殺虫剤残渣の生物試験法に関する研究

第1報 Knock down 効果を変動させる処理面における
微量の Moisture についてStudies on the biological assay of insecticide residues
(I) Effect of insecticide residue in the
presence of minute moisture

井 上 義 郷*

Yoshisato Inoue

緒 言

防疫用殺虫剤を実地に使用する一つの大きな分野は残留処理であるから、防疫薬剤の効力評価には、残渣を用いる接触試験法が大きな意義を持つてくる。この場合の試験条件としては、殺虫剤を虫体に直接適用する一連の試験法と異り、あらかじめ撒布された薬剤の、処理面における行動と接触時の虫の行動の二つが、特に重要な問題となってくる。

薬剤の行動に関する研究の一つとしては、処理面の理化学性と残渣の持続性の関係について詳細な研究があり、また、接触時の虫と薬剤の反応現象に関する温湿度の影響についての報告も多いが、処理面における薬剤の行動そのものに関与する温湿度の影響や、更にこれと処理面の物理性との関連をとらえた組織的な研究は殆んどみられないように思われる。また一方、現在、わが国で広く行われている、残渣の試験法には、未だ再現性に多くの問題があるように思われ、まず、それらの問題点を明らかにする必要があると認められる。

そこで、そのような観点から、残渣を用いる試験法の改良を目的としてこの研究に着手した。なお、この研究の一部は日本衛生動物学会、第13回大会で講演した。

本文に入るに先だち、常々御指導を戴いている朝比奈正二郎博士ならびに安富和男博士に謝意を表する。なお供試虫の飼育の労をとられた久保田和美氏に感謝する。

KT₅₀ 値を変動させる要因の追求

同一供試虫を用い、或る一つの薬剤について、その適用条件ならびに実験時の温湿度条件を厳密に一定とした

場合でも、時に KT₅₀ 値の評価が大きく変動することがある。例えば一度実験に用いた残渣を再び続けて使用した場合には、初回に得られた結果の KT₅₀ 値よりも、むしろ、再使用の場合のそれが小さくなる傾向があり、更に同一残渣を続けて数回にわたり使用すると、KT₅₀ 値は図1のように、実験の繰返しの変動とは別に、それを

図1 残渣の再使用と KT₅₀ 値の変動する傾向

註 実線と破線の間隔は繰返しの場合の変動

越えて大きく、或る定つた秩序をもつて変動することがある。また、特に残効性の試験においては、残渣の age と KT₅₀ 値とは必ずしも平行関係を示さず、古い残渣がより高い効果を示し、逆転現象のみられる場合もある。そこで本報では、まずそのような現象の問題点を検討することにした。

供試虫：ここに報告する実験には総て、イエバエ成虫を指示昆虫として用い、その30頭(性比1対1)宛を1群として取扱つた。なお、供試イエバエ *Musca dome-*

* 国立予防衛生研究所衛生昆虫部

Department of Medical Entomology, National
Institute of Health, Tokyo

stica vicina Macq. (高槻系統) は当研究室の 28°C の恒温飼育室で豆腐粕培基 (豆腐粕 1 kg にエビオス 35g 混入) を用いて飼育羽化させた, 羽化後 4~7 日目の成虫である。

供試残渣: それぞれの実験目的によつて, 各種殺虫剤の乳剤, 油剤或いはアセトン溶液を用い, その処理面としては濾紙を主体に, 時にはガラス板やベニヤ板を供試した。何れの実験でも撒布量は総て 1 m² 当り 50 cc 宛となし, それらを 25°C, R.H. 40±5% の比較的湿度の低い恒温室内にそのまま放置し, 所定時間後の乾燥残渣を供した。

接触試験法: 総て径 9 cm, 高さ 2 cm のシャーレを用いる継続接触法を採用し, 得られた時間致落下仰転率回帰直線から, 主として KT_{50} 値を概算で求め, それに基いて各種の問題点の考察を行つた。なお, 接触試験は何れも前記恒温室内で実施した。

実験 A: 図 1 に示されているように, 同一残渣においても初回の試験結果と再使用のそれとの間で KT_{50} 値に大きな変動がみられることから, まず, 残渣面に供試虫の 30 頭宛を事前にそれぞれ 1 分間および 5 分間はわせ, その残渣を直ちに実験に用いた場合と, そのままの残渣を用いた場合との間で KT_{50} 値の変動を比較検討した。なお, この実験には Dibrom 乳剤の 0.5% 希釈液の 24 時間後濾紙面残渣を用いた。

表 1 KT_{50} 値の変動因の検討

	1 min.	2	3	5	10	15	20	30	40	KT_{50} (min.)
A										27.5 25.0 15.2
B										15.0 14.5
C										15.0 2.4

註 白は対照で事前の処理をほどこさない場合の結果を示す。

A……事前にハエをはわせた残渣面を供試した場合。上から順に対照, 1 分及び 5 分間はわせた場合の結果を示す。

B……一定の方法で摩擦した残渣面を供試した場合。

C……呼吸を与えた残渣を供試した場合。

結果は表 1, A のようであり, 事前に虫をはわせた場合が, しかもその時間の長いものほど KT_{50} 値が小となる傾向を認めた。以上の結果から二つの仮定を導いて次の実験 B および C を行つた。

実験 B: まず, 供試虫がはい廻ることによつて, 残渣面が攪乱され, その結果, 処理面の内部に吸収されていた薬剤の blooming が助長され, 表面の有効作用薬量

が変化し, それが KT_{50} 値に反映するのではないかと云う推定の下に, 残渣上に重量 100 g のものを乗せた清潔な濾紙を重ね, それを静かに 2 往復させることによつて残渣面を一定の状態で摩擦したものを実験に供した。この実験には DDVP 乳剤の 0.5% 希釈液の 24 時間後濾紙面残渣を用いた。

実験結果は表 1, B のようであり, 事前の処理をほどこさない残渣と比べて KT_{50} 値には殆んど変動は認められなかった。

実験 C: 接触時にシャーレ内に閉じ込められた供試虫の代謝で, その中は当然多湿となり, それと関連して残渣の moisture も変化し, それが処理面における薬剤の行動に何等かの意味で関係し, 表面に存在する有効作用薬量変動するのではなからうか, その仮定に基き, 口もとで 10 秒間, 残渣面に呼吸を与え, 直ちにその残渣について実験を試みた。供試残渣は実験 B の場合と同様である。

この実験結果から, KT_{50} 値を大きく変動させる一つの要因は, 残渣の moisture であることが明らかとなつた (表 1, 実験 C 参照)。このように乾燥残渣に呼吸を与えた程度の微量の moisture の変化で KT_{50} 値が大きく影響されることは, 実験の操作上, 特に注目されなければならない。

残渣の moisture の量と KT_{50} 値との関係

実験 D: 残渣の微量の moisture によつて KT_{50} 値が大きく変動する現象が実験的に確認されたので, その量と KT_{50} 値との関係を事前に残渣面に moisture を与えることによつて比較検討した。ここでは残渣の moisture の絶対値, すなわち, 含水量の測定は行わず, 便宜的に, 水 0.5 cc を含ませた濾紙を敷いた径 9 cm, 高さ 2 cm のシャーレで供試残渣面を覆い, 間接的な方法で微量の moisture を与え, その量は覆う時間を変えることによつて相対値で示した。そして直ちにそれらの残渣を用いて実験を行い, それぞれの KT_{50} 値を求めた。

実験結果は表 2 の D に示した。また, 横軸に moisture の量を示す相対湿度指数 (R.M.I.) の対数を取り, 縦軸には KT_{50} 値 (対数) をとつて両者の関係を示したものが図 2 である。

実験 E: ここでは実験 D の場合とは逆に, 間接的に moisture を与える為の水量を変えて, 作用させる時間は一定の 10 分間となし, 全く同様の実験を行つた。なお, 結果は表 2 の E および図 2 に示した。

実験 D, E の両者の結果を考察すると, 図 2 から明らかなように, 両者とも与えた moisture の量, すなわ

表 2 Moisture の量的変化と KT_{50} 値の変動する傾向

	R.M.I.	KT_{50}	moisture の条件			
			2 min.	4	8	16
E	Cont.	10.4 min.				
	1	4.0				
	2	3.4				
	4	2.9				
	8	2.5				
D	Cont.	10.4 min.				
	1	7.1				
	2	5.6				
	4	3.9				
	8	2.6				

註 1. R.M.I. …… Relative Moisture Index
 2. moisture の条件 …… 残渣面に間接的に与えた水量と時間を示す。

図 2 R.M.I. と KT_{50} 値との関係

ち、相対湿潤指数 (R.M.I) と KT_{50} 値とは逆の相関を示し、ほぼ直線に近い関係が認められた。実験 E の結果からそれらの関係を計算値で示すと次のようになる。

$$\log Y = 2.00657 - 0.33548X \pm 0.06339$$

$$Sy = \pm 0.1158 \text{ min. } r = -0.899$$

なお、図 2 において、D と E の場合で直線の勾配が異なることは、moisture の与え方が両者で異っているためと思われ、湿潤能率の違いがそこに示されたものと考えられる。

殺虫剤の種類と moisture の影響

実験 F: これまでの実験には主として DDVP の残渣を供試したが、殺虫剤の有効成分の種類が異れば、moisture の影響性がどのように変化するか、その傾向を明らかにするための検討を試みた。

この実験に用いた殺虫剤の種類は、DDVP, Dibrom, diazinon, Korlan, Baytex, Dipterex, lindane の各乳剤である。それらの何れも 0.5 % 希釈液の濾紙面残渣を、すでに記した条件の恒温室内に 24 時間ならびに 15 日間そのまま放置し、それらの残渣に実験 D と同様の方法で一定量の moisture (この場合、水 0.5 cc, 作用時間 8 分間) を与え、直ちに実験に供試した。そして得られた KT_{50} 値とそのまま供試した dry 残渣のそれとの比率の逆数、

すなわち $1/W/D$ を求め、その値を moisture の影響による KT_{50} 値の変動指数となし、それに基づいて相対的に比較考察した。

表 3 に示す実験結果の変動指数 (F.I.) を通覧すると、moisture を与えた場合には、何れの殺虫剤もその影響を受け、そのまま供試した残渣の場合に比較して、一般に KT_{50} 値は小となる傾向が認められた。特に顕著にその影響を受ける、変動指数の大きい殺虫剤は

表 3 各種殺虫剤残渣と moisture の影響

		F.I.									
		1 min.	2	4	8	16	32	64	128	256	F.I.
24 hr.	DDVP	W									4.0
	Dibrom	W									4.1
	diazinon	W									2.6
	Korlan	W									1.5
	baytex	W									1.7
	dipterex	W									2.4
	lindane	W									2.9
15 days	DDVP	W									5.2
	Dibrom	W									4.9
	diazinon	W									1.7
	Korlan	W									1.4
	baytex	W									1.5
	dipterex	W									5.5
	lindane	W									2.5

註 { W …… 所定量の moisture を与えた残渣の場合
 D …… そのまま供試した dry 残渣の場合
 F.I. …… KT_{50} 値の変動指数, $1/W/D$

DDVP および Dibrom であり、lindane がこれに次ぎ、そして、それらがいずれも比較的蒸気圧の高い殺虫剤である事は、薬剤の処理面における行動を追求する上に特に注目される。

次にそれぞれの殺虫剤に関する KT_{50} 値の変動指数を、24 時間後残渣の場合と 15 日間そのまま放置した、いわゆる残効性の test に用いる残渣の場合で比較すると、一般的には両者で平行関係が認められ顕著な差異はないと云えるが、特に注目すべきことは Dipterex の場合である。24 時間後残渣の場合は変動指数は 2.4 で比較的小さいが、15 日後残渣のそれは 5.5 に増大し、DDVP のそれと同等となつてきており、そこには平行関係は認められない。この事は両者で化学構造が近似し、分解移行の点を考え合せると極めて興味深く考察される。

製剤形態ならびに処理面の物理性と moisture の影響

実験 G: これまでの実験には総て乳剤の残渣が供試されていたが、それ以外の剤形、すなわち、油剤やアセトン溶液の場合においても同様の傾向が認められるかどうかの検討を行つた。供試薬剤としては最も顕著に moi-

表 4 剤形及び処理面の種類と moisture の影響

			2 min. 4 8 16 30 F.I.					F.I.
			W	D				
G	Filter paper	Emulsion	W	D				4.0
		Oil sol.	W	D				3.5
		Acetone s.	W	D				4.5
H	Acetone s.	Filter p.	W	D				4.5
		Veneer pl.	W	D				2.0
		Glass pl.	W	D			(49.5%)	∞

sture の影響を受ける DDVP を選び、その 0.3 % 油剤および 0.5 % アセトン溶液の 24 時間後濾紙面残渣を供試した。その他の実験方法は実験 F の場合と全く同様である。

表 4, G の結果から明らかなように、乳剤、油剤、アセトン溶液の間では、KT₅₀ 値の変動指数は特に顕著な差異を示さず、したがって、製剤の形態とは特に関係なく、やはり、主剤そのものが問題となることが確認された。

実験 H: 次に DDVP の 0.5 % アセトン溶液を用いて、処理面の物理性と moisture の影響との関係を検討した。供試処理面としては、吸収性の高い濾紙と非吸収性のガラス板およびその中間的な物理性と考えられるベニヤ板を選定し、その他は実験 G の方法に準じて実験を行った。

表 4 の H から明らかなように、薬剤の吸収性が高い処理面ほど、moisture の影響は顕著で、KT₅₀ 値は小となる傾向を示し、その変動指数は濾紙の場合が最も大きく、ベニヤ板がこれに次ぐ。なお、非吸収性のガラス板では、moisture を与えた場合、これまでの傾向とは逆に KT₅₀ 値は、むしろ大となる傾向を示し、特に DDVP を用いたこの実験では残渣の消失が認められ、KT₅₀ 値は得られなかった。この事とさきの蒸気圧の問題とは処理面における薬剤の行動に対する moisture の意義を説明する上に極めて重要な現象と考える。

なお、本報では残渣に対して実験的に所定量の moisture を、しかも短時間に与えて、KT₅₀ 値の変動する傾向を検討したが、moisture は環境の湿度と平衡関係を示すものと考えられ、また、処理面における薬剤の行動はもともと動的に把握すべきものであるから、関係湿度と更にそれらにさらされる時間との関連性においてとらえることが必要である。その点と moisture の意義に関しては次報で詳細に考察することとし、今回は以上の実験結果を報告するに止めたい。

総 括

1. 殺虫剤の残渣を用いる接触試験においては、時に knock down 効果の評価が繰返しの変動を越えて大きく

乱れることがある。この点をイエバエ成虫を指示昆虫として検討した。その結果、KT₅₀ 値の大きく変動する一つの要因は、残渣の微量の moisture であることが実験的に明らかとなった。

2. 残渣の moisture の量と KT₅₀ 値とは、DDVP 乳剤の濾紙面残渣を用いた実験によれば、逆の相関を示し、ほぼ直線的な関係が認められた。

3. そのような moisture の影響が、他の殺虫剤の残渣においてもみられるかどうかを、7 種類の殺虫剤の乳剤について検討したところ、一般的にはいずれの場合にもその影響が認められ、特に顕著に KT₅₀ 値が変動するのは、比較的蒸気圧の高い DDVP および Dibrom の残渣であり、lindane がこれにつぐことを知った。

更に乳剤以外の剤形、すなわち、油剤やアセトン溶液の場合の残渣でも、同様の傾向がみられるかどうかの検討を試みたところ、剤形とは特に関係なく、やはり殺虫成分そのものの種類が問題となることを確認した。

4. 以上の実験は総て濾紙面残渣で行ったものであるが、物理性の異なる他の処理面の場合に、そのような moisture の影響がどのように異なるかを、DDVP のアセトン溶液を用いて実験した。

Moisture の影響は、吸収性の高い濾紙面残渣の場合が最も顕著で、ベニヤ板の場合がこれに次ぎ、非吸収性のガラス板では moisture はマイナスに作用し、この場合はむしろ、残渣の消失する傾向が認められた。そしてこの現象は処理面における薬剤の行動を考える上に注目される。

なお、処理面における薬剤の行動と moisture の意義ならびに環境の湿度との関連性などについては次報で報告する。

参考文献

- 1) Pradhan, S. (1949): Bull. ent. Res. 40: 431. —
- 2) Glynne Jones, G. D. and Edwards, R. A. (1952): Bull. ent. Res. 43: 67. —
- 3) Hewlett, P. S. and Gostick, K. G. (1955): Ann. Appl. Biol. 43: 213. —
- 4) Collins, W. E. and King, H. L. (1953): J. Econ. Ent. 46: 51. —
- 5) Potter, C. and Gillham, E. M. (1946): Ann. Appl. Biol. 33: 142. —
- 6) Hadway, A. B. and Barlow, F. (1952): Bull. ent. Res. 43: 281. —
- 7) Dovidson, G. (1953): Bull. ent. Res. 41: 231. —
- 8) Hadway, A. B. (1950): Bull. ent. Res. 41: 63. —
- 9) 井上義郷 (1956): 衛生動物, 7(1): 43. —
- 10) 鈴木猛, 遠山輝彦 (1957): 防虫科学, 22(3): 283. —
- 11) 平社俊之助 (1958): 衛生動物, 9(3): 191.

Summary

It has been known, as an actual phenomenon, that during a contact-test on an insecticide film the KT_{50} values (the measurement of insecticidal potency to test insects) often unexpectedly fluctuated. Using house flies an investigation was attempted on this phenomenon.

It was experimentally confirmed that test insects are more susceptible to insecticide residues when its

treated surface contains a minute amount of moisture.

The relationship between the KT_{50} values and the amount of the moisture showed an inverse correlation. Such an instability of knock down effect due to the moisture, is the most evident in both cases of DDVP and Dibrom regardless the formulation of the insecticide when applied on absorptive materials such as filter paper or veneer plate. If applied on a glass plate, however, similar effect was not recognized.

Nankor によるハエ駆除実験

Field test of fly control using Nankor
(0,0-dimethyl 0-2, 4, 5-trichlorophenyl phosphorothioate)武 衛 和 雄¹⁾ 福 原 佳 春²⁾

Kazuo Buéi and Yoshiharu Fukuhara

近年低毒性の有機燐酸エステル系殺虫剤が急速な進歩をし、衛生害虫駆除の面にもひろく使用されるようになり、駆除効果の上から高く評価されているものが少なくない。われわれはまえに malathion 製剤の野外実験を通じてハエの成虫、幼虫に対する駆除効果を検討し、その適用範囲のひろいことをしつた。今回は最近米国カナダ等において広く使用されている Nankor®(0,0-dimethyl 0-2, 4, 5-trichlorophenyl phosphorothioate)製剤により大阪府下の一農村において前回に準じた方法でハエ駆除を目的としたフィールド実験を行なったので報告する。

この実験にあたっては箕面市役所ならびに地域住民の方々の御協力を仰いだ。また薬剤の提供その他の御協力頂いた日綿実業株式会社、旭工業株式会社に対しあつくお礼を申しあげる。

実験地区の概況

実験地として選んだ箕面市新家地区は戸数40戸、人口約200名の純農村で、周辺は小丘陵と水田に囲まれた

独立集落を形成している。薬剤散布を行なうまえにその対象となるべきハエの発生源や棲息場所について詳細な調査をした結果は表1のようであった。

また比較対照地区として新家地区より約100m東に隣接し、かつ独立集落よりなる小野原地区(戸数245戸、人口約1,100名)を選んだ。部落の環境は実験地区と比較的よく似通った農村で、この地区では実験期間中を通じて薬剤の散布や環境の整備は殆んど行なわれなかった。

表1 実験地区の環境概況(薬剤散布地区)

	家屋	便池	牛小舎	鶏小舎	納屋
散布対象数	40	40	23	25	35
総面積 m ²	4331.3	50.2	99.1	361.4	1519.7
一戸当りの面積 m ²	108.3	1.3	4.3	14.4	43.4

実験方法

実験に使用した Nankor*は0.5%油剤、10%乳剤、1%粉剤の3種類である。

* Nankor は 0,0-dimethyl 0-2, 4, 5-trichlorophenyl phosphorothioate 66.2%を含有するので、液剤又は粉剤にするさいは有効成分が100%となるように調製した。

- 1) 大阪府立公衆衛生研究所
Public Health Research Institute, Osaka-fu, Osaka
- 2) 大阪府池田保健所
Ikeda Health Center, Osaka Prefecture