

of the company for supplying the compounds.

References

- 1) Konishi, K., Okutani, T., Sakai, M., Kato, M. and Sato, Y.: *Abstracts of the Annual Meeting of Japanese Soc. Appl. Ent. Zool.* 20 (April 1964, Tokyo)
- 2) Kato, M.: *Ann. Rept. Takeda Res. Lab.* 25, 154 (1966).
- 3) Negherbon, W. O.: *Handbook of Toxicology*, 3 (The National Academy of Sciences, Philadelphia and London, 1959).
- 4) Von Oetting, W. F., Huepner, W. C. and Deickmann-Gruebber, W.: *J. industr. Hyg.* 18, 310 (1936).
- 5) Gustafson, C. Jr., Lies, T. and Wagner-Jauregg, T.: *J. Econ. Entmol.* 46, 620 (1953).
- 6) Grove, J. F. and Bovington, H. H. S.: *Ann. Appl. Biol.* 34, 113 ('947).
- 7) Broadbent, B. M. and Bliss, C. I.: *J. Econ. Entmol.* 29, 143 (1936).
- 8) Takiura, K. and Takino, Y.: *J. Pharm. Soc. Japan*, 74, 839 (1954).
- 9) Snell, F. D. and Snell, C. T.: *Colorimetric Methods of Analysis*, 2, 856 (D. Van Nostrand Company, Inc., New York, 1949).
- 10) Tan, N., Nishi, K., Ōwaki, R. and Asahi, Y.: *Pesticide and Technique*, 16, 20 (1967).
- 11) Goldstein, F. and Reiders, F.: *Am. J. Physiol.* 173, 287 (1953).
- 12) Sakai, M.: *Botyu-Kagaku*, 31, 61 (1966).
- 13) Sakai, M.: Unpublished data (1966).
- 14) Boyer P. D.: *The Enzymes*, 1, 511 (Academic Press, New York, 1959).
- 15) Lukens, R. J. and Sisler, H. D.: *Phytopathology*, 48, 235 (1958).
- 16) Stewart, C. P. and Stolman, A.: *Toxicology*, 1, 45 (Academic Press, New York, 1960).
- 17) Yamada, T.: *Annal. Phytopathol. Soc. Jap.* 29, 6 (1964):
- 18) Boyer, P. D.: *J. Am. Chem. Soc.* 76, 4331 (1954).

綜 説

Recent Advances and Graphic Analysis of Joint Action of Insecticides. Seiroku SAKAI (Daito Bunka University, Takasaka, Saitama, Japan) *Botyu-Kagaku*, 32, 79, 1967.

殺虫剤の連合作用の最近の進歩と図解法 酒井清六 (大東文化大学)

Isobole の問題, 図解による交互検定法, 最近の発展および抵抗性理論との関係について綜説する. 数量的なプロビット評価は酒井³⁷⁾に記した.

図解法

連合作用の交互検定法 Alternative method は Horsfall (1945)²³⁾, Reilley *et al.* (1951)³⁹⁾, Sakai *et al.* (1951)^{39,40)}, Storrs & Burchfield (1954)⁴²⁾, Sakai (1960)³⁶⁾, Hewlett (1960)¹⁶⁾, Turner (1958)⁴⁹⁾, de Jongh (1961)¹¹⁾ などによっていろいろの方法が提唱され, その分析が簡単なので実際に利用されている.

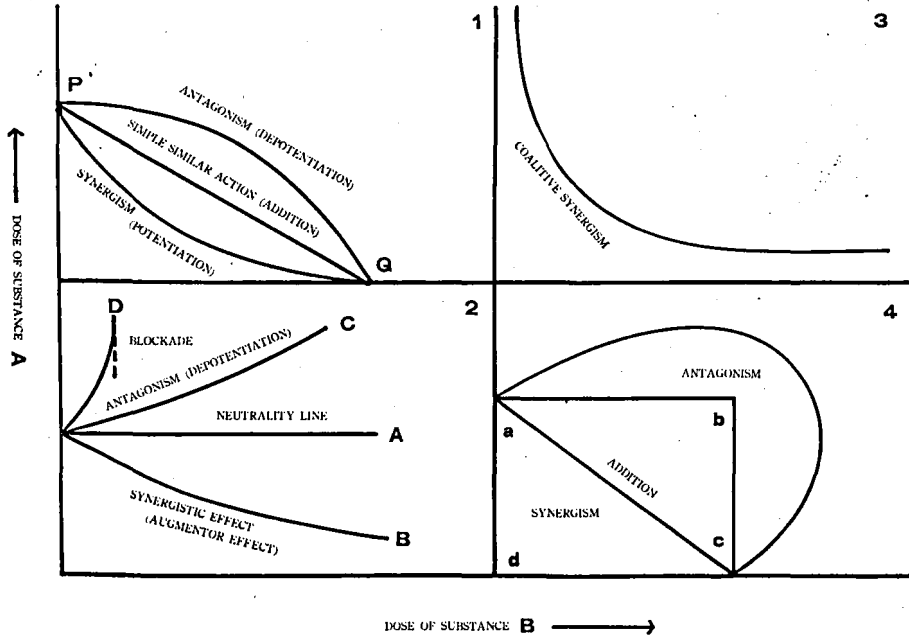
図解法 Bologram は死亡率を直接作図するものと等毒量 Equivalent dose を利用するものがある. Loewe (1926)²⁷⁾ は等反応単位を Isobole と呼んだ. たとえば, A の 50mg と B の 70mg とが同じ反応を示すなら, Isobole の概念から A の 50=B の 70=1 単位という. Isobole は Quantitatively identical effect の点である.

図解法は Isobole の概念を利用して作図することが

多いので, つぎのような条件のときは利用できないかまたは結論を検討すべきである.

1. 実験時間または投与時間が違っている両薬剤, 2. 両薬剤の作用直線の勾配 $b_1 \neq b_2$ が違うとき, 両薬剤の比較毒力, すなわち, 何倍効かということが濃度によって変化するとき, 3. A の薬剤が呼吸量をふやし, B の薬剤が減らすように相殺作用を呈するとき, 4. Isobole 法は一見簡単なようであるが, 薬剤試験の場合, ある一定薬量の試験で任意の反応を観察する方がある一定の反応を得るための限定された薬量の試験をするより容易である. Isobole 法は薬量より一定の反応に重点を置いているので実験がやりにくい. 5. 混合実験で, 50%の反応の Isobole と25%や75%の反応の Isobole とは違う. 従って A bundle of Isoboles が必要になってくる.

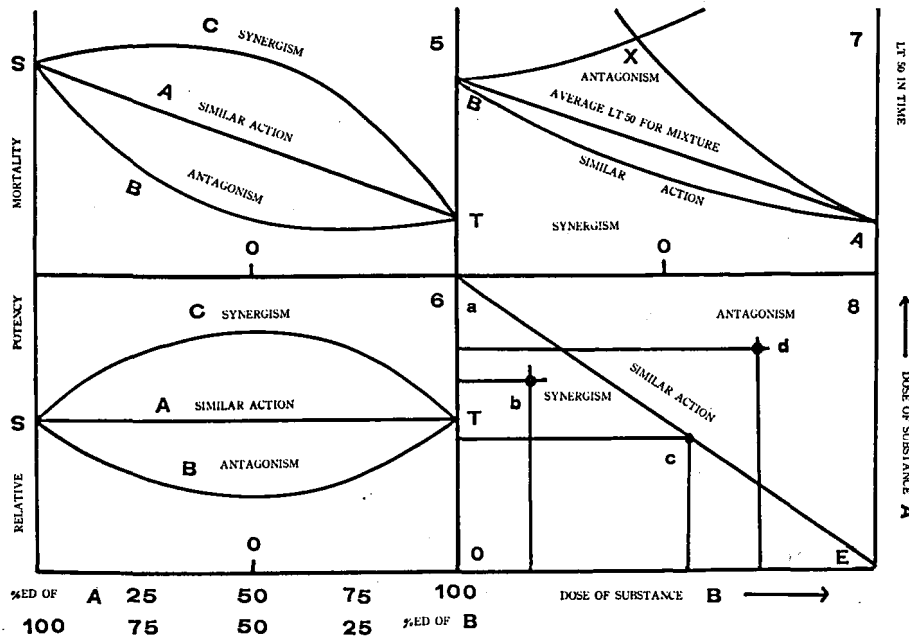
第1図-1は Isobole を使った作図で, Y軸はAの薬量, X軸はBの薬量を示している. P点はA薬剤が50%の致死率を示す点で, 同様にQ点はB薬剤が50%の



第1図 いろいろの Isobole による作図

致死率を示す点である。したがって、P点のAとQ点のBは同じ毒力を発揮する。原点からPに向ってAの薬量、Qに向ってBの薬量が増加する。普通のグラフではY軸はプロビット単位の致死率でX軸は薬量を示すが、ここではY軸もX軸も、それぞれA、Bの

薬量である。第1図の1, 2, 3, 4および第2図の8は同様な作図である。X, Y軸のA, Bの薬量は対数薬量でも Isobole として等毒量 Equivalent dose の何れかをプロットする。第1図-1のPとQとを結んだPQ直線はその直線上ではどこでも50%の致死率を得るこ



第2図 交互検定法 (5~7), 三角座標 (8) による作図

とになり、したがって単純相加作用 Simple similar joint action の軌跡である。Addition ともいう。たとえば、この場合AとBとは相互に比較毒力を掛けて自由に代行 Substitute することができる。

凹状になる曲線はある Isobole の反応を発現するためには、A と B とは相加作用より僅かな薬量で50%の反応を示すことになる。したがって、凹状曲線は協力作用 Synergism または相乗作用 Potentiation となる。逆に凸状曲線は相加作用より同じ反応を示すために沢山の薬量があるので拮抗作用 Antagonism or Depontiation ということになる。さて第1図-2はX軸のB剤の作用がAに代行することなく、不活性の薬効を持つ場合である。A直線はB剤の薬量がいくら増加してもA剤の作用が変化しないときで Neutrality line と呼んでいる。

B線の場合はBの薬量が増加するにしたがい、協力的な作用が認められる場合である。たとえばY軸のA剤を Pyrethrins, B剤を Piperonyl butoxide にした場合である。逆にC線はB剤を増すにつれて、拮抗作用がある場合である。D線も同じ傾向であるが、ある一定量以上B剤を増しても変化のない場合でB剤はA剤に対し、杜絶剤 Blockade の作用をする。第1図-3はA剤とB剤とがそれぞれ一定量以上になってはじめて等反応を示す場合で、ある限度以上の薬量はお互いに薬効に影響をおよぼさないときである。この種の現象はあまり一般的でないが所謂提携作用 Coalitive synergism といっている。

第1図-4は Gaddum (1952)³³⁾ の提唱した作図で、考え方は第1図-1と同じである。Y軸にA薬剤X軸にB薬剤をプロットする。Y軸上のA薬剤のa点の薬量、X軸上のB薬剤のc点の薬量はそれぞれ単独で、一定の反応を起す点、たとえば50%致死率の反応を示す点である。もし50%致死率が $ad/2$ と $cd/2$ で起るとすれば、A剤とB剤との半量づつの混合で50%致死率を得るので Synergism といえる。a b c の外部では蘇生の作用が起り Antagonism となることを意味する。

第2図-8は Gaddum の作図を三角型にしたもので、a O E でかこまれる三角座標である。Y軸上のa O はA薬剤の等毒量、X軸上のOEはB薬剤の等毒量をとる。A薬剤単独ではa O の長さの薬量で50%なら50%の致死率を示し、X軸のOEの長さの薬量で、B薬剤は50%の致死率を示すことを意味する。c点ではA剤とB剤とは相加作用で50%の致死率を示すことを意味する。b点ではA剤のほぼ $\frac{1}{2}$ の単位薬量とB剤の $\frac{1}{2}$ の単位薬量で希望する50%の致死率を得られるから Synergism といえる。逆にd点ではA剤のほぼ $\frac{1}{2}$ とB剤の $\frac{1}{2}$ の単位薬量がなければ50%致死率を得られないので、Antagonism となる。この三角座標法はニワトリのマ

ラリヤ治療薬を研究した Reilly *et al.* (1950)³⁵⁾ によって利用された。Reilly の Isobole の単位は50%抑制濃度50% Suppressive dose, SD_{50} として計算された。

第2図の5, 6, 7は交互検定法で、いずれもX軸に混合割合をプロットする方法で、Y軸に等毒単位をとるか(第2図-6) Y軸にただの薬量をとるか(第2図-7) 死亡率をとる(第2図-5) かで変わってくる。

Horsfall (1945)²³⁾ は連合作用を定量的に研究するには化学者の滴定操作と同様な考えを導入すべきであると指摘し、単独の薬量、致死率曲線を吟味すると同時に成分間の割合を併立的に変動させることを主張した。すなわち1成分の90%+他成分の10%を取り、さらに80%+20%, 60%+40%, 40%+60%, 20%+80%および10%+90%を採用する。実験結果はY軸には致死率を、X軸には成分間の割合を与える。成分間の割合は左に1成分、右に他成分の単独のものを取り、その2等分点はそれぞれの50%:50%の点とする。この方法は第2図-5に示されている。第2図-5のY軸のSTを結んだ直線は単純相加作用 Simple similar joint action の軌跡である。このY軸は致死率を直接プロットした作図である。ここで協力作用が存在すればC線のように山型の Mode を生ずるし、拮抗作用が存在すれば中間部は谷型となる。

この交互検定法は混合物のそれぞれの薬剤単位の作用直線の傾斜が等しく、すべての割合において等毒的 Equitoxic な比較毒力が一定の場合にだけ正確な分析をすることができるのはいうまでもない。

Sakai *et al.* (1951)^{39,40)} は一定の補正を行なって、接触殺虫剤間の混合剤および連合作用の研究を行なった。

Turner & Saunders (1947)⁵⁰⁾ は DDT と Nicotine との混合 Bentonite 粉剤の研究に Horsfall の交互検定法を使用した。アワノメイガ *Pyrausta nubilalis* の致死率の観察結果から、3部のDDTと1部の硫酸ニコチンの8%, 4%, 2%, 1%の4粉剤および2部のDDTと2部のNicotineの8%粉剤および4%の粉剤は Horsfall の交互検定法によって Antagonism が示された。2部のDDTと2部のNicotineの1%粉剤および3部のNicotineと1部のDDTの8%, 4%, 2%, 1%の4粉剤には Synergism が証明された。

このように Isobole bundle の実験も必要なことがわかり、ただ1種類の混合だけで協力作用があるということはいろいろの観点からもさけるべきであろう。

第2図-5では Similar action の理論線Aが傾いている。これはB剤のS点の致死率とA剤のT点の致死率の混合割合である。しかし第2図-6はこの傾斜を水平にし、両薬剤の一定の反応率(致死率)と1単位とした場合である。第2図-6は Sakai *et al.* (1951)

^{39,40)}によって行なわれ、Y軸の左はB剤、右はA剤の単位となる比較効力 Relative potency をプロットした。たとえばBのS点を50%致死率AのT点を50%致死率とし、それぞれ1単位とする。したがって25%致死率は0.5であり、100%致死率は2単位となる。X軸は左より右に向いA剤の50%致死率を発現する薬量の混合割合を示し、右より左に向いB剤の50%致死率を発現する薬量の混合割合を示している。

たとえば、A剤のLD₅₀が20mg、B剤のLD₅₀が10mgなら、O点の50% : 50%の所ではA剤の20mg × 0.5 (50%) + B剤の10mg × 0.5 (50%) = 10 + 5 = 15mgのAB両剤の合計量の薬量を持つことになる。したがって、SとTを結んだA直線は相加作用の理論値で、C線は協合作用、B線は拮抗作用を示すことになる。実験値はそれぞれの混合割合の点でAの理論線より出ているかどうかをプロットして結び、その面積を測定すれば合計の効果を知らることができる。河野(1967)⁵²⁾はX軸に等毒単位たとえばED₅₀やLD₅₀をとらないでただの薬量の混合割合をプロットしたときには Similar action の軌跡はその単剤の勾配によって上下に弯曲することを述べた。このことは第2図-7のAとBとを結んだ Similar action の線を見てもわかる。さらに6種の勾配の異なる独立作用の理論値を示した。Burchfield & Wilcoxon (1954)⁵¹⁾は連合作用の分析に Dosage-response method と呼ばれる交互検定を發表し、時間の要因を加味した Time-response method も同時に発表した。

Burchfield & Wilcoxon の Dosage-response method はグラフ上のY軸の右にA薬剤の50%反応濃度ED₅₀を取り、左にB薬剤のED₅₀を取る。その場合、たとえばA薬剤のED₅₀が100でB薬剤のED₅₀が200の場合には右側の100のY軸における高さと同側の200のY軸における高さと同水平になるような Scale を作る。X軸には左より右に向ってA薬剤の混合割合を0→1.0に取り、逆に右より左に向って0→1.0のB薬剤の混合割合をとる。そこでY軸の両端を結んだ直線は Similar joint action の理論値となる。第2図-7は Time-response method である。Y軸には50%致死を起させるに必要な時間LT₅₀を取り、X軸には第2図-6

と同様に両薬剤の混合割合をとる。左より右に向いA薬剤の割合を25%、50%、100%というように取り、右より左にB薬剤の混合割合を25%、50%、75%、100%というように取る。第2図-7は時間の要因が含まれているところがほかの Bologram と違う点である。この Bologram 作図をするためには単剤の実験、混合剤の混合割合の実験、それらの混合割合を時間的に観察した実験が必要となる。第2図-7のAとBを結んだ直線は混合剤の平均LT₅₀を示す線で、このAB線の下は Similar action の理論値であり、Similar action より下の部分が Synergism となる。またAB線の上の部分は相異作用 Independent action となり、さらにXに近い部分は Antagonism となる。BX線はB剤単独、AX線はA剤単独で、X点はA、B両剤の等毒点である。この Burchfield の Bologram は第2図-5、6とくらべると Antagonism と Synergism の位置が逆になっていることである。Burchfield の第2図-7の利点は勾配 $b_1 = b_2$ のときに限定されて、AB線より下の部分の曲線は Similar action となり、上の部分を通る曲線は independent action となり、AB線の上か下かで相加か相異作用かが一見して識別できる利点がある。

酒井の交互検定法の計算例⁴⁰⁾(第2図-6)

キイロショウジョウバエ痕跡翅系統 Vestigial *Drosophila melanogaster* に対する γ -BHC と Nicotine との混合剤を浸漬法で実験した。その結果 γ -BHC : $Y = 5 + 2.94(X - 1.14)$, Nicotine : $Y = 5 + 1.54(X - 2.80)$ の作用直線を得た。 γ -BHC の $b_1 = 2.94$, Nicotine の $b_2 = 1.54$ で $b_1 \neq b_2$ なので、Bologram 作図の限定条件からはずれるし、正確性がないが大略の傾向は得られる。できれば $b_1 = b_2$ の場合が望ましい。

γ -BHC のLD₅₀は0.0138%、Nicotine は0.631%であり、 γ -BHCの方がNicotineより有効であった。このLD₅₀値をつぎの混合剤の実験に用いた結果、 γ -BHC単独では66%、Nicotine単独では52.8%となった。そこで左右のY軸を結ぶ直線は勾配を持つことになった。いまグラフ上のX軸に γ -BHCとNicotineの混合割合を交互にとり、Y軸に致死率をプロットし、Y軸の両端の γ -BHCの致死率とNicotineの致死率

第1表 酒井の交互検定法 (γ -BHC+Nicotine)

% γ -BHC	100	90	80	70	60	50	40	30	20	10	0
% Nicotine	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
観察致死率, O	66	76	73	61	89	89	79	83	83	66	53
期待致死率, E	66	65	63	62	61	59	58	57	55	54	53
Relative Potency, O/E	1.00	1.17	1.15	0.98	1.47	1.50	1.36	1.45	1.49	1.22	1.00

とを結んだ Level of Mortality (LM) の直線は $Y = 0.132X + 52.8$ であった。この式から大体の Similar action の期待値 (ここでは $b_1 \neq b_2$ なので正確な理論値ではない) を計算すれば、第 1 表のようになる。

観察値を期待値で割れば Relative potency が得られる。これを作図し、面積を測定した。第 2 図-6 の ST 直線以下の面積は 100 で、この実験の場合は 131 なので 1.31 倍の Synergism の傾向がうかがわれた。

Storrs & Burchfield 交互検定法の計算例^{36,42)}

(第 2 図-7)

コクゾウ *Sitophilus oryzae* に対する Monochlorobenzene と Chloroform との混合 gas を燻蒸法で実

験した。その結果 Monochlorobenzene : $Y = -11.9201 + 13.585 \log D$, Chloroform : $Y = -22.3439 + 13.585 \log D$ の作用直線を得た。

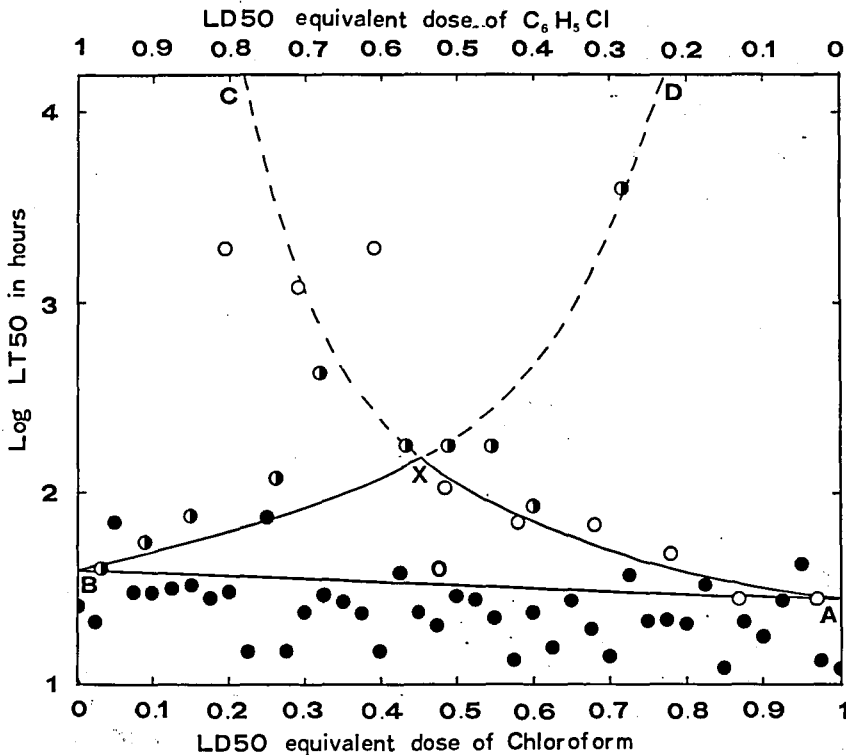
ここでは $b_1 = b_2 = 13.585$ なので交互検定の結果は正確で Bologram の限定条件に入る。

Monochlorobenzene の 24 時間の LD_{50} は 17.6 mg/L で、Chloroform 単独の LD_{50} は 103 mg/L であり、この LD_{50} を Isobole の単位とした。混合剤は $100A + 0B \rightarrow 50A + 50B \rightarrow 0A + 100B$ の交互混合で実験した。その結果は第 2 表、第 3 図に示される。

この実験結果は第 3 図の A と B とを結んだ直線より混合剤は下の部位にあり、Similar joint action の様

第 2 表 Storrs and Burchfield 交互検定法 ($C_6H_5Cl + CHCl_3$)

LD_{50} 単位の混合割合	C_6H_5Cl	100	90	80	70	60	50	40	30	20	10	0
	$CHCl_3$	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
LD_{50} 単位の薬量 Mg/L	C_6H_5Cl	17.6	15.8	14.0	12.3	10.6	8.8	7.0	5.3	3.5	1.8	0
	$CHCl_3$	0	10.3	20.6	30.9	41.2	51.5	61.8	72.1	82.4	92.7	103.0
致死率 24 時間		48	42	40	50	56	48	50	58	54	54	56
48 時間		76	72	76	60	72	56	76	76	82	74	68
$\log LT_{50}$ (時間)		1.4099	1.4829	1.4857	1.3802	1.1790	1.4771	1.3802	1.1492	1.1381	1.2553	1.0792



第 3 図 Storrs & Burchfield 交互検定法の作図例

○……クロロホルム ●……モノクロルベンゼン ●……混合剤

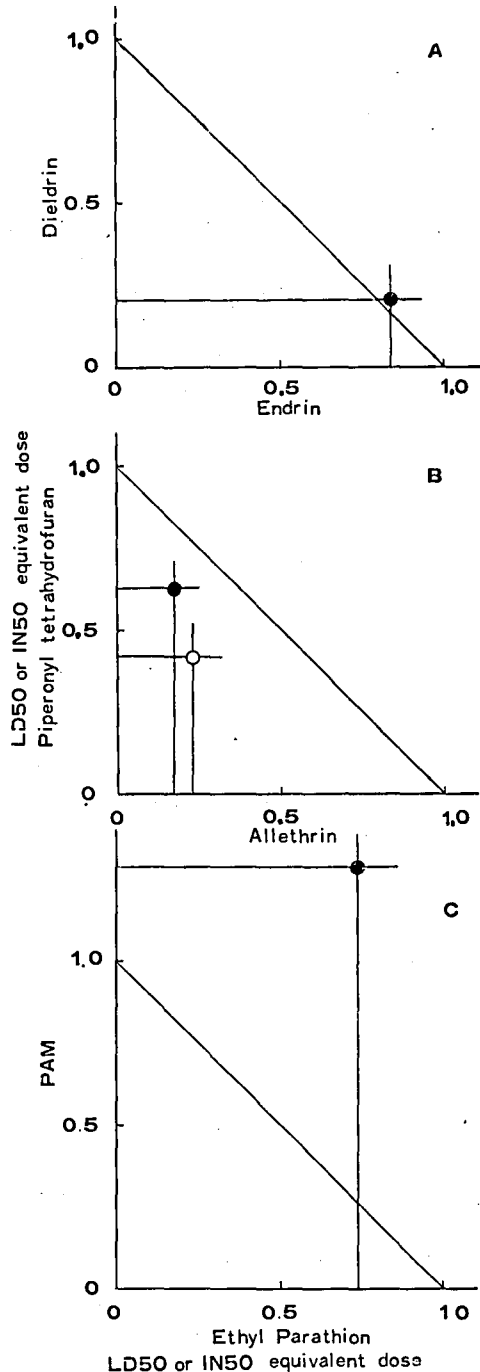
相を呈することがうかがわれた。

三角座標検定法の計算例 (第2図-8)³⁵⁾

酒井 (1960)³⁶⁾ はイエバエ成虫 *Musca domestica vicina* を使用し、いわゆる Film 接触法で Endrin と Dieldrin, Allethrin と Piperonyl tetrahydrofuran の混合剤の実験, Parathion と PAM の混合剤の Cholinesterase 阻害の実験をした。これらの実験から Endrin の LD₅₀ は 0.01%, Dieldrin の LD₅₀ は 0.0741 %, 作用直線は Endrin : $Y = -0.5440 + 0.924 \log D$, Dieldrin : $Y = -1.3479 + 0.924 \log D$, Endrin 36部 と Dieldrin 64部の混合剤は $Y = -0.8677 + 0.924 \log D$, D は薬量 $\times 10^8$, Y は致死率の Probit であった。混合剤の LD₅₀ は 0.0234 % であった。その混合剤の LD₅₀ は Endrin の 0.0084 % と Dieldrin の 0.015 % に配分でき、混合剤中の Endrin の構成薬量の LD₅₀ 単位の Equivalent dose は $0.0084/0.01 = 0.84$ 単位となり、一方 Dieldrin は $0.015/0.0741 = 0.2024$ 単位となる。この両単位値は Isobole の値で、X 軸の Endrin に 0.84 を、Y 軸の Dieldrin に 0.2024 をプロットし、その交点が実験値である。第 4 図-A はその結果で、Y 軸の 1.0 と X 軸の 1.0 とを結んだ直線は Similar action の軌跡である。原点と $Y=1.0$ と $X=1.0$ との三点を連絡した直角三角形のグラフができる。この三角座標の内部に入った実験値は Synergism の領域であり、外部は Antagonism である。この Endrin と Dieldrin との混合剤は第 4 図-A に示すようにほぼ相加作用と認められる。正確にはごくわずかばかり拮抗作用である。Allethrin と Piperonyl tetrahydrofuran との混合剤も第 4 図-B に示されるように協力作用であることが判明する。Ethyl parathion と PAM との混合剤の場合にはその Cholinesterase の阻害は第 4 図-C のように蘇生的な影響があり、Gaddum による第 1 図-4 と一致し、Antagonism である。拮抗作用の場合には X, Y 両軸の単位をも、または一方の軸の単位を 1.0 以上に延長する必要がある。この場合には X 軸の Ethyl Parathion は 0.7368 単位、Y 軸の PAM は 1.2886 単位で 1.0 の延長線上にある。

殺虫剤の連合作用の最近の進歩

酒井 (1960)³⁶⁾ とほぼ同時に英国の Hewlett (1960)¹⁶⁾ は連合作用のすぐれた総説を發表した。ここではおもに数量的な進歩に限定する。Hewlett (1960) は Bliss (1939)⁴⁾ の $y = \alpha_1 + \beta \log (z_1 + kz_2)$ 相加作用の式を $y = \beta \log [\text{anti log } (y_1/\beta) + \text{anti log } (y_2/\beta)] \dots (1)$ の型に変換した。anti log $(y_1/\beta) = h^{y_1/\beta}$, anti log $(y_2/\beta) = h^{y_2/\beta}$ で y は Probit 単位の致死率、 z は薬量、 β は作用直線の勾配で、 h は対数の底 10 である。(1) 式は β を左辺に移し、 $y/\beta = \log (h^{y_1/\beta} + h^{y_2/\beta})$ と変えられる。 $y/\beta = \log_h \chi$ とおけば、 $2 = \log_{10} 100$ のように



第 4 図 三角座標検定法の作図例

$10^2=100$ となる。したがって $y/\beta = \log_e x$ は $x = h y / \beta^e$ である。ここでは $x = h y_1 / \beta + h y_2 / \beta$ だから、 $x = h y / \beta$ に x を代入すれば、

$$h y / \beta = h y_1 / \beta + h y_2 / \beta \dots (2)$$

と表現することもできる。Hewlett は好んでこの型の表現をした。

Stringer (1948)⁴³⁾ は DDT の懸濁液の研究で $\omega = k C^e$ の形で使用薬剤 C と付着薬剤 ω の関係を指摘した。 $h_1 = h_2$ ならその作用直線は平行になり、 $h_1 \neq h_2$ なら分岐する。この概念を Hewlett & Plackett (1950)⁴⁰⁾、Plackett & Hewlett (1952)³³⁾ は作用薬量と使用薬量の関係に拡大した。Bliss (1954)⁴¹⁾ はこの拡大を疑問視している。ともかく、Hewlett と Plackett とは $\omega = \mu z^e$ としてかれらの拡大概念を表現した。いま $\theta = \beta_1 / \eta_1 = \beta_2 / \eta_2$ とすれば (1) 式は $y = \theta \log \{ \text{anti log}(y_1 / \theta) + \text{anti log}(y_2 / \theta) \}$ となり、 $\eta_1 = \eta_2 = 1$ の場合が (1) 式となる。この型の式は平行でない混合剤にある程度適合した。Hewlett 自身は $\eta_1 = \eta_2 < 1$ の場合で、 $\beta_1 = \beta_2 = \beta < \theta$ のときはよく実験値と一致したと報じている。酒井 (1960)³⁹⁾ の場合には部分的にしか実験値と一致しなかった。Sawicki et al. (1962)⁴¹⁾ も 4 種混合について (1) 式の拡張した式を利用した。

そこで、Hewlett らは (1952)³³⁾ に部分的に相加作用を呈する混合剤で相異作用と相加作用の中間の作用一部分的相加 Partially similar action を考えた。また相加作用をする混合剤でも、両剤の作用の相関が完全に正で 100% の完全相関ばかりのはずがないと考え、不完全相関や負の相関を考えた。

たとえば混合剤の両剤が同じ作用点に達するときでも、A 剤はそのまま作用点に行き、B 剤は解毒分解される場合もあるわけで、両薬剤の耐性は不完全相関となる。昆虫学者の Hewlett と数学者の Plackett は共同してこの問題に対処した。まず、両薬剤の作用機構の同一性 Similarity の変数を導入した。その結果、 $\eta_1 = \eta_2 = 1$ のとき、すなわち、 $\omega_1 = \mu z_1^e$ 、 $\omega_2 = \mu z_2^e$ 、 ω は作用薬量、 z は投与した薬量 (使用薬量) である。この場合には作用直線の勾配が $\beta_1 = \beta_2$ のように違っていても、 $\eta_1 = \eta_2 = 1$ なら、

$$\text{anti log} \{ (y_1 - y) / \beta_1 \} + \text{anti log} \{ (y_2 - y) / \beta_2 \} = 1 \dots (3)$$

で実験値と適合すると報じた。これで相加作用の勾配の相違を解決した。ここでは β は勾配、 y は Probit を含む N. E. D 単位の致死率である。この (3) 式は実際に米国の Turner (1955)⁴⁸⁾ の DDT と DFDT, Methoxychlor と DFDT の実験に使って適合したと報じている。では Hewlett & Plackett (1959)²⁰⁾ (1960)¹⁶⁾ は (3) 式をどのように誘導したかを述べる。

まず、昆虫個体に対する作用薬量 ω と実験薬量 z を考え、 $\omega = \mu z^e$ とする。

(Hewlett & Plackett (1959)²⁰⁾ は Bliss (1954)⁴¹⁾

のこの式に対する反駁を否定し、Bliss は (1939)⁴¹⁾ のかれの概念にこだわりすぎるといっている。

$\mu, \eta > 0$ で、 $\omega < z$ となる。 $\eta = 1$ なら、 ω は z に比例して大きくなる。 μ と η とはそれぞれの昆虫個体で違い、 μ と η の作用点における合計の消失、Sites of loss は昆虫の個体によって違う結果となり、個体変異ができる結果となる。

ここで N. E. D 単位の致死率を x とすれば、実験薬量の場合、当然、作用直線は $x = \alpha + \beta \log z$ となり、 z の代りに作用薬量を置換えれば $x = \alpha + \theta' \log \omega$ となる。 θ' は作用薬量 z に対し、正確に作用薬量が測定できれば、 $\theta' = \theta = \beta / \eta$ となる。また $\log \mu$ が偏量 r^2 で正規分布していれば $\theta = \theta' / (1 + \theta'^2 r^2)$ となる。

ここで昆虫の体内の受容器たとえば神経細胞などを考え、その受容器が入ってきた殺虫剤をどれだけ受け入れられるかを考えてみる。

たとえば 100 の実験薬量 z が昆虫体内で 10 の作用薬量 ω となり、それを受け入れる受容器の能力というか耐性が 20 であれば、受容器の能力は 100 の実験薬量によって半分被毒したことになる。このような考え方をし、昆虫体の殺虫剤受容能力を作用耐性 Action tolerance $\tilde{\omega}$ という。したがって $\omega > \tilde{\omega}$ なら昆虫個体は殺虫剤に反応するし、 $\omega \leq \tilde{\omega}$ なら反応しない。単独の薬剤について、生存率 q はつぎのような確率に支配される。

$$q_1 = p_r \{ \omega_1 \leq \tilde{\omega} \}, \quad q_2 = p_r \{ \omega_2 \leq \tilde{\omega} \}$$

混合剤では $q = p_r \{ \omega_1 \leq \tilde{\omega}_1, \omega_2 \leq \tilde{\omega}_2 \}$ となる。

これを死亡率に直せば、

$$p = p_r \{ \omega_1 > \tilde{\omega}_1, \omega_2 \leq \tilde{\omega}_2 \} + p_r \{ \omega_1 \leq \tilde{\omega}_1, \omega_2 > \tilde{\omega}_2 \} + p_r \{ \omega_1 > \tilde{\omega}_1, \omega_2 > \tilde{\omega}_2 \}, \dots (4)$$

となる。

A 剤が B 剤に何倍きくか、そして完全相関なら Simple similar action は $k\omega_1 + \omega_2$ となり、混合剤の生存率は

$$q = p_r \{ k\omega_1 + \omega_2 \leq \tilde{\omega}_2 \}, \text{ または}$$

$$q = p_r \{ \omega_1 + \omega_2 / k \leq \tilde{\omega}_2 \} \text{ となる。}$$

ここで k は比較毒力の係数である。

さて作用耐性 $\tilde{\omega}$ 中に作用薬量 ω がどれだけ占有するかの比率を $\omega / \tilde{\omega} = \delta$ とする。

さらに作用薬量 ω が近接する二つの部位に作用するとすれば

$$\omega = \omega' + \omega'' \text{ のように 2 部分に分けられ、またその比も同様に 2 部分に分けられる。その結果、}$$

$$\delta = \delta' + \delta'' \text{ となる。}$$

δ は作用薬量の占有比率であり、 $\delta' = \omega' / \tilde{\omega}$ 、 $\delta'' = \omega'' / \tilde{\omega}$ である。

個々の殺虫剤の反応はこの占有比率で表現しても勝手である。そこで生存率の型で、この関係を示せば A

剤の生存率は

$$q_1 = p_r \{\delta_1 \leq 1\} \text{ となり, B 剤の生存率は}$$

$q_2 = p_r \{\delta_2 \leq 1\}$ となる。同様に相加作用の場合には混合剤の生存率 q は

$$q = p_r \{\delta_1 + \delta_2 \leq 1\} \text{ となり, } q = p_r \{k\omega_1 + \omega_2 \leq \hat{\omega}_2\}$$

の関係に $\hat{\omega}_2/\hat{\omega}_1 = k$ を代入すれば、混合剤は

$$q = p_r \{(\hat{\omega}_2/\hat{\omega}_1)\omega_1 + \omega_2 \leq \hat{\omega}_2\}$$

となる。独立作用 Independent action にこの関係をあてはめれば、

$$q = p_r \{\delta_1 \leq 1, \delta_2 \leq 1\} \text{ となる。}$$

さて、ここで両薬剤の作用機構、解毒、酵素影響などを加味した変数 ν, λ を導入すれば、作用の同一性の度合 Degree of similarity を測定することができる。

したがって混合剤の生存率は

$$q = p_r \{\nu\delta_1 + \delta_2 \leq 1, \delta_1 + \nu\delta_2 \leq 1\} \dots\dots\dots(5)$$

$$\text{および } q = p_r \{\delta_1^{1/\lambda} + \delta_2^{1/\lambda} \leq 1\} \dots\dots\dots(6)$$

の確率に支配される。

$\nu=0$ か $\lambda>0$ なら両剤の作用は独立的であり、 $\nu=1$ か $\lambda=1$ なら完全正相関の作用であり、その中間の値は部分的に同一性が認められる場合である。また 1 以上になれば相関が認められる結果となる。

はじめにもどって、致死率と実験薬量の関係は一般的に $x_i = \alpha_i + \beta_i \log z_i$ と書ける。その反対の N. E. D 単位の生存率で書けば、 $-u_i = \alpha_i + \beta_i \log \xi_i$ となる。ここで $-u$ は生存率の N. E. D. 単位、 ξ_i は作用耐性である。

この関係において、 $\delta_i = h(x_i + u_i)/\theta$ であり、 $\theta_i = \beta_i/\eta_i$ である。

Plackett & Hewlett (1948, 1952)^{32,33)} は連合作用の薬量と生存率 (逆にいえば致死率) との関係を双変性正規分布の累積の型、すなわち積分型の双変性正規分布で表現し、 ρ を相関係数とした。

$$q = \int_R \int (2\pi)^{-1} (1-\rho^2)^{\frac{1}{2}} \cdot \exp\{-\frac{1}{2}(1-\rho^2)^{-1}(u_1^2 - 2\rho u_1 u_2 + u_2^2)\} / 2(1-\rho^2) du_1 du_2$$

ここで u_1, u_2 は両薬剤の任意薬量である。

$$(2\pi)^{-1} (1-\rho^2)^{\frac{1}{2}} = 1/2\pi\sqrt{1-\rho^2}, \text{ である。}$$

さて、(5)の場合には R は

$h(x_1 + u_1)/\theta_1 + \nu h(x_2 + u_2)/\theta_2 \leq 1$ によって決まる領域であり、(6)の場合には R は

$$h(x_1 + u_1)/\lambda\theta + h(x_2 + u_2)/\lambda\theta \leq 1 \text{ によって決まる。}$$

$\nu=0, \lambda>0, -1 \leq \rho \leq 1$, の場合には手動計算機で計算できる。また $\nu=\lambda=1$ のとき、混合剤の生存率は $q = p_r \{h(x_1 + u_1)/\theta_1 + h(x_2 + u_2)/\theta_2 \leq 1\} \dots\dots(7)$

となり、 $p=1-q$ の生存率と死亡率との関係、 $\rho=+1$, および $\nu=\lambda=1$ の条件を代入すれば

$$(7) \text{式は } h(x_1 - x)/\theta_1 + h(x_2 - x)/\theta_2 = 1 \dots\dots(8)$$

となり、これは正相関 $\rho=+1$ の Similar joint action の一般式である。

さらに、正相関 $\rho=+1$ の両薬剤間の作用様式が全く一致し、作用薬量が実験薬量と比例的な関係 $\eta_1 = \eta_2 = 1$ があれば、単独の薬剤の作用直線が並行でなく、勾配が違っていても、

$$h(x_1 - x)/\beta_1 + h(x_2 - x)/\beta_2 = 1$$

で計算できる。ここで A 薬剤の Probit または N. E. D の致死率を y_1 , B 剤を y_2 , 勾配をそれぞれ β_1, β_2 とすれば、 $\beta_1 = \beta_2$ のとき、

$$h(y_1 - y)/\beta_1 + h(y_2 - y)/\beta_2 = 1 \dots\dots\dots(9)$$

となり、これを(3)式と同様の型に直せば

$$\text{anti log } (y_1 - y)/\beta_1 + \text{anti log } (y_2 - y)/\beta_2 = 1 \dots\dots(10)$$

になり、再び(3)式になるわけである。Plackett & Hewlett (1963)³⁴⁾ は $\rho=+1$, 完全正相関の式を

$$h(x_1 - x)/\lambda\theta_1 + h(x_2 - x)/\lambda\theta_2 = 1$$

と置き、

$\lambda/\eta=1$ で、 $\lambda\theta_i = \beta_i$ としたとき x_i を y_i に置きかえれば(9)式となり、 $\beta_1 = \beta_2 = \beta$ のときは

$$h(x_1 - x)/\beta + h(x_2 - x)/\beta = 1$$

となり、 x_i を y_i に置きかえ、式の型をかえれば(1)式となり、

$\beta_1 = \beta_2 = \beta$ で、 λ/η が 1 でなく、 $\kappa = \lambda\theta = \lambda\beta/\eta$ のときは

$$h(x_1 - x)/\kappa + h(x_2 - x)/\kappa = 1$$

となることを指摘し、この相加作用の 3 作用型を示した。さらに Turner (1955)⁴⁰⁾ の Methoxychlor と DFDT の混合剤が(1)式によって適合する計算例を示した。

Ashford [1958]³⁹⁾ は $h(x_1 - x)/\theta + h(x_2 - x)/\theta = 1$ を用い、 x_1, x_2, x は logit を用いた。

(9)式の y の計算は連続的に最小自乗法など用いて、一番満足な値を入れることもできる。(8), (9), (3)式が Hewlett & Plackett²¹⁾ の提唱する勾配に拘束されない相加作用の実用式といえよう。さて、この(9)式をさらにある致死率、たとえば 50% とか、70% の死亡率水準だけに用いるなら、式はなお簡単になる。

いま、占有比率 $\omega/\hat{\omega} = \delta$ の式を思い出してみる。この概念を拡張して実験薬量 z と混合剤中で働く (作用する) 構成薬量 z' との関係に導いてみる。 z/z' となり、生存率は

$$q = p_r \left\{ \left(\frac{z_1}{z'} \right)^{\eta_1} + \left(\frac{z_2}{z'} \right)^{\eta_2} \leq 1 \right\} \text{ の確率を持つ。}$$

ここで、完全正相関なら、ある一定の致死率水準では、(8)式は $z_1 = D_{m1}, z_2 = D_{m2}$ とすれば、

$$\left(\frac{D_{m1}}{D_1} \right)^{\eta_1} + \left(\frac{D_{m2}}{D_2} \right)^{\eta_2} = 1 \dots\dots\dots(11)$$

となる。ここでは D_1, D_2 はそれぞれ単剤の実験薬量

(混合に関係ない個々の薬量), D_{m1} , D_{m2} はそれぞれ混合剤構成成分の第1の薬剤の成分(実験薬量), D_{m2} は同様に混合剤構成成分の第2の薬剤の成分である。

ここで混合剤構成成分に対し, $D_{mi} = h(x_i - \alpha_i) / \beta_i$, 個々の薬剤に対し, $D_i = h(x_i - \alpha_i) / \beta_i$, $i=1, 2$ である。(10)式は一定の反応水準の(50%とか80%とか, だけの)勾配を異にする完全正相関の Similar joint action に使用する実際式である。

このような式(3), (8), (9), (10式)を用いれば協力作用という言葉は不用になってしまう。Bliss (1939)⁴⁾ はかれの相加, 独立作用の2式を協力作用の基準式とし, Dicke & Paul (1951)¹⁰⁾ は $p_1 + p_2$ ($p_1 + p_2 < 1$ と仮定して)を Synergim, Mather (1940)²⁸⁾ は $p > p_1 + p_2 - p_1 p_2$, $q < q_1 q_2$ すなわち独立作用を基準値とし, Gaddum (1949)¹⁵⁾ は $p > p_1$ か p_2 とした。ここでは p は致死率 q は生存率である。このように協力作用の考え方, 定義も学者によって一定していない。Hewlett²¹⁾ はその代りに $\rho = -1, +1, 0$, を用いて Synergism という言葉を用いてない。

Hewlett (1963)¹⁷⁾ はガイマイゴミムシダマシ *Alphitobius laevigatus* に対する連合作用の研究で, 胸部の中橋板と後脚基節とに別々に薬剤を投与した。この2種の作用部位の連合作用の分析に $y = \theta \log \{z_1^{\rho} \text{anti log}(\alpha_1/\theta) + z_2^{\rho} \text{anti log}(\alpha_2/\theta)\}$ を用いた。この式は勾配 $\beta_1 = \beta_2$, 正相関 $\rho = +1$, の式で, Finney (1947)¹⁴⁾ の混合割合 $\pi_1 + \pi_2 = 1$ を含む式を

$$y = \theta \log \{ \pi_1^{\rho} \text{anti log}(\alpha_1/\theta) + \pi_2^{\rho} \text{anti log}(\alpha_2/\theta) \} + \beta \log z \dots (11)$$

で表現した。ここでは $\theta = \beta_1 = \beta_2 = \beta$ で $\eta = 1$ である。さらに N 個の作用部位に薬剤を施用した場合の一般式

$$y = \theta \log \left[\sum_{r=1}^{\rho=N} z_r^{\rho} \text{anti log}(\alpha_r/\theta) \right] \dots (12)$$

を示した。 y は Probit の致死率, z は薬量である。

さらに(11)式の θ に対し, 作用の同一性の度合の変数 λ と関係する y なる変数を導入した。 $y = \lambda/\eta$ を使用した。 $\lambda = 0$ なら完全な Dissimilarity であり, $\lambda = 1$ なら, 完全同一性である。 $y \geq 0$ であり, y の値は実際には単に殺虫力に関係し, y が大きければ殺虫力も大きくなる。 y を(11)式に代入すれば

$$y = (\beta y) \log \{ \pi_1^{\rho} \text{anti log}(\alpha_1/\beta y) + \pi_2^{\rho} \text{anti log}(\alpha_2/\beta y) \} + \beta \log z \dots (13)$$

となる。近年 Ariëns 一派¹¹⁾ により分子薬理学が盛んになったが, Hewlett & Plackett (1964)²²⁾ は酒井 (1961)³⁰⁾ の相殺作用 Offset joint action と同様な概念について, Ariëns & Simonis (1961)¹¹⁾ と見解を異にして3種の Competitive action の数量化を試みた。2薬剤の1つが Agonist 活性剤, 他が拮抗剤 Antagonist としたとき, 両薬剤の混合剤について

$$x = \alpha_1 + \beta_1 \log \{z_1 / (1 + \psi z_2^{\eta})\} \dots (14)$$

とした。 z_1 は Agonist の薬量, z_2 は Antagonist の薬量, α_1 , β_1 , ψ , η は変数である。この式で $\eta = 1$ なら, 拮抗剤は比例的に作用する。

2種の活性剤の作用は同様な作用様式なら単純には, 相加作用の理論に一致するとした。

活性剤の作用様式が相異なる場合にはそう簡単にモデルをつくることができないとした。 Graded response と Quantal response との相違も考えなければならぬので, Ariëns¹¹⁾ 一派の分子薬理学の学説を直ちに殺虫剤の数量的研究に導入することはできない。

笠井 (1965)²⁵⁾ は集団遺伝学および生化学的手法を用いて独自の連合作用に関する研究を行なった。

その結果, すぐれた独自の生化学的手法によって方法的に作用機構の解明に貢献した。 γ -BHC と界面活性剤およびその誘導体との混合剤が昆虫の表皮膜の透過性を高め, 湿度が殺虫力に影響することを指摘した。また薄層電気泳動法を用いて, 有機燐剤と Carbamate 剤とが Esterase 阻害に関し競争拮抗をする事実を証明した。

笠井の実験はイエバエのよく Control されたいわゆる系統, キイロショウジョウバエの遺伝的な系統を用いて実験した。これらの系統を用いたことが, いわゆる野外のハエを供試虫に用いた実験より実際的に正確であるとは限らない。笠井は滴下法, 接触法, 浸漬法, 幼虫試験法の生物検定法により “Index of Synergism” で協力作用を評価した。

Index of Synergism

$$= \frac{\text{混合剤処理による羽化率}}{\text{単剤処理による羽化率}}$$

である。値が小さいほど, 殺虫効果があるわけである。この割算は単に混合剤が基準の単剤に何倍効くかを表現するにすぎず, 協力作用という概念の数式ということとはできない。

もっとも単純に考えても致死率は Similar action か Independent action よりすぐれていなければならないであろう。笠井の Index of Synergism は比較毒力 k に関するだけである。

キイロショウジョウバエの Knock down の実験で, Naled と乳化剤およびその誘導体との混合剤の実験を行なっているが, 供試虫数が明確でなく, 供試剤の範囲では, Naled と界面活性剤およびその誘導体の混合剤について20分から4分の間に KT_{50} が認められ, 単剤では42分から7分の間に KT_{50} が認められた。このことはある濃度, ある混合割合における2項分布型の個体変異の可能性もあり, ただちに添加剤の影響とみるのはうたがわしい。笠井は初期の連合作用の研究は薬理学から発展したことを指摘し, そのために既往の

研究は昆虫の集団を考えていないようにしているが酒井はそのように考えない。連合作用の数量的研究はある見方では、生態学的というか、個体群というか、集団というか、を含んだ研究態度である。笠井は Plackett & Hewlett (1948)³²⁾ 酒井 (1960)³⁶⁾ を含めた研究者が昆虫の不均一個体群 Heterogeneous constitutions of insect population を考えていないと指摘した。野外の昆虫集団は不均一の場合も多く、いわゆる遺伝学的純系ではない。

これらの不均一集団の Probit-log 作用直線の実験も遺伝学的純系も数量的に直線性を認めて処理できる場合が多いことは多くの実験結果が証明している。(もっともジグザク性を無視するわけではない) たとえ、純系を供試虫に用いても $\omega = \mu_2^2$ の μ, η が違う場合もあるし、 δ の占有比率の相違もあり、個体変異に関する行動は同傾向でその偏差が大きいのか、小さいかであり、純系を用いたからといって個体変異を消去することはできない。不均一にしても均一集団にしてもこの個体変異の存する限り、ジグザク性を考慮に入れて作用直線をつくることができ、Probit analysis を行なうことができる。たとえば雄だけの集団と雌だけの集団との殺虫試験はどちらかが感受性が強いだけで、その作用直線の勾配は変わらないことが多く、また両性の混合集団、ある意味では不均一集団も作図的に同勾配として処理することができる。もっとも感受性にいちじるしい差のあるときは個有の勾配になり、勾配の角度は減少する。

このように考えれば、不均一集団(遺伝的純系の混合割合によって個有の勾配を持つ)も均一集団も個体変異の扱いは同傾向でさしつかえない。したがって、♀の場合にみるように Genetic heterogeneity の観点から、従来の不均一集団の概念を含む理論的な連合作用の体系をくずす必然性は見あたらないと考える。笠井は連合作用のもっとも基礎となる Bliss (1939)⁴⁾、Finney (1942)¹³⁾ とは別に独自の連合作用の体系を組立てた。この両論文には不均一集団にも直ちに應用できる数量的研究が含まれている。笠井の体系は数量的な証明もなく、既往の術語を新語に代えたものが多い。たとえば、Positive synergistic action は Synergism, Negative synergistic action は Antagonism, unchanged action は多分 Similar action, Hetero joint action は Dissimilar joint action の負の Dependent action であろう。笠井³⁵⁾ はかれの Hetero joint action は昆虫集団の Heterogeneous な構成について従来の joint action と区別したが、Negative correlated substance の概念は従来の負の Dependent action と全く一致する概念であるので、抵抗性と感受性を含む Heterogeneous の集団でも一

方だけの Homogeneous な集団でもこの Dependent action の適用をすることができる。抵抗性⇔感受性に個体を配列すればよく理解できる問題である。以上の点から連合作用を従来の理論と区別して Homo joint action, Hetero joint action に区別する必要はないと考える。ただ数量理論の見地から、笠井が不均一集団と均一集団にわけて連合作用を注意して研究すべきであると強調した点は有意義であろう。ここではおもに数量的な分野を扱ったので生化学的見解 Metcalf (1967)²⁹⁾ については別の機会に譲る。

Sun (1960)⁴⁵⁾ はイエバエに対する39種の混合剤の研究を行ない、連合作用の分析法を提唱した。実際的な簡便法であり、個々の殺虫剤の作用直線の勾配が等しい $b_1 = b_2$ のときには有効な方法である。したがって $b_1 \neq b_2$ のときには不正確で大略の値しかでない、ここにも平行性の条件が加味される。

さて Sun (1950)⁴⁴⁾ は毒性指数 Toxicity index (T.I.) を発表した。散布量、散布圧、生死判定の条件、虫令、系統、標準殺虫剤の殺虫率などの物理的、生物的条件を変えても殺虫剤の毒性指数は比較的一定である。

毒性指数 (T. I.)

$$= [\text{標準殺虫剤の } LD_{50} / \text{供試剤の } LD_{50}] \times 100$$

で供試剤がよく効けば (LD_{50} が小さい)、毒性指数は 100 より大きい。

この指数を利用して Sun (1960)⁴⁵⁾ は連合作用の毒性係数 Joint toxicity or Co-toxicity coefficient を発表した。

連合毒性係数は実際の実験によって得た混合剤の LC_{50} (LD_{50} でもよい) と理論的な数値とから組立てられている。

A, B 両剤の混合剤 M について、実際毒性指数を出す。

実際の毒性指数 Actual toxicity index (Actual T. I.) = [A 剤の LC_{50} / 混合剤の LC_{50}] $\times 100$ (9)

理論的な毒性指数 Theoretical T. I. = [A 剤の毒性指数 \times 混合剤 M 中の A 剤の % + B 剤の毒性指数 \times 混合剤 M 中の B 剤の %] $\times 100$ (10)

そこで連合毒性係数はつぎのようになる。

$$\text{連合毒性係数} = \frac{\text{混合剤の Actual T. I. (9)}}{\text{混合剤の Theoretical T. I. (10)}} \times 100$$

また殺虫剤 A と協力剤 S との連合毒性係数は

$$\text{連合毒性係数} = \frac{\text{混合剤 A+S の Actual T. I.}}{\text{A 剤だけの Theoretical T. I.}}$$

$$\times 100 = \frac{[\text{標準剤の } LC_{50} / \text{混合剤 (A+S) のときの A 剤の } LC_{50}] \times 100}{[\text{標準剤の } LC_{50} / \text{A 剤単独の } LC_{50}] \times 100}$$

$$\times 100 = [A \text{ 剤単独の } LC_{50} / \text{混合剤 (A+S) のときの A 剤の } LC_{50}] \times 100 \quad (11)$$

たとえば66.7部の Aldrin と33.3部の Dieldrin の混合剤で、Dieldrin の50%致死率 (LC_{50} or LD_{50}) が0.0046%で、Aldrin が0.0096%であった。そして混合剤は0.0068%のときの連合毒性係数は Dieldrin を標準剤 A とすれば

$$\text{Aldrin+Dieldrin の Actual T. I.} \\ = (0.0046\%/0.0068\%) \times 100 = 67.6$$

また Dieldrin を標準剤にした場合、単なる Aldrin 毒性指数 T. I. は〔標準剤 LD_{50} /供試剤 LD_{50} 〕 $\times 100$ より〔0.0046%/0.0096%〕 $\times 100 = 48$ 、Dieldrin の T. I. は〔0.0046%/0.0046%〕 $\times 100 = 100$ となる。

したがって Aldrin は Dieldrin の0.48倍のききめしかないことになる。

$$\text{さて理論的な毒性指数 Theoretical T. I. は} \\ = [48(\text{Aldrin の T. I.}) \times 66.7\%] + [100(\text{Dieldrin} \\ \text{の T. I.}) \times 33.3\%] = 65.3$$

となる。

そこで Aldrin+Dieldrin の混合剤の連合毒性係数は〔67.6/65.3〕 $\times 100 = 103.5$ であった。値がほぼ100に近いので相加作用といえる。

Sun(1960)⁴⁹⁾の連合毒性係数 Co-toxicity coefficient は両単剤に作用直線の平行性がある場合には、

値が100のとき相加作用 Similar action

値が100より著しく大きい値のとき協力作用 Synergism

値が100より小さいとき独立作用 Independent action

値が100より著しく小さい値のとき拮抗作用 Antagonism

である。Independent action は両剤の $b_1 = b_2$ のときだけ利用できる。

また3種以上N個の組合せのときは

〔(M/A の T. I. (概準値) \times 混合剤 M の A 剤の% + B の T. I. \times M の B 剤の% + C の T. I. \times M の C 剤の%... N の T. I. \times M の N 剤の%) $\times 100$

となる。ここで M は混合剤、また殺虫剤と協力剤の混合剤の場合には (7) 式の [A 剤単剤の LC_{50} /混合剤で用いたときの A 剤の LC_{50}] $\times 100$ から簡単に計算できる。いま Methyl parathion だけの LC_{50} が0.0055%であり、Methyl parathion と1%の Sesamex (これは白灯油より毒性が少ない) の混合剤の LC_{50} が0.015%とすれば、(7) 式より簡単に〔0.0055%/0.015%〕 $\times 100 = 37$ となる。したがって Methyl parathion は Sesamex によって拮抗的に毒力が低下し、この場合は値が100より著しく小さいので拮抗作用 Antagonism といえる。

Sun (1960)⁴⁹⁾の方法は Wadley (1949)⁵⁰⁾の方法より簡単ともいえるが、簡単なので実際に利用されやすい

が作用直線の勾配が平行のときだけしか利用できないので、この方法だけで協力作用があると結論することはさしひかえるべきである。

殺虫剤の連合作用と抵抗性理論との関係

最近、殺虫剤抵抗性昆虫がしばしば出現し、この防止方法と連合作用との関係が考えられてきたが、その理論的研究はほとんどなされていない。この連合作用と抵抗性の問題は Crow (1952)⁹⁾、Demerc (1952)¹²⁾、Bliss (1954)⁹⁾、Metcalfe (1955)²⁹⁾、Turner (1955)⁴⁶⁾、Beard (1957)⁹⁾、酒井 (1960)³⁶⁾、Hewlett (1960)¹⁶⁾、Brown (1961)⁷⁾、荻田・笠井 (1965)³¹⁾、笠井 (1965)²⁵⁾ などによって考えられた。

Demerc (1952)¹²⁾は抗生物質に対する細菌の抵抗性の発達を阻止する方法を指摘した。細菌の抗生物質抵抗性に関して、相互に独立して作用するところの2種の抗生物質の混合剤は突然変異の確率がすくないことを指摘した。細菌では、抗生物質に対する抵抗性の突然変異は独立的に起り、生存した細菌だけが2種の抗生物質の突然変異に遭遇する。単独の突然変異は 10^{-8} の確率で起り、2種の抵抗性の突然変異は 10^{-16} の確率で起り、結局、作用機構の相違する2種抗生物質の協力作用を利用することが細菌の抵抗性発達を防止する道であることを指摘した。

これに反し、Crow (1952)⁹⁾は混合剤は交互使用に比較し、昆虫の抵抗性の発達を促進するという仮説を提唱した。その計算は independent action, 抵抗性の正規分布、複合抵抗などの要因を考えて行なわれた。

酒井 (1960)³⁶⁾は Demerc の説が抵抗性昆虫に適合するなら殺虫剤の連合作用によって抵抗性の発現を防止し、また Crow (1952)⁹⁾の説が正しいなら、交互使用に関係する酒井の擬似連合作用 Pseudo-joint action によって防止することが望ましいと指摘した。

Bliss (1954)⁹⁾は交叉抵抗性に関連して、あるA薬剤について淘汰が行なわれ、抵抗性系統ができた場合は同じ作用様式をもつ他のB薬剤にも部分的な抵抗性が急に発達するとした。またこの場合、作用様式が違えば、A剤の抵抗性系統はB剤に抵抗性にならず、協力作用 Synergism が存在しないとき、両剤は独立作用を呈することが予測できると指摘した。Bliss & Beard (1953)⁹⁾は薬剤の抵抗性の発達について、静的変異 Static variation と動的変異 Dynamic variation を区別した。静的変異とは淘汰によって薬剤の抵抗性が安定している場合で、動的変異は変動する場合である。Beard (1957)⁹⁾は薬剤に対する抵抗性が果して、交互使用や混合剤によって防止できるかどうかを実験した。カメムシの一種 *Oncopeltus fasciatus* の CO_2 と N_2O

の麻酔時間と回復時間を検討し、約10代にわたって淘汰を行なった。麻酔剤の抵抗性は交互使用によって妨害されるとは限らず、また混合剤によってもその発現がおくれるという明白な証拠はつかめなかった。ただ、単剤の場合より交互使用の方が抵抗性の発現がおくれたが、統計的な顕著な有意差は認められなかった。

Hewlett (1960)¹⁶⁾は DDT 抵抗性イエバエが DDT と協力剤の混合剤によってよく防除できた例や Malathion と Dieldrin, Malathion と Perthane の混合剤が Chlordane 抵抗性ゴキブリによくきく例をあげ、殺虫剤間の混合剤や、殺虫剤と協力剤の混合剤が抵抗性昆虫の防除に役立つ可能性を示した。抵抗性昆虫の出現をさけるには、致死量以下の薬量をさけて、できるだけ皆殺しにするような薬量が必要である。そのような広範囲にきく作用直線の勾配はゆるやかな方がよい。A, B 両剤が作用直線の勾配が等しく平行で、相関がなく独立作用として作用すれば、A, B 両剤の混合剤は単独の作用直線の勾配よりゆるやかになり、抵抗性昆虫に皆殺しの傾向を示す。また Negative correlation なら極めて有効である。

また、殺虫剤の抵抗性が特殊な解毒機構に原因があるとすれば、その解毒機構を阻止、または阻害する殺虫剤か協力剤を混合すれば、抵抗性昆虫に有効であることを理論的に指摘し、さらに負の相関 $-\rho$ の混合剤の有効性を指摘し、一般に昆虫に対する生理活性物質の組合せは部分的に抵抗性昆虫の防除に役立つだろうと報じた。

Keiding (1963)²⁰⁾は抵抗性になった昆虫をどうやって元通りにするかを考えた。

まず、殺虫剤の散布をしていない感受性の昆虫個体群で抵抗性昆虫をうすめることである。つぎに淘汰圧をへらして、抵抗性が出現した殺虫剤の使用を控えて、もとの集団になったとき再使用する。さらに Hewlett (1960)¹⁶⁾のように負の相関の殺虫剤を用いることである。また解毒作用に関係する協力剤や負の相関の殺虫剤を抵抗性が出現した殺虫剤に混合して、混合剤として使用する可能性を指摘した。また化学不妊剤や誘引剤、忌避剤、異なる防除技術、生物防除などを挙げて説明し、負相関の理想的混合殺虫剤の発見は大変であると述べている。

連合作用と殺虫剤の抵抗性との関係について、塚本 (1963)^{46,47)}、荻田・笠井 (1965)³¹⁾、笠井 (1965)²⁹⁾ の大阪大学グループの遺伝学的概念の導入は大きな貢献というべきであろう。しかし、Ogita (1958)³⁰⁾ の Negative correlated substance の概念、抵抗性防止の方法論も前述のように先学者の指摘するものが多い。ただ、簡潔明解な論述はこの問題に対する理解を深めるのに大きな貢献をした。

塚本 (1963)^{46,47)} は薬量致死率曲線についてすぐれた見解を発表し、混合集団を使用した殺虫試験の直線性の問題に言及し、直線に引いた Probit-log 作用直線は測定値をふやせば、混合集団換言すれば不均一個体群の数によってジグザク性をあらわすことを指摘し、不均一集団において抵抗性集団と感受性集団の各種の混合割合の殺虫率曲線の型を図解した。この考え方は Hoskins & Gordon (1956)²⁴⁾ によっても指摘されている。この観点から、作用曲線は抵抗性遺伝子数、相互作用、抵抗性と感受性個体の混合割合によって、形状が変化することを指摘した。この抵抗性と感受性個体群によって表現される合成反応曲線の計算はつぎのようにして計算される。

$$p_x = \sum_{i=1}^n p_i \pi_i \quad 18$$

ここである特定の薬量 x について致死率 p_x を考えると、各個体群 n のその薬量の致死率 p_i に各個体群の混合割合 π_i をかけて合成曲線が得られる。 $n=2$ の場合感受性と抵抗性の2個体群のとき、 n は2である。 $3\mu\text{g}$ で抵抗性群が6%、感受性群が99.6%の致死率を示す場合、混合割合が2:98 のときは混合不均一群の致死率は

$$99.6\% \times 0.98 + 6\% \times 0.02 = 97.7\%$$

となる。ここでは $\pi_1 + \pi_2 = 0.98 + 0.02 = 1$ である。この計算をいくつかの薬量で行ない、各点をプロットして、合成曲線全体を知る方法である。これに Hardy-Weinberg の法則や抵抗性遺伝子の1代あたりの変化率 ΔP を説明した。Hardy-Weinberg の法則とはメンデル集団で殺虫剤の淘汰圧や突然変異がなければ、集団の遺伝子組成の混合割合は一定であるということ、これは二項分布を示す。

$p+q=1$ とし、 p を抵抗性の混合割合、 q を感受性の混合割合とすれば、

$$(p+q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 \text{ で } p^2, 2pq, q^2$$

の割合となる。これが親と次代で同じ結果になり、次代でも勾配の組合せによっては混合割合が異なるが、抵抗性 p^2 (rr)、見かけの感受性 $2pq$ (rs)、感受性の Homo 個体、 q^2 (ss) の割合にまとめれば、次代でも $p^2 : 2pq : q^2$ になるということ、Bliss & Beard (1953)⁴¹⁾ の Static variation のことである。Hardy-Weinberg の二項分布の式に近親結婚の内交係数 f を入れたり、淘汰係数 a, b を入れば純系の割合や ΔP が得られる。

しかし、遺伝学的な考えのほか、両薬剤の同一性や相関度を考えれば、作用曲線は複雑化する。そこで遺伝学的な見地にとらわれなければ、またその見地を充分注意して作用曲線を考えれば、塚本 (1963)^{46,47)} とは逆にジグザク型の作用曲線を直線に変換して作用

直線式を考察することも便利であり、曲線の分析より直線（もとはジグザクということをよく注意しながら）の分析の方が数量的に容易であるともいえよう。これは得られた数値に無意味な小数値を付加することは別である。

このようなときは多数の分岐点 Break point で作用直線を結び、それぞれの作用直線について何回も分析すればよい。

実際には5回以上も分岐点を有する作用直線のデータはまれであろう。

荻田・笠井(1965)³¹⁾も抵抗性昆虫の防除にすぐれた見解を発表し、殺虫剤の混合、共力剤の混合、交互使用、逆相抵抗性の利用、(負の依存作用 Negative dependent action と同一概念)、化学不妊剤や微生物製剤などによる各種の手段を指摘した。

ここで交差抵抗性を示す殺虫剤間の混合とそうでない場合の混合に別けて考察した。

ここで交差抵抗性は遺伝学的には一つの遺伝子すなわち一要因によって一連の殺虫剤群に抵抗性を示すことである。荻田・笠井によれば、A剤に抵抗性の集団とA剤に交差抵抗性のないB剤に抵抗性の集団との混合不均一集団はAとBの混合剤に対し有効であることを指摘し、もし両集団で勾配が起れば F_2 では同時にホモの個体が高い頻度で生まれるので、混合剤の効果が低下することをのべた。しかしA剤抵抗性の遺伝子とB剤抵抗性の遺伝子が近接した同一染色体上の台座にある場合は、両者の殺虫剤抵抗性遺伝子を同時に持つ個体の出現頻度は非常に少ないので混合剤の効果は永続することを指摘した。また交差抵抗性を示さない他の殺虫剤の交互使用の有利性も指摘した。

荻田・笠井³¹⁾の見解は野外の集団から見れば、極端な仮定の集団について述べたので、これがただちに野外の複雑な集団における混合剤の役割を論じたと考えるのは早計である。すくなくとも、ここでも混合剤の両親害虫集団、雑種第1代 F_1 集団における有利性は否定できない。

笠井(1965)²⁹⁾は独自の連合作用体系で集団遺伝学的均一性について、Homo joint action と Hetero joint action に分けたことは前述のとおりである。これは既往の連合作用では解析不能のように考えるが、酒井(1966)³⁸⁾、Hewlett(1966)¹⁸⁾は同一の見解を有し不均一の集団の連合作用の笠井の見解は支持できない。

いま抵抗性 R と感受性 S の個体群の混合不均一集団を考えてみる。ここで集団の混合割合(遺伝学者的出現頻度)を $R+S=1$ とし、それぞれの死亡率を P_R および P_S とすれば不均一集団の致死率は $P=RP_R+SP_S$ となる。これを多数の段階の抵抗性と感受性にすれば塚本(1963)^{46,47)}の式と同じ式になる。

$$P = \sum_{i=1}^n P_i \pi_i \text{ であり、ここでは } \pi_1 + \pi_2 = R + S = 1$$

である。

さて、この場合の合成致死率は単剤でも、混合剤でもどちらにも利用できる。

ここで、まず抵抗性集団の連合作用を相加とか、独立作用とかのいろいろの作用様式で分析して P_R を計算し、同様に感受性集団について P_S を計算し、その後 $P=RP_R+SP_S$ の式を利用して混合不均一集団の致死率を計算すれば、いかなる不均一集団でも、既往の連合作用の数量分析を使用することができる。

また雄や雌の混合不均一集団で両性の勾配 $b_s = b_r$ が平行で両作用直線の差が0.5ぐらいの場合、混合剤の Probit-log 薬量曲線は見かけ上直線性を有し、作用直線として処理することができる。この場合には Simple similar action のとき、完全正相関ならば、酒井(1966)³⁸⁾に示すように不均一集団では

$$y = 0 \log(s \text{ anti } \log(\alpha_1/\theta)) + r \text{ anti } \log(\alpha_r/\theta) + 0 \log D_{s,r} \quad (19)$$

となり、混合剤は2次元的に評価できる。ここで $D_{s,r}$ は薬量である。

おわりに

殺虫剤の連合作用の数量理論は今後遺伝因子の導入によって興味深いものになるであろう。また、簡潔な実用性の式も生まれることであろう。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内田俊郎教授に深謝する。

文 献

- 1) Ariëns, E. J. and A. M. Simonis: *Quantitative methods in Pharmacology*, North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 286 (1961).
- 2) Ashford, J. R.: *Biometrika*, 45, 74 (1958).
- 3) Beard, R. L.: *Conn. Agr. Exp. Sta., Bull.*, 611, 45pp. (1957).
- 4) Bliss, C. I.: *Ann. Appl. Biol.*, 26, 585 (1939).
- 5) Bliss, C. I.: *Statistics and Mathematics in Biology*, Iowa. Sta. Coll. Press, 345pp. (1954).
- 6) Bliss, C. I. and R. L. Beard: *Conn. Agr. Exp. Sta., Bull.*, 577, 24pp. (1953).
- 7) Brown, A. W. A.: *Bull. Ent. Soc. Amer.*, 7, 6 (1961).
- 8) Burchfield, H. P. and F. Wilcoxon: *Contr. Boyce Thomp. Inst.*, 18(1), 79 (1954).
- 9) Crow, J. F.: *Nat. Acad. Sci. and Nat. Res. Council Publ.*, 219 (1952).
- 10) Dickle, R. J. and J. J. Paul: *J. Econ. Ent.*,

- 44, 891 (1951).
- 11) de Jongh, S. E.: *Quantitative Methods in Pharmacology*, North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 318 (1961).
- 12) Demerec, M.: *National Acad. Sci. and Nat. Res. Council Publ.*, 219, 67 (1952).
- 13) Finney, D. J.: *Ann. Appl. Biol.*, 29 (1), 82, 330 (1942).
- 14) Finney, D. J.: *Probit Analysis*, Cambridge Univ. Press. Cambridge, 318pp. (1947).
- 15) Gaddum J. H.: *Pharmacology*, 3rd Ed. Oxford Univ. Press, London (1949).
- 16) Hewlett, P. S.: *Adv. in Pest Contrd Research*, 3, 27, Interscience Publ. Inc., New York (1960).
- 17) Hewlett, P. S.: *Ann. Appl. Biol.*, 52, 305, 313, 351 (1963).
- 18) Hewlett, P. S.: Personal communication, March 4 (1966).
- 19) Hewlett, P. S. and R. L. Plackett: *Ann. Appl. Biol.*, 37(3), 527 (1950).
- 20) Hewlett, P. S. and R. L. Plackett: *Biometrics*, 15(4), 591 (1959).
- 21) Hewlett, P. S. and R. L. Plackett: *Quantitative Methods in Pharmacology*, North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 328 (1961).
- 22) Hewlett, P. S. and R. L. Plackett: *Biometrics*, 20 (3), 566 (1964).
- 23) Horsfall, J. G.: *Fungicides and their action*, Chronica Botanica Co., Waltham, Mass. (1945).
- 24) Hoskins, W. M. and H. T. Gordon: *Ann. Rev. Ent.*, 1, 89 (1956).
- 25) 笠井 勉: 防虫科学 30, 73 (1965).
- 26) Keiding, J.: *Bull. WHO*, 29, Suppl., 51 (1963).
- 27) Loewe, S. and H. Muischnek: *Arch. Exp. Path. and Pharmak.*, 114, 313 (1926).
- 28) Mather, K.: *J. Hyg., Cambr.*, 40, 513 (1940).
- 29) Metcalf, R. L.: *Physiol. Reviews*, 35(1), 197 (1955), *Ann. Review Ent.*, 12, 229.
- 30) 荻田善一: *Nature*, 182, 1529 (1958).
- 31) 荻田善一, 笠井 勉: 植物防疫 19(11), 439 (1965).
- 32) Plackett, R. L. and P. S. Hewlett: *Ann. Appl. Biol.*, 35(3), 347 (1948).
- 33) Plackett, R. L. and P. S. Hewlett: *J. Roy. Sta. Soc.*, SB, 14(2), 141 (1952).
- 34) Plackett, R. L. and P. S. Hewlett: *Biometrics*, 19(4), 517 (1963).
- 35) Reilly, J., G. Chen and E. M. K. Geiling: *J. Infect. Diseases*, 86(2), 105 (1950).
- 36) 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).
- 37) 酒井清六: 防虫科学, 31, 91 (1966).
- 38) 酒井清六: 日本応動昆虫学会大会要旨, 19 (1966).
- 39) 酒井清六, 小島建一, 佐藤 稔: 応用昆虫 6 (4), 184 (1951).
- 40) 酒井清六, 佐藤 稔, 小島建一: 防虫科学 16(3), 146 (1951).
- 41) Sawicki, R. M., M. Elliott, J. C. Gower, M. Snarey, and E. M. Thain: *J. Sci. Food Agric.*, 13, 172 (1962).
- 42) Storrs, E. E. and H. P. Burchfield: *Contr. Boyce Thomp. Inst.*, 18(1), 69 (1954).
- 43) Stringer, A.: *Ann. Appl. Biol.*, 35, 527 (1948).
- 44) Sun, Y. P.: *J. Econ. Ent.*, 43, 45 (1950).
- 45) Sun, Y. P. and E. R. Johnson: *J. Econ. Ent.*, 53(5), 887 (1960).
- 46) 塚本増久: 防虫科学, 28, 91 (1963).
- 47) 塚本増久: 植物防疫, 17(6-7), 237 (1963).
- 48) Turner N.: *Conn. Agr. Exp. Sta.*, Bull. 594, 24pp. (1955).
- 49) Turner N.: *Methods of Testing chemicals on Insects*, Burgess Publ. Co., Minneapolis, 1, 314 (1958).
- 50) Turner N. and D. H. Saunders: Bull. 512, 46th Rep. Conn. Sta. Ent., *Conn. Agr. Exp. Sta.*, (1947).
- 51) Wadley, F. M.: *USDA, Agr. Res. Adm.*, ET-275 (1949).
- 52) 河野達郎: 防虫科学 32, 34 (1967).