

The Relation Between Temperature and Toxicity of PCP for the Carp Fish. Studies on the Biological Assay of Chemicals to Fish. VI. Shoji ASANO, Sumio NAGASAWA and Shizue FUSHIMI (Ihara Agricultural Chemicals Institute, Shimizu) Received September 26, 1968. *Botyu-Kagaku*, 34, 13, 1969 (with English Summary 21)

4. PCPのコイに対する毒性と温度.\* 魚毒試験に関する研究. 第6報. 浅野昌司・長沢純夫・伏見静枝(イハラ農薬研究所\*\*) 42. 9. 26 受理.

PCP-Na塩のコイにたいする毒性と温度の関係を, 時間-致死率曲線にもとづいて解析検討した. 温度と致死時間および致死濃度との間には, いずれも直線関係が成立し, 致死作用の温度係数は正であった. 温度 10°Cの上昇にともなう致死時間および致死濃度の変化は, それぞれ 2.23 および 4.82 倍で, PCPの毒性におよぼす温度の影響が大きいことがわかった.

農薬の中には, 魚類にたいして高い毒性を示すものがあり, これは水産業とも関連して, 近年とくに一般の関心も高まっている. ために厳しい使用規制もなされているが, 毒性評価の基礎になる試験方法には, まだ検討されなければならない幾多の問題が残されている. そのひとつは, 毒性と温度との関係である. 農薬が魚類にたいして示す致死作用の温度係数は, おおむね正であることが板沢<sup>1)</sup>, 橋本<sup>2)</sup>, 橋本・菅原<sup>3)</sup>の報告にのべられているが, 詳細に検討されているのはほとんどない. 農薬の魚類にたいする毒性と温度の関係を明らかにすることは, 使用場面への適用は勿論のこと, 異なる温度条件下でなされた試験結果を比較する上にも, また, 薬剤の魚類にたいする薬理作用を究明するためにも重要である. 本報では, 時間-致死率曲線をもとにして, PCPのコイにたいする致死時間, および致死濃度におよぼす温度の影響について調べた結果を述べる.

本文に入るにさきだち, 実験結果のとりまとめに, 御助力戴いた牧田富代子嬢に謝意を表する次第である.

#### 実験材料および方法

供試魚: 体長 3~5cm, 体重 0.6~3.2gの範囲の養殖コイ *Cyprinus carpio* Linné を用いた. これらは使用前 3~6 日間, 餌止めをおこない, 17~18°Cの流水中においた.

供試薬剤: Pentachlorophenol (PCP) のナトリウム塩の再結晶品(純度99%)の濃厚水溶液をあらかじめ調整し, 実験の都度希釈してもちいた.

実験方法: 縦 22cm, 横 17cm, 高さ 30cm のガラス容器に, 所定濃度の薬液 5l を入れ, 所要の温度に調節された恒温水槽中においた. 供試魚を入れた後,

\* 1967年11月18日 日本応用動物昆虫学会・日本昆虫学会両東海支部合同例会(清水)において講演発表.

\*\* 現在クミアイ化学工業株式会社生物研究所.

一定時間ごとに致死個体数を調べた. 致死個体は, 観察の都度取り出した. 生死の判定は, エラの開閉運動の停止を主要な基準とし, さらにピンセットで刺激を与えても反応しないものを致死とみなした. 1容器あたりの供試個体数は, 容器内の濃度が時間の経過にしたがい, 急激に希薄になることのない数を予備試験の結果から定めた. すなわち, 26°CのPCP 10 ppm 溶液を用意し, これに, 1回に5匹ずつ入れ, 各個体の致死時間を調べた. 同一溶液でこの実験を12回までくりかえし, くりかえしごとの平均時間をもとめた. その結果8回までの平均致死時間の間には, ほとんど大きな差はみられないが, 9回以上, すなわち45匹以上のコイを供試すると, 平均致死時間が延長されることがわかった. 同様な試験を 1 ppm 溶液においておこなった結果は, 30匹までは平均致死時間に差がなかった. これらの結果から, 本実験には, 1容器あたりの供試個体数を20~25匹とした.

#### 実験結果と考察

一般に, 生物個体の薬物にたいする反応は, 実験の過程に介在する種々の要因によって左右され, 反応率の評価は, そうした要因を種々限定した条件下でなされるのが普通である. いま時間  $T$ , 濃度  $C$ , 温度  $\theta$  の3つの要因だけを考え, 他のすべての条件を一定にした場合, 致死率  $P$  は

$$P = \phi(T, C, \theta) \dots\dots\dots(1)$$

のような関数  $\phi$  として表わすことができよう. この式は4つの変数を含んでいるので, そのうちのいずれか2つを定めることにより, 他の2つの関係を導き出すことができる. これから導びかれる関係式, およびその相互関係については, 大沢・長沢<sup>1)</sup>の報告に詳細に述べられている. 本実験では  $C$  と  $\theta$  を一定にした場合の,  $T$  と  $P$  の関係, すなわち時間-致死率曲線 (time-mortality curve) を基礎にして, 温度と致死時間, および温度と致死濃度の関係を検討した.

I. 濃度 0.8ppm'における時間-致死率等濃度 (T-P) の曲線と温度の関係

まず PCP 溶液の濃度を 0.8ppm と定めて、その濃度における時間-致死率曲線と温度の関係について調べた。温度条件は、23, 26, 29, 32, および 35°C の 5 段階をとり、実験は 1 回 (1 日) に 4 温度段階ずつ、5 回にわけて第 1 表に示すような順序でおこなった。すなわち、温度段階の数  $v=5$ 、ひとつの温度について実験がくりかえされる回数  $r=4$ 、1 回の実験で比較される温度の数  $k=4$ 、実験回数  $b=5$ 、任意のふたつの温度が同じ実験で比較される回数  $\lambda=3$  となるような「釣合不完備型計画」balanced incomplete block design を採用した。したがって、総数  $N=vr=bk=20$  個の時間-致死率等濃度曲線がえられる。各々の実験は、1 容器に 25 匹のコイを用い、2 回反復した。生死の記録は 5 分おきにおこなった。

生物試験における時間-致死率曲線は、横軸に時間の対数を、縦軸に致死率のプロビットをとると、直線関係を示す場合の多いことが経験的に知られている。このようにとった座標軸に、第 1 表の Block V の実験結果を図示したのが第 1 図で、いずれの温度の場合も、時間と致死率の間に直線関係がよく適合すること

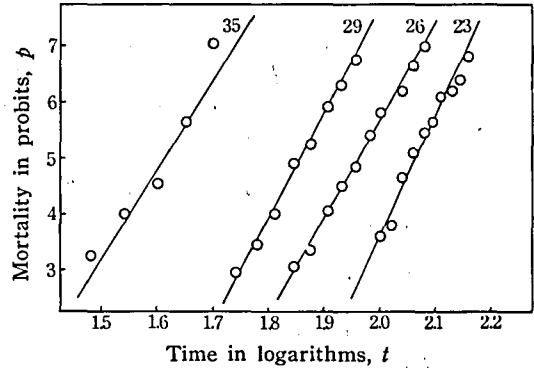


Fig. 1. Time-mortality regression isotherms of the carp fish in 0.8 ppm solution of PCP. Data: Block V shown in Table 2.

がわかる。そこで、Bliss<sup>11)</sup>の complete time mortality curve の解析法<sup>12)</sup>にしたがって、各回帰直線の方程式の算定を行なった。

それぞれの回帰直線の方程式の諸項の数値、50%致死が得られる時間  $LT_{50}$ 、および 95% の信頼限界に関する値を第 1 表に示した。この結果は、用いたコイの大きさの変異にもとづく致死時間の相違を考慮に入れ

Table 1. Characteristics of time-mortality regression isotherms of the carp fish which were immersed in 0.8 ppm solution of PCP under five different conditions of temperature, and the correlation coefficients between lethal times and weights of fishes.

Block	Temperature $\theta$ (°C)	Regression coefficient $b_{\theta}$	Standard deviation $\sigma_{\theta}$	Log median lethal time $\bar{t}_{\theta}$	Median lethal time $\bar{T}_{\theta}$ (min.)	Confident limits for 95% probability (min.)	Correlation coefficient
I	32	11.453	0.08731	1.800	63.0	59.6~66.7	0.296
	29	14.221	0.07032	1.893	78.2	74.8~81.8	0.114
	26	17.416	0.05742	1.983	96.1	92.7~99.7	0.075
	23	22.371	0.04470	2.124	133.2	129.4~137.1	-0.126
II	35	12.758	0.07838	1.586	38.6	36.6~40.6	0.528*
	32	17.214	0.05809	1.778	59.9	57.4~62.5	0.275
	29	16.540	0.06046	1.911	81.4	77.9~85.1	0.105
	26	20.206	0.04949	1.958	90.7	87.8~93.6	0.242
III	35	11.559	0.08651	1.562	36.5	34.5~38.6	0.079
	32	19.798	0.05051	1.792	60.5	59.9~64.0	0.339*
	29	15.468	0.06465	1.922	83.6	80.1~87.3	0.214
	23	15.918	0.06282	2.121	132.0	126.7~137.5	0.154
IV	35	11.436	0.08744	1.415	26.0	24.5~27.6	0.320*
	32	18.318	0.05459	1.699	50.0	48.2~51.8	0.202
	26	19.209	0.05206	1.953	89.8	86.8~92.8	0.345*
	23	19.984	0.05004	2.035	108.5	105.0~112.1	0.249*
V	35	15.982	0.06257	1.611	40.8	39.1~42.5	0.154
	29	18.889	0.05294	1.858	72.1	69.7~74.7	0.260
	26	17.425	0.05739	1.961	91.3	87.7~95.1	-0.019
	23	21.683	0.04612	2.065	116.2	112.9~119.7	0.103

\* Significant at  $P=0.05$

なかったが、大きさの変異と致死時間の間に有意の関係がみとめられた場合は、これを考慮して、致死時間の補正をおこなう必要が生じよう。供試魚の大きさの変異を考慮して、致死時間を補正する試みについては、長沢ら<sup>13</sup>、浅野ら<sup>14</sup>によってさきに報告された。本実験に用いた供試魚の体重と、致死時間との相関係数を求めた結果は第1表第8欄に示すように-0.126~0.528となり、 $P=0.05$ で、有意性の認められたものは、20個中5個であった。今回もちいた範囲の大きさでは、致死時間との関係は、さほど顕著ではないと判断されたので、本実験では、大きさの違いによる致死時間の補正はおこなわれなかったことにした。第1表の中央致死時間の対数値を、最初の実験計画にしたがってまとめたのが第2表である。このような「釣合不完備型計画」にしたがってえられた結果を整理する方法については、Yates,<sup>15</sup> Fisher and Yates,<sup>16</sup> Moore and Bliss<sup>17</sup>によって述べられている。長沢・柴<sup>18</sup>、浅野・長沢<sup>19</sup>も、この実験計画にもとづいた解析例を發表している。実験した日による供試魚の感受性の変動を考慮して補正した各温度段階における  $LT_{50}$  を第3表第3欄にしるした。第2表第5欄 35°Cの他の値と比較してややかけはなれた  $\log LT_{50}$  の値は、他と異なる別の条件の介在があったと考え、この項を欠項と仮定して、釣合不完備型の形に配置された実測値の欠項を推定する Cornish<sup>9</sup> の次式にしたがって、その値の算定を試みた。すなわち、

$$x = \frac{1}{N-b-v+1} \left\{ bBx + \frac{v-1}{k(k-1)} \left\{ k(k-1)Tx - (k-1)Sx - k(Ti + Tj + \dots) + (Si + Sj + \dots) \right\} \right\}$$

ここで、

$x$ : 欠項の推定値

$Bx$ :  $x$  と同じ列の実測値の合計

$Tx$ :  $x$  と同じ行の実測値の合計

$Sx$ :  $x$  の列以外の 35°C を含む他の列の合計

$Gx$ :  $x$  以外のすべての実測値の合計

である。  $N, b, v$ , および  $k$  は釣合不完備型の実験計画にともなう数値で、前述のごとくそれぞれ 20, 5, 5, および 4 である。  $x$  の算定に必要な数値を実験資料から算出すると

	$x(35^\circ\text{C})$	$i(32^\circ\text{C})$	$j(26^\circ\text{C})$	$k(23^\circ\text{C})$
$T$	4.7589	7.0682	7.8541	8.3457
$S$	22.1232	22.4291	22.5267	22.6915

$$Bx = 5.6878$$

上式にこれらの数値を代入して  $x$  を求めると

$$x = \frac{1}{20-5-5+1} \left\{ 5 \times 5.6878 + \frac{5-1}{4(4-1)} \left\{ (4 \times 3 \times 4.7589 - 3 \times 22.1232 - 4 \times 23.2680 + 67.6473) \right\} \right\} = 1.5342.$$

$x$  の推定値は実験値よりやや大きい値が得られた。この値を用いて、再度同様の計算をおこなった結果を第3表第5欄に示した。第3欄と第5欄の数値を比較

Table 2. Effect of temperature on toxicity of PCP in terms of the  $\log LT_{50}$  for each series.

Temperature (°C)	Log median lethal time in block					$V_s$	$W_s$	$Y_s$
	I	II	III	IV	V			
35		1.5862	1.5621	1.4149	1.6106	6.1738	0.3488	6.1803
				1.5342*				
32	1.7996	1.7775	1.7919	1.6992		7.0682	0.0196	7.0686
29	1.8934	1.9107	1.9222		1.8581	7.5844	-1.0270	7.5654
26	1.9829	1.9576		1.9531	1.9605	7.8541	0.4151	7.8618
23	2.1244		2.1206	2.0355	2.0652	8.3457	0.2475	8.3503
$T_s$	7.8003	7.2320	7.3968	7.1027	7.4944	37.0262		37.0264

\* Numerical substitute estimated by the missing value technique of Cornish.<sup>9</sup>

Table 3. Median lethal time of 0.8 ppm solution of PCP to the carp fish under five different conditions of temperature corrected for differences between days.

Temp. (°C)	$\log LT_{50}$	$LT_{50}(\text{min.})$	$\log LT_{50}^*$	$LT_{50}(\text{min.})^*$
35	1.5451	35.1	1.5778	37.8
32	1.7672	58.5	1.7658	58.3
29	1.8924	78.1	1.8874	77.2
26	1.9655	92.4	1.9673	92.7
23	2.0876	122.4	2.0881	122.5

\* Results computed with the value replaced by the missing value technique of Cornish.<sup>9</sup>

すると 35°C の時を除いてほぼ同一の値であるが、この補正された平均値の標準誤差は前者が0.0329で、後者は0.0132となった。この結果から第5欄の値の方がより妥当であると考え、以後の考察には、この値を用いることにした。

第3表第4欄の  $\log LT_{50}$  の値と温度との関係を図示したのが第2図である。第3表および第2図から明らかのように、温度が高くなるにしたがい、PCP のコイにたいする毒性は上昇し、 $LT_{50}$  は小さくなることがわかる。すなわち、PCP のコイにたいする致死作用の温度係数は正であると結論することが可能である。さらに温度と  $\log LT_{50}$  との間に、直線回帰が成立つことを確かめた。また第2図からもわかるように 35°C の場合を除くと、一層良く直線性に適合する。このことは 35°C 以上になると、それ以下の温度条件とは異なる生理的影響をコイにおよぼすのではないかと推察される。

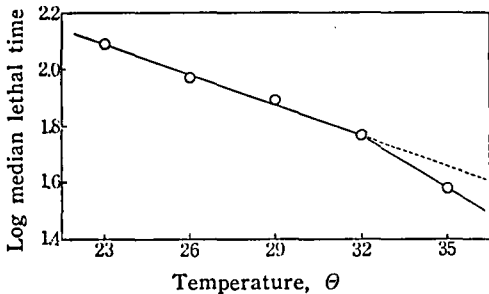


Fig. 2. Relation between temperature and log median lethal time of the carp fish in 0.8 ppm solution of PCP.

35°C の場合を除いた他の温度と  $\log LT_{50}$  の間の関係式を算定すると

$$t = 1.9272 - 0.03489(\theta - 27.5) \dots\dots\dots(2)$$

がえられた。これは(1)式における濃度  $C$  および  $P$  を一定にした時の、温度  $\theta$  と致死時間  $T$  (上式では  $t = \log LT_{50}$ ) の関係を示す式にほかならない。傾き  $-0.03489$  は温度  $1^\circ\text{C}$  の変化に伴う中央致死時間の変化を示している。一般に温度と生物学的過程の反応速度との関係は、直線的であると多くの研究者によって述べられ、種々の実験例が報告されている。温度と速度の関係は数学的にあらわす方法のひとつに  $Q_{10}$  の法則がある。 $Q_{10}$  は温度が  $10^\circ\text{C}$  上昇するにともなう生物の反応速度の変化量で、次の如くに示される。

$$Q_{10} = \left( \frac{K_1}{K_2} \right)^{\frac{10}{t_1 - t_2}}$$

ここで、 $K_1$  および  $K_2$  は、それぞれ温度  $t_1$  および  $t_2$  のときの反応速度である。第3表の各温度における

中央致死時間の逆数を致死速度として、温度との関係を求め、 $Q_{10}$  を算定した結果は 2.23 になった。すなわち、実験温度が  $10^\circ\text{C}$  上昇すると致死速度が約 2 倍増大することを示している。

第1表に示した時間-致死率等温度回帰直線の傾きと温度の関係は、温度の上昇にともない小さくなる傾向がみられる。両者の相関係数を求めると  $-0.6974$  となり  $F$  検定の結果は  $P=0.05$  において有意性が認められた。時間-致死率等温度回帰直線の傾きは、温度が増大するにつれて、ゆるやかになり、コイの PCP にたいする感受性の変異の幅が大きくなることがわかった。

II. 種々の濃度における時間-致死率等濃度 ( $T-P$ ) の曲線におよぼす温度の影響。

前節では、PCP の濃度を一定にした場合の、時間-致死率の関係におよぼす温度の影響について調べたが、つぎに PCP の濃度を変えて、同様な試験を行ない、濃度と温度の関係を検討した。実験は 1 容器あたり 20 匹とし、前節と同様な方法で行なった。温度条件は 35°C を除き 20, 23, 26, 29 および 32°C の 5 段階で行なった。得られた結果を、Bliss<sup>9)</sup> の complete time mortality curve の解析方法にしたがって整理した。時間-致死率等温度回帰直線の方程式の諸項の数値、50% 致死が得られる時間  $LT_{50}$ 、および 50% の信頼限界に関する値を示したものが第4表である。濃度と時間-致死率曲線の関係を温度 26°C について図示したのが第3図である。この図からわかるように、各々の時間-致死率等濃度回帰直線は、ほぼ平行関係にあるが、ある濃度以下になると単一の直線がえられなくなる。26°C の 0.25 ppm では 178 分以後、ほとんど致死個体がなくなり、致死率は、ほぼ一定のまま続く。単一の直線のえられた、0.25 ppm 以外の、各濃度における  $\log LT_{50}$  の値を求め、これを濃度にたいして打点したのが第4図で、両者の間に直線関係がえられた。算定した濃度-時間中央致死率回帰直線の方程式は

$$t = 2.5452 - 0.6271c \dots\dots\dots(3)$$

となった。この関係式は(1)式の  $\theta$  および  $P$  を一定にしたときの  $C$  と  $T$  (上式では  $c = \log C$  および  $t = \log LT_{50}$ ) の関係をあらわす濃度-時間等温度曲線である。この図の縦軸に、ある時間の対数値をとれば、その時間に供試魚の半数が致死する濃度 ( $\log LC_{50}$ ) を読みとることができる。すなわち(3)式の  $t$  に、ある時間の対数を代入すれば、その時間における  $\log LC_{50}$  がえられる。たとえば、24時間後に半数の致死がえられる濃度、すなわち  $LC_{50}$  (24 hrs) は、0.11 ppm と算出される。平均体長 4.6cm のコイを用いて、実際に求めた板沢ら<sup>9)</sup>の報告には、25°C、24時間後の PCP の  $LC_{50}$  は 0.28 ppm であったことが示されている。

Table 4. Characteristics of time-mortality regression isotherms of the carp fish which were immersed in 0.5~16 ppm solution of PCP under five different conditions of temperature from 20 to 32°C.

Temperature $\theta$ (°C)	Concentration (ppm)	Regression coefficient $b_{\theta}$	Standard deviation $\sigma_{\theta}$	Log median lethal time $t_{\theta}$	Median lethal time $T_{\theta}$ (min.)	Confident limits for 95% probability
20	16	13.000	0.07692	1.2825	19.2	17.7~20.7
	8	16.088	0.06216	1.4725	29.7	27.8~31.7
	4	13.238	0.07554	1.6725	47.0	43.5~50.8
	2	20.392	0.04904	1.8555	71.7	68.1~75.5
	1	13.748	0.07274	2.0800	120.2	111.6~129.6
23	16	14.903	0.06710	1.1800	15.1	14.1~16.2
	8	17.361	0.05760	1.3950	24.8	23.4~26.4
	4	19.040	0.05252	1.6075	40.5	38.3~42.8
	2	15.845	0.06311	1.7563	57.1	54.5~59.8
	1	15.126	0.06611	1.9450	88.1	82.3~94.3
26	8	13.680	0.07310	1.2900	19.5	18.1~21.0
	4	14.025	0.07130	1.5092	32.3	30.0~34.0
	2	18.192	0.05497	1.7825	60.6	57.2~64.2
	1	16.197	0.06174	1.9575	90.7	85.1~96.7
	0.5	22.533	0.04438	2.1075	128.1	122.2~134.3
29	8	18.413	0.05431	1.1250	13.3	12.6~14.1
	4	13.755	0.07270	1.3125	20.5	19.1~22.1
	2	12.164	0.08221	1.5225	33.3	30.6~36.2
	1	11.510	0.08688	1.6975	49.8	45.6~54.5
	0.5	10.879	0.09192	1.8300	66.6	61.5~74.3
32	4	10.404	0.09612	1.1200	13.2	12.0~14.5
	2	9.243	0.10819	1.3575	22.8	20.4~25.4
	1	6.971	0.14346	1.5525	35.7	29.0~38.8
	0.5	7.606	0.13147	1.7225	52.8	46.2~60.3

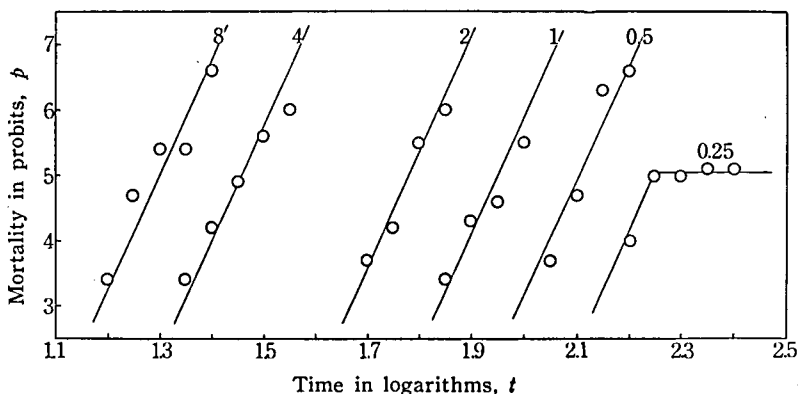


Fig. 3. Time-mortality regression isotherms of the carp fish for 0.25, 0.5, 1, 2, 4, and 8 ppm solutions of PCP at 26°C

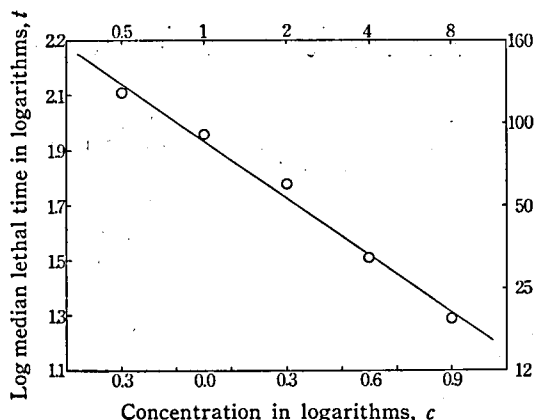


Fig. 4. Relation between concentration and median lethal time in the carp fish-PCP experiment at 26°C

この結果と先の濃度-中央致死時間等温度回帰直線の方程式(3)から算出した値とは、それほど大きな差異を

示していない。LT<sub>50</sub>から演えきして求めたLC<sub>50</sub>の、実測値に近い値がえられることは、ドジョウにたいするPCPの毒性について実験した報告の中に、浅野ら<sup>6)</sup>が示した。LT<sub>50</sub>と濃度の間に一定の関係が明らかにされれば、温度とLT<sub>50</sub>の間にえられる関係が、LC<sub>50</sub>との間にも、ほぼ同じように成立つといえるであろう。

(3)式の関係を26°C以外の濃度-時間等温度曲線について求めた結果を、26°Cのそれとあわせて第5表に示した。各濃度-時間等温度回帰直線の傾きの有意性を、直交多項式係数もちいる方法<sup>10)</sup>で検定した結果、有意性はなく、相互に平行とみなすことができた。そこで、共通の回帰係数もちいて回帰直線の方程式の再計算をおこなった。その結果は、第5表第3欄のごとくで、その関係を図示したのが第5図である。この結果から26°C以外の温度においても、濃度と時間の間に直線関係が成立つことがわかる。第5図から濃度と温度の関係式を導くために、縦軸の中央致死時間に

Table 5. Equations of concentration-time regression isotherms.

Temperature $\theta(^{\circ}\text{C})$	Regression equation	Revised equation with common slope	Median lethal concentration at $T=60$ min. (ppm)
20	$t=2.7253-0.6571c$	$t=2.7071-0.6457c$	2.75
23	$t=2.5834-0.6283c$	$t=2.6113-0.6457c$	1.95
26	$t=2.5452-0.6271c$	$t=2.5694-0.6457c$	1.68
29	$t=2.2724-0.5956c$	$t=2.3376-0.6457c$	0.74
32	$t=2.2034-0.6652c$	$t=2.1810-0.6457c$	0.42

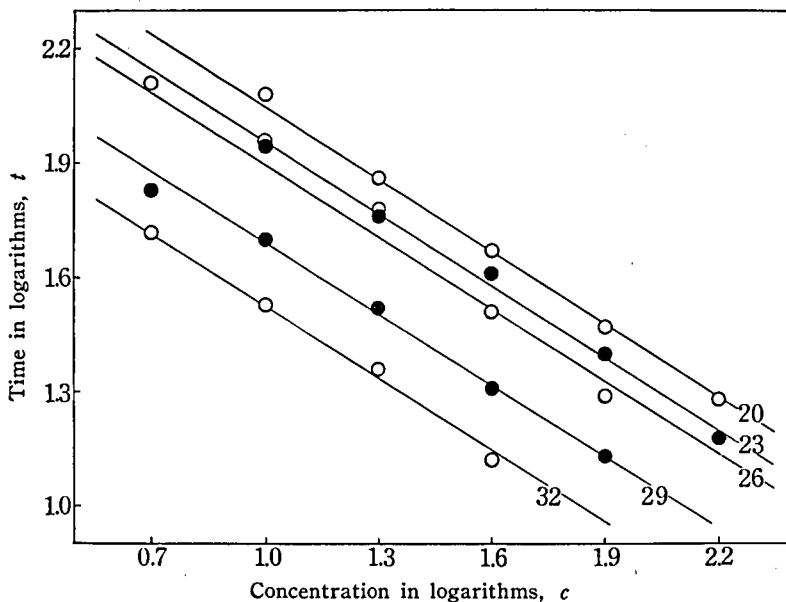


Fig. 5. Time-concentration regression isotherms obtained in the carp fish-PCP experiment under five different conditions of temperature from 20 to 32°C.

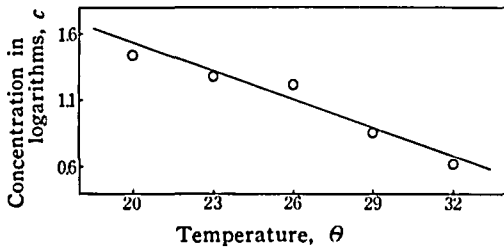


Fig. 6. Concentration-temperature regression isotherms computed based on the figures shown in Table 9. Median lethal concentrations at 60 minutes after immersion were used for computation.

一定の値をあたえ、これに対応する各温度の濃度を求めて両者の関係を考えてみた。中央致死時間を60分とした時の温度と濃度の関係を図示したのが第6図である。両者の間には、直線関係が成立し、その回帰方程式は、

$$c = 1.0888 - 0.06843(\theta - 26) \dots\dots\dots(4)$$

がえられた。(4)式は(1)式における  $T$  と  $P$  を一定にした時の、 $C$  と  $\theta$  の関係を示す温度-濃度等時間  $(\theta - C)_T$  曲線である。回帰係数  $-0.06843$  は、温度  $1^\circ\text{C}$  の変化に伴う中央致死濃度の対数の変化で、さきに求めた  $Q_{10}$  の考え方、温度が  $10^\circ\text{C}$  の上昇に伴う中央致死濃度の変化を求めると  $4.82$  であった。すなわち、実験温度に  $10^\circ\text{C}$  の差がある場合、えられる中央致死濃度が約5倍異なってしまうことが予想される。

以上のことから温度条件の相違を無視して、薬剤の毒性を比較することは適当ではなく、なんらかの補正がほどこされることが必要であるといえよう。温度と濃度との間に(4)の直線方程式がえられたことを利用して、ある一つの温度条件の基準が定められれば、異なる温度条件で求められた致死濃度も温度によって修正することができよう。第5図において、濃度に一定の値をとり、各温度に対応する中央致死時間を求めれば、温度と時間の関係式を導くことも可能である。いま  $0.8\text{ ppm}$  のときの各温度における時間-致死率回帰直線の中央値を読みとり、両者の関係を求めると、その関係式は、

$$t = 1.8928 - 0.04466(\theta - 26) \dots\dots\dots(5)$$

となった。(5)式は温度-時間等濃度  $(\theta - T)_c$  曲線で理論的に(2)と同じ意味をもつものである。(2)と(5)は別々の実験から異なる方法で導き出したものであるが、ほとんど同じ結果が得られた。

Ⅲ. 濃度を温度に換算して求めた温度と致死時間の関係

前節までは(1)式に示した4つの変数のうち、2つを

限定して、他の2つの要因の関係について考察した。ここで、濃度  $C$ 、温度  $\theta$  および致死時間  $T$  の3要因を考えた場合、 $T$  は  $C$  と  $\theta$  の関数として表わされ、重回帰式として同一の式をもって示すことができる。すなわち、実験温度を  $\theta$ 、濃度の対数を  $c$  致死時間の対数を  $t$  とすると、

$$t = a + b_1(\theta - \bar{\theta}) + b_2(c - \bar{c}) \dots\dots\dots(6)$$

と書きあらわされる。Bliss<sup>9)</sup>はカイコガの幼虫に対する砒酸ソーダの毒性試験結果を解析するにあたって、供試個体の大きさの対数を  $x_1$ 、投与薬量の対数を  $x_2$ 、致死時間の対数を  $y$  として、

$$y = a + b_1(x_1 - \bar{x}_1) + b_2(x_2 - \bar{x}_2)$$

の関係式をもとめ、さらに size factor  $h = b_2/b_1$  の考えをいれて、供試個体の体重の変異を、 $z = x_1 + hx_2$ のごとく濃度に換算することによって、単一な回帰方程式  $y = a' + b'(z - \bar{z})$  を導いた。長沢ら<sup>13, 14)</sup>は魚海試験結果の解析にこの size factor の概念を取り入れて、体重を濃度に換算し、大きさの変異にもとづく影響を補正して濃度-時間曲線の算定を試みた。今回、体重の代わりに、濃度を温度に換算して、温度-時間曲線を導いた。(6)式の算出方法は、Bliss<sup>9)</sup>および長沢ら<sup>13)</sup>の報告に述べられているので、計算結果だけをかかげると次のようになった。

$N = 479,$	$\Sigma t^2 = 1,225.574375,$
$\Sigma \theta = 12394,$	$[\theta^2] = 7,732.484342,$
$\Sigma c = 677.058,$	$[c^2] = 93.510068,$
$\Sigma t = 754.125,$	$[\theta c] = -372.511065,$
$\bar{\theta} = 25.874739,$	$[\theta t] = -111.587578,$
$c = 1.413482$	$[ct] = -44.770105,$
$\bar{t} = 1.574374,$	$D = 584,300.64,$
$\Sigma(\theta^2) = 328,424,$	$v_{11} = 0.00015990,$
$\Sigma(\theta c) = 17,146.188,$	$v_{12}, v_{21} = 0.00063699,$
$\Sigma c^2 = 1,037.926736,$	$v_{22} = 0.0132254,$
$\Sigma \theta t = 19,401.2,$	$b_1 = -0.0463610,$
$\Sigma ct = 1,021.1722,$	$b_2 = -0.663055,$

これから(6)式は

$$t = 3.7112 - 0.04636\theta - 0.6631c \dots\dots\dots(8)$$

とあらわされる。 $h = b_2/b_1$  は  $14.3020$  であり、濃度換算温度  $z = \theta + hc = \theta + 14.3020c$  にたいする  $t$  の回帰は

$$t = 1.5739 - 0.04047(z - 46.0904) \dots\dots\dots(9)$$

と単一な回帰式であらわされる。分散分析の方法によって(8)式の重回帰式の全体としての有意性と、各偏回帰係数  $b_1$ 、および  $b_2$  の有意性を検定した結果が第6表で、いずれも有意であることが認められた。(8)式の濃度  $c$  に、ある値を定めれば、(2)および(5)式と同じく温度-時間曲線が求められる。(2)、(5)、および(8)式の回帰直線の傾きは、それぞれ  $-0.03489$ 、 $-0.04363$ 、および  $-0.04636$  で、それぞれほぼ近い数値がえられ

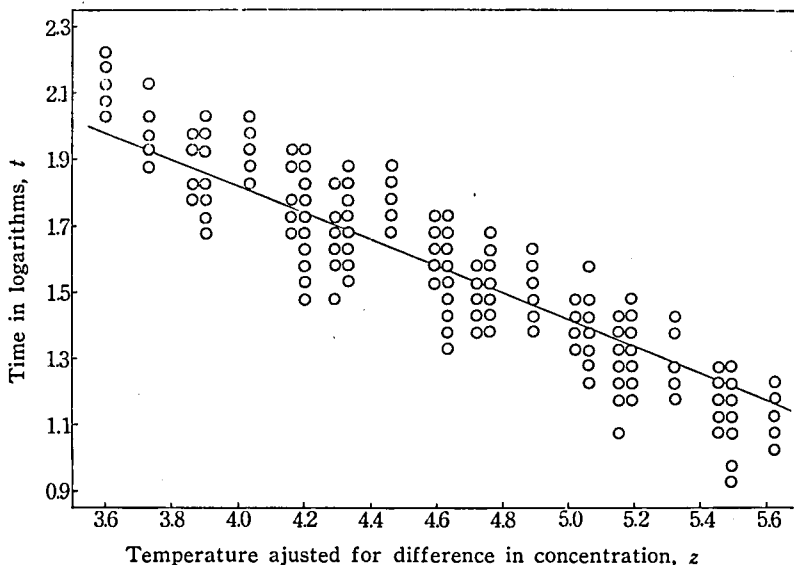


Fig. 7. Toxic action of solution of PCP as determined from the survival time of the carp fishes after immersion,  $t = \log$  minutes, as a function of the concentration of PCP,  $c = \log$  ppm, and temperature,  $\theta = ^\circ\text{C}$ ;  $z = \theta + hc$  is the temperature adjusted for difference in concentration.

た。また(8)式において、温度  $\theta$  を定めれば(3)式と同じく、濃度-時間曲線が導かれる。その傾きは、それぞれ  $-0.6631$  および  $-0.6271$  で、この場合もほぼ同一の値がえられた。また(9)式のように濃度を温度換算し、温度と致死時間の関係を表わすことができる。濃度換算温度  $z$  に対応する各個体の致死時間  $t$  の関係を示したのが第7図である。

以上のごとく PCP のコイにたいする毒性の温度と致死時間および濃度との間には、一定の直線関係が成立つことが確かめられた。また PCP のコイにたいする致死作用の温度係数は正で、温度の影響が大きいたことがわかった。他の薬剤においても同様に、すくなくとも温度の影響があるであろう。なかには昆虫に対する DDT やセブンのように負の温度作用をもつものもあるかも知れない。事実、橋本ら<sup>9)</sup>は DDT のモツゴ

にたいする致死作用の温度係数は、明確な正と言えないことを述べている。

摘 要

PCP-Na塩のコイにたいする毒性と温度の関係を、時間-致死率曲線にもとづいて解析検討した。温度 23, 26, 29, 32 および  $35^\circ\text{C}$  の条件下でえられた 0.8 ppm の中央致死時間は、温度と直線関係を示し、致死作用の温度係数は正であった。 $35^\circ\text{C}$  を除いた他の温度範囲における  $Q_{10}$  の値は 2.23 であった。すなわち実験温度が  $10^\circ\text{C}$  上昇するにともない、致死速度が約 2 倍増大することを示している。各温度における回帰直線の傾きは、温度の上昇とともにゆるやかになる傾向をもち、コイの感受性の変異が大きくなることを示した。温度 20, 23, 26, 29, および  $32^\circ\text{C}$  の条件下におけ

Table 6. Analysis of variance of multiple regression with two independent variates, no restriction in the design.

Term	DF	Sum of squares	MS	F
Combined effect		$\Sigma B^2 = b_1[x_1y] + b_2[x_2y]$		
of $b_1$ and $b_2$	$m=2$	$=34.858334$	$A=17.429167$	$A/s^2=2410.676502$
Test of $b_1$	1	$b_1^2/v_{11}=13.441714$	$B_1=13.441714$	$B_1/s^2=1859.160801$
Test of $b_2$	1	$b_2^2/v_{22}=33.242207$	$B_2=33.242207$	$B_2/s^2=4597.821989$
Residual variation	$N-m-1=476$	$[y^2]-\Sigma B^2=3.441478$	$s^2=0.0072299$	
Total	$N-1=478$	$[y^2]=38.299812$		



る PCP 0.5~16 ppm の中央致死時間を求め、その結果から温度と中央致死濃度の関係を演えきした。両者の間には直線関係が成立し、致死作用の温度係数は正で、 $Q_{10}$  の値は 4.82 であった。致死時間を濃度と温度の関数として重回帰式で示し、さらに濃度を温度に換算する方法によって、温度と致死時間の関係を検討し、両者の間に前とひとしい直線関係が成立することを証明した。

## 引用文献

- 1) 浅野昌司・長沢純夫：防虫科学28, 8~12(1963).
- 2) 浅野昌司・長沢純夫・近藤和信：応動昆 8, 185~190 (1964).
- 3) Bliss, C. I. : *J. Expt. Biol.* 13, 95~110 (1963).
- 4) Bliss, C. I. : *Ann. Appl. Biol.* 24, 815~852 (1937).
- 5) Cornish E. A. : *Ann. Eugenics.* 10, 112~8 (1940).
- 6) Fisher, R. A., and F. Yates: Statistical tables for biological, agricultural and medical research. London. Oliver and Boyd. p. 146 (1963).
- 7) 橋本 康：農薬生産技術 8, 59~64 (1961) 10, 49~53 (1964), 17, 43~52 (1967), 18, 35~45 (1967).
- 8) 橋本 康・菅原寛夫：応動昆5, 145~150(1961).
- 9) 板沢靖男・田村 保：水産増殖 11, 113~126 (1963).
- 10) 増山元三郎：実験公式の求め方, 東京, 竹内書店 (1962).
- 11) Moore, W. and C. I. Bliss: *J. Econ. Entomol.* 35, 544~553 (1942).
- 12) 長沢純夫：農薬 2, 17~26 (1955), 2, 28~30 (1955), 3, 19~24 (1956), 3, 20~23 (1956), 3, 24~27 (1956).
- 13) 長沢純夫・浅野昌司・近藤和信：応動昆 7, 300~306 (1963).
- 14) 長沢純夫・浅野昌司・近藤和信：応動昆 8, 118~122 (1964).
- 15) 長沢純夫・柴三千代：農薬生産技術 16, 13~19 (1967).
- 16) 大沢 济・長沢純夫：防虫科学 10, 42~59 (1948).
- 17) Yates, F. : *Ann. Eugenics* 10, 317 (1940).

## Summary

In the present paper, relationships between the lethal action of PCP-Na salt to the carp fish and temperature were discussed from the statistico-physiological point of view. The original time-mortality data obtained were statistically summarized by the method of complete time-mortality curve. The median lethal times of PCP 0.8 ppm solution were determined under the temperature conditions of 23, 26, 29, 32 and 35°C. A linear relation was obtained between the median lethal time and temperature. The temperature coefficient of lethal action of PCP for the carp fish was proved to be positive. The median lethal time obtained at 35°C, however, was much smaller than those obtained at lower temperature. The value of  $Q_{10}$  calculated for the range of temperature from 23 to 32°C was 2.23. That is, the velocity of lethal action of PCP increases about two times with every 10°C rise in temperature. The slopes of the time-mortality regression isotherms became flatter with rising temperature. This means that the standard deviation of susceptibility in the carp fish became larger with rising temperature. The median lethal times of PCP in the range of concentration from 0.5 to 16 ppm were determined under the conditions of temperature 20, 23, 26, 29 and 32°C. From the results obtained, the relation between temperature and the median lethal concentration was determined. A linear relation was obtained between both variates and the temperature coefficient of lethal action of PCP was also proved to be positive from this experimental data. The value of  $Q_{10}$  calculated was 4.82. The relation between lethal time, concentration and temperature could be determined with a multiple regression equation. From this equation, by transforming concentration into temperature with a factor for equalizing individual differences in lethal concentration, the relation between temperature and lethal time was derived. A similar linearity as that mentioned above was also obtained between these two variates.