

# 農薬検査所報告

第 6 号

農林省農薬検査所

(東京都小平市)

# 目 次

農業検査所の概況	3
農業公定分析法	6
デイルドリン乳剤, エンドリン乳剤, CPSBS乳剤, DN乳剤, メチルジメトン乳剤, 2,4-ジクロルフエノキシ酢酸エチルエステルを成分とする2,4-D除草剤, DEP乳剤および水溶剤, DEP水和剤, 物理性検定法, 銅水銀粉剤および水和剤の水銀, DBCP剤, EDB剤。	
<b>原 著</b>	
柏 司, 後藤真康, 佐藤六郎	作物体中の農薬の残留量
後藤真康, 佐藤六郎	SS散布によるパラチオン粒子の飛散
後藤真康, 川原哲城, 佐藤六郎	天然水中の PCP の分析
俣野修身, 佐藤六郎	有機リン殺虫剤によるアズキゾウムシのコリンエステラーゼ阻害について
久保博司, 俣野修身, 佐藤六郎	チオフェン基をもつ有機リン酸エステル (英文)
松谷茂伸, 菅原寛夫	ナミハダニ <i>Tetranychus telarius</i> L. 卵に対する薬剤処理時期の相違が胚子発育停止時期に及ぼす影響, (各種薬剤のハダニ類防除機構に関する研究 第2報)
松谷茂伸, 菅原寛夫	ナミハダニ <i>Tetranychus telarius</i> L. 卵の耐薬性に及ぼす卵令期の影響 (同上 第3報)
松谷茂伸	水田における数種殺虫剤施用のヒメダカ <i>Oryzias latipes</i> (T-ets) に対する影響
橋本康, 高橋サワ子, 菅原寛夫	緑豆によるアズキゾウムシの飼育
森 拡之	微生物による PCP の定量法
森 拡之	バイオオートグラフィーによる TUZ 剤の分析法について
桜井 寿, 古山清	ウドンコ病防除薬剤の葉片検定法
中村広明	抗生物質の農薬適用性について (第1報) トリコマイシン
中村広明	(同上 第2報) セロサイジンのイネ白葉枯病に対する効果
中村広明	組織培養による殺菌剤の検定法
<b>抄 録</b>	
久保博司, 佐藤六郎	有機リン剤のアルカリによる加水分解の反応速度論的考察 (有機燐殺虫剤の化学的研究 第4報)
佐藤六郎, 久保博司	タルクの物理化学的性質がメチルパラチオン粉剤の経時変化におよぼす影響 (第5報)
後藤真康, 幸田一郎, 佐藤六郎	Methyl parathion 粉剤の分解防止剤について (第6報)

牟田一郎, 久保博司, 後藤真康 佐藤六郎	Methyl parathion と酢酸フェニル水銀との反応について (第7報) .....	72
佐藤六郎, 久保博司	タルクの物理化学的性質が EPN 粉剤の経時変化に及ぼす影響 (第8 報) .....	73
佐藤六郎, 久保博司	クレーの物理化学的性質がメチルパラチオン粉剤の経時変化に及ぼ す影響 (第9報) .....	73
牟田一郎, 後藤真康, 佐藤六郎	Methyl parathion と酢酸フェニル水銀との反応について(その2)(第 10報) .....	74
山内正雄, 牟田一郎, 佐藤六郎	Malathion の分解に及ぼす添加物の影響 (第11報) .....	74
後藤真康, 牟田一郎, 佐藤六郎	Methyl parathion 粉剤の分解防止剤について (その2) (第12報) .....	75
牟田一郎, 後藤真康, 佐藤六郎	Methyl parathion の分解に及ぼす添加物の影響 (第13報) .....	76
後藤真康, 牟田一郎, 佐藤六郎	Methyl parathion 粉剤の経時変化生成物について (第14報) .....	76
柏 司, 佐藤六郎	キャリアーの物理的性質が Methyl parathion 粉剤の経時変化に及 ぼす影響 (第15報) .....	76
牟田一郎, 後藤真康, 佐藤六郎	Parathion と酢酸フェニル水銀との反応について (第16報) .....	77
牟田一郎, 後藤真康, 佐藤六郎	EPN および Diazinon と Phenylmercuric acetate との反応につい て (第17報) .....	78
牟田一郎, 後藤真康, 佐藤六郎	DEP と Phenylmercuric acetate との反応について (第18報) .....	78
久保博司, 牟田一郎, 俣野修身, 佐藤六郎	有機リン化合物と有機水銀化合物との反応 .....	79
川原哲城, 後藤真康, 佐藤六郎	PCP 剤の分析法について .....	80
金沢 純, 佐藤六郎	カーバメート系殺菌剤のペーパークロマトグラフィー .....	80
金沢 純, 佐藤六郎	殺線虫剤 D-D のガスクロマトグラフィー .....	80
金沢 純, 越中俊夫, 佐藤六郎	殺線虫剤 EDB のガスクロマトグラフィー .....	81
金沢 純, 佐藤六郎	殺線虫剤 1.2-ジブロム-3-クロルプロバンのガスクロマトグラフィー .....	81
金沢 純, 佐藤六郎	殺虫剤 DDVP のガスクロマトグラフィー .....	81
金沢 純, 佐藤六郎	除草剤 2.4-Dエチルエステルのガスクロマトグラフィー .....	82
後藤真康, 佐藤六郎	Aldrin, Tedion, Heptachlor, Dibrom, DEP の簡易定量 (赤外線吸収 スペクトルによる農薬の分析 第1報) .....	82
金沢 純, 川原哲城, 佐藤六郎	紫外部吸収法によるセビン粉剤の迅速分析 .....	83
越中俊夫, 佐藤六郎	EDTAキレート滴定法による水銀剤および銅水銀剤中の水銀の定量に ついて .....	83
橋本 康, 菅原寛夫	農薬の微量定量用供試生物としてのモツゴとヒメダカ .....	83
杉本 滉	アズキノウムシによる殺虫剤残留の定量方法についての検討 .....	84

# 農 薬 検 査 所 概 況

(Outlines of the Agricultural Chemical Inspection Station)

1. 所在地 東京都小平市鈴木町2丁目772番地  
 電話 所長室, 生物課 (04238) 2151  
 総務課, 化学課 (04238) 2152

分, 効力, 薬害, 毒性等の生物的検査法の調査研究。殺菌剤, 除草剤及び殺線虫剤の生物的検査。供試菌, 作物等の培養保存及び栽培。

## 2. 機 構

- 総務課
  - 庶務係—人事, 文書, 一般庶務
  - 会計係—経理, 給与, 国有財産及び物品管理
  - 調査係—登録事務, 取締, 調査, 企画
- 化学課
  - 第1係—有機燐剤, 無機比素剤, 有機硫黄剤, 除草剤, マシン油剤, デリス剤及び弗素剤の化学的検査。農薬の物理的性状の検査。水質汚濁及び作物体上の残留毒についての調査研究。農薬の微量分析についての調査研究。赤外線分光分析法の農薬分析への応用研究。
  - 第2係—有検水銀剤, 殺線虫剤, くん蒸剤, 銅剤及び殺そ剤の化学的検査。公定分析法の設定改善のための調査研究。分析技術の指導。ガスクロマトグラフ法の農薬分析への応用研究。
  - 第3係—有機塩素剤, 有機比素剤, 無機硫黄剤, ニコチン剤及び除虫菊剤の化学的検査。農薬の経時変化についての調査研究。ポーログラフ法の農薬分析への応用研究。
- 生物課
  - 昆虫係—殺虫剤, 殺そ剤及び忌避剤の成分, 効力, 薬害, 毒性等の生物的検査法の調査研究。殺虫剤, 殺そ剤及び忌避剤の生物的検査。供試動物, 作物等の飼育又は栽培。
  - 病理係—殺菌剤, 除草剤及び殺線虫剤の成

## 3. 定員及び予算

年 度	定 員	予 算
29	29	10,713千円
30	29	11,212
31	29	13,320
32	29	17,292
33	30	20,263
34	30	23,639
35	30	21,790
36	31	35,943

## 4. 沿 革

昭昭22年4月25日当所設置の官制が制定され, 同年6月東京都北区西ヶ原町(農業技術研究所構内)に設置された。昭和24年5月に生物課が都下北多摩郡小平町鈴木新田に移転した。その後, 昭和30年12月化学検査室57坪を西ヶ原から小平町(昭和37年10月1日小平市となる)に移築し, 32年1月に所長室, 事務室40坪も新築したので, 農業検査所はすべて小平町に移った。昭和34年9月所長室, 化学検査室等の鉄筋コンクリート建て庁舎(150坪)が完成し, 昭和37年度予算で事務室, 会議室, 生物検査室等(150坪)を同様新築中である。

## 業 務 状 況

### 1. 農薬の登録状況

登録の種類	年 度	昭和33年度	昭和34年度	昭和35年度	昭和36年度
新規	再	381件	403件	384件	445件
	再	463	486	590	642

### 2. 農薬の集取検査

農 薬 の 種 類	昭 和 34 年 度				昭 和 35 年 度				昭 和 36 年 度			
	検査件数	品質不良	表示不良	備考	検査件数	品質不良	表示不良	備考	検査件数	品質不良	表示不良	備考
硫 酸 ニ コ チ ン	5	3	—		—	—	—		9	2	—	
BHC 粉 剤	2	—	5		14	—	2		—	—	—	
BHC 乳 剤	4	—	1		—	—	—		—	—	—	

農 薬 の 種 類	昭 和 34 年 度				昭 和 35 年 度				昭 和 36 年 度			
	検 査 件 数	品 質 不 良	表 示 不 良	備 考	検 査 件 数	品 質 不 良	表 示 不 良	備 考	検 査 件 数	品 質 不 良	表 示 不 良	備 考
パ ラ チ オ ン 粉 剤	22	6	—		18	4	—		—	—	—	
パ ラ チ オ ン 乳 剤	—	—	—		7	1	—		3	—	—	
エ チ ル パ ラ チ オ ン 水 和 剤	—	—	—		—	—	—		4	—	—	
メ チ ル パ ラ チ オ ン 粉 剤	—	—	—		—	—	—		21	1	—	
〃 乳 剤	—	—	—		—	—	—		8	2	—	
EPN 粉 剤	20	1	—		6	2	—		8	—	—	
〃 乳 剤	—	—	—		—	—	—		17	—	—	
マ ラ ソ ン 粉 剤	6	1	—	内容量不足1	21	7	—		18	—	—	
DEP 乳 剤	2	—	1		—	—	—		—	—	—	
そ の 他 殺 虫 剤	60	—	—		38	—	—		—	—	—	
水 銀 粉 剤	20	—	1		—	—	—		—	—	—	
マ ン ネ ブ 水 和 剤	3	1	—		—	—	—		3	—	—	
PCP 粉 剤	2	—	1		5	1	—		—	—	—	
シ ク ロ ヘ キ シ ミ ト 剤	4	—	1		4	2	—		—	—	—	
そ の 他 殺 菌 剤	60	—	—		8	—	—		—	—	—	
除 草 剤	13	—	—		—	—	—		—	—	—	
補 助 剤	2	—	—		—	—	—		—	—	—	
デ イ プ テ レ ッ ク ス 粉 剤	—	—	—		3	1	—		—	—	—	
〃 水 溶 剤	—	—	—		5	4	—		2	—	—	
〃 乳 剤	—	—	—		5	3	—		2	1	—	
PB 粉 剤	—	—	—		2	1	—		3	1	—	
バ イ ジ ッ ト 乳 剤	—	—	—		—	—	—		6	—	—	
PM 〃	—	—	—		—	—	—		3	—	—	
EP-NNAC 粉 剤	—	—	—		—	—	—		1	—	—	
〃 乳 剤	—	—	—		—	—	—		2	—	—	
エ ン ド リ ン 乳 剤	—	—	—		—	—	—		9	—	—	
ヘ プ タ ク ロ ル 粉 剤	—	—	—		—	—	—		1	—	—	
DDT 粉 剤	—	—	—		—	—	—		3	—	—	
〃 乳 剤	—	—	—		—	—	—		2	—	—	
〃 水 和 剤	—	—	—		—	—	—		1	—	—	
砒 酸 鉛 灰 剤	—	—	—		—	—	—		1	—	—	
砒 酸 石 灰 剤	—	—	—		—	—	—		1	—	1	
DDT 除 虫 菊 粉 剤	—	—	—		—	—	—		1	—	—	
有 機 水 銀 水 和 剤	—	—	—		—	—	—		1	—	1	
銅 水 銀 水 和 剤	—	—	—		—	—	—		1	—	1	
〃 粉 剤	—	—	—		—	—	—		1	—	1	
有 機 水 銀 比 素 粉 剤	—	—	—		—	—	—		9	—	—	
砒 素 粉 剤	—	—	—		—	—	—		2	—	—	
〃 乳 剤	—	—	—		—	—	—		9	—	—	
TUZ 粉 剤	—	—	—		—	—	—		5	—	—	
〃 水 和 剤	—	—	—		—	—	—		3	—	—	
ジ ネ ブ 粉 剤	—	—	—		—	—	—		2	—	—	
〃 水 和 剤	—	—	—		—	—	—		13	—	—	
フ タ ー バ ム 〃	—	—	—		—	—	—		1	—	—	

農 業 の 種 類	昭 和 34 年 度				昭 和 35 年 度				昭 和 36 年 度			
	検 査 件 数	品 質 不 良	表 示 不 良	備 考	検 査 件 数	品 質 不 良	表 示 不 良	備 考	検 査 件 数	品 質 不 良	表 示 不 良	備 考
水 和 硫 黄	—	—	—		—	—	—		2	—	—	
CPCBS 乳 剤	—	—	—		—	—	—		3	—	—	
クロルベンジレート //	—	—	—		—	—	—		1	—	1	
クマリン系殺そ剤	—	—	—		—	—	—		1	—	1	
PCP 水 溶 剤	—	—	—		—	—	—		1	—	1	
” 粒 剤 25	—	—	—		—	—	—		4	—	4	
合 計	249	12	10	1	136	26	2		186	7	11	

3. 農薬の依頼検定

昭和33年～昭和36年度

昭 和 34 年 度		昭 和 35 年 度		昭 和 39 年 度	
一 般	官 公 庁	一 般	官 公 庁	一 般	官 公 庁
15件	78件	57件	30件	17件	22件

## 農 薬 公 定 分 析 法

### デイルドリン乳剤\*

1, 2, 3, 4, 10, 10-ヘキサクロル-6,7-エポキシ  
1, 4, 4a, 5, 6, 7, 8, 8a-オクタヒドロ-1,4-エ  
ンドエキソ-5,8-ジメタノナフタリン (HEOD)……

HEOD 約0.5g を含む試料を三角フラスコ (容量50cc)  
に正確にとり、モビルソルベント<sup>(1)</sup>25ccを加え、湯浴上  
で試料を溶解する。放冷後50ccのメスフラスコにモビ  
ルソルベントを用いて移し入れ、指示色素溶液<sup>(2)</sup>1cc  
を加え全容を50ccにする。この液5ccをホールピペッ  
トでとりクロマトグラフ法<sup>(3)</sup>により展開する。流出液に  
赤い色素が出始めてから、紫の色素の出始めるまで流出  
液を3~5ccづつ三角フラスコ (容量50cc)に集め、モビ  
ルソルベントを蒸発させる。

蒸発残留物に HEOD の結晶が折出し、溶剤の混在が  
認められない場合は、残留物をできるだけ少量のノルマ  
ルヘキサンに溶かしてひょう量びんに移し集める。大部  
分のノルマルヘキサンを湯浴上で蒸発させた後、パラフ  
インを入れたデシケータ中で真空乾燥し、HEOD の結晶  
の重さをはかる。ただし、この結晶の融点は174~176°C  
でなければならない。次の式によつて HEOD の百分率  
を算出する。

$$\text{HEOD (\%)} = \frac{\text{HFOD の重量 (g)} \times 10}{\text{試料 (g)}} = 100$$

蒸発残留物に溶剤の混在が認められる場合は、残留物  
を少量のエーテルで三角フラスコ (容量200cc)に集め、  
エーテルを湯浴上で完全に蒸発させる。これに脱水精製  
したイソプロピルアルコール30cc及び金属ナトリウムの  
細片3gを加え、還流冷却器を附して弱火で静かに2時  
間煮沸する。反応終了後イソプロピルアルコール (50容  
量%)を少量滴下し、金属ナトリウムが完全に消費され  
た後水500ccを加えて放冷する。これに硝酸(1:1)  
を加えて弱酸性にし、正確に $\frac{N}{20}$ の硝酸銀溶液20ccをホ  
ールピペットで加え、更にニトロベンゼン5cc及び硫酸  
第二鉄アンモニウム溶液(10%)3ccを加える。十分にふ  
りませた後、正確に $\frac{N}{20}$ のチオシアン酸アンモニウム溶  
液で逆滴定し、溶液が淡かつ色を呈した時を終点とする。  
滴定に要した $\frac{N}{20}$ チオシアン酸アンモニウム溶液の量を

Accとし、別に同様の方法で空試験を行い、この滴定に  
要した $\frac{N}{20}$ チオシアン酸アンモニウム溶液の量をBcc  
とし、次の式によつて HEOD の百分率を算出する。

$$\text{HEOD (\%)} = \frac{(B \text{ cc} - A \text{ cc}) \times 0.03175 \times 10}{\text{試料 (g)}} = 100$$

- 注 (1) 分液漏斗 (容量1 l) にノルマルヘキサン  
800cc, ニトロメタン40ccを加え、5分間激し  
くふりませた後静置する。このノルマルヘキ  
サン層を使用する。
- (2) DアンドCバイオレット No. 2 25mg 及び  
DアンドCレッド No. 18 25mg をモビルソ  
ルベント50ccに溶かす。
- (3) BHC 乳剤検査法 (昭和29年6月1日付,  
農林省告示377号)に定められたクロマトグ  
ラフ円筒の作製及び展開操作に準ずる。

### エンドリン乳剤\*

1, 2, 3, 4, 10, 10-ヘキサクロル-6,7-エポキシ-1,  
4, 4a, 5, 6, 7, 8, 8a-オクタヒドロ-1, 4-エンド-5,  
8-ジメタノナフタリン (エンドリン)……

分析操作及び計算式は、デイルドリン乳剤に準じて行  
つてよいがモビルソルベントを蒸発させてえたエンドリ  
ンの結晶の分解点は、200°C以上でなければならない。

### CPCBS 乳 剤\*

4-クロルフエニル-4-クロルベンゼンスルホネイト  
(CPCBS) 又は CPCBS とビスパラクロルフエノキシメ  
タン (DCPM)……

CPCBS 0.7~0.9g 又は CPCBS 0.7~0.9g と DCPM 0.3  
~0.4g を含む試料を三角フラスコ (容量50cc)に正確に  
はかり、モビルソルベント<sup>(1)</sup>25ccを加え湯浴上で試  
料を溶解する。放冷後50ccのメスフラスコにモビルソ  
ルベントを用いて移し入れ、指示色素溶液<sup>(2)</sup>1ccを加  
えて全容を50ccにする。この液5ccをホールピペットで  
とり、モビルソルベント230ccを用いてクロマトグラフ  
法<sup>(3)</sup>により展開する。流出液に赤い色素が出始めて  
から最後まで流出液を3~5ccづつ三角フラスコ (容量50  
cc)に集め、モビルソルベントを蒸発させて結晶を析出  
させる。赤い色素の終りから紫の色素の中頃までの流出

\* 昭和32年7月11日 農林省告示 第602号

液からは DCPM の結晶がえられ、紫の色素の20~30cc 後から最後まで流出液からは CPCBS の結晶がえられるであろう。CPCBS と DCPM の結晶はできるだけ少量のノルマルヘキサンに溶かして別々のひょう量びんに移し集め、大部分のノルマルヘキサンを湯浴上で蒸発させた後パラフィンを入れたデシケータ中で真空乾燥し、結晶の重さをはかる。ただし、ここでえた CPCBS の結晶の融点は85~87°C、DCPM の結晶の融点は70~72°C でなければならない。次の式によつて CPCBS 及び DCPM の百分率を算出する。

$$\text{CPCBS}(\%) = \frac{\text{CPCBS の重量(g)} \times 10}{\text{試料(g)}} \times 100$$

$$\text{DCPM}(\%) = \frac{\text{DCPM の重量(g)} \times 10}{\text{試料(g)}} \times 100$$

注 (1) 分液漏斗 (1 l) 容量にノルマルヘキサン 800 cc, ニトロメタン 40 cc を加え、5 分間激しくふりませた後静置する。このノルマルヘキサン層を使用する。

(2) DアンドCバイオレットNo. 2 25mg 及びD アンドCレッドNo. 18 25mg をモビルソルベン ト50cc に溶かす。

(3) BHC 乳剤検査法 (昭和29年6月1日付, 農 林省告示 377 号) に定められたクロマトグラフ 円筒の作製及び展開操作に準ずる。

### D N 乳 剤\*

2,4-ジニトロ-6-シクロヘキシルフェノール (2,4-DN) 又はその酢酸エステル (2,4-DNA)……

純粋の2,4-DN約50 mgを三角フラスコ (容量50cc) に正確にはかりとり  $\frac{N}{10}$  メチルアルコール性水酸化ナトリウム溶液25ccを加えて溶解し、メチルアルコールで100 cc のメスフラスコに移して全容を100ccにする。この液10cc をホールピペットでとり、100 cc のメスフラスコに移してメチルアルコールで定容にする。更にその10ccをホールピペットでとり、50ccのメスフラスコに移してメチルアルコールで定容にする。この液を2,4-DNの標準溶液とする。同様の方法で2,6-ジニトロ-4-シクロヘキシルフェノール(2,6-DN)の溶液をつくり、これを2,6-DNの標準溶液とする。それぞれの標準溶液について波長 370 m $\mu$  及び440m $\mu$  における吸光度を分光光度計で測定する。

つぎに2,4-DN 又は2,4-DNA 約50mg を含む試料を三角フラスコ (容量50cc) に正確にはかりとり、標準溶液と同様の方法で試料溶液をつくり、波長370m $\mu$  及び 440

m $\mu$  における吸光度を測定する。

2,4-DN の標準溶液の波長370m $\mu$  及び 440m $\mu$  における吸光度を  $a$  及び  $a'$ , 2,6-DN の標準溶液の波長 370m $\mu$  及び440m $\mu$  における吸光度を  $b$  及び  $b'$ , 試料溶液の波長370m $\mu$  及び440m $\mu$  における吸光度を  $c$  及び  $c'$  とする。

$$\left. \begin{aligned} ax + by &= c \\ a'x + b'y &= c' \end{aligned} \right\}$$

上式を解いて  $x$  を求め、 $x$  に  $a$  の単位量<sup>(1)</sup> を乗じて試料溶液 1 cc 当りの2,4-DN の量を算出し、これを  $A$ (mg) とする。次の式によつて2,4-DN, 又は2,4-DNA の百分率を算出する。

$$\text{2,4-DN}(\%) = \frac{A(\text{mg}) \times 500}{\text{試料}(\text{mg})} \times 100$$

$$\text{2,4-DNA}(\%) = \frac{A(\text{mg}) \times 1,150 \times 5,000}{\text{試料}(\text{mg})} - 100$$

注 (1) はかりとつた純粋の2,4-DNの重さ(mg)  $\times \frac{1}{500}$

### メチルジメトン乳剤\*

ジメチルエチルメルカプトエチルチオホスフェイト (メチルジメトン)……

メチルジメトン約0.2gを含む試料を三角フラスコ (容量300cc) に正確にはかりとり、四塩化炭素<sup>(1)</sup> 20cc を加えて試料を溶解する。これにメチルアルコール<sup>(2)</sup> 150cc, 硝酸 (比重1.2) 5cc 及び酢酸第二水銀酢酸溶液<sup>(3)</sup> 20cc を加え、空気冷却管をつけて 60°C の湯浴中で 1 時間加熱した後室温に冷却してから 2 時間以上放置する。生じた沈澱をガラス口過器 (1-G4) でこしとりフラスコに附着している沈澱は口液を用いて洗ひ込み、つぎにメチルアルコール酢酸混液<sup>(4)</sup> 200cc で洗い込む。沈澱は50°C で乾燥し重さをはかる。つぎの式によつてメチルジメトンの百分率を算出する。

$$\text{メチルジメトン}(\%) = \frac{\text{沈澱の重量(g)} \times 0.524}{\text{試料(g)}} \times 100$$

注 (1) 酢酸第二水銀酢酸溶液を加えてみて沈澱を生じないものを用いる。沈澱を生ずる四塩化炭素は濃硫酸で、つぎに希水酸化ナトリウム溶液で洗い、脱水蒸留して用いる。

(2) 酢酸第二水銀酢酸溶液を加えた時に沈澱を生じないものを用いる。

(3) 氷酢酸20ccを加えた蒸留水に酢酸第二水銀 40g を溶解して 1 l にし、乾燥口紙でこす。

(4) メチルアルコール 200cc に氷酢酸 20cc を溶解する。



## 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸エチル エステルを成分とする2,4-D除草剤\*

2,4-ジクロロフェノキシ酢酸エチルエステル (2,4-D エチル (エステル)……)

2,4-D エステル約0.9gを含む試料を三角フラスコ(容量300cc)に正確にはかりとり、メチルアルコール100ccを加え湯浴上で1時間還流させる。少量のメチルアルコールを用いて還流冷却器を洗い、三角フラスコの内容物をブフナーロ斗でこしわけ、残さをメチルアルコール15ccで4回洗う。ロ液及び洗液を合して2N硫酸で酸性とし、湯浴上でメチルアルコールを蒸発させる。残留物を水50ccで分液ロ斗に洗いこみ、つぎにエーテル50ccで完全に洗いこみ、激しくふりまぜて静置する。水層を分液ロ斗にうつしエーテル20ccで2回抽出する。エーテル層を合して1%炭酸ナトリウム溶液15ccで2回洗う<sup>(1)</sup>。エーテル層を三角フラスコ(容量300cc)にうつし、エーテルを蒸発させ、残留物に $\frac{N}{5}$ -メチルアルコール性水酸化カリウム溶液50ccを加え湯浴上で20分間還流する。メチルアルコールを蒸発させ、残留物を水50~100ccで分液ロ斗に洗いこみ、2N硫酸15cc及びエーテル50ccを加え激しくふりまぜて静置する。水層を分液ロ斗にうつし、エーテル20ccで2回抽出する。エーテル層を合し、水15ccで3回洗つた後<sup>(2)</sup>エーテルを蒸発させ、残留物をメチルアルコール50ccで溶解する。この液にフェノールレッド指示薬[0.1%エチルアルコール(容量20%溶液)]10~20滴を加え正確に $\frac{N}{10}$ の水酸化ナトリウム溶液で滴定する。つぎの式によつて2,4-Dエチルエステルの百分率を算出する。

$$2,4-Dエチルエステル (\%) = \frac{\frac{N}{10} \cdot \text{水酸化ナトリウム}}{\text{試料}(g)}$$

$$\frac{\text{溶液滴定値 (cc)} \times 0.02491}{\times 100}$$

- 注 (1) 洗液がアルカリ性となるまで洗う。  
(2) 洗液に硫酸根が認められなくなるまで洗う。

### DEP 乳剤および水溶剤\*\*

0,0-ジメチル-2,2,2-トリクロロ-1-ヒドロキシエチルホスホネート (DEP)……DEP 0.3~0.4g を含む試料を共栓三角フラスコ(容量200cc)に正確にはかりとり、メタノール40cc、フェノールフタレン指示薬3滴をくわえて完

全にとかし、三角フラスコを $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ の恒温水槽に入れ、10分間放置して内容量を $30^\circ\text{C}$ とする。つぎに $N/10$ 水酸化ナトリウム溶液<sup>(1)</sup>1ccをふりまぜながらくわえ、赤色が消えたならば更に1ccをふりまぜながらくわえる。アルカリ液をくわえたあと2分間放置しても赤色が消えなくなるまでこの操作を繰り返す。内容液が明瞭な赤色<sup>(2)</sup>となつたならば硝酸(1+3)5ccをくわえて反応を止め、恒温水槽からとりだし、水50ccをくわえたのち $N/10$ 硝酸銀溶液を正確に20ccくわえ、さらにニトロベンゼン約5ccおよび硫酸第二鉄アンモニウム溶液(10%)約3ccを加え、充分ふりまぜてから $N/10$ チオシアン酸アンモニウム溶液で逆滴定し、溶液が淡かつ色を呈したときを終点とし、これに要した $N/10$ チオシアン酸アンモニウム溶液の量をA ccとする。

空試験<sup>(3)</sup>として別に分析に用いたと同じ量の試料を共栓三角フラスコ(容量200cc)にとり、メタノール40cc、フェノールフタレン指示薬3滴、硝酸(1+3)7ccをくわえ、さらにふりまぜながら $N/10$ 水酸化ナトリウム溶液を徐々にくわえる。つぎに水50ccをくわえ、 $N/10$ 硝酸銀溶液20cc、ニトロベンゼン約5ccおよび硫酸第二鉄アンモニウム溶液(10%)約3ccを加え、 $N/10$ チオシアン酸アンモニウム溶液で逆滴定し、これに要した $N/10$ チオシアン酸アンモニウム溶液の量をB ccとする。つぎの式によりDEPの百分率を算出する。

$$DEP(\%) = \frac{(B-A) \times 0.02575 \times 1.03}{\text{試料}(g)} = 100$$

- 注 (1) 50%メタノールで調製し、係数を1.0とする。  
(2) アルカリによる分解の終点は赤色の明瞭な点とする。淡い赤色点で分解を停止すると分解が充分でないことがある。  
(3) 乳剤の空試験を行う際には、終点近くまで特にフラスコを充分ふりまぜて滴定を行う。

### DEP 水 和 剤\*\*

DEP……DEP 0.3~0.4g を含む試料を共栓三角フラスコ(容量200cc)に正確にとり、メタノール40cc、フェノールフタレン指示薬3滴をくわえてから、ときどきふりまぜながら30分間放置し、三角フラスコを $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ の恒温水槽中に入れ、以下DEP乳剤に準じて操作する。

### 物理性検定法\*\*

#### 1. 粉 末 度

水によつて膨潤するものおよび水溶性のものは乾式

\* 昭和35年2月3日 農林省告示 第71号

法により、それ以外のものは湿式法によつて行う。

(a) 湿式法 試料50 gを200 ccのピーカーにとり、界面活性剤1%を含む水60~80 ccをくわえ、ガラス棒を用いてよくねりませて分散させ、試料をフルイ網<sup>(1)</sup>上に移す。水100 ccを残りの試料に注ぎくわえ、同様にフルイ網上に移し、この操作を繰返してピーカー内の試料全部をフルイ網上に移す。つぎにゴム管から水を少量ずつゆるやかに試料に注ぎかけ<sup>(2)</sup>ながらフルイを水平に振り動かして試料を通過させる。流出した水の中に試料がほとんど認められなくなつてから、フルイ網上に残つた試料を網の隅に寄せ集め、注水をとめる。少量の水を洗ひんでふきつけて残留する試料を蒸発皿に洗い移し、しばらく静置して上澄液を傾斜してすて、湯浴上で乾燥し、残留物を秤量し、試料の通過量の百分率を算出する。

注 (1) フルイわくの径20 cm、深さ4.5 cmの標準フルイを用いる。

(2) ゴム管は内径約1 cm、流量は毎分4~5 lを標準とする。

(b) 乾式法 試料20 gをフルイ<sup>(1)</sup>に入れ、片手で毎分約150回の速さでフルイわくをたたき、25回たたき毎にフルイを約90度回転させる<sup>(2)</sup>。この際凝集したものはハケ<sup>(3)</sup>を用いて軽くつぶす。このようにして1分間のフルイ通過量が0.1 g以下になつたとき、フルイ網上に残つた試料を取出して秤量し、試料の通過量の百分率を算出する。

注 (1) フルイは湿式法と同じものを用いる。

(2) 100メツシュ以上の細かい粉末度の場合、フルイわくをたたきことなく、ハケを用いて網上の試料を軽くなでる。

(3) ハケは穂の長さ2 cm、はば3 cmの毛のしなやかな平ばけを用いる。

## 2. 見掛け比重

内径5 cmの100 ccの金属製円筒容器の上に80メツシュの標準フルイを置き<sup>(1)</sup>、これに試料を入れ、ハケ<sup>(2)</sup>で軽くはき落して容器を満たす。すぐにスライドグラスを用いて余剰分をすり落して秤量し、内容物の重量(A g)を求め、つぎの式によつて見掛け比重を算出する。

$$\text{見掛け比重} = \frac{A}{100}$$

注 (1) フルイ網と容器の上縁との距離を20 cmとする。

(2) ハケは粉末度測定の場合と同じものを用いる。

## 3. 懸垂性

試料(有効成分A g)をピーカーにはかりとり<sup>(1)</sup>、20°Cの水<sup>(2)</sup>50 ccをくわえてよくねりませて充分分散させ、250 ccの有栓メスシリンダーに移し、上記と同じ20°Cの水をくわえて250 ccとし、15分間静置したのち、1分間に30回はげしく倒立してふりませ、5分間静置する。つぎに25 ccのホールピペットを液中に入れ、その先端を液の中央に保ち、検液<sup>(3)</sup>25 ccを静かに吸いとり、有効成分の含量を測定する(B g) つぎの式により懸垂率を算出する。

$$\text{懸垂率}(\%) = \frac{B \times 10}{A} \times 100$$

注 (1) 試料: その製剤の最高使用濃度になるようにはかりとる。

(2) 水: 硬変3度のものを用いる。

硬変3度の水の調製法 炭酸カルシウム0.3077 g、酸化マグネシウム0.0921 gを少量の希塩酸に溶かしたのち、砂浴上で蒸発乾固して塩酸を除去し、水で1 lに希釈する。この水は硬変30度であるから、使用に際して10倍に希釈する。

(3) 検液: 必要の場合は25 cc採つた残液を供試し、つぎの式により懸垂率を算出する。

$$\text{懸垂率}(\%) = \frac{(A - B') \times 10}{A} \times 100$$

## 4. 水和性

500 ccのピーカーに20°Cの水<sup>(1)</sup>200 ccを入れ、これに試料<sup>(2)</sup>5 gを水面上約10 cmの位置よりうすく拡がるように静かに落す。試料を落し終つてから水面下に没するまでの時間を測定する。

これをガラス棒でかきまぜて懸濁の均一性を観察する。

注 (1) 水: 懸垂性の測定と同じものを用いる。

(2) 試料: 予め40メツシュの標準フルイを通過させておく。

## 5. 水素イオン濃度

蒸留水を硬質三角フラスコにとり、10分間煮沸し、炭酸ガスをさえぎつて約20°Cに冷却する。この蒸留水80 ccを100 ccの共栓フラスコにとり、速かに試料20 gを加え、密栓して1分間ふりませたのち5分間静置する。口過することなく電極を入れ、水素イオン濃度を測定する。

## 6. 乳剤の安定性

試料を-5°Cの恒温器中に72時間静置したのち、液の分離、沈澱の生成などの有無を観察する。

## 7. 乳剤の乳化性

試料を20°Cの水<sup>(1)</sup>を用いてその製剤の使用濃度に  
うすめ、この液100 ccを250 ccの有栓メスシリンダー  
に移し、1分間に30回はげしく倒立してふりませ、20  
°Cの恒温器中に2時間静置したのち、乳濁液の均一性、  
油状物または凝固物の分離などの有無を観察する。

ただし冬期用のマシン油乳剤の場合は10°Cで行う。

注(1) 水：懸垂性の測定と同じものを用いる。

### 銅水銀粉剤および水和剤の水銀\*\*\*

水銀……試料1 gをすり合わせの空気冷却管(内径6  
mm,長さ80 cm)のついた三角フラスコ(内容200 cc)  
に正確にはかりとり、濃塩酸10 ccを加え、ただちに空  
気冷却管を連結し、フラスコを回転して試料を塩酸とよ  
く接触させ、炭酸ガスの発生による泡立ちが少なくなる  
まで約5分間弱く加熱する。

つぎに40~60°Cまで冷却したのち、ときどきフラス  
コを回転しながら空気冷却管を通じて過酸化水素水(30  
%)5 ccをピペットを用いて徐々に滴下する。活発な反  
応が終わつたのち、20分間弱く加熱する。

冷却したのち、空気冷却管内およびすり合わせ部分を  
水で洗つて試料溶液に合わせる。つぎに試料溶液が淡紅  
色になるまで過マンガン酸カリウム溶液(5%)を滴下  
して約30分間室温に放置する。これに過マンガン酸カ  
リウムの色が消えるまでヒドロキシルアミン塩酸塩溶液  
(20%)を滴下したのち、250ccのメスフラスコに口過す  
る。口紙上の残留物を60~70°Cの温水で充分洗浄し、  
常温に冷却したのち水を加えて定容とする。

分液漏斗(容量100 cc)を2個用意し、第1の分液漏  
斗に試料溶液より約100γのHg<sup>2+</sup>を含む量をホールピ  
ペットでとり水で全量を約20ccにする。第2の分液漏  
斗に水銀標準溶液<sup>(1)</sup>をホールピペット5 ccでおよびエ  
チレンジアミン四酢酸二ナトリウム塩(EDTA-2Na)溶  
液(0.5%)2 ccをとり、水で全量を約20 ccにする。  
まず第1の分液漏斗にジチゾン滴定液<sup>(2)</sup>を滴下してふり  
ませ水銀錯塩の橙色に銅錯塩の紫色が混入して赤橙色に  
なるまでこの操作をくりかえす。この金属の抽出された  
四塩化炭素層を第2の分液漏斗に移してふりませれば混  
入してきた少量の銅はEDTA塩となり、四塩化炭素層  
は水銀錯塩のみの橙色にもどる。これを分液後、ジチゾ  
ン滴定液で力価の標定<sup>(3)</sup>のときと同様に滴定する。これ  
に要したジチゾン滴定液の量(cc)から添加した水銀標  
準溶液に相当する量(cc)を差し引き水銀の百分率を算

出する。

#### 注(1) 水銀標準溶液

特級塩化第二水銀0.6767 gを正確にはかりと  
り、100~200ccの水で500 ccのメスフラスコ  
に移す。これに濃塩酸5 ccを加えて溶解し、水で  
定容とする。この液1 ccはHg<sup>2+</sup>1 mgを含む。  
ジチゾン滴定液の力価の標定に際してこれを水  
で100倍に希釈して水銀標準溶液(Hg<sup>2+</sup>10 γ/cc)  
とする。

#### (2) ジチゾン滴定液

ジチゾン100 mgを精製した四塩化炭素200 cc  
に溶解し、分液漏斗(容量500cc)に口過する。  
これにアンモニア水(1+200)200 ccを加えて  
ふりませ、四塩化炭素層を捨て、さらに四塩化  
炭素で1回洗浄する。アンモニア層に1 N塩酸  
50ccおよび四塩化炭素200 ccを加えてふりませ  
水層を捨て、四塩化炭素層を水で2回洗浄し、  
かつ色ビンに移して冷所に保存する。使用に際  
して四塩化炭素で10倍に希釈し、25ccのかっ色  
自動ピレット(最小目盛0.05cc)付かっ色試  
薬ビンに移す。これを水銀標準溶液でつぎのよ  
うにして力価を標定する。

#### (3) ジチゾン滴定液の力価の標定

分液漏斗(容量100cc)に水銀標準溶液10 cc  
をとり、これに1 N塩酸2 ccおよびEDTA-  
2Na溶液(0.5%)2 ccを加え、水で全量を約  
20 ccにする。これにジチゾン滴定液を加え、30  
秒間はげしくふりませ水銀を抽出する。

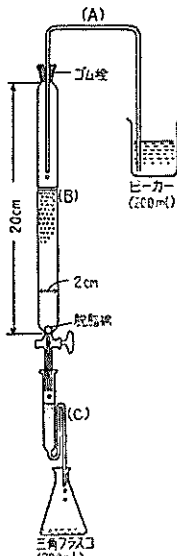
抽出操作はあらかじめ予備滴定を行なって大  
体の滴定量をきめておき、本滴定では最初予想  
量の約半量のジチゾン滴定液で抽出し、つぎに  
終点の約0.5 cc前までの量を加えて抽出する。  
これからさきはジチゾン滴定液を0.1ccずつ加  
え、これに四塩化炭素1~2 ccを加えてふりま  
せ、最後に四塩化炭素1~2 cc層にジチゾンの  
緑色が現われたときを終点とする。全滴定量  
(cc)から0.05 ccを減じて、滴定量(cc)とし、  
これよりジチゾン滴定液の力価を算出する。な  
お、ジチゾン滴定液は1 ccがHg<sup>2+</sup>10 γに相当  
する濃度が適当である。

銅……昭和25年1月27日付農林省告示第15号の銅剤の  
検査方法に準ずる。

\*\*\* 昭和35年13月9日 農林省告示 第1253号

### DBCP 油剤および乳剤\*\*\*\*

DBCP 1g を含む試料をガラスすり合わせ (No. 2/40) の球入り冷却器のついた三角フラスコ (容量 200 cc) に正確にはかりとり、イソプロピルアルコール 20 cc および金属ナトリウムの細片 3g を加え、冷却器をつけて弱火上で静かに 2 時間煮沸する。反応終了後、イソプロピル



第1図 装置

アルコール・水混液 (1+1) を少量滴加し、金属ナトリウムが完全に消費されたのち、水約 50 cc で冷却器内およびガラスすり合わせ部分をよく洗浄し洗液を三角フラスコにあわせる。これに硝酸 (1+1) をフェノールフタレンの赤色が消失するまで滴下して正確に中和する。これを室温に冷却したのち、メスフラスコ (容量 250 cc) に移し、水を加えて定容にし<sup>(1)</sup>、供試液とする。

クロマトグラフ用ガラス円筒 (内径 2 cm) 長さ 20 cm, コック付) に強塩基型陰イオン交換樹脂 Dowex 1-X8 (100~200メッシュ、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>型) を長さ約 10 cm につめたものを用意する<sup>(2)</sup> (図参照)

上記供試液 5 cc をホールピペットを用いてとり、イオン交換樹脂層の上部に注入し、最初ビーカー (容量 200 cc) にとった N/2 硝酸ナトリウム溶液 90 cc<sup>(3)</sup> をマイクロサイフォン (A) を用いて連続的に滴下して塩素イオンを溶出させ<sup>(4)</sup>、これを三角フラスコ (容量 200 cc) にうける。つぎに同じ操作で 2.0N 硝酸ナトリウム溶液 100 cc を通して臭素イオンを溶出させ、これを別の三角フラスコ (容量 200 cc) にうける。

この臭素イオンを含む三角フラスコに、硝酸 (1+1) 3 cc を加え、これに N/20 硝酸銀溶液<sup>(5)</sup> 10 cc を正確に加えてふりませる。つぎに硫酸第二鉄アンモニウム溶液 (8%) 3 cc およびニトロベンゼン 4 cc を順次加えてよくふりませたのち、N/20 チオシアン酸アンモニウム溶液で逆滴定し、淡かっ色を呈したときを終点とする。これに要した N/20 チオシアン酸アンモニウム溶液の量を A cc とする。別に同様の方法で空試験を行ない、これに要した N/20 チオシアン酸アンモニウム溶液の量を B cc とする。つぎの式によって DBCP の百分率を算出す

る。

$$\text{DBCP}(\%) = \frac{(B-A) \times 0.005909 \times 50}{\text{試料}(g)} \times 100$$

注 (1) 試料が油剤の場合は水層のメニスカスをメスフラスコの標線に合わせる。はげしくふりませ再び水層と油層を分離させたのち、油層を取り除く。

(2) Dowex 1-X8 をビーカー (容量 100 cc) にとり水を加えて 1 夜放置する。水面に浮遊する微粒があるときは傾瀉によってこれを捨て、水でよく洗浄する。クロマトグラフ用ガラス円筒のコックの上部にごく少量の脱脂綿 (1 時間沸騰水中につけて空気を抜いたもの) をつめ、これにイオン交換樹脂を水とともに流し込んでつめる。Dowex 1-X8 は Cl<sup>-</sup> 型で市販されているので、これを NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 型にかえるため、N/2 硝酸ナトリウム溶液約 200 cc を通す。交換の終点は硝酸銀によって調べる。これを水 100 cc で洗浄する。

(3) 乳剤の場合は乳化剤のため溶出曲線が若干前にずれるので塩素イオンの溶出に用いる N/2 硝酸ナトリウム溶液は 80 cc にする。

(4) 溶出中はイオン交換樹脂の上面の液量が常に 0.3~0.5 cc の深さを保つようにする。溶出速度は毎分 3 cc 程度がよい。

(5) N/20 硝酸銀溶液の標定はつぎのようにする。

N/20 塩化ナトリウム溶液 10 cc を三角フラスコ (容量 200 cc) に正確にとり、水 10 cc, 0.2% ウラニン (フルオレッセインナトリウム) 溶液 3 滴, 2% デキストリン溶液 5 cc を加え、本溶液で滴定する。

### EDB 油剤および乳剤\*\*\*\*

[1.2-ジブロムエタン (EDB)]

EDB 約 1g を含む試料をガラスすり合わせ (No. 2/40) の球入り冷却器のついた三角フラスコ (容量 200 cc) に正確にはかりとり、モノエタノールアミン 5 cc を加え、直ちに冷却管をつけ、冷却管の上部に綿栓を施し、70~80° の湯浴中でときどきふりませながら 1 時間加熱する。つぎに冷却管の上部からモノエタノールアミン溶液 (5%) 10 cc および水 50 cc で順次冷却管内を洗浄し、

さらにすり合わせの部分少量の水で洗浄して洗液を三角フラスコにあわせる。これにフェノールフタレイン指示薬 2 滴を加え、硝酸 (1+1) を滴下して正確に中和する。これを室温に冷却したのち、200 cc のメスフラスコに洗い移し、水を加え定容にし、供試液とする<sup>(1)</sup>。

供試液 20 cc をホールピペットを用いて三角フラスコ (容量 200 cc) にとり、硝酸 (1+1) 5 cc、水約 80 cc、N/10 硝酸銀溶液 15 cc、硫酸第二鉄アンモニウム溶液 (10%) 3 cc およびニトロベンゼンを順次加え、N/10 チオシアン酸アンモニウム溶液で逆滴定し、淡かっ色を呈したときを終点とする。これに要した N/10 チオシアン酸アンモニウム溶液の量を A (cc) とする。

別に空試験として三角フラスコ (容量 200 cc) にモノエタノールアミン 5 cc、水約 50 cc およびフェノールフタレイン指示薬 2 滴を順次加え、硝酸 (1+1) を滴下して中和する。これに EDB 約 1 g を含む試料を加え、ふりまぜてよく混合したのち、200 cc のメスフラスコに移し、水で定容とする。これから 20 cc を三角フラスコ (容量 200 cc) にとり、以下、供試液の場合と同様に操作を行ない、逆滴定に要した N/10 チオシアン酸アンモニウム溶液の量を B (cc) とする。

つぎの式によって EDB の百分率を算出する。

$$\text{EDB}(\%) = \frac{(B-A) \times 0.009394 \times 10}{\text{試料}(g)} \times 100$$

注 (1) 試料が油剤の場合は水層のメニスカスをフラスコの標線に合わせる。はげしくふりまぜ、再び水層と油層を分離させたのち、油層を駒込ピペットで取り除く。

備考 試料中に有機塩素化合物を含む場合は DBCP 剤の検査法に準じてつぎのように行なう。

クロマトグラフ用ガラス円筒 (内径 2 cm、長さ 20 cm、コック付) に強塩基性陰イオン交換樹脂 Dowex 1-X8 (100-200 メッシュ、NO<sub>3</sub>-型) を長さ約 10 cm につめたものを用意する。

供試液 5 cc をとり、イオン交換樹脂層の上部に注入する。ピーカー (容量 300 cc) に溶離液として N/2 硝酸ナトリウム溶液 210 ccc をとり、溶離液を誘導するマイクロサイフォンを用いて連続的に滴下して溶出液を最初 100 cc のメスシリンダーにうける。つぎに溶出液の容量が 90 cc になったとき、受器を三角フラスコ (容量 300 cc) にとりかえ、溶離液が全部出終わったのち、さらに水約 20 cc

を通す。メスシリンダー中には塩素イオンが、三角フラスコ中には臭素イオンが溶出する。

この臭素イオンを含む三角フラスコ (容量 300 cc) に硝酸 (1+1) 3 cc を加え、これに N/20 硝酸銀溶液 10 cc を正確に加えてふりまぜる。つぎにニトロベンゼン 4 cc および硫酸第二鉄アンモニウム溶液 (10%) 3 cc を順次加えてよくふりまぜたのち、N/20 チオシアン酸アンモニウム溶液で逆滴定し、これに要した N/20 チオシアン酸アンモニウム溶液の量を A (cc) とする。

別に空試験をつぎの方法で実施する。三角フラスコ (容量 200 cc) にモノエタノールアミン 5 cc および水約 10 cc をとり、フェノールフタレイン指示薬 2 滴を加え、硝酸 (1+1) を滴下して中和する。これに EDB 約 1 g を含む試料を加え、ふりまぜてよく混合したのち、200 cc のメスフラスコに移し、水で定容とする。これから 5 cc をとり、供試液の分析の場合と同一条件で調製したイオン交換樹脂層の上部に注入する。以下供試液の分析の場合と同様の操作を行ない、逆滴定に要した N/20 チオシアン酸アンモニウム溶液の量を B (cc) とする。つぎの式によって EDB の百分率を算出する。

$$\text{EDB}(\%) = \frac{(B-A) \times 0.004697 \times 40}{\text{試料}(g)} \times 100$$

#### D-D 剤\*\*\*\*

1,3-ジクロロプロペン (シスおよびトランス)……つぎに記す操作条件によってガスクロマトグラフィーを行ない、各ピーク面積を半値幅法 (ピークの高さ×半値中) によって測定し、面積比で重量百分率を算出する。

カラム：内径 4 mm、長さ 3 m。銅またはステンレス製  
カラム充填剤：30 重量% ポリエチレングリコール 6000-耐火煉瓦 C-22 (作り方) 耐火煉瓦 C-22 (35-42 メッシュ) にクロロホルムに溶かしたポリエチレングリコール 6000 30 g を加え混合したのち、湯浴につけてクロロホルムを蒸発する。再びクロロホルムを加え混合したのち、蒸発する操作を 2 回くりかえす。

カラム温度：100°C

キャリアーガス：ヘリウム

流速：70 cc/分

検出器：熱伝導型

検出器のフィラメント電流：180 mA

記録計の感度：8 mV 1, 3-ジクロロプロペン (トランス) 以後の高沸点側は 2 mV に切換える

記録紙送り速度：1 cm/分

試料量：0.005 cc

# 作物体中の農薬の残留量

柏 司・後藤真康・佐藤六郎

作物体中に残留する農薬を定量することは、農薬の作用機構、使用方法の研究のために必須なことであるが、特に有機燐剤、ヒ素剤など毒性の強い農薬については、人体や家畜に対する中毒を防ぐという衛生上の立場からも残留量の定量が重要な問題となつている。諸外国では古くからこの方面の研究が行われ、多くの報告がなされているがわが国でも近年この方面の研究が次第に多くなつてきた。当所においても作物体中の農薬の定量およびそれに必要な農薬の微量分析法の研究を以前から重点的に行つており、すでにその結果の一部を報告したが<sup>1)2)</sup>、本報ではさらに、食用作物中のヒ素剤、有機燐剤の定量を行った結果を報告する。

## I 果実・野菜におけるヒ素剤の残留量について

### 1. 1 ブドウのヒ素残留量

昭和35年山梨県農業試験場果樹分場においてデラウェア種および甲州種ブドウを対象としてモンゼット水和剤とアソジン水和剤の散布を行い、果実およびそれを醸したブドウ酒を A.O.A.C. 法(Gutzeit)<sup>3)</sup>にしたがって分析した。

#### 散布回数とヒ素残留量

対象作物：デラウェア種ブドウ

散布薬剤：モンゼット水和剤 2,000倍液

アソジン水和剤 1,000倍液

ボルドウ液 6-6式

散布日、回数：第1表の通り

第1表 散布日、回数および薬剤

Table 1. Date, spray frequency and chemicals.

Coding	Date of spray						Spray frequency		
	25/ VI	5/ VII	15/ VII	25/ VII	5/ VIII	15/ VIII	T-U. Z.	Asoz. ine*	Bordeaux mixture
A	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	×	×	×	×	○	○	2	—	4
C	○	×	○	×	○	×	3	—	3
D	×	×	○	○	○	○	4	—	2
E	○	○	○	○	○	○	6	—	2
F	△	△	△	△	△	△	—	6	—

○…T.U.Z. △…Asozine ×…Bordeaux mixture

\*…Active ingredient is methylarsine sulfide.

## 結果と考察：

第2表 散布回数と有機ヒ素残留量

Table 2. Spray frequency and arsenic residue from grapes (Delaware var.) sprayed with organo arsenic pesticides (TUZ and Asozine)

Coding	Spray frequency	Chemicals	Residue on and in grapes As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ppm		
			Peel	Flesh	Fruit
A	0	none	0.24 0.13	0.06 0.09	0.10 0.10
B	2	TUZ	0.90 0.49	0.10 0.22	0.27 0.28
C	3	TUZ	0.70 0.61	0.26 0.20	0.38 0.31
D	4	TUZ	1.29 0.87	0.24 0.23	0.49 0.40
E	6	TUZ	1.34 1.15	0.36 0.36	0.56 0.57
F	6	Asozine	1.05 1.58	0.29 0.26	0.51 0.61

デラウェア種ブドウ果実は無散布のものでも0.1 ppm程度のヒ素が検出され、モンゼット水和剤2,000倍液およびアソジン水和剤1,000倍液を散布すると1回散布するたびに0.1 ppm程度ヒ素残留量の増加が認められた。果皮と果肉とに分けて分析を行ったが、その結果大体果皮のヒ素量が高いこと、散布回数を増すにつれて果皮果肉ともにヒ素量が増すが、その増加率は果皮の方が著しく高いなどのことが判った。これは散布するたびに果皮に付着するヒ素はいくらか果肉へ移行するが、その移行速度はあまり大きくないためと思われる。

なおヒ素残留量を考えるための参考としてFDA<sup>4)</sup>のヒ酸鉛制限量をあげると、ブドウ、梨、リンゴおよびセロリーのいづれも7ppmとなっている。

#### 散布してから収穫するまでの日数とヒ素残留量

対象作物：甲州種ブドウ

散布薬剤：モンゼット水和剤 2,000倍液

散布から収穫までの期間：0, 5, 10, 15, 20日

#### 結果と考察：

甲州種ブドウにモンゼット水和剤2,000倍液を散布し、0~20日後に収穫した果実は、無散布のものはデラウェア種と同様0.1 ppmが検出され、処理したものはいづ

第3表 経過日数と有機ヒ素残留量

Table 3. Arsenic residue on and in grapes (Koshyu var.) sprayed with TUZ.

Interval after spray, days	Residue on and in grapes As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ppm		
	Peel	Flesh	Fruit
0	0.23	0.14	0.17
	0.20	0.15	0.17
5	0.20	0.15	0.17
	0.21	0.14	0.17
10	0.27	0.13	0.18
	0.23	0.11	0.15
15	0.22	0.12	0.16
	0.19	0.10	0.14
20	0.21	0.14	0.17
	0.17	0.12	0.14
control	0.16	0.04	0.08
	0.18	0.04	0.09

れも 0.17 ppm 程度で経日 (20日) によるヒ素残留量の減少は認められなかった。

## ブドウ酒中のヒ素残留量

対象作物：モンゼット水和剤 2,000 倍液を散布した甲州種ブドウから醸したブドウ酒。

## 結果と考察：

ブドウ酒のヒ素濃度は 0.2 ppm 程度で無処理のブドウ果実のヒ素濃度にはほぼ等しい。酒澱から検出されるヒ素量は 3 年後大きく増加したが、これをブドウ酒中のヒ素減少濃度として計算すると 0.02 ppm となる、すなわち 3 年で約 1/10 が沈澱に吸着されて減少する。

## 第4表 モンゼットを散布したブドウより醸したブドウ酒中のヒ素残留量

Table 4. Arsenic residue in wine made of TUZ sprayed grapes (Koshyu var.)

Sample	Arsenic residue in wine As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ppm	
	1st year	3rd year
Wine	0.15	0.22
	0.18	0.18
Precipitate from wine	0.47	17.4
	0.46	14.8

## 1・2 梨のヒ素残留量

対象作物：40年生梨 8 樹

散布薬剤：モンゼット水和剤 2,000 倍液

散布場所：東海近畿農業試験場園芸部

散布日：昭和35年5月4, 12, 23, 31日, 6月7, 14, 21日

散布液量：8 樹当り 50 l

収穫日：8月16日

分析法：A.O.A.C. 法 (Gutzeit)

## 結果と考察：

モンゼット水和剤を散布した梨の果実のヒ素残留量は 0.3~0.5 ppm 程度であり、無処理の 0.1~0.2 ppm と大差はない。

## 第5表 モンゼットを散布した梨のヒ素残留量

Table 5. Arsenic residue from TUZ sprayed pears.

Sample	Arsenic residue As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ppm		
	Peel	Flesh	Fruit
Treated	0.81	0.40	0.46
	0.73	0.22	0.29
	0.78	0.24	0.33
Control	0.73	0.07	0.17
	0.37	0.07	0.12
	1.08	0.09	0.19

## 1・3 リンゴのヒ素残留量

対象作物：祝種りんご

散布場所：東北農業試験場

散布薬剤：ヒ酸鉛 300 倍液 (石灰を散布液 1 l 当り 12 g 混用し、散布方法と量は慣行通り)

散布日：昭和36年8月14日 (当日区), 8月7日 (1週間前区), 7月31日 (2週間前区), 7月18日 (4週間前区)

収穫日：8月14日

分析法：A.O.A.C. 法 (Gutzeit)

## 結果と考察：

FDA による果実に対するヒ酸鉛制限量 7 ppm より果肉のヒ素量は小さく、とくに散布後 4 週間経過したものは激減していた。果皮上のヒ素残留量が極めて高いことから、ヒ酸鉛散布によるヒ素残留の大部分は果皮にと

## 第6表 ヒ酸鉛を散布したリンゴのヒ素残留量

Table 6. Arsenic residue from lead arsenate sprayed apples (Iwai var.).

Interval after spray, weeks	Residue on and in apples As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ppm		
	Peel	Flesh	Fruit
0	32.1	1.0	4.3
1	29.4	2.2	5.1
2	26.9	1.4	4.1
4	10.9	0.2	1.3
Control	2.3	0.3	0.5

どまり、果肉へは移行しにくいものと考えられる。

1・4 そ菜中のヒ素残留量

対象作物：レタス・コマツナ  
 散布場所：恵泉短期大学  
 散布薬剤：ヒ酸鉛260倍液（カゼイン石灰混用）  
 分析法：A.O.A.C. 法 (Gutzeit)  
 散布日：10月15日  
 収穫日と平均株重：

第7表 収穫日と平均株重

Table 7. Date of harvest and weights of lettuce and Komatsuna (*Brassica rapa* L.).

Date of harvest	15/		22/		29/		5/		12/	
	X	XI	X	XI	X	XI	XI	XI	XI	XI
Interval after spray, weeks	0	1	2	3	4					
Weight of lettuce, g/plant	554	583	836	762	1251					
Weight of Komatsuna, g/plant	8.7	14	22	27	78					

結果と考察：

レタスコマツナいずれも FDA ヒ酸鉛のセロリー-制限 量 7 ppm の5~10倍付着し、その間相当の降雨量があったにもかかわらず3週間後はじめて制限以下になった。ただしこの間にレタス、コマツナの平均株重は1.5~3倍に増加しているのに茶減少速変はもっと小さいと考えられる。いずれにせよヒ酸鉛の残留期間は相当長いと考えられるので、葉菜類に施用する場合は少くとも収穫の4週間以前に行う必要がある。

第8表 ヒ酸鉛を散布したレタス、コマツナのヒ素残留量

Table 8. Arsenic residue from lead arsenate sprayed Lettuce and Komatsuna (*Brassica rapa* L.).

Interval application, weeks	Arsenic residue As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ppm	
	Lettuce	Komatsuna
	0	38.0 30.0
1	29.0 35.0	42.0 40.0
2	12.4 12.4	15.2 15.2
3	3.4 3.4	1.8 2.3
4	3.0 2.8	0.7 0.7
Control	0.0 0.0	0.0 0.0

II そ菜中の EPN およびパラチオンの残留量

対象作物：レタス、コマツナ  
 対象作物の状態：散布日にレタスはほぼ収穫適期にあり、コマツナは散布後2週間で収穫適期となった。散布日より3週間で、レタスは約1.5倍、コマツナは約3倍（重量）に成長した。

散布薬剤：EPN 乳剤1000倍液、パラチオン乳剤1000倍液

散布場所：小平市恵泉学園農場

散布時期：1962年10月15日

散布後の天候：散布当日の夜小雨、4日目の夜若干の降雨、9日~21日に相当の降雨があった。

分析法：散布後一定期間を置いて試料を採取し、冷暗所に1夜放置したのち細切し、レタスは1区 200g、コマツナは150gを共栓三角フラスコにとり、倍量のn-ヘキサンを加え、ときどきふりまぜながら4時間放置し、n-ヘキサンの上澄液の適量をとって Buckley 法<sup>5)</sup>を改良した PNP 法<sup>6)</sup>で定置した。

結果と考察：

分析結果を第9表に示す。レタス、コマツナいずれも散布後1週間は非常に多量の薬剤が付着している。アメリカにおけるレタス上の EPN の制限量は3ppm、パラチオンの制限量は1ppmであるから、8日後においても

第9表 そ菜中の EPN とパラチオンの残留量

Table 9. Residues of EPN and parathion on and in vegetables. (ppm)

Interval, *days	Lettuce		Komatsuna ( <i>Brassica rapa</i> L.)	
	EPN	parathion	EPN	parathion
0	26.2	17.5	33.2	54.5
	17.9	14.9	33.0	48.6
1	13.0	8.4	19.2	17.7
	11.7	8.5	21.0	17.4
2	11.6	8.6	11.7	12.0
	11.1	8.3	12.2	13.6
4	4.0	9.8	8.2	6.6
	9.3	2.7	8.4	7.3
8	2.8	2.1	1.8	2.0
	2.5	2.6	2.5	2.3
21	0.52	0.34	0.18	0.10
	0.35	0.35	0.15	0.10
Control**	0.30	0.27	0.83	0.75

\* Since application

\*\* Collected at the application day



なお、EPN は 恕 限 量 と 同 じ 位、パ ラ チ オ ン は 恕 限 量 の 3 倍 近 い 薬 剤 が 残 留 し て い る。21 日 た つ と、コ マ ツ ナ 上 の 残 留 量 は コ ン ト ロ ー ル 以 下 と な る が、レ タ ス 上 に は、相 当 の 降 雨 が あ っ た に も か か わ ら ず、な お 薬 剤 が 残 留 し て い る。(コ マ ツ ナ の 21 日 後 の 分 析 値 が コ ン ト ロ ー ル 以 下 に な っ た の は、作 物 が 成 長 し た た め に 作 物 中 の プ ラ ン ク が う す ま っ た た め と 考 え ら れ る。) い ず れ に し て も、こ の よ う な 葉 菜 類 に 毒 性 の 強 い 農 薬 を 使 用 す る に は 十 分 の 注 意 が 必 須 で 散 布 と 収 穫 の 間 に 相 当 の 日 数 を お く 必 須 が あ る。

本 実 験 に 御 助 力 を 賜 っ た 山 梨 県 農 事 試 験 場 果 樹 分 場、東 海 近 畿 農 業 試 験 場 園 芸 部、恵 泉 短 期 大 学 園 芸 部 に 謝 意 を 表 す る。

#### 文 献

- 1) 後藤真康, 牟田一郎, 佐藤六郎, 農薬検査所報告, 4 5 (1953)
- 2) 後藤真康, 牟田一郎, 佐藤六郎, 防虫科学 24 30 (1959)
- 3) Methods of analysis A. O. A. C. 9 th Ed. 305 (1960)
- 4) Official food and drug administration tolerances for residues of pesticide chemicals, 1957
- 5) BUCKLEY, R., COLTHURST, J. P., Analyst, 79 285 (1954)
- 6) 佐藤六郎, 後藤真康, 化学の領域 増刊47号 124 (1961)

### Summary

#### Pesticides Residues on Food Crops

By Tsukasa KASHIWA, Shinko GOTO and Rokuro SATO

Grape trees were treated with organoarsenic fungicides, and the spray residues of arsenic were determined by the A. O. A. C. method (Gutzeit) for the grapes and the wine made of them.

Although slight amount (0.1 ppm) of arsenic was found in the non-treated grapes, every one application of the fungicide made about 0.1 ppm of arsenic deposit on the grapes (Delaware var.). Most of the treated arsenic found to accumulate on the peel, and showed no appreciable speed of penetration into the flesh. Four weeks after the application, however, the arsenic residue found to be far below the FDA tolerance (7 ppm) on and in the fruits.

The inconsiderable amounts of arsenic were detected in the wine itself and in its precipitates.

Similarly spray residues of organoarsenic fungicide on pears were determined, but inconsiderable amount of arsenic was detectable on peels of the pears.

Apple trees, lettuce and Komatsuna (*Brassica rapa*

L.) were treated with lead arsenate, and the spray residues of arsenic were determined by the A. O. A. C. method.

Although most of the arsenic was detected on the fruit surface of the apples, amount of residue were appreciably small comparing with the FDA tolerance (7 ppm).

Thick deposits on the lettuce and Komatsuna (5-10 times greater than FDA tolerance), decreased gradually contrarily with rapid growth of plants, and dropped below the FDA tolerance after 3 weeks.

Lettuce and Komatsuna were treated with EPN and parathion emulsion, and the spray residues of insecticides were determined by the colorimetry based on Buckley's method.

Residues of the organophosphorous esters on the vegetables were equal or 3-fold higher than FDA tolerance (EPN=3, parathion=1) after a interval of 8 days.

## SS 散布によるパラチオン粒子の飛散

後藤真康・佐藤六郎

最近、スピードスプレーヤー (SS) による農薬の散布が各地で行われるようになってきた。この方法は従来の動力噴霧機などによる散布と比べてはるかに能率がよく、作業に要する人員も少なくてすむが、多量の薬液が非常に遠方まで飛散するので危害防止に十分注意する必要がある。本調査はこのような観点から、SSによりパラチオン乳剤をリンゴ園に散布した場合、散布液の粒子がどの位遠方まで飛散し、また、空気中にガス体または微細な粒子として浮遊するパラチオンがどのくらいあるかを調べたものであり、厚生省と共同で青森県係官およびリンゴ試験場の協力により行われたものである。

## 空気中のパラチオン

手動式インピンジャー (集塵機) を用い、10分間に30 l の空気をメタノールを入れた吸気管を通すことにより空気中のパラチオンを捕集し、*p*-ニトロフェノール法によりパラチオンの量を測定した。空気を捕集する際、大きな散布粒子が吸気管に直接とびこむことをさけるため、吸気管の入口にななめに切ったゴム管をつけ、吸気管の横をむくようにした。したがって捕集されたパラチオンはガスまたは極めて微細な粒子として空気中に浮遊しているものに限られる。

この方法による検出限界は 0.1  $\mu\text{g/l}$  である。

## 地上に落下したパラチオン

2.5 cm  $\times$  7.5 cm のスライドガラス 5~10 枚を1組として、園内の種々の地点に水平におき、散布終了後回収して、スライドガラスに付着したパラチオンを *p*-ニトロフェノール法により分析した。

## 第1日の調査 (試験場の園内における調査)

日時：1961年8月3日午後

場所：青森県リンゴ試験場

樹令：約40年、樹間：5 m

気象：晴、北~北東の風 2 m/sec、気温28~29°C 関係湿度65~67%

使用薬剤：パラチオン乳剤2000倍液

吐出量：60 l/min (片側)

SS：共立農機製、移動速度30 m/min

空気中のパラチオン

散布中のSSから約17 m はなれてSSの移動に並行

して約分間インピンジャーを移動させたとき：散布中のSSの後方を約20 m の距離をおいて約4分間尾行したとき、およびSSの通路から0.5, 17.5, 30 m はなれた地点に地上1 m の高さにインピンジャーを固定しておいた場合の散布中および散布直後ないし90分後、などの空気中のパラチオンを測定した。全部で16点の試料を採取したが、分析結果はいずれもパラチオンは検出限界以下であった。

スライドガラス上のパラチオン

第1表 スライドガラスに付着したパラチオン

Table I. Parathion deposits on glass plates.

Location of glass plates	Parathion mg/m <sup>2</sup>
Among the trees, 7.5m from the way of S.S.	10.7
" 12.5m "	1.3
" 17.5m "	0.6
" 22.5m "	0.5
" 30.0m "	0.8
Behind the trees, 7.5m "	5.3
Behind the young trees, 7.5m "	18.8
" 17.5m "	0.9
In the vacant space among the trees 12.5m "	0.4
Among the trees in the orchard	60.9
" "	40.2
In the vacant space in the orchard	19.4
" "	44.6
At the verge of the orchard	14.1
" "	25.3
On the lane along the orchard	2.7

第1表に示すようになり遠方までパラチオンが飛散している。

## 第2日の調査 (当業者の園内における調査)

日時：1961年8月4日午後

場所：青森県黒石市牡丹平

樹令：約40年 樹間：約6 m

気象：晴、ほとんど無風、気温24°C、関係湿度70~80%

%

使用薬剤：パラチオン乳剤2000倍液、アカール1000倍

液, 4-12式ホルダー液, 展着剤 4 cc/l の混  
合液

吐出量…120 l/min (両側)

SS : 共立農機製, 移動速度約30 m/min

空気中のパラチオン

SS との相対位置を厳密に定めることが不可能だったので、園内の各種の地点で散布中および散布後15分～3.5時間後の空気中のパラチオンを測定した。全部で15点の試料を採取したが、分析結果はいずれもパラチオンの量は検出限界以下であった。

スライドガラス上のパラチオン

第1表に示すように園内のいずれの地点でも相当多量のパラチオンが飛散している。

#### 考 察

空気中のパラチオンを測定した結果はいずれも検出限界 (0.1  $\mu\text{g}/\text{l}$ ) 以下であった。しかし本調査で使用した手動式インピンジャーにより捕集されるものは、ガス体または非常に微細な液滴として浮遊しているパラチオン

に限られ、比較的大きな液滴として存在するパラチオンは捕集できない。このようなパラチオンを捕集するためには別の装置が必要である。また、手動式インピンジャーは多量の空気を吸人するには長時間を要するので、低濃度のパラチオンを測定するためには吸引能力のさらに強い装置を用いることが望ましい。いずれにしても、散布中または散布後に空気中にガス体に近い形で浮遊しているパラチオンはそれほど多くはないと考えられるが、散布中または散布直後の空気にはインピンジャーでは捕集されない大きな液滴が相当多量に落下する。したがって散布中のSSに近づくことは非常に危険が大きい。

次にスライドガラスによる落下量の測定結果によれば、SS散布による液滴は相当速方にまで飛散し、中間に大きな障害がないときは無風状態でも10m以上飛散する。園内の地面や下草には非常に多量のパラチオンが付着しており、園に接した道路においてもその量はかなり多い。したがってパラチオン散布後の園内に入るときは薬剤が体に付着しないよう十分注意しなければならない。

#### Summary

### Distribution of Parathion in the Apple Orchard After Being Sprayed by the Speed Sprayer

By Sinkō Gorō and Rokurō SATŌ

Parathion emulsion was sprayed over an apple orchard by a speed sprayer, and the distribution of parathion in the air and on the ground of the orchard was measured colorimetrically by the *p*-nitrophenol method.

Thirty liters of the air were collected in a Midget impinger and parathion was absorbed in methanol.

No parathion was detected in all samples of various conditions.

The deposits of parathion on glass plates collected at various places of the orchard were determined. The results were showed in table 1. A large amount of parathion was found in all samples.

# 天然水中のPCPの分析

後藤真康・川原哲城・佐藤六郎

ペンタクロルフェノール (PCP) は古くから殺菌剤、木材防腐剤などに使用されてきたが、近年、除草剤としてもすぐれた効果があることが認められ、特に数年前より水田除草剤としても広範囲に使用されるようになり、その使用量が急激に増加した。PCP は魚貝類に対する毒性が比較的強く、また、単位面積あたりの使用量がかなり多いので、PCP を水田に使用するにあたっては、水田水が河川、湖沼、内海などに溢ししないように、使用地域、使用法、水田水の管理などの指導がきびしく行われてきた。しかるに、昨年度、有明海沿岸、琵琶湖などにおいて、集中豪雨などの原因により PCP を含んだ水田水が溢流し、魚貝類に被害をおよぼしたという報告がなされている。現在 PCP によるとされている被害がすべて PCP が直接の原因となっているかどうかはさらに検討する余地があるが、これらの被害に PCP が全然無関係であるとはいえない。そこで PCP の水田中での動態を研究しなければならないが、そのためには簡便で精度のよい分析法が要求される。また、実際に魚貝類に被害があった場合、それが PCP によるものであるかどうかを正しく判断するためにも、PCP に特異的な微量分析法が必要である。PCP の微量分析法としては、銅塩法<sup>1)</sup>、サフラニン法<sup>2)</sup>、オーラミン法<sup>3)</sup>、ニトロ化法<sup>4)</sup>、などが報告されているが、いずれも精度や特異性の点で満足なものとはいえない。4-アミノアンチピリンによる比色法<sup>5)</sup> は精度が高く PCP に対する特異性もすぐれており、さきこの方法を PCP の製品分析に応用して満足な結果をえたことを報告したが<sup>6)</sup>、本報ではこれを天然水や土壌の分析に応用した結果および、水田水中の PCP の動態について若干の調査と実験を行った結果を報告する。

## 分析法の検討

### 1. 妨害物質

この分析法の原理は、アルカリ性水溶液中において PCP と 4-アミノアンチピリンとを赤血塩によって酸化して結合せしめ、生ずる青色の色素をキシレンによって抽出して比色するものである。方法の詳細については別報<sup>6)</sup>に記載した通りである。本方法によれば PCP 以外

のフェノール類も 4-アミノアンチピリンと反応して色素を生ずるが、PCP による呈色は青色であるのに対し、他のフェノール類による呈色は一般に淡黄色であるから、分光光度計を用いて比色すれば、他のフェノール類の量があまり多くなければ PCP の分析を妨害しない。若干のフェノール類について、この方法による発色の色調および 574 m $\mu$  (PCP の特性吸収波長)における吸光度を測定した結果を第 1 表に示す。すなわち、これらの物質が 50

第 1 表 各種有機物の 4-アミノアンチピリンによる発色  
Table 1. The color reaction of organic compounds with 4-aminoantipyrin.

Compounds	Color of the xylene layer	Absorbance at 574 m $\mu$
Reagents blank	Yellow	0.005
Cyclohexanol	//	0.001
<i>o</i> -Cresol	Red	0.005
<i>p</i> -Cresol	Yellow	0
$\alpha$ -Naphthol	Brown	0.038
$\beta$ -Naphthol	Yellow	0.009
Resorsin	//	0.009
Pirogarol	//	0.001
<i>o</i> -Nitrophenol	Brown	0.065
<i>p</i> -Dibromobenzene	Yellow	0.005
Chloranil	//	0.015
8-Oxyquinoline	Brown	0.008
Propionaldehyde	Yellow	0.003
Benzylalcohol	//	0.002
Quinhydrone	//	0.005
Xanthidol	//	0.002

$\mu\text{g}$  存在した場合、 $\alpha$ -naphthol、*o*-nitrophenol はそれぞれ PCP 約 4  $\mu\text{g}$ 、7  $\mu\text{g}$  に相当する吸光度を示すが、その他の物質では 574 m $\mu$  の吸光度は非常に小さい。

つぎに、還元性物質などが PCP の分析を妨害するかどうかを検討した。結果は第 2 表の通りで、 $\alpha$ -naphthol、*o*-nitrophenol が多量に存在した場合は正の誤差を与えるが、他の物質はほとんど影響を与えない。

### 2. 河川水、土壌中の PCP の分析

上記の結果、ある種の物質が試料中に多量に存在すれば、正の誤差を与えることがわかったので、このような

第2表 PCP の発色に対する添加物の影響

Table 2. Effects of additives on the color reaction of PCP.

Additives	PCP 53 $\mu\text{g}$ + Additive 53 $\mu\text{g}$		PCP 43 $\mu\text{g}$ + Additive 530 $\mu\text{g}$	
	Color	Absorbance	Color	Absorbance
None	Blue	0.470	Blue	0.380
$\alpha$ -Naphthol	Brown	0.508	Red	0.778
<i>o</i> -Nitrophenol	Blue-Brown	0.512	"	0.613
Quinhydrone	Blue	0.470	Blue	0.403
Hydroquinone	"	0.471	"	0.392
Metol	"	0.464	"	0.385
Oleic acid	"	0.480	"	0.389
Propionaldehyde	"	0.472	"	0.367
Benzylalcohol	"	0.468	"	0.380
Commercial detergent	"	0.471	"	0.360
"	"	0.470	"	0.352

物質が天然水にどのくらい存在するか、また、妨害物質と PCP を分離して PCP を抽出精製するには、どのような方法がよいかを検討した。

#### 分析 方法

水中の PCP を抽出精製する方法として、A, B, C の3つの方法を検討した。抽出した PCP を4-アミノアンチピリンで発色させる操作は A, B 法では全く同じであり、別報<sup>2)</sup>に記載した製品の分析の場合と同様なので、操作法のみ簡単に記す。C法では操作法が若干異なる。試薬および装置は別報<sup>2)</sup>に準ずるが、抽出、蒸留に用いる装置はすりあわせのものを用い、ゴム栓やコルク栓は blanks を大にする危険があるので使用しない。

#### 検量線の作製

この検量線は A, B 法および土壌中の PCP の分析に使用する。C法の検量線については後に記す。

ベンゼンより再結した PCP の標準品 (m. p. 189~190°C) 100 mg を正しくはかりとり、N/10 水酸化ナトリウム溶液に 5 ml とかし、容量 1 l のメスフラスコに入れ、0.025% 炭酸ナトリウム溶液で定容とする。この液を 0.025% 炭酸ナトリウム溶液で 10 倍にうすめ、標準溶液とする。原液および標準溶液は冷暗所に保存し、なるべく速かに使用する。標準溶液 1~7 ml を容量 25 ml の共栓試験管にとり、0.025% 炭酸ナトリウム溶液を加えて全容を 10 ml とする。0.2% 4-アミノアンチピリン溶液 2 ml を加えてよくふりませ、1 分後に 10% 赤血塩溶液 1 ml を加え、正しく 10 秒間はげしくふりませたの

ち直ちにキシレン 5 ml をビベットで加えてふりませる 15 分間静置したのちキシレン層を厚さ 1 cm のセルにとり、574 m $\mu$  の吸光度をキシレンを対照として測定する。0.025% 炭酸ナトリウム溶液 10 ml を同様に処理して空試験値を測定する。各測定値より空試験値を減じ、検量線を作製する。

#### A-1法 (溶媒抽出法)

PCP 1 ppm 以上含をむ試料に用いる。

試料をろ過し、その 50 ml (PCP 10~70  $\mu\text{g}$  を含む) を容量 100 ml の分液漏斗にとり、0.1% 水酸化ナトリウム溶液を加えて pH を 11 以上にする。20 ml のエーテルを加えてよくふりませ、分液してエーテル層をすてる。この操作を 2 回行ったのち、水層に希塩酸 (1+2) を加えて酸性とし、20 ml のエーテルを加えてよくふりませ、分液して水層を別の分液漏斗に移す。さらにエーテル 20 ml を加えてふりませたのち分液し、エーテル層を集め、おのおの 10 ml の蒸留水で 2 回洗う。エーテル層をすりあわせ三角フラスコに洗い移し、水溶上ですりあわせ蒸留装置を用いてエーテルを留去する。エーテルがほぼ完全に留去されたら、残留物に 0.025% 炭酸ナトリウム溶液 5 ml を加え、あたためてとかし、さらに 5 ml の 0.025% 炭酸ナトリウム溶液を用いて共栓試験管に洗い移し、前記の検量線の作製と同様に処理して吸光度を測定し、空試験値を減じ、検量線により PCP を算出する。

#### A-2 法 (溶媒抽出法)

PCP が 1 ppm 以下の場合に行う。

試料をろ過し、その 250 ml (PCP 10~70  $\mu\text{g}$  を含む) を容量 500 ml の分液漏斗にとり、希塩酸 (1+2) 3 ml を加えて酸性とし、ベンゼンを加えて 10 分間ふりませる。分液して水層を別の分液漏斗に移し、ベンゼン 30 ml を加えて同様の操作を行う。ベンゼン層を容量 100 ml の分液漏斗に集め、0.1% 水酸化ナトリウム溶液 30 ml を加えてふりませ、分液して水層を別の分液漏斗にとる。ベンゼン層にさらに水酸化ナトリウム溶液 30 ml を加えて同じ操作を行い、水層を合する。水層に希塩酸 (1+2) 3 ml を加えて酸性とし、おのおの 30 ml のエーテルを用じ、上記の操作により 3 回抽出を行う。エーテル層を集め、10 ml の蒸留水で 2 回洗ったのち、すりあわせ三角フラスコに洗い移し、エーテルを留去し、残留物を 0.025% 炭酸ナトリウム溶液にとかし、以下前記の方法により比色定量を行う。

#### B 法 (蒸留エーテル抽出法)

PCP 10~70  $\mu\text{g}$  を含む試料をすりあわせフラスコにとり、試料 50 ml に対し 1 ml の正磷酸を加え、沸石として

ガラス球数ヶを入れ、すりあわせ蒸留装置を用いて残液がはじめの10分の1量になるまで蒸留を行う。留出液50mlを分液漏斗にとり、希塩酸を加えて酸性とし、エーテルを加えてよくふりませ、分液して水層を別の分液漏斗にとり、さらにエーテル50mlを加えて同様の操作を行う。エーテル層を合し、10mlの蒸留水で2回洗ったのちすりあわせ三角フラスコに洗い移し、エーテルを留去し、残留物を0.025%炭酸ナトリウム溶液にとかし、前記の方法で比色定量を行う。

#### C法（蒸留キシレン抽出法）

能勢<sup>7)</sup>は土壌中のPCPの分析法として、土壌を水蒸気蒸留し、留液をキシレンで抽出して分析を行なっている。この方法を水中のPCPの定量に応用した。この場合、アルカリとして0.025%炭酸ナトリウム溶液を用いたのでは緩衝作用が不足なので、 $1/15$  M 磷酸2ナトリウム溶液を用いた。

試料を前記B法の蒸留操作に準じて蒸留を行なう留出液を容量500mlの共栓フラスコにとり、塩酸2mlを加え、キシレン20mlをピペットで加えて栓をし、5分間はげしくふりませる。キシレン層が分離するまで静置し、キシレン層がフラスコの首の部分にくるように静かに蒸留水を加える。キシレン層の10mlをピペットで吸いとり、容量40mlの共栓試験管に移す。このときキシレン層が泡立っている場合はキシレン層を別の試験管にとり、少量の無水硝酸を加えて脱水したのち共栓試験管にうつす。 $M/15$ 磷酸2ナトリウム溶液10ml、0.2%4-アミノアンチピリン溶液2mlを加えて約30秒間ふりませたのち約3分間放置し10%赤血塩溶液1mlを加えてただちに正しく3分間ふりませ、15分間放置し、キシレン層を厚さ1cmのセルにとり、574m $\mu$ の吸光度をキシレンを対照として測定する。測定値より空試験値を減じて2倍し、検量線によりPCPの量を算出する。

検量線はつぎのようにして作製する。PCPの標品100mgを正しくはかりとり、容量100mlのメスフラスコに入れ、キシレンを加えてとかし定容とする。この液2mlを容量100mlのメスフラスコにピペットでとり、キシレンで定容として標準溶液とする。この液1~7mlを共栓試験管にとり、キシレンを加えて全量を正しく10mlとする。以下前記と同様の操作により $M/15$ 磷酸2ナトリウム溶液その他の試薬を加えて発色せしめ、吸光度を測定する。キシレン10mlを同様に処理して空試験値を求める。各測定値より空試験値を減じ、検量線を作製する。

#### 土壌中のPCPの分析法

試料を風乾し、その50gを共栓三角フラスコにとり、

メタノール150mlを加えて1時間ふりませたのち乾燥濾紙で濾過する。濾液100mlをすりあわせ三角フラスコにとり、水浴上でメタノールを留去する。残留物を0.1%水酸化ナトリウム溶液30mlにとかし、以下前記A-1法に準じて分析を行なう。

#### 分析結果

東京都内の各種の河川を上記の方法で分析した結果は第3表の通りである。これらの試料中には採取場所、時

第3-1表 河水中に含まれるブランク物質

Table 3-1 The blank values of the waters of the rivers.

Rivers	Blank values,* ppm as PCP
Riv. Tamagawa	0.004
(Takahata-bashi)	0.008
"	0.008
(Hino-bashi)	0.007
"	0.002
(Koremasa-bashi)	0.004
"	0.002
(Suido-bashi)	0.002
"	0.002
(Maruko-bashi)	0.006
"	0.007
(Tamagawa-ohashi)	0.010
Riv. Rokugogawa	0.007
"	0.007
"	0.005
"	0.005

\* Analysed by method A-2.

第3-2表 河水中に含まれるブランク物質

Table 3-2. The blank values of the waters of the rivers.

Rivers	Blank values, ppm as PCP		
	A-2	B	C*
Riv. Megurogawa	0.012	0.010	0.008
(Taiko-bashi)	0.018	0.008	0.008
Riv. Edogawa	0.012	0.005	0.012
(Iida-bashi)	0.015	0.004	0.015
Riv. Nakagawa	0.012	0.007	0.010
(Komatsugawa-bashi)	0.013	0.012	0.009
Riv. Sumidagawa	0.021	0.017	0.023
(Ryogoku-bashi)	0.020	0.018	0.022
Riv. Arakawa	0.016	0.014	0.020
(Komatsugawa-bashi)	0.018	0.008	0.017

\* The distillation was neglected.

期からみてPCPは全然含まれていないと考えられるから、表中の値は、PCP以外の物質によるものと思われる

が、その値はいずれの試料でもごく小さく、とくにB法による場合が最も小さい。試料中、目黒川の水などは工場廃水によりかなり着色していたが、それでもこの程度のブランクしか示さないものであるから、本分析法はPCPに対し、かなり特異的であると考えてよさそうである。実際に魚毒が問題になる濃度は0.1ppm以下と思われるから、この程度のブランクがあっても実用上はほとんどさしつかえないであろう。しかし、試料によっては、もっと高いブランクを示す場合がないとはいえないから、実際に魚毒の原因を解析するような場合には、1つの化学分析の結果をそのまま信用するのではなく、他の分析法や生物検定などをあわせて実施して比較検討する必要があるのは勿論である。

つぎに、これらの河川水にPCPを添加し、その回収率をしらべた結果は第4表の通りで、ほぼ満足すべき結果をえた。

第4表 河水中のPCPの回収率(%)

Table 4. The recovery (%) of PCP from the waters of the rivers

Rivers	Methods		
	A-2	B	C
Riv. Megurogawa	85.0	93.5	
	100.0	82.5	
Riv. Edogawa	75.0	85.0	
	72.5	91.5	
Riv. Nakagawa	85.0		
	79.0		
Riv. Sumidagawa	77.5	83.0	
	65.0	98.0	
Riv. Arakawa	91.0	91.0	
	104.0	96.0	
Tap water	80.0		100.0
	100.0		88.4

Twenty microgram of PCP was added to 250 ml of water and analysed.

以上の検討の結果、水中のPCPの分析法として、4-アミノアンチピリン法は精度および特異性がすぐれており、抽出精製法として、B法を用うれば、500mlの試料を用いて0.01ppm程度のPCPを検出しうることが明かである。また、C法を用うれば感度はややおちるが、より簡便な分析が可能である。

#### 水田中のPCPの動態

##### 1. 日照によるPCPの分解

PCPは紫外線に対して不安定であり、水田に散布された場合、土壌によって吸着されるとともに、日光によ

第5表 PCPの日光による分解

Table 5. The decomposition of PCP in the aqueous solution by sunlight.

The concentration (ppm) of PCP (1)

Date	Classes					
	A-1	A-2	B-1	B-2	C-1	C-2
Aug. 28(initial)	9.3	9.3	9.3	9.3	6.0	6.5
29	0.4	0.4	1.3	1.1	5.9	6.3
30	0	0	0	0	6.1	6.4
Sept. 2					5.5	5.5
8					5.6	5.4
12					5.6	5.4

The concentration (ppm) of PCP (2)

Date & time	Classes			
	A-1	A-2	B-1	B-2
Sept. 4, 9 AM (initial)	45	42	41.5	39.8
4, 1 PM	31.7	33	33	32.5
5, 10 AM	28.3	28.4	31.3	31.3
5, 1 PM	16.1	17.7	18.0	19.8
5, 4 PM	13.2	13.7	17.1	17.4
6, 9 AM	10.9	13.5	17.3	17.9
6, 4 PM	8.4	9.5	15.3	14.9
7, 5 PM	3.8	4.4	7.8	7.6
9, 12 AM	0.6	0.6	1.6	1.4
10, "	0.2	0.2	0.6	0.5
11, "	0	0	0	0

The climate

Date	Av. temp. (°C)	Weather
Aug. 27	30	Fine
28	29	"
29	29	Cloudy
30	28	Fine
31	28	"
Sept. 1	27	"
2	26	"
3	26	"
4	26	Cloudy
5	28	Fine
6	28	Cloudy
7	24	"
8	25	Fine

って速かに分解されて消失するものと思われる。そこで、その分解の速さを検討するため次の実験を行なった。

すなわち、井戸水を用いて PCP 水溶液 (pH7.4) をつくり、その 2 l を 25cm×20cm×17cm のガラス容器に入れ (水深 5 cm)、ふたをせずに屋外に放置した。2 区にわけ、A 区は 1 日中日光にあて、B 区は 13 時以後、黒い紙で日光をさえぎった。1 定時間ごとに採水して PCP 濃度を 4-アミノアンチピリン法により測定した。対照区 (C 区) として同じ PCP 水溶液をビール瓶に入れて並置し、同時に採水、分析した。

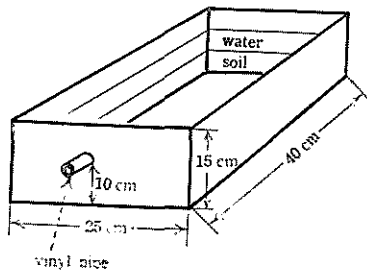
その結果は第 5 表に示す通りで、日照による PCP の分解はきわめて速かであり、晴天の場合は 1 日でほとんどすべて分解する。曇天の場合でも 4 日間で 90% 以上が分解する。それに対しビール瓶中では PCP は 2 週間後もなお 10% 程度しか分解しない。従って PCP の分解は日光中の紫外線によって行なわれるものと思われる。

2. 水田水の降雨による溢流

昨年度、有明海や琵琶湖で PCP によると云われる魚類に対する被害をだした原因の 1 つは、集中豪雨により水田水が溢流したためであると思われる。そこで、PCP を含んだ水田水が、降雨により溢流した場合、その水の中の PCP 濃度はどうなるかを検討するため、つぎの実験を行なった。

第 1 図 溢流試験の器具

Fig. 1. The model of the paddy field.



すなわち、第 1 図に示すような器具を用い、5 cm の深さに水田土壌を入れ、水深が 5 cm になるように水を入れて 1 週間放置した。降雨日の 2 日前、1 日前、および当日に PCP-Na 水溶液を水にとかし、1 kg/10a に相当する量を加えて屋内に保存し、人工降雨装置により雨を降らせ、ただちにビニール管より流れでてくる水を集め、4-アミノアンチピリン法によって分析した。降雨量は 1.2mm/分、3.5mm/分の 2 種類とし、前者は 10 分間、後者は 4 分間降雨を行なった。水田土壌は平塚市の全隣連農業技術センターの圃場の、グライ土壌粘土型である。

第 6 表 溢流中の PCP

Table 6. The concentration (ppm) of PCP in the overflowing water from the paddy field.

Interval,* days	Rainfall, mm/min.	A	B	B/A×100
2	1.2	9.7	7.3	75
		9.7	6.2	64
"	3.4	9.1	6.1	67
		9.2	6.1	66
1	1.2	15.3	8.4	55
		13.5	8.8	65
"	3.4	12.4	9.2	74
		13.3	6.8	51
0.5	1.2	16**	9.0	56
		"	9.0	56
"	3.4	"	10.0	62
		"	9.5	59

\* : Since from the application.

\*\* : Calculated from the amount of PCP added.

A : The concentration of PCP in the water in the paddy field before rainfall.

B : The concentration of PCP in the overflowing water.

実験の結果は第 6 表に示す通りで、溢流中の PCP 濃度は降雨量には関係なく、水田水中の約 60% である。もし、雨水が完全に水田水とまじれば、その濃度は降雨前の 80% になるはずであるが、この試験では降雨前の水田の水面が溢出口とすれすれの高さにあり、雨が降るとただちに溢流がはじまるように設計されているので、このような値になったものと思われる。この実験は非常に模式化されているので、この結果よりただちに実際の圃場での溢流を判断することはむずかしいが、溢流のおこりやすい水田で PCP を散布した直後に豪雨が降った場合には、かなり高濃度の PCP を含んだ水が溢流する危険があるであろう。なお、PCP 施用後、次第に水中の PCP 濃度が減少しているが、屋内保存であるのでこの原因は日光による分解よりも、土壌による吸着によるものと思われる。

3. 水田中での PCP の消滅

実際の水田に PCP を施用した場合には、PCP は日光による分解、土壌による吸着、溢流などにより次第に減少していくであろう。その消失の速度はこれらの要因がくみあわさって種々変化すると思われる。そこで、実際の水田水の PCP の動態について調査を行なった。調査した圃場は都下北多摩郡日野町高幡の一般農家の水田である。田植の時にコントロール試料として PCP 施用前の水田水および水田土壌を採取した。田植後 3 日目に



第7表 水田中の PCP の消滅

Table 7. The degradation of PCP in a paddy field.

The concentration (ppm) of PCP in water and soil

Interval,** days	PCP in water			* PCP in soil
	I	II	III	
0	2.4			4.0
1	6.0			
2	0.24	0.09	0.11	1.6
5	0.02	0.01	0.02	3.1
7	0	0	0	1.9
Control	0			0.1

\* ppm of dry soil.

\*\* Since from application.

## The climate

Date	Weather	Av. temp. °C	Rainfall mm	Note
June 24	Fine	22.3	0	Control sampling
27	Cloudy	17.7	0	Application, Sampling
28	"	21.3	0.2	Sampling
29	"	19.7	0	
30	"	20.6	1.6	Flowing of water began
July 1	"	21.8	2.4	
2	Rainy	22.0	51.1	Sampling
3	Cloudy	24.4	0	
4	"	21.9	1.0	Sampling

PCP 粒剤を 3 kg/10 a 施用した。施用当日、1, 2, 5, 7 日後に水田水および土壌を採取し、前記の A 法により PCP を分析した。水田の水深は約 5 cm であった。分析の結果は第 7 表に示す通りである。すなわち、水田水中の PCP は施用当日よりも 1 日後が最高で以後急速に減少するのに対し、土壌中の PCP は施用直後が多く、2 日後よりも 5 日後の方が多く 7 日後にはまた減少する。これは散布した薬剤が粒剤であったため、施用直後は完全に水にとけきらず、徐々に水にとけ、ついで再び土壌に吸着されたためと思われる。いずれにしても PCP 施

用後数日間は水中の PCP はかなり高濃度であるが、以後は急速に消失するものと思われる。

以上の実験および調査に御助力と御助言を賜った農業技術研究所能勢和夫氏、全聯連農業技術センター農業研究部、東京都日野地区農業改良普及事務所の各氏に謝意を表す。

## 要 旨

水中の PCP の微量分析法として、4-アミノアンチピリン法は精度および特異性がすぐれている。他のフェノール類は 4-アミノアンチピリンによって発色を示すが、その色調が PCP と異っているので、あまり多量に存在しなければ PCP の定量を妨害しない。天然の河川水に含まれる妨害物質の量はきわめて僅かである。

水中の PCP の抽出精製法としては、蒸留を行ない、溜出液よりエールテまたはキシレンで PCP を抽出すればよい。

PCP 水溶液を日光の照射下に放置すると PCP は極めて速かに分解する。しかし、ビール瓶中に入れた場合は日光にさらした場合でもほとんど分解しない。

人工降雨装置により水田水の溢流をしらべた結果は、降雨前の水田水が高濃度の PCP を含んでいるときは、溢流中にも PCP がかなり高濃度で含まれてくることがわかった。

実際の圃場における PCP の消失の速度はかなり速かであった。

## 文 献

- 1) WALLIN, G. R., Anal. Chem. **22**, 1298 (1950)
- 2) HASKINS, W. T., Anal. Chem. **23**, 1672 (1951)
- 3) 鈴木巖, 私信
- 4) DEIGHMANN, W., SCHAFER, L. T., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **14**, 310 (1942)
- 5) 沼田一, 衛生化学 **4**, 94 (1956)
- 6) 川原哲城, 後藤真康, 佐藤六郎, 農業生産技術 **7**, 19 (1962)
- 7) 能勢和夫, 私信

### Summary

#### The Determination of Micro Amount of Pentachlorophenol in Surface Waters

By Shinko GOTO, Tetsuki KAWAHARA and Rokuro SATO

Experiments were performed to establish an improved analytical method for a small amount of pentachlorophenol (PCP) in surface waters and to investigate its behavior in the paddy field. The following colorimetric procedures (Method C) was proposed as the most precise and convenient method.

A sample water (500 ml) and 10 ml of phosphoric acid were distilled using a all-joint distilling apparatus to collect 450 ml of distillate in a flask. Exactly 20 ml of xylene was added to the distillate acidified with 2 ml of hydrochloric acid, shaken vigorously for 5 minutes, and left standing until a clear xylene layer was obtained. About 10 ml of the xylene layer, 10 ml of M/15  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  aq. sol. and 2 ml of 0.2% 4-aminoantipyrine aq. sol. were pipetted into a test tube with a glass stopper, mixed well by shaking for 30 seconds, and added 1 ml of 10% potassium ferricyanide sol. after 3 minutes standing. After another vigorous shaking for exactly 3 minutes, the test tube was left standing for 15 minutes. The absorbance of the xylene layer was measured at 574  $m\mu$  in a cell with 1 cm thickness by a photoelectric colorimeter. The amount of PCP was calcu-

lated using a calibration curve obtained from the authentic standard.

Above procedure proved to be quite suitable for the quantitative estimation of PCP in natural waters. Because all samples collected from several rivers gave only negligible amount of the blank values as shown in Table 3. Though some phenolic compounds reacted with 4-aminoantipyrine, they proved to give little interference in the analysis of PCP when their amounts are not so large (Table 1 and 2).

The behavior of PCP in paddy fields was investigated from the practical aspects. PCP was quite stable when the solution was stored in a brown glass bottle even under sunbeam, however, PCP component suffered accelerative degradation by sunlight as seen in Table 5. The decaying speed of PCP component in the water of the paddy field was very rapid under the practical conditions (Table 7). A model of the paddy field (Fig. 1) was treated with experimental heavy rainfall, and the amount of PCP in the overflowed water was estimated as summarized in Table 6.

### 有機リン殺虫剤によるアズキノウムシのコリンエステラーゼ阻害について

俣野修身・佐藤六郎

有機リン殺虫剤のコリンエステラーゼ阻害作用に関する研究は非常に多く、酵素源としては人血、イエバエ、ワモンゴキブリ、その他の昆虫が使用されているが、本報は比較的入手が容易で、室内殺虫試験に広く使われているアズキノウムシ (*Cellosobruchus chinensis* L.) を用いて、各種有機リン殺虫剤のコリンエステラーゼ阻害

力を Hestrin<sup>1)</sup> の比色法により測定した結果を報告する。

#### 実験材料

リン酸緩衝液 pH 8 : リン酸水素 2 ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 11.876 g/l の 95部とリン酸 2 水素カリウム ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 9.078 g/l の 5部を混合する。

臭化アセチルコリン溶液 : 上記リン酸緩衝液に臭化ア

セチルコリンを溶解し、0.004Mのアセチルコリン液を作り冷蔵する。

ヒドロキシルアミン塩酸塩液：2 M液を作り冷蔵する。

3.5N水酸化ナトリウム液：

三塩化酢酸塩酸液：三塩化酢酸10 g を蒸留水 10 cc に溶解したものに (1+2) 希塩酸90 cc を混合する。

0.37 M 塩化第二鉄溶液：0.1 N の塩酸で塩化第二鉄 (FeCl<sub>2</sub>) の0.37 M 溶液を作る。

リングル液 pH 7.6：塩化ナトリウム11.2 g, 塩化カリウム0.24 g, 塩化カルシウム0.27 g, 重炭酸ナトリウム0.2 g, 塩化マグネシウム4 g, を蒸留水に溶して1 lにする。

酵素源：アズキノウムシ約5 g を上記リングル液と海砂を適量加えて乳鉢で磨砕し、ガーゼで口過し、リング

ル液を加えて10倍希釈液を作り冷蔵する。

有機リン殺虫剤溶液：純品または濃度既知の有機リン殺虫剤をアセトンで適当な濃度に希釈する。

実験方法

アセトンで一定濃度に希釈した有機リン殺虫剤を試験管に数段階にわけてとり、湯浴上でアセトンを除去し、これにリン酸緩衝液1 cc, 酵素液1 ccを加え25°Cの恒温水槽中で時々攪拌しながら30分間加温する。直ちにアセチルコリン溶液1 ccを加え37°Cの恒温水槽に移し、さらに30分間加温する。水槽からとりだして、ヒドロキシルアミン塩酸液と3.5 N水酸化ナトリウム液の等量混合液を使用直前に作り、その2 ccを添加し、次に三塩化酢酸-塩酸液1 ccを添加する。これを濾紙で口過しロ液に塩化第二鉄溶液1 ccを添加し、ベックマンDU型分光光度

第1表 有機リン殺虫剤によるアズキノウムシコリンエステラーゼ阻害

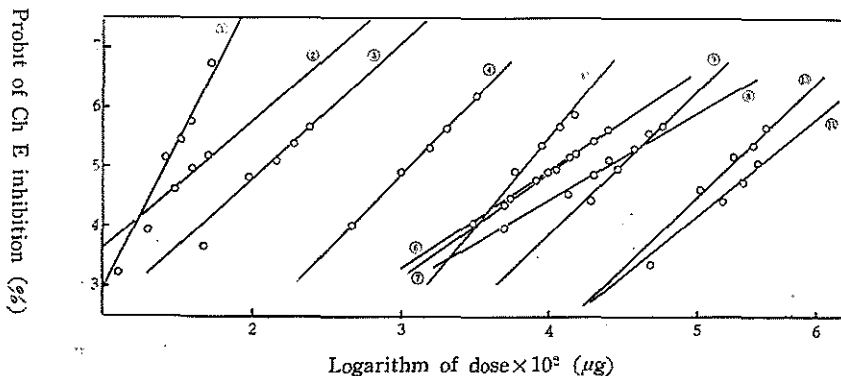
Table 1. Inhibition of Adzuki-been weevil Ch-E *in vitro* by organophosphorus insecticides.

Insecticide	Regression equation	Ch-E 50% Inhibition (μg)
1 DDVP	$Y=5.338+4.931 (X-1.483)$	0.26
2 Dibrom	$Y=4.905+2.119 (X-1.598)$	0.44
3 Metasystox	$Y=5.076+2.299 (X-2.124)$	1.23
4 Dipterex	$Y=5.170+2.609 (X-3.126)$	11.5
5 Malathion	$Y=5.193+2.596 (X-3.888)$	65.1
6 Ethyl parathion	$Y=4.857+1.629 (X-3.968)$	113.3
7 Sumithion	$Y=5.107+1.781 (X-4.121)$	115.1
8 Methyl parathion	$Y=4.672+1.486 (X-4.148)$	233
9 Diazinon	$Y=5.364+2.423 (X-4.612)$	290
10 Baycid	$Y=5.210+2.397 (X-5.279)$	1458
11 Dimethoate	$Y=4.673+2.010 (X-5.223)$	2440

Y is the percent inhibition in Probit  
X is the logarithm of dose × 10<sup>2</sup>

第1図 有機リン殺虫剤によるアズキノウムシコリンエステラーゼ阻害

Fig. 1. Inhibition of Adzuki-been weevil Ch-E *in vitro* by organophosphorus insecticides.



計を用いて波長530m $\mu$ で吸光度を測定した。また上記の操作中酵素液を加えないもの(A)と有機リン殺虫剤を加えないもの(B)とをそれぞれ同様に操作する。得られた吸光度から次の式を用いて阻害率(%)を算出する。

$$\text{阻害率(\%)} = \frac{A_s - A_B}{A_A - A_B} \times 100$$

$A_s$ ,  $A_A$ ,  $A_B$  はそれぞれ試料, A, B の吸光度

この結果をプロビット法を用いて換算し50%阻害薬量を求めた。

#### 結果と考察

アズキゾウムシの磨砕液のコリンエステラーゼ阻害を数種の有機リン殺虫剤について調べた結果を第1表および第1図に示す。

LI<sub>50</sub> 薬量は DDVP < Dibrom < Metasystox < Dipterex < malathion < parathion < Sumithion < methyl parathion < diazinon < Baycid < Dimethoate の順になり, DDVP と Dimethoate の間には約1万倍の差が認められる。この結果は兼久<sup>2)</sup>のイエバエの頭部のコリンエステラーゼ, および小島<sup>3)</sup>の人血のコリンエステラーゼについての報告と大体において一致している。すなわち DDVP, Dibrom, Dipterex のような比較的不安定なリン酸化合物は強コリンエステラーゼ阻害剤として作用し, 安定なチオリン酸化合物になるにしたがい LI<sub>50</sub> 薬量は増大している。またジチオリン酸化合物, および低毒性殺虫剤

と特定毒物とをそれぞれ比較しても特別な差異は認められない。また杉本<sup>4)</sup>はアズキゾウムシに対する接触法における LD<sub>50</sub> を parathion 0.45  $\mu$ g < Baycid 1  $\mu$ g < Metasystox 2.5  $\mu$ g < malathion 3.5  $\mu$ g < Dipterex 15  $\mu$ g と報告しているが, この値とコリンエステラーゼ阻害薬量との間には明白な相関関係が認められない。

#### 要 旨

アズキゾウムシの磨砕液をコリンエステラーゼ源として用い各種有機リン殺虫剤による阻害力を測定し, 50%阻害薬量を求めた。阻害力が最も強い DDVP と最も弱い Dimethoate の間には LI<sub>50</sub> に約1万倍の差がみられる。リン酸化合物とチオリン酸化合物との間には明らかに阻害力の差があるが, ジチオリン酸化合物とチオリン酸化合物の間にははっきりした関係は認められなかった。殺虫力, 哺乳動物に対する毒性とコリンエステラーゼ阻害薬量の間には明白な相関関係は認められなかった。

#### 文 献

- 1) HESTRIN, S., J. Biol. Chem. **180**, 249 (1949).
- 2) 兼久勝夫, 名古屋大学農学部害虫学教室特別報告第2号, 33 (1961).
- 3) 小島建一・石塚忠克, 防虫科学 **25**, 30 (1960).
- 4) 杉本渥, 応動昆 **7**, (1963).

#### Summary

Effect of the Organophosphorus insecticides on the Cholinesterase Activity of Adzuki Been Weevil (*Callosobruchus chinensis* L.)

By Osami MATANO and Rokurō SATō

The inhibition of cholinesterase by organophosphorus insecticides was investigated. Homoginated Adzuki been weevils (*Callosobruchus chinensis* L.) were used as a source of acetylcholine esterase, and the activity of the enzyme was determined by the modified colorimetry based on Hestrin's method.

The inhibitory activity of the organophosphorus insecticides were in the following order.

LI<sub>50</sub> ( $\mu$ g) are given in parentheses.

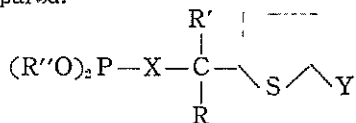
DDVP (0.26) < Dibrom (0.44) < Metasystox (1.23) < Dipterex (11.5) < malathion (65.1) < parathion (113.3) < Sumithion (115.1) < methyl parathion (233) < diazinon (290) < Baycid (1458) < Dimethoate (2440)

No clear correlation was observed among the inhibitory activity, the insecticidal activity and the mammalian toxicity of the organophosphorus insecticides tested.

## Phosphorus Esters Containing Thienyl Group

By Hiroshi KUBO, Osami MATANO and Rokurō SATŌ

Our experiments were directed toward the synthesis of new insecticides. Several new phosphorus esters of thiophene derivatives, as given in the following general structure, were prepared.



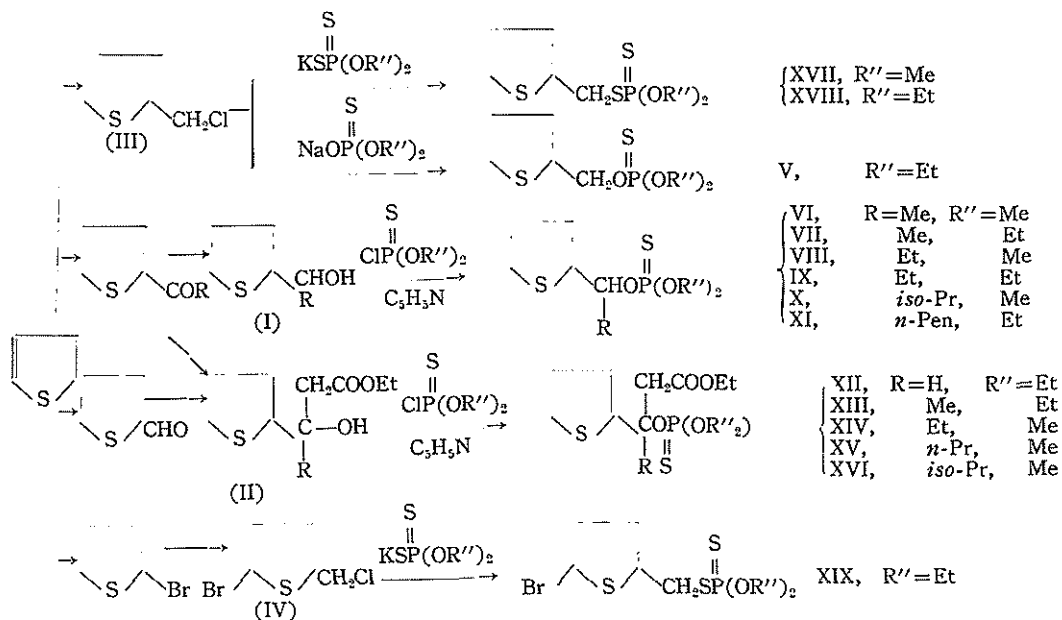
Where R, R' and R'' represent a hydrogen, alkyl or ethoxycarbonylmethyl radical, whereas X stands for O or S atom and Y for hydrogen or halogene. A summary of the preparative routes is presented in Fig. 1.

Physical properties of thus obtained phosphorus esters and their insecticidal activities for house fly (*Musca domestica vicina* MACQ.)

and Azuki-bean weevil (*Callosobruchus chinensis* L.) are summarized in Table 1. The toxicity of these phosphorus esters toward house fly was compared with the toxicity of a commercial insecticide, *o,o*-dimethyl S-(1,2-diethoxycarbonyl-ethyl)-phosphorodithioate (malathion). The relative toxicity of  $(R''O)_2P(S)-X-C(R)(R')C_2H_4SY$  to malathion is arranged in the decreasing order as seen in Fig. 2. It may be concluded from the Fig. 2, that the series of ethyl esters possesses higher insecticidal activity than the series of methyl esters. Ethoxycarbonylmethyl group brought no better effect on the insecticidal activity, whereas, the introduction of halogene into the thiophene ring brought a remarkable increment of the biological activity.

第 1 表 リン酸エステル類の合成ルート

Fig. 1. Synthetic routes of the phosphorus esters.



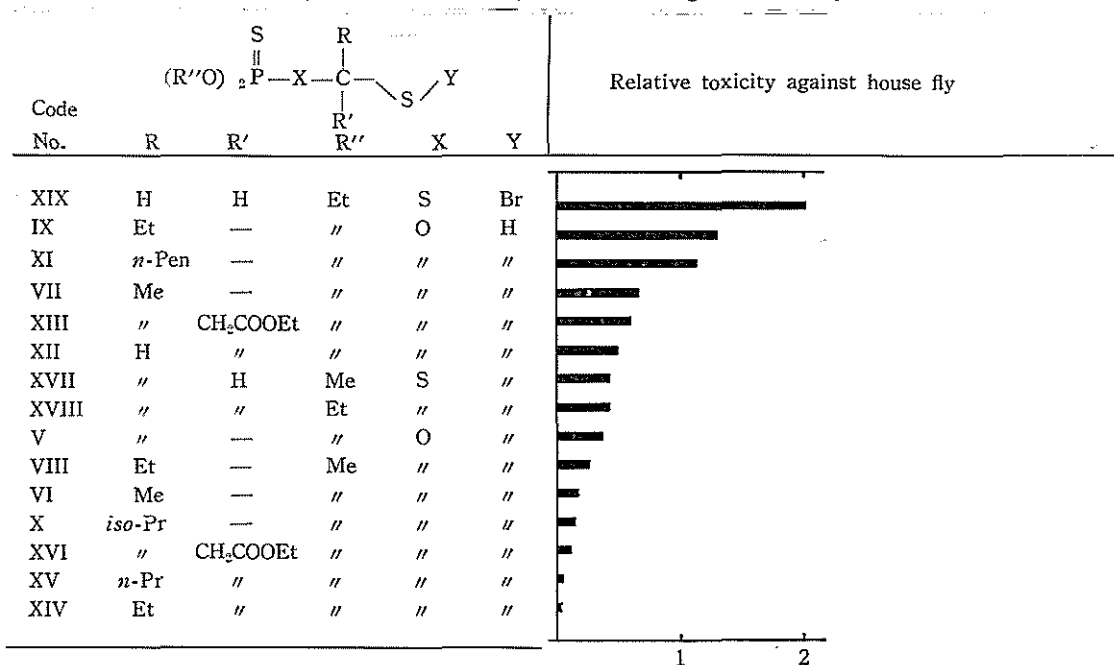
第1表 リン酸エステルの物理特性と殺虫効力

Table 1. Physical properties and biological activities of the phosphorus esters.

Code No.	Chemical Structure					Physical properties			Biological properties	
	R	R'	R''	X	Y	% yield	b. p. (°C/mm)	<i>n</i> <sub>D</sub> /°C	LD-50 for house fly (%)	LD-50 for Azuki-been weevil (γ/dish)
V	H	—	Et	O	H	9	129-31/1	1.5468/16	0.0303	73.9
VI	Me	—	Me	"	"	9	117-20/0.5	1.5741/15	0.0589	145.0
VII	Me	—	Et	"	"	11	132/1	1.5540/16	0.0173	58.9
VIII	Et	—	Me	"	"	13	128-30/0.5	1.5782/15	0.0418	—
IX	Et	—	Et	"	"	15	118-20/0.3	1.5281/13	0.0088	29.3
X	<i>iso</i> -Pr	—	Me	"	"	66	154-6/0.5	1.5570/15	0.0740	—
XI	<i>n</i> -Pen	—	Et	"	"	15	104-8/0.2	1.5357/13	0.0100	43.2
XII	H	CH <sub>2</sub> COOEt	Et	"	"	47	122/0.4	1.5756/14	0.0230	93.8
XIII	Me	"	Et	"	"	44	113-18/0.2	1.5678/14	0.0191	43.2
XIV	Et	"	Me	"	"	41	128-31/0.5	1.5440/15	0.473	—
XV	<i>n</i> -Pr	"	Me	"	"	28	138-41/0.5	1.5418/15	0.232	—
XVI	<i>iso</i> -Pr	"	Me	"	"	33	131-4/0.5	1.5405/15	0.0946	—
XVII	H	H	Me	S	"	37	125-9/0.5	1.5738/15	0.0262	73.2
XVIII	H	H	Et	"	"	48	153-8/1	1.5700/20	0.0263	109.1
XIX	H	H	Et	"	Br	20	145-50/0.2	1.5590/13	0.0055	53.0
XX	(CH <sub>3</sub> O) <sub>2</sub> P(S)SCHCOOEt   CH <sub>2</sub> COOEt					—	—	—	0.0114	4.0

第1 図イエバエに対する相対的毒性

Fig. 2. Relative toxicity to malathion against house fly.



## EXPERIMENTAL

## Preparation of thiophene derivatives.

## a. Alkyl-2-thienylcarbinols (I).

Alkyl-2-thienylketones were prepared by a modification of the procedures of JOHNSON<sup>1)</sup>. Thus prepared  $C_4H_3S-CO-R$  were (R, % yield and b.p./mm given): methyl, 80, 98/16; ethyl, 80, 111/18; *n*-propyl, 75, 123/20; *iso*-propyl, 64, 113/20; *n*-pentyl, 30, 133/10. To a solution of 28.4 g methyl-2-thienylketone in 50 ml methanol 4 g sodium tetrahydroborate was added with stirring. The mixture was stirred for 1 hr, treated with some dilute sodium acetate and 200 ml water, and extracted with benzene. The extract was dried over sodium sulfate, concentrated, and distilled to give 17.3 g (60%) methyl-2-thienylcarbinol, b. 100°/15 mm. Similarly prepared were 63% ethyl-2-thienylcarbinol (b. 89°/7 mm), 72% *iso*-propyl-2-thienylcarbinol (b. 109°/15 mm) and 77% *n*-pentyl-2-thienylcarbinol (b. 140°/15 mm).

## b. Alkyl-ethoxycarbonylmethyl-thienyl(2)-carbinols (II).

2-Thienylaldehyde was prepared by the method of WIBERG<sup>2)</sup>. A mixture of 11 g thienylaldehyde and 20 g ethyl bromoacetate in 30 ml dry benzene was reacted with 8 g zinc powder under gentle refluxing for 3 hrs. On cooling the mixture was added with 50 ml of 10%  $H_2SO_4$  and left standing overnight. The organic layer was washed with dilute acid and water, dried over sodium sulfate, and distilled to give 11 g (53%) ethoxycarbonylmethyl-thienyl(2)-carbinol (II, R=H), b. 141°/12 mm. The following alkyl-ethoxycarbonylmethyl-thienyl(2)-carbinols were obtained by Reformatsky reaction as analogous procedures as above. Thus prepared  $C_4H_3S-C(R)(OH)CH_2COOEt$  were (R, % yield and b.p./mm given): methyl, 59, 130-1/7-8; ethyl, 34, 150-5/24; *n*-propyl, 46, 150-5/17; *iso*-propyl, 46, 140-50/20.

## c. Thienyl(2)-methyl chloride (III).

Thienyl(2)-methyl chloride was prepared by the procedures of WIBERG<sup>3)</sup>.

## d. 5-Bromothiophenyl(2)-methyl chloride (IV).

2-Bromothiophene, obtained by the method of HIRAO<sup>4)</sup>, was chloromethylated by the ways as described by WIBERG<sup>3)</sup> to give 30% 5-bromothiophenyl(2)-methyl chloride, b. 85°/7 mm.

## Preparation of phosphorus esters.

## a. Diethyl thienyl(2)-methyl-phosphorothionate (V).

Thienyl(2)-methyl chloride (10 g) and 19 g sodium diethyl phosphorothionate<sup>5)</sup> in 50 ml benzene were

heated on a water bath for 2 hrs., and filtered to remove salt. The filtrate was washed with water, dried over sodium sulfate, concentrated, and distilled under high vacuum to yield 2.4 g (12%) diethyl thienyl(2)-methyl-phosphorothionate (V), b. 129-31°/1 mm,  $n_D^{16}$  1.5468.

## b. Diethyl 1-[1-thienyl(2)-alkyl]-phosphorothionate (VI, VII, VIII, IX, X and XI).

A mixture of 10 g methyl-thienyl(2)-carbinol, 13.2 g diethyl phosphorochloridothionate<sup>6)</sup> and 6 g pyridine in 30 ml toluene was refluxed for 3 hrs. On cooling the mixture was washed with water, dried over sodium sulfate, concentrated, and distilled under high vacuum. Diethyl 1-[1-thienyl(2)-ethyl]-phosphorothionate (VII), b. 132°/1 mm,  $n_D^{16}$  1.5540, was obtained in 11% yield. Similarly prepared were (R, R'', % yield, b.p./mm and  $n_D/^\circ C$  of  $C_4H_3S-CH(R)OP(S)(OR'')_2$  given): methyl, methyl, 9, 117-20/0.5, 1.5741/16; ethyl, methyl, 13, 128-30/0.5, 1.5782/16; ethyl, ethyl, 15, 118-20/0.3, 1.5281/13; *iso*-propyl, methyl, 66, 154-6/0.5, 1.5570/15; *n*-pentyl, ethyl, 15, 104-8/0.2, 1.5357/13.

## c. Diethyl 2-[2-thienyl(2)-1-ethoxycarbonyl-alkyl]-phosphorothionate (XII, XIII, XIV, XV and XVI).

A mixture of 10 g ethoxycarbonylmethyl-thienyl(2)-carbinol, 9.5 g diethyl phosphorochloridothionate and 4 g pyridine in 30 ml toluene was refluxed for 3 hrs. The reaction mixture was washed well to remove pyridine-salt, dried over sodium sulfate, concentrated and distilled. Diethyl 2-[2-thienyl(2)-1-ethoxycarbonylethyl]-phosphorothionate, b. 122°/0.4 mm,  $n_D^{14}$  1.5756, was obtained in 47% yield. Similarly prepared were (R, R'', % yield, b.p./mm and  $n_D/^\circ C$  of  $C_4H_3S-C(R)(CH_2COOEt)OP(S)(OR'')_2$  given): methyl, ethyl, 44, 113-18/0.2, 1.5678/14; ethyl, methyl, 41, 128-31/0.5, 1.5440/15; *n*-propyl, methyl, 28, 138-41/0.5, 1.5418/15; *iso*-propyl, methyl, 33, 131-4/0.5, 1.5405/15.

## d. 0, ^-Dialkyl S-[thienyl(2)-methyl]-phosphorodithioate (XVII, XVIII and XIX).

Potassium 0,0-diethyl phosphorodithioate<sup>7),8)</sup> (18 g) was dissolved in 10 ml methylethyl ketone and heated with 10 g thienyl(2)-methyl chloride in 50 ml benzene for 3 hrs. The reaction mixture was removed from salts, concentrated and distilled under reduced pressure to give 10.5 g (47.7%) 0,0-diethyl S-[thienyl(2)-methyl]-phosphorodithioate (XVII), b. 153-8°/1 mm,  $n_D^{20}$  1.5700. By the same procedures 37% 0,0-dimethyl S-[thienyl(2)-methyl]-phosphorodithioate (XVII), b. 125-9°/0.5 mm,  $n_D^{15}$  1.5738, and 20% 0,0-diethyl S-[5-bromothiophenyl(2)-methyl]-phosphorodithioate (XIX), b. 145-50°/0.2 mm,  $n_D^{13}$  1.5590,

were prepared.

### Insecticidal evaluation.

#### House fly.

The adults of house fly, *Musca domestica vicina* MACQUARDT, were made contact on a filter paper (11 cm diameter) impregnated with 2.5 ml of the diluted test compounds in a petri dish at 30°C. About 70 flies were used for each plot with 4 replicates, and the mortality at 24 hrs. after treatment was observed. The mortality corrected by Abbott's formula was transformed into probit, and LD-50 values were obtained from the regression lines on a probit *versus* log scale of dosage on a section paper.

#### Azuki-been weevil.

The adults of Azuki-been weevil (*Celiosobruchus chinensis* L.), were made contact with test compounds in a petri dish (9 cm diameter) at 28°C. The mortality at 24 hrs. after treatment was observed, and LD-50 values were obtained from the regression lines on a probit *versus* log-dosage paper.

### REFERENCES

- 1) JOHNSON, J. R. and MAY, G. E., Org. Syntheses Coll. Vol. 2, 8.
- 2) WIBERG, K. B., Org. Syntheses 29, 87.
- 3) WIBERG, K. B. and McSHANE, H. F., Org. Syntheses 29, 31.
- 4) Ichiro, HIRAO, *Yakugaku-Zasshi* 73, 1024 (1953).
- 5) PISHCHINUKA, Ber. 41, 3854 (1908).
- 6) FLETCHER, J. *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 70, 3943 (1948),
- 7) BOWMAN, J. S. and CASIDA, J. E. Agr. Food Chem. 5, No. 3, 192 (1957).
- 8) CASSADAY, J., U. S. P. 2, 578, 651.

### ACKNOWLEDGEMENT

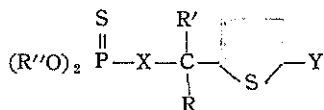
The authors wish to express their sincere gratitude to Mr. Masayoshi GODA, the chief entomologist of Yashima Chem. Ind. Co., for his kind cooperation in the biological experiments.

## 要 旨

### チオフェン基をもつ有機リン酸エステル

久保博司・俣野修身・佐藤六郎

チオフェンを出発原料として、第1図のようなルートを經由して、次のような一般式をもつ新しいタイプの有機リン酸エステルを合成した。



ここで R, R' および R'' は水素, アルキルまたはカルボエトキシメチル基を示し, X は酸素または硫黄原子, Y は水素またはハロゲンを示している。

合成された有機リン酸エステルの収量, 沸点および屈折率などの物理恒類と, イエバエ成虫およびアズキゾウムシ成虫に対する殺虫試験の結果はそれぞれ第1表にまとめられている。

## ナミハダニ *Tetranychus telarius* (L.) 卵に対する薬剤処理時期の相違が胚子発育停止時期に及ぼす影響

(各種薬剤のハダニ類防除機構に関する研究 第2報)

松谷茂伸・菅原寛夫

著者らは、前報<sup>1)</sup>において各種殺虫剤の処理によるナミハダニ *Tetranychus telarius* (L.) 卵の胚子発育停止時期について報告した。その結果、DNBP では処理後短

間に胚子発育は停止し、パラチオン (エチル) およびマラソンでも処理後比較的早い時期に胚子発育の停止がおこるが、他の薬剤では、いずれも殆んど胚子発育が完



了する時期になってから、発育の停止がおこることが認められた。しかし、この実験においては、薬剤の処理はすべて産卵後第1日目に行われた。そこで、これに引き続いて、薬剤処理時期を変えることによって、胚子発育の停止時期がどのように影響されるかについて行った実験の結果を報告する。

実験材料および方法

実験に供試したハダニは、前報と同じナミハダニ *Tetranychus telarius* (L.) である。供試薬剤は、前報の実験において比較的早い時期に胚子発育の停止をおこさせたパラチオン (エチル)、マラソンおよび DNBP を用いた。すなわち、これらの薬剤では、薬剤処理時期と胚子発育停止時期との関係が明確に現われると考えられたからである。

薬剤の処理は、産卵後第1日、第3日、第5日および

第7日の4つの卵群に分けて行なった。実験方法はすべて前報の通りである。

実 験 結 果

実験結果は第1表に示す通りである。

産卵後第1日目に薬剤を処理したものについては、前報<sup>1)</sup>と殆んど同様の結果をえたが、DNBPについては、より早い時期に胚子発育が停止するものが認められた。

つぎに、産卵後第3日、第5日および第7日に薬剤を処理した場合について述べると、パラチオン (エチル) およびマラソンでは、薬剤処理時期がおそくなるにつれて胚子発育の停止時期が次第におそくなるのが認められたが、薬剤処理から胚子発育停止までの期間は、発育のすすんだ卵に薬剤を処理した場合の方が、明らかに短くなることが認められた。また、薬剤の処理時期がおそくなると、相当数の卵で胚子発育を完了し、幼虫がふ化

第1表 薬剤処理時期と胚子発育停止時期との関係

Table 1. Relation between the time of treatment with chemicals and the embryonic stage killed.

Chem.	Days after oviposition	1	2	3	4	5	6	7	8	Soon after hatching
DNBP	0.1	×	○	◎	○	○	○	○	○	
	0.02	×		○	◎	○	○	○	○	
	0.1			×	○	◎	○	○	○	
	0.02			×		◎	○	○	○	
	0.1					×	◎	○	○	
	0.02					×	○	◎	○	○
Malathion	0.1	×				○	◎	○	○	
	0.02	×					○	◎	○	
	0.1			×		○	◎	○	○	
	0.02			×			○	◎	○	○
	0.1					×	○	◎	○	○
	0.02					×		◎	○	○
Parathion (ethyl)	0.1	×				○	◎	○	○	
	0.02	×					○	◎	○	
	0.1			×			○	◎	○	
	0.02			×			○	◎	○	
	0.1					×		◎	○	○
	0.02					×		○	◎	○

- × The time of treatment
- The embryonic stage killed
- ◎ The embryonic stage killed in higher percentage

してくるのが認められたが、これらの幼虫は、ふ化後間もなく死亡した。しかし、このようなふ化直後幼虫の死亡については、卵期にうけた薬剤の影響であるか、ふ化後に葉上に残留する薬剤に接触するためにおこったものであるかは不明である。つぎに、胚子發育の停止時期は、処理された薬剤の濃度によっても異り、低濃度では相当後期まで胚子は發育するが、高濃度ではより早い時期に胚子發育は停止する。

一方、DNBP においては、薬剤処理時期がおそくなると、ほぼそれに比例して胚子發育の停止時期もおそくなり、薬剤処理から胚子發育停止までの期間には、あまり大きな変化は認められなかった。また、ふ化直後に死亡する幼虫の数も少なかった。

### 考 察

以上に示したように、DNBP とパラチオン（エチル）およびマラソンでは、いくつかの点でちがった傾向を示している。すなわち、薬剤処理から胚子發育停止までの期間が、パラチオン（エチル）およびマラソンでは薬剤処理時期がおそくなるにつれて短くなるが、DNBP ではあまり変化しない。また、ふ化はするがその後間もなく死亡する幼虫が、パラチオン（エチル）およびマラソンでは相当数認められたが、DNBP では少なかった。

ところで、ナミハダニ卵に対する薬剤の毒作用の強さは薬剤によって異なっており、DNBP はパラチオン（エチル）およびマラソンと比較して、 $LC_{50}$ 値が約 $1/6$ である。このように、前者は後者よりも高い殺卵率を示す濃度で実験されたことが、上記のような發育停止時期における薬剤間の差に一部関係しているかもしれない。すなわち、薬剤処理から胚子發育停止までの期間は、成幼虫の殺虫試験における致死時間に相当するものと考えられる。それゆえ、高い殺卵率を示す濃度において試験された DNBP では、パラチオン（エチル）およびマラソンより薬剤処理後短時間で胚子發育が停止するために、処理から停止までの期間に顕著な差が見出しにくいかもしれない。同様に、ふ化直後幼虫の死亡が卵期に処理された薬剤によると考えれば、卵に処理された DNBP の作用が幼虫期まで遅延することも少いと考えられる。しかし、たとえこのような疑問点があるとしても、第1表からみて DNBP とパラチオン（エチル）およびマラソンのナミハダニ卵に対する作用速度には、濃度の影響以上の本質的な差があると推定されるが、この点をより明確にするためには、ナミハダニ卵に対して各薬剤が同程度の殺卵効果を示すように、濃度の条件を考慮した実験を行な

う必要があると考えられる。

すでに第1報<sup>1)</sup>でも報告し、本報の実験結果からもわかるように、ナミハダニ卵に薬剤を処理してから胚子發育を停止させるまでの期間は、薬剤の処理時期および濃度によって異なるが、DNBP 以外の薬剤では相当長い期間が必要である。このようなずれが起る原因については、Potter *et al.*<sup>2)</sup> もすでに論じているが、次のような要因が考えられる。

1) 薬剤の卵内への滲透がゆるやかなために、胚子發育を停止させるのに必要な量の薬剤が作用点に達するのに長い時間を要する。

2) 薬剤がリポイド層などに蓄積されて、初期には作用せず、後期になってリポイド層や embryonic membranes が胚子に吸収同化された後、薬剤は胚子に作用をはじめめる。

3) 薬剤は、胚子發育の初期から作用しているが、初期には作用をうけた組織または酵素が必要不可欠のものでないため致死作用としてはあらわれない。

4) 作用点となる組織が初期には分化せず、これが分化してから薬剤の作用がはじまる。

5) 胚子發育の初期には、作用点の薬剤に対する感受性が低いが、胚子の發育につれて、酵素活性などの変化により薬剤感受性が增大する。

胚子發育停止時期と濃度との関係を、これらの要因との関連において考察すると 1)、および 5) の場合は、処理濃度を高くして作用点に達する薬量を多くすれば、發育はより早い時期に停止すると考えられるが、2)・3)・4) の場合には、致死濃度以上においては、胚子發育停止時期に対する濃度の影響は小さいものと思われる。前報の実験において、胚子發育が殆んど完了してから發育停止をおこさせた薬剤を、より高濃度で卵に処理した場合に胚子發育の停止時期が早くなるかどうかは、上記のような要因との関連において興味のある問題である。

一方、薬剤の処理時期を変えることにより、胚子發育の停止時期および処理から停止までの期間が変化することを、上記1)~5)の要因との関連において考察すると、2)・3)・4) の場合には、胚子發育停止はある一定の stage より早くはおこりえず、薬剤処理時期をこの期間内で変化させても、胚子發育停止時期はほぼ一定であると考えられる。しかし、本報の実験結果でもわかるように、これらの薬剤では胚子發育停止時期は薬剤処理時期の影響をうけて変化している。この点より考えて1)または5)の要因が、胚子發育に伴なって変化しながら、影響を及ぼしていると推定される。換言すれば、a). 薬剤の卵内へ

の滲透の難易は胚子の發育に伴なって変化する。これは、薬剤の卵内への滲透を阻止する方向に働くと考えられる shell layers および embryonic membranes の構造および性質が胚子發育に伴なって変化する (BEAMENT<sup>3)</sup>, BEAMENT and LAL<sup>4)</sup>) ためと考えられる。b) 胚子發育に伴なって卵の酵素活性などが変化する (ABUL-HAB and STAFFORD<sup>5)</sup>) ために、作用点における薬剤感受性が増大する。したがって、同一薬量が作用点に達しても致死時間が増大する。これら卵内における変化の他に、卵殻表面の物理性が時間の経過と共に変化するために、薬剤の処理時期によって薬剤の付着量が増大することも考えられる。このような幾つかの要因がからみ合って、第1表に見られるような結果があらわれたものと考えられるが、これらの中、いずれが主要な要因として働いているかは薬剤によって異なっているものと推定される。ただ、2)・3)・4)は、胚子發育に伴なって大きく変化すると考えられないから、胚子發育停止時期が遅延する原因としては考えられるが、上記のような変動の原因にはあまり関係がないものと考えられる。

パラチオン (エチル) およびマラソンでは、胚子發育に伴なって薬剤の滲透に対する卵の抵抗が減少するか、作用点の薬剤感受性が増大するために、薬剤処理時期がおそくなる程、処理から停止までの期間が短くなるが、DNBP では処理濃度の点に多少検討すべき余地はあるが、主として上記要因の影響が小さいために、処理から停止までの期間に顕著な差が認められなかったものと考えられる。

## The Relation Between the Time Treated with Chemicals and the Time Killed in the Embryonic Development of the Eggs of Two-spotted Spider

### Mite, *Tetranychus telarius* (L.)

Studies on the mechanism of controlling the spider mites with chemicals No. 2

By Shigenobu MATSUTANI and Hiroo SUGAWARA

In order to have some information on the stage at which embryonic development was stopped by treatment with chemicals at the different ages of the eggs of two-spotted spider mite, *Tetranychus telarius* (L.), laboratory experiments were carried out with Parathion (ethyl), Malathion and DNBP.

The results were following.

## 摘 要

パラチオン (エチル), マラソンおよび DNBP を用いて、ナミハダニ *Tetranychus telarius* (L.) 卵の胚子發育停止時期に及ぼす薬剤処理時期の影響について実験した。

その結果、パラチオン (エチル) およびマラソンにおいては薬剤処理時期がおそくなる程胚子發育停止時期もおそくなるが、薬剤処理から胚子發育停止までの期間も短くなることが認められた。また、これらの薬剤においては、後期に薬剤を処理した場合には相当数の卵から幼虫がふ化してくるが、これらの幼虫はその後間もなく死亡する。一方、DNBP においては、薬剤処理時期がおそくなると、ほぼそれに比例して胚子發育停止時期もおそくなり、薬剤処理から胚子發育停止までの期間には、前者に見られるような顕著な差は認められなかった。また、ふ化直後死亡する幼虫数も少なかった。

## 引用文献

- 1) 松谷茂伸・菅原寛夫, 農薬検報 5, 58 (1959).
- 2) POTTER, C., LOAD, K. A., KENTEN, J., SALKELD, E. H. and HOLBROCK, D. V., Ann. Appl. Biol. 45, 361 (1957).
- 3) BEAMENT, J. W. L., Ann. Appl. Biol. 38, 1(1948).
- 4) BEAMENT, J. W. L. and LAL, R., Bull. Ent. Res. 48, 109 (1957).
- 5) ABUL-HAB, K. and STAFFORD, E. M., J. Econ. Ent. 54, 591 (1961).

In the cases of Palathion (ethyl) and Malathion, as the stage treated with chemicals delayed, the embryonic development was stopped later and the duration between the treated and killed time became shorter. In application of these chemicals, it was showed that the larvae were hatched from a considerable number of the treated eggs if the treated

timing was late, but some of them died soon after hatching.

On the other hand, in application of DNBP the stage killed delayed as the treated time became

later, but the periods from the treated to the killed time were not so varied. In application of DNBP, it was showed that only a small number of larvae were hatched from the treated eggs.

## ナミハダニ *Tetranychus telarius* (L.) 卵の耐薬性に及ぼす卵令期の影響

(各種薬剤のハダニ類防除機構に関する研究 第3報)

松谷 茂伸・菅原 寛夫

ハダニ類および昆虫類の卵の耐薬性が、薬剤の処理時期によって異なることについては、すでにいくつかの報告がなされている。卵令期による耐薬性の変化を胚子発育に伴う卵殻などの構造の変化(薬剤の透過などに関係すると考えられる)および胚子における組織の分化、あるいは酵素活性の変化(作用点の問題)との関連において実験することは非常に興味のある問題である。しかし、卵令期による耐薬性の変化ということだけを見ても、薬剤のスクリーニングや薬剤防除に際して、充分考慮されなければならない基礎的な問題である。

著者らは、前報<sup>1)</sup>において、ナミハダニ *Tetranychus telarius* (L.) 卵の胚子発育および薬剤による胚子発育停止時期について報告し、薬剤処理から胚子発育停止までの期間が薬剤処理時期によって変化することを認めた。そこで、さらに各種薬剤に対するナミハダニ卵の耐薬性が、胚子発育に伴ってどのように変化するかを知るために二三の実験を行なった。

### 実験材料および方法

実験に供試したナミハダニ *Tetranychus telarius* (L.) は、実験室内においてインゲンマメを寄主として累代飼育されてきたものである。

寄主植物には、6 cm ポットに育成したインゲンマメの第1本葉のみを残し、他の葉を切除したものをを用いた。この第1本葉に、上記のナミハダニの雌成虫を、1葉当り20頭接種し、24時間産卵させることによって、ほぼ一定の卵令期のナミハダニ卵をえた。産卵およびその後の incubate の条件は、第1報<sup>1)</sup>におけると同様にして、耐薬性の変化を第1報に記した胚子発育の状態と対比できるように考慮した。薬剤の処理は、卵群がそれぞれ1~24, 25~48, 49~72, 73~96, 97~120, 121~144および145~168時間の卵令期に達した時に行なった。薬剤の

処理方法は、水で所定濃度に希釈した薬液に、各群の卵をインゲンマメの葉とともに15秒間浸漬した。濃度段階は通常5段階とし、1濃度3区制で2回のくり返しを行なった。1区の卵数は100卵前後のものが多かった。

殺卵率は、無処理区の卵がふ化を終ってから、双眼顕微鏡下で調査した。この場合、幼虫が卵殻から完全に抜け出さずに死んでいるものまでを未ふ化卵とした。したがって、幼虫が卵殻から抜け出して間もなく死んでいるものは、ふ化卵として扱った。

実験に供試した薬剤は、パラチオン(エチル)、マラソン、EPN、フェンカプトン、DNBP、テデオン、オベックスおよびクロロベンジレート各乳剤形態のものである。

### 実験結果

前記の方法によって、各卵令期の卵群について LC-50 を求め、1~24時間の卵令期の LC-50 を1として、各卵令期の LC-50 との比を求め、これによって、各卵令期の相対的な耐薬性を表わした。このような方法によって実験結果を図示すれば、第1~5図に示す通りである。また各薬剤の回帰直線の勾配が卵令期によって変動するものがみられたが、その結果は第1表に示す通りである。

これら全体を通して、ナミハダニ卵の耐薬性は、卵令期によってかなり変動するが、その変動の幅や型は薬剤の種類によって異なっていて、一定ではないことがわかる。各種薬剤についての変動傾向は次の通りである。

1) パラチオン(エチル)およびマラソン(第1図)。両薬剤とも、ナミハダニ卵に対する毒作用はあまり強くなく、しかも卵令期の経過に伴う耐薬性の変動は、全く同じ傾向を示す。すなわち、49~72時間の卵令期の卵の耐薬性が最も弱く、その後徐々に強くなってゆく。しかし、その変動の中は、パラチオン(エチル)で0.62~1.64、マラソンで0.58~1.59で、それ程大きくない。一

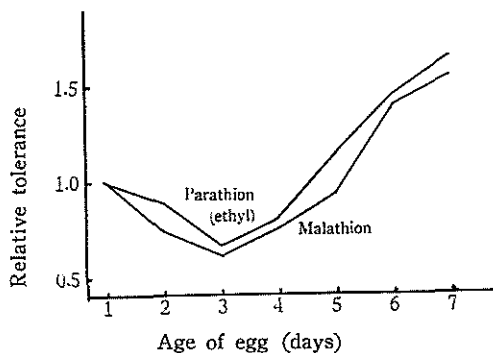
第1表 各卵令期のナミハダニ卵に対する殺虫剤の  
回帰直線の勾配

Table 1. Slopes of regression lines of the insecticides in different ages of eggs of two-spotted spider mite

Chem.	Age of egg						
	1	2	3	4	5	6	7
Parathion (ethyl)	1.09	1.16	1.10	1.07	1.20	1.32	1.39
Malathion	2.02	2.14	2.21	2.05	2.09	1.99	2.41
Phencapton	3.45	3.08	2.23	2.11	2.17	1.83	1.67
EPN	1.04	1.14	1.23	1.07	1.10	1.08	1.05
D N B P	1.63	1.70	1.55	1.59	1.51	1.62	1.68
Chlorobenzylate	1.53	1.48	1.42	1.13	1.26	1.08	0.91
Tedion	1.24	1.16	1.31	1.24	14.9	1.85	2.48
Ovex	1.29	1.20	1.35	1.26	1.37	2.02	2.30

第1図 パラチオン (エチル) およびマラソンに対する  
ナミハダニ卵の耐薬性の卵令期による変動

Fig. 1. Relative tolerance of different ages of two-spotted spider mite egg to Parathion (ethyl) and Malathion.



The values of  $LC_{50}$  of Parathion (ethyl) and Malathion at 1 day-old egg are 0.034 and 0.037 percent, respectively.

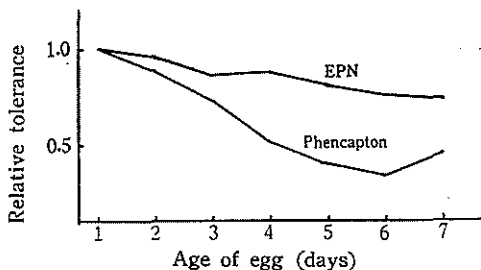
方、薬剤処理時期がおそくなると、ふ化直後に死亡する幼虫数が多くなる。ふ化直後幼虫の死亡については、前報<sup>2)</sup>に述べたような疑問を含んでいるが、これをも殺卵効果と考えるならば、これらの薬剤に対する卵の耐薬性は、後期にゆく程低下し、Hrusz<sup>3)</sup>、福田・真梶<sup>4)</sup>の結果と合致する。

一方、回帰直線の勾配は、両薬剤とも後期においては、やや急になるが、ふ化直後幼虫の死亡をも殺卵効果と考へた場合には、この勾配は逆にゆるやかになる。

2) フェンカプトンおよび EPN (第2図)

第2図 EPN およびフェンカプトンに対するナミ  
ハダニ卵の耐薬性の卵令期による変動

Fig. 2. Relative tolerance of different ages of two-spotted spider mite egg to EPN and Phencapton.



The values of  $LC_{50}$  of EPN and Phencapton at 1 day-old egg are 0.0084 and 0.00096 percent, respectively.

同じ有機燐剤ではあるが、パラチオン (エチル) やマラソンとは異なった傾向を示す。すなわち、これらの薬剤は、ナミハダニ卵に対して強い毒作用を示す。卵の耐薬性は、胚子発育がすすむにつれて、次第に低下するが、その変動幅は、フェンカプトンではやや大きく、1.0~0.34であるのに反し、EPN では非常に小さく、1.0~0.73であった。第2図に見られるように、フェンカプトンでは第7日に卵の耐薬性が増加しているように見えるが、これは、薬剤処理があまりふ化期に接近しすぎたためと思われる (定温器が完全でないため、室温の影響で卵期間がやや短縮した)。

つぎに、フェンカプトンでは、回帰直線の勾配が卵令期のすすむにつれて、次第にゆるやかになる。すなわち、第1日では3.45であったが、第3日には2.23、第7日には1.67となった。しかし、EPN ではこのような現象はみられなかった。

3) DNBP (第3図)

卵令期による耐薬性の変動幅は1.0~1.56で小さい。胚子の発育に伴って、徐々にではあるが、ほぼ直線的に耐薬性が増大するのが認められた。

4) クロロベンジレート (第4図)

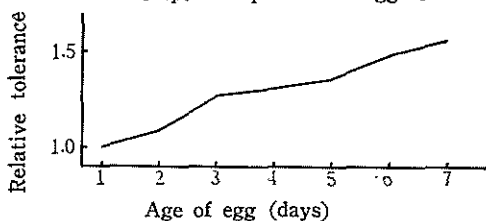
卵令期による耐薬性の変動はやや大きく、1.31~0.37の範囲で動く。すなわち、第3日までは卵の耐薬性はやや増加するが、その後は次第に低下する。

回帰直線の勾配は、第1日の卵群では1.53であったものが、第6日以降ゆるやかになり、第7日には0.91となった。

5) テデオンおよびオベックス (第5図)

第3図 DNBP に対するナミハダニ卵の耐薬性の卵令期による変動

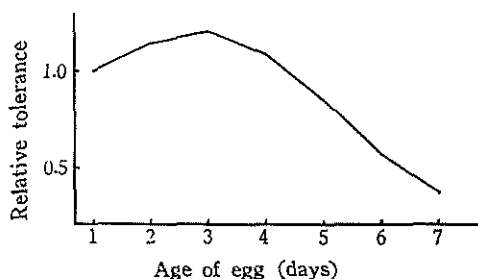
Fig. 3. Relative tolerance of different ages of two-spotted spider mite egg to DNBP.



The value of  $LC_{50}$  of DNBP at 1 day-old egg is 0.0056 percent.

第4図 クロロベンジレートに対するナミハダニ卵の耐薬性の卵令期による変動

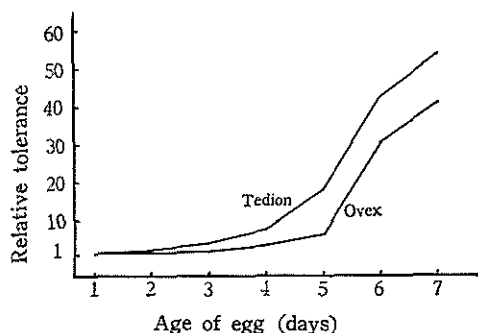
Fig. 4. Relative tolerance of different ages of two-spotted spider mite egg to Chlorobenzylate.



The value of  $LC_{50}$  of Chlorobenzylate at 1 day-old egg is 0.0098 percent.

第5図 テデオンおよびオベックスに対するナミハダニ卵の耐薬性の卵令期による変動

Fig. 5. Relative tolerance of different ages of two-spotted spider mite egg to Tedion and Ovex.



The value of  $LC_{50}$  of Tedion and Ovex at 1 day-old egg are 0.0026 and 0.017 percent, respectively.

これらの薬剤に対するナミハダニ卵の耐薬性は、卵令期により非常に大きく変動する。すなわち、産卵直後から中期にかけては、卵の耐薬性は小さいが、胚子の発育につれて、耐薬性は徐々に増大し、ふ化1~2日前の卵においては強い耐薬性を示した。その変動幅は、テデオンで約41倍、オベックスでは約54倍であった。耐薬性の増大とともに、回帰直線の勾配が急になり、テデオンでは、第1日の1.24が第7日には2.48となり、オベックスでは、1.29が2.30となった。

### 考 察

卵の耐薬性の変動を  $LC_{50}$  で比較することは、第1表に示すように、卵令期によって回帰直線の勾配が変化する薬剤もあるので、必ずしも妥当であるとは考えられない。しかし、他に適当な方法が見出せなかったため、やむを得ず、このような方法によって比較を行なった。

上記のような方法によって表わされたナミハダニ卵の耐薬性は、卵令期によって一様ではない。ここで考えなければならぬことは、ふ化直後幼虫の死亡をどのように取扱うかによって、耐薬性の変動が第1~5図に示された結果とは、かなり異なったものになるということである。この実験においては、ふ化直後幼虫の死亡の原因が不明であるために、これらは、一応ふ化卵と見なして取扱ったが、もし、その原因の一部として、卵期に処理された薬剤の後作用が関係している場合には、ふ化直後幼虫の死亡も、一部殺卵作用にもとづくと考え方が妥当であろう。そして、ふ化直後に死亡した幼虫と未ふ化卵を含めたものを殺卵とした場合には、パラチオン（エチル）およびマラソンでは、卵の耐薬性は、卵令期がすすむにつれて低下する。また、テデオンおよびオベックスでは、変動の傾向は変わらないが、その幅はややせまくなる。さらに、これらの薬剤に対する回帰直線の勾配も、第1表に示されたものとは異なったものになる。このように、ふ化直後幼虫の死亡原因を明らかにすることは、非常に重要な問題であるが、現在までの実験においては、この点について明らかにすることはできなかった。

上記のような点が未解明のままではあるが、この実験を通じて見られた二三の傾向について述べると、

1) テデオンおよびオベックスのような殺成虫力をもたない薬剤では、ふ化1~2日前になると、卵の耐薬性がいちじるしく増大するのに反し、殺成虫力を有する薬剤に対しては、このような変動ははるかに小さい。

2) 耐薬性が変動する場合には、産卵後3~4日目が一つの変換点となることが多い。そして、この時期は、

胚子発育の状態からみると、ちょうど器官が分化し始める時期にあっている。

3) 卵の耐薬性が大きく変動する場合には、卵の耐薬性の増大に伴って、回帰直線の勾配が急になり、低下する場合には、ゆるやかになる。

しかし、これらの点については、さらに実験を行なって、上述の疑問点を解明したうえで、あらためて考察したい。

つぎに、ナミハダニ卵の耐薬性が卵令期によって変動する原因について考えると、前報<sup>2)</sup>においてもふれたように、胚子発育に伴っておこる 1) 卵殻などの構造および性質の変化による薬剤の卵内への浸透に対する卵の抵抗の変化、または、卵殻表面の物理性の変化による薬剤付着量の変化、2) 作用点における薬剤感受性の変化、さらに、これらの要因と卵内における薬剤の蓄積・分解などの要因がからみ合って、耐薬性が変動するものと考えられる。

BEAMENT<sup>5)</sup>は、リンゴハダニ *Panonychus ulmi* (Koch) の夏卵の waterproofing が、産卵後約6時間目に、急に強くなることを観察し、これは、卵における組織の分化によって、卵殻の内側に oily layer が完成するためであると推論している。また、BEAMENT and LAL<sup>6)</sup>は、*Pieris brassicae* (L.) 卵において、コリオン層の内側にあるリポイド層が waterproofing の役目を果たすとともに、有毒物質の卵内への浸透を阻止する方向に働くこと、さらに、水溶性の薬剤に対しては、産卵後数時間は卵の耐薬性が低く、その後急に増大するが、油溶性の物質に対しては、このような影響のないことを観察している。ナミハダニ卵における卵殻の構造・性質などについては不明であるが、当然このような変化がおこるものと考えられ、これが薬剤の卵内への浸透に影響を与え、耐薬性変動の一つの要因になるものと考えられる。著者らが、産卵後数時間の卵における耐薬性の変化について現在までに行なった予備的実験によれば、水溶性の強い DNBP に対しては、産卵後5時間以内の卵では24時間前後のものと比較して耐薬性が約 $\frac{1}{3}$ であったが、油溶性の強い他の薬剤では、このような差はほとんど認められなかった。このことから薬剤の性質によって、同じ卵殻の構造・性質などの変化に対して、全く異なった結果を示すということは充分考えられる。

一方、作用点の問題については、現在までの所殆んど不明であるが、一例をあげると、ABUL-HAB and STAFFORD<sup>7)</sup> がナミハダニ卵におけるコリンエステラーゼの活性は、胚子発育の初期から現われるが、神経組織

の分化に伴って、後期にゆく程強くなる述べているように、卵における酵素活性などは、胚子発育につれて変化すると考えられる。このような変化は、当然、薬剤に対する卵の感受性に影響すると考えられる。しかし、ナミハダニ卵に対する薬剤の作用様式は、薬剤の種類によって相違すると考えられるので、胚子の発育時期、すなわち、卵令期と卵の耐薬性の関係も一様ではないと推定される。

### 摘 要

卵令期の異なったナミハダニ *Tetranychus telarius* (L.) 卵に薬剤を処理した場合、卵令期によって、卵の耐薬性がどのように変動するかを、数種の殺虫剤を用いて実験した。

1) 各薬剤に対する卵の耐薬性の変動の傾向をみると、EPN および DNBP では、卵の耐薬性の変動は小さかったが、テデオンのような殺虫剤では、ふ化1~2日前になると卵の耐薬性がいちじるしく増大した。一方フェンカプトンでは、卵令期がすすむにつれて、卵の耐薬性は低下した。また、クロロベンジレートでは、3日目を頂点とする凸型を、パラチオン(エチル)およびマラソンでは、3日目を底とする凹型を示したが、後の2薬剤では、後期に薬剤を処理すると、ふ化直後に死亡する幼虫が多数認められた。

2) テデオンのような殺虫剤では、ふ化1~2日前になると、卵の耐薬性がいちじるしく増大するが、殺虫力を有する薬剤では、このような顕著な変化は認められなかった。

3) 耐薬性が変動する場合には、産卵後3~4日目が交換点となるものが多い。そして、この時期は、卵内において器官が分化し始める時期にあたる。

4) 耐薬性の変動が大きい場合には、耐薬性の増大に伴って、回帰直線の勾配が急になり、低下する時は、ゆるやかになる。

### 引用文献

- 1) 松谷茂伸・菅原寛夫, 農業検報 5, 58 (1959)
- 2) 松谷茂伸・菅原寛夫, 農業検報 6 (印刷中)
- 3) HINTZ, H. W., J. Econ. Ent. 46, 112 (1953)
- 4) 福田仁郎・真紀徳純, 東海近畿農試園芸部臨時報告 3, 23 (1956)
- 5) BEAMENT, J. W. L., Ann. Appl. Biol. 38, 1 (1948)
- 6) BEAMENT, J. W. L. and LAL, R., Bull. Ent. Res. 48, 109 (1957)
- 7) ABUL-HAB K. and STAFFORD, E. M., J. Econ. Ent. 54, 591 (1961)

The Effect of the Age of Egg of Two-spotted Spider Mite, *Tetranychus telarius* (L.) on Its Tolerance to Chemicals

Studies on the mechanism of controlling the spider mites with chemicals No. 3

By Shigenobu MATSUTANI and Hiroo SUGAWARA

Laboratory experiments were carried out with several chemicals against the different ages of eggs of two-spotted spider mite, *Tetranychus telarius* (L.). Parathion (ethyl), Malathion, Phencapton, EPN, DNBP, Chlorobenzylate, Tedion and Ovex were applied as emulsion.

The results were following.

1) The shape and magnitude of the tolerance/age curves obtained were varied with the chemicals. In application of DNBP and EPN a very little difference of tolerance of egg were noticed. But in application of Tedion and Ovex, tolerance of egg was increased greatly 1 or 2 days before hatching, and the 7 day-old egg approximately 54 and 41 times as resistant as the 1 day-old egg, respectively. In case of Phencapton, the general trend of tolerance was found to decrease gradually from the 1 day-old egg to the 7 day-old egg. In Chlorobenzylate, tolerance appeared to increase slightly from 1 day to 3 days and then decrease to 7 days after oviposition. In Parathion (ethyl) and Malathion, tolerance of egg appeared to decrease from 1 to 3 days and then

increase to 7 days after oviposition, in these cases larvae were hatched from a considerable number of treated eggs when the older eggs were treated but some of them died soon after hatching.

2) In application of chemicals which have not activity on adults such as Tedion and Ovex, the tolerance of egg to chemicals increased greatly 1 or 2 days before hatching. But in application of the chemicals having activity on adults the tolerance of egg to chemicals were varied a little, comparing with Tedion and Ovex.

3) The magnitudes of tolerance were varied greatly in Tedion, Ovex, Phencapton and Chlorobenzylate. When they increased as in case of Tedion and Ovex the slopes of regression lines became steeper and when they decreased as in case of Phencapton and Chlorobenzylate the slopes of regression lines became shallower.

4) When the magnitudes of the tolerance were varied, it appeared that critical stages were in 3 or 4 days after oviposition and in these stages of eggs, the development of organs started.

水田における数種殺虫剤施用のヒメダカ *Oryzias latipes* (TEMMINCK et SCHLEGEL) に対する影響

松 谷 茂 伸

我が国における農薬使用量の大半は、水稻を対象としている。これらの農薬は、病害虫防除において多大の効果を収めているが、反面において、魚類などに対してかなり高い毒性を示すものが多く、この点を見逃すことはできない。

近年、この方面の研究は急速に進歩しつつあるが、まだ充分とは云えない状態である。現在、最も問題となっているのは PCP などの除草剤であるが、水面施用法などのように、労力の節減されるかわりに、多量の有効成分が投下される施用法が広く普及されてくると、今まで



問題にならなかった農薬でも、魚類などに対して影響を及ぼす場合が生ずるのではないかと考えられる。著者は昭和32年に数種の殺虫剤を水田状態下に施用した場合のヒメダカに対する影響について実験したので、その結果について報告する。

### 実験材料および方法

実験に用いた魚は、市販のヒメダカ *Oryzias latipes* (TEMMINCK et SCHLEGEL) で、体長4~5cm、平均体重0.48gのものである。

#### 1) 水稻を植えたコンクリートわくにおける試験

60×60×60cmのコンクリートわくを屋外に設置し、これに約50cmの深さに荒木田土(粘質土)を入れ、1ワク当り水稻5株を植えた。水深は5cmになるように井戸水を用いて調節したが、屋外のために、げししい降雨のあった場合などには水深が深くなったり、わくから水があふれたりすることもあった。試験期間は、1957年8月28日から9月30日までの約1ヶ月間であった。その間の水温は、初期には、ほとんど30℃以上であったが、9月中旬以降は25~30℃のことが多かった。

供試薬剤は、デルドリン、アルドリン、ヘプタクロール、BHC およびパラチオン(エチル)の各市販乳剤である。水で0.1%に希釈したこれらの薬剤を10アール当り50g、100g、および200g相当量ずつ、各ワクに注入

した。試験はすべて2区制とし、薬剤処理当日、1日後、6日後、13日後、20日後および28日後の6回にわたって、それぞれヒメダカ20頭ずつを放魚した。

一方、アカイエカ *Culex pipiens pallens* (COQUILLETT) の3~4令幼虫を用いて、田面水中の有効成分濃度の測定を行なった。その方法は夾雑物が混入しないように注意して田面水を取り、それを井戸水で1/2倍ずつに希釈したもの、および既知濃度の薬液を9cm時計皿に入れ、これにアカイエカ幼虫20頭を放飼して、時間一致死亡率直線を求め、これによって濃度の推定を行なうことにした。

#### 2) 薬剤の毒性消失要因を知るための試験

5万分の1ポットを用いて、次のような実験を行った。すなわち、ポットに水だけを入れたもの、ポットの約1/3まで荒木田土(粘質土)を入れ、それに水を入れたもの、さらにこれに水稻を1株植えたものの3種類のものについて、毒性の消失経過を試験した。また、水だけを入れたポットを直射日光下および暗黒中において、毒性の消失におよぼす太陽光線の影響を試験した。これらの実験は、すべて1ポットを1区として2区制で行ない、1区当り10頭のヒメダカを供試した。

### 実験結果および考察

1) コンクリートわく水田に施用された殺虫剤のヒメダカに対する影響は第1表の通りである。

第1表 水田状態下における殺虫剤施用のヒメダカに対する影響

Table 1. Effect of application of several insecticides on *O. latipes* under rice field-like conditions.

Chem.	Days after application Exposure(days)	Mortality (%)						
		0	1	1	6	13	20	28
		Dosage(g/10a)						
		1	1	4	6	6	6	6
BHC	50	100	92.5	100	2.5			
	100	100	100	/	5.0			
	200	100	100	/	100	0		
Aldrin	50	97.5	5.0	70.0	17.5	2.5	0	0
	100	100	10.0	100	82.5	67.5	37.5	2.5
	200	100	97.5	100	100	100	100	12.5
Dieldrin	50	100	100	/	100	47.5	10.0	0
	100	100	100	/	100	95.0	35.0	10.0
	200	100	100	/	100	100	100	47.5
Heptachlor	50	100	7.5	22.5	10.0	0		
	100	100	30.0	97.5	37.5	0		
	200	100	87.5	100	50.0	0		
Parathion (ethyl)	50	0	0	0	0			
	100	2.5	5.0	7.5	0			
	200	82.5	12.5	22.5	5.0			
Control		0	0	0	0	2.5	0	0

この結果によれば、パラチオン（エチル）のヒメダカに対する毒性は 100g 区以上では非常に少なく、200g 区でも、約1週間で毒性は消失するようである。また、BHC、ヘプタクロールは処理当日は強い毒性を示すが、200g区でも約2週間で毒性は消失する。アルドリンは、初期の毒性はヘプタクロールと同じ程度で、BHC よりやや弱い、毒性の消失はゆるやかで、100g以上の薬量を投下した場合には、約1ヶ月を経過しても毒性は完全には消失しなかった。ディルドリンはヒメダカに対する毒性が非常に強く、200g 区においては、約1ヶ月を経過した後においても、なお50%近い殺魚率を示した。

このように、薬剤施用水田中のヒメダカに対しては、パラチオン（エチル）以外の薬剤は、強い毒性を示す。しかし、実際に主として問題になるのは、薬剤を施用した水田の灌漑水の溢水による水路への流亡などであり、その場合には、さらに多量の水でうすめられるため、濃度ははるかにうすくなるはずである。したがって、以上の結果から直ちに結論を出すことはできないが、実際に薬剤を使用するにあたっての一つの目安になると考えられる。

なお、橋本・菅原も観察しているように、パラチオン（エチル）区の生存魚の中には、背ビレの後端附近の

背骨が右または左にワン曲し、内出血している個体が多数見られた。

つぎに、アカイエカ幼虫を用いて、田面水中の各薬剤の濃度を測定した結果は第2表に示す通りである。

この実験は、種々の事情で正確な推定値を得ることはできなかった。この実験で得られた田面水中の各薬剤の有効成分濃度（第2表）とヒメダカの死魚率（第1表）との関係を、橋本・菅原の報告における各薬剤のヒメダカに対する  $LC_{50}$  値と比較すると、水温および処理時間が異なっているので、一概にはいえないが、かなりよく一致するよう思われる。

薬剤投下当日の各区の濃度をみると、各区とも約0.5または1.0 ppm で、投下された薬量に比例する程の差は認められなかった。また、有効成分量と田面水量より計算した濃度は、50g, 100g, 200g 区で、それぞれ、約1.0, 2.0, 4.0 ppm であり、いづれも実際に測定された濃度よりかなり高い。このことは、薬剤投下後数時間で、すでにかんりの量の薬剤が水中から消失していることを示すものであるが、その原因としては、土壌吸着、土層への移動、分解などが考えられる。

水中の有効成分濃度の経時的な変化を薬剤別にみると、パラチオン（エチル）は、他の薬剤よりも明らかに減少

第2表 田面水中における薬剤濃度の経時的变化

Table 2. Change of concentration of active ingredients in water.

Chem.	Days after application Dosage (g/10 a)	Conc. of A. I. in water (ppm)			
		0	6	14	21
BHC	50	≒0.5	≒0.1	<0.01	/
	100	≒0.5	≒0.1	<0.01	/
	200	>0.5	0.2~0.4	0.01~0.02	≒0.005
Aldrin	50	≒0.5	≒0.05	≒0.01	<0.005
	100	>0.5	≒0.1	≒0.02	<0.005
	200	0.5~1.0	≒0.2	0.02~0.04	<0.01
Dieldrin	50	<0.5	0.05~0.5	≒0.01	<0.01
	100	>0.5	0.05~0.1	≒0.01	<0.01
	200	>0.5	0.2~0.4	≒0.04	≒0.01
Heptachlor	50	≒0.5	0.05~0.1	<0.01	/
	100	>0.5	≒0.1	>0.01	/
	200	>0.5	0.2~0.4	≒0.02	≒0.005
Parathion (ethyl)	50	≒0.5	≒0.05	<0.005	/
	100	0.5~1.0	≒0.1	<0.005	/
	200	≒1.0	≒0.10	≒0.005	/

第3表 薬剤の毒性消失に及ぼす土壌および水稻の影響

Table 3. Effect of soil and rice-plant on disappearance of BHC and Dieldrin toxicity on *O. latipes*

Chem.	Dosage(g/10 a)	Days after application exposure (days)	Mortality (%)				
			0	1	1	4	6
BHC	40	water	10	15	35	15	30
		water+soil	100	25	30	10	0
		water+soil+rice plant	100	10	10	10	0
	80	water	90	100	/	55	75
		water+soil	100	85	100	35	55
		water+soil+rice plant	100	75	90	20	20
Dieldrin	40	water	100	95	100	90	80
		water+soil	100	80	100	20	10
		water+soil+rice plant	100	10	100	10	15
	80	water	100	100	/	100	100
		water+soil	100	100	/	75	90
		water+soil+rice plant	100	85	100	60	25

第4表 薬剤の毒性消失に及ぼす太陽光線の影響

Table 4. Effect of sun-light on disappearance of BHC toxicity on *O. latipes*.

Chem.	Dosage (g/10 a)	Days after application	Mortality (%)				
			0	2	4	7	10
BHC	80	sun-light	100	100	60	5	0
		dark	100	100	100	100	45

がすみやかである。その他の薬剤については、14日後および21日後において、アルドリンおよびディルドリンの方が、BHC およびヘプタクロールよりも、僅かに濃度が高く、中でもディルドリンの田面水中の濃度は高いようであった。

2) 薬剤の毒性消失の要因に関する試験の結果は、第3表および第4表に示す通りである。

この実験は、10月中旬～11月上旬に行ったために、水温が低く、そのためか殺魚率は、第1表と比較してかなり低くなっている。また、その日の天候状態による水温の変動が大きく、これが原因となったためか、殺魚率もかなり変動している。しかし、一般的に云えることは、水だけの場合は水量が多いので、初期濃度がうすいために、最初は他の区よりも低い殺魚率を示したが、その後日数が経過しても毒性は容易に低下しない。一方、土壌を入れた区では、田面水量が少く、したがって初期濃度が高いために、処理当日はいずれも100%の死魚率を示したが、その後急速に毒性が弱くなる。さらに水稻を植

えた状態では、毒性の消失が早いようである。このように、殺虫剤の魚類に対する毒性消失には、土壌および水稻が、かなり大きな役割を演じていると推定される。

一方、毒性の消失には、太陽光線が影響することは、第4表からも明らかである。この場合、太陽光線下においたポットでは、暗黒中へおいたポットよりも水温が高く(例、11月8日、太陽光線下—21°C、暗黒中—15.5°C)、殺魚率の差は、実際の濃度差よりも小さくあらわれているものと考えられる。それにもかかわらず、このような大きな差があることは、太陽光線による薬剤の分解が、薬剤の毒性消失の要因としてかなり大きな役割を演じているものと考えられる。

#### 摘 要

水稻を植えたコンクリートわくを屋外に設置し、これを用いて、数種の殺虫剤を水田に施用した場合のヒメダカ *Oryzias latipes* (TEMMINCK et SCHLEGEL) に対する影響を試験した。供試薬剤は、アルドリン、ディルドリン

ン、ヘプタクロール、BHC およびパラチオン（エチル）の各乳剤形態のものである。

その結果、パラチオン（エチル）以外の供試薬剤は、ヒメダカに対して、強い毒性を示した。BHC とヘプタクロールでは、約2週間で毒性が消失したが、アルドリンでは、薬剤投下後1ヶ月を経過しても、毒性は完全には消失しなかった。ディルドリンは、特に毒性が強く、1ヶ月後においてもかなりの毒性が残っている。

また、アカイエカ *Culex pipiens pallens* 幼虫を用いて、田面水中の薬剤濃度を測定した結果、処理当日の濃度は、各区とも約0.5または1.0ppmであった。こ

れは、田面水量と有効成分量から計算された濃度よりも相当低く、薬剤投下後数時間で、かなりの量の薬剤が田面水中から消失したことを示している。その後の減少は、パラチオン（エチル）区では早く、ディルドリン区ではおそかった。

一方、薬剤の毒性消失には、太陽光線、土壌および水稲が、それぞれかなり大きな役割を演じていると推定される。

#### 引用文献

- 1) 橋本康・菅原寛夫、応動昆5, 145 (1961)

### Summary

#### Effect of Application of Several Insecticides on *Oryzios latipes*

(TEMMINCK et SCHLEGEL) in Rice Field

By Shigenobu MATSUTANI

The effect of application of some insecticides on *Oryzios latipes* (TEMMINCK et SCHLEGEL) under rice field-like conditions were tested by using concrete pots. The insecticides applied were the emulsion of Parathion (ethyl), BHC, Aldrin, Dieldrin and Heptachlor.

All the insecticides except Parathion (ethyl) had high toxicity on *O. latipes*. The toxicity of BHC and Heptachlor practically disappeared in 2 weeks or so, but that of Aldrin remained 1 month or more. Dieldrin was highly toxic to *O. latipes* and the toxicity persisted 1 month after application.

The concentration of active ingredients in the water of these pots were traced making use of mosquito larvae and was found to be about 0.5 or 1.0 ppm and these results suggested that a considerable amount of applied insecticides disappeared from the water within a few hours after application. In Parathion (ethyl) plots, the concentration of active ingredient in the water appeared to decrease rapidly, while in Dieldrin plots it appeared slow.

It was suggested that disappearance of toxicity was considerably depend on soil, rice plant and sun-light.

### 緑豆によるアズキゾウムシの飼育

橋本 康・高橋サワ子・菅原寛夫

アズキゾウムシは飼育が簡単であるうえに、殺虫剤に対する感受性が高いので、スクリーニングテストや生物検定の供試昆虫として広く使われ、その生理生態に関する知見も少なくない。本種は一般にアズキの害虫として知られ、供試昆虫としての飼育もアズキでおこなわれて

いるが、三宅・小寺<sup>1)</sup>、石井<sup>2)</sup>らが指摘しているように緑豆、ササゲなども寄主として選択できるものである。また、種々の昆虫において飼料や飼育密度その他飼育条件の相異が生理生態的性質ひいては薬剤感受性にも影響することが知られている。アズキゾウムシについては、

内田・春川<sup>3)</sup>、石倉・尾崎<sup>4)</sup>、後藤<sup>5)</sup>などによって飼育密度の相違と薬剤感受性との関係が詳細に研究されたが、飼料の相違との関係についてはまだ報告されたものが無い。著者らは緑豆による本種の飼育法を考えるとともに、こうして飼育された本種の二三の生理生態的性質がアズキで飼育されたものとどのような相違があるか、またそれと薬剤感受性との関係などについて研究をおこなってきた。そこで、その結果を簡単に報告する。

### 実験材料と方法

最初実験に供試したアズキノムシは数年来当検査所で累代飼育してきた系統のうちから選んだ。飼料のアズキは「大納言」品種、緑豆は品種不明の市販品で色調のことなる2種を用いたが、この2種間では実験結果の差はなかった。なお、10gあたりのマメの粒数はアズキが80、緑豆が390であった。飼育容器は直径9cm、深さ6cmの腰高シャーレで、ふたには中央に直径3cmの穴のあるガラス製の円板の穴に濾紙を張ったものを用いた。これに50gのアズキあるいは緑豆を入れ、特に断わらないかぎり、羽化後24時間以内の成虫、雌雄50対を放飼した。産卵数の調査は各区から飼料5gを抽出しておこなったが、羽化成虫の調査は全個体についておこなった。羽化成虫の体重は化学天秤で測定し、10~50頭の平均をとった。殺虫試験には直径9cmのシャーレを用い1ppmの $\gamma$ -BHCアセトン溶液をこれに滴下し、アセトン蒸発後、羽化後24時間以内の成虫20頭または50頭を入れた。死虫率の調査は処理後24時間目におこない、生死の判定は石倉・尾崎<sup>4)</sup>の方法にしたがって、ピンセットで虫体を刺激した時、反応を示すものを生、示さないものを死とした。上記の飼育および実験は室温 $28^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ の当検査所恒温室においておこなった。

### 実験結果

(1) アズキあるいは緑豆50gを飼料として雌雄50対、100対、200対および400対に1週間産卵させて、次代成虫の羽化消長を調査した。結果は第1表の通りである。いずれの区においても羽化は親虫放飼後23~4日目にはじまり、約1週間続いたが、放飼虫数に関係なく、緑豆飼料区がアズキ飼料区より羽化の山が2日早く現われた。また50対区において雌雄をわけて調査したところ、第2表のように、雌雄ともに緑豆区の方が羽化の山が早く現われたが、アズキ区および緑豆区ともに雄の方が羽化が多少早いという点で同じような傾向がみられた。

第1表 アズキおよび緑豆で飼育したアズキノムシの羽化消長

Table 1. The emergence of the weevils reared on adzuki and mung bean.

	Population density	Days after incubation						
		24	25	26	27	28	29	30
Adzuki bean	50	28	131	189	234	140	81	45
	100	54	181	322	371	177	97	12
	200	91	277	378	483	231	105	16
	400	86	295	409	516	190	108	16
Mung bean	50	76	294	273	166	102	52	34
	100	47	420	293	100	25	11	10
	200	112	523	381	155	62	34	13
	400	134	530	512	460	171	59	20

第2表 50対/50gにおけるゾウムシ雌雄の羽化消長  
Table 2. The emergence of male and female weevils under the population density of 50 pairs/50g.

		Days after incubation						
		24	25	26	27	28	29	30
Adzuki bean	♂	26	88	102	120	64	43	21
	♀	2	43	87	114	76	38	24
	Total	28	131	189	234	140	81	45
Mung bean	♂	58	148	129	69	33	23	11
	♀	18	146	144	97	69	29	13
	Total	76	294	273	166	102	52	24

(2) 緑豆とアズキをそれに生みつけられた卵の数によって分類し、卵数と羽化状況との関係をみた。1個あたりの産卵数の分布は第3表に、羽化消長は第4表に示す。この結果から1ケのマメに食入している幼虫の数は羽化状況とほとんど関係のないことがわかった。

(3) 実験(1)における各区の次代成虫の羽化率と平均体重を調べた。結果は第5表に示す通りで、緑豆区、アズキ区ともに放飼虫数が増し、幼虫の飼育密度が高まるにつれて羽化率は低下し、平均体重は減少する傾向を示した。またアズキ区と緑豆区を比較すれば、各密度において緑豆区の方が羽化率は高かったが、平均体重はかえって少なく、また飼育密度に応じた体重の減少度合も著しかった。

(4) 実験(2)におけると同様に緑豆とアズキをそれに生みつけられた卵の数によって分類し、卵数と羽化率および

第3表 飼育密度と産卵分布と関係

Table 3. Relation between the population density and the number of eggs laid on beans.

number of eggs laid	Adzuki bean			
	Population density 50	100	200	400
0	0	0	0	0
1	8	1	0	0
2	12	8	1	0
3	15	16	1	0
4	9	17	2	0
5	2	6	3	2
6	1	2	6	0
7	0	1	4	4
8	0	0	10	4
9	0	0	7	7
10	0	0	6	12
11	0	0	3	10
12	0	0	1	3

number of eggs laid	Mung bean			
	Population density 50	100	200	400
0	105	59	16	2
1	75	77	37	21
2	9	40	61	37
3	1	5	51	67
4	0	1	18	38
5	0	0	3	16
6	0	0	0	5

び成虫の平均体重との関係をみたところ、第6表のような結果が得られた。すなわち、いずれのマメにおいても、卵数の増加に応じて羽化率は低下し、平均体重は減少したが、この傾向は特に緑豆区において著しかった。

(5) 実験(3)の各区において羽化した成虫を雌雄各50頭とり、大型シャーレ内で24時間、1γのγ-BHCのdry filmに接触させて、その後の死亡率をみた。結果は第7表に示す通りで、いずれのマメにおいても飼育密度が高まるにつれて、ゾウムシのγ-BHCに対する感受性は高くなることが認められた。

(6) γ-BHCに対する感受性とゾウムシの体重との関係

第4表 被産卵数と羽化消長の関係

Table 4. The relation between the numbers of eggs laid on beans and the emergence of weevils.

The number of eggs laid on bean	Days after incubation						
	24	25	26	27	28	29	39
1	0	9	30	33	19	11	9
2	6	28	43	68	34	29	17
3	9	52	96	92	73	38	19
4	6	23	56	54	71	74	35
5	2	10	32	59	34	23	9
6	0	5	13	22	15	9	2
7	0	10	18	39	22	6	3
8	0	2	8	23	21	4	0
9	2	12	32	57	21	7	1
Total	23	151	323	447	310	201	95

1	47	79	49	18	5	0	0
2	25	47	41	28	7	3	6
3	18	35	32	13	5	0	0
Total	90	161	122	59	17	3	6

第5表 飼育密度と羽化率および平均体重との関係

Table 5. The relation among population density, emergency rate and the average weight of body.

Population density (pair/dish)	Adzuki bean	
	Emergency rate (%)	Average weight of body
50	7.48	♂ 3.80 (mg)
		♀ 5.05
		mean 4.43
100	68.2	♂ 3.75
		♀ 4.09
		mean 4.33
200	62.0	♂ 3.50
		♀ 4.88
		mean 4.19
400	—	♂ 3.36
		♀ 4.35
		mean 3.86

Mung bean

Population density	Emergency rate(%)	Average weight of body	
		♂	♀
50	82.0	♂	3.54
		♀	4.98
		mean	4.26
100	70.3	♂	3.40
		♀	4.75
		mean	4.08
200	68.3	♂	3.07
		♀	3.94
		mean	3.56
400	—	♂	2.66
		♀	3.50
		mean	2.08

第6表 産卵数と羽化率および平均体重との関係

Table 6. The relation among the numbers of eggs laid, the emergency rate and the average weight of body.

Adzuki bean

Number of eggs laid	Emergency rate(%)	Average weight of body	
		♂	♀
1	73.4	3.80	4.96
2	78.1	3.98	5.11
3	68.4	3.95	5.09
4	68.3	3.85	5.10
5	67.3	3.77	5.12
6	47.8	3.75	5.20
7	66.7	3.36	4.26
8	56.7	3.13	4.21
9	62.0	3.22	3.84
10	49.0	3.49	4.19
11	57.6	3.15	3.60
12	63.5	3.23	4.86

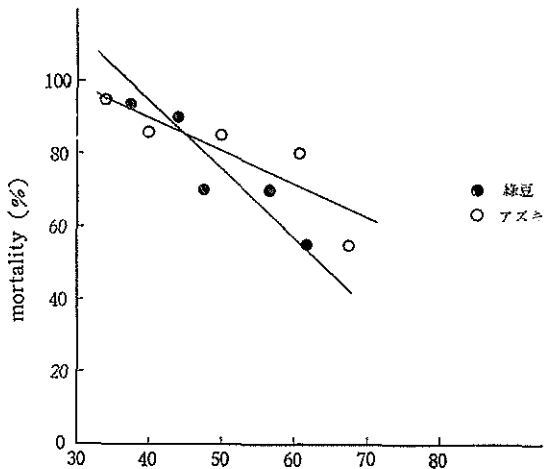
Mung bean

Number of eggs laid	Emergency rate(%)	Average weight of body	
		♂	♀
1	88.2	3.61	5.12
2	70.1	3.45	4.72
3	67.9	2.89	3.16

第7表 飼育密度と  $\gamma$ -BHC に対する感受性との関係

Table 7. The relation between the population density and the sensitivity to  $\gamma$ -BHC.

Population density	Mortality from 24 hours exposure to 1 $\gamma$ of $\gamma$ -BHC	
	Weevils reared on	
	Adzuki bean	Mung bean
50	♂	72
	♀	36
	M	54
100	♂	72
	♀	40
	M	56
200	♂	60
	♀	68
	M	64
400	♂	80
	♀	72
	M	76



The body weight of 20 male weevils (mg)

第1図 体重と  $\gamma$ -BHC に対する感受性との関係

Fig. 1. The relation between the body weight and the sensitivity to  $\gamma$ -BHC.

を調べるため、ゾウムシを体重に応じて5グループにわけそのなかから20頭をとり、これをシャーレ内で24時間、1  $\gamma$  の  $\gamma$ -BHC の dry film に接触させて、その後の死亡率をみた。結果は第1図の通りで飼料に関係なく、ゾ

第8表 アズキと緑豆の栄養成分分析表（日本食品標準成分表（1954）より）

Table 8. The analytical table of nutrition in adzuki and mung bean.

	Calory	Water (g)	Protein (g)	Fat (g)	Sugar (g)	Fiber (g)	Ash (g)	Ca (mg)	P (mg)	Fe (mg)	V. A (I. U.)	V. B <sub>1</sub> (mg)	V. B <sub>2</sub> (mg)	Niacin (mg)	V. C (mg)
Adzuki bean	310	14.9	20.9	0.7	54.9	5.0	3.6	75	430	4	20	0.50	0.10	2.5	0
Mung bean	326	13.6	23.0	1.7	54.7	4.0	3.0	110	430	6	100	0.50	0.24	3.0	0

ウムシの感受性は体重が減少するにつれて高くなることがわかった。この実験では飼料の相違に原因すると思われる感受性の差は認められなかった。雌虫における結果は省略したが、雄虫と同じ傾向を示した。

### 考 察

アズキノウムシは著者らの実験条件下では緑豆で飼育しても、次代成虫の羽化開始日も羽化終了日もほとんど同じであったが、緑豆区の方が羽化の山は2日早く現れた飼育密度を変えても、1個あたり産卵数が変化しても羽化消長の山の位置は同じマメならば変化しないので、この羽化の山の位置の相違は、マメの種類に起因するものと判断された。また飼育密度を高めてゆくと、マメの種類に関係なく次代成虫の体重は少なくなるが、密度が同じならば緑豆区のゾウムシの体重がアズキ区のそれに比べて少くなっている。この場合、緑豆飼育ゾウムシの雌雄の体重は略同じ割合で減少していた。このことから、マメの種類に相違がこのような体重の相違をもたらすのは、緑豆がアズキよりも粒が小さいという物理的な要因のためではなく、その栄養成分の差のためであろう、と考えられた。単に物理的な要因のためならば、たとえば1個の緑豆に1頭食入したゾウムシの雄は、空間が小さいため成長を抑えられるにしても、雌と同じ大きさにまで成長してよいはずである。ちなみに、緑豆とアズキの成分分析表を第8表として示した。

一方、緑豆飼育のゾウムシは飼育密度が高くなると、体重の均一性においてアズキ飼育のゾウムシに劣ってくる。これはアズキでは1個のマメに産みつけられた卵の数、すなわち、食入した幼虫の数がふえても羽化成長の体重はあまり変化がないのに、緑豆ではこの変化が少くないためである。

飼育密度が高まるとゾウムシの体重が減少し、それに応じて $\gamma$ -BHCに対する感受性が高くなった。この場合も、緑豆区のゾウムシは飼育密度の増加による体重の減少度合が著しく、したがって、密度が同じならば、感受

性はアズキ区のそれより高くなっている。ただし、体重の均一性がやや劣るので、感受性の均一性もやや落ちてくる。

以上のことから、通常の飼育密度である50gあたり50対程度で飼育するがぎり、アズキノウムシは緑豆で飼育しても、アズキの場合より体重が少く、感受性のやや高い生物検定用の供試昆虫が得られるが、飼育密度を高くすると、体重および薬剤感受性の均一性がやや劣ることがわかった。

### 要 約

アズキノウムシを緑豆で飼育することを試み、その飼育方法を軌道にのせることができた。緑豆で飼育するとゾウムシの羽化に要する日数が2日短くなった。飼育密度を高くすると飼料に関係なく成虫の体重は減少し、その均一性も低下してくるが、その度合は緑豆飼育の場合の方が著しかった。また体重の減少にともない $\gamma$ -BHCに対する感受性は高くなった。この場合も緑豆飼育のゾウムシはアズキのそれより一般的に体重が少ないため感受性は高かったが、飼育密度が高まると感受性の均一性も低下した。ただし、通常このゾウムシをアズキで飼育する場合の密度である50対/50gでは緑豆を飼料としても、アズキの場合より感受性がやや高く、しかも均一性も変わらない供試昆虫群が得られることがわかった。

### 引用文献

- 1) 三宅利雄・小寺尊證, 農事改良資料 137, 102 (1939)
- 2) 石井象二郎, 応昆 5, 63 (1949)
- 3) 石倉秀次・尾崎幸三郎, 防虫科学 18, 85 (1953)
- 4) 内田俊郎・春川忠吉, 防虫科学 7・8・9, 16 (1944)
- 5) 後藤 昭, 防虫科学 20, 126 (1955)
- 6) 総理府資源調査会食糧部会 日本食品標準成分表 (第一出版) (1954)



## Summary

On Rearing Adzuki Bean Weevil, *Callosobruchus chinensis*, on  
Mung Bean, *Phaseolus radiatus* L.

By Yasushi HASHIMOTO, Sawako TAKAHASHI and Hiroo SUGAHARA

A rearing process of adzuki bean weevil, *Callosobruchus chinensis* L. on mung bean, *Phaseolus radiatus* L., was researched with success. The weevil reared on mung bean (which will be abbreviated to M weevil) emerged two days earlier than those reared on adzuki bean, *Phaseolus angularis* WIGHT (which will be abbreviated to A weevil). As the population density increased the body weight in both M and A weevils decreased and fluctuated, but more remarkably in M weevil. The decrease in the

body weight was accompanied with the elevated sensitivity to  $\gamma$ -BHC. Because of smaller body weight, M weevil had higher sensitivity than A weevil, but which was liable to fluctuate at the higher population density. However, at the population density of 50 pairs of parent insects / 50 g, which was considered as optimum in case of A weevil, M weevil became also an useful test organism with higher sensitivity and not more fluctuation than those of A weevil.

## 微生物による PCP の定量法

森 拓 之

近年水田用除草剤として PCP 剤の使用の増加にともなうて、この薬剤によると思われる魚貝類の被害が問題になって来ている。

かかる現状において、水田地帯の河川、湖沼などで、魚貝類に何らかの事故が発生した場合に、それが水田除草剤に使った PCP によるものなのかどうか、あるいは、水田に施用された PCP がどのような経過をたどって河川に流入するか、または消失するかなどの問題を解明するために、水中のごく微量の PCP を定量する必要がある。このような必要性にせまられて PCP の生物的微量分析法について検討を行った。

## 実験方法と結果

## I. 比濁法

## (1) 検定菌の検索

主として土壌中から分離した細菌、酵母など 100 余菌株を用い、これらの菌株中から、比濁分析法に適する菌株を選出するために、各菌株のサブロー氏変法斜面培養基 (ペプトン10g, 砂糖20g, 寒天15g, 水1l) に3日間培養したものから1白金耳を取り、これを中型試験管(17.

0×2.8cm) に入れた殺菌水 1 ml に懸濁させる。これに第1表りに示す組成の培養液 8 ml を加え、さらに最終濃度がそれぞれ、10, 1, 0.1, 0.01ppm となるように PCP-Na (Sodium pentachloro phenol) 水溶液 1 ml または対照区として PCP 溶液の代りに殺菌水 1 ml を加え 37°C の温浴中に3時間保ったのちとり出し、それぞれの濁度を比較した。その結果、菌の生育が速く、しかも比較的低濃度の PCP 溶液で生育が抑制されて比濁分析に適する菌として、*Bact.* No.8 (菌種未同定) を選び出した。

第1表 比濁分析用培養液組成

Table 1. Composition of medium for turbidimetric assay.

Pepton	5.0g	NaCl	3.5 g
Yeast extract	1.5	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.23
Meat extract	1.5	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	3.68
Glucose	1.0	Water	1.000 l
		Ph	7.0

## (2) PCP-Na 濃度と濁度との関係

比濁法を用いて薬剤の定量を行なうにあたっては、その薬剤の濃度と試験液の濁度との間に何らかの直線関係が成立しなければならぬ。そこで、試験(1)で選抜した検定菌 *Bact.* No. 8 と PCP-Na 溶液との間にもかかる直線関係が成立するか否かを確かめるために以下の試験を行った。

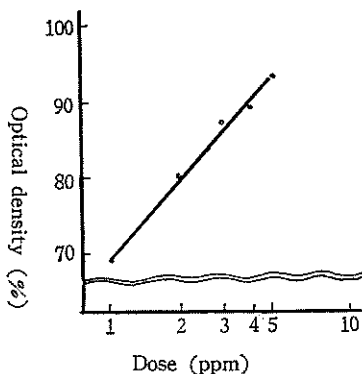
検定菌 *Bact.* No. 8 は試験管のサロー氏変法斜面培養基に3日間 28°C で培養し、この培養試験管1本に 10ml の殺菌水を加え菌体を懸濁させ、殺菌水で 2~3 回洗滌し、最後に 10ml の殺菌水に懸濁させておく。試験にあたっては、第1表の試験培養液 500 ml 当り本菌懸濁液 1~2 ml を加えて使用する。すなわち、PCP-Na の最終濃度が 5, 4, 3, 2, 1, 0, ppm となるように調製した薬液 1 ml と上記菌接種培養液 9 ml を中型試験管に入れ、綿栓を施したのち 37°C の温浴中に 3 時間保つ、その後 100°C で 10 分間加熱したのち、光电比色計を用いて波長 550m $\mu$  でそれぞれの検液の透光率を調べた。その結果を第2表と第1図に示す。

第2表 透光率(濁度)と PCP-Na 濃度の関係  
Table 2. Relation of optical density to concentration of PCP-Na.

	PCP-Na Conc. (ppm)					
	5	4	3	2	1	0
I	91.0	89.0	84.0	79.0	68.0	65.0(%)
II	92.0	91.0	83.0	81.0	68.0	67.0
III	95.0	90.0	95.0	81.0	70.0	65.0
IV	93.0	87.0	87.0	80.0	70.0	66.0
M	93.0	89.0	87.0	80.0	69.0	66.0

第1図 比濁法における D-R curve

Fig. 1. D-R curve on turbidimetric method.



第2表の結果をもとに分散分析を行なうと、第3表に示すように、PCP-Na 濃度 4~1 ppm の範囲でその対数 (X) と濁度 (透光率, Y) との間には定量可能な直線関係が認められ、その回帰式は

$$Y = 79.50 + 10.13X$$

であった。

第3表 分散分析表, I

Table 3. Table of analysis of variance. I

	s. s.	d. f.	m. s.	F
L	820.13	1	820.13	650.90
R	3.37	1		
Conc.	825.50	2	411.75	
Rep.	6.67	3		
Error	8.83	7	1.26	
Tot.	839.00	12		

## II. カップ法

### (1) 検定菌の検索

比濁法の場合に使ったと同じ 100 余種の菌株を使って、カップ法に適する検定菌を選び出した。

まず試験管に約 1 ml の殺菌水を取り、この中にサロー氏変法斜面培養基に培養した上記の菌株のそれぞれ 1 白金耳を取り懸濁させる。これに 50°C 内外の融解したジャガイモ煎汁寒天培養基 10ml を加え静かに混合して 9cm ペトリ皿に注ぎ水平に固化させる。

一方直径 6mm の濾紙円板を PCP-Na の 1000ppm 水溶液に浸して引き上げ、過剰の溶液を濾紙で取り去ったものを上記の菌接種培養基の上に置き、28~30°C で 16~20 時間培養し、濾紙のまわりに大きく、かつ周辺の明瞭な阻止円を生じた菌株を選び出した。そして検定菌として *Bacillus subtilis* PCI 219 を選出した。

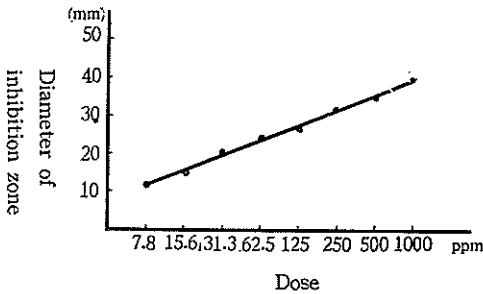
### (2) PCP-Na 濃度と阻止円の大きさの関係

検定菌として試験(1)で選出した *B. subtilis* PCI 219 とジャガイモ煎汁寒天を用いてカップ法を行った場合に PCP-Na 濃度と阻止円の大きさの間に定量可能な直線関係があるか否かを試験する目的で、抗生物質定量法<sup>2)</sup>に準じて、PCP-Na 水溶液の各濃度における阻止円の大きさを測定した。その結果、第2図に示すごとく、試験した 1000~7.5ppm の間で PCP-Na 濃度の対数と阻止円の大きさの間に直線関係が認められた。

この直線関係が定量に可能なものか否かを統計的に確かめるために同様の方法で得た試験結果第4表をもとに分散分析を行った。第5表の分散分析表で明らかごとく、

第2図 カップに法おける D-R curve

Fig. 2. D-R curve on cup method.



この直線関係は統計的にも十分定量に使えるものである。そしてその回帰式は

$$Y = 19.08 + 1.99X$$

である。

第4表 阻止円の直径と PCP-Na 濃度との関係

Table 4. Relation of inhibition zone size to concentration of PCP-Na aqueous solution.

	PCP-Na conc. (ppm)			
	100	50	25	12.5
I	25.0	20.8	17.0	13.0 (mm)
II	25.0	21.0	17.5	13.3
III	24.5	20.8	17.5	12.8
IV	25.7	21.5	17.3	13.0
V	25.5	21.0	17.0	13.0

第5表 分散分析表, II

Table 5. Table of analysis of variance. II

	s. s.	d. f.	m. s.	F
L	396.41	1	396.41	49.05
Q	0.05	1		
R	0.14	1		
Conc.	396.60	3	132.20	14.69
Rep.	0.37	4		
Error	0.98	12	0.09	
Tot.	397.75	19		

### III. ベンゾール抽出

井水、田面水に 0.5ppm となるように PCP-Na を加えたものからベンゾールとエーテルで抽出し、対照として PCP-Na を蒸留水に溶かしたものを使って、20ppm と 10ppm で、試験 II-(2) の方法に準じてカップ法を行い、初めに加えた PCP-Na の何パーセントがこの方法で抽出されてくるか、その回収率を調べた。

抽出は次に記す手順で行った。

試験材料 200ml を分液ロートにとり、これに HCl (1:3) 6ml のを加えてふりませたのちベンゾール 30ml を加え 10 分間振盪してベンゾール相を分離し、水相はさらに 30ml のベンゾールを加えて同様に分離する。このベンゾール約 60ml に 1N NaOH 30ml を加え、10 分間振盪したのち NaOH 相を分離する。ベンゾール相はもう一度 1N NaOH で抽出し、NaOH 約 60ml を集め、これに HCl (1:3) 6ml を加え振りませたのち、20ml のエーテルを加えて 10 分間振盪し、エーテル相を分離する。NaOH 相は同様にさらに 2 回エーテルで抽出をくりかえす。分離したエーテル約 60ml は等量の蒸留水で 2 回洗滌したのち、200ml の三角フラスコにとり、60°C の温水上でエーテルを完全に除去する。その後、この三角フラスコに 0.001N の NaOH を 5ml 注いで、抽出された PCP を Na 塩として溶かす。この場合、はじめに加えた PCP-Na が完全に抽出されていれば PCP-Na として 20ppm となる。

その結果第6表に示すような回収率が得られた。

第6表 ベンゾール抽出法における PCP-Na の回収率

Table 6. PCP-Na recovery by benzol extract method

	Recovery (%)
tap water	79.8~90.1
irrigation water with algae	63.5
irrigation water without algae	93.7

### 考 察

PCP の生物学的微量分析法として比濁法とカップ法を比較して見ると、その精度の点では、第2表、第4表の結果をもとに定量誤差を計算すると、比濁法では約±17.0%、カップ法では約±7.0%で、カップ法の方がはるかに精度が高い。また定量可能な濃度範囲も第1図、第2図で明らかなどくと、カップ法の方がはるかに広い。このように定量可能な濃度範囲が広いと云うことは、まったく未知の濃度の試料を定量する場合に非常に有利なことからである。しかしながら微量定量法の生命とも云える感度は、比濁法の方がはるかによく、カップ法の約10倍の感度をもっており、1ppm まで定量が可能である。

このように比濁法とカップ法は、定量法としての長所と短所をもっているが、もし PCP 剤が河川などに流入して魚貝に害を与える場合、比較的短時間の接触だけで魚類を致死させるのに 1ppm 以下の濃度であることが

実験的に証明されている(橋本ら, 1961)。それゆえ、河川などでの PCP の魚貝類に対する毒性を論ずる場合には少なくとも 1 ppm 以下の濃度の定量ができなくてはならないが、現在までのところ微量生物検定法として最も感度が高いと云われている比濁法でさえも、本試験の範囲では、直接この目的を達成することはできない。従って 1 ppm 以下の PCP を定量するにはなんらかの方法によって濃度を高める必要がある。そこで化学分析で採用されているベンゾール抽出法を適用し、カップ法と組合せて田面水中における 1 ppm 以下の濃度の PCP の定量の可能性を明らかにしたのであるが、このような抽出法を行なうならば、あえて誤差の大きい生物分析を行わなくとも、化学分析の方がはるかに有利であろうと思われる。

しかしながら、生物活性をもったもののみが定量されると云う特徴をもった生物分析法は、誤差は大きいとは云え、化学分析の結果を裏づけると云う意味において、十分意義のある分析法と思われる。

## 摘 要

PCP の生物的微量定量法として微生物を使用する比濁法とカップ法について検討を行った。

比濁法では *Bact. No.8* を検定菌とした場合に 4~1 ppm の範囲で、カップ法で *Bacillus subtilis* PCI 219 を検定菌とした場合 1000~7.5 ppm の範囲で定量が可能である。

1  $\gamma$ /ml 以下の微量の PCP を定量するためにベンゾール抽出を行い、カップ法で定量したところ、井水、および藻類を含まない田面水からは、初めに加えた PCP の 80~90% が抽出回収されたが、藻類を多く含んだ濁った田面水からは 60% しか抽出回収されなかった。

## 参 考 文 献

1. 丸山素弘「生化学領域における光電比色法」(化学の領域増刊33) 186p. (南江堂)
2. 抗生物質製剤基準 (日本抗生物質学術協議会)
3. 橋本, 菅原 応動昆 5, 145, 1961.

## Quantitative Bioassay for PCP

By Hiroyuki MORI

Author estimated the turbidimetric method and the cup method as microbioassay for PCP in irrigation water.

When the turbidimetric method was adapted, using *Bact. No. 8* (not yet identified) as test organism, linear relation was obtained between dose and optical density from 4 to 1 ppm of PCP. But when the cup method was adapted, using *Bacillus subtilis* PCI 219 as test organism, linear relation was obtained between dose and diameter of inhibition zone from 1000 to 7.5 ppm.

The precision was about 17.6% in the turbidimetric

method, but in the cup method, only 7.0%.

Therefore it was found that more than 1  $\gamma$ /ml. of PCP in water was measurable by these two assay methods.

Then, in order to measure less than 1  $\gamma$ /ml. of PCP in water, it was extracted from water by benzol and ether, and this extracted PCP was dissolved in 0.001 N NaOH and measured by the cup method. In this case, recovery from tap water, irrigation water without algae and irrigation water with algae were 85.0, 93.7 and 63.5%, respectively.

## バイオオートグラフィーによる TUZ 剤の分析法について

森 拓 之

イネ紋枯病に卓効のある TUZ 剤は、その有効成分として3種の carbamate 化合物 Thiuram, Ziram, Urbazid を含んでおり、これら3種の成分中 Urbazid が最も効果が高いとされているが、これら3種の化合物は構造的に非常によく類似しているため、その分別分析が化学的に困難であり、適確な分析法の設定が望まれている。

さらにその主要成分 Urbazid は、本来ならば有機溶媒に可溶性であるが製剤中ではかなりの部分が有機溶媒に不溶性に変化しているらしいことも認められてきた。

そこで筆者は TUZ 剤に含まれる成分を分離すれば、その抗菌力を直接分析することができると云う観点から本剤の分析にバイオオートグラフィーを適用した。

バイオオートグラフィーは、抗菌性物質の検定によく採用される水平寒天拡散法にペーパークロマトグラフィーを組合せ定性分析とともに概略的定量をも同時に行なおうとする試みであり、はじめ WINSTEN,<sup>1)</sup> KLUENER,<sup>2)</sup> KARNOVSKY,<sup>3)</sup> GLISTEN,<sup>4)</sup> らによって抗生物質、特にペニシリンなどに用いられたものであるが、漸次農業用殺菌剤の検定にも利用されるようになり、WELTZIEN<sup>5)</sup> はブタノール・酢酸・水の展開溶媒によって数種の carbamate 化合物を含む18種の農業用殺菌剤について、その Rf 値、検出限界薬量などを報告している。

一方、わが国においても、金沢ら<sup>6)</sup> による数種有機水銀剤の原体についての報告をはじめとして中村・綾<sup>7)</sup> によるストレプトマイシン製剤中におけるストレプトマイシンの定性、定量に関する報告などが見られ、利用価値の高い方法である。

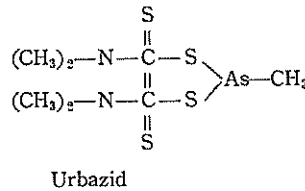
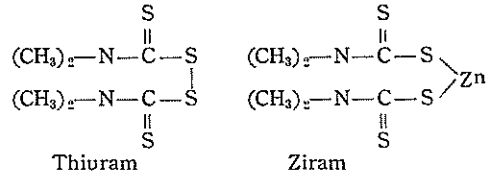
### 実 験 材 料

実験には TUZ 剤に含まれる3種の薬剤の原体を用いた。

tetramethylthiuramdisulfide (Thiuram)

zincdimethyldithiocarbamate (Ziram)

methylarsinbisdimethyldithiocarbamate (Urbazid)



### 実験方法及結果

#### 1. 検定菌の検索

混合剤のバイオオートグラフィーを行なうにあたって、最初に行なわなければならないことは混合剤中に含まれる各有効成分に対して敏感であり、明瞭な阻止斑を生ずるような検定菌を選ぶことである。筆者らの研究室では常に殺菌剤の生物検定に適当な菌を選出するために土壌中から多数の菌を分離し、必要に応じて paper disk 法によって明瞭な阻止円を作る菌を選び出している。

土壌中からの菌の分離は、殺菌シャーレに種々の寒天培養基、たとえばジャガイモ煎汁寒天、ヴィヨン寒天、サブロー氏変法寒天培養基（ペプトン10g、砂糖20g、寒天15g、水1l）などを10ml内外分注し、固化後無菌室で蓋をとり、これに土壌少量を殺菌水に懸濁させ、しばらく放置したものの上澄をごく少量噴霧する。25~30℃で2~3日間培養し生じたコロニーから斜面培養基に菌を分離する。あるいは、前記の土壌懸濁液の上澄を一白金耳とり、60℃内外のとけた種々の寒天培養基約10mlに加え、しずかに混和したのち殺菌シャーレに注ぎ前法同様2~3日間培養し生じたコロニーより分離する。

このようにして分離した土壌細菌あるいは酵母菌39菌

株について Thiuram, Ziram, Urbazid に対する阻止円の形成状況を試験した。薬剤はそれぞれ 1000ppm となるようにクロロホルムに溶かし、この薬液に直径 6 mm の濾紙円板を浸漬し、余剰の薬液を濾紙でとりさり風乾しておく。一ぼう試験菌の白金耳を 1 ml 内外の殺菌水に懸濁させ、これに 60°C 内外の融けたジャガイモ煎汁寒天培養基約 10ml を加え、気泡が生じないようによく混合して 9 cm シャレーに注ぎ固化させる。ついで上記の濾紙円板を培地表面に置き 28°C で12時間程培養し生じた阻止円を観察した。試験に供した39種の菌株の内から *Bacillus cereus* IAM 1730 を本試験の検定菌として選定した。

第 I 表 Thiuram, Ziram, Urbazid の阻止円の大きさ  
Table I. Inhibition zone diameter of Thiuram, Ziram and Urbazid.

Compound	Thiuram	Ziram	Urbazid
Diameter of inhibition zone (mm)	28	31	24

2. バイオオートグラフィー

薬剤は 1000ppm の濃度になるようにクロロホルムに溶かし、その 0.005ml を展開用クロマト濾紙（東洋濾紙 No. 51, 20×20cm または 20×1 cm の一端から 3 cm の所に塗布し、常法に従ってガラス鐘内で15cm内外展開した。薬液を塗布する場合には薬液が拡散した部分が直径 0.5 cm 以内にとどまるようにした。展開終了後濾紙を風乾し溶媒を完全に除いておく。一ぼうキャビネ判の写真用バットに 1.5% の寒天液 100~200ml を流し、水平に保って固まらせる。固まった後、清潔なガラス板 (16.5×12cm) を敷き、さらにこの上に検定菌の斜面培養したものを約 10ml の殺菌水に懸濁させ、これを 60°C の融けたジャガイモ煎汁寒天培養基に加えたものを流し固化させる。固まったのち風乾した展開ずみの濾紙をはりつけ、約10分間保ち濾紙をとり去り、バットにガラス板をかぶせて 28°C で12~18時間培養する。培養後ガラス板とともに上層の寒天板を切り取り、阻止斑の Rf 値を測定した。

展開溶媒として二成分系のもの、三成分系のもの11種について試験した結果、各薬剤とも Rf0.9~1.0を示し、三種の有効成分を分離することはできなかった。そこで逆相溶媒数種を用い試験した結果、クロロホルム・ピリジン・水 = 1 : 1 : 1 (v/v) の上層を用い、展開濾紙はシリコン DC 550 の 5%ヘキサン液に浸漬し、液を十分

吸収させたのち 110°C で1時間保って濾紙上にシリコンを重合させたものを用いた場合に、三成分を十分に分離することができ、その Rf 値は展開温度 28°C のとき Thiuram が 0.65, Ziram が 0.00 Urbazid が 0.87 であった。

3. 薬量と阻止斑長との関係

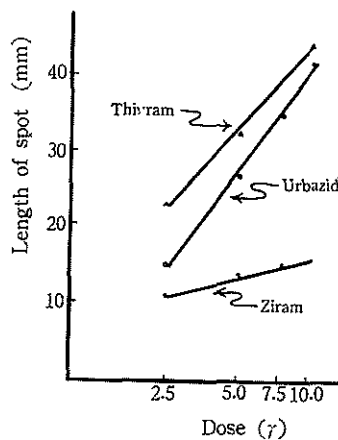
一般にバイオオートグラフィーで得られた結果には薬量の対数とその阻止斑長との間には直線的関係のあることが見出されている。そこで前記のクロロホルム・ピリジン・水系溶媒を用いて、TUZ 剤の三成分を展開した場合にもこの直線関係が認められるかどうかを試験した。試験は前項に記した方法に準じて行ない、展開用濾紙は 20×20cm の大きさのものを用い、濾紙の一端から 3 cm の所に原線を引き、原線上に 3cm 間隔に原点を附し、各原点上にそれぞれ 2.5, 5.0, 7.5, 100  $\gamma$  の薬剤をマイクロピペットを用いて塗布し展開後、前項同様の方法を行ない、生じた阻止斑長を測定した。

第 II 表 薬量と阻止帯長との関係

Table II. Relation of the dosage to the length of inhibition zone.

Compound	Dosage ( $\gamma$ )			
	2.5	5.0	7.5	10.0
Thiuram	23.0	32.5	—	44.5 (mm)
Ziram	11.0	14.0	15.0	16.0
Urbazid	15.0	27.0	35.0	42.0

第 1 図 Thiuram, Ziram, Urbazid の D-R curve.  
Fig. 1. D-R curve of Thiuram, Ziram, Urbazid at bioautography.



実験の結果は第II表, 第1図に示すとおりであり, 薬量の対数と阻止斑長との間に直線的関係が存在することが確認された。そして, 薬量の対数  $X$  と阻止斑長  $Y$  との間には

Thiuram では

$$Y=33.3+10.8X$$

Ziram では

$$Y=13.7+2.5X$$

Urbazid では

$$Y=28.0+13.5X$$

の一次回帰式が成立した。

### 考 察

以上の実験の結果 TUZ 剤中に含まれる有効成分である三種の carbamate 系化合物は, クロロホルム・ピリジン・水の三成分系逆相クロマトグラフィーで完全に分離することができ, 検定菌として *Bacillus cereus* IAM 1730を用いて阻止斑を検出した場合には, 薬量 2~10 $\gamma$  程度の間で阻止斑長との間に直線的関係があり, 定性, 定量を同時にかつ安易に行うことができる可能性が明らかとなった。しかしながら生物検定の例にもれず, 化学分析に比較して誤差が大きく, 試験回数を多くする必要があると思われる。例えば試験的に原体を製剤と同様の混合比になるように混合し, 混合しないものを対照として試験した場合に回収率は Thiuram が約90%, Ziram が100%, Urbazid が85%であった。また Rf 値が常に一定の値を示さず, 常に試験内に対照薬剤を組入れる必要があるが, 検定に必要な薬量が非常に少量 (2.5~5.0 $\gamma$ ) ですみ, しかも検体の抗菌力を直接分析できるために, 主成分の製剤中でのごくわずかな変化をも察知す

ることができるので真の意味での抗菌性物質の分析法と云えよう。また混合製剤中に含まれる数種の成分を一回の装作によって同時に定性・定量ができることはカップ法その他の拡散法による生物検定法にない特徴である。

### 摘 要

バイオオートグラフィーによるイネもんがれ病防除薬剤 TUZ の生物分析法につき試験した。検定菌は土壌中から分離した細菌で paper disk 法によって Thiuram, Ziram, Urbazid のすべてに対し明瞭な阻止斑を生ずる *Bacillus cereus* IAM 1730を用い, 薬剤は東洋濾紙 No. 51 (20×20cm) 上にクロロホルム・ピリジン・水 = (1 : 1 : 1 ; v/v) で 15cm 内外展開した。三成分の Rf 値は展開温度 28°C の場合 Thiuram, Ziram, Urbazid それぞれ 0.65, 0.00, 0.87, で完全に分離することが出来, その阻止斑長と薬量対数との間にはそれぞれ直線関係が認められ, 概略的定量を行なうことのできる可能性が明らかとなった。

### 参 考 文 献

1. WINSTEN, W. A. and A. H. Spark Science 106, 192, 1947
2. KLUENER, R. G. J. Bact. 57, 101, 1949.
3. KARNOVSKY, M. L. and M. J. JOHNSON Anal. Chem. 21, 1125, 1949.
4. GLISTER, G. A. and A. GRAINGER Analyst 75, 310, 1950.
5. WELTZIEN, H. C. Naturwiss. 45, 288, 1958.
6. 金沢ら 農化 31, 872, 1956.
7. 中村・綾 農薬検報 5, 39, 1959.

## Bioautographical Method for the Assay of TUZ

By Hiroyuki MORI

The method on quantitative and qualitative assay of tetramethylthiuramdisulfide (Thiuram), zincdimethylthiocarbamate (Ziram), methylarsinbisdimethylthiocarbamate (Urbazid) and mixture of these chemicals by bioautography were studied.

These compounds were developed on a sheet of silicon treated filter paper Toyo No. 51, 20×20 cm. by using the upper layer of pyridine : chloroform :

water (1 : 1 : 1, v/v) mixture as a developer. And the detection of spots was made by using *Bacillus cereus* IAM 1730 as assay organism.

The Rf values of thiuram, ziram and urbazid were respectively 0.65, 0.00 and 0.87 and linear relation was obtained between the logarithms of dose and the lengths of spots.

## うどんこ病防除薬剤の葉片検定法

桜井 寿・古山 清

うどんこ病防除薬剤の効力検定にガラス室内鉢試験法の供試植物としてオオムギ<sup>(3)(4)</sup>、コムギ<sup>(5)</sup>、インゲン<sup>(3)</sup>、キウリ<sup>(3)(4)</sup>、リンゴ<sup>(6)(8)</sup>などが用いられている。なかでもオオムギうどんこ病鉢試験法について、KIRBY & FRICK<sup>(3)</sup>は他の供試植物による試験法に比較して、薬剤処理葉である初生葉が均一で、しかも殆んど年中手軽に得られること、オオムギうどんこ病菌の分生胞子が粘着性ををもたないために接種が容易であること。接種から発病までの期間が短いことを指摘している。また病斑の大きさが均一であるために薬剤処理効果を明瞭に表示できる。したがってうどんこ病防除薬剤の効力検定法としては利用価値が高い。

従来殺菌剤の室内検定法として、植物の生葉を使用する方法が採用されている。うどんこ病ではYARWOOD<sup>(7)</sup>が葉片法で、インゲンうどんこ病に対する硫黄の効果について実験を行なっている。また、切りとったオオムギ初生葉に、うどんこ病菌の分生胞子を接種して、ペトリ皿内の水に葉片の切り口を挿しておく、その品種の鉢植えのままの幼苗のうどんこ病罹病性程度にだいたい応じた数大きさの菌叢を生ずる(平田)<sup>(9)</sup>。この点に着目して切りとったオオムギ初生葉を使用する殺菌剤の効力検定を試みた。本試験ははまだ予備的であるが、各種の利点が、認められるので、一応葉片法として従来行われている鉢試験法と比較検討した結果の概略を報告する。

本文に入るに先だって、終始ご親切な指導をいただいた新潟大学農学部平田幸治教授にここに厚く感謝する。

### 実験方法

#### 1) 実験材料

本実験の供試品種は二条オオムギ、関東中生ゴールデンメロンを用いた。一般にゴールデンメロン系の品種は初生葉が長く、葉の捻れ、奇型葉が少なく、接種、薬剤処理などの実験操作が容易であり、また実験誤差も少ない利点がある。接種菌はゴールデンメロンに寄生性の高いオオムギうどんこ病菌(農業技術研究所より分譲された日浦氏の race IX)を用いた。

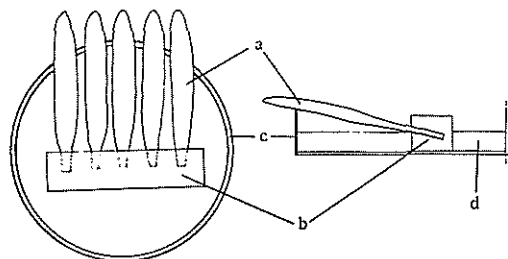
#### 2) 実験法

(a) 鉢試験法 ガラス室内で直径9cmの素焼鉢にオオムギ種子約15粒を播種、初生草が6~7cmに伸びた時に生育の均一なものを10株残す。接種方法として、接種2~3週間後の発病した鉢を薬剤処理した鉢4に対して1の割合において時間自然感染するにまかせた。1区3鉢を用い、供試薬剤は1鉢当たり5ccの薬液をガラス製霧吹きで散布した。接種6~7日後に1鉢10葉、1区30葉の病斑数を調査した。

(b) 葉片法 オオムギ初生葉が6~7cmになった時に地際部から切り、あらかじめ水50ccを入れたペトリ皿に、裏返しに5枚づつ並べ、切り口を脱脂綿で上下からはさんで固定する。(第1図を参照)

Fig. 1. Detached leaf method.

- a: Primary leaf of barley
- b: Absorbent cotton
- c: Petri-dish
- d: Water



実験期間中は固定した脱脂綿が乾かないように適宜水を加える。接種方法は接種2~3週間後の菌叢から新鮮な分生胞子を毛筆でとり、蒸溜水に懸濁噴霧接種する。1区4ペトリ皿、すなわち20葉に薬液5ccを霧吹きで散布した。接種6~7日後に薬剤処理面の病斑数を調査した。

#### 3) 薬剤処理効果とその表示法

薬剤処理効果の表示法は鉢方氏の予防価<sup>(9)</sup>に準じた指数で表わした。すなわち各処理区の病斑数を調べた後に、下記の式から薬剤処理効果の指数を求めた。

$$\frac{\text{対照区の1葉当りの病斑数} - \text{処理区の1葉当りの病斑数}}{\text{対照区の1葉当りの病斑数}} \times 100$$



第1表 オオムギうどん病に対する予防効果

Table 1. Protective effect of chemicals against barley powdery mildew.

No.	Chemical	Concentration ppm/ml	Detached leaf method			Glasshouse method		
			I	II	Mean	I	II	Mean
1.	DPC	195	98.8	91.5	95.5	100.0	92.7	96.4
2.	Wettable sulphur	1500	99.2	98.8	99.0	100.0	91.3	95.7
3.	Quinoxaline	500	91.3	86.4	88.7	93.2	82.5	87.8
4.	Cycloheximide	2	59.6	48.2	53.9	57.2	48.1	52.7
5.	Streptomycin	70	52.5	47.0	49.8	44.7	57.8	51.3
6.	Thiram	1300	55.3	60.0	57.7	36.8	34.8	35.8
7.	PMF	10	00.6	32.6	16.6	16.4	10.4	13.4

a: Quinoxaline 2,3-trithiocarbonate

第2表 オオムギうどん病に対する治病効果

Table 2. Therapeutic effect of chemicals against barley powdery mildew.

No.	Chemical	Concentration ppm/ml	Detached leaf method			Glasshouse method		
			I	II	Mean	I	II	Mean
1.	DPC	195	99.4	100.0	99.7	74.0	100.0	87.0
2.	Wettable sulphur	1500	100.0	95.8	97.9	70.2	99.8	85.0
3.	Quinoxaline	500	97.2	94.1	96.0	60.1	73.2	66.7
4.	Cycloheximide	2	68.8	36.4	52.6	66.8	56.2	61.5
5.	Streptomycin	70	26.4	64.1	45.3	42.9	47.7	45.3
6.	Thiram	1300	25.7	77.7	52.7	34.5	27.7	31.1
7.	PMF	10	0.0	59.3	29.7	11.0	26.0	18.5

なお同じ薬剤について接種24時間前に薬剤処理した効果を予防効果とし、接種48時間後に薬剤処理した効果を治病効果として表示した。

### 実 験 結 果

葉片法および鉢試験法による薬剤処理効果の実験結果を第1表および第2表に示した。葉片法は鉢試験法にくらべて、薬剤処理効果が少し高くあらわれる傾向がある。また供試薬剤のなかでも、薬剤の処理効果の低いものほど実験値の変動が大きい。しかし両試験法の結果、数値の間には予防効果では0.944、治病効果では0.916の相関係数が求められた。このことは両試験の間には強い相関があることを示している。

### 考 察

うどんこ病防除薬剤処理効果について、BESEMER<sup>1)</sup>は植物およびうどんこ病菌の種が異なると、また同じうどんこ病でも、屋外とガラス室内では薬剤処理効果が異なることを報告している。しかし一般的にうどんこ病防除に

優れた効果をもつ DPC 剤および水和硫黄剤が、この試験の葉片法および鉢試験法でも優れた防除効果を示している。このことから葉片法がうどんこ病防除薬剤の効力検定に有用な方法であると考えられる。

この実験以外において DPC 剤および水和硫黄剤は葉片法で、予防効果および治病効果の指数が70以下の数値を示すことはほとんどなかった。これらのことより、葉片法で薬剤処理効果の指数が70以上の数値を示す薬剤は、一応うどんこ病防除薬剤としての可能性を検討する必要があると考えられる。

葉片法が鉢試験法より実験値の変動が大きいこと、また両試験法では予防効果より治病効果の実験値の変動の大きい原因について今後検討したいと考えている。従来の鉢試験法に比べて、葉片法は供試材料が容易に、大量に得ることができ、実験の場所をあまりとらないこと、使用薬量が少ないことなどから、室内で多種類の薬剤についてうどんこ病防除薬剤の効力検定ができる簡便で、利用価値の高い方法と考えられる。

## 摘 要

うどんこ病防除薬剤の効力検定に、切りとったオオムギ初生葉をベトリ皿内の水に挿して、接種、薬剤処理する葉片法と、従来のガラス室内鉢試験法との比較を試みた。供試薬剤には DPC 剤、水和硫黄剤、キノキサリン系水和剤、チュウラム剤、ストレプトマイシン、シクロヘキシイミド、PMF をえらび、それぞれ慣行の使用濃度で、接種24時間前または接種48時間後に散布した。その薬剤処理効果は前者を予防効果、後者を治病効果とした接種6～7日後に各区の病斑数を調査し、袴方氏の予防価に準じた指数で表わした。鉢試験法に比較して、葉片法は薬剤処理効果が少し高くあらわれる傾向があった。しかし両試験法には強い相関が認められた。以上のことから葉片法はうどんこ病防除薬剤の簡便な効力検定法として、利用価値があるものと考えられる。

## 引用文献

1. BESEMER, A. F. H., 13 th International Symposium on Crop Protection, 134. (1961)
2. CHANCONNE, Mlle M., *Phytiatrie-Phytopharmacie*, **11**. 23 (1962)
3. KIRBY, A. H. M. & FRICK, E. L., 12 th International Symposium on Crop Protection 1215. (1960)
4. 平田幸治・富屋邦彦, *日植病*, **22**. 230 (1957)
5. POWERS, H. R. Tr., *Phytopathology* **48**. 474 (1958)
6. TORGESEN, D. C. & LINBERG, C. G., *Contrib. Boyce-Thompson Inst.* **21**. 33 (1961)
7. YARWOOD, C. E., *Phytopathology* **40**. 173 (1950)
8. YARWOOD, C. E., *Proc. Int. Cong. Crop. Prot.* **2**. 500 (1951)
9. 袴方未彦, *農学* **1**. 47 (1947)

## A Detached Leaf Method for Evaluation of Chemicals to Control Barley Powdery Mildew

By Hisashi SAKURAI and Kiyoshi KOYAMA

As screening method of effective chemicals against barley powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*), a detached leaf method was tried to use, comparing with usual glasshouse method. The detached primary leaves of barley were prepared in Petri-dish, sprayed and inoculated. Then treated leaves were held in the laboratory for infection to develop.

Test chemicals were DPC, Quinoxaline, Cycloheximide, Streptomycin, Thiram, and PMF, and were sprayed 24 hours before and 48 hours after inoculation at usual concentration respectively. The former effect was regarded as protective effect and the latter as therapeutic effect. Results were examined 6-7 days after inoculation by counting lesions and expressed

in the next index number.

$$\text{index number} = \frac{a-b}{a} \times 100$$

$a$ : the number of lesion in the control / leaf

$b$ : the number of lesion in the treated / leaf

In both protective and therapeutic effects, the results obtained with the detached leaf method and glasshouse method were found to correlate very closely, but the index numbers were generally smaller in glasshouse method.

With above-mentioned results, it seemed that this test method was suitable for screening method of effective chemicals against powdery mildew in the laboratory.

## 抗生物質の農薬適用性について

### 第1報 トリコマイシン

中 村 広 明

抗生物質を植物の病害防除に利用しようとする試みは近年世界的に活発になってきたが、植物病原の大半を占める真菌類に有効な抗生物質は最近まで非常に少なく、しかも農薬として実用の段階にまで至ったものはほとんどなかった。折しも真菌類の一つである *Candida albicans* に強い抗菌力をもつトリコマイシン trichomycin (以下 TM と略称) が本邦で研究されて医薬界に登場し、たまたま発見者の伝染病研究所教授細谷省吾博士から試料の分与を受けることができた。そこで抗かび性物質を農薬として適用する場合の基礎的な問題を探究するために、1954年9月から1955年6月にわたり、TM の *in vitro* における植物病原菌に対する効果と、数種の重要病害の防除効果について試みた実験の概要を報告する。

本実験に当たり、試料の御提供をはじめ、病身にもかかわらずたえず有益な御示唆と御激励を賜った故細谷省吾博士の靈に深い感謝の意を表するとともに、数々の貴重な御助言をいただいた当所の古山清生物課長に厚くお礼申し上げる。

#### 抗 菌 力 試 験

(1) 寒天拡散法 培地上で孢子形成が比較的盛んなイネの馬鹿苗病菌 *Gibberella fujikuroi* イネのごまはがれ病菌 *Cochlicobolus miyabzanus*, いもち病菌 *Piricularia oryzae*, タマナの黒斑病菌 *Alternaria brassicicola* および灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* を選んでこれらに対する TM の抗菌力を寒天拡散法によって調べた。用いた TM は粗製ナトリウム塩力価<sup>\*</sup> 約3020単位/mg; 水に難溶; 以下 TMI と略称) である。直径 9 cm のペトリ皿に 2% の寒天 20ml を張って基層とし、溶解後約 40°C に冷えたジャガイモ寒天培地に供試菌の孢子浮遊液を加えてその 6 ml を基層の上に均一に流し入れて

種層とした。固化後抗生物質検定用のカップをのせて 100~6.25ppm の各濃度の薬液 (水懸濁液) をその中にみだし、72~120 時間 28°C に保った後、生じた阻止円を観察した。結果は高濃度ではいずれの菌にも阻止円を示したが、特にイネのごまはがれ病菌とタマナの黒斑病菌に対しては、6.25ppm における阻止円はそれぞれ 23.2 mm, 22.7mm で最も効果が高かった。

(2) 対峙培養法 土壤病害として重要な立枯病の病原菌 *Pellicularia filamentosa* は普通には培地上で孢子を生じないので、9 cm 直径のペトリ皿にジャガイモ寒天 20ml を流し込んで固めた平面上にその菌核を TMI のアセトン飽和溶液をみだしたカップと 3.5 cm をへだてて対峙せしめ、28°C で培養して菌糸の発育状況を観察した。4 日後にはカップの周囲に直径約 30mm の阻止円を生じた。

(3) 孢子発芽試験法 従来保護殺菌剤の室内試験法として広く用いられてきた本法によってイネのいもち病菌に対する TM の孢子発芽抑制作用を検討した。500~100ppm (1510~312.8 単位/ml) の濃度範囲で TMI の 50%アセトン溶液をスライドガラス上に噴霧して風乾し、その上に稲稈煎汁寒天培地に斜面培養後18日の本菌 (農研分離系統 P-2) の分生孢子浮遊液を点滴してこれらを湿室に入れて 28°C で20時間保った後の発芽抑制率を求め、さらにプロビット法によって計算した結果、LD 50 は 215ppm (=650単位/ml) であった。

これらの実験から、TM は供試したいずれの植物病原菌に対しても何らかの抗菌の効果をもつことがわかった。

#### 接 種 試 験

抗菌力試験で効果が明瞭に認められたアブラナ科野菜の黒斑病、*Pellicularia* による立枯病のほか、ジャガ

\* 培養試験における *Trichomonas vaginalis* (原虫) の完全運動停止、滅殺に要する TM 1 mg/ml 溶液の最少稀釈倍数 (トリコモナス単位) または *Candida albicans* の SABOURAUD 培地における完全発育阻止に要する TM 1 mg/ml 溶液の最少稀釈倍数 (カンディダ単位を 1 単位と定める。両単位はほとんど同じ値を示す。

第1表 トリコマイシンのコマツナ黒斑病に対する効果

Table 1. Protective effect of trichomycin preparations on black leaf spot of crucifers.

Exp.	Treatment (ppm)	No. of leaves tested	No. of infected leaves			% of infected leaves		
			Blade		Petiole	Blade		Petiole
			++	+	+	++	+	+
I	TMI a) 500	23	2	8	4	8.7	34.8	17.4
	250	20	1	9	10	5.0	45.0	50.0
	125	22	12	7	19	54.5	31.8	86.4
	62.5	22	14	5	21	63.6	22.7	95.5
	Control	22	14	6	19	63.6	27.3	86.4
II	TMS b) 500	24	0	12	5	0.0	50.0	20.8
	Control	25	22	3	24	88.0	12.0	96.0

a) : Crude sodium salt of trichomycin ; water insoluble.

b) : Water soluble preparation of trichomycin.

第2表 トリコマイシンの緑豆立枯病に対する効果

Table 2. Effect of trichomycin preparations on *Pellicularia* damping off of bean

Exp. <sup>a)</sup>	Treatment (ppm)	No. of plants tested	No. of plants infected	% of plants infected
I	TMI 100	40	26	65.0
	Control	40	31	77.0
II	TMI 100	15	0	0.0
	Control	15	10	66.7
III	TMI 100	25	21	84.0
	TMS 100	25	20	80.0
	Control	25	22	88.0
IV	TMS 100	50	36	72.0
	Control	50	48	96.0

a) : Exp. I ; Treatment in sterile soil after sowing.

Exp. II ; Treatment in sterile soil before sowing.

Exp. III ; Treatment in natural infested soil after sowing.

Exp. IV ; Treatment in natural infested soil before sowing.

イモの疫病および全寄生菌によるコムギの赤さび病とコムギのうどんこ病に対する TM の防除効果を検討するために次のような接種試験をおこなった。

## (1) アブラナ科そ葉の黒斑病

圃場で栽培した本葉数3~5枚のコマツナの苗を春日井氏そ葉水耕液でガラスびん中に水耕し、新根の発生をみてから第1実験では TMI アセトン溶液の500~62.5ppm、

第2実験では水に可溶性 TM 製剤 (以下 TMS と略称) の500ppm 水溶液を1植物当たり 4ml ずつ葉面に散布した。1~2日後、タマナから分離した黒斑病菌 *Alternaria brassicicola* (ジャガイモ寒天に5~8日斜面培養) の孢子浮遊液を無処理を含めた全植物に噴霧接種して、以後48時間接種箱に保ち、接種3~4日後に葉身および葉柄の罹病状態を観察した。結果は第1表の通りで、濃

度 250ppm 以上では TM は *in vivo* でも本病を50%以上予防し得たことを明らかに示している。なお表中葉身の罹病程度で++は全体にわたって病斑のあるもの、+はわずかに病斑を認めるものを示し、葉柄の場合には病斑の認められるものはすべて+として表示した。

#### (2) *Pellicularia* による立枯病

**滅菌土壌** 蒸気滅菌を施した畑土を直径 6 cm, 高さ 5 cm の滅菌した素焼鉢に 40g ずつ入れ、トウガラシから分離した *Pellicularia filamentosa* の培養菌核を 1 個ずつ埋めて灌水し、これらの鉢を 25°C に保った。寄主植物としては緑豆を用い、催芽させた種子を 1 鉢に 5 個ずつ播き、100ppm の TMI 懸濁液を鉢当り 10~20ml 灌注した。第 1 実験では接種直後に播種して 4 日後に TM を処理し (播種後処理)、第 2 実験では接種 6 日後に播種し、播種の直前に処理した (播種前処理)。接種 20 日後に観察したこれらの実験結果は第 2 表 (Exp. I, II) に示すようにいずれも処理の効果を認めた。特に播種前処理の効果はいちじるしく、全く罹病を認めなかった。

**自然感染土壌** 前作のナンキンマメに相当の立枯病の発生をみた畑の土をそのまま用いて上記と同様な実験を試みた。ただし TM の製剤形態として播種後処理 (第 3 実験) では TMI 100ppm のほかに TMS 100ppm をも用い、播種後処理 (第 4 実験) では TMS 100ppm のみを使用した。これらの試験 (第 2 表, Exp. III, IV) では他の菌による発病と思われるものも含まれていて効果が不明瞭であったばかりでなく、緑豆の生育はむしろ無処理の対照区の方が優秀な傾向にあった。

#### (3) ジャガイモの疫病

**葉片試験** 圃場に栽培中のジャガイモ (品種 男しゃく) の葉を葉柄基部から切りとって井水を入れたガラスびんに挿し、そのうちの半数には TMS の 250ppm 水溶液を散布した。疫病罹病葉から得た新鮮な孢子 (遊走

子のう) の浮遊液を噴霧接種した後、48時間接種箱に保った。接種 7 日後観察した罹病状態を病斑の生じた小葉数であらわしたものが第 3 表である。TM 処理の効果は認められなかった。

**圃場試験** 上記の結果から TM の本病に対する効果を期待することはできないが、TM の散布剤としての実際の使用方法を検討するために小規模な圃場試験をあえて試みた。ジャガイモ (品種: 男しゃく) の試験圃場の設計は 1 畦 10 個体、畦幅は 90cm×36cm で、処理、対照とも 1 畦ずつとし、疫病の初発期から 1 週間間隔で 3 回にわたり、23~127ppm の TMI 液に Tween-20 または Toximal-500 を混ぜたものを 1 個体当り約 100ml の割合で散布した。その期間の処理区の発病状態は対照区と変りなかった。また収量調査の結果は第 4 表に示すように処理区の方がむしろ減収した。

#### (4) コムギの赤さび病

コムギ (品種: 農林 50 号) の種子を直径 6 cm, 高さ 5 cm の素焼鉢に 5 粒ずつ播き、播種後約 2 週間の幼苗の葉に、同品種のコムギの罹病葉から採集した赤さび病菌 *Puccinia triticina* の夏孢子を擦りつける (磨擦接種) か、夏孢子浮遊液の噴霧 (噴霧接種) によって接種した。接種植物は直ちに接種箱に入れて 24 時間保った後、処理区の苗には Tween-20 1% を加えた TMS の 1ppm 水溶液を散布して経過を観察した。観察の規準には各試験区の成熟夏孢子堆数を数え、これから 1 個体当りの夏孢子堆数を求めて比較した。第 5 表はその結果であるが、いずれの接種法による場合にも処理の効果は認められなかった。

#### (5) コムギのうどんこ病

赤さび病の場合と同様にコムギ農林 50 号の種子を素焼鉢に 5 粒ずつ播き、これらの鉢をうどんこ病の発生しているコムギ圃場に近接して並べ、自然感染を起させた。

第 1 実験ではすでにかなりうどんこ病の病斑がみられ

第 3 表 ジャガイモ葉片に接種した疫病に対するトリコマイシンの効果

Table 3. Effect of trichomycin on potato late blight inoculated on detached leaves of potato plant.

Treatment (ppm)	No. of leaflets tested	No. of leaflets infected	% of infection
TMS 250	28	9	32.0
Control	35	15	43.0

第4表 圃場で散布したトリコマイシンのジャガイモにおよぼす影響

Table 4. Effect of trichomycin on potato plants by a small scale field test.

Treatment	No. of plants tested	No. of tubers yielded	Weight of tubers yielded
TMI spray	10	37	4000 g
Control	10	47	4248 g

第5表 トリコマイシンのコムギ赤さび病に対する効果

Table 5. Effect of trichomycin on wheat leaf rust.

Treatment	Inoculation with brushing			Inoculation with spray		
	No. of plants tested	No. of pustules	No. of pustules/plant	No. of plants tested	No. of pustules	No. of pustules/plant
TMS+Tween-20	10	642	64.2	5	179	35.8
Control	5	334	66.7	10	339	33.9

第6表 トリコマイシンのコムギうどんこ病に対する効果

Table 6. Effect of trichomycin on wheat powdery mildew.

Exp.	Treatment	No. of plants tested	No. of lesions		No. of lesions per plant after treatment	Therapeutic index <sup>a)</sup>
			before treat	after treat		
I	TMS+Tween-20 Spray	10	—	8	0.8	—
	TMS Pouring	9	—	124	13.8	—
	Control	10	—	134	13.4	—
II	TMS+Tween-20 Spray	20	0	4	0.2	—
	Control	20	0	49	2.5	—
III	TMS+Emulgen Spray	10	285	47	4.7	83.5
	TMS+Tween-80 Spray	10	254	37	3.7	85.4
	Control	10	236	245	24.5	-3.4

a) :  $(1 - \frac{\text{Number of lesions after treatment}}{\text{Number of lesions before treatment}}) \times 100$

る苗30個体を区分し、第1区の苗には Tween-20 1%を加えた TMS の 50ppm 水溶液を散布、第2区には TMS の 50ppm 水溶液を個体当たり 2 ml の割合で土に灌注、第3区は処理せずに対照とした。灌注処理区と対照区の病斑数は次第に増加する傾向にあったが、散布処理区では処理の翌日から病斑の萎縮がみられ、7日後には第6表 (Exp. I) のように他区に比べて病斑数がいちじるしく減少した。

第2実験では無病の苗40個体を育て、その半分を無処

理として他の半分には Tween-20 1%を加えた TMS の 50ppm 水溶液を散布した後、うどんこ病に感染させた。6日後の結果は第6表 (Exp. II) のように予防の効果が明瞭に認められた。しかし処理苗の葉先は大半が黄化を起した。

第3実験では感染した苗30個体を用い、処理区の苗には TMS 50ppm を散布したが、加える界面活剤を Emulgen (0.02%) または Tween-80 (0.25%) に変えた。この場合には処理直前と処理2日後の病斑数を数え、

処理後の1個体当り病斑数と治療指数：

$$(1 - \frac{\text{処理後病斑数}}{\text{処理前病斑数}}) \times 100$$

を求めた。第6表(Exp. III)はこれらを示したもので、TMは本病に対して50ppmという比較的濃度で治療的な効果ももつことを明らかにしている。しかしやはり処理苗には葉先に黄化を起したものがかなり多かった。

## 考 察

細谷らの研究<sup>1)</sup>によるとTMは試験管内で *Candida albicans* に対して0.6単位/mlまで発育阻止作用をもち、さらに *Saccharomyces sake*, *Torula rubra* に強い抗生作用(発育阻止最少濃度はそれぞれ0.15, 9.37単位/ml)を示すほか、*Aspergillus niger*, *Botrytis bassiana*, *Trichophyton mentagrophytes* にも効果が認められているので真菌類に有効な物質であることは確実である。しかし植物病原菌に対するTMの作用についての知見は全くない状態にあった。農業用殺菌剤としての可能性を検討するに当たってまず考えられるのは *in vitro* の抗菌力試験である。そこでTMの適用病害を選ぶに際しても第1に寒天拡散法、対峙培養法および孢子発芽試験法によって各種の植物病原菌に対する作用を確かめた。その結果供試7菌のいずれにも抗菌作用が認められ、特に *Cochliobolus miyabeanus*, *Alternaria brassicicola* に対しては6.25ppm(18.88単位/mlに相当)でも十分な阻止円を得たことは既述の通りである。しかし最近の合成有機殺菌剤に関する知識<sup>2)</sup>は室内試験の成績が必ずしも圃場での実際の効果を予測し得ないことを示しており、さらに重要病害のうちには培養不能な全寄生菌によるものが多いので、特に抗生物質を農薬に導入しようとする場合にはこれらの事実を見落してはならない。したがって第2段階としては *in vitro* で選ばれた病害以外に若干の重要病害をつけ加えた接種試験が是非必要である。この実験は以上のような見地にたって、“第2段階”までの検討をしたものであるが、供試薬剤の適用時の形態が一貫しておらず、また病原菌や適用病害の選択には保存菌株、設備などの制約を受けたので、実験法の標準化にはほど遠い。以上の事情を考慮しながら論議をさらに進めてみる。

TMの散布によってコマツナの黒斑病を予防し得たという事実はTMが使用法の如何によっては植物の病害に対して利用できるかも知れないことを示唆している。しかし *in vitro* では6.25ppm以上で抗菌作用があるの

に反し *in vivo* では250ppm以上でなければ効果があらわれていない。また最も有効であったコムギのうどんこ病に対しても50ppmを必要とした。したがって抗生物質に期待されている低濃度処理での有効性という点からは、これらの成績ではまだ不十分である。さらにTMは粗製ナトリウム塩の状態ではアルカリ性でなければ水に溶けないためにこの製剤を使う際には比較的溶解度の高いアセトン溶媒として希釈したが、水溶性製剤でもpHが中性以下では力価が不安定であることは農薬としての製剤上にも植物への適用上にも問題がある。

処理法については葉面散布を行なった場合コムギのうどんこ病には予防および治療の両面に、またコマツナの黒斑病には予防的に効果が認められたが、散布液の形態はその都度異っているので、さらに厳密な試験が必要である。一方土壌灌注では緑豆の立枯病に対して滅菌土に播種前処理をした際にのみ明らかな効果がみられ、自然土では立枯病にもコムギのうどんこ病にも無効であった。この原因として考えられる土壤中での物理化学的あるいは生物的な不活性化や、TMのsystemicな作用、つまり根からの吸収、移行などの有無が追求されなければならぬ。

ムギ類のさび病に対しては高等動物の細菌性伝染病の化学療法剤として周知のサルファ剤が発病抑制効果を示すという興味ある報告がHASSEBRAUK<sup>3)</sup>をはじめHORSON,<sup>4)</sup> 山田<sup>5)</sup>によってなされているので、これにならってコムギの赤さび病についてTMの効果を検討したのであるが、結果は否定的であった。しかし同じくコムギの全寄生菌病であるうどんこ病に対しては予防的にも治療的にも効果があったことは注目に値する。ただ平田<sup>6)</sup>の指摘するようにうどんこ病の分生孢子は硫酸銅などに対する抵抗力が高いことや、単に水をかけただけでも病斑の減少がみられるというような特異な性質を吟味しなければならない。したがってTM溶液の濃度と発病との関係、加用界面活性剤の影響、散布液のpHなどについての詳細を明らかにする必要がある。また処理したコムギの葉先が黄化したことから、葉害についての十分な検討を行なうべきである。

以上のように1物質について限られた本実験から一般的な結論を引きだすことは到底できないが、将来抗生物質が今までに困難とされていた植物病害の防除、特に治療の面に有力な手段となる可能性を期待して、その実験法の基礎を作るための努力は今後も続けなければならないであろう。

## 要 旨

抗及び性物質トリコマイシンの植物病原菌に対する抗菌力を寒天拡散法、対峙培養法および孢子発芽試験法によって *in vitro* でたしかめた。

トリコマイシンの防除効果を検討するために、以上の抗菌力試験から選んだもののほかに全寄生菌などを加えて子苗接種試験をおこなった。その結果コムギのうどんこ病には治療、予防の両面に 50ppm で有効であり、アブラナ科を菜の黒斑病には 250ppm 以上で予防効果があった。*Pellicularia* による緑豆の立枯病に対しては滅菌土壤に播種前処理をした場合にのみ 100ppm で効果があった。ジャガイモの疫病とコムギの赤さび病には無効であった。

抗かび性物質を農薬に適用する場合の問題として、以上の実験法および結果についての考察を加えた。

## 文 献

- 1) 細谷省吾, 日本学化学療法学会雑誌 2, 1 (1954)
- 2) 小堀辰治ら, 皮膚科性病科雑誌 64, 51 (1954)
- 3) LUDWIG, R. A., THORN, G. D. and MILLER, D. M., Canad. J. Bot. 32, 48 (1954)
- 4) HASSEBRAUK, K., Phytopath. Zeitschr. 17, 384 (1951)
- 5) HORTON, H. H., Phytopath. 43, 659 (1953)
- 9) 山田昌雄, 日植病報 19, 146 (1955)
- 7) 平田幸治, 日植病報 19, 61 (1955)

## On the Application of Antibiotics as Agricultural Chemicals.

## I. Effect of Trichomycin on Plant Fungal Diseases.

By Hiroaki NAKAMURA

Trichomycin, an antibiotic having strong activity against *Candida albicans* was studied for the control of some important plant diseases.

At first, it was tested for antifungal action against phytopathogenic fungi by three methods; the cup method, the opposite culture method, and the spore germination method.

In above experiments, two diseases were found to

be suitable for the inoculation tests conducted with seedlings. The diseases caused by obligate parasites were added for the test because of their importance.

Though the possibility of applying trichomycin as agricultural chemical remained for further studies, the results of these tests indicated that trichomycin was effective against wheat powdery mildew and black leaf spot of crucifers especially.



## 抗生物質の農薬適用性について

### 第2報 セロサイジンのイネ白葉枯病に対する効果

中村 広明

イネ白葉枯病は従来西南暖地に局在する病害であったものが次第に北上して、近年では日本の稲作における防除の困難な重要病害の地位を占めるに至った。本病原細菌である *Xanthomonas oryzae* はグラム陰性菌で、*in vitro* ではストレプトマイシンが有効であることは早くから知られていたが、圃場試験に移すとイネに対する被害もあって本田における施用は経済的な効果を十分に発揮し得ず、その他の医薬としては有効な抗グラム陰性菌抗生物質もほとんど本病防除の有効な手段として実用の段階には現在までのところ至っていない。緊急を要する本病防除のための薬剤として新物質の検討が進められている今日、その効力を判定する資料を得るためにストレプトマイシン製剤を対照に新抗生物質であるセロサイジンを用いて1961年の夏に実施した鉢試験の結果をここに報告する。

#### 実験材料および方法

寄主植物としては水稻（品種十石）を選び、5月11日に播種、6月2日に直径12cmの素焼鉢に移植したものをを用いた。

白葉枯病原細菌には農業技術研究所から分与された *Xanthomonas oryzae* H-5809株を用い、向・渡辺培地\*を用いて試験管斜面上に37°Cで7日間培養し、その無菌水浮遊液を後述の方法で接種した。

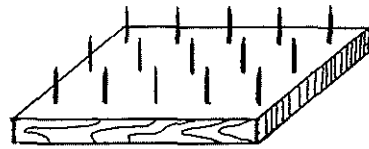
供試薬剤はセロサイジン (cellocidin)<sup>1,2)</sup>  $H_2N \cdot OC - C \equiv CO \cdot NH_2$  の結晶と、ストレプトマイシン水溶液製剤（力価=50,000mcg/ml）で、前者は125, 200, 500 ppmの水溶液、後者はストレプトマイシン500 mcg/ml相当の水稀釈液とし、これらを病原細菌の接種前または後にそれぞれ鉢当たり25 ml あて稲体の葉面に散布した。

接種に際しては第1図のような接種針を用いた。これは10×25mmの板に5mm間隔で15本の針をとりつけたものである。病原細菌の浮遊液を脱脂綿にしませ、これ

\* グルタミン酸2g、リン酸—カリ2g、塩化マグネシウム1g、硫酸第一鉄0.01g、硫酸マンガン0.01g、ショ糖5g、蒸溜水1l。pH6.5に修正する。

第1図 実験法

Fig. 1. Inoculation needles.



を接種針の針先に塗りつけた後、1鉢当たり10葉の葉身中央部に突きさした。

接種後の鉢は25°Cの接種箱中に2日間保ち、それ以後はガラス室内に移して経過の観察をおこなった。

効果の判定は最終散布7日後における黄色の病斑を接種点2点以上が癒合したはげしい病徴(A)と接種点周辺のみに限られる軽い病徴(B)とに分けて接種点の数をかぞえ、 $\frac{\Sigma(A \times 2 + B \times 1)}{\text{鉢数} \times 3}$ を罹病度、100— $\frac{\text{処理区の罹病度}}{\text{対照区の罹病度}}$ を効果指数として表現した。また葉害の表現には褐色乃至灰褐色の葉斑が接種点2点以上にわたるものを(C)、接種点のみに局在するものを(D)として接種点数をかぞえ、 $\frac{\Sigma(C \times 2 + D \times 1)}{\text{鉢数} \times 3}$ を葉害度とした。

#### 結 果

第1実験では7月22日に接種、セロサイジン200ppmを接種5日前、500ppmを接種3日後に散布した。結果は第1表に示すようにセロサイジン200ppmの接種前処理と500ppmの接種後処理の防除効果は24%と36%でほぼ同程度であった。しかし接種後処理の場合は明らかな葉害が観察された。

第2実験では8月1日に接種し、セロサイジン500ppm、ストレプトマイシン500 mcg/mlを接種前日、セロサイジン500ppmおよび125ppmを接種7日後に散布した。

第2実験の結果も第1表に示してある。対照の発病はかなりいちじるしかったが、セロサイジン500ppmを接種前日に処理した場合はほとんど完全に発病を抑えるこ

第1表 セロサイジンおよびストレプトマイシンのイネ白葉枯病防除効果と薬害  
Table 1. Effect of cellocidin and streptomycin on the bacterial leaf blight of rice and the growth of rice plant.

No. of Exp.	Antibiotic used	Conc. in ppm	Period of treatment	Degree of disease <sup>a)</sup>	Control index <sup>b)</sup>	Degree of phytotoxicity <sup>c)</sup>
I	Cellocidin	200	5 days before inoculation	19	24	0
	Cellocidin	500	3 days after inoculation	16	36	13
	Control	—	—	25	0	0
II	Cellocidin	500	1 day before inoculation	1	99	25
	Cellocidin	500	7 days after inoculation	12	72	24
	Cellocidin	125	7 days after inoculation	14	67	6
	Streptomycin	500	1 days before inoculation	17	60	0
	Control	500	—	42	0	0

a):  $\Sigma(2 \times A \times B) / 3 \times (\text{number of pots})$ ; A=number of inoculation points with severe symptom; B=number of inoculation points with slight disease symptom.

b):  $100 - (\text{degree of disease in treatment} / \text{degree of disease in control})$

c):  $\Sigma(2 \times C + D) / 3 \times (\text{number of pots})$ ; C=number of inoculation points with severe phytotoxicity; D=number of inoculation points with slight phytotoxicity.

とができた。しかしはげしい薬害も同時に起している。病徴が現われてから散布した場合、セロサイジン500ppm処理では病斑の進展をかなり抑えることができたが同時にはげしい薬害を起した。処理濃度を125 ppmにおとした場合は病斑の進展抑制効果はやや劣ったが薬害の程度は軽減された。またストレプトマイシン 500 mcg/ml の接種前処理によると防除指数は60でセロサイジンには劣るが、薬害はみられなかった。

なお、いずれの試験の場合も抗生物質を処理したイネの生育は無処理に比べて抑制される傾向がみられた。

### 考 察

はじめに述べたように緊急を要するイネ白葉枯病防除法確立のための1手段として薬剤の研究が重要な課題となっている今日、セロサイジンには大きな期待がもたれている。本実験の結果はセロサイジンがかなり発病および病斑進展の抑制効果をもつことを示しているが、同時に寄主植物に対してストレプトマイシンよりもさらにはげしい薬害を起すことも示している。このような傾向は1961年に全国各地でおこなわれた圃場試験<sup>3)</sup>でも指摘されている。一方いま一つの抗生物質であるクロラムフェニコールの本病防除薬剤としての妥当性も検討されはじめた<sup>4)</sup>。しかしいずれにしてもイネ白葉枯病の経済的防除のためには本病の生態学的研究の成果を十分にとり入

れた上で、単一的手段に固執せず、適時最適な防除法をその都度用いて、イネにいちじるしい薬害をおよぼすことなく発病を抑え、増収が可能になるような総合的対策を講じなければならないように思われる。したがって防除薬剤の効力検定法もイネの生育時期とその時期における病原細菌のポピュレーションまで考慮に入れて検討されるべきであろう。この報告はその意味では全く予備的なものに過ぎない。この点についての追求を今後おこなうつもりである。

### 要 旨

イネ白葉枯病防除薬剤としてとり上げられた新抗生物質セロサイジンの有効性をストレプトマイシンと比較して検討した。鉢植えした播種後60~80日の水稻(品種十石)に病原細菌の接種前または接種後、セロサイジンあるいはストレプトマイシンを散布した。

セロサイジン 500ppm の接種前処理ではほとんど完全な防除が可能であったが、同時にいちじるしい薬害を起した。一方ストレプトマイシン500mcg/mlの同様な処理では防除効果は中程度であったが、薬害はみられなかった。セロサイジン500ppm を接種後に処理した場合も相応な防除効果が得られたが、やはりはげしい薬害を起した。セロサイジン125ppm の接種後処理では防除効果はやや劣ったが、薬害の程度はかなり軽減することができ

た。

抗生物質を処理したイネはいずれも無処理のものに比べ、生育が不良であった。

## 文 献

- 1) 鈴木三郎ら, J. Antib. 11, 81 (1958)
- 2) 鈴木三郎ら, J. Antib. 11, 84 (1958)
- 3) 農業用抗生物質研究会報告 第5号, 179 (1961)
- 4) 農業用抗生物質研究会報告 第5号, 173 (1961)

## Summary

### On the Application of Antibiotics as Agricultural Chemicals

#### II. Effect of Cellocidin on Bacterial Leaf Blight of Rice

By Hiroaki NAKAMURA

Among new chemicals including antibiotics screened to control bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae*, streptomycin which is already confirmed and a new antibiotic, cellocidin (isolated from the culture broth of *Streptomyces chibaensis*; its chemical nature is acetyldicarboxamide), gave sufficient *in vitro* effect of inhibiting the growth of causal bacterium.

60-80 days aged rice plants grown in pots were sprayed with water solution of 500 ppm of streptomycin or 125, 200, 500 ppm of cellocidin respectively before or after inoculation. Bacterial suspension was coated at tips of 15 needles placed 5 mm interval in 10×25 mm square of wood block, and inoculation was performed by sticking these inoculation needles to 10 leaves per pot. Disease lesions and phytotoxic lesions were counted 7 days after the final spray.

500 ppm of cellocidin treated before inoculated the disease considerably, but caused severe phytotoxicity, the symptom of which are brown colored lesions around the inoculation points, while the same concentration of streptomycin inhibited the disease moderately causing no visible phytotoxicity. 200 ppm of cellocidin treated before inoculation gave the same effect as 500 ppm of streptomycin. Cellocidin at the concentration of 500 and 125 ppm after inoculation decreased 72% and 67% inhibition of disease lesions respectively. Phytotoxicity was severe at 500 ppm, but was moderate at 125 ppm. In all cases, the growth of rice plant was more or less inhibited and for this reason the practical use of such antibiotics has many difficulties yet, although they were effective to control the disease.

## 組織培養による殺菌剤の検定法

中村 広明

植物組織培養の近年の発展は植物病理学の研究分野においても新しい手段となり、特に人工培地では発育し得ない全寄生菌 (obligate parasite) をその寄主植物の組織培養上に接種することにより、*in vitro* 培養を可能にした。一方農業用殺菌剤のいちじるしい進歩にともなう、その生物検定法もいろいろと検討されてはいるが、これら全寄生菌に対しては人工培養不能のために適当な *in vitro* の試験法はほとんどみあたらない。筆者はそこで  $\alpha$ -ナフタレン酢酸 (NAA) を 0.5~1 ppm 含有するブドウ糖と無機塩の培地に一定量の供試殺菌剤を加えた寒天上にカブの根の肥大組織の切片を無菌培養し、新生したカルスの上にアブラナ科植物へと病菌 *Peronospora parasitica* (PERS.) FRIES の分生孢子浮遊液を接種して、その後の孢子形成の有無を調べることに、薬剤の効果を判定できるかどうかを検討した。またこの方法は培地内に含まれている薬剤の組織培養による吸収と、その上に接種された病原菌に対する効果を同時にみるので、薬剤のいわゆる systemic action の検定法にもなる可能性があるために、供試薬剤としてはこのような作用を問題にされているものを選んだ。さらに吸収された薬剤は組織培養の発育を抑制することがしばしばあるが、この現象を殺菌剤の実用上に起る寄主植物に対する薬害と対比して検討した。

## 実験材料および方法

**培養基** 寄主植物組織の培養基としては GAUTHERET 一派の常用する基本寒天培地 (第1表) に NAA を 0.5 または 1 ppm 加えたものを対照とし、供試薬剤を目的に応じた濃度に混入した。これらは 17.5×1.7cm の試験管に 15ml ずつ分注、綿栓後 110°C で 20 分間高圧殺菌してから用いた。

**供試薬剤** カブの根からとった組織培養上でのアブラナ科へと病菌に対しては cycloheximide (1 または 1.25 ppm), griseofulvin (1 または 125 ppm), antimycin-A (1 ppm), blasticidin-S (1 ppm), cellocidin (1 ppm), PMA=phenylmercuric acetate (0.5 または 18.5 ppm) をそれぞれ基本培地に混入させて実験に供した。

第1表 植物組織培養用基本培地の処方 (1l 当り)

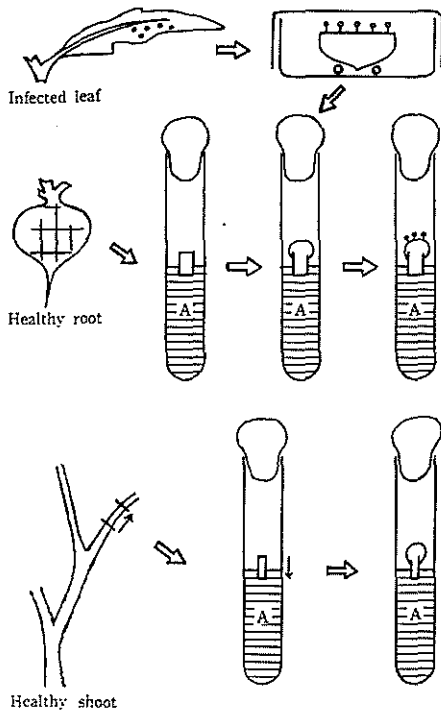
Table 1. GAUTHERET's basal agar medium for plant tissue culture.

Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	500	mg
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	125	mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	125	mg
KNO <sub>3</sub>	125	mg
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1	mg
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1	mg
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1	mg
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.1	mg
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.03	mg
AlCl <sub>3</sub>	0.03	mg
NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.03	mg
KI	0.01	mg
Vitamin B <sub>1</sub> (Thiamine)	1	mg
$\alpha$ -Naphthaleneacetic acid	0.5-1	mg
Glucose	30	g
Agar	9	g
Distilled water	1	l

ブドウの枝の組織培養には captan (10 または 100 ppm) を、またリンゴおよびナシの枝の組織培養には thiram (100 ppm), dichlon (100 ppm), urbazid=methylarsin bisdimethyldithiocarbamate (50 ppm) をそれぞれ、または thiram と dichlon とをあわせて基本培地に混入させ、これらの生育阻害作用を調べた。

**植物組織の無菌的採取とアブラナ科植物へと病菌の接種** カブの根の組織培養へと病菌の接種の方法は概略を第1図に示す。まずカブの根の肥大部のみを切りとって水洗し、滅菌したガラス製のシリンダー (直径 8.5cm, 高さ 12cm) の中に入れて 95% のアルコールに瞬時没した。その後、有効塩素 0.015% の次亜塩素酸ソーダ液 (アンチホルミン) で 45 分間消毒した。つぎに薬液を滅菌水で 2 回洗いおとした。20×20cm の滅菌濾紙の束の間にこの消毒した植物をはさんで、火焰で滅菌した外科刀で 1×1×1.5cm 位の直方体に切り出した。これらの組織切片を試験管の寒天表面から約 5mm の深さに挿し、綿栓の上部をさらにポリエチレン布で覆った。これらの試験管はその後散光下において 25°C で培養した。培養後 20~30 日で新生したカルス上には殺菌水に浮遊させたへと

第1図 実験法  
Fig. 1. Method of experiment.



A: Tissue culture medium and test fungicide  
 病菌の分生胞子を白金耳で点滴接種した。接種後ただちに試験管を以前と同じ条件に保ち、培養を続けた。  
 ブドウ、リンゴおよびナシの枝はカブと同様な消毒を

おこなった後、滅菌濾紙束の間で1.5cmの長さに切ってから表皮だけをはぎとり、試験管の寒天面に倒立させて挿した。(第1図下段)

結果の表現 無菌培養中の組織切片は雑菌に汚染されたもの、または薬剤の作用で枯死するものを除き、20~30日でカルスを新生する。カルス形成の盛んなものと僅かなものとに2大別して記録し、全採取数に対する率で供試薬剤の組織培養におよぼす影響をあらわした。またべと病菌に対する効果については肉眼で確認し得る胞子形成を観察し、その数の接種個体数に対する率で表現した。

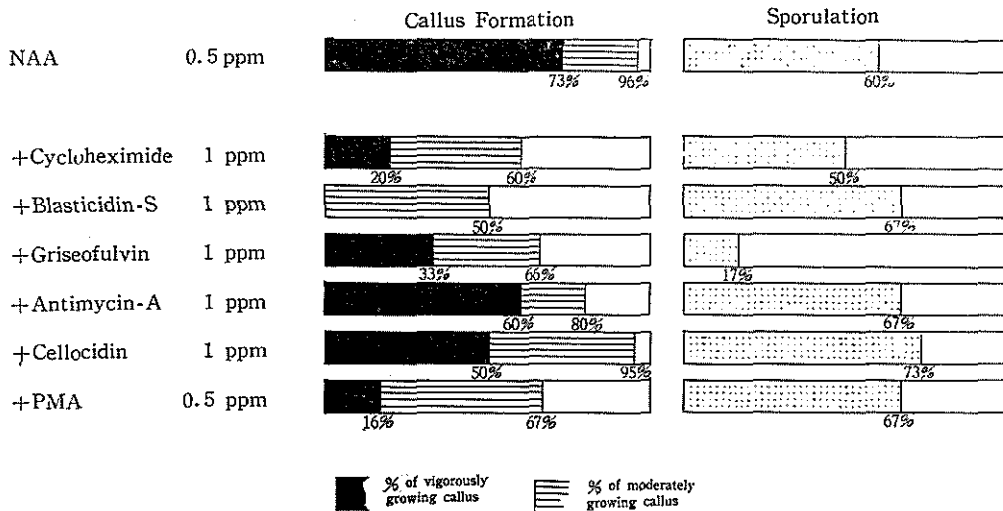
結 果

基本培地に NAA 0.5 ppm のみを含むものを対照とし、これに cycloheximide, blastidicin-S, griseofulvin, antimycin-A, cellocidin の各 1 ppm または PMA 0.5 ppm を加えた場合に、これらがカブの根の組織培養におけるカルス形成におよぼした影響を第2図の左側に図示した。カルス形成の抑制傾向はいずれの薬剤についてもみられたが、この濃度ではすべて軽微なものであった。

さらにこれらの組織培養にべと病菌を接種して10日後の胞子形成状況を観察した結果は第2図の右側に要約した。培地に griseofulvin を含むカルス上での胞子形成だけはかなり低下したが、その他の場合は対照と同程度であった。

そこで cycloheximide, griseofulvin, PMA の3薬剤を選び、これらを培地に混入する濃度を 1.25 ppm, 125

第2図 カブの組織培養およびべと病菌におよぼす薬剤の効果  
 Fig. 2. Effect of fungicides on turnip root tissue culture and downey mildew fungus.

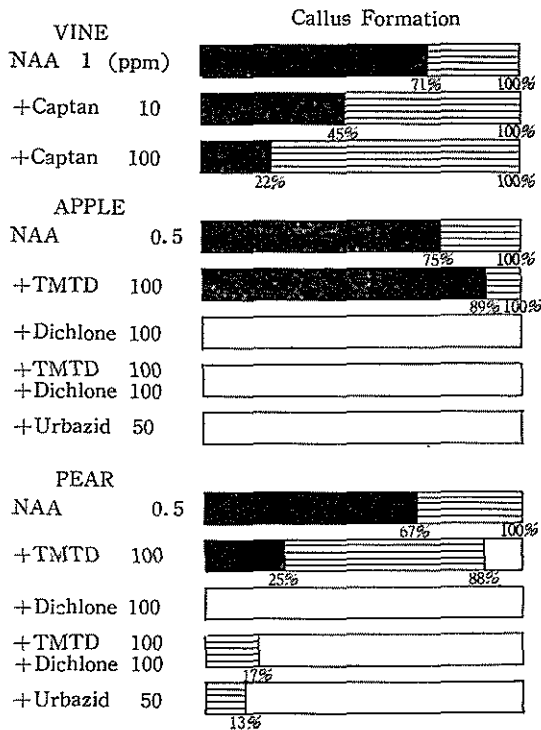


ppm, 18.5 ppm とそれぞれ実用濃度にして実験を繰返した。cycloheximide 培地ではきわめてわずかにカルスの新生をみとめた。griseofulvin 培地でもカルス形成をわずかに起す場合がみられたが培養組織切片全体が間もなく黒変して枯死に至った。PMA 培地での葉害は最もはげしく、すべての切片はカルスを全く形成することなく黒変し、枯死した。生存した切片にはすべてべと病菌を接種したが、胞子形成をみとめたものは皆無であった。

つぎに殺菌剤の果樹に対する葉害検定への応用を試みた。供試薬剤として captan をブドウの枝の組織培養で、thiram, dichlon, urbazid をリンゴとナシの枝の組織培養で検討した。captan は高濃度を培地を含めて高圧殺菌すると寒天が固化しないので、培地混入濃度は10ppmと100 ppm とにした。thiram と dichlon は実用濃度に合わせて各100ppm とし、これらを共に含む培地について検討した。urbazid の濃度は50 ppm とした。これら薬剤が各供試植物のカルス形成におよぼした効果を第3図に示す。

第3図 ブドウ、リンゴ、ナシの組織培養におよぼす殺菌剤の効果

Fig. 3. Effect of fungicides on shoot tissue cultures of vine, apple and pear.



Captan は100 ppm でもブドウのカルス形成をあまり阻害しなかった。Thiram 100ppm のリンゴとナシのカルス形成におよぼす影響もほとんどなかったが、dichlon 100ppm はリンゴ、ナシの切片をすべて枯死させた。しかし thiram 100ppm と dichlon 100ppm が共存するときはいくらかカルスを生じたナシの切片もあった。urbazid 50ppm も非常に阻害的で、リンゴの切片をすべて枯死させ、ナシの切片の一部のみがわずかにカルスを生じたに過ぎなかった。

考 察

植物の組織培養を応用した殺菌剤の検定法について従来その例をみないのは、技術上多くの困難をとまなう点にあるのであろう。この実験を通じても次のような難点が考えられる。

組織培養での植物の生長は微生物の *in vitro* 生長に比べていちじるしも遅いことが第1の問題である。したがって殺菌による汚染が多く、病原微生物の接種試験にも幾多の障害がある。

第2に組織培養には厳密な無菌操作が必要のため、供試薬剤の処理法にも限定を受ける。本実験ではやむを得ず薬剤を培地に混入した上で高圧殺菌をおこなったが、そのために成分の変化する薬剤には適用できない。

第3に組織培養では植物が自然に生育する場合よりも薬剤による阻害を受けやすく、実際の使用濃度ではカルスの発育が起らないことが多い。そのために得られた結果を直接薬剤の実用性と結びつけることはできない。

第4に寄主植物の組織培養を通じて全寄生菌の *in vitro* 培養が可能になったとはいえ、まだその数は限られており、また必ずしも菌の生育はよくない。本実験に用いたアブラナ科植物べと病菌はカブのカルス形成が盛んなときにはかなりよく発育し、十分な胞子形成がみられる。しかし組織培養は前に述べたように供試薬剤の害作用を受けやすく、それにとまって菌の生長もいちじるしく害されるので定量的な結果を得ることがむづかしい。

以上のような多くの欠陥をもっているため、この実験結果から薬剤間の効果の比較を定量的におこなうわけにはいかないが、定性的には従来知られている事実を裏付けている。

なお今後実験法を改良すればいくつかの利点をもつ新しい生物検定法を確立することができるように思う。すなわち組織培養は現在までのところ全寄生菌の *in vitro* 培養の唯一の方法であり、また天然の植物体との

関係さえ得られれば薬剤の systemic な殺菌作用や植物に対する生理作用をも評価することができるからである。

### 要 旨

組織培養法の応用によって、人工培地では発育しない全寄生菌に対する薬剤の効果も *in vitro* で試験できるはずである。そこで GAUTHERET の基本培地に cycloheximide, griseofulvin, antimycin-A, blastocidin-S, celloctidin, phenylmercuric acetate の一定量を加えた寒天培地上にカブの根の肥大組織を培養し、カルスの新生をまわってからその上にべと病菌の分生胞子を接種してみた。

その結果いずれの薬剤でも 1 ppm (PMA 0.5ppm) ではカルスの形成を阻害しないが、べと病培の胞子形成も阻害しなかった。各薬剤を実用濃度にまで高めて混入すると、カルス形成はいちじるしく阻害され、接種したべと病菌も胞子形成をおこさなくなった。実験法の再検討によって全寄生菌に有効な殺菌剤の *in vitro* での評価が可能になると考えられる。

また殺菌剤の作物に対する薬害検定の可能性を考慮して captan, thiram, dichlon, urbazid を実用濃度で培地に混入した場合のブドウ、リンゴ、ナシの枝の組織培養におよぼす効果を検討した。

### Summary

#### Bioassay of Fungicides by Plant Tissue Culture

By Hiroaki NAKAMURA

By applying the plant tissue culture method, effect of fungicides on the obligate parasites which are not able to be grown on any artificial culture medium can be evaluated *in vitro*. About 1 cm<sup>3</sup> fragments of turnip root tissue were cultured in test tubes with 15 ml of GAUTHERET's basal agar medium (incorporated with 0.5 or 1 ppm of  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid) containing a known amount of test fungicides (cycloheximide, griseofulvin, antimycin-A, blastocidin-S, celloctidin and phenylmercuric acetate=PMA). After 20~30 days of incubation, conidial suspension of *Peronospora parasitica* (PERS.) FRIES was inoculated by pipetting on newly formed callus of turnip. At 1 ppm (0.5 ppm in the case of PMA), all test fungicides inhibited neither callus formation nor sporulation of infected downy mildew. When the concentrations of fungicides were increased to practical

use (e.g. cycloheximide; 1.25 ppm, griseofulvin; 125 ppm, PMA; 18.5 ppm), callus formation was inhibited considerably, and following sporulation of fungus did not occur. By examining the differences of these results in detail, each fungicide would be evaluated for their effect.

In the other experiments, 1.5 cm shoot fragments of vine, apple and pear were cultured on GAUTHERET's agar medium incorporated with fungicides at the concentrations of practical use to test their phytotoxicity. Captan did not inhibit the growth of new callus of vine at 100 ppm. Thiram had also no harmful effect on callus formation of apple and pear at the same concentration. But, dichlon and urbazid (methylarsinbisdimethyldithiocarbamate) strongly inhibited the growth of apple and pear explants at the concentrations of 100 and 50 ppm respectively.

## 抄 録

有機リン剤のアルカリによる加水分解の反応速度論的考察(有機燐殺虫剤の化学的研究 第4報) 久保博司・佐藤六郎 防虫科学 24, 89—93(1959)

エテルパラチオン (EP), メチルパラチオン (MP) および EPN をメタノール水溶液中でアルカリと接触せしめ, 0, 10 および 20°C における加水分解速度を測定した。この3化合物は本質的には

EP>MP>EPN の順にアルカリに対して安定だった, この順序はリン原子の求電子的性質の弱さに対応しているものと考えられる。溶液中のアルコール割合が増すにつれて加水分解速度が減少した, この現象は反応生成物であるパラニトロフェノールが水よりもアルコールに対してなじみ難いことに起因するものと思われる。

EP, MP および EPN 乳液のボルドー液での加水分解速度も同様にして測定した。親油性の高い EPN は石灰乳およびボルドー液中において MP よりも安定となった。その際銅成分は MP の加水分解を若干促進するが, EPN に対しては特に影響をおよぼさなかった。

**The rate of hydrolysis of some organophosphates.** (Chemical studies on organophosphorus insecticides IV) By Hiroshi KUBO and Rokurō SATŌ. Bōtyū-Kagaku 24, 89—93 (1959) (in English)

Alkali hydrolysis of pure ethyl parathion (EP), methyl parathion (MP) and EPN in methanol-water media at 0, 10 and 20°C was measured. The order of stability of these phosphate esters against alkali was arranged as follows: EP>MP>EPN, which coordinated with the order of the less electrophilic character on phosphorus atom. Change of the solvent from less aqueous to a more aqueous medium accelerated the hydrolysis reaction. This phenomenon would be caused by the decreased thermodynamic probability of the reaction as the product (*p*-nitrophenol) was less solvated than water. The similar kinetic study of EP, MP and EPN emulsion in Bordeaux mixture was carried out. EPN was more stable than MP in milky calcium hydroxide and Bordeaux mixture, probably because of more lipophilic property in itself. Cu-component in Bordeaux mixture activated the hydrolysis of MP, but had no influence on that of EPN.

タルクの物理化学的性質がメチルパラチオン粉剤の経時変化に及ぼす影響 (有機燐殺虫剤の化学的研究 第5報) 佐藤六郎・久保博司 防虫科学 24, 93—99 (1959)

代表的26種の天然タルクを用いて, 1.5%メチルパラチオン粉剤を調製し, 30および50°Cに保存して有効成分の経時変化率を測定した。他方タルクの水分吸着能

(I), アンモニア吸着能 (II), 置換性カチオンの量 (Mg, Ca, Al, Fe) (III), 塩基置換容量 (IV), 全塩基度 (V), 全酸度 (IV) および表面酸性 (VII) などを測定した。

1.5%メチルパラチオン粉剤の経時変化率とキャリアーの特性 I, II, IV および V とはかなり高い相関のあることがわかった。なかでも, 非水酢酸中での過塩素酸滴定値 (V) (これを全塩基度とした) はメチルパラチオンの分解と極めて高い相関を示した。メチルパラチオンのタルク中での分解機構は粉体表面に分布した電位供与に基づく吸着活性点によるリン原子に対する求核的攻撃に基因するものと推測された。

**Chemical and physical properties of talcs and their behavior on the decomposition of methyl parathion dust formulation.** (Chemical studies on organophosphorus insecticides V) By Rokurō SATŌ and Hiroshi KUBO Bōtyū-Kagaku 24, 93—99 (1959) (in English).

Methyl parathion 1.5% dust formulation was prepared with 26 commercial talcs, and the storage decomposition of the active ingredient was observed at 30 and 50°C. The amount of sorbed moisture (I), that of chemisorbed ammonia (II), that of some replaceable cations including Mg, Ca, Fe and Al (III), the base exchange capacity (IV), total basicity (V), total acidity (VI) and surface acidity (VII) of these carriers were measured. Considerably high relationships were obtained between the rate of storage decomposition of methyl parathion and the data of I, II, IV and V. Especially the total basicity, evaluated by the titration of the carrier with perchloric acid in non-aqueous acetic acid, proved to have a potent influence on the degradation of 1.5% methyl parathion dust formulation. The results are consistent with the proposal that the reaction involves a nucleophilic attack to the phosphorus atom of methyl parathion molecule by the electron donors distributed over the active surface of talcs.

**Methyl parathion 粉剤の分解防止剤について** (有機燐殺虫剤の化学的研究 第6報) 後藤貞康・牟田一郎・佐藤六郎 防虫科学 24, 99—108 (1959)

メチルパラチオンを粉剤に製剤化すると, 保存中に著しく分解するので, その分解機構を探究し実用的な分解防止剤を開発する目的で, 各種の物質を添加してメチルパラチオンの分解におよぼす影響を検討した。その結果, 脂肪酸, アルコール, triphenylphosphate, alkylbenzene sulfonate などが大部分のキャリアーに対して分解防止効果をもつことがわかった。

つぎに分解防止剤の作用機構について検討した。これ



らの分解防止剤を添加しても、キャリアーの表面酸性はあまり変化しない。また、分解防止剤のうち中性の物質について、アルコール溶液中でのアルカリによるメチルパラチオンの分解を抑制するかどうか検討したが、粉剤中におけるほど著しい抑制効果はみられなかった。キャリアーがガス状のメチルパラチオンを吸着する能力を分解防止剤が阻害するかどうか検討したが、はっきりした吸着抑制効果はみられず、吸着されたメチルパラチオンの分解は防止剤によって抑制された。また、diphenylなどは金属銅のメチルパラチオン分解作用を抑制し、phenol、脂肪酸などは水酸化鉄の作用をおさえた。これらの検討および、別報に記載のキャリアーの物理化学的性質についての研究の結果より考察すれば、粉剤中におけるメチルパラチオンの分解は主としてキャリアーの表面の固体塩基的な表面活性性によっておこるものであり、分解防止剤はこれらの表面活注点を阻害するとともに、キャリアーの塩基性を中和し重金属化合物の触媒作用を阻害することによって分解防止効果を示すものと思われる。

**Stabilizers for methyl parathion dust formulation.** (Chemical studies on organophosphorus insecticides. VI.) By Sinkō GOTŌ, Ichirō MURA, Rokurō SATŌ. *Bōtyū-Kagaku* 24, 99, (1959)

It is well known that the methyl parathion dust formulated with mineral carriers shows marked decomposition during storage. The mechanism of decomposition or the practical technique of decreasing the rate of the decomposition has not been completely clarified.

In the previous paper, we reported that mineral carriers may act as a basic catalyzer to the hydrolysis of methyl parathion, and so it is desirable to mix the stabilizers in the dust formulations.

In this work, the effects of various organic substances on the decomposition of methyl parathion dusts were studied. Seven mineral carriers, e. g. talc, acid clay and kaolin etc. were used, and triphenylphosphate, fatty acids, alcohols and alkylbenzenesulfonates showed the most remarkable stabilizing effect for all carriers used. The mechanism of their stabilizing action was also investigated for clarifying the mechanism of the catalytic action of carriers.

The possible mechanism of the stabilizing action seemed to be as follows;

1. The neutralization of the basicity of carriers.
2. The deactivation of carriers by stabilizers being absorbed on the negatively charged centers on the surface of the carrier, which may be the active centers of the catalytic action.
3. The inhibition of the catalytic action of the heavy metals and metallic compounds in carriers.

**Methyl parathion と酢酸フェニル水銀との反応について** (有機燐殺虫剤の化学的研究 第7報) 牟田一郎・久保博司・後藤真康・佐藤六郎 *防虫科学* 24, 108—114 (1959)

農薬散布労力を軽減する目的で、有機燐殺虫剤と有機水銀殺菌剤を混合した製品が計画されているが、製剤中で主剤が反応して効力を失うおそれがある。そこでメチルパラチオンと各種の有機水銀化合物を珪砂粉と混合してメチルパラチオンの分解を検討した。有機水銀化合物には、クロロホルム—酢酸混合溶液中で塩酸で滴定したとき酢酸フェニル水銀などのように塩酸を消費するものと、塩化フェニル水銀など塩酸を消費しないものがあるが、前者はメチルパラチオンの分解を促進し、その分解率はメチルパラチオンに対する有機水銀化合物の添加モル比に比例することがわかった。

以上の検討の結果、有機水銀化合物と methyl parathion が等モル反応を行うと予想されるので、methyl parathion と酢酸フェニル水銀とを混合し、50°C に放置して反応させた結果反応生成物として2種の化合物を分離した。元素分析、赤外スペクトル紫外部吸収により、両者の化学構造は、*p*-nitrophenyl acetate および *o*,*o*-dimethyl *o*-phenyl mercuric thionophosphate であることを推定し、それぞれ合成によってえた標品と融点、赤外スペクトルの比較、混融試験によって確認した。この化合物はいずれも殺虫作用をもたないが、*o*,*o*-dimethyl *o*-phenylmercuric thionophosphate は酢酸フェニル水銀と同等の殺菌力を示した。また、両者は水が存在するときはさらに分解し、ベンゼン、酢酸、硫化水銀、*p*-nitrophenol、などになることを確認した。珪砂粉中でもこのような反応が行われているものと思われる。

**Reaction of methyl parathion with phenylmercuric acetate.** (Chemical studies on organophosphorus insecticides. VII) By Ichirō MURA, Hiroshi KUBO, Sinkō GOTŌ, Rokurō SATŌ. *Bōtyū-Kagaku* 24, 108 (1959)

We have already reported that the active ingredient of methyl parathion dust suffered remarkable decomposition by adding organomercuric compounds and the mechanism of the decomposition was not evident.

Recently we found that the basicity of organomercuric compounds measured in chloroform-acetic acid mixture had close relation with their action on methyl parathion dust, and the rate of decomposition of methyl parathion in quartzite dust mixed with organo-mercuric compounds was proportional to the molar ratio of organomercuric compounds to methyl parathion.

It seems that methyl parathion was decomposed with organomercuric compounds in an equimolar reaction.

We made an attempt to react methyl parathion with phenylmercuric acetate (PMA) only for four

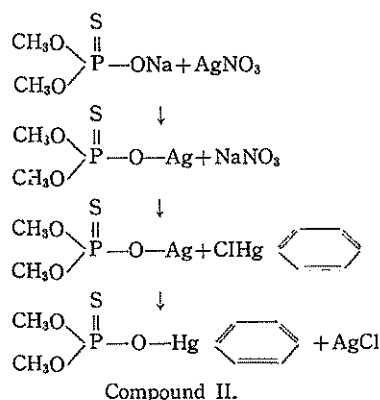
days at 50°C.

As the result, we could isolate two compound (I and II) from the reaction mixture. It was identified that compound I was *p*-nitrophenyl acetate. Another compound II was seemed to be a new substance containing P, S and Hg.

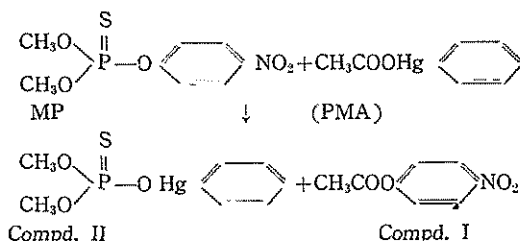
Compound II: Anal. Found. Hg, 47.35; S, 7.80; P, 7.56%; M. W. 400 (Rast method). Calcd. for  $C_8H_{11}O_3$  SPHg; Hg, 47.90; S, 7.65; P, 7.40%, M. W. 419. Mp. 84–85°C, white needle crystal.

Ultraviolet absorpton in methyl alcohol, max. 220  $m\mu$   $\epsilon=13600$ . This crystal is soluble in alcohol, chloroform, acetone, benzene, ether, carbon tetrachloride, slightly soluble in n-hexane and water, Solubility in water; 0.13 g/100 ml at 30°C.

Compound II was synthesized as follows:

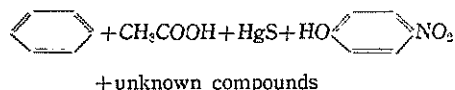
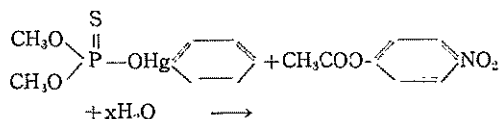


From the above-results, it seems that methyl parathion reacts with PMA as follows.



We could isolate benzene, acetic acid, HgS, *p*-nitrophenol and other unknown compound as the reaction product, when the reaction mixture of methyl parathion and PMA was treated with water for four days at 50°C.

It seems that the reaction mixture of methyl parathion and PMA decomposed with water as follows:



Consequently, we consider that the decomposition of methyl parathion in quartzite dust being mixed with PMA proceeds by the same way as the above-mentioned.

タルクの物理化学的性質が EPN 粉剤の経時変化に及ぼす影響 (有機燐殺虫剤の化学的研究 第8報) 佐藤六郎・久保博司 防虫科学 24, 153~59 (1959)

第6報でメチルパラチオン粉剤の経時変化とその機構を検討したが、本報ではさらに、前報と同一のタルクを用いて 1.5% EPN 粉剤を調製し、タルクの物理化学的性質と EPN 成分の分解との相関性を検討した。タルクの水分吸着能、塩基置換容量および全塩基度は EPN 粉剤の経時変化と深い関係をもつことが確認された。EPN の分解機構はメチルパラチオンの場合と同様、タルクの電価供与性吸着活性点の量とその塩基度とに基因するものと推測された。

**Chemical and physical properties of talcs and their behavior on the decomposition of EPN dust formulation.** Chemical studies on organophosphorus insecticides VIII. By Rokurō SATŌ and Hiroshi KUBO Bōtyū-Kaigaku 24, 153~59 (1959) (in English)

This is an additional report of our preceding paper (VI). A correlation between the chemical and physical properties of 26 commercial talcs and the storage degradation of active ingredient of 1.5% EPN talcum dust formulation was investigated. The amount of sorbed moisture, base exchange capacity and total basicity of the talc had highly significant relation to the decomposition of EPN in the dust formulation. The degradation of EPN would proceed essentially by the same way as that of methyl parathion. The possible two dominant factors would be the quantity of electro-donative active site and its chemical basicity.

クレーの物理化学的性質がメチルパラチオン粉剤の経時変化に及ぼす影響 (有機燐殺虫剤の化学的研究 第9報) 佐藤六郎・久保博司 防虫科学 24, 159~63 (1959)

市販18種のクレーを用いて 1.5%メチルパラチオン粉剤を調製し、30および 50°C に保存した場合の有効成分の経時変化を観察した。また、クレーの水分吸着能、塩基置換容量、全塩基度、全酸度および表面酸性などの特性を測定し、これらのキャリアーの理化学的特性とそれから作られたメチルパラチオン粉剤の経時変化率とを比

較検討した。クレーの場合にはいくつかの分解要因が重なって、理論的解析が複雑ではあるが、常温で最も本質的な要因となっているのは塩基性であると考えられる。さらに、クレーの表面酸性は高温になった場合メチルパラチオンを S-メチルパラチオンに異性化せしめることにより経時変化を起す一つの要因となっている。

**Chemical and physical properties of clays and their behavior on the decomposition of methyl parathion dust formulation.** (Chemical studies on organophosphorus insecticides IX. By Rokurō SATŌ and Hiroshi KUBO, Bōtōyū-Kagaku 24, 159—63 (1959) (in English)

This is an extensive report of our preceding papers (No. VI and VIII). Methyl parathion 1.5% dust formulations were prepared with 18 commercial clays, and stored at 30 and 50°C. The storage decomposition of the active ingredient was observed, and compared with such physicochemical properties of carriers as, the amount of sorbed moisture, base exchange capacity, total basicity, total acidity and surface acidity. The theoretical analysis of the correlation was not in a simple feature on account of double intermingled degradation factors. The most substantial and the predominant factor of the degradation at the ordinary temperature would be attributable to the basicity of the clay. Acidic character of the clay surface due to the present hydrogen ion would cause the catalytic isomerization of methyl parathion to unstable S-methyl isomer at high temperature.

**Methyl parathion と酢酸フェニル水銀との反応について (その 2)** (有機燐殺虫剤の化学的研究 第10報) 牟田一郎・後藤真康・佐藤六郎 防虫科学 24, 163—68 (1959)

第7報にひきつづき、珪砂粉剤中におけるメチルパラチオンと酢酸フェニル水銀の反応について研究した。メチルパラチオンと有機水銀化合物は有機溶媒中でも反応するので、混合粉剤中のメチルパラチオンの定量の際、メタノールで抽出している間に両者が反応し、正確な定量ができないことがわかった。この場合、塩酸を含んだメタノールを使用すればこの反応を防ぐことができるので、この方法で珪砂粉剤中のメチルパラチオンの経時変化を測定した。メチルパラチオンは 30°C, 50°C いずれに保存しても当量的に分解される。また、混合粉剤中の有機態水銀をクロロホルムで抽出し、塩酸で定量してその経時変化を測定したところ、メチルパラチオン、酢酸フェニル水銀混合粉剤中の 4 週後の有機態水銀の残存率は 30°C で 69%, 50°C で 50% であった。ペーパークロマトグラフにより、混合粉剤中に残存する有機態水銀は O,O-dimethyl O-phenylmercuric thionophosphate であることがわかった。また、経時変化した混合粉剤中には硫化水銀が生成していた。ペーパークロマトグラフに

よって、混合粉剤中に p-nitrophenyl acetate が存在することも確認された。これらの検討の結果よりみて、メチルパラチオンと酢酸フェニル水銀は珪砂粉中でも当量的に反応し、中間生成物として p-nitrophenyl acetate と O,O-dimethyl O-phenylmercuric thionophosphate を生じ、さらに水によって分解して p-nitrophenol, 酢酸, 硫化水銀, ベンゼン, などになるものと思われる。

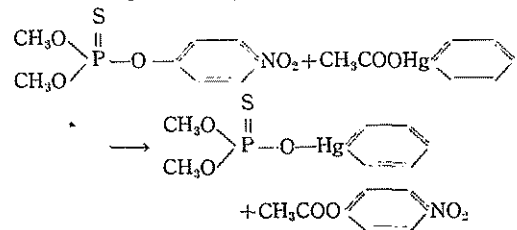
**Reaction of methyl parathion with phenylmercuric acetate, II. Chemical studies on organophosphorus insecticides. X.** By Ichirō MŪTA, Sinkō GOTŌ, Rokurō SATŌ, Bōtōyū-Kagaku 24, 163, (1959)

Methyl parathion was decomposed with organomercuric compounds in methanolic solution but not decomposed in methanolic solution containing HCl.

When methyl parathion was mixed with organomercuric compounds in quartzite dust, the rate of decomposition was proportional to the mol ratio of organomercuric compounds to methyl parathion during storage at 30°C and 50°C. At 50°C the decomposition of methyl parathion was increased by the catalytic action of the decomposed products of organomercuric compounds with methyl parathion.

When phenylmercuric acetate (PMA) was mixed with methyl parathion in quartzite dust, PMA was converted to O,O-dimethyl O-phenylmercuric thionophosphate. The decomposition of organomercuric compound is 31% at 30°C and 50% at 50°C after four weeks storage.

By paper chromatography p-nitrophenyl acetate (Rf 0.41) and O,O-dimethyl O-phenylmercuric thionophosphate (Rf 0.93) were detected in methyl parathion dust containing PMA. (Fig. 1) Consequently the reaction of methyl parathion with PMA in dust formulation proceeds by the following way.



**Malathion の分解に及ぼす添加物の影響** (有機燐殺虫剤の化学的研究 第11報) 山内正雄・牟田一郎・佐藤六郎 防虫科学 24, 168—73 (1959)

マラチオンに対する水分、金属および金属塩の影響を検討した結果、これら添加物のマラチオンに対する分解力は O,O-dimethyl dithiophosphoric acid (以下 DDA と略称する) の金属塩に対すを親和力と密接な関係があり、また酸化力、還元力、塩基性も分解要因であることを見出した。粉剤の試験には稀釈剤として珪石粉を用い、

乳剤には乳化剤 sorpol 2030 A を用いて、マラチオン含量を夫々約 1.7%, 52% にした。各試料は 50°C に保存し、粉剤では 2 週間、乳剤では 5 週間試験した。DDA の金属に対する親和力は次の如くである。

$\text{HgCl}_2 > \text{CuCl}_2 > \text{HgNO}_3 = \text{Bi}(\text{NO}_3)_3 > \text{Hg}(\text{NO}_3)_2 > \text{CuCl} = \text{AgNO}_3 > \text{PbCl}_2 > \text{SnCl}_2 > \text{Hg}_2\text{Cl}_2 > \text{CdCl}_2 > \text{NiCl}_2 > \text{FeCl}_3 > \text{SnCl}_4 > \text{FeCl}_2 = \text{CoCl}_2$ 。

水分の影響：粉剤においては、添加量が 0~5% 間では影響が認められないが、乳剤の場合には水分含量に比例して著しく分解した。金属粉の影響：金属粉は Cu, Pb, Hg, Sn, Zn, Al および Fe を用い、これらを 1% 添加した粉剤について試験した。分解率の順序は  $\text{Cu} > \text{Pb} > \text{Hg} > \text{Sn}$  で、これは低級塩化物の DDA に対する親和力の順序にはほぼ合致した。金属塩の影響：粉剤においては銅、鉛、水銀、錫、マグネシウム、アルミニウムおよび鉄化合物を用い、夫々 1% 添加して試験した。分解率の著しい化合物は  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{SnCl}_4$ ,  $\text{SnCl}_2$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{FeCl}_2$ ,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{CuO}$ ,  $\text{CuCO}_3$  など DDA に対する親和力が大なる化合物では分解率も大であるが、これに酸化力、還元力、塩基性などの性質を併有する化合物では特に分解が大きく現れた。乳剤については  $\text{FeCl}_2$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{AlCl}_3$  について試験したが 0.1% 以下の濃度では殆ど影響が見られなかった。

**Effect of additives on decomposition of Malathion.** Chemical studies on organophosphorus insecticides. XI. By Masao YAMAUCHI, Ichiro MURA, Rokurō SATŌ. *Bōtū-Kagaku* 24, 168—73 (1959)

The effect of moisture, metal powders and metallic salts on the decomposition of malathion in quartzeit dust and emulsion formulation has been investigated.

1. Moisture had no influence upon the decomposition of malathion in dust formulation. But malathion emulsion suffered great influence and its active ingredient was decomposed in proportion to the amounts of moisture added.

2. The affinity of *O, O*-dimethyl dithiophosphoric acid for metallic ions was determined and it was expressed in inverse logarithm of the product of the least mole concentration of both solutions in which the precipitate or colour can be detectable.

3. Some of the metal powders caused remarkable decomposition of malathion in quartzeit dust formulation and the order is arranged as follows;  $\text{Cu} > \text{Pb} > \text{Hg} > \text{Sn}$

This order is consistent with affinities of metallic chloride of lower valency.

4. Some of the metallic salts also caused remarkable decomposition of malathion in quartzeit dust in proportion to affinities.

Oxydative ability, reducing power and basicity of metallic salts are additional factors which decompose malathion more strongly.

**Methyl parathion 粉剤の分解防止剤について** (その 2) (有機燐殺虫剤の化学的研究 第 12 報) 佐藤真康・牟田一郎・佐藤六郎, *防虫科学* 24, 207—216 (1959)

第 6 報にひきつづいてメチルパラチオン粉剤の分解防止剤について研究した。分解防止剤の添加量と分解防止効果との関係について検討した結果、脂肪酸はある程度以上添加量をますと、分解防止効果はますます、かえって効果が少くなるが、エステルではこのようなことはなく、多量に添加すれば分解をほぼ完全におさえることができた。つぎに防止剤を 2 種混合した場合を検討した。タルクに caprylic acid を 1% 添加すると分解防止効果は極大となるが、caprylic acid 1% に他の分解防止剤を添加しても効果はまよなかつた。p-toluene sulfonic acid についても同様のことがみられた。メチルパラチオンと分解防止剤をキャリアーと混合する順序をかえてみたが、どちらを先にキャリアーと混合しても、あるいは両者を同時にキャリアーと混合しても、分解防止効果は大差なかつた。

以上の検討の結果、実用的には分解作用の比較的少いキャリアーをえらび、これに脂肪酸、エステル、スルホン酸など 1~2% を主剤と共に添加すればよいと思われる。

**Stabilizers for methyl parathion dust formulation. II.** Chemical studies on organophosphorus insecticides. XII. By Shinkō GORŌ, Ichirō MURA and Rokurō SATŌ, *Bōtū-Kagaku*, 24, 207, (1959)

The amount of the stabilizer, the application of two kinds of stabilizers in combination and the mixing order of methyl parathion and the stabilizer with the carrier were studied.

The decomposition of methyl parathion decreased in proportion to the increase of the amount of fatty acid used, and the maximum inhibition obtained when 0.04 mol per kilogram of the carrier was used. The use of too much amount of the acid decreased the stabilizing effect, as the acid catalyzed the isomerization of methyl parathion to less stable S-methyl isomer. In the case of the ester used as stabilizer, the maximum did not occur and the decomposition of methyl parathion was inhibited almost perfectly, when good enough amount of the ester was used. The use of two kinds of stabilizers in combination or the change of the mixing order of methyl parathion and the stabilizer with the carrier did not rise the stabilizing effect.

In practical use, it may be most suitable that fatty acids (1~2%) or esters are used as stabilizers.

**Methyl parathion** の分解に及ぼす添加物の影響 (有機燐殺虫剤の化学的研究 第13報) 牟田一郎・後藤真康・佐藤六郎 防虫科学 24, 216—20 (1965)

メチルパラチオンの乳剤および珪砂粉をキャリアーとした粉剤に水、金属、金属塩などを添加し、メチルパラチオンの経時変化におよぼす影響をしらべた。乳剤では水を添加するとメチルパラチオンの分解が添加量に比例して促進される。金属塩、酸無水物は5ミリモル程度添加してもほとんど影響はない。

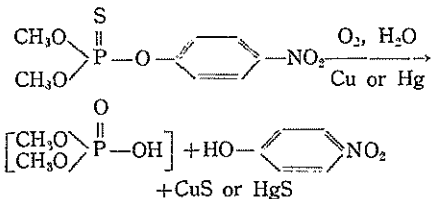
珪砂粉剤の場合には水分の影響はほとんどみられない。銅、鉛、水銀などの金属粉は分解を促進する。銅、水銀は酸素が存在しないと分解を促進しないので、メチルパラチオンの硫黄をうばって酸素を与えることによって分解を促進するのであろう。金属酸化物、金属塩のなかでは、 $\text{CuCl}_2$ 、 $\text{HgCl}_2$  などの酸化力のあるもの、 $\text{CuCl}$ 、 $\text{SnCl}_2$  などの還元力のあるもの、酢酸銅、水酸化銅などの塩基性のものなどが分解を促進し、それ以外のカルシウム、マグネシウム、ナトリウム、亜鉛、アルミニウム、鉛の塩などは分解を促進しない。

**Effect of additives on decomposition of methyl parathion.** Chemical studies on organophosphorus insecticides. XIII. By Ichirō MURA, Shinkō GOTŌ, and Rokurō SATŌ. Bōtō Kagaku 24, 216 (1959)

The effect of moisture, metal powders, metallic oxides, metallic salts on the decomposition of methyl parathion in quartzite dust and emulsifiable concentrate has been investigated.

Moisture had no effect on the decomposition of methyl parathion in quartzite dust. But in the case of emulsifiable concentrate the active ingredient was decomposed remarkably and its rate was proportional to the amounts of moisture added.

Powder of copper, mercury and lead caused remarkable decomposition of methyl parathion in quartzite dust. In the presence of oxygen, copper or mercury accelerated the decomposition of methyl parathion, and mercuric sulfide was formed in quartzite dust. From these results, it seems that methyl parathion are decomposed with copper or mercury as follows;



Oxydative ability, reducing power and basicity of metallic salts and oxides are factors which decompose methyl parathion in quartzite dust.

**Methyl parathion** 粉剤の経時変化生成物について (有機燐殺虫剤の化学的研究 第14報) 後藤真康・牟田一郎・佐藤六郎 防虫科学 25, 111—15 (1960)

経時変化したメチルパラチオン粉剤中の分解生成物を検討した。分解生成物中 *p*-nitrophenol はエーテル可溶の形で存在し、燐成分はエーテル不溶、水、メタノールに可溶の形で存在する。燐成分をペーパークロマトグラフによって分離したのち赤外スペクトルを測定した結果、主として *O,O*-dimethyl thionophosphate およびその *S*-methyl 異性体、*O*-methyl *O-p*-nitrophenyl thionophosphate よりなるものと考えられる。従って、粉剤中でのメチルパラチオンの経時変化は主としてキャリアーの触媒作用により *P-O-Ph* または *P-O-CH<sub>3</sub>* 結合が加水分解されることによって起こり、高温では異性化が伴うのであろう。

**Decomposition products of methyl parathion in dust formulation.** Chemical studies on organophosphorus insecticides. XIV. By Sinkō GOTŌ, Ichirō MURA and Rokurō SATŌ. Bōtō Kagaku 25, 111, (1960)

Decomposition products of methyl parathion in dust formulation were investigated

The results of the fractional estimation of *p*-nitrophenol and the phosphorus components in stored dusts showed that *p*-nitrophenol was contained as free form and the phosphorus components were insoluble in ether, and soluble in water and methanol.

By the paper chromatography and infra-red spectra, the phosphorus components were identified as *O,O*-dimethyl thiophosphate, its *S*-methyl isomer and *O*-methyl-*O-p*-nitrophenyl thiophosphate. The decomposition of methyl parathion in dust formulation seemed to be the hydrolysis promoted by the attack of the base or the negative charged centers on the surface of the carrier to the phosphorus atom of methyl parathion.

キャリアーの物理的性質が methyl parathion 粉剤の経時変化におよぼす影響 (有機燐殺虫剤の化学的研究 第15報) 柏司、佐藤六郎、防虫科学 25, 115—22 (1960)

2種の粘土鉱物微粉を混合して調製したメチルパラチオン粉剤の分解率を測定すると混合比から計算される予想値よりも遙かに大きくなる場合がある。この現象は2つのキャリアーの吸着力の差が大きいために生じるもので methyl parathion は吸着力の強いキャリアーへ移行して表面における濃度が高くなり、その結果分解量が増加することによるものである。

市販の農業用キャリアーを使用してつくったメチルパラチオン粉剤の分解率は時間が経つにつれて次第にゆるやかになるが、その原因は物理的よりはむしろ化学的要

因が不活性化するためと思われる。

多孔質のキャリアーではその吸着力は粒子の外部表面に付着しているメチルパラチオンを内部表面に引き寄せて捕捉し化学的活性点に接触させる機会をつくる役割をすると思われる。

メチルパラチオン粉剤は純粋な粘土鉱物微粉をキャリアーとして使うとメチルパラチオンの分解は経時によって直線的に進行し、また分解率も高いが市販の農薬用キャリアーの場合は分解は時間の経過とともに次第にゆるやかに分解率は前者に比べると低い値を示す。

**The physical properties of carriers and their behavior on the decomposition of methyl parathion dust formulation.** Chemical studies on organophosphorus insecticides. XV. By Tsukasa KASHIWA and Rokurō SATŌ. *Botyu-Kagaku*, **25**, 115—22, (1960)

We studied on the relationship between the properties of carriers and the rate of decomposition of active ingredient in the dust formulation at storage.

Two kinds of carriers were mixed at various ratio and prepared 1.5% methyl parathion dust and stored at 50°. The degradation of active ingredient of mixed carriers,  $D_{(1+2)}$  was compared with that of each composing carriers,  $D_1$ ,  $D_2$ . The degradation can be expected by the following equation.

$$D_{(1+2)} = D_1 M_1 + D_2 M_2$$

Where  $M_1$  and  $M_2$  are the partial ratio of two composing carriers. However, many mixed carriers had shown more promoted degradation than expected from above equation.

This phenomenon was conspicuous when some carriers were mixed with that of strong absorbency.

We made several experiments in order to confirm the effect of mixing carrier on the rate of decomposition of the active ingredient in the methyl parathion dust formulation.

We could ascertain that the difference between the carriers caused the transition of methyl parathion vapor from the particle surface of one carrier having weaker absorbency to the other stronger, and caused the increase of methyl parathion concentration on the latter, then it accelerated decomposition of the active ingredient of the methyl parathion dust formulation.

In the case of pure clay mineral powders, as acid clay, pyrophyllite, sericite, and kaolinite, the rate of decomposition proceeded in a straight line.

But in the case of commercial mineral carriers decomposition of active ingredient decreased as the time goes on. It seemed to be caused by degradation of chemical activity of carriers, not of physical activity.

**Parathion と酢酸フェニル水銀との反応について** (有機燐殺虫剤の化学的研究 第16報) 牟田一郎・後藤真康・佐藤六郎 *防虫科学*, **26**, 56—61 (1961)

第7報で、メチルパラチオンと酢酸フェニル水銀とがモル的に反応することを報告したが、同様の反応がメチルパラチオンについても行われることを確認した。すなわち、クロロホルム、酢酸混合溶液中で塩酸を消費するような有機水銀化合物は、珪砂粉剤中でメチルパラチオンの分解を促進し、分解率は添加モル数に比例する。

また、メチルパラチオンと酢酸フェニル水銀を反応せしめ、反応生成物として、*p*-nitrophenyl acetate, *O, O*-diethyl *O*-phenylmercuric thionophosphate を分離し、赤外スペクトル、標品との混融試験などにより構造を確認した。両者は水が存在するとさらに分解し、ベンゼン、酢酸、硫化水銀、*p*-nitrophenol, diethylphosphoric acid になることを確認した。

ペーパークロマトグラフによって、珪砂粉剤中に *p*-nitrophenyl acetate, *O, O*-diethyl *O*-phenylmercuric thionophosphate が存在していることを認めた。従って珪砂粉剤中でも同様の反応が行われているのであろう。

**Reaction of parathion with phenylmercuric acetate.** Chemical studies on organophosphorus insecticides. XVI. By Ichirō MURA, Shinko GORŌ and Rokurō. SATŌ *Bōtyū-Kagaku*, **26**, 56, (1961)

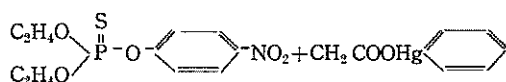
The affinity of organomercuric compounds with HCl measured in chloroform-acetic acid mixture had close relation with their action on parathion in quartzite dust mixed with organomercuric compounds was proportional to the mol ratio of organomercuric compounds to parathion during storage at 30° and 50°.

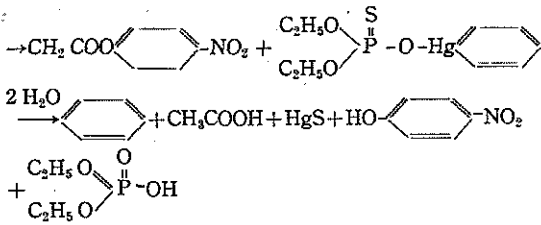
When parathion was reacted with phenylmercuric acetate only for four days at 50°, *p*-nitrophenyl acetate and *O, O*-diethyl *O*-phenylmercuric thionophosphate were isolated from the reaction products.

When the reaction mixture of parathion and phenylmercuric acetate was treated with water at 50°, benzene, acetic acid, HgS, *p*-nitrophenol and diethylphosphoric acid were formed.

By paper chromatography *p*-nitrophenyl acetate Rf 0.41 and *O, O*-diethyl-*O*-phenylmercuric thionophosphate were detected in parathion dust containing phenylmercuric acetate.

From the above results we concluded that the decomposition of parathion with phenylmercuric acetate in dust formulation proceeded in the following way.





EPN および Diazinon と Phenylmercuric Acetate との反応について (有機磷殺虫剤の化学的研究 第17報) 牟田一郎・後藤真康・佐藤六郎 防虫科学, 26, 62—65 (1961)

前報に記載したパラチオンメチルパラチオンと酢酸フェニル水銀の反応と同じ反応を, EPNやダイアジノンも行うことを研究した。

クロロホルム, 酢酸混合溶媒中で塩酸を消費するような有機水銀化合物を珪砂粉剤中で EPN の分解を当量的に促進する。

EPN と酢酸フェニル水銀を混合して反応させた場合の反応生成物として, *p*-nitrophenyl acetate を分離し確認することができたが, 磷と水銀とを含む中間生成物を単離することはできなかった。水を加えてさらに反応させると, 反応生成物として *p*-nitrophenol, 酢酸, ベンゼン, 硫化水銀, ethyl benzene phosphoric acid がえられる。珪砂粉剤中でも同じ反応が行われているのであろう。

ダイアジノン原体と酢酸フェニル水銀を混合して 50°C で反応させ, 反応生成物として, 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine, *O, O*-diethyl *O*-phenylmercuric thionophosphate, 無水酢酸をえた。水を加えてさらに反応させると, 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxy pyrimidine, *O, O*-diethylphosphoric acid, ベンゼン, 酢酸, 硫化水銀がえられた。

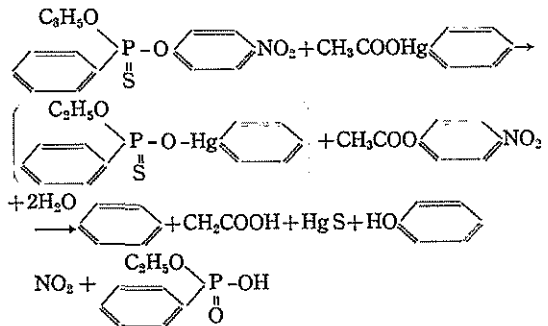
**Reaction of EPN and Diazinon to phenylmercuric acetate.** Chemical studies on organophosphorus insecticide. XVII. By Ichirō MUTA, Shinkō Gorō and Rokurō SATō. Bōtyū-Kagaku, 26, 62 (1961)

When EPN was mixed with organomercuric compounds in quartzite dust, the rate of decomposition during storage at 50° was proportional to the mol ratio of organomercuric compounds to EPN. The affinity of organomercuric compounds with hydrogen chloride measured in chloroform acetic acid mixture had close relation with the decomposition of EPN.

When EPN reacted with phenylmercuric acetate (PMA) only for three days at 50°, *p*-nitrophenyl acetate was isolated from the reaction products. But organomercuric compound was not isolated. When the reaction mixture of EPN and PMA was stored in

the presence of water at 50°, benzene, acetic acid, HgS, *p*-nitrophenol, and ethyl benzene phosphoric acid were formed.

In the case of EPN dust containing PMA,

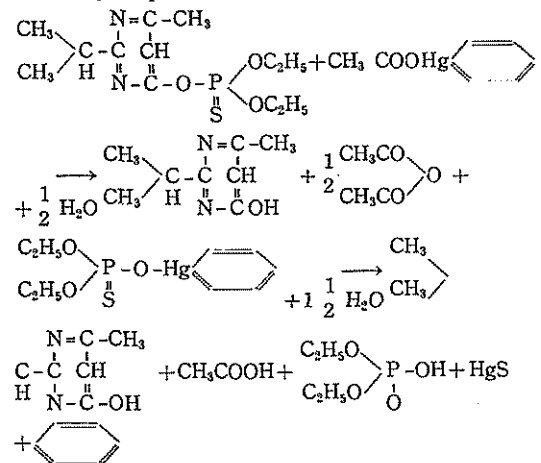


*p*-nitrophenyl acetate (Rf 0.41) was detected by paperchromatography.

From the above results, we concluded that the decomposition of EPN with PMA in dust formulation proceeded by the above way.

When diazinon reacted with PMA for one week at 50°, 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine, *O, O*-diethyl *O*-phenylmercuric thiophosphate and acetic anhydride were isolated as the reaction products. When the reaction mixture was treated with water for several weeks, benzene, acetic acid, HgS, *O, O*-diethyl phosphoric acid and 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine were formed.

It seemed that diazinon reacted with PMA in the same way as parathion and PMA did.



DEP と Phenylmercuric Acetate の反応について (有機磷殺虫剤の化学的研究 第18報) 牟田一郎・後藤真康・佐藤六郎 防虫科学, 27, 38—43 (1962)

有機水銀化合物は珪石粉剤中において DEP の分解を

促進するが、分解率と添加量との間にはっきりした関係はみられない。タルクやクレーをキャリアーとした粉剤中では、DEP は単独でも分解し、酢酸フェニル水銀を添加しても分解率にあまり変化はない。

DEP と酢酸フェニル水銀をクロロホルム溶液中で反応せしめ、反応生成物として塩化フェニル水銀、酢酸、*O, O*-dimethyl phosphoric acid をえ、赤外スペクトルにより確認した。また、赤外スペクトルなどにより、dichloroacetaldehyde が生成していることが推定されたが、単離確認することはできなかった。

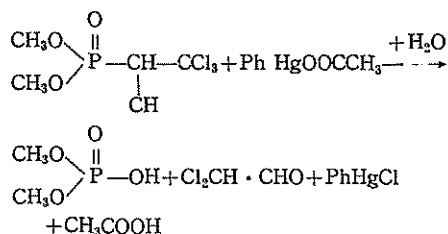
珪砂粉剤中でもクロロホルム溶液中と同様の反応が行われているものと思われる。タルクやクレーをキャリアーとした場合には、キャリアーの触媒作用により DEP が分解され、そのとき生ずる塩素により酢酸フェニル水銀が塩化フェニル水銀になるものと思われる。

**Reaction of DEP with phenylmercuric acetate.** Chemical studies on organophosphorus Insecticides. XVIII. By Ichirō MUTA, Shinkō Gotō and Rokurō Satō. *Bōtū-Kagaku*, 27, 33 (1962)

Dimethyl-2, 2, 2-trichloro-1-hydroxyethyl phosphonate (DEP) was mixed with organomercuric compounds in quartzite dust and stored at 50°C. DEP was decomposed, but the rate of decomposition was not proportional to the molar ratio of organomercuric compounds.

DEP was decomposed in talc or clay dust formulations during storage at 50°C, and the rate of decomposition was not affected by the addition of phenylmercuric acetate.

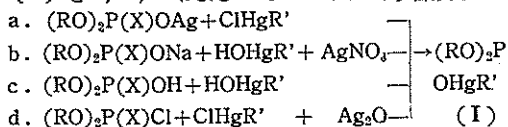
Phenylmercuric chloride, acetic acid, dimethylphosphoric acid and some aldehydes were formed in a equimolar mixture of DEP and phenylmercuric acetate in chloroform solution after 2 weeks' storage at 50°C. The mechanism of the reaction was proved as the following scheme by means of infrared spectra.



有機リン化合物と有機水銀化合物との反応 久保博司・牟田一郎・保野修身・佐藤六郎 *Agr. Biol. Chem.* 25, No. 2, 144—50 (1961) (英文)

生物活性をもった新しいタイプの化合物を合成するために、有機リン化合物と有機水銀化合物との反応を検討した。ジアルキルチオリン酸のアリル水銀化合物

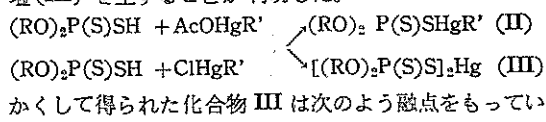
(I) を a, b, c および d のルートにより合成した。



合成された I の収量および融点は次表の通りであった。

R	X	R'	m. P. (°C)	% yield	yield (method)
CH <sub>3</sub>	S	phenyl	84—5	82(a)	80(b)
"	"	p-tolyl	93		
"	"	o-tolyl	oil		
"	"	p-chlorophenyl	91	40(a)	
"	"	p-bromophenyl	86	40(a)	
"	"	1-naphthyl	109	45(a)	
"	"	2-naphthyl	130	50(a)	
"	"	p-carboxyphenyl	Ca. 135	12(a)	
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	"	phenyl	79	70(c)	24(d)
"	"	p-tolyl	oil		
"	"	2-naphthyl	48—50		
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	O	phenyl	oil		

同様にしてジアルキルジチオリン酸に有機水銀化合物を反応させて、ジアルキルジチオリン酸の有機水銀化合物 (II) を合成しようと試みたが、予期に反して水銀化合物は有機性を失い、ビスジアルキルジチオリン酸の水銀塩 (III) を生ずることが判明した。



R = CH <sub>3</sub>	m. p. = 124 (分解)
" C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	" 123
" (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH	" 105

**Reaction between organophosphates and organomercurials.** By Hiroshi Kubo, Ichirō Muta, Osami Matano and Rokurō Satō *Agr. Biol. Chem.* 25, No. 2, 144—50 (1961) (in English).

Our interest in the preparation of a new type of biologically active substances led us to investigate the reaction between organophosphates and organomercurials. Several new *O*-arylmercuric-*O, O*-dialkylphosphorothionates (I) were prepared through 4 routes (a, b, c and d) from arylmercuric chloride and *O, O*-dialkylphosphorothionate in the presence of silver salts. Thus prepared I were (alkyl, aryl, m. p. and % yield given): Me, phenyl, 84—5, 82; Me, p-tolyl, 93, —; Me, o-tolyl, oil, —; Me, p-chloro-



phenyl, 91, 40; Me, 1-naphthyl, 109, 45; Me, 2-naphthyl, 130, 50; Me, p-carboxyphenyl, Ca. 135, 12; Et, phenyl, 79, 70; Et, p-tolyl, oil, —; Et, 2-naphthyl, 48—50, —.

Likewise several approaches to the synthesis of arylmercuric dialkylphosphate were made. Although our initial efforts were directed towards preparing O, O-dialkyl-S-organomercuric-phosphorodithioate (II), unexpected cleavage of C-Hg bond was found to occur very easily even at ordinary temperature to yield mercury bis-(dialkylphosphorodithioate) (III). Thus prepared III were (alkyl and m. p. given): methyl, 124 (decomp.); ethyl, 123; iso-propyl, 105.

**PCP 剤の分析について** 川原哲城・後藤真康・佐藤六郎 農薬生産技術 7, 19—26 (1932)

PCP 剤の分析法を確立するため、JIS法、WHO法、赤外線法および4-アミノアンチピリンによる比色法によって市販の原末を分析し、分析法の比較検討を行った。JIS法、WHO法はいずれもPCP以外の弱毒性物質とPCPを分離定量することができないので高い分析値を与え、製剤の分析には不適當である。赤外線法は混在するPCP以外のクロルフェノール類の影響をうけることが少く、もっとも正確度が高い。4-アミノアンチピリンによる比色法では、他のクロルフェノール類も呈色するが、色調がPCPと異なるので、その量が市販の原末程度であればPCPの定量を妨害しない。比色法による分析値は赤外線法よりも僅かに高い値を示す。比色法の操作条件について各種の検討を行った。もっとも適当な条件で分析を行えば、精度は0.3%位となる。比色法により各種製剤中の全PCPを定量するため回収率試験を行った。粒剤、尿素混合剤、化成肥料混合剤、石灰窒素混合剤のいずれの場合でも混合物はPCPの定量を妨害せず、満足な回収率がえられた。

**The determination of pentachlorophenol in commercial 'herbicides.** By Tetsuki KAWAHARA, Shinkō GOTŌ and Rokurō SATŌ Noyaku Seisangijyutsu 7, 19—26 (1962)

Studies were undertaken to establish the method of the estimation of pentachlorophenol (PCP) in commercial herbicides.

The methods published by JIS and WHO based on the titration of weak acids with alkali are not specific for PCP, and so they are not suitable for the analysis of herbicides.

The infrared method were investigated and proved to be the most specific method. The other chlorophenolic compounds found in the sample proved to have no interference on the estimation of PCP.

A colorimetric procedure modified by Numata according to Gottlieb's method was investigated further in detail. This method is a little less specific for

PCP than infrared method, but seems to be the most convenient way for the routine analysis. The recovery of PCP in herbicide formulation, granular, mixture with urea, mixture with compound fertiliser and mixture with Calcium cyanamide by the colorimetry were about a hundred percent.

**カーバメート系殺菌剤のペーパークロマトグラフィー** 金沢 純・佐藤六郎 分析化学 10, 55—7 (1961)

Ferbam, TMTD, Urbazid, Nabam などのジチオカーバメート系殺菌剤の逆相ペーパークロマトグラフィーによる分離検出法を検討した。固定相としてシリコン油 DC 550 および流動パラフィンを、移動相として水：メタノール：クロロホルム、水：アセトン：クロロホルム、水：メタノール：アセトンなどの10種の混合含水溶媒を用いた。スポットの検出にはアンモニヤ性硝酸銀液、酸性硫酸銅液、ジチゾン・クロロホルム液を用いた。展開溶媒のうち、水、メタノール、クロロホルムの容量比(2:5:5)のものが最もよかった。各化合物のRf値および検出試薬による呈色反応を表示した。

**Paper chromatography of carbamate fungicides** By Jun KANAZAWA and Rokurō SATŌ Bunssei Kagaku 10, 55—7 (1961)

A reversed phase paper chromatographic technique was described for the separation, identification and detection of dithiocarbamate fungicides, containing Ferbam, TMTD, Urbazid and Nabam, etc. Stationary phase used were Silicone oil DC 550 and liquid paraffin. Water: methanol: chloroform (2:5:5) was best suitable mobile solvent. Chromogenic agents used were ammoniacal silver nitrate, acidic copper sulfate and dithizone. Rf values and colour reaction were given by table.

**殺線虫剤 D-D のガスクロマトグラフィー** 金沢 純・佐藤六郎 分析化学 10, 760—63 (1961)

殺線虫剤 D-D の組成分析をガスクロマトグラフィーにより検討した。固定相液体としてジオクチルフタレート、トリクレジルホスフェート、ポリエチレングリコール 1000 および 6000 を比較し、ポリエチレングリコールが分離能、理論段数ともになすぐれていることがわかった。カラム温度 100°C、ヘリウム流速 70ml/min で約18成分のピークが検出されたが、主成分である1,2-ジクロロプロパン、1,3-ジクロロプロパン(トランスおよびシス)は純品添加により確認し、他は同族体化合物の場合に成立する対数(保持時間)―沸点の関係より推定した。

定量分析は上記の3成分については補正係数を求め、面積比をそのまま重量比と近似して行なえることがわかったが、相対面積比較法により試料の定量分析を実施す

るため、あらかじめ試料の蒸留処理を行ない、蒸留残を差し引いた分をガスクロマトグラムの総面積として良好な結果をえた。

**Gas chromatography of the nematocide, D-D mixture.** By Jun KANAZAWA and Rokurō SATŌ. *Bunseki Kagaku* **10**, 760—3 (1961).

Analysis of components in D-D mixture by gas-liquid chromatography was studied. As the results, dioctyl phthalate, tricresyl phosphate, polyethylene glycol 1000 or 6000 as the stationary phase were compared, it was found that good gas chromatogram was obtained by using a column of polyethylene glycol 6000. Column temperature was 100°C. Helium was used as the carrier gas, flow rate 70 ml per minute. In the case of using a stationary phase of polyethylene glycol 6000, eighteen peaks were detected. A plot of the logarithm of the retention time against the boiling point was an almost straight line. Quantitative determination of components was carried out by internal normalization method.

#### 殺線虫剤 EDB のガスクロマトグラフィー

金沢 純・越中俊夫・佐藤六郎 農薬生産技術 No. 5, 15—8 (1961)

ガスクロマトグラフィーによるEDB剤の分析法を検討した。操作条件は固定相液体：ポリエチレングリコール6000、カラム温度：110°C、ヘリウム流速：70ml/minが最適であった。工業用原体の分析は1,2-ジクロロプロパンを用いる内部標準法により、油剤の分析は相対面積比較法によった。また土壌中のEDBの定量は水蒸気蒸留によりEDBを分離し、クロロホルムで抽出し、そのままガスクロマトグラフィーを実施した。この方法により50gの土壌中の0.02~0.04 mlのEDBを回収率71~99%で定量しえた。

**Gas chromatography of the nematocide, ethylene dibromide.** By Jun KANAZAWA, Toshio ETCHŪ and Rokurō SATŌ. *Nōyaku Seisan Gijutsu* No. 5, 15—8 (1961).

Gas-liquid chromatography of ethylene dibromide (EDB) was done by using polyethylene glycol 6000 as the stationary phase at 110°C with helium as the carrier gas at 70 ml/min. EDB in technical product and oil solution was determined by the internal standard method with 1,2-dichloropropane and by the internal normalization method. EDB in soil was distilled with steam and extracted with chloroform prior to the chromatographic analysis, the average recovery of 0.02—0.04 ml EDB in 50 g soil being 83.5%.

**殺線虫剤 1,2-ジブロム-3-クロロプロパンのガスクロマトグラフィー** 金沢 純・佐藤六郎 *分析化学* **10**, 1350—3 (1961)

ガスクロマトグラフィーによる殺線虫剤 DBCP の分析法を検討した。カラム充てん剤：20重量%シリコンオイル DC550—セライト 545(3m)、カラム温度：150°C、ヘリウム流速：70ml/min の条件で良好なクロマトグラムをえた。この条件における DBCP の保持時間は5.4~5.6分、内部標準物質として採用した安息香酸エチル(EB)に対する相対保持時間は0.75であった。EBを内部標準物質として作製した検量線は重量比(DBCP/EB) 0.6~5.0 の範囲において直線関係が成立した。本法により工業用原体の純度分析を行ない、これを用いて含有量既知の乳剤(20および80%)、油剤(45%)を調製し、本法により分析した結果、回収率は99.6~102.4%、標準偏差は原体で0.11%、乳剤で0.56%、油剤で0.60%であった。また工業用原体について本法と硝酸銀滴定法とを比較し、よく一致する結果をえた。

**Gas chromatography of nematocide 1, 2-dibromo-3-chloropropane.** By Jun KANAZAWA and Rokurō SATŌ. *Bunseki Kagaku* **10**, 1350—53 (1961)

Gas-liquid chromatographic method was applied for the analysis of 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) in technical products, preparations as emulsions and oils, and the following results were obtained.

The samples containing ethyl benzoate (EB) as the internal standard, were analyzed in a Shimadzu Gas Chromatograph 2A, with thermal conductivity detection using helium as the carrier gas, the flow rate of which was 70 ml per minute. The column(4mm×3 m) contained 20 weight % Silicone DC 550 as a stationary phase on a support of Celite 545, and the column temperature was adjusted to 150°C.

The retention times from the air peak of DBCP and EB were, respectively, 5.4 to 5.6 and 6.9 to 7.0 minutes. A calibration curve in the range 0.6 to 5.0 weight ratio (DBCP/EB) was an almost straight line. The standard deviations were 0.11% at the technical products, 0.56% at the emulsions and 0.60% at the oils, respectively. The analytical results on DBCP in technical products by the proposed method were in good agreement with the results found by the argentometry.

**殺虫剤 DDVP のガスクロマトグラフィー** 金沢 純・佐藤六郎 *分析化学* **11**, 122—4(1962)

ガスクロマトグラフィーによる殺虫剤 *O,O*-dimethyl 2,2-dichlorovinyl phosphate (DDVP) の分析法を検討した。カラム充てん剤：20重量%シリコン DC550—セライト 545(3m)、カラム温度：180°C、キャリアーガ

ス流速：ヘリウム 70ml/min の操作条件における DDVP の空気のピークからの保持時間は 3.8~4.0 分であった。安息香酸エチル (EB) を内部標準物質として作製した検量線は重量比 (DDVP/EB) 0.5~3.0 の範囲において直線関係が成立する。本法の精度を標準偏差であらわせば、工業用原体で 0.26%、乳剤 (43%) で 0.99% であり、また調製乳剤における平均回収率は 97.05% であった。このカタヨリの原因は乳化剤の影響によるものと考察した。

**Gas chromatography of the insecticide, O, O-dimethyl 2, 2-dichlorovinyl phosphate**  
By Jun KANAZAWA and Rokurō SATŌ. Bunseki Kagaku, 11, 122—4 (1962)

A method was proposed for the gas-liquid chromatographic determination of O, O-dimethyl 2, 2-dichlorovinyl phosphate (DDVP) in technical products and preparations as emulsions.

The samples containing ethyl benzoate (EB) as the internal standard, were analyzed in a Shimadzu Gas Chromatograph GC-2A, with thermal conductivity detection using helium as the carrier gas, the flow rate of which was 70 ml per minute. The column (4 mm×3 m) contained 20 weight % Silicone DC 550 as a stationary phase on a support of Celite 545, and the column temperature was adjusted to 180°C.

The retention times from the air peak of DDVP was 3.8 to 4.0. A calibration curve in the range 0.5 to 3.0 weight ratio (DDVP/EB) was an almost straight line. The standard deviations were 0.26% at the technical products, 0.99% at the emulsions (43%), respectively. The mean of recovery was 97.05% on a preparation of emulsion. It was considered that the bias of the proposed method was owing to effect of emulsifiers.

**除草剤 2,4-D エチルエステル の ガスクロマトグラフィー** 金沢 純・佐藤六郎 分析化学 11 523—6 (1962)

除草剤水中 2,4-D の有効成分 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸エチルエステル (2,4-DE) のガスクロマトグラフィーによる定量法を研究した。固定相液体にはアピエゾングリース L (30重量%セライト 545) を用い、カラム温度 223°C、ヘリウム流速 65ml/min で操作し、定量分析はジメチルフタレート (DMP) を用いる内部標準法によった。検量線は重量比 (2,4-DE/DMP) 0.5~2.0 の範囲でほぼ原点を通る直線がえられた。製剤の分析法は 2,4-DE をメタノールにより抽出し、これに内部標準物質として一定量の DMP を添加し、濃縮した後、その 20 $\mu$ l をとりガスクロマトグラフに注入する。本法の精度は標準偏差であらわせば、水和剤 (18%) で 0.32%、粒剤 (1.5%) で 0.027% であった。また調製水和剤を 8 回分析した結果、平均回収率は 99.97% であった。

**Gas chromatography of the herbicide, 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid ethyl ester.**  
By Jun KANAZAWA and Rokurō SATŌ. Bunseki Kagaku, 11, 523—6 (1962)

A method was proposed for the gas-liquid chromatographic determination of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid ethyl ester (2, 4-DE) in herbicide formulations.

The 2, 4-DE was extracted with methanol from herbicide formulations and was analysed with added dimethylphthalate (DMP) as an internal standard in a Shimadzu Gas Chromatograph GC-2A with thermal conductivity detection, using helium as the carrier gas, the flow rate of which was maintained as 65ml per minute. The used column (4 mm×3 m) contained 30 weight per cent Apiezone grease L as a stationary phase on a support of Celite 545 and the column temperature was adjusted to 223°C.

The relative retention of 2, 4-DE against DMP was 2.86. A calibration curve in the range 0.5—2.0 weight ratio (2, 4-DE/DMP) was an almost straight line. The standard deviations of the proposed method were respectively 0.32% on the wettable powder and 0.027% on the granule. The recovery was 99.97% on a preparation of wettable powder.

**Aldrin, Tedion, Heptachlor, Dibrom, DEP の簡易定量** (赤外吸収スペクトルによる農藤の分析 第 1 報) 後藤真康・佐藤六郎 分析化学, 投稿中

赤外吸収スペクトルを応用し、農業原体を簡易迅速に定量する方法を検討した。農業原体においては夾雑する不純物の質および量が不明な場合が多いので、key band の選び方として、分析しようとする物質の有する強い吸収のうち数ヶ所で分析を行い、もっとも低い分析値を与える波数を key band とした。Aldrin, Tedion, heptachlor, Dibrom はいずれも二硫化炭素に可溶なので、その適量を二硫化炭素にとかし、key band における吸光度を測定し、標品より作製した検量線によって分析を行った。DEP は二硫化炭素に難溶なので、クロロホルム、二硫化炭素混合液またはジメチルホルムアミドにとかし分析した。key band は表に示す通りである。

本法によってえられた分析値を、他の化学分析法によってえられた結果と比較し、本法は正確度および精度においてすぐれていることをたしかめた。

**Key Bands**

Aldrin	: 696 cm <sup>-1</sup>
Tedion	: 757 cm <sup>-1</sup>
heptachlor	: 768 cm <sup>-1</sup>
Dibrom	: 892 cm <sup>-1</sup>
DEP	: 820 cm <sup>-1</sup> (with the mixed solvent)
	: 840 cm <sup>-1</sup> (with dimethyl formamide)

**Routine Method of Quantitative Infrared Analysis of Aldrin, Tedion, Heptachlor, Dibrom and DEP.** Infrared Analysis of Agricultural Chemicals 1. By Shinkō Gorō and Rokurō SATō

The routine methods of quantitative infrared analysis of technical products of some agricultural chemicals were investigated.

Aldrin, Tedion, and Heptachlor and Dibrom were analysed by the same method as follow.

Sample was dissolved with carbon disulfide and infrared spectrum of the solution was obtained using a sodium chloride cell with 1 mm thickness.

The transmittance at key band was measured on the spectrum chart directly and absorbance was calculated. The amounts of compounds analysed were calculated on the calibration curves made with standard substances.

DEP was dissolved with the mixed solvent of chloroform and carbon disulfide (1+10), then analysed by the same method as written before. In the other method for DEP, dimethylformamide was used as solvent and a cell with 0.1 mm thickness was used. Key bands were showed in the above table.

Results of infrared analysis were compared with those of the other chemical analysis. Infrared analysis was more specific than others, or made a good agreement with them.

**紫外外部吸収法によるセビン粉剤の迅速分析** 金沢 純・川原哲城・佐藤六郎 分析化学, 10, 906—8 (1961)

N-methyl-1-naphthyl carbamate (セビン) のメタノール溶液の紫外外部吸収スペクトルには 280m $\mu$  に吸収極大があり、この波長における濃度吸光度曲線がセビン 0~30ppm においてベールの法則にしたがうことを見出し、この方法を粉剤中のセビンの定量に適用した。キャリアーの種類によってはこの波長において若干の吸収が認められるが、妨害となるほどではなく、この方法は簡易迅速な分析法として役立つと思われる。調製粉剤 (1.5%) を 10 回分析した結果、本法の精度は変動係数で 3.72% であった。

**Rapid analysis of Sevin dusts by ultraviolet absorption.** By Jun KANAZAWA, Tetsuki KAWAHARA and Rokurō SATō. Bunseki Kagaku, 10, 906—8 (1961)

Samples containing 5—10 mg of N-methyl-1-naphthyl carbamate (Sevin) were extracted with methanol, and extract was analyzed by ultraviolet spectrophotometry. Sevin in methanol shows maximum absorption at 280 m $\mu$ , and Beer's law is observed in

the range of 0—30 p.p.m. The coefficient of variance of the proposed method was 3.72% on a preparation of dust (Sevin 1.5%).

**EDTA キレート滴定法による水銀剤および銅水銀剤中の水銀の定量について** 越中俊夫・佐藤六郎 農薬生産技術 No. 3, 17—22 (1960)

水銀剤中の水銀を HgS として分離したのち、王水で溶解し、BT 指示薬を用いて 0.02 MEDTA-Zn 溶液で置換滴定を行ない、さらに KI を加え、EDTA-Hg より EDTA を遊離させ、0.02M 硫酸亜鉛溶液で滴定することによって水銀を定量することができた。また銅水銀剤中の酢酸フェニル水銀をメタノールおよび 2% NaOH 溶液の混液で溶出し、メタノールを留去したのち HCl および H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> で分解し、以下水銀剤と同様の操作で水銀の定量ができた。なお HgS の洗浄不十分の際滴定液中に混入のおそれのある微量の Ca, Al の影響は 4% NaF 溶液、トリエタノールアミンでそれぞれいんべいし、HgS 中に混入する Cu は熱 HNO<sub>3</sub> (1+1) で洗浄することによりその影響は除去された。

**Determination of mercury in mercury fungicides or coppermercury fungicides by EDTA chelatometry.** By Toshio ETCHŪ and Rokurō SATō. Nōyaku Seisan Gijutsu, No. 3, 17—22 (1960)

For the determination of Hg in mercury fungicides, organic compounds of Hg are decomposed and Hg is precipitated as sulfide. The HgS is dissolved in aqua regia, added EDTA-Zn solution in weak acidic solution, and titrated with standard EDTA solution at pH 10, using Eriochrome Black T as indicator. The Hg chelate is decomposed with KI and the liberated EDTA is titrated with standard ZnSO<sub>4</sub>.

Interfering Ca and Al ions are masked with NaF and triethanolamine, respectively, and Cu is washed out with hot HNO<sub>3</sub> (1+1).

Phenylmercuric acetate in copper mercury fungicide is extracted with a mixture of methanol and 2% NaOH solution, and decomposed with HCl and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Hg is separated as sulfids and determined by the same chelatometric method as employed for mercury fungicide.

**農薬の微量定量用供試生物としてのモツゴとヒメダカ** 橋本 康・菅原寛夫 応動昆, 5, 145—50 (1961)

要 約

淡水魚モツゴとヒメダカの農薬微量定量用供試生物としての適性を検討した。まずその感受性を調べるため、各種農薬を作用させたところ、両種とも有機塩素剤の多くとその他数種の農薬に特に敏感であることが明らかに

なった。また有機リン剤に中毒した魚のなかに腹部が屈曲し、その屈曲した部分に内出血の認められる個体が多数観察され、抗生物質に中毒した魚は興奮、けいれん状態を経過せずに死んでゆくなど、薬剤の種類により特徴的に反応することも認められた。よって、これらの特徴を利用して次のような微量定量を試みた。すなわち

(1) モツゴを用いて PCP の水中における分解過程を追跡し、この分解の要因を調べた。

(2) 同じくモツゴによってカキとカンランに散布したエンドリンの残留試験を行ない、その分解過程を調べた。

(3) ヒメダカとミジンコのバラチオンに対する感受性の差を利用して、バラチオンにより汚濁していると考えられた池の水を検定した。

これらの試験はいずれも良好な結果を得たので、兩種とも供試生物として使用できる可能性が高いと判断された。

**On the Two Kinds of the Fresh Water Fish *Pseudorasbora parva* and *Oryzias latipes* as Materials of Bioassay** By Yasushi HASHIMOTO and Hiroo SUGAHARA Japanese Jour. Appl. Ent. Zool. 5, 145~50 (1961)

Two kinds of fresh water fish, *Pseudorasbora parva* and *Oryzias latipes*, were tested on the suitability to material of bioassay. First, the characters of their susceptibility were studied by affecting them with 24 kinds of pesticides. And it was shown that both kinds of fish were very susceptible to most of hydrochloric insecticides and some of other kinds. It was also observed that many of the fish poisoned with organophosphoric insecticides had crooked abdomens with internal bleeding which were not caused with other kinds of pesticides, while most of the fish poisoned with antibiotics showed neither hyperaction nor convulsion till they were killed.

Then the following bioassays were carried out, making use of the above-mentioned characters.

(1) PCP in water was traced and the controlling factors of its decomposition were studied with *P. parva*.

(2) Endrin residue on the persimon fruits and cabbage leaves was traced also with *P. parva*.

(3) The pond water supposed to be contaminated with Parathion was tested with *O. latipes* and a water-flea, *Moina macrocopa*, which are different from each other in the susceptibility to Parathion.

All these tests were performed with success, proving the possibility of using these fish as material of bioassay.

アズキゾウムシによる殺虫剤残留の定量方法の検討 杉本 渥 (1963) 応動昆： 7, 20—25.

アズキゾウムシによる殺虫剤残留の微量定量の平易な

実施方法を見出すために二三の実験を行なった。

1) 接触法による葉量一致死率反応観測の方法について検討し、dry film method が「ろ紙法」よりも定量感度がすぐれること、また dry film method の容器として試験管よりもシャーレが適当なことを認めた。なお容器あたりの供試虫数を比較的少数にすること、容器ごとの虫数を揃えることが、定量の感度・精度を高めるうえに必要である。

2) シャーレを容器とする dry film method に植物体の抽出液をそのまま供試する簡易な定量法でも、かなり高い定量感度が得られることを二三の例について認めた

3) 植物体抽出物による定量妨害を除去して微量の殺虫剤残留を定量する一つの手段として、諏訪内の分配クロマトー生物的定量法の、実際への応用の一例を実験した。

**On the method of bioassay of insecticide residues using Adzuki bean weevil.** By Atsushi SUGIMOTO. Japanese Jour. Appl. Ent. Zool. 7, 20—25 (1963)

In order to establish a standard method for quantitative determination of insecticide residues using Adzuki bean weevil, *Callosobruchus chinensis* L., various procedures and techniques were examined in relation to their sensitivity and stability.

When the weevils were exposed to dry deposits of insecticides, the dry film method, in which a dry film of insecticide was applied on the bottom surface of petri dish, was found to be better in determining a smaller amount of insecticide than the other method of applying dry deposit on filter paper. In several insecticides, LD<sub>50</sub> of dry film per container was nearly independent from the kind and size of container. Petri dish seems to be better as a container than test tube, because the former can easily make the film. The dry film should cover larger part of inner surface of the container so that the slope of dosage-mortality line becomes steeper. A petri dish is also more suitable than a test tube on this point. The number of weevils per container should be smaller for determining a smaller amount of insecticide, because LD<sub>50</sub> of insecticide becomes larger as the number of weevils per container increases.

A toxic effect of hexane-extractable matter of rice plant on the weevils was observed when the volume of the extract per dish was rather large, but not when it was small. Under the latter condition, 0.5 ppm of parathion and  $\gamma$ -BHC in rice plant were detectable. The extract of apple skin masked the toxicity of parathion upon the weevils remarkably, but did not so much that of aldrin. Under this condition, 1.6 ppm of parathion and 0.4 ppm of aldrin in apple skin were detectable.

A column chromatographic procedure using a mixture of silicic acid and Celite was introduced for separating insecticides from the plant extract. 1 microgram of parathion could successfully be separated from the extract corresponding to 25 grams of apple skin.

昭和38年3月28日 印刷

昭和38年3月31日 発行

農林省農薬検査所

東京都小平市鈴木町2丁目772番地

Abstracts :

Kubo, H. and Satō, R., (Chemical studies on organophosphorus insecticides IV).....	71
Satō, R. and Kubo, H., Chemical and physical properties of talcs and their behavior on the decomposition of methyl parathion dust formulation (V).....	71
Gotō, S., Muta, I. and Satō, R., Stabilizers for methyl parathion dust formulation (VI).....	71
Muta, I., Kubo, H. Gotō, S. and Satō, R., Reaction of methyl parathion with phenylmercuric acetate (VII).....	72
Satō, R. and Kubo, H., Chemical and physical properties of talcs and their behavior on the decomposition of EPN dust formulation (VIII).....	73
Satō, R., and Kubo, H., Chemical and physical properties of clays and their behavior on the decomposition of methyl parathion dust formulation (IX).....	73
Muta, I., Gotō, S. and Satō, R., Reaction of methyl parathion with phenylmercuric acetate II (X).....	74
Yamanouchi, M., Muta, I. and Satō, R., Effect of additives on decomposition of malathion (XI).....	74
Gotō, S., Muta, I. and Satō, R., Stabilizers for methyl parathion dust formulation II (XII).....	75
Muta, I., Gotō, S. and Satō, R., Effect of additives on decomposition of methyl parathion (XIII).....	76
Gotō, S., Muta, I. and Satō, R., Decomposition products of methyl parathion ia dust formulation (XIV).....	76
Kashiwa, T. and Satō, R., The physical properties of carriers and their behavior on the decomposition of methyl parathion dust formulation (XV).....	76
Muta, I., Gotō, S. and Satō, R., Reaction of parathion with phenylmercuric acetate (XVI).....	77
Muta, I., S. and Satō, R., Reaction of EPN and Diazinon to phenylmercuric acetate (XVII).....	78
Muta, I., Gotō, S. and Satō, R., Reaction of DEP with phenylmercuric acetate (XVIII).....	78
Kubo, H., Muta, I., Matano, O. and Satō, R., Reaction between organophosphates and organomercurials.....	79
Kawahara, T., Gotō, S. and Satō, R., The determination of pentachlorophenol in commercial herbicides.....	80
Kanazawa, J. and Satō, R., Paperchromatography of carbamate fungicides.....	80
Kanazawa, J. and Satō, R., Gas chromatography of the nematocide, D-D mixture.....	80
Kanazawa, J. Etchū, T. and Satō, R., Gas chromatography of the nematocide, ethylene-dibromide.....	81
Kanazawa, J. and Satō, R., Gas chromatography of nematocide, 1, 2-dibromo-3-chloropropane.....	81
Kanazawa, J. and Satō, R., Gas chromatography of the insecticide, dimethyl 2, 2-dichlorovinyl phosphate.....	81
Kanazawa, J. and Satō, R., Gas chromatography of the herbicide, 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid ethyl ester.....	82
Gotō, S. and Satō, R., Routine method of quantitative infrared analysis of Aldrin, Tedion Heptachlor, Dibrom and DEP.....	82
Kanazawa, J., Kawahara, T. and Satō, R., Rapid analysis of Sevin dusts by ultraviolet absorption.....	83
Etchū, T. and Satō, R., Destimination of mercury in mercury fungicides or copper-mercury fungicides by EDTA chelatometry.....	83
Hashimoto, Y. and Sugahara, H., On the two kinds of the fresh water fish, <i>Pseudorasbora parva</i> and <i>Oryzias latipes</i> as materials of bioassay.....	83
Sugimoto, A., On the method of bioassay of insecticide residues using Adzuki-been weevil.....	84

BULLETIN OF THE AGRICULTURAL  
CHEMICAL INSPECTION STATION

---

Contents

Outlines of Agricultural Chemical Inspection Station.....	3
Official analytical method of agricultural chemicals.....	6
Originals :	
Kashiwa, T., Gotō, S. and Satō, R. : Pesticide residues on food crops.....	13
Gotō, S. and Satō, S. and Satō, R. : Distribution of parathion in the apple orchard after being sprayed by the speed sprayer.....	17
Gotō, S., Kawahara, T. and Satō, R. : The determination of microamount of pentachlorophenol in surface waters.....	19
Matano, O. and Satō, R. : Effect of the organophosphorus insecticide on the cholinesterase activity of Adzuki-been weevil.....	25
Kubo, H., Matano, O. and Satō, R. : Phosphorus esters containing thienyl group. (in English).....	28
Matsutani, S. and Sugahara, H. : The relation between the treated time with chemicals and the time killed in the embryonic development of the eggs of two-spotted spider mite, <i>Tetranychus telarius</i> (L.). (Studies on the mechanism of controlling the spider mites with chemicals II).....	31
Matsutani, S. and Sugahara, H. : The effect of the age of egg of two-spotted spider mite on its tolerance to chemicals (III).....	35
Matsutani, S. : Effect of application of several insecticides on <i>Oryzias latipes</i> (Temminck et Schlegel) in rice field.....	39
Hashimoto, Y., Takahashi, S. and Sugahara, H. : On rearing Azuki-been weevil on mung-been, <i>Phaseolus radiatus</i> L.....	43
Mori, H. : Quantitative bioassay for PCP.....	48
Mori, H. : Bioautographical method for the assay of TUZ.....	52
Sakurai, H. and Koyama, K. : A detached leaf method for evaluation of chemicals to control barley powdery mildew.....	55
Nakamura, H. : On the application of antibiotics as agricultural chemicals. I. Effect of trichomycin on plant fungal diseases.....	58
Nakamura, H. : On the application of antibiotics as agricultural chemicals. II. Effect of cellocidin on bacterial leaf blight of rice.....	63
Nakamura, H. : Bioassay of fungicides by plant tissue culture.....	67

---

AGRICULTURAL CHEMICAL INSPECTION STATION

Kodaira, Tokyo JAPAN