綜　説

Probit Analysis of Joint Action of Insecticides. Seiroku SAKAI (Mikuni Research Laboratory for Pest Control and Yashima Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo) *Botyu-Kagaku*, 31, 91, 1966.

殺虫剤の連合作用とそのプロビット評価法（酒井清六・八洲化学工業株式会社兼みくに害虫駆除研究所）

殺虫剤の連合作用理論は混ぜ合わせの理論でカクテル的な理論である．酒のカクテルの風味が混ぜれば混ぜるほど増し，複雑な生理作用をおよぼすのに類似している．Finney[5]によれば，殺虫剤のカクテルは，両薬剤に相関がなく独立作用 independent action を呈するとき，薬剤の種類を漸次増せば，低濃度では混合剤の作用曲線は単剤より低く，高濃度では逆に高くなり，よく効くようになることを指摘し，成分が2, 4, 16, 1,000種類のときの計算をした．この現象は実用的に重要な意味を持つ，すなわち作用機構の違う薬剤の混合作用が独立作用を呈する場合，農薬の使用濃度がうすければ単剤より効かず，濃厚なら，単剤より有効であり，組み合わせを増せば増すほど，この作用は顕著になることを示している．飲酒する場合，カクテルが相互に独立作用をするとすれば，うすい alcohol 含量なら，カクテルにするほど，単品より悪酔をせず，カクテル濃度が濃厚なら，逆に単品よりひどい悪酔をすることになる．これは連合作用理論の一つの実用例である．

殺虫剤の連合作用は理論的にも，数量的にも興味ある分野であり，処方，薬効の改良，労力の経済，抵抗性の防止に役立つ．酒井[15]は数量的な理論とその実例とを指摘した．

連合作用の概念

酒井によれば，連合作用は真正連合作用 (true joint action) と擬似連合作用 (pseudo-joint action) とに区分される．**I．真正連合作用**：薬剤 $A_1, A_2, \cdots A_n$ をそれぞれ同時に使用される混合剤の成分とするとき，その混合剤Dは連合作用Yを発現する．すなわち，$A_1+A_2+\cdots A_n=D$，そこで $Y=f(D)$ または$D=\sum_{i=1}^{n} A_i \to Y=f(D)$……(1)，そこで $i=1, 2, 3\cdots n$ である．**II．擬似連合作用**：薬剤$A_1, A_2, \cdots A_n$がそれぞれ時間的なへだたりをもって使用されるとき，その終局の綜合された作用 Yは$A_1, A_2, \cdots A_n$ の合計薬量，Ddによって発現される．$Dd=\sum_{i=1}^{n} A_i$，そこで，$Y=f(Dd)\cdots$(2)．また生体外で物理・化学的に反応した化合物が生体に生理的な変化を誘発する場合，生体外で新しくできた化合物に対する作用を特に害虫防除の観点から，その化合物の素材から一足飛びに生体（害虫）の作用を論ずるときに擬似連合作用が生じたという．いま反応生成物をD'とすれば，

$D=\sum_{i=1}^{n} A_i \to D'=\varphi(D)$ そこで $Y=f(D')\cdots$(3) である．

真正連合作用は狭義の連合作用で一般に連合作用と呼ばれる概念である．酒井は真正連合作用を次の8作用に分類した．

相加作用 Similar joint action (S. j. a)*
- 単純類似作用 Simple S. j. a.
- 複合類似作用 Complex S. j. a.

相異作用 Dissimilar joint action (D. j. a)
- 独立作用 Independent a.
- 依存作用 Dependent a.

合成作用 Compound joint action (C. j. a)
- 合成相加作用 Compound similar a.
- 合成相異作用 Compound dissimilar a.

賦活作用 Activated joint action

相殺作用 Offset joint action

転換作用 Converted joint action

協力作用 Synergism

拮抗作用 Antagonism

このうち合成作用は二次元的な考えであり，相殺作用は＋－の差引作用で，転換作用は作用転換である．擬似連合作用は生理的擬似連合作用，物理的化学的擬似連合作用，擬似協力作用，擬似拮抗作用の4作用型を提唱した．

酒井の理論は Bliss[1,2,3]，Finney[4,5]，Hewlett and Plackett[6~10,13,14]に負う所が多い．ここではもっとも実用的な相加作用，相異作用，賦活作用，協力，拮抗作用についてその評価法を述べる．

Probit 法による評価法

連合作用の作用型を評価する一番正確な方法は単剤と混合剤との薬量—反応率曲線を書くことである．

ここでは Probit Analysis の数量理論の詳細よりも実際に計算する立場で記述する．

問題となるのは致死率→Probit，薬量→対数による普通の Probit 曲線の勾配，等毒単位，薬剤間の相関作用，薬量，実験テクニックの問題である．いかに薬量致死率の計算を少数6～7位まで出しても，それ以前の実験方法，供試虫の均一性に問題があれば，正確な結果を得られない．連合作用の研究で今日は単剤，明日は混合剤という種類別の計画は数量解析以前の誤差

* 酒井(1960)による類似作用は今後相加作用と呼ぶ．

を生ずる．従ってできるだけ均一の供試虫集団に対して，単剤，混合剤の実験を同一条件で同時に速やかにすます必要がある．また，実験は混合剤とその構成濃度の単剤の実験を対でやらなければ解析できない．たとえば，0.5% のA剤と 0.3% B剤の混合剤の合計有効濃度は0.5%+0.3%=0.8%である．かならず，0.5%A剤，0.3%B剤，0.8%混合剤の3区の実験を同一条件で行なうことである．混合剤だけの結果は解析的意義がない．

Similar joint action 相加作用

この作用は作用機構が同傾向のとき起こる．

薬剤の生体に対する耐性の相関度合が1のときは単純作用 Simple S. j. a., すなわち同傾向の作用で生理的相互作用がないときである．また生理的相互作用があるとき，すなわち，感受性の相関の度合が認められるときは複合作用 Complex S. j. a., である．また部分的に重複が認められるときは部分作用 Partially S. j. a. である．

Simple S. j. a. の平行勾配，$b_1=b_2$ のとき： 2種の薬剤の個々の Probit —対数の回帰直線をそれぞれ

$Y_1=a_1+b\log D_1$，$Y_2=a_2+b\log D_2$ とする．ここで D_1，D_2 は混合剤中の薬剤AおよびBの対数薬量であり，Yは Probit 単位の致死率である．

最尤法または簡便法で出た回帰型の直線を普通の直線式に変えればよい．たとえば，$Y=5.0526+1.944(X-4.1699)$ ならば $Y=1.944X-3.0537=-3.0537+1.944\log D$となる．

A薬剤の毒力に対するB薬剤の比較毒力の係数は，$\log k=(a_2-a_1)/b$ で，相加作用の特徴のB薬剤をA薬剤として考える．すなわち他剤に置きかえる方法が必要になる．英語を日本語に，日本語を英語に訳すように，置きかえ法が相加作用計算の特徴である．いま，B薬剤はその結果 $Y_2=a_1+b\log(k_2D_2)$ のようにA薬剤として表現できる．混合剤が二成分の薬量 D_1, D_2 を含有し，勾配が等しいとき，$b_1=b_2$，混合剤の致死率は

$Y_m=a_1+b\log(D_1+k_2D_2)$ ……………………(4)

で表現できる．これが類似作用の一般概念を表わす式である．また混合割合 Q_1，Q_2 と混合剤の総薬量D_mを利用するとき，混合剤中の混合割合の百分率を $Q_1+Q_2=1$ とすれば，たとえばA薬剤が4部とB薬剤の6部の混合割合なら，0.4+0.6=1.0 となる．混合割合を入れた式は

$Y_m=a_1+b\log(Q_1+k_2Q_2)D_m$………(5)となる．

$=a_1+b\log(Q_1+k_2Q_2)+b\log D_m$

(4) および (5) 式を3種以上の混合剤に使うとき，$b_1=b_2=b_3\cdots\cdots b_n$ なら，$Y_m=a_1+b\log(D_1+k_2D_2+k_3D_3\cdots\cdots+k_nD_n)$ …… (5a)，$Y_m=a_1+b\log(Q_1+k_2Q_2+k_3Q_3\cdots\cdots+k_nQ_n)D_m$……(5b) となる．$D_m$ は混合剤の総計薬量で $Q_1+Q_2+Q_3\cdots+Q_n=1$ が必要条件である．(4)，(5) 式が Simple S. j. a. の理論式であり，もし混合剤の実験で $Y_m=a_m+b\log D_m$ が得られれば，LD_{50} の混合剤の実験と理論の差は

$\Delta_s=a_m-a_2-b\log(Q_1+kQ_2)$ で実験値と理論値の有意性を検定する．

また全体として実験値と Simple S. j. a. の期待値との間の適合性に関する χ^2-テストの方法は Finney[4] によって $\chi_{(n)}^2=\Sigma\{(\text{観察 Probit}\sim\text{期待 Probit})^2\times W\}$ …(6) で表わされる．

ここで問題となるのは3直線の勾配の一致を要求される．簡便法の χ^2テストで3直線の勾配が同じ値にしてもよいかどうかを検定し，勾配の一致を計らないと計算ができない．たとえばA薬剤が $Y_1=-3.2747+1.997\log D_1$，B薬剤が $Y_2=-3.7834+1.858\log D_2$，混合剤が $Y_m=-4.0691+1.988\log D_m$ とすれば，勾配が違っているので Simple S. j. a. の (4) 式を使えない．このときは3薬剤の勾配が抽出誤差の範囲で平行とされるかどうかの検定を行なってみる．$\chi_b^2=\dfrac{(b_1\sim b_2)^2}{V(b_1)+V(b_2)}$……(7) で検定する．平行としてもさしつかえないとすれば，Combined slope, b_c を求め，予備回帰線 Provisional regression line をもう一度グラフ上に引き直す．b_c の算出は

$$b_c=\frac{{}_1S_{xy}+{}_2S_{xy}+{}_3S_{xy}\cdots+{}_nS_{xy}}{{}_1S_{xx}+{}_2S_{xx}+{}_3S_{xx}\quad+{}_nS_{xx}}\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\ (8)$$

ここで $S_{xx}=\Sigma nwx^2-(\Sigma nwx)^2/\Sigma nw$，$S_{xy}=\Sigma nwxy-\Sigma nwx\cdot\Sigma nwy/\Sigma nw$，$S_{yy}=\Sigma nwy^2-(\Sigma nwy)^2/\Sigma nw$ である．統計的に計算が大変と思うなら (6) 式のχ^2テストを何度も使いながら，平行な予備回帰線をグラフ上に引けばよい．さらに平行とわかっていればグラフ上の作図をはじめから平行に引けば手間が省ける．平行性，残差の不均一性の検定は統計学的に重要で興味あることであるが，実験科学の立場からは繁雑な計算に手間をかけるより，実験をさらに行なった方がよいのではないだろうか．これらの検定や$V(\Delta_s)$の検定はFinney[5]，酒井[15]，長沢・篠原[11]，長沢・柴[12]を参照されたい．前例のA剤，B剤，その混合剤で Combined slope, b_c の計算をすると1.944となった．3回帰直線の $b=1.944$ を代入計算してみる．

A剤：$Y_1=5.0526+1.997(X-4.1699)=-3.2747+1.997\log D_1$ ここで $X=\log D_1\times10^8$，D_1=薬量$D\times10^8$である．$\bar{y}=5.0526$，$X=4.1699$ をそのまま $b_c=1.944$の Combined slope の式に代入すると

$Y_1=5.0526+1.944(X-4.1699)=1.944X-3.0537=-3.0537+1.944\log D_1$となり，$Y=a+b\log D$の a の値，-3.0537 が Combined slope の前の a の値，-3.2747と違ってくる．この修正を行なうと3回帰直

線は同様に $Y_1=-3.0537+1.944\log D_1$，$Y_2=-4.1912+1.944\log D_2$，混合剤には $Y_m=-3.8669+1.944\log D_m$ となり，勾配が揃うようになる．

Simple similar action の $b_1=b_2$ の計算例

第1表　沪紙接触法でイエバエ成虫の24時間後の致死率

稀釈倍数	薬量% D	対数薬量 $\log D\times10^8$	致死率%
Endrin (18.5%乳剤)			
1×10^2	1.85×10^{-1}	7.2672	88.1
3×10^2	6.17×10^{-2}	6.7900	76.4
5×10^2	3.70×10^{-2}	6.5682	62.2
1×10^3	1.85×10^{-2}	6.2672	60.0
3×10^3	6.17×10^{-3}	5.7900	42.0
5×10^3	3.70×10^{-3}	5.5682	34.5
Dieldrin (18.5%乳剤)			
1×10^2	1.85×10^{-1}	7.2672	64.5
3×10^2	6.17×10^{-2}	6.7900	46.5
5×10^2	3.70×10^{-2}	6.5682	38.6
1×10^3	1.85×10^{-3}	6.2672	29.2
3×10^3	6.17×10^{-3}	5.7900	16.0
5×10^3	3.70×10^{-3}	5.5682	11.5
Endrin 36部+Dieldrin 64部の混合剤			
	5.53×10^{-1}	7.7428	90.0
	2.89×10^{-1}	7.4613	83.7
	5.53×10^{-2}	6.7428	62.5
	9.84×10^{-3}	5.9928	37.5
	2.89×10^{-3}	5.4613	20.0

この実験から Cyclodiene 殺虫剤の単剤および混合剤の直線は Endrin：$Y_1=-0.5440+0.924\log D_1$，Dieldrin：$Y_2=-1.3479+0.924\log D_2$，Endrin と Dieldrin の混合剤：$Y_m=-0.8677+0.924\log D_m$となった．ここで Endrin に対する Dieldrin の比較毒力は $\log k=-1.3479-(-0.5440)/0.924$，$\log k=-1.3479+0.5440/0.924=-0.8039/0.924=-0.87002$ 対数を元にもどして $\log 1.12998\fallingdotseq0.13489$ となり，$k=0.13489$ となる．したがって，混合剤の Simple S. j. a. の理論値は (4) 式より $Y_m=-0.5440+0.924\log(D_1+0.13489\,D_2)$ か，(5) 式の $Y_m=-0.5440+0.924\log(0.36+0.13489\times0.64)D_m=-0.8677+0.924\log D_m$ となる．(4) からでも (5) からでも理論値はどちらから計算してもよい．

第2表の右から2列目は Simple S. j. a. の重み Weight で，Simple S. j. a. の Expected Probit に対応する Weighting coefficient ×供試昆虫数＝Weight から計算できる．また実験値と Simple S. j. a. の期待値との間の適合性に関する χ^2テストは (6) 式を使う．(6) 式による χ^2 テストは $\chi^2_{(5)}=0.47829$ で Probit<0.99 の典型的な Simple S. j. a. が得られた．

しかし，実験値は期待値よりやや有効に働らき，Δ_s の値は$-0.8859+0.8677+0.3237=+3.355$であった．一般に化学構造の類似している2種の殺虫剤相互の連合作用は単剤の回帰直線の勾配が抽出誤差の範囲内で平行とみなされる場合，Simple S. j. a. を発揮する可能性がある．

Simple S. j. a. の勾配の異なるとき，$b_1\fallingdotseq b_2$

Plackett and Hewlett[14] は，連合作用を次の4作用型に分類した．すなわち，

I. Similar joint action

a. simple similar action　interaction なし

b. complex similar action　interaction あり

II. Dissimilar joint action

a. independent joint action　interaction なし

b. dependent joint action　interaction あり

で，作用薬量 λ と施用薬量Dとの間に $\lambda_1=\mu_1D_1^{\eta_1}$ および $\lambda_2=\mu_2D_2^{\eta_2}$ の関係を仮定し，$b_1\fallingdotseq b_2$ のときの計算を提案した．μ は浸透係数，η は D に対する指数である．

2薬剤の回帰直線の勾配が相異なっている場合でも Simple S. j. a. が起こる．すなわちA薬剤の作用薬量 λ_1 がB薬剤の作用薬量 λ_2 の作用を一定の比率で代行すると仮定し，また両薬剤の薬量の対数値が $1/\theta$ の標準偏差で正規分布しているとし，$\lambda_1=\mu_1D^{\eta_1}$，$\lambda_2=\mu_2D^{\eta_2}$の関係が成立するとすれば，$b_1\fallingdotseq b_2$，$\eta_1\fallingdotseq\eta_2$ のときの Simple S. j. a. は

$$Y_m=\theta\log(D_1^{b_1/\theta}h^{a_1/\theta}+D_2^{b_2/\theta}h^{a_2/\theta})\cdots\cdots\cdots\cdots(9)$$

である．ここで θ は混合剤の実験より得られる勾配のようなもので，$\theta=b_1/\eta_1=b_2/\eta_2$ の条件が必要である．

第2表　Endrin 36部と Dieldrin 64部の混合乳剤の解析

混合剤の対数薬量 $D\times10^8$	Endrin に置換えた薬量	混合剤の実験値 Observed probit	Simple S. j. a. の期待値 Expected probit	Simple S. j. a. の重み	Simple S. j. a. の期待値と実験値とのχ^2テスト
7.7428	7.3925	6.2816	6.2866	67.178	0.00168
7.4613	7.1110	5.9822	6.0265	87.726	0.17124
6.7428	6.3925	5.3186	5.3626	120.104	0.23252
5.9928	5.6425	4.6814	4.6696	123.218	0.01713
5.4613	5.1110	4.1584	4.1785	100.520	0.04061

h は対数の底すなわち10である．θ が大きければ混合剤の効果があるといえる．

3種以上の場合は $Y_m=\theta\log(D_1^{b_1/\theta}h^{a_1/\theta}+D_2^{b_2/\theta}h^{a_2/\theta}+D_3^{b_3/\theta}h^{a_3/\theta}\cdots+D_n^{b_n/\theta}h^{a_n/\theta})$ …… (10) で表現できる．また $b_1/\eta_1 \fallingdotseq b_2/\eta_2$ $\eta_1=\eta_2=1$ のとき，耐性の完全正相関のときの Simple S. j. a. では

$$h^{(Y_1-Y)/b_1}+h^{(Y_2-Y)/b_2}=1 \quad \cdots\cdots (11)$$

が使われる．(9)，(11) 式は2種混合剤の $b_1 \fallingdotseq b_2$ のときの代表的な式である．

殺虫剤の薬量は対数正規性が普通であるから D^η として認められる．Bliss[3] は $\eta_1=\eta_2$ なら $b_1=b_2$ 両薬剤の直線は平行になるが $\eta_1 \fallingdotseq \eta_2$ なら交叉し，$b_1 \fallingdotseq b_2$ となりこれはむしろ Dissimilar action ではないかと反撥した．

化学構造が類似し，作用機構が同傾向と認められる以外の混合剤は Bliss 説を支持し，Dissimilar action として取扱った法が実際的かも知れない．Hewlett 説による $b_1 \fallingdotseq b_2$ の計算は酒井[15]によればほとんど Hewlett の (9) または (10) 式と一致する混合剤はなかった．しかし (11) 式が提案されたが，今日では作用機構と耐性相関とから考えて $b_1 \fallingdotseq b_2$ の場合の Hewlett[9] 法を利用する以外によい方法ができていない．

(9)，(10) 式はそのままの型では解き方が困難で最小自乗法の繁雑な計算をしなければならない．そこで (9) 式は混合剤の致死率を算出するために

$$h^{Y_m/\theta}=h^{Y_1/\theta}+h^{Y_2/\theta} \quad \cdots\cdots (12)$$

のように変形できる．また (12) はさらに

$$Y_m=\frac{1}{2}(Y_1+Y_2)+\theta\log\left[2\cos h\left(\frac{Y_1-Y_2}{2\theta\log e}\right)\right] \quad \cdots\cdots (13)$$

になる．(13)式の Y_1-Y_2 の差がそう大きくない条件のときは大略

$$Y_m=\frac{1}{2}(Y_1+Y_2)+\theta\log 2 \quad \cdots\cdots (14)$$

として θ を計算でき，実用的には (14) 式を $b_1 \fallingdotseq b_2$ の式に使う．同様に3種混合以上の場合，酒井により，限定条件 $|Y_n-Y_{n+1}|$ の値が大きな差がないとき，N 個の混合剤の θ の大略の評価は

$$Y_m=\frac{1}{n}(Y_1+Y_2+Y_3+\cdots\cdots Y_n)+\theta\ \log n \quad \cdots\cdots (15)$$

で計算でき，n は混合の組み合わせ数である．3種混合なら3である．(14)，(15) 式は実際の計算に必要なものである．θ の Variance は Plackett and Hewlett[14] を参照されたい．ここで Y_m, Y_1, Y_2, $\cdots Y_n$ は Probit 単位の致死率である．

Simple similar action の $b_1 \fallingdotseq b_2$ の計算例

イエバエに対する p, p'-DDT と p, p'-DDD およびその混合剤を例とする．両剤は化学的に非常によく似た化合物で作用機構も同傾向であるが，平行性の検定をすると勾配に有意性が認められ，$b_1 \fallingdotseq b_2$ となった．従って両薬剤の Combined slope を見出すことはできない．p, p'-DDT : $Y_1=-4.9058+1.199\log D_1$, p, p'-DDD : $Y_2=-0.0197+0.518\log D_2$，この実験において，両剤が混合剤の中で果たす役割は混合割合と関係がある．この混合剤は p, p'-DDT 64部と p, p'-DDD 36部の混合割合であった．そこで

p, p'-DDT は $Y_1=-4.9058+1.199\log(0.64\times D_m)=-5.1382+1.199\log D_m$，および p, p'-DDD は $Y_2=-0.01965+0.518\log(0.36\times D_m)=-0.2495+0.518\log D_m$ となり，両剤の Expected Probit を算出できる．θ の値は(14)を使って，各濃度の実験において最尤法を繰り返えし，θ の値を決定すればよい．しかし実際には大変な計算となる．そこで各実験濃度の θ の Preliminary estimate を行ない，平均 θ を用いて計算した Simple S. j. a. の期待値と比較した．(14) 式を使って各薬量の θ の Preliminary estimate を算出した結果は第3表の左から3列目に示している．たとえば，混合薬量2.0242%の対数薬量$\times 10^8$は8.3063である．この混合剤中には $\log D\times 10^8$ で p, p'-DDT が8.1125，p, p'-DDD が7.8626含有されており，両薬剤の Expected Probit は $Y_1=4.8211$，$Y_2=4.0532$ である．Y_m の Observed Probit は 6.6258 である．これらの値を (14) 式に代入すれば

$$6.6258=\frac{1}{2}(4.8211+4.0532)+\theta\log 2$$

$\theta=3.32\times 2.1885=7.26582$ となる．第3表の左から3列目の値はこのような θ の Preliminary estimate から得られた値である．第3表の θ の値は7.2658から0.6620まで大きな幅が認められ，その平均 $\theta=2.81127$ を以てしても χ^2 を適合値まで持ってゆくのは不可能であった．

第3表　64部 p, p'-DDT と 36部 p, p'-DDD との混合剤の解析

混合剤の対数薬量 $\log D\times 10^8$	実験による Observed probit	θ の Preliminary estimate	$\theta=2.8113$ のときの Simple similar j. a. の Expected probit	Simple similar j. a. の重み	Simple similar j. a. の χ^2 テスト
8.3063	6.6258	7.2658	5.3429	123.218	202.7922
7.6628	4.5848	2.3243	4.7420	123.218	3.0435
6.9924	3.6083	0.9930	4.1571	100.520	3.0267
6.6628	3.2256	0.6620	4.0495	87.726	59.5484

あまり一致しないが，これらの計算から混合剤の (9) 式は　$Y_m=2.8113\log(h^{-1.7450}D_1^{0.42650}+h^{-0.0070}D_2^{0.1843})$ となる．

Hewlett and Plackett[8] は Turner[17] の DDT または Methoxychlor と DFDT との混合剤の結果から (122 b)式の適合性を報告している．

Complex S. j. a. のとき

作用薬量 λ と施用薬量Dとの間に $\lambda_1=D_1h^{\xi_2D_2/b_1}$, $\lambda_2=D_2h^{\xi_1D_1/b_2}$ の関係が仮定される場合を考える．ここで ξ は相互作用の常数であり，b_1, b_2 は両単剤の回帰直線の勾配である．さらに混合剤中の両薬剤はそれぞれ$Y_1=a_1+b_1\log D_1+\xi D_2$, $Y_2=a_2+b\log D_2+\xi D_1$ として作用する．ここで Complex S. j. a. の式は

$Y_m=\theta\log[h^{(a_1+\xi_2D_2)/\theta}D_1^{b1/\theta}+h^{(a_2+\xi_1D_1)/\theta}D_2^{b_2/\theta}]$ ……(123 d) で表わされる．ξ_1, ξ_2 は相互作用の常数である．ξ の値が 0 ならば，Simple S. j. a. となる．

Similar action の θ は値が大きくなればいわゆる Synergistic action を cover してしまうが，作用過程が違うと考えられよう．(16) 式は前の Simple S. j. a. と同様に計算できる．完全正相関$\xi=+1$, 完全負相関$\xi=-1$ を (16) 式に代入すれば両極限の計算ができる．かりに p,p'-DDT と p,p'-DDD の 2 種混合剤が Complex S. j. a. を呈するとすれば，前例より $\theta=2.8113$ が得られているので，両単剤の回帰直線とから，$\xi=-1$のとき，$Y_m=2.8113\log(h^{-(4.9058+D_2)/2.8113}D_1^{0.42650}+h^{-(0.0197+D_1)/2.8113}D_2^{0.1843})$，$\xi=+1$ のとき，$Y_m=2.8113\log(h^{(-4.9058+1\times D_2)/2.8113}D_1^{0.4265}+h^{(-0.0197+1\times D_1)/2.8113}D_2^{0.1843})$ となる．Complex S. j. a. の期待致死率の計算はつぎのようである．まず混合剤中の p,p'-DDT と p,p'-DDDの薬量を算出する．たとえば混合剤の有効薬量に 10^8 を乗じた（計算しやすくするため）対数薬量が 8.3063 のとき p,p'-DDT の対数薬量は $8.3063+\log(0.64)=8.3063-0.1938=8.1125$ であり，p,p'-DDD の対数薬量は$8.3063+\log(0.36)=8.3063-0.4437=7.8626$である．

さらに p,p'-DDT は $8.1125=\log(1.2957\times10^8)$ で，混合剤中に1.2957%含有し，p,p'-DDD は 0.72879% 含有していることになる．混合剤の個々の薬量を計算したのち，混合剤の期待値を混合剤の薬量について (16) 式に従って算出する．対数値 8.3063 について，完全正相関，$\xi=+1$のとき，$Y_m=2.8113\log[h^{(-4.9058+0.72879)/2.8113}1.2957^{1.199/2.8113}+h^{(-0.0197+1.2957)}0.72879^{0.513/2.8113}]=2.8113\log(h^{-1.4853}1.2957^{+0.4265}+h^{+0.4539}0.72879^{+0.1843})=6.3004$　となり，期待 Probit の値である．同様な操作を各実験濃度について計算し，χ^2 テストを行なえばよい．Complex S. j. a. のξの評価は各種のξを (16) 式に挿入してグラフ上で，$y=Y_m/\theta$, $x=\log[h^{(a_1+\xi_2D_2)/\theta}D^{b_1/\theta}+h^{(a_2+\xi_1D_1)/\theta}D^{b_1/\theta}]$ の$y=x$ の点，すなわち交点を求めてχ^2 テストで最小化してゆく方法をとれば求められる．3 種以上の Complex S. j. a. の計算は相関が非常に複雑になり，電子計算機でも使用しないかぎり困難である．

この他，特殊な Similar action としては混合割合に一定の条件を持つものがあり，Finney[5] は Compound response curve と呼び，一定の割合の約束の下ではN字型のような曲線となる．たとえば，$\pi_1=1\div\pi_2=10^{-KDm}$ になるように混合する．ここでは π_1, π_2 は混合剤中の第一および第二の薬剤の混合割合でKは正の恒数である．この種の曲線は抵抗性害虫の研究にも利用でき，たとえば $Y_m=a+b\log[k+(1-k)10^{-KDm}]+b\log D_m$ ……(17) となり，k は第二の薬剤の第一の薬剤に対する比較毒力の係数であり，K は合成曲線の恒数である．

Dissimilar joint action 相異作用

2種またはそれ以上の薬剤が相違した生理的組織体に作用する場合で，薬剤に対する感受性の相関の度合いによって依存作用（相関あり）Dependent action, 独立作用 Independent action（相関なし）に区分される．作用機構の違う薬剤を混合する場合は基本的には Dissimilar j. a. になる．混合剤中のA薬剤とB薬剤との行動を知るため，AとBとの単独のときの行動，およびA薬剤に対する耐性が供試昆虫群中でBに対する耐性と相関しているかどうかを知る必要がある．相関，ρ が完全正相関なら，$\rho=+1$ で，Simple S. j. a. と同様に，1 個の昆虫として，Aに耐性のものはBにも耐性を持つ，また完全負相関いわゆる逆相関なら，$\rho=-1$でAに対して耐性のある個体はBに対して感受性である．このような両極端に入るものが依存作用である．もし相関関係，$\rho=0$ならAに対するBの耐性またはBに対するAの耐性は無関係状態で at randam なことになり，規則性が認められない．このときは独立作用である．Dissimilar j. a. は両剤の比較毒力，混合割合，勾配の相違によって直線になったり，分岐点も持つ2本の折線になったり，曲線になったりする．Plackett and Hewlett[13] は負の相関をうけ入れて，双変性正規分布を使用して Dissimilar j. a. の一般式を提唱した．

依存連合作用 Dependent joint action

混合剤中の 2 成分が昆虫群の耐性に対し，相互に相関し合っている場合，薬剤A，B のそれぞれの薬量が P_1, P_2なる致死率を発現し，その相関 ρ が正の場合，$0<\rho<1$，そして P_1 の致死率が P_2 の致死率より大きい場合，$P_1\geqq P_2$

混合剤の致死率 P_m は

$P_m=P_1+P_2(1-P_1)(1-\rho)$ ……(18) で表わされる．完全負相関のときは P_1+P_2 ……(19),

完全正相関のときは $P_m=P_1$……(20)

となる．(18)，(19)，(20) の3式が依存作用の実用的な計算式である．Dissimilar j.a. の実用的な計算は Similar action が薬量を基準にしているに反し，致死率の%を基準にして計算するのが特徴である．

混合剤中のA薬剤およびB薬剤の混合割合の百分率をそれぞれ Q_1, Q_2 とし，$Q_1+Q_2=1$ のとき，混合剤中のA，Bの両剤の責任致死率は

$Y_1=a_1+b_1\log(Q_1D_1)=\delta_1+\beta_1\log D_1$ ………(21)

$Y_2=a_2+b_2\log(Q_2D_2)=\delta_2+\beta_2\log D_2$ ………(22)

となる．$\rho=-1$の完全負相関の場合，$P_1=q_2$の点で最大致死率を示す．ここでq_2はB薬剤の生存率である．この最大致死率になる薬量は

$\log D=-[\delta_1+\delta_2/(\beta_1+\beta_2)]$ …………………(23)

の点である．依存作用の負相関の場合には，ある限度の薬量で致死率は100%となり，混合剤中，最高の効率をあげる組み合わせとなり，これ以上の混合効果はなくなる．Bliss[1] の協力作用 Synergistic action の値はこの負の相関のときの致死率に包含されてしまうが，作用過程では違うと考えられる．3種以上の依存作用の計算は非常に複雑になり，ほとんど困難に近い．将来の研究課題である．

独立連合作用 Independent joint action

いま P_1, P_2を混合剤中の2成分の致死率とし，両剤間に耐性の相関が認められない場合，$\rho=0$，混合剤が Independent j.a. を発現する場合，混合剤の致死率は

$P_m=P_1+P_2(1-P_1)$ …… (24) である (24) 式は $P_m=1-(1-P_1)(1-P_2)$とも書きかえられる．3種以上の混合剤では

$P_m=1-(1-P_1)(1-P_2)(1-P_3)\cdots(1-P_n)$ … (25)

である．ここで P_1, P_2, P_3, ……P_nは混合剤中の薬剤A, B, C, ……Nのそれぞれの薬量によって発現される致死率である．

Dissimilar joint action の計算例

イエバエ成虫の film 法により24時間の致死率の実験をした．ここでは Rotenone と Pyrethrins の混合剤の結果を例とする，

この実験から，それぞれの単剤の回帰直線は Pyrethrins に対して $Y=-5.2962+1.658\log D$であり，Rotenone に対して$Y=-3.6369+1.358\log D$である．混合剤中に含まれる単剤の対数薬量をそれぞれの回帰直線に代入すれば，計算の第一段階に混合剤中の個々の単剤の責任致死率を求めることができる．責任致死率を計算するのを忘れやすいから注意を要する．実際の計算には，単剤の回帰直線を混合剤中の責任致死率を求めるための回帰直線の式に計算しなおす方が便利である．たとえば，Pyrethrinsの混合剤中の責任致死率は $Y=-5.2962+1.658\log(Q_1)+1.658\log D_m=-6.6862+1.658\log D_m$ で求められる．ここで Y は Probit の致死率，Q_1は混合剤中の Pyrethrins の混合割合，D_m は Pyrethrins の薬量と Rotenoneの薬量とを合計した混合剤の対数薬量である．同様に Rotenone は$Y=-3.7294+1.358\log D_m$となる．次に個々の混合薬量に対応する Rotenone 単独とPyrethrins 単独との責任致死率を計算する．たとえば混合剤対数薬量6.4171では Rotenone の責任致死率は $Y=-3.7294+1.358\times6.4171=4.9850$で，致死率は49.4%となる．また Pyrethrins の責任致死率は同様に14.8%となる．Rotenone と Pyrethrins とが耐性の相関のない場合，$\rho=0$のとき，(24) 式の独立作用を算出すると Pyrethrins は 0.148(14.8%)，Rotenone は 0.494(49.4%)であるから，$P_1>P_2$ の0.494>0.148によって，混合剤の独立作用は

$P_m=0.494+0.148(1-0.494)=1-(1-0.494)(1-0.148)=0.569$

と簡単に計算できる．すなわち，56.9%の致死率となり，その期待 Probit は5.1738となる．

第5表の左より4列目の Independent j.a. の値はこのような操作で計算した．もし，RotenoneとPyrethrins とが Interactive j.a. を表わすとすれば，Dependent j.a. を呈することになる．この仮定のもとで，正の完全相関の場合には，(18) 式から，$P_1>P_2$ のとき，$P_m=P_1$ となる．P_1は Rotenone で，その責任致死率と一致する．たとえば，対数濃度6.4171の Rotenone の責任致死率の Probit は 4.9850 であり，混

第4表 イエバエ成虫の沪紙接触法の結果

稀釈倍数	薬量% D	対数薬量 $\log D\times10^8$	致死率%
Pyrethrins (3%乳剤)			
1.0×10^2	3.00×10^{-2}	6.4711	65.6
2.5×10^2	1.20×10^{-3}	6.0792	46.0
4.0×10^2	7.50×10^{-3}	5.8751	32.6
5.0×10^2	6.00×10^{-3}	5.7782	30.0
1.0×10^3	3.00×10^{-3}	5.4771	13.6
Rotenone 2%			
1×10^2	0.0200	6.3010	48.1
2×10^2	0.0100	6.0000	31.2
5×10^2	0.0040	5.6021	18.4
8×10^2	0.0025	5.3979	10.0
1×10^3	0.0020	5.3010	8.0
Rotenone 85.49部+Pyrethrins 14.51部の混合剤			
	0.119300	7.0766	90.0
	0.085150	6.9302	85.3
	0.026130	6.4171	59.7
	0.007551	5.8780	20.4
	0.001193	5.0766	5.8

合剤の $P_m=P_1$ 完全正相関 $\rho=+1$ の理論値は 4.9850 と同じ値になる.

負の完全相関また完全逆相関の場合, $\rho=-1$ は $P_m=P_1+P_2$ であり, 第5表の左から5列目の値となる. 正の不完全相関の割合を計算するならば, (18) 式の ρ に関する未知数の最小自乗法の解を求めればよく, また負の不完全相関の度合いの計算は双変性正規分布の式を利用するので大変である. いま Rotenone と Pyrethrins とが完全正の相関, $\rho=1$ を示すとすれば, 混合剤は2本の折線を持つことになる. すなわち, 比較的低濃度では, 混合剤中の Rotenone の責任致死率と一致した回帰直線となり, 高濃度では Pyrethrins の責任致死率を表わす回帰直線と一致する. 両直線が会合する濃度は $\log D=(\delta_2-\delta_1)/(\beta_1-\beta_2)=(-3.7294+6.6862)/(1.658-1.358)=9.856$ となり, 対数薬量 $\log D\times10^8$ の9.856で会合交叉する. この混合剤は低濃度のとき Rotenone の勾配と一致し, 9.856で会合し, この点より高濃度で Pyrethrins の勾配と一致する. 次に無相関の Independent j.a. の場合, 混合剤の薬量対数—致死率 Probit 曲線は直線とはならず, 曲線となる. その曲線は個々の責任致死率の回帰直線から算出された $Y_u=(\delta_1\beta_1+\delta_2\beta_2)/\sqrt{\beta_1^2+\beta_2^2}+\sqrt{\beta_1^2+\beta_1^2}.\log D$……(26) の直線に漸近する. この場合には

$$Y_u=[(-6.6862\times1.658)+(-3.7294\times1.358)]/[\sqrt{(1.658)^2+(1.358)^2}+\sqrt{[(1.658)^2+(1.358)^2]}\log D$$

$=-7.5347+2.14316\log D$ の直線に漸近する.

さらに両薬剤が負の完全相関の場合には混合効果は最大極限に達する. すなわち(23)式から$-[(-6.6862)+(-3.7294)]/(1.658+1.358)=10.4156/3.016=3.4534$である.

この Rotenone と Pyrethrins との混合剤の観察致死率と Dissimilar j.a. の3仮定の期待致死率との χ^2 テストは簡単に Similar j.a. と同様に (6) 式を使用した. 正の完全相関では $\chi^2_{(5)}$ の値は 41.5059 で $P_r>0.01$となり, この依存作用の仮定と一致するとはいい得ない. 負の完全相関の場合は, $\chi^2_{(3)}=5.6211$ となり, $0.20<P_r<0.1$ で一致するが, 高濃度の7.0766と6.9302とを棄却無視した仮定から結論されるので, 全体として負の完全相関があるとは考えられない. 独立作用の場合には $\chi^2_{(5)}=4.1426$ で3仮定のうち最も小さい値を示し, $0.70<P_r<0.50$で全実験範囲で仮説と適合性を示す. 従って Pyrethrins+Rotenoneの混合剤は独立作用を呈したと結論されよう.

相異作用の計算は少なくとも $\rho=+1$, $\rho=0$, $\rho=-1$ の3作用で比較すれば大略の相関度合をつかむことができる. このうち, 計算上, 手間がかかるのは独立作用だけで, 依存作用はついでに出てくるほど簡単である.

Activated joint action 賦活作用

Pyrethrins に協力剤 Piperonyl butoxideを添加したときのような作用である. 酒井[15]によるこの作用の特徴は第二の薬剤の殺虫力が0のときに限定される.

賦活作用は (4) 式, (9) 式, (24) 式を拡張使用することでえられる. いま供試薬量の範囲内では生体に毒作用Y_2が認められない薬剤の薬量をD_2とする.

$Y=f(D_2)=0$ ならば (4) 式から混合剤の致死率は $Y_m=a_1+b\log(D_1+k_2D_2)$であり, $Y_2=f(D_2)=0$ を代入すれば $Y_m=a_1+b\log(D_1+k_2\cdot D)$ となり, その結果, 賦活作用の強度の基準値は第一の毒力を持つ成分の回帰曲線にもどってしまう.

$Y_m=a_1+b\log D_1$……(27), また (24) 式の拡張使用から $P_m=P_1+P_2-P_1P_1$ は $P_2=0$ を代入すれば $P_m=P_1+0-P_1\cdot0=P_1$ となり, $P_m=P_1$ となる. この場合でも第一の毒力を持つ成分の回帰曲線にもどってしまう. 第二またはそれ以上の成分の致死率が供試濃度の範囲で零の作用ならば, 賦活作用の理論値は毒力を持つ第一の薬剤単独の致死率に一致する. いま, 第一の薬剤の LD_{50} を Λ_1とし, 第二およびそれ以上の成分を含有する混合剤の第一の薬量に対する equivalent dose を単位としたときの LD_{50} を Λ_2 とすれば, その賦活作用の度合いは$K_p=\frac{\Lambda_1}{\Lambda_2}$……(28) で表現できる. $K_p>1$のとき, activation が認められたといえる. すなわち, equivalent dose の単位のとき, log

第5表 Rotenone 85.49部と Pyrethrins 14.51部との混合剤の解析

混合剤の対数薬量 $\log D\times10^8$	実験による Observed probit	Dissimilar joint action の理論値, Expected probit 依存作用 完全正相関(1)	完全負相関(2)	独立作用(3)	Dissimilar joint action の歪み 完全正相関(1)	完全負相関(2)	独立作用(3)	Dissimilar joint action の χ^2 テスト 完全正相関(1)	完全負相関(2)	独立作用(3)
7.0766	6.2816	5.8779	∞	6.3346	94.288	—	67.178	15.3689	—	0.1881
6.9302	6.0450	5.6776	∞	6.0669	106.318	—	87.726	14.3529	—	0.0439
6.4171	5.2456	4.9850	5.3638	5.1738	127.324	123.218	125.484	8.6453	1.7251	0.6525
5.8780	4.1726	4.2546	4.3412	4.3224	106.318	106.318	106.318	0.7123	3.0194	2.3815
5.0766	3.4282	3.1478	3.2831	3.2831	30.872	41.548	41.548	2.4265	0.8766	0.8766
								Σ41.5059	Σ4.1426	Σ5.6211

$K_p=\log A_1-\log A_2$ である．もし第二およびそれ以上の薬剤が供試濃度の範囲内でわずかに毒力を有している場合には Similar または Dissimilar j.a. となり，それらの数式を利用して理論値を計算する．

Activated joint action の計算例

ここで問題となるのはA薬剤とB薬剤の合計薬量である．いままでの解析では混合剤の場合は合計薬量を用いて，その対数値をX軸にプロットする操作をした．この Activated j.a. の場合は合計薬量の対数値を用いると不合理なことが認められる．そこで equivalent dose 等毒単位薬量を用いなければならない．

A剤とB剤の薬量がそれぞれ2.3と0.4とする．合計薬量なら2.3+0.4=2.7となるが，等毒単位薬量のときはその比較毒力 k の考えを代入して，Similar j.a. の (D_1+kD_2) のように行なう．いま比較毒力0.6とすれば，2.3+(0.6×0.4)=2.54がequivalent dose である．たとえば合計薬量のとき，Allethrin 単独の LD_{50} の対数値 $\log D\times 10^8$ が6.22であり，Allethrin に Piperonyl butoxide を添加した混合剤の LD_{50} が6.50とする．合計薬量を用いると Allethrin 単独の方が協力剤添加の混合剤より有効な錯覚に陥る．

Allethrin 単独の回帰直線が $Y_1=-9.7725+2.375\log D_1$，協力剤添加の混合剤(Allethrin 1%+Piperonyl butoxide 10%)の合計薬量の回帰直線が $Y_m=-10.4375+2.375\log D_m$ となる．しかし Allethrin equivalent dose を用いると $Y_m=-7.8725+2.375\log D$ となる．この賦活作用のときは Piperonyl butoxide の毒力は0であるから，その比較毒力の係数，$k\fallingdotseq 0$ になる．(27)式により混合剤中に含まれる Allethrin 含量に支配される．したがって Allethrin +Piperonyl butoxide の Allethrin equivalent dose は Allethrin 単独の薬量に一致する．Allethrin 単独の LD_{50} を A_1，Allethrin+Piperonyl butoxide の X 軸に Allethrin equivalent dose をプロットしたときの LD_{50} を A_2 とすれば，(28)式から $\log K_p=\log\frac{A_1}{A_2}=\log A_1-\log A_2=6.22-5.42=0.80$ となる．

したがって $K_p=6.3096$ であり，Allethrin 1%に10%の Piperonyl butoxide を添加すれば，その殺虫力は6.3096倍になることを意味する．

Hewlett[10] は協力剤を含む回帰曲線は協力剤の添加割合，昆虫の種類，試験法，Pyrethroid や協力剤の種類によって変化し，必らずしも直線ばかりでなく，X軸の協力剤の薬量をとれば指数関数のような曲線をとることもあると報じ，Pyrethroid＋協力剤の作用曲線は

$$Y=a+b\log D_1+A(D_2)\cdots\cdots\cdots\cdots(29)$$

であることを示した．ここで D_1, D_2 は Pyrethroid および協力剤の薬量である．また $A(D_2)$ は D_2 の関数である．いま $A(O)$ なら，Pyrethroid 単独の計算に利用できる．$A(D_2)$ は正の勾配で協力剤の薬量，D_2 が増せば，勾配はゆるやかになる．一般に協力剤を添加すると勾配はゆるやかになる．(29)式はある限定条件では，

$$Y=a+b_1\log D_1+b_2 D_2{}^r\cdots\cdots\cdots\cdots(30)$$

となる．ここで $0<r<1$ で正の値である．また Pyrethroid の薬量が固定した濃度の場合ある範囲の限定条件では，(30)式は $Y=C+b_2D_2{}^r$ となる．Pyrethroid を固定した混合割合にすれば，協力剤同士の効率は Slope ratio assay で検定することもできる．

Synergism 協力作用

協力作用はその逆の拮抗作用 Antagonism とともに表現される反応で，Complex S.j.a. および Dependent j.a. の2概念の中に包含されてしまう．しかしその反応(または斃死)を起こす過程は両作用で異なる．2種またはそれ以上の薬剤の混合物が個々の薬剤の作用から期待される最大の影響より遙かに大きな作用が認められるときには協力作用があるといってもさしつかえない．耐性の相互作用が存在しないときの Similar, Dissimilar j.a. およびそれらの概念を拡大した Compound j.a. の理論値に対して統計的に有意な差異を有する作用を協力作用ということにしたい．もっともある混合剤の一点の作用が協力作用として認められるとともに Complex S.j.a. としても認められる場合もあり，また作用の他の点では，なお作用の期待値が異なることがある．同じ反応のときには Synergim という言葉の方が Complex similar j.a. というより一般的であろう．一般的な Similar synergistic action は Bliss[1]，および Finney[4] によれば，

$$Y_m=a_1+b\log(Q_1+kQ_2+K\sqrt{(kQ_1\cdot Q_2)})D_m\cdots(69)$$

であり，Y_m は混合剤の致死率で，k は第一の薬剤に対する第二の薬剤の比較毒力の係数，Q_1, Q_2 はそれぞれの混合割合，K は協力作用係数 Coefficient of synergism である．協力作用係数 $K>0$ のときは協力作用がある．(31)式は混合剤の2成分の単独の回帰曲線の勾配が平行で $b_1=b_2$ である限定条件がついている．

拮抗作用は(31)式で $K>0$ で負の Synergism といえる．

協力作用の致死率は Complex S.j.a. のDependent j.a. すなわち Interactive joint action を認めるならば，Synonym の値となる．

しかし，Synergism の致死機構と Interactive j.a. のそれとは異なる．致死率は同じでも，たとえば $P_m=P_1+P_2-P_1P_2(1-\rho)$ の ρ の働らきと $[Q_1+kQ_2+K\sqrt{(kQ_1Q_2)}$ の K の働らき方は相異なっている．平行勾配の Simple similar j.a. や Independent j.a. は期待し得る expected j.a. であり Synergism は期待

し得ない Unexpected j. a. といい得る.

協力剤 Synergist は一般に低毒力の化合物で，殺虫剤と混合したとき，期待し得ない高い殺虫力を発揮する化合物である．協力剤は activator または adjuvant ともいう．協力作用は混合剤中の最有効成分より有効な混合剤の作用のとき使う見解もあり，また混合剤の個々の成分の効果より混合剤の効果が大きいとき協力作用があるという見解もある．また方法は明確ではないが，個々の成分の効果の合計より大きい効果があるとき協力作用があるという見解もある．このように協力作用，拮抗作用には明確な定義がない．ここでは前述した通りの場合に限定する．すなわち，協力作用は平行な勾配を持つときの Simple similar joint action (2種の 4 または 5 式および 3 種以上の 5a または 5b 式)，勾配の異なる Independent joint action (2種の 24, 3 種以上の 25) の理論値を仮定し，計算して正の値で対数値で 3 標準誤差 3 standard error 以上の実験値を協力作用として限定する．さらに Simple synergistic action の(31)式や耐性相関の Interactive joint action 群の作用も計算でき，充分なKまたはθ, ρ, ξなどの相互関係の恒数を満足させ，効果を発揮する作用でなければならない．LD_{50}, LD_{95}の両点で，対数値の 3 標準誤差以上の正の距離があれば，まず協力的な組み合わせの混合剤といえよう．協力的な組み合わせは必らずしも実用上有効とは限らない．コスト・ダウンの見地から単に混合剤を作り，協力作用のない組み合わせを利用することも実用上有効である．

Synergism の計算例

イエバエ成虫に対する沪紙法の試験である．1% Allethrin と5%および10%の Piperonyl tetrahydrofuran(PTF)の混合剤を用いた．(31)式の Synergism のKの値を計算するには少なくとも 2 種類の混合割合が必要である．K値を方程式で解きたいところだが，ここでは最小自乗法を使って計算する．

実験の範囲では，PTF は単独でもイエバエに殺虫力を持った．

単剤および混合剤の回帰直線からLD_{50}値を求めれば，1% Allethrin は対数薬量で 6.05 で 0.00112%である．1% Allethrin+5% PTF は6.20で0.0158%，1% Allethrin+10% PTF は6.34 で 0.0219%であり，5% FPT は7.50 で 0.06990であった．これらのLD_{50}値を基準として，Allethrin に対する PTF の比較毒力の係数kと協力作用係数Kを求める．

Finney[5] はLD_{50}値を基礎にした式

$$\frac{1}{D_m}=\left(\frac{1}{D_1}\right)Q_1+\left(\frac{k}{D_1}\right)Q_2+\left(\frac{K\cdot k^{\frac{1}{2}}}{D_1}\right)(Q_1\,Q_2)^{\frac{1}{2}} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots(32)$$

を示した．ここでD_mは混合剤のLD_{50}の実験薬量，

第6表 Allethrin と Piperonyl tetrahydrofuran との混合剤の解析

供試薬剤	回帰直線
Allethrin	$Y=-10.7905+2.61\log D$
PTF	$Y=-14.5750+2.61\log D$
1%Allethrin+5%PTF	$Y=-11.1820+2.61\log D$
1%Allethrin+10%PTF	$Y=-11.5474+2.61\log D$

Allethrin+PTF混合剤のSimilar synergistic action の理論式

$Y_m=-10.7905+2.61\log(Q_1+0.0364Q_2+7.1952\sqrt{(0.0364\,Q_1\cdot Q_2)})+2.61\log D_m$

* $\log D$=薬量$\times 10^8$, Q_1, Q_2 は Allethrin, PTF の混合割合

D_1は効力のある方の単剤のLD_{50}値，Kは協力作用係数 Coefficient of synergism, kは比較毒力の係数，Q_1は効力のある方の単剤の混合剤中の混合割合，Q_2は同じく他方の単剤の混合割合である．

いま(32)式の$\left(\frac{1}{D_1}\right)=X$, $\left(\frac{k}{D_1}\right)=Y$, $\left(\frac{K\,k^{\frac{1}{2}}}{D_1}\right)=Z$とおけば

$\frac{1}{D_m}=Q_1X+Q_2Y+(Q_1Q_2)^{\frac{1}{2}}Z$となり，その実験上の誤差を$\varepsilon$とすれば，$\frac{1}{D_m}=Q_1X+Q_2Y+(Q_1Q_2)^{\frac{1}{2}}Z+\varepsilon$となる．ここで$\varepsilon=0$とし，$V\left(\frac{1}{D_m}\right)=\sigma^2$, $V\left(\frac{1}{D_m}\right)^2$が最小になるようにするため最小自乗法を使用する．

最小自乗法の原理から

$$A=\sum_{i=1}^{n}\left[\frac{1}{D_{mi}}-Q_{1i}X-Q_{2i}Y-(Q_{1i}Q_{2i})^{\frac{1}{2}}Z\right]\Big/V\left(\frac{1}{D_{mi}}\right)$$

ここで$1/V\left(\frac{1}{D_{mi}}\right)=W_i$で重みである．

$$A=\sum_{i=1}^{n}W_i\left[\frac{1}{D_{mi}}-Q_{1i}X-Q_{2i}Y-(Q_{1i}\cdot Q_{2i})^{\frac{1}{2}}Z\right]^2$$

上式の極小を求めるため，上式の第一次微分を 0 とし，その第二次微分の値を正の値とすれば誤差は最小となる．

いま$\sum_{i=1}^{n}=S$とおけば

$$\frac{dA}{dx}=0,\quad \frac{dA}{dx}=2\,S\,W_iQ_{1i}\left[\frac{1}{D_{mi}}-Q_{1i}X-Q_{2i}Y-(Q_{1i}\cdot Q_{2i})^{\frac{1}{2}}Z\right]=0$$

$$\therefore\quad SW_iQ_{1i}/D_{mi}=SW_i(Q_{1i})^2X+SW_i(Q_{1i})(Q_{2i})Y+SW_iQ_{1i}(Q_{1i}\cdot Q_{2i})^{\frac{1}{2}}Z$$

同様に

$$\frac{dA}{dy}=0,\quad SW_iQ_{2i}/D_{mi}=SW_i(Q_{2i})(Q_{1i})X+SW_i(Q_{2i})^2Y+SW_iQ_{2i}\cdot(Q_{1i}\cdot Q_{2i})^{\frac{1}{2}}Z$$

$$\frac{dA}{dz}=0,\quad SW_i(Q_{1i}\cdot Q_{2i})^{\frac{1}{2}}/D_{mi}=SW_i(Q_{1i}\cdot Q_{2i})^{\frac{1}{2}}Q_{1i}X+SW_i(Q_{1i}\cdot Q_{2i})^{\frac{1}{2}}Q_{2i}Y+SW_i(Q_{1i}\cdot Q_{2i})^{\frac{1}{2}}\times 2\cdot Z \quad \cdots\cdots\cdots\cdots(33)$$

(33)式よりKおよびkを計算する．

第7表 Allethrin と Piperonyl tetrahydrofuran の混合剤の最小自乗法計算

供試薬剤	$1/V(LD_{50})$	薬量%	W	混合 Q_1	割合 Q_2	$(Q_1Q_2)^{\frac{1}{2}}$	$1/D$	WQ_1	WQ_2	$W(Q_1Q_2)^{\frac{1}{2}}$
Allethrin 1%	3,076.92	0.0112	0.0728	1.000	0	0	89.2857	0.0728	0	0
All. 1%+PTF 5%	3,067.48	0.0158	0.1444	0.1667	0.8333	0.3727	63.2911	0.0241	0.1203	0.0538
All. 1%+PTF10%	3,058.10	0.0219	0.2766	0.0909	0.9091	0.2875	45.6621	0.0251	0.2515	0.0795

W/D	$W(Q_1)^2$	WQ_1Q_2	$W(Q_1Q_2)^{\frac{1}{2}}Q_1$	$W\{(Q_1Q_2)^{\frac{1}{2}}\}^2$	$W(Q_2)^2$	$W(Q_1Q_2)^{\frac{1}{2}}Q_2$	WQ_1/D	WQ_2/D	$W(Q_1Q_2)^{\frac{1}{2}}/D$
6.4500	0.0728	0	0	0	0	0	6.4500	0	0
9.1392	0.0040	0.0201	0.0090	0.0201	0.1003	0.0448	1.5235	7.6157	3.4062
12.6301	0.0023	0.0229	0.0072	0.0229	0.2286	0.0723	1.1481	11.4821	3.6312
	0.0791	0.0430	0.0162	0.0430	0.3289	0.1171	9.1216	19.0978	7.0374

連立立程式

$$9.1216=0.0791(1/D_1)+0.0430(K/D_1)+0.0162(Kk^{\frac{1}{2}}/D_1)$$
$$19.0978=0.0430(1/D_1)+0.3289(K/D_1)+0.1171(Kk^{\frac{1}{2}}/D_1)$$
$$7.0374=0.0162(1/D_1)+0.1171(K/D_1)+0.0430(Kk^{\frac{1}{2}}/D_1)$$
$$\underline{\underline{k=0.0364}} \qquad \underline{\underline{K=7.1952}}$$

Wは$0.1886\lambda^2/V(LD_{50})$である.

$$V(1/D)=\frac{V(LD_{50})}{D^2}(\log_e 10)^2=\frac{5.302\,V(LD_{50})}{D^2}=\frac{1}{W}$$ である.

(33) 式を使用して，この混合剤の結果を分析した計算過程は第7表に示す通りである．第7表の最下段の連立三元一次方程式を解けば，$1/D_1=88.6874$, したがって Allethrin のLD_{50}値は0.0113%を得る．$(k/D_1)=3.2179$で，$k=0.0364$となる．$(Kk^{\frac{1}{2}}/D_1)=121.4848$で，$K=7.1952$を得る．この$+7.1952$が協力作用の度合いを示すものである．

したがって，Allethrin と Piperonyl tetrahydrofuran の協力作用は(31)式から

$$Y_m=-10.7905+2.61\log(Q_1+0.0364\,Q_2+7.1952\sqrt{[0.0364Q_1Q_2]}+2.61\log D_m$$

として表現できる．そして協力作用係数, $K=+7.1952>0$ の協力作用が認められた．

この協力作用の計算はやや複雑であるが，Wadley[18]は簡便な作図法を発表した．Wadley の指摘するように，3標準誤差で検定すれば協力作用も簡便に計算できる．

Wedley[18]は Finney[4] の考慮した供試昆虫数，重み，混合割合，等毒量，勾配，平均致死率，対数濃度の偏差の平方和などは一般の研究室では標準化されているので，それらの要因を標準化した方法をつくるべきだと主張した．

協力作用の簡易計算法

まず，両単剤，混合剤の3本の Probit 対数直線をつくる．X軸に第一の薬剤を基準にした equivalent dose をとり，Y軸に Probit をとって作図する．両剤が Similar synergistic action を呈するとすれば，両剤および混合剤の勾配は平行である．たとえば殺虫剤が4.7, 6.0, 7.5 mg/cc の濃度で致死率が35%, 78%, 82%とする．協力剤が6.7, 10.4, 11.7 mg/cc で致死率が27%, 83%, 71%とする．混合剤は殺虫剤+協力剤の型で 2.3+0.4 mg/cc, 2.8+0.5mg/cc, 3.4+0.6 mg/cc とする．ここでこの混合剤の (D_1+kD_2) =equivalent dose 等毒薬量を求める．比較毒力の係数は0.6なので2.3+(0.6×0.4)=2.54 mg/cc, 2.8+(0.6×0.5)=3.10 mg/cc, 3.4+(0.6×0.6)=3.76 mg/cc の混合剤の殺虫剤になおした等毒薬量がでる．殺虫剤の方の等毒薬量は $(D_1+k\cdot 0)$ であるから，殺虫剤そのままの対数薬量をX軸にプロットする．同様に混合剤の等毒薬量2.54, 3.10, 3.76の対数値をX軸にプロットする．この基準殺虫剤および混合剤の等毒薬量の2本の回帰直線を簡便法 $Y=5+b(X-\log LD_{50})$ または目で適合した線を引く．そのとき，混合剤と基準殺虫剤の直線が同じ勾配になるよう引く必要がある．

基準殺虫剤はX軸が等毒薬量の単位なので，そのまま Simple similar joint action の理論値に一致する．ところがこの計算例では混合剤を等毒薬量equivalent dose でプロットしたが，直線は理論値に一致せずに，左に寄っていた．基準殺虫剤のLD_{50}の対数値は約0.72, 混合剤は約0.5であり，0.72−0.50=+0.22 となる．したがって Probit 5の点，すなわち50%致死率の対数比 log ratio (対数値の差)は0.22といえる．また両直線の勾配は6であった．Wadley は標準化というか均一化され，よく実験計画のととのった実験のときの標準誤差の表を示した．Wadley の第8表は混合剤の実験に供試した昆虫数，および回帰直線の勾配によっ

第8表 Wadley の対数比 log ratio による予備標準誤差表

回帰直線の勾配 b	混合剤の実験に供した昆虫数の合計値								
	60	80	100	120	150	200	250	300	1,000
2	0.20	0.17	0.15	0.14	0.13	0.11	0.10	0.09	0.05
3	0.13	0.11	0.10	0.09	0.08	0.07	0.07	0.06	0.03
$4\frac{1}{2}$	0.09	0.08	0.07	0.06	0.06	0.05	0.04	0.04	0.02
6	0.07	0.06	0.06	0.04	0.04	0.04	0.03	0.03	0.02
8	0.05	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02	0.01
10	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.01

て標準誤差を知ることができる.

この計算例で第8表を使ってみる. 勾配は6で混合剤の供試虫は3濃度2.3, 2.8, 3.4 mg/ccでそれぞれ24匹づつであった. したがって24匹×3濃度=72匹≒70匹であった. 第8表の60匹では0.07, 80匹では0.06であるから, 補間法の計算により70匹は0.065の標準誤差といえる.

さて, LD_{50}における実験値と理論値との対数値の差, すなわち対数比は0.72−0.50=+0.22である. 一方, 3倍の標準誤差は0.065×3=0.195となる.

対数比+0.22は3倍の標準誤差0.195より大きいことがわかる. したがって結論的に0.22>0.195の対数比があるので, この殺虫剤と協力剤との混合剤は強力な協力作用があるといえる.

この協力作用の簡便法はIndependent joint actionを理論値にした場合, 拮抗作用の場合にも利用でき, 3種以上の混合剤にも適用される. しかし, この簡便法では協力作用の度合い, Kを計算することはできない.

Antagonism 拮抗作用

(69)式で$K<0$の場合であり, また簡便法では負の値であり, 耐性に対する相互作用が存在しないときのSimilar, Dissimilar j.a. およびそれらの概念を拡大したCompound j.a. の理論値に対して, より効果が低減して作用し, これらの作用と統計的に有意な差異(たとえば3標準誤差の距離)を有する作用を拮抗作用と呼んでもさしつかえなかろう.

この作用の計算は前の協力作用の計算を応用すれば簡単にできるので省略する.

おわりに

殺虫剤の連合作用は殺虫剤の抵抗性の研究と密接な関係がある. 次の機会にIsobolの問題, 図解による交互検定法, 最近の連合作用の発展, 抵抗性理論との関係などについて綜説する. 本文を書くようすすめられた京都大学石井象二郎教授, ご指導をいただいた京都大学内田俊郎教授に深謝するとともに, 本文を書く刺戟をあたえられた農林省四国農試河野達郎技官, 名古屋大学斎藤哲夫助教授に謝意を表します.

文　　献

1) Bliss, C. I.: *Ann. Appl. Biol.*, 26, 585 (1939).
2) Bliss, C. I.: Statistics and Mathematics in Biology, *Iowa Sta. Coll. Press*, 345 pp. (1954).
3) Bliss, C. I.: Symp. Synergism, *Am. Soc. Pharm. Exp. Therap. and Biom. Soc., Atlantic City, April.* 16, (1956).
4) Finney, D. J.: *Ann. Appl. Biol.*, 29(1), 82, 330 (1942).
5) Finney, D. J.: Probit Analysis, Cambridge Univ. Press, Cambridge, 318 pp. (1947).
6) Hewlett, P. S. and R. L. Plackett: *Ann. Appl. Biol.* 37(3), 527 (1950).
7) Hewlett, P. S. and R. L. Plackett: Nature 169, 198 (1952).
8) Hewlett, P. S. and R. L. Plackett: Nature 180, 712 (1957).
9) Hewlett, P. S. and R. L. Plackett: Biometrics 15(4), 591 (1959).
10) Hewlett, R. L.: Advances in Pest Control Research, Vol. 3, 27, Interscience *Pub. Inc.*, New York (1960).
11) 長沢純夫・篠原 寛: 日本応用動物昆虫学会誌 9(3), 162 (1965).
12) 長沢純夫・柴三千代: 防虫科学 30, 34 (1965).
13) Plackett, R. L. and P. S. Hewlett: *Ann. Appl. Biol.*, 35(3), 347 (1948).
14) Plackett, R. L. and P. S. Hewlett: *J. Roy. Sta. Soc.*, S. B. 14(2), 141 (1952).
15) 酒井清六: 殺虫剤の連合作用に関する昆虫毒物学的研究, 八洲化学工業株式会社, 東京 479pp. (1960).
16) 酒井清六: 農薬生産技術 2, 23 (1960).
17) Turner, N.: *Conn. Agr. Exp. Sta., Bull.* 594, 24pp. (1955).
18) Turner, N.: Methods of Testing Chemicals on Insects, Vol. 1, 314, Burgess Publ. Co., Minneapolis (1958).
19) Wadley, F. M.: *USDA. Agr. Res. Adm.*, ET-275 (1949).