

Toxicity and Antiacetylcholinesterase Activity of Propaphos, *O, O*-di-(*n*)-propyl-*O*-4-methylthiophenyl Phosphate, Against the Resistant Green Rice Leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler. Hiroshi HAMA (Division of Entomology, National Institute of Agricultural Sciences, Nishigahara, Kita-ku, Tokyo) Received Oct. 14, 1974. *Botyu-Kagaku* 40, 14, 1975. (with English Summary 18)

3. 殺虫剤抵抗性ツマグロヨコバイに対する propaphos; *O, O*-di-(*n*)-propyl-*O*-4-methylthiophenyl phosphate, の殺虫力とアセチルコリンエステラーゼ阻害力 浜 弘司 (農林省農業技術研究所) 49. 10. 14 受理

ツマグロヨコバイの宮城感受性系統(S)と中川原抵抗性系統(N)およびこの両系統から育成した Rmc 系統に対する propaphos の殺虫力と ChE 阻害力を検討した。この Rmc 系統は N 系統のカーバメート剤抵抗性の主因子(すなわち、薬剤に対し感受性の低い ChE)を、戻し交配とカーバメート剤による選択により S 系統へ導入し、他の抵抗性因子を除いたものである。N 系統に対する propaphos の LD₅₀ は S 系統の約 5 倍であったが、Rmc 系統の値は S と同じであった。ところが、S と Rmc 系統について propaphos 処理後の死虫率を経時的に比較すると、Rmc は S より中毒症状の発現ならびに死亡が早かった。さらに、Rmc の ChE は S の ChE よりむしろ propaphos に高い感受性をもっていることがわかった。なお、propaphos の *in vitro* の ChE 阻害力は概して低かったが、propaphos 処理後の中毒虫の ChE 活性は著しく低下していた。

はじめに

著者らは、ツマグロヨコバイのカーバメート剤抵抗性が、作用点であるアセチルコリンエステラーゼ(ChE)の薬剤に対する感受性低下によることを明らかにし^{1,2)}、この ChE の薬剤感受性低下の現象が本種の有機リン剤(OP)抵抗性の機構にも一部関与していることを示唆した³⁾。しかし、本種のカーバメート剤抵抗性は、すでに OP 抵抗性の発生している地域で出現したため、その地域のツマグロヨコバイの多くは各種 OP にも高い抵抗性を有している⁴⁾。そのため、薬剤に対し感受性の低下した ChE が、各種 OP 抵抗性レベルにどの程度関与しているのか明らかでない。

著者は、この点を明らかにするため、抵抗性系統のカーバメート剤抵抗性の主因子である感受性の低下した ChE を、感受性系統へ導入し、他の抵抗性因子を除いた系統を育成し、この系統に対する各種薬剤感受性およびその ChE の性質を調べることにより、感受性の低下した ChE が各種薬剤の抵抗性レベルに及ぼしている影響を解析している。

その過程で、有機リン剤である propaphos (Kaya-phos®); *O, O*-di-(*n*)-propyl-*O*-4-methylthiophenyl phosphate が、上記の実験室で育成した抵抗性系統の ChE を感受性系統の ChE よりも強力に阻害し、その殺虫力も抵抗性系統に対しより強力に作用することをみだした。

本論文では、この育成系統とその親系統である中川

原抵抗性系統および宮城感受性系統に対する propaphos の殺虫力と ChE 阻害力について報告する。

本文に入るに先だち、日頃ご指導を賜わり、また本論文のご校閲をいただいた農業技術研究所岩田俊一博士に厚くお礼申し上げる。

材料および方法

供試虫: 本実験に用いたツマグロヨコバイ, *Nephotettix cincticeps* Uhler は次の 3 系統である。宮城感受性系統(S系統)と中川原抵抗性系統(N系統)は既報⁴⁾で用いたものと同一であり、N系統は各種カーバメート剤および OP に対し高い抵抗性をもっている。この S, N 系統およびこの両系統より次の方法で育成した抵抗性系統 Rmc の 3 系統を供試した。実験には、羽化後 3~9 日の雌成虫を用いたが、ChE の *in vitro* の実験には、雌雄こみの成虫より調製した酵素液を用いた。

Rmc 系統の育成: S と N の両系統を用い、概略図 1 に示すような戻し交配とカーバメート剤による選択をくり返す方法^{5,6)}により育成した。すなわち、N 系統のカーバメート剤抵抗性は不完全優性で常染色体上の単一因子に支配されているので^{7,8)}、F₁ を S に戻し交配すると、B₁ はカーバメート剤抵抗性因子をヘテロでもつ個体(R/+)と、抵抗性因子をもたない個体(+/+)が 1:1 の割合で生じる。そこで、この B₁ をカーバメート剤で処理することにより R/+ 個体だけを選抜し、それを再び S に戻し交配させた。このような戻し交配とカーバメート剤による選択操作を 4 回

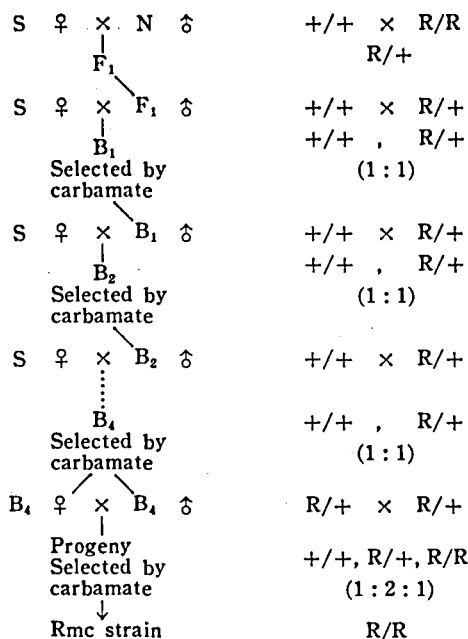


Fig. 1. System of producing Rmc strain by repeated back-crossing under a selection pressure of a carbamate insecticide. Miyagi susceptible strain (S) and Nakagawara resistant strain (N) were used.

くり返した後、R/+個体同志を交配させ、その次世代虫をカーバメート剤で処理することにより抵抗性因子をホモにもつ個体 (R/R) を選抜した。このようにして、N系統のカーバメート剤抵抗性の主因子を、この因子と連鎖していない他の抵抗性因子から選抜・育成した系統を Rmc 系統とよぶ。

カーバメート剤による選抜方法は、成熟幼虫をイネ芽出し苗を入れた飼育ケージにとり、パッサ乳剤 (市販品、50%乳剤) の6,000~10,000倍希釈液を霧吹きで、虫とイネ苗に直接噴霧し、翌日、生き残った虫を別のケージに移した。

交配は累代飼育で行なっている方法と同じ集団交配とした。すなわち、交配に先だち終令幼虫を飼育ケージに移し、羽化してくる雄成虫を除去し、雌成虫だけを別のケージへ集めて未交尾雌をえた。この未交尾雌成虫100~200頭と、交配させる系統の雄成虫50~100頭とを同一ケージへ入れ、自由に交配・産卵させた。

供試薬剤: Propaphos (Kayaphos®), O-O-di-(n)-propyl-O-4-methylthiophenyl phosphite は日本化薬株式会社より供与された原体 (純度94.4%) であるが、ChE の *in vitro* 阻害実験には、これをさらに薄層クロマトグラフィーで精製したものをを用いた。

殺虫試験法: 既報⁹⁾に準じた局所用法によった。すなわち、薬剤のアセトン溶液0.5 μl を、炭酸ガス麻醉させた成虫の背面に局所施用し、処理虫はイネの芽出し苗を入れたポリエチレン容器に入れ、定温室 (27 ± 1.5°C) に置き、24時間後に生死の判定を行なった。経時的死亡率は、上と同一の方法で処理した虫を処理後1, 3, 5, 24時間に、それぞれ別々の容器に収容した虫の反応状態を、次の3段階を基準に観察した。

- 正常虫—みかけ上、無処理虫とかわらない正常個体
- 中毒虫—興奮、けいれん状態にあって、正常な歩行・飛翔が困難な個体
- まひ・死虫—仰転、まひ状態の個体および物理的刺激に反応しない個体

ChE 活性の測定法: 既報^{1,2)}に準じた Hestrin 法と新たに適用した Ellman法⁹⁾の2方法によった。

Hestrin 法—酵素液 1 ml と基質 0.004 M acetylcholine bromide (1/15 M リン酸緩衝液, pH 7.2 で希釈) 1 ml を 30°C で、30分間反応させた後、未分解の acetylcholine を常法により発色させ、540 nm でその吸光度を測定した。

Ellman 法—酵素液0.1~0.5 ml, 基質0.03 M acetylthiocholine iodide 0.1 ml と発色剤として 0.02 M 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid), (DTNB) 0.1 ml を、1/10 M リン酸緩衝液, pH 7.4 で全容 5.2 ml とし、この混合液を 30°C で、10~15分間反応させた後、0.01 M eserine sulfate 0.1 ml を添加し酵素反応を停止させ、412 nm でその吸光度を測定した。

ChE の *in vivo* 阻害: 殺虫試験法のところで述べた propaphos 処理虫の反応を経時観察したと同一の虫を用い、そのChE活性を、正常虫、中毒虫、まひ・死虫の3段階に分けて測定した。処理虫は直ちに凍結し、測定は1週間以内に行なった。なお、処理後0時間のサンプルは薬剤施用後直ちに凍結したものである。

ChE 活性の測定は、各サンプルから任意に5頭の雌成虫をとり、3 ml の蒸留水で homogenize したものを酵素液とし、前述の Ellman 法により測定した。それぞれの ChE 活性は無処理虫の ChE 活性を 100 とした相対値で示した。

ChE の調製: ChE の *in vitro* 阻害実験に用いた酵素液は次のようにして調製した。まず、雌雄こみの成虫をその10倍量の蒸留水で homogenize し、700 g で10分間冷却遠心分離機にかけククラなどを除いた。次いで、その上清を 105,000 G で60分間超遠心分離機にかけ、その上清をすて、沈澱物を適量量の蒸留水に溶解し、これを酵素液とした (この700 g 上清部にあって、105,000 G で沈澱する部分を ChE rich fraction とよぶ、考察を参照)。

ChE の *in vitro* 阻害: 既報^{1,2)} に準じた方法で propaphos の ChE 阻害度を測定した。すなわち、阻害剤のアセトン溶液を一定量とり、アセトンを蒸発させた後、酵素液を加え 30°C で 15 分間阻害させ、次いで基質を加え未阻害の ChE 活性を測定した。測定は前述の Hestrin 法と Ellman 法の両法による。

結 果

1. Propaphos の殺虫力

S, N, Rmc の 3 系統に対する propaphos の薬量-死虫率の関係は図 2 のようで、各系統の LD₅₀ は S, Rmc 系統で 0.86 μg/g 体重、N 系統で 4.0 μg/g であった。N 系統の LD₅₀ は S 系統の値より約 5 倍高く、Rmc 系統の値は S 系統の値まで低下していた。

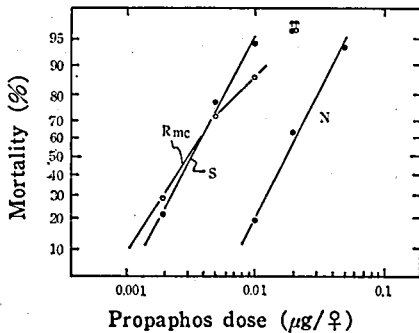


Fig. 2. Relationship between dosage of propaphos and mortality of S, N and Rmc strains at 24 hr after topical application. ↑: 100% mortality

次に、S と Rmc 系統について、propaphos 処理後の死虫率を経時的に観察、比較した。その結果は図 3 のようで、Rmc 系統は S 系統より中毒症状の発現および死亡が早かった。すなわち、1 雌当り propaphos 0.015 μg 処理した場合、Rmc 系統では処理後直ちに中毒個体があらわれ、死虫率は徐々に上昇したが、S 系統では処理後 3 時間まで反応個体はみられず、中毒個体の出現はそれ以後であった。しかし、24 時間後には両系統ともほぼ 100% の死虫率に達している。0.005 μg 処理の場合も、上の場合と同様の傾向を示し、中毒個体の出現は Rmc 系統では処理後 1 時間からであるのに対し、S 系統では処理後 5 時間以後であった。

2. Propaphos による *in vivo* の ChE 阻害

前項で、S, Rmc 系統について propaphos 処理後の死虫率を経時的に観察したが、それらの虫の ChE 活性を測定し図 3 に併記した。両系統とも、中毒虫およびまひ・死虫の ChE 活性はいずれのサンプルも対照の 25% 以下であった。一方、正常虫の ChE 活性は

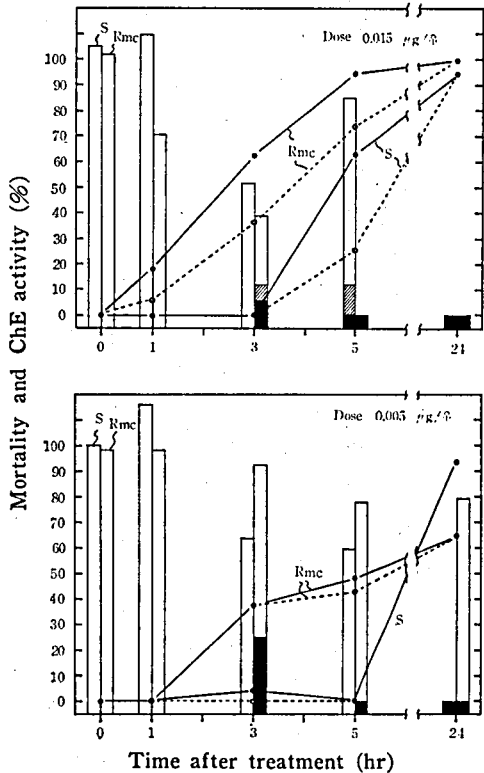


Fig. 3. Mortality and ChE activity of S and Rmc strains after topical application of propaphos.

Mortality (%): Solid lines show poisoned insects and paralyzed and dead insects. Broken lines show paralyzed and dead insects.

ChE activity (%): Hollow bars show normal insects. Oblique bars show poisoned insects. Solid bars show paralyzed and dead insects. ChE activity was determined by the Ellman method, using the homogenate of 5 female adults in 3 ml of distilled water as enzyme source for one sample.

40~120% でサンプルによる変動が大きかった。この変動は、図 3 に示す ChE 活性と死虫率の経過を比較してみると、正常虫としてサンプルした中に、見かけ上正常であっても中毒症状の発現限界にある個体が種々の割合で含まれている結果と推定される。

たとえば、propaphos 0.015 μg 処理の場合、Rmc 系統は処理後直ちに反応個体があらわれ、5 時間後には大部分の個体は死亡しているが、その間、正常虫の ChE 活性も徐々に低下している。S 系統では処理 3 時間後の正常虫の ChE 活性は約 50% と低いが、その

2時間後には正常虫のうちの中毒発現限界にある個体が死亡し、その結果5時間後の正常虫のChE活性は逆に85%と高くなったものと考えられる。

3. Propaphos による *in vitro* の ChE 阻害

S, Rmc 2系統の homogenate より調製した ChE rich fraction (材料および方法, 参照) を酵素液とし, propaphos の ChE 活性阻害度を測定した。その結果は図4に示すように, Rmc 系統の ChE は S 系統の ChE に比べ, Hestrin 法, Ellman 法のいずれの測定法でも propaphos に, より高い感受性を示した。ChE 活性に対する propaphos の I_{50} は Rmc 系統で $7.5 \times 10^{-6} M$, S 系統で $>10^{-4} M$ であった。

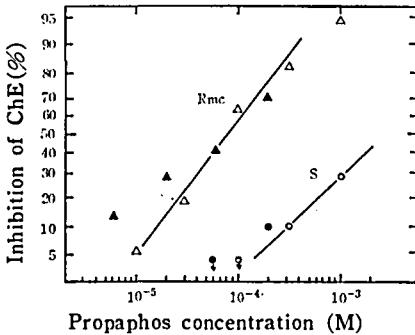


Fig. 4. Inhibition of ChE activity of S (circle) and Rmc strains (triangle) by propaphos. Pre-incubation with inhibitor was carried out at 30°C for 15 min. ChE activity was determined by the Ellman method (solid) and the Hestrin method (hollow), using the 'ChE rich fraction' prepared as follows. The homogenates of male and female adults in 10-fold volume of distilled water were centrifuged at 700g for 10 min, and supernatants were centrifuged at 105,000 G for 60 min. Pellets thus obtained were suspended in distilled water and used as enzyme sources of ChE.

↓: inhibition not detected

考 察

S と N 系統を用い, 戻し交配とカーバメート剤による選択をくり返す方法により, N 系統のカーバメート剤抵抗性の主因子を S 系統へ導入・育成した Rmc 系統は, カーバメート剤に対し N 系統と同程度ないしはやや低い抵抗性レベルを維持していることと, その ChE はカーバメート剤に対し N 系統の ChE と同程度の感受性低下を示すことが確認されている¹⁰⁾. よって, Rmc 系統は, N 系統のカーバメート剤抵抗性の主因子である薬剤感受性の低い ChE, いわゆる "modified

ChE" を保有していて, そのためカーバメート剤に高い抵抗性を保持しているといえる。一方, このカーバメート剤抵抗性の主因子と連鎖していない N 系統の遺伝子群は, S 系統への戻し交配により, かなりの部分が除去されて, Rmc 系統の遺伝子組成は S 系統のそれに近くなっているはずである。

さて, この Rmc 系統に対する propaphos の LD_{50} は S 系統の値まで低下していたが, このことは N 系統の propaphos に対する感受性低下⁴⁾ (N 系統の LD_{50} は S の値の約 5 倍であった) が, カーバメート剤抵抗性の主因子とは異なる別の因子によって示している。

S, Rmc 系統について, propaphos 処理後の死虫率を経時的に比較した場合, Rmc 系統の方が S 系統に比べ, 明らかに中毒個体の出現および死亡が早かった (図3)。この結果は, Rmc 系統の modified ChE が S 系統の ChE より propaphos に対してむしろ高い感受性をもっていることを示唆する。事実, *in vitro* の ChE 阻害実験により, Rmc 系統の ChE は S 系統の ChE より propaphos に強力に阻害されることが明らかにされた (図4)。

ところで, 精製されていない酵素液を用いたこの種の試験では, 加えた阻害剤が酵素液に含まれる薬物分解酵素によって分解される可能性や, ChE の基質が ChE 以外の酵素によって分解される場合, さらに酵素液に含まれるある種の物質と阻害剤との相互作用なども考えられ, 阻害剤の I_{50} 値を比較する場合には, これらの点を十分考慮しなければならない。

著者は, ツマグロヨコバイの homogenate を遠心分離し, 各分画について ChE と aliesterase の活性を測定した結果, aliesterase 活性は大部分が 105,000 G 上清部に含まれているのに対し, この分画に含まれる ChE 活性は 10% 程度であって, 大部分の ChE 活性は 700 g 上清部にあって, 105,000 G で沈澱する部分 (この分画を ChE rich fraction とよんだ) にあることを明らかにしている⁸⁾。

In vitro の阻害実験には, この ChE rich fraction を用いているので, aliesterase などの影響は無視できる。また, *in vitro* の薬物分解活性は一般に *in vivo* に比べ非常に低いことが知られており, 特に Ellman 法ではかなり希釈した酵素液を用いていること, さらに, Rmc 系統の遺伝子組成は S 系統のそれに近くなっていること, などから, 上述の S と Rmc 系統の ChE に対する propaphos の I_{50} 値の差は, Rmc 系統の modified ChE が S の ChE に比べ propaphos に対し高い感受性を有する結果といえよう。

ところで, カーバメート剤抵抗性 ツマグロヨコバイの出現で発見された薬剤感受性の低い modified ChE

は、普通の感受性を示す ChE に比べ、各種カーバメート剤および malathion, malaoxon に対し、 I_{50} で数倍から数十倍低い感受性を示すことが明らかにされているが^{1),3)}、これらの薬剤とは反対に、modified ChE をより強力に阻害する propaphos の存在がここに明らかにされたわけである。なお、propaphos のように modified ChE をより強力に阻害する薬剤として、他に diazoxon [*O, O*-diethyl *O*-(2-isopropyl-4-methyl-6-pyrimidinyl) phosphate], pyridafenthion-oxon [*O, O*-diethyl *O*-(3-oxo-2-phenyl-2*H*-pyridazine-6-yl) phosphate] がみいだされている¹⁰⁾。このような薬剤の存在は、現在問題になっているカーバメート剤抵抗性ツマグロヨコバイの防除剤の探索になお明るい見通しがあることを示唆するものといえよう。

一般の有機リン剤やカーバメート剤は、いずれも ChE を阻害することによって殺虫作用を示すといわれ、殺虫力を有する OP やカーバメート剤は、そのままの形あるいは P=S 化合物はその P=O 体が、強力な ChE 阻害剤であることが知られている。ところが、P=O 化合物である propaphos はツマグロヨコバイに対し強力な殺虫力を示すにもかかわらず、*in vitro* の ChE 阻害力は概して低い。特に、S 系統の ChE に対する propaphos の阻害力は、 2×10^{-4} M で 10%、 10^{-3} M でも 30% 程度の阻害しか示さなかった (図 4)。それにもかかわらず、propaphos 処理後の中毒虫およびまひ・死虫の ChE 活性は、S, Rmc 両系統とも対照の 25% 以下に低下しており、一般に知られている ChE 阻害剤としての特徴を示していた (図 3)。

このように、propaphos はツマグロヨコバイに対し高い殺虫力を示すにもかかわらず、*in vitro* の ChE 阻害力は低い。この点については次の 2 つの可能性が考えられる。すなわち、propaphos が *in vivo* でより強力な ChE 阻害力をもつ化合物に代謝される場合 (すなわち、propaphos の thioether が sulfoxide, sulfone に酸化される場合) と、propaphos によりリン酸化された ChE (dipropyl phosphorylated ChE) が比較的安定であって、*in vivo* で ChE の阻害が徐々にすすむ場合である。これらの点については、propaphos とその関連化合物を用い検討中である。

文 献

- 1) Hama, H. and T. Iwata: *Appl. Ent. Zool.*, 6, 183 (1971).
- 2) 浜 弘司, 岩田俊一: 応動昆, 17, 154 (1973).
- 3) Iwata, T. and H. Hama: *J. Econ. Entomol.*, 65, 643 (1972).
- 4) 岩田俊一, 浜 弘司: 防虫科学, 36, 174 (1971).
- 5) Crow, J. F.: *Ann. Rev. Entomol.*, 2, 227 (1957).
- 6) Oppenoorth, F. J.: *Ann. Rev. Entomol.*, 10, 185 (1965).
- 7) 浜 弘司, 岩田俊一: 昭和46年度応動昆大会講演 (1971).
- 8) 浜 弘司: 未発表
- 9) Ellman, G. L., K. D. Courtney, V. Andres, Jr. and R. M. Featherstone: *Biochem. Pharmacol.*, 7, 88 (1961).
- 10) 浜 弘司: 昭和49年度応動昆大会講演 (1974).

Summary

The resistance of the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler, to carbamate insecticides is due to low sensitivity of acetylcholinesterase (ChE) to these insecticides (ref. 1, 2). Carbamate-resistant strains of this insect also showed high resistance to organophosphorus insecticides (OP), because the carbamate-resistance occurred in the areas where OP-resistant hoppers had already distributed. To what extent the less sensitive ChE participates in the OP-resistance is not distinct.

The carbamate-resistance of the Nakagawara strain (N strain) is controlled by a partially dominant single gene allele (ref. 7). This carbamate-resistant gene of N strain was tried to introduce into the gene constitution of the Miyagi susceptible strain (S strain) by repeated back-crossing through four generations under the selection pressure of a carbamate insecticide. Progeny of back-crossed generations (B_1 to B_4) segregated into two populations, one possessing resistant heterozygotes (R/+) and the other susceptible homozygotes (+/+) at the ratio of 1:1 (Fig. 1). The former population was selected under the pressure of a carbamate insecticide at full-grown larval stage. Further selection under the carbamate pressure gave rise to a population possessing resistant homozygotes (R/R), which was referred to as Rmc strain.

This Rmc strain showed resistance to carbamate insecticide at the almost same degree as N strain, and its ChE showed a low sensitivity to a carbamate insecticide as was the case of N strain (ref. 10). In Rmc strain, the other resistant factors not linked to the main carbamate-resistant factor of N strain was apparently eliminated

through the back-crossing to S strain; and the gene constitution of Rmc strain bears a resemblance to that of S strain.

The LD₅₀ values of propaphos, *O*, *O*-di-(*n*)-propyl-*O*-4-methylthiophenyl phosphate, at 24 hr after topical application were 0.86 μg/g of body weight of a female adult for S and Rmc strains and 4.0 μg/g for N strain (Fig. 2), indicating that a 5-fold resistance of N strain to propaphos is not due to the less sensitive ChE, but to other factor (s).

Though the LD₅₀ values of propaphos to S and Rmc strains were not different, poisoned symptom and death were observed distinctly earlier in Rmc strain than in S strain (Fig. 3). These results suggest that the less sensitive ChE of Rmc is more sensitive to propaphos than the enzyme of S strain, that was confirmed by an experiment on the inhibition of ChE *in vitro*. The ChE of

Rmc strain was inhibited by propaphos more strongly than the enzyme of S strain, showing $7.5 \times 10^{-9} M$ as I₅₀ value of propaphos for Rmc strain and $>10^{-8} M$ for S strain (Fig. 4).

The ChE activities in poisoned insects and paralyzed and dead insects by the topical application of propaphos were below 25% of normal individuals (Fig. 3).

Propaphos was a relatively poor inhibitor of ChE of this insect *in vitro*, but showed a strong lethal effect *in vivo*. These results suggest following two possibilities: (1) propaphos is converted to a more potent inhibitor *in vivo*; namely, thioether moiety of propaphos is activated to the corresponding sulfoxide and/or sulfone; (2) phosphorylated ChE by propaphos, i. e., dipropyl phosphorylated ChE, is relatively stable to bring about inhibition of ChE gradually.

Effectiveness of Insecticide Emulsifiable Concentrates on *Cryphalus fulvus* Niiijima living beneath the Bark of Pine Trees. Studies on the Control of Forest Insects. VIII. Sumio NAGASAWA and Shoji ASANO (Life Science Research Institute, Kumiai Chemical Industry Co., Ltd. Kikugawa, Shizuoka Pref. 439) Received November 11, 1974. *Botyu-Kagaku* 40, 19, 1975. (with English Summary 26)

4. マツの樹皮下に穿入したキイロコキクイムシに対する殺虫剤の有効度, 林業害虫の防除に関する研究 第8報 長沢純夫, 浅野昌司* (クミアイ化学工業株式会社生物科学研究所) 49. 11. 11 受理

枯れたマツの樹皮下に穿入した, キイロコキクイムシに対する6種の乳剤の有効度を, 4段階の濃度に希釈した薬液に被害木を浸漬し, それから羽化脱出する成虫の数を, 1週間おきに3回数える方法によって評価した。得られた成虫数に k をくわえた値の対数変換値, 非加重プロビット変換値, およびプロビットを用いる最尤法計算によってえられた, 中央値にもとづく3つの方法によって, 供試試料の相対有効度を算定した。それら3方法の結果は概ね一致し, 有効度はエルサン>EPN>マラソン>スミチオン>ジメトエート>ダイアジノン乳剤の順に低下した。

マツの樹枝部を加害し羽化脱出する, キイロコキクイムシ *Cryphalus fulvus* Niiijima の空間分布は過大分散で, 負の二項分布に近似できることは先に報告した⁹⁾。そしてこの知見を基礎に, 被害樹枝部に処理した殺虫剤の, キイロコキクイムシに対する有効度を見積るためのひとつの生物試験法を述べた⁹⁾。それは, 処理薬剤の濃度と, 羽化脱出する成虫数との関係に, Wadley¹²⁾ のプロビットを用いる濃度-反応率曲線の最尤推定法を適用, その間に用いられる補助変数 z を省くことによってこれを簡便化し, 重み係数の計算に

* 現住所: 大塚製薬株式会社徳島工場, 第2研究室

Anscombe⁹⁾ の補正を行なったものである。この方法によれば, 防除薬剤の有効度の比較算定も, また混用問題の一部の解析も, 実験室規模の試験で可能である¹⁰⁾。ひき続いて6種の殺虫剤について同様の試験をおこない, それらの有効度を比較算定した。その結果をここに述べる。

実験材料および方法

静岡県清水市日本平の松林において, キイロコキクイムシの加害をうけた, 約50年生のクロマツの樹枝の枯死部を1970年12月下旬に伐採, これを10cmの長さ