

measured once a day with an ocular micrometer. The result of analysis of variance showed the significance in the mean square for the average curvature. It is considered that the Gaines and Campbell's formula⁽⁴⁾ is more applicable than

Dyar's formula⁽⁵⁾ to express the relation between log width of the head capsule y and instar number X of the present data. The equation computed was $y = 0.9900 + 0.1995(X-3) - 0.0080(X-3)^2$.

Mode of inheritance of resistance to nicotine sulfate in *Drosophila melanogaster*.
Masuhisa TSUKAMOTO (Genetical Laboratory, Faculty of Science, Osaka University).
Received 18 July, 1955, *Botyu-Kagaku*, 20, 73, 1955. (with English résumé 80).

12 ショウジョウバエの硫酸ニコチン抵抗性とその遺伝子分析 塚本増久 (大阪大学 理学部 生物学教室) 30, 7. 18 受理

ショウジョウバエの幼虫の硫酸ニコチン抵抗性は不完全優性形質であつて、DDT や BHC に対する抵抗性が第2染色体右腕にある遺伝子によつて支配されているのに対し、この形質は第3染色体の紡錘糸附着点付近 (3-47±) にある抵抗性主要遺伝子およびそれ以外の染色体にある変更遺伝子によつて支配されていることが明らかとなつた。

緒 言

昆虫の殺虫剤抵抗性の遺伝については、最近イエバエを材料として世界の各地で研究が進められており、イタリアの D' Alessandro—派¹⁾ Milani²⁾、デンマークの Keiding³⁾、アメリカの Johnston⁴⁾ その他⁵⁾、Pimentel⁶⁾ 他⁷⁾ 等の研究は殊に興味深い。筆者も大垣氏と共に、昆虫の殺虫剤抵抗性の機構を解明するための基礎的研究の一つとして、キイロショウジョウバエを用いて有機合成殺虫剤である DDT や BHC に対する抵抗性の遺伝学的研究を行つてきた^{7,10,11)}。その結果、すくなくとも1令幼虫から蛹を経て羽化した成虫に至る殆んど全世代を通じて殺虫剤で淘汰する幼虫テスト法では、DDT や BHC 抵抗性を支配しているのは主としてその第2染色体右腕にある優性遺伝子であることを明らかにしたが、今回はさらにアルカロイド系の天然殺虫剤として古くから使用されている硫酸ニコチンに対しても昆虫の系統により抵抗性に差異が見られることを知り、その抵抗性の遺伝子分析を行つたので、これらの結果について報告する。

この研究を行うにあつて終始御鞭撻を賜つた大阪大学吉川秀男教授、常々有益な助言と批判をいただいた浪速大学大垣昌弘助教授、大阪大学大島長造助教授の各位に深謝の意を表する。またこの実験に用いた硫酸ニコチンは日本農薬尼崎工場より恵与賜つたものである。ここに明記して厚く感謝する。

実験材料および方法

実験に用いた硫酸ニコチン抵抗性の系統は、キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の Hikone-R および NS-R の2系統である。このう

ち Hikone-R 系統はさきに DDT, BHC 抵抗性の遺伝子分析に用いた multiple resistant の野生型系統であつて、1952年に彦根市で採集されて以来さらに研究室でそれぞれ DDT, BHC, 硫酸ニコチンを含んだ餌料で1年以上引続いて淘汰しながら飼育してゐたものである。また NS-R 系統は、1951年に日本の各地から採集された多くの野生型系統の中から、1954年5月に彦根を除く北海道、本州、四国、九州の各地からの14系統の成虫を混合飼育したものを、数世代後に 500 ppm 程度のニコチンを含む餌料で飼育淘汰し、人為的に抵抗性を発達せしめた系統で、最初は極めて抵抗性が低かつたが、淘汰世代数を経るに従つて急速に抵抗性が増大したものである。また最初は野生型の表現型を示していたが、硫酸ニコチンで飼育淘汰をしているうちに劣性の突然変異を起し、眼色は著しく朱色を呈するに至つた。この突然変異は後に調査の結果第2染色体の cn^+ 遺伝子の対立形質であることが判明したので cn^{55a} と命名され、NS-R 系統は現在では野生型ではなく cn^{55a} という眼色の突然変異型抵抗性系統として飼育されている。

非抵抗性の系統としては、野生型の Canton-S 系統および第2、第3、第4の各染色体に劣性の形態的突然変異形質を具えた $bw; st; sv^n$ という multi-chromosomal の系統を主として用いたが、その他 $se ss$, $Gl Sb/LVM$, $Gl Sb H/Payne$ 等の系統も遺伝子分析に用いられた*)

使用した殺虫剤は、通常の農薬用として調製されている 40% 硫酸ニコチンで、実験に際し適当な濃度に

* cn^+ : cinnabar 2-57.5 眼の朱色突然変異。

** これらの突然変異については英文摘要の脚註を参照のこと。

稀釈して餌料に混入した。この報文の中で以下に示した稀釈濃度 ppm は、すべて餌料中に含まれる有効成分の量を意味するものである。

シウジョウバエ各系統の抵抗性測定の方法および遺伝子分析に用いた方法は、さきに報告した BHC 抵抗性の研究方法と同様で、すべて殺虫剤を含まない寒天スライド上に一定時間産卵させた卵から孵化した 1 令終期の幼虫を、殺虫剤含有餌料および正常餌料に移して飼育し、それより羽化してきた成虫数を比較するいわゆる幼虫テスト法を用いた。また遺伝子分析のために行つた交配実験には、多くの処女雌バエおよび雄バエを集団交配して産卵させ、多数の幼虫を得るのに便ならしめた。

実 験 結 果

1. 各系統間の硫酸ニコチン抵抗性の検定

大阪大学の研究室で飼育している多数のシウジョウバエの系統中 DDT, BHC, parathion, malathion 等に対し最も抵抗性の系統であつた Hikone-R は、硫酸ニコチンに対しても最も抵抗性を示し、餌料中に 1000 ppm のニコチンが含まれる様な濃度においても子孫を残し得る。それに対し *bw; st; svn*, Canton-S 等の系統は比較的非抵抗性であつて、その LD₅₀ は 50 ppm 以下である。その他の野生型および突然変異型諸系統では、これら抵抗性、非抵抗性両系統の中間の抵抗性を呈するものが多い。NS-R 系統のニコチン抵抗性は、前にも述べたように最初は極めて低かつたが各世代とも硫酸ニコチン含有餌料で飼育淘汰するにつれて抵抗性が増大し、約 10 代後では Hikone-R 系統とほとんど同程度の抵抗性を呈するに至つた。第 1 図は *bw; st; svn*, *se. ss*, Sendai, Hikone-R, NS-R 等の諸系統の抵抗性を、各濃度における成虫

の羽化数の対照区（正常餌料）のそれに対する比率のプロビットで示したものである。

Hikone-R, NS-R の両抵抗性系統はその後もずっと硫酸ニコチン含有餌料で飼育されているが、今のところ抵抗性はそれ以上に増大していない。

2. ニコチン抵抗性と染色体との関係

交配実験 A. シウジョウバエのニコチン抵抗性の遺伝的性質を推察するための最初の実験として、まず抵抗性系統と非抵抗性系統とをそれぞれ交配しその F₁ の抵抗性をしらべた。

- (1) $\begin{cases} \text{Hikone-R } \text{♀} \times \text{bw; st; svn } \text{♂} \rightarrow \text{F}_1 \\ \text{bw; st; svn } \text{♀} \times \text{Hikone-R } \text{♂} \rightarrow \text{F}_1 \end{cases}$

まず抵抗性の Hikone-R 系統と非抵抗性の *bw; st; svn* 系統とを正逆交配した場合、その F₁ のニコチン抵抗性は非抵抗性系統よりはるかに強いが、抵抗性の親ほどは強くない。従つてニコチン抵抗性は不完全優性の形質であるといえる。この関係を示したのが第 2 図 A であつて、この場合どちらの系統を雌として交配しても F₁ の抵抗性には著しい差異が見られないので、抵抗性の形質は細胞質よりもむしろ核質、換言すれば染色体にある遺伝子によつて遺伝するものであることがうかがわれる。

- (2) $\begin{cases} \text{bw; st; svn } \text{♀} \times \text{NS-R } \text{♂} \rightarrow \text{F}_1 \\ \text{Canton-S } \text{♀} \times \text{NS-R } \text{♂} \rightarrow \text{F}_1 \end{cases}$

次に NS-R 系統を抵抗性系統として交配に用いた場合は、F₁ の抵抗性は Hikone-R 系統を用いた場合よりもやや低い（第 2 図 B 参照）、この場合も抵抗性は不完全優性であることが知られる。

またこゝでは示さなかつたが、(1), (2) の各交配において F₁ の雌雄の出現率はニコチン含有区でも対照区でも殆んど有意な差がなかつたので、このニコチン抵抗性の形質は伴性遺伝をするものではないことが推定された。

交配実験 B. Hikone-R 系統のニコチン抵抗性が伴性遺伝をする遺伝子によるものであるかどうかをさらに確かめるために、優性および劣性の突然変異形質が大きな逆位の中に含まれている X-染色体の *Muller-5* という系統と Hikone-R 系統とを交配して分析を行つた。すなわち *Muller-5* 系統の雌に Hikone-R 系統の雄を交配し、その F₁ 世代同志の交配によつて得られた F₂ 世代の幼虫を正常餌料およびニコチン含有餌料で飼育したところ、第 1 表の如く 4 通りの遺伝子型を有する成虫が得られた。

- (3) $\text{Muller-5 } \text{♀} \times \text{Hikone-R } \text{♂} \rightarrow \text{F}_1 \text{ ♀♂} \rightarrow \text{F}_2$

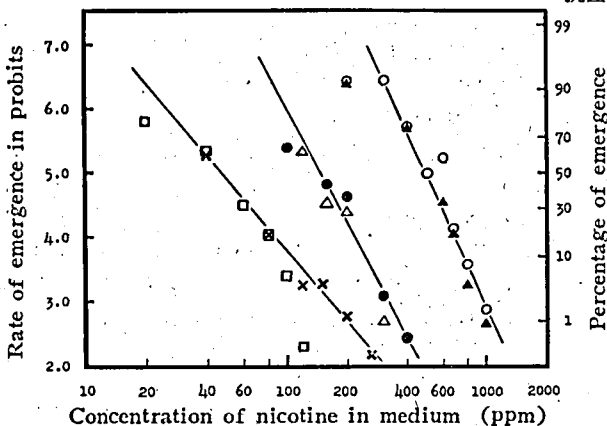


Fig. 1. Degree of resistance to nicotine sulfate in various strains of *Drosophila melanogaster*
 ○ NS-R ▲ Hikone-R ● Sendai
 △ *se. ss* × *bw; st; svn* □ Canton

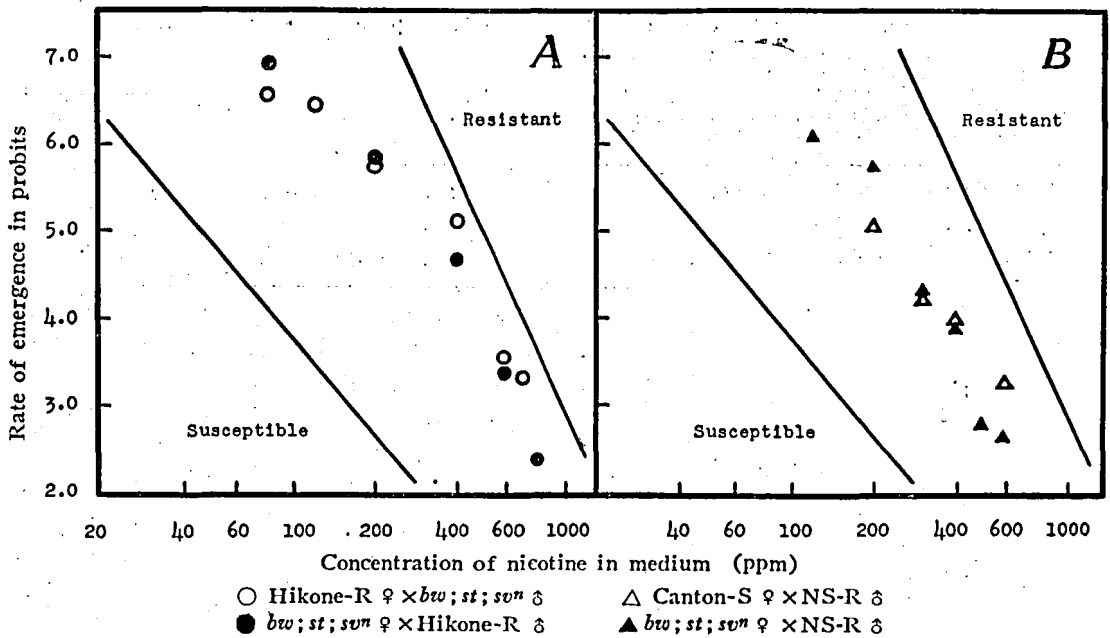


Fig. 2. Comparison of resistance in the F_1 generation obtained from crosses between resistant and susceptible strains.

Table 1. The relation between nicotine-resistance and X-chromosome in F_2 -flies obtained from the cross of *Muller-5* ♀ × *Hikone-R* ♂

Sort of medium	Control	Nicotine-containing 360 ppm	440 ppm
No. of larvae used	1500	3500	3500
(Genotype)	(No. of F_2 -flies emerged)		
Female: +/M-5	423	376	208
M-5/M-5	297	253	134
Male: +/Y	422	296	165
M-5/Y	314	227	113
Total no. of flies emerged	1456	1152	620
percentage of			
+/M-5 & +/Y	58.0	58.3	60.2
M-5/M-5 & M-5/Y	42.0	41.7	39.8

+ : X-chromosome from the resistant strain, *Hikone-R*.

M-5 : X-chromosome from the non-resistant strain, *Muller-5*.

Y : Y-chromosome.

A chi square test for homogeneity indicates that there is no significant difference between control and nicotine-containing media in the percentage of F_2 -flies of one group (+/M-5 & +/Y) and of the other (M-5/M-5 & M-5/Y). $\chi^2=0.844$, D. F.=2, $0.7 > P > 0.5$

もしニコチン抵抗性がX染色体の不完全優性遺伝子によって支配されているものとすれば、抵抗性系統からのX染色体(+)が入っている場合とそうでない場合とではニコチン含有区と対照区の成虫出現率に差が見られる筈である。第1表の成虫の出現率は、ニコチンの濃度が増すにつれて M-5/M-5, M-5/Y の如く抵抗性系統のX染色体を含まない遺伝子型が対照区よりやや減少している様に見える。しかし対照区とニコチン含有区間の成虫の出現率は χ^2 テストの結果 +/M-5, +/Y と M-5/M-5, M-5/Y とで有意な差が見られなかった。このことは、*Hikone-R* 抵抗性系統のX染色体が入ってもあまり抵抗性に重要な役割を演じていないことを意味している。

交配実験 C. *Hikone-R* 系統のニコチン抵抗性の遺伝子は、性染色体よりもむしろ常染色体に含まれるものであることが明らかとなったので、それがどの常染色体に関係するものであるかを確かめるために、非抵抗性の *bw; st; svn* (2;3;4) という multichromosomal mutant strain を用いて分析を行った。

- (4) *bw; st; svn* ♀ × F_1 (*Hikone-R* ♀ × *bw; st; svn* ♂) ♂ → F_2
- (5) *bw; st; svn* ♀ × F_1 (*bw; st; svn* ♀ × *Hikone-R* ♂) ♂ → F_2
- (6) *bw; st; svn* ♀ × F_1 (*bw; st; svn* ♀ × NS-R ♂) ♂ → F_2

まず非抵抗性の *bw; st; svn* 系統に抵抗性系統を交配

Table 2. The number of surviving F_2 -flies of each phenotype obtained from the following backcross :(4) $bw; st; sv^n \text{ ♀} \times F_1 \text{ (Hikone-R ♀} \times bw; st; sv^n \text{ ♂)} \text{ ♂} \rightarrow F_2$ (5) $bw; st; sv^n \text{ ♀} \times F_1 \text{ (} bw; st; sv^n \text{ ♀} \times \text{Hikone-R ♂)} \text{ ♂} \rightarrow F_2$ (6) $bw; st; sv^n \text{ ♀} \times F_1 \text{ (} bw; st; sv^n \text{ ♀} \times \text{NS-R ♂)} \text{ ♂} \rightarrow F_2$

Crossing no.	(4)		(5)		(6)	
Concent. of nicotine in medium (ppm)	Control	Nicotine (300-490)	Control	Nicotine (200-320)	Control	Nicotine (360)
No. of larvae used	1850	4400	1900	8250	1000	8500
(phenotype)	(No. of F_2 -flies emerged)					
$+++$	261	188	236	406	132	354
$+++sv^n$	199	109	203	233	94	210
$bw+++$	248	116	224	319	142	225
$bw+++sv^n$	195	59	201	212	101	123
$++st+$	197	11	220	1	111	2
$++stsv^n$	177	5	178	4	78	2
$bwst+$	193	0	219	0	114	2
$bwstsv^n$	175	0	185	0	97	0
Total no. of flies emerged	1645	488	1666	1175	869	916
Percentage of total bw	49.3	35.9	49.8	45.2	52.2	38.0
percentage of total st	45.1	3.3	48.1	0.4	46.0	4.4
percentage of total sv^n	45.4	35.5	46.0	38.2	42.6	36.6

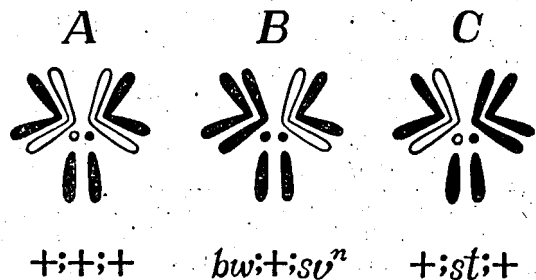
+ : Autosome from the resistant strains in heterozygous condition.

し、抵抗性系統の各染色体がヘテロに含まれている F_1 の雄を $bw; st; sv^n$ の雌に戻交配すると、その次の世代には8通りの表現型を示す成虫が出現する。しかもこれをニコチンで淘汰した場合に、もし特定の表現型の個体が若しく淘汰されれば、その表現型を示す染色体がニコチン抵抗性に関与していることが推定される。第2表は交配 4, 5, 6 の F_2 の1令幼虫をそれぞれ正常餌料、ニコチン含有餌料で飼育し、それより羽化した成虫の数を表現型別に示したものである。また第3図は代表的な2・3の F_2 の表現型とその染色体の構成とを示したものである。

これらの戻交配の結果をみると、 F_2 の表現型が st , $bw; st$, $st; sv^n$, $bw; st; sv^n$ の様に第3染色体に抵抗性系統からの染色体を含んでいない場合はすべて硫酸ニコチンによって著しく淘汰されているが、他の表現型を示す個体はかなり羽化しているので、Hikone-R, NS-R 両系統のニコチン抵抗性は、共に第3染色体にある不完全優性の遺伝子によって発揮されるものであることが知られる。しかし第3染色体以外の染色体の影響も認められるので、この問題については後の考察の章で論議することとする。

3. 抵抗性遺伝子の第3染色体上の位置

硫酸ニコチン抵抗性の主要遺伝子が第3染色体上にあることが明らかになったので、次にその遺伝子の染色体地図上の位置を求めるために種々の交配実験が行われた。

**Fig. 3.** Schema of chromosomal construction in some F_2 -flies obtained from the backcross of $bw; st; sv^n \text{ ♀} \times F_1 \text{ ♂}$.

Black : chromosomes from the susceptible strain.

White : chromosomes from the resistant strains.

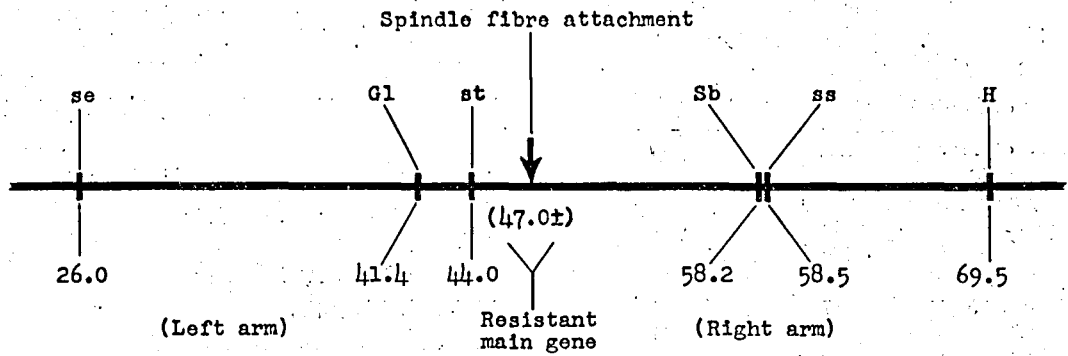


Fig. 4. Loci of some mutant genes on third chromosome map.

交配実験 D. 抵抗性遺伝子の染色体上の位置を求めるには抵抗性系統の染色体と非抵抗性系統の染色体間に交叉をおこさせてすでに位置が知られている突然変異遺伝子との交叉率をしらねばならない。この目的のために、*se ss*, *Gl Sb/LVM*, *Gl Sb H/Payne* の3系統と Hikone-R 抵抗性系統とを交配し、その F_1 の雌に再び非抵抗性系統の雄を戻交配させた。第4図はこれらの第3染色体の突然変異遺伝子の染色体地図上の位置を示したものである。

交配の様式は次の順序に従って行われた。すなわち抵抗性の染色体と非抵抗性の突然変異系統の染色体をヘテロにもっている F_1 の雌に非抵抗性系統の雄を交配するわけであるが、優性の突然変異形質を形態的に判別できる交配 7, 8 の場合には非抵抗性系統としては野生型の Canton-S 系統を用いた。

(7) $F_1(se\ ss \times Hikone-R \delta) \times se\ ss \delta \rightarrow F_2$

(8) $Hikone-R \delta \times Gl\ Sb/LVM \delta$

$F_1(Gl\ Sb/+) \times Canton-S \delta \rightarrow F_2$

(9) $Hikone-R \delta \times Gl\ Sb\ H/Payne \delta$

$F_1(Gl\ Sb\ H/+) \times Canton-S \delta \rightarrow F_2$

第3, 4, 5表は、これらの交配より得られた F_2 の1令幼虫を正常餌料及びニコチン含有餌料で飼育し、それより羽化した成虫の数を示したものである。

これらの表のニコチン含有区より羽化した交叉型および非交叉型成虫の出現数から、ニコチン抵抗性遺伝子はそれぞれ実験に用いた *se* と *ss*, *Gl* と *Sb* の各遺伝子間に存在すること、換言すれば第3染色体の中央部にあることが推定される。しかしその染色体地図上の位置の推定については次章において詳細な考察を加えることとする。

考 察

DDT, BHC, parathion 等の殺虫剤に対して抵抗性である Hikone-R 系統は、硫酸ニコチンに対し

Table 3. The number of F_2 -flies of each genotype obtained from the backcross of $F_1 \delta \times se\ ss \delta$

Sort of medium	Control	Nicotine-containing 300—360 ppm
No. of larvae used	1109	7000
(Genotype)	(No. of F_2 -flies emerged)	
$+ +$	378	404
$se\ ss$		
$se +$	164	86
$se\ ss$		
$+ ss$	148	58
$se\ ss$		
$se\ ss$	332	35
$se\ ss$		
Total no. of flies emerged	1022	583

$+$: Wild allele from the resistant strain,

Table 4. The number of F_2 -flies of each genotype obtained from the cross of $F_1 \delta \times Canton-S \delta$

Sort of medium	Control	Nicotine-containing 240—320 ppm
No. of larvae used	1125	4550
(Genotype)	(No. of F_2 -flies emerged)	
$+^H +^H$	521	350
$+ +$		
$Gl +^H$	43	13
$+ +$		
$+^H Sb$	30	11
$+ +$		
$Gl Sb$	469	40
$+ +$		
Total no. of flies emerged	1063	414

$+^H$: Wild allele from the resistant strain, Hikone-R.

$+$: Wild allele from the susceptible strain, Canton-S.

Table 5. The number of F_2 -flies of each phenotype obtained from the cross of $F_1 \varphi \times \text{Canton-S} \delta$

Sort of medium	Control	Nicotine-containing 320 ppm
No. of larvae used	3000	6000
(Phenotype)	(No. of F_2 -flies emerged)	
+ + +	1145	891
+ + <i>H</i>	130	64
+ <i>Sb</i> +	10	1
+ <i>Sb</i> <i>H</i>	87	22
<i>Gl</i> + +	113	23
<i>Gl</i> + <i>H</i>	12	3
<i>Gl</i> <i>Sb</i> +	121	4
<i>Gl</i> <i>Sb</i> <i>H</i>	1144	38
Total no. of flies emerged	2762	1046

+ : Wild allele from the resistant strain.

ても他の系統より最も抵抗性を示したことから、その DDT 抵抗性も BHC 抵抗性も共に第2染色体右腕にある同じ優性遺伝子によつて支配されていることから、交叉抵抗性を示す他の殺虫剤に対しても同じくこの遺伝子が重要な役割を果たしているかどうかを確かめるために、硫酸ニコチンが用いられた。ニコチンは DDT や BHC とは異り、植物体から抽出されたアルカロイド系の殺虫剤であつて、その化学構造も異なるが、従来の知見ではその殺虫機構は DDT や BHC と同様に神経中枢の麻痺によるものと考えられている^{4) 9)}。しかしながら、殺虫剤を餌料中に混合し、シヨウシヨウバエを接触および摂食させた場合には、DDT では成虫が死ぬ様な濃度でも幼虫は生育し得るのに対し、硫酸ニコチンでは成虫が死なないのに卵や幼虫は生きることができない。この様に殺虫剤の種類によつて成虫と幼虫の感受性に差が見られることは、殺虫剤としての作用機構が等しくないことを暗示するものであろう。また多くの突然変異系統のうちで最も DDT 抵抗性の強かつた *bw;st* 系統は、硫酸ニコチンに対しては最も感受性であつたので、遺伝子分析のためにこの系統を基にして *bw;st;sqⁿ* という系統を作つたが、その硫酸ニコチン抵抗性が極めて低かつた。この事実も DDT 抵抗性とニコチン抵抗性の機構とは等しくないことを暗示している。従つて殺虫剤抵抗性の遺伝子分析という見地から逆に殺虫剤の作用機構ないし抵抗性の原因の解明に有力な手掛りを与えることも可能であらう。

さて、抵抗性系統と非抵抗性系統とを交配して F_1 の抵抗性を求める交配実験 A において、抵抗性系統として NS-R を用いた場合は Hikone-R を用いた場合よりも F_1 の抵抗性が低かつたが、その原因として

は NS-R 系統の抵抗性遺伝子に関してその当時まだ集団全体が完全な純系となつていなかったのか、または抵抗性の変更遺伝子に劣性のものがあることによるものか不明であるが、この点については将来さらに追求を続けるつもりである。

交配実験 C の遺伝子分析の結果、硫酸ニコチン抵抗性の遺伝子は第3染色体にあることが明らかとなつたが、ニコチン含有区において抵抗性の染色体がすべてヘテロに含まれている +; +; + の場合 (第3図 A) が最も多く羽化し、*bw*; +; + や +; +; *sqⁿ* がこれに次ぎ、抵抗性の染色体は第3染色体にしか含まれていない *bw*; +; *sqⁿ* (第3図 B) はさらに羽化数が減少している。その減少の仕方は対照区のそれぞれの羽化数の割合に較べて著しいので、第3染色体のみならず第2、第4染色体にも抵抗性系統の染色体が加わつた方がより抵抗性であることが示唆される。しかしながら +; *st*; + (第3図 C) の如く第2、第4染色体に抵抗性系統の染色体が入つていても、第3染色体が非抵抗性系統の染色体のみからなっている様な場合には殆んど羽化することができないことから、やはりニコチン抵抗性の主体になつているのは第3染色体上の遺伝子であつて、第2、第4の各染色体にはそれ自身は抵抗性の程度が弱いために殆んど抵抗性を発揮できないが、第3染色体の抵抗性主要遺伝子が存在する場合には抵抗性をさらに高めるのに役立つような一種の変更遺伝子 (modifier genes 又は enhancers) が存在するに過ぎないものと考えられる。なお、Muller-5 系統を用いて性染色体の影響をしらべた交配実験 B の場合には、 χ^2 テストの結果抵抗性の X 染色体がヘテロの状態に入つても入らなくても有意な差が認められなかつたが、これは抵抗性に主要な役割を演じている遺伝子が X 染色体にはないことを意味するものであつて、あるいは X 染色体にも抵抗性の変更遺伝子が含まれているかもしれないという可能性は否定することができない。

第3染色体の抵抗性遺伝子の染色体上の位置は、前述した如く、第3、4、5表の結果のみからは直ちに計算によつて求めることはできない。その原因としては次の様な事柄が考えられる。まずニコチン抵抗性は DDT や BHC 抵抗性と異り、不完全優性遺伝子によつて支配されているので、そのためにヘテロの状態では分析が困難である。次に抵抗性の遺伝子は第3染色体のみでなく他の各染色体にも modifier genes があると考えられるので、その様な状態を考慮した上で第3染色体のみについて分析をするのでなければ正確な値が求められない。さらに分析に用いる突然変異系統と抵抗性系統の殺虫剤に対する感受性が著しく離れ

ていないときは、実験を行つても比較すべき相互の遺伝子型の間で抵抗性に関してはつきりした分離が見られない。これらの2・3の困難を克服して将来さらに正確な抵抗性遺伝子の位置を追究するために目下種々の準備が進められているが、今迄得られた結果から一応第3染色体の主要遺伝子の位置を計算によつて推定してみたい。分析に用いられた *se ss*, *Gl Sb*, *Gl Sb H* の各染色体はいずれも *bw; st; svn* 系統ほどには著しい感受性でないため、二重交叉によつて抵抗性遺伝子を得た染色体以外でもこれらの形質を示す個体すなわち形態的突然変異遺伝子について見掛けが非交叉型の個体が十分にニコチンで淘汰されていない恐れがある。従つてこゝでは見掛けが非交叉型の場合を一応除外し、一重交叉を示すと思われる個体の出現数の比率で、標識として用いた各突然変異遺伝子間の距離を比例配分するという方法により抵抗性遺伝子の位置を推定することとした。

まず、*se ss* 系統を用いた交配(7)の実験を例にとつて述べると、*se* と *ss* の染色体地図上の遺伝子間距離は32.5である。従つて第3表のニコチン含有区における交叉型 *se/+se ss* (表現型は *se*) および *+ss/se ss* (表現型は *ss*) の成虫出現数の比でこの距離を配分すればよい。しかし対照区においても本来同数羽化する筈の表現型 *se* の出現数は *ss* のそれよりも多くなつていたので、ニコチン含有区の *ss* の出現数を補正して計算する必要がある。従つてニコチン含有区における *ss* の補正出現数は次の様になる。

$$58 \times \frac{164}{148} = 64.3$$

抵抗性遺伝子と *ss* 遺伝子との距離は *se* と *ss* の間を比例配分して

$$32.5 \times \frac{64.3}{86 + 64.3} = 13.9$$

であるから、これより

$$58.5 - 13.9 = 44.6$$

従つて抵抗性遺伝子の染色体地図上の位置は3-45附近であるといえる。

同様にして *Gl Sb/LVM* を用いた交配(8)の結果から計算をすると、

$$11 \times \frac{43}{30} = 15.8$$

$$16.8 \times \frac{15.8}{13 + 15.8} = 9.2$$

$$58.2 - 9.2 = 49.0$$

従つてこの場合の計算では、抵抗性遺伝子の推定位置は3-49附近となる。

さらに *Gl Sb H/Payne* を用いた交配(9)の結果

からは次の3つの方法により計算できる。

$$a) \text{ } Gl-Sb \text{ より: } 23 \times \frac{125}{97} = 29.6$$

$$16.8 \times \frac{29.6}{26 + 29.6} = 8.9$$

$$58.2 - 8.9 = 49.1$$

従つてこの場合も抵抗性遺伝子は3-49附近にあるものと推定できる。

$$b) \text{ } Gl-H \text{ より: } 86 \times \frac{234}{217} = 92.7$$

$$28.1 \times \frac{92.7}{27 + 92.7} = 21.8$$

$$65.9 - 21.8 = 47.7$$

この計算においても抵抗性遺伝子の推定位置は3-43前後となる。

c) *Sb-H* より: この場合は抵抗性遺伝子は明らかに *Sb* 遺伝子よりも左側にあるので *Sb H* の表現型を示す個体の羽化数も計算に加える必要がある。また対照区における *Sb* および *H* の総表現数は1362および1373であつて、殆んど有意な差がないものと考えられるから補正する必要は認められない。*Sb* から抵抗性遺伝子迄の距離を x 単位とすれば、

$$x : (x + 11.3) = 65 : 127$$

$$x = 11.8$$

$$58.2 - 11.8 = 46.4$$

従つてこの場合も抵抗性遺伝子は3-46附近にあるものと推定される。

以上5つのデータから計算された抵抗性遺伝子の位置がいずれも大体一致しており、第3染色体の紡錘糸附着点附近になるので、ニコチン抵抗性主要遺伝子の推定位置は3-47±とするのが妥当であろう。

NS-R 系統の抵抗性遺伝子の染色体上の位置は分析がまだ完了していないが、これも分析がすみ次第報告する予定である。従来イエバエその他の昆虫の抵抗性については種々の報告があり、研究者によつてその結果や見解に食い違いの見える場合が多かつたが、これは実験に用いた系統や研究方法が異なることに起因しているためであろう。しかしながら、シヨウシヨウバエのDIT 抵抗性の場合に遺伝子分析の結果が福岡系統と彦根系統とで一致したこと、ならびに今回のHikone-R 系統と NS-R 系統のニコチン抵抗性の発達の限界や主要遺伝子が第3染色体にあることなどの点で一致したことは注目すべきことであろう。

摘 要

キイロシヨウシヨウバエのニコチン抵抗性の遺伝様式をしらべるために、それぞれ起原を異にする抵抗性

の Hikone-R, NS-R 両系統と, *bw; st; svⁿ* その他の非抵抗性系統とを用いて種々の交配実験を行つた。

餌料中に硫酸ニコチンを混合し、幼虫テスト法によつて遺伝子分析を行つた結果、ニコチン抵抗性は不完全優性の形質であつて、その遺伝は第3染色体にある抵抗性主要遺伝子によつて支配され、さらに第3染色体以外の染色体にある変異因子によつても抵抗性が助長されるという multiple gene character であることが示された。

第3染色体のニコチン抵抗性主要遺伝子の染色体上の正確な位置はまだ決定できないが、Hikone-R 系統を用いた交叉実験の結果から、染色体の丁度中央部すなわち紡錘糸附着点附近にあたることが推定された。

抵抗性の NS-R 系統は、実験室内で各世代を通じ人為的に淘汰してその抵抗性を増大せしめた系統であつて、その抵抗性発達の限度や遺伝子分析の結果がもともと抵抗性の Hikone-R 系統と殆んど一致することとは極めて興味深い。

文 献

- (1) D'Alessandro, G. & M. Mariani: Riv. Parassit., 15, 85—94 (1954)
- (2) Johnston, E. F., R. Bogart & A. W. Lindquist: Jour. Heredity, 45, 177—182 (1954)
- (3) Keiding, J.: Trans. 9th Intern. Congr. Ent., 2, 340—345 (1953)
- (4) Metcalf, R. L.: Chem-Biol. Coord. Cent. Rev. No. 1, 84pp. Nat. Res. Coun. Washington, D. C. (1948)
- (5) Milani, R.: Riv. Parassit., 15, 513—542 (1954)
- (6) —: 1st. Intern. Symp. Control Insect Vectors Disease, 253—274 (1954)
- (7) Ogaki, M. & M. Tsukamoto: Botyu-Kagaku, 18, 100—104 (1953)
- (8) Pimentel, D., H. H. Schwardt & J. E. Dewey: Ann. Ent. Soc. Amer., 47, 208—213 (1954)
- (9) Sakai, S.: Botyu-Kagaku, 16, 51—62 (1951)
- (10) Tsukamoto, M. & M. Ogaki: Botyu-Kagaku, 18, 39—44 (1953)
- (11) — & —: Botyu-Kagaku, 19, 25—32 (1954)

Résumé

In previous work it has been reported that

the resistance to DDT and BHC in *Drosophila melanogaster* is mainly controlled by a single dominant gene located at 66.± on the second chromosome, and the third chromosomal factor, even if it shows any effect as a modifier gene, is not of major importance for resistance in larval test method at least.

Many investigations have, hitherto, been done on the toxicological and physiological effects of nicotine to insects, but little has been reported on the genetic aspects of resistance to this chemical. In the present paper, inheritance of resistance to nicotine sulfate has been analysed by using two resistant strains of *Drosophila melanogaster*, Hikone-R and NS-R. All test procedures for resistance have been done by larval test method as described in a previous paper, and mass matings were employed in crossing experiments.

The Hikone-R strain is resistant not only to DDT, BHC, parathion, malathion, etc., but also to a botanical insecticide like nicotine sulfate, and shows the highest degree of resistance to these insecticides as compared to other various strains preserved in the laboratory. Another nicotine-resistant strain, NS-R, has been obtained by continuous selection with treatment of the breeding media from a mixture population of 14 Japanese wild strains except the Hikone-R strain. Within a few generations through this selection, the resistance of NS-R strain to nicotine has greatly increased to a high level of resistance as the Hikone-R strain. This resistant strain is now marked with an eye color mutant gene, *cn^{55a}**, which occurred spontaneously in the process of selection for nicotine-resistance.

Differences of level of resistance to nicotine among various strains are shown in figure 1. The results of crossing experiments (crossing no. 1 and 2) between flies of resistant and of susceptible strains are given in figure 2, which demonstrates that nicotine-resistance of this species is incompletely dominant to susceptible and the cytoplasmic effect on the inheritance of resistance is almost negligible.

No important effect of sex-chromosome on

the inheritance of nicotine-resistance is recognized from the result of analysis (crossing no. 3) using the *Muller-5**) strain as susceptible and the Hikone-R as resistant strains. This is illustrated in table 1.

To ascertain whether inheritance of nicotine-resistance is due to only one autosomal factor or not, three crossing experiments (crossing no. 4, 5 and 6) using the multichromosomal mutant strain, *bw;st;svⁿ* (2;3;4)*), were made. The numbers of F_2 -flies of each phenotype obtained from untreated and nicotine-treated media are given in table 2. It shows that phenotypically third-chromosomal mutant individuals which carry no third chromosome from resistant strains, such as *st*, *st;svⁿ*, *bw;st*, and *bw;st;svⁿ*, are extremely selected by feeding on medium poisoned with nicotine sulfate. However, emerging number of +;+;+ flies which carry the 2nd, the 3rd and the 4th chromosomes from resistant strains in heterozygous condition (figure 3, A) is more than that of *bw;+;svⁿ* flies which have only one third chromosome from resistant strains in heterozygous condition (figure 3, B). Nicotine-resistance of these two strains may, therefore, be controlled by a third-chromosomal main factor and some modifier genes (enhancers) on other chromosomes.

In order to determine the locus of this main gene, three crossings using the Hikone-R as resistant strain and *se ss*, *Gl Sb/LVM*, *Gl Sb H/Payne*,*) and Canton-S as susceptible strains (crossing no. 7, 8 and 9) were carried out. From these crossing-over data shown in tables 3, 4 and 5, following location for the main

resistant gene on the third chromosomal map can be calculated after some amendments:

Crossing no.	Marker mutant	Locus calculated
(7)	<i>se—ss</i>	3-45.
(8)	<i>Gl—Sb</i>	49.
(9)	<i>Gl—Sb</i>	49.
	<i>Gl—H</i>	48.
	<i>Sb—H</i>	46.
		3-47. ±

The results of these analyses indicate that the main gene concerned with nicotine-resistance may be located on the centre region near the spindle fibre attachment of the third chromosome.

More detailed analyses to determine the exact locus of this main gene and its modifier genes on other chromosomes are now being carried out, though these are very difficult because of incomplete dominance and polygenic system of resistance.

*) *cr^{55a}* : cinnabar^{55a} eye, 2-57.5

bw : brown eye, 2-104.5

st : scarlet eye, 3-44.0

svⁿ : shaven-naked, 4-0+

se : sepia eye, 3-26.0

ss : spineless, 3-58.5

Gl : Glued eye, 3-41.4

Sb : Stubble bristle, 3-58.2

H : Hairless, 3-69.5

LVM : Unmarked balancer for the third chromosome.

Payne : Unmarked balancer for the third chromosome.

Muller-5 : X-chromosomal inversion marked with several mutant genes.