

ダイオキシンおよびその関連物質のショウジョウバエにおける遺伝毒性

光永, 浩子
化学及血清療法研究所

桑原, 鉄次
長崎県立上五島高校

坂口, 文吾
九州大学農学部蚕学教室

増田, 義人
第一薬科大学物理分析学教室

他

<https://doi.org/10.15017/23332>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 44 (3), pp.129-135, 1990-02. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：

ダイオキシンおよびその関連物質の ショウジョウバエにおける遺伝毒性

光永浩子¹⁾・桑原鉄次²⁾・坂口文吾
増田義人³⁾・古賀克己
九州大学農学部蚕学教室
(1989年11月13日 受理)

Inheritable Toxicity of Dioxin and Related Compounds in *Drosophila* *melanogaster*

HIROKO MITSUNAGA¹⁾, TETSUJI KUWAHARA²⁾,
BUNGO SAKAGUCHI, YOSHITO MASUDA³⁾
and KATSUMI KOGA

Laboratory of Sericulture, Faculty of
Agriculture, Kyushu University,
Fukuoka 812

緒 言

ここ数十年の科学の発展につれ、天然には存在しない人工化合物が我々の周囲に氾濫するようになった。人類がこれまでに合成した化合物は莫大な数にのぼり、そのうちのかなりのものが有用性を買われて商業ベースで生産されている。このような化合物には人体への安全性が十分に確かめられないままに使用されているものも多く、なかには重大な社会的悲劇を生んだ例がある(岩原, 1977)。

ベトナム戦争の際に米軍が使用した枯葉剤2, 4, 5-トリクロロフェノキシ酢酸(2, 4, 5-T)中には、不純物としてダイオキシン(ポリ塩化ジベンゾダイオキシン)類およびポリ塩化ジベンゾフラン類が含まれており、枯葉剤被曝者の不妊やその子供に現れる奇形の原因となったと考えられている。米国のLove Canalでは、ダイオキシンを含む産業廃棄物が土中に埋められ、後年雨水と共にしみだして多くの家畜に被害を与えた。イタリアのSevesoでは工場の爆発事故によりダイオキシンなどが飛散し多数の地上動物や鳥

などが死亡した(増田, 1987a)。わが国では、米糠油にポリ塩化ビフェニルが誤って混入しカネミ油症事件を引き起こしたが、毒性の主原因は混在するジベンゾフラン異性体であったものと結論されている(増田, 1987b; 滝澤, 1987)。

ダイオキシンおよびジベンゾフラン是一群の残留性の強い有機ハロゲン化合物の総称である。この範疇の分子は有機物と塩素から高温を伴う化学反応過程によって生ずる。実際に農業をはじめとする様々な化学製品の製造工場が発生しており、製品の中に混入した例も少なくない。精製除去された場合でも産業廃棄物として危険である。ダイオキシンやジベンゾフランは都市の焼却炉の灰の中からも検出され、日常生活とも無関係ではないことが明らかとなった(榎本, 1987; 増田, 1988)。

ダイオキシンおよびジベンゾフランの毒性については致死作用、免疫毒性、催奇性、胎児毒性、酵素誘導作用、発癌性、遺伝毒性などの面から研究されている(Giri, 1986; 西住, 1987; Safe, 1989)。しかし、毒性作用機作の詳細については不明な点が多い。特に遺伝毒性については未だ定説がないといっても過言ではない。遺伝子への障害は、摂取者自身に影響がなくとも後代に永く伝わるものである。その有無によっては、当該化合物のさらに厳しい排除が必要となろう。

¹⁾現在：化学及血清療法研究所

²⁾現在：長崎県立上五島高校

³⁾第一薬科大学物理分析学教室

そこで、本研究室ではキロショウジョウバエを用いてダイオキシンおよびジベンゾフランの変異原性試験を行ってきた。今回は、前報 (Kato *et al.*, 1990) において報告した Muller-5 法による劣性致死突然変異の検出について条件を変えて追試を行った。また、新たに毒素の一次作用および優性致死変異の検出の試みとして孵化率と蛹化率を検定した。

本文に先立ち、研究上のご示唆を頂いた九州大学医学部公衆衛生学研究室の清原千香子助手にお礼申し上げます。本研究は文部省科学研究費重点領域研究 (課題番号63602014) によった。

材料と方法

化合物: ダイオキシン類とダイベンゾフラン類は結合する塩素の数と位置により多くの異性体が存在する。前回 (Kato *et al.*, 1990) と同様に、モルモットに対して著しく毒性が強くダイオキシン類の代表として狭義のダイオキシンと呼ばれることもある 2, 3, 7, 8-テトラクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシン (TCDD), ダイベンゾフランに属する 2, 3, 4, 7, 8-ペンタクロロジベンゾフラン (PCDF) および 1, 2, 3, 4, 7, 8-ヘキサクロロジベンゾフラン (HCDF) の 3 種類を用いた (増田, 1988)。以上はオリブオイルに溶解し使用した (40 μ l/ml)。対照には溶媒のオリブオイルのみのもを用いた。

ショウジョウバエの系統: キロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の 2 系統, Oregon-R および Muller-5 を用いた。前者は赤く丸い目を持つ野生型であり、後者は X 染色体上に標識遺伝子として *wa* (眼色をアンズ色にする遺伝子 *white apricot*) と *B* (棒眼にする遺伝子 *Bar*) を有し、かつ、染色体に複雑な逆位が存在するために組換えが抑制されたものである。いずれも 22°C で飼育した。

Muller-5 法: Oregon-R の雄に化合物を投与し、精子の X 染色体上に生じた突然変異を検出するために Muller-5 の雌を交配した。この交配では、F₁ 世代で *B* の雌と *wa B* の雄が出現し、F₁ 同士を交配すると F₂ 世代では *wa B* の雄、*B* の雌、*wa B* の雄、野生型の雄の 4 タイプが分離する筈である。親世代の雄の X 染色体に劣性致死突然変異が起きている場合には、F₁ では雌にヘテロ型で伝わり、F₂ では *B* の雌と野生型の雄に受け継がれる。しかし、劣性の致死性は F₂ 野生型雄において初めて発現する。この原理に基づいて、F₂ 世代の 4 タイプのうち野生型の雄のみが出現しないような区を検出し得た場合に、親雄の X 染色体に劣性致死突

然変異を有するものと判断し、さらに F₂ における *B* 型の雌を *B wa* 型の雄と交配を繰り返すことによって変異型を系統化した。

処理方法: 前回 (Kato *et al.*, 1990) は注射法および摂食法を併用したが、前者は著しい結果を与えなかったため、ここでは後者を採用し、さらに投与量を増加させた。羽化 1 日目の Oregon-R の雄を空のガラスチューブ内で 24 時間絶食させた後、以下の方法により 24 時間化合物に曝した。ハエの好む餌である生イーストとハチミツ、および乳化剤として 70% アルコールを 10:10:1 の割合で混合し、約 1 cm³ のスポンジに染み込ませ、クリーマー (小型の飼育ビン) の底に敷いた濾紙上に置いた後、化合物のオリブオイル溶液 50 μ l または 100 μ l を滴下し、絶食させた雄を数匹づつ供した。なお、肉眼で摂食を確かめることはできたものの、化合物取込の絶対量は不明である。

ショウジョウバエの精子は、始原生殖細胞の体細胞分裂の時期から、減数分裂期を経て成熟期に至る諸段階を経て形成される。羽化直後の雄は始原生殖細胞から成熟精子まで全ての段階の細胞を持っている。摂取された化合物がどの段階の細胞に最も大きな障害を与えるかを知る目的で、三日毎に雌を替えて交配を行った。処理を受けてから初めの 3 日間に交配した雌からの子供を brood A、つぎの 3 日間に交配した雌からの子供を brood B、最後の 3 日間に交配した雌からの子供を brood C と命名した。各 brood は、A が成熟期、B が減数分裂期、C が始原生殖細胞期でそれぞれ作用を受けた精子に基づくものと考えられる (cf. Kato *et al.*, 1990)。

孵化率および蛹化率の調査: 処理後の各々の雄に 1 匹または 2 匹の雌を供し、24 時間おきに培地を取り換えた。親バエを取り出した後、培地に産下された卵を計数し、1.5 日後に未孵化卵を計数した。さらに産下後約 10 日目にクリーマー壁面に形成された蛹数を数えた。

結 果

1. 伴性劣性致死突然変異誘発試験

Muller-5 法による結果を brood ごとに Table 1 に示す。分母は調査した F₁ のバッチ数すなわち処理をうけた雄精子の X 染色体の数を示し、分子は得られた劣性致死突然変異系統数すなわち劣性致死変異が誘発された X 染色体数を示す。滴下量 50 μ l の値は 5 回の、100 μ l の値は 4 回の実験データを合計したものである。

Table 1. Induction of sex-linked recessive lethal mutants by a dioxin and benzofurans.

Amount ^a	Chemical	Brood ^b			Total	%
		A	B	C		
50 μ l	TCDD	0/ 602	0/ 644	0/ 534	0/1,780	0.00
	PCDF	1/ 473	2/ 498	1/ 398	4/1,369	0.29
	HCDF	2/ 508	1/ 568	0/ 508	3/1,584	0.19
	Control ^c	0/ 820	5/1,210	2/1,011	7/3,041	0.23
100 μ l	TCDD	1/ 646	0/ 638	0/ 666	1/1,950	0.05
	PCDF	1/ 241	0/ 318	0/ 142	1/ 701	0.14
	HCDF	0/ 236	0/ 297	0/ 249	0/ 782	0.00
	Control ^c	0/ 338	0/ 152	2/ 300	2/ 902	0.22

^aThe olive-oil solution (50 or 100 μ l) of the chemical was administered onto the diet.

^bFor brood A, B and C, see text.

^cControl received the solvent olive oil alone.

滴下量50 μ lにおいては、PCDFやHCDFにランダムに突然変異が出現してはいるが、対照との間に大きな差異は認められなかった。一方TCDDではいずれの区においても突然変異は検出されなかった。また100 μ l滴下においては処理区の変異率はむしろ対照よりも低く、TCDDとPCDFにおいて一頭体ずつが得られたのみである。

各 brood 別にみると、対照では brood B, C にのみ突然変異が出現し、処理区では brood A にも現れた。滴下量100 μ lになると brood A の選択性がさらに顕著で、対照では brood C のみであるが、処理によるものは brood A にのみ突然変異が生じている。

2. 孵化率および蛹化率

F₁卵における孵化率と蛹化率の調査結果を Table 2 に示す。滴下量50 μ lの値も100 μ lの値も4回の実験データを合計したものである。両区共に brood による大きな差は認められなかった。また、対照との差も特に検出されなかった。どの化合物においても滴下量を2倍にした場合に孵化率および蛹化率が低下したが、対照でも同様の傾向が認められた。

Table 2 に示す合計値からは試験区と対照の間に有意な差が認められないが、処理雄1匹毎に当該 brood の孵化率と蛹化率をたどると、全ての brood を通じて、孵化率と蛹化率をゼロにする処理雄が得られた。その結果を Table 3 に示す。いずれも TCDD 50 μ l 滴下で処理した雄である。Male 1 は合計3匹の雌と遭遇したが、通常の半数程度の卵が得られたのみで、そのほとんどは孵化せず、孵化した幼虫も蛹にまで到達

しなかった。Male 2 は合計5匹の雌と遭遇したが、わずかに9個の卵が得られたのみで、これは全て孵化しなかった。このように異常な孵化率と蛹化率をもたらす雄は対照からは得られなかった。

3. 奇形の出現

劣性致死突然変異誘発試験の過程において、合計5個体の奇形が得られた(No. 1 ~ No. 5)。何れも雌であった。このうちの3個体は TCDD 100 μ l 滴下により処理した brood A の F₁ に現れたものであり(No. 1 ~ No. 3)、1個体は PCDF 100 μ l 処理による brood B の F₁ (No. 4) である。いずれも別々の処理雄個体由来であり、かつ処理後3日目の brood に集中していた。残りの1個体は TCDD 100 μ l 滴下により処理した brood A の F₂ に現れたものである(No. 5)。なお、奇形は対照には検出されなかった。

奇形の形態は2種に大別できた。一つは片方の翅が欠失し胸部が異常であった(Nos. 1, 2, 4, 5)。Fig. 1A に奇形No. 2の様相を示す。残りは片側の眼に窪みがある。これはNo. 3のみであり、その様相を Fig. 1B に示す。

F₂世代からの唯一の奇形No. 5は、No. 1の姪に当たる。ただし、当該F₁世代は正常であった。なお、奇形No. 4とNo. 5は不妊であり、またNos. 1, 2, 3は妊性を有していたものの様々な交配にもかかわらず後代に奇形は検出できなかったため、奇形の系統化は成功しなかった。

Table 2. The ratios of hatched and pupated individuals in F₁ eggs.

Brood ^a	Administered at 50 μ l					Administered at 100 μ l				
	Egg No.	Neonate No.	(%)	Pupa No.	(%)	Egg No.	Neonate No.	(%)	Pupa No.	(%)
TCDD-A	1,235	1,075	(87)	943	(76)	2,308	1,866	(81)	1,274	(55)
" -B	1,280	1,120	(88)	994	(78)	2,391	1,684	(70)	1,142	(48)
" -C	1,147	961	(84)	817	(71)	1,944	1,623	(83)	1,151	(59)
Total	3,662	3,156	(86)	2,754	(75)	6,643	5,173	(78)	3,567	(54)
PCDF-A	787	712	(90)	583	(74)	1,064	771	(72)	541	(51)
" -B	595	459	(77)	433	(73)	1,135	897	(79)	576	(51)
" -C	441	355	(80)	296	(67)	506	372	(73)	247	(49)
Total	1,823	1,526	(84)	1,312	(72)	2,705	2,038	(75)	1,364	(50)
HCDF-A	896	824	(92)	740	(83)	703	609	(87)	494	(70)
" -B	710	633	(89)	565	(80)	846	709	(84)	575	(68)
" -C	574	519	(90)	501	(87)	800	620	(78)	404	(51)
Total	2,180	1,973	(91)	1,806	(83)	2,349	1,938	(83)	1,473	(63)
Control ^b -A	1,277	1,137	(89)	995	(78)	1,336	1,024	(77)	653	(49)
" -B	1,678	1,453	(87)	1,310	(77)	1,032	690	(67)	457	(44)
" -C	1,482	1,299	(88)	1,113	(75)	1,039	788	(76)	518	(50)
Total	4,437	3,889	(88)	3,418	(77)	3,407	2,502	(73)	1,628	(48)

^aA, B and C mean the broods as described in Table 1.

^bControl received the solvent olive oil alone.

Table 3. Occurrence of males of which F₁ gave scarce or no neonates or pupae.

Brood ^b	Male 1 ^a			Male 2 ^a		
	Egg No.	Neonate No.	Pupa No.	Egg No.	Neonate No.	Pupa No.
A1	9	8	89	0	—	—
A2	28	0	0	0	—	—
A3	24	0	0	9	0	0
B1	0	—	—	0	—	—
B2	6	0	0	0	—	—
B3	19	0	0	0	—	—
C1	21	0	0	0	—	—
C2	23	0	0	0	—	—
C3	26	0	0	0	—	—
Total	156	8	5	9	0	0

^aTwo individuals both administered with 50 μ l TCDD.

^bA, B and C mean the broods as described in Tables 1 and 2.

1, 2 and 3 stand for the repetition of mating.

考 察

本実験の結果、以前 (Kato *et al.*, 1990) に引き続いて、ダイオキシン等により劣性致死突然変異が得られた。しかし、試験区と対照の差は明らかでない。本薬剤による変異率はさほど高くはないものと結論され

る。自然に発生し得る突然変異は一般的に10⁻⁵程度であるが、ショウジョウバエではおそらくトランスポゾンの影響のために0.1~0.5%という著しい高変異率が通常である (e.g. Ayaki *et al.*, 1985)。従って、試験区の値が低いことが明らかとなったダイオキシン等の場合には、今後バックグラウンドの変異率を低下させ

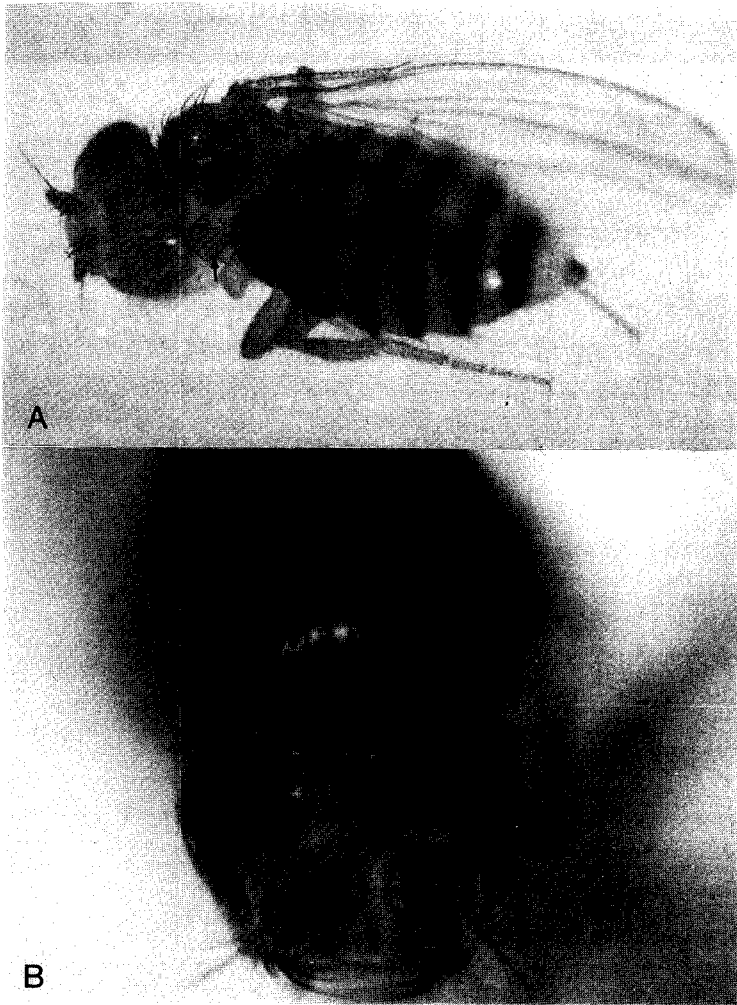


Fig. 1. Malformed individuals occurred in the F_1 generation of brood A after the treatment with $100 \mu\text{l}$ TCDD. A. Individual No. 2 with the appearance that can be called "half thorax," lacking the left side of the thorax (arrow) and the wing. B. Individual No. 3 with a hollow eye (arrow). The malformed ones No. 1 (TCDD $100 \mu\text{l}$, brood A, F_1), No. 4 (PCDF $100 \mu\text{l}$, brood B, F_1) and No. 5 (TCDD $100 \mu\text{l}$, brood A, F_2) had also the trait similar to that of No. 2.

た系を用いて再検討を行う必要がある。

次に brood 間の比較を行うと、前回には始原生殖細胞期の精子を処理して得られたと思われる brood C での変異率が最も高いという結果となり、これはクラスター由来の突然変異であると解釈した (Kato *et al.*, 1990)。しかし、今回は brood C が格別が高いという結

果は得られなかった。化合物の投与量を増大したために、この効果が出現しなくなったものと考えざるを得ない。なお、前回・今回を通じて、投与量と変異率との相関関係は不明である。

本実験で新たに行った優性致死検定の試みとしての発生異常試験においても、対照との有意差は認められ

なかった (Table 2)。これについては実験上の問題が考えられる。Table 2 は、対照における溶媒の影響が非常に大きいことを示している。24時間の絶食とオリーブオイルへの暴露は、ハエに著しいストレスを与えたようにみうけられる。

TCDD等の毒性に関しては、化合物による芳香族炭化水素水酸化酵素 (AHH) 活性の誘導上昇が指標として有効であり (長山, 1987; 長山ら, 1987), 化合物に感受性の高い動物の種または系統では誘導される AHH 活性も高い (米川, 1985)。ショウジョウバエでは TCDD による AHH 活性の誘導は非常にわずかであり、これまで、ショウジョウバエは TCDD 等に対する感受性が低い生物であると考えられてきた (Bigelow *et al.*, 1985; Hällström, 1986)。我々の結果は、この考えを支持するものである。しかしながら、個々のデータを細かく検討すると、ダイオキシン等の影響は否定できない。たとえば、brood A の劣性突然変異率をとると、対照値の方が試験区よりも低いので、化合物の影響とみなすことができる。特に TCDD については、検出された唯一の突然変異が 100 μ l 滴下の brood A にある。TCDD によって引き起こされたと考えられる奇形も brood A 由来のものが多かった。対照には変異が現れない A の時期に、化合物投与の場合にのみ劣性致死突然変異が現れるという傾向は Kato *et al.* (1990) の結果においても認められる。

ところが、Table 1 に示しているように、brood B, C の突然変異は、対照では検出されたが TCDD 処理後は検出されなかった。滴下量を 2 倍にすると、PCDF, HCDF でも同様となった。考えられる可能性は、劣性致死突然変異を起こした精子、あるいは起こすような不安定な精子を、化合物が選択的に殺すことである。マウスを用いた調査では TCDD による精子成熟の抑制、2, 4, 5-T 製剤による不妊や自然流産が確認されている (西住, 1987)。

TCDD がショウジョウバエの生殖能力に異常をきたすことは、Table 3 に示したような雄の出現からも示唆される。ショウジョウバエの産卵は交尾と受精によって促進される。Male 1 からは少ないながらも卵が得られているので交尾は行ったであろう。しかし孵化率が低下していることから、未受精であった可能性も否定できない。Male 2 からはなお少数の卵が得られたのみなので、交尾能力が低下していたことも考えられる。

得られた卵がもし受精していたとすれば、孵化しなかった理由は発生過程で致死したためであろう。F₁,

F₂ 雌に現れた奇形も、発生異常の一種であるとみることができ、この発生異常は遺伝的なものであろうか、あるいは単なる表型模写であらうか。通常、受精によって雄個体から後代に持ち込まれるのは染色体のみと考えられる。従って Muller-5 法を用いる実験系において化合物を投与したのは雄であるから、F₁ に現れる変異は染色体異常によると考えるのが自然であろう。

しかし、予想に反して F₁ 奇形個体の後代検定では奇形は検出できなかった。F₂ 世代で現われた奇形はわずか 1 匹で (No. 5), しかもその母親は正常であった。No. 5 の叔母にあたる F₁ には奇形があった (No. 1) が、この 2 奇形個体間の因果関係は明らかではない。従って、得られた奇形が遺伝的であることは確認できなかった。

以上要するに、本実験の条件下では、TCDD および関連化合物に比較的耐性であるとされるショウジョウバエにおいて、突然変異と発生異常が起こる頻度は対照との差がなかった。しかし、これは、ショウジョウバエへの遺伝毒性を否定することにはならない。実際に、本研究室における他の実験の結果、TCDD 処理によって得られた劣性致死突然変異系統が、染色体上に逆位を持つことも確認されている。ショウジョウバエに対する TCDD 関連物質の遺伝毒性はさらに様々な角度から調査されなければならない。

摘 要

ダイオキシン (2, 3, 7, 8-テトラクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシン) または関連化合物である 2, 3, 4, 7, 8-ペンタクロロジベンゾフラン, 1, 2, 3, 4, 7, 8-ヘキサクロロジベンゾフランをショウジョウバエに経口投与し、Muller-5 法により X 染色体上に生じた劣性致死突然変異を検出したところ、変異率において対照との差異は認められなかった。処理個体後代の孵化率および蛹数においても総計でみる限り対照と変わりがなかった。しかし、個々に調査すると、化合物処理後では孵化率または蛹化率をゼロにするような発生異常が認められ、さらに、片側の胸部または片側の眼に異常のある奇形個体が得られた。発生異常および奇形は対照では検出されなかった。

文 献

Ayaki, T., K. Oshima and I. Yoshikawa 1985 Linear relationship between lethal mutation yield and intake of ethyl methanesulfonate in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mut.*, 7:

- 147-153
- Bigelow, S. W., J. A. Zijlstra, E. W. Vogel and D. W. Nebert 1985 Measurements of the cytosolic Ah receptor among four strains of *Drosophila melanogaster*. *Arch. Toxicol.*, **56**: 219-225.
- Giri, A. 1986 Mutagenic and genotoxic effects of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, a review. *Mutation Res.*, **168**: 241-248
- Hällström, I. 1986 Effects of pretreatment with 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran on microsomal monooxygenase activity in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Res.*, **174**: 93-97
- 岩原繁雄 1977 遺伝毒性とその試験, 講談社サイエンスティフィク, 東京
- 樫本 隆 1987 ダイオキシン等の環境汚染, トキシコロジーフォーラム, **10**: 556-565
- Kato, K., B. Sakaguchi, J. Nagayama, Y. Masuda and K. Koga 1990 Induction of recessive lethal mutants by dioxin and dibenzofurans in *Drosophila melanogaster*. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, in press.
- 増田義人 1987a ダイオキシン—毒性, 汚染および人体影響, トキシコロジーフォーラム, **10**: 553-555
- 増田義人 1987b ポリ塩化ダイベンゾダイオキシン等の人体影響, トキシコロジーフォーラム, **10**: 566-574
- 増田義人 1988 ポリ塩化ジベンゾジオキシン及びジベンゾフランの環境汚染, 衛生化学, **34**: 197-209
- 長山淳哉 1987 ダイオキシンおよびダイベンゾフランの AHH 誘導性と毒性発現, トキシコロジーフォーラム, **10**: 591-600
- 長山淳哉・清原千香子・毛利紀子・廣畑富雄・原口浩一・増田義人 1987 3-Methylsulphone-4, 5, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl による芳香族炭化水素水酸化酵素活性阻害作用, 福岡医誌, **78**: 199-203
- 西住昌裕 1987 ダイオキシン等の動物における毒性, トキシコロジーフォーラム, **10**: 575-582
- Safe, S. 1989 Polychlorinated biphenyls (PCBs): mutagenicity and carcinogenicity. *Mutation Res.*, **220**: 31-47
- 滝澤行雄 1987 ダイオキシン等の健康影響, トキシコロジーフォーラム, **10**: 583-590
- 米川博通 1985 化学発癌剤に対する感受性—系統差と遺伝, 実験医学, **3**: 547-552

Summary

Spermatogenic normal males of *Drosophila melanogaster* were fed with 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, 2, 3, 4, 7, 8-pentachloro-dibenzofuran or 1, 2, 3, 4, 7, 8-hexachloro-dibenzofurans and subsequently mated to the Muller-5 females to detect recessive, lethal mutations occurring in the X chromosome. Some mutants were obtained in particular in the brood A, in which the chemical affected probably at the maturation stage of spermatogenesis. However, the mutation rates in total were scarcely larger than the control. In the F₁ of the treated flies hatchability and pupation rates were again not different from the control. On the other hand, some of the treated males gave F₁ with developmental abnormality, in which neither eggs nor pupae appeared. Moreover, the treatment induced several malformed individuals which lacked half of the thorax or had a hollow eye.