

几种热带作物害虫的抗药性 测定方法及其基本原理

华南热带作物研究院
科技情报研究所

一九八三年六月

前

希读者指正。

校者：李良政 丘燕高

一、监测昆虫抗药性的基本原理

(一) 及早发现昆虫抗药性的重要意义

及早发现昆虫抗药性的重要意义在于：(1) 对某些常用农药在大田使用中尚未因抗药性增强而无效之前，及早发现其抗药迹象和程度，以便及时改用其他药剂或施药方法。(2) 确定施药无效的原因。施药之所以无效或效应下降，除昆虫本身产生的抗药性之外，还可能另有别的原因。如果判断错误，因判断为抗药性，就会误把尚属有效的农药弃而不用，并忽略掉真正的原因，得不到合理的解决。

(二) 田间出现抗药性的一些信号

田间出现抗药性的信号有：(1) 尽管正当施药，但病虫持续严重为害，导致作物与牲畜的产量下降；(2) 通常传播病毒或病菌的媒介昆虫（或其他节肢类动物）显著增加。但是，单靠这些间接信号来判断抗药性往往要费很长的时间。而且这些信号也可能由下列原因产生，如：

- 1、施药时间选择不当，
 - 2、没有按照制药厂说明书中规定的配制方法或浓度施用。
 - 3、农药中某些组分发生变质。如贮存不当，有些农药会发生化学变化而失效，在高温炎热的情况下尤其如此。
 - 4、药械失灵或过于破旧。如喷嘴上的分液圆片被可湿性粉剂磨损，导致喷雾不正常，雾滴的分布覆盖不均。
 - 5、施药的方法不当或粗率，致药物分布不均或剂量不足。在使用自动喷雾机具或低容量高浓度喷雾时，这个问题就显得特别突出。只要速度稍有变化都会影响药剂分布或致雾滴不能穿透入茂密的叶簇。
 - 6、施药时或施药后遇到不利的气候。温度的递增、风速都与药效有关，暴风雨可使所施药剂完全失效。
 - 7、稀释用水的水质不良。
 - 8、不了解化学防治有时仅是其他防治措施（如栽培防治措施等的一个补充措施，也不了解在田间抚管和卫生条件太差的情况下，单靠农药无法控制大量的虫口的道理。
- 因此，上述的抗药信号，不一定是抗药性的真实反映。

(三) 抗药测定需要标准化

到1950年左右,由于世界广泛使用现代农药,抗药性才成为严重问题。此后,进行了各种抗药性测定方法的试验,但有些方法不适用,有些方法又过于复杂。而且由于不同地区用以防治某一害虫的技术千差万别,这些技术不能进行比较。因此,要求有一简便可靠的标准的测定方法供各国利用,以便相互阐明所得的结果。

1957年左右,世界卫生组织(WHO)最先开展国际性的抗药性标准测定。农业和畜牧兽医方面的害虫抗药性测定的研究开展稍晚。这主要由于这类昆虫抗性的发现比带病昆虫抗性的发现晚些。因为对某些带病昆虫早已大规模使用新农药防治了。美国昆虫学会,专门对北美一带害虫的抗性进行了研究。1967年发表了棉铃象甲和棉红蜘蛛的抗药性试验的报告(Anon 1967, Bull. Ent. Sec. Amer. V. 14 P. 31)。这时联合国粮农组织开始重视这个问题。自1967年以来,在粮农组织抗药性研究工作组一系列有关会议上,商定了各种检验方法。不久之后就发表了最初推荐的抗药性测定方法。其中包括联合国粮农组织、美国昆虫学会和世界卫生组织等机构分别对三十多种害虫及有害动物(昆虫类、蜱螨类、啮齿类)所采用过的六种测定法,即:滴注法、浸药纤维触杀法、浸泡或喷雾法、熏蒸法、拌药法和毒饵法。

鼠类在广泛持续接触抗凝血毒剂几年后,便产生抗药小种,1970年世界卫生组织发表了测定和证实这种抗性的方法,联合国粮农组织已承认这是一个标准方法。1972年以后在农业病虫方面抗药小种问题日益严重,在植物病原菌方面尤其严重。1978年“联合国粮农组织病虫抗药问题专家小组”的会议上讨论了这个问题并制定了研究测定七种重要病原真菌抗药测定的适当方法和计划。从而抗药测定标准化问题,成为国际上共同关注的问题。

(四) 影响抗药性测定结果的内外因素

探测抗药性水平(程度),一般是先取得已知敏感度和正常的虫群(标准虫群)的基础毒力回归线(又称底线或基线),然后以此来和可疑虫群比较,以确定其抗药性水平。所谓正常虫群,就是还未产生抗药性的虫群。取得正常虫群的途径有二:一靠室内人工饲养培养挑选,二可从未施用过农药的地区采集。要十分注意影响虫体敏感性的内在和外在因素,必须全面考虑这些因素,才能取得可靠的结果。

1. 内在因素

(1) 种 不同种的昆虫对药物的敏感性是不同的,因此,不能用一个种的基础毒力回归线去衡量另一个种的抗药性。但近缘种通常都采用相同的测定技术,从而它们的敏感度也不会有显著的差异。

(2) 生理小种 一个正常的生理小种,在农药选汰之前有其原有的一定的敏感性。有

时可用人工室内饲养取得正常的小种，但一般都是在田，最好是没有施过农药的大田采集样本。

(3) 昆虫发育阶段(虫态期) 一般说幼虫期与成虫期的抗药性没有明显的差异。基于这一假说，有时为了方便，就不大考虑虫态问题，而用幼虫或成虫进行测定。但有些昆虫因遗传基础不同而致两个虫态期之间的抗药性有所差异。因此，上述假说不完全正确。例如，粮农组织即规定对羊皮蝇的幼虫、成虫须分别测定，就是这个道理。

(4) 龄期 成虫往往在羽化后一个时期高度敏感，继之则具有较大的忍受力。以后则随着虫龄的增大而增强其敏感程度。幼虫(或若虫)，由于虫体逐渐增大，这种效应就不明显，虫体大小很可能是一个重要因素。

(5) 虫体大小 虫体越大则敏感性越小，可是据单位体重的剂量，却看不出有这种关系。

(6) 性别 一般说，雌虫个体比雄虫个体的敏感性小些。但这可能是由于雌虫个体一般比雄虫大，怀卵期尤为如此。

2、外在因素

设想由于环境因素(如温、湿度)会改变药物的溶解度和扩散性，从而会直接影响抗药测定。不过，这类影响和环境因素对与试节肢动物生理反应的间接影响相比，可能较小。这些影响非常复杂，例如，昆虫在接触农药前、接触农药时和接触农药后的生理反应各不相同。这些情况下面还会谈到。

(1) 温度 这是一个很重要的因素。温度上升，通常会使敏感度增高。每上升 10°C ，就会使敏感度增高一倍。但对滴滴涕或合成菊酯类农药的反应，常出现相反的趋势。即温度升高，反而使敏感度降低。

(2) 湿度 除了低湿度对敏感的节肢动物有不良影响外，一般说，湿度对农药的生物测定影响不大。

(3) 食料供应 营养良好的节肢动物对农药的敏感度通常比营养不良的节肢动物小些。

(4) 虫口数量和照明情况 投放过药剂的垫料上，增加供试虫口量或增加照明度，都会使虫的活动增多，从而沾附于虫体上的药量也较多。

(五) 探测抗药性的统计原理

1、对照死亡率的校正

在用昆虫对某种农药进行生物测定中，死亡的虫口不一定是农药杀死的，因为各种操作过程中，也会使一些虫子死亡，这种情况可采用分批对照来加以检定，这些对照除不施用农药外，其他一切操作方法等均与处理组一样。如果认为操作和农药所致的死亡彼此无关，那就可用Abbott氏公式校正对照死亡率。其公式如下

$$\text{校正死亡率}(\%) = \frac{\text{处理组死亡率} - \text{对照组死亡率}}{100 - \text{对照组死亡率}} \times 100$$

$$\text{或} = \frac{\text{对照组成活率} - \text{处理组成活率}}{\text{对照组成活率}}$$

关于死亡率的校正，须注意以下两点：

(1) 在死亡率低的情况下，用这一公式对校正前的死亡率改变最大，在死亡率接近99%时，引起的变化则极小。

(2) 对照组死亡率都低于5%时，校正实际上没有什么意义。

2、“剂量—死亡率”关系

如前所述，一个虫群的抗药性只有和取得基础毒力回归线的正常小种进行比较，才能确定。基础毒力回归线是将正常小种的虫群分组用一系列不同剂量测定，并记录其死亡数而求得的。“剂量”可用实际用药量（如毫克/公斤、微克/虫）表示，也可用药剂稀释浓度或经药剂处理后昆虫达到某一死亡率所需的时间来表示。

要取得“剂量”和“死亡率”的线性相关，须将剂量变换为对数值和利用概率单位表将死亡百分率转换为“概率值”。另一种办法是，把所得结果直接标绘在概率图纸上（如图1）。根据图纸上标绘结果，就可以作一直线。由此便可以相当准确地估计致死中量和其他级值的致死剂量。

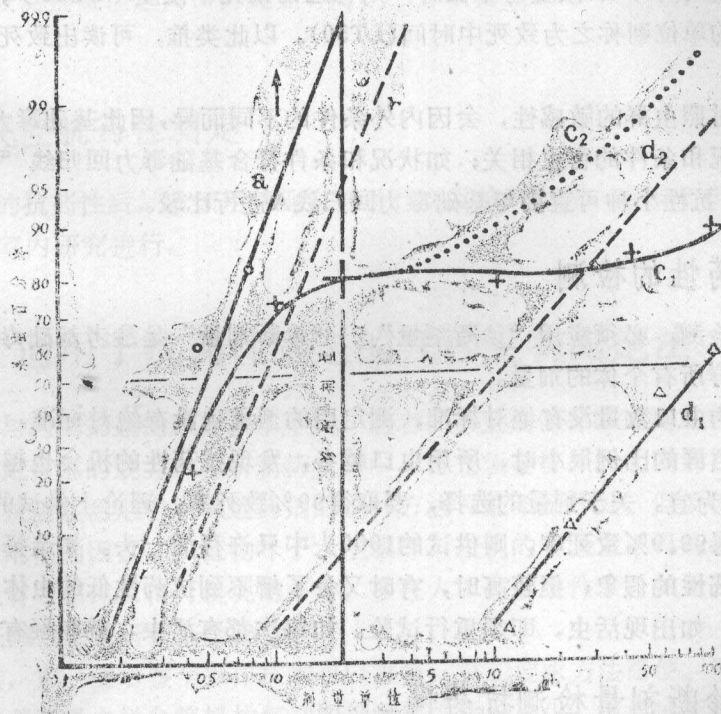


图1 各种“剂量—死亡率”资料的图示统计处理

译注：

A、表示正常群体的基础毒力回归直线

B、表示假定的另一群体的基础毒力回归直线

C_1 、表示与 d_1 相应的抗药性群体中未淘汰非抗性个体前的毒力线

C_2 表示与 d_2 相应的抗药性群体中未淘汰非抗性个体前的毒力线

d_1 表示经淘汰非抗性个体后抗药性群体的毒力回归直线

d_2 表示经淘汰非抗性个体后另一抗药性群体的毒力回归直线

3、抗药性测定的一般程序

用图1假设的例子可说明抗药性测定的五个步骤。

(1) 确定基础毒力回归直线

在这个假设的例子中，用四种剂量单位，即0.25, 0.50, 0.75 和 1.0等单位处理参考虫种，所得死亡率结果用圆圈标记在概率图纸上。1.0单位所得的死亡率为100%，这超出了概率标度，因而用箭头表示。尽可能拟合这些点绘出回归线“A”，即基础毒力回归直线。由此便可读出任一剂量单位致死率的准确估计值。比方，0.47单位的相应致死率为50%，这就是所谓致死中量(LD50)；以浓度为单位时，则称之为致死中浓度(LC50)；若以接触农药时间作计算剂量的单位则称之为致死中时间(LT50)。以此类推，可读出致死率90%、99%的相应剂量。

前面已说过，对照虫群的敏感性，会因内外条件的不同而异，因此基础毒力回归线“A”只与测定的特定状况和条件的害虫相关；如状况和条件符合基础毒力回归线“B”，则可改用“B”线。然而，抗性小种可直接与基础毒力回归线A进行比较。

(2) 抗药性的检测

抗药性的常规检测，必须应用“诊断剂量”。“诊断剂量”是参考基础毒力回归线A选定的可杀死正常虫群所有个体的剂量。

用作诊断测定的虫口数量没有绝对标准，测定用的剂量也没有绝对标准。在所取虫口样品中抗药性虫口占虫群的比例很小时，所用虫口越多，发现抗药性的机会也越多。可能时，至少用100头虫检测为宜。关于剂量的选择，要取得99%致死率，理论上供试的100头虫中只应存活一头；想取得99.9%致死率，则供试的1000头中只许存活一头。如选择的诊断剂量较低，往往会出现抗药性的假象；但较高时，有时又会了解不到抗药性低的虫体的真实抗性。不论选用什么剂量，如出现活虫，即须重行试验。如每次都有活虫，就应疑有抗药性。

(3) 用诊断剂量检测抗药性

在图1假设的例子中，在产生基础毒力回归线A的虫群的内部状况和外条件下，预期达到99.9%致死率的诊断剂量为2.0单位。如由于虫的内部状况和外条件的变化，所得基础毒力回归线为“B”线，则估计2.0单位剂量含有5%的存活率。因而对在不同条件或不同状况下的虫群（如温度、虫体进入滞育状态）进行检测时，就会得出原始抗药性的假象。

假定内外状况和条件保持不变,而用2.0单位剂量检测时,反复出现20%左右的存活率,这就是警号,说明很可能具有抗药性能。由于用各种剂量进行了附加检测,其结果在图1中用“+”号表示。由此可知,超过诊断剂量时,即使剂量大增,死亡率并没有什么增高。可疑虫群的回归曲线“ C_1 ”,呈平稳状,即死亡率达到80%左右就不再上升了。这个结果与可疑虫群中有20%的抗药个体是相一致的。

(4) 抗药性程度的测定

就可疑虫群来说,虽然不能根据测定结果直接作出回归直线,也不能象对同质种群那样,根据逻辑推断来决定其致死中量,因此,要测定抗药程度,需先在室内把检测的昆虫群体连续几代用低剂量的药剂处理,除掉耐药力低的个体,留下具有同质性的抗药力呈常态分布的群体,再用系统剂量处理,得到“剂量——死亡率”毒力回归线确定致死中量(LD50),然后再计算出其抗性系数。

在假设例子中(图1)按得到“ d_1 ”线的检验结果,认为当然具有很高的抗药性。但由于检测方法技术方面的局限性,不可能得到高于50%的死亡率。如果抗性相当于 d_2 线的较低水平,那么,用较高剂量检定大田可疑虫群时,一开始就会杀死一些具有抗性的个体,得出“ C_2 ”线。

(5) 交互抗药性测定

当确定虫群的抗药性后,就须用其他农药进行交互抗药研究,这项工作有助于选出替换的农药,须结合室内研究进行。

(六) 适用于抗药性测定的几种生物测定法

抗药性测定与药剂筛选的原则根本不同,前者以杀虫剂作标准来测定害虫的变化,而后者则用害虫来评定药剂的效力。在研制新农药中,首先须在模拟的大田条件下试用,以了解其杀虫作用。在抗药性测定中用筛选药剂的这种方法可能不无好处,但要模拟实际条件会牵涉到一些很难标准化的因素,如植物叶子、土壤等。在别的实验室不可能复现相同的条件。因此,为了保证有可相比较和可复现的条件,多在人工控制条件下,如用农药的丙酮溶液滴注法或带药滤纸触杀法进行抗药性测定。

抗药性测定,第一要求整个操作技术可以重复;第二要求方法简便。联合国粮农组织、世界卫生组织和美国昆虫学会等机构都试图把测定方法标准化,以便缺乏训练有素的技术人员和高级设备的许多国家在大田或大田附近防治害虫中能应用这种方法。他们原来的意图是使这种测定方法简单可靠,非技术专家也能掌握。但是,事实远非如此,要得到可靠的结果,需要操作人员具有相当熟练的技术和较高的智能。

1、滴注测定法

粮农组织制定抗药性测定的原则时，推荐用杀虫剂溶液滴注虫体的方法，这样就可知每个虫体施用的实际剂量。原来认为这种方法太复杂，但由于采用微型滴注器、甚至更为简便的自动注液器，用这种方法就简便易行了。用这种方法可把极微小的液滴注到螨类体上，但在这种情况下也须作标准化测定。像家蝇那么大的虫子可以每虫滴注0.3微升。1967年粮农组织所推荐的主要测定法多属此法。

此法常称之为“局部施药法”，即处理局部区域性。药滴可施在特定的部位，但药滴大小须与虫体大小相称，以期能延展到虫体的大部分。用于蚜虫之类的小型昆虫时，每虫0.3微升也嫌太多，虫体无法保留，而致流到体外垫料上。

通常用丙酮作载体溶液。丙酮溶解性能好，小量对昆虫无害，可广泛使用。其他可用的载体为酒精（单用或与丙酮混用）、2—乙氧乙醇、乙基甲基酮或石油等，但石油的溶解性能较差。

2、带药滤纸触杀测定法

这种方法适用于小型或体质脆弱的昆虫。将虫子放在用药剂处理过的垫料上，让其接触药剂。最理想的垫料是滤纸，滤纸用溶有杀虫剂的定量不挥发性油中浸渍。虫子从滤纸上沾附的农药剂量，可由改变浓度或改变接触滤纸时间来调节。配用挥发性溶剂（如氯仿或醚类）可使滤纸容易浸透，详情见测定说明。世界卫生组织已广泛采用此法，粮农组织也用此法测定过几种害虫。

3、浸渍和喷雾测定法

接触带药滤纸测定法，不适用于某些小型的和固着生活的节肢类动物。这类昆虫以浸渍测定法（即将虫体在配好的药液中浸泡一下）较为理想。浸渍法是目前测定螨类、蚜虫类、粉虱类的主要方法。但此法有时也不尽完善，比如，有时须处理受害叶片，用浸渍法很难将叶片均匀浸透。在这种情况下，必须改用Potter喷雾塔喷雾才能取得较为一致和可靠的结果。

浸渍和喷雾所用的农药释液，都是先将化学纯药剂溶于丙酮和酒精混合液中，然后将少量的这种溶剂加入含有湿润剂的水中配制成的。用这种方法不能配成悬浮液时，可用市售的配剂，但由此所得结果因药剂配方不同，不能和上述方法所得结果进行对比。也不能和其他市售产品所得结果作比较。

4、其他测定法

把为害仓库贮粮的螨放入装有用标准剂量杀螨粉剂处理的小麦的瓶中，14天后检查其死亡率。

对熏蒸剂的抗性测定需用专门的设备，以产生含有溴甲烷或磷化氢标准浓度的毒气。甲虫类仓库害虫接触溴甲烷毒气的时间为5小时，接触磷化氢毒气的时间为20小时。

关于啮齿类对抗凝血毒剂的抗药性测定，鼠类分批在不同的天数喂以含有标准浓度杀鼠剂的食物。通过取食期致死率来比较判断其抗药性。（本文有部分删节和补充——译者注）

二、两种可可盲蝽的抗药性测定法

(一) 设备和材料

1、试验室

试验室要求有正常的照度、保持25℃左右的温度和75—85%相对湿度。无可控温房子时，应记录试验温；测定结果须与相同温度下所得的基础毒力回归线进行比较。

2、试剂及其他

用“Risella 17”油作农药的主溶剂。用西维因这种杀虫剂作试验时，须在主溶剂中加两份驱蚊叮。滤纸须用易挥发溶剂浸渍，可用三份石油醚（沸点60—80℃）加一份丙酮的混合溶剂。也可用氯仿、三氯乙烯或四氯化碳。使用这些溶剂时，须注意防止吸入过多的这类有毒气体。供试农药的纯度至少在95%以上。

滤纸——将Whatman 1号色层分离滤纸，剪切成12×15厘米的纸片备用。

移液管——宜用10毫升的不带针头的皮下注射器分配小量粘性主溶剂。用注射针把混合溶剂滴注到滤纸上。

标本贮藏瓶——世界卫生组织用以测定蚊子抗性的塑料瓶适于贮存盲蝽标本。瓶口装置有机玻璃盖（直径45毫米，厚3毫米），盖中心开一个24毫米的小孔。为了防止盲蝽爬上瓶盖，可用711/300硅酮液润涂瓶盖底边。也可以用大小相似的玻璃瓶和用塑料盖。

(二) 供试样本的采集和处理

1、样本的鉴定

西非为害最大的两种盲蝽是可可黑盲蝽（*Distantiella theobroma*）和斑褐盲蝽（*Sahibergella singularia*）。前者体呈黑色，触角和足比后者的短和粗壮，后者黄褐色，翅和足有亮斑，触角和足均较细长。

2、采集和照管

盲蝽很柔弱和敏感，采集和处理需要熟练的技巧。

田间采集时用软毛刷轻轻把盲蝽刷进放有可可鲜枝条的容器内。采集后须尽快进行试验。在试验室移到有鲜枝条的培养皿中待用。试验时应选取健壮个体测试。

3、试剂的制备

制备溶液——先将各种供试农药分别溶解在主溶剂（Sisella 17或Sisella 17加驱蚊叮）中

配成预定浓度的原液。如溶液易发生化学分解，须将其放在冰箱中保存；但狄氏剂之类溶解度低而稳定的杀虫剂，容易结晶，不宜放置冰箱中保存。

滴注滤纸时，须先将适量原液加三倍容积的挥发性溶剂稀释。滴注作对照用的滤纸，只用不含农药的主溶液和挥发性溶剂的混合液。滴注前在滤纸上用铅笔作好标记，滴注时，将滤纸放在装置于板上的针尖上。然后按标记，用装配14号针头的5毫升注射器，尽可能均匀地将3毫升药液滴注整块滤纸。滴注过的滤纸挂在通风橱中3小时，以期挥发性溶剂完全蒸发和留下的油溶剂分布均匀。

测试时将滴注过的滤纸，紧靠玻璃管内壁铺放，每管放进健康的4—5龄的若虫10头。管竖放。管口盖上塑料盖，盖中央小洞用吸水的脱脂棉花覆盖，使管内保持高湿度。每处理有五次重复（5管），另两管作对照。这样每项处理需虫70头。在10、20、40、80……分钟后检查击倒虫口数，直至全部击倒为止。

如对照组有盲蝻死亡，则须用Abbott氏公式来校正其死亡百分率。若对照组的死亡率超过10%，这个试验就应作废。

(三) 结果和分析

基础毒力回归线在对数概率图纸上按不同时间标定致死虫口数位置，再用目击法（或适当的算法）拟合出致死时间的回归线，由此回归线即可确定LT50和LT90等（即50%、90%）害虫致死的相应的时间。由此可确定盲蝻敏感种的基础毒力回归线。

可可黑盲蝻敏感种在各种农药处理下的致死时间，已由J. N. Telford试验测出表（1）

表1

杀 虫 剂	致 死 时 间 (小时)	
	LT50	LT99.9 *
敌 敌 畏	0.25	0.66
林 丹	1.0	3.5
硫 丹	2.3	10.0
西 维 因	2.8	7.0
异 狄 氏 剂	3.5	10.0
狄 氏 剂	3.75	10.0
马 拉 硫 磷	4.4	20.0
艾 氏 剂	5.25	20.0
杀 螟 松	6.2	20.0
滴 滴 涕	6.5	28.0
甲 氧 滴 涕	7.7	40.0

抗药性监测

在天然虫群中进行常规监测以探测抗药性的发生，必须用诊断剂量或诊断浓度。诊断剂量是从基础毒力回归线选出来的。即利用回归线选择一个很可能杀死全部正常敏感种的有关昆虫试样的剂量。试样虫口数量没有绝对的标准，使用的剂量或浓度也没绝对的标准。在虫群中，只有少量虫口具有抗性时，则供试虫口越多，发现抗性的机会也越多。一般说，可能时每一试样至少应有100头虫（10头一组，共10组）。

关于诊断剂量

要得到99%的死亡率，理论上100头供试的正常虫中只能存活一头。要取得99.9%的死亡率，1000头供试虫只能存活一头。诊断剂量不能过低或过高，若过低，有时会出现抗药性的假象；诊断剂量过高，又可能杀死那些真有抗性但抗性水平还低的个体。如具有的低度抗性可能影响对照的测定，则以选用99%的水准为宜。存活数如超过1%，仅怀疑其存在抗性时，可再进行试验核实。

应着重指出的是，这个问题不纯粹是统计问题，昆虫的敏感性，因生理状况和试验条件的不同而有很大的变化。因此，如果这两种因素不能标准化，就很难确定抗药性的真伪。

进一步的研究

在诊断试验中，开始就经常有昆虫存活，这显然是具有抗药性的迹象。在这种情况下，应作进一步的测定，把正常的诊断剂量提高，直至没有昆虫存活为止。这样得出的回归线会提供更有用的资料。最初，野生虫群通常只有少数具有抗药性。这时回归线通常较平整，这与敏感虫口在虫群中的比例是相应的。因此，可以估算出抗药性盲螬的比率。至于抗药性程度（即杀死抗药性类型所需增加的剂量）只能将试验室选择培育的抗药性一致的原种与敏感小种进行比较才能精确地估算出来。此外，比较已知敏感群体和可疑抗性群体达到高致死率（95%或99%）所需的剂量或浓度，也可得到一些启示。

交叉抗性试验

确定具有抗药性后，就可用其他农药测定其交叉抗药性。这项测定，有助于选出另一可用的杀虫剂。

三、红叶螨和欧洲全爪螨成虫及卵的抗药性测定

(一) 设备和材料

1、养虫室

可利用有照明设备的植物生长室、恒温室或玻璃温室。保持温度 20°C 左右。用易发生滞育的螨进行试验时，每天的光周期必须比正常日照时数长些，以防止滞育。

2、处理和试验场所

可在温度 20°C — 25°C 左右的室内进行螨的处理，处理后的试验场所要有适当的照明度。浸渍测试时须保持 27°C 的室温，进行小块叶圆片残毒测定时的室温，则须保持 22°C ，并须保持50—60%的相对湿度。玻片浸渍测试时则要求保持95%的相对湿度。适用的容器有：放有湿脱脂棉的透明塑料盒或实验室用的干燥器。

3、植物材料

需要充足的合适寄主植物。在美国用嫩利马豆饲养棉红蜘蛛等，在欧洲常用法国矮种菜豆饲养螨类。欧洲全爪螨可用桃树幼苗或叶饲养，也可用苹果或李属的种子苗饲养，宜用叶子平滑和不卷曲的品种。

将用过的桃树苗截干后连同盆钵放在非内吸性杀螨剂中浸渍消毒。待重新长出枝条后，可以再次使用。桃树苗需定期喷射不会杀伤螨类的杀菌剂（例如：丁噻酯、粉锈宁、氯苯嘧啶醇），以防受白粉病侵染。在某些情况下，可用市售的发生器或用电灯泡加热的铁皮罐产生硫磺蒸气来进行防治。

4、虫群管理

在进行抗药性试验过程中，可能发生虫种混杂的意外事故。螨类个体小，交互混杂的危险尤其严重。敏感小种须放在隔离室保存，任何人不得直接进入（例如：给寄主植物淋水时）。引用新的寄主植物可能造成种的混杂，只用肉眼观测，不一定能发觉螨类。如有充足设备和专门技术人员，寄主植物可先用溴甲烷熏蒸，但经这样处理的材料对某些虫种可能有毒害作用。

可用配有隔螨网纱的有机玻璃盒饲养螨类。网纱上涂有一层油膜或含有湿润剂的水膜，以使透入的空气经过过滤和保证隔离。

5、品种混杂的检查

在主要等位基因引起抗药性（例如有机磷抗性）而发生小种混杂的情况下，可根据所有

雄虫（由一个单雌生殖所产下的一批卵形成的）都是单倍体的事实来加以检定。它们都是纯合体的，不是R基因，就是S基因，用它们进行诊断浓度检试便可予以确定。检查虫群时，应培育大量雌成虫（如100头）单雌生殖产生的大批卵，来进行测试；如测试中出现存活个体，即表明该虫群中混杂有抗性小种。

6、敏感种群的重新组建

如已证实敏感种群中混杂抗性小种，可从其它实验室重新获得可靠的敏感小种。此外，还可按下述方法把可疑群体中混进的抗性个体除去。通常可把约100个单独交配的雌虫分别饲养，取其连续两次产卵高潮的卵孵化，将第一次产卵高潮产生的后代作诊断浓度测试。把试验中那些在第一次产卵高潮所产后代全被杀死的雌虫选出来，由它们第二次产卵高潮产生的后代重新建立群体。

7、田间小种的采集和饲养

在疑有抗药性螨地区至少应选五个地点采集样本。采集的雌虫应放在无其他寄生植物的干净叶子上产卵（可能时，在隔离室产卵）24小时后将雌虫除去。应当用下一代螨供抗药性试验。如非因特殊情况，需从这种新虫群中寻找抗性群体，此后新产生的虫群均须去掉。

未探明虫龄和生活环境条件的虫群作试验，会带来变异性，因此，最好不用大田中采集的螨作试验，宜用按上述方法产生的后代进行测定。然而，为了迅速获得结果而不得不使用大田采集的螨作试验时，则应采取某些措施使其标准化。试验时必须把螨移到干净和新鲜的植物材料上，并尽可能把过小幼虫和老熟成虫除掉。

8、杀螨剂的制备

有经验的研究人员一致认为，在螨类试验中用商品杀螨剂比用自配的杀螨剂所得结果较一致。制备药剂的重大缺点是：敏感性的基础毒力回归线会因同一药物的不同配方而变异。因此，用任何杀螨剂进行抗性和敏感性的比较试验时，都须用同一配方进行比较。最好，测定主剂以外的主要拼料的可能毒性。制造商应说明这些情况，或提供不含杀螨剂的空白试剂。

已用自备配方获得试验数据的研究人员，可能愿继续这样做。但这仅适用于浸渍法测验。在这种情况下，先用丙酮（或1：1的丙酮和酒精）溶解杀螨剂制配成悬浮液，临用前用无毒浓度湿润剂（如0.02%的“Agral 90”或“Triton—X100”），的水作适度稀释。这种水和溶剂的混合液用时还须再行稀释。

9、试验用的稀释液

最初在宽的浓度范围进行试验。用10：1的稀释度，发现部分致死的浓度范围后，再在这个范围内选择一系列浓度的稀释液进行测定，浓度比为0.5或0.7。

必须用新鲜配备的稀释液，因稀释液存放太久时可能发生物理变化。

(二) 试验方法

1、玻片浸渍试验

(1) 载玻片的准备

在显微镜载玻片(75×25mm)一面贴上两边都具有粘性的胶带(例如, 苏格兰牌No. 413有衬垫透明胶带或No. 665无衬垫透明胶带。

把孵化后2—5天左右的雌螨若虫, 成行地粘在胶带上, 玻片两头留空10毫米以上。在除去粘性胶带保护膜时, 应小心避免接触粘胶带面。用细毛笔(即No. “000”号或更细的貂鼠毛或松鼠毛做的笔)将25—50头幼螨移至每块玻片上, 在玻片上标明使用的药剂浓度。

(2) 浸渍处理

浸渍玻片, 使螨完全沉浸在稀释毒液中, 并轻轻地摇动5秒钟以确保完全浸湿。然后把玻片竖放在吸湿材料上15分钟, 以排出药液。为了保证残毒量一致, 须仔细用吸水纸把过多的药液特别是底行螨附近的药液吸去。

(3) 存放和反应测定

处理好的玻片须放在气温27℃、相对湿度95%左右的存储室中。螨在玻片平放时的存活率比竖放时的高。为了方便起见, 可用一条苏格兰牌胶带把一组玻片成行地固定在一块玻璃板上, 在评价试验效果时以这块玻板作一个单位。

处理后24小时, 大部药剂已发挥药效, 即可开始检查叶螨的死亡率。然而有些药剂作用缓慢, 需要48甚至72小时。这个时间可根据最初较大范围浓度的试验结果确定。但对照死亡率不应超过20%, 如果超过, 则应采用叶片残毒测定法(见下文)。

用解剖显微镜(10—20倍)观察叶螨。用细毛笔轻刺叶螨, 无反应的就归入死亡。

2、叶片残毒测定法

对于具长脊毛而施用杀卵剂又不起作用的一些种, 如欧洲全爪螨, 用玻片浸渍测定法并不理想。因叶片残毒法可用于以下两种测定。

(1) 杀卵—杀幼虫剂的叶片残毒测定

用有螨卵的叶片或剪切叶圆片进行浸渍或喷射杀卵—杀幼虫剂。可根据残毒杀死孵出的若虫的作用以及杀卵作用来判断药剂效应。

(2) 用剪切叶圆片进行杀成虫残毒的测定

将全叶浸杀螨剂后, 剪取小块叶圆片, 每一小片上接5—10头成龄螨。根据残毒杀螨作用来判断药剂效应。

3、杀卵—杀幼虫剂的测试

(1) 接种方法和管理条件

用整叶或剪成直径约为2厘米的叶圆片作试验材料。有些植物的叶子(柑橘属或李属),离体后能长久保持新鲜,而另一些植物的叶子离体后则有腐烂变质的趋势,但如不离体、或连枝插在小水瓶中,则可保持新鲜较久。应选用完全展开的嫩叶,剪取的叶圆片须立即放在湿脱脂棉上,并使其与湿棉充分接触。叶圆片的表面可以向上也可以向下,主要根据供试螨的为害叶背或叶面而定。每个叶圆片接种5—10头雌螨,经24小时后把雌螨除去,计算产卵数。

(2) 浸渍处理

把带有卵的叶片或叶圆片浸入试液中,轻微摇动5秒钟。

(3) 喷射处理

用等分装药的Potter氏喷雾塔喷射叶子或叶圆片,以每平方厘米叶面上沉积4—5毫克药液为度。须先将叶片铺垫在培养皿(直径大约9厘米)内再行喷射,喷射后称培养皿,检定剂量,以核对喷射效能。

(4) 存放条件和结果记录

处理后计算卵数,除去所需数量以外的卵,把试验组与对照一起放入温度约22℃、相对湿度95%的保存室中(如温度太高,有些叶螨会过于活跃,离开叶片或叶圆片)。当对照组已孵出的幼螨达到第二若虫期时(这时所有的卵都将孵化或干缩死亡),即可计算结果。此外,存活的若虫可能到第一若虫期后死去,因此,应考虑24小时中有些卵的卵龄差异,跟着计算:(a)不能孵化的卵数;(b)死亡的螨数,包括死亡幼螨和干缩而生长停滞的虫口。(c)存活螨数。致死百分数按下式计算:

$$\text{杀卵—杀幼虫剂的致死率(\%)} = \frac{a+b}{a+b+c} \times 100\%$$

4、成虫的叶圆片试验

(1) 处理和接种

按上述方法浸渍或用Potter氏喷雾塔喷射叶片。喷药后用湿脱脂棉把叶柄包住,直到喷液风干为止。然后从这些叶片剪取小圆片放在湿脱脂棉上。每一个小圆片上接种10头雌螨成虫,每一处理和对照三次重复。接种时要避免毛笔尖触及叶面的药剂。先接种对照组,然后陆续接从稀到浓接种。

(2) 记录结果

经过一个适当的历期后记录试验结果,历期的长短取决于所用杀螨剂的反应速度(可根据初步较大范围的浓度试验确定)。不能走动的(虽然脚还能动)已属垂死状态,即可归入死亡数中。跑离叶圆片和落入水中的不予统计。

(三) 试验的结果及其分析

1、基础毒力回归线（底线数据）

为了确立敏感小种的可靠基础毒力回归线，应把有关过程重复达10次之多（根据观察的变异性而定）。然后综合结果，在对数概率图纸上按各种浓度标定平均致死数。这样就可以由目测法（或适当计算）绘出致死浓度的回归线，由此可得LC50及其类推的致死浓度（LC10、LC20……等）的估计值。

2、抗药性的监测

侦查天然螨群体抗性的常规监测，需要用诊断浓度。这是从基础毒力回归线中选定的是在杀死所有有关螨类正常虫群试样中具有很高概率的浓度。所使用试样的虫口数没有绝对的标准，使用的药剂浓度也没有绝对的标准。在虫群中只有少量虫口具有抗性时，供试的虫口愈多，发现早期抗性的机会就愈多。一般来说，可能时，一个试样应有100头虫（10×10组）。

关于诊断浓度，须知要由一种处理取得99%的死亡率，理论上100头正常螨只许有一头存活；同样，想取得99.9%的死亡率，则1000头正常螨类只许有一头存活。诊断浓度不宜太高或太低。太低，有时会得出抗性的假象。太高，则可能会杀死确有抗性但抗性水平还低的个体。如低水平抗性可能会严重影响对照组的测定，则选用99%的水准较安全。仅在存活率高于1%时才应怀疑有抗性。对此可重复进行试验来加以核对。每次试验中出现超过1%的存活率的机率会随着重复次数的增加而逐渐变小。

应该指出，这种情况并非纯属统计问题。正常叶螨的耐药能力，由于它们的生理状况和试验条件的不同而有很大的变化。因此，如果这两方面的因素没有标准化，就可能得到假抗性的记录（或发现不了真正的抗性）。

3、进一步的调查研究

在诊断试验中如开始就经常出现存活虫口，这就是有抗性的证据。这时须用比正常水平高的较大范围的浓度作进一步的试验，至不出现存活虫口为止。这样所得的回归线会提供更有用的资料。野生虫群通常只有少数虫口在早期显出其有抗性，从而，回归线通常分布平整，与敏感叶螨在虫群中的比率是相应的，所以，可以由此估计具有抗性的虫口率。抗药性的实际程度（即杀死抗性种需增加的浓度）只能用同种的抗性小种与敏感小种进行比较才能作精确的估计。比较使已知敏感种和疑有抗性群体达到高的致死率（95%—99%）所需的浓度，也可以得到一些启示。

4、交叉抗性试验

确定某些螨类具有抗性时，就宜用其他杀虫剂进行试验，研究其交叉抗性的特点，这有助于筛选另一种可用的杀虫剂。