一般講演

1 バブア・ニューギニアにおけるマラリア媒介蚊の調査 (5) East Sepik 州における幼虫調査, ○村主節雄、藤本千草、原田正和、(香川大学医学部国際医動物学講座)。Survey on Anopheline Mosquitoes in Papua New Guinea (5) Larval Survey in East Sepik Province, S. Suguri, C. Fujimoto and M. Harada

Papua New Guinea の East Sepik 州の 10ヶ所 (延べ 12ヶ所) において平成 14 年 2 月、平成 15 年 2 月、8 月にマラリアの媒介蚊の幼虫調査を行った。採集は柄杓による掬い取り法を用い、ポリ容器に入れ持ち帰った幼虫は小形のポリカップ中でテトラミンを飼料として育て、得られた成虫により種同定を行った。合計 645 匹の成虫が得られた。その内訳は *Anopheles farauti* が 388 匹、*An. punctulatus* が 187 匹、*An. koliensis* が 70 匹であった。島においては *farauti* が 77% を示め、次いで *punctulatus* が 16% であった。海岸地方では *koliensis* が 45% と次いで *punctulatus* が 33% であった。また、丘陵地帯では *punctulatus* が約 60% と優先種で次いで *farauti* の 35% であった。高速道路および平原地帯でも *punctulatus* が約 64% と優先種で *farauti* がこれに次いで 30% であった。共同研究者: Francis Hombhanje and Andrew Masta (School of Medicine and Health Sciences, UPNG), Ilomo Hwaihwanje (Wewak General Hospital)、塚原高広、大澤彦太 (東京女子医大・国際環境熱帯医学講座)

3 リボソーム ITS2 シークエンスによるユスリカ種同定法の可能性。
○可児真有美¹⁾、粕谷志郎¹⁾、浅利秀威¹⁾、小林貞²⁾、北川禮澄³⁾、近藤繁生⁴⁾ (岐阜大学¹⁾、環境福祉研究所²⁾、淡水生物研究所³⁾、愛知医科大学⁴⁾)。A trial of species-identification of Chironomidae by using sequences of ITS2 regions of ribosomal DNA. Kani, M., Kasuya, S., Asari, H., Kobayashi, S., Kitagawa, N., Kondo, S.

現在、ユスリカの種同定は雄成虫のみが可能であり、幼虫・雌成虫に関しては同定形質に明確な特徴がなく、種同定が困難・未整理な状況にある。そこで、遺伝的手法を用いることによりこれらの種同定の可能性を検討した。

本研究では、成虫の形態的特徴による分析精度を高めるため、従来の雄交尾器と羽を封入標本としていた方法に加え、腹部に関しても封入標本にする方法に改善した。幼虫においては型どおり封入標本を作った。そして、形態的特徴から種同定を行い、その残りの組織から DNA を抽出、PCR で増幅、シークエンスを行った。

「交尾器+腹部」の形態標本は「交尾器のみ」の標本と比較して多くの個体に関して種同定が可能となった。かつ、その残りの少ない組織からも DNA 抽出とシークエンスが可能であった。しかし、微小個体に関しては DNA 採取部位が少なく、本手法では DNA 抽出が困難であった。

本手法を用いた結果、ITS2 の分子系統樹は、ユスリカ亜科の単系統性などに関して形態分類 (α 分類) と一致した。しかし、系統樹の多くの部分は信頼性に乏しかった。従って、今後は他の DNA 情報 (リボソーム RNA, ミトコンドリア DNA など) も参考にする必要があると考えられる。

また、幼虫時は形態的特徴が少なく、タイプとして同定されていた *Paratendipes sp.* PD (幼虫) は ITS2 を用いた結果 *Paratendipes albimanus* (成虫) と塩基配列が一致した。従って、ITS2 を用いた幼虫の種同定は可能である。

2 バブア・ニューギニアにおけるマラリア媒介蚊の調査 (6) ITS2 領域の塩基配列について—East Sepik 州 Dagua—.

○藤本千草¹⁾、村主節雄¹⁾、原田正和¹⁾ (1) 香川大学医学部国際医動物学。Survey on the vector mosquitoes of malaria in Papua New Guinea (6) Species Analysis Using the Nucleotide Sequence at ITS2 region—East Sepik Province Dagua—. Fujimoto, C., Suguri, S. and Harada, M.

2002 年 2 月～2004 年 2 月にかけてバブア・ニューギニアにおいてマラリア媒介蚊 *Anopheles punctulatus* group の採集調査を行った。採集箇所は East Sepik 州の Dagua, Boiken, Wingei, Witupe, Warabung, Wallis, Kairuru, Koboibus, Jawia の 9 箇所である。今回は Dagua で採集され、吻による形態学的分類方法により *An. farauti*, *An. koliensis*, *An. punctulatus* と分類された蚊を対象とし、sibling species 解析のため ITS2 領域の塩基配列を用いて系統解析を行った。吻と翅、腹部を除く体部より DNA を抽出し、ITS2 領域をターゲットとして設計したプライマーを用いて PCR 反応を行い、PCR 反応液を鋳型としてシークエンス反応を行った。その後オートシークエンスで塩基配列を決定し、得られた塩基配列をもとに系統解析を行った。その結果、今回解析した *An. farauti* 19 個体、*An. koliensis* 20 個体についてそれぞれにおいて全て同じ配列であった。*An. punctulatus* は 1 個体のみの塩基配列を得ることができた。これらの配列を 1999 年にオーストラリアの Beebe が報告した *An. punctulatus* group の ITS2 領域の塩基配列と系統解析を行ったところ、*An. farauti* は *An. farauti* 1 と同じ、*An. koliensis*, *An. punctulatus* においては報告されている *An. koliensis*, *An. punctulatus* に最も近く、塩基の違いはそれぞれ約 2.8%、約 1.5% であった。今後、他の 8 箇所についても同様の解析を行う予定である。

4 トラップの設置場所による蚊捕集数の相違。
渡辺 護 (富山衛研) Small distribution of the mosquitoes at private house site of the housing development in rural area. Watanabe, M. (Toyama Institute of Health)

ウエストナイル熱などの蚊媒介性感染症の侵入が懸念される様になり、万一の際の緊急駆除などを考えた場合、的確な防除が必然となり、平時からどんな所にどんな蚊がどれだけいるか? を把握しておく必要が生じて来たと思われる。

富山県では昨年から数軒の民家と 3ヶ所のカラスのねぐら近くで蚊成虫の捕集調査を開始した。今回は、1 軒の民家における蚊の分布状況を把握するために、敷地内 (18×18m) に複数個のトラップを設置して捕集比較を行なった成績を報告する。民家は 20 年前に農村水田地帯に造成された住宅団地 (戸数 103 戸) にあり、両隣は未建設の空き地になっている。トラップはドライアイス添加の CDC 型を用い、2003 年には東側道路に面した桜の下部 (1m) と、敷地南隅の柿の 1m と 3m に吊るし、2004 年はさらに北側の八手の木 (1m) にも吊るした。その結果、2003 年は全体で 6 種 526 個体♀と 23 個体♂が捕集され (コガタアカイエカが 86%)、その 58% が南隅柿の 3m トラップで捕集され、26% が同柿の 1m トラップ、東側の桜トラップは 16% であった。2004 年は全体で 8 種 877 個体♀と 16 個体♂が捕集され、その内訳は東側の桜トラップ 8.5% に対し、南隅柿の 1m トラップでは 75.5% に達した。同柿の 3m トラップは 16%、北側トラップは 5.4% であった。その時の全体の種構成は 86% がコガタアカイエカ、ヒトスジシマカ 7%、アカイエカ 5% であり、その他は 2% であった。両年併せてみると、東側の道路に面した明るいトラップサイトよりも、住宅が背中合わせになっている南隅の暗く感じるトラップサイトの方が、捕獲数および種数が多かった。緊急駆除の際には住民の理解を得ての丁寧・確実な殺虫剤の散布が必要であることが示唆される。