

that the barthrin-synergist combinations can hardly be applied for control of diazinon resistant houseflies.

All the degrees of synergism of pyrethrum synergists for dimethrin were higher than 2.0 in the both cases 1:1 and 1:4 of dimethrin synergist ratio, except MGK. In general, the combinations of dimethrin with pyrethrum synergists show higher order of synergism than the similar combinations of barthrin, and the degree of synergism for lethal effect against adult houseflies was higher than that of larva of the common house mosquito (*Culex pipiens pallens*). All the ratios in degree of synergism between both strains (res./sus.) showed such splendid property as higher than 1.0 in the both cases 1:1 and 1:4 of dimethrin-synergist ratio except MGK. The LD₅₀ ratio in synergized dimethrin against both strains (res./sus.) was lower than 1.5 except MGK, that is, the cross resistance was scarcely observed.

The resistance of both strains of houseflies against Sevin was in much higher level than that observed by other previous investigator. These insect would not be controlled by appli-

cation of Sevin alone. But, when Sevin was combined with all the synergist, these combinations showed remarkable synergistic effect on both strains of houseflies. When the Sevin-synergist ratio was 1:4, the degree of synergism of safroxan or piperonyl butoxide against resistant and susceptible houseflies showed such marvellous values as 1,817; 1,243 and 405; 317 respectively. All the ratios in degree of synergism between both strains (res./sus.) were higher than 1.0 in the both cases 1:1 and 1:4 of Sevin-synergist ratio, and all the LD₅₀ ratio of the synergized Sevin against both strains (res./sus.) were lower than 1.5 except sulfoxide (1:1). The cross resistance was scarcely observed.

By calculating the value (degree of synergistic action against resistant insect) × (ratio of synergistic action between both strains), we can compare the effectiveness of insecticides. The higher the value the better the synergized insecticide. Synergized Sevin or dimethrin with safroxan or piperonyl butoxide has superior effects on the resistant houseflies, and it can be applied for practical use.

The Relation between the Length of the Larval Period and Adult Susceptibilities to Insecticides in the Housefly. Kazuo BUÉI (Public Health Research Institute, Osaka-Fu, Osaka) and Yoshiharu FUKUHARA (Ikeda Health Center, Osaka-Fu, Ikeda, Osaka) Received Jan. 31, 1964. *Botyu-Kagaku*, 29, 9, 1964 (with English résumé. 14)

2. イエバエの幼虫期間の長さとの殺虫剤感受性との関係について* 武衛和雄(大阪府立公衆衛生研究所)・福原佳春(大阪府池田保健所) 39. 1. 31 受理

通常の感受性の高槻系統と DDT 抵抗性の JIR 系統のイエバエについて、蛹化の遅速によって early colony と late colony とにわけ、これを 15 代つづけて淘汰した。DDT に対する感受性を LD₅₀ で比較すると、early colony の感受性は高くなり、late colony は感受性の低い集団となった。γ-BHC に対しては colony による感受性ないし抵抗性の相異はみとめられなかつた。

筆者は前報¹⁾において抵抗性系統のイエバエは、感受性系統のそれにくらべて卵-幼虫の発育期間が長くなるという特異性のあることを報告した。そしてある系統のイエバエの集団の中に含まれる個体による感受性の相異について、大局的にみれば発育を早く完了した個体は殺虫剤に対する感受性が高く、発育のおくれた個体は感受性が低い集団であろうと類推した。Pimental et al.²⁾は同一集団のイエバエにおいても、最も早く蛹化したものは最も早く蛹化したものにく

らべて DDT に 10 倍も強かつたと報告し、Decker et al.³⁾は同じ培基からでもおそく羽化したイエバエの次代における感受性は、早く羽化したハエの次代における感受性とくらべて DDT に強かつたと報告している。さらに Mc Kenzie et al.⁴⁾は、このように早く蛹化した蛹とおそく蛹化した蛹とにわけるという淘汰をつづけてゆくと、ふたつの substrain のあいだの DDT に対する感受性がかなり異なってくることをみいだした。Kerr et al.⁵⁾も同様に DDT 抵抗

* 本報告の概要は、1961年4月3日(久留米)、1962年4月5日(千葉)日本衛生動物学会大会において発表

Table 1. A process of splitting each one of the two strains of housefly into an early and a late colonies by successive selection.

	Gener- ation	Early colony				Late colony			
		Number of individuals	Oviposition to mid-pupation	First to last pupation	Percent of splitt- ing ¹⁾	Number of individuals	Mid-to last pupation after ovi- position	First to last pupation	Percent of splitting ²⁾
Takatsuki strain	1	—	—	—	—	—	—	—	—
	2	1357	5-7	5-9	15.6	—	—	—	—
	3	845	5-6	5-8	39.6	—	—	—	—
	4	1069	5-6	5-8	43.0	—	—	—	—
	5	672	5-6	5-8	42.0	—	6-9	5-9	—
	6	1230	—	—	49.8	1040	7-8	5-8	36.6
	7	754	5	5-7	47.0	800	8-9	7-9	11.5
	8	1458	5	5-8	36.6	—	—	—	—
	9	1646	5	5-8	11.7	—	8-9	5-9	—
	10	766	5-6	5-7	48.3	—	8-9	6-9	—
	11	1888	4	4-7	23.2	477	8-10	6-10	36.7
	12	1447	5-6	5-7	28.5	—	—	—	—
	13	1214	5	5-7	25.5	570	6-9	5-9	71.9
	14	830	5	5-6	44.5	1690	7-8	6-8	34.5
	15	—	—	—	—	1291	8-9	6-9	19.9
JIR strain	1	2000	4-7	4-11	20.3	2000	8-11	4-11	13.9
	2	1482	5-6	5-9	45.7	780	9-10	7-10	46.4
	3	1684	6-7	6-9	29.7	708	9-10	6-9	49.4
	4	1049	5-6	5-9	38.3	969	10-12	7-12	45.3
	5	1147	5	5-8	39.4	1430	11-13	9-13	50.9
	6	885	6-7	6-8	51.2	888	8-11	10-11	62.7
	7	848	4-6	4-7	27.6	924	8-10	6-11	35.3
	8	1323	4-6	4-8	30.2	857	7-9	5-9	36.9
	9	—	—	—	—	941	6-9	7-9	43.0
	10	919	4	4-6	9.8	884	5-9	8-9	58.6
	11	316	4	4-6	61.4	900	6-9	8-9	69.4
	12	569	4-6	4-8	39.2	1428	10-11	8-11	43.9
	13	927	5	5-8	43.6	984	8-10	6-10	46.4
	14	1675	5	5-7	49.7	844	8-9	5-9	51.2
	15	2736	5	5-7	30.1	875	7-9	5-9	38.7

1) From first to mid-pupated individuals / Number of all pupae × 100

2) From mid- to last-pupated individuals / Number of all pupae × 100

3) Not recorded in blank spaces.

性のイエバエについて、おそく羽化したハエをつづけて淘汰してゆくと、同じ系統を毎代 DDT で淘汰したものとくらべて DDT 抵抗性のレベルはそれほど衰えなかつたことをみとめている。

この報告は、感受性系統と抵抗性系統のイエバエについて、早く蛹化した集団とおそく蛹化した集団とにわけ、これを累代つづけて淘汰してゆくと、DDT や γ -BHC に対する感受性がどのように変動してゆくかをしるために行なつたもので、実験室における飼育過程においてしばしばみうけられる予期しない感受性の変動や、抵抗性の発達や消失のおこるひとつの要因を究明しようとしたものである。

本文にはいるにさきだち、日頃ご懇切な指導をいただいている当所梶原三郎所長と、研究上種々の御援助、御助言を仰いだ大阪大学医学部遺伝学教室の塚本増久博士に対し感謝申しあげる。

実験材料および方法

供試したイエバエは、高槻系および JIR 系である。実験は 1961 年 2 月よりはじめ、高槻系は当研究室で累代飼育中の集団から出発し、JIR 系は 1959 年に大阪大学医学部遺伝学教室において日本各地よりの混合集団を DDT で淘汰した抵抗性系統で、分与をうけた後一代増殖させたものから出発した。

ミルクを浸した脱脂綿を成虫のかごの中に 4 時間いれて産卵させ、幼虫は小麦ふすまと魚粉の混合培基で飼育した。産卵後 3 日目に、成育中の幼虫を飼育培基からとりだして飼育密度を観察し、1 ポットあたり 700~1000 個体くらいになるように調整して飼育をつづけた。早く蛹化した個体群 early colony は蛹化がはじまつておおむね第 1 ないし第 2 日までの蛹をとり、それ以後に蛹化した個体群を late colony となすけた。この淘汰は毎代くりかえし、15 世代までつづけた。同時にこのような淘汰を行なわないものを対照 check colony として比較にあてた。

供試薬剤には technical DDT (*p, p'*-DDT 80%)

Table 2. LD₅₀'s in μ g per female fly for DDT and γ -BHC obtained with the early, late and check colonies of Takatsuki and JIR strains.

	Generation	Takatsuki			JIR		
		Early	Late	Check	Early	Late	Check
DDT	F ₁₅	3.688	43.157	6.346	2.413	>38.4	46.975
	F ₂₀	0.807	11.987	2.585	6.450	>38.4	>38.4
	F ₂₅	1.518	31.844	3.230	7.761	>38.4	>38.4
	F ₃₀	1.038	13.256	2.355	0.535	>38.4	>38.4
	F ₅₀	—	—	—	4.648	9.507	>38.4
γ -BHC	F ₂	0.222	—	0.117	0.264	0.335	0.424
	F ₃	—	—	—	—	—	0.406
	F ₄	—	—	—	0.614	0.118	—
	F ₅	0.077	—	—	0.330	0.343	—
	F ₆	0.100	0.128	—	—	0.330	0.444
	F ₇	0.228	0.061	—	0.250	0.116	0.081
	F ₈	0.166	—	—	0.104	0.150	—
	F ₉	0.071	—	0.040	0.161	0.200	0.091
	F ₁₀	—	—	—	0.310	0.182	0.133
	F ₁₁	0.065	0.047	—	0.272	0.150	—
	F ₁₂	0.077	—	—	—	0.161	0.026
	F ₁₃	0.105	0.114	0.141	0.891	0.293	0.215
	F ₁₄	0.050	0.100	—	0.552	0.368	0.058
	F ₁₅	0.064	0.014	0.142	0.394	0.251	0.098
	F ₁₇	0.084	0.085	—	0.536	0.778	0.488
	F ₂₀	0.072	0.143	0.178	0.388	0.671	0.291
	F ₂₅	0.082	0.331	0.137	0.125	0.959	0.348
F ₃₀	0.096	0.590	0.111	0.072	0.690	0.674	
F ₅₀	—	—	—	0.257	0.899	0.594	

含有) または γ -BHC (lindane) のアセトン溶液を用いた。殺虫剤処理は microsyringe を用いてメスの胸背部に薬液 0.6 μ l を滴下する topical application 法により、処理室温 25° において 24 時間放置したのちの死虫数を観察した。この殺虫試験にあてたイエバエは、その世代では両 colony とも発育期間の長さによる区別をせず、すべての蛹を羽化させたものから任意に抽出し実験に供した。

実験結果と考察

各世代における淘汰の概況は第 1 表に示すとおりで、高槻系の early colony では全個体数の 11.7~49.8%, late colony では 11.5~71.9% が分割されている。また JIR 系の early colony は 9.8~61.4%, late colony は 13.9~69.4% が分割されていることを示す。全般的な傾向として、15 世代にわたる淘汰のあいだに early colony では最初の蛹化から最終の蛹化を完了するまでの発育所要日数が代を重ねるにしたがつて短縮され、逆に late colony では長くなる傾向がうかがわれる。

2 系統の DDT および γ -BHC に対する世代別の感受性を LD₅₀ (μ g)/♀ fly で示したのが第 2 表である。

すなわち、高槻系の 3 つの colony の DDT に対する感受性は、発育期間についての両方向への淘汰後ではかなり異なっており、F₁₅ 世代において early colony の LD₅₀ 値は check colony のそれより 0.58 倍と感受性が高く、late colony の LD₅₀ 値は逆に check colony のそれにくらべて 6.80 倍も抵抗性である。このようなちがいは淘汰をやめてもそれほど変わらず、F₃₀ 世代をへても F₁₅ 世代で示された LD₅₀ 値とほぼ同じレベルの開きを保っている。そこで各 colony についてえられた世代別の DDT に対する測定値が、すべて同じ母集団からの無作為抽出標本であると仮定し、分散分析法によつて分散比 F を求め、 F テストとして検定したところ、危険率 1% の水準で有意となった。これは幼虫期間の長さによる淘汰の結果、各 colony の DDT に対する感受性がそれぞれ異なる集団であるとみなすことができる。

つぎに γ -BHC に対する感受性を比較してみると、淘汰が行なわれている F₁₅ 世代あたりまでは世代の移行にともなう変動の方が大きくて、各 colony のあいだの LD₅₀ 値のひらきに有意差がないように考えられたが、F₂₀ 世代あたりからそれらの差がひらいて、しかも LD₅₀ 値はほぼ平衡のレベルを保っている。ここで同様に分散分析によつて F テストを行なつてみると、5% 水準においてもなお有意差はみとめられなかった。即ちこれらの colony はすべて同じ母集団から

の抽出標本であるとみなすことができ、 γ -BHC に対する感受性は、colony による差が認められない。

殺虫剤の生物試験においては、用いようとする供試昆虫が感受性の変異の幅のせまいでできるだけ個体のそろつたものであることが要求され、本邦ではいわゆる高槻系イエバエが標準系統として多くの試験研究機関でひろく用いられている。長沢⁹⁾ は高槻系イエバエの DDT に対する集団による感受性のふれについて論じ、感受性にふれがあらわれるのは単にその系統の不純さだけによるものでなく、飼育のための環境条件や方法をいかに規正しても、たとえそれが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あるとのべている⁹⁾。また長沢は高槻系イエバエの p, p' -DDT¹⁰⁾ に対する感受性は LD₅₀ が 2 μ g/♀ あたりであり、 γ -BHC¹¹⁾ では 0.10~0.14 μ g/♀ が原系統にちかい集団であろうと推察している。筆者の実験結果から世代の移行による長期変動を check colony についてみると、LD₅₀ が tech-DDT では 2.355~6.346 μ g の範囲で (p, p' -DDT には著しく抵抗性であり、LD₅₀ 値を計算することが不可能であつた)、 γ -BHC では 0.040~0.178 μ g の範囲でふれている。それが一定の週期を追つて感受性がふれるかどうかはわからない。このような原因が塚本¹⁰⁾ のいう遺伝的に homogenous でなく集団中に感受性と抵抗性の遺伝子が混つているために変動するものと考えらるならば、長期にわたる飼育過程において CSMA 系のような感受性の高いイエバエとか、あるいは抵抗性のイエバエの混入がおこつていなかつたかをあらためて検討する必要がおこつてくる。しかしここでは高槻系統が不純であつたかどうかを論ずるのが目的ではないが、DDT に対して示された感受性から、結果的にみて early colony と late colony がもとの check colony とは感受性の異なる集団となつていることは疑いないであろう。

JIR 系統は、この実験にはいるまえに塚本が大阪大学遺伝学教室において 1 年以上 DDT による淘汰をつづけ、LD₅₀ が 100 μ g/♀ をこえる抵抗性を示していた系統であり、また γ -BHC に対しても交差抵抗性がみとめられた。発育速度による 3 つの colony について F₁₅ 世代における DDT に対する抵抗性を LD₅₀ 値で比較してみると、early colony は check colony の 0.05 倍という高い感受性を示している。その後世代の移行とともに若干のふれはあつても感受性が高いことには変りなく、高槻系の check colony にちかい LD₅₀ 値を示していることに気がつく。これは抵抗性がかなり消失した colony であるといえよう。一方、late colony や check colony の抵抗性はかなり強く 38.4 μ g の DDT で処理してももはや 50% 以下の致

死率しか求められなかつた。この系統は実験期間を通じて、DDT による抵抗性についての淘汰を行なっていないので、世代の移行とともに抵抗性遺伝子についても種々の遺伝子型の個体が入り混つて分離してくることが推測されるので、世代によつてその LD₅₀ 値に大きいふれがあらわれても不思議でないことは当然予想されよう。

この傾向は γ -BHC についても顕著にみとめられ、たとえば check colony では 50 世代のあいだに 0.026 ~ 0.674 μ g の変動がみられる。各 colony 間に有意差があるかどうかを分散分析によつて F テストとして検定してみると、危険率 5% の水準でも有意差はみとめられなかつた。高槻系と同様にあとの世代になつて colony 間に差が認められるのは、 γ -BHC に対する感受性がたんに発育期間の長短にわけたことが原因であるとの想定は受けいれがたい。

Mc Kenzie et al.⁹ は、DDT 抵抗性のイエバエにこのような淘汰をつづけてゆくと、early colony はわずかに DDT に対する抵抗性が減退したが、late colony では 6~8 倍増大したと報告しており、さきにしるした高槻系のばあいもきわめてよくこれと合致している。しかし late colony をさらに長期間淘汰

をつづけてゆくと、DDT 抵抗性は徐々に減退したと示してあるが、筆者の成績では 2 系統ともそれほど変わらず、むしろ LD₅₀ のレベルが平衡状態にあつた。これは各 colony が淘汰によつて遺伝的にもかなり固定されている結果であると解釈できる。

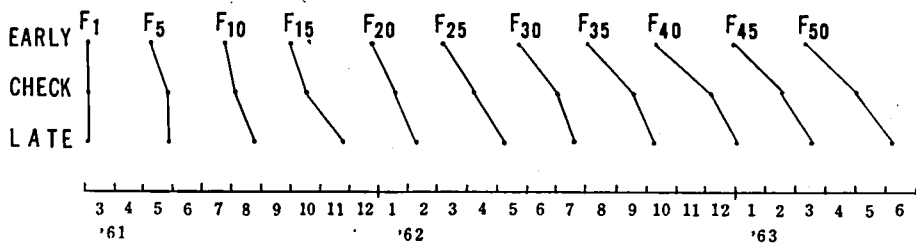
以上の実験を通じて early colony と late colony が淘汰をしない check colony とくらべて、前者は DDT に対する感受性が高くなり、後者は低い集団になることが明らかになつた。しかし γ -BHC については全く関係がないように思われる。これは単なるひとつの抵抗性に関する対立遺伝子とは全く別個の遺伝子が関与しているためか、あるいは単に発育の遅速によつて分かれたふたつの集団中の抵抗性または感受性遺伝子頻度が異なるためにおこつたものかもわからない。実験室において抵抗性のハエを継続飼育してゆく過程において、しばしばその抵抗性が減退したり消失したりする例が知られているが、このように発育期間の長短によつて意識的にわけるという方法をとつてゆくならば、発達した抵抗性を消失させずに長期間にわたつて保持させてゆくことも可能ではないかと考えられる。

JIR 系の early colony (F₁₀) と late colony (F₁₀)

Table 3. Comparison of various biological natures between early and late colonies of JIR strain.

Colony	Early (F ₁₀)	Late (F ₁₀)	Ratio (Late/Early)	
Length of larval period (day)	5.3 ± 1.17	7.6 ± 0.89	1.43*	
Length of pupal period (day)	♂	4.1	4.9	1.20
	♀	4.2	5.0	1.19
Percent pupation	82.8	98.5	1.19	
Percent emergence	84.4	65.3	0.77	
Sex ratio (♂/♂ + ♀ × 100)	51.5	55.1	1.07	
Mean body weights of pupae (mg)	18.1 ± 2.14	19.4 ± 1.19	1.07	

*F significant at p < 0.05



の発育期間、蛹化率、羽化率、性比および蛹の体重を同時に飼育して比較観察したのが第3表である。この結果によれば、late colony の幼虫の平均発育所要日数は、early colony のそれと比較して1.4倍有意的に長くなった。しかし蛹の体重は両者間に有意な差はみとめられなかつた。JIR系の累代飼育を通じて、毎代羽化した日を各colonyについて記録をたどつて作図したのが第1図で、相互の発育のずれが明瞭に示されている。

ま と め

1. 通常受感性の高槻系統と DDT 抵抗性の JIR 系統のイエバエについて、早く蛹化した集団 (early colony) とおそく蛹化した集団 (late colony) とにわけ、これを 15 代にわたつてつづけて淘汰した。

2. F_{15} 世代におけるふたつの colony の DDT に対する感受性を LD_{50} で比較すると、高槻系の early colony は淘汰しない check colony にくらべて 0.58 倍感受性が高く、late colony は check colony のそれにくらべて 6.80 倍抵抗性が増大した。また JIR 系では early colony の LD_{50} は、check colony のその 0.05 倍の高い感受性を示した。これらの関係は淘汰をやめた後にも長い世代にわたつて平衡を保つていた。

3. 一方、 γ -BHC に対してはいずれの系統も colony による感受性ないし抵抗性の相異は認められなかつた。

4. この淘汰をつづけてゆくことにより、JIR 系の late colony (F_{16}) の幼虫の平均発育所要日数は、early colony (F_{19}) のそれにくらべて 1.4 倍長くなった。

文 献

- 1) 武衛和雄：防虫科学 28, 98 (1963).
- 2) DECKER, G. C. and BRUCE, W. N.: *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 1, 395 (1952).
- 3) KERR, R. W., VENABLES, D. G., ROULSTON, W. J. and SCHNITZERLING, H. J.: *Nature*, 180, 1132 (1957).
- 4) Mc KENZIE, R. E. and HOSKINS, W. M.: *J. Econ. Ent.*, 47, 984 (1954).
- 5) 長沢純夫：防虫科学 16, 161 (1951).
- 6) 長沢純夫：防虫科学 27, 67 (1962).

- 7) 長沢純夫：防虫科学 27, 108 (1962).
- 8) PIMENTAL, D., DEWAY, J. E. and SCHWARDT, H. H.: *J. Econ. Ent.*, 44, 477 (1951).
- 9) 塚本増久：植物防疫 15, 199 (1961).
- 10) 塚本増久：応動昆 6, 175 (1962).

Summary

The author has carried out the experiments to determine whether successive selections for early or late pupations would be effective or not in splitting a strain into two colonies of different susceptibility to DDT.

For this purpose, both a normal Takatsuki strain, and a DDT resistant JIR strain, of the housefly, *Musca domestica vicina* Macq., were successively selected for these two directions.

After the selections through 15 generations, somewhat significant differences of the length of the larval period were observed between early and late colonies.

LD_{50} in micrograms per female fly for DDT was evaluated on early, late and check colonies (unselected) of the two strains in each generation. As the results, it was observed that, in the F_{15} generation, the susceptibility of the early colony of Takatsuki strain was decreased by 0.58 times and the late colony increased by 6.80 times as compared with that of the check colony. In the case of JIR strain, the resistance of the early colony in the same generation was decreased by 0.05 times. After finishing the selection through 15 generations, LD_{50} of each colony at the generation was unchanged there after appreciably through 30 to 50 generations.

Similar experiments were also performed on the susceptibility to γ -BHC. In this case, the early and late colonies were selected through 15 generations and then free from the selection for successive 15 generations. No significant difference of the susceptibility to γ -BHC was observed between the early and late colonies of the two strains.