

収穫期のことなるイネの発芽を阻害するPCPの濃度

長澤 純夫・春山 博

Sumio NAGASAWA and Hiroshi HARUYAMA
Concentrations of PCP inhibiting the Germination of
Rice Seeds harvested in Different Seasons

植物の種子や菌類の胞子の発芽を阻害する、薬物の濃度をきめる実験で、無処理対照区に、発芽しない個体があった場合は、実験結果の解析にあたって、当然これを考慮に入れた発芽率の補正がなされなければならない。¹⁾ 殺虫剤の生物検定の分野では、通常 Abbott の補正式、 $P = (P' - C)/(1 - C)$ によってその補正がなされている。ここで P は補正された殺虫率、 P' は実験によってえられた殺虫率、 C は無処理対照区の斃死率を示す。こうしてえられた補正殺虫率に基づいて、対照区における斃死率が0である場合の、プロビットを用いる薬量-致死率曲線の計算法が広く適用されている。

³⁾ Hoskins は、無処理対照区における5%程度の斃死率は、無視して解析を進めてもかまわないとした。しかし実験材料によっては、無処理対照区の斃死率を5%におさえる事のできないものが少なくない。 C があきらかに大きい場合、または無処理対照区における供試個体数が少なく、信頼しうる C をきめる事ができない様な場合の、²⁾ 薬量-反応率曲線の計算法として、Finney は最尤法を示した。そしてその理論的な解説を詳細に行い、計算例をあたえ、さらに同じ材料を用いてえられたふたつの薬量-反応率曲線から、標準薬剤に対する供試薬剤の、相対有効度を求める方法を例示した。

普通、植物の種子は、古くなるとその発芽率は急激に低下する。こうした材料を用いて、薬物の発芽阻害濃度をきめなければならない実験では、無処理対照区の異常に高い不発芽率のあつかいが厄介である。^{4,5)} 長澤らは、Finney の方法を用いる事によって発芽率の悪いキウリの種子の発芽を阻害する PCP と、その類縁化合物の濃度を比較算定した。

ここでわれわれは、自然の斃死率のことなるふたつの材料を用いて、ひとつの薬物に対するそれぞれの反応率

から、相互の相対感受性をきめなければならない場合に遭遇する。そうした実験結果の解析に当っては、当然 Finney の示した式の修正が必要である。収穫年次の相違から、自然の不発芽率の異なる2組のイネの種子の PCP の発芽阻害作用に対する感受性を比較した実験結果について、この問題を考える。

本文に入るに先立ち、解析の方法について御教示を戴いた Edinburgh 大学統計学部 of D. A. Williams 博士と、供試種子の御提供を願った本学本庄農場の福田晟助教授に謝意を表す。

実験材料及び方法

実験材料：この実験に用いた pentachlorophenol (PCP) 粒剤は、有効成分含有量 86% を表示する市販品のひとつである。イネの種子は、島根大学農学部本庄農場で1976年と1977年の両年に採取した品種日本晴である。

実験方法：製品濃度として $i = 0.1$ の対数間隔で、数段階の水溶液を調製、その 50cc を直径 9cm、高さ 2cm のペトリ皿にとり、これに約50粒の種子を浸漬した。ペトリ皿の数は、ひとつの材料について試験した濃度レベルと、水だけの無処理対照区とを加えた $10 \times 10 = 100$ 個を用意した。温度、照明などの調節を行わない実験室の環境条件下に、供試材料別にふたつのラテン方格にならべ、直径 9cm のポリエチレンカップで蓋をした。浸漬3日後に、各ペトリ皿について発芽した種子と、発芽しない種子とに分けて記録した。

実験の結果と考察

おのおののペトリ皿についてえられた発芽率を、プロビットに変換した上で、各ブロックごとにその分散分析を行った結果、濃度レベルについては、有意の差がみら

Table 1. Numbers of tested and germinated rice seeds dipped in aqueous solutions of PCP. (Average of ten experiments)

Concentration in logarithms x	1976		1977	
	Number of tested seeds n	Number of germinated seeds r	Number of tested seeds n	Number of germinated seeds r
1.40	48.5	2.5	43.2	2.3
1.30	52.0	5.5	40.8	4.7
1.20	50.6	7.0	59.1	12.0
1.10	50.3	8.1	45.3	16.0
1.00	42.2	7.9	46.6	21.0
0.90	45.9	9.2	47.7	24.1
0.80	55.2	10.8	45.5	28.1
0.70	49.7	11.3	45.7	38.5
0.60	49.6	10.5	46.5	41.0
—∞	45.3	10.5	57.9	54.4

Table 2. Summary of calculation

1976		1977	
C_1	76.0	C_2	6.0
S_{1nw}	19.8	S_{2nw}	163.0
\bar{x}_1	1.2330	\bar{x}_2	1.0232
\bar{x}'_1	1.4404	\bar{x}'_2	1.6946
\bar{y}_1	5.0331	\bar{y}_2	5.1774
S_{1xx}	0.41089	S_{2xx}	7.16579
$S_{1xx'}$	-3.0012	$S_{2xx'}$	-42.9477
$S_{1x'x'}$	51.525	$S_{2x'x'}$	1261.000
S_{1xy}	1.3882	S_{2xy}	25.5628
$S_{1x'y}$	-7.7950	$S_{2x'y}$	-160.4046
S_{1yy}	5.2548	S_{2yy}	95.0732
δC_1	0.0190	δC_2	-0.0068
C_1'	0.7790	C_2'	0.0532
a_1	0.0400	a_2	1.5834
b_1	3.9570	b_2	3.5244
χ_1^2	0.379	χ_2^2	3.825
n_1	6	n_2	7

れたが、行、欄については、危険率0.05において有意性はみとめられなかった。ペトリ皿をおく位置に関する影響は、充分平均化しえたものと考えられる。薬液の濃度の対数 x 、ペトリ皿あたりの平均供試粒数 n 、平均発芽粒数 r を示したのが第1表である。

1977年度に収穫した種籾の、水だけに浸漬したときの不発芽率は6.0%程度であるが、1976年度に収穫したもののそれは、76.0%をこえていた、Finney の方法にしたがって、第1表の1976年産の種籾を用いた実験結果につ

いては $C_1 = 76.0$ 、1977年のそれについては $C_2 = 6.0$ として、別々に解析した結果を表示したのが第2表である。subscript number の1, 2は以下1976, 1977年のそれであることを示す。 C の修正値は、それぞれ 77.90, 5.32 で、 χ^2 試験の結果も抽出誤差の範囲内にあった。第2, 3回の補正計算をくりかえすことによって、より高い近似解がえられるはずであるが、ここではひとまずこれをもととして、次の計算に移ることとする。

ここでふたつの供試個体群の、薬物に対する感受性を比較するとき、それぞれの投量-反応率回帰直線が、相互に平行関係にあれば、任意の反応率のえられる点で相対値の算定ができるから便利である。第2表に示す様な無処理対照区における不発芽率 C_1, C_2 をもつ2組の材料を用いてえられた実験結果に、平行な濃度-不発芽率回帰直線をあてはめるためには、さきに Finney が示した方程式を以下に記す様に修正して、計算する必要がある。まず

$$\begin{cases}
 b(S_{1xx} + S_{2xx}) + \frac{\delta C_1}{1-C_1} S_{1xx'} + \frac{\delta C_2}{1-C_2} S_{2xx'} & = S_{1xy} + S_{2xy}, \\
 bS_{1xx'} + \frac{\delta C_1}{1-C_1} S_{1x'x'} & = S_{1x'y}, \\
 bS_{2xx'} + \frac{\delta C_2}{1-C_2} S_{2x'x'} & = S_{2x'y},
 \end{cases}$$

第2表の数値をこれに代入すると、

Table 3. Analysis of χ^2 for the data shown in Table 1.

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square
Parallelism of regression	1	0.048	0.048
Residual heterogeneity	13	4.204	0.323
Total	14	4.252	

$$\left\{ \begin{array}{l} (0.41089 + 7.16579)b - 3.10012 \frac{\delta C_1}{1-C_1} - 42.9477 \\ \frac{\delta C_2}{1-C_2} = 1.3882 + 25.5628, \\ -3.10012b + 51.525 \frac{\delta C_1}{1-C_1} \\ = -7.7950, \\ -42.9477b - 1261.000 \frac{\delta C_2}{1-C_2} \\ = -160.4046. \end{array} \right.$$

これから逆行列

$$V = \begin{pmatrix} v_{11} & v_{12} & v_{13} \\ v_{12} & v_{22} & v_{23} \\ v_{13} & v_{23} & v_{33} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0.1683747 & 0.0098074 & 0.0057346 \\ 0.0098074 & 0.0199793 & 0.0003340 \\ 0.0057346 & 0.0003340 & 0.0009883 \end{pmatrix}$$

をみちびき, $b, \frac{\delta C_1}{1-C_1}$ および $\frac{\delta C_2}{1-C_2}$ を次の様にしてもとめる.

$$b = (S_1xy + S_2xy)v_{11} + S_1x'yv_{12} + S_2x'yv_{13} = 3.5416,$$

$$\frac{\delta C_1}{1-C_1} = (S_1xy + S_2xy)v_{12} + S_1x'yv_{22} + S_2x'yv_{23} = 0.05501,$$

$$\frac{\delta C_2}{1-C_2} = (S_1xy + S_2xy)v_{13} + S_1x'yv_{23} + S_2x'yv_{33} = -0.00658.$$

残るもうひとつ回帰方程式のパラメータ a_1', a_2' は,

$$a_1' = \bar{y}_1 - b\bar{x}_1 - \frac{\delta C_1}{1-C_1} \bar{x}_1' = 0.5871,$$

$$a_2' = \bar{y}_2 - b\bar{x}_2 - \frac{\delta C_2}{1-C_2} \bar{x}_2' = 1.5648$$

となる。これから求める平行な濃度 - 不発芽率回帰直線の方程式

$$Y_1 = 0.5871 + 3.5416x,$$

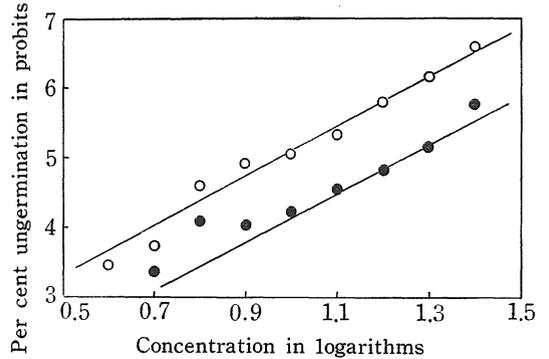


Fig. 1. Concentration-ungermination regression lines of rice seeds for PCP. Empty and solid circles denote the experimental results for the rice seeds harvested in 1976 and 1977 respectively.

$$Y_2 = 1.5648 + 3.5416x.$$

をえる。第1表の実験値に対してあてはめた2本の平行な回帰直線を示したのが第1図である。

適合性の検定はつぎの様に計算する。

$$\chi_{ca1}^2 = S_1yy + S_2yy - b(S_1xy + S_2xy)$$

$$- \frac{\delta C_1}{1-C_1} S_1x'y - \frac{\delta C_2}{1-C_2} S_2x'y = 4.252$$

自由度は全濃度レベルに無処理対照区を加えた、この場合は19から、 $a_1, a_2, b, \delta C_1, \delta C_2$ の5をひいた14である。危険率0.05における $n = 14$ に対応する $\chi^2 = 23.685$ と比較して、 χ_{ca1}^2 の値は小さく、実験値と計算値の間には適合性がみとめられたと判定する。

b, C_1, C_2 の分散は

$$V(b) = v_{11}$$

$$= 0.1683747,$$

$$V(C_1) = v_{22}(1-C_1)^2$$

$$= 0.0199793 \times (0.24)^2,$$

$$V(C_2) = v_{33}(1-C_2)^2 \\ = 0.0009883 \times (0.94)^2.$$

故に

$$b = 3.542 \pm 0.410, \\ C_1 = 77.32\% \pm 3.39\%, \\ C_2 = 5.99\% \pm 2.96\%.$$

つぎに対数単位で示された中央発芽阻害濃度は、

$$m_1 = \bar{x}_1 + (5 - \bar{y}_1 + \frac{\delta C_1}{1 - C_1} \bar{x}_1') / b \\ = 1.2460,$$

$$m_2 = \bar{x}_2 + (5 - \bar{y}_2 + \frac{\delta C_2}{1 - C_2} \bar{x}_2') / b \\ = 0.9700.$$

危険率 $P=0.05$, $n=\infty$ における, $t=1.96$ をとり, g -criterion をもとめると,

$$g = t^2 V(b) / b^2 = 0.052$$

となり, これは 0.1 より小であるから, m_1, m_2 の分散は, 次の式でもとめればことたりる.

$$V(m_1) = \frac{1}{b^2} \left\{ \frac{1}{S_1 n w} + \bar{x}_1'^2 v_{22} - 2\bar{x}_1'(m_1 - \bar{x}_1) v_{12} + (m_1 - \bar{x}_1)^2 v_{11} \right\} = 0.0073044,$$

$$V(m_2) = \frac{1}{b^2} \left\{ \frac{1}{S_2 n w} + \bar{x}_2'^2 v_{33} - 2\bar{x}_2'(m_2 - \bar{x}_2) v_{13} + (m_2 - \bar{x}_2)^2 v_{11} \right\} = 0.0008361.$$

これから 1976 年に収穫した籾の発芽を 50% 阻害する PCP 粒剤の濃度は 17.620ppm で, 危険率 0.05 におけるその信頼限界 11.981—25.912ppm で, 1977 年収穫の籾の発芽を阻害するそれは 9.333ppm で, その信頼限界は 8.190—10.634ppm である.

ふたつの濃度 - 不発芽率回帰直線の平行性は, 第 2 表にしめしたふたつの χ^2 検定の結果の和を, 上述の χ^2 試験の結果から引き, その差が自由度 1 における $\chi^2 = 3.741 (P = 0.05)$ が大きいか, 小さいかによって判定する. 第 3 表に見る様に, その値は 3.741 より小さく, 明らかに平行であると判定される.

ふたつの籾種の PCP 粒剤に対する相対感受性の対数, 即ち, 同じ発芽抑制率をあたえる濃度の比の対数は, 次の様にして計算される.

$$M = m_2 - m_1 \\ = \bar{x}_2 - \bar{x}_1 - \left\{ \bar{y}_2 - \bar{y}_1 - \left(\frac{\delta C_2}{1 - C_2} \bar{x}_2' - \frac{\delta C_1}{1 - C_1} \bar{x}_1' \right) \right\} / b \\ = -0.2761$$

すでに述べた様に g -criterion は 0.1 より小であるから, その分散は次の式によってもとめられる.

$$V(M) = \frac{1}{b^2} \left\{ \frac{1}{S_1 n w} + \frac{1}{S_2 n w} + (\bar{x}_2'^2 v_{33} + \bar{x}_1'^2 v_{22} - 2\bar{x}_1' \bar{x}_2' v_{23} + 2(\bar{x}_2' v_{13} - \bar{x}_1' v_{12}) \times (\bar{x}_2 - \bar{x}_1 - M) + (\bar{x}_2 - \bar{x}_1 - M)^2 v_{11} \right\} \\ = 0.00793.$$

故に $M = -0.276 \pm 0.089$ で, 危険率 0.05 における信頼限界は, 0.089×1.96 を差引き, また加えることによって, $-0.4506, -0.1016$ をえる. その逆対数値をもとめると, $0.5289 (0.3543 \sim 0.7914)$ となる. 逆数は $1.89 (1.26 \sim 2.82)$ で, 1 年を経過した種子に比べて, 新しいそれは PCP の発芽阻害作用に対して 1.89 倍の感受性を有し, 古い種子は自然の不発芽率の補正を行っても, なおかつ PCP の阻害作用に対して感受性は低下している事がいえる. その差の有意性を t 検定すると,

$$t_{\text{cal}} = M / \sqrt{V(M)} \\ = 3.099 > t_{\text{ec}}(0.05) = 1.960$$

となり, あきらかに有意である.

摘 要

無処理対照区における発芽率のちがう, 2 群のイネの種子を材料に, PCP がそれらの発芽を阻害する濃度を, 比較算定する実験を行った. 自然の発芽率のひとしい 2 群の, 供試個体群についてえられた, 投量と反応率の関係を解析するために, Finney が示したプロビット最尤法を修正して, えられた実験結果を整理した. それぞれの供試材料における自然の不発芽率を考慮に入れて, 実験結果の補正計算を行っても, PCP の発芽阻害濃度はひとしくなく, 収穫時期の古い種子に対するそれは, 新しいものより大きく, その差は有意であった.

引用文献

1. ABBOTT, W. S. : J. Econ. Entomol. 18 : 265—267, 1925.

2. FINNEY, D. J. : Probit Analysis. University Press, Cambridge. 1952. 318pp.
3. HOSKINS, W. M. : Encyclopedia of Industrial Chemical Analysis. 7 : 155-186, 1968.
4. 長澤純夫・中山勇・柴三千代・伏見主子 : 雑草研究 No.4 : 99-102, 1966.
5. 長澤純夫・中山勇・清水春子 : 雑草研究 No.5 : 142-147, 1967.

Summary

The problems of adjustment for a natural response rate C in probit analysis were fully discussed by Finney. He gave the maximum likelihood method for estimating the parameters of dosage-response relation. It is not unusual, however, that experimenters must compare the two dosage-response curves came from materials having natural response rates C_1 and C_2 . In this case, minute modifications for some formulae shown by Finney are necessary to calculate the relative susceptibilities of testing organisms coming from different sources as mentioned above. As a numerical example, the procedure was illustrated by the experimental data comparing the inhibitory concentrations of PCP for the emergence of rice seeds harvested in different seasons.