

HNNY

湖南省农业技术规程

HNNY500-2026

柑橘木虱抗药性监测技术规程

Code of practice for resistance monitoring of *Diaphorina Citri*

2026-07-08 发布

2026-07-08 实施

湖南省农业农村厅发布

目 次

前言 1

1 范围 2

2 规范性引用文件 2

3 术语和定义 2

4 试剂与材料 3

5 仪器设备 3

6 试验步骤 4

7 数据统计与分析 5

8 抗药性水平评估 6

9 废弃物处置 6

10 测档案管理 6

附录 A（资料性） 木虱成虫对杀虫剂的敏感毒力基线 8

附录 B（资料性） 柑橘木虱抗药性监测记录 9

前 言

本文件按《湖南省农业技术规程制定与发布管理规范》相关规定起草。

本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由湖南省农业标准化技术委员会提出并技术归口。

本文件起草单位：湖南农业大学、湖南省园艺研究所、华容县植保植检站、郴州市农业农村综合服务中心、邵阳市植保植检站、衡东植保植检站、保靖县农业农村局、江华瑶族自治县农业技术推广中心、新宁县植保植检站、安化县植保植检站。

本文件起草人：杨中侠、易图永、戴伏高、龚碧涯、朱江玥、邓奕文、彭智伟、秦长华、王俊华、奉明凤、郑平钰、吴晶华、刘慧、向敏、何志明、袁招权、王思媛。

柑橘木虱抗药性监测技术规程

1 范围

本文件规定了柑橘木虱 (*Diaphorina citri* Kuwayama) 抗药性监测的试剂与材料、仪器设备、试验监测、数据计算、抗药性水平评估和废弃物处置等要求。

本文件适用于柑橘木虱对各类杀虫剂的抗药性监测工作。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 抗药性 insecticide resistance

原本对某种杀虫剂敏感的柑橘木虱种群，经长期接触该药剂后，对其敏感性显著下降，常用剂量下难以达到预期防治效果的特性。

3.2 敏感基线 susceptibility baseline

通过生物测定方法获得的柑橘木虱敏感品系（或未接触过目标药剂的种群）对杀虫剂的剂量 - 反应曲线，作为抗药性水平评估的基准。

3.3 致死中浓度 LC_{50}

在规定条件下，药剂处理柑橘木虱后，能导致 50% 供试个体死亡的浓度，单位为毫克每升 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。

3.4 致死 90% 浓度 LC_{90}

在规定条件下，药剂处理柑橘木虱后，能导致 90% 供试个体死亡的浓度，单位为毫克每升 (mg/L)。

3.5 抗性倍数 resistance ratio, RR

测试田间柑橘木虱种群的 LC_{50} 值与敏感品系 LC_{50} 值的比值，用于量化抗药性水平。

4 试剂与材料

4.1 试剂

丙酮、乙醇及吐温20（均为分析纯），蒸馏水，杀虫剂原药或母药（纯度 $\geq 95\%$ ）。

原药应明确药剂名称、批号及生产厂家。

4.2 生物试材

4.2.1 供试昆虫

选择湖南省内柑橘主产区具有代表性的果园 1~2 块，优先选择柑橘夏梢、秋梢生长期，在木虱聚集的嫩梢上，用 100 目网纱成虫采集袋采集健康活跃的成虫，避免采集伤残或羽化不足 24 h 的个体。采集后立即置于装有新鲜柑橘嫩叶的采集袋中，24 h 内带回实验室备用，田间采集时需记录果园位置、柑橘品种、树龄及近期用药情况。

4.2.2 供试植物

选择新鲜、洁净、无农药污染的柑橘嫩叶（优先选用夏梢或秋梢嫩叶），用于制作叶碟。

5 仪器设备

5.1 计量器具

分析天平（精度：0.0001g）、移液器（量程：0.1 mL~10 mL）。

5.2 玻璃器皿

烧杯、容量瓶（10mL、50 mL、100 mL）、离心管（50 mL）、棕色玻璃瓶、锥形玻璃瓶（瓶口直径4cm以上）。

5.3 采样与处理工具

100 目网纱成虫采集袋、镊子、剪刀、毛笔、打孔器（直径 4.3 cm）、滤纸、棉花、保鲜膜、托盘。

5.4 饲养与培养设备

100 目网纱笼、嫩叶率达40%以上的九里香苗、恒温培养箱或人工气候箱（控温精度 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，光照周期可调）。

6 试验监测

6.1 试材准备

6.1.1 试虫饲养

将采集的柑橘木虱成虫转移至 100 目网纱笼中，每个笼放置 1 株嫩叶率超过 40% 的九里香苗作为寄主植物，不同采集地点的种群单独饲养。饲养条件为温度 $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度 70% $\pm 5\%$ ，光照周期 16:8 (L:D)，饲养 1 d~2 d 后选取健康均一的成虫进行试验。

6.1.2 叶碟制作

用直径 4.3 cm 的打孔器将新鲜柑橘嫩叶制成圆片，去除主脉，置于铺有湿润滤纸的培养皿中备用，叶碟制作后 2 h 内使用。

6.2 药剂制备

6.2.1 母液

准确称量杀虫剂原药，用丙酮溶解配制成高浓度贮存备用母液，密封后置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存，保存期不超过 7 d，母液保存容器应为棕色玻璃瓶，避免光照降解。

6.2.2 测试液

通过预试验确定药剂的浓度系列范围（最低浓度死亡率 $<20\%$ ，最高浓度死亡率 $>80\%$ ），用含 0.1% 吐温 20 的蒸馏水将母液稀释成 5~7 个系列浓度的测定药液。每浓度配制药液量不少于 10 mL，稀释时需提前用 0.1% 吐温 20 润洗容量瓶并检查气密性，加液体时用玻璃棒引流，引流后再次润洗。以含 0.1% 吐温 20 的蒸馏水作为空白对照。

6.3 监测

6.3.1 药膜制作

将不同浓度的药液分别装入对应玻璃瓶中，盖上瓶盖缓慢旋转，使药液均匀分布于瓶壁，放入柑橘叶碟浸泡 30 s 后取出，自然晾干至无可见液滴，待丙酮完全挥发后（约 1 h~2 h），在玻璃瓶内壁和叶碟表面形成均匀药膜，用 100 目网纱封口备用；对照瓶仅用丙酮处理叶碟和瓶壁。

6.3.2 接虫

将饲养好的柑橘木虱成虫饥饿 1 h~2 h 后，用毛笔轻轻接入带药膜的玻璃瓶中，每个玻璃瓶接入 20 头成虫，用网纱封口固定，每个浓度重复 4 次。

6.3.3 恢复培养

将接虫后的玻璃瓶平放于托盘中，置于恒温培养箱中，培养条件为温度 $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，光照周期 16:8 (L:D)。

6.3.4 结果检查

接虫后 48 h 检查死亡率，取出玻璃瓶剧烈摇动后，将成虫倒置于白纸上，在充足光线下用细刷探查，无法行走（距离 $>5\text{ mm}$ ）的个体记录为死亡，若判断不准确可重复操作。

6.4 质量控制

6.4.1 试虫存活率

饲养48 h期间试虫存活率应 $\geq 90\%$ ，否则需重新采集试虫。

6.4.2 对照死亡率

空白对照死亡率应 $<5\%$ ，若在 $5\%\sim 20\%$ 之间需进行校正， $>20\%$ 则试验需重做。

6.4.3 重复一致性

同一浓度处理的 4 次重复死亡率变异系数应 $\leq 15\%$ ，否则需补充试验。

7 数据计算

7.1 死亡率

根据调查数据，按以下公式计算死亡率和校正死亡率，结果保留小数点后两位：

——死亡率 (P_1)： $P_1(\%) = N / K \times 100$ 式中：K 为每处理浓度总死亡虫数（头）；N 为每处理浓度总虫数（头）；

——校正死亡率 (P_2)： $P_2(\%) = (P_t - P_0) / (1 - P_0) \times 100$ 式中：P 为处理死亡率（%）； P_0 为空白对照死亡率（%）。

7.2 回归方程与致死浓度

采用机率值分析法，以药剂浓度对数为自变量，校正死亡率机率值为因变量，求出每种供试药剂的回归方程、卡方 (χ^2)、决定系数 (R^2)、 LC_{50} 值、 LC_{90} 值及其 95% 置信限、斜率 (b 值) 及其标准误。决定系数 R^2 应 ≥ 0.95 ，否则需重新进行试验。

7.3 数据记录（附件按顺序）

详细记录各浓度处理的试虫总数、死亡数、死亡率、校正死亡率，以及回归分析相关参数，填入附录 A 的监测档案表中。

8 抗药性水平评估

8.1 敏感性基线

采用田间采集的柑橘木虱种群，室内饲养多代后，检测对部分杀虫剂的毒力作为敏感基线（见附录 A），无对应药剂基线时，需先建立本地敏感种群基线。

8.2 抗性倍数计算

按以下公式计算测试种群的抗性倍数， $RR=T/S$ 。式中：RR 为抗性倍数；T 为测试种群的 LC_{50} 值（ $mg \cdot L^{-1}$ ）；S 为敏感品系的 LC_{50} 值（ $mg \cdot L^{-1}$ ），结果保留两位有效数字。

8.3 抗性水平分级

根据抗性倍数，按表1评估柑橘木虱抗药性水平。

表 1 柑橘木虱抗药性水平分级

抗药性水平分级	抗性倍数（倍）
敏感	$RR \leq 5.0$
低水平抗性	$5.0 < RR \leq 10.0$
中等水平抗性	$10.0 < RR \leq 100.0$
高水平抗性	$RR > 100.0$

8.4 评估报告（报告内容包括但不限于监测时间、区域、监测规模、抗药性水平、建议等）

根据抗药性水平分级结果，结合监测区域的用药历史和柑橘木虱发生情况，撰写抗药性监测评估报告，评估报告内容包括但不限于监测时间、区域、木虱种群规模、木虱抗药性水平分级、药剂轮换、防控建议等。

9 档案管理

农药包装瓶、包装袋等包装废弃物应集中分类无害化、资源化处置。

10 档案管理

应建立柑橘木虱抗药性监测档案，其内容包括但不限于监测地点、监测时间、柑橘品种、树龄、作物生育期、当地用药水平（近 1 年内使用的杀虫剂种类、使用次数、使用剂量）等信息；试验信息包括但不限于生测方法（玻璃瓶叶片药膜法或滤纸药膜法）、试虫采集情况、药剂信息（名称、纯度、生产厂家）、浓度系列设置、重复次数；结果信息包括但不限于校正死亡率、回归方程、相关系数、 LC_{50} 值、 LC_{90} 值、抗性倍数、抗药性水平等级；其他信息包括但不限于试验人员、记录日期、异常情况说明（如气候波动、试虫异常死亡等）。

监测档案需以纸质和电子两种形式保存，保存期限 2 年以上，电子档案需备份以防丢失。档案管理应符合湖南省农作物病虫害监测预警体系的数据管理要求，便于数据共享和联动指导。

附 录 A
(资料性)
柑橘木虱抗药性监测记录

A.1 监测基础信息

柑橘木虱抗药性监测基础信息见表B.1。

表 A.1 监测基础信息表

监测 编号	监测 地点	监测 时间	柑橘 品种	柑橘 树龄	作物 生育期	当地用药背 景(1年)	试验 人员	记录 日期
...								

A.2 操作记录

柑橘木虱抗药性监测试验操作记录见表B.2。

表 A.2 监测试验操作记录表

监测 编号	生测 方法	药剂 名称	药剂浓度 (%)	生产 厂家	浓度系列 (mg·L ⁻¹)	重复 次数	每重复试 虫数(头)	对照死亡 率(%)	异常 说明
...									

A.3 结果记录

柑橘木虱抗药性监测试验结果记录见表B.3。

表 A.3 柑橘木虱抗药性监测试验结果记录表

监测 编号	药剂 名称	浓度 (mg·L ⁻¹)	试虫总 数(头)	死亡数 (头)	死亡率 (%)	校正死 亡率 (%)	回归方 程	相关系 数 R ²	LC ₅₀ (95% 置信区间) /mg · L ⁻¹	卡方 (χ ²)	抗性 倍数	抗药性 水平
...												

附 录 B

(资料性)

柑橘木虱成虫对杀虫剂的敏感毒力基线

柑橘木虱成虫对部分杀虫剂的敏感毒力基线（玻璃瓶叶片药膜法）见表A.1。

表 B. 1 柑橘木虱成虫对部分杀虫剂的敏感毒力基线（玻璃瓶叶片药膜法）

药剂	回归方程	相关系数 R^2	卡方 X^2	LC_{50} (95%置信区间) /mg·L ⁻¹
吡虫啉 <i>imidacloprid</i>	$y=-0.2+1.96x$	0.980	0.514	1.879(1.250~2.646)
高效氟氯氰菊酯 <i>beta-cyfluthrin</i>	$y=-1.19+2.9x$	0.975	2.015	2.591(2.062~3.222)
氟啶虫胺腈 <i>sulfoxaflor</i>	$y=-0.71+3.08x$	0.982	0.845	2.769(2.244~3.412)
呋虫胺 <i>dinotefuran</i>	$y=-0.29+2.4x$	0.986	0.670	1.315(0.934~1.746)
阿维菌素 <i>abamectin</i>	$y=-0.59+2.17x$	0.984	0.611	2.184(1.499~3.089)
联苯菊酯 <i>bifenthrin</i>	$y=-2.7+3.01x$	0.986	1.363	7.953(6.353~9.801)
噻虫嗪 <i>thiamethoxam</i>	$y=0.15+2.15x$	0.987	0.756	0.841(0.637~1.089)
噻嗪酮 <i>buprofezin</i>	$y=-0.74+2.56x$	0.991	1.234	1.922(1.541~2.358)
溴氰虫酰胺 <i>cyantraniliprole</i>	$y=-1.17+2.58x$	0.990	1.485	2.811(2.279~3.494)