এবং বিকৃত হয়ে যায়।	বায়োপ্যাসটিসাইড ইকোমেক ১ মিলি/ লিটার ১০ দিন পরপর ২ বার পানিতে মিশিয়ে পাতার নিচের অংশে স্প্রে করতে হবে। ম্যালাথিয়ন অথবা সুমিথিয়ন ২ মিলি/ লিটার পানিতে স্প্রে করতে হবে।

পানের রোগ দমন

রোগের নাম	আক্রান্ত স্থান ও ক্ষতির ধরণ	দমন পদ্ধতি
(ক) গোড়া পঁচা (Foot rot) 	Phytophthora parasitica, Sclerotium rolfssi Sacc নামক ছত্রাক দ্বারা আক্রান্ত হয়। পান উত্তোলনের আগেই পানের গোড়ার মাটি সংলগ্ন লতায় কালো দাগ দেখা যায়। গোড়া পচে যায় এবং গাছগুলো পরে শুকিয়ে যায়।	বায়োডারমা সলিড ৮-১০ কেজি/ বিঘাতে ছিটালে এই রোগ দমন হয় অথবা, বিঘা প্রতি ১০০ গ্রাম ম্যানকোজেব পান তোলার ১০ দিন আগে স্প্রে করা যেতে পারে অথবা রিডেমিল গোল্ড ২ গ্রাম/ লিটার স্প্রে করা যেতে পারে।
(খ) কান্ড পঁচা (Stem rot) 	Phytophthora parasitica নাম ছত্রাক দ্বারা আক্রান্ত হয়। কান্ডে আক্রান্ত হলে, কান্ডে বাদামী কালো রঙের দাগ পড়ে। আক্রান্ত পান গাছের লতা ও পাতা নেতিয়ে পড়ে।	বায়োডারমা সলিড ৮-১০ কেজি/ বিঘাতে ছিটালে এই রোগ দমন হয় অথবা, বিঘা প্রতি ১০০ গ্রাম ম্যানকোজেব পান তোলার ১০ দিন আগে স্প্রে করা যেতে পারে অথবা রিডেমিল গোল্ড ২ গ্রাম/ লিটার স্প্রে করা যেতে পারে।
(খ) পাতার দাগ রোগ (Leaf spot) 	Colletotrichum capsici নামক প্যাথোজেন দ্বারা এই রোগ হয়। পাতায় দাগ এবং ক্ষত সৃষ্টি হয়। বৃত্তাকার দাগের কেন্দ্রস্থল কালো বাহিরের দিক হলুদ হয়। বৃষ্টি বেশি হলে এই রোগ দেখা যায়।	বায়োডারমা পাউডার ৩-৫ গ্রাম/ লিটার দিয়ে স্প্রে করে দমন করা যায়। অথবা বেভিস্টিন ২ গ্রাম/ লিটার অথবা ১% টিল্ট প্রতি লিটার পানিতে দিয়ে স্প্রে করলে ভাল ফল পাওয়া যায়।

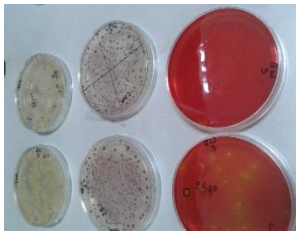
পান উৎপাদনের সময় জীবাণু দমনের ব্যবস্থা

পান উৎপাদনের প্রাথমিক পর্যায়ে সঠিকভাবে সতর্কতার সাথে কাজ করতে হবে, যাতে পানে জীবানু সংক্রমন না হয়। সকল প্রকার সার, জৈব সার, প্রবেশ, এবং যন্ত্রপাতি ইত্যাদি জমিতে প্রবেশ করানোর আগে উপযুক্ত জৈব সানিটাইজার দিয়ে সানিটাইজ করে নিতে হবে। কোন ব্যক্তি পানের জমিতে প্রবেশ বা পান স্পর্শ করার আগে নিজেকে স্যানিটাইজ করে প্রবেশ করতে হবে। পানের উৎপাদন পর্যায়ে জমি বালাইনাশক ও জীবাণু দ্বারা সংক্রমিত হতে না পারে, সে জন্য পানের জমি নিয়মিতভাবে পরীক্ষণ এবং পর্যবেক্ষণ নিম্নরূপে করতে হবে।

(ক) স্থানীয় কৃষি সম্প্রসারণ কর্মকর্তা,উত্তম কৃষি ব্যবস্থাপনায় প্রথম থেকে কৃষক এবং রপ্তানিকারক কৃষি সম্প্রসারণ কর্মকর্তার পরামর্শে এবং নিবিড় পর্যবেক্ষণের মাধ্যমে পান চাষ করবে। কৃষক ও রপ্তানিকারক পান চাষের শুরু থেকে সঠিকভাবে জীবানুমুক্ত পান উৎপাদন করছে কিনা নিয়মিত মাঠ পরিদর্শন শেষে রিপোর্ট করবে।

(খ) নিরাপদ স্যানিটাইজার ব্যবহারঃ রপ্তানিযোগ্য পান উৎপাদন পর্যায়ে অরগানিক স্যানিটাইজার দ্বারা স্প্রে করে পানকে বালাইনাশক ও জীবানুমুক্ত করতে হবে।

(গ) রপ্তানিযোগ্য পান সংগ্রহের ১০ দিন পূর্বে মাঠ থেকে পানের নমুনা সংগ্রহ করে বিধি মোতাবেক নির্ধারিত গবেষনাগারে জীবাণু এবং ক্ষতিকর মাত্রার বালাইনাশক আছে কি না তা সঠিকভাবে পরীক্ষা করে নিশ্চিত হবে যে, উক্ত মাঠের পান নিরাপদ এবং জীবাণুমুক্ত পানে যদি মাত্রাতিরিক্ত কীটনাশক এবং জীবাণুর উপস্থিতি পাওয়া যায় তবে বিশেষজ্ঞের মতামত অনুসারে জীবাণু মুক্ত এবং কীটনাশকের মাত্রা কমানোর ব্যবস্থা করতে হবে। আর যদি কোন কারণে জীবাণু মুক্ত না করা যায় তবে ঐ ক্লাষ্টারের পান রপ্তানি করা যাবে না।



(ঘ) মাঠে কোয়ারেন্টাইন ইন্সপেকশন কর্মকর্তা রপ্তানিযোগ্য পান সংগ্রহের ১০ দিন পূর্বে চূড়ান্ত পর্যবেক্ষণ করবেন এবং উৎপাদন পর্যায়ের সকল তথ্যাদি ও রেকর্ড, মাত্রাতিরিক্ত কীটনাশক, বালাইনাশক এবং জীবাণুর উপস্থিতি ও অন্যান্য পোকামাকড় আছে কিনা তা সরজমিনে পর্যবেক্ষণ করবে।

পানপাতা সংগ্রহ ও সংগ্রহোত্তর ব্যবস্থাপনা

সাধারণত পান রোপনের ২-৩ মাস পর হতেই পানপাতা সংগ্রহ করা হয়ে থাকে এবং এরপর প্রতি ১৫-২৫ দিন পর পর পান পাতা নিয়মিতভাবে সংগ্রহ করা যায়। পান বাইনের কান্ডের নিচের দিক থেকে পান সংগ্রহ করা হয়। রপ্তানিযোগ্য পানপাতা সাধারণত তিন সপ্তাহ পর পর সংগ্রহ করা হয় কিন্তু স্থানীয় মার্কেটের জন্য পানপাতা সাধারণত দুই সপ্তাহ পর পর সংগ্রহ করা হয়ে থাকে।

(ক) নিরাপদ ও মান সম্পন্ন রপ্তানিযোগ্য পান সংগ্রহের সঠিক নিয়ম

যদিও স্থানীয় মার্কেটের জন্য পান সংগ্রহের সঠিক কোন নির্দেশনা নাই, তথাপি রপ্তানিযোগ্য নিরাপদ ও মান সম্পন্ন পান সংগ্রহের সময় নিম্নলিখিত নির্দেশনাবলী মেনে চলা হয়ে থাকে। রপ্তানিযোগ্য পরিণত পান পাতার দৈর্ঘ্য এবং প্রস্থ ২০ সে.মি. × ১৫ সে. মি. হলে ভালো, পানপাতা গাঢ় সবুজ রংয়ের এবং অবশ্যই সতেজ হতে হবে। এরকম গুনাবলী দেখে পান সংগ্রহ করা উত্তম।

(খ) রপ্তানিযোগ্য পান সংগ্রহের সময় সতর্কতা

- পরিপক্কতার সুচক ব্যবহার করে পান সংগ্রহ করতে হবে।
- পানে জমাকৃত ধুলিকনা পরিষ্কার করার পর পান মাঠ থেকে সংগ্রহ করতে হবে।
- পান সংগ্রহের জন্য ব্যবহৃত কনটেইনার স্যানিটাইজার দ্বারা স্যানিটাইজ করে নিতে হবে।
- পান সংগ্রহের পর ছায়া যুক্ত ষ্টোরে পান রাখতে হবে।
- পান সংগ্রহের সময় হাত মোজা, জুতা, এপরোন ব্যবহার করতে হবে।
- পান হ্যান্ডলিং এর সময় স্যানিটাইজার ব্যবহার করতে হবে।
- সংগ্রহের জন্য ব্যবহৃত কনটেইনারে খাঁজ কাটা থাকবে না।
- পান সংগ্রহের পর জীবাণু মুক্ত পাত্রে রাখতে হবে, মাটিতে রাখা যাবে না।
- পানে যাতে যান্ত্রিক ক্ষত না হয় সে দিকে খেয়াল রাখতে হবে।
- পান সাধারণত সকাল অথবা বিকেল বেলা সংগ্রহ করা ভাল।

(গ) পান সংগ্রহে ব্যবহৃত কনটেইনার

- পান সংগ্রহে ব্যবহৃত কনটেইনার নন টক্সিক মেটেরিয়াল দ্বারা তৈরি হতে হবে।
- কনটেইনার জীবাণু মুক্ত হতে হবে।
- কনটেইনারে পান সংগ্রহের আগে পরিষ্কার করতে হবে।
- স্যানিটাইজার দ্বারা কনটেইনার স্যানিটাইজ করে পান সংগ্রহ করতে হবে।
- কনটেইনার পানের জমিতে নেওয়ার আগেই স্যানিটাইজার দ্বারা স্যানিটাইজ করতে হবে।

(ঘ) পান সংগ্রহকারীর স্বাস্থ্যব্যবস্থা

- পান সংগ্রহের সময় সংগ্রহকারী সঠিক পোশাক পরে পান সংগ্রহ করবে।
- কর্মরত সকলেই জীবাণুনাশক পদ্ধতি অবলম্বন করবে।
- পান সংগ্রহের সময় ধুমপান করা যাবে না।
- অসুস্থ্য কর্মচারী পানের জমিতে প্রবেশ নিষেধ।
- পানের জমিতে কাজ করে এমন কর্মচারীর ব্যবহারের জন্য টয়লেট এবং টয়লেট ব্যবহারের পর সাবান পানি দিয়ে হাত দেওয়ার ব্যবস্থা থাকতে হবে।
- একক ব্যবহারের তোয়ালে অথবা টিসু পেপারের ব্যবস্থা থাকতে হবে।

(ঙ) সংগৃহীত পান লোকাল কালেকশন সেন্টারে স্থানান্তর

কৃষক বা কৃষক গ্রুপ মাঠে হাইজেনিক উপায়ে পান সংগ্রহ করে প্রাথমিক সটিং ও গ্রেডিং করার জন্য লোকাল প্রাইমারী কালেকশন সেন্টারে স্থানান্তর করবে। স্থানান্তরের সময় সেনিটাইজিং কভার ভ্যান অথবা অন্য কোন সেনিটাইজার ট্রান্সপোটেশন ব্যবহার করা হয়। কালেকশন সেন্টারের রোমগুলি হবে স্যানিটাইজিং এবং হাইজেনিং কালেকশন সেন্টার এমন স্থানে হবে যেখানে মাইক্রোবিয়াল সংক্রমণের শঙ্কা থাকেনা। কালেকশন সেন্টারের অদূরে রপ্তানিকারক ও উৎপাদনকারীর জন্য হাইজেনিক টয়লেটের ব্যবস্থা থাকতে হবে।

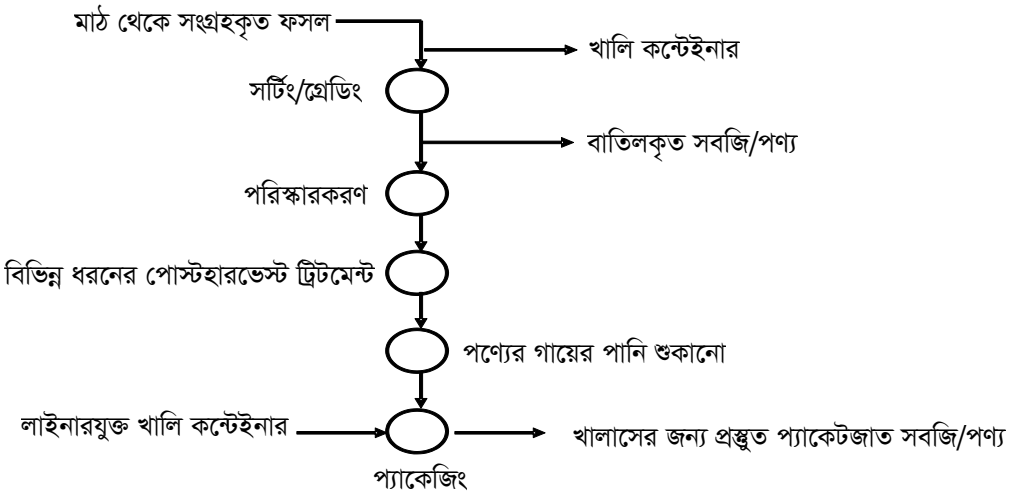
(চ) লোকাল কালেকশন সেন্টারে প্রাইমারী সটিং

কৃষক অথবা কৃষক গ্রুপ মাঠথেকে পান সংগ্রহ করে লোকাল কালেকশন সেন্টারে এনে প্রাথমিক সটিং এবং গ্রেডিং সম্পন্ন করবে পান সতেজ রাখার জন্য যে পানি ব্যবহার করা হবে তা অবশ্যই বিশুদ্ধ, নিরাপদ এবং বালাইনাশক ও জীবাণুমুক্ত হতে হবে । সেন্টারে প্রাইমারি সটিং, গ্রেডিং, এবং প্রাইমারি প্যাকিং করে নিয়ন্ত্রিত তাপমাত্রার কাভার্ড ভ্যানে করে কেন্দ্রীয় প্যাকিং সেন্টারে পরিবহন ও স্থানান্ত্মর করবে। পরিবহনের সময় তাপমাত্রা যেন না বাড়ে সে ব্যপারে সতর্কতা অবলম্বন করতে হবে।

(ছ) মাঠ পর্যায়ের ছাড়পত্র

উপজেলা কৃষি কর্মকর্তা নির্দিষ্ট পানের জমি সরজমিনে পরিদর্শন করার পর উক্ত পান উত্তম কৃষি পরিচর্যা এবং রেকর্ড সংরক্ষণ পদ্ধতি অনুসরণ করে উৎপাদন করা হয়েছে এবং উৎপাদিত পানে বায়োপ্যাসটিসাইড ব্যবহার করা হয়েছে অথবা এখানে মানবদেহের জন্য ক্ষতিকারক কোন রাসায়নিক কীটনাশক ব্যবহার হয়নি মমে একটি প্রত্যয়নপত্র দিবে।

উপরোল্লিখিত বিষয়গুলি ভালভাবে সম্পন্ন করার পর প্যাকহাউজে কোন একটি পণ্যের সংগ্রহোত্তর কার্য্যক্রম নির্ধারন করতে হবে, যা নিম্নের ফ্লো-চার্টের মাধ্যমে দেখানো হলো (চিত্র ৪)ঃ



(জ) পান কেন্দ্রীয় প্যাকিং হাউজে স্থানান্তর

রপ্তানিকারক স্থানীয় কালেকশন সেন্টারে অবস্থিত পান স্বাস্থ্যসম্মত উপায়ে, তাপমাত্রা নিয়ন্ত্রিত কাভার্ড ভ্যানে অথবা স্বাভাবিক তাপমাত্রার কাভার্ড ভ্যানে বরফ প্যাক ব্যাবহার করে কেন্দ্রীয় প্যাকিং হাউজে পরিবহন ও স্থানান্ত্মর করবে। এখানে যে বরফের প্যাক ব্যবহার করা হয়, তাহা অবশ্যই নিরাপদ পানি থেকে তৈরি হতে হবে।

লোকাল সেন্টার থেকে পান সেন্ট্রাল প্যাকিং হাউজে নেওয়ার সময় যে বিষয়গুলি খেয়াল রাখতে হবে ঃ

- গাড়িতে পান লোড করার সময় জীবাণুমুক্তভাবে লোড করতে হবে।
- যে সকল শ্রমিক পরিবহনে পান লোডিং এ জড়িত তাদের জীবাণুমুক্ত হতে হবে।
- গাড়ি সেনিটাইজার দ্বারা ধুয়ে নিতে হবে।
- পরিবহনকে পরিষ্কার রাখতে হবে।
- পরিবহন তাপমাত্রা নিয়ন্ত্রিত হতে হবে যাতে করে পান সতেজ থাকে।

(ঝ) কেন্দ্রীয় প্যাকিং সেন্টারে পান স্থানান্তরের সময় সতর্কতা

- পান পরিবহনকৃত কাভার্ড ভ্যানটি লোকাল কালেকশন সেন্টার থেকে সঠিক সময়ে রওনা হয়ে সময়মত কেন্দ্রীয় প্যাকিং হাউজে আসবে।
- কেন্দ্রীয় প্যাকিং হাউজের নির্ধারিত স্থানে পান অফলোড করা হবে।
- কেন্দ্রীয় প্যাক হাউজে অফলোডের সময় স্থানটি ভাল করে সেনিটাইজ করে নিতে হবে।

- পান অফলোডে কর্মরত কর্মচারীগণ অবশ্যই স্বাস্থ্যসম্মত উপায়ে পান কভার ভ্যান থেকে নামিয়ে পরবর্তী কার্যক্রমের জন্য নির্বাচিত প্রিকুলিং রুমে নিয়ে যাবে।

(ঞ) প্রিকুলিং রুম

পান প্রিকুলিং রুমে ৩০ মিনিটের জন্য রেখে দেওয়া হয়। প্রিকুলিং রুম অবশ্যই স্যানিটাইজার দ্বারা জীবাণুমুক্ত করে নিতে হবে।

সংগ্রহোত্তর পান রপ্তানির জন্য প্রস্তুতকরণ

(ক) ওয়াশিং রুম

পান প্রিকুলিং রুম থেকে ওয়াশিং রুম আনা হয়। এবং প্রথমে বিশুদ্ধ ও নিরাপদ পানি দিয়ে পান পরিষ্কার করে, সেনিটাইজার দিয়ে ২য় বার ধুয়ে বালাইনাশক ও জীবাণুমুক্ত করা হয়ে থাকে। সবশেষে আবার বিশুদ্ধ ও নিরাপদ পানি দিয়ে ধুয়ে নিরাপদ করা হয়। এই রুমে পান ধৈত করার জন্য পাশাপাশি কয়েকটি ৩টি বেসিন আছে এবং বেসিনে পাইপের মাধ্যমে বিশুদ্ধ ও নিরাপদ পানির প্রবাহ রাখা হয়। বেসিনগুলি ব্যবহার করে নিম্নোক্ত উপায়ে পান জীবাণুমুক্ত করা হয়।

বেসিন -১ ঃ প্রথমে বেসিনের দুই তৃতীয়াংশ পূর্ণ করা হয় বিশুদ্ধ ও নিরাপদ পানি দিয়ে। পরে এই পানিতে ২০-২৫ কেজি পান ২-৩ মিনিট ধরে ধোয়া ও পরিষ্কার করা হয়।

বেসিন -২ ঃ পূর্ববর্তী বেসিনের মত দুই তৃতীয়াংশ বিশুদ্ধ ও নিরাপদ পানি দিয়ে পূর্ণ করা হয়। এরপর পানিতে সানিটাইজার মিশানো হয়। পরে প্রথম বেসিনের ধোয়া পান দ্বিতীয় বেসিনে ১ মিনিট ডুবিয়ে রেখে পান তৃতীয় বেসিনে স্থানান্তর করা হয়।

বেসিন -৩ ঃ এই বেসিনে দ্বিতীয় বেসিন থেকে স্থানান্তরকৃত পান বিশুদ্ধ ও নিরাপদ পানির প্রবাহ দিয়ে ২-৩ মিনিট ধরে পরিষ্কার করা হয়। তারপর পানগুলি উঠিয়ে পানি ঝরাবার জন্য একটি ছিদ্রবহুল পাত্রে রাখা হয়।পানি ঝরে গেলে যত তাড়াতাড়ি সম্ভব ড্রায়িং টেবিলে স্থানান্তর করা হয়।

ড্রায়িং টেবিল

ড্রায়িং টেবিলে পান স্থানান্তর করে টেবিল ফ্যান অথবা অন্য কোন উপায়ে বাতাসের প্রবাহ দিতে হয় এবং ৫ মিনিট বাতাসের প্রবাহ দিলে অতিরিক্ত পানি পান থেকে ঝরে যায়।

(খ) সর্টিং ও গ্রেডিং

পানের অতিরিক্ত পানি দূর করার পর, সর্টিং টেবিলে পান সর্টিং এবং গ্রেডিং টেবিলে গ্রেডিং করার জন্য পান স্থানান্তর করা হয়। সর্টিং ও গ্রেডিং টেবিল সবসময় জীবাণুমুক্ত রাখা হয় স্যানিটাইজার ব্যাবহার করে। যদি পানের বোটা বড় থাকে তবে গ্রেডিং এর সময় জীবাণুমুক্ত ছুরি অথবা কাচি দিয়ে কেটে সমান করা হয় এবং পান গ্রেডিং টেবিলে সঠিকভাবে সাজানো হয়।

(গ) ফাইনাল প্যাকিং টেবিলে স্থানান্তর

উপযুক্ত গ্রেডিংকৃত পান গ্রেডিং টেবিল থেকে স্বাস্থ্যসম্মত উপায়ে পার্শ্ববর্তী ফাইনাল প্যাকিং টেবিলে স্থানান্তর করা হয় এবং এখানে নিম্নোক্ত কাজগুলি সঠিকভাবে সম্পাদন করতে হয়।

(ঘ) ফাইটোস্যানিটারী ইন্সপেকশন

সেন্ট্রাল প্যাকিং হাউজে দায়িত্বে থাকা উদ্ভিদ সংখ্যা নিরোধ কর্মকর্তা, প্যাকিং টেবিলে সাজানো পানের স্যাম্পল সঠিকভাবে মাঠ পর্যায়ের কৃষি কর্মকর্তা কর্তৃক প্রত্যয়নপত্র অনুসারে পরোক্ষ করেন এবং যদি কোন কোয়ারেন্টাইন রোগ বালাই বা পোকামাকড় এমনকি মাইক্রোবিয়াল

ক্ষতিকর অরগানিজম যেমন সালমোনেলা ব্যাকটেরিয়া আছে বলে মনে করেন এবং নিশ্চিত হন তবে উক্ত পান রপ্তানির জন্য অযোগ্য ঘোষণা করেন এবং রপ্তানির জন্য প্রয়োজনীয় ফাইটোস্যানিটারী সার্টিফিকেট প্রদান করা থেকে বিরত থাকেন। কিন্তু যদি কোন কোয়ারেন্টাইন রোগ বালাই ও পোকা মাকড় এবং সালমোনেলার উপস্থিতি না পান তবে তিনি রপ্তানিকারকে হাইজেনিক এবং স্যানিটাইজিংকৃত কাটুনে পরিদর্শনকৃত পানকে সঠিকভাবে আন্তর্জাতিক আইন মেনে প্যাকিজিং করার অনুমতি প্রদান করেন এবং রপ্তানিকারকের পক্ষে পান রপ্তানির জন্য ফাইটো স্যানিটারী সার্টিফিকেট প্রদান করেন।

পান প্যাকেজিং এবং লেভেলিং

উদ্ভিদ সংগনিরোধ কর্মকর্তা কর্তৃক পরিদর্শনকৃত পান রপ্তানিকারকগণ হাইজেনিকভাবে প্যাকেজিং করেন। প্রতিটি প্যাকেটের গায়ে হাইজেনিক উপায়ে লেবেলিং করা হইয়ে থাকে। লেবেলিং এ আন্তর্জাতিক নিয়ম অনুসারে রপ্তানিকারকের কোম্পানির নাম, অরিজিন আমদানিকারকের নাম এবং দেশ সঠিকভাবে প্যাকেটের গায়ে লিখতে হয়। প্যাকেজ প্রস্তুত হওয়ার পর সংজ্ঞা নিরোধ কর্মকর্তা প্যাকেটে পরিদর্শনকৃত সিল মার্ক করে দেন।

(চ) সাময়িক সময়ের জন্য স্যানিটাইজিং রোমে স্থানান্তর

যদি তাৎক্ষনিকভাবে শিপমেন্ট করতে না হয় তবে পানের প্যাকেট সাময়িক সময়ের জন্য সেন্ট্রাল প্যাকিং হাউজের স্যানিটাইজিং তাপমাত্রা নিয়ন্ত্রিত কক্ষে রাখা হয়। আর যদি শিপমেন্টের সময় আসন্ন থাকে তবে পরিদর্শনকৃত পানের কার্টুনসমূহ পরিদর্শকের উপস্থিতিতে স্যানিটাইজিং তাপমাত্রা নিয়ন্ত্রিত কভার ভ্যানে তুলে সিলগালা করত বিমান বন্দরে কার্গো ভিলেজে প্রেরণ করা হয়।

(ছ) পান কার্গো ভিলেজে স্থানান্তর এবং রপ্তানি

সিলগালাকৃত কনসাইনমেন্টটি সরাসরি হযরত শাহজালাল আন্তর্জাতিক বিমান বন্দরের কার্গো ভিলেজে প্রবেশ করবে। সেখানে কার্গো ভিলেজের দায়িত্বপ্রাপ্ত উদ্ভিদ সংজ্ঞা নিরোধ কর্মকর্তা/ পরিদর্শক পান বহনকারী ভ্যানের সিলগালাটি খুলে দিবেন এবং রেজিষ্টারে সংরক্ষণ করবে। এখানে কাস্টমস ক্লিয়ারেন্স সম্পন্ন করা হয়। এরপর সিভিল এভিয়েশন কর্তৃক স্কেনিং করা হয় এব রপ্তানির জন্য প্রস্তুত করা হয়। অতঃপর বিমান যোগে আমদানীকারকের নিকট পাঠানো হয়।

রেকর্ড সংরক্ষণ

উত্তম কৃষি পরিচর্যার মাধ্যমে উৎপাদিত রপ্তানিযোগ্য পানের টেসিবিলিটি নিশ্চিত করার জন্য উৎপাদন পর্যায় থেকে শুরু করে রপ্তানির পূর্ব পর্যন্ত সকল প্রকার কার্যাদির রেকর্ড সংরক্ষণ একটি গুরুত্বপূর্ণ বিষয়। যেখানে অবস্থান করবে ফার্মারদের গ্রুপ লিষ্ট, উৎপাদন এরিয়া, উৎপাদনে ববহৃত উপকরণাদির তথ্যাদি, উৎপাদনে ব্যবহৃত জৈব ও রাসায়নিক বালাই নাশকের নাম প্রয়োগের মাত্রা, জমিতে প্রয়োগের তারিখ, ইন্টার ক্যালসার অপারেশনের তথ্যাদি, সংগ্রহ ও সহগ্রোত্তর ব্যবস্থাপনার সকল তথ্যাদি, পরিবহন এবং পান রপ্তানির পর্যায়ে কি কি হাইজেনিং পদ্ধতি এবং হ্যাসাপ অনুসরণ করে পান রপ্তানি করা হচ্ছে তার সকল তথ্যাদি সঠিকভাবে লিপিবদ্ধ করতে হবে যাতে করে যদি কোন সমস্যা হয় তবে বলা যাবে কোন স্পেসিফিক পর্যায়ে ঐ সমস্যাটি হয়েছে এবং তাহা সমাধান করা অধিকতর সহজ হবে।

নিম্মোক্ত গাইডলাইন সমূহ অনুসরণ করে বালাইমুক্ত নিরাপদ পান উৎপাদন, প্রক্রিয়াকরণ ও Certification করা যাবে।

(ক) কৃষক নির্বাচনের শর্ত ঃ (১) আধুনিক ও প্রগতিশীল হতে হবে। (২) কম/বেশি শিক্ষিত হতে হবে। (৩) উদ্যোগী হতে হবে।(৪) প্রশিক্ষণে আগ্রহ থাকতে হবে। (৫) রপ্তানিকারক ও ক্রেতার সাথে নির্ধারিত ফর্মে চুক্তিবদ্ধ হতে হবে। (৬) পান উৎপাদন ব্যবস্থাপনা সম্পর্কে সক্ষমতা থাকতে হবে। (৭) GAP অনুসরণ ও প্রতিপালনে আগ্রহী হতে হবে। (৮) Traceability এর জন্য রেকর্ডবুক সংরক্ষণ করতে হবে। (৯) পান সংগ্রহোত্তর ব্যবস্থাপনা সম্পর্কে জ্ঞান থাকতে হবে।

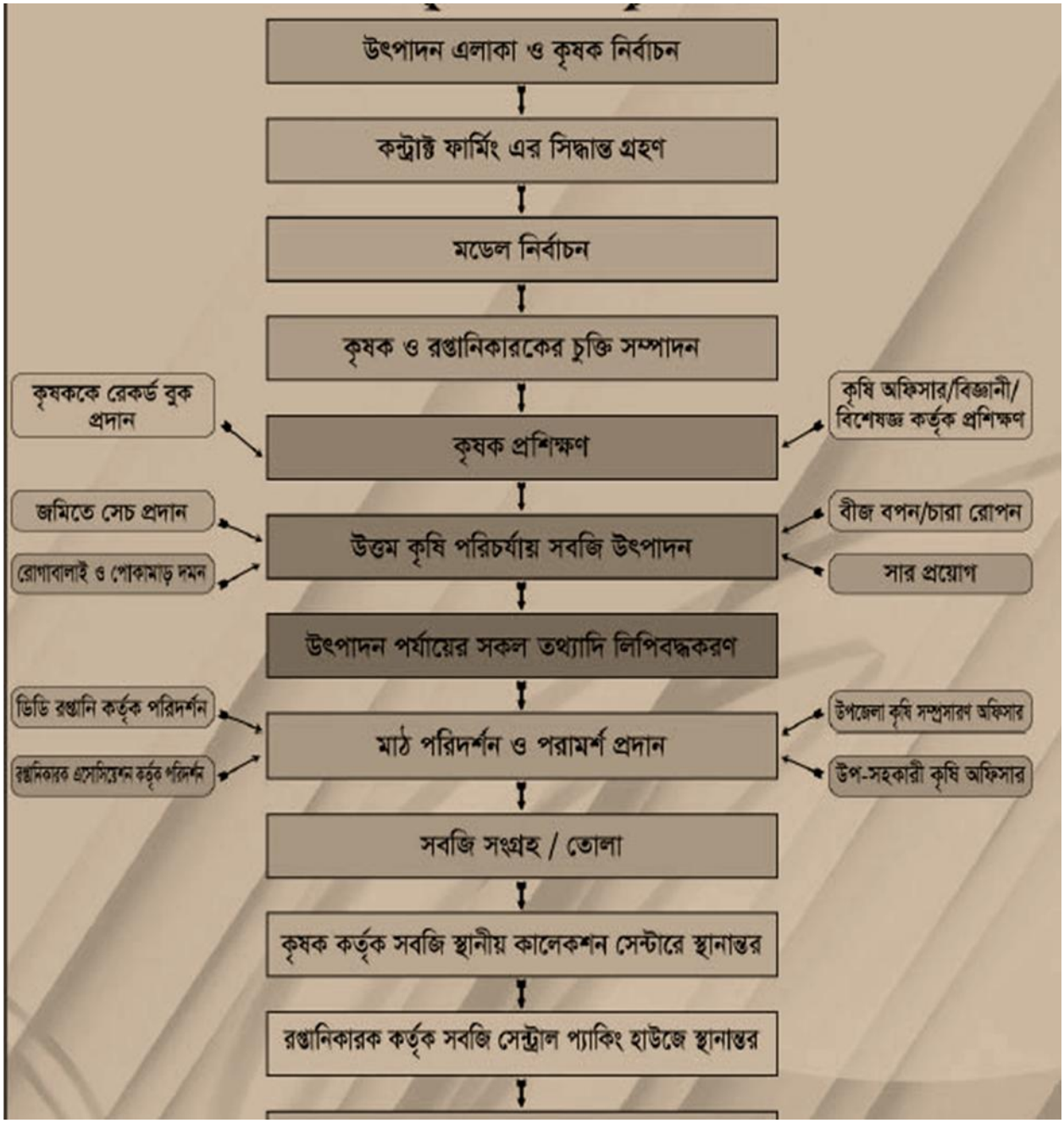
(খ) রপ্তানিকারক/ক্রেতা নির্বাচনের শর্ত ঃ (১) উদ্যোগী হতে হবে। (২) সরকারের নীতিমালা বাস্তবায়নে আগ্রহী হতে হবে। (৩) কৃষকের সাথে নির্ধারিত ফর্মে চুক্তিবদ্ধ হতে হবে। (৪) উদ্ভিদ সংগনিরোধ উইং হতে নিবন্ধিত হতে হবে। (৫) সরকারি বিধি বিধান ও আদেশ নিষেধ পালনে আন্তরিক হতে হবে। (৬) GAP, Traceability, HACCP, MRL অনুসরণে আগ্রহী ও দক্ষতা থাকতে হবে। (৭) কৃষক/শ্রমিকদের প্রশিক্ষণের ব্যবস্থা করতে হবে। (৮) পান চাষী, শ্রমিকদের এপ্রোন, ক্যাপ, জুতা, ক্রেট ইত্যাদি Tools and Techniques সরবরাহের ব্যবস্থা করতে হবে।

(গ) উৎপাদন পর্যায়ের শর্তাবলী ঃ (১) অঞ্চল ভিত্তিক/ফসল ভিত্তিক এলাকা চিহ্নিত করণ।(২) কৃষকের সাথে রপ্তানিকারককে চুক্তিবদ্ধ হতে হবে। (৩) রপ্তানিকারকদের উদ্ভিদ সংগনিরোধ উইং, ডিএই এর নিবন্ধন থাকতে হবে।(৪) উৎপাদনের প্রতিটি পর্যায়ে উত্তম কৃষি ব্যবস্থাপনা (GAP-Good Agricultural Practices) ধাপে ধাপে অনুসরণ করতে হবে।(৫) Traceability এর যাবতীয় তথ্য রেজিষ্টাওে রেকর্ডবুক সংরক্ষণ এবং তা নিয়মিত মনিটরিং এর ব্যবস্থা করতে হবে (৬) বালাই দমনের সমন্বিত ব্যবস্থা করতে হবেঃ-বালাইমুক্ত এলাকা এবং কম বালাইমুক্ত এলাকা সনাক্ত করতে হবে।(৭) রপ্তানিকারক/ (ক্রেতাগনের মাঠপর্যায়ের কৃষি সম্প্রসারণ অধিদপ্তরের উপ-পরিচালক ও উপজেলা কৃষি অফিসারের সাথে সার্বিক যোগাযোগ থাকতে হবে। (৮) উদ্ভিদ সংগনিরোধ উইং রপ্তানিযোগ্য পান উৎপাদনের সকল পর্যায়ের কার্যক্রম পরিদর্শণ ও মনিটরিং করবে।

(ঘ) সংগ্রহ ও সংগ্রহোত্তর পর্যায়ের শর্তাবলী : (১) পান সংগ্রহের পূর্বে BARI ল্যাবে রপ্তানিযোগ্য পানের MRL পরীক্ষা সম্পন্ন করতে হবে। (২) Crop cycle এবং Maturity দেখে পান সংগ্রহ করতে হবে। (৩) সংগ্রহের জন্য প্রয়োজনীয় Tools and Techniques যেমন Harvester, cretes ইত্যাদি ব্যবহার করতে হবে। (৪) স্থানীয় প্যাকিং হাউজ নির্মাণ করে সেখানে প্রাথমিক সর্টিং ও গ্রেডিং শেষে কেন্দ্রীয় প্যাকিং হাউজে আনতে হবে। (৫) পণ্যের Traceability এর জন্য উপজেলা কৃষি অফিসারের নিকট হতে একটি প্রত্যয়নপত্র আনতে হবে।

(ঙ) রপ্তানি/বাজারজাতকরণ পর্যায়ে করণীয় ঃ (১) প্যাকিং হাউজে সংশ্লিষ্ট উদ্ভিদ সংগনিরোধ টিমের উপস্থিতিতে ওয়াশিং, ড্রাইং, সর্টিং, গ্রেডিং, ট্রিটমেন্ট এবং প্যাকিং এর কাজ সম্পন্ন করতে হবে।(২) উন্নত মানের প্যাকেজিং /কার্টুন ব্যবহার করতে হবে। কার্টুন এর গায়ে আমদানিকারক /রপ্তানিকারক ও পণ্যের সমস্ত বিবরণ প্রিন্টেড থাকতে হবে।(৩) অতঃপর প্যাকিং হাউজের দায়িত্ব প্রাপ্ত কর্মকর্তা উক্ত কনসাইমেন্টির জন্য প্রয়োজনীয় ফাইটোস্যানিটারি সার্টিফিকেট ইস্যু করবেন এবং পরিবহনের নিমিত্ত ব্যবহৃত কুলভ্যান/কাভার্ড ভ্যানটি সিলগালা করে দেবেন। (৪) পান রপ্তানির পূর্বে MRL (Maximum Residual Level/Limit) পরীক্ষা সম্পন্ন করতে হবে।

(চ) কৃষি সম্প্রসারণ অধিদপ্তরের করণীয়সমূহ ঃ (১) শাক-সবজি ও ফল-মূল উৎপাদনের ক্ষেত্রে ফসল ভিত্তিক জোন ঘোষণা। (২) ঘোষিত জোনে চুক্তিবদ্ধ চাষ ব্যবস্থায় ফসল উৎপাদন এবং বিপণনের বিষয়ে কৃষক এবং বিপণনকারী প্রতিষ্ঠান/ রপ্তানিকারককে উদ্বুদ্ধকরণ। (৩) GAP, Traceability, Recordkeeping, উপযোগী সার ও বালাইনাশক ইত্যাদি বিষয়ে ডিএই-এর মাঠ পর্যায়ের কর্মকর্তাগণ সহযোগিতা প্রদান-করবেন। (৪) চুক্তিবদ্ধ চাষ ব্যবস্থা পরিদর্শণসহ প্রয়োজনীয় সহায়তা প্রদান এবং পণ্য উৎপাদন পোকা-মাকড়/রোগ বালাই এর অবস্থা বিষয়ে প্রাথমিক রেকর্ড প্রদানের জন্য কৃষি মন্ত্রণালয় হতে ডিএই এর মাঠ পর্যায়ে জনবলকে প্রয়োজনীয় নির্দেশনা দান। (৫) উৎপাদন অবস্থা বিষয়ক মাঠ পর্যায়ের কৃষি কর্মকর্তার প্রাথমিক রেকর্ডের ভিত্তিতে PC ইস্যুকরণ।


উৎপাদন এলাকা ও কৃষক নির্বাচন
কন্ট্রাক্ট ফার্মিং এর সিদ্ধান্ত গ্রহণ
মডেল নির্বাচন
কৃষক ও রপ্তানিকারকের চুক্তি সম্পাদন
কৃষককে রেকর্ড বুক প্রদান
কৃষক প্রশিক্ষণ
কৃষি অফিসার/বিজ্ঞানী/ বিশেষজ্ঞ কর্তৃক প্রশিক্ষণ
জমিতে সেচ প্রদান
রোগাবালাই ও পোকামাড় দমন
উত্তম কৃষি পরিচর্যায় সবজি উৎপাদন
বীজ বপন/চারা রোপন
সার প্রয়োগ
উৎপাদন পর্যায়ের সকল তথ্যাদি লিপিবদ্ধকরণ
ডিডি রপ্তানি কর্তৃক পরিদর্শন
রপ্তানিকারক এসোসিয়েশন কর্তৃক পরিদর্শন
মাঠ পরিদর্শন ও পরামর্শ প্রদান
উপজেলা কৃষি সম্প্রসারণ অফিসার
উপ-সহকারী কৃষি অফিসার
সবজি সংগ্রহ / তোলা
কৃষক কর্তৃক সবজি স্থানীয় কালেকশন সেন্টারে স্থানান্তর
রপ্তানিকারক কর্তৃক সবজি সেন্ট্রাল প্যাকিং হাউজে স্থানান্তর

Technology for Farmer Brief

Cleaning and Sanitization Technology

Eco-powder for washing fruits & vegetables

What is Eco-powder:

1. Prepared from marine shell waste, thus natural, eco-friendly and biodegradable
2. White powder and no odor.
3. Possess antibacterial and antifungal activity
4. Proven as effective in killing bacteria & fungus, and remove contaminants from the fruits and vegetables surface.

Use:

1. Use ¼ teaspoon (0.01%) of Eco-powder in sufficient potable water for sanitizing fruits and vegetables (1:10 ratio preferable)
2. Use ½ teaspoon (0.1%) of Eco-powder in sufficient potable water for sanitizing bulk batch size (<50 kg)

Procedure for standard Washing, Rinse, Drying, Packing, Storage and Transportation

Max 40 Seconds

Dipping betel leaf in 0.01% CCa

Max 40 Seconds

Rinse in clean water

Max 2 hours

Dry at RT; Fan, dryer etc.

At room temp.

Packaging

Storage at cool temp

Cool temperature transportation

Precaution:

1. Add ¼ teaspoon in 10 L tap water and mix vigorously to prepare sanitized water. Then dipping betel leaf into the sanitized water for 40-60 seconds. [Make sure the ratio of betel leaf and sanitized water is 1: 10, meaning 1.0 kg betel leaf to be dipped into 10 L of sanitized water]. **Don't re-use the sanitized water, fresh sanitized water to be used for each batch of betel leaf.**
2. Then transfer the betel leaf in a separate vessel for rinse using clean water for 40-60 seconds.
3. Then transfer the betel leaf in perforated tray to run off the excess water for 1 hour and then dry using fan at room temperature or spin dryer. Once dried, transfer the dried betel leaf for packaging. Use hand gloves while doing all these operation.
4. After packaging, transfer the package containing betel leaf to cold storage and **maintain this cold temperature during transportation and delivery.**