

# Resmethrin と piperonyl butoxide の イエバエに対する相乗毒性

—Hewlett の数学的モデルによる解析—

長澤 純夫\*・渋谷 重夫\*

Sumio NAGASAWA and Shigeo SHIBUYA  
Synergistic Toxicity to *Musca domestica* L. of Mixtures of  
Resmethrin and Piperonyl Butoxide  
—Fitting a Mathematical Model Proposed by Hewlett—

薬物を混用することの目的は多様である。そしてこの多様な結果を解析するための数学的モデルの数も多く、みなそれぞれに複雑である。薬物のなかで、それ自体標的生物に対して、目的とする生理活性を示さないが、これを混用することによって、主剤の活性を高める作用を有する、いわゆる補助剤、あるいは広義の共力剤、相乗剤の利用は、多方面の分野で行なわれている。

殺虫剤においては、ピレトリン類の効力増強を目的に、早くから piperonyl butoxide (以下 PB と略記する) の混用がなされ、最近<sup>1)</sup>は合成ピレスロイド<sup>1)</sup>に対するこの利用もさかんである。先に Hewlett は、ピレトリンに PB を混用して、コクヌストモドキに対する相乗効果を検討した結果を、解析するための数学的モデルとして、

$$y = a + b_1 \log z_1 + b_2 z_2 / (c + z_2)$$

を示した。ここで  $y$  は致死率のプロビット、 $z_1$  は主剤の薬量、 $z_2$  は共力剤の薬量で、 $a, b_1, b_2, c$  はパラメーターである。筆者らは今回、合成ピレスロイドのひとつである, resmethrin と PB を混合して、イエバエの成虫に処理し、えられた薬量と致死率の関係を、このモデルにあてはめて解析し、相乗効果の程度を算定した。同時に Finney<sup>3)</sup> のプロビット平面法による解析を行なって、Hewlett のモデルとの比較を行なった。その結果をここに報告する。

本文に入るに先だち、供試昆虫のイエバエと、供試薬剤の resmethrin 及び PB をそれぞれ提供していただいた、住友化学工業株式会社生物科学研究所、大日本除

虫菊株式会社中央研究所、及び千葉県衛生研究所に対し深謝の意を表する。

## 実験材料および方法

供試昆虫：この実験に用いたイエバエ *Musca domestica* L. は、WHO の標準感受性系統である。オリエンタル酵母株式会社製造のイエバエ飼育用培基を用いて、幼虫期の飼育を行ない、成虫期の餌として砂糖と水をあたえた。実験には羽化後 3～4 日目の雌個体を用いた。

供試薬剤：合成ピレスロイドのひとつである resmethrin は、有効成分 94.1% を表示する工業製品原体で、また PB は純度 30% を表示する試料であった。

実験方法：resmethrin, PB とともにアセトン<sup>1)</sup>を溶媒として、所要の濃度に稀釈した。供試昆虫は炭酸ガスで麻酔した後、その胸背部に micro-applicator で、試料の 1  $\mu$ l を滴下処理した。処理後は直径 5.8cm 高さ 10.0 cm のガラス瓶に入れ、塩化ビニールの蓋をした。この蓋にあけられた直径 2.0cm の穴から網をとおして、脱脂綿にしみこませた砂糖水を餌としてあたえた。生死の記録は処理後 24 時間後に行なった。

飼育実験共に 25°C, 50% RH 常時照明の環境条件下で行なわれた。

## 実験結果と考察

予備実験によってえられた resmethrin の、イエバエに対する薬量-致死率曲線から、4% 程度の致死率をあたえる薬量 0.005  $\mu$ g/ $\mu$ l をえらび、これに対して PB を 0 から最高 1  $\mu$ g/ $\mu$ l まで、数々の割合で加え、

\* 生物汚染化学研究室

Table 1. The toxicity to house flies of different combinations of resmethrin and piperonyl butoxide (PB).

Dosage of resmethrin ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	Dosage of PB ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	Number of flies (Dead/total)	Per cent mortality
0.07	0	55/60	91.7
0.05	0	49/60	81.7
0.035	0	29/60	48.3
0.0245	0	17/58	29.3
0.05	0.025	56/58	96.6
0.035	0.025	48/59	81.4
0.0245	0.025	24/59	40.7
0.0172	0.025	13/56	23.2
0.0120	0.025	2/56	3.6
0.035	0.05	56/60	93.3
0.0245	0.05	36/58	62.1
0.0172	0.05	10/44	22.7
0.0120	0.05	7/58	12.1
0.0245	0.25	58/60	96.7
0.0172	0.25	54/59	91.5
0.0120	0.25	32/59	54.2
0.0084	0.25	11/61	18.0
0.0059	0.25	1/59	1.7
Controls		1/45	2.2

供試イエバエに対してその  $1 \mu\text{l}$  を滴下処理して、各々の薬量レベルにおける致死率を求めた。その結果 PB の薬量を  $0.4 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  以上増しても、致死率はほとんど増加しないことがわかったので、resmethrin に加える薬量は  $1 \mu\text{l}$  あたり  $0, 0.025, 0.05, 0.25 \mu\text{g}$  とし、第1表、第1、2欄に示すような薬量レベルの resmethrin と、PB の混合アセトン溶液を調製した。同時に对照区としてアセトン単用区を設けた。供試昆虫は1薬量あたり60匹前後をもちいた。

実験の結果は第3欄に示すごとくである。尚、無処理对照区における斃死率は2.2%であった。これは5%にみたく無視できる程度であったから、对照区の斃死率による補正計算は行なわなかった。

まず、resmethrin の薬量を100倍した上で、その対数を取り、これに対応する致死率のプロビットとの関係を打点した結果が第1図である。PB の薬量を一定にしてえられる4群の resmethrin の薬量と致死率の関係に、あらかじめ平行な予備回帰直線をひき、その回帰方程式を計算した結果は、つぎのようになった。

$$\begin{aligned}
 y_1 &= 2.0420 + 5.5314x_1, \\
 y_2 &= 2.8329 + 5.5314x_2, \\
 y_3 &= 3.2217 + 5.5314x_3, \\
 y_4 &= 4.7039 + 5.5314x_4.
 \end{aligned}$$

この平行にひいた直線が満足するものであったかどうかの検定を行なった結果は、第2表のごとくで、危険率  $P_r=0.05$  において互いに平行であると考えて差支えな

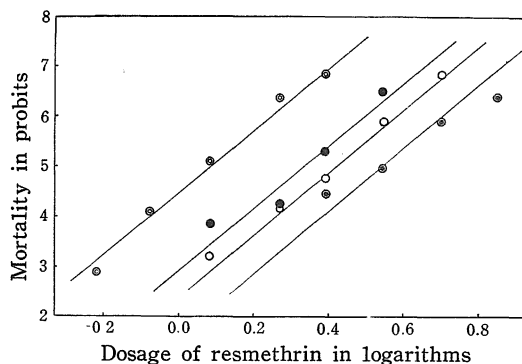


Fig. 1. Mortalities in probits plotted against log-dosage ( $\mu\text{g}/\mu\text{l} \times 100$ ) of resmethrin. Dosage of piperonyl butoxide,  $\odot$ —0,  $\circ$ —0.025,  $\bullet$ —0.05,  $\ominus$ —0.25  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ .

Table 2. Analysis of  $\chi^2$  for data shown in Table 1.

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares
Parallelism of regression	3	6.982
Residual heterogeneity	10	11.545
Total	13	18.527

い。このことは resmethrin 及び PB の薬量と、致死率のプロビットの間には

$$y = a + b_1 \log z_1 + A(z_2) \quad (b_1 > 0) \quad (1)$$

の関係が成立つことを示している。ここで  $y$  はプロビット、 $z_1$  は resmethrin の薬量、 $a, b_1$  はパラメーター、 $A(z_2)$  は PB の薬量  $z_2$  の関数で、 $A(z_2)$  に対する適当な形を求めることが問題である。Hewlett は PB の薬量の関数  $A(z_2)$  の、いろいろな場合について考察した結果、(1) の関係を満足するためには、

1.  $z_2=0$  の時、すなわち resmethrin だけの場合は  $A(z_2)=0$
2. PB の薬量が増していても、致死率は無限に増大しない。すなわち  $A(z_2)$  は極限值をとる

の2点が成立しなければならぬことから、これらを満足する関数を

$$A(z_2) = b_2 z_2 / (c + z_2) \quad (b_2, c > 0) \quad (2)$$

とした。 $b_2, c$  は新たなパラメーターである。したがって(1)式は

$$y = a + b_1 \log z_1 + b_2 z_2 / (c + z_2) \quad (3)$$

となる。Hewlett の示した図上推定の方法で、これらのパラメーターの値を見積ることとする。先ず先に求めた回帰方程式から  $\log LD_{50}$  を求めると、第3表の第2欄

Table 3. Computation for a mathematical model proposed by Hewlett.

Dosage of PB ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	Log LD <sub>60</sub> of resmethrin ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 100)	$b_1 \log z_1$	$a + b_2 z_2 / (c + z_2)$	$A(z_2)$	$1/z_2$	$1/A(z_2)$	$z_2 / (0.080 + z_2)$	Mean values of $y - b_1 \log z_1$
0	0.5348	2.9582	2.0418	0	—	—	0	2.002
0.025	0.3918	2.1672	2.8328	0.7910	40	1.2642	0.238	2.836
0.05	0.3215	1.7783	3.2217	1.1799	20	0.8475	0.385	3.247
0.25	0.0535	0.2959	4.7041	2.6623	4	0.3756	0.758	4.615

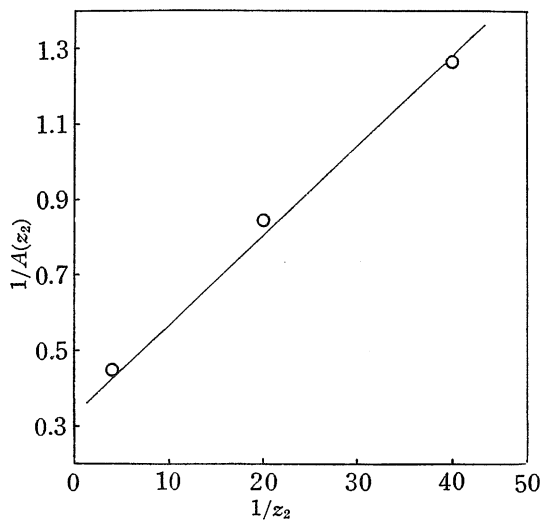


Fig. 2. Linear relation between  $1/A(z_2)$  and  $1/z_2$

の数値になる。これに共通勾配  $b_1 (= b_c)$  をかけた値が第3欄の数値である。  $a + b_2 z_2 / (c + z_2)$  の値は、  $y - b_1 \log z_1$  で求められる。ここで  $y$  は LD<sub>60</sub> であるので、  $5 - b_1 \log z_1$  となる。各々について計算、第4欄の値がえられる。  $z_2 = 0$  では  $b_2 z_2 / (c + z_2) = 0$  となるので、  $a = 2.0418$  となる。第4欄からこの  $a$  の値を引くことによって(2)式に示すように、第5欄の  $A(z_2)$  がえられる。

さて、(2)式の  $A(z_2) = b_2 z_2 / (c + z_2)$  の両辺の逆数をとると、

$$\frac{1}{A(z_2)} = \frac{c + z_2}{b_2 z_2} = \frac{c}{b_2} \cdot \frac{1}{z_2} + \frac{1}{b_2} \quad (4)$$

となる。  $1/z_2$  に対する  $1/A(z_2)$  を打点することにより、  $b_2$  を求めることができる。  $1/z_2, 1/A(z_2)$  の値は第6, 7欄に示してある。両者の関係を打点したのが第2図である。ここに直線関係がえられ、最小自乗法によってその方程式を求めると、

$$y = 0.3059 + 0.0245x, \\ r = 0.995$$

となった。  $1/b_2 = 0.3059, c/b_2 = 0.0245$  であるので、  $b_2 = 3.269, c = 0.080$  がえられる。これまで求めた  $a =$

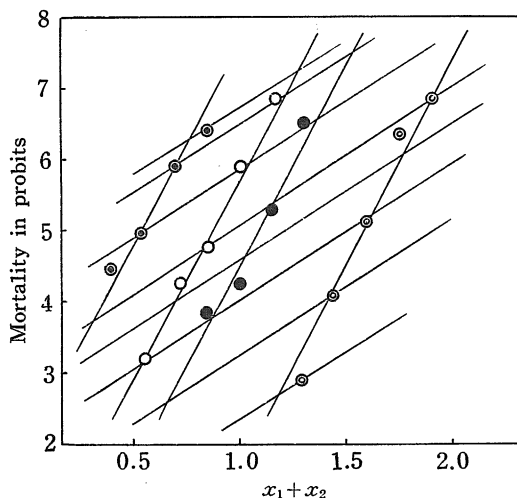


Fig. 3. Probit plane between mortality in probits and  $x_1 + x_2$ , where  $x_1 = \log z_1$  and  $x_2 = 2z_2 / (0.080 + z_2)$ . Dosage of piperonyl butoxide,  $\odot - 0, \circ - 0.025, \bullet - 0.05, \ominus - 0.25 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ .

2.042 と  $b_2 = 3.269$  は中央値において計算したので、まだ十分に全ての関係を満足していない。そこで先に求めた  $c = 0.080$  を用いて  $a$  と  $b_2$  の補正計算を行なう。まずそのために(3)式をつぎのように変形する。

$$y - b_1 \log z_1 = a + b_2 z_2 / (c + z_2) \quad (5)$$

PB のそれぞれの濃度における観測プロビットから、  $b_1 \log z_1$  を引いた値の平均値と、  $z_2 / (0.080 + z_2)$  の値を第3表第8, 9欄に示したが、両者の関係を満足する方程式を、最小自乗法によって計算すると

$$y = 1.990 + 3.432x, \\ r = 0.999$$

となる。よって  $a = 1.990, b_2 = 3.432$  とすることができる。以上の結果から第1表の実験結果を満足する先にしるした Hewlett の数学的モデル(3)式は、

$$y = 1.990 + 5.531 \log z_1 + 3.432 z_2 / (0.080 + z_2) \quad (6)$$

とかきあらわすことができる。この式に、実験に用いた resmethrin と PB の薬量を代入して、resmethrin の薬量に対して致死率のプロビットの値を打点すると、こ

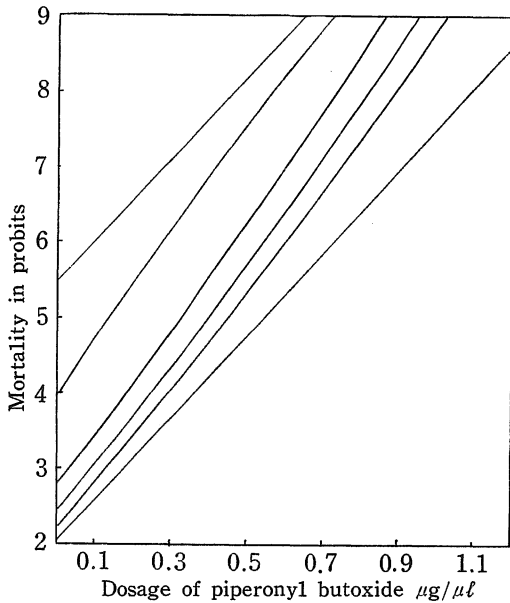


Fig. 4. Curves calculated from equation (7) relating mortality in probits to  $\log z_1$  for different proportions of piperonyl butoxide to resmethrin: left to right  $\infty:1$ ,  $10:1$ ,  $2:1$ ,  $1:1$ ,  $0.5:1$  and resmethrin alone.

れらは先に求めた回帰直線とほぼ一致した。

つぎに Finney のプロビット平面法による計算を行なって、Hewlett のモデルと同形の式をみちびき、比較を行なうこととする。反応  $Y$  に対して、投量因子がふたつ存在する場合は、これらの関係は  $y = a + b_1x_1 + b_2x_2$  という偏回帰方程式をもってあらわされる平面を形づくる。そこで  $\log z_1 = x_1$ ,  $2z_2/(0.080 + z_2) = x_2$  とおいて、縦軸に致死率のプロビット、横軸に  $x_1 + x_2$  の値をとり、グラフの上に打点すると、第3図に示すような格子平面がえられる。ここで  $x_2 = 2z_2/(0.080 + z_2)$  と2倍したのは、回帰線の間隔をひろげるための便宜的な措置に他ならない。格子を組立てる一方の、平行な回帰線群は、 $x_2$  を固定しておいて、 $x_1$  とプロビットとの間の回帰を示すものである。他方は  $x_1$  を固定しておいて、 $x_2$  とプロビットとの間の回帰を示すものである。平行なふたつの回帰線群の交叉する点が expected probit  $Y$  で、これから常法により重み  $w$ 、補正プロビット  $y$  を計算し、これらと先の  $x_1$  及び  $x_2$  とから偏回帰方程式を求めると、 $y = 2.025 + 5.477x_1 + 1.722x_2$  となった。ここで  $x_1 = \log z_1$ ,  $x_2 = 2z_2/(0.080 + z_2)$  であったから、これはつぎのように書ける、

$$y = 2.025 + 5.477 \log z_1 + 3.444z_2/(0.080 + z_2) \quad (7)$$

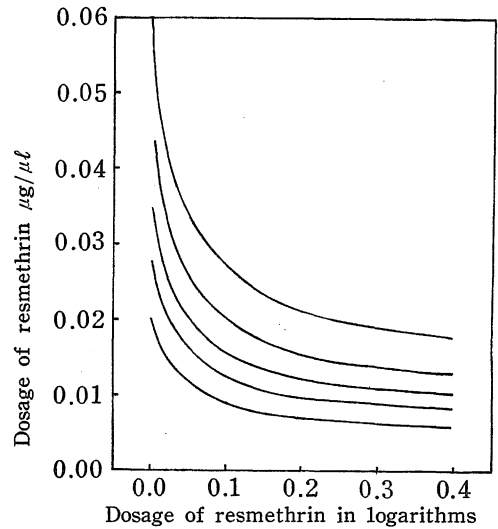


Fig. 5. Isoboles calculated from equation (7) relating dosages of piperonyl butoxide and resmethrin for different levels of mortality: top to bottom 90, 70, 50, 30 and 10%.

適合度の検定として  $\chi^2$  を求めると

$$\chi^2 = 23.645$$

となり、自由度14においてはずれの有意は5%水準以下であるといえる。よってプロビット平面から求めた偏回帰方程式(7)は、実験結果を充分満足するものであるといえる。Hewlett のモデルにあてはめて求めた(6)式と、Finney のプロビット平面法から求めた(7)式の係数は、小数点以下1位まで一致した。

このように、ひとつの実験結果に対して、ことなつたふたつの方法からほとんど同じ近似式をみちびくことができた。そこで(7)式を用いてこの数学的モデルの実用的な解釈を1, 2述べてみよう。まずPBとresmethrinの混合比率を一定にした時の、resmethrinの薬量とプロビットの関係を求めてみよう。たとえばPBとresmethrinの比を2:1とした時は、 $z_2 = 2z_1$ となる。ただここで  $z_1$  は resmethrin の薬量を100倍して計算を行なっているので、 $z_2 = 0.02z_1$ となる。これを(7)式に代入すると、

$$y = 2.025 + 5.477 \log z_1 + 0.069z_1/(0.080 + 0.02z_1)$$

となる。 $\log z_1$  に対する  $y$  の値を打点すると、第4図の2:1と記した曲線がえられた。第4図には、10:1, 2:1, 1:1, 0.5:1の4種類の混合比率について求めた曲線が示してある。ここでPBの関数

$$A(z_2) = 3.444z_2/(0.080 + z_2)$$

において、PBの薬量を充分大きくすると、一定の値に

収束する。この時(7)式は

$$y=5.469+5.477 \log z_1$$

となる。よって PB と resmethrin の混合比率を変えた時の曲線は、resmethrin だけの示す式

$$y=2.025+5.477 \log z_1$$

と、先の式  $y=5.469+5.477 \log z_1$  を漸近線として、この間に存在することとなる。混合比が10:1で充分に上限に近づいているといえる。PB の極大値をとった時の混合剤の毒性は、resmethrin の  $\text{antilog} \left( \frac{3.444}{5.477} \right)$  倍、すなわち4.25倍であることがわかる。

また、(7)式からあるきまった致死率に対する PB と、resmethrin の関係を表わす isobologram は、たとえば90%に対するプロビットの値 6.2816 を(7)式に代入した式

$$\log z_1=0.7772-0.6288z_2/(0.080+z_2)$$

を用いて、 $z_2$  に対する  $\log z_1$  を求め、両者の関係をグラフの上に打点してえられる。これが第5図である。これには同時に70%、50%、30%、10%におけるisobologram が示してある。これより目的とする致死率をえるための混合割合を求めることができる。

今回行なった実験結果は、Hewlett の数学的モデル

によって近似できることがわかった。またプロビット平面法から求めた、偏回帰方程式と比較して、係数は小数点以下1位まででほぼ一致し、このモデルが有効であるといいうる。

## 摘 要

Resmethrin のイエバエに対する致死作用は、piperonyl butoxide の混用により、4.25 倍まで増大されることを、Hewlett のモデルのあてはめの結果から推定した。

## 引用文献

1. HEWLETT, P. S. : J. stored Prod. Res., **5** : 1-9, 1969.
2. HEWLETT, P. S. : Biometrics, **25** : 477-487, 1969.
3. FINNEY, D. J. : Probit Analysis. Cambridge at the Univ. Press. London, 1952, 318pp.
4. HOSKINS, W. M. : Encyclopedia Industrial Chemical Analysis, **7** : 155-186, 1968.
5. 長澤純夫・柴三千代 : 防虫科学, **29**, 46-51, 1964.

## Summary

The mixtures of resmethrin and piperonyl butoxide in acetone were applied topically to adults of the house fly, *Musca domestica* L. The dosage-mortality relations were analysed by fitting a mathematical model proposed by Hewlett (1969) to the data,

$$y=a+b_1 \log z_1+b_2z_2/(c+z_2),$$

where  $y$  is probit mortality,  $z_1$ =dose of resmethrin, and  $z_2$ =dose of piperonyl butoxide,  $a$ ,  $b_1$ ,  $b_2$  and  $c$  are parameters. The model was fairly applicable to the data, and a mixture with an indefinitely large ratio of piperonyl butoxide was estimated to be 4.25 times as toxic as resmethrin alone.