

The influence of sublethal doses of carbon disulphide on the susceptibility of the adult of the rice weevil, *Calandra oryzae* L. Studies on the influence of sublethal doses of the poisonous gases on insects. I. Taturō KONO (Entomological Laboratory, College of Agriculture, Kyoto University.) Received April 30, 1949, *Botyu-Kagaku* 12: 19—23, 1949 (With English Résumé, p. 23).

二硫化炭素の致死下薬量がコクゾウ成虫の感受性に及ぼす影響* 昆虫に対する毒性ガスの致死下薬量 (Sublethal dose)** の影響に関する研究 第1報 河野達郎 (京都大學農學部昆蟲學研究室) 21. 4. 30 受付

I 緒 言

生物にたいする化学的毒性物質の作用にはいわゆる最小致死薬量 (Minimum lethal dose) を境として二つの面が考えられる。一つは致死的作用であり他は直接的な致死を伴わない生理的影響である。もちろんこの二つの作用は全く別のものではなく密接なつながりを持つと考えられるから、その薬理研究にあつては當然平行してなされることが望ましい。本研究は主として後者をその対象とし、毒性ガスの場合についてその薬理作用、特に昆虫の生理的性質に及ぼす影響を取扱つたものである。

昆虫の生理的性質の一つとしてこの毒性ガスそのものに對する感受性 (Susceptibility (又は抵抗性 Resistance)) を考えることができるが、いわゆる致死下薬量 (Sublethal dose) がこの感受性に及ぼす影響に關しては實際的な重要性から早くより注目され、今日までにかなり多くの研究がなされている。Gray & Kirkpatrick (1929) は Red scale 及び Black scale についてこれらをあらかじめ青酸ガス (HCN) の低濃度にさらすと、これら昆虫が同剤に對する抵抗性を増す事實を發見した。この現象はその後 Pratt et al. (1931), Lindgren (1938), Yust et al. (1942 a, b, c) 等によつても認められ、その本態をめぐつて多くの研究が重ねられた。しかしこれらの研究は殆んどすべてカイガラムシ類を対象として、しかも青酸ガスに對する感受性を取扱つたものであつて、他の昆虫及び薬剤にかんしては Peters (1936), Lindgren (1938), Sun (1947) などの僅かな報告を除いてはあま

りなされていないようである。著者はここに二硫化炭素 (CS_2) をえらびその致死下薬量がコクゾウ (*Calandra oryzae* L.) 成虫の感受性に及ぼす影響を明かにせんとして若干の實驗を試みた。實驗そのものはむしろ豫備的なものであつて未だ満足するような結果を得るまでに至らないが、ここにその概要を報告しあわせて二、三の考察を加えてみたいと思う。

本研究は昭和3年5月より9月にわたつて文部省自然科學研究費の一部によつて行つたものであり、特に内田教授の理解ある指導と激勵に負うところが大きい。ここにあわせ記して感謝の意を表したい。

II 實驗材料

實驗に用いたコクゾウは當研究室で繼續飼育中のものを繁殖せしめて得た子孫であつて、生理的には同一系統に屬する個体群とみなされるものである。供試虫の飼育には中型シャーレ (直徑12cm, 深さ3.5cm) を用い、これに含水量約14.5%の玄米100gr.をいれそれぞれコクゾウ成虫200頭に15日間産卵させた。温度は實驗環境と同じ30°Cをえらんだ。これより羽化脱出した成虫は毎日別々のシャーレに玄米とともに收容保護し、虫体が生理的にかなり安定したとみられる3日目のものを實驗に用いた。二硫化炭素はメルク會社のものをつかつた。

III 實驗方法

實驗はつぎのような手續にしたがつて行つた。

1. 前燻蒸 (Prefumigation) — まづ供試昆虫を所要の致死下薬量の CS_2 で4時間燻蒸した。即ち燻蒸室として550—590 cc. の共栓マイエルフラスコを用意し、別にこまがい目の金網でつくつた長さ4 cm, 直徑1.5 cm. の円筒容器に供試虫を50頭ずつ封じこんでこれを燻蒸室内にいれ、 CS_2 の一定量をマイクロベツトで吸いとり燻蒸室内に注入してすばやく栓を施し、そのまわりを糊づけしてガスのもれないようにしたのち、これを恒温器内に4時間静置した。

2. 後燻蒸 (Postfumigation) — 前燻蒸を終つてとり出したコクゾウ成虫は別々のシャーレに移し玄米を與

* 京都大學農學部昆蟲學研究室業績 第179號

** 最小致死薬量以下のすべての薬量を總稱したものである。もつとも最小致死薬量も個体により環境條件により變動し絶對的なものではないから限界をいわゆる致死濃度に對してきめることは嚴密にいつてできない。

又この場合藥量 (dose) というのは藥物の濃度のみを指すのでなくこれとその作用時間との關係に於て定る或る量を意味するものと解していただきたい。

えて24時間恒温のもとで保護したのち、再び燻蒸室に收容していわゆる致死藥量の CS_2 一定量をもつて24時間の燻蒸を行つた。燻蒸の手續は前燻蒸の場合のそれと全く同じである。實驗中恒温器は終始 $30^{\circ}C$ に保つた。

3. 生死の觀察——後燻蒸を終つてとり出したコクゾウ成虫は玄米とともにシャーレに移して $30^{\circ}C$ の恒温に保護し、その24, 48, 及び72時間後にそれぞれ生死の別をしらべた。生死の別を判定することはかなり困難であつたが著者はこれを次の5段階にわけて記録してみた。

- (1) まつたく正常の健全個体とかわらない歩行活動をする完全な生存個体。
- (2) 脚の一部に軽度の麻痺がみられ、かろうじて歩くことができるが多くの跛行し、轉倒すると後脚でつばり反轉しようとするが起きなおることができず活動が活潑でないもの。
- (3) 多くの場合後脚に強度の麻痺を起しほとんど歩行できず、轉倒しても反轉しようとせず口吻、脚及び觸角を緩徐に動かすもの。
- (4) 口吻は下垂してほとんど動かず、一見死んだようにみえるが觸角が口吻より下に垂れることなく、脚や觸角を時々痙攣的にゆるく動かし、不動のときでも筆や針の先で刺戟すると同様なことが見られて完全に死んだとはいえないもの。
- (5) 觸角は完全に口吻下に垂れさがり、脚は多くの場合くの字形に硬直して刺戟してもまつたく動かないもの。

後燻蒸よりとり出した直後のコクゾウは、濃度の低い場合を除いてはほとんどすべて一種の麻酔状態にあつて(4)と(5)の何れの状態に属するかも知れぬ個体が多かつたが、時間のたつにつれて蘇生する個体が増加し24時間後にはこれらの状態がかなり明瞭に區別できるようになつた。更に48及び72時間後の觀察では(2)、(3)及び(4)の状

態にある個体の数は一般に減少したがこの頃になるとそれぞれの状態のものから他の状態に移行する個体が次第に増してくること、しかもそれがある偶然的な未知の原因によつて起るらしいということが實驗結果の分析によつて推測された。即ちそれぞれの状態毎に濃度に對する個体数の分布をしらべてみると24時間後の場合はどの状態のものもその分布がかなり規則的であつたが48, 72時間後のそれは次第に不規則なものとなつた。それで本實驗では(5)の状態のもののみを死虫とし24時間後の結果から死亡率を計算した。實驗は同一濃度について反復行われた。

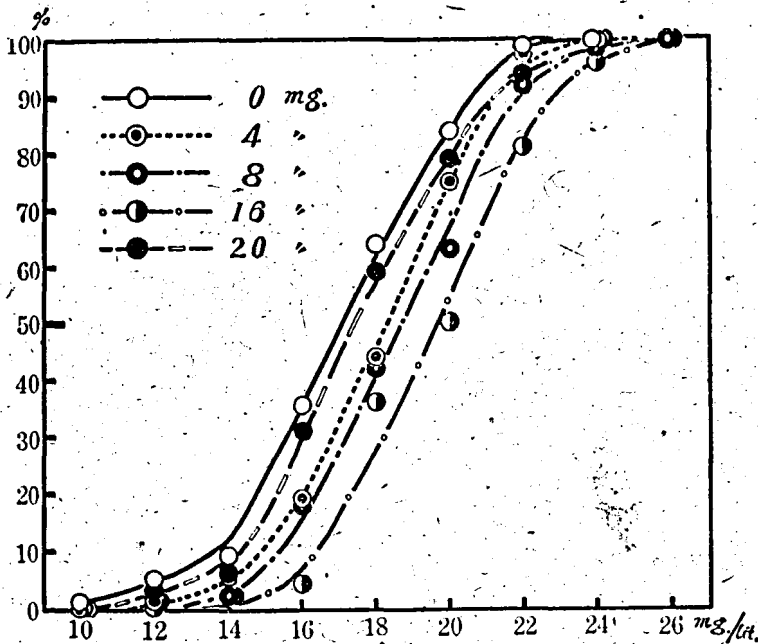
IV 前燻蒸の濃度とコクゾウ成虫の感受性變化

實驗は前燻蒸における CS_2 の濃度にしたがつて 0, 4, 8, 16 及び 20 mg./L. の5區を選んで行つたが、この場合いづれの區も前燻蒸によつて死亡した個体はまつたくなかつた。0 mg./L. (標準區) の場合は燻蒸は行わないが處理區とまつたく同一の手續にしたがつて取扱つた。これらの區のそれぞれについて後燻蒸を行い濃度と死亡率の關係を求めた結果は第1表の如くであつた。

各區にたいしては後燻蒸を行わない對照區をもうけたが、死亡率はいづれも0%を示し、したがつて第1表の死亡率はまつたく補正する必要がなかつた。いま第1表の結果から濃度—死亡率曲線をえがいてみると第1圖のようになる。これを見るとどの區もきわめて接近しよく似た曲線を示してはいるが、かなりはつきりと區別されることがわかる。そうして一般に前燻蒸における濃度が高くなるにつれてその曲線が右にづれていくようにみえる。さらにこれらの比較を容易にするため、各區についていわゆる中央致死濃度 (M. L. D.) を Bliss (1935) の示した方法によつて求めてみた。この場合死亡率の Probit は濃度の對數にたいしてよりもその質數にたいしてよい直線關係を示した。前燻蒸の濃度に對して M. L. D.

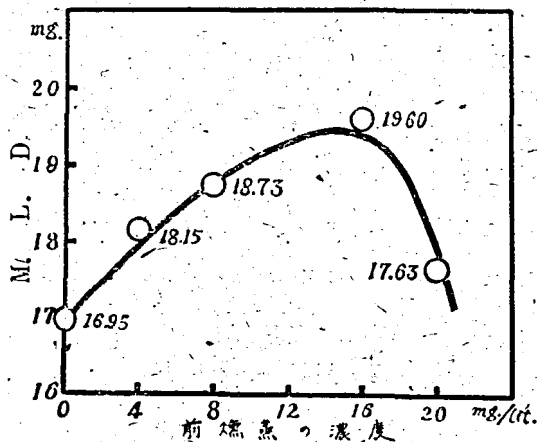
第1表 種々なる前燻蒸の濃度區に對する後燻蒸の濃度死亡率關係

後燻蒸の CS_2 濃度 mg./L.	0 mg./L. 區		4 mg./L. 區		8 mg./L. 區		16 mg./L. 區		20 mg./L. 區	
	死亡率 %	實驗回数	死亡率 %	實驗回数	死亡率 %	實驗回数	死亡率 %	實驗回数	死亡率 %	實驗回数
10	1.5	4	0.0	3	0.0	2	0.0	2	0.0	2
12	5.0	4	1.0	2	1.0	2	0.0	3	3.3	3
14	9.3	3	6.7	3	2.7	3	2.7	3	6.7	3
16	34.7	3	19.0	2	18.0	2	4.0	3	30.7	3
18	64.0	3	43.3	3	41.3	3	36.0	3	59.3	3
20	84.7	3	75.0	2	63.0	2	49.3	3	78.0	3
22	98.7	3	96.7	3	94.7	3	81.3	3	92.7	3
24	100.0	4	98.7	3	100.0	2	96.0	3	100.0	3
26	100.0	4	100.0	3	100.0	3	100.0	2	100.0	2



第1圖 種々なる前燻蒸の濃度にされたコクゾウ成虫の後燻蒸における濃度—死亡率曲線（左上の数字は前燻蒸濃度を示す）縦軸は死亡率、横軸は濃度。

をとつた結果は第2圖のようである（圖中の数字はそれぞれの區のM. L. D.を示す）。



第2圖 前燻蒸におけるCS₂濃度と中央致死濃度(M. L. D.)との關係

圖によると M. L. D. は前燻蒸における濃度が増加するにつれて徐々に増しているが、16 mg/L. をほぼ頂点として急に減少している。すなわちこれはコクゾウ成虫の感受性が前燻蒸の濃度によつてこのような変化をあらわすことを暗示している。もつとも圖に示した傾向線はわずかに5つの点をもとにしてえがかれたものであり、特に高濃度の場合の急激な変化をただ一つの点によ

つて満足させようとしたことは非難を免れないかも知れない。またたとえこの変化の傾向がある程度正しいものとしても、それぞれのM. L. D. が第1圖に示された濃度—死亡率曲線のどれをとつても、その中に含まれ得ることから推してその変化の程度もきわめて小さいことを肯定せざるを得ない。しかしその間に有意の差があることは、統計的に吟味するまでもなく、それぞれの濃度に對する死亡率が一、二の場合を除き前燻蒸の濃度によつていつも同じ順位を保っていることからしてもほぼ確かなことであると思う。M. L. D. とともに σ (死亡率分布曲線の標準偏差) を求めたがいづれも 0.33~0.39 mg./L. の範囲内にあつてほとんど差を認めなかつた。

以上の結果はコクゾウ成虫に對してCS₂の致死下藥量の接觸がその感

受性を低下させることを示したが、この現象が如何なる條件下に於ても見られるとは考えられない。第2圖を見ただけでも前燻蒸の濃度が更に高い場合に同様な感受性の低下が起るとはとても考えられない。Sun (1947) はゲラナリヤコクゾウ (*Calandria granaria* L.) に對してCS₂を用いて同様な實驗を行つたが、彼の實驗では pre-fumigateされた昆虫がすべての場合に正常のものより強い抵抗力を示す結果とはならなかつた。もつとも彼は前燻蒸の時間に6~25分というきわめて短い時間を用いており、しかもその時間を濃度と同時に任意に変えて行つてゐるため、たとえ昆虫が同じであつても著者の結果と直接比較することは許されないし、又その結果が單一濃度の後燻蒸で求めた死亡率で示されている点からしても對比すべき資料とはならないだらう。前燻蒸の濃度によつて感受性變化の程度がちがつてくることはカイガラムシ類に對するHCNの場合にも觀察されている (Yust et al. 1944)。

著者は前燻蒸の時間として便宜上4時間を選び濃度を變えてその影響を見たのであるが、この時間的條件もまた濃度とともにこの感受性の變化に關係をもつことが充分考えられる。しかしこの前燻蒸における時間と濃度とはそれぞれ獨立のものではなく、一般の燻蒸實驗における濃度と時間の關係の如く、全く密接な函數關係にあると考えられるから、それが感受性に對する作用量も

むしろ兩者の Product の如きものに對して評價されることがより望ましいように思う。

又前燻蒸から後燻蒸までの時間的経過は、それ自体感受性變化に對する直接的原因ではないとしても、結果において前燻蒸の効果に差異をもたらすことになるかも知れない。このことについては著者の實驗結果からは何の暗示も得られないが、Sun (1947) の實驗結果によれば、前燻蒸の濃度及び時間の如何にかかわらずグラナリヤコクゾウの CS_2 に對する感受性は前燻蒸の直後はむしろ正常のものより高いが3~4時間後には低下して最低となりその後徐々に増大して12~15時間以後は正常のものとほとんど變らない値を示すという。もしこの結果が著者の場合にもあてはまるとすれば前燻蒸の24時間後に感受性をしらべた結果からはほとんどその影響を見出し得ないことになる。しかし前にも述べたとおり彼の實驗は極めて短時間の前燻蒸を行つた場合であつて、それよりはるかに長い時間の前燻蒸を行つた本實驗の場合でも同様な結果になるとは限らないだろう。前燻蒸後の時間によつて感受性が變化することは Lindgren (1938), Yust et al. (1942 a) などによつても認められている。

以上のような實驗とそれに対する考察が一應是認せられるものとすれば、いわゆる感受性に對する致死下藥量の作用強度はその濃度と時間によつて決定されそれは又時間的経過につれて、ある變動を示すといふことができる。更にその作用強度が環境條件特に温度によつても左右されることはカイガラムシ類についてなされた實驗から推測することができる (Yust et al. (1942 a, 1944))

V 致死下藥量による感受性變化の機構について

Sun (1947) 及び著者の實驗の結果は CS_2 の致死下藥量がグラナリヤコクゾウ及びコクゾウ成虫の CS_2 に對する感受性を變化させる事實を示した。しかしこうした變化現象がどうして起るかという機構についてはなんら知るところでない。Gray & Kirkpatrick (1949) は始めて Red scale (*Aonidiella aurantii* Mask.) 及び Black scale (*Saissetia oleae* Bern.) についてこの現象を認めその機構を次のような假説によつて説明した。即ち「低濃度の HON にさらされた昆虫は呼吸の減退をとまなつた一種の麻酔 (Stupefaction) を起す。このことはこれらの個体が次につづいて行われる HON の燻蒸に於て正常のものに較べてより少いガスを吸入するという結果をもたらすだろう。そうしてその結果はこれらの個体の致死を一層困難にする」というのである。彼等はこの場合の麻酔現象を特に "Protective stupefaction" (防護麻酔) と名付けた。この假説がまことにもつともらしいものであることは Pratt et al. (1931), Lindgren (1938), Yust

et al. (1942 a-b) 等の研究に於てそれが無條件に支持されている事實からしても明かである。しかしたとえこの説明が彼等の場合ほぼ正しいものであるとしても、異つた藥劑、昆虫を用いて行つた本實驗の場合にこの説を無條件に採用することはかなり危険であると考えねばなるまい。Lindgren (1938) は Red scale のほかグラナリヤコクゾウ、ヒラタコクヌストモドキ及びテントウムシの一種 (*Hippodamia convergens* Guér.) について HON の前燻蒸の影響をしらべたがその結果はコクヌストモドキ及びテントウムシではそのために感受性の變化が起ることはなかつたという。このことは昆虫の種類が異れば同一藥劑が作用した場合でも同じ影響が見られるとは限らないことを示す。まして用いる藥劑がちがえばその作用も異ると考えられるから昆虫の感受性變化の機構も當然ちがつたものでなければならぬと思われる。一方カイガラムシについてなされたこれらの實驗は多くの場合前燻蒸後まもなく後燻蒸を行つたものであり、また後燻蒸の時間も5~30分というきわめて短かい時間(それはまづたく實際的な臨除における燻蒸時間に近いものであるが)を用いている点などからしても著者等の實驗とかなりちがつたものである。したがつて問題となる機構に關しては一應きりはなして考究するのが適當ではなからうか。

ここに著者は感受性變化の機構の本態を知る端緒を得んとして次のような實驗と觀察を試みた。すなわち CS_2 の毒性が多くの場合昆虫の呼吸作用によつて著しくちがつてくるといふ事實から、先づ前燻蒸後のコクゾウ成虫の呼吸が致死下藥量の CS_2 によつて如何に影響をうけるかについてしらべてみた。呼吸量の測定は Krough の Microrespirometer を用い前燻蒸の濃度 0, 8, 16 mg/L. の3區の個体それぞれ50頭について後燻蒸の約1時間前における5分間の酸素消耗量を測定した。測定は各區について5回づつ行つたがその結果は各區の平均酸素消耗量が 0.153~0.157 cm³ の範圍にあつてこれらの間の差は實驗誤差内に充分含まれる程度であり何等有意の差を示さなかつた。前燻蒸後の時間の推移につれて呼吸の程度がいかに變るかは測定しなかつたけれども、この結果からすればすくなくとも後燻蒸の直前には呼吸作用の程度にほとんど差がないものと考えることができる。

つぎに前燻蒸の濃度によつてコクゾウ成虫の活動状態にどんなちがいが現れるかを觀察したがその結果を要約すると、前燻蒸中及びその直後ではより濃度の高い 16, 20 mg/L. 區の個体に一種の弱い麻酔状態がみられたがその後徐々に快復し後燻蒸の直前に觀察した時にはいずれの區の個体もまづたく正常の個体と外見上はなんら異なる活動状態を示した。すなわちこの觀察の結果とさ

きの呼吸量測定の結果はいづれも否定的な結果に終つたので、これらをもつてはコクゾウ成虫の感受性變化の機構についての暗示を得ることは望めない。しかし少なくとも外見的にはいわゆる protective stupefaction のやうな現象が、起らなかつたということが出来るだろう。このことは Sun (1947) の述べるところとよく一致する。即ち彼はグラナリヤコクゾウの場合、CS₂ の前燻蒸によつてその行動はやや緩徐になつたけれども間もなく恢復してそこには麻酔のような状態はまったくみられなかつたと述べており、このことからさらに彼は觀察がきわめて困難なカイガラムシの場合にはたしてかかる麻酔現象がみられたかどうか甚だ疑問であるとしている。

以上の實驗的事實と考察とはコクゾウの場合の感受性變化の機構を恐らくは他に求めねばならぬことを暗示する。ここに注目すべきことは一般の薬理學領域に於て認められている現象にいわゆる習慣性 (Gewöhnung) といつて或る種の藥物 (モルヒネ、アルコールなど) を連用することにより生体の感受性が低下するというのである。これは生体細胞 (主として神經細胞) の藥物感度が反復刺激のために低下することがその本態であるとされ藥物の侵入に對して生物が示す一種の順應現象と考えられているが、昆虫に於てもかかる現象が存在しないであろうか。これらのことについては今後の研究にまかしたい。

Ⅶ 摘 要

1. コクゾウ成虫の CS₂ に對する感受性がその致死下藥量によつて如何に變るかをしらべるため、CS₂ のい

ろな濃度 (0~20 mg./L.) を用いて前燻蒸 (4 時間) を行いその24時間後にそれぞれについて後燻蒸 (24 時間) を行つて濃度-死亡率 關係を求め比較検討した。(第1表及び第1圖)

2. コクゾウ成虫の感受性は前燻蒸によつて一般に減じたが、その程度は前燻蒸の濃度によつて左右されることを示した。(第2圖)

3. 前燻蒸による感受性變化の機構にかんして若干の考察を行つた。

Ⅷ 引用 文 献

- Bliss, C. I. (1935) Ann. appl. Biol., 22: 131-167.
 福田 (1947) 薬理學講義第一篇
 Gray, G. P. and Kirkpatrick, A. F. (1929) J. econ. Ent., 22: 878-892.
 Lindgren, D. L. (1938) Hilgardia, 11: 213-225.
 Peters, G. (1926) Samml. chem. u. chem.-tech. Vorträge, 31: 120 pp.
 Pratt, F. S., Swain, A. F. and Eldred, D. N. (1931) J. econ. Ent., 24: 1041-1063.
 Sun, Y. P. (1947) Tech. Bull., Univ. Minn. agr. Exp. Sta., no. 177: 104 pp.
 Yust, H. R., Nelson, H. D. and Busbey, R. L. (1942 a) J. econ. Ent., 35: 339-342.
 ————— (1942 b) J. econ. Ent., 35: 816-820.
 ————— (1942 c) J. econ. Ent., 35: 825-826.
 ————— (1944) J. econ. Ent., 37: 57-60.

Résumé

Testing the prefumigation effect of carbon disulphide (CS₂) on the adults of the rice weevil (*Calandra oryzae* L.), the test insects were exposed in sublethal concentrations (4, 8, 16 and 20mg. per liter) for 4 hours and then were fumigated with lethal dosages of CS₂ for 24 hours.

Prefumigation with sublethal dosages of CS₂ are tested lowering the susceptibility of the adult weevil considerably in all concentrations. (Fig. 1.)

As shown in Fig. 2, the rate of the decrease of the susceptibility to CS₂ changes with the concentration of the prefumigation.

In order to prove the mechanism of the change in the susceptibility mentioned above, the author observed the behaviour of the prefumigated insects and also measured the amounts of the oxygen consumption of them. Regardless of the concentration of the prefumigation, the significant difference did not exist among both the behaviour and the respiration rate of the insects.

There was no evidence that they turn into the condition of the so-called "protective stupefaction", which had been discovered in scale insects fumigated with hydrocyanic acid.