

ICS XXXXX
CCS XXXXX

T/GDP

广东省农药协会团体标准

T/GDP xxx—2021

携带人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊雄蚊 防控野生白纹伊蚊种群现场药效测定及评价方法

Field efficacy determination and evaluation method of *Aedes albopictus* population
control by releasing *Wolbachia pipientis*-transinfected male *Aedes albopictus*

（征求意见稿）

2021-xx-xx 发布

2021-xx-xx 实施

广东省农药协会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020 的规定编制。

本文件由广州威佰昆生物科技有限公司提出。

本文件由广东省农药协会归口。

本文件起草单位：广州威佰昆生物科技有限公司、广东省农药协会。

本文件主要起草人：钱伟、李永军、甘仁贤、xxxx、xxxx。

携带人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊雄蚊 防控野生白纹伊蚊种群现场药效测定及评价方法

1 范围

本文件规定了携带人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊雄蚊防控野生白纹伊蚊种群现场药效试验和实际应用的释放（施用）方法、防控效果的调查计算和评价方法。

本文件适用于携带人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊雄蚊防控野生白纹伊蚊种群现场药效试验和实际应用的释放（施用）防控效果的调查计算和评价。

注：沃尔巴克菌的生物学描述参见附录 A。

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，其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（包括所有的修约单）适用于本文件。

GB/T 27784 卫生杀虫剂现场药效测定和评价 总则

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 携带人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊 *Wolbachia pipientis*-transinfected *Aedes albopictus*

通过胚胎显微注射技术被转染天然不携带沃尔巴克菌特定株系的白纹伊蚊。此项技术的作用谱、作用机理、作用方式及使用方法参见附录 B。

3.2 雄雌比 male-female proportion

试验现场诱蚊器（BG-Trap）所捕获携带人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊雄蚊与释放区域野生白纹伊蚊雌蚊数量的比。

3.3 释放 release

携带人工转染沃尔巴克菌白纹伊蚊雄蚊的施用方式和过程，即将人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊雄蚊放飞到防控野生白纹伊蚊种群的目标区域。

3.4 释放（施用）剂量和目标释放剂量 dose rate and target dose rate

在防控目标区域释放携带人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊雄蚊与该区域野生白纹伊蚊雌蚊的数量比。

目标释放剂量是释放（施用）剂量的期望值（范围），一般控制在 5:1-7:1。

3.5 周释放量 the number of mosquitoes week-released

每周释放到白纹伊蚊防控目标区域的携带人工转染沃尔巴克菌特定菌株的白纹伊蚊雄蚊个体的总量。

3.6 总防控效果 overall control effect

排除在对照处理措施以外的其他因素影响下，用有效时段内蚊卵孵化数、雌蚊的周相对

密度下降率的平均值评价产品防控效果。

4 防控效果调查

4.1 现场选择

4.1.1 处理区

选择常年野生白纹伊蚊密度较高、面积大小满足现场试验要求的连片区域作为试验现场。每个试验现场面积一般宜在 40000m² 以上。

4.1.2 对照区

选择与处理区环境和条件及野生白纹伊蚊发生情况相似，现场面积与处理区相近，相对独立又与处理区互不干扰的附近场所作为对照区。

4.1.3 干扰控制

处理区和对照区均宜尽量控制人为因素的干扰，试验期间不能施用任何其它药剂或使用其它人工措施灭蚊。

4.2 调查内容

4.2.1 蚊卵孵化数

每周调查 1 次处理区及对照区每个白纹伊蚊诱卵器中白纹伊蚊蚊卵总数和蚊卵孵化数。

记录调查日期，诱卵器编号，各诱卵器中蚊卵数、蚊卵孵化数及其各数据的平均值。同时记录实验室蚊卵培养保湿的温度和湿度、监测期间的气温和降雨情况、设备运行情况等。

4.2.2 雄、雌蚊数

每周调查 1 次处理区及对照区的每个诱蚊器中捕获的白纹伊蚊雄、雌蚊数。

记录调查日期，诱蚊器编号，各诱蚊器的白纹伊蚊雄、雌蚊数和雄雌比，及其各数据的平均值。同时记录监测期间气温和降雨情况、设备运行情况等。

4.2.3 处理前基数

释放处理前，每周调查 1 次处理区及对照区的蚊卵孵化数及雄、雌蚊数基数，持续调查 3 周以上。

4.2.4 处理后数据

释放处理后，每周调查 1 次处理区及对照区的蚊卵孵化数及雄、雌蚊数，持续调查 10 周以上，或直至试验或防治应用结束。

4.3 调查方法

4.3.1 蚊卵

采用诱卵器诱捕蚊卵。

4.3.1.1 器具

诱卵器及其组装及使用方法参见附录 C。

4.3.1.2 布放

在处理区和对照区视现场环境情况每 2500-3000m² 布放一个诱卵器。诱卵器监测点的选择应尽量均匀，也可结合目标监测区域的地理、植被和人文情况适当调整确定各诱卵器具体布放地点。诱卵器放置在绿化带、灌木树下、草丛堆、竹林等蚊子易栖息场所，并避开阳光直射的阴凉地面上。诱卵器及布放位置应依次编号。

4.3.1.3 操作

诱卵器在试验开始的每周第 1 次释放雄蚊时布放。布放 1 周后，将诱卵器收回至实验室，并同时同地放置相同编号的新诱卵器。

4.3.1.4 蚊卵孵化数

取回诱卵器在实验室内 27±1℃ 温度下保湿 7d 后，镜检每个诱卵器中蚊卵及卵孵化的数量，并做好记录。

卵孵化判定指标：显微镜下观察，蚊卵破壳（卵盖打开），视为卵正常孵化，否则判定为卵死亡。

4.3.2 成蚊

采用诱蚊器诱捕成蚊。

4.3.2.1 器具

诱蚊器及其组装和使用方法参见附录 D。

4.3.2.2 布放

在处理区和对照区视现场地理情况每 2500-5000m² 布放一个诱蚊器。诱蚊器监测点应尽量均匀分布于目标监测区域内的四周及中部，也可结合目标监测区域的地理、植被和人文情况适当调整确定各诱蚊器具体布放地点。诱蚊器宜直接放在植被茂密、白纹伊蚊易活动的场所，远离阳光直射、降雨、风吹影响地面上。诱蚊器及布放位置应依次编号。

4.3.2.3 操作

诱蚊器在试验开始的每周第 1 次释放后的第 3d 开始运行（可根据天气情况调整监测日期，比如当天遇到大雨，诱蚊器的运行需延后开启），连续运行 24h 后，收集诱捕的白纹伊蚊，标注每个收集袋的地点、编号并带回实验室。在-20℃低温冷冻超过 1h 后，先检查蚊子种类，剔除白纹伊蚊以外的蚊种。然后辨别白纹伊蚊性别，分别计数每个诱蚊器中白纹伊蚊的雄雌的数量并做好记录。同时记录监测期间气温和降雨情况。

注意事项：回收诱蚊器时，要在其风扇还在运作的时候将收集袋收紧，防止蚊子逃逸。

白纹伊蚊雄雌成蚊简易辨别方法参见附录 E。

4.3.2.4 雄雌比的计算

基于自然界中白纹伊蚊雄雌蚊数量的自然比为 1:1 左右，携带人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊雄蚊与野生白纹伊蚊雌蚊的比（X₁）按公式（1）计算：

$$X_1 = (N_{\delta} - N_{\varphi}) / N_{\varphi} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X₁——捕获携带人工转染沃尔巴克菌白纹伊蚊雄蚊与野生白纹伊蚊雄蚊数量比；

N_{δ} ——捕获的白纹伊蚊雄蚊数量；

N_{φ} ——捕获的白纹伊蚊雌蚊数量。

5 释放（施用）

5.1 释放方式

携带人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊雄蚊释放方式为“分阶段释放”。具体为 3 个阶段：初始阶段、压低虫口密度阶段和巩固维持防效阶段。

5.1.1 初始阶段

一般为释放开始第 1 周。

5.1.2 压低虫口密度阶段

一般为释放第 2 周至第 6-8 周。

5.1.3 巩固维持防效阶段

一般为释放第 7-9 周至试验结束或当年实地防控作业结束。

进入本阶段的指标：释放第 1--6 周或第 1--（6+1 或 2）周的周蚊卵孵化数相对密度下降率的平均值 $\geq 70\%$ 。

5.2 释放频次

每周释放 2 次。每次释放量为周释放数量的二分之一。释放间隔期尽量平均，各周的释放日尽量保持一致。

5.3 周释放量

5.3.1 初始阶段

一般为 5 只雄蚊/ m^2 /周，分 2 次释放。可根据释放区域面积，以及现场野生白纹伊蚊密度和气象条件适当调整，即密度很大时稍微上调释放数量，反之则稍微下调释放数量。

5.3.2 压低虫口密度阶段

根据设定的目标释放的低剂量每周分 2 次足量释放。第 N 周释放数量（ X_2 ）依照下列经验公式（2）进行计算。

$$X_2 = [(R_1 + R_2) \times D] / P \dots\dots\dots(2)$$

式中：

X_2 ——第 N 周的释放数量

R_1 ——第 (N-1) 周第 1 次释放数量

R_2 ——第 (N-2) 周第 2 次释放数量

D ——目标释放剂量低量

P ——第 (N-1) 周的雄雌比

注：

- 1) 式中目标释放的低剂量一般为 5，即释放雄蚊：野生雌蚊比为 5:1。
- 2) 第 2 周释放量的计算中，第(N-2)周第 2 次释放数量以第(N-1)周第 1 次释放数量替代。

5.3.3 巩固维持防效阶段

一般为 2 只雄蚊/m²/周，分 2 次释放。可根据释放区域面积，以及现场白纹伊蚊密度和气象条件适当调整。

5.4 特例释放规则

如捕获的雄雌比超过目标释放剂量中值（即 6:1）的 2 倍时，即 >12:1 时，即在随后一周的释放量按最低剂量 1 只/m²/每次，1 周释放 2 次的规则实施。

5.5 释放方法

根据处理区域的实际地形地势、房屋建筑分布情况，以居住和办公区域为中心，将包装好的雄蚊在冷藏条件下移至释放区域室温环境，释放人员沿自然道路打开包装，匀速移动，逐步、均匀释放。

6 总防控效果

6.1 数据处理

6.1.1 释放前基数

采用现场试验释放处理前（一般第 1-3 周）野生白纹伊蚊虫口密度监测数据，分别计算处理区和对照区诱卵器每周诱捕的蚊卵孵化数和诱蚊器每周捕获的白纹伊蚊雌蚊的平均值，作为处理区和对照区处理前的野生白纹伊蚊的蚊卵孵化数和雌蚊数的平均密度值（虫口基数）。

6.1.2 释放后数据

仅计算有效防控时间段内防控效果。

蚊卵：处理后第 1 周至现场试验结束或当年实地防控作业结束。

成蚊：处理后第 4 周至现场试验结束或当年实地防控作业结束。处理后第 1-3 周为防控过渡期，不计入总防控效果。野生白纹伊蚊雌蚊有效防控阶段起始时间的说明参见附录 F。

6.2 计算

6.2.1 周相对密度下降率

按 GB/T 27784-2011 中 9.6 计算公式，分别计算有效防控时段内处理区蚊卵及雌蚊的周相对密度下降率（X₃）。即按下式（3）计算。

$$X_3 = [1 - (T_a \times C_b) / (T_b \times C_a)] \times 100 \% \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中：

X₃——周相对密度下降率(%)；

T_a——处理区处理后周平均密度值；

T_b——处理区处理前平均密度值；

C_a——对照区处理后周平均密度值；

C_b——对照区处理前平均密度值。

6.2.2 总防控效果

按公式（3）分别计算有效防控时段内处理区蚊卵及雌蚊的总防控效果（X₄）。

$$X_4 = \Sigma X_3 / N \dots\dots\dots(4)$$

式中：

X_4 ---总防控效果（%）；

X_3 ---有效防控时段内的周相对密度下降率（%）；

N ---有效防控时段的周数。

6.3 评价指标

野生白纹伊蚊蚊卵孵化数相对密度下降率（即防控效果） $\geq 70\%$ 为合格， $\geq 80\%$ 为效果显著。

野生白纹伊蚊雌蚊相对密度下降率（即防控效果） $\geq 70\%$ 为合格， $\geq 80\%$ 为效果显著。

注：如有其中 1 项低于 70%，则为“不合格”；如其中 1 项属于合格，则该产品的综合评价判定为“合格”。

附录 A

（资料性附录）

沃尔巴克菌的生物学描述

- A.1 中文通用名称：沃尔巴克菌
- A.2 拉丁学名：*Wolbachia pipientis*
- A.3 分类地位：属于细菌门、变形菌纲的 α 亚纲、立克次体目、立克次体科、沃尔巴克氏体族、沃尔巴克氏体。
- A.4 生物学特性：所有的沃尔巴克菌均为胞内专性共生菌，只能在活体宿主细胞内生存，脱离宿主后不能独立在环境中存活；具有通过宿主间交配可以经卵途径垂直（纵向）从亲代雌虫传递到子代，无法在成虫之间靠接触等途径横向传播等特性。
- A.5 宿主范围：沃尔巴克菌广泛存在于节肢动物体内，约 66% 的昆虫种类体内天然携带沃尔巴克菌，包括与人类活动相关的蝴蝶、苍蝇、瓢虫、甲虫、蜂等昆虫，以及会叮咬人类的库蚊、伊蚊等。不同种类的昆虫（包括蚊子）天然所携带的沃尔巴克菌的株型不同。
- A.6 生物安全性：中华人民共和国卫生部 2006 年 1 月 11 日发布的《人间传染的病原体名录》中不包括沃尔巴克菌，即沃尔巴克菌不是人或其他哺乳动物的已知病原体，对人体安全。

附录 B

（资料性附录）

携带人工转染沃尔巴克菌白纹伊蚊雄蚊的作用谱、作用机理、作用方式及使用方法

本文件中携带人工转染沃尔巴克菌白纹伊蚊雄蚊的：

作用谱 防控野生白纹伊蚊种群，降低野生白纹伊蚊种群密度，进而降低主要由白纹伊蚊传播的蚊媒传染病登革热发生风险，及减少白纹伊蚊雌蚊对人畜的叮咬和滋扰。

作用原理 携带人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊雄蚊在目标区域被释放后与天然不携带或天然携带不同沃尔巴克菌株系的野生白纹伊蚊雌蚊交配，经过人工转染沃尔巴克菌特定株系的雄蚊精液进入到雌蚊体内，诱导发生细胞质不相容（CI）现象，致使雌蚊产的卵不能孵化，从而达到防控野生白纹伊蚊种群的目的。

作用方式 采用细胞质不相容（CI）和昆虫不育相结合技术灭蚊，致使野生白纹伊蚊产的蚊卵不能孵化。

使用方法 在室外野生白纹伊蚊孳生地靶标区域内释放携带人工转染沃尔巴克菌特定菌株的白纹伊蚊雄蚊。

附录 C

（资料性附录）

诱卵器的组装和使用

诱卵器是专用于诱蚊产卵的装置。吸引蚊子于此装置之中产卵，定期收集并统计蚊子产卵数量。

D.1 器具

诱卵器：由透明塑料瓶体和黑色塑料瓶盖组成。瓶口外径 7.5cm，瓶底外径 7cm，瓶高 10cm，瓶内底部为圆弧突起，其拱高 2cm。瓶盖上有三个圆台形通道，通道入口的孔径约 1.3cm。诱卵器的瓶体和瓶盖外观见图 1 和图 2。

诱卵纸：白色无纺布或耐水浸泡的白色滤纸（实验室用），6×10cm。

竹叶水（推荐使用）：现配现用。按干竹叶：自来水=1:500 比例，干竹叶在自来水中浸泡 3d。



图 1 诱卵器瓶体



图 2 诱卵器瓶盖正、反面

D.2 组装和使用

D.2.1 选干净的诱卵器，将裁剪成 6×10cm 的白色无纺布（或耐水浸泡的白色滤纸）紧贴瓶壁内侧放入杯中；随后加入少量竹叶水（约 30ml），液面浸润至诱卵纸高度 1/3 处，保持诱卵纸湿润为宜。

D.2.2 拧上黑盖，放于布点地面处，定期观察统计。组装图见图 3。

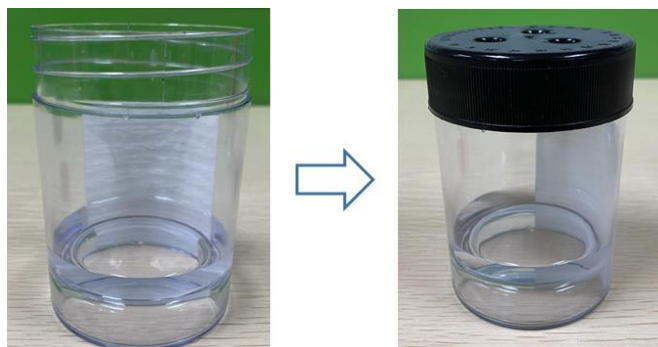


图 3 诱卵器组装图

附录 D

（资料性附录）

诱蚊器的组装和使用

诱蚊器（BG-trap）是成蚊诱捕器。它是利用蚊子的趋黑性把蚊子引诱至顶部黑色通道附近，通过内部风扇产生吸力，将蚊子吸入收蚊袋中。收集到的成蚊通过生物学分类后，并按其性别统计可知该区域的蚊子种群结构及其性别信息，用于监测媒介蚊媒。诱蚊器的剖面示意图和产品外观见图 1 和图 2。

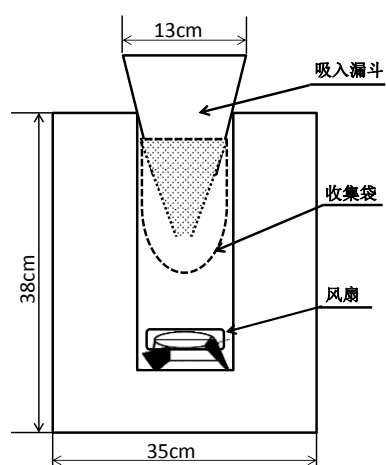


图 1 诱蚊器 剖面示意图



图 2 诱蚊器 成品外观

E.1 器具

市购诱蚊器组件包。典型的组件名称、形状和机构、尺寸和材质见下表。采购时可以根据实际条件替换。

表 1. 诱蚊器部件明细表

名称	形状和结构	尺寸	材质
诱蚊器主体	圆柱形。外圈以钢圈和防水聚丙烯布组成，并由 3 根白色塑胶支柱支撑上下。内圈上口及主体由钢圈和防水聚丙烯布构成，底部安装风扇。上口外圈与内圈间由 3 根粗钢丝连接固定。	主体：外圈直径 35cm、高 38cm。内圈上口直径 13cm，高 30cm。底部方形，12x12cm。 主体支柱：长约 37cm、直径约 0.7cm。	聚丙烯布（编织袋布）、钢圈、塑胶支柱和粗钢丝。
主体遮罩	圆形。四周带有松紧口的编织袋布、中间有同心圆孔。	直径 45cm。中间同心圆孔直径 9cm。	聚丙烯布（编织袋布）
锥形吸入漏斗	锥形。由黑色上下开口的塑胶主体和纱网组成	塑胶主体：上口直径 12cm，下口直径 10cm，高 8cm。	塑胶和纱网

		纱网：上圆直径 10cm，下圆直径 4cm。	
收集袋	上口圆形的纱网袋。有束带可方便束口。	平铺状态：15x15cm	涤纶纱网
风扇	外壳为四方体的 7 叶小风扇	外围尺寸：12cmx12cm； 高：2.5cm	塑胶
12V 蓄电池	立方体	长：15cm； 宽：10cm； 高：10cm。	铅酸蓄电池

诱蚊器组件包的部件外观见图 3。

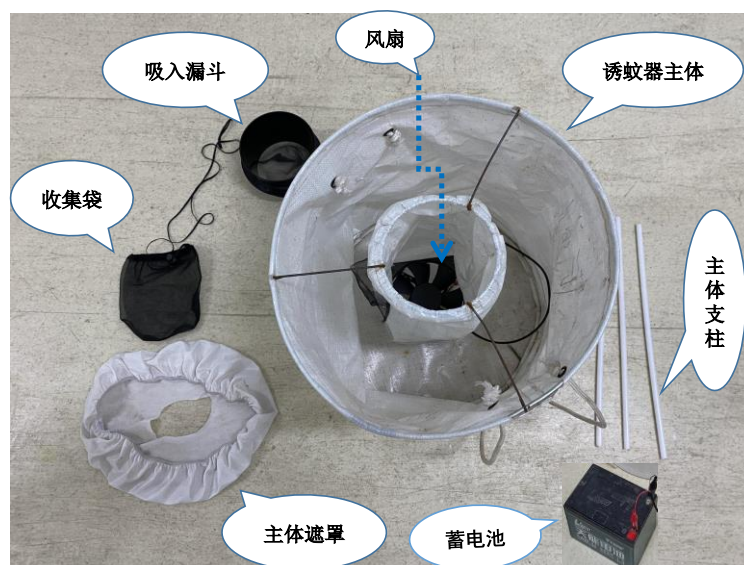


图 3 诱蚊器组件包的部件

E.2 组装和使用

- E. 2. 1 把三根主体支柱沿着铁线圈处将诱捕器主体支撑起来，同时将蓄电池装入主体中，把风扇对应的接口连接到蓄电池上。测试风扇是否转动以及风力能否满足诱捕力度。
- E. 2. 2 把主体遮罩套住诱捕器主体。将收集袋套在锥形漏斗口的下方并将其放置在遮罩层中间的孔中即可。
- E. 2. 3 完成组装后的诱蚊器，可提着主体边上的吊耳绳移动到放置点。其组装图见图 4。



图 4 诱蚊器组装图

附录 E

（资料性附录）

白纹伊蚊及雄雌成蚊简易辨别方法

F.1 白纹伊蚊 *Aedes albopictus*

具银白斑纹、跗节有白环的暗黑或黑色蚊虫。属于双翅目蚊科，源于东南亚，是东南亚和中国常见攻击性很强的蚊子，也是重要的病毒媒介蚊种。其雌蚊通常在户外白昼和黄昏叮咬人畜，是我国乙类法定传染病登革热的重要传播媒介。

F.2 雄雌简易辨别方法

根据白纹伊蚊成蚊性别形态的主要特征差异，可快速简易辨别雄雌个体。辨别方法见表 1。

表 1 白纹伊蚊雄雌简易辨别方法

形态部位	主要差异
体型	雄蚊体型一般都小于雌蚊
触角	雄蚊的触角上有数量众多细毛，以至于用裸眼看起来很浓密，像“刷子”；雌蚊的触角没有浓密的细毛
口器	雄蚊口器分叉；雌蚊口器不分叉



图 1 白纹伊蚊成蚊雄（左）、雌（右）的形态图

附录 F

（资料性附录）

野生白纹伊蚊雌蚊有效防控时间段起始时间的说明

基于携带人工转染沃尔巴克菌特定菌株的白纹伊蚊雄蚊防控野生白纹伊蚊种群作用原理，经人工转染沃尔巴克菌的雄蚊与天然不携带或天然携带不同沃尔巴克菌株系的野生白纹伊蚊雌蚊交配，诱导野生雌蚊体内发生胞质不相容（CI），导致雌蚊产的卵不能孵化，从而压低野生白纹伊蚊后代的种群密度。也就是说，携带人工转染沃尔巴克菌的白纹伊蚊雄蚊与野生白纹伊蚊雌成蚊交配后至白纹伊蚊雌成蚊密度明显持续下降，一般需要白纹伊蚊一个生命周期 21d 左右的时间。因此，野生白纹伊蚊雌蚊有效防控时间段应从释放处理后的第 4 周开始计算。

参考文献

1. GB/T 23797-2020 病媒生物密度监测方法 蚊虫[S]. 北京：中国标准出版社, 2020.
 2. GB/T 31721-2015 病媒生物控制术语与分类[S]. 北京：中国标准出版社, 2015.
-