

Résumé

Malachite green (pick 620.5 m μ) which is generally used as dyestuff for mosquitocide incense, and unsaponifiables of ego seed oil (pick existing on shorter side than 380 m μ) are both observed to exhibit a rather low degree of absorption at the point of absorption maxima of nor-egonolonidine acetate (486 m μ), coloring substance developed by egonol reaction, the author conclude that 486 m μ is, in the visible range, the optimum wave length for the spectrophotometric determination of egonol.

Figure 2. shows that the concentration is in the range 0.3 to 1.3 mg/cc in acetic acid solution of egonol Beer's law being followed, and that consequently the optimum concentration for determination of egonol is in this range.

Figure 3, 4 and 5 shows that the developed color by egonol reaction being stable for 10 minutes, and that both in the case of malachite green, if it presents more than 0.17 time of egonol, and in the case of unsaponifiables of ego seed oil except egonol, if it presents more than 0.12 time of egonol, it does interfere with the determination.

Studies on the Mechanisms of Synergistic Action in Insecticides. II. On the Inhibitory Action of Piperonyl Butoxide for the Detoxification of Pyrethroids by Housefly (*Musca domestica* L.) Hiromichi MATSUBARA (Dept. of Agr. Chem., Faculty of Agr., Gifu University) Received April 23, 1954. *Botyu-Kagaku* 19, 61, 1954. (with English résumé, 68)

10. 殺虫剤に於ける共力作用機構に関する研究(第2報) イエバエによるピレスロイドの解毒に対する Piperonyl Butoxide の阻害作用について 松原弘道(岐阜大学農学部 農芸化学教室) 29. 4. 28. 受理

イエバエ成虫の組織磨碎液による pyrethrins 及び allethrin の解毒に対する piperonyl butoxide の阻害作用をアカイエカ幼虫を用ひての bioassay により研究し, pyrethrins の解毒に對してはかなり阻害作用を示すが, allethrin に對しては殆んど示さない事を認めた。

前報⁽¹⁾に於て著者はイエバエの雌雄による lipase activity 及び pyrethrins に対する解毒作用の差異について報告し, イエバエの lipase activity と pyrethrins に対する解毒作用並に pyrethrins に対する解毒作用と pyrethrins に対する抵抗性の間の相関性については疑問のある事を認め, 同時に雄イエバエ粉末による pyrethrins 解毒作用に対する piperonyl butoxide (pip. but.) の阻害作用を研究し, イエバエ粉末による乳剤の破壊のため其の阻害作用を観察する事が出来なかつた事を報告した。又別報⁽²⁾に於て allethrin に対する egonol の共力度が pyrethrins に対するそれより小である事を報告した。

著者は pyrethrins 及び allethrin に対する pip. but. の共力度の差をアカイエカ幼虫を用ふる殺虫試験により研究して, 前者が後者より大であることを観察し, 更に此の共力度の差を共力作用は pyrethroid に対する酵素的解毒作用との共力剤の阻害に基くとの仮説により証明を試みようとして, アカイエカ幼虫の組織磨碎液の pyrethrins, allethrins 及び pip. but.

に対する作用並にイエバエ成虫の組織磨碎液による pyrethrins 及び allethrin の解毒に対する pip. but. の阻害作用について研究し一新知見を得たので此処に報告する。

実 験

I. 実験材料

(1) 供試薬剤

- 除虫菊エキス pyrethrin I 6.20%, pyrethrin II 6.31%, total pyrethrins 12.51% (benzol法)
- allethrin S. B. Penick 社製 90% 含量の工業品
- pip. but. U. S. Industrial Chemicals 社製工業品
- Tween 80, 硫酸化油, キシレン (bp 137~140°) 市販品

(2) 供試昆虫

- イエバエ成虫及び其の生体組織磨碎液 pyrethroid の解毒酵素試料として用ひたイエバエ成虫は前

報⁽¹⁾ で用いたものと同一の高槻系イエバエ *Musca domestica* L. で、薬用酵母添加豆粉培養基と小麦糊の給餌によつて飼育し、羽化後 2~5 日を待た健全な個体を選んで雌雄を区別せず、生体量の 4 倍量の水と少量の珪砂を加へ乳鉢中でよく磨碎し、ガーゼ 4 重にて滲過滲液を遠心分離 (r. p. m. 2500) し、上澄液を使用する。3.6g のイエバエ生体から 10cc の磨碎液が得られる。尚加熱不活性化の場合は本上澄液を試験管に採り、100° の重湯煎中で 30 分加熱後蒸発水量を補充し、凝固析出した蛋白質を再び乳鉢中で磨碎し均一の液とする。

b. アカイエカ幼虫及び其の生体組織磨碎液 pyrethroid の生物学的定量並にそれに対する解毒作用の実験に用いたアカイエカ *Culex pipiens* L. var. *pallens* Coqui. の幼虫は前報と同様に岐阜市郊外の著者宅の下水槽から採集した卵塊を水槽中で孵化せしめ薬用酵母を餌として飼育したもので、孵化後 7~10 日のものである。又酵素試料として用いた生体組織磨碎液は前と同じアカイエカ幼虫に生体重の等量の水を加へ珪砂と共に磨碎、滲過及び遠心分離することイエバエの場合と同様にし、22g の生体から磨碎液 (pH 6.4) が 30cc 得られる。又加熱不活性化もイエバエの場合と同様に操作する。

II. Pyrethrins 及び Allethrin に対する Piperonyl Butoxide の共力度の差異

著者⁽²⁾ は先に allethrin 乳剤に egonol を加へてアカイエカ幼虫に対する殺虫試験を行ひ、egonol は allethrin に対しても pyrethrins と同様に共力効果を示すが、其の共力度は後者の場合より劣る事を観察し、PIQUETT⁽³⁾、JONES et al.⁽⁴⁾、GERSDORFF et al.⁽⁵⁾ 及び長沢等⁽⁶⁾ の結果と一致するのを認めた。尚上記の著者以外の研究に於ては供試昆虫としてイエバエ及び American cockroach が用ひられ、アカイエカに就ては行はれていないので、pyrethrins 及び allethrin に対する pip. but. の共力度を比較する為、アカイエカ幼虫を用ふる殺虫試験により研究し次の如き結果を得た。

(a) 実験方法

実験は前報告⁽¹⁾ のと同様に行ひ pyrethroid (純 pyrethroid に換算し 12.51% の除虫菊エキスを及び 90% allethrin を使用) に対する pip. but. の混合比を 1:8 とし、前述の諸原料を乳化の最適条件である第 1 表に示す様な処方て混合し各々透明な乳剤原液を得た。

殺虫試験は前報⁽¹⁾ と同じく所要濃度に稀釈した乳剤 200cc を盛つたベトリー皿にアカイエカ幼虫を 10 匹宛入れ、24 時間後の生死を調査した。実験は 1 薬剤に就て対数間隔に 2 或は 4 系列の稀釈液 6 種を調製し、1 稀釈液について 10 箇のベトリー皿、計 100 匹の昆虫について行つた。尚実験時の水温は 22° であつた。

(b) 実験結果及び考察

上述の実験方法によつて得られた各乳剤の稀釋倍率 (V)、薬量 ($X(\text{ppm})=1/V$) と死亡率 Y との関係 (無処理対照区の生存率は 100%) を表示すると第 2 表の通りである。

第 2 表の結果について更に精密な比較を行ふため、薬量 X を其の対数 x に、 Y を probit y に置換し、BRISS の薬量-死亡率曲線一次変換操作を施して其の回帰方程式 $y = \bar{y} + b(x - \bar{x})$ を求め、更にこれと観測値の間の適合性に関する χ^2 -試験を行つた結果を示すと第 3 表の通りである。

第 3 表の結果から薬量-死亡率回帰線を描き、それに基き各乳剤の有効度を算出すれば第 4 表の通りである。

第 4 表で LD-50 を以て示された各乳剤の有効度から pyrethrins 及び allethrin に対する pip. but. の致死共力度を求めると前者に対するそれは 2.04、後者のそれは 1.71 即ち pyrethrins 及び allethrin に夫々 8 倍量の pip. but. を混用すれば前者は 2.04 倍、後者は 1.71 倍に効力が増強される訳で、前者に対する致死共力度は後者に対するその 1.20 倍に相当し、先に著者⁽²⁾ 並に諸研究者⁽³⁻⁶⁾ により報告せられた、allethrin に対する各種共力剤の共力度が pyrethrins に対するそれより劣るという結果と一致

Table 1. The composition of the original emulsions for the experiments of synergistic action of pip. but. with pyrethrins and allethrin.

Code sign of emulsion	Pyrethrum extract (Pyrethrins) %	Allethrin tech. (Allethrin) %	Pip. But. %	Sulfonated oil %	Xylene %
A ₁	4.00 (0.50)	—	4.00	30.00	62.00
B ₁	—	0.56 (0.50)	4.00	30.00	55.44
C ₁	4.00 (0.50)	—	—	30.00	66.00
D ₁	—	0.56 (0.50)	—	30.00	69.44
E ₁	—	—	4.00	30.00	66.00

Table 2. Dosage $X(\text{ppm})$ -mortality $Y(\%)$ tables for synergized pyrethroid emulsions with pip. but. to larva of the common house mosquito.

Dilution V	Dosage $X(\text{ppm})$	Number of insects	A_1	B_1	C_1	D_1	E_1
12800	78.125	100	—	—	—	—	95
16000	62.500	100	—	—	—	—	75
19200	52.083	100	—	—	—	—	37
22400	44.643	100	—	—	—	—	17
25600	39.063	100	—	—	—	—	7
32000	31.256	100	—	—	—	—	1
102400	9.7656	100	—	—	—	82	—
128000	7.8125	100	—	—	—	50	—
153600	6.5104	100	—	90	100	29	—
179200	5.5804	100	—	71	—	11	—
204800	4.8828	100	—	64	100	4	—
256000	3.9063	100	—	28	—	1	—
307200	3.2552	100	—	15	88	—	—
358400	2.5947	100	—	4	—	—	—
409600	2.4414	100	—	—	60	—	—
614400	1.6276	100	94	—	17	—	—
716800	1.3951	100	78	—	—	—	—
819200	1.2207	100	66	—	3	—	—
1024000	0.97656	100	33	—	—	—	—
1228800	0.81380	100	17	—	—	—	—
1433600	0.69754	100	5	—	—	—	—

Table 3. Summary of data of experiments for relation of dosage and mortality to larva of the common house mosquito in synergized pyrethroid emulsions.

Code sign of emulsion	Number of insects	Regression equation $y = a + b(x - \bar{x})$	χ^2	Degree of freedom n	Probability in χ^2 -test Pr	Variance of parameter a $V(a)$	Variance of parameter b $V(b)$
A_1	600	$y = 5.01962 + 8.12692(x - 0.04112)$	1.30062	4	0.85660	0.00375	0.29369
B_1	600	$y = 4.99722 + 7.47030(x - 0.65520)$	2.79611	4	0.59411	0.00374	0.29482
C_1	600	$y = 4.91003 + 7.08198(x - 0.33630)$	0.04225	2	0.98338	0.00620	0.32472
D_1	600	$y = 4.60758 + 8.39163(x - 0.84084)$	0.69971	4	0.93689	0.00422	0.38754
E_1	600	$y = 4.80901 + 10.42920(x - 1.72011)$	1.31692	4	0.85464	0.00436	0.46396

Table 4. Absolute toxicity of synergized pyrethroid emulsions with pip.but. to larva of the common house mosquito.

Formulation	A_1 Pyr. + Pip. But.	B_1 All. + Pip. But.	C_1 Pyr.	D_1 All.	E_1 Pip. But.
Standard deviation of susceptibility σ	0.12305	0.13386	0.14120	0.11917	0.09588
Efficiency of lathal action $b = 1/\sigma$	8.12692	7.47030	7.08198	8.39163	10.42920
Log median lathal dose	0.03871	0.65557	0.34900	0.88760	1.73842
Median lathal dose LD-50 (ppm)	1.0932	4.5245	2.2336	7.7197	54.755

Pyr. -- Pyrethrins, All. -- Allethrin

する。猶 pyrethrins に共力剤を混用すれば一般に薬量-死虫率回帰線の角系数即ち殺虫能率 ($b=1/a$) が大となると称せられているが本実験に於ける allethrin では反対にそれが減じているのは注目すべき事である。

III. Pyrethrins, Allethrin 及び Pip. But. に對するアカイエカ幼虫組織磨碎液の解毒作用

前実験によつてアカイエカ幼虫を生物試験用昆虫とした場合, pip. but. の allethrin に対する共力度は pyrethrins に対するそれより劣る事が明かとなつたが, 若し pyrethroid に対する共力剤の作用機構が pyrethroid の昆虫による解毒作用に対する共力剤の阻害に基くものとすれば, 此の共力度の差異は其の阻害度の差異に基くものではないかと想像せられるので, 果して pyrethroid がアカイエカによつて解毒されるか, 又 pip. but. はそれによつて如何なる作用を受けるか, 更に又解毒に対する阻害が行はれるかに就て研究する為, アカイエカの組織磨碎液による pyrethrins 及び allethrin 乳剤の解毒並に pip. but. 乳剤の分解或は不活性化について実験を行ひ若干の知見を得た。

(a) Pyrethrins 及び Allethrin に對するアカイエカ幼虫の組織磨液の解毒作用

(1) 実験方法

アカイエカ幼虫による pyrethroid の解毒に対する pip. but. の阻害作用を研究するにさきだち其の

組織磨碎液が pyrethroid を解毒するか否かを知る必要があるので, 前報⁽⁴⁾と同様に除虫菊エキスを原料とし, キシレンを基剤, Tween 80 を乳化剤とした 0.05% pyrethrins emulsion (除虫菊エキス 0.16g, Tween 80 1.20g, キシレン 0.64g, 水にて 40cc) 或は allethrin を原料とし上と同様の基剤及び乳化剤を用ひた 0.05% allethrin emulsion (allethrin 0.0222g, Tween 80 1.32g, キシレン 0.6578g, 水にて 40cc) に前述の如き方法で調製したアカイエカ組織磨碎液或は加熱不活性化磨碎液を第5表に示すような割合で加へ, 更に水で全液を 16cc とし, 24時間 25° の定温器に入れ, 定期的に振盪し, 後生体酵素により解毒分解せられず残留している pyrethrins 及び allethrin の量をアカイエカ幼虫の殺虫試験により生物学的に測定した。

本実験の検液の pH は調整を行はず其の儘解毒実験を行つたもので, 第5表中の pH は酵素液添加直後の値である。

(2) 実験結果及び考察

第5表の如き処方で24時間処理し各試液を上述の実験方法でアカイエカ幼虫に適用し其の毒力を求めた。各試液 (16cc に対する) の稀釋倍率, 薬量と死虫率の關係を表示すると第6表の通りである。猶本実験に用ひたアカイエカ幼虫は孵化後9日のもので, 液温は $21 \pm 1^\circ$ であつた。

Table 5. The formulation of the test solutions for enzymatic detoxification of pyrethrins and allethrin.

Code sign of exp. series	Mosquito's ground-tissue sol. cc	Heat-inact. mosquito's ground-tissue sol. cc	0.05% Pyr. emul. cc	0.05% All. emul. cc	Water cc	pH value
A ₂	1	—	2	—	13	6.2
B ₂	—	1	2	—	13	—
C ₂	—	—	2	—	14	—
D ₂	1	—	—	2	13	6.4
E ₂	—	1	—	2	13	—
F ₂	—	—	—	2	14	—

Table 6. Dosage (ppm)-mortality (%) tables for detoxified pyrethroid emulsions by mosquito's enzyme to larva of the common house mosquito.

Dilution	Dosage	Number of insects	A ₂ (Pyr. +VE)	B ₂ (Pyr. +HE)	C ₂ (Pyr.)	D ₂ (All. +VE)	E ₂ (All. +HE)	F ₂ (All.)
500	2000.0	100	—	—	—	100	100	100
750	1333.3	100	—	—	—	96	93	95
1000	1000.0	100	—	—	—	80	84	78
1500	666.67	100	—	—	—	34	41	31
2000	500.00	100	90	94	—	9	15	13
3000	333.33	100	64	66	68	—	1	1
4000	250.00	100	43	48	41	—	—	—
6000	166.67	100	13	19	14	—	—	—
8000	125.00	100	5	6	5	—	—	—
12000	83.333	100	—	0	1	—	—	—

VE -- Viable enzyme, HE -- Heat-inactivated enzyme

第6表の実験結果を log-probability paper 上にプロットし、其処に描かれた予備回帰線から考察すれば pyrethrins 及び allethrin の両乳剤共アカイエカ幼虫組織磨碎液による解毒は極めて少ない事が認められる。これは磨碎液の解毒力が本来微弱であるによる外に解毒至適 pH 或は温度が本実験に於ける条件と異なるか、又解毒に対する Tween 80 或はキシレンの阻害に基くものとも考へられるが、その何れによるかは更に検討を必要とする。

(b) Pip. But. に對するアカイエカ幼虫組織磨碎液の作用

アカイエカ幼虫組織磨碎液による pyrethroid の解毒に對する pip. but. の阻害作用を研究するに當つて問題となるのは、pip. but. が生体酵素により分解或は不活性化されるか否かの点であるので、これを確かめるため、キシレンを基剤、Tween 80 を乳化剤として用ひた 0.4% pip. but. emulsion (pip. but. 0.16g, Tween 80 2.80g, キシレン 1.44g, 水にて 40cc) 2cc にアカイエカ幼虫組織磨碎液 (VE) 或は加熱不活性化磨碎液 (HE) を 1cc 及び水 13cc を添加し $25 \pm 1^\circ$ の定温器中にて定期的に振盪して24時間処理し、後 0.05% pyrethrins emulsion 2cc を加へ、アカイエカ幼虫を用ふる殺虫試験により其の毒力を比較し第7表のような結果を得た。尙本表中の稀釋率は原乳剤 16cc に対する倍数を示し、実験時の水温は $19.5 \pm 0.5^\circ$ であつた。

Table 7. Dosage (ppm)-mortality (%) tables for synergized pyrethrum emulsions with pip. but. which treated with mosquito's enzyme to larva of the common house mosquito.

Dilution	Dosage (ppm)	Number of insects	A ₃ [Pip. But. + VE] + Pyr.	B ₃ [Pip. But. + HE] + Pyr.
800	125.00	100	82	86
1200	83.333	100	32	45
1600	62.500	100	12	16
2400	41.667	100	1	2
3200	31.250	100	0	0

第7表の結果から前実験同様に予備回帰線を描き、それから両乳剤の有効度を判定すれば、A₃ 乳剤の毒力は B₃ より少しく小である事が示されて居り、両剤中の pyrethrins の含量は同一であるので、A₃ 乳剤に於て pip. but. がアカイエカ酵素により分解されたか或は不活性化された事により pyrethrins に対する共力効果が B₃ 乳剤のそれにより劣るに至つたものと考えられる。

以上の如く アカイエカ幼虫組織磨碎液の pyrethroid に対する解毒力が微弱であり、又酵素的解毒作用の実験中 pip. but. の activity が減少する事から、アカイエカ磨碎液を用ひての pyrethroid の解毒に對する pip. but. の阻害作用に關する実験は実施不可能と考へられる。実際に pyrethrins 及び allethrin 乳剤にアカイエカ幼虫組織磨碎液或は加熱不活性化磨碎液を混合し、24 時間 25° に処理し、後 pip. but. 乳剤を加へた乳剤並に最初から3者を混合し同じく24時間処理した乳液について其の解毒に及ぼす pip. but. の阻害作用をアカイエカ幼虫を用ふる生物学的測定法により実験を行つたが、上記の原因のためか有意の結果を得る事が出来なかつた。

然し 0.05% pyrethrins emulsion 2cc にアカイエカ磨碎液 1cc 及び水 13cc を加へ (液は灰色) 常温に数分間放置すると液は紫黑色になるが、最初から 0.4% pip. but. emulsion 2cc を添加して置けば色調の変化は極めて少なく、且加熱不活性化磨碎液の添加の場合は色の变化は全くない事から、アカイエカの酵素により行はれる色変を作ら或種化学変化に對し pip. but. が明かに阻害作用を示す事がわかる。但し此の阻害作用と解毒への阻害作用との間に關連性があるか否かは明かでない。

IV. イエバエ成虫組織磨碎液による Pyrethroid の解毒に對する Pip. But. の阻害作用

前報に於いて雄イエバエ脱脂粉末による pyrethrins の解毒に對する pip. but. の阻害作用について研究し、イエバエ粉末による乳剤の破壊のため其の阻害を観察する事が出来なかつた。其の実験では乳化剤として硫酸化油を使用したか、乳剤が不安定であつたので本実験では各乳剤共安定な乳化剤として Tween 80 を用ひた。尙前実験でアカイエカ磨碎液は解毒実験には使用し得ない事が明かとなつたので、本実験では総てイエバエ成虫を試材とした。

(a) Pip. But. に對するイエバエ成虫組織磨碎液の作用

前実験によりアカイエカ磨碎液は pip. but. を不活性化する事が明かとなつたが、イエバエ成虫の場合にも問題であるので、アカイエカの場合と同様に 0.4% pip. but. emulsion 1cc にイエバエ成虫 (雌雄混合) 組織磨碎液 (VE) 或は加熱不活性化磨碎液 (HE) を 1cc 及び水 6.5cc を添加 $25 \pm 1^\circ$ の定温器中にて同様24時間処理し、後 0.05% pyrethrins emulsion 1cc を加へ、アカイエカ幼虫を用ふる殺虫試験により其の毒力を比較し pip. but. への影響を観察した。原乳剤 8cc に対する稀釋率並に死虫率は第8報の通りである。用ひたアカイエカ幼虫は孵化後7日のもので、水温は $17 \pm 1^\circ$ であつた。

Table 8. Dosage (ppm)-mortality (%) tables for synergized pyrethrum emulsions with pip. but. which treated with housefly enzyme to larva of the common house mosquito.

Dilution	Dosage (ppm)	Number of insects	A ₄ [Pip. But. +VE]+Pyr.	B ₄ [Pip. But. +HE]+Pyr.
800	125.00	100	95	93
1200	83.333	100	68	63
1600	62.500	100	40	37
2400	41.667	100	12	7
3200	31.250	100	0	2

Table 9. Summary of data of experiments for relation of dosage and mortality to larva of the common house mosquito in synergized pyrethrum emulsions with pip. but. which treated with housefly enzyme.

Code sign of emulsion	Number of insects	Regression equation $y = a + b(x - \bar{x})$	χ^2	Degree of freedom n	Probability in χ^2 -test Pr	Variance of parameter a $V(a)$	Variance of parameter b $V(b)$
A ₄	500	$y = 5.07703 + 5.81510(x - 1.84601)$	0.63908	2	0.74854	0.00551	0.25576
B ₄	500	$y = 4.86290 + 5.99940(x - 1.83480)$	0.37197	3	0.92607	0.00525	0.19641

Table 10. Absolute toxicity of synergized pyrethrum emulsions with pip. but. which treated with housefly enzyme to larva of the common house mosquito.

Formulation	A ₄ [Pip. But. +VE]+Pyr.	B ₄ [Pip. But. +HE]+Pyr.
Standard deviation of susceptibility σ	0.17197	0.16668
Efficiency of lathal action $b = 1/\sigma$	5.81510	5.99940
Log. median lathal dose	1.83469	1.85765
Median lathal dose LD-50 (ppm)	68.342	72.053

第8表の結果については更に精密な比較を行ふため Bliss の probit 法により整理すると第9及び10表の如くである。

第10表の結果から A₄ 及び B₄ の毒力は殆んど同じで、pip. but. 乳剤はイエバエ磨碎液により作用を受けないことが示されている。

(b) イエバエ成虫組織磨碎液による Pyrethrins 及び Allethrin の解毒に對する Pip. But. の阻害作用

前実験によりイエバエ磨碎液が pip. but. の activity に影響を及ぼさないことが明かとなつたので、更にイエバエによる pyrethroid の解毒に對し pip. but. が果して阻害作用を呈するか、又 pyrethrins 及び allethrin の解毒に對する阻害度の差と両者に対する pip. but. の共力度の差との間の相関性について研究を行ふため、前報⁽¹⁾に準じ A₅~F₅ の6種の乳剤を調製し、A₅ 及び D₅ に於ては 0.05% pyrethrins

或は allethrin emulsion 2cc にイエバエ磨碎液 1cc 及び水 13cc を混和し、24時間前実験同様に 25° に処理後 0.4% pip. but. emulsion 2cc を添加する。B₅ 及び E₅ は A₅ 及 D₅ のイエバエ磨碎液の代りに加熱不活性化イエバエ磨碎液を添加する外はそれと全く同じに操作し、C₅ 及び F₅ は最初から 0.05% pyrethrins 或は allethrin emulsion 2cc, イエバエ磨碎液 1cc, 0.4% pip. but. emulsion 2cc 及び水 11cc を混和 24時間夫々処理する。後前記方法により適宜稀釋し、アカイエカ幼虫を用ひ殺虫試験を行ひ24時間後の死虫率から解毒されず残留する pyrethrins 或は allethrin の量を求めた。アカイエカ幼虫は孵化後9日目のもので、実験時の水温は 17±2° であつた。

其の結果を示すと第11表の通りで、稀釋倍率は原乳液16ccに對する倍数を示す。

第11表の結果について更に精密の比較を行ふため、

前述の如き BLISS の probit 法により整理し、其の
 回帰方程式並にそれに附随する二三の数値を求めると
 第12表の通りである。

第12表の結果から濃度-死亡率回帰線を描くと第1

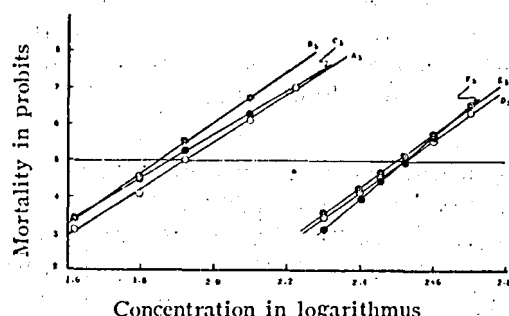


Fig. 1. Probit regression line for the toxicity of detoxified pyrethroid-pip. but. emulsions to larva of the common house mosquito.

図の如くなる。

上の如くして求められた回帰線に基づき各乳剤の有効度を算出すれば第13表の如くなる。

今 1.D-50 によつて示された各乳剤の毒力からイエバエ酵素による pyrethrins 及び allethrin の解毒率を計算すると、A₅ 乳剤に於ける pyrethrins の解毒率は 15.62%, C₅ 乳剤のそれは 7.15% で、pyrethrins の解毒に対する pip. but. の阻害率は 55.21% となり、同様に D₅ 乳剤に於ける allethrin の解毒率は 4.47%, F₅ 乳剤のそれは 3.73% で、共に極めて微弱にて且解毒に対する pip. but. の阻害作用は殆んどない。

此の様に pyrethrins に対するイエバエ磨碎液の解毒力が大であり、それに対する pip.but. の阻害作用もかなり大であるに反し、allethrin に対するその解毒力はこれより遙か微弱で前者の約 1/3 に相当し且解毒に対する pip. but. の阻害作用も殆んど認めら

Table 11. Dosage (ppm)-mortality (%) tables at the assay with mosquito larva, in the experiments for inhibition of enzymatic detoxification of pyrethrins and allethrin.

Dilution	Dosage (ppm)	Number of insects	A ₅ [Pyr. + VE] + Pip. But.	B ₅ [Pyr. + HE] + Pip. But.	C ₅ [Pyr. + VE] + Pip. But.]	D ₅ [All. + VE] + Pip. But.	E ₅ [All. + HE] + Pip. But.	F ₅ [All. + VE] + Pip. But.]
2000	500.00	100	—	—	—	91	94	94
2500	400.00	100	—	—	—	71	77	75
3000	333.33	100	—	—	—	49	56	48
3500	285.71	100	—	—	—	29	37	32
4000	250.00	100	—	—	—	19	22	15
5000	200.00	100	—	—	—	6	8	3
6000	166.67	100	98	—	—	—	—	—
8000	125.00	100	87	96	90	—	—	—
12000	83.333	100	52	71	61	—	—	—
16000	62.500	100	18	34	30	—	—	—
24000	41.667	100	3	6	6	—	—	—
32000	31.250	100	0	0	0	—	—	—

Table 12. Summary of data of experiments for relation of dosage and mortality to larva of the common house mosquito in detoxified pyrethroid-pip. but. emulsions.

Code sign of emulsion	Number of insects	Regression equation $y = a + b(x - \bar{x})$	χ^2	Degree of freedom n	Probability in χ^2 -test Pr	Variance of parameter a $V(a)$	Variance of parameter b $V(b)$
A ₅	600	$y = 5.00250 + 6.61103(x - 1.92129)$	0.81282	3	0.83845	0.00566	0.23377
B ₅	500	$y = 5.01052 + 7.05405(x - 1.84866)$	0.26814	2	0.89449	0.00620	0.34448
C ₅	500	$y = 4.95785 + 5.99118(x - 1.87235)$	0.10674	2	0.95800	0.00571	0.27136
D ₅	600	$y = 4.86163 + 7.25277(x - 2.50471)$	0.59279	4	0.94653	0.00353	0.28661
E ₅	600	$y = 4.94422 + 7.40902(x - 2.49208)$	0.29518	4	0.97337	0.00353	0.29174
F ₅	600	$y = 4.90736 + 8.41411(x - 2.50944)$	0.69810	4	0.93703	0.00392	0.36694

Table 13. Absolute toxicity of detoxified pyrethroid-pip. but. emulsions by housefly enzyme to larva of the common house mosquito.

Code sign of emulsion	A ₅	B ₅	C ₅	D ₅	E ₅	F ₅
Standard deviation of susceptibility σ	0.15126	0.14176	0.16691	0.13788	0.13497	0.11885
Efficiency of lathal action $b=1/\sigma$	6.61103	7.05405	5.99118	7.25277	7.40902	8.41411
Log. median lathal dose	1.92091	1.84717	1.87939	2.52379	2.50393	2.52045
Median lathal dose LD-50 (ppm)	83.351	70.335	75.751	334.03	319.10	331.47

れない事実は、pyrethrins に対する pip. but. の共力度が常に allethrin に対するそれより劣るという現象を、其の解毒作用に対する pip. but. の阻害度の差から説明する事は不可能であることを示して居り、又共力作用は pyrethroid に対する酵素的解毒作用への共力剤の阻害に基づくとの CHAMBERLAIN⁽⁸⁾ 等の仮説に疑問を提供するものである。

但し第1図に於て示されている様に A₅ 及び B₅ 並に D₅ 及び E₅ の各回帰線が互に略々平行関係にあるにも拘らず、C₅ 回帰線は A₅ 及 B₅ より角系数が小となり、これと対称的に F₅ 回帰線は D₅ 及び E₅ より角系数が大となるのは興味あるところで、pyrethrins 及び allethrin に対してイエバエ酵素及び pip. but. を混合した場合異つた働き方が行はれる事を示唆しているもので、これが両剤に対する pip. but. の共力度の差の原因と関係があるや否やについては将来の研究に俟たねばならない。

総 括

Pyrethrins 及び allethrin に対する pip. but. の共力度の差をアカイエカ幼虫に対する殺虫試験により研究し、前者に対する致死共力度は 2.04、後者に対するそれは 1.71 にて前者は後者の 1.20 倍に相当する事を観察し、更に此の致死共力度の差を共力作用は pyrethroid に対する酵素的解毒への共力剤の阻害作用に基づくとの仮説にて証明を試みる為、アカイエカ幼虫及びイエバエ成虫組織磨碎液による pyrethrins, allethrin 及び pip. but. の解毒作用並に解毒に対する pip. but. の阻害作用を研究したところ、pyrethroid に対するアカイエカ磨碎液の解毒作用は極めて微弱であり、H. pip. but. はアカイエカ磨碎液により activity が減少するのを観察し、イエバエ磨碎液では pyrethrins は 15.6% 解毒され、pip. but. により其の解毒作用が 55% 阻害されるが、allethrin は僅か 4.5% 解毒され H. pip. but. により其の解毒作用が殆んど阻害されない事を認めた。

以上の事から pyrethrins 及び allethrin に対する pip. but. の致死共力度の差とこれ等 pyrethroid の酵素的解毒作用に対する pip. but. 阻害度との間

には相関々係がないものと思はれる。

本研究は京都大学農学部武居三吉教授を代表者とする「害虫の化学的防除に関する基礎的研究」に関する総合研究の一部で、終始御鞭撻を賜つた武居三吉教授並に本学高橋梯藏教授及び実験に助力せられた平田陽太郎君に夫々厚く感謝する。

文 献

- (1) 著者：本誌，18，75(1953)
- (2) 著者：本誌，19，15(1954)
- (3) PIQUETT, P. G. : J. Econ. Entom., 42, 441(1949)
- (4) JONES, H. A., H. O. SCHROEDER and H. H. ISCHO: Soap Sanit. Chem., 26, Aug., 109(1950)
- (5) GERSDORFF, W. A., R. H. NELSON and N. MITLIN : J. Econ. Entom., 44, 92 (1951); 45, 905(1952)
- (6) 長沢純夫，西村昭：本誌，18，104(1953)
- (7) 著者：本誌，18，10(1953)
- (8) CHAMBERLAIN, R. W. : Am. J. Hyg., 52, 153(1950)

Résumé

By the bioassay with mosquito larva (*Culex pipien* L. var. *pallens* Coqui.) for synergized pyrethrins and allethrin emulsions, it is observed that the degree of synergism of pip. but. for pyrethrins is 2.04 and the same for allethrin 1.71, and that these results coincide with many previous investigators' data that combinations of allethrin with synergists show a lower order of synergism than similar combinations of pyrethrins with synergists.

In order to prove the mechanism of above observation with reference to the hypothesis proposed by CHAMBERLAIN that pyrethrum synergist inhibits the enzymatic detoxification of pyrethrins, the author has studied on detoxification of ground-tissue solution of

mosquito larva for pyrethroid and pip. but. emulsions, and on inhibitory action of pip. but. for detoxification of pyrethroid emulsions by housefly (*Musca domestica* L.) enzyme, and obtained the following results:

The ground-tissue solution of mosquito larva exhibits detoxification in a very low degree for pyrethrins and allethrin emulsions, and reduces the activity of pip. but. emulsion. Pyrethrum emulsion is observed to be detoxified by 15.6% after 24 hrs. by the ground-tissue solution of

housefly (tested with mosquito larva) and by 55% of enzymatic detoxification of pyrethrins inhibited by pip. but.; allethrin emulsion being detoxified by 4.5% by the same, and the inhibition of pip. but. for the detoxification not recognized.

Hence the difference in degree of synergism of pip. but. for pyrethrins and allethrin seems not to be correlated with that of inhibition caused by pip. but. for the enzymatic detoxification of pyrethroid.

Effect of Preconditioned Environmental Factors to Heat Resistance of Insect.
Masao KIRYOKU (Laboratory of Applied Entomology, Hiroshima Junior College of Agriculture) Received April 30, 1954. *Botyu-Kagaku* 19, 69, 1954 (with English résumé, 73)

11. 条件づけ環境要素が昆虫の耐熱性に及ぼす影響。清久正夫 (広島農業短期大学 応用昆虫学研究室) 29. 4. 30. 受理

昆虫の熱に対する抵抗機構を検する目的の一として、一般的な昆虫体の内部要因や実験中に生ずる外部要因に関するものとは別に、比較的短時間の環境の変化が昆虫の生理的变化をおこし、これが抵抗に影響すると言う問題を、(1) あらかじめ短時間種々の温度や(2) 湿度に当てたもの(3) 実験時の個体密度の影響、及び(4) 麻酔したものの抵抗の変化の4組の実験で検討した。

緒 論

昆虫の熱に対する抵抗が、薬剤に対するその様に種々の外的内的条件によつて違ふことは良く知られている。昆虫の種類、期、年令、性等で相違することは比較的早くより知られている。同一種類、同一発育時期のものでも、昆虫がそれまでに経験した環境の温度の相違で (Kiryoku, 1953a), 或は昆虫の食物の量や質の相違 (清久, 1953b, 1954a) で場合によつては、かなり顕著な相違を示している。更に同一飼育環境の個体群に属するものでも所謂個体変異の相違があることは勿論、同じ成虫間で若いものと古いものの間の相違、羽化する時期の遅速の相違、食物を取つたものと、取らないものの間の相違等 (清久, 1954b), 抵抗の変化の要因は仲々多いことが精細に確められている。

近年昆虫の抵抗性の本質の研究が盛んになり、殊に薬剤等に対するそれでは、種々論ぜられ、その原因を遺伝的に求めようとする場合や、昆虫の合理的な生理的变化に求めようとする場合等各種の立場があるが、尚広く抵抗性の変化の事実を調べる必要がある。同一種、同一条件の個体でも、試験をする直前の僅かの条件の差で変化を示す場合がある。これは或は実験方法の相違による変化と混同する場合もあるが、抵抗の試験に於てはゆるがせに出来ない事実であり、厳密に言えば実験材料そのものの内部的要因と実験中の外部

的諸要因との中間に介在する抵抗変化の要因に関する注意すべき問題である。

この報文で取扱う問題は、実験例が案外少く、あつても単に個々の事実として上げられた程度のものであるから、少し精密に検討して見たい。何れも昆虫の生理的条件が、極く短期間の二次的環境の変化でおこり、これが抵抗の変化の原因になつて来ると言うテーマである。組織的な研究としては、もつと広く実験をやらねばならぬが、案外簡単にその目的にかなう結果が得られていることと、実験を1時中止する為に、これまでに得ている実験成績をまとめて見た。本報文を草するに当り、御懇篤な御指導を賜つた京大教授、内田俊郎博士に感謝の意を表する。

実験の目標と其の方法

30°C. 75% R. H. 内外の恒温度で飼育したアズキゾウムシ *Callosobruchus chinensis* の成虫を使つた。前に述べた様にごく僅かの期間の環境条件の変化として次のものが考えられた。

(1) 昆虫が高温に遭遇する時の、その体温である。若し体温が低ければ、遭遇する高温が比較的高くなくとも、昆虫のそれに対する感受性は大きいだろう。従つてそれに対する反応は大きくなるだろう。若しそれと反対では逆の結果となろう。応用の面に於て低温で