

On the Single-pair Culture of the Common House Fly, *Musca domestica vicina* Macq. Ecological Studies of the Flies of Medical Importance. II. Kazuo BUEI (Osaka Prefectural Institute of Hygiene). Received Sep. 12, 1958. *Botyu-Kagaku*, 23, 177, 1958 (with English résumé, 181).

32. イエバエの1対飼育について* 蠅族重要群の生態学的研究 第2報 武衛和雄 (大阪府立衛生研究所) 33. 9. 12 受理

イエバエの殺虫剤に対する抵抗性の発達や実験生態学上の研究に雌雄1対の飼育を必要とする場合が多い。本報はこれらの目的に最も簡易と考えられる飼育方法について報告し、あわせて飼育の過程における諸問題について考察を行った。

ま え が き

昆虫の殺虫剤に対する抵抗性発達の問題が重要になっており、各地で種々の昆虫について研究が行われているが、公衆衛生学的見地から殺虫剤の抵抗性発達について重要視されているのはイエバエで、その発達の程度もきわめて高いと考えられている。抵抗性の発達、増大や遺伝性については、ショウジョウバエを材料としてかなり詳細な研究が行われているが、このような研究にあたっては、遺伝的に純粋に近い系統 isogenic strain を用いることが必要となってくる。しかしながら、イエバエはショウジョウバエのように1対飼育が容易でなく、とくに系統的に子孫を継がせてゆくことには種々の困難がともないやすい。

イエバエの1対飼育にかんしては、生態学的研究の立場から古くは Bishopp ら³⁾、Hutchison¹⁴⁾ など若干の人々によって行われたが、これらの研究では少数の卵をえたにすぎず、産卵に抑制のあらわれる原因が psychological factor にもとづくためであろうと考えられた。のち、Dunn⁸⁾、Feldman-Muhsam⁹⁾、Hampton¹³⁾ はそれぞれ異った飼育方法を考え、1対飼育の可能であることを示している。これらの問題が再検討されてきたのはごく最近のことで、イエバエが DDT その他の塩素系殺虫剤に対する抵抗性の発達が論議されるようになったため、Lichtwardt ら¹⁵⁾、Greenberg¹¹⁾、Barbesgaard and Keiding¹⁾ は抵抗性の遺伝的解析を行う上に必要な同系交配を行って、等遺伝質系をつくりあげることが可能であることを報告している。

著者^{5,6)} はまえにイエバエの大量飼育法について報告したが、この方法をそのまま1対飼育に適用させることには種々の困難がともないやすいことがわかった。また1対飼育のなかで幼虫期の飼育に広く用いられている CSMA 培基はわが国では材料が容易に入手できない。このような点を補足させる意味から種々の検討

を加え、1対飼育に最も容易で適切と考えられる方法を報告し、あわせて実験の過程において生ずる諸問題について考察を加えた。

稿をすすめるにさきだち、この研究に御指導を仰ぎかつ激励して下さった京都府立医科大学小林晴治郎博士、大阪市立大学医学部田中英雄博士に對し、またかすかずの有益な御助言と文献の供覧に御便宜を与えられた京都大学農学部内田俊郎博士と 同学化学研究所長沢純夫博士に對し満腔の謝意を表する。

飼 育 方 法

1. 成虫期の飼育：羽化した雌雄1対のイエバエは 15×15×20 cm の金網籠 (第1図, B) にうつす。籠は手前に袖をつけて内部の操作が自由にできるようにし、他の面はすべて金網とし恒温器内 (第1図, A) に格納したが、内部に 10W 蛍光灯をとりつけて籠の内部に光が充分にあたるようにして交尾・産卵の刺激を与えた。湿度の保持は恒温器の下層に水盤を設けて調節したが、温度 25~29° において関係湿度 40~50 %を保った。

蠅はシャーレに収容したまま羽化させたが、成虫を1対ずつ籠にふりわけける操作ははなはだわずらわしく時間を要するものであるが、大型の籠の中に一たん蠅を放ったのち、たちちに捕獲して収容するようにした。エーテルやクロロホルム麻酔を行うと、個体により短時日で死亡したり、生殖能力にも影響することがあるからさけるべきであると思考されるからである。Lichtwardt ら¹⁵⁾、酒井ら²³⁾ はこのような欠点を排除する目的から炭酸ガスを用いた。

成虫の食餌として スキムミルク 11g および蜂蜜約 5g を水 180 cc に溶かし、これを綿花に浸して直径 5 cm の時計皿にいれた。これは毎日新鮮なものと交換するが、この液が多すぎると腐敗を早めたり、膨脹して蠅が溺死する危険があるから、浸漬する量を規制することが必要である。イエバエの卵巣発育に必要な栄

* 本報告の概要は昭和31年11月4日日本衛生動物学会西日本支部大会 (大阪) にて発表。

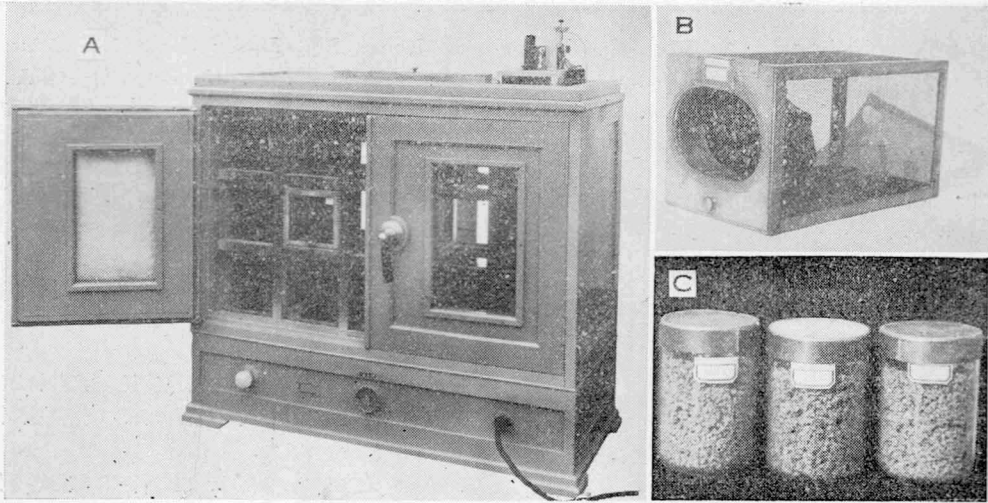


Fig. 1. A : Thermostat for single-pair culture. B : Breeding cage of fly. C : Breeding jar of larva.

養条件として、蛋白質と糖類があり^{10, 12, 17, 22)}、ミルクとは別個に2%蔗糖水を20cc容の瓶にいれ、綿花に吸引させて与えた。これは3~4日毎に新しいものとりかえればよいが、綿花にかびが生ずると死亡する原因となりやすい。またミルクのみで飼育すると成虫の生存日数は短縮した。交尾は羽化後2~3日目に行われるのが普通である。

2. 産卵方法：受精した雌はミルクを浸した綿花の下部にうみつけるが、綿花が過湿の場合は産卵をさける傾向がある。したがって産卵培养基を別個に設けてやる方がよいと思われる。後述の幼虫飼育培养基を直径5cmの腰高シャーレにいれて夕刻籠内に設置し、翌朝これを取りだして産卵の有無をたしかめた。産卵はほとんどこの培养基内で行われ、綿花にうみつけれられることは少いことがわかった。

イエバエの生殖産卵は25~29°、関係湿度40~50%における環境条件が最適であると思われる。

3. 幼虫期の飼育：成虫が産卵した綿花や産卵培养基はただちに幼虫培养基にうつすが、1ポットあたりの培养基は次の割合に配合する。

小麦フスマ	25 g
飼料用魚粉	10 g
ビール酵母粉末(エビオス)	1 g

これを十分に混和したのち、約40ccの水でねる。フスマは約10メッシュの篩に軽くとおして篩に残る荒い片切のものを、魚粉は篩をとおした細かいものを用いる。

飼育瓶は直径5.5cm、高さ9cm、約100cc容のもので、50メッシュの金網蓋でおおうようにした(第1図、C)。

幼虫培养基は27°前後で飼育に使用するのが最適で、低温では幼虫体の発育がおもわしくない。幼虫の飼育に難点と考えられるのは培养基にかびが生じやすいことで、とくに梅雨ときにはなはだしく、そのため発育途中で幼虫が多数死亡してしまう。かびの防止に加納¹⁵⁾はマーゾニン液を、Hammen¹²⁾は0.3%のTego-sept-M (methyl-*p*-hydroxybenzoate)を用いたが、市販の防かび剤について実験した結果ではおもわしい効果をあげることはできなかった。またBorn⁴⁾は卵をうえつけて48時間後に培养基の上層に砂をもるとかびの繁殖を抑制できると報告している。この方法によってある程度の抑制は可能であったが、蛹の大きさが不そろいになって倭小な蛹を生じやすく、また羽化率が低下するのでこのような少量飼育には適さない。現在のところかびの抑制に適確な方法はなく、前報⁷⁾に報告したように密度効果との関係をして、幼虫の密度に最適な条件に近くしてやるように規制し、蛹化後はできるだけ早くシャーレにうつしかえるようにした。

シャーレにうつした蛹は、低湿度の状態におくと羽化率が低下し、また翅の不完全な個体を生じやすいから、関係湿度70~90%に保つようにした。

本飼育法についての考察

イエバエを1対飼育によって交尾産卵させ、次世代へとうけついでゆくことは比較的困難であると考えられたが、成虫の栄養、光に対する刺激、飼育籠の空間などの点を考慮して既述のような方法を考案した。1対飼育にかんするこれまでの諸業績を要約して第1表にまとめた。この表からも明らかなように、成虫の餌にミルクを用いたものが圧倒的に多く、生殖産卵に好

Table 1. Review on the history of studies on the single-pair culture of the common house fly.

Author	Adult		Culture medium for larval stage	Temp. °C
	Variety of breeding-case	Food		
Bishopp, Dove, and Parman (1915)	—	Milk, peach, horse manure	Horse manure	30 (mean)
Hutchison (1916)	Cage 22" high × 12" square	Banana, bread, corn syrup, horse manure	Horse manure, pig manure and bran mixture	22—23 (mean)
Dunn (1923)	Dietz lantern globe	Milk	Horse manure	
Feldman-Muhsam (1944)	—	Diluted milk	Cow dung	27
Hampton (1952)	Cage 6×6×6"	Milk	Guinea-pig meal	
Greenberg (1955)	Corn cage (11 cm high × 5 cm base diameter)	Milk and honey	—	25
Lichtwardt, Bruce, and Decker (1955)	Pint paper can	Diluted milk added fly powder	NAIDM medium, dark Karo syrup, baker's yeast, brewer's yeast	
Barbesgaard, and Keiding (1955)	Cylinder of blotting paper (8.5 cm high × 9 cm diameter)	Piece of cake made of dried whole milk and sugar candy (2:1) mixed with water and dry, then soaked in milk	Modified Peet-Grady medium (50g.)	
Hammen (1956)	Half-pint milk bottle (<i>Drosophila</i> culture bottle)	Dried whole milk, dried brewer's yeast, sucrose	} in 1.5% agar	32
Buéli (this paper)	Cage 15×15×20 cm	Diluted milk and honey		
			Wheat bran, powder of fish scrap, dried brewer's yeast	29

適であることを示している。長沢^{20,21)}が大量飼育に用いている小麦粉糊をあたえて、これをミルクの場合との生殖能力を比較してみたが、25°以上では両者間に大差はなく、小麦粉糊を与えても目的は達しうと思われる。(しかし糊が粘ついて蝇がこれに付着したまゝ死亡することがある。)低温では両者間の産卵にひらきがあらわれ、この実験の目的には適さなくなる。ペプトン水^{5,6,17)}についてもこの飼育には好適であるが、腐敗しやすいため毎回滅菌を行う操作が非常にわずらわしい。このように種々の飼料を比較してみるとミルクは最も簡便で理想的な飼料といえよう。Hammen¹⁹⁾は糖類を3.5%以上の濃度にするで生殖能力が低下すると報告したことは注目すべきであろう。

25—29°で飼育した成虫の卵塊数および産卵数をヒストグラムで示せば第2図のとおりである。個体はできるだけ大きさの均等なものを選び、各個体が産卵期間中にうんだ卵塊 egg batch のうち最高の卵数で示した。雌の産卵塊数は生存期間によって異なるが、平

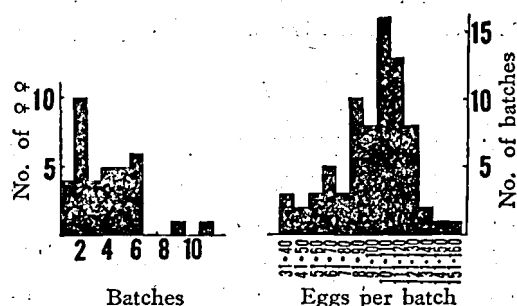


Fig. 2. Histogram for the distribution of number of batches per female and eggs per batch by single-pair culture of the common house fly.

均 3.81 ± 4.64 を示し、最高 11 を記録した。また一卵塊あたりの卵数は最高 153、平均 98.03 ± 26.40 で、mode は 101—110 個であった。

25°における雌の生存日数は最高 59 日、最低 13 日、

平均 32.8 日を示したが、日数の経過とともに翅の損傷（特に先端がすりきれるものが多い）がめだって飛翔が不活潑となってくる。Roubaud²²⁾ は後期に生殖能力が低下するのは翅の破損が一原因であると考えた。このような損傷を最小限度にとどめ、かつ限られた面積内に（恒温器）多数の飼育区を設けようとする場合には、籠は更に小さくしても差支えないと思われる。

1 対飼育において能率のよい産卵を期待するためには産卵培养基を設けるのも一方法であるが、産卵に直接影響する重要な存在である雄が健全であることは決定的な条件であるとみてよい。たとえ交尾をおえた雌でも、その後雄が死亡したり不健全であると産卵状態は異常をきたし、産卵数が非常に少なかったり、産卵前期間が著しく長くなる場合が多く、またその孵化率もきわめて低い。同様な事実は Mackerras¹⁹⁾ が *Lucilia* において認めており、雄の存在は雌の産卵を刺激する直接の要因となるらしい。

幼虫の飼育にあたって培养基からできるだけ多くの個体を得られること、またその大きさのそろった健全な個体群であることがのぞましい。このことについては前報⁷⁾ において詳しく報告した。1 対飼育でえられる卵数は大体 100 個前後であるから、本飼育培养基の量は 27° において最適状態にあると思われる。培养基と水分量の関係について Basden²⁾、北岡¹⁶⁾ は均一な個体をうるための重要な因子であると報告したが、本培养基の場合とくに小麦フスマの質によっては水分量を加減することが必要である。低湿度の環境下で飼育するととくにその影響があらわれて、培养基の上層が乾燥するために固化して幼虫の発育を阻害し、蛹の大きさが不そろいになりやすい。したがって規定した水分量についてもなおこの点は留意すべきであろう。

ま と め

イエバエの実験生態学上の研究や殺虫剤抵抗性の研究に必要な 1 対飼育の方法を報告し、あわせて飼育上の諸点について考察を行った。

成虫期の飼育：羽化した雌雄 1 対の個体は 15×15×20 cm の金網籠に収容し、スキムミルク 11 g、蜂蜜約 5 g を水 180 cc に溶かした液を綿花に浸して与え、あわせて 2% 砂糖水を与えた。この餌は前者は毎日、後者は 3~4 日毎に新しいものと交換した。飼育は適温下において関係湿度 40~50% を保つようにし、交尾・産卵の刺激をあたえるために蛍光灯を用い、籠の内部に光が充分にあたるようにした。能率のよい産卵を期待するためには健全な雄が常在することが必須条件であると思われる。

産卵方法：雌の卵巣が成熟した頃から産卵培养基を直径 5 cm の腰高シャーレにいれてこれに産卵させた。産卵はこの培养基中に集中された。

幼虫期の飼育：産卵培养基にうみつけれられた卵は幼虫培养基にうつす。1 ポットあたりの培养基は小麦フスマ 25 g、飼料用魚粉 10 g、ビール酵母粉末 1 g に水 40 cc を加えたもので作られる。これからえられた蛹は 100 卵に対し平均 76.4±3.1 で、羽化率 81.1% を示した。

この飼育法によれば 1 卵塊あたり 98.03±26.40 個の卵をうみ、25° における雌の生存期間は平均 32.8 日を示した。

文 献

- 1) Barbesgaard, P. and J. Keiding: Vidensk. Medd. fra Dansk. naturh. Foren. **117**, 84 (1955).
- 2) Basden, E. B.: Bull. Entomol. Research **37**, 381 (1947).
- 3) Bishopp, F., W. Dove, and D. Parman: J. Econ. Entomol. **8**, 54 (1915).
- 4) Born, D. E.: J. Econ. Entomol. **47**, 367 (1954).
- 5) 武術和雄：防虫科学 **17**, 133 (1952).
- 6) 武術和雄：衛生動物 **3**, 105 (1952).
- 7) 武術和雄：防虫科学 **23**, 173 (1958).
- 8) Dunn, L. H.: Bull. Entomol. Research **13**, 301 (1923).
- 9) Feldman-Muhsam, B.: Bull. Entomol. Research **35**, 53 (1944).
- 10) Glaser, R. W.: J. Exptl. Zool. **38**, 383 (1923).
- 11) Greenberg, B.: J. Econ. Entomol. **48**, 654 (1955).
- 12) Hammen, C. S.: Ann. Entomol. Soc. Amer. **40**, 365 (1956).
- 13) Hampton, U. M.: Proc. Roy. Entomol. Soc. London **27**, 29 (1952).
- 14) Hutchison, R. H.: U. S. Dept. Agr. Bull. No. 345 (1916).
- 15) 加納六郎：環境衛生 **3** (6), 12 (1956).
- 16) 北岡茂男：衛生動物 **8**, 192 (1957).
- 17) 小林晴治郎：動物雑 **45**, 131 (1933).
- 18) Lichtwardt, E., W. Bruce, and G. Decker: J. Econ. Entomol. **48**, 301 (1955).
- 19) Mackerras, M. J.: Bull. Entomol. Research **24**, 352 (1933).

- 20) 長沢純夫：殺虫剤の生物試験に関する研究
京都 (1954).
21) Nagasawa, S.: Bull. Inst. Chem. Research,
Kyoto Univ. **34**, 101 (1956).
22) Roubaud, E.: Ann. Inst. Pasteur **36**, 765
(1922).
23) 酒井清六・飛鳥嘉道：防虫科学 **22**, 113 (1957).

Résumé

This paper deals with the simple techniques, regarding a single-pair culture of the common house fly, *Musca domestica vicina* Macq. Such way of culture is known to be necessary for the study of ecology and also of the resistance to insecticides. Besides, some experiences obtained during the culture by this way, are described and discussed.

Breeding of pairs: Pupae were taken from mass-cultures. On the day of emergence the flies were sexed and each pair of flies was brought into the metal gauze cage of 15×15×20 cm (Fig. 1. B). The feeding was made by means of cotton ball, soaked with a mixture of skim milk and honey (11g of skim milk and 5g of honey, diluted with 180cc of water). Additionally 2 per cent sucrose solution was fed. The former was

changed every day, while the latter every 3 or 4 days. The cages were kept at 40-50 per cent R. H. under optimum temperature, and the 10-watt fluorescent lamp was applied for providing the light as stimulus for copulation and egg-laying.

Egg-laying: The eggs will be laid on the cotton, soaked with milk, but they are laid more easily on the culture medium of larvae kept in the petri dish (diameter of 5cm and with high collar). The composition of this medium is as follows:

Wheat bran	25 g
Powder of fish scrap	10 g
Dried beer yeast	1 g
Tap water	40 cc

Culture of larvae: These eggs were then replaced on the same medium in the jar of 100 ml, (Fig. 1 C), and the culture of larvae was incubated at 27°C.

Results of preliminary observations indicate recovery of 76.4±3.1 pupae and 62.0±7.2 flies per jar from 100 eggs. 98.03±26.40 eggs were counted per one egg-batch. The longevity of adult life of females were 32.8 days at 25°C.

A tabular review on the history of studies based on the single-pair culture of the common house fly are shown in Table 1.

The Oxidative Degradation of (±)-Allethrolone-methylether. * Yoshio KATSUDA, Tadayoshi CHIKAMOTO (Research Laboratory of Dainippon Jotyugiku Co. Ltd.) and Yuzo INOUE (Institute for Chemical Research, Kyoto University) Received Sept. 24, 1958. *Botyukagaku*, **23**, 181, 1958 (with English résumé, p. 183)

33. (±)-Allethrolone-methylether の酸化分解 勝田純郎, 近本惟好 (大日本除虫菊株式会社研究所) 井上雄三 (京都大学化学研究所) 33. 9. 24 受理

Allethrolone-semicarbazone から得られた allethrolone-methylether (II) bp 72~3°/2 mm をオゾン酸化して得た酸性物質を KOB₂ で酸化すると, (III) 及び (IV) を経て bromoform と (±)-α-methoxy-succinic acid (V) mp 104~5° とが生ずる。又 allethrolone-methylether (II) を KMnO₄ で酸化して得た (VI) を KOB₂ で酸化すると同様に bromoform と (±)-α-methoxysuccinic acid (V) とを与えた。

天然 pyrethrolone 及び cinerolone の絶対配置の解明に関連して著者等は allethrolone について次の予備実験を行った。Allethrolone は cyclopentenolone

構造を有するので, これを適当に酸化分解すると, 最終的には malic acid に導かれることが予想されるが, 光学活性の pyrethrolone 及び cinerolone からは同

* This is a Japanese version of the article written in English and submitted to Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, vol. 23 which is now in press.