

イエバエ飼育系統からの感受性系統分離の試み

Trial of separation of a susceptible strain from the laboratory colony of *Musca domestica vicina* Macquart

小宮山素子* 島田篤夫* 水谷澄*

Motoko Komiyama, Atsuo Shimada and Kiyoshi Mizutani

鈴木¹⁾(1971) はアカイエカ群幼虫の卵塊別飼育を行って、混合集団から感受性のコロニーを分離することに成功している。

著者らは、diazinon に対して均質で高い感受性を示したイエバエ系統が、累代飼育中に不均質な抵抗性を示す集団に変ってきたことを見出した。そこで、この集団を親として鈴木(1971)の分離法を応用し、もとの性質を持つ均質な系統に戻すことを試みた。

材料および方法

1. 供試昆虫: イエバエ *Musca domestica vicina* Macquart

2. 使用薬剤: diazinon

3. 分離方法

敷き粉末飼料、水を 1 : 1 : 2.5 の割合で混合した培地 50g を腰高シャーレに入れ、供試虫の抱卵雌成虫を 1 頭ずつこの中に入れて計 50 頭を個別に産卵させ、各々を別コロニーとした (F1)。ふ化した幼虫をこの中で生育させ、羽化後 2 ~ 6 日目にこの約半数の成虫を用いて感受性試験を行った。この中で高い感受性を示したコロニーを選び出し、各コロニーの残存成虫を用いて上述の培地中で産卵させ継代した (F2)。以下同様にして F2, F3 で感受性試験を行い、同様の手順で逆淘汰を続けた。

4. 犀虫剤感受性試験 (滤紙残渣接触法)

直径 11cm の円形滤紙に diazinon 0.2% アセトン溶液を 0.5ml 均一に滴下し、数時間乾燥させた後、シャーレ内に用意した供試虫を上述の滤紙に接触させ、時間の経過とともにノックダウンの状況を観察した。

成績および考察

親世代と、分離によって得られた F4 のあるコロニー (No. 37) の時間ノックダウン率回帰直線 (log time

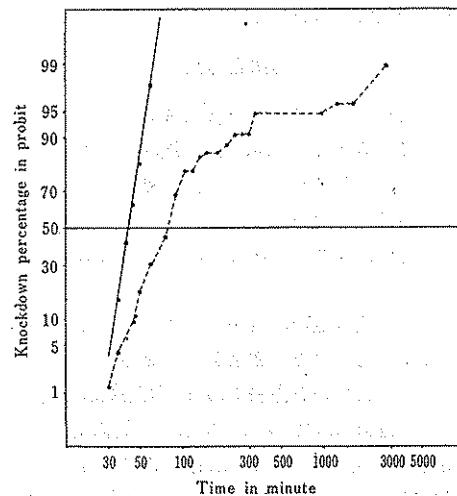


Fig. 1 Log time probit percentage knockdown regression line of parent colony and F4 No. 37 colony by the successive contact method to residues of 0.2% diazinon

probit percentage knockdown regression line (以下 Lt-p line) を Fig. 1 に示した。

親世代の Lt-p line は 92.5% の位置に明らかなプラトー (Plateau) が認められた。鈴木(1969)²⁾はチカイエカ幼虫の diazinon 抵抗性の発現様式を macroscopic にみるとかぎり、メンデル性の単因子性遺伝様式をとり、抵抗性の遺伝因子は感受性の遺伝因子に対して不完全優性を示すと述べている。とするところで用いた供試虫の場合はプラトーが 2 つ得られなければならない。しかし、Lt-p line の左側に出るべき第 1 のプラトーは不明確であった。しかしながら、Hoskins(1960)³⁾や Tsukamoto(1963)⁴⁾が報告した薬量致死率回帰線上のプラトーの位置と混合集団中の構成比に関する理論によれば、少なくともこの親世代は約 7.5% の homozygous の diazinon 抵抗性遺伝子 (RR) を有する混合集団であると推察さ

* 日本環境衛生センター環境生物学部
Department of Environmental Biology, Japan Environmental Sanitation Center

Table 1 Knockdown percentage of F 1 and F 3 colonies of *M.d. vicine* adult by successive contact method to residues of 0.2% diazinon 50ml/m²

(F 1)

Colony No.	Days after adult emergence	No. of treated flies	Time (minutes)					
			15	20	25	30	40	50
1	6	15	26.7	86.7	100			
2	2	14	7.1	35.7	78.6	92.9	100	
5	4	9		44.4	77.8	88.9	100	
6	2	15	20.0	73.3	100			
9	6	8		37.5	100			
14	6	12		8.3	33.3	50.0	75.0	83.3
16	2	14	7.1	50.0	92.9	100		
17	5	9		55.6	66.7	66.7	88.9	88.9
26	6	13		7.7	46.2	76.9	100	
28	2	15	6.7	66.7	100			
31	5	12		8.3	50.0	91.7	91.7	100
33	5	15	6.7	53.3	80.0	100		
36	4	10		50.0	70.0	100		
37	5	12	8.3	100				

(F 3)

Colony No.	Days after adult emergence	No. of treated flies	Time (minutes)				
			15	17.5	20	25	30
6	7	29	13.8	27.6	37.9	86.2	96.5
36	7	30		3.3	16.7	56.7	93.3
37	7	30	16.6	50.0	86.6	100	

れる。

この親世代を上述の分離方法に従ってコロニー別に産卵させ、得られたF 1の diazinon に対するノックダウン状況を Tab. 1 に示した。

なお、殺虫試験に充分な次代成虫数が得られたコロニーは14/50であった。

感受性試験に供試した成虫は羽化後日数や供試虫数にバラツキがあり、一部は雄成虫もあわせて用いたので、各コロニー間の比較は困難であった。そこで30分以内に100%のノックダウン率を示したものは感受性が高い集団であると判断して残りの雌成虫からF 2を採卵した。

F 2を用いた感受性試験の Lt-p line を Fig. 2 に、また、F 3のノックダウン状況を Tab. 1 に示した。

F 2世代の結果をF 1の結果と比較すると感受性の表現型がかなり異なる傾向を示すコロニーがみられた。とくにNo. 9, 16, 28, 33のF 2コロニーはLt-p line 上に明らかなプラトーまたは変曲点が認められ、不均一な形質をもつ集団であると判断された。そこで Lt-p line

が左寄りで直線を形成する3コロニーを選びF 3で同様の試験を行った。

その結果、各コロニーの KT-50値は各々 No. 6, 21分、No. 36, 24.5分、No. 37, 17.5分であり、各々直線性を示した。この中でF 1 ~ F 3を通じて最も感受性が高く、また、Lt-p line が直線となる No. 37を選び、確認のためにF 4を用いて感受性試験を行った(Fig. 1)。

F 4を用いた感受性試験の結果も同様に Lt-p line は直線を示した。

有機リン剤抵抗性の遺伝様式は複雑であり、未だ充分な説明がなされてはいないが、イエバエの diazinon 抵抗性には第2染色体のほかに第3、第5染色体が関与していることが知られている⁵⁾。

今回用いた方法は、単因子性の遺伝様式で説明される抵抗性混合集団から感受性集団を分離または淘汰するために用いられたものであり、複数の遺伝子や補助因子などが関与すると考えられる抵抗性に対して適用することは不充分であると思われる。しかし、今回の実験の目的

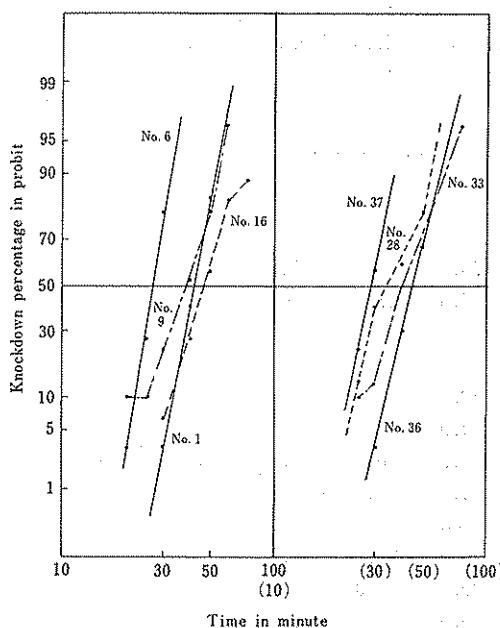


Fig. 2 Lt-p line of 8 colonies of F3 by successive contact method to residues of 0.2% diazinon

は、あらかじめ確立されていた系統の汚染をもとに戻すための分離であり、4世代目に得られたコロニーは macroscopic な立場から、以前累代飼育を行っていた系統と同一の性質をもつ diazinon 感受性コロニーであると判断してよいものと考えた。

摘要

累代飼育中に原因によって diazinon に対して低い抵抗性を獲得したイエバエ *Musca domestica vicina* Macquart 集団を、個別飼育によってもとの性質をもつ均質な感受性集団に戻す目的で実験を行った。

幼虫の培地としては、繭、粉末飼料、水を 1 : 1 : 2.5 の割合で混合したものを用い、殺虫剤感受性試験は 0.2% diazinon を用いて滤紙残渣接触法で行った。

分離法は、親世代の抱卵雌を個別に産卵させてコロニーを作り、コロニーの一部の個体を感受性試験に用い、感受性の高いコロニーでは残りの個体から採卵し、また、次代成虫の感受性試験を行い Lt-p line 上での確認

をくり返した。

その結果、F 4 世代の KT-50 値が 17.5 分であり、F 1 ~ F 4 を通じて Lt-p line が直線を示す集団を分離することができた。

本稿を終えるにあたり、御助言いただいた環境生物部長緒方一喜博士に深謝したい。

引用文献

- 1) 鈴木 猛：殺虫剤抵抗性の解析的研究、衛生動物学の進歩、第 1 集：225~238、1971。
- 2) 鈴木 猛、海野登久子：アカイエカ群の諸形質に関する遺伝学的検討(Ⅶ)、チカイエカ幼虫の diazinon 抵抗性の発現様式、衛動、20(3)：205~208、1969。
- 3) Hoskins, W. M.: Use of the dosage-mortality curve in quantitative estimation of insecticide resistance. Misc. Publ. Cent Soc. Amer., 2: 85~91, 1960.
- 4) Tsukamoto, M.: The log dosage-probit mortality curve in genetic researches of insect resistance to insecticides, Botyu-kagaku, 28(4) : 91~98, 1963.
- 5) 飯田 格他：現代農業講座 I : 153~155, 1973.

Summary

The trial to separate a original diazinon susceptible strain from the contaminated laboratory colony of *Musca domestica vicina* Macquart was undertaken.

The separating methods were as followed; The larvae of different brood were separately reared in different dishes respectively. After adult emerged, an approximate half of them was tested their susceptibilities to diazinon by the successive contact method. The remainder of the colony which showed rapid knockdown were supplied to produce offsprings.

As the results, the colony which had the same characteristic as the parent was separated after selection of four generations. The KT-50 value of diazinon in the forth filial generation was 17.5 minutes. All of Lt-p lines obtained from the selected colonies were straight throughout from first to forth generation.