

【調査報告】

PCR法による川崎市内のアカイエカとチカイエカの生息状況調査

Surveillance of mosquito larvae in Kawasaki city

数間亨*, 葛西真治**

Tohru KAZUMA*, Shinji KASAI**

【要約】2008～2009年度に、川崎市各所で蚊幼虫を採集し、これらのうちのアカイエカ群についてPCRでアカイエカおよびチカイエカに分類した。その結果、アカイエカ群は全数393匹で、そのうちアカイエカの割合は78.6%、チカイエカは2.1%であった。

キーワード：アカイエカ、チカイエカ、川崎市、PCR

1. はじめに

当センターでは分子生物学的な技術の導入を開始しており、2008～2009年には形態学的に分類が困難なアカイエカとチカイエカ幼虫について分子生物学的な同定を行った。2008年には、川崎市8カ所、2009年には10カ所の定点から採集したイエカ属の幼虫についてPCR法によってアカイエカとチカイエカの同定を行い、その割合を調べ、いくつかの知見を得たので報告する。

2. 材料および方法

2.1 蚊幼虫の採集場所と保存

2008年の10、11月、12月および2009年2月には川崎市8カ所から、2009年4、6、8、10、12月および2010年2月には川崎市10カ所から蚊幼虫の採集を行った。採集個体は、100%エタノール液を入れた小瓶にいれ、PCRを行うまで、-20℃に保存した。

・採集場所（2008年度）

- 麻生区；早野聖地公園（雨水桝）
(11月、12月、2月)
- 川崎区；大師公園（雨水桝）
(10月、11月、12月、2月)
- 四谷上町（雨水桝）（10月）
- 桜川公園（雨水桝）
(11月、12月、2月)
- 夢公園（雨水桝）
(11月、12月、2月)
- 大川町（浄化槽）（10月）
- 水江町（浄化槽）（10月、11月）
- 千鳥公園（浄化槽）（10月、11月）

・採集場所（2009年度：4、6、8、10、12、2月）

- 麻生区；早野聖地公園
- 多摩区；稲田公園
- 宮前区；鷺沼住宅地
- 高津区；緑ヶ丘霊園
- 中原区；上平間公園
- 幸区；南河原公園
- 川崎区；富士見公園
- 桜川公園
- 夢公園
- 大師公園

* 全て雨水桝から採集

*（財）日本環境衛生センター東日本支局
環境生物部

Dept. of Environmental Biology, East Branch, JESC

**国立感染症研究所 昆虫医科学部

Dept. of Medical Entomology, NIID

2.2 PCR (遺伝子の増幅)

DNAの抽出やPCRの条件などは、Kasai et al., 2008.¹⁾の方法に準じて行った。幼虫2匹または1匹を1.5mlのエッペンチューブにいれ、REExtract-N-Amp Tissue PCR kit(Sigma社)を用いてDNAを抽出した。2008年度は、採集した蚊幼虫の一部を1匹ずつ、2009年度は、採集した蚊幼虫の全数を目視にて、アカイエカ群および他の蚊に簡易的に分類し、2匹ずつからDNAを抽出した。

抽出したDNAからチカイエカ遺伝子増幅用プライマーセット(ACEpip2/B1246s)とアカイエカ遺伝子増幅用プライマーセット(ACEpal12/B1246s)をそれぞれ使用して、遺伝子を増幅した。

PCRは、95℃を5分間、95℃を30秒(熱変性)、55℃を30秒(アニーリング)および72℃を1分(伸長)のサイクルで行った。この熱変性、アニーリング、伸長の3つの過程を1サイクルとし、これを30サイクル行ったあと、72℃を5分間の条件で行った。

PCR反応終了後、反応液を2%のアガロースゲルで電気泳動し、採集した蚊幼虫についてアカイエカ、チカイエカの判別を行った。

3. 結果および考察

3.1 2008年度

10月に大師公園と四谷上町の雨水樹、大川町、水江町と千鳥公園の浄化槽から採集した蚊幼虫については、雨水樹のものはアカイエカ、浄化槽のものはチカイエカと同定された。

11月は大師公園、夢公園、桜川公園と早野聖地公園の雨水樹、水江町と千鳥公園の浄化槽から蚊幼虫を採集した。浄化槽から採集した幼虫はチカイエカであったが、桜川公園の雨水樹ではチカイエカ、大師公園および夢公園の幼虫はチカイエカとアカイエカが混在していた。早野聖地公園で採集された幼虫は、アカイエカ群以外の種類であった。

12月および翌年2月は大師公園、夢公園、桜川公園と早野聖地公園の雨水樹から蚊幼虫の採集を行

った。12月に採集した蚊幼虫は、夢公園ではアカイエカとチカイエカが混在しており、大師公園ではアカイエカと同定された。桜川公園では蚊幼虫が採集されなかった。2月は、早野聖地公園のみで蚊幼虫が採集されたが、アカイエカ群ではなかった。

3.2 2009年度

川崎市内10カ所の雨水樹から隔月毎に採集した蚊幼虫について、アカイエカとチカイエカの同定を行った結果を表1に表す。アカイエカ群の幼虫は4月から10月にかけて採集され、その他の蚊幼虫は全ての採集月にいずれかの地点で採集された。

表1 各採集地域の蚊幼虫発生状況(2009年度)

区	採集場所	種類	採集月					
			4月	6月	8月	10月	12月	2月
麻生区	①早野聖地公園	アカイエカ	8	0	0	3	0	0
		チカイエカ	0	0	0	0	0	0
		その他	12	10	0	2	20	6
多摩区	②稲田公園	アカイエカ	0	38	2	6	0	0
		チカイエカ	0	2	0	0	0	0
		その他	0	0	0	0	0	0
宮前区	③鷺沼住宅地	アカイエカ	18	38	18	0	0	0
		チカイエカ	0	0	0	0	0	0
		その他	0	0	0	0	0	0
高津区	④緑ヶ丘霊園	アカイエカ	0	0	0	1	0	0
		チカイエカ	0	0	0	3	0	0
		その他	0	0	0	0	0	0
中原区	⑤上平間公園	アカイエカ	0	8	8	16	0	0
		チカイエカ	0	0	2	0	0	0
		その他	0	0	0	0	0	0
幸区	⑥南河原公園	アカイエカ	22	2	0	32	0	0
		チカイエカ	0	0	0	0	0	0
		その他	2	0	0	0	0	0
	⑦富士見公園	アカイエカ	0	2	2	24	0	0
		チカイエカ	0	0	0	2	0	0
		その他	0	0	8	0	2	0
川崎区	⑧桜川公園	アカイエカ	0	0	16	16	0	0
		チカイエカ	0	0	0	0	0	0
		その他	0	0	0	0	0	0
	⑨夢公園	アカイエカ	0	9	16	32	0	0
		チカイエカ	0	1	0	0	0	0
		その他	0	0	8	0	6	0
	⑩大師公園	アカイエカ	22	6	4	14	0	0
		チカイエカ	0	0	0	0	0	0
		その他	0	0	0	18	0	0

表2 採集月の蚊採集数の合計

種類	採集月					
	4月	6月	8月	10月	12月	2月
アカイエカ	70	103	66	144	0	0
チカイエカ	0	3	2	5	0	0
その他	14	10	16	20	28	6

PCR法でチカイエカと同定されたものは、6月に稲田公園で採集した2個体と夢公園の1個体、8月に上平間公園で採集した2個体および10月に緑ヶ丘霊園で採集した3個体と富士見公園の2個体であった。チカイエカが採集された場所で、翌々月の採集月に続けてチカイエカが採集されることはなかった。

採集した蚊幼虫数をまとめたものを表2に示し

た。アカイエカ幼虫は4月に70個体、6月に103個体、8月に66個体、10月に144個体が採集された。チカイエカ幼虫は、6月に3個体、8月に2個体、10月に5個体が採集された。

12月と2月にはアカイエカ群の幼虫は採集されなかったが、2008年度の10月から2月にかけて行った蚊幼虫の調査では、少なくともアカイエカ群は10月から12月まで発生しており、2月には採集されなかったことから、2か月後の4月から再度発生すると推測された。

横浜市内のある住宅地周辺で蚊成虫の調査を行った報告(小曾根・2008)²⁾では、チカイエカの成虫の割合が78.4%であったことから、公園や住宅地の雨水樹等でもチカイエカが優占的に発生していることが考えられる。

今回の調査では、主にビル地下などの閉鎖された空間で生息すると思われたチカイエカが横浜市内と同様に、川崎市内でも屋外の雨水樹で生息していることが分かった。採集されたチカイエカ幼虫の数がアカイエカ幼虫の数に比べると非常に少ないことやチカイエカが採集された場所で、別の月に再度チカイエカが採集されないことなどから、今回調査を行った場所では、チカイエカの発生は少なく、偶発的に雨水樹に採卵したと思われる。

しかし、チカイエカはアカイエカに比べて、地域によっては殺虫剤抵抗性レベルが高いため(Kasai et al., 2007)、地下空間のチカイエカと屋外のチカイエカが自由に交流しているとすれば、屋外のアカイエカ種群=チカイエカの防除が困難になる可能性が考えられる。そのため、今後、調査を行う場合は、調査範囲を広げるとともに、採集蚊幼虫の薬剤感受性試験も行う必要があると思われる。

4. 謝辞

本研究は、当センター研究奨励金制度(H20、21年度)の助成を受けて実施された。また、研究の実施にあたっては同センター環境生物部の佐藤英毅専門調査役にご協力頂いた事を深く感謝いたし

ます。

参考文献

- 1) Kasai et al., (2008) : Jpn. J. Infect. Dis. 61(3), pp184-191
- 2) 小林 睦生, 小曾根恵子 (2008) : 厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業) 分担研究報告書, pp65-75

Summary

Distribution of mosquito larvae in Kawasaki city was investigated. The mosquito larvae were collected from street inlets of parks every two months for a year period started from April 2009 and the collected mosquito larvae, classified into the *Culex pipiens* group were identified to *Cx. pipiens pallens* and *Cx. pipiens molestus* by PCR.

Total of 393 mosquito larvae (*Culex pipiens* group) were collected and 78.6% were found to belong to *Cx. pipiens pallens*, and 2.1%, to *Cx. pipiens molestus*.