

Quantitative Studies on the Toxicity of Poisonous Gases. I. On the Dosage-mortality Curve. Tatsuro KONO and Syunro URIDA (Entomological Laboratory, Kyoto University). Received Aug. 1, 1950. *Botyu-Kagaku* 15: 123, 1950 (with English résumé 132)

22. 毒性瓦斯の毒力にかんする数量的研究 第1報 薬量-死亡率曲線について*

河野達郎, 内田俊郎 (京都大学農学部昆虫学研究室) 25. 8. 1. 受理

I

いわゆる薬量-死亡率曲線 (Dosage-mortality curve) が一般に sigmoid curve として示されることは殺虫剤の場合、すでに Strand⁽¹⁾ 以来知られている事実である。こうした薬量と死亡率の函数関係はただに生物学的な興味にとどまらず、殺虫剤応用の實際的場面からしても重要であり、従来ややもすれば主観的な効力判定の方法にたよつていた生物検定 (Bio-assay) に客観的によりどころのある正しい方法を導き入れるためにもまずこれらの関係をあきらかにしておく必要があると思う。以来これにかんする研究がすくなくならず集積されたことはゆうまでもない。

さきに Kisskalt⁽²⁾ はシロネズミ (*Rattus norvegicus* var. *albinum*) の caffeine による中毒について研究しその結果えられた S 字形の曲線がこの種属の caffeine にたいする個体の感受性の分布から求められる異相度数分布曲線であると考えることによつてよく説明されたとした。この考えはその後 Clark⁽³⁾, Trevin⁽⁴⁾, Gaddum⁽⁵⁾, Hemmingsen⁽⁶⁾, Bliss⁽⁷⁾ などによつても支持されるとともにこれらの関係の統計的分析法に飛躍的な進歩の機会を与えた。すなわち Hemmingsen, Gaddum, Bliss はほとんど時を同じうしてこの曲線における死亡率を正規分布曲線の確率積分の値にしたがつて変換し薬量の対数に対してこの値**をプロットすることによつてこれを直線化しうることを報告した。ことに Bliss⁽⁸⁾(9)(10)(11)(12)によつて次々と提出されたこの種曲線の統計的分析法は小標本理論をも導入して精密をきわめたものであり、やや複雑のきらいはあるが一般によく適合するところから最近までもつぱら採用されてきた。この種の曲線関係を直線化することはその統計的取扱を単純化するとうる実用的意義をもつため、このほかにも種々の方法が案出されている⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾。しかしその多くは薬量と死亡率の本質的な関係を考えることなく単にその適合性のみを顧慮し理論的裏づけの乏しい経験的方法にとどまつているようである。その点 Bliss によつて発見させられた probit 変換による方法は一応すぐれたものといえよう。

しかし最近までこの方法によつて処理され公表された結果をみるとすべての場合によい適合がえられる

とは限らず、この方法の適用にもある限界のあることを暗示している。Bliss⁽¹⁾ もこの曲線の低薬量の部分において観測値が直線と一致せず上方に離れる傾向があると述べており、また Wadley and Sullivan⁽¹⁶⁾ も同様のことがみられることを指適しその傾向は多くの個体数を用いた綿密な実験ほど著しいと言つている。又内田及び春川⁽¹⁷⁾ 春川及び徳永⁽¹⁸⁾ 河野⁽¹⁹⁾ 齋藤⁽²⁰⁾ らは種々の燻蒸剤について得た結果が必ずしも薬量の対数函数に対してよい直線関係を示すとは限らず、ときには2乃至3本の直線によつて示される場合さえあつて多くはむしろ濃度そのままを用いた方がよく適合することを報告している。これらの事実はこの方法がすべての場合に適用されうるかどうかがわしいものであり尙検討の餘地あることを表明している。いわんや盲目的にこれを適用しその結果から中央致死薬量 (M.L.D.) や 95% 致死薬量などもとめて云々しようとする態度はかなり危険であるといわねばならない。

ここに著者らは薬量-死亡率曲線なるものの内容を再検討するいみから主としてこの曲線の form の上から分析的に考察してみたいと思う。薬量と死亡率の関係は薬剤の種類如何にかかわらずなりたつわけであるが、その関係がより simple であるとかんがえられる瓦斯剤の場合について考究することが賢明であると思われるのでここでは主として燻蒸剤について述べることにする。燻蒸剤の場合、薬量を示すに一定空間内の濃度を用いるのが普通である。したがつてこの場合には濃度-死亡率曲線と言つた方が便利であるから本論文中にはこの言葉をつかうことにする。

なお本研究は昭和24年4月より9月にわたつて文部省自然科学研究費の1部によつて行つたものである。ここに記して感謝の意を表したい。

II

Bliss によつて示された方法には2つの重要な根本的假定が含まれていることを忘れてはならない。すなわち

* 京都大学農学部昆虫学研究室室蹟 第193号。
** Hemmingsen はこの値を "Normal equivalent deviation" と名づけ、Bliss はこれに5を加えて負の場合をなくして統計的取扱を可能とし "Probit" と名づけた。

- (1) 個体群の毒物に対する感受性は正規分布する。
- (2) 薬量の増加にしたがつてその効果は対数的に増す。

薬量-死亡率曲線を一種の個体変異累積曲線として解釋することはまことに卓見であると思うがこの個体の感受性が正規分布するとうゆる客観的保証はいまのところ何もないといわざるをえない。また(2)の假定は從來致死現象その他の多くの生理過程において薬量とそれによつてひきおこされる作用量との間に簡単な直線關係をみいだすことはまれであつて、多くは対數關係がみられるとうゆること⁽²¹⁾及び實驗的にもとめられた薬量-死亡率曲線が一般に不相稱な sigmoid 曲線を示し、probit 變換にあつて薬量の函数にその對數値を用いた方がよく適合するとうゆる經驗的事実にもとづいてかく考えたのであつて、この曲線の不相稱(Asymmetry)を箱作用の様式に屬せしめたにすぎない。この方法を技術的にみれば probit 變換は曲線の sigmoid 特性を除くためにおこなうのであり、薬量の對數をとるのは曲線を相稱にするためにおこなうと考えることができる。しかし實際にこの變換法がよく用いられ、しかもそれがかなりよく適合するものであるとうゆる事実はこの2つの假定がそれ程まちがつたものでないだろうとうゆることを暗示していると思う。とくにこの曲線が感受性(乃至は抵抗性)の個体變異にもとづく累積的性質を持つたものであることはほとんどまちがいのないことであつて、この点を考慮しなにかぎり充分な説明は不可能と考へられ、したがつていまこの生理的な屬性が正規分布すると假定することも一応許されるべきであつてわれわれもこの立場をとることにする。しかし藥物の効果が種類のかんにかかわらず logarithmic に増すものであるかどうかはうたがわしい。質的な作用機構のことなる薬劑は量的にもなんらかのちがいが期待されるかもしれない。したがつてこの点については一概に對數的關係にのみ歸着させることは妥当と思へない。吟味してみる必要がある。薬量-死亡率曲線の場合、感受性の變異を normal であるとするならば、その吟味は probit 變換をおこなつてその直線性を檢定することによつてなしうるはずである。すなわち濃度の對數に対して直線關係を満足するならばこの關係は一応みとめてよいだろう。

いま著者らがコクゾウ(*Calandra oryzae* L.) 成虫にたいして二硫化炭素(CS₂)を用いて得た結果についてこれらの点を吟味してみよう。この實驗は7種のことなつた燻蒸時間について濃度-死亡率曲線をもとめるごとく計画したものであつて、實驗誤差の介入をできるだけ少くするため燻蒸中の条件、供試虫の飼育方法その他の条件もあたうるかぎり正確に一定に保つて注意深く実施したものである。すなわち燻蒸中は

もちろん供試虫の飼育、燻蒸後の保護などすべて30°の恒溫下におこない、コクゾウの飼育はシャーレ(直径12 cm, 深さ3.5 cm)を用い、餌の量(玄米100瓦)、その含水量、親の密度(100対)、産卵させる期間(14日)などを一定にして行い、實驗には羽化脱出24時間以内のものを用いた。燻蒸は約1000 cc 容の共栓マイエルプラスコをもちい供試虫は50頭ずつ表面にこまかい穴をあけたガラス管(口径1.5 cm, 長さ4 cm)に封じこんでプラスコに收容し、CS₂の所要量をマイクロピペットで吸い、とつたものをこの中に注入し栓をしてそのまわりを糊づけした。燻蒸をおわつて取りだしたものは玄米を与えて保護し24時間、48時間、72時間後にそれぞれ生死を判別記録した。この場合、實驗に供する個体数は特に多いことがのぞましい。又曲線を形づくるにあずかる観測点すなわち濃度区分はこまかく多い方がよい。そのため同一濃度についても反復實驗をおこない、1本の曲線をうるに多い場合は2000に近い個体を用いた。コクゾウ成虫はきわめて饑餓に強い。したがつて對照区とした無處理の個体は全く死亡するものなく、死亡率を補正する必要がなかつたことはさいわいであつた。

table 1 は燻蒸取出後24時間の観測結果である。図示するまでもなくいずれの燻蒸時間の場合も濃度と

Table 1. Concentration-mortality data for *Calandra oryzae* exposed to carbon disulfide for different times at 30°C.

Exposure Times in Hours	Concentration in mg/L	No. of Insect used	Mortality in %
3	35	100	0.0
	40	100	2.0
	45	100	13.0
	50	100	34.0
	55	100	47.0
	60	100	73.0
	65	100	94.0
	70	100	88.0
	75	100	100.0
	80	100	100.0
5	25	150	0.0
	30	200	1.5
	35	200	23.5
	40	200	45.0
	45	200	85.5
	50	200	95.0
	55	200	98.0
	60	200	100.0
8	18	200	0.5
	21	150	1.3
	24	150	3.3
	27	150	27.3
	30	150	55.2
	33	150	91.3
	36	150	93.0
	39	150	98.6
	42	150	100.0

12	16	50	0.0	
	18	50	2.0	
	20	50	8.0	
	22	50	18.0	
	24	50	42.0	
	26	50	48.0	
	28	50	70.0	
	30	50	98.0	
	32	50	98.0	
	34	50	100.0	
16	14	100	0.0	
	16	100	3.0	
	18	100	7.0	
	20	100	14.0	
	22	100	30.0	
	24	100	56.0	
	26	100	81.0	
	28	150	89.3	
	30	200	99.5	
	32	200	99.5	
	34	100	100.0	
	24	11	50	0.0
		12	100	1.0
		13	100	1.0
14		100	3.0	
15		100	11.0	
16		100	17.0	
17		100	16.0	
18		100	26.0	
19		100	33.0	
20		100	41.0	
21		100	66.0	
22		100	68.0	
23		100	74.0	
24		100	90.0	
48	6	100	0.0	
	7	100	1.0	
	8	150	3.3	
	9	150	6.6	
	10	150	10.0	
	11	150	32.6	
	12	150	55.3	
	13	150	61.2	
	14	150	88.0	
	15	150	95.3	
16	150	98.6		
17	150	100.0		

つて回帰直線をもとめ統計的にその直線性の検定をおこなつた結果はかならずしもすべての曲線が合格圏内にあることを示さなかつた。table 2 の A 表は濃度

Table 2. Fitness test of linearity of concentration-mortality curves for each exposure time, from the data of table 1.

A. Untransformed in logarithms

Exposure Times in Hour	Regression Equation * $Y=5+b(X-m)$	Degrees of Freedom	χ^2	P
3	$Y=5+0.113(X-55.12)$	5	37.86	<0.01
5	$Y=5+0.183(X-40.01)$	4	10.33	0.036
8	$Y=5+0.269(X-29.39)$	6	14.88	0.021
12	$Y=5+0.280(X-25.36)$	6	10.20	0.117
16	$Y=5+0.298(X-23.30)$	7	6.26	0.511
24	$Y=5+0.207(X-20.00)$	14	22.05	0.078
48	$Y=5+0.523(X-11.96)$	8	14.59	0.068

* Y=Mortality in probits,
X=Concentration in mg/L,
m=Median lethal concentration in mg/L.

B. Transformed in logarithms

Exposure Times in Hour	Regression Equation ** $Y=5+b(X-m)$	Degrees of Freedom	χ^2	P
3	$Y=5+14.767(X-1.73476)$	5	20.25	<0.01
5	$Y=5+16.181(X-1.59855)$	4	13.25	0.011
8	$Y=5+18.025(X-1.46415)$	6	11.98	0.064
12	$Y=5+15.787(X-1.39780)$	6	10.96	0.110
16	$Y=5+16.410(X-1.36370)$	7	18.62	0.010
24	$Y=5+13.061(X-1.29512)$	14	58.39	<0.01
48	$Y=5+15.221(X-1.07431)$	8	23.28	<0.01

** Y=Mortality in probits,
X=Concentration in logarithms,
m=Median lethal concentration in logarithms.

の対数変換をおこなわないときの結果で B 表は対数変換をおこなつた場合の結果であるが、これを見ると χ^2 に対する P の値の示すとおり A (濃度の変換をおこなわない場合) では燻蒸時間の長い場合に限つて有意の直線性を示し 8 時間以下の短時間処理の場合にはそれが有意とは認めがたいことを示している。しかるに対数変換の場合の結果(B)は 8 及び 12 時間のときを除いてはすべて有意の直線性が見られないことを示した。さらに Fig. 2 を注意深く見てもわかるとおり 16, 24, 48 時間などの長時間処理の場合にはあきらかに曲線の下方の観測値が回帰線よりはなれて上方に彎曲していることがみられる。このことは濃度の対数変換をおこなつた場合、低濃度の部分でよく一致した

死亡率の関係は sigmoid curve をあらわしている。この結果から死亡率を probit に変換し濃度そのものについてこれをプロットした結果は Fig. 1 であつて、濃度の対数についてこれをプロットした結果は Fig. 2 に示すとおりである。これらを見ると燻蒸時間が短くなるとともに曲線の位置は次第に濃度の高い方へ移行しており、Fig. 1 ではそれとともに回帰直線の傾斜がゆるやかになつている。しかしひとたび濃度の対数変換を行つと Fig. 2 の示す通りほとんど平行した直線を示すことはやや興味あることである。ところでこの両者をみたときいずれの場合もかなりよい直線関係がみとめられるようである。しかし Bliss の計算法によ

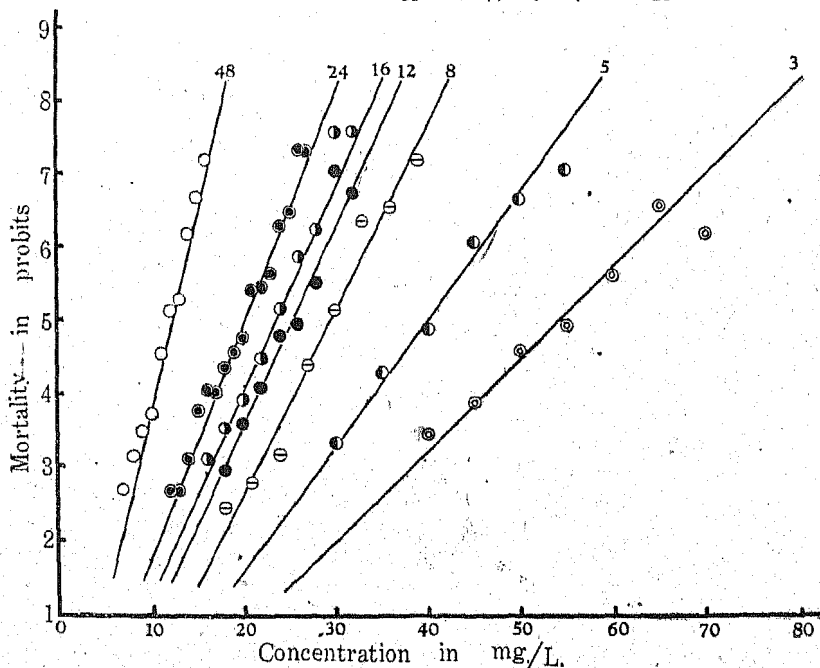


Fig. 1. Concentration-mortality curves measuring the toxicity of carbon disulfide to the rice weevil in terms of mortality in probits and concentration in mg/L. Each differs in exposure time. (3, 5, 8, 12, 16, 24, and 48 hours).

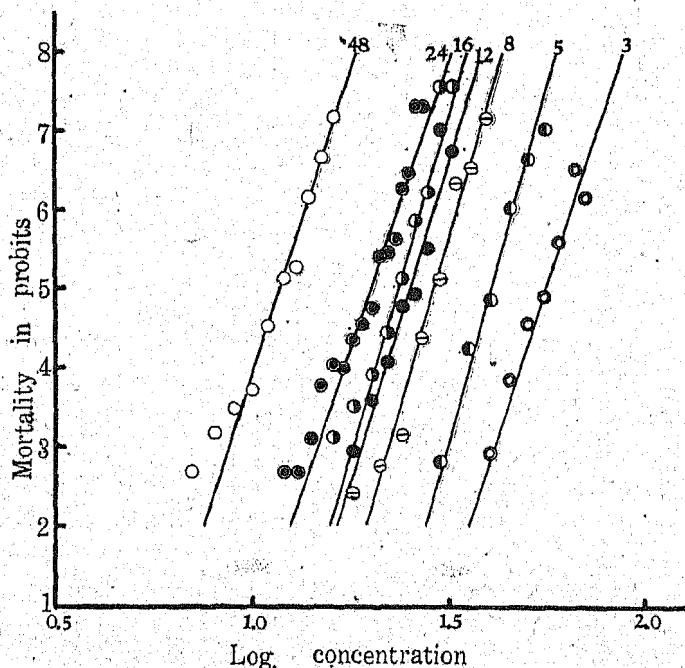


Fig. 2. Concentration-mortality curves measuring the toxicity of carbon disulfide to the rice weevil in terms of mortality in probits and log-concentration at seven different exposure times (3, 5, 8, 12, 16, 24, and 48 hours).

いことがあるという Bliss⁽⁶⁾, Wadley⁽¹⁶⁾, Busvine⁽²⁰⁾ などの観察と同じものである。また濃度そのものに対してよい直線性を示すとする内田及び春川⁽¹⁷⁾らの結果は CS₂ の場合では燻蒸時間の長い場合にのみ一致した結果が認められる。いまもし両者について χ^2 の値* を直接比較することが許されるものとすれば両者の関係はさらに明かにすることが出来るだろう。すなわち同一時間について濃度の交換を行うのを行わない場合とくらべると長時間の場合には明かに交換をしない場合に於て χ^2 の値が

大きく短時間の場合にのみ反対となつている。このことは対数交換は長時間の場合にはよい直線関係を示さず短時間においてややそれが直線性を保つ傾向があり、交換をおこなわない場合はその逆であることが暗示される。もちろんこれは CS₂ の場合であるが、他の同様な燻蒸剤についてもこれに似た関係がみられるのではなからうか。何となれば対数交換の有利を主張する Bliss その他の人々が多くの場合短時間(例えば5時間内外)の実験に終始しておるに反して交換を不利と

* χ^2 -test の結果をもつて直ちに直線性を判断することは厳密に言つて正しくはない。すなわち χ^2 の値は実験個体群の均一度及び実験誤差によつても大きく左右されるからである。しかしこの場合のように同じ一つの資料についてもとめた χ^2 の値を比較するかぎりではその値の大小はかかる判断の資料となりうると思へられる。

する結果がえられた実験が一般に24, 48時間などの比較的長い蒸気時間の場合が多いという事実とよく符合するからである。そこでもしこの結果がほぼ正しく示されているとするならば、CS₂の如きものでは薬量の函数として濃度の対数を選んで、濃度そのものをとつても、すべての処理期間の場合の直線性を満足させることはできないとゆうほかはない。そうしてその効果が logarithmic であると考えられることはこの場合許されないのである。とにかく処理時間によって濃度-死亡率曲線の相稱の程度が同じでないことは注意しなければならない点であろう。

III

多くの場合、殺虫剤が毒作用を呈するにはまず昆虫体の外部と接触する表面にそれが吸着されることを必要とする。このことはその毒作用が量的にも吸着現象 (Adsorption)* によつて左右されているであろうことを暗示するものである。とくに瓦斯剤の場合、密閉空間中の薬量すなわち作用にあづかつた量ではない。むしろ吸着された量により近いものであろうことは想像にたたくない。従来多くの毒作用曲線が吸着によつて説明されていることは周知の通りであるが、濃度-死亡率曲線を解釈するにあつてもこの概念をとり入れることは必要であると考えられる**。かくすることによつて従来殆んど遊離していた作用曲線との間の関係を正しく見いだすことができるかもしれない。

Carpenter and Moore⁽²³⁾ は昆虫の種類によつて青酸ガスにたいする抵抗力がいちじるしく異なる理由をそれら昆虫のガス吸収能の相違にもとめ、これを実際に測定した結果抵抗力の強い種類ほど単位体重あたりの HCN 吸収量が少く、抵抗力の弱いものにおいてそれが多いことをみだしその感受性が吸着量によつて裏づけられることを暗示した。そうして HCN 吸収量 (q...mg/g.) と瓦斯の圧力 (P...Hg, mm) との間に次の関係があることをみいだした。

$$q = kP^n$$

これはいわゆる Freundlich の恒温吸着式 (Adsorption Isotherm)*** として知られているものと全く同じである。もつともこの測定実験は1時間以内の短い時間についてのみなされたものであるが、それより長い時間の場合にもおそらくこの関係が期待されると思う。そこでいま吸着量のある函数とその効果の量の間

に一定の平行的な関係があるものと仮定するにならば、吸着量は濃度の指数函数であるから死亡率の分布は濃度の指数函数にたいして normal を示すであろうと考えることができる。この考えにもとづいて次のような回帰式を想定してみる。すなわち、死亡率を probit に変換して個体変異にもとづく sigmoid 特性を除いた曲線は次の如き式によつて示される帰跡を持つ。

$$Y = aX^n \dots \dots \dots (1)$$

(Y...死亡率 probit, X...濃度, a, n...常数) 式の形はさきに述べた吸着式と全く同じであつて、これは log-Y と log-X の間に直線関係のあることを示すものである。いまこの想定が果して妥当であるかどうか、table I の結果にこの関係をあてはめて検討してみよう。log Y と log X の関係を図示したのが Fig. 3 であるが、これによるといづれの処理時間の場合にも極めてよい直線関係がみとめられる。

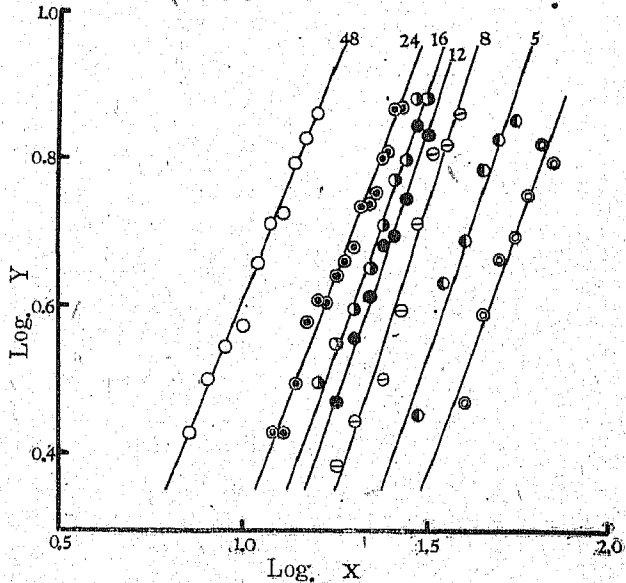


Fig. 3 Application of regression equation $Y = aX^n$ for relation between concentration (X) and mortality in probits (Y) at different exposure times (3, 5, 8, 12, 16, 24, and 48 hours).

* 厳密にゆうならば吸収 (Absorption) をも含めて吸着 (Sorption) とすべきであろう。
 ** Clark⁽²¹⁾ は濃度-死亡率曲線が一種の吸着曲線類似のものであろうと言つている。
 *** この式は一般に吸着平衡式としてみとめられたものであるが、限られた比較的短い時間においてもこの関係が成立することが知られている。また瓦斯圧 P の函数に濃度をえらんでも同様の結果がえられるとゆう。

Table 3. Statistical test for agreement of data in table 1 with equation (1) by the analysis of covariance (level of significance, 0.05)

Exposure Times in Hours	Variation Due to	Sum of Squares	Degrees of Freedom	Mean Square	Equation *
3	Regression term	0.0342941	1	0.0342941	$Y = 0.02128 X^{1.35780}$
	Residual	0.0047119	5	0.0009420	
	Total	0.0390060	6	$F_0 = 89.48 > F = 16.26$	
5	Regression term	0.1048924	1	0.1048924	$Y = 0.02031 X^{1.47327}$
	Residual	0.0053195	4	0.0013298	
	Total	0.1102119	5	$F_0 = 78.87 > F = 21.20$	
8	Regression term	0.2274180	1	0.2274180	$Y = 0.02633 X^{1.54300}$
	Residual	0.0058387	6	0.0009730	
	Total	0.2332567	7	$F_0 = 233.73 > F = 13.74$	
12	Regression term	0.1167801	1	0.1167801	$Y = 0.04248 X^{1.47498}$
	Residual	0.0025727	6	0.0004288	
	Total	0.1193528	7	$F_0 = 272.34 > F = 13.74$	
16	Regression term	0.1560351	1	0.1560351	$Y = 0.06849 X^{1.36279}$
	Residual	0.0336136	7	0.0048019	
	Total	0.1896487	8	$F_0 = 32.49 > F = 12.25$	
24	Regression term	0.2891888	1	0.2891888	$Y = 0.11546 X^{1.25637}$
	Residual	0.0055647	14	0.0003974	
	Total	0.2947535	15	$F_0 = 727.70 > F = 8.86$	
48	Regression term	0.1887362	1	0.1887362	$Y = 0.24818 X^{1.20953}$
	Residual	0.0021548	8	0.0002693	
	Total	0.1908910	9	$F_0 = 700.83 > F = 11.26$	

* X=Concentration in mg/L, Y=Mortality in probits.

図上からだけでなく統計的な吟味をしてみる必要がある。table 3 はここに $Y = aX^n$ なる式を想定してよいかどうか、言いかえれば X と Y の関係は本質的にこの式を満足させるものかどうかを相関分析法を用いて検定した結果を示したものである。この結果をみると、計算によつて求めた標本回帰式からの計算値と実測値との喰いちがいをあらわす残差 (Residual) は回帰項 (Regression term) にくらべていずれの場合も極めて小さく、さらに分散比 (F_0) を求めて詳細に吟味した結果はいずれの処理時間の場合にもこの関係が有意にあてはまることを示している。このことは CS_2 の場合にはこの想定がほぼまちがっていないことを示すものであつて、さきに指適したように感受性の変異が正規分布するとゆう仮定が正しいならば、 CS_2 の毒作用は量的には吸着現象に依存するものであろうと推定することができる。そうしてその効果は吸着量

と直線的関係を持つにすぎないことになる。Bliss は濃度 (実験に用いた薬量) の増加にしたがつてその効果は対数的に増加すると仮定したが、この場合、用いた濃度について強いて言うならば CS_2 の効果は濃度とともに指数曲線的に変化するとゆうほかはない。

上記の式を適用して濃度-死亡率曲線を直線化することは技術的には濃度と死亡率 probit をともに対数に変換するのであるが、単に直線化のための適合性のみを考へて経験的にこれと類似の変換を試みた研究者はないでもない。O'Kane et al (24) は数種の接触殺虫剤の場合に得られた結果についてこの 2 変数の対数変換をおこなつたが一般により直線関係がえられると報告している。もつともこの場合には probit のかわりに mortality conversion value なるものを用いている点や異つたものである。又 Wadley and Sullivan (10) は pyrethrin の乳剤をイネバエ (*Musca*

domestica) の成虫に spray して得た結果に同様の交換を試みており濃度のみ対数変換した場合より probit をも対数にとつた場合がよりよい直線性がみられたとゆう。これらの例はいずれも接触剤の場合であつて瓦斯剤のそれと同一視することは許されないかもしれないが、CS₂に限らず他の殺虫剤の場合にもかかる關係があてはまることは興味がある。

IV

ところでさきに提出した(1)の回帰式をそのまま適用した場合、1つの問題が残される。それは0%死亡率が期待される最大濃度すなわち threshold concentration (濃度閾値) が眞に存在するものであるかどうかとゆうことである。この式を適用した場合、もし供試個体数が十分に大きいならば0%死亡率を濃度 zero の原点にもとめねばならないことになり厳密にいつて threshold concentration なる概念を抹殺することになる。このことは單に濃度の対数変換をおこなう Bliss の方法においても同様である。しかしある研究者⁽⁵⁵⁾はこの点についてきわめて懐疑的であり、Wadley and Sullivan⁽⁴⁶⁾は実験結果を統計的に吟味した結果から threshold concentration はあきらかに濃度 zero 以外に存在すると言つてゐる。この点について著者らの得た結果を濃度の対数変換を行わない Fig. 1 によつてみることは興味がある。この graph は2変数の軸がともに省略されているためやや明瞭ではないが、死亡率0%の点を濃度 zero の点のみに求める

ことはかなり困難のように思われ、それぞれの回帰線がそれ以上の濃度の点で交つてゐるように見える。そして興味あることはそれぞれの回帰直線が Y 軸上のある1点から放射状に出ているもの如くみえることである。このことは予備回帰線を求めたときにも既に予想された点である。いまもしこの予想がほぼ當つてゐるとするならば濃度-死亡率曲線における threshold concentration を濃度 zero 以外の点にあきらかに存在することを認めることになる。そしてこれらの回帰線は Y 軸上の共通の一点をその延長線上に持つとすれば Fig. 4 に模式図として示した様な關係を予想することができる。すなわちすべての回帰線は Y 軸上の一点 A を原点とした吸着曲線類似の指数曲線の1部であつて Y 軸上のある点 y₀ を X 軸との交点とし y₁ までの實際で示した部分だけが實際にみられるにすぎないと考えるのである。この場合 X 軸は濃度であるが Y 軸はそれぞれの濃度にたいするある反応量と考えられ、それが y₀ のとき死亡率0%が、y₁ のとき100%が期待されると考えるのである。CS₂の場合、さきに指適した如く反応量は吸着量と平行的な函数關係があると考えるならばこの Y 軸を吸着量におきかえてもよい。ところで y₀ から y₁ までにあらわれるとする回帰線 (Fig. 1 の如き) がこの仮想曲線の如何なる位置を占めるものでありまたどれだけの範囲に相当するとすべきかは俄かには決めがたい。しかしこの想定の上に實際に得た実験の結果を加味し

て考えるならばそれはかなり曲線の下方の部分であつてその範囲も極めて狭いと考えることが出来よう。何故なれば table 2 に示した回帰線の直線性檢定の結果は処理時間の短い場合を除いてその回帰は近似的に直線性を満足させてゐるからである。著者らはこの想定にもついでさきに適用した(1)式に修正を加えて次の回帰方程式を想定した。

$$Y = aX^n - b \dots \dots \dots (2)$$

(X...濃度, Y...死亡率 probit,
a, b, n...恒数)

この式における附加項 b なる恒数は仮想曲線の原点 A を y₀ まで移動したことによつて加えられたものであるが上に述べた想定からすればそれぞれの場合の threshold concentration における反応量を示すものであり、そのときの吸着量のある函数と考えられる。したがつて b の大きさは本質的な毒性の強さに関係すると考えることができる。ところでこの式は

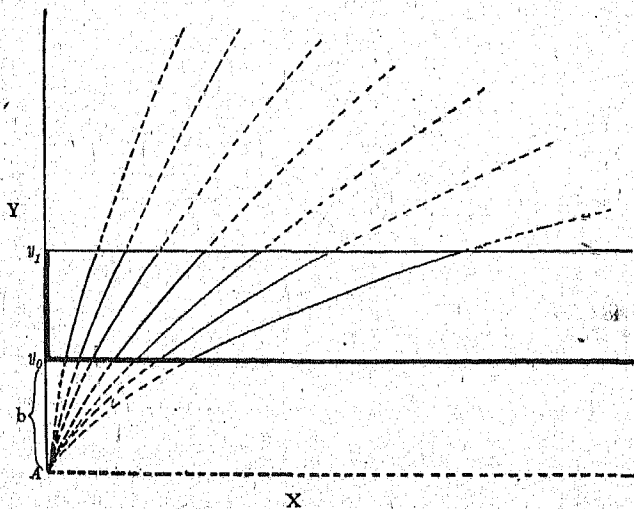


Fig. 4. Hypothetical curves illustrating the relation between concentration (X) and quantity of sorption (Y) which is directly proportional to quantity of action, at different exposure hours; showing that 0% of mortality is expected at y₀ and 100% at y₁.

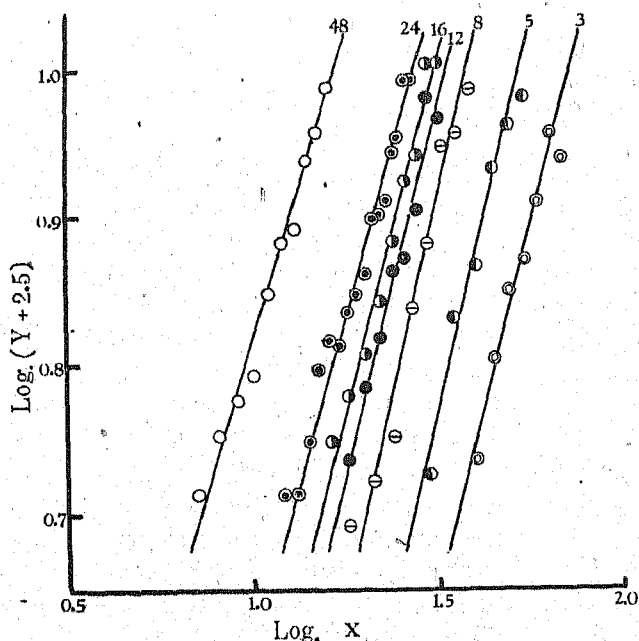


Fig. 5. Application of regression equation $Y = aX^n - b$ for relation between concentration (X) and mortality in probit (Y) at different exposure times (3, 5, 8, 12, 16, 24 and 48 hours), from the data of table 1. Constant b is 2.5 from the calculation.

log (Y+b) と log X の間に直線関係があることを示すものである。果してこの想定が許されるものかどうか、さきの実験結果に適用してみよう。まず恒数bを求めねばならないがここでは Fig. 1 の結果から图解的に Y 軸上にその点をもとめた。すべての回帰線から近似的に $b=2.5$ を得た。これを用いて対数変換した結果は Fig. 5 に示すとおりであるが、いづれの処理時間の場合にもほぼよく適合することを示している。さらにこの式の想定可否について統計的に詳細な吟味を行つた結果は table 4 のようであつてこの結果は上記の (2) 式を想定することが間違つてゐるとは言えないことを立証している。

ところでさきに (1) 式を適用した場合それがかなりよくあてはまるとゆう結果をえたが、はたしてこの (2) 式といずれが妥当な関係を示すものであろうか。両者の場合についてそれぞれ試みた F-test の結果だけによれば何とも言い得ない。両者の関係は要するに threshold concentration を認めるか否かが異なるにすぎない。そうして

Table 4. Statistical test for agreement of data in table 1 with equation (2) by the analysis of covariance (level of significance, 0.05).

Exposure Hours	Variation Due to	Sum of Squares	Degrees of Freedom	Mean Square	Equation *
3	Regression term	0.0346470	1	0.0346470	$Y = 0.22803 X^{0.87052} - 2.5$
	Residual	0.0016287	5	0.0003257	
	Total	0.0362757	6	$F_0 = 106.37$	
					$F = 16.26$
5	Regression term	0.0438941	1	0.0438941	$Y = 0.21873 X^{0.98306} - 2.5$
	Residual	0.0014520	4	0.0003630	
	Total	0.0453461	5	$F_0 = 120.92$	
					$F = 21.20$
8	Regression term	0.0886175	1	0.0886175	$Y = 0.28769 X^{0.96320} - 2.5$
	Residual	0.0026484	6	0.0004414	
	Total	0.0912659	7	$F_0 = 200.76$	
					$F = 13.74$
12	Regression term	0.0485918	1	0.0485918	$Y = 0.34393 X^{0.95600} - 2.5$
	Residual	0.0031732	6	0.0005288	
	Total	0.0517650	7	$F_0 = 91.89$	
					$F = 13.74$
16	Regression term	0.0682273	1	0.0682273	$Y = 0.44405 X^{0.90115} - 2.5$
	Residual	0.0014002	7	0.0002000	
	Total	0.0696275	8	$F_0 = 341.13$	
					$F = 12.25$
24	Regression term	0.1175589	1	0.1175589	$Y = 1.45930 X^{0.80100} - 2.5$
	Residual	0.0025258	14	0.0001804	
	Total	0.1200847	15	$F_0 = 651.65$	
					$F = 8.86$
48	Regression term	0.0766341	1	0.0766341	$Y = 3.04320 X^{0.77073} - 2.5$
	Residual	0.0014245	8	0.0001781	
	Total	0.0780586	9	$F_0 = 430.28$	
					$F = 11.26$

* X=Concentration in mg/L. Y=Mortality in probits.

濃度と死亡率の關係を吸着現象を介して説明せんとする点は全く同じである。そこでそれぞれの場合について推定された回帰線の式を table 3 及び table 4 にかかげておいたがこれらの式を比較してみることは意義がある。すなわち (2) 式を適用した table 4 では恒数 n の値がすべて 1 以下の値を示しているに反して (1) 式を適用した table 3 の場合にはすべて 1 以上となっている。このことは (1) 式を適用することは濃度の増加とともに死亡率の増加割合が大きくなる、いわゆる指数が 1 以上の指数曲線をあてはめることになる。これはあきらかに実験の結果とも矛盾するし、さきの想定を否定することになる。すなわち吸着現象によつて理論づけようとする立場を失うことになる。こうした理由から著者らは (2) 式を想定することがむしろ妥当であつてしたがつて threshold concentration の概念を肯定するものである。しかし (1) 式が近似的にでもかなりよくあてはまることは実用的な意義を持つものとするのであつて、とくに (2) 式が 3 個の恒数を含むことは統計的取扱をわずらわしいものにするというそりをまぬがれぬ点、実用的にいつて決定的な缺陷となりうるし、また恒数 b を正確にもとめることはかなり困難であると考えられるから、適合するならば (1) によるもまた目的によつては許されるかもしれない。

さてこの (2) 式とほとんど同じ型の式がさきに O'Kane et al.⁽²⁴⁾, Bliss⁽⁶⁾ などによつて適用されたことがある。すなわち $Y = a + bX^c$ であるが、これについてはなんらの理論づけも見当らない、ただ単に適合性とゆう点から見てこうした指数曲線が比較的よくあてはまることを指適したにすぎない。型の上からみて恒数 a は (2) 式の b に相当するものであるが、彼等はこの恒数に値を与えるに全く任意の数をもつてしており、O'Kane et al. は適合性をしらべた結果 $a = 1.281$ を適当であるとした。彼等はこの恒数にたいして正の値のみを与えて試みているようであるが、そうすると濃度と死亡率の回帰線が濃度軸と負の側で交ることになり零濃度に於て 0% 以上の死亡率を期待するという矛盾がある。また a に正の数をえらぶことによつて指数 c はさらに大きいものとなる。Bliss は Strand⁽¹⁾ が *Tribolium* に CS_2 を用いてえた結果についてこの式を適用してほぼよく適合すると言つて恒数 c はいずれも 1 よりかなり大きい値を示している。

$$a = 1.281 \text{ の場合} \cdots Y = 1.281 + 0.000101 X^{2.57}$$

$$a = 2.705 \text{ の場合} \cdots Y = 2.705 + 0.000000361 X^{3.89}$$

これらのことから考えると式は同型でもその適用の仕方がやや異つており、とくに想定根拠が同じでないとうべきであらう。もちろん (2) 式で示した關係が

他の薬剤についても成立するかどうかは疑問であつて、今後の研究にまつほかはない。

以上、著者らはコクゾウ成虫に CS_2 を作用させて得た結果について濃度-死亡率曲線をその形の上から吟味し従来からおこなわれていた 2, 3 の方法に批判を加えるとともに、簡単な吸着理論に立脚してこの曲線を考察した結果、(2) の如き關係がこの場合適用しうることを示した。しかしこれははじめに述べたようにあくまで個体群の毒に対する感受性の分布が normal であるとう根本的な仮定のもとにおいてかかる結果が導きだされたものであることを忘れてはならない。したがつて感受性分布についての客観的な保証を必要とするが、ここに考えるべきことは感受性或は抵抗性とゆわれるものが生物の生理的な屬性として認めて妥当であるかどうか、そのためにはその内容がいかなるものであるかとうことである。おそらくこの感受性なるものは種々の生理的屬性乃至は形體的性質を綜合した如きものと考えられるが、個体によつて必ずしも同質のもののみからなつてゐるとは限らないかも知れない。これらの關係を明かにし個体変異の概念を確立することによつて主題の曲線の本態は必然的に解明されるであらう。

V

以上、著者らはコクゾウ成虫にたいして CS_2 をもちいて得た濃度死亡率曲線について、これを主として曲線の form のうえから分析的に吟味するとともに従来この種曲線の統計的分析法の批判にも及んだ。すなわちここでは薬量-死亡率曲線なるものがその生物の有害刺激にたいする感受性の個体変異にもとづく累積的特性をもつものであつて、しかもその感受性変異が正規分布を示すものであるとゆう仮定に立つて、probit-回帰線の直線性をしらべることによりかかる分布曲線の横軸にとるべき薬量の函數に検討を加えてみた。その結果を要約すると

(1) 横軸に濃度そのままをとつても、濃度の対数をとつてもすべての作用時間に対する曲線の正規性は保証されない。すなわち濃度そのものに対する probit 回帰線はより長い熏蒸時間 (12~48 時間) の場合にのみ有意の直線性がみとめられるが、それより短い作用時間にたいする回帰線は直線と認められなくなる。これに反して Bliss の方法にしたがつて濃度の対数函數をとつたものでは短時間の場合にそれが近似的な直線性を保つが時間の長くなるにつれて適合度は悪くなり、僅かではあるが曲線の低濃度の部分に於て観測値が上方に離れる傾向が認められた。

(2) CS_2 の毒作用が量的には吸着現象に依存すると考え、分布曲線における薬量の函數として濃度の指数函數をとることを試み、probit 回帰線にたいして

$Y = aX^n$ (但し $Y =$ 死亡率 probit, $X =$ 濃度, $a, n =$ 恒数) なる式を想定し吟味した結果は作用時間の如何にかかわらず一般によく適合することがみられた。

(3) 本実験の結果から Fig. 4 の如き関係が暗示された。threshold concentration の存在が認められること及びこの場合恒数 n が 1 以下になることがのぞましいこと等を満足させるため上の式を修正した $Y = aX^n - b$ なる恒隔式を想定し観測値について適合性を檢した結果は再びよい一致が認められた。

(4) CS_2 にたいするコクゾウ成虫の感受性は用いた濃度の指数函数にたいして正規分布すると考えられる。

文 献

1. Strand, A. L.: *Industr. Eng. Chem.*, **2**, 4 (1930)
2. Kisskalt, K.: *Z. Hyg. Inf.*, **81**, 56 (1916)
3. Clark, A. J.: *J. Physiol.*, **61**, 530 (1926)
4. Trevan, J. W.: *Proc. Roy. Soc. Lond.*, **101**, 433 (1927)
5. Gaddum, J. H.: *Med. Res. Coun. Spec. Rept.*, no. **183** (1933)
6. Hemmingsen, A. M.: *Quart. J. Pharm. Pharmac.*, **6**, 39, 187 (1933)
7. Bliss, C. I.: *Science*, **79**, 38, 409 (1934)
8. ———: *Ann. Appl. Biol.*, **22**, 134 (1935)
9. ———: *J. Econ. Ent.*, **28**, 646 (1935)
10. ———: *Ann. Appl. Biol.*, **22**, 307 (1935)
11. ———: *Ann. Appl. Biol.*, **24**, 815 (1937)
12. ———: *Quart. J. Pharm. Pharmac.*, **11**, 192 (1938)
13. Shepard, H. H.: *Nature*, **134**, 323 (1934)
14. Sun, Y. P.: *Univ. Minn. Agr. Exp. Sta. Tech. Bul.*, **177** (1947)
15. Knudsen, L. F. & J. M. Curtis: *J. Amer. Statist. Assoc.*, **42**, 282 (1948)
16. Wadley, F. M. & W. N. Sullivan: *J. Econ. Ent.*, **36**, 367 (1943)
17. 内田, 春川: *防虫科学*, **7, 8 & 9**, 16 (1947)
18. 春川, 徳永: *松虫*, **3**, 1, 33 (1948)
19. 河野: *防虫科学*, **12**, 19 (1949)
20. 齊藤: *防虫科学*, **15**, 54 (1950)
21. Clark, A. J.: *The Mode of Action of Drugs on Cells*, London (1933)
22. Busvine, J. R.: *Ann. Appl. Biol.*, **25**, 605 (1938)
23. Carpenter, E. L. & W. Moore: *J. Econ. Ent.*, **31**, 270 (1938)
24. O'Kane, W. C., W. A. Westgate & L. C. Glover:

N. H. Agr. Exp. Sta. Tech. Bul., **58**, 1 (1934)

25. Shepard, H. H.: *The Chemistry and Toxicology of Insecticides* (1939)

Résumé

Usually, the dosage-mortality relation is represented by a sigmoid curve, which is interpreted as the cumulative character of the individual variation in susceptibility to chemicals. O'Kane & others,⁽²⁴⁾ Gaddum⁽⁵⁾ and Hemmingsen⁽⁶⁾ have called attention to the possibilities of the probability transformation of this curve and Bliss⁽⁷⁻¹²⁾ has developed this method. Bliss has found out the fact that in many cases the form of this curve is asymmetrical and he sought an explanation of this fact to the asymmetry in the mode of toxic action or the logarithmic nature of the mode of action. Accordingly, the curve becomes symmetrical by the transformation of concentrations to logarithms and it turns into linear form by the transformation of mortality in percentages to probability units, or "probit". In several sets of the published data, however, the log-probit transformation of the dosage-mortality curve has not been always valid, namely the predicted regression line is often interpreted as two or three separate straight lines breaking at different parts of the curve. Utida & Harukawa,⁽¹⁷⁾ Harukawa & Tokunaga,⁽¹⁸⁾ Kono,⁽¹⁹⁾ and Saito⁽²⁰⁾ have reported in the experiment of the fumigants that the dosage-mortality curve can be interpreted as a single straight line by using the dosage itself, rather than using the logarithmic transformation of it. It is a failure certainly in the method of logarithmic transformation as a mathematical device, for there is some of the departure of points from the straight line the range of the lower dosages.

Experiments were planned by the present authors to verify the questions above discussed, with special reference to the form of the dosage-mortality curve. Using the adult of the rice weevil, *Calandra oryzae* L., the fumigation was made with the carbon disulfide at different times of exposure (3, 5, 8, 12, 16, 24, and 48 hours) under constant condition of 30°C. Data of the experiment in concentration-mortality relation for each exposure hour is shown in table I. At a glance of graphs in Fig. 1 & 2, all of the regression line

seem to be shown approximately a linear relation in either case, when concentrations are plotted directly in an arithmetic scale or are plotted in logarithmic scale. By the test of linearity of the regression curve by using χ^2 test, however, it is recognized that all of the curves in log-concentrations are not significantly the linear relation, with two exceptions; viz, the curves for 8 and 12 hours (table 2B). And, there is a slight tendency to curve upward at the range of the lower dosages, especially in the curves for the concentration in original units, the regression lines for longer fumigation are linear significantly, but those for shorter time of fumigation (3, 5, and 8 hours) are not so (table 2 A). Therefore, neither logarithmic or arithmetic function of concentrations satisfies the linearity of the regression curve for all cases. Evidently, there is a contradiction that changes the normality in curve by the time of exposure.

The theory that the toxic action is closely connected with the "adsorption" leads authors to apply the formula of adsorption to the present case. An exponential function, $Y = aX^n$, has been frequently used as representing the adsorption. The regression equation $Y = aX^n$ is tried, where Y is the mortality in probits, X is the concentration, a and n are constants. Accordingly, the relation between $\log Y$ and $\log X$ should be expected to follow a straight line, when the theory is reasonable (Fig. 3). In each case of exposure times, it is shown by the analysis of covariance that the observed values are fitted significantly to the

theoretical one. It is usually claimed by some investigators that a definite point of the "threshold concentration" which apart from the zero point exists. However, this observed fact can not be represented by this equation. From the graphical analysis of the result represented in Fig. 1, we can suppose a theoretical relation as shown in Fig. 4. Namely, these curves are the exponential curves that seems to be like the so-called "adsorption isotherm" and these start from a common point A on Y-axis. Thus, all of the regression line transformed in probit are only a part of those curves as shown by solid line in Fig. 4. From this hypothetical consideration, the following equation is applicable to the obtained data.

$$Y = a X^n - b.$$

A value of constant b is obtained 2.5, approximately. The straight lines by which are expected the rectilinear relation between $\log(Y+2.5)$ and $\log X$, are plotted for each of the different exposure time (Fig. 5). In all of the cases, the agreement between the observations and the computed regression curves is significant by using the statistical test, as shown in table 4.

Several considerations based upon the above mathematical analysis lead authors to the following conclusions: (1) the mortality distributions normally for an exponential function of concentration which seems to correspond to the quantity of adsorption of chemicals, (2) there is apparently a threshold concentration which differs from zero point.

防虫科学 15-II 正誤表

頁	個所	誤	正	頁	個所	誤	正
73	左 37 行目	不連続続	不連続	110	左 6 行目	二化螟虫	二化螟虫幼虫
74	左 30 行目	関係湿度	関係湿度	〃	左 35 行目	1 株本植	1 株 2 本植
75	Fig. 1, 1 行目	betwen	between	〃	右 14 行目	二化螟虫を	二化螟虫の
76	Fig. 2, 5 行目	Eguations	Equations	111	右 6 行目	4) 08.8—	4) 08.8—
78	左 26 行目	Nich lson	Nicholson	112	左 29 行目	比重106以下	比重1.06以下
79	右 4 行目	hostand	host and	113	右 1 行目	平均粗粒率	平均粗粒重
〃	〃 23 行目	dyin	dying	〃	〃 28 行目	263%	26.3%
〃	〃 25 行目	numbe	number	114	左 15 行目	hat	that
91	Table 2, No. 1	ca.-0.99	ca.-0.93	〃	右 18 行目	i festation	infestation
110	表題 2 行目	Lado atory	Laboratory	〃	〃 22 行目	inter nodes	internodes