

表2-3 ネズミ・昆虫の生育と出没感調査 元データ3

NO	対象	捕獲指数	出没感	環境診断	平均温度	最高温度	最低温度	平均湿度	最高湿度	最低湿度
6	コバエ・チョウバエ	0.66	0		29.6	32.2	24.8	40.4	55.0	35.0
8	コバエ・チョウバエ	0.11	0		30.3	33.8	24.7	33.4	52.0	14.0
38	コバエ・チョウバエ	5.33	0		30.3	32.7	21.1	56.4	73.0	36.0
平均	コバエ・チョウバエ	2.03	0		30.1	32.9	23.5	43.4	60.0	28.3
148	コバエ・チョウバエ	0	1							
160	コバエ・チョウバエ	1.2	1		19.8	21.5	18.1	32.0	41.0	24.0
184	コバエ・チョウバエ	0	1		19.0	22.0	16.0	25.0	30.0	19.0
166	コバエ・チョウバエ	0.8	1							
190	コバエ・チョウバエ	0	1							
39	コバエ・チョウバエ	4	1							
40	コバエ・チョウバエ	7.8	1		27.0	29.3	24.0	40.1	60.0	9.0
41	コバエ・チョウバエ	19.8	1							
27	コバエ・チョウバエ	8.7	1	-50	30.2	34.7	22.3	49.8	68.0	36.0
32	コバエ・チョウバエ	18.5	1							
101	コバエ・チョウバエ	24.7	1							
103	コバエ・チョウバエ	11.8	1							
105	コバエ・チョウバエ	47.2	1							
107	コバエ・チョウバエ	36.2	1							
10	コバエ・チョウバエ	43	1		26.2	30.9	24.1	54.2	78.0	41.0
12	コバエ・チョウバエ	61.8	1		25.9	31.7	20.2	53.0	64.0	38.0
100	コバエ・チョウバエ	13.1	1							
102	コバエ・チョウバエ	25.7	1							
106	コバエ・チョウバエ	20.7	1							
平均	コバエ・チョウバエ	18.15	1	-50	24.7	28.4	20.8	42.4	56.8	27.8
154	コバエ・チョウバエ	7	2							
60	コバエ・チョウバエ	8.38	2							
99	コバエ・チョウバエ	13.5	2							
98	コバエ・チョウバエ	24.4	2							
104	コバエ・チョウバエ	61.1	2							
平均	コバエ・チョウバエ	22.88	2							
142	コバエ・チョウバエ	7	3		20.6	21.5	19.8	28.0	27.0	29.0
172	コバエ・チョウバエ	50	3		23.0	24.0	22.0	27.0	28.0	26.0
178	コバエ・チョウバエ	40	3							
59	コバエ・チョウバエ	25.4	3	-45	26.2	37.6	24.3	62.4	81.0	27.0
平均	コバエ・チョウバエ	30.60	3	-45	23.3	27.7	22.0	39.1	45.3	27.3
48	ダニ	6304	0		28.1			5.0		
132	ダニ	36	0							
133	ダニ	0	0							
平均	ダニ	2113	0							
131	ダニ	600	1							
134	ダニ	125	1							
44	ダニ	241	1							
42	ダニ	0	1							
平均	ダニ	242	1							
2	ダニ	464	2		25.9			70.0		
43	ダニ	556	2							
平均	ダニ	510	2		25.9			70		
130	ダニ	120	3							
平均	ダニ	120	3							

表2-4 ネズミ・昆虫の生育と出没感調査 元データ4

NO	対象	捕獲指数	出没感	環境診断	平均温度	最高温度	最低温度	平均湿度	最高湿度	最低湿度
171	ネズミ	0	0		23.0	24.0	22.0	27.0	28.0	26.0
147	ネズミ	0	0							
183	ネズミ	0	0		19.0	22.0	16.0	25.0	30.0	19.0
135	ネズミ	0	0							
46	ネズミ	0	0							
平均	ネズミ	0	0		21.0	23.0	19.0	26.0	29.0	22.5
4	ネズミ	0	1	-30						
47	ネズミ	0	1	-60						
141	ネズミ	0.05	1		20.6	21.5	19.8	28.0	27.0	29.0
159	ネズミ	0.03	1		19.8	21.5	18.1	32.0	41.0	24.0
165	ネズミ	0	1							
136	ネズミ	0.001	1							
137	ネズミ	0.001	1							
61	ネズミ		1	-70						
65	ネズミ		1	-35						
25	ネズミ	0.02	1	-35						
平均	ネズミ	0.01	1	-46	20.2	21.5	19.0	30.0	34.0	26.5
138	ネズミ	0.001	2							
62	ネズミ	0.028	2	-55						
63	ネズミ	0.028	2	-55						
66	ネズミ		2	-40						
67	ネズミ		2	-50						
45	ネズミ	0	2							
平均	ネズミ	0.014		-50						
139	ネズミ	0.05	3							
64	ネズミ	0.025	3	-80						
平均	ネズミ	0.038	3	-80						
19	マンホール蚊	0	0							
23	マンホール蚊	0	0							
平均	マンホール蚊	0.36	0	-15						
157	マンホール蚊	0	1							
163	マンホール蚊	0	1							
169	マンホール蚊	0.1	1							
122	マンホール蚊	6.7	1	-15						
124	マンホール蚊	3.6	1	-15						
126	マンホール蚊	3.5	1	-15						
78	マンホール蚊	2.3	1							
82	マンホール蚊	0.5	1							
96	マンホール蚊	2	1							
平均	マンホール蚊	2.08	1	-15						
94	マンホール蚊	19.5	3							
平均	マンホール蚊	19.50	3							

表2-5 ネズミ・昆虫の生育と出没感調査 元データ5

NO	対象	捕獲指数	出没感	環境診断	平均温度	最高温度	最低温度	平均湿度	最高湿度	最低湿度
150	コバエ・チョウバエ	0	0							
192	コバエ・チョウバエ	0	0							
20	コバエ・チョウバエ	4.25	0							
119	コバエ・チョウバエ	0.5	0							
121	コバエ・チョウバエ	1	0							
123	コバエ・チョウバエ	0.5	0							
125	コバエ・チョウバエ	0.2	0							
127	コバエ・チョウバエ	0.5	0							
93	コバエ・チョウバエ	0.2	0							
89	コバエ・チョウバエ	0.8	0							
129	コバエ・チョウバエ	0.05	0							
平均	コバエ・チョウバエ	0.73	0							
162	コバエ・チョウバエ	0.2	1							
186	コバエ・チョウバエ	0	1							
168	コバエ・チョウバエ	0.1	1							
30	コバエ・チョウバエ	0.6	1							
35	コバエ・チョウバエ	1.75	1							
14	コバエ・チョウバエ	0	1							
18	コバエ・チョウバエ	4	1							
87	コバエ・チョウバエ	7.5	1							
91	コバエ・チョウバエ	2	1							
81	コバエ・チョウバエ	8	1							
85	コバエ・チョウバエ	3	1							
97	コバエ・チョウバエ	2.5	1							
平均	コバエ・チョウバエ	2.47	1							
22	コバエ・チョウバエ	44.75	2							
24	コバエ・チョウバエ	143.5	2							
156	コバエ・チョウバエ	25	2							
95	コバエ・チョウバエ	32	2							
平均	コバエ・チョウバエ	61.31	2							
174	コバエ・チョウバエ	5	3							
180	コバエ・チョウバエ	5	3							
144	コバエ・チョウバエ	60	3							
79	コバエ・チョウバエ	27.3	3							
83	コバエ・チョウバエ	11	3							
平均	コバエ・チョウバエ	21.66	3							

出没感 0：全くない 1：僅かにいる 2：多くいる 3：大変多い
 ダニ捕獲数は1gあたりの数を示す

表3 コバエ類の捕獲調査結果

(I) 15施設調査		
科名	Family	捕獲数
長角亜目 NEMATOCERA		
ガガンボ科	Tipulidae	5
キノコバエ科	Mycetophilidae	13
クロバネキノコバエ科	Sciaridae	619
タマバエ科	Cecidomiidae	345
チョウバエ科	Psychodidae	843
カバエ科	Anisopodidae	7
ニセケバエ科	Scatopsidae	29
カ科	Culicidae	19
ユスリカ科	Chironomidae	211
短角亜目 BRACHYCERA		
アシナガバエ科	Dolichopodidae	9
ノミバエ科	Phoridae	383
クロツヤバエ科	Lonchaeidae	3
ヒロクチバエ科	Platystomatidae	2
クロコバエ科	Milichiidae	179
ツヤホソバエ科	Sepsidae	9
トゲハネバエ科	Heleomyzidae	23
ハヤトビバエ科	Sphaeroceridae	24
ショウジョウバエ科	Drosophilidae	72
イエバエ科	Muscidae	2
クロバエ科	Calliphoridae	3
<u>20科 合計</u>		<u>2,800</u>
(II) マンホール調査		
長角亜目	NEMATOCERA	
クロバネキノコバエ科	Sciaridae	1
チョウバエ科	Psychodidae	785
短角亜目	BRACHYCERA	
ノミバエ科	Phoridae	10
<u>3科 合計</u>		<u>796</u>
(III) 15施設調査		
類	目	捕獲数
ハチ類	Hymenoptera	123
アリ類	Hymenoptera	2
チョウ類	Lepidoptera	2
ガ類	Lepidoptera	62
ヨコバエ類	Hemiptera	99
カメムシ類	Hemiptera	14
アワフキムシ類	Hemiptera	19
チャタテムシ類	Psocoptera	74
ハネカクシ類	Coleoptera	48
テントウムシ類	Coleoptera	2
甲虫類	Coleoptera	14
カゲロウ類	Ephemeroptera	1
ゴキブリ類	Blattodea	1
<u>7目 合計</u>		<u>461</u>

図1 捕獲数順位と捕獲回数による平均値

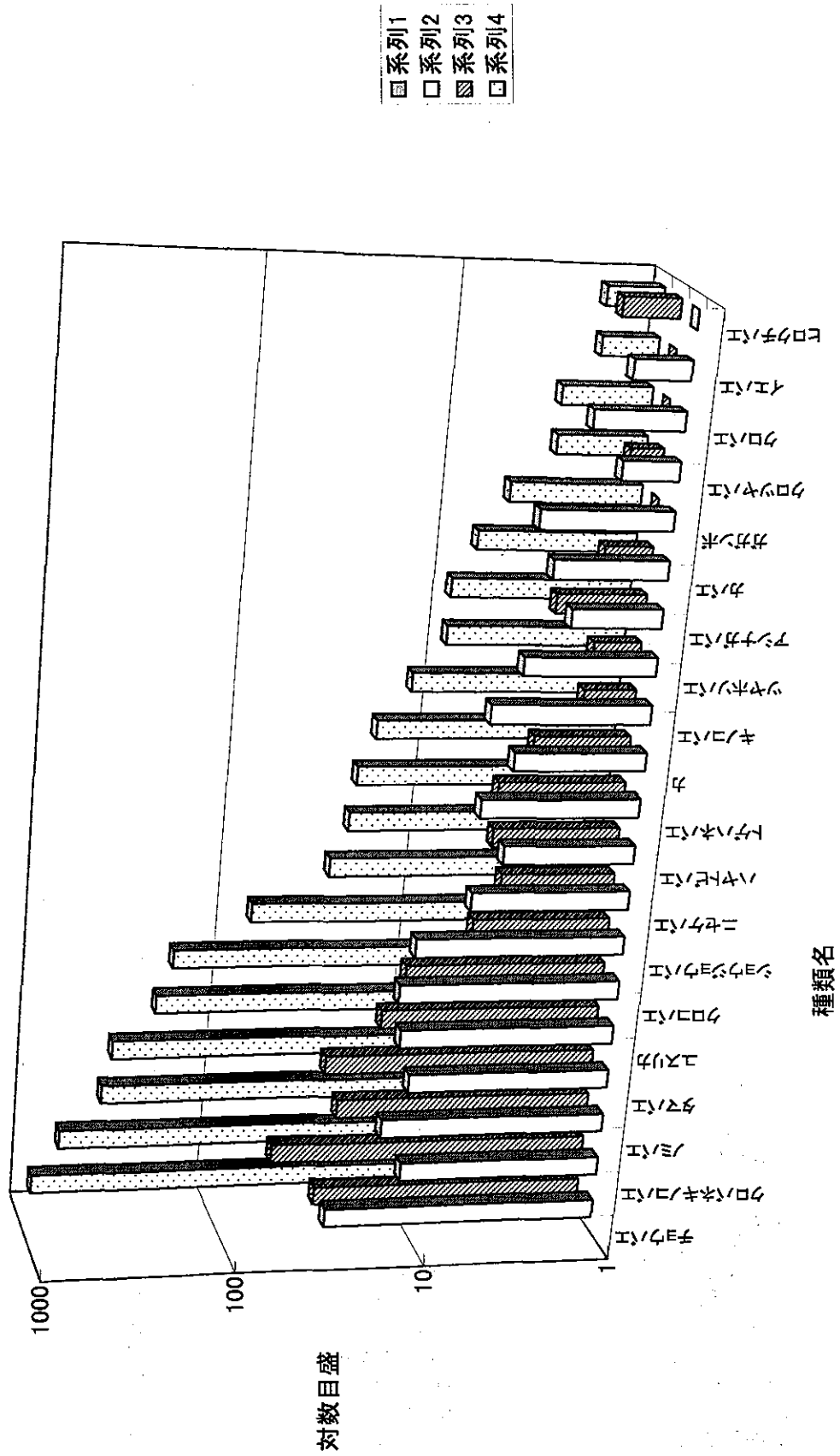


表4

採塵場所	採塵量 (mg)	調査量	Df	Dp	Dx	Tp	ヒゲダニ sp	ホコリダニ spp	ミナミ ツメダニ spp	カメノコ ツメダニ spp	ヒメハダニ sp	ナミ ハダニ sp	ナミケナガ ハダニ spp	イエサガニ spp	マヨイ ダニ spp	イエダニ sp	中気門 sp	ダニ数 合計	ダニ数 (匹/g)
A	23	23	130	1	13			1										145	6,304
B	27	27	83	4	4								1	1				93	3,444
C	28	28	8	1			1								1	2		13	464
D	18	18			1								1			8		10	556
E	54	54														13		13	241
F	36	36																0	0
G	330	100			2			1	1			1	7					12	120
H	35	35	10	2				4		1		1						21	600
I	56	56								1					1			2	36
J	10	10																0	0
K	48	48	2															6	125
L	151	100	9			10	1	1					1		5		1	28	270
M	22	22																0	0
N	100	100																0	0
O	967	100																0	0

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）
分担研究報告書

ホシチョウバエ *Tinearia alternata* の室内飼育 — 砂培地法

分担研究者：田中生男（財）日本環境衛生センター環境生物部
研究協力者：水谷 澄（財）日本環境衛生センター環境生物部

研究要旨 ホシチョウバエはオオチョウバエと共に浄化槽や厨房排水路等の汚泥から発生する主要な害虫である。しかし室内飼育に関する報告はない。1 昨年 12 月に食品製造会社の厨房汚泥から採取した本種の提供を受け、これを基に試行錯誤で室内飼育を行ってきた。現在安定した虫の供給が出来る様になったので、その培地の処方による卵から成虫までの所要日数について観察を行った。飼育培地の基本処方は砂 50gr + 人工汚水または 0.5 % 粉末水溶液 25mL である。この培地を腰高シャーレに入れて、産卵適期の雌成虫を放したケージ内に設置すると、成虫は当日か翌日培地の水際に産卵した。25 °C の温度下で卵期間 1 ~ 2 日、1 齢幼虫 2 日、2 齢幼虫 2 日、3 齢幼虫 2 日、4 齢幼虫 2 日、蛹 1 ~ 2 日で産卵から羽化するのに 10 ~ 12 日を要した。この所要日数はオオチョウバエより 5 日程短かった。

A. 研究目的

ホシチョウバエとオオチョウバエは共にビルの地下汚水槽や食品製造施設の廃水汚泥から発生する。後者のオオチョウバエについてはある程度研究が進んでいるが、ホシチョウバエを対象とした感受性試験等を実施するには多くの供試虫が必要なので、飼育法を確立することは急務である。今回採集集団を基に安定供給可能な飼育法の検討を行った。

B. 供試昆虫：ホシチョウバエ *Tinearia alternata*

平成 15 年 12 月 東京都板橋区にある某製パン工場の廃水汚泥から採取した集団を入手

C. 飼育方法：入手当所は採取汚泥に人工汚水や水 + 固形飼料小片を加えて試行錯誤に累代飼育を行っていた。その後飼育培地は汚水状ではなく汚泥状が良いことがわかった。汚水に砂を加えることで飼育の目処が立った。この方法を砂培地法とした。

砂培地法の基本処方は砂 50gr + 人工汚水又は 0.2 % 粉末水溶液 25mL である。なお人工汚水の組成 (W/V%)：ペプトン 0.03, 肉エキス 0.02, (NH₄)NO₃ · H₂O 0.005, 固形飼料 0.05, NaCl 0.015, Na₂PHO₄ · 12H₂O 0.05, KCl 0.0007, CaCl₂ 0.0007, MgSO₄ · 7H₂O 0.00005 に水を加えて 100 とする。

D. 砂培地法によるホシチョウバエ飼育例

上述した飼育培地を腰高シャーレに入れる。これを産卵適期の雌成虫を放したケージの中に設置する。産卵を確認したらこれを取り出し、布蓋をして、25 °C、90 % 以上の温湿度下に保存、各期の成育状況を連日実体顕微鏡下で観察した。なおその間飼育培地の水分・餌は適宜加え調整した。

設置培地 砂 50gr + 人工汚水 幼虫孵化後は粉末飼料を 5mg 程度適宜加えた。

当日 9 時	培地設置
翌日 15 時	産卵認める、1 部 1 齢幼虫
2 日目	1 齢幼虫
3 日目	1 ~ 2 齢幼虫
4 日目	2 齢幼虫
5 日目	2 ~ 3 齢幼虫
6 日目	3 齢幼虫
7 日目	3 ~ 4 齢幼虫
8 日後	3 ~ 4 齢幼虫 1 部 蛹
9 日目	4 齢幼虫 蛹
10 日後	4 齢幼虫 蛹 1 部 羽化
12 日後	蛹 羽化多数

以上の飼育例から本種の卵期間は 1 ~ 2 日、幼虫期間約 8 日（1 齢 2 日、2 齢 2 日、3 齢 2 日、4 齢 2 日）蛹期間は 1 ~ 2 日であった。

E. 考察と結論

汚泥と共に採集したホシチョウバエ幼虫を基に、安定供給可能な飼育法を検討した。入手当所はオオチョウバエの飼育に習い、人工汚水や粉末水溶液等の溶液で飼育を始めたが良い結果は得られなかった。汚水より固形状の汚泥を想定して先の汚水に砂を加えたところ、安定した産卵並びに幼虫の成長が認められた。

砂と汚水の比率は砂をひたひたに覆った量、砂 50gr + 汚水 25mL が至適であることを確認した。この方法を砂培地法と呼称する事にした。

砂培地法でホシチョウバエを飼育した所、25℃の温度下で卵期間1～2日、1～4齢幼虫は各2日程度、蛹期間が1～2日、産卵から羽化するまで10～12日を要した。

オオチョウバエは産卵～羽化まで15～17日必要なので、ホシチョウバエは5日程早く羽化することがわかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）
研究報告書

蚊・ゴキブリ類に関する殺虫剤抵抗性分子診断法の確立

分担研究者：富田 隆史（国立感染症研究所）
協力研究者：葛西 真治，駒形 修，正野 俊夫，津田 良夫（国立感染症研究所）
元木 貢（(株)アベックス産業）
高橋 朋也（(株)フジ環境サービス）
谷川 力（(株)イカリ消毒）
橋本 知幸，新庄五朗（(財)日本環境衛生センター）

建築物内で発生または侵入する衛生害虫のうち、日本において殺虫剤抵抗性の発達により化学的防除が困難になるおそれがあるチャバネゴキブリとアカイエカ種群蚊について、殺虫剤感受性レベルの調査ならびに殺虫剤抵抗性機構の推定を行い、抵抗性に関連づけられる作用点遺伝子の変異を解析した。チャバネゴキブリについては、首都圏を中心とする14地点で調査を行い、ピレスロイド系殺虫剤低感受性要因となるナトリウムチャンネルの変異型遺伝子 *kdr* (L993F) の保有を調べた。全てのコロニーに *kdr* 遺伝子を検出し、そのうち9地点では *kdr* 遺伝子の頻度が野生型遺伝子に比べて優勢であった。アカイエカ種群蚊については、2004年に新たに41地点に由来するコロニーの殺虫試験を行い、5つの殺虫剤についての感受性レベルを調べ、前年度調査分と併せて56コロニー分の試験結果を得た。殺虫剤感受性対照系統に関する LC99 X 100 の濃度で10%以上の生存率を示したコロニーがもっとも多かったのはエトフェンプロックスの場合であり、アカイエカ、チカイエカともに約4割のコロニーがこれに該当した。ピリプロキシフェン、ジフルベンズロン、テメホスについては、両亜種のそれぞれで、試験したうちの少数のコロニーに抵抗性個体が存在することを認めた。フェニトロチオンについては、殺虫剤感受性対照系統に関する LC99 X 10 の濃度で生存する個体はなかった。いずれの殺虫剤に対しても抵抗性個体を分離する頻度はチカイエカの方がアカイエカよりも高かった。2つから4つの複数の殺虫剤に関して、抵抗性個体を分離するコロニーを両亜種に認めた。一部のコロニーを用いてピペロニルブトキサイドを共力剤とする殺虫試験とナトリウムチャンネル遺伝子の配列決定を行った結果、エトフェンプロックス抵抗性の主要因にはシトクロム P450 による解毒活性の増大と *kdr* 様変異 (L999F と L999S) による作用点の感受性低下が含まれると推定した。有機りん系殺虫剤の作用点であるアセチルコリンエステラーゼ遺伝子のイントロン領域に含まれる配列多型に基づき、亜種特異的プライマーを設計し、ゲノム DNA を鋳型とする PCR により、日本産アカイエカ種群亜種の判別を試みた。9都府県38地点より採集した170頭のアカイエカ（吸血産卵性蚊）およびチカイエカ（無吸血産卵性蚊）を使って試験を行った結果、例外なく分子分類が可能であることを確認した。

A. 研究目的 により評価するのが通例であり、個体のレ
昆虫に対する殺虫剤の有効性は殺虫試験 ベルで示される殺虫剤感受性を評価するに

は殺虫試験に代わるものはないといえる。しかしながら、そのためには、殺虫試験に先立ち、新たに採取した野外コロニーを室内で継代飼育し、発育ステージの揃った多数の虫を準備する必要がある。とくに蚊種の中には、室内飼育環境に順化して生殖・発育を行うために多くの世代数を要するものがある。その過程で、野外で採集した個体もつ遺伝的多様性が実際にどの程度供試虫の世代に伝えられているか不明になるという欠点もある。また、ゴキブリ種では、双し目昆虫種と比べ一代あたり長い飼育日数を要する。野外コロニーに関する殺虫剤の有効性を評価するには、殺虫試験によるバイオアッセイ法は、数多くのコロニーについて感受性レベルを調査するには難のある方法といえる。上に述べたような殺虫試験にかかるコストと元来の遺伝的構成に関する情報の劣化を解決するための手段として、殺虫剤抵抗性遺伝子の分子判別がある。

チカイエカとアカイエカは両者を形態で区別することが困難であるが、無吸血産卵性や越冬性の有無、発生源において違いがあり、吸血嗜好性、行動の光周期依存性、亜種間の相互交雑性について未解明な点が多い。害虫の化学的防除上もっとも重要な観点は、チカイエカとアカイエカの相互交雑性にあるといえる。旧ビル管理法により定期的に建築物内の害虫を駆除するように定められていて、地下の水溜まりにおいておもに生息し、永きにわたり防除の対象となっていたチカイエカでは、殺虫剤抵抗性の選択圧がアカイエカに比べ大きく働いていたと考えられる。ウエストナイル熱のような蚊媒介性疾病がわが国に流行する際は、主たる媒介蚊であるアカイエカ種群蚊が化学的防除の対象となる。より集団のサイズが大きいとみなされるアカイエカ集団に対し、チカイエカ集団内で出現した抵抗

性遺伝子が亜種交雑により移入すると、アカイエカの防除を瞬く間に困難にしてしまう恐れがある。こうした問題に 대응べく、現在は無吸血産卵性や差異の微小な形態学的特徴で分別されている両亜種について、分子マーカーを使ったより簡便な分別を可能にする必要がある。

本分担研究では、チャバネゴキブリとアカイエカ種群蚊を対象にして、実験室内において抵抗性遺伝子の分子判別する方法を確立し、それにより各害虫種集団の抵抗性遺伝子頻度分布を調査することを目的とする。昨年度は、チャバネゴキブリの日本産ピレスロイド抵抗性系統が、ピレスロイド低感受性の作用点遺伝子(*kdr*)を保有することを明らかにした。また、おもに首都圏地域に発生したアカイエカ種群蚊 15 コロニーの各種殺虫剤に対する感受性レベルを調査し、チカイエカにピレスロイド抵抗性コロニーに含まれていたことを明らかにした。今年度は、チャバネゴキブリについては、14 の建築物内で捕獲した虫の *kdr* 遺伝子頻度を推定した。アカイエカ種群蚊については、殺虫剤感受性についての調査地点を拡大して感受性レベルの現状をより詳しく把握するとともに、抵抗性コロニーに含まれる主要な抵抗性要因と交差抵抗性を解析した。日本産アカイエカ種群蚊の分子判定については、本蚊種群内に変異性に富む塩基配列があるが、アカイエカ、チカイエカ、ネッタイエカの 3 亜種内では一定の配列を保っていると予想された部位につき、対立遺伝子特異的 PCR を適用し、考案した亜種の分子判定方法が広範な蚊のサンプルに対して有効であるかを検証した。

B. 研究方法

昆虫：

チャバネゴキブリは、2004 年に 14 の

建築物内で粘着トラップで捕集した個体、あるいは直接捕集して室内飼育により得た次世代の個体を核酸抽出に使った。ゴキブリの飼育は室温 25℃、湿度 50%、日長条件 12L-12D に保った恒温室内で行った。

2004 年にアカイエカ種群蚊の幼虫または成虫を採集し、それぞれに由来する 39 の室内コロニーを殺虫剤選抜なしに継代飼育し、殺虫試験に供した。チカイエカコロニーは、成虫を野外採集した場合は次世代の室内飼育コロニーにおいて、または幼虫を野外採集した場合は羽化したコロニーにおいて、雌成虫が未吸血で産卵した卵舟より孵化した個体群を同亜種として扱った。一方、未吸血産卵をまったく示さなかった室内コロニーをアカイエカコロニーと判別した。アカイエカ種群蚊の殺虫剤感受性対照系統として国立感染症研究所で維持しているアカイエカ洞穴系統とネッタイエカ小笠原系統を用いた。蚊の飼育は室温 25℃、湿度 65%、日長条件 16L-8D に保った恒温室内で行い、マウスを吸血源とした。2003 年に実施した 15 コロニー分の結果と併せて感受性レベルを評価した。

2004 年に 38 の地点で採集した 164 頭のアカイエカ種群蚊を亜種の分子判定の材料として使った。

殺虫剤：

次の殺虫剤原体または製剤の供与を受け、殺虫試験に用いた。ペルメトリン、フェノトリン、フェニトロチオン（原体：住友化学工業）；テメホス（原体：三共ライフテック）；エトフェンプロックス（原体：三井化学）；ジフルベンズロン（デミリン水和剤 25%；三共ライフテック）；ピリプロキシフェン（シントースミラブ S 粒剤 0.5%；シントーフアイン）。

殺虫試験：

4 齢幼虫約 30 頭を底面直径 6 cm、容積 100 mL のプラスチックカップに入れた 50mL の蒸留水に浸漬し、エタノールに溶解（または十分に懸濁させた）殺虫剤溶液を 250 μ L 添加し十分攪拌した。フェニトロチオン、テメホス、エトフェンプロックスの効力は処理開始 24 時間後の致死率により判定した。ジフルベンズロンとピリプロキシフェンの効力は羽化阻止率により判定した。各地での野外採集蚊に基づく室内コロニーの殺虫試験は、殺虫剤感受性のアカイエカ洞穴系統に関する各殺虫剤の LC99 の等倍、10 倍、100 倍の三つの濃度を設定し、処理区あたり 20 頭の幼虫を用い各濃度ごとの反復なしで行った。殺虫剤感受性対照系統と抵抗性系統を用いた殺虫剤試験では、処理区あたり 30 頭の幼虫を用い各濃度あたり処理を 2 回反復し、殺虫剤の効力は SPSS プログラム (SPSS Inc.) を用いてプロビット法により解析した。

遺伝子解析：

アカイエカ種群蚊とチャバネゴキブリのナトリウムチャンネル遺伝子配列の解析には、それぞれ、幼虫全体と成虫頭部を使い、いずれも IsoQuick (ORCA Research) により 1 頭ごとにゲノム DNA を抽出した。蚊では、ExTaq DNA ポリメラーゼ (Takara), CTTCACCGACTTCATGCAC (F1CqSC) と CACGGACGCAATCTGGCTTG (R18CqSC) プライマーを使い、ナトリウムチャンネル遺伝子の 1 つのイントロンを内部に含む DII-S6 コード領域を増幅した。ゴキブリでは、ACTGTTGGTGCTCTGGGTAA (F1BgSC) と CAGGATTTCAKCCGCTGTGAG (R2BgSC) プライマーを使い、同様に DII-S6 コード領域を増幅した。得た PCR 産物は、直接鋳型として用いるか、または

TA Cloning kit (Invitrogen) でクローニングして、配列を決定した。シーケンシング反応は BigDye Terminator Cycle Sequencing kit v1.1 (ABI) により、DNA 配列の解析は ABI Prism 3100 System (ABI) により行った。

アカイエカ種群蚊の亜種判別には、アセチルコリンエステラーゼ遺伝子の配列多型をターゲットとして、フォワードプライマーを GTGGAAACGCATGATACCAG (ACEpip2) または GTGGAGACGCATGACGCAT (ACEpall2), リバースプライマーを TGGAGCCTCCTCTTCACGG (B1246s), ゲノム DNA を鋳型とし、94°C 5min, [94°C 3s, 55°C 30s, 72°C] を 30 サイクル、次いで 72°C 5min というサイクル条件で対立遺伝子特異的 PCR を行った。アガロース電気泳動法により PCR 産物の有無を確認した。

C. 研究結果

2. チャバネゴキブリ

米国産のピレスロイド抵抗性チャバネゴキブリ系統を用いて、ナトリウムチャンネルのドメイン II - 膜貫通セグメント 6 (DII-S6) 内に位置する Leu993 座位 (イエバエの相同座位で表すと Leu1014) が Phe に置換した *kdr* 型の構造変化により、チャバネゴキブリがピレスロイド抵抗性となることが実験的に明らかにされている。チャバネゴキブリの採集を行ったわが国の 14 の建築物すべてにおいて、L993F 置換をもつ *kdr* 遺伝子が検出された (表 1)。F993 のコドンには、米国産の抵抗性系統 Ectiban-R に含まれていた TTC だけでなく、これまで未記載の TTT も全ての採集地点のサンプルに見出された。一方、L993 のコドンとしては TTG のみを検出した。この結果は、チャバネゴキブリ集団におい

て *kdr* 突然変異の起源が少なくとも 2 つあった可能性を示す。6 つの採集地点からは、DII-S6 に F999S 置換をもつ遺伝子が検出された。この置換は、L993 (TTG) -S999 (TCT) というハプロタイプの中のみ現れていると推定した (資料省略)。F999S 置換の殺虫剤感受性低下への関わりは不明である。10 の採集地点で *kdr* 遺伝子の割合が半数以上をしめていた。*kdr* 遺伝子は優性の度合いが低く、そのホモ接合体で殺虫剤低感受性をもつとも現れるとされている。*kdr* ホモ接合体の期待頻度が 50% 以上と推定した採集地点の数は 6 つあった。

野外採集蚊の殺虫剤感受性：

2003 年と 2004 年に採集しコロニー化したチカイエカ、アカイエカ、ネッタイエカの由来を表 2 に、これらコロニーのエトフェンプロックス、テメフォス、フェニトロチオン、ピリプロキシフェン、ジフルベンズロンに対する感受性を図 1 に示す。殺虫剤感受性対照系統として用いたアカイエカ洞穴で得た LC99 値を基準として、その等倍、10 倍、100 倍の濃度における各コロニーの生存率の分布を総合的に評価すると、チカイエカとアカイエカを併せて抵抗性個体の出現する頻度およびその抵抗性レベルの双方において著しかった殺虫剤は、エトフェンプロックス、これをかなり下回り、ピリプロキシフェン、テメフォス、ジフルベンズロンの順となった。フェニトロチオンは LC99 X10 の濃度で例外なく有効 (死亡率 0%) であった。LC99 X100 の濃度で 10% 以上の生存率をみたコロニーを数えると、上に述べた殺虫剤の並びと一致した。チカイエカをエトフェンプロックスで処理した場合に、抵抗性レベルの著しく高い群とそうでない群にほぼ二分された。実用濃度またはそれを上回る濃度で 10% 以上の生存率をみたコロニー数

が多い順に、エトフェンプロックス (22 コロニー)、ジフルベンズロン (2 コロニー)、テメフォス (1 コロニー) となった。感受性系統における LC99 X10 または X100 の濃度で複数の殺虫剤に対する生存率が 10%以上の抵抗性個体を分離したコロニーを表 3 に示す。チカイエカでは、エトフェンプロックスを含み、他にテメフォス、ピリプロキシフェン、およびジフルベンズロンの中から 1 つまたは 2 つの薬剤の組合せにおいて上に述べた基準の抵抗性に該当するコロニーが 6 つあった。アカイエカでも、エトフェンプロックスと他 3 薬剤の中から 1 つの組合せにおいて該当するコロニーが 7 つあった。チカイエカの大手町コロニーでは 4 薬剤、横浜と鳩ヶ谷コロニーでは 3 薬剤に対して該当する抵抗性個体が分離した。1 つの個体が殺虫剤系の異なる複数の薬剤に対して抵抗性を表したのか、または複数の薬剤のいずれかに抵抗性を示す個体が含まれていたのかについては不明である。

エトフェンプロックス抵抗性機構：

殺虫試験に用いた薬剤のうち、もともとアカイエカ種群蚊で抵抗性が発達しているとみなされたエトフェンプロックスについて、その抵抗性機構を調べるために、アカイエカの林試の森コロニーとチカイエカの新宿 04 コロニーをエトフェンプロックスで選抜し、同殺虫剤感受性に関してほぼ均一な室内コロニーを得た。選抜に伴う林試の森コロニーのエトフェンプロックス感受性の変動のようすを表 4 と図 2 に示す。選抜前のコロニー (G0) は、濃度-死亡率応答からみて感受性レベルが不均一な個体が混合しており、エトフェンプロックス LC50 は 0.11 mg/L であったが、7 世代におよぶ選抜の後、殺虫剤感受性に関する均一性が増し、LC50 は 51 mg/L に達した。新宿 04 コロニーは選抜前にも殺虫剤感受

性に関する均一性と抵抗性レベルが高く (資料省略)、2 世代の選抜により LC50 が 13.7 mg/L から 21.8 mg/L へと増大した (表 5)。洞穴系統を殺虫剤感受性の対照系統として用い、上に述べた林試の森と新宿 04 の選抜後のコロニー、および室内で選抜は行わなかったが元来エトフェンプロックス抵抗性レベルが高く均一性も有していたチカイエカの 4 つのコロニーの計 6 コロニーを対象として、シトクロム P450 分子族酵素の一般的阻害剤であるピペロニルブトキサイド (PBO) の共力効果を解析した。エトフェンプロックスのみを用いた場合のこれら 6 コロニーで得られた抵抗性比は 10^2 - 10^3 オーダーの範囲にあったが、PBO をエトフェンプロックスに添加した場合、抵抗性レベルがほぼ感受性系統の LC50 値 (エトフェンプロックス単独の場合の値) に匹敵するほどまでに大きく低下した。「感受性系統蚊における PBO の共力効果」で除算した「抵抗性コロニーにおける PBO の共力効果」は、P450 の解毒活性増大に基づく抵抗性要因の強度とみなすことができる。また、共力剤を加えた場合の抵抗性比は、その他の要因による抵抗性要因の強度とみなすことができる。大手町コロニーを除き、林試の森-7 世代選抜、新宿 04-2 世代選抜、福岡、千葉、渋谷の 5 コロニーでは、P450 に基づく抵抗性要因の強度がその他に基づく強度に匹敵するかそれを上回ると推定した。昨年度の研究において、LC99 濃度で生残したチカイエカ幼虫からは、ピレスロイド抵抗性要因としてイエバエとチャバネゴキブリで認められている低感受性ナトリウムチャンネル変異 *kdr* (L999F, イエバエの座位で表すと L1014F) を同定し、同様に生残したアカイエカ幼虫からは同座位に生じた異なるアミノ酸置換 L999S を同定した (図 3)。L999S 置換が *kdr* 遺伝子に含

まれる置換と同様に、作用点の感受性低下に寄与している可能性を検討した。先ほど述べたエトフェンプロックスによる選抜前のアカイエカ林試の森コロニーには、L999/S999のヘテロ接合体の存在が確認されていた(図4)。S999遺伝子頻度は選抜前(G0)には18%であったものが選抜とともに増大し、選抜7世代後(G7)には99%にまで達した。選抜を続ける中で、G1からG4にかけてはS999遺伝子頻度の上昇が停滞したが、これに符合して抵抗性に関する選抜効果も小さかったことが示されている(表4, 図2)。その理由は不明である。チカイエカにのみ見出されたナトリウムチャンネルのL999S置換も*kdr*と同様に作用点の低感受性に寄与している可能性が十分あるといえる。表5に示すように、抵抗性要因の強度(すなわち抵抗性比)に占めるその他の要因(P450解毒活性増大を除くもの)の強度として、先に述べた林試の森-7世代選抜、新宿04-2世代選抜、福岡、千葉、渋谷、大手町の6つのコロニーでは、11-58の値が得られていた。この範囲の値は、イエバエの*kdr*ホモ接合体において*kdr*変異が抵抗性比に10倍またはそれ以上寄与すると推定されている範囲に対して、非常によく一致する。

ピレスロイド系薬剤間の交差抵抗性：
アカイエカ林試の森-7世代選抜コロニーとチカイエカ福岡コロニーの幼虫は、エトフェンプロックスに関して約2,000倍という強い抵抗性比を示した。蚊幼虫駆除用の製剤には含まれないが成虫駆除用製剤には含まれるピレスロイド系のペルメトリンとフェノトリンに対するこれら二つのコロニーの交差抵抗性を幼虫を使って調べた(表6)。いずれのコロニーにおいてもエトフェンプロックスに関する抵抗性比にやや劣るものの、ペルメトリンとフェノトリ

ンに対して強い抵抗性レベルを示し、交差抵抗性を生じることがわかった。*kdr*変異はピレスロイド系殺虫剤のみならずDDTに対しても作用点の感受性低下をもたらすことが知られている。これら3種の薬剤の構造にはフェノキシベンジルアルコール基が含まれている。アカイエカ種群蚊の1つであるネッタイエカの体内では、P450の働きによりペルメトリンのフェノキシベンジル基の6位と4位の炭素が水酸化を受け代謝されることがペルメトリンの解毒機構として明らかにされている(Kasai et al., 1998)。よって、解毒酵素の活性増大もこれらのピレスロイド系薬剤間の交差抵抗性の要因となっている可能性が大いにある。

3. アカイエカ種群蚊の亜種判別

Smith and Fonseca (2004)は、主として北米大陸産のアカイエカ種群蚊と一部日本産のアカイエカをもちいて、トビイロイエカ、ネッタイエカ、アカイエカの分子分類を試みた。アセチルコリンエステラーゼ(*Ace*)遺伝子のエクソン2から3の領域にかけて同定された亜種特異的な配列多型をプライマー部位として利用し、対立遺伝子特異的PCRを行い、亜種特異的PCR産物の有無により亜種を同定したものであった(図5A)。そこでは、チカイエカはトビイロイエカ亜種の中の無吸血産卵性を示すコロニーとして解釈されており、分子判別の対象として扱われていなかった。われわれは原法を適用して、コロニー化して間もない日本産のいくつかのアカイエカとチカイエカのコロニー、およびネッタイエカ系統を対象として分子判別を試みたが、3つの亜種を明瞭に識別することはできなかった(資料省略)。*Ace*遺伝子のイントロン2とその両端に位置するエクソンの部分配列を含む875-880塩基長の配列に関して、日本産のアカイエカとチカイエ

カがもっていた配列をクローニングし決定したところ、アカイエカとチカイエカにはそれぞれの亜種に固有の配列上の変異があることを確認した(図7)。データベースで公表されている米国産トビロイエカの該当する領域は日本産のチカイエカに非常に類似することも確かめた。そこで、われわれは亜種特異的プライマーの特異性をより高めることで Smith and Fonseca の原法に改良を加え、日本産アカイエカとチカイエカを分子分類することにした。われわれの考案した亜種特異的プライマー部位および共通プライマー部位の配置を図5Bに示す。アカイエカとチカイエカにそれぞれ特異的なプライマー、ACEpall2 と ACEpip2, ならびにそのプライミング部位近傍の *Ace* 遺伝子配列の解析例を図8に示す。分子判別に用いた雌蚊の採集地と無吸血産卵性の有無を表7に示す。アカイエカと予め想定した非無吸血産卵蚊は18地点から計80頭を選び試験し、チカイエカと想定した無吸血産卵蚊は20地点から計84頭を選び試験した。対立遺伝子特異的PCR法による分子判別結果の例を図9に示す。ACEpall2を用いてはアカイエカのみに、ACEpip2を用いてはチカイエカのみに試験した全個体に関して増幅産物が得られ、2つのネッタイエカ系統の蚊を用いてはいずれのプライマーセットを用いても増幅産物が確認できなかった。本研究で改良した対立遺伝子特異的PCR法によって、日本産のチカイエカとアカイエカを無吸血産卵性の有無で分類する場合と同等な判別が行える可能性が非常に大きい。

D. 考察

試験したチャバネゴキブリのコロニーからは、予想を上回る頻度でピレスロイド低感受性突然変異遺伝子 *kdr* が検出された。

ゴキブリ駆除用途の家庭用エアゾール剤の有効成分にはピレスロイド系殺虫剤が使われているが、こうした製剤の有効性についての消費者からの苦情については今までに例を知らない。国内での研究例によると、チャバネゴキブリのペルメトリン抵抗性のレベルは、抵抗性比にしていずれも100倍を下回るものであった(Umeda et al., 1988; Mahmood et al., 1993; 高橋(未発表)など)。エアゾール剤の直噴によって感受性ゴキブリは致死量を遙かに超す薬量を一度に曝露されているものと考えられる。一方、ピレスロイド系殺虫剤を利用して、ULV噴霧によりゴキブリを即効的に生息場所から追い出したり、残渣接触処理によりゴキブリを殺したりする防除業務にとっては、効力の低下が深刻なレベルに達している場合があると推察する。

チャバネゴキブリのL993座位のアミノ酸のコドンには、感受性型のLeuとなるTTG, *kdr*型のPheとなるTTCとTTTがある。一方、そのタンパク質配列上の近傍には(遺伝子配列上では、その下流に1kb前後のサイズにばらつきのあるイントロンが介在して)感受性低下に与える効果が不明なF999Sアミノ酸置換が検出されている(イントロン配列についての資料省略)。これらの塩基置換を同時に分子判別する効率のよい手法として、マルチプレックスPCR法とDyeTerminatorサイクルシーケンシング法を応用したSnapShot法が適すると考えられる。

チカイエカとアカイエカの多数のコロニーから高いレベルのエトフェンプロックス抵抗性を示す個体の存在が確かめられた。日本産のアカイエカ種群蚊の野外集団に対して、殺虫剤の効力の持続が現在もつとも憂慮されるのはピレスロイド系殺虫剤といえる。成虫蚊防除の目的で家庭で使われている蚊取り線香、電気蚊取り、蚊取り

マット、殺虫スプレー、または疾病媒介蚊防除の目的で緊急時に空中に散布される可能性がある ULV の有効殺虫成分としてピレスロイド系化合物が幅広く利用されている。本研究でエトフェンプロックスに強い抵抗性を示すチカイエカおよびアカイエカ幼虫がペルメトリン、フェノトリンにも同レベルの交差抵抗性を示すことが確認された。このような蚊コロニーについては、成虫のピレスロイド系殺虫剤に対する感受性および忌避性についてもさらに試験をする必要がある。

本研究により、日本産アカイエカとチカイエカの分子判別が可能になった。この成果を裏返すと、少なくともわが国においては両亜種間に交雑が事実上進んでないことを示す。エトフェンプロックス抵抗性のチカイエカからのみナトリウムチャンネルの L999F の *kdr* 変異が見出され、またアカイエカからのみ L999S の *kdr* 様変異が見出されていることもまた同様に、同じ仮説を支持する。目的の項ですでに述べたように、この分子判別法を用いて、両亜種における発生源、吸血源や吸血嗜好性、行動範囲、殺虫剤抵抗性遺伝子の特徴もしくは差異を簡便かつ詳細に調査することが可能になると期待できる。上に述べた Snapshot 法などによって、亜種、吸血源、殺虫剤抵抗性をもたらす点突然変異などを一つの反応液の中で同時に試験できる方法が比較的簡単に確立できるものと予想する。

E. 結論

1. 日本産チャバネゴキブリのコロニーには、ピレスロイド低感受性のナトリウムチャンネル遺伝子がすでに蔓延している。
2. 試験した蚊幼虫駆除用殺虫剤の中でアカイエカ種群蚊の抵抗性がもっとも顕著なのはエトフェンプロックスである。

3. アカイエカ種群蚊幼虫のエトフェンプロックス抵抗性の主要因は、シトクロム P450 解毒活性の増大とピレスロイド作用点の低感受性である。

4. アカイエカ種群蚊のピレスロイド低感受性はナトリウムチャンネルの L999S の *kdr* 様変異によっても生じる可能性がある。

5. 日本産アカイエカとチカイエカのそれぞれには明瞭に識別可能な亜種特異的な配列変異がある。これを利用した分子判別法は十分実用的であることを例証した。

F. 健康危険情報

(無し)

G. 研究発表

1. 論文発表

Toda S, Komazaki S, Tomita T, Kono Y. Two amino acid substitutions in acetylcholinesterase associated with pirimicarb and organophosphorous insecticide resistance in the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). *Insect Molecular Biology*, 13: 549-553 (2004).

葛西真治. ピレスロイド抵抗性要因としてのシトクロム P450 に関する研究. 日本農薬学会誌, 29: 234-239 (2004).

Kasai S. Role of Cytochrome P450 in mechanism of pyrethroid resistance. *Japanese Journal of Pesticide Science*, 29: 220-221 (2004).

2. 学会発表

富田隆史, 正野俊夫, 津田良夫, 小林睦生, 葛西真治. 首都圏を中心としたウエストナイル熱媒介蚊の殺虫剤感受性試験: ピレスロイド剤抵抗性アカイエカ群の確認. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 2004 年 4 月 7 日.

葛西真治, 李時雨, 正野俊夫, 津田良夫,

小林陸生, 富田隆史. ピレスロイド剤抵抗性アカイエカ群の抵抗性機構について: 日本産アカイエカからの *kdr* 遺伝子の初確認. 第 56 回日本衛生動物学会大会, 2004 年 4 月 7 日.

Kasai S, Shono T, Komagata O, Tomita T. Role of P450s in pyrethroid resistance of *Culex pipiens* complex. 7th International Symposium on Cytochrome P450 Biodiversity and Biotechnology. August 1, 2004.

Kasai S, Tomita T. Male specific expression of a cytochrome P450 (Cyp312a1) in *Drosophila melanogaster*. 7th International Symposium on Cytochrome P450 Biodiversity and Biotechnology. August 1, 2004

富田隆史, 葛西真治, 駒形修, 谷川 力. チャバネゴキブリ野外コロニーにおける *kdr* 遺伝子の分布. 第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2004 年 10 月 25 日. 葛西真治, 駒形修, 正野俊夫, 富田隆史, 沢辺京子, 比嘉由紀子, 津田良夫, 元木貢, 高橋朋也, 谷川力, 吉田政弘, 小林陸生. 日本産アカイエカとチカイエカの分子生物学的判別法. 第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2004 年 10 月 25 日.

駒形修, 葛西真治, 富田隆史. 殺虫剤抵抗性アカイエカ種群におけるシトクロム P450 遺伝子解析. 第 56 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2004 年 10 月 25 日.

駒形修, 葛西真治, 富田隆史. ピレスロイド抵抗性ネッタイエカのシトクロム P450 遺伝子群の解析. 第 49 回日本応用動物昆虫学会大会, 2005 年 3 月 26 日.

葛西真治, 駒形修, 正野俊夫, 富田隆史, 澤邊京子, 比嘉由紀子, 津田良夫, 小林陸生.

アセチルコリンエステラーゼ遺伝子によるウエストナイル脳炎媒介蚊の分子分類. 第 49 回日本応用動物昆虫学会大会, 2005 年 3 月 25 日.

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得
(無し)
2. 実用新案登録
(無し)
3. その他
(無し)

表 1. チャバネゴキブリのナトリウムチャンネル遺伝子頻度

採集地	*	*	**	*	*	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	
	千葉市 中央区 A	千葉市 中央区 B	千葉市 中央区 C	千葉市 中央区 C	東京都 新宿区 A	東京都 新宿区 A	東京都 新宿区 B	東京都 新宿区 B	東京都 新宿区 C	東京都 新宿区 C	東京都 新宿区 D	東京都 渋谷区	東京都 渋谷区	東京都 渋谷区	東京都 渋谷区	東京都 渋谷区	東京都 渋谷区	東京都 渋谷区	東京都 渋谷区	東京都 渋谷区
テストした個体数 (N)	6	6	6	6	34	6	6	6	2	15	11	24	12	8	16	10	5			
推定したハプロタイプとその数																				
a L993 (TTC) - F999 (TTC)	2	0	7	7	7	9	3	7	10	27	19	0	8	7	0					
b L993 (...) - S999 (.C.)	1	0	3	10	1	1	0	8	0	0	0	0	0	0	0					
c F993 (.T) - F999 (...)	0	0	0	14	0	0	0	4	0	8	3	0	1	0	4					
d F993 (.C) - F999 (...)	9	12	2	37	2	2	1	11	12	13	2	16	23	13	4					
n (=2N)	12	12	12	68	12	12	4	30	22	48	24	16	32	20	10					
遺伝子頻度																				
a/n Wild (L993 - F999)	17%	0%	58%	10%	75%	75%	-	23%	45%	56%	79%	0%	25%	35%	0%					
b/n F999S	8%	0%	25%	15%	8%	8%	-	27%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	20%					
(c+d)/n L993F (kdr)	75%	100%	17%	75%	17%	17%	-	50%	55%	44%	21%	100%	75%	65%	80%					
kdr/kdr ホモ接合体の期待頻度	56%	100%	3%	56%	3%	3%	-	25%	30%	19%	4%	100%	56%	42%	64%					

* 粘着トラップより直接採取; ** 室内コロニー(G1)より採取

表 2. 殺虫剤感受性供試コロニーの由来

記号*	名称	採集年	採集地
<i>Culex pipiens molestus</i>			
M01*	市川	2003	千葉県市川市
M02*	渋谷	2003	東京都渋谷区
M03	柏	2003	千葉県柏市
M04	倉橋A	2003.12.2	東京都東久留米市氷川台
M05	倉橋B	2003.12.2	東京都東久留米市氷川台
M06	新宿04	2004.4	東京都新宿区
M07	大門	2004.5.5	東京都東久留米市大門町
M08	鳩ヶ谷	2004.6.24	埼玉県鳩ヶ谷市
M09	中町公園	2004.6	長崎県長崎市中町公園
M10	福岡	2004.7.9	福岡県福岡市
M11	吉祥寺	2004.7.2	東京都武蔵野市吉祥寺
M12	大手町	2004.7.24	東京都千代田区大手町
M13	千葉	2004.7.26	千葉県千葉市
M14	鴨川	2004.7.26	千葉県鴨川市
M15	日環セ	2004.8.18	神奈川県川崎市
M16	堺A	2004.8.23	大阪府堺市旭ヶ丘中町4-4(病院前)
M17	横浜	2004.9.7	神奈川県横浜市
<i>Culex pipiens pallens</i>			
P01*	戸山東	2001.6	東京都新宿区戸山東公園
P02*	林試の森	2003.4	東京都目黒区林試の森公園
P03*	盛岡	2003.7	岩手県盛岡市
P04*	日野市	2003.9.9	東京都日野市市民の森スポーツ公園
P05*	立川市	2003.9.9	東京都立川市立川諏訪の森公園
P06*	稲荷木	2003.9.23	東京都府中市稲荷木公園
P07*	玉川野毛町	2003.9.23	東京都世田谷区玉川野毛町公園
P08*	北府中	2003.9	東京都府中市北府中
P09*	駒沢公園	2003.9.29	東京都世田谷区駒沢公園
P10*	戸越公園	2003.9.29	東京都品川区戸越公園
P11*	狛江市	2003.10.2	東京都狛江市西河原公園
P12*	砧公園	2003.10.2	東京都世田谷区砧公園
P13*	萩中公園	2003.10.7	東京都大田区萩中公園
P14	春日部	2004.4	埼玉県春日部市
P15	麻布大	2004.5.9	神奈川県相模原市
P16	熱研	2004.6.	長崎県長崎大医学部熱研
P17	山王公園	2004.6	長崎県長崎市山王公園
P18	中町公園	2004.6.	長崎県長崎市中町公園
P19	大阪城	2004.7.4	大阪市中央区大阪城内
P20	玉津B	2004.7.4	大阪市東成区玉津1-9
P21	玉津A	2004.7.11	大阪市東成区玉津1-8
P22	小橋	2004.7.11	大阪市東成区小橋
P23	堺A	2004.8.23	大阪府堺市旭ヶ丘中町4-4(病院前)
P24	堺B	2004.8.23	大阪府堺市旭ヶ丘南町4-1(三稜側)
P25	堺C	2004.8.23	大阪府堺市旭ヶ丘南町4-1(公園側)
P26	名古屋	2004.7.	愛知県名古屋市
P27	熊野神社	2004.9	千葉県松尾町熊野神社
P28	三河島公園	2004.9.21	東京都荒川区三河島公園
P29	荒川公園	2004.9.21	東京都荒川区荒川公園
P30	西ヶ原	2004.9.21	東京都北区西ヶ原2丁目
P31	板谷公園	2004.9.22	東京都板橋区板谷公園
P32	平和公園	2004.9.23	東京都板橋区平和公園
P33	向台公園	2004.9.24	東京都西東京市向台第2公園
P34	東部公園	2004.9.24	東京都小平市東部公園
P35	水木公園	2004.9.28	東京都羽村市水木公園
P36	高原公園	2004.9	東京都練馬区谷原1-18-1
P37	林試の森2	2003.4	東京都目黒区林試の森公園
<i>Culex pipiens quinquefasciatus</i>			
Q01	西原	2004.5.29	沖縄県那覇市西原
Q02	那覇	2004.5.29	沖縄県那覇市内

表 3. 複数の薬剤に対する抵抗性個体を分離する蚊コロニーの各種殺虫剤感受性

Mosquito colony		Insecticide Conc.	Survival Rate (%) #				
Code	Name		EP *1	TP *2	FT *3	PX *4	DB *5
<i>Cx. p. molestus</i>							
M06	新宿04	LC99 X10	96	86	0	4	0
		LC99 X100	41	0	0	4	0
			**	*			
M08	鳩ヶ谷	LC99 X10	86	62	0	75	0
		LC99 X100	90	0	0	27	0
			**	*		**	
M12	大手町	LC99 X10	95	100	0	100	18
		LC99 X100	73	67	0	57	0
			**	**		**	*
M13	千葉	LC99 X10	100	18	0	0	0
		LC99 X100	100	0	0	0	0
			**	*			
M10	福岡	LC99 X10	100	0	0	84	0
		LC99 X100	100	0	0	10	0
			**			**	
M17	横浜	LC99 X10	100	10	0	100	95
		LC99 X100	100	0	0	50	47
			**			**	**
<i>Cx. p. pallens</i>							
P30	西ヶ原	LC99 X10	35	0	0	14	5
		LC99 X100	13	0	0	0	0
			**			*	
P28	三河島公園	LC99 X10	59	59	0	0	0
		LC99 X100	27	9	0	0	5
			**	*			
P21	玉津A	LC99 X10	35	5	0	14	0
		LC99 X100	14	0	0	0	0
			**			*	
P15	麻布大	LC99 X10	31	0	0	27	0
		LC99 X100	13	0	0	0	0
			**			*	
P02*	林試の森	LC99 X10	15	0	0	58	0
		LC99 X100	15	0	0	0	0
			**			*	
P11*	狛江市	LC99 X10	45	0	0	15	5
		LC99 X100	41	0	0	0	5
			**			*	
P23	堺A	LC99 X10	70	0	0	0	14
		LC99 X100	0	0	0	0	14
			*			**	

LC99 X100 における生存率が10%以上の場合には ** を、また、その場合に該当しないが LC99 X10 における生存率が10%以上の場合には * を付した。

*1 Etofenprox; *2 Temephos; *3 Fenitrothion; *4 Pyriproxyfen; *5 Diflubenzuron