

Genetical Analysis of DDT-Resistance in Some Japanese Strains of *Drosophila melanogaster*. Masahiro OGAKI (Department of Education, Naniwa University, Sakai, Osaka) & Masuhisa TSUKAMOTO (Genetical Laboratory, Faculty of Science, Osaka University). Received July 20, 1953. *Botyu-Kagaku* 18, 100-104, 1953 (With English résumé 103).

20 彦根系ショウジョウバエの DDT 抵抗性とその遺伝子分析 大垣昌弘 (浪速大学教育学部), 塚本増久 (大阪大学理学部生物学教室) 28, 7, 20 受理

I. 緒 言

昆虫の殺虫剤に対する抵抗性の遺伝現象についてはアカマルカイガラムシ、イエバエ、コドリン蛾、ゴキブリ等を材料として Hough⁽⁶⁾, Dickson⁽⁶⁾, Yust et al⁽¹⁰⁾, D'Alessandro et al⁽⁵⁾, Bruce⁽²⁾, Bruce & Decker⁽³⁾, Harrison⁽⁷⁾, Cochran⁽⁴⁾ 等の研究があり、ショウジョウバエでは Bartlett⁽¹¹⁾ の研究が見られるが、いずれもあまりはつきりした結果を得るに至っていない。しかるに著者等⁽⁸⁾ は前報においてショウジョウバエの DDT 抵抗性の遺伝を研究し、福岡系の DDT 抵抗性は主として第Ⅱ染色体の右腕に存在する優性の遺伝子によって支配されるものであることを明かにした。しかしながら福岡系以外の DDT 抵抗性の系統についても遺伝学的に同じ様な現象が見られるかどうかについては触れなかつた。ここでは彦根系について行つた研究について報告する。

この研究を行うに当り終始御指導と御鞭撻を賜つた大阪大学吉川教授、大島助教授、またショウジョウバエの採集にさいし種々の御便宜にあずかつた彦根市衛生課長小林弘氏、殺虫剤を恵与された京都大学化学研究所・長沢純夫氏、さらに実験を進めるに當つて常に種々御手数を煩わした清水節子嬢に厚く感謝の意を表する。

II. 材料及び実験方法

1952年10月に彦根市のごみ焼場附近の民家より採集したキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* を用いたが、この系統が DDT に強い抵抗性を示したので遺伝学的に分析を行つた。この彦根系ショウジョウバエは採集後そのまま普通のコウジの餌料の入つた牛乳ビンで3ヶ月間飼育し、その後これを普通の Pearl の餌料と、これに 2000—2500 γ /cc の DDT を含んだ餌料とに分けて小型のビンで毎代飼育した。遺伝子分析に使用した抵抗性の系統は DDT 含有餌料で7代以上飼育したものである。

実験の方法はすべて前報の福岡系ショウジョウバエで行つたときと同様である。すなわちその系統の DDT 抵抗性を検定するときは成虫を、交配実験を行うには1令幼虫を、それぞれ一定数ずつ普通餌料と DDT 含有餌料の入つたビンに入れて飼育し、それから羽化した成虫数を比較した。

III. 実験結果

(1) 彦根系ショウジョウバエの DDT 抵抗性

彦根から採集した後この系統を2系統に分つた。一方はその後全く DDT に接触させないで飼育し、これを normal stock とした。他方は約 2000—2500 γ /cc DDT 含有餌料で累代飼育し、これを selected stock とした。この両 stock の DDT 抵抗性の程度は、飼育ビンよりの平均羽化数の百分率をプロビットとして第1表に示した。ここに selected stock として示したものは採集後 DDT で10代淘汰した成虫を、種々の濃度の DDT を含んだ餌で飼育したときに羽化した11代目の成虫の平均羽化数を対照区と比較して計算

Table 1. DDT-resistance of normal and selected stocks in Hikone-strain of *Drosophila melanogaster*.

Stock	DDT-concentration in medium γ /cc	Average no. of emerging adults per jar	Rate of emergence against control	Probit
Normal stock (Hikone-N)	Control	92.7	(100%)	—
	50	93.6	101.0	—
	150	70.1	75.6	5.69
	400	58.0	62.6	5.32
	1000	40.3	43.5	4.84
	2000	23.5	25.4	4.34
DDT-selected stock (Hikone-DG ₁₀)	Control	85.5	(100%)	—
	100	78.6	91.9	6.40
	250	86.6	101.3	—
	500	79.0	92.4	6.43
	1000	71.6	83.7	5.98
	2000	48.3	56.5	5.16

したもので、DG₁₀の記号であらわした。実験に用いた成虫の数は各 stock 共に 600 匹ずつで、これより羽化した次の世代の成虫数は normal stock で約 4500 匹、selected stock で約 3800 匹であった。

第1表の結果から DDT で10代淘汰した場合の方が淘汰しなかつた場合よりも DDT 抵抗性が強いことがわかる。なお彦根系、福岡系およびこの研究で遺伝子分析に用いた突然変異型3系統の DDT 抵抗性を羽化率プロビットで示すと第1図の如くである。すなわち彦根系シヨウジョウバエの DDT 抵抗性は前報で述べた福岡系シヨウジョウバエの抵抗性よりもかなり強いことがわかる。

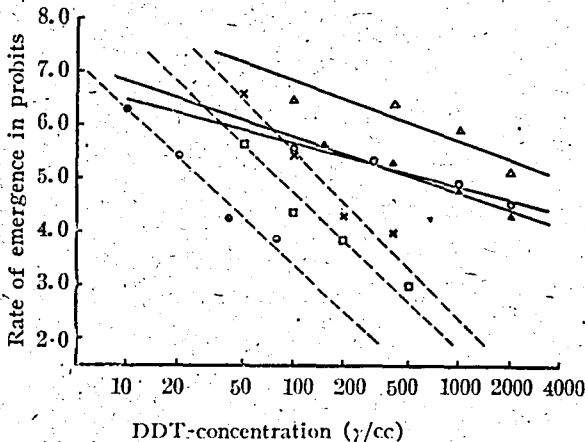
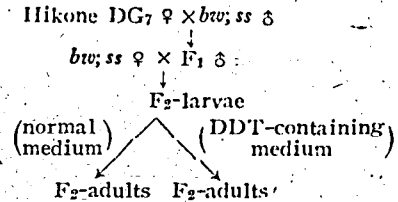


Fig. 1. Rate of emergence in relation to DDT-dosage in various strains of *Drosophila melanogaster*.

Wild strain
—▲— Hikone-N
—△— Hikone DG₁₀
—○— Fukuoka
Mutant strain
—●— *cn bw*
—□— *bw; ss*
—×— *sca*

*bw; ss*¹⁾ の雄を DDT で7代淘汰した抵抗性の彦根系 (DG₇) の雌に交配し、その F₁ 雄を *bw; ss* の雌に戻し交配して産卵させ、それより孵化した1令幼虫をそれぞれ正常の餌料と 1500 γ/cc DDT 含有餌料に移して飼育し、羽化した F₂ の成虫をしらべた。



この実験における F₂ の成虫の表現型別の羽化数は第2表に示す如くなつた。

すなわち第Ⅲ染色体の突然変異型である *bw* の出現は DDT 含有区で著しく淘汰されているが、第Ⅲ染色体の突然変異形質 *ss* は全く淘汰されていないことがわかる。従つて彦根系においても、その DDT 抵抗性は第Ⅲ染色体にある優性の遺伝子によつて支配されるものであることが知られる。

次に第Ⅲ染色体上の遺伝子の位置を推定するために、(1) *sca*²⁾ および (2) *cn bw*³⁾ の2つの系統の突然変異型の雄を彦根系の雌に交配し、その F₁ と突然変異型との戻し交配を行つた。

出て来た F₂ の1令幼虫を DDT を含んだ餌料と含まない餌料とで飼育し、それから羽化した F₂ の成虫の表現型をしらべた。この場合 F₁ の雄を突然変異系の雌に戻し交配したときを A 交配、逆に突然変異系の雄を F₁ の雌に戻し交配したときを B 交配とする。*sca* を突然変異系として用いた時の結果は第3表の如

Table 2. F₂-flies from the following back cross : *bw; ss* ♀ × F₁ (Hikone ♀ × *bw; ss* ♂) ♂

Sort of medium	No. of F ₂ -larvae tested	No. of emerging F ₂ -adults				Per cent of total <i>bw</i>	Percent of total <i>ss</i>
		+	<i>bw</i>	<i>ss</i>	<i>bw; ss</i>		
Control	900	225	167	198	173	45.2	48.6
DDT-containing (1500 γ/cc)	1790	76	0	108	7	3.7	60.2

(2) 彦根系シヨウジョウバエの DDT 抵抗性の遺伝学的分析

福岡系シヨウジョウバエの DDT 抵抗性の主要遺伝子は優性で第Ⅲ染色体に存在することがわかつていたので、彦根系の場合にも先ず第Ⅲ染色体に DDT 抵抗性を支配する優性の遺伝子があるかどうかを調べた。すなわち第Ⅲ染色体上の突然変異系統である

¹⁾ *bw; ss* は第Ⅲ染色体の眼の突然変異 *brown* と第Ⅲ染色体の剛毛の突然変異 *spineless* の両方の形質をもっている系統

²⁾ *sca* : *scafrons* (Ⅱ-66.7) 眼がガラガラした突然変異

³⁾ *cn bw* : *cinnabar brown* (Ⅱ-57.5, Ⅱ-104.5), *cn* と *bw* の両因子がむすぶと眼が白色になる

くなつた。すなわち A, B 交配共に対照区に比べて DDT 含有区では *sca* の成虫の出現率が極めて低い。また *cn bw* を突然変異系として用いたときの A, B 交配の結果をそれぞれ第4, 5表に示した。すなわち対照区に比べて DDT 含有区では *cn* および *bw* 共にその出現率は著しく減少しているが、第5表 (B 交配) では *bw* よりも *cn* の方が一層出現率の低いことがわかる。

が生き残つて繁殖するために、飼育集団全体としては DDT 抵抗性が増大する様な結果を示したのであろう。これに対し福岡系は DDT で淘汰する前にすでに等位系に近くなつていたため DDT で淘汰しても抵抗性が増大しなかつたものと考えられる。

従来イエバエ、シラミなどを実験室で殺虫剤で淘汰した場合に、抵抗性が増大する例が報告されているが、これは恐らくそれらの系統が等位系でなかつたことに

Table 3. *F*₂-flies from the following back crosses :(A) *sca* ♀ × *F*₁ (Hikone DG₉ × *sca* ♂) ♂ (B) *F*₁ (Hikone DG₉ ♀ × *sca* ♂) ♀ × *sca* ♂

Cross	DDT-concentration in medium	No. of <i>F</i> ₂ -larvae tested	No. of emerging <i>F</i> ₂ -adults			Per cent of <i>sca</i>
			<i>sca</i>	+	Total	
A	control	550	252	271	523	48.2
	1500 γ/cc	800	4	340	344	1.2
B	control	700	314	358	672	46.7
	1500 γ/cc	1000	19	374	393	4.8

Table 4. *F*₂-flies from the following back cross :(A) *cn bw* ♀ × *F*₁ (Hikone DG₉ ♀ × *cn bw* ♂) ♂

DDT-concentration in medium	No. of <i>F</i> ₂ -larvae tested	No. of emerging <i>F</i> ₂ -adults			Per cent of <i>cn bw</i>
		<i>cn bw</i>	+	Total	
control	500	216	249	465	46.5
1500 γ/cc	700	38	194	232	16.4

Table 5. *F*₂-flies from the following back cross :(B) *F*₁ (Hikone DG₉ ♀ × *cn bw* ♂) ♀ × *cn bw* ♂

DDT-concentration in medium	No. of <i>F</i> ₂ -larvae tested	No. of emerging <i>F</i> ₂ -adults				Per cent of total <i>cn</i>	Per cent of total <i>bw</i>
		<i>cn bw</i>	<i>cn</i>	<i>bw</i>	+		
control	800	196	155	153	227	48.0	47.7
1500 γ/cc	900	32	53	87	157	25.8	36.7

IV. 考察及び結論

彦根系シヨウジョウバエの DDT 抵抗性は第1表及び第1図でも見られる様に福岡系よりもなおかなり強いことがわかる。しかも DDT で毎代淘汰した方が淘汰しなかつた場合よりも抵抗性が強いが、これは福岡系で20数代淘汰しても抵抗性が強くならなかつたという前報の結果と一見相反する様に見える。しかし福岡系の場合は採集後雌雄1対1で4ヶ月にわたつて交配して等位系統 (isogenic strain) にした後実験に供したのに対し、彦根系の場合にはこのような処理をすることなく、最初から mass-culture して来たものを実験に供した。したがつてこの様な彦根系を DDT で毎代飼育淘汰するときは、DDT 抵抗性の個体のみ

偏因するものである。

次に交配実験の結果であるが、*bw*; *ss* (I; II) を使つた第2表の結果から、彦根系の DDT 抵抗性の遺伝子も優性で第II染色体に存在するものであり、しかも第III染色には全く関係がないものと考ええる。またこのときの DDT 含有区からの *F*₂ の雌雄の羽化数は雌95匹、雄96匹となつていたので、福岡系の場合と同様に性染色体とも関係のないことがわかる。第IV染色体については実験を行つていないが、第2表の結果からも恐らく重要な関係を有していないものと考ええる。ただ戻し交配の際に第II染色体または第II, 第III染色体が共に突然変異の染色体でホモとなつている様な *F*₂ の成虫でも少数羽化してくることは、DDT 抵抗

性が第Ⅱ染色体の遺伝子のみによるものではない、つまり polygenic な形質であることを示すのか、或は他に別の原因があるのかはつきりした結論を下すことは今の所困難である。しかしこれは注目すべき現象であつて、さらに追求中である。

さらに DDT 抵抗性遺伝子の第Ⅱ染色体上の位置は、*sea* 及び *cn bw* を用いた戻し交配の結果 (第3～5表) から推定される。すなわち DDT 含有区における *sea* 出現率は交叉が起つた場合でも極めて低いことから、DDT 抵抗性の遺伝子は第Ⅱ染色体の右腕の *sea* (Ⅱ-66.7) よりあまり遠く距つていないところに存在することがわかる。また *cn bw* を用いた戻し交配においても DDT 含有区における *cn* と *bw* の出現率から抵抗性の遺伝子は大体染色体地図上の70から80位の間に存在するものと推定される。さきに著者らは福岡系の DDT 抵抗性の遺伝子が第Ⅱ染色体の右腕の *vg* (Ⅱ-67.0) 遺伝子のやや右寄りの所に存在するとのべたが、この様な結果は彦根系の場合と全く一致する。この様に福岡系と全く異つた地方より採集した彦根系の DDT 抵抗性の遺伝子も、同じ染色体のはほぼ同じ位置にあると考えられるに至つたことは極めて興味深い現象である。しかしながらこの両系統の DDT 抵抗性遺伝子が果して同位置にある同一の遺伝子であるのか、または multiple allele であるのか、或は極めて位置が接近している pseudoallelic な別の遺伝子であるのかという様なことについては今迄得られた結果のみから断定することは困難であつて、更に検討を必要とする。

V. 摘 要

- (1) 彦根系シヨウジョウバエの DDT 抵抗性を福岡系と同様な方法で検定した所、福岡系よりも一層強い抵抗性を示した。
- (2) 彦根系を更に10代 DDT 含有餌料で飼育淘汰した結果 DDT 抵抗性はかなり増大したが、その原因としてはこの系統が isogenic でなかつたことによるものと考えられる。
- (3) 彦根系の場合も福岡系と同様に、その DDT 抵抗性は第Ⅱ染色体の右腕の中頃に *sea* や *vg* などの遺伝子の右側附近にあると考えられる優性の遺伝子によつて支配されるものであることがわかつた。
- (4) 彦根系と福岡系は全く異なつた地方から採集された系統であるにもかかわらず、その DDT 抵抗性が遺伝学的的には同じ様な結果を示したことは極めて興味深い。

引用文献

- (1) Bartlett, B. R.: *Canad. Ent.*, **84**, 189-205 (1952)
- (2) Bruce, W. N.: *Pest Control*, **18**, 9-10,

19 (1950)

- (3) Bruce, W. N. & G. C. Decker: *Soap & Sanit. Chem.*, **26**, 122-125, 145-147 (1950)
- (4) Cochran, D. G., J. M. Grayson & M. Levitan: *Jour. Econ. Ent.*, **45**, 997-1001 (1952)
- (5)* D' Alessandro, G. et al.: *Sicilia Medica*, **6**, 5-16 (1949)
- (6) Dickson, R. C.: *Hilgardia*, **13**, 515-522 (1941)
- (7) Harrison, C. M.: *Nature*, **167**, 855-856 (1951)
- (8)* Hough, W. S.: *Jour. Agr. Res.*, **48**, 533-553 (1934)
- (9) Tsukamoto, M. & M. Ogaki: *Botyu-Kagaku*, **18**, 39-44 (1953)
- (10)* Yust, H. R., Nelson, H. D. & Bushey, R. L.: *Jour. Econ. Ent.*, **36**, 744-749 (1943)

Résumé

There have been many speculations concerning the problems of insect resistance to insecticides, but few intrinsic conclusions have been offered on the genetic aspects of this problem. In a previous paper, however, the authors could elucidate that the DDT-resistance in Fukuoka strain of *Drosophila melanogaster* attributed to the dominant autosomal character, and the major gene (one gene or closely related genes) of DDT-resistance located near the vestigial gene¹⁾ on the second chromosome.

In the present paper a Genetical analysis of DDT-resistance in another Japanese strain (Hikone strain) was made. This resistant strain was collected in Oct. 1952 from Hikone City, and the subsequent generations were mass cultured for three months in the usual medium, therefore, this strain seems not Genetically isogenic. Then this strain was divided into two stocks, namely one separated stock was bred throughout the succeeding generations in normal Pearl's media (normal stock), and another was introduced to DDT-containing (2000-2500 γ /cc) Pearl's media, and their surviving progeny were clutered on this media allowing for the selection by DDT in every generation (selected stock). Thus after ten generations the degree of DDT-resistance

* 但し(5), (8), (10)は直接見られなかつたもの

of both normal and selected stocks were tested. These results are shown in table 1 and fig. 1, which contains the results of Fukuoka resistant and several susceptible mutant strains which were privileged for use to the following genetical analysis. As shown in fig. 1 and table 1 the selected Hikone stock (Hikone DG₁₀) is more resistant than the normal Hikone stock, (Hikone-N) moreover these stocks are more resistant than the Fukuoka resistant strain. Thus successive selective treatments with DDT resulted in increased resistance in Hikone strain but not in Fukuoka strain. This apparent divergence seems strange, but this would probably be due to the difference of genetic conditions between these two strains. That is, contrary to the Hikone strain which had not been isogenic before DDT-treatment, the Fukuoka strain was isogenic by succeeding pair mating for four months before use.

Genetical analysis of DDT-resistance with Hikone strain, as well as with Fukuoka strain in a previous paper, was made. The first-instar larvae from the back cross of *bw; ss*²⁹ ♀ × F₁ (Hikone DG ♀ × *bw; ss* ♂) ♂ were reared on DDT-containing medium (1500γ/cc: this concentration of DDT may prevent the appearance of *bw; ss* flies as shown in fig. 1). Then the phenotypes of F₂-flies emerging from this culture were examined, and the results are shown in table 2. As will be seen from this table the *lw* flies are markedly selected by DDT, despite the emergence of *ss* flies is at the same rate as control, this apparently indicating that the gene of DDT-resistance is dominant and links with the second chromosome.

To determine the locus of DDT-resistant gene on the second chromosome the following experiments were made. The first-instar larvae from back cross of the mutant ♀ × F₁ (Hikone DG ♀ × susceptible mutant ♂) ♂ and its reciprocal case were raised on DDT-containing and normal Pearl's media to complete their developments, then the F₂-flies were examined their phenotype. In the present experiments *sca*³⁾ and *cn bw*⁴⁾ were used as susceptible mutant strains, and these results are summarized in table 3, 4 and 5. From the data given in these tables it will be seen that the gene of DDT-resistance of Hikone strain is dominant and links with the second chromosome, locating about 70-80 on chromosome map near scabrous gene³⁾. It is very interest that the results with these two Hikone and Fukuoka strains, obtained from different localities, agree very closely. The present authors assumed in a previous paper that the DDT-resistance of Fukuoka strain was polygenic, but further studies will be desirable before denoting a definite conclusion on this point. However, it may be possible to say that the major gene of DDT-resistance of Fukuoka strain is the same or a multiple allele or else a pseudoallele of Hikone strain.

- 1) *vg*: (vestigial I-67.0)
- 2) *bw; ss*: *bw* (brown) is a second chromosomal mutant and *ss* (spineless) is a third chromosomal mutant. So *bw; ss* is a multichromosomal (I; II) mutant strain.
- 3) *sca*: (scabrous I-66.7)
- 4) *cn bw*: *cn* (cinnabar I-57.5), *bw* (brown I-104.5)