

環動昆

報 文

- 船城衛介・広吉寿樹・本山直樹：日本産イエバエ益子系統におけるピレスロイド抵抗性の遺伝様式とその連鎖群解析……137
- 中島照夫：抗菌防臭加工に関する研究(第3報)—イガとコイガに対する重金属加工羊毛布の防虫効力—……150
- 藤本和義：異なる温度条件に対するフタトゲチマダニ，キチマダニ，ヤマトマダニの耐性と秩父山系での分布の関係(英文)……158
- 角田邦夫・大村和香子・吉村 剛：イエシロアリによるメタン生成(第2報)メタン生成菌の存在と食物のメタン生成速度への影響(英文)……166
- 今井長兵衛：大阪湾の廃棄物埋立処分地に生息するイエバエの性決定様式と性比……175

解 説

- 渡辺 直：都市における生き物との付き合い方
1. 都会人の昆虫に対する姿勢について……183
- 雑録……187
- 会員動静……188
- 新刊紹介……174
- 学術会議だより

Vol.5 | 1993

4

日本環境動物昆虫学会

日本産イエバエ益子系統における ピレスロイド抵抗性の遺伝様式とその連鎖群解析

船城衛介^{1)*}・広吉寿樹²⁾・本山直樹¹⁾

1) 千葉大学園芸学部生態制御化学研究室

2) 大阪大学医学部遺伝学教室

(受理: 1993年11月30日)

Inheritance and Linkage Group Analysis of Pyrethroid Resistance in a Japanese Strain of the Housefly. Eisuke FUNAKI^{1)*}, Toshiki HIROYOSHI²⁾ and Naoki MOROYAMA¹⁾ (¹⁾Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo-shi, Matsudo 271, Japan; ²⁾Department of Genetics, Medical School, Osaka University, Kita-ku, Osaka 530, Japan). *Jpn. J. Environ. Entomol. Zool.* 5: 137-149 (1993)

A housefly strain highly resistant to pyrethroids was established upon further selection with resmethrin of the Mashiko colony originally collected in 1983 from hog farms in Mashiko, Tochigi Prefecture. To study the genetic factors responsible for the resistance, crossing experiments between flies from the resistant strain and the standard CSMA strain were done. It is suggested that at least two major autosomal genes, one dominant and the other recessive, are involved in the pyrethroid resistance of the Mashiko strain. Mashiko colony flies were crossed with an *ac*; *ar*; *bwb*; *ye*; *sni* (*aabys*) strain, which has recessive mutant markers on all five autosomes. Linkage group analysis of pyrethroid resistance demonstrated that 3rd and 5th chromosomes contain major resistance factors, which were conjectured to be the gene *kdr* controlling decreased nerve sensitivity and a gene responsible for increased degradation by cytochrome P450 dependent monooxygenases, respectively. The effects of both chromosomes varied depending upon pyrethroids; that of the 3rd was larger than 5th for resmethrin, 3rd and 5th were nearly-equal for fenvalerate, and 5th was larger than 3rd for tetramethrin. However, neither chromosome alone when isolated afforded high resistance, suggesting that the extremely high level of resistance to pyrethroids in the Mashiko strain is due to a potentiation effect of a combination of multiple factors.

Key Words: Housefly, Inheritance, Pyrethroid resistance, Linkage analysis, Mashiko strain

* 現在: 宇部興産(株) 宇部研究所 (Present address: UBE Industries, Ltd. Tokiwadai, Ube, Yamaguchi 755, Japan)

ピレスロイド抵抗性イエバエ益子系を感受性イエバエCSMA系に交雑させて得られた F_1 , F_2 および BF_1 の resmethrin に対する感受性をしらべた結果, その葉量-死亡率回帰から判断して, 益子系の抵抗性には少なくとも優性と劣性の2つの遺伝子が関与しているものと推定された。さらにこれらについて, 5対の常染色体各々に劣性の可視標識をもつ感受性の *ac*; *ar*; *bwb*; *ye*; *sni* 系 (以後 *aabys* 系と略す) と交雑し, ピレスロイド抵抗性に関与する連鎖群解析を行った。その結果, 第3および第5連鎖群にピレスロイド抵抗性の主要遺伝子が存在することが明らかになり, 各々, 神経感受性の低下を支配する *kdr* 遺伝子 (劣性) と解毒分解を支配する遺伝子 (優性) であると推察した。両連鎖群の効果はピレスロイドの種類によって差がみられ, resmethrin では第3の効果は第5よりも大きく, fenvalerate では両者はほぼ等しく, tetramethrin では第5の効果は第3より大であった。しかし, いずれの連鎖群とも単独では高い抵抗性はもたらさず, 益子系イエバエの著しく高い抵抗性は, 複数の因子の組み合わせによる相乗効果によりもたらされることが明らかになった。

緒 言

昆虫の薬剤抵抗性のメカニズムを解明する手法として, TSUKAMOTO (1963, 1983) などに解説されている交配試験や連鎖群解析があり, 関与因子の数や, 遺伝様式の推定が可能である。すでにイエバエの薬剤抵抗性についてはいくつかの研究がなされ, 遺伝様式や関与連鎖群が推定されている。抵抗性の遺伝様式を知ることによって, 抵抗性の発達速度や復元速度を予測し, 適切な防除方法を考えることができる。

ヨーロッパ産イエバエにおけるピレスロイド抵抗性は劣性遺伝し, その主なメカニズムは第3連鎖群上の劣性遺伝子 *kdr* によって支配される神経の低感受性であるとされている (GEORGHIOU, 1969; FARNHAM, 1971; KEIDING, 1976; AHN *et al.*, 1986)。一方, 日本産ピレスロイド抵抗性イエバエ益子系においては, その抵抗性のメカニズムとして, ミクロゾームのチトクローム P450 依存性モノオキシゲナーゼ系による解毒分解能と低感受性神経の関与が示唆されている (FUNAKI *et al.*, 1993; AHN *et al.*, 1987)。解毒分解酵素活性の強弱が抵抗性の主要因子とすれば, 抵抗性は, 優性形質として

検出されるのが一般的である (TSUKAMOTO, 1983)。したがって, 日本産イエバエのピレスロイド抵抗性はヨーロッパ産のそれとは異なる可能性が示唆される。

本論文では, 日本産イエバエのピレスロイド抵抗性の性質を明らかにすべく, 益子系と感受性のCSMA系および各連鎖群にそれぞれ劣性可視ミュータントマーカーを持つ *aabys* 系とを交雑し, その遺伝様式および関与連鎖群を検討した。

材料と方法

1. 供試虫

ピレスロイド抵抗性の益子系と感受性のCSMA系および *aabys* 系イエバエを交雑試験に用いた。

益子系は栃木県益子町の豚舎より1983年9月に採集したもので, 遺伝様式の解析に用いた個体群は室内において resmethrin $5 \mu\text{g}/\text{♀}$ を局所施用して10世代選抜したものである。また, 連鎖群解析に用いた個体群は resmethrin で7世代連続選抜したものである。

CSMA系は1984年米国ノースカロライナ州立大学より入手したものである。

aabys 系 (*ac*; *ar*; *bwb*; *ye*; *sni*) は, 第1, 第

2, 第3, 第4, 第5連鎖群にそれぞれ *ali-curve* (羽を傷ま上げる), *arista-pedia* (触角異常), *brown body* (褐色体), *yellow eye* (黄眼), *sniped* (羽が切れ込む) の劣性可視標識をもつ系統である。

なお, 第3および第5連鎖群抵抗性因子の遺伝様式を調べる実験では, 益子町から採集したイエバエを *resmethrin* で12回選抜の後, 14世代無選抜で飼育した益子系12系 (*resmethrin* に対する LD_{50} 値, $65 \mu g/\mu l$) を抵抗性親として交雑に用いた。

これらのイエバエは, 動物飼育用粉末飼料 CE-2® (日本クレー株式会社製) で $25 \pm 2^\circ C$ の室内にて飼育した。

2. 供試薬剤

resmethrin (95.1%), *fenvalerate* (93.8%), *tetramethrin* (94.8%) の工業用原体を用いた。

3. 遺伝様式の推定

(1) 交雑法

TSUKAMOTO (1963) の方法を参考にして羽化直後の未交尾の個体を雌雄各々200頭ずつをFig. 1に示す組み

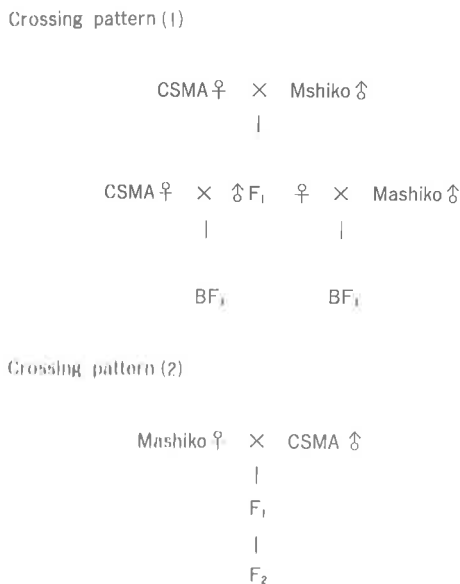


Fig. 1 Scheme of reciprocal crosses and back-cross to study the genetic factors responsible for the resistance.

合せて交雑させた。

(2) 感受性検定

羽化後4~5日の雌成虫の *resmethrin* に対する感受性は, *resmethrin* のアセトン溶液を胸部背板に $0.5 \mu l$ /成虫宛処理する局所施用法によって検定した。なお検定は, 各濃度, CO_2 で麻酔した成虫20~30頭を供試し2反復で行った。

(3) 優性度 (D) の算出

遺伝子の優性, 劣性の度合いを示す指数である優性度 (D) は, 次のように STONE (1968) の方法によって求めた。

$$D = \frac{2X_2 - X_1 - X_3}{X_1 - X_3}$$

X_1 : RR (抵抗性の親) の LD_{50} 値の対数

X_2 : RS (F_1) の LD_{50} 値の対数

X_3 : SS (感受性の親) の LD_{50} 値の対数

遺伝様式は GEORGHIOU (1969) の方式に従って, 次のように分類した。

$D = 1$: 完全優性

$1 > D > 0$: 不完全優性

$D = 0$: 中間型

$0 > D > -1$: 不完全劣性

$D = -1$: 完全劣性

4. 連鎖群解析

(1) 交雑および選抜法

交雑はFig. 2に示すような, 優性および劣性因子が検出できる方法を用いた。

劣性因子の検出には普通, マーカー系統に抵抗性因子を導入してその効果について検定を行うが, 本試験では乗り換えの危険性を無視して抵抗性系統の雌を用いた。その理由は益子系イエバエの性決定様式は雄性決定因子Mが第3染色体上に転座している III^M 型であることにある (未発表)。すなわち, この III^M 因子を F_1 から排除するために益子系 $\text{♀} \times aabys \text{♂}$ という逆交雑を行ったわけである。

F_2 世代では32の表現型に分離するが, 理論上は各連鎖群にRR, Rr, rr, の3つの遺伝子型を持つことになり, 結局, 個体群としては243の遺伝子型を含むことになる。これから表現型による選抜を繰り返し, 特定の連鎖群の抵抗性因子がホモになっている32の遺伝子型の個体群を作った。すなわち, 各選抜ごとに目的の連鎖群に表れる目的外の標識個体を取り除くことによってRr

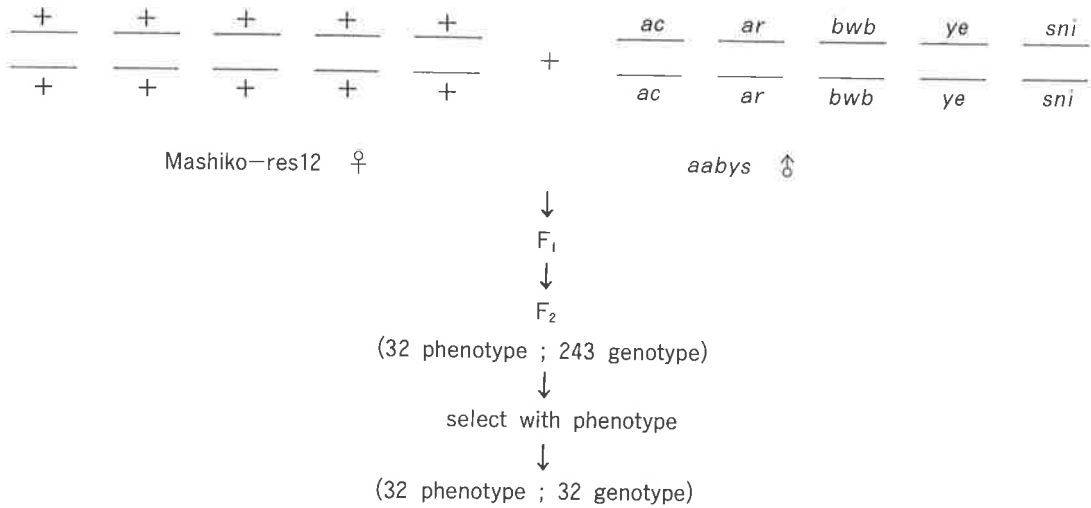


Fig. 2 Scheme of crosses used to investigate the contribution of resistance factors on all five autosomes.

の頻度を低くし、最終的にその連鎖群のホモ (RRまたはrr) 化をはかった。このようにすれば優性因子も劣性因子も検出できることになる。

(2) 解析方法

F₂ から連続して8~11世代選抜を繰り返し、目的の連鎖群がほぼホモになったと思われる時点で、32の表現型について resmethrin, fenvalerate, tetramethrin による感受性検定を行った。Resmethrin は選抜8回ならびに9回の世代を用い、低濃度として0.1 μg/♀、高濃度として1.0 μg/♀の2薬量で検定を行った。Fenvalerate は選抜9回ならびに10回の世代を用い、0.5 μg/♀、5 μg/♀の薬量で、tetramethrin は選抜10回ならびに11回の世代を用い、2.5 μg/♀と25 μg/♀の薬量で感受性検定を行った。

検定は3-(2)と同様に行い、各表現型50~150頭を供試した。このようにして得られたデータをもとに各連鎖群の効果の分析をTSUKAMOTO (1983) の解説した方法に従って行った。すなわち、各表現型ごとに得られた感受性検定の生存率をもとに要因解析を行い、F分布表の値と比較して有意性を検定した。

(3) 優性効果および劣性効果の検定

先の要因解析の結果より効果度の高い連鎖群について、その因子が優性遺伝あるいは劣性遺伝のいずれの型をとるかを薬剤感受性検定試験により調べた。まず、目的の連鎖群がホモになった個体群について resmethrin を用

いて感受性を調べ、次にこの個体群雄に aabys 系雌を戻し交雑し、F₁ の薬量-死亡率回帰線がどこに位置するかで優性、劣性いずれであるか判定した。なお、感受性検定試験は3-(2)と同様に行った。また、本試験では1983年9月に採集した益子系を resmethrin で12回選抜した個体群を aabys 系と交雑し、新たに目的の連鎖群がホモになるまで8世代にわたって表現型選抜を繰り返した個体群を用いた。

結果と考察

1. 遺伝様式の推定

益子系、CSMA系および両者の交雑系、戻し交配系の resmethrin に対する感受性を薬量 (対数) -死亡率 (プロビット) 回帰線で表わし、各々Fig. 3, 4に示した。交雑試験開始時の resmethrin に対するLD₅₀ 値は、益子系が40 (95%信頼限界38~60) μg/♀に対して、CSMA系では0.017 (95%信頼限界0.014~0.021) μg/♀であり、両系統間の抵抗性比は約2,800倍であった。

Fig. 3に示したように、CSMA ♀ × 益子 ♂ のF₁ の薬量-死亡率回帰線は親の感受性系と抵抗性系統の中間でやや感受性よりの直線を示し、LD₅₀ 値は0.12 (95%信頼限界0.10~0.24) μg/♀であり、優性度(D)は-0.48で不完全劣性を示した。また、このF₁ 雌に益子系の雄を戻し交雑して得られたBF₁ (F₁ ♀ × 益子 ♂) では薬

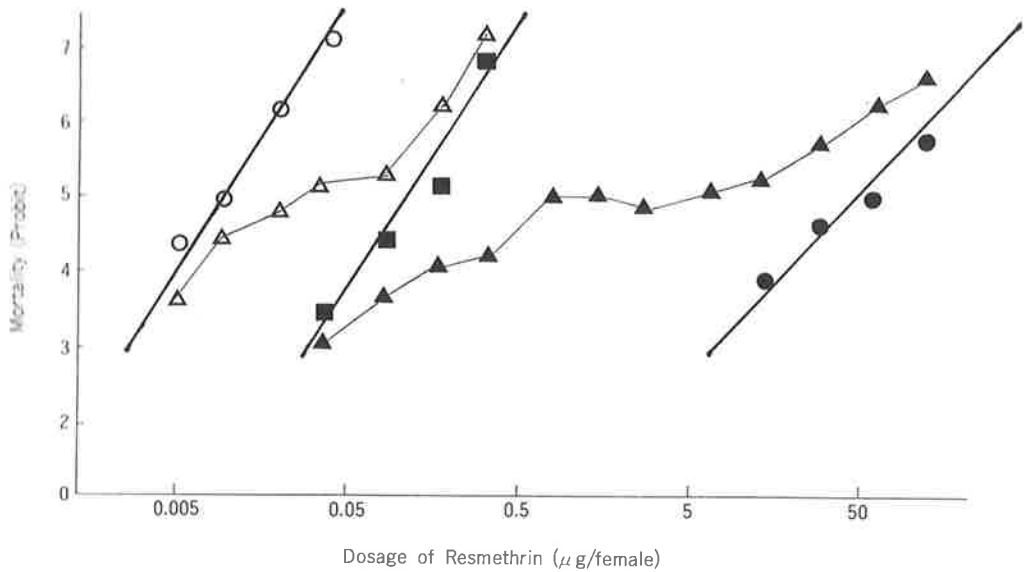


Fig. 3 Dosage-mortality response curve to resmethrin of resulting genotypes from CSMA ♀ × Mashiko ♂ crossing.
 ○ : CSMA (S), ● : Mashiko (R), ■ : F₁ (R♂ × S♀),
 ▲ : BF₁ (F₁♀ × R♂), △ : BF₁ (F₁♀ × S♂)

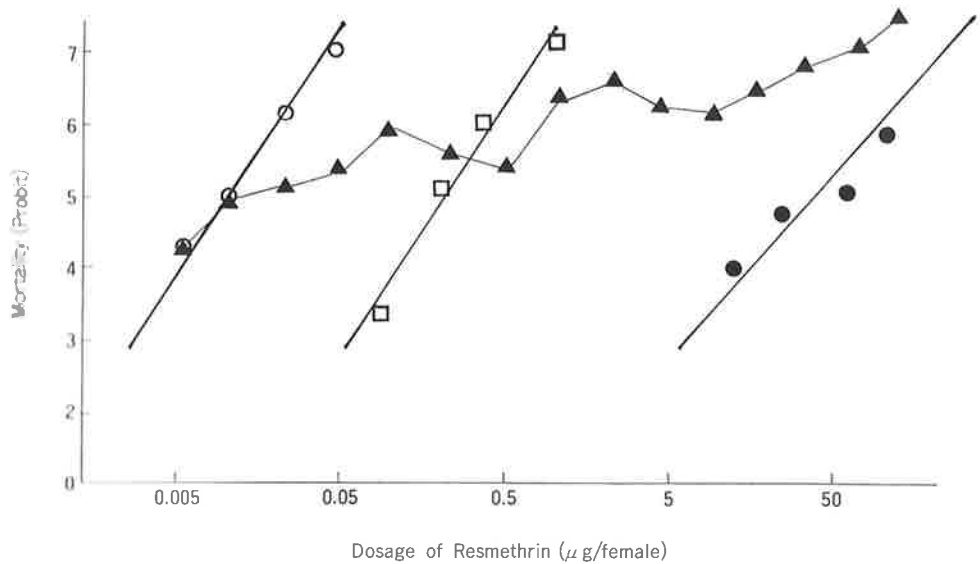


Fig. 4 Dosage-mortality response curve to resmethrin of resulting genotypes from Mashiko ♀ × CSMA ♂ crossing.
 ○ : CSMA (S), ● : Mashiko (R), □ : F₁ (R♀ × S♂), ▲ : F₂

量—死亡率回帰線の中)と、益子系統との間に入り、死亡率50% (プロビット5)の付近に明瞭な1つのプラトーが認められた。これはBF₁ 個体群の約半数はF₁とほぼ

同程度の抵抗性を示し、残る半数は抵抗性の益子系統と同程度であることを示している。F₁ 雄に感受性のCSMA 雌を交雑して得られたBF₁ (CSMA ♀ × F₁ ♂) の薬

量-死亡率回帰線は、先と同様に死亡率50%付近に小さなプラトーが認められた。

益子系♀×CSMA♂のF₁の薬量-死亡率回帰線はFig. 4に示したとおり、逆交雑のF₁の場合とほぼ同じ結果で、LD₅₀値は0.19 (95%信頼限界0.066~0.52) μg/♀であった。F₁同士の交雑から生じたF₂の薬量-死亡率回帰線は階段状を示し、もとの感受性および抵抗性両系統の回帰直線の間にいくつかのプラトーが見られた。

交雑F₁の回帰直線とLD₅₀値が両親の中間程度であることから、益子系イエバエのピレスロイド抵抗性を支配する遺伝的メカニズムとして、以下のような2通りの可能性が考えられる。その1つは、ただ1種類の不完全優性遺伝子(R₁)単独によるものとする考えで、まず、益子系イエバエの遺伝子型はR₁/R₁で、高濃度のresmethrinに耐えるが、遺伝子型R₁/+のF₁では低濃度に耐える効果しか発揮できないとするものである。もう1つは、1種類の完全優性遺伝子R₂(この場合、R₂/R₂でもR₂/+でも等しくLD₅₀値0.12 μg/♀の効果発揮するだけ)のほかに劣性の別の遺伝的要因(r)が関与しているという考え方である。益子系イエバエの遺伝子型はR₂/R₂; r/rまたはRr/Rrで、優性遺伝子も劣性遺伝子も双方の効果が発揮されているので高濃度の殺虫剤に耐えるが、F₁個体の遺伝子型はR/+; r/+またはRr/+で劣性遺伝子の効果は完全に消失するので、その分だけ抵抗性が減少するという考え方である。

F₁雌に益子系雄を戻し交雑して得られたBF₁(F₁♀×益子♂)の個体が益子系統と同程度の強さのものとF₁と同程度の強さのものに1:1の分離をしたことは、前者の考えではR₁/+×R₁/R₁の交雑からR₁/R₁個体とR₁/+個体が1:1に分離したことを意味し、後者の考え方ではR₂/+; r/+×R₂/R₂; r/rの交雑からR₂/R₂; r/rとR₂/+; r/+個体が1:1に分離したと説明できる。いずれの考え方も実測データと矛盾しない。F₁雄にCSMA雌を戻し交雑して得られたBF₁(CSMA♀×F₁♂)では、いずれの考え方に立脚しても感受性と同程度の個体とF₁と同程度の個体が1:1に分離することが予測される。この試験では、両個体群の薬量-死亡率回帰線間があまり開いていないため、死亡率50%付近にはっきりしたプラトーが示されなかったものと考えられるが、小さいながらプラトーが

認められたことは、先の考え方を支持するものと推察される。

以上の検討から、益子系イエバエにおけるピレスロイド抵抗性は1種類の不完全優性遺伝子、あるいは異なる連鎖群に含まれる優性と劣性の2種類の遺伝子によって支配されている可能性が示唆された。

2. 連鎖群解析

益子系イエバエのresmethrin抵抗性に関する連鎖群解析の結果をTable 1に示した。これによると、第3および第5連鎖群に顕著な効果が認められ、各々のF値は32.49および14.81で、いずれも1%の水準で有意性を示した。したがって、この連鎖群が益子系イエバエのresmethrin抵抗性を支配することが示唆される。また、連鎖群相互の働きをみると、(1, 2), (1, 5), (3, 5), (1, 2, 3, 5)にそれぞれ有意な効果が認められた。

同様にfenvalerate抵抗性に関する連鎖群解析の結果をTable 2に示す。Fenvalerate抵抗性を支配する連鎖群は、単独では、resmethrin抵抗性の場合と同様に第3、第5であることが示唆された。しかし、resmethrin抵抗性の場合とは異なり、第4連鎖群にマイナスの効果が認められた。また、連鎖群相互の働きをみると、(1, 2), (2, 3), (1, 2, 3), (1, 2, 4), (1, 5), (3, 5), (4, 5), (2, 4, 5), (2, 3, 4, 5)など多くの組合せに有意な効果が認められた。

Tetramethrin抵抗性に関する連鎖群解析の結果はTable 3に示す。先の2薬剤の場合と同様に、tetramethrin抵抗性因子は、単独では、第3および第5連鎖群に存在することが示唆された。また、第4連鎖群には、fenvalerate抵抗性の場合と同様にマイナスの効果が検出された。さらに、連鎖群相互の働きでは、(1, 2), (1, 5), (2, 3, 5), (2, 4, 5), (2, 3, 4, 5)の効果が高かった。

Fig. 5に示したように、上記の連鎖群解析の結果よりいずれのピレスロイドも第3と第5連鎖群に有意な効果が認められたため、この2つの連鎖群についてaabys系との戻し交雑試験を行った。結果はFig. 6, 7に示す。益子系由来の第3連鎖群のみをホモにもつaa+ys系の薬量-死亡率回帰線は益子系とaabys系とを交雑したF₁のそれとほぼ同じところに位置し、F₁(aabys♀×aa+ys♂)の薬量-死亡率回帰線はaabys系と

Table I Factorial analysis of effect of chromosomes on resmethrin resistance in Mashiko strain of the housefly

| Chromosome | Resistance effect | Degrees of freedom | Mean square | F |
|--------------|-------------------|--------------------|-------------|---------|
| Phenotypes | (752.6) | 31 | 290.27 | 2.92 |
| 1 | -12.1 | 1 | 9.25 | 0.09 |
| 2 | -6.2 | 1 | 2.40 | 0.02 |
| 1:2 | 122.2 | 1 | 933.30 | 9.40** |
| 3 | 227.2 | 1 | 3226.24 | 32.49** |
| 1:3 | 30.7 | 1 | 58.91 | 0.59 |
| 2:3 | 38.8 | 1 | 94.09 | 0.95 |
| 1:2:3 | 67.2 | 1 | 282.24 | 2.84 |
| 4 | -36.6 | 1 | 83.72 | 0.84 |
| 1:4 | 18.7 | 1 | 21.86 | 0.22 |
| 2:4 | 10.6 | 1 | 7.02 | 0.07 |
| 1:2:4 | -14.6 | 1 | 13.32 | 0.13 |
| 3:4 | 66.0 | 1 | 272.25 | 2.74 |
| 1:3:4 | 11.1 | 1 | 7.70 | 0.08 |
| 2:3:4 | 4.4 | 1 | 1.21 | 0.01 |
| 1:2:3:4 | 12.8 | 1 | 10.24 | 0.10 |
| 5 | 153.6 | 1 | 1474.56 | 14.81** |
| 1:5 | 85.1 | 1 | 452.62 | 4.56* |
| 2:5 | 12.0 | 1 | 9.00 | 0.09 |
| 1:2:5 | -10.8 | 1 | 7.29 | 0.03 |
| 3:5 | 92.2 | 1 | 531.30 | 5.35* |
| 1:3:5 | 21.1 | 1 | 27.83 | 0.28 |
| 2:3:5 | -0.6 | 1 | 0.02 | 0.0002 |
| 1:2:3:5 | -108.2 | 1 | 731.70 | 7.36* |
| 4:5 | 19.6 | 1 | 24.01 | 0.24 |
| 1:4:5 | 16.7 | 1 | 17.43 | 0.18 |
| 2:4:5 | 63.2 | 1 | 249.64 | 2.51 |
| 1:2:4:5 | -66.0 | 1 | 272.25 | 2.74 |
| 3:4:5 | -39.4 | 1 | 97.02 | 0.98 |
| 1:3:4:5 | 33.5 | 1 | 70.14 | 0.71 |
| 2:3:4:5 | 4.2 | 1 | 1.10 | 0.01 |
| 1:2:3:4:5 | 13.4 | 1 | 11.22 | 0.11 |
| Replications | — | 1 | 9887.82 | 99.59** |
| Error | — | 31 | 99.29 | — |

* Significant at 5% level. ** Significant at 1% level.

Table 2 Factorial analysis of effect of chromosomes on fenvalerate resistance in Mashiko strain of the housefly

| Chromosome | Resistance effect | Degrees of freedom | Mean square | F |
|--------------|-------------------|--------------------|-------------|---------|
| Phenotypes | (669.5) | 31 | 579.40 | 8.57** |
| 1 | 33.3 | 1 | 69.31 | 1.01 |
| 2 | 37.9 | 1 | 89.78 | 1.31 |
| 1:2 | 140.9 | 1 | 1240.80 | 18.14** |
| 3 | 197.3 | 1 | 2432.96 | 35.56** |
| 1:3 | 51.9 | 1 | 168.35 | 2.46 |
| 2:3 | 96.1 | 1 | 577.20 | 8.44** |
| 1:2:3 | 96.3 | 1 | 579.62 | 8.47** |
| 4 | -107.5 | 1 | 722.27 | 10.56** |
| 1:4 | 23.1 | 1 | 33.35 | 0.49 |
| 2:4 | 6.9 | 1 | 2.98 | 0.04 |
| 1:2:4 | -99.3 | 1 | 616.28 | 9.01** |
| 3:4 | 33.1 | 1 | 68.48 | 1.00 |
| 1:3:4 | -91.9 | 1 | 527.85 | 7.72** |
| 2:3:4 | 81.1 | 1 | 411.08 | 6.01 |
| 1:2:3:4 | 31.3 | 1 | 61.23 | 0.90 |
| 5 | 193.9 | 1 | 2349.83 | 34.35** |
| 1:5 | 137.7 | 1 | 1185.08 | 17.32** |
| 2:5 | 7.1 | 1 | 3.15 | 0.05 |
| 1:2:5 | 15.7 | 1 | 15.41 | 0.23 |
| 3:5 | 128.9 | 1 | 1038.45 | 15.18** |
| 1:3:5 | 83.5 | 1 | 435.77 | 6.37* |
| 2:3:5 | 70.9 | 1 | 314.18 | 4.59* |
| 1:2:3:5 | -130.5 | 1 | 1064.39 | 15.56** |
| 4:5 | 122.1 | 1 | 931.78 | 13.62** |
| 1:4:5 | -23.4 | 1 | 33.93 | 0.50 |
| 2:4:5 | 120.5 | 1 | 907.52 | 13.25** |
| 1:2:4:5 | -102.5 | 1 | 656.64 | 9.60** |
| 3:4:5 | 73.3 | 1 | 335.81 | 4.91* |
| 1:3:4:5 | 5.7 | 1 | 2.03 | 0.03 |
| 2:3:4:5 | 117.9 | 1 | 868.78 | 12.70** |
| 1:2:3:4:5 | 58.5 | 1 | 213.89 | 3.13 |
| Replications | — | 1 | 1757.71 | 25.69** |
| Error | — | 31 | 68.41 | — |

*Significant at 5% level. **Significant at 1% level.

Table 3 Factorial analysis of effect of chromosomes on tetramethrin resistance in Mashiko strain of the housefly

| Chromosome | Resistance effect | Degrees of freedom | Mean square | F |
|--------------|-------------------|--------------------|-------------|---------|
| Phenotypes | (899.1) | 31 | 213.31 | 2.26 |
| 1 | -18.2 | 1 | 20.70 | 0.22 |
| 2 | 47.9 | 1 | 143.40 | 1.52 |
| 1:2 | 154.0 | 1 | 1483.25 | 15.72** |
| 3 | 200.4 | 1 | 2510.01 | 26.61** |
| 1:3 | -41.7 | 1 | 108.68 | 1.15 |
| 2:3 | 78.2 | 1 | 382.20 | 4.05 |
| 1:2:3 | 39.5 | 1 | 97.52 | 1.03 |
| 4 | -127.2 | 1 | 1011.24 | 10.72** |
| 1:4 | 31.9 | 1 | 63.60 | 0.67 |
| 2:4 | -57.8 | 1 | 208.80 | 2.21 |
| 1:2:4 | -26.5 | 1 | 43.89 | 0.47 |
| 3:4 | -20.9 | 1 | 27.30 | 0.29 |
| 1:3:4 | -61.0 | 1 | 232.56 | 2.47 |
| 2:3:4 | 55.9 | 1 | 195.30 | 2.07 |
| 1:2:3:4 | -28.8 | 1 | 51.84 | 0.55 |
| 5 | 221.1 | 1 | 3055.33 | 32.39** |
| 1:5 | 149.2 | 1 | 1391.29 | 14.75** |
| 2:5 | -28.5 | 1 | 50.77 | 0.54 |
| 1:2:5 | 18.2 | 1 | 20.70 | 0.22 |
| 3:5 | -25.4 | 1 | 40.32 | 0.43 |
| 1:3:5 | 94.3 | 1 | 555.78 | 5.89* |
| 2:3:5 | 202.0 | 1 | 2550.25 | 27.03** |
| 1:2:3:5 | -112.5 | 1 | 791.02 | 8.39** |
| 4:5 | 28.0 | 1 | 49.00 | 0.52 |
| 1:4:5 | -62.3 | 1 | 242.58 | 2.57 |
| 2:4:5 | 209.4 | 1 | 2740.52 | 29.05** |
| 1:2:4:5 | -67.9 | 1 | 288.15 | 3.05 |
| 3:4:5 | -81.9 | 1 | 419.23 | 4.44* |
| 1:3:4:5 | -21.4 | 1 | 28.62 | 0.30 |
| 2:3:4:5 | 122.1 | 1 | 931.78 | 9.88** |
| 1:2:3:4:5 | 78.8 | 1 | 388.09 | 4.11 |
| Replications | — | 1 | 7070.70 | 74.95** |
| Error | — | 31 | 94.34 | — |

*Significant at 5% level. **Significant at 1% level.

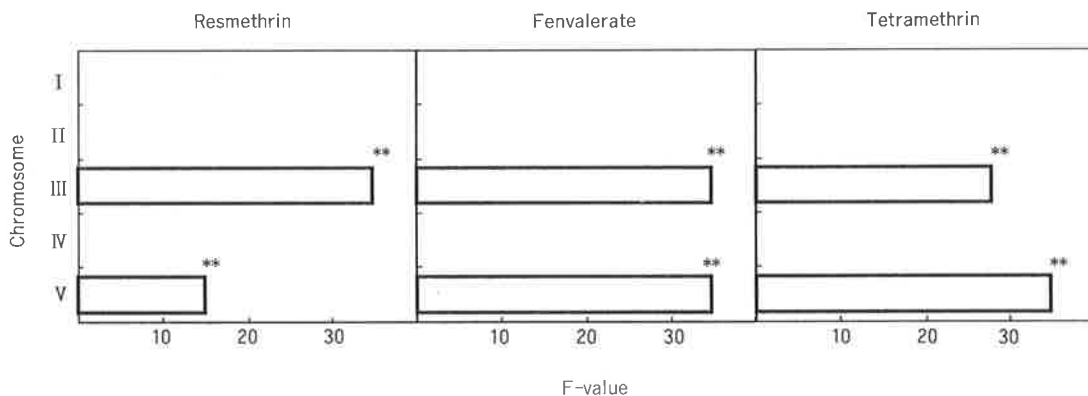


Fig. 5 Comparison of the effect of individual chromosomes on pyrethroid resistance in Mashiko strain of the housefly. **: Significant at 1% level.

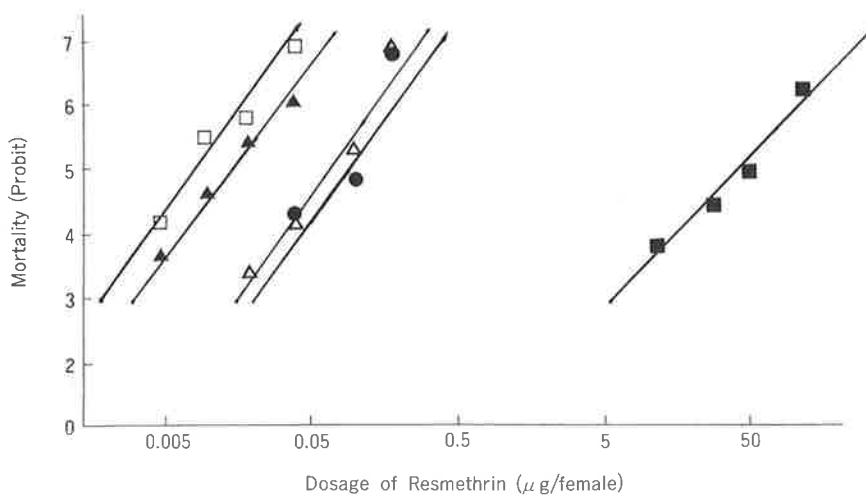


Fig. 6 Dosage-mortality response curve for resmethrin to susceptible *aa**bys*, resistant Mashiko, *aa+ys* and their F_1 progenies.

■: Mashiko (R, +++++), □: *aa**bys* (S, a, a, b, y, s.)
 ●: F_{1a} (Mashiko ♀ × *aa**bys* ♂), △: *aa+ys*, ▲: F_{1b} (*aa**bys* ♀ × *aa+ys* ♂)

ほぼ同じところに位置した (Fig. 6). また, 益子系由来の第5連鎖群をもつ *aa**bys*+ 系の薬量-死亡率回帰線は *aa+ys* 系よりもやや *aa**bys* 系に近いところに位置し (Fig. 6, 7), *aa**bys* 系との F_1 (*aa**bys* ♀ × *aa**bys* + ♂) のそれは *aa**bys* + 系とほぼ同じところに位置している (Fig. 7).

益子系イェバエにおける remethrin 抵抗性, fenvalerate 抵抗性および tetramethrin 抵抗性はいずれも

第3連鎖群と第5連鎖群の効果が特出しており, 他の連鎖群には効果が認められなかった (Fig. 5). Resmethrin の場合は第3連鎖群の効果が第5連鎖群より大きく, fenvalerate の場合は第3と第5はほぼ同等な効果を示し, tetramethrin の場合は第3連鎖群よりも第5連鎖群の効果が大きであった. これらの結果は, 益子系イェバエにおけるピレスロイド抵抗性を支配する主要因子は第3および第5連鎖群に存在するが, ピレスロイドの

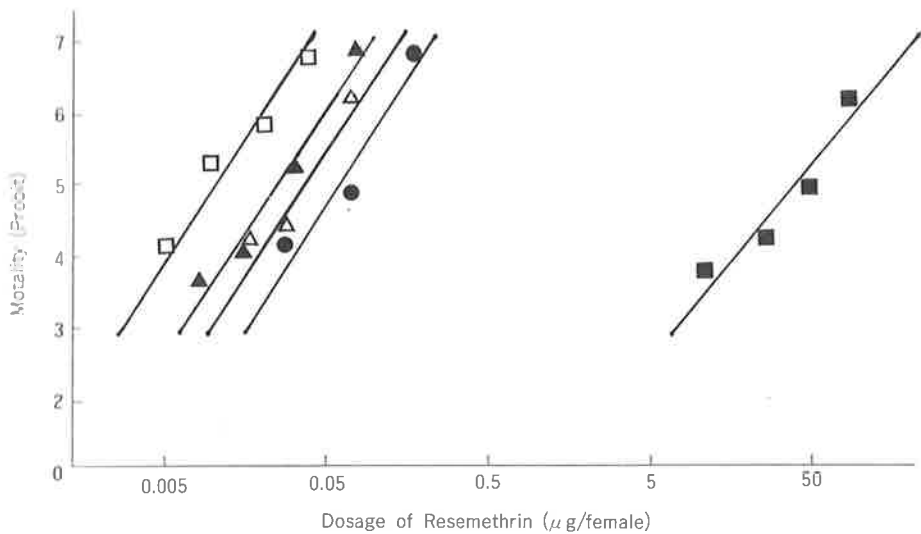


Fig. 7 Dosage-mortality response curve for resmethrin to *aabys*, Mashiko, *aaby +* and their F_1 progenies.
 ■ : Mashiko (R, +++++), □ : *aabys* (S, a, a, b, y, s,)
 ● : F_{1a} (Mashiko ♀ × *aabys* ♂), ▲ : *aaby +*, △ : F_{1b} (*aabys* ♀ × *aaby +* ♂)

構造によって各抵抗性因子の関与の程度に差異があることを暗示している。一方、第3および第5以外の連鎖群相互の働きによる効果が高いものも多く、それらにもマイナーな因子が存在することが示唆される。

益子系イエバエにおけるピレスロイド抵抗性のメカニズムとして神経感受性の低下 (*kdr*型メカニズム) が電気生理学的に証明されている (AHN *et al.*, 1987)。また、酸化酵素阻害剤 pbo の著しい殺虫共力効果 (船城ら, 1986) と、*in vitro* における chlorophenyl 環標識 ¹⁴C-*fenvalerate* の分解活性の差異 (FUNAKI *et al.*, 1993) とから、もう一つのメカニズムとしてチトクローム P450 依存性モノオキシゲナーゼ系による酸化分解活性の増加の関与が推察されている。さらにイエバエのチトクローム P450 は第2および第5連鎖群上の優性遺伝子に支配されていることが知られている (TAKAMOTO, 1969), SCOTT and GEORGHIOU (1986) により米国産ピレスロイド抵抗性イエバエでは第1, 第2, 第3および第5連鎖群上に抵抗性因子が存在し、最も主要なメカニズムは解毒分解能の増大であることが報告されている。しかし、DEVRIES and GEORGHIOU (1981a, b) が報告したように、ピレスロイド抵抗性の主要メカニズムは *kdr* に支配される神経感受性の低下

であり、酸素系による解毒分解は重要な役割を果たしていない系統も知られている。一方、わが国産ピレスロイド抵抗性都城系統では、第2, 第3, 第5連鎖群上に抵抗性因子が存在し、第3連鎖群上の因子は劣性遺伝すること、さらに本系統にはピペロニルプロキッドが有効に働くことが明かにされている (TAKADA *et al.*, 1988 a, b)。

これらと本研究の結果を合わせ考えると、益子系イエバエにおけるピレスロイド抵抗性のメカニズムとして、少なくとも優性、劣性2つの因子の存在が上げられる。第3連鎖群が関与するものは *kdr* によって支配される神経感受性の低下であり、第5連鎖群が関与するものはチトクローム P450 依存性モノオキシゲナーゼ系による解毒分解能の増加である可能性が高い。aa + ys 系に *aabys* 系を戻し交雑した F_1 の薬量-死亡率回帰線が *aabys* 系側に位置したことは、第3連鎖群に存在する抵抗性因子が劣性遺伝することを示唆する。また、*aaby +* 系と *aabys* 系との交雑 F_1 の薬量-死亡率回帰線が *aaby +* 系とはほぼ同じところに位置したことは、第5連鎖群に存在する抵抗性因子が優性遺伝することを示唆する。また、本実験での益子系の第3連鎖群をホモに持つ個体群の resmethrin に対する抵抗性は第5連鎖をホモ

に持つそれより大きく、連鎖群解析の結果とよく一致している。しかし、これらの連鎖群を単独に切り離した場合、その抵抗性レベルは親である益子系のレベルよりもはるかに低かった。このことは、益子系イエバエにおける著しく高いピレスロイド抵抗性は、上に述べた2つの主要因子ならびにマイナーな因子の全てが組み合わさった時に初めて発現することを示唆している。FARNHAM (1977) もピレスロイド抵抗性イエバエNPR系に存在する4つの抵抗性因子を単独にした場合、いずれの因子もpyrethrinに対して5倍以上の抵抗性を示さないと報告している。ヨーロッパ産イエバエのピレスロイド抵抗性には第2連鎖群に支配される加水分解性も関与していると報告されている(NICHOLSON and SAWICKI, 1982)。これに対して本研究で用いた日本産イエバエ益子系の場合、少なくとも resmethrin, fenvalerate, tetramethrin に対する抵抗性に関しては、第2連鎖群の効果は検出できなかった。この違いは、系統の違いに由来している、益子系ではヨーロッパ産の抵抗性イエバエと異なり、ピレスロイドを加水分解するエステラーゼ活性が低いのか、あるいは感受性検定に供したピレスロイドの構造の違いに由来するのか、明らかではない。一般にピレスロイドの第1段階反応は、チトクロームP450依存性モノオキシゲナーゼ系による酸化的分解とエステラーゼによる加水分解であるが、どちらが優先するかは供試生物やピレスロイドの種類によっても異なる(HODGSON and MOTOYAMA, 1984)。したがって益子系の場合も、他のピレスロイド(例えば permethrin)で検定すれば第2連鎖群の効果を検出される可能性を否定できない。FARNHAM (1977) は、ヨーロッパ産イエバエを用いて、第5連鎖群に解毒に関与する因子を分離しているが、この第5連鎖群の *py-ses* と呼ばれる遺伝子によって支配される抵抗性メカニズムは酸化酵素阻害剤 *sesamex* によって影響を受け、天然ピレスロイド (allethrin を含む) には抵抗性を示すが resmethrin には抵抗性を示さないと報告した。一方、本研究で用いた益子系イエバエでは、resmethrin 抵抗性は酸化酵素阻害剤 *pbo* によって著しく影響を受け(船城ら, 1986)、また、第5連鎖群によって支配される抵抗性メカニズムは、resmethrin に対する抵抗性に重要な役割を果たしていると推察される。これらから、両系統の第5連鎖群にある遺伝子は同じ連鎖群上に位置していても全く異なる遺伝子である可能性が考えられる。また、先の交雑試験においてF₂や

BF₁で、必ずしも予想通りの回帰線が得られなかったこと、また乗換の危険性を無視して連鎖群解析を行ったことなどから、益子系イエバエにおけるピレスロイド抵抗性には他の未知のメカニズムが関与していることも推察される。これらについてはさらに詳しい研究が必要である。

摘 要

わが国で初めて報告された極めて高いピレスロイド抵抗性を有する益子系イエバエを用い、抵抗性因子の遺伝について解析を加えた。感受性系CSMAとの交雑試験により、益子系イエバエのピレスロイド抵抗性は1種類の不完全優性遺伝子、あるいは異なる連鎖群に含まれる優性と劣性の2種類の遺伝子によって支配されている可能性が示唆された。連鎖群解析の結果、益子系イエバエの resmethrin 抵抗性、fenvalerate 抵抗性および tetramethrin 抵抗性はいずれも第3連鎖群と第5連鎖群の効果が出しており、他の連鎖群には効果が認められなかった。これらを合わせ考えると、益子系イエバエのピレスロイド抵抗性には劣性と優性の2つの遺伝子が関与しているという結論が得られる。また、これらは益子系を用いての一連の研究(AHN *et al.*, 1987; FUNAKI *et al.*, 1993) から、第3連鎖群上の因子は神経の低感受性に関与し、第5連鎖群上の因子はチトクロームP450モノオキシゲナーゼによる解毒分解に関与しているものと推察される。しかし、この2つの連鎖群のみを組合せた場合、益子系で見られた強い抵抗性は再現できなかった。このことから、この2つの因子以外にもマイナーな因子が存在し、これらがすべて合わさった時に初めて極めて強いピレスロイド抵抗性がもたらされることが示唆される。

引用文献

- AHN, Y. J., T. SHONO and J. FUKAMI (1986) Inheritance of pyrethroid resistance in a housefly strain from Denmark. *J. Pestic. Sci.* 11: 591-596.
- AHN, Y. J., E. FUNAKI, N. MOTOYAMA., T. SHONO and J. FUKAMI (1987) Nerve insensitivity as a mechanism of resistance to pyrethroids in a Japanese colony of houseflies. *J. Pestic. Sci.* 12: 71-78.

- DEYOUNG, D. H and G. P. GEORGHIOU (1981a) Decreased nerve sensitivity and decreased cuticular penetration as mechanism of resistance to pyrethroids in a (1RS)-trans-permethrin selected strain of the housefly. *Pestic. Biochem. Physiol.* **15** : 234-241.
- DEYOUNG, D. H and G. P. GEORGHIOU (1981b) Absence of enhanced detoxification of permethrin in pyrethroid-resistant houseflies. *Pestic. Biochem. Physiol.* **15** : 242-252.
- FARNHAM, A. W. (1971) Change in cross-resistance patterns in houseflies selected with natural pyrethrins or resmethrin (5-benzyl-3-furylmethyl (\pm)-cis-trans chrysanthemate). *Pestic. Sci.* **2** : 138-143.
- FARNHAM, A. W. (1977) Genetics of resistance of pyrethroid-selected houseflies, *Musca domestica* L. *Pestic. Sci.* **8** : 631-636.
- 船城南介・田原雄一郎・本山直樹 (1986) ピレスロイド抵抗性イエバエに対するピペロニルブトキシドの共効果. *農薬誌* **11** : 415-420.
- FUNAKI, E., W. C. DAUTERMAN and N. MOTOYAMA (1994) *In vitro* and *in vivo* metabolism of fenvalerate in pyrethroid resistant. *J. Pestic. Sci.* **10**, 43-52
- GEORGHIOU, G. P. (1969) Genetics of resistance to insecticides in houseflies and mosquitoes. *Exp. Parasitol.* **28** : 224-255.
- HODGSON, E. and N. MOTOYAMA (1984) Origins and development of adaptation. In "Chiba foundation symposium number 102" (CLANKE, W., ed) pp. 167-183, Pitman Books, London.
- KUMASU, J. (1976) Development of resistance to pyrethroid in field populations of Danish houseflies. *Pestic. Sci.* **7** : 283-291.
- NICHOLSON, K. A. and R. M. SAWICKI (1982) Genetic and biochemical studies of resistance to permethrin in pyrethroids-resistant strain of the housefly. (*Musca domestica* L.) *Pestic. Sci.* **13** : 357-366.
- STONE, B. F. (1968) A formula for determining degree of dominance in cases of monofactorial resistance to chemicals. *Bull. Wild. Hlth. Organ.* **38** : 325-326.
- SCOTT, J. G. and G. P. GEORGHIOU (1986) The biochemical genetics of permethrin resistance in the Learn-PyR strain of house fly. *Biochem. Genet.* **24** : 25-31.
- TAKADA, Y., T. HIROYOSHI and M. HIRANO (1988a) Linkage group analysis of permethrin resistance in the Miyakonojo colony of the housefly, *Musca domestica* L. (Diptera : Muscidae). *Appl. Ent. Zool.* **23** : 122-126.
- TAKADA, Y., T. HIROYOSHI and M. HIRANO (1988b) Contribution of recessive factor on the third chromosome to pyrethroid-resistance in houseflies, *Musca domestica* L. (Diptera : Muscidae). *Appl. Ent. Zool.* **23** : 144-149.
- TSUKAMOTO, M. (1963) The log dosage-probit mortality curve in genetic research of insect resistance to insecticides. *Botyu-Kagaku* **28** : 91-59.
- TSUKAMOTO, M. (1969) Biochemical genetics of insect resistance in the housefly. *Residue Rev.* **25** : 289-314.
- TSUKAMOTO, M. (1983) Methods of genetics analysis of insecticide resistance. In "Pest resistance to pesticide" (G. P. GEORGHIOU and T. SAITO ed.) pp. 71-98 Plenum, New York.

抗菌防臭加工に関する研究 (第3報) — イガとコイガに対する重金属加工羊毛布の防虫効力* —

中島 照夫

近畿大学豊岡短期大学生活情報学科

(受理 : 1993年11月8日)

Study on Antimicrobial and Deodorant Finishes of Textiles (Part 3) — Moth-proofing Efficacy of Wool Fabrics Treated with Heavy Metals against *Tinea pellionella* and *Tineola bisselliella* —. Teruo NAKASHIMA (Department of Information for Daily Life, Kinki University Toyooka Junior College, 160 Tobera, Toyooka-shi, Hyogo 668, Japan) *Jpn. J. Environ. Entomol. Zool.* 5 : 150—157 (1993)

In this paper, the moth-proofing efficacy of wool fabrics treated with heavy metals such as copper, zinc, and tin (high concentration group A and low concentration group B for each metal) was investigated by a feeding test with *Tinea pellionella* and *Tineola bisselliella* in addition to the antimicrobial activity of these fabrics. 1. The antimicrobial activity of wool fabrics treated with copper or zinc was superior to that of wool fabrics treated with tin. 2. All the three kinds of wool fabrics treated with heavy metals suffered a less feeding by *T. pellionella* and *T. bisselliella* than untreated wool fabrics. The amount of feeding differed among the three kinds, and the order of decrease was zinc > copper ≥ tin. The feeding level was also related to the concentration of heavy metals; a higher concentration of each metal caused a less feeding. 3. The insecticidal activity of wool fabrics treated with heavy metals was weak, but these fabrics had high antifeeding activity.

Key Words : Wool fabrics treated with heavy metal, *Tinea pellionella*, *Tineola bisselliella*, Moth-proofing efficacy, Amount of feeding, Antimicrobial activity

本研究では、銅、亜鉛、スズ加工羊毛布（それぞれ高濃度処理布Aと低濃度処理布B）を用いて、抗菌力試験を実施するとともに、イガ(*Tinea pellionella*)とコイガ(*Tineola bisselliella*)による食害試験を行い、重金属加工羊毛布の防虫効力について検討した。

* 本研究の概要は、日本環境動物昆虫学会第2回年次大会で発表したものである。

1) 3種の重金属加工羊毛布の抗菌力に関しては、スズ加工羊毛布より他の重金属加工羊毛布の抗菌力が優れていた。2) 3種の重金属加工羊毛布は、未加工羊毛布よりイガ、コイガによる食害量が減少し、重金属によって食害量に差が生じた。食害量は亜鉛加工羊毛布>銅加工羊毛布≧スズ加工羊毛布の順であった。また食害量は、重金属濃度に関係があり、高濃度ほど食害量が小さくなった。3) 重金属加工布のイガ、コイガに対する殺虫力は小さいが、食害抑制力は大きかった。

緒 言

羊毛布に銅、亜鉛、スズの3重金属を処理して調製した重金属加工羊毛布は、着用後の抗菌力や耐洗濯性および耐色性が、現在市販の抗菌防臭加工商品に比べて優れていることを報告した(中島ら, 1991b, 1992)。

四季があるわが国では、季節外の被服を長期保管する必要がある。とくに羊毛や絹などの蛋白質繊維は、汗や食品材料の汚染物質が付着しなくても、保管中に衣料害虫による食害を受けやすい(前川・辻井, 1989; 井津ら, 1990; 中島・水野, 1985)。最近2年間(1985~1987)のタリーニング苦情原因は、室内の冷暖房普及にともない、変色、収縮、脱色に次いで保管中に生じる被服の衣料害虫による被害(穴あきが全苦情の7.7%)が目立ってきている(中島ら, 1990, 1991a)。また、最近では衣生活が豊かになり、被服の所持枚数が増えてきたことも虫害増加に拍車をかけている(辻井, 1980, 1984)。

羊毛製品を保管する場合、防虫方法として繊維を防虫剤で加工する方法と蒸散性防虫剤をタンスなどに収納する方法とがある(辻井, 1975)。各家庭では一般に後者の防虫対策が行われ、蒸散性のパラジクロルベンゼン、γブタリン、樟腦、ピレスロイドなどの防虫剤がよく使用されている。しかし、蒸散性防虫剤は、保管容器内の気密性が悪い場合、その蒸気濃度を殺虫あるいは忌避効果のある適当状態に維持することがなかなか難しく、特別な臭気の嗜好的問題(下瀬ら, 1984)、補充忘れや安全上の問題が生じる。

こうした観点から、本研究は被服管理の立場に基づき、繊維を防虫剤で直接加工する方法が適用可能と考えられる重金属加工羊毛布の防虫効力を検討し、抗菌防臭効果と防虫効果の複合効果を兼ね備えた製品の開発を試みた。

材料と方法

1. 試 料

表1の繊維特性を有する羊毛布を前報(中島ら, 1991c)と同様の加工方法で処理し、銅、亜鉛、スズ加工羊毛布を調製した。

すなわち、羊毛布を1%ポリオキシエチレン(10)/ニルフェニルエーテル(浴比1:12)に浸け脱脂した。次に、脱脂羊毛布を30%チオグリコール酸アンモニウムと6%EDTA-2Na溶液(pH7.0, 浴比1:45)に浸漬し、室温で12時間放置後イオン交換水3ℓで5回洗浄した。このジスルフィド結合の一部を切断した羊毛布を表2に示す条件で処理した後、室温に12時間放置した。次いで洗浄液のpHが5~6になるまで蒸留水でよく洗浄後、風乾して金属加工羊毛布6種(銅、亜鉛、スズ)を調製した。

JIS規格K 0102法(日本規格協会, 1984)に準じて試験布を加水分解した後、原子吸光法(島津AA-670型)で定量した6種の重金属吸着量は、表2のとおりであった。これから6種の重金属加工羊毛布と未加工羊毛布を

Table 1 Details of Wool-fabrics for treatment

| | | |
|-----------------------------|-------------|---------------|
| Raw-material | Wool | 100% |
| Weave | Plain weave | |
| Thickness (mm) | | 0.214 |
| Weight (g/cm ²) | | 101 |
| Count | Warp | 1/48 (21 tex) |
| | Weft | 1/48 (21 tex) |
| Yarn density (number/cm) | Warp | 23 |
| | Weft | 25 |

Table 2 Amount of adsorption and compounding method of wool-fabrics treated with heavy metals

| Tested fabrics | Treatment solution with heavy metallic salts | Bath ratio | Amount of adsorption of heavy metals (mg/g fabrics) |
|---|--|------------|---|
| Wool-fabrics treated with copper (A) | 12.0% CuSO ₄ | 1 : 66 | 18.86 |
| Wool-fabrics treated with copper (B) | 4.5% CuSO ₄ | 1 : 66 | 8.71 |
| Wool-fabrics treated with zinc (A) | 12.0% ZnCl ₂ | 1 : 40 | 28.82 |
| Wool-fabrics treated with zinc (B) | 1.1% ZnCl ₂ | 1 : 40 | 9.85 |
| Wool-fabrics treated with tin (A) | 12.0% SnCl ₂ | 1 : 40 | 20.18 |
| Wool-fabrics treated with tin (B) | 1.1% SnCl ₂ | 1 : 40 | 9.12 |

抗菌力試験と食害試験に用いた。

2. 試験菌

抗菌力試験には、皮膚湿疹あるいは悪臭の起因菌としてよく知られ、抗菌防臭加工の検定菌である *Staphylococcus aureus* IFO 3060 と *Klebsiella pneumoniae* IFO 5466 の 2 種を用いた (弓削, 1979)。

3. 培地

接種菌液用にはブイヨン培地、生菌数測定用には標準寒天培地をそれぞれ用いた (神野ら, 1970; 日本防菌防霉学会繊維抗菌加工検討委員会, 1985)。

4. 抗菌力試験方法

抗菌力試験は、細菌生育抑制試験法を一部改良した方法 (中島ら, 1987; 中島, 1988) に準じて行った。すなわち、18ml に裁断した未加工布 (対照布) と加工布 0.2 g (各試料は同一試験布につき未加工布 6 検体、加工布 4 検体) をそれぞれ 30ml 容ねじ口付きバイアル瓶に入れ、オートクレーブで 121°C、15 分間高圧蒸気滅菌した。

試験菌は、予め普通寒天斜面培地上で 37°C で 24~48 時間前々培養し、その 1 白金耳を滅菌ブイヨン培地に接種後、18 時間振盪前培養したものをを用いた。得られた菌液を 15 倍希釈の普通ブイヨン培地を用い、*S. aureus* の場合 2.7×10^5 コロニー/ml、*K. pneumoniae* の場合 4.9×10^5 コロニー/ml になるようにそれぞれ希釈後、冷蔵庫に保存し、抗菌力試験では上記の懸濁菌液培地 0.2 ml を試験布に接種した。

次いで、接種直後と 37°C で 18 時間培養後の未加工布と加工布を滅菌試験管に入れ、これに 0.2% Tween 80 を含む滅菌生理食塩水 10ml を加えた。この試験管をフラッシュミキサーで 5 秒間攪拌し、さらに 5 秒間静止するという攪拌操作を 5 回繰り返した。試験布中の生菌を滅菌緩衝生理食塩水中に洗い出し、この分散液を滅菌緩衝生理食塩水を用いて順次希釈して、10 倍希釈系列を作った。

分散液の初発菌数 (未加工布に接種直後回収した生菌数)、および加工布 (未加工布に接種したと同数の試験菌を接種) を 18 時間培養後、これに含まれる生菌数を寒天平板希釈法で計測した。そして、次式によって菌減少率を算出し、それらの抗菌力を評価した。

$$\text{菌減少率 (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A : 初発菌数 (コロニー/g 布), B : 18 時間培養後の試験布中の生菌数 (コロニー/g 布)

5. 供試虫

本食害試験に用いたイガ (*Tinea pellionella*) 幼虫とコイガ (*Tineola bisselliella*) 幼虫は、それぞれ奈良女子大学家政学部被服管理研究室で継続飼育している系統である。これらの羽化した成虫を集め、24 時間以内に産下した卵を約 1000 個採取後、蓋の中央部に直径 3 cm の孔をあけ、40 メッシュの金網をはり、空気の流通をよくしたプラスチック製容器内 (直径 13 cm, 深さ 5 cm) に

収着し、28±1℃の恒温器内で飼育した。供試虫は孵化後6日間経過した幼虫で、体重ができるだけ揃ったものを選んだ。飼料はカツオブシ粉末30g、乾燥粉末酵母9gを混合したものを用いた(辻井・泉, 1976)。食害試験に用いた幼虫1頭当りの平均体重は、イガ幼虫が糞虫の約半分の量を含めて4.1mg、コイガ幼虫が2.8mgであった。

II. 食害試験方法

食害試験方法には強制食害法と選択食害法とがある(辻井・泉, 1976)。前者は衣料害虫に与えられた1枚の布だけしか食害することができず、防虫加工繊維製品の実際の使用状況(着用および保管)に則していないと考えられる。一方、後者の選択食害法(辻井・泉, 1976)は、害虫が自由に歩きまわり、選択して摂食できる方法である。辻井・泉(1976)の報告によると、強制食害法と選択食害法間には正の相関が認められ、相関係数は0.741で、食害率は前者の方が約1.2~1.6倍高い。本報では、より実際的な後者の方法によって防虫効力を検討した。

すなわち、3×3cmに裁断した未加工羊毛布と3種重金属加工羊毛布を24時間以上デシケータ内に放置後、重量を測定した。次いで図1のように、直径9cm、深さ1.9cmの蓋付きガラス製ペトリ皿中に、未加工羊毛布と

重金属加工羊毛布を同時に入れ、その中央部にイガ幼虫またはコイガ幼虫をそれぞれ10頭放置後、28±1℃、75±5%RHの条件で2週間摂食させた。

その後、試験布を取出して重量を測定し、減量分を食害量として算出した(辻井・泉, 1976)。食害率(%)は、重金属加工羊毛布の食害量/未加工羊毛布の食害量×100として求めた。繰り返しは5回行った。

結果と考察

1. 抗菌力試験

重金属加工羊毛布の抗菌力試験結果を表3に示す。

3種の重金属加工羊毛布に対して試験菌 *S. aureus* の接種菌数が 2.7×10^5 コロニー/ml となるように、各試験布 0.2g に対して菌液 0.2ml を含浸(初発菌数は 2.7×10^5 コロニー/g 布)させた。18時間培養後の生菌数は、未加工羊毛布が 4.7×10^6 コロニー/g 布で約10倍以上増殖した。しかし、18時間培養後の3種の重金属加工羊毛布の生菌数は、銅加工羊毛布A、Bが0コロニー/g 布、亜鉛加工羊毛布Aが 1.2×10^2 コロニー/g 布、亜鉛加工羊毛布Bが 1.3×10^4 コロニー/g 布、スズ加工羊毛布Aが 2.1×10^4 コロニー/g 布、スズ加工羊毛布Bが 2.3×10^4 コロニー/g 布の数値を示した。これらの値は、未加工羊毛布の 4.7×10^6 コロニー/g 布に比べて約10000

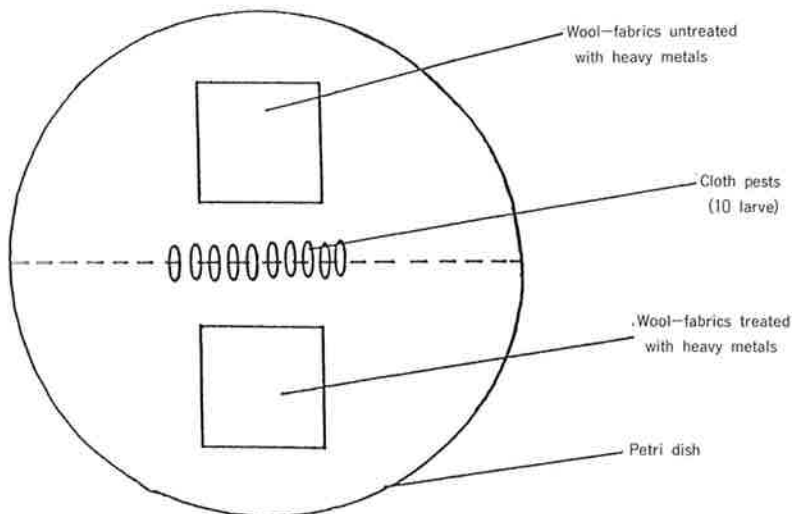


Fig. 1. Test method of feeding selection in a petri dish. Feeding period is 2 weeks at 27±1℃

Table 3 Results of antimicrobial activity test of wool-fabrics treated with heavy metals

| Tested fabrics | | <i>Staphylococcus aureus</i> | | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | |
|--|------------------------|------------------------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|
| | | No. of bacteria | Decreasing % of bacteria | No. of bacteria | Decreasing % of bacteria |
| Wool-fabrics untreated with heavy metals | Just after inoculation | 2.7×10^5 | — | 4.9×10^5 | — |
| | 18 hr after incubation | 4.7×10^6 | — | 2.0×10^6 | — |
| Wool-fabrics treated with copper (A) | 18 hr after incubation | 0 | 100 | 1.1×10^2 | 100 |
| Wool-fabrics treated with copper (B) | 18 hr after incubation | 0 | 100 | 1.2×10^3 | 99.8 |
| Wool-fabrics treated with zinc (A) | 18 hr after incubation | 1.2×10^2 | 99.9 | 2.3×10^4 | 95.3 |
| Wool-fabrics treated with zinc (B) | 18 hr after incubation | 1.3×10^4 | 95.2 | 5.3×10^4 | 89.2 |
| Wool-fabrics treated with tin (A) | 18 hr after incubation | 2.1×10^4 | 92.2 | 9.2×10^4 | 81.2 |
| Wool-fabrics treated with tin (B) | 18 hr after incubation | 2.3×10^4 | 91.5 | 1.6×10^5 | 67.3 |

分の1～100分の1で、接種菌の増殖を明らかに抑制していた。

上記の生菌数値から算出した菌減少率は、銅加工羊毛布が100%、亜鉛加工羊毛布が95.2～99.9%、スズ加工羊毛布が91.5～92.2%であった。

一方、試験菌 *K. pneumoniae* についても、同様に各試験布0.2gに対して菌液を0.2ml含浸（初発菌数は 4.9×10^5 コロニー/g布）させたが、18時間培養後の生菌数は、未加工羊毛布が 2.0×10^6 コロニー/g布であった。3種の重金属加工羊毛布の18時間培養後の生菌数については、銅加工羊毛布Aが 1.1×10^2 コロニー/g布、銅加工羊毛布Bが 1.2×10^3 コロニー/g布、亜鉛加工羊毛布Aが 2.3×10^4 コロニー/g布、亜鉛加工羊毛布Bが 5.3×10^4 コロニー/g布、スズ加工羊毛布Aが 9.2×10^4 コロニー/g布、スズ加工羊毛布Bが 1.6×10^5 コロニー/g布の数値を示した。これらの値は、未加工羊毛布の 2.0×10^6 コロニー/g布に比べ約1000分の1～10分の1のレベルで、接種菌の増殖を抑制していた。

上記の生菌数値から算出した菌減少率は、銅加工羊毛布が99.8～100%、亜鉛加工羊毛布が89.2～90.3%、スズ加工羊毛布が67.3～81.2%であった。なかでもスズ加工羊毛布Bは菌減少率が67.3%と低かった。しかし、繊維製品衛生加工協議会の基準によれば、菌減少率60%以上は実用可能とされ、非溶出タイプの市販抗菌防臭加工製品には菌減少率が61.4%のものもある（中島, 1992）。

したがって、スズ加工羊毛布でも一応合格ラインを越えていると考えられる。

また、いずれの重金属加工羊毛布においても、*K. pneumoniae* の場合は *S. aureus* よりも18時間培養後の生菌数が約10倍多く、菌減少率が低いことから、グラム陰性桿菌の *K. pneumoniae* はグラム陽性球菌の *S. aureus* よりも薬剤に対する抵抗性が強いと言える。この原因は、土戸（1987）が指摘しているように、グラム陰性菌の細胞外膜には、透過障壁となるリポ多糖体が特異的に存在するためと考えられる。

Table 4 Results of feeding select test of wool-fabrics treated with heavy metals by *Tinea pellionella*

| Tested fabrics | Amount of feeding (ng/10 larvae) | % of feeding ¹⁾ |
|--|----------------------------------|----------------------------|
| Wool-fabrics untreated with heavy metals | 27.5 | 100.0 |
| Wool-fabrics treated with copper (A) | 3.3 | 12.0 |
| Wool-fabrics treated with copper (B) | 5.9 | 28.7 |
| Wool-fabrics treated with zinc (A) | 3.9 | 14.2 |
| Wool-fabrics treated with zinc (B) | 10.8 | 39.3 |
| Wool-fabrics treated with tin (A) | 2.9 | 10.5 |
| Wool-fabrics treated with tin (B) | 4.9 | 17.8 |

1) Amount of feeding of wool-fabrics treated with heavy metals / Amount of feeding of wool-fabrics untreated with heavy metals × 100