島根大農研報 (Bull. Fac. Agr. Shimane Univ.) **15** : 115−119, 1981

Bacillus thuringiensis のマイマイガの幼虫に対する毒性

—Patwary-Haley の数学的モデルによる解析—

長 澤 純 夫*・斎 藤 修*

Sumio NAGASAWA and Osamu SAITO

Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to Larvae of the Gypsy Moth
—Fitting a Mathematical Model Proposed by Patwary and Haley—

Bacillus thuringiensis が産生する昆虫毒素の数は，すでにいくつか知られている．そのうち芽胞形成時に，胞子のなかに1個，時に2個産生される結晶蛋白は，δ-菌体内毒素として，BT 製剤の有効度の大きな部分をしめる．ただここで，製剤を所要の濃度に稀釈し，食草に散布してあたえた場合，昆虫が食下する胞子の数には，大きなふれがある．そのためこの種，微生物農薬の生物学的検定には，たえずこうした dosage error の問題がつきまとい，試験結果の解析が厄介である．

Patwary and Haley[3] は，投与される薬量が確率誤差の対象となっている場合の，投量-反応率曲線を求めるための，ひとつの数学的モデルをあたえ，artificial data を用いてその計算例を示した．本論では，このモデルにあてはめて BT 製剤の生物試験結果を解析し，その有効度を算定，モデルの有用性を考察した．

本文に入るに先立ち，解析のためのデータを御提供いただいた，大塚製薬株式会社徳島研究所浅野昌司氏に謝意を表する．

解析のための資料と Patwary-Haley の数学的モデル

ここで解析に用いた生物試験の結果は，すべて野外において随時採集した，鱗翅目幼虫を材料に，所要の濃度レベルに稀釈した BT 製剤 Thuricide HPSC® を，それぞれの食草に浸漬塗布する方法によってあたえ，所定時間後にその生死を記録したものである．

ところで，ある濃度の殺虫剤を，一群の昆虫に投与した場合，とりこまれる薬量は個体によって相当程度異なるはずである．しかし合成化学農薬の場合は，一定の方法で稀釈，増量されたものが投与されれば，その誤差は一先ず無視してもさしつかえないものとして，実験結果の解析がすすめられるのが普通である．けれども病原体胞子や，ウィルスのような離散量の処理にあっては，この誤差は無視できない程度に大きい事例が少なくない．Patwary and Haley は，このような dosage error が，ポアソン分布にしたがう場合の，薬量-致死率曲線を記載するための，ひとつの数学的モデルを示した．

いま薬量を X とする．もしこの薬量が確率誤差の対象となっている場合は，平均薬量 d に対して，一群の供試生物が反応する確率は，

$$U(d)=\sum_{X=1}^{\infty}\pi(X)P(X). \tag{1}$$

ここで薬量がポアソン分布する時は，あたえられた平均薬量 d に対しては，

$$\pi(X)=\frac{e^{-d}d^X}{X!}$$

となる．

$$P(X)=\frac{1}{\sqrt{2\pi}}\int_{-\infty}^{\alpha+\beta\log X}e^{-\frac{1}{2}y^2}dy.$$

であるから，さきの(1)式は，

$$U(d)=\sum_{X=1}^{\infty}\frac{e^{-d}d^X}{X!}\frac{1}{\sqrt{2\pi}}\int_{-\infty}^{\alpha+\beta\log X}e^{-\frac{1}{2}y^2}dy. \tag{2}$$

となる．ここで $\alpha=-m/\sigma$, $\beta=1/\sigma$, である．α と β の最尤推定値 a, b は，その値が一定になるまで，つぎの式によって反復計算をおこなって求めればよい．

$$\delta a_i\sum_{i=1}^{k}\frac{n_i}{U_i(1-U_i)}\left(\frac{\partial U_i}{\partial\alpha}\right)^2+\delta b_i\sum_{i=1}^{k}\frac{n_i}{U_i(1-U_i)}\frac{\partial U_i}{\partial\alpha}\frac{\partial U_i}{\partial\beta}=\sum_{i=1}^{k}\frac{(r_i-n_iU_i)}{U_i(1-U_i)}\frac{\partial U_i}{\partial\alpha},$$

$$\delta a_i\sum_{i=1}^{k}\frac{n_i}{U_i(1-U_i)}\frac{\partial U_i}{\partial\alpha}\frac{\partial U_i}{\partial\beta}+\delta b_i\sum_{i=1}^{k}\frac{n_i}{U_i(1-U_i)}\left(\frac{\partial U_i}{\partial\beta}\right)^2=\sum_{i=1}^{k}\frac{(r_i-n_iU_i)}{U_i(1-U_i)}\frac{\partial U_i}{\partial\beta}. \tag{3}$$

* 生物汚染化学研究室

Table 1. Concentration-mortality data of the fourth instar larvae of the gypsy moth, *Lymantria disper*, to Thuricide HPSC.

Concentration ppm	Dose X d	No. of larvae tested n	No. of larvae responding r	Proportion responding
15.6	1	29	1	0.03
31.3	2	25	4	0.16
62.5	4	25	6	0.24
125	8	32	17	0.53
250	16	31	22	0.71

ここで

$$\frac{\partial U_i}{\partial \alpha}=(U_i)_\alpha$$
$$=\sum_{X=1}^{\infty}\pi_i(X)\frac{\partial P(X)}{\partial \alpha}$$
$$=\sum_{X=1}^{\infty}\pi_i(X)Z(X),$$

同様に

$$\frac{\partial U_i}{\partial \beta}=(U_i)_\beta$$
$$=\sum_{X=1}^{\infty}\pi_i(X)Z(X)\log X.$$

である．

結 果 と 考 察

第1表は，マイマイガ *Lymantria disper* の第4令幼虫に対する Thuricide HPSC の有効度を検定したもので，処理薬をあたえて6日後に，その生死を記録した結果である．第1欄は処理薬液の濃度 ppm で，対数間隔にとっているから，これを第2欄の簡約数 X におきかえて薬量とした．

つぎに第2表の第(1)欄 X は，第1表第2欄のそれである．第2欄はその対数，第 $(3)_1$, $(3)_2$, $(3)_3$, $(3)_4$, $(3)_5$ 欄の $\pi_1(X)$, $\pi_2(X)$, $\pi_3(X)$, $\pi_4(X)$, $\pi_5(X)$ は，薬量 X のポアソン分布の確率，ポアソン分布表 $d_i=1, 2, 4,..$ 欄の数値をそのままかきうつせばよい．しかしこの値が大きい場合，小さな数表には出ていないから，$e^{-d}d^X/X!$ の式の X に第1欄の X を代入，順次計算する．第 $(4)_1$, $(4)_2$, $(4)_3$, $(4)_4$, $(4)_5$ 欄は，それぞれ $\pi_1(X)\log X$, $\pi_2(X)\log X$, $\pi_3(X)\log X$, $\pi_4(X)\log X$, $\pi_5(X)\log X$, すなわち(2)欄と(3)欄の積，$(4)_i=(2)(3)_i$ であるここまでは常表として用いうるから，一度用意しておけばよい．

つぎに第1表の簡約数 X の対数と，正規相当偏差（プロビット－5）の関係を，グラフの上に打点し，そこにひかれた第1図の予備回帰直線から $a_0=-1.8000$, $b_0=2.0000$ とよみとる．第(5)欄は，こうして求めた

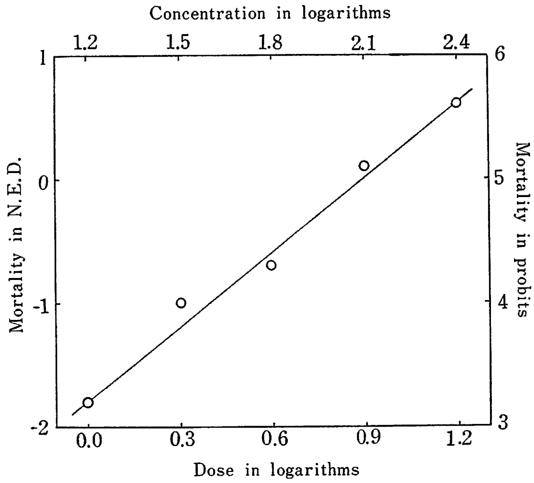

Fig. 1. Concentration-mortality relation of the fourth instar larvae of the gypsy moth, *Lymantria disper*, to Thuricide HPSC.

a_0, b_0 を用いて計算し，$a_0+b_0\log X$，すなわち $a_0+b_0\times(2)$ の値である．第(6)欄は Fisher and Yatesの第Ⅲ表を用いて計算した(5)欄の値に対応する，正規確率関数である．第(7)欄は Fisher and Yates の第Ⅱ表を用いて計算した，第(5)欄に対応する正規密度関数である．

つぎに第3表の U_i 行は，第2表の第 $(3)_i$ 欄と第(6)欄の積の合計，$(U_i)_a$ 行は第 $(3)_i$ と第(7)欄の積の合計，$(U_i)_b$ 行は第 $(4)_i$ 欄と第(7)欄の積の合計で，これらはそれぞれ第4表の第(4)，(5)，(6)欄にかきうつされる．第4表の(1)，(2)，(3)欄は第1表からかきうつされたものである．α 及び β の最尤推定値 a 及び b は，先の式による反復計算によって求められる．第4表(7)から(13)までは，これに用いる数値を用意するための計算操作を示したものである．これらを用いてつぎのように第(3)式の係数を計算する．

$$L_a=\sum_{i=1}^{k}\frac{r_i-n_iU_i}{U_i(1-U_i)}(U_i)_a$$
$$=\Sigma(5)(9)$$
$$=2.0207,$$

$$L_b=\sum_{i=1}^{k}\frac{r_i-n_iU_i}{U_i(1-U_i)}(U_i)_b$$
$$=\Sigma(6)(9)$$
$$=1.7640,$$

$$L_{aa}=-\sum_{i=1}^{k}\frac{n_i}{U_i(1-U_i)}(U_i)_a^2$$
$$=\Sigma(10)(11)$$
$$=5.7960,$$

Table 2. Dosage variation with converted U and U_i's from P's and Z's

$a_0=-1.8000 \quad b_0=2.000$

(1)	(2)	$(3)_1$	$(3)_2$	$(3)_3$	$(3)_4$	$(3)_5$	$(4)_1$	$(4)_2$	$(4)_3$	$(4)_4$	$(4)_5$	(5)	(6)	(7)
X	$\log X$	$\pi_1(X)$	$\pi_2(X)$	$\pi_3(X)$	$\pi_4(X)$	$\pi_5(X)$	$\pi_1(X)$ $\log X$	$\pi_2(X)$ $\log X$	$\pi_3(X)$ $\log X$	$\pi_4(X)$ $\log X$	$\pi_5(X)$ $\log X$	$a_0+b_0\log X$ $a_0+b_0(2)$	$P(X)$	$Z(X)$
		Poisson probability of X					$(4)_i=(2)\ (3)_i$							
Dose	log(1)	$d_1=1$	$d_2=2$	$d_3=4$	$d_4=8$	$d_5=16$								
1	0.0000	0.3679	0.2707	0.0733	0.0027	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	−1.8000	0.0359	0.0790
2	0.3010	0.1839	0.2707	0.1465	0.0107	0.0000	0.0554	0.0815	0.0441	0.0032	0.0000	−1.1980	0.1155	0.1947
3	0.4771	0.0613	0.1804	0.1954	0.0286	0.0001	0.0293	0.0861	0.0932	0.0137	0.0000	−0.8458	0.1988	0.2790
4	0.6021	0.0153	0.0902	0.1954	0.0573	0.0003	0.0092	0.0543	0.1176	0.0345	0.0002	−0.5958	0.2757	0.3340
5	0.6990	0.0031	0.0361	0.1563	0.0916	0.0010	0.0021	0.0252	0.1092	0.0640	0.0007	−0.4020	0.3438	0.3680
6	0.7782	0.0005	0.0120	0.1042	0.1221	0.0026	0.0004	0.0094	0.0811	0.0950	0.0020	−0.2436	0.4038	0.3873
7	0.8451	0.0001	0.0034	0.0595	0.1396	0.0060	0.0001	0.0029	0.0503	0.1180	0.0051	−0.1098	0.4563	0.3965
8	0.9031	0.0000	0.0009	0.0298	0.1396	0.0120	0.0000	0.0008	0.0269	0.1261	0.0108	0.0062	0.5025	0.3989
9	0.9542		0.0002	0.0132	0.1241	0.0213		0.0002	0.0126	0.1184	0.0203	0.1084	0.5432	0.3966
10	1.0000		0.0000	0.0053	0.0993	0.0341		0.0000	0.0053	0.0993	0.0341	0.2000	0.5793	0.3910
11	1.0414			0.0019	0.0722	0.0496			0.0020	0.0752	0.0516	0.2828	0.6113	0.3833
12	1.0792			0.0006	0.0481	0.0661			0.0007	0.0519	0.0714	0.3584	0.6400	0.3741
13	1.1139			0.0002	0.0296	0.0814			0.0002	0.0330	0.0907	0.4278	0.6656	0.3641
14	1.1461			0.0001	0.0169	0.0930			0.0001	0.0194	0.1066	0.4922	0.6887	0.3534
15	1.1761			0.0000	0.0090	0.0992			0.0000	0.0106	0.1167	0.5522	0.7096	0.3425
16	1.2041				0.0045	0.0992				0.0054	0.1195	0.6082	0.7285	0.3316
17	1.2304				0.0021	0.0934				0.0026	0.1149	0.6608	0.7456	0.3207
18	1.2553				0.0009	0.0830				0.0012	0.1042	0.7106	0.7613	0.3100
19	1.2788				0.0004	0.0699				0.0005	0.0894	0.7576	0.7757	0.2994
20	1.3010				0.0002	0.0559				0.0002	0.0728	0.8020	0.7887	0.2892
21	1.3222				0.0001	0.0426				0.0001	0.0563	0.8444	0.8008	0.2793
22	1.3424				0.0000	0.0310				0.0000	0.0416	0.8848	0.8119	0.2698
23	1.3617					0.0216					0.0294	0.9234	0.8221	0.2605
24	1.3802					0.0144					0.0198	0.9604	0.8316	0.2515
25	1.3979					0.0092					0.0129	0.9958	0.8403	0.2430
26	1.4150					0.0057					0.0080	1.0300	0.8485	0.2347
27	1.4314					0.0034					0.0048	1.0628	0.8561	0.2268
28	1.4472					0.0019					0.0028	1.0944	0.8631	0.2192
29	1.4624					0.0011					0.0015	1.1248	0.8697	0.2120
30	1.4771					0.0006					0.0008	1.1542	0.8758	0.2049
31	1.4914					0.0003					0.0004	1.1828	0.8816	0.1982
32	1.5051					0.0001					0.0002	1.2102	0.8869	0.1919
33	1.5185					0.0001					0.0001	1.2370	0.8920	0.1856
34	1.5315					0.0000					0.0001	1.2630	0.8967	0.1797
35	1.5441					0.0000					0.0000	1.2882	0.9012	0.1740

$$L_{ab}=-\sum_{i=1}^{k}\frac{n_i}{U_i(1-U_i)}(U_i)_a(U_i)_b$$

$$=\Sigma(10)(12)$$

$$=4.6917,$$

$$L_{bb}=-\sum_{i=1}^{k}\frac{n_i}{U_i(1-U_i)}(U_i)_b^2$$

$$=\Sigma(10)(13)$$

$$=4.3202.$$

よって a, b の補正量は,

$$\delta a=\frac{L_a\cdot L_{bb}-L_b\cdot L_{ab}}{L_{aa}\cdot L_{bb}-L_{ab}^2}$$

$$=0.0150$$

$$\delta b=\frac{L_b\cdot L_{aa}-L_a\cdot L_{ab}}{L_{aa}\cdot L_{bb}-L_{ab}^2}$$

$$=0.0246$$

故，第１回目の補正値は

$$a_1=a_0+\delta a$$

$$=-1.7850$$

$$b_1=b_0+\delta b$$

$$=2.0246$$

となり，中央値は

$$m_1=-a_1/b_1$$

$$=0.8817$$

Table 3. Values of U_i's

$U_1=\Sigma\pi_1(X)P(X)=\Sigma(3)_1(6)=0.0522$
$U_2=\Sigma\pi_2(X)P(X)=\Sigma(3)_2(6)=0.1211$
$U_3=\Sigma\pi_3(X)P(X)=\Sigma(3)_3(6)=0.2622$
$U_4=\Sigma\pi_4(X)P(X)=\Sigma(3)_4(6)=0.4812$
$U_5=\Sigma\pi_5(X)P(X)=\Sigma(3)_5(6)=0.7142$
$(U_1)_a=\Sigma\pi_1(X)Z(X)=\Sigma(3)_1(7)=0.0885$
$(U_2)_a=\Sigma\pi_2(X)Z(X)=\Sigma(3)_2(7)=0.1743$
$(U_3)_a=\Sigma\pi_3(X)Z(X)=\Sigma(3)_3(7)=0.2958$
$(U_4)_a=\Sigma\pi_4(X)Z(X)=\Sigma(3)_4(7)=0.3777$
$(U_5)_a=\Sigma\pi_5(X)Z(X)=\Sigma(3)_5(7)=0.3310$
$(U_1)_b=\Sigma\pi_1(X)Z(X)\log X=\Sigma(4)_1(7)=0.0230$
$(U_2)_b=\Sigma\pi_2(X)Z(X)\log X=\Sigma(4)_2(7)=0.0725$
$(U_3)_b=\Sigma\pi_3(X)Z(X)\log X=\Sigma(4)_3(7)=0.1844$
$(U_4)_b=\Sigma\pi_4(X)Z(X)\log X=\Sigma(4)_4(7)=0.3331$
$(U_5)_b=\Sigma\pi_5(X)Z(X)\log X=\Sigma(4)_5(7)=0.3895$

となる．

ここでえられた a_1, b_1 を用いて，第２表第(5)欄にもどり，同様の計算をくりかえす．以上の計算は Canola SX300 程度の卓上電算機があれば，プログラムに組むことができるから，容易に行なうことが可能である．補

Table 4. Calculations of derivatives for the required changes in a and b

(1) d	(2) n	(3) r	(4) U	(5) $(U)_a$	(6) $(U)_b$	(7) $U(1-U)$	(8) nU	(9) $\frac{r-nU}{U(1-U)}$	(10) $\frac{n}{U(1-U)}$	(11) $(U)_a^2$	(12) $(U)_a(U)_b$	(13) $(U)_b^2$
1	29	1	0.0522	0.0885	0.0230	0.0495	1.5138	−10.3850	58.6153	0.0078	0.0020	0.0005
2	25	4	0.1211	0.1743	0.0725	0.1064	3.0275	9.1371	23.4886	0.0304	0.0126	0.0053
4	25	6	0.2622	0.2958	0.1844	0.1935	6.5550	− 2.8689	12.9232	0.0875	0.0545	0.0340
8	32	17	0.4812	0.3777	0.3331	0.2496	15.3984	6.4155	12.8181	0.1427	0.1258	0.1110
16	31	22	0.7142	0.3310	0.3895	0.2041	22.1402	− 0.6869	15.1873	0.1096	0.1289	0.1517

正計算の結果はつぎのごとくである．

$a_0=-1.8000,\quad b_0=2.0000,\quad m_0=0.9000$

$a_1=-1.7850,\quad b_1=2.0246,\quad m_1=0.8817$

$a_2=-1.7838,\quad b_2=2.0244,\quad m_2=0.8820$

$a_3=-1.7851,\quad b_3=2.0248,\quad m_3=0.8816$

$a_4=-1.7855,\quad b_4=2.0252,\quad m_4=0.8817$

$a_5=-1.7853,\quad b_5=2.0250,\quad m_5=0.8817$

第5回目の補正計算で，ほぼ一定の値がえられた．この m の値は簡約数 X の対数値であるから，もとの単位の ppm に換算すると $LC_{50}=118.80$ ppm となる．ちなみにプロビット常法[1]によって求めた LC_{50} は 124.46 ppm であった．同様の計算をマツカレハとアメリカシロヒトリの幼虫についてえられた成績にこころみた結果は，第5表のごとくで，それぞれの LC_{50} は 89.79, 95.05 ppm であった．またプロビット常法による計算結果は，それぞれ 98.25, 91.26 ppm で，近い値がえられている．

摘　　要

Bacillus thuringiensis 製剤の胞子が，昆虫によってとりこまれる数には，大きなふれがあって，常に dosage error の問題がつきまとい，実験結果の解析が厄介である．胞子のような離散量の dosage error が，ポアソン分布にしたがう場合の，薬量-致死率曲線を記載するための Patwary-Haley の数学的モデルによって，BT 製剤のマイマイガ，マツカレハ及びアメリカシロヒトリの幼虫に対する，殺虫試験結果を解析し，妥当なパラメター a 及び b の値と，中央致死薬量を算定することができた．

引　用　文　献

1. FINNEY, D. J. : Probit Analysis (3rd ed). Cambridge Univ. Press. London 1971.
2. FISHER, R. A. and YATES, F. : Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical

Table 5. Median lethal concentrations of Thuricide HPSC for the pine caterpillar and the fall webworm

Pine caterpillar
Dendrolimus spectabilis
Third instar
Mortality at the 5th day after application

ppm	n	r
31.25	30	4
62.5	29	10
125	26	16
250	29	23
500	30	28

$a_0=-1.0000,\quad b_0=2.0930,\quad m_0=0.4801$

$a_1=-1.0037,\quad b_1=2.1875,\quad m_1=0.4588$

$a_2=-1.0063,\quad b_2=2.1954,\quad m_2=0.4584$

$a_3=-1.0061,\quad b_3=2.1948,\quad m_3=0.4584$

$LC_{50}=89.79$ppm

Fall webworm
Hyphantria cunea
Third instar
Mortality at the 4th day after application

ppm	n	r
31.25	40	2
62.5	39	9
125	40	29
250	40	35

$a_0=-1.6910,\quad b_0=3.1910,\quad m_0=0.5299$

$a_1=-2.0660,\quad b_1=4.2309,\quad m_1=0.4883$

$a_2=-2.2667,\quad b_2=4.6937,\quad m_2=0.4829$

$a_3=-2.2924,\quad b_3=4.7455,\quad m_3=0.4831$

$a_4=-2.2880,\quad b_4=4.7387,\quad m_4=0.4828$

$a_5=-2.2903,\quad b_5=4.7412,\quad m_5=0.4831$

$a_6=-2.2948,\quad b_6=4.7502,\quad m_6=0.4831$

$LC_{50}=95.05$ppm

Research (6th ed). Oliver and Boyd, Edinburgh 1964.

3. PATWARY, K. M. and HALEY, K. D. C. : Biometrics **23** : 747–760, 1967.

Summary

Patwary and Haley (1967) proposed a mathematical model for estimating the parameters of a tolerance distribution when the dose is subject to error of administration. Using an artificial data, they discussed a particular case when observation is quantal response and the errors in dose follow the Poisson law, and presented a computational routine. Fitting trial of the model to the quantal toxicity test data of *Bacillus thuringiensis* for larvae of the gypsy moth, *Lymantria disper*, was made, since the active ingredients of BT formulation are discrete values and error in dose may follow a Poisson distribution, with mean equal to the nominal dose. Iterative calculations gave the good estimates of parameters and the median lethal concentration. Similar good results were also obtained in the data tested toxicities of BT formulation on the pine caterpillar, *Dendrolimus spectabilis*, and the fall webworm, *Hyphantria cunea*.