

Inheritance of Resistance to DDT in *Drosophila melanogaster*. Masuhisa TSUKAMOTO (Genetical Laboratory, Faculty of Science, Osaka University) and Masahiro OGAKI (Department of Education, Naniwa University, Sakai, Osaka). Received Apr. 16, 1953. *Botyu-Kagaku* 18, 39-44, 1953. (with English résumé 43).

10. ショウジョウバエの DDT に対する抵抗性の遺伝 塚本増久 (大阪大学理学部生物学教室), 大垣昌弘 (浪速大学教育学部) 28. 4. 16 受理

I. 緒 言

BHC や DDT の様な有機合成殺虫剤が世界各地で大量に用いられる様になつて以来、これらの殺虫剤に対して抵抗性を示す昆虫が非常に増加してきたことは、医学や農業などの分野における重要な問題であると共に、生物学的にも極めて興味ある現象の一つである。従つて昆虫の殺虫剤に対する抵抗性についての報告は非常に多く、ほとんど枚挙に遑がない位であつて、Quayle⁽¹⁾, Babers⁽²⁾, Monro⁽³⁾, 湯淺⁽⁴⁾, Metcalf⁽⁵⁾ などの綜説も見られる。しかし抵抗性の原因や機構、特異性、増大の様式、保持の問題などについては、報告される研究結果も昆虫の種類、系統、薬剤、実験方法などの相異によつて一様でなく、時には全く反対の結果を示しているものさへあつて、今なお充分明かにされたとは言えない。

昆虫の殺虫剤抵抗性についてはそれが遺伝的なものであつて、一般に抵抗性の強い系統の子孫は強い抵抗性を示すことが知られているが、その遺伝子分析はほとんど行われていない。Dickson⁽⁶⁾ はアカマルカイガラシの青酸塩素に対する抵抗性を研究し、その抵抗性が優性で伴性遺伝をなすことを明かにした。Monro⁽³⁾, Bruce & Decker⁽⁷⁾ などはイエバエで DDT 抵抗性と非抵抗性の両系統間の交配を行い、F₁ は両系統の中間程度の抵抗性を示すことを述べている。Bruce⁽⁸⁾, Bruce & Decker⁽⁷⁾ はイエバエの DDT 抵抗性は雌によつても雄によつても伝えられる multiple gene characters によるものであらうと述べ、March & Metcalf⁽⁹⁾ もイエバエの DDT 抵抗性の遺伝は簡単なメンデル比では説明することができないといつているが、Harrison⁽¹⁰⁾ はイタリアからのイエバエの系統で DDT 抵抗性は1対の遺伝子によつて左右され、非抵抗性の方が優性であると報告している。この様に 2, 3 の昆虫で研究が行われたが、これらの材料ではこれ以上遺伝子分析を行うことは困難であらうと思われる。

そこで著者等は昆虫の殺虫剤に対する抵抗性遺伝の機構の一端を明かにするために、遺伝子分析の最も進んでいるショウジョウバエを用いて、その DDT 抵抗性を遺伝学的に追求したので、今迄判明したことが

らについて、ここに報告する次第である。

II. 材料及び実験方法

この実験は 25°C. 前後に調整された飼育室内で Pearl の餌料で飼育したキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の種々の系統について行つた。ショウジョウバエはすべて 15cc の餌料を入れた容積約 45 cc, 底面積約 10 cm² の小ビンで飼育し、DDT 抵抗性をしらべる場合は餌料に適當な濃度の DDT 粉剤を混入した。DDT 粉剤は *p,p'*-DDT の結晶を 10% 及び 50% の割合で clay と混合し、乳鉢で約 2 時間粉砕撹拌したものを使用した。

各系統の抵抗性を検定する方法としては、DDT を含んだ Pearl の餌料にそれぞれの羽化後 3 日以上たつた成虫を、充分麻酔からさめた後、雄雌 5 匹づつ入れて 5 日間産卵させ、そのビンの中から羽化する次の世代の成虫数を正常の Pearl の餌料の入つたビンから羽化した成虫数と比較して、DDT の濃度による羽化率の減少をしらべた。

また抵抗性の弱い系統と強い系統とを交配して遺伝子分析を行う場合には、あらかじめ DDT を含まない Pearl の餌料をスライドガラス上にうすくのせて管ビン内で 6~18 時間産卵させた後にスライドガラスをとりだし、1 日後に孵化した 1 令幼虫を DDT を含んだ餌料と通常の Pearl の餌料に移して、それから羽化した成虫の形質や性などをしらべた。この場合ビンに入れる幼虫数は、幼虫相互間にはげしい生存競争が起るのをさけるために普通の場合 1 ビン当り 50 匹とした。

なほ DDT 抵抗性の系統としては、多くの系統中最も強い抵抗性を示した野生型の福岡系を、更に 1000~2000 γ /cc 程度の DDT 含有餌料で累代飼育淘汰したものを用いた。

III. 実験結果

(1) 各系統の DDT 抵抗性の検定

従来より研究室で飼育されていた多数の野生型及び突然変異型の各系統と、1951 年秋に日本の各地から採集された 10 数系統の野生型系統について DDT 抵抗性をしらべた結果、系統によつて抵抗性の程度にかなり著しい変異がみられた。すなわち、野生型系統のうち

では福岡系が最も強く、突然変異系統では *bw; st* や *bw; e* などが最も強い抵抗性を示した。野生型の Canton-S 系はすべての系統中で最も弱く、その他の多くの系統は福岡系と Canton-S 系の中間で種々の程度の抵抗性を示した。野生型や突然変異型の系統のうちで代表的な数系統の DDT 抵抗性を羽化率のプロビットで示すと第 1 図の如くである。

福岡系は更に DDT 抵抗性を高めるために DDT ではげしく淘汰したが、22代目の成虫の羽化率で検定した結果は、実験室で淘汰する以前よりも抵抗性が特に増大しているものとは認めることができなかった。

(2) 遺伝学的分析

DDT 抵抗性と細胞質、染色体、性などの関係を知るために、最も DDT に弱かつた Canton-S 系と、

DDT 抵抗性の福岡系とを互に正逆交雑してその F_1 の幼虫を飼育し、或虫の羽化率をしらべたところ第 1 表に示す如き結果となつた。

すなわち Canton-S を雌として交雑した場合に 700 γ /cc の DDT で非常に淘汰されていることを除いては、どの交雑による F_1 も DDT であまり淘汰されていない。このことから福岡系の DDT 抵抗性は優性で、細胞質よりもむしろ染色体と密接な関係を有していることがわかる。また F_1 の雌雄の羽化数には有意な差がなく、また引きつづき行つた福岡♀

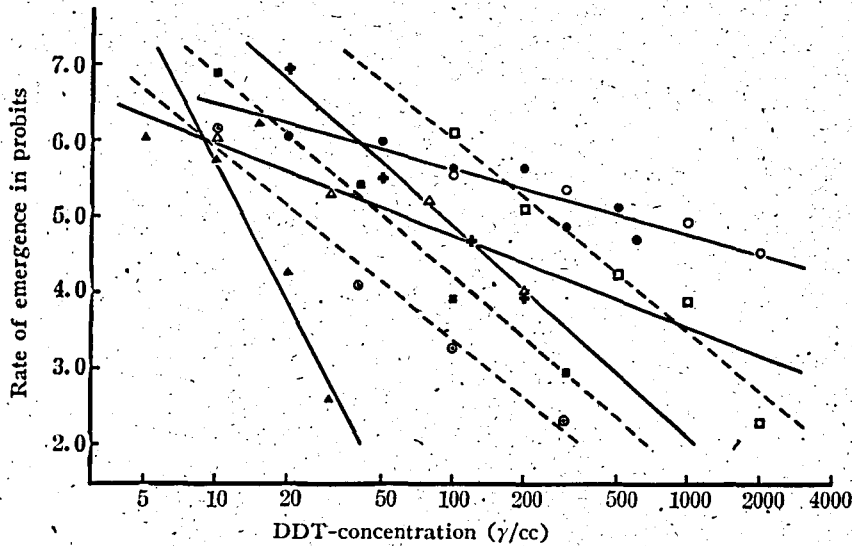


Fig. 1. Rate of emergence in relation to DDT-dosage in various strains of *Drosophila melanogaster*.

- Fukuoka
- original strain
- selected strain (G_{22})
- △— Oregon
- +— Sapporo
- ▲— Canton-S
-□.... *bw; st*
-■.... *ve*
-●.... *vg no*

Table 1. F_1 -flies from reciprocal crosses between Fukuoka resistant and Canton-S susceptible strains

Cross	Concentration of DDT in medium γ /cc	No. of F_1 -larvae tested	No. of emerged F_1 -adults			Percentage of emergence
			♀	♂	Total	
Fukuoka ♀ × Canton-S ♂	Control	190	99	83	182	95.8
	20	150	58	79	137	91.3
	100	200	106	79	185	92.5
	400	100	41	39	80	80.0
	700	150	62	66	128	85.3
Canton-S ♀ × Fukuoka ♂	Control	150	78	66	144	96.0
	20	103	38	46	84	84.0
	100	103	52	43	95	95.0
	400	50	23	25	48	96.0
	700	50	7	2	9	18.0

× Canton-S ♂ の F₁ 同志の交配で、F₂ の羽化数をみても、DDT 淘汰によつて性比はほとんど影響をうけないことから、DDT 抵抗性は性染色体とほとんど関係がないことがわかつた。

つぎに DDT 抵抗性と常染色体との関係を明らかにするために、各常染色体に劣性の突然変異遺伝子を有し、しかも DDT 抵抗性が比較的弱い系統の雄を福岡系の雌に交雑し、その F₁ の雄を突然変異系統の雌に戻し交配して、羽化した F₂ の成虫の形質と羽化数が DDT 淘汰でどの様に影響されるかをしらべた。第 II 染色体の突然変異系統としては、(1) *fx* (2) *cn bw* (3) *vg^{no}* を、第 III 染色体では (1) *ve* (2) *p^b bx sr e^s* (3) *ca* などを、第 IV 染色体では *svⁿ* の各系統を、さらに第 II, III 染色体の突然変異系統としては *bw; ss* を用

いた。これらの系統を用いての戻し交配による F₂ の羽化数は第 2 表及び第 3 表に示す如き結果となつた。これらの戻し交配において DDT で淘汰した場合には、第 II 染色体に属する突然変異形質を表現型とする F₂ の出現率が対照区にくらべて最も著しい減少を示している。ところが第 III 染色体の突然変異型の出現率の減少は推計学的に有意であつてもそれほど著しくなく、第 IV 染色体の場合には対照区にくらべて有意な差があるとはいえない。

また第 II 染色体の突然変異系統による戻し交配の実験において、F₁ の雌に突然変異系統の雄を交配した場合の F₂ の羽化数はそれぞれ第 4 表、第 5 表、第 6 表の如くなつた。

すなわち DDT で淘汰した場合の突然変異型の F₂

Table 2. F₂-flies from back cross between mutant ♀ and F₁(Fukuoka ♀ × mutant ♂) ♂

Chromosome	Mutant strain	Sort of medium	No. of emerged adults			Percentage of mutant
			mutant type	wild type	Total	
II	<i>fx</i>	Control	154	125	279	55.2
		DDT-contain. *	52	190	242	21.5
	<i>cn bw</i>	Control	122	149	271	45.0
		DDT contain. *	56	201	257	21.8
	<i>vg^{no}</i>	Control	183	133	316	57.9
		DDT-contain. *	72	216	288	25.0
III	<i>ve</i>	Control	386	526	912	42.3
		DDT-contain. *	60	137	197	30.5
	<i>p^b bx sr e^s</i>	Control	131	295	426	30.8
		DDT-contain. *	31	110	141	22.0
	<i>ca</i>	Control	254	289	543	46.8
		DDT-contain. *	129	186	315	41.0
IV	<i>svⁿ</i>	Control	215	218	433	49.7
		DDT-contain. *	159	186	345	46.1

* 500~1000 γ/cc.

Table 3. F₂-flies from back cross between *bw; ss* (II; III) ♀ and F₁ (Fukuoka ♀ × *bw; ss* ♂) ♂

Sort of medium	No. of emerged F ₂ -adults				Percentage of total	Percentage of total <i>ss</i>
	+	<i>bw</i>	<i>ss</i>	<i>bw; ss</i>		
Control	217	149	186	139	41.7	47.0
DDT-contain. *	275	32	235	22	9.6	45.6

* 2000 γ/cc

出現率は、対照区にくらべて *bw*, *px*, *cn*, *vg^{no}* の順に減少し、特に *vg^{no}* の出現率は交交によつても増加を示さないことがわかる。

IV. 考 察

この実験に用いた野生型及び突然変異型の各系統は、1951年に日本の各地で採集された福岡系や札幌系などの10数系統をのぞいてはすべて以前から研究室で飼育されてきた系統であつて、DDT抵抗性の検定に用いられる迄は全く DDT に接触する機会のなかつた系統である。それにも拘らず、突然変異型の系統の中にも *bw;st* や *bw;e* の様になりに強い抵抗性を示すものがあるので、突然変異型だからといつて、特に野生系統より抵抗性が弱いとは認めることが

できない。また生存力が強い系統であつても必ずしも DDT に強い抵抗性を示すとは限らない。その著しい例は野生型の Canton-S 系である。この様なことから、DDT 抵抗性は昆虫が DDT に接触することによつて始めて誘起され、次第に適応的に抵抗性を獲得して行くという考え方よりも、これらの系統または個体に DDT 抵抗性に関与する遺伝的要因がはじめから存在しているものと解釈する方がより大きな可能性を有するであろう。福岡系は以前に度々 DDT などの殺虫剤がまかれていた場所から採集されたもので、淘汰の結果抵抗性をもつた個体のみが残つて繁殖していたものと考えられる。この系統の DDT 抵抗性は採集後実験室で21代も DDT 含有餌料ではげしく淘汰したが、淘汰前とほとんど変化が認められないという事実はこの見解を支持するものと考ええる(第1図)。

遺伝子分析の実験においては、第1表に示した如く福岡系と Canton-S 系の正逆交雑のどちらの F_1 もあまり DDT で淘汰されていないことから、DDT 抵抗性は優性の形質であることがわかる。また DDT 抵抗性は細胞質よりもむしろ染色体にある遺伝子によ

Table 4. F_2 -flies from backcross of F_1 (Fukuoka ♀ × *px* ♂) ♀ × *px* ♂

Sort of medium	No. of emerged F_2 -adults			Percentage of <i>px</i> emerged
	<i>px</i>	+	Total	
Control	158	133	291	54.3
DDT-contain. *	56	86	142	39.4

* 500~1500 γ /cc

Table 5. F_2 -flies from back cross of F_1 (Fukuoka ♀ × *cn bw* ♂) ♀ × *cn bw* ♂

Sort of medium	No. of emerged F_2 -adults				Percentage of total <i>cn</i>	Percentage of total <i>bw</i>
	+	<i>cn</i>	<i>bw</i>	<i>cn bw</i>		
Control	76	76	58	85	54.6	48.5
DDT-contain. *	120	51	89	45	31.5	43.9

* 500~1500 γ /cc.

Table 6. F_2 -flies from backcross of F_1 (Fukuoka ♀ × *vg^{no}* ♂) ♀ × *vg^{no}* ♂

Sort of medium	No. of emerged F_2 -adults			Percentage of <i>vg^{no}</i> emerged
	<i>vg^{no}</i>	+	Total	
Control	78	58	136	57.3
DDT-contain. *	63	260	323	19.8

* 1000 γ /cc

つて著しい影響をうけるものであると考えられる。しかし DDT の濃度がかなり高いときは F_1 の出現率は母体の細胞質によつてやゝ影響をうける様であつて(第1表 700 γ /cc の結果参照)、これらの点については更に詳しく研究する予定である。

更にどの染色体が DDT 抵抗性と密な関係を有しているかをたしかめねばならないが、第1表の結果や、福岡 ♀ × Canton-S ♂ の F_1 同志の交配による F_2 で、雌雄の羽化数が DDT で淘汰しても有意な差を示さないことなどから、性染色体とはほとんど関係がないことが知られる。またある特定の常染色体が DDT 抵抗性の遺伝子と特に密接な関係をもっているものとすれば、比較的に抵抗性の弱い突然変異系統を用いた戻し交配において、ある染色体上の突然変異型を表現型とする F_2 の羽化数が著しく DDT で淘汰されるはずである。実際に第 II, 第 III, 第 IV 染色体上の突然変異系統を用いた戻し交配の結果(第2表 第3表)では、第 II 染色体の突然変異型を表現型とする F_2 の出現率は DDT 淘汰によつて著しく減少しているのに対し、第 III 染色体の突然変異形質を表

現型とする F_2 の出現率の減少は、推計学的に有意である場合もあるが、あまり著しくない。ことに生存力の強い突然変異系統ほど出現率の減少は対照区に比してすくなくついている。また第 IV 染色体の突然変異系統では F_2 の出現率は対照と推計学的に有意な差を示していない。この様なことから福岡系の DDT 抵抗性の遺伝的要因は Polygenic なものではあるが、その主要遺伝子は第 II 染色体に存在することが明かとなった。

なほ第 II 染色体に存在する DDT 抵抗性の主要遺伝子の染色体上に占める位置は、 F_1 を雌とした場合の戻し交配による F_2 の羽化数と表現型の関係をしらべることによつて推定できる。すなわち、この場合は雌で交配が起りうるが、ある突然変異形質の遺伝子と抵抗性主要遺伝子との染色体上の位置が近ければ近い程交配の起る頻度は少いから、この様な突然変異形質を表現型にもつ F_2 の出現率は、 F_1 を雄としたときの戻し交配と同様に DDT 淘汰によつて著しく減少するはずである。第4表、第5表、第6表においては vg^{ro} の出現率が最も DDT 淘汰で減少しており、 cn , px , bv と位置が遠くなるにつれてその出現率は DDT 淘汰による影響がすくなくついていることから、DDT 抵抗性の主要遺伝子は第 II 染色体の右腕の中頃で、 vg 遺伝子のやゝ右側附近に存在するものと推定される。

多くの昆虫の殺虫剤抵抗性は、淘汰に用いられた薬剤にのみ特異的なものでなくて、その他の殺虫剤に対してもかなりの抵抗性を示す場合が、多く報告されているが、これらの現象の遺伝的な関係などについては、全く研究が行われていないので、今後ショウジョウバエを用いて、他の殺虫剤に対する抵抗性についても更に研究をすすめたいと思う。

V. 摘 要

(1) ショウジョウバエの DDT 抵抗性の遺伝様式をしらべるために、まず種々の野生型および突然変異型の系統について抵抗性の検定を行つたところ、系統によつて種々の程度の抵抗性を示し、その系統の表現型や生存力によつてはあまり左右されないことがわかつた。

(2) 今迄 DDT と接触したことがないと考えられる突然変異系統にも、かなり強い抵抗性を示すものがあることから、DDT 抵抗性ははじめからこれらの系統に存在しているものであつて、DDT と接触することによつて適応的に獲得して行くものではないことが推定される。

(3) 福岡系ショウジョウバエの DDT 抵抗性は、他の多くの系統の非抵抗性に対して優性であつて、しかも polygenic な形質であるが、その主要遺伝子は

第 II 染色体の右腕の中頃で vg 遺伝子の附近に存在することが明かとなつた。

この研究を行うにあつて終始御指導御鞭撻を賜つた大阪大学古川秀男教授、大島長造助教授、実験に用いた殺虫剤を恵みされた京都大学化学研究所長沢純夫氏、更に実験に當つて献身的な御協力を惜まれなかつた清水節子嬢に厚く感謝の意を表する。

なほ、この研究の一部は昭和27年度に交付された文部省科学研究費によつて行われたものであることを附記する。

VI. 引用文献

- (1) Babers, F. H. : U. S. Bur. Ent. & Plant Quar., E-776 (1949)
- (2) Bruce, W. N. : Pest Control, **18**, 9-10, 19 (1950)
- (3) Bruce, W. N. & G. C. Decker : Soap & Sanit. Chemicals, **26**, 122-125, 145-147 (1950)
- (4) Bruce, W. N. & G. C. Decker : Pest Control, **19**, 9-11 (1951)
- (5) Dickson, R. C. : Hilgardia, **13**, 515-522 (1941)
- (6) Harrison, C. M. : Nature, **167**, 855-856 (1951)
- (7) March, R. B. & R. L. Metcalf : Nat. Acad. Sci.-Nat. Res. Coun. Pub. No. 219, 45-53 (1952)
- (8) Metcalf, R. L. : Sci. Amer., **187**, 21-25 (1952)
- (9) Monro, H. A. U. : Pest Control, **17**, 16-42 (Part I) (1949); **17**, 22-50 (Part II) (1949)
- (10) Pearl, R., A. Allen & W. B. D. Penniman : Amer. Nat., **60**, 357-366 (1926)
- (11) Quayle, H. J. : J. Econ. Ent., **36**, 493-500 (1943)
- (12) 湯浅啓温 : 農業及園芸, **26**, 102-104 (1951)

Résumé

Since the applications of synthetic toxicants for insect control became in common, there are many papers concerning the development or the mechanism of resistance to insecticides, but very little is known on the mode of inheritance of resistance to insecticides.

In the present paper the fruit fly (*D. oshophila mela ogaster*), one of the most convenient materials for genetical analysis, is used to examine for their DDT-resistance. In the course of

experiments, the rate of emergence is estimated by comparing the number of flies from the DDT-containing Pearl's media with that from usual Pearl's media. There are various grades of resistance among wild and mutant strains respectively, and some mutant strains show considerable resistance although they have never been exposed to DDT (fig. 1). Thus, it is very plausible that the DDT-resistance may exist originally rather than it is acquired adaptatively.

In the reciprocal crossing experiments bet-

ween the Fukuoka resistant and Canton-S susceptible strains, it has been observed that the DDT-resistance of Fukuoka strain is dominant to non-resistance, having no linkage with sex-chromosomes (table 1).

The results obtained from backcrosses of the mutant $\varphi \times F_1$ (Fukuoka resistant $\varphi \times$ susceptible mutant δ) δ and its reciprocal case, indicate one or a few major genes of DDT-resistance in Fukuoka strain linked with the second chromosome (tables 2, 3), and located near the vestigial gene (tables 4, 5, 6).

On the Growth in Head Capsule of Larvae of the Common Cabbage Butterfly, *Pieris rapae crucivora* BOISDUVAL. Problems on the Breeding of Insects for Biological Assay of Insecticides. IV. Sumio NAGASAWA (Takei Laboratory, Institute for Chemical Research, Kyoto University. Takatsuki, Ohsaka). Received Apr. 15, 1953. *Botyū-Kagaku* 18, 44-51 1953 (with English résumé, 50)

11. モンシロチョウの幼虫期における頭部の成長について。殺虫剤の生物試験用昆虫の飼育に関する諸問題。第4報。長沢純夫(京都大学化学研究所武居研究室) 28. 4. 15 受理

1. 緒言

わが国に棲息するモンシロチョウ *Pieris rapae crucivora* BOISDUVAL については、数多い知見が今日あらゆる分野から提供されつつあるが、幼虫期における頭部の成長にかんしても、また、先年上野⁽¹⁾によつて講演による発表がなされ、さらにこれは文献⁽¹⁸⁾としてのこされた。筆者が今回ここにのべようとすることは、上野の研究結果を傍証する以外なんらの新事実はないが、これが底稿の埋稿となるのをおしんで、あえて発表する所以のものである。あわせてこれが殺虫剤の生物試験にモンシロチョウの幼虫を供しようとする過程において、役立つ何らかの基礎資料となるならば望外の幸である。

II. 測定材料および測定の方法

測定をおこなった材料は、1950年の5月下旬、高槻市所在の京都大学農学部附属摂津農場のカシラン栽培地において採集。その直後 70% の ethyl alcohol 溶液に浸漬し保存したものである。浸漬した標本は数ヶ月後には柔軟となつて、かたくキチン化した頭蓋部のみ容易に体部からとりはずすことができるようになるから、スライドガラスの上に前面を上にしてたいらにのせ、オキユラー・マイクロメーターを装填した双眼顕微鏡によつて測定した、なおここで、頭幅とはこの頭蓋部の最大幅をいい、頭長とは頭楯前端より頭頂部後端までの長さをいうものである。また第1, 2表をのぞく表や図の数値は、測定をおこなったマイクロメーター

の目盛のよみをそのまま表示し、考察もそうした数値を大体基礎にしておこなつたが、1目盛の長さは 0.067 mm である。

III. 測定結果

測定数値を相関図表にしめすと第1図のような結果をえる。以下これについてすこしく考察をおこなつてみたい。

IV. 考察

(1) 令期の決定。モンシロチョウがその幼虫期に5令を有することは、すでに飼育実験の結果から一般に知られていることであり、また野外において at random に採集されたものの頭幅の測定結果も、独立した5つの頻度分布曲線を描いて5令の存在をしめすことが先年上野⁽¹⁸⁾によつて報告された、筆者の測定した結果も、第1図にみるように頭幅においては頭長におけるほど整一な形をしめさなかつたが、ともに5つのことなつた頻度分布曲線のやまを描いた。ところで上野⁽¹⁸⁾は、各令の頭幅の範囲をきめるために、頻度分布曲線の重複部をどのようにとりあつかうかについて小標本の理論を適用して考察しているが、頭幅とあわせて頭長の測定をもおこなつた筆者の結果は、これを相関図表に整理したところ、第1図にみるように重複部の解決は、数表の区切れによつてさいわい簡単にかたづけることができた。すなわち上野⁽¹⁸⁾のおこなつたような考察は、一応ここでは除外して考えてもさしつかえないことがわかつたから、各令の有する頭