

れた。また、SCのVal1001座位とAChE2のGly119座位には抵抗性変異型のアミノ酸置換は検出されなかった。

D. 考察

ほぼ全国的にアカイエカとチカイエカは分布するが、両種の隔離の度合いがどの程度進んでいるのかについては未知の部分が多い。室内コロニーを使い実験的に亜種間隔離を調べた例はあるが、野外の集団では実際にどの程度交雑が生じているのか、または、特定の遺伝子に亜種間移行が生じているのか、これまでは観察する手段を欠いていた。東京都新宿区落合の同所で捕獲したチカイエカとアカイエカは、ピレスロイド作用点のSCに抵抗性型として、それぞれ、Phe999変異とSer999変異を特異的に保有していた(表6)。この地における同所的異亜種集団の間にこれらの抵抗性遺伝子の交流が認められるか否か、試験規模を今後さらに大きくしさらに検討してゆく必要がある。

アカイエカ種群蚊の殺虫剤抵抗性機構には、解毒活性の亢進も大きな要因となっていることが明らかにされている。有機リン剤抵抗性にはエステラーゼ遺伝子のDNA増幅による遺伝子コピー数の増大が、ピレスロイド剤抵抗性にはシトクロムP450の活性増大がその例として知られている。今回とったSNaPshot解析による抵抗性遺伝子型決定法は、殺虫剤作用点遺伝子の点突然変異に基づくものであって、遺伝子数の増大や、遺伝子転写活性の増大などの量的変異に対しては、定量PCR法などの原理的に別の分子診断方法をとる必要がある。双翅目昆虫種で約100個あると予想されているアカイエカ種群蚊のP450遺伝子のクローニングと各P450分子種の殺虫剤代謝能の解明については、本分担研究者グループにより着手されたばかりである。

今回行った殺虫剤作用点に限った殺虫剤抵抗性遺伝子の検出によっては、各種酵素の解毒活性の亢進を考慮に入れてないので、抵抗性発達を過小に推定したことにならざるをえない。

アカイエカ種群蚊のピレスロイド剤に対する強い抵抗性(例として感受性系統の示す幼虫LC99の1000倍の濃度で生存する性質)は、ピレスロイド作用点の感受性低下とP450の活性亢進の2つの抵抗性機構が併存して初めて表れるものであることを、昨年度の研究成果として示した(2004年度報告書)。一方、コガタアカイエカの有機リン剤の抵抗性については、ほとんどの有機リン剤に対して約1000倍またはそれ以上の抵抗性比を示す抵抗性蚊が1980年代に全国的に分布していたことが明らかにされている。この抵抗性の要因の大部分を作用点AChE2の遺伝子に生じた1つのアミノ酸置換変異Phe331Trpで説明できることが明らかにされている。個体レベルで表される殺虫剤抵抗性と殺虫剤作用点の抵抗性遺伝子を保有する効果を比較することにより、分子診断で提示できる抵抗性レベルを補完して、バイオアッセイの結果として表される抵抗性レベルと対照を可能にする方策を考慮する必要がある。

おもに地下の水溜まりで発生し、PCO業者の化学的防除活動により影響されやすいと考えられるチカイエカの殺虫剤抵抗性と、おもに地表の水溜まりで発生し、チカイエカに比べてより広域に移動しやすいと考えられるアカイエカとの間に、抵抗性の地理的分布傾向に違いがみられるか興味もたれる。殺虫剤抵抗性の地理的分布やクラインを調べる用途には、個体レベルで表される絶対的な殺虫剤感受性の代わりとして、抵抗性遺伝子頻度で結果を表す分子診断が有効な手段となりうると考えられる。

E. 結論

1. SNaPshot法に基づき、日本産アカイエカ種蚊の3亜種の分子分類と既知の殺虫剤作用点遺伝子の殺虫剤低感受性型構造変異の遺伝子型決定が高い確度で行えた。

2. チカイエカの殺虫剤低感受性型SC変異はPhe999により、アカイエカに頻繁に同定されるもう一方の変異のSer999はチカイエカからは同定されなかった。

3. 海外のアカイエカ種群蚊で見いだされている殺虫剤低感受性型のSC Val1001GlyとAChE2 Gly119Ser置換は国産の蚊からは検出されなかった。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Kono Y, Tomita T (2006) Amino acid substitutions conferring insecticide insensitivity in Ace-paralogous acetylcholinesterase, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85 (in press).

2. 学会発表

葛西真治, 駒形修, 正野俊夫, 富田隆史, 倉橋弘, 沢辺京子, 比嘉由紀子, 津田良夫, 小林睦生, 元木貢, 高橋朋也, 谷川力, 吉田政弘, 橋本知幸, 新庄五朗, Ace遺伝子をマーカーとした日本産*Culex pipiens complex*の簡易判別法, 第57回日本衛生動物学会大会, 2005年 6月 2日.

葛西真治, 駒形修, 正野俊夫, 富田隆史, 津田良夫, 小林睦生, 元木貢, 高橋朋也, 谷川力, 吉田政弘, 橋本知幸, 新庄五朗, 2003年と2004年に行ったアカイエカ種群蚊の殺虫剤感受性調査, 第57回日本衛生動物学会大会, 2005年 6月 2日

比嘉由紀子, 津田良夫, 倉橋弘, 林利彦, 葛西真治, 沢辺京子, 星野啓太, 駒形修, 伊澤晴彦, 佐々木利則, 富田隆史, 二瓶直子, 小林睦生, 関東地方におけるチカイエカとアカイエカの地上での発生状況 (個眼数による判別の試み), 第57回日本衛生動物学会大会, 2005年 6月 2日.

Kasai S, Komagata O, Shono T, Tomita T, Mechanisms of insecticide resistance in West Nile virus-transmitting mosquitoes, 2005 Annual Meeting of Entomological Society of America, 17 December 2005.

葛西真治, 駒形修, 正野俊夫, 富田隆史, ウエストナイル熱媒介蚊のピレスロイド剤抵抗性とマイクロアレイ法を用いた抵抗性機構の解明, 日本農薬学会第31回大会, 2006年 3月 22日.

葛西真治, 駒形修, 正野俊夫, 富田隆史, 殺虫剤抵抗性アカイエカのシトクロムP450(1): 抵抗性アカイエカの出現, 日本応用動物昆虫学会第50回大会, 2006年 3月 29日.

呉承協, 古崎利紀, 富田隆史, 河野義明, 活性中心のアミノ酸置換がAChEの特性に及ぼす影響, 日本応用動物昆虫学会第50回大会, 2006年 3月 29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. Multiplex PCR に使用したプライマー

名称	配列 (5' to 3')	標的遺伝子
F1457	GAGGAGATGTGGAATCCCAA	AChE1
B1246s	TGGAGCCTCCTCTTCACGG	AChE1
F7CqAce2	GACTGTCTGTACATCAACGTGGTC	AChE2
R8CqAce2	GACACGGTACTGCAGCGAAAC	AChE2
F1CqSC	CTTCACCGACTTCATGCAC	SC
R19CqSC	CACGGACGCAATCTGGCTTG	SC

表2. Multiplex PCR反応液の組成

成分	液量 (μ L)	モル数 (pmol)
水	12.15	
dNTP	2.00	
F1457 (10 μ M)	0.80	8
B1246S (10 μ M)	0.80	8
F7CqAce2 (1 μ M)	2.00	2
R8CqAce2 (1 μ M)	2.00	2
F1CqSC (10 μ M)	1.00	10
R19CqSC (10 μ M)	1.00	10
DNA 溶液	0.50	
10X ExTaq buffer	2.50	
ExTaq	0.25	
全量	25.00	

表3. SNaPshot反応に用いたプライマー

名称	配列 (5' to 3') *1	電気泳動 移動度 *2	向き	標的遺伝子 標的座位	検出可能なアミノ酸 (下線で表したのが検出塩基座位)	用途
R202CqAce1	(gact) ₁₂ gCGCCAGTATTTCTGCGTTGTAAA	8	逆	ACHE1 intron 2		PCR増幅確認(3蚊亜種共通)
Acepal12SS	(gact) ₁₀ GTTGAGACGCATGACGCAT	6	正	ACHE1 intron 2		亜種分類(アカイエカ型配列検出)
Acepip2SS2	ct (gact) ₁₀ gaGTGGAAACGCATGATACCAG	7	正	ACHE1 intron 2		亜種分類(チカイエカ型配列検出)
R5CqAce2	CAGTCCCGGAGTAGAAGC	1	逆	ACHE2 Gly119	Gly (GGC), Ser (AGC)	抵抗性検出
F108CqSC	tgactgactGGCCACCGTAGTGATAGGAAATT	2	正	SC Leu999	Leu (TIR), Phe (TIY), Ser (TQN)	抵抗性検出
F109CqSC	(gact) ₆ GGCCACCGTAGTGATAGGAAATT	4	正	SC Leu999	Leu (TTB), Phe (TTY)	抵抗性検出
F110CqSC	act (gact) ₆ GGCCACCGTAGTGATAGGAAATT	5	正	SC Leu999	Ser (TCN)	抵抗性検出
R103CqSC	ct (gact) ₃ gaCAAAAGCAAGGCTAAGAAAAGGTTA	3	逆	SC Val1001	Val (GIT), Gly (GGT)	抵抗性検出

斜体字で表した塩基はプライマーと標的コドンの間で一致する(または相補的な)塩基である。

*1, 小文字で表した配列は標的遺伝子配列に特異性のないテール部分を表す。

*2, 降順。

表4. SNaPshot反応液の組成

成分	液量 (μ l)	モル数 (pmol)
SNaPshot Multiplex Ready Reaction M	5.00	
R202CqAce1 (10 μ M)	0.70	7.0
Acepall2SS (10 μ M)	0.02	0.2
Acepip2SS2 (10 μ M)	0.02	0.2
R5CqAce2 (10 μ M)	0.02	0.2
F108CqSC (10 μ M)	0.20	2.0
F109CqSC (10 μ M)	0.75	7.5
F110CqSC (10 μ M)	0.20	2.0
R103CqSC (10 μ M)	0.05	0.5
水	2.04	
Exo-SAP処理済PCR産物溶液	1.00	
全量	10.00	

表5. 予備試験に用いた室内系統ならびにダイレクトシーケンシング法で決定した標的座位のアミノ酸残基とコドン配列

系統	亜種	有機リン 感受性	ピレスロイド 感受性	AChE1 intron 2	AChE2 Gly119	SC	
						Leu999	Val1001
Shibuya-efp	チカイエカ	感受性	抵抗性	チカイエカ型配列 *1	Gly (GGC)	Phe (TTT)	Val (GTT)
Rinshi-efp	アカイエカ	感受性	抵抗性	アカイエカ型配列 *2	Gly (GGC)	Ser (TCA)	Val (GTT)
Ogasawara	ネッタイエカ	感受性	感受性	非アカ-非チカ型配列	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)
Jpal-per-B *3	ネッタイエカ	感受性	抵抗性	非アカ-非チカ型配列	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Gly (GGT)
人工合成AChE2遺伝子配列断片							
					Ser (AGC)		

*1, GTGGAACGCATGATACCCAG

*2, GTGGAGACGCATGACCGCAT

脚注配列の下線で表した塩基がアカイエカとチカイエカの間で異なる箇所である。
*3, サウジアラビア産。

表6. 室内飼育コロニーを用いた分子診断の結果

無吸血産卵性	室内コロニー採集地	判定結果				個体数
		Ace1 チカイエカ	Ace2 Gly119	SC Leu999 Val1001		
無吸血産卵	鳩ヶ谷市 *1	チカイエカ	Gly (GGC)	Phe (TTT)	Val (GTT)	4
	千葉市中央区	チカイエカ	Gly (GGC)	Phe (TTT)	Val (GTT)	4
	東京都千代田区 *1	チカイエカ	Gly (GGC)	Phe (TTT)	Val (GTT)	8
	東京都文京区	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	4
	東京都新宿区新宿三丁目	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	4
	東京都新宿区落合	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	2
	武蔵野市吉祥寺	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	3
		チカイエカ	Gly/Arg (GGC/CGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	1
	川崎市川崎区	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	4
	静岡市	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	4
	大阪市中央区	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	3
		チカイエカ /アカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	1
	福岡市早良区 *1	チカイエカ	Gly (GGC)	Phe (TTT)	Val (GTT)	4
	長崎市中町公園	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	4
	合計					50
非無吸血産卵	春日部市	アカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	2
	千葉県成東町 *1	アカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	4
	東京都目黒区 *2	アカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	2
		アカイエカ	Gly (GGC)	Leu/Ser (TTA/TCA)	Val (GTT)	3
	名古屋市 *1	アカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	4
	長崎市岩川町	アカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	4
	長崎市坂本	アカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	4
	長崎市中町公園	アカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	4
	合計					27

*1, エトフェンプロックス5.7 ppmで生き残った個体。

*2, エトフェンプロックス5.7 ppm + ピペロニルブトキサイドで生き残った個体。

表7. 野外採集した雌成虫を用いた分子診断の結果

採集地	判定結果				形態分類	個体数
	Ace1	Ace2	SC			
	チカイエカ	Gly119	Leu999	Val1001		
春日部市	アカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	アカイエカ *1	10
東京都新宿区戸山	アカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	アカイエカ *1	11
	アカイエカ	Gly (GGC)	Ser (TCA)	Val (GTT)	アカイエカ *1	1
	アカイエカ	Gly (GGC)	Leu/Phe (TTA/TTT)	Val (GTT)	アカイエカ *1	1
	チカイエカ	Gly (GGC)	Phe (TTT)	Val (GTT)	チカイエカ *1	2
	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	アカイエカ *1	1
	合計					16
東京都新宿区落合	アカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	アカイエカ *1	1
	アカイエカ	Gly (GGC)	Ser (TCA)	Val (GTT)	チカイエカ *1	1
	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Gly (GGC)	チカイエカ *1	16
	チカイエカ	Gly (GGC)	Phe (TTT)	Gly (GGC)	チカイエカ *1	5
	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu/Phe (TTA/TTT)	Gly (GGC)	チカイエカ *1	19
	合計					42
石垣市	ネッタイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	ネッタイエカ *2	9
	ネッタイエカ	Gly (GGC)	Leu/Ser (TTA/TCA)	Val (GTT)	ネッタイエカ *2	1
	チカイエカ	Gly (GGC)	Leu (TTA)	Val (GTT)	ネッタイエカ *2	1
	合計					11

*1, 個眼数による分類結果。

*2, 翅脈による分類結果。

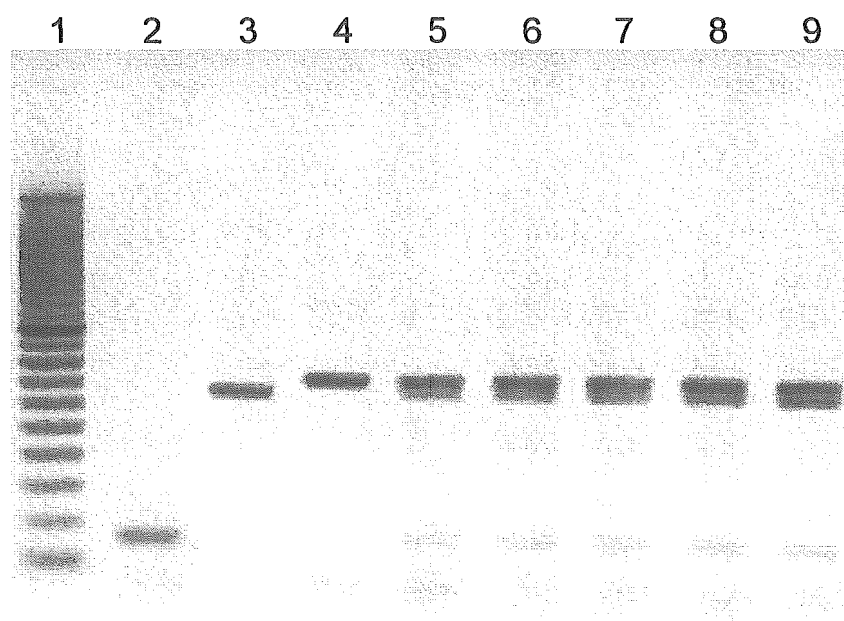


図1. Multiple PCR産物の電気泳動像

Shibuya-efp系統の1個体よりExtract-N抽出液の中でDNAを抽出し、それをを鋳型に用いてPCRを行った結果。

レーン1, 100bp PCR Molecular Ruler。

レーン2, AChE2遺伝子用プライマーセットのみを用いたPCR産物。

レーン3, SC遺伝子遺伝子用プライマーセットのみを用いたPCR産物。

レーン4, AChE1遺伝子用プライマーセットのみを用いたPCR産物。

レーン5-9, Multiplex PCR産物。

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

薬剤の暴露温度の違いによる効力差－2

主任研究者：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 建築物の厨房等で長時間高温に晒されている場所で薬剤を処理した時の効力の変動をみるため、昨年に引き続きチャバネゴキブリ雄成虫とイエバエ雌成虫を用いた残渣接触試験を15～35℃の温度範囲5段階で行った。その結果、Diazinonの残渣接触効果は、2種の昆虫に高温時>低温時の関係を明確に示すこと、ペルメトリンはゴキブリ対象では上記と逆に低温時>高温時の関係が得られた。効力比では、30℃を1として20℃は1.56、15℃は2.15を示した。しかし、イエバエ対象ではその現象は速効性の面では顕著に見られない事を昨年報告した。

その後の追加試験で、イエバエ対象、Permethrin使用の場合でも残渣接触後の致死効力はゴキブリの速効性と同様低温時の方が高温時より効力が高く出ることが確認された。なおPermethrinの残効性が極めて優れていることが明らかになったので高温に晒される場所に使用する薬剤に適していると思われた。

A. 研究目的

殺虫剤の効力は薬剤の種類によって、高温時に反応が早くなる場合と反対に遅くなる例が知られている。大串(1964)はDiazinonの残渣面を用いた時、そのKT50値は高温時>低温時で大幅に異なる事を報告している。またDDTは低温時に適用した方が高い効力を示すことが、使用当時には認識されていた。

建築物の内部には30℃以上の高温に長時間晒されている場所も少なくない。こういった場所に薬剤を適用した時、効力は常温時と比較してどのように変動するか。今回有機燐剤からダイアジノンを選び、ピレスロイドからペルメトリンを選んで、チャバネゴキブリ成虫とイエバエ成虫を用いた常温～高温5段階（15-35℃）に残渣面を保存し、その温度下で残渣接触試験を行い、2薬剤の速効性と残効性の差異を検討した。

B. 研究方法

1. 供試昆虫：

チャバネゴキブリ *Blattella germanica*

渡田コロニー雄成虫

イエバエ *Musca domestica*

伝研コロニー雌成虫

当センター昆虫飼育室で長年累代飼育してい

る昆虫集団

2. 供試薬剤：Diazinon5%・0.5%アセトン調製液
Permethrin 5%・0.5%アセトン調製液

3. 試験方法：残渣接触試験

チャバネゴキブリ雄成虫は、内壁にバターを塗った腰高シャーレに10匹宛用意し、イエバエ雌成虫は普通シャーレに12匹宛とり、ガラス板に置いた清潔な円形濾紙上に先のシャーレを伏せた状態で準備しておく。

別のガラス板上に直径11cmの円形濾紙を必要枚数並べ、上記調製薬剤を0.5mL宛均一に滴下処理する。この薬量は、5%液を使用すると、有効成分量として2,630mg/m²、0.5%液は263mg/m²に相当する。

薬剤滴下後1時間以上経過してから、この濾紙を、イエバエには供試虫を用意したシャーレの底面に差し込み、供試虫を残渣面に接触させる。ゴキブリの場合は薬剤処理した濾紙を10cm角のベニヤ板上に置き、これを濾紙を下にして供試虫を用意した腰高シャーレ上に置き、シャーレを反転させて供試虫を薬剤に暴露させる。この時からの時間経過に伴う供試虫のノックダウンの状況を、15℃、20℃、25℃、30℃および35℃の温度下（Multi Thermo Incubator内）で観察した。さらにMTIに保存した残渣面の残効性も

併せて検討した。

C. 試験結果：

チャバネゴキブリ雄成虫を用いた各温度下における残渣接触試験結果を表1と2に示した。

ダイアジノンでは高温時に効力が高く、ペルメトリンは逆に低温時の方が効力発現が優れている傾向が認められる。

またペルメトリンは1年以上経過した残渣面に優れた残効性が認められている。

イエバエ雌成虫を用いた経時的な残渣接触試験結果を表3から表8に示した。

ダイアジノン対象ではチャバネゴキブリと同様高温時の効力が高い明確な傾向を示している。しかしペルメトリンは温度差による速効性には顕著な差がないものの、滴下70日後まで6回の試験を通じて、効力の大きな落ち込みがないことが注目される。さらにチャバネゴキブリの試験結果をまとめたのが表9と表10に示した。イエバエの結果は表11から表14にまとめた。

D. 考 察：

建築物内の高温に晒される場所に処理された薬剤の消長は、常温の場所のそれとどのような違いがあるものか、を検討するのを目的に以下の試験を実施した。

まず、供試薬剤は有機燐剤からダイアジノンを選び、ピレスロイドからペルメトリンを選定した。次に昆虫が活動出来る温度範囲として、15~35℃を想定し、低温、高温以外に20℃、25℃、30℃を加えた5段階の試験温度を設定した。試験法は供試薬剤を考慮して、短時間で結果が得られる継続接触試験を選定した。残渣面は濾紙を用いた。

チャバネゴキブリ雄成虫を供試した試験を行ったところ、表9に示した様に、Diazinonは15℃~30℃の温度範囲でテストすると、KT-50値は高温であるほど効力が上昇した。因みに効力比で示すと、15℃の効力を1とした時、30℃では、効力は1.64に増大した。

他方PermethrinはDiazinonとは逆に低温>高温の効力傾向を示した。30℃の効力を1とすると、15℃の効力は2.15となった。

この残渣面を各温度条件に保存し、(MTIの故障で約75日間室温保存)381日後のPermethrinの残効性を示したのが表10. である。

処理直後の高温と低温の効力差2.15がここでは4.52に拡大した。15℃でのKT50値は2.65倍を要したが、30℃では5.56倍を要した。この逆数が1年余り経過後のPermethrinの残存率と考えられる。温度差による成分の分解は15/30℃で約2.1倍高温で分解が早いと思われた。それにしても1年以上経過しても15℃で約1/3、30℃で約1/6が残存しているPermethrinの残留性には驚ろかされた。高温場所に処理する薬剤として適切であると思われる。

イエバエ雌成虫を用いた試験では、表11に示した様にDiazinonではゴキブリの結果と同じく、温度が上昇するのに従って高い効力を示した。15℃の効力1は35℃で1.92になった。

この結果は大串(1964)が示した結果とよく一致した。

イエバエ対象のPermethrinの効力は15℃~35℃の5段階の温度下で試験を行っても顕著な差はみられず、いずれの温度下でも差のない効力を示した。効力比はKT-50値で0.97~1.05、KT-90値で0.86~1.05の範囲内に納まった。なお高温時(35℃)では初期効果が早まり、終期効果は逆に遅延する傾向がみられた。(表11)

薬剤処理した新しい濾紙による6日後の残効性は、イエバエ対象の場合Diazinonでは効力が大幅に低減した。過去の実験ではある程度の残効性が認められているので、薬剤滴下濾紙の保存に用いたMTIの強い送風が影響したのかもしれない。Diazinonは再度検討したい。

しかしPermethrinは同じMTIで保存したが、滴下6日後・16日後・31日後・42日後さらに70日後に至る5回のテストを通じて滴下直後と差のない優れた残効性を示した。温度間の差は20℃~35℃の間では顕著な差は認めなかったが、15℃ならびに1部の20℃区では若干効力が低くなる傾向がみられた。特に15℃では低温による活動阻害、代謝阻害が起きたものと推測された。なお42日後と70日後の試験のみは48時間後の致死率を観察したところ、両試験の平均で35℃区では37.5%、30℃は38.9%、25℃と20℃ではそれぞれ54.2%と52.8%で、温度が低い方が致死率が高くなる傾向を示した。

E. 結 論、有機燐剤を代表するダイアジノンではチャバネゴキブリとイエバエ成虫に高温>低温、の効力傾向が示された。15℃と35℃

ではおよそ2倍の効力差が出るものと思われた。一方Permethrinのチャバネゴキブリでは、明確に低温>高温の差が得られ、この間2倍以上の差が示された。しかしイエバエ成虫対象の残渣接触の速効性では顕著な温度差は得られなかった。しかし残渣面から放した48時間後の致死率では低温>高温の効力傾向を示した。なおPermethrinの残効性はここで行った最終日の滴下70日後まで滴下当日と差のない効力を示したのは特記すべきである。またチャバネゴキブリの381日後の試験で15℃で約1/3、30℃で約1/6の残効性が認められた。

この結果から、Permethrinは速効性の面では劣

るものの、残効性が期待出来る事から、高温の室内に処理する薬剤として、至適である事が判明した。

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。

表1 チャバネゴキブリ雄成虫一滴下当日ー

供試 薬剤	試験 温度	経過時間 (分)					
		10	15	20	25	30	40
Diaz.	15℃		6.7	23.3	63.3	96.7	100
	20		6.7	30.0	73.3	93.3	100
	25	3.3	26.7	63.3	100		
	30	13.3	60.0	93.3	100		

供試 薬剤	試験 温度	経過時間 (分)					
		20	40	60	90	120	180
Perm.	15	13.3	46.7	60.0	83.3	96.7	100
	20	6.7	36.7	40.0	76.7	93.3	93.3
	25	3.3	13.3	33.3	56.7	70.0	93.3
	30		10.0	23.3	53.3	63.3	86.7

注) 表中の数字はノックダウン率を示す
薬量 2,630mg/m² 供試虫数 10匹 3区

表2. チャバネゴキブリー滴下381日ー

供試 薬剤	試験 温度	経過時間 (分)						
		60	120	180	240	300	420	1400
Perm.	15	20.0	53.3	80.0	86.7	93.3	100	100
	20	6.7	30.0	50.0	60.0	73.3	86.7	100
	25		10.0	23.3	30.0	36.7	50.0	90.0
	30		10.0	16.7	16.7	20.0	30.0	90.0

表3. イエバエ雌成虫一滴下当日

供試 薬剤	試験 温度	経過時間 (分)					
		12.5	15	20	25	30	40
Diaz.	15		2.8	16.7	41.7	78.9	97.2
	20		8.3	38.9	63.9	86.1	100
	25	5.6	16.7	77.8	94.4	100	
	30	16.7	50.0	94.4	100		
	35	36.1	80.6	100			
Perm.	15		13.9	61.1	91.7	100	
	20		2.8	52.8	86.1	100	
	25		5.6	44.4	88.9	100	
	30		5.6	41.7	91.7	100	
	35		19.4	50.0	80.6	94.4	100

薬量 263mg/m² 供試虫数 12匹 3区

表4 イエバエ一滴下6日後一

供試 薬剤	試験 温度	経過時間 (分)					
		12.5	15	20	25	300	1440
Diaz.	15					0	58.3
	20					0	41.7
	25					0	22.2
	30					0	100
Perm.	15		11.1	69.4	97.2		
	20	5.6	52.8	97.2	100		
	25	11.1	55.6	94.4	100		
	30	5.6	44.4	88.9	100		

表5. イエバエ一滴下16日後一

供試 薬剤	試験 温度	経過時間 (分)					
		12.5	15	20	25	30	40
Perm.	15	2.8	16.7	75.0	88.9	94.1	100
	20	2.8	25.0	86.1	100		
	25	2.8	22.0	80.6	94.4	100	
	30*	4.2	52.8	91.7	97.2	100	
	35	8.3	50.0	88.9	94.4	97.2	100

* 12匹 6区

表6. イエバエ一滴下31日後

供試 薬剤	試験 温度	経過時間 (分)				
		12.5	15	20	25	30
Perm.	30	11.1	38.9	97.2	100	
	35	13.9	44.4	86.1	97.2	100

表7. イエバエー滴下42日後

供試 薬剤	試験 温度	経過時間 (分)				致死率 48hr
		15	20	25	30	
Perm.	20		11.1	61.1	97.2	50.0
	25	11.1	38.9	94.4	100	61.1
	30	11.1	58.3	94.4	100	41.7
	35	16.7	66.7	94.4	97.2	36.1

注) 供試虫の接触は40分で打ち切り、ノックダウン虫全てを清潔な容器に移しシロップ綿を与えて、25℃の温度下に保存した。

表8. イエバエー滴下70日後

供試 薬剤	試験 温度	経過時間 (分)				致死率 48hr
		15	20	25	30	
Perm.	20		5.6	61.1	94.4	55.6
	25	2.8	13.9	75.0	94.4	52.8
	30	8.3	25.0	86.1	100	36.1
	35		8.3	75.0	97.2	38.9

注) 同上

6. 試験結果まとめ:

表9. 異なる温度条件における濾紙残渣面の速効性 —チャバネゴキブリ雄成虫—

薬剤	温度 ℃	滴下当日		
		KT50	効力比	KT90
Diaz.	15	22.5	1.00	30.1
	20	21.8	1.05	29.2
	25	18.1	1.24	27.0
	30	13.7	1.64	19.4
Perm.	15	43.4	2.15	131
	20	59.8	1.56	145
	25	79.1	1.18	192
	30	93.5	1.00	195

注) 薬量 2,630mg/m² KT50. 90値の単位は分効力比: KT50値の低温時又は高温時の効力を1とした時の相対効力比

表10. チャバネゴキブリ雄成虫—その2

薬剤	温度 ℃	滴下381日後		
		KT50	効力比	KT90
Perm.	15	115	4.52	280
	20	190	2.74	480
	25	410	1.24	1400
	30	520	1.00	1800

表11. 異なる温度条件における濾紙残渣面の速効性 イエバエ雌成虫

薬剤	温度 ℃	滴下当日			6日後		
		KT50	効力比	KT90	KT50	効力比	KT90
Diaz.	15	25.3	1.00	34.8	300<	—	1440<
	20	22.1	1.14	32.1	300<	—	1440<
	25	17.7	1.43	22.9	300<	—	1440<
	30	14.8	1.71	19.5	300<	—	1440>
	35	13.2	1.92	17.7	—	—	—
Perm.	15	18.8	1.05	24.5	18.4	0.86	22.7
	20	20.2	0.98	25.4	15.1	1.05	17.9
	25	20.3	0.97	25.6	15.0	1.05	18.6
	30	20.2	0.98	25.2	15.8	1.00	19.8
	35	19.7	1.00	28.0	—	—	—

注) 薬量 263mg/m² KT50, 90値の単位は分 効力比: KT50値の低温時又は高温時の効力を1とした時の相対効力比

表12. イエバエ雌成虫 その2

薬剤	温度 ℃	16日後			31日後	
		KT50	効力比	KT90	KT50	KT90
Perm.	15	17.7	0.90	26.0	—	—
	20	17.0	0.94	20.4	—	—
	25	17.7	0.90	22.0	—	—
	30	16.0	1.00	20.0	15.5	19.3
	35	16.0	1.00	21.0	15.7	21.0

注) —は試験の実施なし

表13. イエバエ雌成虫 その3

薬剤	温度 ℃	42日後			致死率 48hr
		KT50	効力比	KT90	
Perm.	20	23.4	0.79	28.3	50.0
	25	20.0	0.93	25.5	61.1
	30	19.0	0.97	23.5	41.7
	35	18.5	1.00	24.0	36.1

注) 供試虫の接触は40分で打ち切り、その後は清潔な容器に移して25℃の温度下に保存

表14. イエバエ雌成虫 その4

薬剤	温度 ℃	70日後			致死率 48hr
		KT50	効力比	KT90	
Perm.	20	24.5	0.98	29.5	55.6
	25	23.0	1.04	28.5	47.2
	30	21.5	1.12	27.5	36.1
	35	24.0	1.00	28.0	38.9

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*の室内飼育コロニー幼虫に対する
主要薬剤を用いた基礎効力試験－浸漬試験－

主任研究者：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。しかし室内飼育が出来ない事、虫体が細かい事、試験法が確率していないこと等の理由から、幼虫・成虫いずれに対しても殺虫剤の効力は明らかになっていない。ところが平成16年度の本研究補助金による研究で人工汚水または0.2%粉末水溶液と砂を混入した培地で継続的な飼育が可能となった。今回飼育幼虫を用いた主要薬剤の基礎効力試験を実施したところ、オオチョウバエ幼虫と同様供試薬剤に極めて感受性が低い事が確認された。

A. 研究目的

ホシチョウバエは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重要な害虫である。しかし殺虫剤の効力に関する報告は皆無である。今回砂培地法で飼育した本種老齢幼虫を用いた主要薬剤の薬剤感受性を浸漬試験で検討した。

B. 研究方法

1. 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で、以降当部飼育室で砂培地法で飼育している老齢幼虫を供試した。

2. 供試薬剤：Etofenprox 7%水性乳剤
Diazinon 5%乳剤 Fenitrothion 10%乳剤
Bti 5%粉末製剤 Pyriproxyfen 0.5%粒剤

3. 試験方法

浸漬試験法で行った。下記に組成を示す人工汚水で希釈した各製剤所定濃度希釈液5mLを腰高シャーレに採る。この中に供試虫を先の柔らかいピンセットを用いて15-20匹宛入れて、さらに固形飼料片10mg程度を加え、ゴース布と大バンドで蓋をした。

試験容器は25℃の室温下、90%以上の相対湿度下に若干傾斜をつけて保存、4～7日後に羽化阻止率を観察した。浸漬試験と言うと蚊の場合は150とか200mLの希釈液を使用するが、量を多くすると溺死する恐れがあるので、平成15年度

に報告したオオチョウバエ幼虫の試験では試行錯誤の上15mLで実施した。ホシチョウバエ幼虫に対しても初め15mLで行ったが、最終的に薬液は5mL、保存は25℃、90%以上の相対湿度下に置くのが最も適切な方法であると判断されたので上記に示した方法を採用した。

また幼虫も小さく、その幼虫の割に成虫はさらに細かいので、生死の判定は羽化が始まったから毎日羽化虫を取り除く方法で行った。

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 NaCl 0.015 Na₂HPO₄・12H₂O 0.05 KCl 0.0007 CaCl₂ 0.0007 MgSO₄・7H₂O 0.0005 にH₂Oを加えて100とする。

C. D. 結果および考察

表1はホシチョウバエ終令幼虫に対する5薬剤の浸漬試験の結果である。Diazinon・Fenitrothion・Etofenproxの3薬剤は10ppmの濃度で100%致死が得られなかった。またPyriproxyfenの効力も従来の常識では考えられない高濃度でも効果が十分でなかった。

表1をまとめたのが表2である。供試薬剤の50%又は90%羽化阻止率で示した。前に挙げた3薬剤のIC₅₀値の数値は大きく、蚊幼虫の薬剤処理用量1ppmを大幅に上回っている。同じくPyriproxyfenに対する効力も低く、これも処理用量0.05-0.10を上回った。

5薬剤の中で最も効果が高くかつ蚊幼虫の用量で実用性の期待が持てる薬剤はBtiのみであ

った。表3は得られたIC50値をオオチョウバエ幼虫の効力と比較したものである。ホシチョウバエのDiazinonの効力はオオチョウバエとほぼ同等であったが、Pyriproxyfen・Fenitrothion・Etofenproxの感受性はかなり低かった。

オオチョウバエより感受性が高く示された薬剤は*Bti*のみであった。この結果から、供試5薬剤の総合的な薬剤感受性はオオチョウバエ>ホシチョウバエの傾向が示された。

表4は同じくアカイエカ幼虫と比較したものである。*Bti*のみ約10倍の開きに留まっていたが、他の4薬剤は2~3オーダーの決定的な差が認められた。

すなわち、ホシチョウバエ幼虫の薬剤による防除はオオチョウバエ幼虫と同様容易ではなく薬剤の選定は慎重に行うべきである。

E. 結論

ホシチョウバエは廃水汚泥から発生する重要な害虫でありながら、室内飼育が出来ないため等の理由から、薬剤の効力は不明であった。

一昨年より恒常的な室内飼育が可能となったので、幼虫を用いた浸漬試験法を検討してきた。

その結果、薬剤希釈液 5mL、試験容器を高湿度下に置く浸漬試験法で効力を評価出来る事がわかった。

今回はDiazinon・Fenitrothion・Etofenprox・Pyriproxyfen・*Bti*の5薬剤で試験を行った。

その結果、オオチョウバエ幼虫と同様、供試薬剤に極めて低感受性であることが確認された。その中で*Bti*のみは実用的に使用可能と思われたが他の4薬剤はIC50・90値が蚊幼虫と比較して2~3オーダー異なる事、蚊幼虫対策の用量を大幅に上回っていることから、これらの薬剤を適用しても効力が得られにくい事が予測された。

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。

表1. ホシチョウバエ幼虫の数種薬剤に対する基礎効力試験（浸漬試験）

薬剤名	濃度 ppm	致死数		致死率	
		No1	No2	実験値	補正值
Diazinon	20	20-	20-	100	100
	10	18	19	92.5	90.9
	4	15	17	80.0	75.8
	2	10	10	50.0	39.4
	1	4	6	25.0	9.1
Fenitrothion	20	16	14	75.0	69.7
	10	4	11	37.5	24.2
	4	6	3	22.5	6.1
	2	4	5	22.5	6.1
	1	4	4	20.0	3.0
対 照	0	4	3	17.5	—
Etofenprox	10	15-	14	96.7	96.0
	4	14	13	90.0	88.0
	2	8	10	60.0	52.0
	1	3	4	23.3	7.9
	0.4	3	3	20.0	3.0
Pyriproxyfen	0.4	11	12	76.7	72.0
	0.2	4	8	40.0	28.0
	0.1	2	7	30.0	16.0
	0.04	1	6	23.3	7.9
	0.02	2	—	13.3	0
対 照	0	2	3	16.7	—
<i>Bti</i>	0.1	19	19	95.0	93.1
	0.04	18	18	90.0	86.2
	0.02	12	14	65.0	51.7
	0.01	5	8	32.5	6.9
	0.004	7	5	30.0	3.4
	0.002	4	8	30.0	3.4
対 照	0	5	6	27.5	—

表2. ホシチョウバエ幼虫浸漬試験—まとめ—

薬剤名	致死効力 (ppm—大略値)	
	IC50*	IC90*
Diazinon	2.7	8.2
Fenitrothion	15	45
Etofenprox	2.1	5.3
Pyriproxifen	0.25	0.80
<i>Bti</i>	0.020	0.060

注) *50%、90%羽化阻止率を示す

表3. ホシチヨウバエとオオチヨウバエ各幼虫の薬剤感受性の比較

薬剤名	I C 5 0 値		Ta/Ca
	<i>Tinearia a.</i>	<i>Clogmia a.</i>	
Diazinon	2.7	2.75	0.98
Fenitrothion	15	1.78	8.43
Etofenprox	2.1	0.496	4.23
pyriproxyfen	0.25	0.0185	13.5
<i>Bti</i>	0.020	0.0934	0.21

表4. ホシチヨウバエとアカイエカ各幼虫の薬剤感受性の比較

薬剤名	I C 5 0	L C 5 0	Ta/Cpp
	<i>Tinearia a.</i>	<i>Culex p.p.</i>	
Diazinon	2.7	0.040	67.5
Fenitrothion	15	0.007	2143
Etofenprox	2.1	0.010	210
Pyriproxyfen	0.25	0.00005	5000
<i>Bti</i>	0.020	0.0015-30	6.7-13.3

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

オオチョウバエ雌成虫に対するピレスロイドの基礎効力試験
—噴霧降下試験—

主任研究者：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 オオチョウバエはビル環境の地下汚水槽等で発生する不快害虫である。チョウバエはトイレを連想し、不潔な害虫との認識が強く、食品への混入例も多いのでその対策が要望されている。幼虫対策には、一昨年の本研究で浸漬試験を行い、主要薬剤に極めて効力が低く、蚊幼虫の防除用量では駆除が難しい事が確認されている。今回成虫を対象に、ハエ・蚊用エアゾールの有効成分である2種のピレスロイドの調製油剤とこのエアゾール原液2検体を用いた噴霧降下試験を行い、その効力を検討した。その結果、成虫にはいずれの供試薬剤も速効性でかつ致死効力も高く、幼虫対象とは異り空間噴霧剤の優れた有効性が認められた。

A. 研究目的

オオチョウバエ幼虫の主要薬剤に対する薬剤感受性は、蚊幼虫用の基準用量では効果が得られ難いことをすでに報告した。今回は成虫の薬剤感受性を知るためハエ・蚊用エアゾール原液2種とその有効成分2検体の噴霧降下試験を実施した。その結果得られた速効性と致死効力の数値から供試薬剤の実用性を検討した。

B. 研究方法

1. 供試昆虫：

オオチョウバエ *Clogmia albipunctatus*

川崎コロニー雌成虫

当部昆虫飼育室で人工汚水と粉末又は固形飼料で飼育している羽化後1～4日目の雌成虫を供試した。

2. 供試薬剤

- ① d-T80-Resmethrin 0.2%調製油剤
 - ② d-T80-Phthalthrin 0.2%調製油剤
 - ③ キンチョール原液 有効成分d-T80-Resmethrin・d-T80-Phthalthrin（濃度不明）
 - ④ アースジェット原液 有効成分 d-T80-Resmethrin・d-T80-Phthalthrin（濃度不明）
- なお③ ④はハエ・蚊用エアゾール

以上4薬剤

3. 試験方法 噴霧降下試験

中央に直径5cmの円孔を有するガラス板を、内径20cm、高さ43cmのガラス円筒の上にゴムパッキングを挟んでおき、これを高さ30cmの木製の

台の上に設置する。さらにこの下には供試虫15匹を入れた試験用ポットを取り付ける。最初円筒と試験用ポットの間にあるガラス板を塞いでおき、上部ガラス板の円孔から供試薬剤0.5mLを1.5-2kg/cm²の圧力で噴霧した後10秒間経過してからガラス板を引き抜いて微細な霧を供試虫の入っているポット中に降下させ、その時からの時間経過に伴う供試虫の落下仰転率を記録した。

その結果からKT50又は90値を求めた。また噴霧後15分経過した後、ロックダウンした虫をプラカップに回収し、シロップ綿を添えて25℃の室温下に保存、24時間後の致死率を観察した。

C. 試験結果

表1はオオチョウバエ雌成虫のエアゾール原液2種とその有効成分 d-T80-Resmethrinならびにd-T80-Phthalthrinの噴霧降下試験による経時ロックダウン率と15分暴露、24時間後の致死率を示す。表2は表1をまとめたもので、供試薬剤の速効性をKT50値と90値で示した。

また表3は参考データとして噴霧降下装置を用いた円筒法による蚊取剤のKT50値、90値と24時間後の致死率を示した。

D. 考察

供試4薬剤の噴霧降下試験による速効性は、ハエ・蚊用エアゾール製剤、アースジェットとキンチョール原液のKT50値はいずれも1.9分で、