

ICS

DB51

四川省地方标准

DB51/T 1671—2013

柑桔叶螨抗药性监测技术规程

2013 - 12 - 2 发布

2014 - 03 - 01 实施

四川省质量技术监督局

发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 试剂与材料	1
4 仪器设备	2
5 试验步骤	2
6 数据统计与分析	3
7 抗性水平的计算与评估	3
附录 A（资料性附录） 柑桔全爪螨对部分杀螨剂敏感毒力基线	5

前 言

本标准的附录A为资料性附录。

本标准由四川省农业厅提出并归口。

本标准由四川省质量技术监督局批准。

本标准由四川省农业厅植物保护站负责起草

本标准主要起草人：伍亚琼、张伟、胡韬、罗林明、沈丽、彭丽年、詹俊良、张小平、岳利华。

柑桔叶螨抗药性监测技术规程

1 范围

本标准规定了玻片浸渍法监测柑桔叶螨抗药性的方法。
本标准适用于柑桔叶螨对杀螨剂的抗药性监测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

2.1

抗药性 acaricide resistance

螨类种群中发展并可以遗传给后代的对杀死正常种群药剂剂量的忍受能力。

2.2

F₁代 F₁ generation

从田间采集害螨，室内饲养，繁殖后得到的下一代。

2.3

敏感基线 susceptibility baseline

通过生物测定方法得到的害螨敏感品系（或种群）对杀螨剂的剂量反应曲线及LC₅₀。

2.4

玻片浸渍法 Slide-dip method

将试虫浸入一系列不同浓度的药液中，5s钟后取出，吸除多余的药液，观察试虫死亡率与药剂浓度间的关系。

3 试剂与材料

3.1 生物试材

试虫：柑桔全爪螨（柑桔红蜘蛛）*Panonychus citri* (McGregor)、柑橘始叶螨 (*Eotetranychus Kankitus*)等柑桔叶螨类；

供试植物：盆栽柑桔。

3.2 试验药剂

原药或母药。

4 仪器设备

4.1 实验室通常使用仪器设备

4.2 特殊仪器设备

电子天平（感量0.1mg）；塑料杯（直径7.5cm，高11cm）；容量瓶（10mL、25mL）；量筒（500mL）；白瓷盘（22.5×16cm）；移液管（2mL）；载玻片（2.5×7.5cm）；烧杯（500mL）；零号描笔；双目解剖镜；眼科镊子；海绵；双面胶带；恒温光照培养箱。

5 试验步骤

5.1 试虫准备

5.1.1 试虫采集

选当地具有代表性的柑橘园，用棋盘式取样，随机采摘50~100张有蚜叶片（一般为越冬代后的第1~2代蚜），供室内饲养。

5.1.2 叶片处理

在白瓷盘中放一张海绵，上盖一块长宽略小于海绵的滤纸，摘取盆栽的柑橘的叶片，作净化处理，清除天敌和其它种类的蚜，然后放在塑料纸上，叶柄向外，并用脱脂棉花卷在叶柄端以保持叶片新鲜，于盘中加少量水，供饲养测定蚜用。

5.1.3 试虫饲养

用零号描笔挑取采集的成蚜，放在准备好的瓷盘中的叶片上，每叶30~50头，产卵24h后，加新鲜叶片，待成蚜转移到新叶后，取出放在另一盘中，隔天一次。卵孵后饲养出整齐一致的3~4日龄雌成蚜供抗药性监测使用。饲养条件为25±1℃，相对湿度85%，光周期16h光照，8h黑暗。

5.2 药剂配制

根据药剂种类，在电子天平上用容量瓶称取适量的原药，用有机溶剂（如丙酮等）溶解，加入0.1% Triton-X100（或0.1%的吐温80），用有机溶剂定容，加工成制剂。用移液管或移液器吸取一定量的制剂加入塑料杯中，用蒸馏水稀释配制成一定质量浓度的药液供预备试验。根据预备试验结果，按照等比梯度设置5~7个系列质量浓度。每质量浓度药液量不宜少于250 mL。

5.3 处理方法（玻片浸渍法）

用载玻片，把双面胶粘贴在玻片一端。在解剖镜下，用零号描笔轻轻挑起，把雌成蚜背面向下，粘贴于玻片上，以便足和口器能自由活动，每张玻片30头，排成2~3行。处理前每玻片在解剖镜下复查，剔除死亡或足及口器不能自由活动的个体，并重新补足30头，重复3~4次。

5.4 结果检查

将贴虫一端玻片在药液中浸5s,取出后用吸水纸吸干虫体周围的药液,用蒸馏水作对照,然后放在白瓷盘中,置于恒温光照培养箱中,温、光、湿度条件同5.1.3,经24h检查死虫率,在解剖镜下用零号描笔轻轻拨动虫体,凡是不能自由活动的为死虫。记录总虫数、死虫数。

6 数据统计与分析

6.1 计算方法

根据调查数据,计算各处理的校正死亡率。按公式(1)和(2)计算,计算结果均保留到小数点后两位:

$$P_1 = \frac{K}{N} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

P_1 ——死亡率,单位为百分率(%);

K ——表示死亡虫数,单位为头;

N ——表示处理总虫数,单位为头。

$$P_2 = \frac{P_t - P_0}{1 - P_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

P_2 ——校正死亡率,单位为百分率(%);

P_t ——处理死亡率,单位为百分率(%);

P_0 ——空白对照死亡率,单位为百分率(%)。

若对照死亡率<5%,无需校正;对照死亡率在5%~20%之间,应按公式(2)进行校正;对照死亡率>20%,试验需重做。

6.2 统计分析

采用DPS、SPSS等软件进行统计分析,建立每种药剂的毒力回归方程式,计算 LC_{50} 值及其95%置信限、b值及其标准误。

7 抗性水平的计算与评估

7.1 敏感毒力基线

7.1.1 部分已知的敏感毒力基线

柑桔全爪螨对部分杀螨剂的敏感毒力基线(附件A)。

7.1.2 新农药敏感毒力基线建立

敏感毒力基线的建立,先建立敏感群体。柑桔叶螨敏感群体一般在未接触过药剂的偏僻地区采集。用敏感群体测得的对某种药剂的毒力曲线称为这种药剂的敏感基线。敏感基线的b值应在2.0以上,并在实际应用中以连续三年验证,才能最后确定为该种农药的敏感毒力基线。

7.2 抗药性水平的计算

根据敏感品系的 LC_{50} 值和测试种群的 LC_{50} 值，按公式（3）计算测试种群的抗性倍数。

$$RR = \frac{\text{测试种群的 } LC_{50}}{\text{敏感品系的 } LC_{50}} \dots\dots\dots (3)$$

RR——抗性倍数。

7.3 抗性水平评估

7.3.1 抗性水平的分级标准

表1 抗性水平的分级标准

抗性水平分级	抗性倍数（倍）
低水平抗性	$RR \leq 10.0$
中等水平抗性	$10.0 < RR \leq 100.0$
高水平抗性	$RR > 100.0$

7.3.2 抗性水平的评估

按照抗性水平的分级标准，对测试种群的抗性水平作出评估。

附 录 A
 (资料性附录)
 柑桔全爪螨对部分杀螨剂敏感毒力基线

药剂名称	Slope±Se	LC ₅₀ [95%置信限] (mg litre ⁻¹)
三唑锡	0.31 (± 0.08)	40 [21; 70]
螺螨酯	1.44 (± 0.26)	1.2 [0.4; 2.1]
阿维菌素	1.267 ± 0.154	0.026 [0.020; 0.033]
甲氰菊酯	1.359 ± 0.189	6.750 [4.941; 8.745]
哒螨酮	1.894 ± 0.271	0.131 [0.106; 0.164]

注：此敏感基线数据引自西南大学植物保护学院王进军教授等的结果。