

The Correlation between Resistance to Insecticides and Fe-content in *Drosophila melanogaster*. Toshiki HIRAYOSHI (Genetical Laboratory, Faculty of Science, Osaka University, Osaka, Japan). Received Oct. 1, 1955. *Botyu-Kagaku* 20, 109, 1955. (with English résumé, 115).

17. キイロシヨウジヨウバエの殺虫剤抵抗性と Fe 含有量との関連性について 広吉寿樹 (大阪大学理学部生物学教室) 30. 10. 1. 受理

キイロシヨウジヨウバエの DDT, BHC, パラチオン等の殺虫剤に抵抗性の系統は非抵抗性系統に較べて常に成虫に於いて多量の Fe を含有していること、およびこの Fe 含有量の多少は第 2 染色体上に存在する殺虫剤抵抗性遺伝子 (RI) に支配されているものであることが明らかにされた。

### 緒 言

種々の殺虫剤に対する昆虫の抵抗性の問題はかなり古くから取り上げられてきた問題であつたが、特に、最近 DDT をはじめとする新しい有機合成殺虫剤に対する抵抗性の昆虫が次々と世界の各地に出現するにおよんで、多くの観察・実験の報告が矢継ぎ早やになされてきた。そして、殺虫剤抵抗性に関する新しい知見が増加しつつあることは事実である。しかし、最近公表された吉川・大垣・塚本<sup>(1)</sup>や Metcalf<sup>(2)</sup>等の綜説をみても判る通り、この抵抗性現象の種々の問題点については、報告される研究結果が必ずしも一様ではなく、むしろ、意見の全く一致した点がほとんど無いという方が正しい。

こうした時に、遺伝学的に因子分析の最も進歩しているキイロシヨウジヨウバエ *Drosophila melanogaster* を利用しての殺虫剤抵抗性の基礎的研究が試みられ、抵抗性の遺伝機構に関するかなりまとまつた知見が得られるようになった。

当研究室に於いても、大垣・塚本のおよび塚本・大垣<sup>(1)(3)</sup>は DDT, BHC 等のクロール系殺虫剤に対するキイロシヨウジヨウバエの抵抗性の遺伝学的研究を行つて、抵抗性が遺伝子の支配によるものであることを証明した。この遺伝子は第 2 染色体上にあつて、非抵抗性遺伝子に対して優性で、しかも、DDT, BHC をはじめ、その類似有機合成殺虫剤に対して交叉抵抗性 (cross-resistance) を示すが、これらは全く同一位置に存在する複対立遺伝子 (multiple alleles) か、もしくは、極く近距離に接近して存在する

\*本文中では特別の記述のない限り“殺虫剤”なる語を DDT, BHC, パラチオンおよびそれらの類似有機合成殺虫剤に限定した意味で用いた。以下こうした意味で單に“殺虫剤”なる語を用いることがある。

偽対立遺伝子 (pseudallelles) であると結論している。別に吉川<sup>(4)</sup>もパラチオン抵抗性に関して研究を行い、これも等しく第 2 染色体上の優性遺伝子の支配を受けていることを知り、先のクロール系殺虫剤の抵抗性遺伝子と同一のものであらうと推定している。また、大島<sup>(5)</sup>も集団遺伝学的な実験方法を用いて、DDT に対する抵抗性の遺伝の研究をなし、polygenic な形質であるとの結論に達したが、主要遺伝子が第 2 染色体上に存在することを確かめた。

一方、抵抗性の遺伝生化学的研究を試みていた吉川・藤土<sup>(6)</sup>は、たまたまキイロシヨウジヨウバエの殺虫剤抵抗性系統が非抵抗性系統に較べて生体内に著しく多量の Fe を含んでいることを発見した。

そこで著者は、キイロシヨウジヨウバエの DDT, BHC, パラチオン等の殺虫剤に抵抗性や非抵抗性の多くの系統を用いて成虫の Fe 含有量の比較を試みたところ、殺虫剤抵抗性遺伝子と Fe 含有量との間に密接な相関関係のあることが判明したので、ここに報告する次第である。

本文に入るにさきだち、この研究を行うにあつて終始御指導と御助言を賜つた大阪大学吉川秀男教授、大島長造助教授並びに藤土尚三、荻田善一、塚本増久の諸氏をはじめ、大阪大学理学部・医学部両遺伝学教室の各位に深謝の意を表する。

### 実験材料および方法

実験に用いたキイロシヨウジヨウバエの各系統としては、DDT, BHC, パラチオン等の殺虫剤抵抗性の遺伝学的研究のため当研究室に飼育保存されていた系統を主として使用した。これらの各系統の殺虫剤に対する抵抗性に関しては研究済のものであつて、改めて抵抗性の検討をする必要はなかつた。ただ前研究者達の研究以来約二ヶ年、数十代を経過していたので、特

に実験に際して、各系統の成虫を殺虫剤を含んだ濾紙に一定時間接触せしめて死亡率を検討するという簡単な方法<sup>(40)</sup>で追試し、その間抵抗性に大きな変動のなかつたことを確かめた。

これらの系統は 25°C に調整された飼育室で砂糖、コウジ、酵母、寒天の餌料をもつて等しい条件下に飼育し、羽化後 2~8 日の成虫\* を集めて実験材料とした。成虫はエーテルで麻酔死滅せしめて、直ちに重量測定を行い、直接または数日間熱乾したのち Fe 含有量測定のための試料とした。

こゝに報告する実験結果は、すべて Saywell and Cauninghaum 法を修正して用いた Fe の比色定量法<sup>(41)</sup>によるものである。すなわち、試料 50~200 mg、(大体 50~200 頭に相当する)に濃硝酸、濃硫酸の少量を加えて湿式灰化を行つたのち、クエン酸の少量を加え、アンモニアを添加して pH3.5 に調節し、更に pH3.5 の醋酸緩衝液を加え、ハイドロキノンで Fe<sup>+++</sup> を還元して Fe<sup>++</sup> となし、オルトフェナントロリンで酒赤色に発色せしめ、発色後 1 時間以上放置してから Fe の標準溶液と共に、試料を除いた他はすべて上記と同じ処理を経た溶液を blank. として 100% の透過率目盛にあわせて比色定量したものである。

この Fe の定量実験に際しては、水、アンモニアをはじめ可能な範囲に於いて試薬類の再蒸溜を行い、また再蒸溜された蒸溜水で数回にわたり良く洗滌したガラス器具のみを用いて汚染混入の Fe を最少限にとゞめるよう細心の注意を払つた。

なお、定量結果は成虫 1g 当りの Fe 含有量を  $\mu\text{g}$  で示したが、これは特別な場合を除いては 2 回ないしそれ以上の実験結果の平均値である。

実験結果

(1). 異なる抵抗性を持つ系統の Fe 含有量

外見上、形態的には差異の認められない系統であっても殺虫剤に対しては種々の抵抗性段階のものがある。そこで殺虫剤抵抗性の異なる種々の系統を選んで Fe 含有量の比較を試みた。

A. 野生型系統について

こゝでは、いずれも野生型の 5 系統を選んで前記の方法によつて Fe 含有量の測定を行つた。Hikone-R, Kochi, Fukuoka の 3 系統は抵抗性であり、Canton-S, Sendai の 2 系統は比較的に非抵抗性のものである。

\*この時期の成虫は比較的安定した抵抗性を示す。

Table 1. Fe-contents in adult flies of five wild type strains of *Drosophila melanogaster*. The former two strains are non-resistant to insecticides, and the later three strains are resistant.

Strain	Canton-S	Sendai	Fukuoka	Kochi	Hikone-R
Fe-content ( $\mu\text{g/g}$ of fresh flies)	260	140	570	790	950

Fe 含有量測定結果は Table 1 に示した通り抵抗性系統が非抵抗性系統よりも Fe 含有量の多いことは明らかで抵抗性の最も大きい Hikone-R は最も多くの Fe を含有し、次いで Kochi, Fukuoka と続き、抵抗性と Fe 含有量の間に相関々係のあることをうかがい知ることができた。たゞ Canton-S と Sendai の値が予期した値とは逆の結果となつた。

B. 白眼系統\*\* について

次いで、形態的には等しく白眼の系統でありながら、抵抗性の異なる 5 系統について Fe 含有量を測定した。この実験は、後述の第 2 染色体と Fe 含有量との相関関係を調べた実験とも関連性をもつから、ここで用いた白眼系統の由来について少し説明を加えると、w-Hikone-R, w-Kochi, w-Fukuoka, w-Sendai, および w-Canton-S の各系統はそれぞれの名前と対応する野生型の系統と w; Cy 系統とを Fig. 1 に示す順序に従つて交雑し得られた系統である。

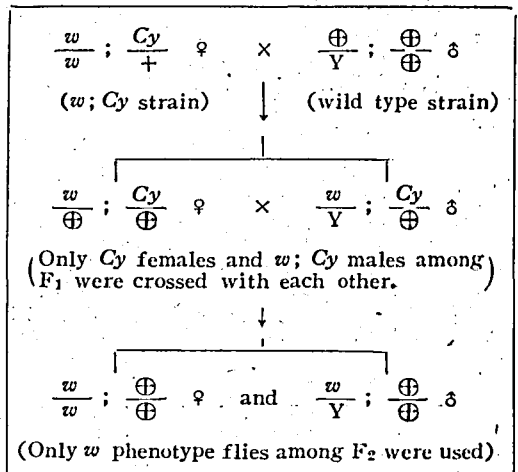


Fig. 1. Procedures of making up the white eyed strains of *D. melanogaster* from hybrids between the wild type strain and w; Cy strain.

w : white eye (1-1.5).

Y : Y-chromosome.

Cy : Curly wing with crossing-over suppressor throughout second chromosome.

⊕ : Chromosome from wild type strain.

\*\*吉川秀男教授(阪大)によつて作られた系統である。

w; Cy 系統は性染色体, 第2染色体にそれぞれ w\* と Cy\* の二つの突然変異遺伝子をもつ殺虫剤抵抗性中位の系統である。Cy は第2染色体の交叉抑制因子を含んでいるから, でき上つた白眼系統はそれぞれ少くとも野生型の Hikone-R, Kochi, Fukuoka, Sendai および Canton-S の第2染色体をそのまま homo に受け継いでおり, w; Cy 系統から w 遺伝子を導入されたので眼の白い系統である。

これら白眼系統の殺虫剤に対する抵抗性は, それぞれ対応する野生型系統のそれとほぼ等しい。このことは抵抗性の主要遺伝子が第2染色体上にあることを裏書きするものでもある。

成虫の Fe 含有量測定結果は Table 2 に示した通りで, さきの野生型系統の結果とほとんど同じ傾向である。抵抗性の大なる程 Fe 含有量が多く, 後述する如く, 成虫のこの Fe 含有量が第2染色体と密接な関係にあることが推察される。

Table 2. Fe-contents in adult flies of the white eyed strains which were derived from hybrids between the wild type strains and w; Cy strain of *D. melanogaster*.

Strain	w; Canton-S	w; Sendai	(w; Cy)	w; Fukuoka	w; Kochi	w; Hikone-R
Fe-content (μg/g)	250	200	520	710	780	1090

(2). 同一系統内の Fe 含有量

A. px 系統について

px\*\* は翅脈に関する形態的な突然変異系統であるが殺虫剤に対する抵抗性の低い系統である。前述の DDT 含有濾紙 (0.02mg/cm<sup>2</sup>) に成虫を接触せしめておくと 24 時間以内にはことごとく死に至る\*\*\*。しかし, 接触後 6~8 時間では処理したハエの半数が死に, 残り半数は生き残っている。この時, 死んだハエと生きていたハエを別々に集めて Fe 含有量の比較をした。すなわち px 系統は殺虫剤非抵抗性の系統であるが, その中でも比較的 DDT に対して抵抗性の強いものと比較的弱いものとに分離して Fe 含有量を比較したわけである。

Table 3. Fe-contents of dead and living px mutant flies by the DDT treatment.

	px strain	
	dead flies	living flies
Fe-content (μg/g)	250	400

\* Fig. 1. 中の説明を参照のこと。

\*\* px: plexus, 2-100.5

\*\*\* 抵抗性といわれる系統では 24 時間以内に, この濃度の DDT の影響で死ぬことはない。

その結果は Table 3 に示した通り抵抗性の強い成虫の方が Fe 含有量が多かった。

この実験から px 系統というものが px 遺伝子については homozygous であるとしても, 抵抗性遺伝子については一様でないか, 或はこの程度の彷彿変異があるのではないかと思われる。

B. Bayfordbury 系統について

ここで用いた Bayfordbury-S および Bayfordbury-R の 2 系統は英国の Johns Innes Horticultural Institution の Dr. B. J. Harrison から送られてきた系統である。

Bayfordbury-S は野外採集されて以来今日迄ならぬ殺虫剤に触れることなく飼育されてきた野生型の系統で DDT, パラチオン等の殺虫剤に対して弱い系統である。一方, Bayfordbury-R は Bayfordbury-S の一部を数代にわたって CN ガスで淘汰を行った CN 抵抗性の系統である。Harrison によれば

CN 抵抗性は第2染色体の遺伝子の支配を受ける。この両系統について DDT 抵抗性を調べたところ, CN 抵抗性の Bayfordbury-R の方が Bayfordbury-S より DDT に対しても若干抵抗性の強いことが判つた。これは恐らく, CN 淘汰の際にたまたま DDT 抵抗性遺伝子も淘汰されて強いもののみが残る結果となつたのではないかと考えられる\*\*\*\*。しかし, Bayfordbury-R も他の系統と比較して DDT 抵抗性と見做し得る程の抵抗性系統ではなかつた。

Fe 含有量の比較測定の結果は Table 4 に示す通りで DDT に対して抵抗性の強い Bayfordbury-R の方が Bayfordbury-S よりも Fe 含有量が多かつた。

(3). 第2染色体の抵抗性遺伝子と Fe 含有量の関係

Table 4. Fe-contents in adult flies of Bayfordbury-S and Bayfordbury-R strains.

Strain	Bayfordbury-S	Bayfordbury-R
Fe-content (μg/g)	190	380

\*\*\*\* Harrison によれば, Hikone-R 其他の DDT 抵抗性の系統が CN に対して抵抗性がないというから, 恐らく DDT の抵抗性と CN の抵抗性を支配する遺伝子は別個のものであろうと思われる。

殺虫剤抵抗性遺伝子をもつ第2染色体とFe含有量の関係を更に明らかにするため次の交配実験を行った。

**A. Hikone-R と px の交配実験**

px 系統は前述の通り殺虫剤非抵抗性の系統であるが、第2染色体上に px なる遺伝子を有しているので野生型系統の Hikone-R と交雑しても Hikone-R の第2染色体を追跡することができる。したがって、Hikone-R 系統の第2染色体と殺虫剤抵抗性およびFe含有量の関係を調べることが可能である。

そこで、px ♀ × Hikone-R ♂ の F<sub>1</sub> と Hikone-R ♀ × px ♂ の F<sub>1</sub>' (これをそれぞれ F<sub>1</sub> および F<sub>1</sub>' で表わす) をつくって DDT 抵抗性および成虫の Fe 含有量を調査した。さらに F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>' の染色体に交叉の起らないように ♂ を用いて px の ♀ に戻し交配して F<sub>2</sub>

および F<sub>2</sub>' を得た。F<sub>2</sub> および F<sub>2</sub>' は表現型として px と + のものにわかれるから、これを分離して集め別々に DDT 抵抗性と Fe 含有量を測定した。

px と Hikone-R の F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>' および F<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>' の染色体構成は Fig. 2 に示す通りで、F<sub>1</sub> および F<sub>1</sub>' のすべての染色体は px からのものと Hikone-R からのものが hetero に入っており、F<sub>2</sub> および F<sub>2</sub>' は第2染色体についてのみ注目すれば px 表現型のみは px 系統の第2染色体を homo に、+ 表現型のみは px と Hikone-R 系統のものを hetero. にもっている。

Hikone-R 系統の第2染色体を1本だけもっている F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>' および F<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>' の + 表現型のみは、濾紙による DDT テストでは Hikone-R 系統と同じく24時間以内には全然死亡することのない抵抗性のものであった。これに反して Hikone-R の第2染色体をもたず px 系統のものを homo にもつた F<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>' の px 表現型のみは完全に死亡する非抵抗性となっていた。

成虫の Fe 含有量測定結果は Table 5, 6 に示した通りであつて、F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>' および F<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>' の + 表現型のみは Hikone-R 系統とほぼ等しく多量の Fe を含有しているのに反して、F<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>' の px 表現型のみは Fe 含有量は非常に少なく、px 系統のそれに近い値である。

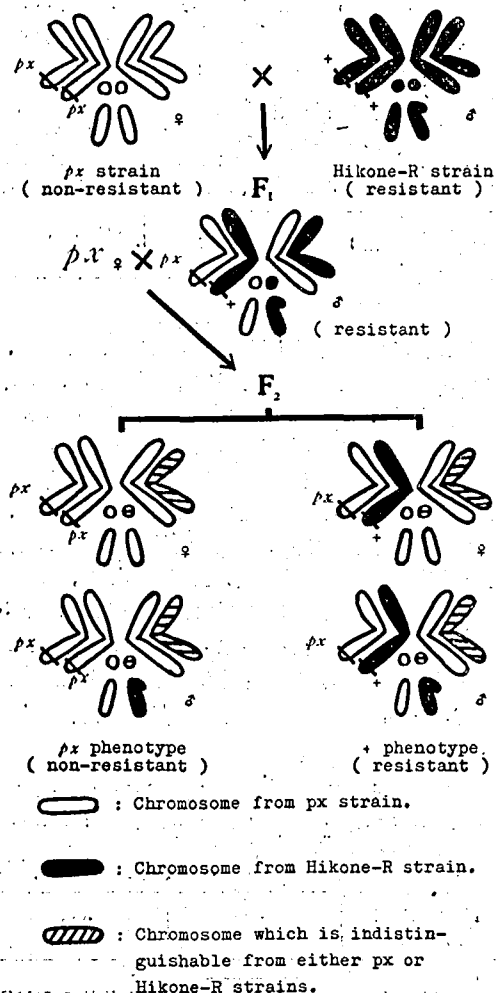


Fig. 2. The chromosomal construction of px strain, Hikone-R strain and their first and second filial generations.

Table 5. Fe-contents in adult flies of px strain, Hikone-R strain and their hybrids

	px	F <sub>1</sub>	F <sub>1</sub> '	Hikone-R
Fe-content (μg/g)	150	1300	1300	1270

Table 6. Fe-contents of the two phenotypic flies in the second filial generations of crosses between px and Hikone-R strains

Phenotype	F <sub>2</sub>		F <sub>2</sub> '	
	px	+	px	+
Fe-content (μg/g)	200	1260	210	1220

すなわち、殺虫剤抵抗性遺伝子がある上に存在していると考えられている Hikone-R の第2染色体を1本でも有している系統は Hikone-R とほぼ等しい Fe 含有量をもつことになる。これは殺虫剤抵抗性遺伝子が非抵抗性の遺伝子に対して完全優性であると考えられていることから予期された結果である。ここに於いて、第2染色体と Fe 含有量との間に密接な関連性のあることが考えられる。

**B. Hikone-R と *cn bw* の交配実験**

前記実験と全く同じ交配実験を *px* 系統の代りとして *cn bw* 系統を用いて繰返し行つた。*cn bw* 系統は *cn\** と *bw\*\** の眼色に関する2つの突然変異遺伝子を第2染色体上にもつ系統で、殺虫剤に対して弱い系統である。

この実験に於ても、*cn bw* ♀ × Hikone-R ♂ および Hikone-R ♀ × *cn bw* ♂ の逆交配より F<sub>1</sub> および F<sub>1</sub>' を得、さらに *cn bw* ♀ に戻し交配して得られる F<sub>2</sub> および F<sub>2</sub>' を *cn bw* 表現型(白眼)と+表現型のものに分離して集めた。

濾紙法による成虫の DDT 抵抗性調査の結果、F<sub>1</sub>、F<sub>1</sub>' および F<sub>2</sub>、F<sub>2</sub>' の+表現型のものが Hikone-R 系統の如く、抵抗性で、F<sub>2</sub>、F<sub>2</sub>' の *cn bw* 表現型のものが *cn bw* 系統のごとく非抵抗性であつたが、これらの成虫の Fe 含有量測定結果は、Table 7 および 8 に示す通りで、これまた *px* 系統との交配実験によつて得られた結果と同じ傾向を示している。

**Table 7.** Fe-contents in adult flies of *cn bw* strain, Hikone-R strain and their hybrids.

	<i>cn bw</i>	F <sub>1</sub>	F <sub>1</sub> '	Hikone-R
Fe-content (μg/g)	140	1300	1190	1230

**Table 8.** Fe-contents of the two phenotypic flies in the second filial generations of crosses between *cn bw* and Hikone-R strains.

Phenotype	F <sub>2</sub>		F <sub>2</sub> '	
	<i>cn bw</i>	+	<i>cn bw</i>	+
Fe-content (μg/g)	220	1080	210	—+

+ : Mistake in the experiment.

**(4). 抵抗性遺伝子 (RI) と Fe 含有量**

DDT, BHC, パラチオン等の殺虫剤抵抗性を支配していると考えられる第2染色体上の遺伝子を、仮に RI (Resistance to Insecticides) と名付けるならば、この RI 遺伝子と成虫の Fe 含有量との関係について、さらに証的的な解明を試みようとしたのがこの実験である。

RI 遺伝子は、第2染色体地図上の *cn* と *bw* の間に当る位置に存在すると考えられている。そこで *cn bw*

系統と抵抗性の Kochi 系統を交雑し第2染色体に二重交叉を起させ *cn* と *bw* の間に Kochi 系統の抵抗性遺伝子 (*RI<sub>Kochi</sub>* と記す) を導入した *cn RI<sub>Kochi</sub> bw* なる第2染色体をもつと考えられる系統\*\*\* がつくられた。

この *cn RI<sub>Kochi</sub> bw* 系統はパラチオン、DDT 等に対して抵抗性を示し、殺虫剤抵抗性に関してはその片親である Kochi に近い系統である。

成虫の Fe 含有量を *cn bw* および Kochi 系統と比較定量した結果は Table 9 に示した通りで、Kochi 系統に近い値を示している。

**Table 9.** Fe-contents in adult flies of *cn RI<sub>Kochi</sub> bw* strain compared with *cn bw* and Kochi strains.

Strain	<i>cn bw</i>	<i>cn RI<sub>Kochi</sub> bw</i>	Kochi
Fe-content (μg/g)	140	750	850

すなわち、これ迄に行つてきた第2染色体と Fe 含有量の密接な関連性に関する実験結果と共に考えあわせてみると、RI 遺伝子の存在によつて Fe 含有量が增大するものと考えられる。

**考 察**

上に記した実験結果から、キイロシヨウジヨウバエの DDT, BHC, パラチオンおよびそれらの類似有機合成殺虫剤に対する抵抗性の系統は非抵抗性の系統よりも成虫に於いて多量の Fe を含有していることが判る。実験の (1) に於ける Sendai 系統と Canton-S 系統の値が予期の逆となつた唯一の例外を除けば、抵抗性の度合に応じて Fe 含有量も比例して増加しており、抵抗性と Fe 含有量の間に密接な相関々係のあることが判る。また、この Fe 含有量の多少は、大垣および塚本<sup>(1)</sup><sup>(2)</sup><sup>(3)</sup>によつて見出されその他の人々<sup>(4)</sup><sup>(5)</sup>によつて確認された第2染色体上の殺虫剤抵抗性遺伝子 (RI) の有無によるものであることが前述の遺伝学的実験から推定された。

DDT などの殺虫剤抵抗性遺伝子については大垣・塚本等の第2染色体上にあつて優性であるという one gene 説とは別に、Crow<sup>(6)</sup> は第2、第3染色体上に各々1つ或はそれ以上の優性遺伝子と性染色体と常染色体上に1つ或はそれ以上の劣性遺伝子があるという polygenes 説を発表している。大島<sup>(7)</sup>も第2染色体に優性の主要遺伝子が存在していることは事実であるが第3染色体にもそれを modify する遺伝子の存在していることを指摘している。

\*\*\* これも吉川秀男教授によつて作られた系統である。

\* *cn* : cinnabar, 2-57.5  
\*\* *bw* : brown, 2-104.5

この実験に於いて、供試材料の殺虫剤抵抗性を確かめておく必要のために、Fe含有量の測定と平行してDDTによる簡単な抵抗性テストをも行つてきたが、その結果、第2染色体上に優性の強力な殺虫剤抵抗性遺伝子の存在していることは疑いのない事実として証明することができた。しかし、このテストに用いた方法では、たとえ第2染色体以外にも抵抗性を支配する遺伝子が存在していたとしても、それが第2染色体のもの程強力なものでない限り見出し得ないから、この点は注意しなければならない。

最近、吉川およびその共同研究者達<sup>2)</sup>によつて生体色素と重金属の関連性に関する研究が遂行されつつあつて、すでに特定の生体色素には特定の重金属が配位されていることが知られている。キイロシヨウジヨウバエに於いても、体色や眼色の異常な突然変異種は、野生型のものに較べて特定の金属が多かつたり少なくなつたりすることが明らかにされている。Feも或る種の色素形成と関連のある金属で、 $e^{11}$  (ebony-11),  $v$  (vermilion),  $w^a$  (apricot),  $car$  (carnation),  $cm$  (carmin),  $pr$  (purple) その他数種の突然変異の系統が他の系統と比較して、多量のFeを含有していることが知られている。そこで、この $e^{11}$ や $v$ のFe含有量の多い系統の殺虫剤抵抗性についてのテストを行つたがFe含有量が多いという理由のみでは必ずしも殺虫剤に対して抵抗性であるとは限らなかつた。すなわち、色素合成に伴つて含有されているFeと殺虫剤抵抗性と関係のあると思われるFeとは別の物質代謝系に属するものであると考えざるを得ない。

以上の考察を通じて実験結果に再検討を加えるならば、

1. キイロシヨウジヨウバエに於いて、Fe含有量の多い系統が必ず殺虫剤抵抗性であるとはいふ難いが、DDT, BHC, パラチオン等の殺虫剤抵抗性系統は必ず成虫のFe含有量が多いこと。

2. しかも、このFe含有量の系統による多少は、第2染色体上の殺虫剤抵抗性遺伝子(RI)の有無によつて大きく支配されていること。

の2つの結論に達することができる。

なお、この殺虫剤抵抗性と関連すると考えられるFe含有量の系統による差異が最終的には如何にして殺虫剤抵抗性の差異として表現されるのか、ということに関する実験は未だ行つていない。現在のところ殺虫剤抵抗性に関する酵素的或は遺伝生化学的研究に於いて明確な結論に達したものはない。パラチオン等が哺乳類に於いてはコリンエステラーゼの活性を阻害する神経毒として働く物質であることが知られていたため、吉川<sup>2)</sup>等はこの実験に用いたと同じ系統のキ

イロシヨウジヨウバエを用いてコリンエステラーゼの活性の比較を行い、抵抗性系統が非抵抗性系統に較べてその活性の強いことを見出した。未だ実験は未完成で若干の疑点も残されているが、或はこのコリンエステラーゼの活性度とFeとの間に何らかの相互関係があるのかも知れない。また、Sactor<sup>1)</sup>はDDTがチトクロームC・オキシダーゼをも阻害するという観点からイエバエ *Musca domestica* のDDT抵抗性、非抵抗性系統のその活性について調査を行い、抵抗性系統の方が活性が強いと報告している。もしも、キイロシヨウジヨウバエについても同じことが言えるとするならば、Fe含有量の系統による相違がチトクロームC・オキシダーゼの活性の相違に帰せられるのであろうか。いずれにせよ、Feと関連のある酵素の活性に差異があつて殺虫剤の毒作用を弱めたり強めたりするのであろうと考えられるので、今後Fe含有量に著しい差異の認められた事実を背景として殺虫剤抵抗性の遺伝生化学的研究を進めるべきであらう。

なお、最近吉川等は日本およびイタリアなどの数系統のイエバエ *Musca domestica*, *M. d. vicina* について、また大島等はクロシヨウジヨウバエ *Drosophila virilis* の数系統についてDDT抵抗性、非抵抗性の成虫を集めて、Fe含有量の比較を行つたが、いずれも抵抗性系統の方が多量のFeを含んでいることが明らかにされた(いずれも未発表)。

キイロシヨウジヨウバエで発見された現象が、このようにして多くの有害昆虫にも共通な現象であるとするならば、遺伝子分析の最も進歩しているキイロシヨウジヨウバエでの基礎的研究は、広く昆虫の殺虫剤抵抗性を追求するのに賢明な方法であると共に意義あることと考えられる。

## 摘 要

1. キイロシヨウジヨウバエのDDT, BHC, パラチオンおよびその類似有機合成殺虫剤に対する抵抗性、非抵抗性の成虫のFe含有量を比較定量したところ、抵抗性系統は非抵抗性系統に較べて著しく多量のFeを含んでいることが判つた。しかも、抵抗性の度合に応じてFe含有量も増加し、両者の間に密接な相関関係のあることが認められた。

2. この殺虫剤抵抗性と関連すると考えられる成虫のFe含有量の多少は、第2染色体上に存在している優性の殺虫剤抵抗性遺伝子(RI)——大垣・塚本 '53, '54 発表; 吉川 '53, 大島 '54 確認——の有無によつて支配されることが、遺伝学的実験の結果から推定された。

## 引用文献

(1) Crow, J. F.: Jour. Econ. Ent., 47, 393-398

- (1954)
- (2) 吉川秀男：遺雜，28, 171 (1953)
- (3) ————：获田善一：化学，10, 78-82 (1955)
- (4) ————：生物化学の進歩，2，培風館，東京。(印刷中)
- (5) ————：大垣昌弘・探本増久：最近の生物学，5, 88-151, 培風館，東京。(1955)
- (6) Kikkawa, H. and S. Fujito: *Drosophila Inform. Service*, 28, 171 (1954)
- (7) ————, Z. Ogita and S. Fujito: *Science*, 121, 43-47 (1955)
- (8) Metcalf, R. F.: *Physiol. Rev.*, 35, 197-232 (1955)
- (9) Ogaki, M. and M. Tsukamoto: *Botyu-Kagaku*, 18, 100-104 (1953)
- (10) Oshima, C.: *Botyu-Kagaku*, 19, 93-99 (1954)
- (11) Sactor, B.: *Jour. Econ. Ent.*, 43, 832-838 (1950)
- (12) Tsukamoto, M. and M. Ogaki: *Botyu-Kagaku*, 18, 39-44 (1953)
- (13) ————, ————: *Botyu-Kagaku*, 19, 25-32 (1954)

Résumé

Recently, employing the method<sup>(9)</sup> of paper-chromatography, Kikkawa and Fujito<sup>(6)</sup> found in *Drosophila melanogaster* that the resistant strain to the insecticides (DDT, BHC, parathion and similar organic compounds) contained more iron (Fe) in the body than did the non-resistant strain.

On the other hand, it has been found by Ogaki and Tsukamoto<sup>(9) (12) (13)</sup> that DDT- and BHC-resistance in *D. melanogaster* was mainly controlled by a dominant gene (*RI*) which located at  $66.0 \pm$  locus on the second chromosome. And this has been ascertained by Kikkawa<sup>(6)</sup> who studied the resistance to parathion and by Oshima<sup>(10)</sup> who investigated the problem of resistance to DDT from the view of population genetics.

In this paper, the author has estimated contents of iron in adult flies of various strains of *D. melanogaster* with the modified method<sup>(4)</sup> of Saywell and Cauninghaum. Furthermore, some relations between the Fe-content and the insecticides-resistance have been examined.

(1). Iron-contents in different strains which showed various intensities of resistance to the insecticides were compared with one another.

A. For this purpose, three resistant and two non-resistant wild strains were used. The resistant strains contained the iron above  $500 \mu\text{g}$  per 1g of fresh flies, but the contents in the non-resistant strains were always less than those.

Hikone-R, the most resistant strain, showed the most Fe-content; Kochi, the secondary powerful resistant, was next; Fukuoka the third, followed in these (Table 1).

B. The white-eyed strains having the second chromosomes of the wild type strains corresponding with their names respectively, showed nearly the same resistance to the insecticides as did the wild type strains (Fig. 1). The result of estimation of Fe-contents in these white-eyed strains also showed nearly as same as that in the wild type strains (Table 2).

(2). Iron-contents of resistant and susceptible flies derived from the same origin were compared.

A. The mutant strain  $\mu\alpha$  was originally a non-resistant strain which was killed perfectly within 24 hours when it was exposed to the filter paper impregnated with DDT ( $0.02 \text{mg}/\text{cm}^2$ )\*. Within 6-8 hours after contact to the DDT-paper, about half a number of the treated flies were killed. Then, the dead flies and the remaining living ones were gathered separately and Fe-contents were estimated. The living flies had somewhat more Fe than did the dead ones (Table 3).

B. Two Bayfordbury strains, which were sent by Dr. B. J. Harrison of Johns Innes Horticultural Institution, (England), were examined. Bayfordbury-S strain had been reared in the normal medium without any insecticide during many generations. Bayfordbury-R strain was selected by HCN gas from Bayfordbury-S strain, and became resistant to HCN.

By testing the DDT-resistance of both strains, it was found that Bayfordbury-R was slightly resistant to DDT than Bayfordbury-S. Probably, in the course of selection by HCN,

the resistant gene to DDT would be selected by chance\*\*. The result of estimation of Fe-contents showed that Bayfordbury-R strain contained more Fe than did Bayfordbury-S strain. (Table 4).

(3). In order to testify the correlation between the Fe-content and the second chromosome, the following mating experiments were performed.

A. Hikone-R, a resistant strain, contained much Fe, whereas *px* mutant, a non-resistant one, did little. The first filial generations either from the crossing *px* ♀ × Hikone-R ♂ or Hikone-R ♀ × *px* ♂, which were denoted as F<sub>1</sub> and F<sub>1</sub>' respectively, were resistant to the insecticides as same as Hikone-R strain. Fe-contents of them were also nearly same as Hikone-R (Table 5). The F<sub>1</sub> and F<sub>1</sub>' males were back crossed to *px* females respectively, and the second filial generations, F<sub>2</sub> and F<sub>2</sub>', were obtained. From the offspring, *px* and + phenotypic flies were divided respectively. The result of estimation of Fe-content showed that the *px* phenotypic flies contained little Fe as same as the original *px* strain, whereas the wild phenotypic flies contained much Fe closely as same as Hikone-R strain (Table 6).

B. The similar mating experiments using *cn bw* strain instead of *px* strain indicated the similar results (Table 7 and 8).

(4). Finally, the Fe-content of *cn RI<sub>Kochi</sub> bw* strain was compared with those of *cn bw* and of Kochi strain in order to clarify the correlation between *RI* gene and Fe-content. The *cn RI<sub>Kochi</sub> bw* strain was obtained from the hybrid between *cn bw* and Kochi strains, and possessed the resistant gene of Kochi (*RI<sub>Kochi</sub>*) which was located between *cn* and *bw* genes on the second chromosome. This strain was a resistant to various insecticides and contained Fe as much as Kochi strain did (Table 9).

All these results described above showed that

the insecticides-resistant strains of *D. melanogaster* contained always more Fe than did the non-resistant strains. Thus, parallelism between the Fe-content in adult flies and the intensity of the resistance to the insecticides was demonstrated. And also it was revealed that the Fe-content was controlled by *RI* gene locating on the second chromosome.

Although the enzymatic study of resistance to insecticides has not been studied thoroughly, it is assumed that the difference of resistance among various strains may be due to the difference of certain enzyme systems relating to the metabolism of Fe.

Kikkawa and his co-workers<sup>(7)</sup> studied the correlation between heavy metals and the pigmentation of animals and plants, and recognized in *D. melanogaster* that each body- and eye-color mutant contained special metals in more or less quantity compared with the wild strain. For instance, *e<sup>11</sup>* (*ebony-11*), *v* (*vermilion*), *w<sup>a</sup>* (*apricot*), *car* (*carnation*), *cm* (*carmin*), *pr* (*purple*) etc. contained much Fe as compared with the others. Though some investigations of the resistance to DDT of these Fe-containing mutants were made, these mutants were not always resistant to DDT. Probably, iron relating to the pigmentation is not concerned with enzyme systems directly relating to the insecticides-resistance. Therefore, it may be concluded that the strains which contain much Fe in their bodies are not always insecticides-resistant strains, but at least the resistant strains always contain more Fe than do the non-resistant strains.

\* : Resistant strains were never killed within 24 hours by such treatment of DDT.

\*\* : According to Dr. Harrison's personal communication to Dr. Kikkawa, Hikone-R and other resistant strains to DDT were not always resistant to HCN. Consequently, it is assumed that the mechanism of resistance to DDT differs from that of HCN-resistance.