

Effect of Temperature and Solvent on the Toxicity of Naled against the Common House Fly. Studies on the Biological Assay of Insecticides. HLIV. Sumio NAGASAWA and Michiyo SHIIBA (Ihara Agricultural Chemicals Institute, Shimizu). Received April 30, 1964. *Botyu-Kagaku*, 29, 31, 1964 (with English summary 36).

7. Naled のイエバエにたいする毒性と温度および溶媒の関係 殺虫剤の生物試験にかんする研究. 第44報. 長沢純夫・柴三千代 (イハラ農薬研究所) 39, 4, 30, 受理

Naled のイエバエにたいする毒性は処理前の放置温度よりも処理後のそれに左右されることが大きく、温度 $20^{\circ}\sim 30^{\circ}$ の範囲にあっては、その毒作用は負の温度係数をもつ様である。溶媒にもちいたアセトンにゴマ油を加用することの影響は有意性を示さなかった。

Naled は諸種の害虫にたいしてすぐれた効力を有する一方、人畜にたいする毒性がきわめてひどいことから、とくに防疫用薬剤としてその利用性が注目されている。しかし分解性が他の殺虫剤にくらべてかなり高いため、その防止策のひとつとして、これにゴマ油を加用することがなされている。油を殺虫剤に加用することは、別に light spray oil の DDT にたいする場合などはその accessibility が増し生物試験結果の均一性が期待され¹⁾、ゴマ油の DDT にたいする場合は若干その有効度もたかめえられる²⁾。また一方ピレトリンにゴマ油をくわえて、いちぢるしい相乗効果をみいだした Eagleson³⁾の報告は、その有効成分 sesamin の発見のうながし、これに類縁したいくつかの相乗剤の工業生産をもたすにいたっている。今回筆者らは naled をアセトンに溶解してイエバエに滴下処理するとき、ゴマ油を加用した場合と、アセトンのみの場合の有効度を、温度 20° と 30° において比較した。その結果をここに報告する。本文にはいるに先立ち、供試昆虫の飼育に助力せられた伏見王子嬢に謝意を表す。

実験材料および方法

供試昆虫：この実験にもちいたイエバエ *Musca domestica vicina* Macq. は 1947 年に 1 対の雌雄から出発した、いわゆる“高槻系”と称される累代飼育系統である。その幼虫期の飼育は常法の豆腐粕培基によっておこない、成虫期の餌には砂糖と水をあたえた。実験には羽化後 4～5 日目の雌個体をもちいた。

供試薬剤：Naled (Dibrom[®], 1,2-dibromo-2,2-dichloroethyl dimethyl phosphate) は、ジブロム普及会から提供を受けた表示有効成分 $>93\%$ の工業製品原体をもちいた。これをアセトンで最高濃度 $0.0156 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ に希釈し、順次倍数希釈して 3 段階の薬液を調製した。ゴマ油はアセトンに 2% を加用、これをもって naled の最高濃度 $0.0156 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ の溶液を

つくり、同様に 3 段階の濃度に希釈してもちいた。

試験方法：この実験は Finney⁴⁾ によってのべられた解析方法をそのまま適用することを目的に、その論著にならってつぎの様な計画でおこなわれた。すなわち供試雌個体は、約 40 匹づつ直径 9cm、高さ 7cm のガラス容器にいれ、サランの網蓋をかぶせた上、2 群にわけて、その 1 群を処理前 24 時間 25° 、他の 1 群を 30° の定温器内においた。餌として希釈牛乳を脱脂綿に浸してあたえた。薬液の処理は供試個体を炭酸ガスでかるく麻酔し、その胸背部に 1 個体あたり 1mm^3 をマイクロメーターサイリンジで滴下処理した。処理後は前と同様希釈牛乳をあたえ、ふたたび 25° および 30° の定温器にもどし、24 時間後にその生死を記録した。なお別にアセトンのみの処理による対照区をもうけ、その斃死率をもとめた。すなわち薬液処理前、および処理後の放置温度にかんして 4 つの組合せができ、溶媒にゴマ油を加用した場合と、加用しない場合とをかんがえると、都合 8 つの組合せができることになる。これは $2 \times 2 \times 2$ 、いかえれば 2^3 の factorial system の配置にあり、薬剤処理前の放置温度、処理後の放置温度およびゴマ油の 3 要因は、それぞれふたつの相対する条件、すなわちはじめのふたつの要因については、 20° と 30° 、後のゴマ油については加用、無加用の相互の条件をそなえている。Finney のそれにならって 20° 放置に C、 30° 放置に H、ゴマ油の加用に O のコードレターをあたえて、それぞれの 8 ケの組合せを第 1 表にしめす様に区別した。たとえば C. H. O. としたものは、薬液処理前の 24 時間を、 20° に放置し、処理後 24 時間は 30° におき、処理薬剤はゴマ油を加用した naled であることをいみする。この実験は 1964 年 3 月 10～26 日にわたる期間にくりかえしおこなわれたもので、都合 2502 匹の個体がかんがえられた。薬液処理前後 48 時間の温度をのぞいては、飼育および試験操作中の温度は、すべて 25° 、関係湿度 70% の環境条件下においておこなわれた。

実験結果と考察

実験の結果を表示すると、第1表のごとくである。なおここでしめされた致死率はそれぞれの対照区における生存率をもって、Abbott の式により補正をおこなった数値である。

中央致死薬量の算定：第1表にしめした処理薬量 X を対数変換したときに生ずる負数をなくして、以後の計算操作を簡便にするために、まづこれを1000倍した上でその対数 x をとり、これに対応する致死率 Y をプロビット y に変換して、両者の関係をもとめたのが第1図である。常法⁹⁾により、これらの回帰直線の方程式を計算した。第2表はその要約である。第1図

にみる様に、H. H. O. および C. C. O. のしめす薬量-致死率回帰直線は、のこりの6回帰直線にくらべてかなりそのかたむきはゆるやかである。しかし Finney⁹⁾の方法によってその平行性を検定した結果は、第3表にしめす様に $A/s^2=3.35$ となり、有意水準 0.05 における F の値 3.50 よりも小さく、これらの回帰直線は平行関係にあるとみなしてさしつかえない。そこで共通勾配

$$b_0 = \Sigma[wx y] / \Sigma[wx^2] = 657.67448 / 227.790801 \\ = 0.34637$$

をもちいて、これと第2表にしめした $\bar{x}$, $\bar{y}$ とから8本の平行な回帰直線の方程式 $Y = \bar{y} + b_0(x - \bar{x})$ をもとめ、 $Y=5$ において x , すなわち対数単位でしめした

Table 1. Results of toxicity tests on the common housefly.

Dosage ($\mu\text{g}/\text{♀}$)	H. H.		C. H.		H. C.		C. C.	
	No. of flies	Mortality	No. of flies	Mortality	No. of flies	Mortality	No. of flies	Mortality
0.0039	78	5.1%	81	0.0%	79	1.5%	80	7.9%
0.0078	84	16.7	80	45.3	80	31.1	80	59.8
0.0156	79	96.2	80	89.1	75	98.56	78	96.1
Control	81	0.0	81	8.6	80	7.5	82	3.7

Dosage ($\mu\text{g}/\text{♀}$)	H. H. O.		C. H. O.		H. C. O.		C. C. O.	
	No. of flies	Mortality	No. of flies	Mortality	No. of flies	Mortality	No. of flies	Mortality
0.0039	75	2.6%	80	1.4%	79	2.5%	80	17.5%
0.0078	80	30.4	80	28.4	80	45.0	80	38.8
0.0156	78	53.9	79	96.2	40	100	80	90.0
Control	80	13.8	79	2.5	71	0.0	83	0.0

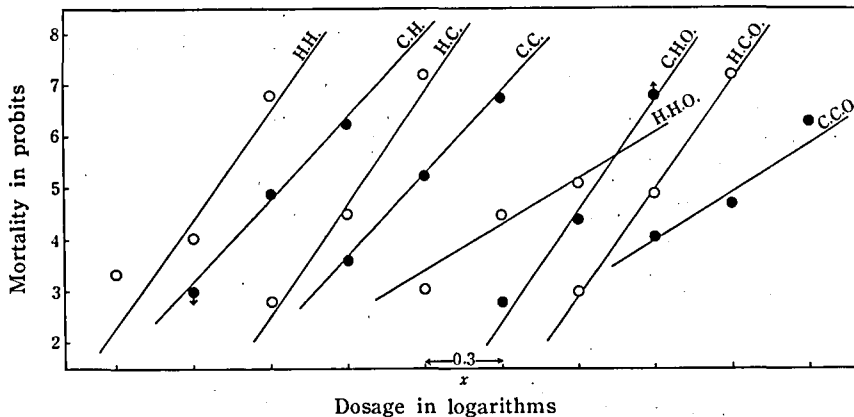


Fig. 1. Relations between the toxicity of naled to the common house fly, temperature, and solvent. The scale of log-doses has been shifted horizontally for each curve to avoid overlapping.

Table 2. Summary of calculations for fitting probit lines.

Series	x	y	Σw	$[\Sigma wx^2]$	$[\Sigma wxy]$	$[\Sigma wy^2]$	$[\Sigma wxy]^2/[\Sigma wx^2]$
H. H.	0.93821	4.61196	68.53	1.49948	10.99079	87.33123	80.55957
C. H.	0.91600	4.86839	101.61	4.60907	24.53160	132.47056	130.56851
H. C.	0.90729	4.72578	61.56	0.96839	7.15807	55.64664	52.91047
C. C.	0.87468	5.12130	88.47	3.39242	17.89389	94.48342	94.38433
H. H. O.	0.98981	4.58114	105.27	4.91069	14.63443	47.42217	43.61231
C. H. O.	0.93933	4.84730	66.23	1.50656	10.52473	75.30176	73.52508
H. C. O.	0.92436	5.17170	75.52	2.22220	15.55510	109.81124	108.88360
C. C. O.	0.84454	4.73303	98.29	4.21431	13.26077	45.40457	41.72641
Σ	—	—	665.48	23.32312	114.54938	647.87159	626.17028

Table 3. Analysis of variance of mortality probits.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	F
Common slope	1	$\Sigma^2[\Sigma wxy]/\Sigma[\Sigma wx^2]=562.60$		
Departure from parallelism	7	63.57	$A=9.08$	$A/s^2=3.35$
Separate slope	8	$\Sigma([\Sigma wxy]^2/[\Sigma wx^2])=626.17$		
Heterogeneity	8	$\Sigma \chi^2 = 21.70$	$s^2=2.71$	
Total	16	$\Sigma[\Sigma wy^2] = 647.87$		

Table 4. Values of log LD₅₀ and calculation of treatment effect.

Series	m	(1)	(2)	(3)	Means	(3) for $\bar{x}$
H. H.	1.017	1.960	3.773	7.606	0.951	7.334
C. H.	0.943	1.813	3.833	-0.282	-0.071 ± 0.02258	-0.184
H. C.	0.963	2.045	-0.187	-0.404	-0.101 ± 0.02268	-0.232
C. C.	0.850	1.788	-0.095	0.072	0.018 ± 0.02259	-0.038
H. H. O.	1.075	-0.074	-0.147	0.060	0.015 ± 0.02254	0.062
C. H. O.	0.970	-0.113	-0.257	0.092	0.023 ± 0.02267	-0.076
H. C. O.	0.889	-0.105	-0.039	-0.110	-0.028 ± 0.02254	-0.088
C. C. O.	0.899	0.010	0.115	0.154	0.039 ± 0.02268	-0.018

中央致死薬量を算定した。その結果が第4表 m の欄の数値である。なおここで m の variance は

$$V(m) = \frac{1.96}{b_0^2} \left[\frac{1}{\Sigma w} + \frac{(m - \bar{x})^2}{\Sigma [wx^2]} \right]$$

の式によってもとめられる。

効力の比較: 2³ の factorial system の計画にしたがっておこなわれた実験結果の解析方法については、Yates²⁾ によって論じられ、Finney³⁾ によってその適用例がしめされている。そして長沢・柴⁴⁾ もさきにDDTのイエバエにたいする毒性と温度、および溶媒の関係を解析するにあたってこれに応用した。それはまづ、第4表の第1欄にしめた順序に要因の組合せをなら

べ、それぞれの m 、すなわち log LD₅₀ を第2欄にかき入れる。つぎの第3欄の(1)の数値を、第2欄の m にもとづいて計算する。(1)の最初の4ケの数値は、第2欄の m を2ケずつ順次くわえた数値で、つぎの4ケの数値は、その差、すなわち下の数値から上の数値をひいた結果である。第4欄の(2)の数値は、(1)の数値から、第5欄の(3)の数値は(2)の数値から同様にしてもとめた数値である。第5欄の(3)の数値の最初は、8ケの m の合計で、第6欄の第1行目の数値はその平均である。第6欄ののこりの数値は、第5欄ののこり7ケの数値を、それぞれ4で割った結果である。これらのうち第2行目の数値は、処理前20°に放置したもの

の m の平均値と、処理前 30° に放置したものの m の平均値の差であり、第3行目の数値は処理後における 20° と 30° 区の m の平均値の差である。第4行目の数値は、ふたつの放置条件の交互作用の程度をしめす数値である。第5行目の数値は、ゴマ油を加用しない場合と、加用した場合の m の平均値の差をしめし、第6行目の数値は、処理前の放置条件とゴマ油との交互作用を、第7行目の数値は、処理後の放置条件とゴマ油との交互作用をしめし、最後の数値は3要因の交互作用をあらわす数値である。

第7欄の数値は第2表にしめた $\bar{x}$ の数値について、同様の計算をおこなってえられた m にかんする第5欄の数値と、同じ意味をもつ値である。第6欄にしめたそれぞれの要因の効果、および交互作用の variance はつぎの式によってもとめてえられる。

$$V = \frac{1.96}{16b^2} \left\{ \Sigma \left(\frac{1}{\Sigma w} \right) + \frac{(m - \bar{x})^2}{\Sigma [wx^2]} \right\}$$

第4表の第6欄にしめた標準誤差はこれらの variance の平方根である。

結果の総括：第4表第6欄にみる様に、平均主効果とその標準偏差を比較すると、処理前後における放置温度の naled の毒性にあたえる影響は、あきらかに有意である。しかその交互作用の影響は小さく有意でない。またゴマ油の影響も有意性をしめしていない。そしてまたゴマ油と放置温度条件との間の交互作用も有意でない。すなわち放置温度は naled の毒性に有意の影響をもつが、ゴマ油の影響は本実験の範囲内ではみとめられないと結論される。

Naled の有効度について、これら3要因の関与する程度をなおすこく詳細に検討してみることとしよう。第5表の前半は処理前および後における放置温度条件の $\log LD_{50}$ にたいする影響を、ゴマ油を加用した場合としない場合においてしめたものである。平均の欄にしめたゴマ油を加用した場合と、加用しない場合の平均値の差 $0.958 - 0.943 = 0.015$ は、ゴマ

油を加用することによって生ずる $\log LD_{50}$ の増大量、すなわちきかなくなる程度をしめしており、さきの第4表にも算出表示されている数値である。しかしこれは有意性をもつほどには大きくない。そしてまた処理前 30° 放置区における差 $0.982 - 0.990 = -0.008 \pm 0.033$ 、 20° における差 $0.935 - 0.897 = 0.038 \pm 0.031$ は、それぞれ $\log LD_{50}$ の減少量、増大量をしめすものである。すなわち処理前 30° においた場合、ゴマ油を加用することにより naled の力価は2%増したことになる。 20° に放置した場合は8%減少したといふことができる。処理後 30° 放置区における差 $1.023 - 0.980 = 0.043 \pm 0.032$ 、 20° における差 $0.894 - 0.906 = -0.012 \pm 0.032$ もまたそれぞれ $\log LD_{50}$ の増大量減少量をしめしている。すなわち処理後 30° においた場合は、ゴマ油を加用することにより、naled の力価は9%減少したことになる。 20° に放置した場合は3%増したといふことができる。これはさきの処理前の温度の影響とは逆になり、ここに一定の傾向をみとめることができない。しかしその標準誤差との比からわかる様に、これらはいずれも有意の数値であるとはいえず、ゴマ油の加用はこの実験の範囲内では、naled の有効度になんらの影響をあたえないと結論することが可能である。ここで $\log LD_{50}$ の差の variance はつぎの式によって計算することができる。

$$V(M) = \frac{1.96}{4b^2} \left\{ \Sigma' \left(\frac{1}{\Sigma w} \right) + \frac{\delta^2}{\Sigma [wx^2]} \right\}$$

分母の factor 4 は、2の2乗で、ふたつの組合せの平均値の間の差である contrast 2 からみわかれる数である。 Σ' は4つの組合せ(処理後 30° においた4つの組合せ H. H., C. H., H. H. O., C. H. O. または 20° においた4つの組合せ H. C., C. C., H. C. O., C. C. O.) の薬量-致死率回帰直線をもとめるさいにもちいられた重みの総計 Σw の逆数、すなわち a の variance の合計をさす。 δ は $(m_1 + m_2 - m_3 - m_4)$ および $(\bar{x}_1 + \bar{x}_2 - \bar{x}_3 - \bar{x}_4)$ の間の差をしめす。たとえば

Table 5. The effect of storage condition before and after treatment and of soy bean oil on the mean value of the $\log LD_{50}$ (+3.000) and of LD_{50} ($\mu\text{g}/\varphi$).

Before or after treatment	Storage at $^\circ\text{C}$	$\log LD_{50}$ Addition of oil			LD_{50} Addition of oil		
		Absent	Present	Mean	Absent	Present	Mean
Before	30	0.990	0.982	0.986	0.00977	0.00959	0.00968
	20	0.897	0.935	0.916	0.00789	0.00861	0.00824
	Mean	0.943	0.958	0.951	0.00877	0.00908	0.00893
After	30	0.980	1.023	1.002	0.00955	0.01054	0.01005
	20	0.906	0.894	0.900	0.00805	0.00783	0.00796
	Mean	0.943	0.958	0.951	0.00877	0.00908	0.00893

Table 6. Estimated relative dosage values (measured on logarithmic scale).

Relative dosage value for	Mean	Storage before treatment		Storage after treatment		Soy bean oil	
		30°	20°	30°	20°	Absent	Present
Cold instead of hot storage before treatment	0.071	—	—	0.089	0.053	0.094	0.048
Cold instead of hot storage after treatment	0.101	0.119	0.083	—	—	0.073	0.129
Addition of soy bean oil to acetone	-0.015	0.008	-0.038	-0.043	0.013	—	—

Table 7. Estimated relative potencies.

Relative potency for	Mean	Storage before treatment		Storage after treatment		Soy bean oil	
		30°	20°	30°	20°	Absent	Present
Cold instead of hot storage before treatment	1.18	—	—	1.23	1.13	1.24	1.12
Cold instead of hot storage after treatment	1.26	1.31	1.21	—	—	1.18	1.35
Addition of soy bean oil to acetone	0.97	1.02	0.92	0.91	1.03	—	—

さきの処理前 30° に放置した系列における log LD₅₀ におよぼすゴマ油の影響に関する variance を計算する場合は、 m については

$$(1.075 + 0.889 - 1.017 - 0.963) = -0.016$$

$\bar{x}$ については

$$(0.9898 + 0.9244 - 0.9382 - 0.9073) = 0.069$$

これから平均値の差 0.008 の variance は

$$V(M) = \frac{0.49}{b^2} \left\{ 0.05357 + \frac{(0.053)^2}{23.32312} \right\} = 0.033^2$$

第5表の後半は、前半の数値の逆対数値をもとめ、さきに負数をなくして計算を便利にするために1000倍しておいたから、これを1000でわって実数単位にしまった平均中央致死薬量である。

これらの関係を、簡単なひとつの表としてまとめたのが第6表である。この表の最初の mean の欄の3ケの数値は、第4表第6欄にかかげられた対応する3ケの数値の符号を正負逆にしてかき入れたものである。ここでたとえば、最初の 0.071 は、処理前 20°C に放置した場合は、30°C に放置した場合にくらべて 0.071 有効であることを意味している。処理後 30° または 20° に放置した場合の相対薬量は、この 0.071 に交互作用値の 0.018 を減算および加算することによってもとめられる。しかしこの場合正負符号を逆にすることは計算後におこない、これを表にかき入れる様にする。すなわち

$$-0.071 - 0.018 = -0.089$$

$$-0.071 + 0.018 = -0.053$$

同様にゴマ油を加用しない場合、加用した場合は、そ

の交互作用値 0.023 を減算、加算してもとめる。以下同様にしてその平均値に対応する交互作用値を減算、加算して第6表にしめす様な数値をえる。

第7表は第6表の数値の逆対数値をしめたものである。これをみると、処理前 20° 放置の影響の平均は、30° 放置にくらべて 18% まで有効度がましている。さらにこれを、処理後の放置条件にわけてかんがえらると、処理後 30° に放置した場合 23%、20° に放置した場合は 13% 増し、またこれをゴマ油を加用した場合とそうでない場合とにわけてかんがえらると、加用しない場合は 24% 増し、加えた場合は 12% 増したことがわかる。つぎの行は、処理後 20° においた場合を、30° 放置にくらべた相対力価をしめし、最後の行の数値は、ゴマ油加用の有無による影響をしめすものである。さきにしるした様に naled の有効度にたいするゴマ油の影響はみとめられないが、温度については naled は高温における以上低温においてより有効であるといえられ、毒作用の温度係数は負であると結論される。

摘 要

イエバエの成虫に naled を処理する前、後 24 時間における放置温度を、20° および 30° にかえ、さらに溶媒にもちいたアセトンにゴマ油を加用した場合と、アセトン単用の場合とにわけて、2³ の factorial system の実験計画をたて、これにしたがっておこなわれた実験の結果を解析した。naled の有効度に関与する 3 要因のうち、処理後の放置温度の影響が一番大きく、処理前の放置温度の影響がこれにつき、ゴマ油

の加用による影響は有意性をしめさなかった。温度 $20^{\circ}\sim 30^{\circ}$ の範囲にあっては、naled のイエバエにたいする毒作用は、負の温度係数を有するもののようである。

引 用 文 献

- 1) Bliss, C.I. : *Ann. Appl. Biol.* 22, 134~67 (1935)
- 2) Eagleson, C. : *U. S. Patent* 2, 202, 145 (1940)
- 3) Finney, D.J. : *Ann. Appl. Biol.* 33, 160~5 (1946)
- 4) Haller, H. L., McGovran, E. R., Goodhue, L. D. and Sullivan, W.N. : *J. Org. Chem.* 7, 183~4 (1942).
- 5) Nagasawa, S. and W.M. Hoskins : 応動昆 (投稿中)
- 6) 長沢純夫・柴三千代 : 応動昆 (投稿中)
- 7) Yates, F. : *Tech. Commun. Bur. Soil Sci., Harpenden*, (1937) No. 35

Summary

A 2^3 factorial experiment on alternative storage conditions for insects before and after

treatment and the adjuvant effect of soy bean oil to solvent in topical application was designed to test the toxicity of naled (Dibrom®, 1, 2-dibromo-2,2-dichloroethyl dimethyl phosphate) against the common house fly, *Musca domestica vicina* Macq. The house flies were stored at either 20° or 30° for 24 hours before treatment, and also at either 30° or 20° for 24 hours after treatment. Soy bean oil was used as a 2 per cent (v/v) solution in acetone. As seen in the estimated relative dosage values or relative potencies, the effect of storage temperature after treatment was biggest among the three factors concerning to the toxicity of naled against the house fly, and the adjuvant effect of soy bean oil was negligible. The toxicity of naled in the lower temperature was bigger than that in the higher temperature. The temperature coefficient of toxic action of naled to the house fly is seemed to be negative in the range of temperature from 20° to 30° .