

Further Studies on the Mode of Inheritance of Resistance to Nicotine Sulfate in *Drosophila melanogaster*. Masuhisa TSUKAMOTO and Toshiki HIRAYOSHI (Genetical Laboratory, Faculty of Science, Osaka University). Received July 15, 1956. *Botyu-Kagaku* 21, 71-76, 1956. (with English résumé, 75).

16. ショウジョウバエにおける硫酸ニコチン抵抗性の遺伝(続報) 塚本増久・広吉寿樹
(大阪大学 理学部 生物学教室) 31. 7. 15. 受理

前報においてキイロショウジョウバエのニコチン抵抗性主要遺伝子は第3染色体中央部に存在することを報告したが、その後さらにこの遺伝子の位置を正確に知るために特殊な系統を用いて分析を行った。また、抵抗性の系統同士を交配し、その抵抗性の遺伝子の異同について考察した。

緒 言

筆者の一人塚本⁵⁾は、さきに Hikone-R, NS-R の2系統の抵抗性キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* を用いて硫酸ニコチンに対する抵抗性の遺伝様式をしらべ、抵抗性主要遺伝子は第3染色体にあるが、それ以外の染色体にも変異遺伝子があることや、第3染色体上の主要遺伝子の位置は、Hikone-R 系統では丁度染色体中央の紡錘糸附着点附近であることなどを明らかにした。しかしながら、この位置があまりにも紡錘糸附着点に近いと、第3染色体以外の変異遺伝子が主要遺伝子の抵抗性の表現に影響をおよぼすために、この遺伝子が右腕にあるのか左腕にあるのかについては明らかにすることができなかつた。そこで、Hikone-R 系統の抵抗性遺伝子が果して第3染色体のどちらの腕に存在するのか、また Hikone-R とは起原の異なる NS-R 系統でも第3染色体上の抵抗性主要遺伝子が Hikone-R の遺伝子と同じ位置を占めるかどうかなどを知るために、非抵抗性系統に抵抗性系統の第3染色体を導入した特殊な系統を作製し、非抵抗性系統と交配実験を行った。

さらに抵抗性の Hikone-R, NS-R 両系統同士の交配を行って、F₁, F₂ の抵抗性を検討した結果から、両系統の抵抗性が同じ機構によつて発揮されているものかどうかについても考察を試みた。

以下実験結果を述べるに先立ち、常に御指導と御批判を賜つた大阪大学吉川秀男教授、大島長造助教授、大阪府立大学大垣昌弘助教授、ならびに当教室の各位に厚く感謝する。またこの実験に用いた硫酸ニコチンは、日本農薬大阪工場より恵与されたものであるので、ここに明記して深謝の意を表する。

材料および方法

キイロショウジョウバエのニコチン抵抗性の系統としては、前報で述べた Hikone-R および NS-R 両系統のほか、特に第3染色体の抵抗性主要遺伝子の位置を分析するために、それぞれこの両系統の第3染色体を非抵抗性系統に導入した *bw*; III Hikone-R, *bw*;

III NS-R の両抵抗性系統が用いられた。Hikone-R 系統は今までも硫酸ニコチン含有餌料で約2年半飼育淘汰されたもので、NS-R 系統も Hikone を除く多くの系統の混合集団を約2年間淘汰したものである。なお、この両系統の抵抗性は前報に報告した時よりも現在までにさらに強くなっている。

また非抵抗性系統としては、主として *bw*; *st ss* という突然変異系統が用いられた。*bw* (brown) は第2染色体上の眼色突然変異であつて、*st* (scarlet) および *ss* (spineless) はそれぞれ第3染色体の紡錘糸附着点をはさんで左腕および右腕に存在する眼色と剛毛に関する突然変異である。

抵抗性の測定方法および遺伝子分析の方法は前報に用いたものとほとんど同様で、1令終期の幼虫を硫酸ニコチン含有餌料および正常餌料で餌やし、羽化成年数を比較した。

実験結果

遺伝子分析に用いた *bw*; III Hikone-R および *bw*; III NS-R の両系統は、いずれもその第3染色体を除いては、ほとんど、非抵抗性の系統と共通の background をもっている。これらの特殊な系統の雌の染色体の組成を、非抵抗性系統、抵抗性系統と比較するために図示したのが第1図である。たゞ、雄においてはY染色体は抵抗性系統より由来しているが、一般にY染色体は遺伝的にはほとんど不活性であるといわれている。したがつてこのような系統を用いると、他の染



Fig. 1. Chromosome make-ups of the susceptible, synthetic and original resistant strains. Chromosomes of the resistant strains are presented in black, and those of the susceptible strains in white.

色体上の変異遺伝子の影響をほとんど考慮することなく、第3染色体についてのみ互いに比較することができる。まず、*bw; III Hikone-R*, *bw; III NS-R* 両系統の抵抗性をもとの Hikone-R, NS-R の両系統と比較すると、これらの特殊な系統はやゝ抵抗性が低下しているが、これは第3染色体以外の遺伝子の影響であると考えられる。第2図は非抵抗性の *st ss*, *bw; st ss*, 抵抗性の Hikone-R, NS-R, *bw; III Hikone-R*, *bw; III NS-R* の諸系統、ならびに *bw; st ss* とこの特殊な抵抗性系統を交配したときの F₁ のニコチン抵抗性の程度を示したもので、その交配は次のようにして行われた。

Cross A. *bw; st ss* ♀ × *bw; III Hikone-R* ♂
→ F₁ A

Cross B. *bw; st ss* ♀ × *bw; III NS-R* ♂
→ F₁ B

F₁ の抵抗性が親の抵抗性系統よりやゝ低下することから、ニコチン抵抗性は前報にも述べたごとく不完全優性であることが示される。また第2図の結果から、F₁ の抵抗性は非抵抗性の *bw; st ss* よりもはるかに強いことがわかったので、第3染色体上の抵抗性主要遺伝子の位置を求めるために次の戻し交配を行い、F₂ の1令幼虫を濃度 200 ppm または 500 ppm のニコチン含有餌料で飼育した。すなわち、非抵抗性系統の *bw; st ss* は 200 ppm でも成虫が全く出現しないが、抵抗性遺伝子についてヘテロの個体は 200 ppm で約 80%, 500 ppm で約 20% が羽化する。

Cross C. F₁ A ♀ × *bw; st ss* ♂ → F₂

Cross D. F₁ B ♀ × *bw; st ss* ♂ → F₂

これらの結果は第1表に示される。すなわち、抵抗性遺伝子の位置は、この場合ニコチン含有区の *st* と *ss* の表現型を示す F₂ の成虫出現数の比で *st* (染色体地図上の位置は 3-44.0) と *ss* (3-58.5) 間の距離 14.5

を内分する点であると考えられる。ニコチン含有区の *st* の出現数を対照区の値で補正すると、Cross C においてはニコチン濃度 200, 500 ppm の場合は、それぞれ、

$$(110+21) \times \frac{144}{152} = 124.1$$

$$(50+5) \times \frac{144}{152} = 52.1$$

となる。したがって、この補正值から抵抗性遺伝子の第3染色体地図上の位置を計算すると、

$$44.0 + 14.5 \times \frac{124.1}{231+21+124.1} = 49$$

$$44.0 + 14.5 \times \frac{52.1}{99+5+52.1} = 49$$

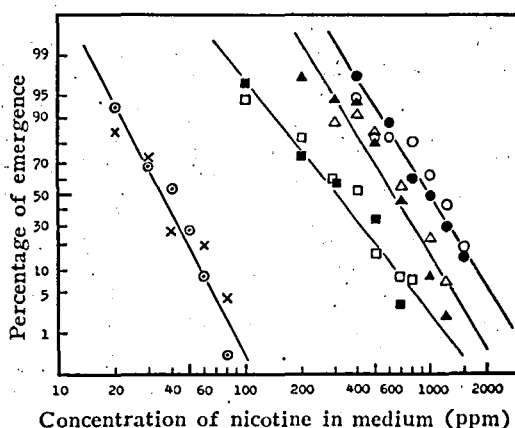


Fig. 2. Levels of resistance to nicotine in the resistant and susceptible strains, and their hybrids.

● Hikone-R
▲ *bw; III Hikone-R*
■ F₁ (*bw; st ss* ♀ × *bw; III Hikone-R* ♂)
□ F₁ (*bw; st ss* ♀ × *bw; III NS-R* ♂)
⊙ *bw; st ss*
○ NS-R
△ *bw; III NS-R*
× *st ss*

Table 1. The number of F₂ flies of each phenotype produced by the following backcrosses:

Cross C. F₁ (*bw; st ss* ♀ × *bw; III Hikone-R* ♂) ♀ × *bw; st ss* ♂

Cross D. F₁ (*bw; st ss* ♀ × *bw; III NS-R* ♂) ♀ × *bw; st ss* ♂

Concentration of nicotine in medium	(Cross C)			(Cross D)	
	Control	200 ppm	500 ppm	Control	500 ppm
No. of larvae bred	2500	10000	16000	2500	10000
(Phenotype)	(Number of F ₂ flies emerged)				
<i>bw; + +</i>	1073	2950	2379	1104	1183
<i>bw; + ss</i>	144	231	99	155	109
<i>bw; st +</i>	152	110	50	163	87
<i>bw; st ss</i>	945	21	5	839	2
Total	2314	3312	2533	2266	1381

すなわち Cross C においては、抵抗性遺伝子の位置は両濃度共に 3-49 と同じ値が得られた。

同様にして Cross D の結果から抵抗性遺伝子の位置を求めると、

$$(87+2) \times \frac{155}{168} = 82.1$$

$$44.0 + 14.5 \times \frac{82.1}{109+2+82.1} = 50$$

すなわちこの場合も、染色体地図上の 3-50 となる。

このように Hikone-R および NS-R 両系統の第3染色体の抵抗性主要遺伝子は、共に紡錘糸附着点のすぐ右側すなわち右腕のほとんど同じ位置に存在することがたしかめられた。

そこでさらに、この両系統の主要遺伝子が果して同じものかどうか、またそれ以外の優性、劣性の抵抗性遺伝子についてはどのような異同がみられるかなどを

知るために、もとの抵抗性系統同士を正逆交配してその F₁ および F₂ の抵抗性の変化の有無をしらべた。

Cross E. Hikone-R ♀ × NS-R ♂ → F₁ → F₂

Cross F. NS-R ♀ × Hikone-R ♂ → F₁ → F₂

第2表および第3表は、それぞれの交配による F₁ および F₂ の1令幼虫をニコチン含有餌料で飼育したときの成虫の出現数を雌雄別に示したもので、第2表のニコチンの濃度が高い場合には (1000 ppm 以上)、Cross E の F₁ の雄の数は同濃度の雌の数より著しくすくない。これに反し、Cross F からの F₁ では、雄に較べると雌の数がすくなくなっている。さらに、第3表においても、Cross E の F₂ では性比があまり偏っていないのに対し、Cross F の場合には F₂ の雌は雄に較べてやや多い。したがってこれらの結果から、NS-R 系統の X 染色体には抵抗性に関係ある優性および劣性の遺伝子が含まれていることが知られる。

このように性比については、各交配の高濃度の場合にやや顕著な差がみられるが、F₁ および F₂ の全体の抵抗性をもとの両系統の抵抗性と比較するために、各濃度の雌雄の合計数から出現率を計算し、プロビットの尺度で示したのが第3図である。この図から、Cross E の F₁ の抵抗性がやや低いように見えるが、第2図の他の系統の抵抗性と比較すれば非常に抵抗性が強いので、両親の系統およびその F₁、F₂ の抵抗性にはあまり著しい差異が認められない。したがって、Hikone-R および NS-R 両系統のニコチン抵抗性に関与している優性および劣性の遺伝子の大部分は共通であるかまたは類似のものであることがわかる。

考 察

前報において Hikone-R、NS-R 両系統のニコチン抵抗性は不完全優性であることを述べたが、今回の実験に用いた *bw₁ III* Hikone-R、*bw₁ III* NS-R の抵抗性も不完全優性であることを示している。この現象を説明するには次の2つの可能性が考えられる。まず第1に、優性の抵抗性遺伝子自身の作用がホモのときとヘテロのときとで表現に差があるという場合である。第2に、抵抗性の系統の実際の抵抗性をあらわしているのは単に優性遺伝子のみでなく、劣性の遺伝子も関与していて、これらがホモの場合には抵抗性が強いが、ヘテロの状態になったときは優性の遺伝子しか作用しないので劣性遺伝子の作用していた分だけ抵抗性が低下し、全体としては不完全優性として表現されるという場合である。ニコチン抵抗性において、この2つの可能性のどちらに相当するかを証明することは現在の段階では困難であるが、後に述べるように、NS-R 系統の X 染色体には優性、劣性双方の効果が認められることから、おそらく他の染色体にも優性遺伝子の

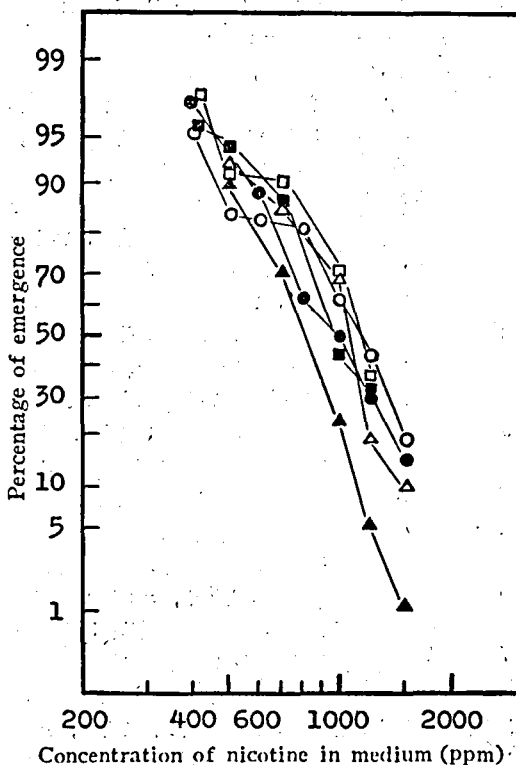


Fig. 3. Levels of resistance to nicotine in the F₁ and F₂ generations of reciprocal crosses between two resistant strains.

- Hikone-R
- NS-R
- ▲ F₁ (Hikone-R ♀ × NS-R ♂)
- △ F₁ (NS-R ♀ × Hikone-R ♂)
- F₂ (Hikone-R ♀ × NS-R ♂)
- F₂ (NS-R ♀ × Hikone-R ♂)

Table 2. The number of F₁ flies produced by the reciprocal crosses between Hikone-R and NS-R strains.

Concentration of nicotine in medium	No. of F ₁ larvae bred	Number of F ₁ flies emerged		
		♀	♂	Total
F ₁ (Hikone-R ♀ × NS-R ♂)				
Control	500	239	242	481
500 ppm	500	212	220	432
700	500	191	151	342
1000	500	78	42	120
1200	500	21	7	28
1500	500	6	0	6
F ₁ (NS-R ♀ × Hikone-R ♂)				
Control	500	245	235	480
500 ppm	500	204	242	446
700	500	207	205	412
1000	500	131	200	331
1200	500	19	72	91
1500	500	17	32	49

Table 3. The number of F₂ flies produced by the reciprocal crosses between Hikone-R and NS-R strains.

Concentration of nicotine in medium	No. of F ₂ larvae bred	Number of F ₂ flies emerged			
		♀	♂	Total	
F ₂ (Hikone-R ♀ × NS-R ♂)					
Control	550	285	248	533	
400 ppm	500	235	229	464	
500	500	223	236	459	
700	500	219	201	420	
1000	500	109	113	222	
1200	500	75	79	154	
F ₂ (NS-R ♀ × Hikone-R ♂)					
Control	500	245	237	482	
400 ppm	500	252	221	473	
500	500	214	230	444	
700	500	221	218	439	
1000	500	180	157	337	
1200	500	86	57	143	

みならず劣性の抵抗性遺伝子が含まれていることも考えられるので、一応2番目の可能性の方がよくあてはまるものと推定される。

さて、第1表の Cross C の結果から計算されたように、*bw*; *III* Hikone-R 系統の第3染色体の主要遺伝子の位置が、200 ppm の場合と 500 ppm の場合とで全く一致しているのは、200 ppm でも非抵抗性の遺伝子型の個体は完全に淘汰されていることを示すものであろう。さらに、Cross D の結果から、*bw*; *III*

NS-R 系統においてもその抵抗性主要遺伝子の位置が 3-50 となつて、*bw*; *III* Hikone-R 系統で求められた 3-49 とほとんど一致している。最近、種々の突然変異で偽似対立遺伝子 (pseudoallele) の現象がよく知られてきたので、殺虫剤抵抗性の場合もその可能性は否定することができないが、誤差の範囲も考慮に入れると、こゝでは一応 Hikone-R, NS-R 両系統の抵抗性主要遺伝子は別々の座位を占める別の遺伝子であると考ええるよりも、むしろ第3染色体右腕の同じ位置を占めるものとみなす方がより自然であろう。換言すれば、Hikone-R, NS-R 両系統のニコチン抵抗性主要遺伝子の作用は、系統の起原が異ついても同じ生理的機構にしたがつているものと推察することができる。

一般に、ある1つの昆虫集団を殺虫剤で淘汰していつて次第にその抵抗性を高める場合に、いくつかの群に分けて別々に淘汰するとき、たとえ抵抗性が同程度にまで発達したとしてもその抵抗性を発現している遺伝子の構成は必ずしも等しいとは限らない。しかしながら、キイロショウジョウバエの Fukuoka-R, Hikone-R 両系統の DDT 抵抗性が、共に第2染色体の同じ位置を占める遺伝子の支配によるものであると考えられること²⁾や、ニコチン抵抗性においても起原の異なる Hikone-R と NS-R 両系統の抵抗性が同じ主要遺伝子の働きによつてあら

わされているものと考えられるに至つたことは、まことに興味深い。これに対し、Crow¹⁾ は同じキイロショウジョウバエのアメリカの系統で DDT 抵抗性を遺伝学的に分析した結果を報告しているが、その結果は筆者らが上に述べた DDT 抵抗性の分析結果とは著しく異つており、また King²⁾ もアメリカのある系統を2つに分け、別々に DDT で淘汰して作った抵抗性の SyS 1001 と SyS 1002 でさえも、両者を交配したときに F₂ の抵抗性が低下することから、その

抵抗性を支配している遺伝子の構成は異つてゐることを報告している。このように同じ種類でも系統によつてその抵抗性の遺伝子構成が等しくない場合もあるが、キイロシヨウジヨウバエと同属のクロシヨウジヨウバエ *Drosophila virilis* という別の種類において、彦根市から採集した系統のニコチン抵抗性が主としてその第2染色体（これはキイロシヨウジヨウバエの第3染色体右腕に相当する）にある遺伝子によるものであることも知られた⁴⁾。

このような見地から筆者らの用いているニコチン抵抗性の2系統の遺伝子構成の異同をたしかめるために行われた Cross E, Cross F の結果は、第3図に示されるごとく、Cross E の F_1 においてやゝ抵抗性が低くなつてゐることを除いてはもとの両系統とその F_1 , F_2 の抵抗性には大差が認められない。前報において、Hikone-R 系統の X 染色体にはニコチン抵抗性にはほとんど影響をおよぼすような遺伝子が含まれていないと考えられることを報告したが、第2表の結果から NS-R 系統の X 染色体には優性および劣性の抵抗性遺伝子が存在することが明らかとなつた。また Cross E において F_1 よりも F_2 の抵抗性が強くなつてゐることから、常染色体にも劣性遺伝子が含まれているが、Hikone-R と NS-R 系統とであるいはその一部が等しくないことも考えられる。しかしながら、これらの両系統における差異は抵抗性全体からみればあまりその効果が大きくないので、このような微細な点を除いては、起原の異つた Hikone-R, NS-R 両系統で単に主要遺伝子のみならずその抵抗性全体に関与する遺伝子構成の大部分が両者に共通であると考えることは注目すべきことであつて、その抵抗性の生理的機構についても大差がないことを意味するものであろう。

摘 要

前報に報告したキイロシヨウジヨウバエのニコチン抵抗性主要遺伝子の第3染色体上の位置をさらに正確に知るために、Hikone-R および NS-R から作られた特殊な抵抗性系統を用いて分析した結果、共に紡錘糸附着点のすぐ右側に存在することがわかつた。

またこの抵抗性の2系統は、起原が異なるにもかゝらず、ニコチン抵抗性に関与する遺伝子構成の大部分が共通であるとえられるに至つた。

引 用 文 献

- (1) Crow, J. F. : Unpublished report to U. S. Army (1953).
- (2) King, J. C. : Amer. Natur., 89, 39-46 (1955).

- (3) Ogaki, M. and M. Tsukamoto : Botyu-Kagaku, 18, 100-104 (1953).
- (4) Oshima, C. and T. Hiroyoshi : Botyu-Kagaku, 21, 65-70 (1956)
- (5) Tsukamoto, M. : Botyu-Kagaku, 20, 73-81 (1955)

Résumé

In a previous paper,⁵⁾ it has been reported that the nicotine resistance in both Hikone-R and NS-R resistant strains of *Drosophila melanogaster* is mainly controlled by a dominant gene on the third chromosome and some modifier genes on other chromosomes, and that this main resistant gene of Hikone-R strain is located close to the spindle fiber attachment of the third chromosome. However, the precise locus for this main gene has not been known whether it is located on the left side or the right side of the spindle fiber attachment, because of the presence of modifier genes on other chromosomes.

To clarify the precise locus for the resistant gene on the third chromosome, the following special strains have been used in the present crossing experiment :

Resistant	<i>bw</i> ; <i>III</i> Hikone-R
	<i>bw</i> ; <i>III</i> NS-R
Susceptible	<i>bw</i> ; <i>st ss</i>

These synthetic resistant strains possess the cytoplasm, the X, second, and may be fourth chromosomes of the susceptible origin, and the Y and third chromosomes of the resistant strains. However, the Y chromosome, as is well known, is almost inert genetically. Therefore, these special strains have common susceptible background differing from one another only with respect to the third chromosome. The chromosome make-ups of these strains were given in Figure 1.

The following crosses were made between the susceptible and resistant strains :

Cross A. *bw*; *st ss* ♀ × *bw*; *III* Hikone-R ♂ → F_1 A
 Cross B. *bw*; *st ss* ♀ × *bw*; *III* NS-R ♂ → F_1 B

bw : brown eyes (2-104.5)

st : scarlet eyes (3-44.0)

ss : spineless (3-58.5)

The levels of resistance of the original resistant strains, parental special strains and their F_1 hybrids are given in Figure 2, which indicates an incomplete dominance of the nicotine resistance.

To obtain the precise locus for the dominant resistant gene on the third chromosome, the following backcrosses were carried out:

Cross C. $F_1A \text{♀} \times bw; st \text{ ss} \text{♂} \rightarrow F_2$

Cross D. $F_1B \text{♀} \times bw; st \text{ ss} \text{♂} \rightarrow F_2$

When the F_1 females are backcrossed to susceptible mutant males, the recombination between these mutant and resistant loci occurs by crossing-over within the third chromosome. Therefore, from the ratios of the number of recombinants such as *st* and *ss* F_2 flies, it is possible to calculate the locus for the resistant gene.

The results of these backcrosses shown in Table 1 indicate that the dominant resistant genes of Hikone-R and NS-R strains are located at 3-49 and 3-50 loci respectively, namely, slightly to the right of the spindle fiber attachment (3-47), on the linkage map.

However, as there is no significant difference between these resistant loci, it is more plausible to assume the same locus or similar mechanism for both resistant genes than to do another locus or different mechanism for each resistant gene.

King²⁾ has demonstrated that the F_1 hybrids between two DDT resistant lines, which developed independently from the same wild

strain, show the same resistance as the parental lines but that the level of resistance of the F_2 flies is significantly lower than that of the F_1 or parental lines.

On the contrary, when the present resistant strains, Hikone-R and NS-R, were reciprocally crossed with each other, the F_1 and F_2 hybrids showed no significant change in level of resistance to nicotine as compared with the parental strains, except a slight decrease in resistance was demonstrated at high dosages in the case of the F_1 hybrids, produced by the cross between the Hikone-R females and the NS-R males. These crosses are as follows:

Cross E. Hikone-R $\text{♀} \times$ NS-R $\text{♂} \rightarrow F_1 \rightarrow F_2$

Cross F. NS-R $\text{♀} \times$ Hikone-R $\text{♂} \rightarrow F_1 \rightarrow F_2$

Figure 3 shows the resistance levels of the parental strains, F_1 and F_2 hybrids.

Actual numbers of the F_1 and F_2 hybrids are given in Table 2 and 3 respectively. The difference between the numbers of the F_1 males and females which emerged from the 1000-1500 ppm nicotine containing media indicates the presence of some dominant and recessive genes on the X chromosome of NS-R strain, while no important effect of the X chromosome of Hikone-R strain has been reported in a previous paper.

Except for these slight disparities, it should be noted that in spite of differences of genealogy there are many similarities in the genetical make-up of the resistance to nicotine between these Japanese resistant strains.

Variation in the Resistance of Rice Stem Borer to Insecticides. I. Variation and Difference in the Resistance to Parathion in the Pupal Stage of Artificially Reared and Field-Collected Populations. Kōzaburo OZAKI (Division of Entomology, Nat. Inst. Agric. Sci., Nishigahara, Tokyo). Received July 27, 1956. *Botyu-Kagaku* 21, 76-80, 1956. (with English résumé, 80)

17. ニカメイチュウの殺虫剤に対する抵抗力の変異 I。人工飼育個体群と野外採集個体群の蛹期における個体変異と抵抗力の差異。尾崎幸三郎(農林省 農業技術研究所 病理昆虫部 昆虫科) 31. 7. 27. 受理。

ニカメイチュウを人工培養基で飼育すると、野外で採集した個体群より平均体重が重く、体重の変異の程度の小さい蛹が得られる。この人工飼育個体群と野外個体群のエチルパラチオンに対する抵抗力を topical application によつて比較したところ、抵抗力は人工飼育個体群の方が強かつた。しかし 50% 致死薬量を体重で除して求めた単位体重当りの抵抗力は雄では野外個体群より強かつたが、雌では著しく弱かつた。これは人工飼育個体群の雌はいまだ生理的に不健全であつたためと考えられる。