

菌の菌糸よりなる飼育培基が低温ほど保存力に富むことも容易に推測される。そこで、飼育ネグニの繁殖、飼育培基の長期保存の双方に好ましい条件を知るために温度と繁殖力との関係を調べた。

#### 温度と繁殖力との関係

方法 飼育培基の菌糸がネグニの放飼に適當になるまで 27°C に保った後、おのおのの飼育培基にネグニを入れ、17, 20, 23 および 26°C の環境条件において繁殖した親ダニ数をかぞえた。他の試験条件は表1に準ずる。

Table 3. Influence of temperature on population growth of the bulb mite.

Temperature (°C)	Days after incubation					
	10	15	20	25	30	35
26	360	400	473	334	139	63
23	57	364	489	492	347	266
20	5	85	434	558	538	513
17	5	5	21	315	456	555

結果 表3にしめすごとく 26°C 飼育区では10日目まで360匹となりすみやかな繁殖がみられるが、3°C 下るごとに繁殖親ダニ数は約5日のおくれがみられるようである。しかし最高繁殖数には大差なく、かえって低温のため飼育培基の分解が少ない 20, 17°C 飼育区においてまさる傾向がみられる。

#### 総 括

1) ネグニのペトリ皿による累代飼育はジャガイモ培地にミカンミドリカビ病菌を接種し、菌糸が寒天培地の表面を 70~80% おおったところでネグニを放飼するのがよい。

2) ネグニの食性はきわめて広いものと考えられるが、寒天培地をもちいる飼育においては不完全菌類、子の菌類に属するものを好むようである。ネグニ放飼後の観察の難易を考慮した場合供試菌類のうちでは

ミカンミドリカビ病菌がよかった。

3) ネグニの繁殖と温度との関係は 17~26°C の範囲内では終局の繁殖数には大差はないが、26°C 飼育区において最もすみやかに繁殖し、3°C 下るごとに約5日のおくれがみられた。

#### 文 献

- 1) 望月正己・守田美典・沢崎彬：北陸病害虫研究会報 7, 107 (1959)
- 2) 柴田喜久雄：北陸病害虫研究会報 8, 106 (1960)
- 3) 江原昭三：植物防疫 11, 469 (1957)
- 4) 友永富：農薬 7 (1), 35 (1962)

#### Résumé

Mass rearing of the bulb mite, *Rhizoglyphus echinopus* Fumouze et Robin, was tested in Petri dish using four different kinds of agar culture media, each of which was inoculated with nine different kinds of plant pathogene. The influence of sorts of agar culture media, plant pathogenes and rearing temperature upon the population growth of the mite were investigated. The highest population growth was observed in the media of potato dextrose agar inoculated with *Pericillium digitatum* Sacc, where the direct observation of the mite was also very convenient. It was most successful that the bulb mite was introduced into Petri dishes when mycelia covered with 70-80 percent of surface of agar culture medium. Maximum number of adult attained in each dish was almost the same at any temperature of 17, 20, 23 and 26°C. The population growth was, however, faster at high temperature than low temperature. Low temperature was rather better than high temperature for keeping the adult bulb mite for long time.

DDT-Resistance in the So-called "Takatsuki" Strain of the Common House Fly, *Musca domestica vicina*. Problems on the Breeding of Insects for Biological Assay of Insecticides. XXIX. Sumio NAGASAWA (Ihara Agricultural Chemicals Institute, Simizu). Received July 28, 1962. *Botyu-Kagaku*, 27, 67, 1962. (with English résumé, 74).

11. いわゆる高槻系イエバエの DDT 抵抗性 殺虫剤の生物試験用昆虫の飼育に関する諸問題 第29報 長沢純夫(イハラ農薬研究所) 37. 7. 28 受理

いわゆる高槻系イエバエの DDT に対する抵抗性はかなりたかいという結論に達しているが、1959年5月に原系統から分離された高槻系の13集団は、その後の約2年余の間に、飼育場所によりかなりことなつたものに変つていて、これらの示す1雌あたりの LD<sub>50</sub> は 0.73~43.85 µg の範囲にあつた。

そのうち  $LD_{50}$  が  $2\mu\text{g}/\text{fly}$  あたりの数値をしめす集団が、原系統にちかいものの様に考えられるが、これを証明しうる事実はない。標準系統の飼育と保存に関する組織的な協定措置が必要であると共にかかる系統の混入をさけるためには、薬剤感受性に関与しない外部可視の突然変異形質をもつて、これを標識する工夫もなされるべきである。

いわゆる高槻系と称されて、わが国でひろく殺虫剤の生物試験検定のためにもちいられているイエバエの系統は、1946年の秋、大阪府高槻市において採集された1匹の雌から出発し今日におよぶものである。原系統の保存は約13年間、高槻市の京都大学化学研究所で、意識的な所作によつては全く殺虫剤にさらされることなくつづけられ、その間に国内の20余の試験研究機関に分譲された。1959年5月、上記化学研究所の生物試験を中止するに当つて、原系統は17の機関に分割配布されて、本系統の更新がなされると同時に一部機関にあつては、新規に本系統の飼育を開始、これらの累代飼育による保存は今日におよんでいる。筆者は1962年初頭、さきに配布をおこなつた研究機関から本系統を回収し、確実に高槻系と明記されているもの12集団を当所において同様高槻系と称して累代飼育してきた集団を標準として、全く同一条件に飼育し、それらの  $p, p'$ -DDT にたいする感受性の程度を比較検討した。

本文にはいるにさきだち、この系統を長年にわたつて保存飼育され、また本実験を行うに際してはこころよく材料の提供を賜つた方々と、本系統を研究機関別に飼育するわずらわしい仕事につくされた杉山ちえ子嬢に敬意と謝意を表する次第である。

#### 実験材料および方法

1. 供試昆虫：1946年秋、高槻市において採集された1雌に出发する、いわゆる高槻系と称されるイエバエ *Musca domestica vicina* Macquardt は、現在わが国の殺虫剤に関する試験研究機関において、殺虫剤の生物試験用昆虫としてかなりひろくもちいられている系統である。今回ここにもちいた10集団のイエバエは、1959年5月に原系統から再分配され、それぞれの機関において2年7ヶ月近く累代飼育されたものの子孫である。そして残る2集団は、さらにそれより若干前期に分離されたものの子孫で、便宜上研究機関別にこれらに A, B, ……L の符号をあたえて区別することとした。比較のための標準個体群には、同一時期に配附され、今日まで累代飼育されているイハラ農薬研究所の高槻系をもちいた。これには S の符号をあたえておくこととする。これらの幼虫期の飼育は豆腐粕と酵母を用いる方法<sup>15)</sup>にしたがつた。成虫期の餌には砂糖と水をあたえた。

2. 供試薬剤：メタノールで再結した  $p, p'$ -DDT (m. p.  $108^{\circ}\text{C}$ ) を最高濃度  $100\mu\text{g}/\text{mm}^3$  のアセトン溶液

とし、対数間隔0.3をもつて9段階に稀釈してもちいた。以下単に DDT とするす。

3. 試験方法：羽化後3～4日目の個体を炭酸ガスで麻醉し、雌雄にわけてこのうち雌だけをもちいた。直径9cm、高さ5cmのガラス容器に約50個体ちかくをいれ、網蓋をかぶせて上から脱脂綿にひたした稀釈牛乳を餌としてあたえ、24時間放置した。24時間後に再度炭酸ガスで軽く麻醉し、マイクロサイリンドでその胸背部に薬液を1個体あたり  $1\mu\text{l}$  づつ滴下処理した。処理個体は同じシャーレにもどして、同じ方法で稀釈牛乳をあたえ、24時間後の生死を記録した。飼育および実験はすべて  $25^{\circ}\text{C}$ 、湿度75%の環境条件下において行つた。なおこの実験は、つきにしめすような  $7\times 7$  のラテン方格法にもとづく斉整不完備型の実験計画にしたがつて2回において行つた。全実験を通じて14607匹のイエバエがもちいられた。

A	C	D	G	B	E	F
B	E	C	A	F	G	D
D	A	G	F	C	B	E

#### 実験結果と考察

1. 中央致死薬量の算定：ある薬量の範囲内においては、イエバエの DDT にたいする感受性はその対数軸にたいして正規分布することは、すでにひろく知られているところである。薬量の対数を横軸に、これに対応する致死率をプロビットにおきかえて、両者の関係をグラフの上にプロットし、そこにひかれた回帰直線の方程式について諸項の数値を算定した。第1表はこれらの数値にもとづいて薬量致死率回帰線の角係数を比較した変量分析の結果である。実験1においては同じ日にえられた3回帰線の角係数も、また実験日ごとに比較した角係数も、有意水準0.05において平行とみなすことが可能である。しかし実験2においては、実験をおこなつた日により、その角係数のちがいはかなり高い有意性があり、combined slope  $b_0$  をもちいて各回帰線の平行化をはかり、それによつて再計算された中央致死薬量を以後の考察にもちいることは適当でない。そこで実験1, 2同様にそれぞれの薬量-致死率の回帰線からもとめた中央致死薬量をもちいて、以後の計算をすすめることとする。算定された中央致死薬量をひとつの表にまとめたのが第2表である。なお combined slope をもちいて、各回帰線の平行化がゆるぎされないことは、 $LD_{50}$  について考察すると同

Table 1. Comparison of the slopes of the curves relating probit kill and log-dosages, representing the dosage-mortality curves based upon weighted, corrected probits.

Variance due to	Degrees of freedom	Experiment 1			Experiment 2		
		Sum of squares	Mean square	F	Sum of squares	Mean square	F
Combined slope for all tests, $b_s$	1	1986.77452	1986.77452		2105.12741	2105.12741	
Differences between daily slopes	6	15.71905	2.61984	2.47	117.61223	19.60203	60.01
Differences between individual slopes	14	71.26312	5.09022	4.80	44.39015	3.17073	9.71
Deviation from straight line	85	90.20778	1.06127		27.76622	0.32666	

Table 2. Toxicity in terms of the log-LD<sub>50</sub>(+1.000) for each series.

Expt.	Population	1	2	3	4	5	6	7	$V_s$	$W_s$	$Y_s$	
1	S	1.947	1.963		1.548				5.458	-2.312	5.621	
	A	1.248				1.232	1.236		3.716	-1.410	3.616	
	B		2.871	2.438		2.756			8.065	-2.290	7.903	
	C	0.923		1.072					2.767	-2.554	2.586	
	D		1.035					0.685	1.241	2.961	-4.514	2.642
	E				1.208	1.949		2.187		5.344	0.956	5.412
	F			1.900	1.968		2.194		6.062	7.500	6.593	
	$T_s$	4.118	5.869	5.410	4.724	5.937	4.115	4.200	34.373	0.000	34.373	
2	S	1.800	2.059		1.923				5.782	1.390	5.866	
	G	1.986				2.336	1.777		5.999	1.046	6.063	
	H		1.405	1.506		1.639			4.550	-7.648	4.086	
	I	1.596		2.081				1.732	5.382	1.956	5.501	
	J		1.636					1.467	1.407	4.510	4.426	4.778
	K				1.260	1.755		1.190		4.205	-1.942	4.087
	L			2.760	2.754		2.365		7.879	0.772	7.926	
	$T_s$	5.355	5.100	6.347	5.937	5.630	5.609	4.329	38.307	0.000	38.307	

時に、弥富<sup>10)</sup>のいうように LD<sub>100</sub> を追跡することがのぞましい。大沢・長沢<sup>19)</sup>の殺虫剤有効度の表示法はそのまま抵抗性の表示に適用さるべきであるが、本文では一応 LD<sub>50</sub> だけをとりあげて論議をすすめることとする。

2. 中央致死薬量の比較：斉整不完備型の実験計画については、Yates<sup>27)</sup>によつてのべられ、Moore and Bliss<sup>12)</sup>の論著にもその計算法は詳細にしるされている。筆者<sup>17)</sup>もまたこの応用例を記した論著の中で一応の解説をおこなつた。一定の方法にしたがつて算定した平均中央致死薬量指数は、第4表のごとくである。そして第3表の数値は平均中央致死薬量指数を算定す

るための係数をもとめる分散分析の結果である。第4表にみるように、平均した中央致死薬量指数間の  $n=8$ ,  $p=0.05$  における有意差は、実験1においては0.489, 実験2においては0.567である。その関係を図示したのが第1図である。第4表にしめした  $\mu\text{g/g}$  の数値は、1雌の生体重を 18mg として算定したものである。高槻系イエバエ 1雌の生体重は約 19.75 mg (長沢)<sup>14)</sup>, また 25~27mg (安富)<sup>30)</sup>となつているが、Yamasaki<sup>29)</sup>, Yamasaki and Narahashi<sup>30)</sup>の論著には、1雌の生体重は 18mg として中央致死薬量が計算表示されている。筆者が 18mg として算定したのも、これと比較を容易ならしめるための措置に

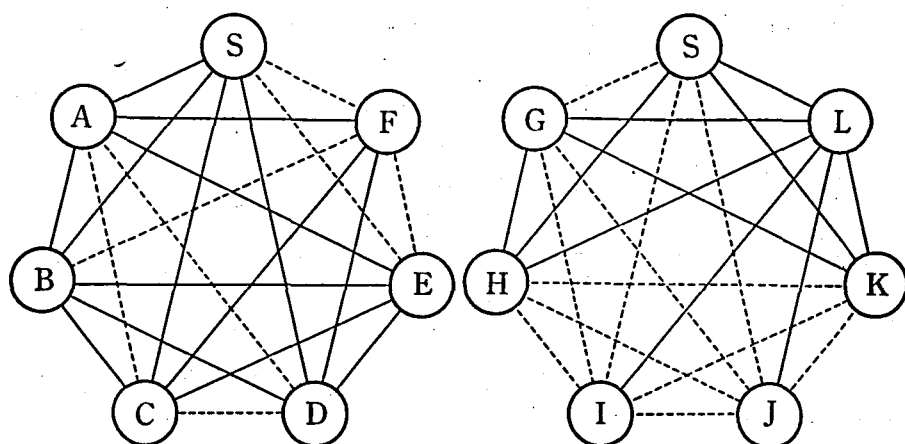


Fig. 1. Comparison of median lethal doses between populations tested. Solid line denotes the relation that the difference between LD<sub>50</sub>'s is significant at  $n=8$ ,  $Pr=0.05$

Table 3. Analysis of variance for separating variation between days from remainder.

Variance due to	Degrees of freedom	Experiment 1		Experiment 2	
		Sum of squares	Mean square	Sum of squares	Mean square
Strains, ignoring days from $V_s$	6	7.19797		3.18547	
Days, exclusive of strains from $W_s$	6	0.58062	0.09677	0.53155	0.08859
Error within days and strains	7	0.39999	0.05714	0.09240	0.01320
Total	19	8.17858		3.80942	

Table 4. Relative resistance of female adults of the so-called "Takatsuki" strain of the common house fly, *Musca domestica vicina* Macquardt, for  $p, p'$ -DDT applied topically, corrected for differences between days. Significant difference for  $n=8$ , and  $Pr=0.05$ .

Expt.	Population	log LD <sub>50</sub> (+1.000)	LD <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{fly}$ )	LD <sub>50</sub> $\mu\text{g}/\text{g}$	Relative resistance
1	S	1.874	7.48	415	1.00
	A	1.205	1.60	89	0.21
	B	2.634	43.06	2390	5.76
	C	0.862	0.73	41	0.10
	D	0.881	0.76	42	0.10
	E	1.804	6.37	354	0.85
	F	2.198	15.77	875	2.11
Standard error		0.150			
Difference between strains		0.489			

2	S	1.955	9.02	501	1.00
	G	2.021	10.49	582	1.12
	H	1.362	2.30	128	0.26
	I	1.834	6.82	379	0.76
	J	1.593	3.91	217	0.43
	K	1.362	2.30	128	0.26
	L	2.642	43.85	2434	4.86
Standard error		0.174			
Difference between strains		0.567			

ほかならない。なおSの感受性を1とした時の、各個体群の耐性の相対的な数値を第4表の最後の欄にしめした。

この結果をみると、ひとつの系統からわかれたと称せられる13の個体群は、2年余のあいだにかなりちがったものになっていることがわかる。安富<sup>35,39</sup>は高槻系は遺伝学的に純系にちかく長期の淘汰にかかわらず抵抗性の増大する割合は比較的少いと述べ、一方塚本<sup>27</sup>、山崎<sup>31</sup>は高槻系は抵抗性のでやすい遺伝的に純粋なものでないという論述をおこなっている。不幸にして原系統が保存されていないし、また滴下処理法による DDT に対する LD<sub>50</sub> がしられていないため、いずれの研究機関において抵抗性が発達、または消失したということは言えないが、いまかりに DDT の抵抗性は、正常な状態においては相当期間低下消失しないとした場合 (Bruce and Decker<sup>3</sup>, D'Alessandro *et al.*<sup>5</sup>, D'Alessandro and Mariani<sup>6</sup>, Norton<sup>18</sup>) は

K, H, A が割合原系統にちかい個体群であると言えよう。これよりさらに感受性のたかいCの個体群は、飼育中生理的に異常なものに変化したと考えられるもののように、その雌雄比は第5表のごとく雌がはるかに少く、そのひとつの証明となる。また一方Dの個体群は、他の薬剤との交叉抵抗性をしらべた生物試験の結果から、外国からの感受性のCSMA系統が高槻系とされて送られて来たもののように考えられる。なおまたJは、K, H, Aなどにくらべると、3倍ちかい耐性をしめしているが、これは第4表にしめすごとく、先にのべたCとは逆に、雌を多く生ずるものに変化していた。I, E, およびS, Gと順次に高い耐性をしめしているが、さきのA, H, Kのあたりを原系統にちかいものとした場合は Decker and Bruce<sup>7</sup>, Knipling<sup>11</sup>らの定義する抵抗性といわれるものの範囲には入っていない。しかし実験室において生物試験用昆虫として、とくに注意されて飼育される系統でも、種々淘汰に関する要因の介入があつて、かなり耐性は増加するものといわなければならない。一方L, Bにおいて、高い抵抗性がみられたのは、長期にわたる累代飼育過程において、何らかの原因で淘汰がおこなわれたか、または他の抵抗性の高い系統の混入があつたと考えなければならない。

Table 5. Sex ratio ♀/(♂+♀) of populations C and J.

Pot	C	J
1	0.36	0.63
2	0.35	0.60
3	0.31	0.66
4	0.30	0.64
5	0.39	0.53
6	0.41	0.63
7	0.38	0.58
8	0.25	0.74
9	0.33	0.63
10	0.34	0.56
11	0.34	0.54
12	0.32	0.65
13	0.29	0.58
14	0.30	0.50
15	0.33	0.56
16	0.24	0.56
17	0.18	0.62
18	0.43	0.60
19	0.31	0.57
20	0.31	0.50

高槻系 イエバエが DDT にたいして抵抗性をもつにいたつたということは、すでに1952年頃、1, 2の研究機関からききおよび、その都度筆者は原系統の分離更新をはかつてきた。しかし文献としてこれが記載された最初は、Yamasaki<sup>20</sup>, Yamasaki and Narahashi<sup>30</sup>によるものであろう。すなわちその抵抗性の程度は、従来抵抗性の系統としてしられていた彦根系とほとんどひとしく、5000, 1000, 200, および40 μg/g で、致死率はそれぞれわづかに、11.8, 6.7, 6.8 および 3.3% にすぎなかつたことが発表された。もつとも日本の若干の系統が DDT にたいして抵抗性のあることは、山崎・石井<sup>20</sup>により学会において口頭による発表がなされ、これは先の Yamasaki and

Narahashi<sup>30)</sup>の文献に記載されている。

なおここで比較にもちいられた彦根系が DDT にたいして高い抵抗性をもつことを発表したのは、塚本・大井<sup>24)</sup>、Tsukamoto, et al.<sup>25)</sup>、塚本ら<sup>26)</sup>であり、1954, 55, 56年の成績は、イエバエ 1 匹あたりの DDT の量を 10 $\mu$ g から 500 $\mu$ g にまで増しても、致死率はあまりかわらず、各点をむすぶ線は横軸とほぼ平行になるので、中央致死葉量はもとめることが出来ないとのべた。もともと彦根市はマラリア撲滅のため DDT の散布が頻繁におこなわれた地域で、ここに産するイエバエ、ショウジョウバエが、いち早く欧米の抵抗性系統以上の高い抵抗性をしめたことは、うなづけるものとされた。Yamasaki<sup>29)</sup>によつて高槻系が彦根系におとらず、高い抵抗性をしめすことが発表されたことは、当時原系統を保存飼育していた筆者にとつては驚異に値する事実であつた。しかし上述の実験結果から、これはおそらく高槻系が、きわめて高い抵抗性を有する彦根系と同時に飼育されている過程において、彦根系の混入、あるいはこの系統がそのまま高槻系となつて累代飼育されるにいたつた結果によるか、または薬剤の淘汰によつて彦根系の有する抵抗性の程度にまでひきあげられたと考えられる。武衛・中島<sup>4)</sup>は彦根系においては 60 $\mu$ g でわずかに 2.1% の致死率を、高槻系においては LD<sub>50</sub>=147.8 $\mu$ g の数値をえているが、その後安富<sup>32)</sup>は、この彦根系と高槻系は同様に 60 $\mu$ g でわずかに 30% 程度の致死率しかえられなかつたこと、また北海道の羅臼村など数多くの僻遠地から採集したイエバエが、DDT との接触経験がないのに、いずれも彦根など DDT 散布の頻繁におこなわれた地域のもの、同じ程度の強さをしめすことをたしかめ、日本のイエバエ、すなわち *Musca domestica vicina* と称する種類は、もともと DDT に強い生理的な品種 physiological race ではなかつたろうかという考えを発表した。そして DDT で淘汰して抵抗性が発達した例は、欧米の *Musca domestica domestica* では、きわめて数多くの報告があるが、地中海から東南アジア、台湾、日本あるいは南米に分布する *M. d. vicina* では、DDT による駆除に失敗した例や調べてみると強かつたという例は若干あるが、感受性の系統が淘汰により DDT に抵抗性をましたという例はないことをあげている。そしてこれは、Brown<sup>2)</sup>の定義する DDT-refractoriness という言葉で表現するのが妥当かもしれないとして、日本のイエバエは実験室において DDT で長期間淘汰しても、それ以上にさほど顕著な抵抗性の増大はみとめられなかつたことを附記している。鈴木<sup>21), 22)</sup>は海老名、奄美、高槻各系統では LD<sub>50</sub> がハエ 1 匹あたり 60 $\mu$ g 以上におよび、正確な数値がえられなかつたとしている。なお、さら

にわが国の各地から採集した系統のうち、LD<sub>50</sub> が 60 $\mu$ g 以上の系統が 19 もあり、これからさらに高い範囲に抵抗性が分布しているものと推定されるとのべている。鈴木<sup>23)</sup>はまた、DDT については、感受性の系統はまったくみあたらず、したがつて抵抗性増大を要づける学問的証拠はないわけであるが、効力がかなり小さいことは認めざるをえないであろうという意見をのべている。

高槻系と称されるイエバエが、DDT の淘汰によつて抵抗性が付与されるか否かの詳細は、池本<sup>9)</sup>によつて発表されているが、それによれば高槻系は DDT の淘汰によつては抵抗性が発達しない。すなわち、高槻系が DDT にたいする抵抗性に関しては比較的純系であると解釈している安富<sup>32-36)</sup>の材料は、池本の実験成績によれば、本来の高槻系が数代にわたつて DDT で淘汰され、大体その最大値に達したものをさしているようである。しかし先に Hoskins and Nagasawa<sup>8)</sup>は、SCR 系が Sevin の淘汰によつて 10 代をへぬうちにきわめて高い抵抗性を獲得し、これがそのまま DDT に対して交叉抵抗性をしめすことがのべられている。それ故、高槻系が DDT の淘汰によつて DDT の抵抗性が増大しなくても、Sevin などの淘汰によつて薬剤感受性が変化し、これが DDT に交叉抵抗性をきたす原因となるであろうと考えることは可能である。Yamasaki<sup>29)</sup>、Yamasaki and Narahashi<sup>30)</sup>の成績が、安富<sup>32-35)</sup>、鈴木<sup>21-23)</sup>、池本<sup>9)</sup>のいう 60 $\mu$ g で 30% 程度の致死率をしめす最大値をこえているのは、他の薬剤でさらに若干淘汰がおこなわれた材料をもちいた結果によるものと考えられる。筆者の L, B の個体群において、LD<sub>50</sub> が 60 $\mu$ g をこえる数値をしめたのは、Yamasaki<sup>29)</sup>のもちいたと同様な個体群と DDT の淘汰によつて、さらに若干抵抗性の高まる可能性をもつ個体群が混在していたことによるものと解釈すべきであろう。

なお菅原<sup>20)</sup>は生物の感受性は種々の内的、外的条件によつて変動しやすいものであることから、簡単な calibration curve を作つておいて、後日標準薬剤なしで薬剤の試験をおこない、その結果を直接 calibration curve と比較評価することは危険であるとし、長沢<sup>16)</sup>がイエバエで逐次飼育集団別に  $\alpha$ -dl-trans-allethrin 石油液に対する感受性を比較して、かなりの変動のみられる成績をかかげ、つねに標準薬剤を同時に比較して、供試薬剤の効力を比較検討することがのぞましいことをのべている。これに対し山崎<sup>11)</sup>は「長沢の高槻系イエバエは、遺伝学的見地からは純系でないといわれている。長沢<sup>16)</sup>のデータにふれが多いのはこの不純さによるものではないかと思う。strain の重要性を強調したい」とのべている。

各研究機関に配布された高槻系イエバエが、いまかりに他系統が混入した事実なしに累代飼育されたとした場合、今回の本文において示した実験成績は、塚本<sup>27)</sup>また山崎<sup>31)</sup>の論述を証明するものといえよう。ただ $\alpha$ -dl-trans-allethrin 石油液に対する逐次飼育集団の感受性のふれ<sup>19)</sup>、これと全くおなじく  $\alpha$ ,  $\beta$ -DDT に対するふれの成績<sup>13)</sup>が全くこの不純さだけによるものとは思われない。どのように飼育のための環境条件、またその方法を規正しても、たとえそれがある薬剤感受性に関して純系であつたとしても飼育集団による感受性のふれを全くなくすることは不可能で、本文でのべた様な実験計画法にしたがつたのも、こうした変動を考慮しての措置にほかならない。

3. 供試昆虫の標準化：供試昆虫の系統の保存とその管理飼育には、相当注意してかかることが必要であることは、以上の成績からしても明白である。Chemical Specialities Manufactures Association (National Association of Insecticide and Disinfectant Manufactures, Inc. の前身)<sup>19)</sup>が、毎年一定期日に前年度の系統とその感受性を検定した上、傘下の試験研究機関に配布し、これを向う1ヶ年の供試昆虫たるべきことを指示しているが、これは飼育方法、飼育条件の規定と併せて考慮に値する問題であろう。一方多くの系統をひとつの場所で累代飼育する場合には、とくに混入の問題に注意が払われるべきであるが、薬剤抵抗性のごとき不可視の性質は、混入のうたがいがあつたとしても、その確認は容易でない。これに対するひとつの措置として、薬剤感受性に関与しない白眼、紅眼など外部可視の突然変異形質をもつて、標識しておくことが考えられる<sup>27)</sup>。

#### 摘 要

(1) いわゆる高槻系と称されて、わが国で殺虫剤の生物試験用昆虫にもちいられているイエバエの系統は1946年秋、高槻市で採集された1雌に出発するものである。2ヶ年余、13ヶ所に分散して飼育された本系統の DDT 感受性の様相を滴下法により、7×7のラテン方格法にもとづく斉整不完備型の実験計画にしたがって検討した。

(2) 高槻系イエバエの DDT に対する感受性は、飼育機関別にみてかなりことなつたものに変つていて、1雌あたりの LD<sub>50</sub> は 0.73~43.85 $\mu$ g の範囲にあつた。LD<sub>50</sub> が 2 $\mu$ g/♀ あたりが原系統にちかい集団である様に思われるが、これを証明しうる事実はない。しかし従来いわれている様に、本系統が DDT に対して30%程度の致死率しかしめさない程の高い抵抗性を持つているとは考えられない。

(3) 供試昆虫の標準化に関して、とくに標準系統の

保存と飼育管理に最大の注意が払われるべきで、ある機関において飼育保存、分配の管理にあたる事がのぞましい。また、多数の薬剤感受性に関する系統を1ヶ所で飼育する場合は、他系統の混入をさけるための措置として、感受性に関与しない外部可視の突然変異形質をもつて、これを標識しておくことが考えられる。

#### 文 献

- 1) Anonymous : *Soap Sanit. Chemicals, Blue Book*, 1948, 183 (1948)
- 2) Brown, A. W. A. : *Insecticide Resistance in Arthropods. WHO Monograph Ser. No. 38*, 240pp. (1958)
- 3) Bruce, W.N., Decker, G.C. : *Soap Sanit. Chemicals*, 26 (3), 122, 145 (1950).
- 4) 武衛和雄・中島貞夫 : 衛生動物, 11, 66 (1960)
- 5) D'Alessandro, G., Mariani, M., Gagliani, M. : *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 27, 1746 (1951)
- 6) D'Alessandro, G., Mariani M. : *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 29, 687 (1953)
- 7) Decker, G. C., Bruce, W. M. : *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 1, 395 (1952)
- 8) Hoskins, W.M., Nagasawa, S. : 防虫科学, 26, 115 (1961)
- 9) 池本 始 : 防虫科学, 27, 76 (1962)
- 10) 弥富喜三 : 衛生動物, 9, 107 (1958)
- 11) Knipling, E.G. : *Soap Sanit. Chemicals*, 26 (6), 87 (1950)
- 12) Moore, W., Bliss, C.I. : *J. Econ. Entomol.*, 35, 544 (1942)
- 13) 長沢純夫 : 防虫科学, 16, 161 (1951)
- 14) 長沢純夫 : 防虫科学, 17, 123 (1952)
- 15) 長沢純夫 : 植物防疫, 6, 393 (1952)
- 16) 長沢純夫 : 防虫科学, 21, 81 (1956)
- 17) 長沢純夫・岸野見知子 : 防虫科学, 24, 1 (1959)
- 18) Norton, R.J. : *Contribs. Boyce Thompson Inst.*, 17, 105 (1935)
- 19) 大沢済・長沢純夫 : 防虫科学, 7.8.9, 1 (1947)
- 20) 菅原寛夫 : 応動昆第3回シンポジウム記録 39 (1959)
- 21) 鈴木 猛 : 日本薬剤師協会雑誌, 10 (8), 15 (1958)
- 22) 鈴木 猛 : 日本の医学の1959年(第15回日本医学会総会学術集會記録), 2, 685 (1959)
- 23) 鈴木 猛 : 薬局, 10, 249 (1959)
- 24) 塚本増久・大垣昌弘 : 衛生動物, 7, 158 (1956)
- 25) Tsukamoto, M., Ogaki, M., Kobayashi, H. :

- Japanese Contr. to Insecticide-Resistance Problem*, 66 (1957)
- 26) 塚本増久・大垣昌弘・小林 弘: 衛生動物, 8, 118 (1957)
- 27) 塚本増久: 応動昆第6回シンポジウム記録, 応動昆, 6, 175 (1962)
- 28) 山崎輝男・石井敏夫: 昭和30年度応用動物応用昆虫合同大会講演要旨, 20 (1955)
- 29) Yamasaki, T.: *WHO Insecticides, 76, Seminar on the resistance of insects to insecticides, New Delhi, India, 27 February 7 March, 1958*, 143 (1958)
- 30) Yamasaki, T., Narahashi T.: 防虫科学, 23, 146 (1958)
- 31) 山崎輝男: 応動昆第3回シンポジウム記録, 41 (1959)
- 31) 山崎輝男: 応動昆第6回シンポジウム記録, 応動昆, 6, 175 (1962)
- 32) 安富和男: 衛生動物, 9, 85 (1958)
- 33) 安富和男: 衛生動物, 10, 92 (1959)
- 34) 安富和男: 衛生動物, 11, 202 (1960)
- 35) 安富和男: 衛生動物, 12, 36 (1961)
- 36) 安富和男: 植物防疫, 15, 213 (1961)
- 37) Yates, F.: *Ann. Eugerics*, 10, 317 (1940)

### Résumé

The so-called "Takatsuki" strain of the common house fly, *Musca domestica vicina* Macquardt, which has been used for the biological assay of insecticides in Japan is the offspring started from a single female collected at Takatsuki, Ohsaka, Japan in the autumn of 1946. Successive rearing of the original population of this strain was made at the Institute for Chemical Research, Kyoto University at Takatsuki for about 13 years without any intentional insecticide pressure. During these 13 years, this strain was distributed as an insecticidal test organism to the laboratories more than 20. When the insecticide bioassay laboratory at the institute mentioned above was closed in May 1959, this strain was distributed to the 17 laboratories to renew their Takatsuki strain or start the rearing of this strain newly.

In January 1962, the writer collected these populations of the Takatsuki strain and reared them separately at the present institute, then made an experiment to compare their suscepti-

bilities to DDT. These populations were denoted as A, B, C...L. As the standard of comparison, the writer used one of the strains originated from the Takatsuki strain which was obtained from the Institute for Chemical Research in May 1959 and has been reared in the Ihara Agricultural Chemicals Institute. This population was denoted as S. Larvae were reared on a mixture of residual products of "tofu" making and yeast powder<sup>15)</sup>. The diet of adult flies was sugar and water.

*p,p'*-DDT (m.p. 108°C), 2,2-bis-(*p*-chloro-phenyl)-1,1,1-trichloroethane, recrystallized from methanol was used for the present experiment. In the future paragraphs, *p,p'*-DDT will be described simply as DDT.

Flies, 3-4 days old, were lightly anaesthetized with carbon dioxide and sexed. Female flies, in groups of about 50 individuals, were kept in a glass cup having diameter of 9 cm and height of 5 cm. The cup was covered with nylon net and a cotton boll soaked up diluted milk was placed on it as diet for flies. After 24 hours, just prior to the application of insecticide, flies were anaesthetized again with carbon dioxide lightly. One  $\mu$ l of acetone solution of a given dosage of DDT was applied to the mesonotum of flies using a micrometer driven syringe. Acetone used as solvent was chemical pure. Nine concentrations of DDT obtained by a 1:1 (v./v.) serial dilution of a 100  $\mu$ g/ $\mu$ l solution were applied. After treatment, the flies were put back to the glass cup and diluted milk was given as diet in the same way. After 24 hours, moribund and dead flies were counted. Rearing of the house flies and experiment were carried out under a condition kept at ca 25°C and a relative humidity of 75%. Experiment was carried out following the balanced incomplete blocks design based upon a 7 by 7 latin square. About 50 individuals were used for each of 21 experiments varying in population and concentration, and a total of 14607 individuals were tested.

Based upon the result of experiment in terms of the relation between dosage ( $\mu$ g/fly) and mortality (%) for each population, dosage and corresponding mortality were transformed to logarithms and probits respectively, and their



relations were plotted on graph. The calculation of the regression lines and the  $\chi^2$ -test for the agreement between the experimental data and the calculated results were made from the corrected probits and weight starting with provisional estimates. If the individual slopes of the dosage-mortality regression lines did not differ from each other within the experimental error, these three regression lines could be represented by their combined slope. Further, if these combined slopes did not differ from day to day, 21 individual dosage-mortality regression lines could be represented by a single combined slope, and  $\log LD_{50}$  as calculated from the general equation using a single combined slope would be appropriate to use for the further discussion. Both possibilities could be tested by an analysis of variance between slopes in comparison with the residual variation about each individual curve. The result of analysis of variance of the data are shown in Table 1. As is seen in the figures of Table 1, the difference of slopes between days in experiment 2 is significant. It is concluded to be impossible to use a single combined slope in experiment 2 for the further calculation. Therefore the  $LD_{50}$ 's calculated from each dosage-mortality regression line will be used in both experiments 1 and 2 for the further calculation.

The corresponding  $LD_{50}$ 's are entered in the appropriate position in Table 2. The experimental result in balanced incomplete blocks, shown in Table 2, was analysed by the method which has been described by Yates<sup>37)</sup>, Moore and Bliss<sup>12)</sup>, so that mean toxicities may be adjusted on the bases of all available information. The figures shown in Table 4 are the averaged relative median lethal dosages of DDT to adults of the common house fly of thirteen different populations corrected for differences between days. As is seen in this table the medial lethal dosages of DDT to female adults of the common house fly of the Takatsuki strain are considerably variable with population.

Yasutomi<sup>35,36)</sup> described that the so-called Takatsuki strain is almostly homogeneous in the DDT-resistance and the development of DDT-resistance was not so big in spite of DDT-pre-

ssure extending over a long period of time. On the contrary, Tsukamoto<sup>27)</sup> and Yamasaki<sup>31)</sup> stated that the Takatsuki strain is easily developing the DDT-resistance or this strain is not homogeneous in DDT-resistance. Unfortunately, the original population of the so-called Tskatsuki strain was already died out and there are no experimental data on  $LD_{50}$  obtained by the topical application method. Therefore it is impossible to say that which population has gotten or lost DDT-resistance at the new laboratory condition after the dividing from the original strain.

When we assumed that the house flies maintain their DDT-tolerance for some generations free of DDT<sup>3,5,6,18)</sup>, it will be possible to say that the populations K, H and A are close to the original population which was reared at Takatsuki until May 1959. The susceptibility of the population C was larger than those of the populations K, H and A. It is seemed, however, that the physiological characters of the population C is not the same as before. It will be a proof for this assumption that, as shown in Table 5, the number of male flies obtained from a pot is much larger than that of female. On the contrary, in the population J, the number of female flies is little larger than that of male. It has shown about 3 times tolerance to DDT compared with the populations K, H and A.

The population D is also more sensitive to DDT than the populations K, H and A. However, this population is not seemed to be a offspring of the Takatsuki strain as its cross-resistant character to other insecticides is somewhat different from other populations. This population is considered to be a offspring of the CSMA strain imported from the U. S. A. The population I, E, S and K are about 3 times tolerant of DDT than A, H and K. On the other hand, the populations L and B have shown considerable high DDT-resistances. This is considered to be a result of accidental pressure of some insecticide during the successive rearing for many years or of the contamination of other resistant strains in the same rearing room.

The first time that the writer has heard from a laboratory about the development of DDT-resistance in the Takatsuki strain is 1952.

The first description about the DDT-resistance of the Takatsuki strain was made by Yamasaki<sup>29)</sup>, Yamasaki and Narahashi<sup>30)</sup>. They described that DDT was quite ineffective to both Hikone and Takatsuki strains, so that the calculation of LD<sub>50</sub> could not be made. They said that results are rather to be expected for them because the ineffectiveness of DDT against some strains of the house flies has already been demonstrated in their laboratory<sup>28)</sup>. They concluded that hence it can safely be said that both the Takatsuki and Hikone strains are resistant strain at least when tested by the method of topical application. Extremely high DDT-resistance in the Hikone strain was described by Tsukamoto and Ogaki<sup>31)</sup>, Tsukamoto *et al.*<sup>25, 26)</sup>. Although the writer was somewhat astonished when the reports by Yamasaki<sup>29)</sup>, Yamasaki and Narahashi<sup>30)</sup> were published, it is not impossible to consider that their Takatsuki strain was heavily contaminated with the Hikone strain when they used them for their experiment or their Takatsuki strain was selected to the extent to show the high resistance to DDT with any insecticidal pressure.

From the result of experiment mentioned above, the writer wishes to conclude as follows: The so-called Takatsuki strain is not so resistant

to DDT as the LD<sub>50</sub> can not be determined by the topical application method as described by Yamasaki<sup>29)</sup>, Yamasaki and Narahashi<sup>30)</sup>, Yasutomi<sup>23-30)</sup>, and Suzuki<sup>21-23)</sup>. On the development of DDT-resistance in the Takatsuki strain will be described by Ikemoto<sup>9)</sup> in the same bulletin. According to his experimental result, the Takatsuki strain tested by Yasutomi is seemed to be the offspring selected with DDT for some generations and reached to the maximum level of resistance. Hoskins and Nagasawa<sup>4)</sup> described that the SCR strain selected with Sevin showed a cross resistance to DDT. Therefore, the DDT-resistances found in writer's experiment are not all the result of DDT-selection.

The successive rearing of the original population of the standard strain should be carried out at a certain laboratory taking every possible care to avoid any insecticidal pressure, contamination of other strains, etc., and the distribution of strain should be made from that laboratory to other laboratories for their experimental use at regular intervals. Marking the strains with various visible mutant characters as white eye, carmine eye, etc., which are not concerned in the susceptibility to insecticide is considered to be a useful measure to avoid the contamination between strains.

---

**Development of DDT-Resistance in the So-called "Takatsuki" Strain of the House-fly, *Musca domestica vicina*.** Hajime IKEMOTO (Ihara Agricultural Chemicals Institute, Simizu) Received August 1, 1962. *Botyu-Kagaku*, 27, 76, 1962. (with English résumé, 78).

## 12. 高槻系イエバエの DDT 抵抗性の発達\* 池本 始 (イハラ農業研究所) 37. 8. 1 受理

高槻系イエバエの成虫を  $p, p'$ -DDT で淘汰したところ、わずか F<sub>0</sub> で抵抗性の増大はほぼ平衡に達した。雌は 1 匹あたり 60~100 $\gamma$  で 30% から 40% の致死率しかしめさないようになった。雄もかなり抵抗性を増加した。

高槻系イエバエ *Musca domestica vicina* Macquardt は  $p, p'$ -DDT (以下 DDT とする) にたいして雌 1 匹あたり 60 $\gamma$  の薬量で 30~32% の致死率しかしめさず、実験室において DDT で長期間淘汰してもそれ以上にさほど顕著な抵抗性の増大はみとめられないといわれている<sup>4, 9)</sup>。しかしイハラ農業研究所で飼育されている高槻系イエバエの雌 1 匹あたりの LD<sub>50</sub> (中央

致死薬量) は 10 $\gamma$  にすぎない。安富<sup>4, 9)</sup>によつて報告された高槻系イエバエはなんらかのかたちで DDT にたいして抵抗性が発達してきたものとかんがえられる。この点を検討するため著者は当所で飼育されている高槻系イエバエをつかつて DDT で淘汰をこころみた。その結果安富<sup>4, 9)</sup>の報告している高槻系イエバエの致死率とおなじ程度に抵抗性が発達したので次に報告することにした。

\* 昭和37年7月12日、日本応用動物昆虫学会東海支部第1回例会において発表した。