

Studies on the Insect-resistance to Insecticides. I. Development of Resistance of Human Body Louse, *Pediculus humanus corporis* deGeer, to DDT and BHC.

Kazuo YASUTOMI (Entomological Laboratory, National Institute of Health, Tokyo)

Received March 5, 1952. *Botyu-Kagaku*, 17, 41, 1952 (with English résumé 44)

9 各種昆虫の殺虫剤に対する抵抗性の研究 第1報 コロモジラミの DDT 及び BHCに対する抵抗性の増大 安富和男(国立予防衛生研究所 昆虫研究室) 27, 3, 5 受理

I. 緒 言

昆虫が殺虫剤に抵抗性を増大するという現象は Barbers¹⁾ によれば, Melander (1914) がナシノアカマルカイガラで認め, その後アメリカ, ヨーロッパの各地で他の昆虫においても各種の殺虫剤に対して次々に報ぜられ, ナシノアカマルカイガラ, ショウジョウバエ, コドリシガについては遺伝的研究も行われた。また最近では DDT 抵抗性のイエバエについて形態的, 生態的, 生理的の各方面にわたる研究が行われているが, 研究者が個々に専門の分野のみから実験を行い, 「抵抗性の本体や機構」については未だ統一性を欠き, 将来に問題の多くを残している。本邦においては現在迄「抵抗性の増大現象」に関する何等の実験報告もない。

コロモジラミの DDT に対する抵抗性の増大に関しては King (1950)²⁾ の否定的な報告があるのみである。即ち3齢仔虫を用い, 世代毎に大体75%の死亡率を惹起させる DDT 粉末を接触させたけれども, 8 世代経過後も何等抵抗性の増大を示さなかつたというし, また4000頭の成虫を僅か10頭(8頭が雌)生残るだけの薬量に曝しこの子孫を DDT と接触させることなく6世代の間飼育増殖して実験に供したところ, 抵抗性の増大は認められなかつたという。

筆者は室内で飼育増殖したコロモジラミ成虫を用いて *pp'*-DDT 及び γ -BHC に対する抵抗性の増大を実験したので現在迄に得られた結果を取纏め第1報として報告する次第である。本文に入るに先だち常々御懇切な御指導をいたさき且原稿御校閲の労をとられた朝比奈正二郎技官に深く感謝する。また供試虫の飼

育に御苦労頂いた伝染病研究所衛生動物研究室飯田鈴吉氏に深謝する。

II. 実験材料及び飼育方法

本実験に供試したコロモジラミ *Pediculus humanus corporis* deGeer は最初東京上野の浮浪者より採集され, 東京都を通じて入手した系統を 28°C の定温器中におき, 日に2回, 20分宛上膊部より人血を吸わせて発育させた成虫である。

III. 実験方法

径 9cm. のシャーレの底に濾紙をしき, 化学的に純粋な *pp'*-DDT 及び γ -BHC の各薬量を含んだアセトン溶液 1cc を均一に滴下し, アセトンの揮発後各系統, 各薬量区とも雌雄約30頭宛を入れ, 28°C 関係湿度73% (NaCl 飽和溶液で温度を調節した密閉水盤中に接触用シャーレを入れそれを定温器中におく) の恒温恒湿中で 24 時間接触させ, 清潔な濾紙をしいたシャーレに移して更に 24 時間飼育して生死を鑑別した(ピンセットの先で刺戟し少しでも動くものは生と見做した。)また実験中も吸血させた。

本報告文中における DDT 抵抗性系統とは成虫をその50%以上が死亡する *pp'*-DDT の薬量に接触させて生残つたものに産卵させ, それより孵化し生育し成虫になつたものに同様の処理を繰返したもの(3世代)であり, BHC 抵抗性系統とは γ -BHC における同様な処理を2世代行つたものである。

IV. 実験結果

pp'-DDT の各薬量における致死率の関係を表に示すと第1表の如くて, また γ -BHC の各薬量における致死率の関係を表示すると第2表の如くである。

Table 1. Mortality of lice 24 hours after exposure to residues of *pp'*-DDT.

Strain	Sex	Dosage (mg.)							
		16	32	64	128	256	512	1024	2048
Regular colony	Female	45.1	50.0	61.5	66.1	87.9	93.6		
	Male	40.7	50.9	67.5	72.7	83.3	93.8		
DDT-resistant colony	Female	.				10.7	22.2	41.0	50.0
	Male			.		16.0	27.3	33.3	53.9

Table 2. Mortality of lice 24 hours after exposure to residues of γ -BHC.

Strain	Sex	Dosage (mg.)						
		0.002	0.004	0.006	0.008	0.016	0.032	0.064
Regular colony	Female		16.7	46.7	76.5	96.7	100.0	
	Male	3.3	36.7	83.3	96.0	100.0		
BHC-resistant colony	Female				8.6	50.0	95.1	100.0
	Male		6.7		31.3	73.9	96.2	100.0
DDT-resistant colony	Female				3.3	31.4	88.2	

Table 3. Summary of data of experiments for pp' -DDT.

Strain	Sex	Regression equation	χ^2	n	Probability in χ^2 test (P_r)	Variance of parameter a $V(a)$	Variance of parameter b $V(b)$
Regular	♀	$Y=5.33339+0.9953(X-1.82539)$	4.616	4	>0.05	0.00368	0.02402
	♂	$Y=5.42630+1.02028(X-1.85466)$	1.896	4	>0.05	0.00418	0.02586
DDT-resistant	♀	$Y=4.56587+1.3839(X-2.93964)$	0.494	2	>0.05	0.01360	0.14298
	♂	$Y=4.60871+1.1370(X-2.93385)$	0.300	2	>0.05	0.01950	0.18195

Table 4. Summary of data of experiments for γ -BHC.

Strain	Sex	Regression equation $Y=a+b(X-\bar{x})$	χ^2	n	Probability in χ^2 test (P_r)	Variance of parameter a $V(a)$	Variance of parameter b $V(b)$
Regular	♀	$Y=5.10497+4.96330(X-0.80729)$	0.778	2	>0.05	0.01808	0.76453
	♂	$Y=5.36722+5.78932(X-0.69101)$	2.415	2	>0.05	0.02620	1.44300
BHC-resistant	♀	$Y=5.20433+4.94633(X-1.22742)$	0.434	1	>0.05	0.02569	0.61690
	♂	$Y=5.01687+3.66759(X-1.02981)$	0.162	2	>0.05	0.02370	0.30864

pp' -DDT 及び γ -BHC における結果よりプロビットに変換した致死率と薬量の対数との関係を回帰方程式に求め、これに対する χ^2 試験を行った。その結果は第3,4表に示す如くで、いずれも観察値と回帰直線との間には抽出誤差の範囲内で一致が認められた。

V. 考察

コロモジラミ成虫を過去3世代 pp' -DDT で処理、淘汰すれば抵抗性を著しく増大し、また γ -BHC で過去2世代淘汰しても抵抗性を増大することは第5表において DDT 或は BHC に抵抗性の系統と対照区の中央致死薬量 (LD-50) を比較すれば顕著である。以下各々の場合について更に細く検討し、Bliss (1935)³⁾ の次の式を用いて正確な吟味を試みた。

$$\chi_a^2 = \frac{[(a_1 - a_2) - b_0(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)]^2}{\frac{1}{\Sigma(\omega)_1} + \frac{1}{\Sigma(\omega)_2} + \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}{A_1 + A_2}}$$

$$\chi_b^2 = \frac{(b_1 - b_2)^2}{\frac{1}{A_1} + \frac{1}{A_2}}$$

(1) 雌雄抵抗力の相違

雌雄の抵抗性の差異について前述の Bliss の式を用いて統計学的吟味をなした。 pp' -DDT と全く接触させることなく飼育したコロモジラミ (対照区) 雌雄は、 pp' -DDT に対して第5表に示すごとく、有意な数値が得られた。即ち雌は雄よりも pp' -DDT に対する抵抗性が大きであつた。しかし一方、抵抗性系統においてはむしろ雄の方が LD-50 が大きであつたが、統計的な吟味をした結果は有意な数値ではなかつた。 γ -BHC と全く接触させることなく飼育した対照区の雌雄も、また BHC 抵抗性系統の雌雄も γ -BHC に対して第5表に示すごとく有意な数値が得られた。即ち雌は雄よりも γ -BHC に対する抵抗性が大きであつた。

Table 5. χ^2 -test for the discrepancy between the regression lines fitted to female and male series.

Insecticide	Strain	b_c	χ_a^2	χ_b^2	$\chi_a^2 + \chi_b^2$	n	P_r
DDT	Regular	1.00780	8.05718	0.01253	8.06971	2	<0.05
	DDT-resistant	1.27518	0.03799	0.75678	0.79477	2	>0.05
BHC	Regular	5.27686	15.02939	0.30908	15.33847	2	<0.05
	BHC-resistant	4.09381	6.72745	1.76673	8.49418	2	<0.05

Table 6. Median lethal dose of pp' -DDT and γ -BHC to human body louse.

Sex	pp' -DDT		γ -BHC		
	Regular colony	DDT-resistant colony	Regular colony	BHC-resistant colony	DDT-resistant colony
Female	30.93	1792	0.00611	0.01535	0.01929
Male	27.34	1897	0.00424	0.01060	—

Table 7. χ^2 -test for the discrepancy between the time-mortality curves fitted to regular and resistant colonies.

	Sex	b_c	χ_a^2	χ_b^2	$\chi_a^2 + \chi_b^2$	n	P_r
DDT-resistant : Regular	♀	1.05126	87.81336	0.90425	88.71761	2	<0.05
	♂	1.03567	74.83137	0.06554	74.89691	2	<0.05
BHC-resistant : Regular	♀	4.96415	37.92281	0.00021	37.92302	2	<0.05
	♂	4.05517	37.59231	1.75164	39.34395	2	<0.05

(2) DDT に対する抵抗性の増大

pp' -DDT に接触させることなく飼育した対照区のシラミが示す中央致死薬量は雌 30.93mg, 雄 27.34 mg. であるのに比較して抵抗性系統のそれは雌 1792 mg, 雄 1897mg. であり, 僅か3回の淘汰の結果雌で 57.9 倍, 雄で 69.4倍抵抗性の増大が認められた。(第6表)。

(3) BHC に於ける抵抗性の増大

γ -BHC に接触させることなく飼育した対照区が示す中央致死薬量は雌 0.006131mg, 雄 0.004242mg. であるのに比較して抵抗性系統のそれは雌 0.01535 mg, 雄 0.0106mg. であり2回の淘汰の結果, 雌で 2.5倍, 雄で 2.26倍抵抗性の増大が認められた(第6表)。

(4) DDT 抵抗性雌の BHC に対する抵抗性

pp' -DDT で3回淘汰した DDT 抵抗性系統の雌は中央致死薬量 0.01929mg. を示し対照の雌(LD-50 0.006131mg.)に比較して3.15倍の抵抗力が認められた。即ち本実験に用いた DDT 抵抗性のコロモジラミは γ -BHC に対してもまた抵抗性が大きであつた(第6表)。

V. 摘 要

(1) 東京上野で採集され実験室で増殖したコロモ

ジラミ成虫を用いて pp' -DDT 及び γ -BHC に対する抵抗性の増大を実験した。

(2) pp' -DDT による3世代の淘汰の結果対照区に比較して中央致死薬量で雌が 57.9 倍, 雄が69.4 倍抵抗性を増大した。

(3) γ -BHC による2世代の淘汰の結果対照区に比較して中央致死薬量で雌が2.5倍, 雄が2.26倍抵抗性を増大した。

(4) DDT 抵抗性の系統は γ -BHC に対してもまた抵抗性が大きであつた。

(5) pp' -DDT に対する雌雄抵抗力の差異については未だ明言し難く, γ -BHC に対しては雌が雄より抵抗力が大きい。

VI 参考文献

- (1) Babers, F. H.: U. S. Bur. Ent. & Plant Quar., E. 776 (1949)
- (2) Bliss, C. I.: Ann. App. Biol., 22: 134 (1935)
- (3) —: Ann. App. Biol., 22: 307-335 (1935)
- (4) King, W. V.: J. econ. Ent., 43(4): 527-532 (1950)

Résumé

No reliable data has yet been presented on the increase of the resistance of the human body louse for the insecticides.

In the present study used a strain of the lice collected from Ueno in Tokyo and have been bred in our laboratory. The adult lice were exposed on the residues of various amounts of *pp'*-DDT and γ -BHC applied to filter paper in a petri dish (9cm in diameter). The desired residues were obtained by diluting the insecticide in acetone. After the exposure of 24 hours the lice were transferred to a clean filter paper, and fed with human blood twice in the succeeding 24 hours, then the mortality was examined.

From these data the regression of probit mortality on log-dosage was computed, and the dosage required to produce 50 percent mortality (LD-50) was obtained as a basis for comparison of resistance.

The test lice were exposed to several dosages such as to give more than 50 per cent. mortality, and thrice the similar treatment

was repeated in each generation on the progeny of the survivors. By the 3rd generation the lice showed much greater resistance than the regular colony that had never been exposed to this compound. The LD-50 was 1792mg. for the female and 1897mg. for the male of the resistant colony, whereas 30.93mg. and 27.34mg. for the regular colony, an indication that the resistant colony could endure 57.9 to 69.4 times as much DDT as the regular colony. The LD-50 for the female of the DDT-resistant colony exposed to γ -BHC was 3.15 times that of the regular colony.

A similar comparison in γ -BHC was made between the lice of the regular colony and the experimental BHC-resistant colony that has been developed experimentally during the past two generations. The LD-50 was 0.01535mg. for the female and 0.0106mg. for the male of the resistant colony, whereas 0.006131 mg. and 0.004242mg. for the regular colony. The BHC-resistant colony showed 2.26 to 2.5 times as much increased resistance as the regular colony.

抄 録

BHC 各異性体の組織内分布と蓄積性及び排泄性に就て B. Davidow and J. P. Frawley: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 76, 780 (1951)

、BHC が噴霧或は撒粉した後も可成期間その効果を持続する事は、BHC が農業用殺虫剤として極めて優秀な性質の一つであるが、一面このために BHC が附着している食物を食べると毒作用を及ぼす危険が生じてくる。そこで BHC の急性と慢性の毒作用を解明するために本実験を行った。今迄に一回の薬剤の経口投与による急性毒作用は $\gamma, \alpha, \delta, \beta$ 体の順に弱くなる事が知られて居るが慢性毒作用の実験では β 体が最も毒性強く、次いで α, γ, δ 体の順である事が判明した。この現象を解明するために、BHC の組織内分布と、種々の異性体を含有する食餌を与えた後の各異性体の蓄積性及び食餌から BHC を除去した後の各異性体の脂肪層からの排泄性に就いて実験した。猶 γ 体は主として脂肪層に蓄積される事は已に当研究室から発表した。

試験方法：この研究に使用した鼠は Osborne-Mendel系のもので、少量の玉蜀黍油に溶解したBHC

各異性体を加えた食餌で飼育した。BHC の分析は Davidow and Woodard の紫外線スペクトル法により、BHC を 1,2,4-trichlorobenzene に変化さしその吸収スペクトルにより定量した。先づ BHC の組織内分布を調べるため鼠を、 α, γ, δ 各異性体は 800p.p.m., β 体は 100p.p.m. を含有する食餌で約 20ヶ月間飼育した後、之を殺してその組織を分析した。犬は体重 11~16kg のものを用い、 α 体は 5%, γ 体は 2%, 又 δ 体は 10% を含む玉蜀黍油のゼラチンキャプセルを与え、 β 体は油に溶け難いため 0.2% の割合で食餌に混入した。犬に対する各異性体の投与量は大体同程度の毒性を示す様に加減した。蓄積性の研究には体重 140~200g の鼠を用い、BHC 各異性体を夫々 100 p.p.m. 含有する食餌を与え各食餌について 2 週間毎に、雌雄各 2 匹づきの鼠を殺してその腹部脂肪層を分析した。又排泄性の研究には体重 50~80g の鼠を用い、BHC の蓄積量が最大となる 6 週間の間、各異性体を 100 p.p.m. 含む食餌を与え、その後 BHC を含有せぬ食餌にきりかえた。調査には雌雄 2 匹づきの鼠を 6 週間の貯蔵期間後に殺しその後 1 週間毎