

ISSN 1880-5701

No. 9  
March, 1969

BULLETIN  
OF THE  
AGRICULTURAL CHEMICALS INSPECTION STATION  
Ministry of Agriculture and Forestry  
KODAIRA-SHI, TOKYO, JAPAN

---

# 農 藥 檢 查 所 報 告

第 9 号

昭 和 44 年 3 月

---

農 林 省 農 藥 檢 查 所

(東 京 都 小 平 市)

農林省農薬検査所

所長	鈴木照麿
総務課長	中尾暁英
化学課長	柏司
生物課長	吉田孝二
農業残留 検査室長	後藤貞康

AGRICULTURAL CHEMICALS INSPECTION STATION

Ministry of Agriculture and Forestry

Director :	Terumaro SUZUKI
Chief of the Section of General Administration :	Hirohide NAKAO
Chief of the Section of Chemistry :	Tsukasa KASHIWA
Chief of the Section of Biology :	Koji YOSHIDA
Chief of the Section of Pesticide Residues :	Shinkō GOTŌ

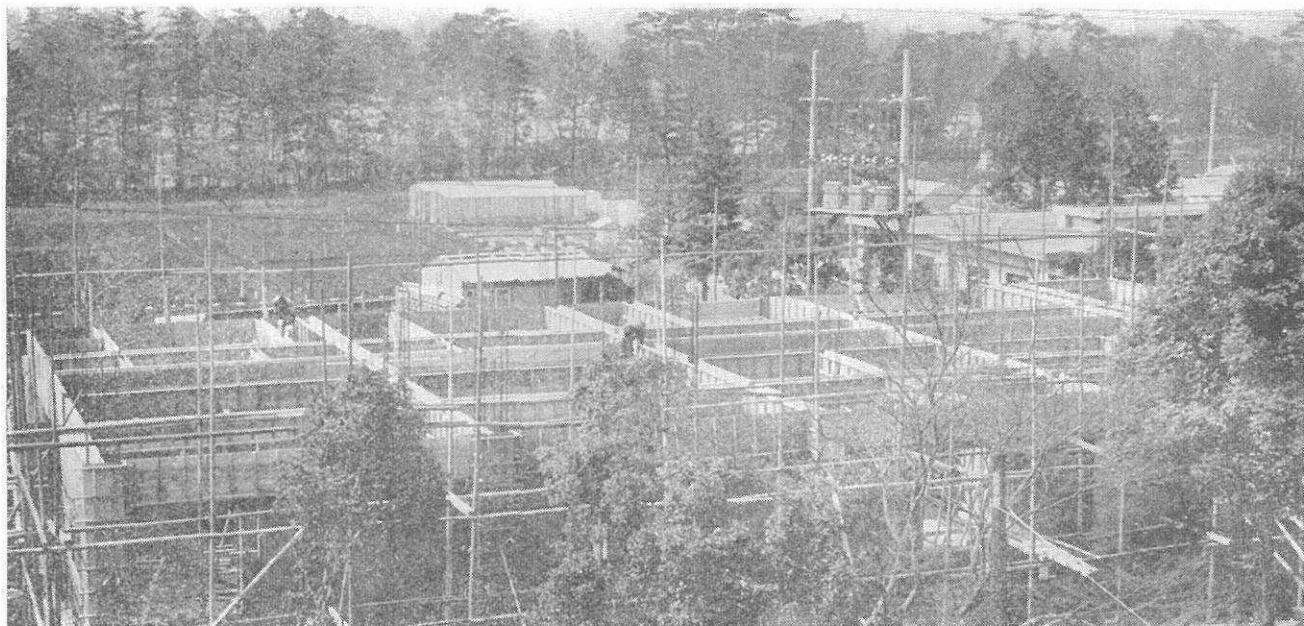
## はしがき

農薬は社会の関心を集めており、当所はいわゆる建て増しの時期に当っているために、本来の業務のほかに付随する仕事に追われることが少くないが、社会の要請に応えるべく、職員の活動が続けられている。このたびその記録の一端として、昨年に統いて「農薬検査所報告」第9号を刊行することになった。内容の充実には今後とも努力したい。

本報告がいささかなりとも農薬の関係者に役立つならば、まことに幸である。

昭和44年3月

鈴木照磨



建設中の新庁舎

## 目 次

昭和42年度における農薬検査所の概況	5
I 総 務	5
II 検査業務	7
III 調査・研究活動	8
原 著	
川原哲城・後藤康真・柏 司 : 2,3,5-triiodobenzoic acid 残留分析	11
松谷茂伸 : 各種農薬のニセナミハダニ <i>Tetranychus telarius</i> (L.) に対する効力	14
杉本 渥 : ツマグロヨコバイの大量飼育装置	19
中村広明 : アブラナ科植物のカルス培養法	25
桜井 寿・森田利夫・鈴木洋子・吉田孝二 : Polyoxin の生物学的定 量法について	30
行本峰子 : ジベレリン製剤のイネ苗を用いた生物検定法における緩 衝液の検討	37
短 報	
渡辺孝弘・後藤真康・柏 司 : 市販野菜・果物中の鉛残留量	41
抄 錄	
川原哲城・伊東富士雄・金沢 純 : トリアシン系除草剤のガスクロ マトグラフィー	42
川原哲城・柏 司 : ガスクロマトグラフィーによるくん蒸剤中の DDVP の定量	42
川原哲城・柏 司 : フェニル N-メチルカーバメートのガスクロ マトグラフィー	42
鈴木啓介・後藤真康・柏 司 : アルドリン粉剤のガスクロマトグ ラフィーによる定量(簡便法)	43
鈴木啓介・後藤真康・柏 司 : サフラニン法による有機リン系農 葉の微量定量	43
吉田孝二・西内康浩・橋本 康 : 農薬製剤の魚類への毒性評価につ いて	44
資 料	
総務課(調査)　　魚類に対する毒性試験法(英訳・邦文対照)	45
生物課(毒性)　　農薬の魚毒性分類について	47

BULLETIN OF THE AGRICULTURAL CHEMICALS  
INSPECTION STATION

No. 9 (March, 1969)

CONTENTS

Activities of the Station in 1967 (April, 1967—March, 1968) :

I. Organization, personal affairs and finance .....	10
II. Registration and inspection of agricultural chemicals .....	10
III. Research activities, .....	10

Originals :

Kawahara, T., Gotō, S. and Kashiwa, T. : Residue analysis of 2,3,4-triiodobenzoic acid.....	11
Matsutani, S. : Toxicity of pesticides to eggs and adults of <i>Tetranychus telarius</i> (L.) .....	14
Sugimoto, A. : Rearing cage for mass rearing of green rice leafhopper, <i>Nephrotettix cincticeps</i> UHLER (Hemiptera, Deltocephalidae). ....	19
Nakamura, H. : Techniques for the induction of callus tissues from crucifers. ....	25
Sakurai, H., Morita, T., Suzuki, H. and Yoshida, K. : Quantitative analysis of polyoxin with bioassay. ....	30
Yukimoto, M. : Effects of pH and concentration of buffer solution on bioassay for formulated gibberellin with rice seedlings. ....	37

Short Communication:

Watanabe, T., Gotō, S. and Kashiwa, T. : Lead residues in vegetables and fruits of market origin. ....	41
---	----

Abstracts:

Kawahara, T., Itō, F. and Kanazawa, J. : Gas-liquid chromatography of s-triazines herbicides. ....	42
Kawahara, T. and Kashiwa, T. : Determination of DDVP in fumigant by gas-liquid chromatography. ....	42
Kawahara, T. and Kashiwa, T. : Gas-liquid chromatography of phenyl N-methylcarbamates. ....	42
Suzuki, K., Gotō, S. and Kashiwa, T. : Rapid analysis of aldrin in dusts by gas-liquid chromatography. ....	43
Suzuki, K., Gotō, S. and Kashiwa, T. : Microanalysis of some organophosphorus pesticides by spectrophotometric method using safranine reagents. ....	43
Yoshida, K., Nishiuchi, Y. and Hashimoto, Y. : A new classification of pesticides by fish-toxicity. ....	44

Aids for Pesticide Workers:

Standard method for evaluation of acute toxicity of agricultural chemicals to fish. (English text). ....	45
On the present classification of pesticides by fish-toxicity .....	47

## 昭和42年度における農薬検査所の概況

### I 総務

1. 所在地 東京都小平市鈴木町2丁目772番地  
電話小金井(0423) 83-2151 (代)

2. 機構(昭和43年3月31日現在)

	職員数		
	行政(人)	行政(人)	計
所長	1		1
総務課	8	1	9
庶務係			
会計係			
調査係			
化学課	12		12
検査管理官			
第1係			
第2係			
第3係			
第4係			
生物課	9		9
検査管理官			
昆虫係			
病理係			
毒性係			
農薬残留検査室	5		5
残留化学検査係			
残留生物検査係			
	35	1	36

### 3. 定員(昭和42年度)

行政(人)	所長	1
	課室長	4
	係長(総務課)	3
	検査員	22
	一般職員	5
	計	35
行政(人)	労務職員(甲)	1
	計	36
合	計	36

### 4. 職員の異動(昭和42.4.1-43.3.31)

退職なし

転入

官 氏 名	発 令 事 項		
	年月日	旧	新
事 中尾 肇英	42. 4. 1	農林大臣官房秘書課	総務課長
技 鈴木 洋子	//	(新規採用)	生物課
技 小林 直人	//	( " )	化学課
事 久保田和子	42. 9. 1	( " )	農薬残留検査室
技 田中 昭吾	42. 9. 16	函館統計調査事務所	農薬残留検査室
技 渡辺 孝弘	//	食糧庁総務部検査課	化学課
技 岡田 利承	42. 11. 16	北海道農業試験場畑作部	生物課

### 転出

官 氏 名	発 令 事 項		
	年月日	旧	新
技 森田 利夫	42. 4. 1	生物課	農政局植物防疫課
技 玉木 佳男	42. 11. 16	化学課第4係長	農業技術研究所病理こん虫部こん虫科

### 部内の異動

官 氏 名	発 令 事 項		
	年月日	旧	新
技 鈴木 照磨	42. 4. 1	総務課長事務取扱を免ずる	
技 鈴木 照磨	//	化学課長事務取扱を免ずる	
技 柏 司	//	生物課検査管理官	化学課長
技 伊東富士雄	//	化学課長	生物課検査管理官
技 後藤 真康	//	化学課第1係長	化学課検査管理官
技 俣野 修身	//	化学課	化学課第1係長

技	川原 哲城	42. 4. 1	化学課	化学課第2係長
技	鈴木 照磨	42. 6. 1	農薬残留検査室 長事務取扱を命ずる	
事	中尾 皖英	42. 8. 1	同上を免ずる 総務課調査係長 事務取扱を命ずる	
技	杉本 涼	//	生物課昆虫係長	化学課検査管理官
技	鈴木 啓介	//	化学課	化学課第2係長
技	玉木 佳男	//	生物課	化学課第4係長
技	松谷 茂伸	//	生物課	生物課昆虫係長
技	行本 峰子	//	生物課	生物課毒性係長
技	桜井 寿	//	生物課	生物課病理係長
技	中村 広明	//	生物課病理係長 事務取扱を免ずる	農薬残留検査室 長
技	後藤 真康	//	化学課検査管理官	
技	川原 哲城	//	化学課第2係長	農薬残留検査室 長
技	橋本 康	//	総務課調査係長	農薬残留検査室 長

## (注)

42. 6. 1 農薬残留検査室設置、同検査室に残留化学検査係および残留生物検査係を設置

42. 8. 1 化学課に第4係設置、生物課に毒性係設置

## 5. 外国出張

所長 鈴木照磨：第6回国際植物保護会議に出席のためオーストリア国へ(42.8.28—9.8)

生物課長 吉田孝二：米国における農薬残留対策調査のため米国へ(42.10.21—11.12)

## 6. 研 修

(事) 戸田敏夫(総務課)：42年度中級事務職員研修(42.2.12—2.28)農林研修所

(技) 鈴木洋子(生物課) 42年度新規採用者(上級)研修(42.4.17—5.24)農林研修所

(技) 小林直人(化学課) 42年度新規採用者(初級)研修(42.4.24—5.1)農林研修所

(事) 中尾皖英(総務課) 総務担当部課長研修(42.5.8—5.11)農林研修所

(技) 行本峰子(生物課) 第3回ラジオアイソトープ生物学基礎医学短期課程研修(42.6.5—7.21)科学技術庁

(技) 石井康雄(化学課) 第17回放射線防護短期課程研修(42.10.30—12.16)科学技術庁

所内研修 42年度新入所職員を対象とした所内事務、業務、実験の研修を42.11.8—12.20毎週1回実施した

## 7. 予 算

昭和42年度における歳入額および歳出予算額は、過去3年間と比較してみると次のとおりである。

## A 年度別歳入額(単位 千円)

区 分	昭和39 年度	昭和40 年度	昭和41 年度	昭和42 年度
印紙収入	3,429	3,161	3,669	3,322
農薬登録手数料	3,418	3,151	3,631	3,290
農業依頼検定 手数料	11	10	38	32
現金収入	1,963	1,322	1,008	423
版権及特許権 等收入	1,871	1,199	857	286
その他の	92	132	151	137
合 計	5,392	4,483	4,677	3,745

## B 年度別歳出予算額(単位 千円)

区 分	昭和39 年度	昭和40 年度	昭和41 年度	昭和42 年度
人 当 経 費	20,513	23,535	27,610	33,446
運 営 事 務 費	1,703	3,351	2,739	3,154
農 薬 検 査 事 業 費	7,651	9,396	12,092	12,064
小 計	29,867	36,282	42,441	48,664
施 設 整 備 費	5,253	2,771	5,553	6,684
不 動 産 購 入 費	20,000	30,000	0	0
合 計	55,120	69,053	47,984	55,348

## 8. 施 設

A 昭和42年度における施設増減の主なものは、次の通りである

年月	増減理由	区 分	種 類	数 量	備 考
42.11	増 設	工作物	温 室	3	簡易冷房器
//	増 設	//	暖 房 装 置	1式	生物検査室
42.12	新 設	//	コンクリート貯槽	1式	魚類飼育用

## B 施設の現状

## (1) 土 地

区 分	所 在 地	敷 地
庁 舎 敷 地	小平市鈴木町2-772	12,839m <sup>2</sup>
宿 舎 敷 地	//	1,451
計		14,290

## (2) 樹 木

庁舎敷地内 100本  
宿舎敷地内 47本  
計 147本

## (3) 建 物

区 分	棟 数	延 面 積	備 考
事 務 所 建	4	1,179m <sup>2</sup>	
雜 屋 建	12	357	
倉 庫 建	1	17	

公務員宿舎 計	5	333	9戸
		1,886	

## 9. 購入物品

購入年月	品名	摘要	価格	備考
42. 6	ディープ フリーザー	RCA EMV-135	180,000	生物課
7	卓上電子計算機	カシオ101	285,000	〃
8	ガスクロマト グラフ	日立 K-53	910,000	化学課
8	分光々度計	日立 139-0002	590,000	〃
9	ゾーン リファイナー	島津C Z-1	250,000	〃
10	エアー ステリライザー	ゼネラルサービ スGS-1	145,000	生物課
11	定温器	ヤマト I S-9	148,000	〃
43. 1	自動分注器	東洋理工 J B-1	80,000	〃
3	実体顕微鏡	ニコンSMZ	86,490	〃
3	土壤篩振盪機	寿RS-1	230,000	〃
3	自動計数式 昆虫捕集器		140,000	〃
3	滴定記録装置	R.A.T. I S	465,000	化学課
3	マッフル炉		88,000	〃

## II 検査業務

1. 昭和42農薬年度(41.10—42.9)における登録状況  
この年度に新たに登録された農薬は717件であり、再登録された農薬は1267件である。新たに登録された農薬の内訳は、殺虫剤334件(46.6%)、殺菌剤158件(22.1%)、殺虫殺菌剤145件(20.2%)、除草剤54件(7.5%)、農薬肥料、植物成長調整剤とその他を含めて26件(3.6%)である。

このうち、新規化合物製剤としては30種類で、殺虫剤11、殺菌剤11、除草剤8となっている。また、新しい製剤形態のものとしては130種類で、殺虫剤47、殺菌剤24、殺虫殺菌剤53、除草剤4、農薬肥料2となっている。

新規化合物製剤および新しい製剤形態のものの概況はつきのとおりである。

〔殺虫剤〕 新規化合物製剤としては、稲のツマグロヨコバイ、ウンカ類を対象としたMPMC、MIPC、MTMC剤などのカーバメート系および稲、果樹、そ菜の害虫を対象としたカルタップ剤が国産化された。また、果樹の殺だに剤として接触効果を主体としたアミシン系のB P P S剤が登録された。その他果樹用殺虫剤として有機ふっ素系のF A B B剤および稲、そ菜、果樹の害虫を対象とした有機りん系のC V P剤などがある。

新しい製剤形態のものでは、稻作用が圧倒的に多く、カーバメート系単剤および有機塩素系とカーバメート系有機りん系とカーバメート系などの混合製剤が多い。

なお、稻のツマグロヨコバイを対象とする微量散布用マラソン剤が登録され、新技術開発として注目される。

〔殺菌剤〕 新規化合物製剤としては、稻のいもち病を対象とした非水銀系農薬として有機塩素系のP C M N剤、有機りん系のIBP、EDDP、ESBP剤がある。また、稻の紋枯病、りんごの斑点落葉病、なしの黒斑病などを対象とした抗生素質のポリオキシン剤あるいは、稻の白葉枯病を防除するフェンチアゾン剤およびそ菜のうどんこ病を対象としたC E C A剤など、いずれも国産技術により開発され、登録されている。

新しい製剤形態のものは、非水銀農薬によるいもち病防除の要請に対応して、これらの単剤あるいは混剤あるいは混合剤が登録の過半数を占めている。

〔殺虫殺菌剤〕 この年度に登録されたもの63件の86%が新しい製剤形態で占めている。稻のいもち病防除農薬が有機水銀から非水銀農薬へ移行する過渡的現象として、いもち病防除剤を中心に稻作主要病害虫の同時防除を目的として有機ひ素、有機塩素、有機りんおよびカーバメート剤など各種の殺虫、殺菌剤の混合製剤が登録された。

〔除草剤〕 新規化合物製剤としては、畑作用除草剤として、たまねぎ畑の雑草防除に使用するP A C、B I P C剤、いちご、チューリップ畑の雑草を対象とした尿素系のクロロクスロン剤、麦類の除草に使用するニトリル系のアイオキシニル剤およびD C N P剤などがある。水田用としては、トルイシン系のトリフルラリン・M C P F A剤、P C PとM C Pの混合剤でいずれもカルシウム塩としたものおよびN I PとM C Pのベンジルトリエタノールアンモニウムを混合したものなどが登録された。

〔その他〕 農薬肥料では、土壤害虫を対象とした有機りん系のエチルチオメントおよびE C P剤を複合肥料に配合したものがあり、前者はばれいしょのアブラムシ類、後者はたまねぎのタマネギバエの防除であるが、同時に肥料効果を目的としている。

## 2. 昭和42年における農薬の検査取締状況

昭和42年(1月～12月)における農薬の検査取締は、経時変化を起すおそれのある製剤、最近登録された各種の新規製剤、新規成分を主剤とする混合製剤、抗生素質剤およびこれらを主剤とする混合製剤ならびに各前年に有効成分欠減により不合格であった製剤を中心に幅広く実施した。

集取検査の総件数は1027件である。このうち、化学検査の結果、有効成分欠減による不合格件数は25件あり、生物検査の結果、有効成分の欠減または過剰により不合格となった件数は7件であった。その他製品のラベル表示に適正を欠くもの、物理的性状の劣化したものもあったが、いずれも当該製造業者に厳重に注意をかん起している。また、検査の時点では不合格ではないが、有効年月内に有効成分量が表示値を割るおそれのある農薬もみられたので、当該農薬の製造業者に対し、品質保持など適切な措置をとるよう指導を行なっている。

なお、農薬の検定依頼をうけたものは80件（うち官庁依頼38件）であった。

### 3. 農薬公定検査法の設定状況

農薬取締法第14条第2項の規定に基づき、今年度(43.3)までに農薬公定検査法として設定されたものは91件であるが、さらに昭和42年6月16日にテトラジホン乳剤水和剤および粉剤、セロサイジン剤、ジチアノン水和剤、プラストサイシンSを主成分とする製剤、シクロヘキシミドを主成分とする製剤について検査方法が設定された。

また、昭和43年2月2日 EPN剤（乳剤、粉剤及び水和剤）、EPN・DDT剤（乳剤及び粉剤）中のDDT、DDT・マラソン剤（乳剤及び粉剤）中のDDT、2,4 PAナトリウム一水化物及びジメチルアミン除草剤、MCPナトリウム除草剤、カスガマイシンを主成分とする製剤についての検査方法を農業資材審議会農薬部会に諮問し、審議された。

なお、これらの検査方法が設定された場合、MCPナトリウム除草剤の有効成分量の表示値を変える予定であるが、これは検査方法の変更に伴う補正措置であり、実質的には従来の製品と全く変化はないものである。

## III 調査・研究活動

（昭和43年1月1日～12月31日）

本期間における所員の調査・研究活動は、本報告に集録した原著や学会誌等への寄稿原著で本報告に和英両文で抄録を掲載したもののほかにも多く、かつ多方面にわたっているので、活動分野を次のように分類して掲げる。

- (1) 著書
- (2) 研究会等への寄稿原著
- (3) 学会誌その他の雑誌へ寄稿した総説および解説
- (4) その他の刊行物所載の報告・資料
- (5) 学会報告（講演）

(6) 各種研究会・研修会における講演および講義  
共著者のうち所員外の人（発表当時）には右肩に\*印をつけた。

### (1) 著書

○吉田孝二：農薬による危害とその防止措置：「農林航空技術ハンドブック」（地球出版）624P. (1968) のP.311～318に収載

### (2) 研究会等への寄稿原著

○西内康浩・橋本康：農薬製剤の数種淡水産動物に対する毒性について-Ⅰ 水産増殖 16(1) : 19～26(1968)

### (3) 学会誌その他の雑誌に寄稿した総説および解説

○鈴木照磨：農薬の物理性について 植物防疫 22 : 325～326 (1968)

○鈴木照磨：農薬の検査取締上の諸問題 (Ⅰ) 植物防疫 22 : 25～27 (1968)

○鈴木照磨：農薬の検査取締上の諸問題 (Ⅲ) 植物防疫 22 : 366～368 (1968)

○鈴木照磨：農薬基礎講座・化学編 今月の農業 12(1) : 86～90, (2) : 80～84 (1968)

○保野修身・後藤真康：除草剤の分析法 植物の化学調節 3 : 160～166 (1968)

○吉田孝二：いもち病防除剤についての二つの注意 技術と普及 5(9) : 46～48 (1968)

○吉田孝二：新しいいもち病防除薬剤について 今月の農業 12(6) : 24～26 (1968)

○吉田孝二：農薬の魚毒性について 今月の農業 12(12) : 39～41 (1968)

○杉本渥：水田用殺虫剤の新製剤 技術と普及 5(7) : 56～58 (1968)

○杉本渥：水田用の混合殺虫剤 技術と普及 5(8) : 57～58 (1968)

○松谷茂伸：果樹用の混合殺虫剤 技術と普及 5(10) : 56～57 (1968)

○橋本康：新しい防除剤の特性と使用法 農業世界 63(1) : 237～239 (1968)

○桜井寿：抗生物質の力価とその検定法 今月の農業 12(2) : 58～59 (1968)

○桜井寿：新しい畑作用抗生物質製剤 技術と普及 5(11) : 77～78 (1968)

○行本峰子：寒地畑作用の新しい除草剤 技術と普及 5(12) : 65～66 (1968)

### (4) その他の刊行物所載の報告・資料

○鈴木照磨：第6回国際植物保護会議から 農業研究 14(3) : 25～29 (1968)

- 吉田孝二：米国における農薬残留対策の現況 農業  
15(2) : 22~26 (1968)
- 橋本康：Dr. H. S. HOPF のノート「日本の農薬」紹  
介 植物防疫 22 : 29~30 (1968)
- 岡田利承：ダイズシストセンチュウの寄生時期と大豆  
の生育 北海道農業試験場彙報 No. 93 : 32~38  
(1968)
- 行本峰子：農薬散布による薬害の事例 植物の化学調  
節 3 : 45~48 (1968)

#### (5) 学会報告

##### 日本応用動物昆虫学会

昭和43年度大会（昭43.4 東京）

- 杉本渥：ツマグロヨコバイ雌成虫の羽化後日数と産卵  
数、体重、殺虫剤感受性との関係
- 松谷茂伸：数種殺虫剤のニセナミハダニ成虫に対する  
接触毒性および経口毒性について
- 西内康浩・杉本渥：アズキゾウムシによる土壤施用殺  
虫剤の簡易スクリーニング法の試み
- 岡田利承：ダイズシストセンチュウの寄生とダイズ根  
粒菌の着生に関する競合

##### 日本植物病理学会

昭和43年度大会（昭43.6 札幌）

- 桜井寿・鈴木洋子・吉田孝二・高木幸太郎\*・山本質\*  
：ポリオキシン各成分の効菌力について 第2報 各

#### 成分の加成性

- (6) 各種研究会・研修会における講演および講義
- 鈴木照磨：園芸用農薬の諸問題 長野県（昭43.1）
- 鈴木照磨：防除をめぐる最近の諸問題 茨城県（昭43.  
10）
- 鈴木照磨：農薬安全使用対策について 日本農業技術  
懇談会（昭43.11）
- 川原哲城・後藤真康・柏司：有機りん農薬の熱イオン  
型ガスクロマトグラフィー 第10回農薬研究会（昭43.  
10）
- 鈴木啓介・柏司：キャプタン製剤のチオシアノ酸水銀  
による比色定量法 第10回農薬研究会（昭43.10）
- 保野修身・小林直人・柏司：けい光X線分析法による  
メタンアルソン酸鉄粉剤中の全ひ素の定量 第10回農  
薬研究会（昭43.10）
- 吉田孝二：農薬の危被害防止 航空会社職員対象・農  
林水産航空技術研修（昭43.5）
- 吉田孝二・柏司：農薬 農林省初級職員技術研修（昭  
43.11）
- 中村広明：農薬の残留問題 日仏生物学会第80回例会  
(昭43.1)
- 中村広明：農薬の現状と問題点 横浜市（昭43.5）
- 松谷茂伸：ハダニ類における薬剤感受性の変動につい  
て ハダニ談話会（昭43.4）

## 農薬の検査方法の記載について

農薬の検査方法が必要な手続きを経て慎重に決められることと、一旦決められた方法があまねく普及し利用されることは、当所の業務の性格上極めて重要なことである。

農薬公定検査法——農薬取締法にもとづく農薬の検  
査方法——は農林省農政局植物防疫課、ならびに農林  
省農薬検査所でつねに閲覧に供することとなっており  
印刷物を用意してあるので必要な節は遠慮なく御照会  
頂きたい（当所報告では重複を避けたい）。

昭和41年10月末日までに設定告示されたすべての農  
薬公定検査法は「農薬公定検査法註解」（南江堂）に

収録されている。その後に設定された検査方法につい  
ては、順次追加してゆくこととしたい。なお、「農  
薬生産技術」（農薬工業会）には検査方法の解説が連載  
されている。

許容量の設定された農薬の残留農薬試験法につい  
ては今後もその扱い方について検討されるであろうが、  
厚生省環境衛生局長通達による  $\alpha, \beta$ -DDT,  $\gamma$ -BHC,  
パラチオン, ひ素, 鉛の検査方法については、日  
本植物防疫協会、農薬残留量分析専門委員会名で「農  
薬生産技術」No. 20 : 43~48 (1969) に掲載されて  
いる。

### Activities of the Station in 1967 (April, 1967~March, 1968)

#### I Organization personal affairs and finance

STAFF	Number of personnel
Director	1
Section of General Administration	9
Branch of General Affairs	
Branch of Finance and Accounting	
Branch of Registration and Information	
Section of Chemistry	12
1st Laboratory	
2nd Laboratory	
3rd Laboratory	
4th Laboratory	
Section of Biology	9
Phytopathological Laboratory	
Entomological Laboratory	
Toxicological Laboratory	
Section of Pesticide Residues	5
Laboratory of Chemical Detection	
Laboratory of Biological Detection	
Total	36

#### REAL ESTATE

Land (including field and building)	14,290 m <sup>2</sup>
Office and Laboratory	1,886 m <sup>2</sup>

#### BUDGET

1967	¥ 55,349,000
(1966)	¥ 47,984,000)

#### OVERSEAS TRIPS

Terumaro SUZUKI (Director), Aug. ~Sept., 1967

Attendance at the Sixth International Congress of Plant Protection (Vienna, Austria)

Koji YOSHIDA (Chief of the Section of Biology), Oct. ~Nov., 1967

Tour of inspection of the pesticide residue problem in the U. S. A.

#### II Registration and inspection of agricultural chemicals

		Number of chemicals
NEWLY REGISTERED during Oct. 1966 to Sept. 1967		717
Insecticides		334
Fungicides		158
Mixtures of insecticide and fungicide		145
Herbicides		54
Others (including plant growth regulators)		26
SAMPLED FROM MARKET during Jan. to Dec. 1967		1,027
ESTABLISHMENT OF "OFFICIAL TESTING METHODS"		
1) Authorized by the Minister of Agriculture and Forestry (Notification No. 892 of the Ministry of Agriculture and Forestry on June 16, 1967)		
Tetradifon                  acaricide                  Chemical assay		
Cellocidin                  bactericide                  //		
Dithianon                  fungicide                  //		
Cycloheximide              fungicide                  Bioassay		
Blasticidin S              fungicide                  //		
2) Submitted to the Committee of Agricultural Chemicals on February 2, 1968		
EPN                          insecticide                  Chemical assay		
DDT in EPN-DDT mixture      //		
DDT in DDT-malathion mixture      //		
2,4-D-sodium monohydrate and		
2,4-D-dimethylamine herbicides      //		
MCPA-sodium herbicide      //		
Kasugamycin                  fungicide                  //		

#### III Research Activities

##### PUBLICATION

*Bulletin of the Agricultural Chemicals Inspection Station* No. 8 March, 1968 (Jubilee Issue in Commemoration of the 20th Anniversary of the Station)

## 2,3,5-triiodobenzoic acid の残留分析

川原 哲城, 後藤 真康, 柏 司

2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) は我が国でりんごの落葉剤として使用されている。この場合薬剤散布と収穫期が近く、またりんごは主食果実であるので残留量が問題である。このものりんごでの残留分析法は未だ発表されたものがないので著者らが検討した結果を報告する。

### 定量法

#### 1 装置

ガスクロマトグラフ装置は Wilkens 社製の Aerograph Model 680(pestlyzer)を用いた。本装置は電子捕獲ガスクロマトグラフィー専用で放射源はトリチウム 250 mc である。記録計は島津製のフルスケール 2mV の電子管式平衡記録計を用いた。

#### 2 操作条件

固定相液体はシリコングリース DC-11 をクロモソルブ W (60~80メッシュ) に5%担持させたものを用い、分離管は外径 $\frac{1}{8}$ インチ、長さ5フィートのガラスカラムを用いた。分離管の温度は 195°C、キャリヤーガスの窒素の出口流速を 27ml/min に調節しセル印加電圧90V, Attenuation $\times 8$ , チャート送り速度 1 cm/min. で記録した。

#### 3 標品および試薬

TIBA はガスクロマトグラ法的に高純度の標品を用い、エーテルに溶解して、100 ppm 溶液を調製しこれをジアゾメタン法<sup>1)</sup>でメチルエステル化して、必要に応じて 1 ppm の溶液を調製し標準溶液とした。n-ヘキサン、エーテル、アセトンは市販特級品を全ガラスすり合わせの蒸留器で蒸留しガスクロマトグラ法的に不純物のピークのないものを用いた。

#### 4 検量線の作成

上記 1 ppm の標準溶液をミクロ注射器で 1~20  $\mu$ l とり、2に記載した操作条件でガスクロマトグラムを記録し、ピークの高さおよびピークの面積を半値幅法で求

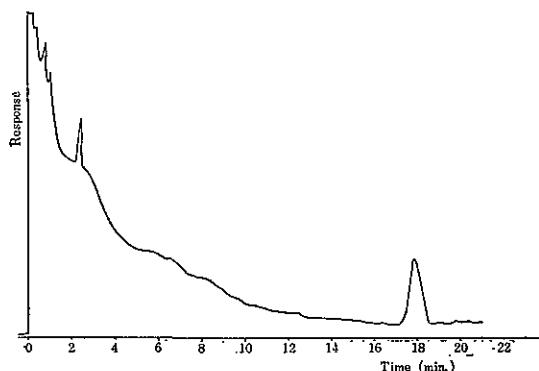
め、ピークの高さまたはピークの面積を縦軸に TIBA の重量を横軸にとり検量線を作成する。

#### 5 定量操作

細切した試料50 g を家庭用の電気ミキサーにとり、アセトン 100 ml を加えて粉碎抽出する、抽出物をガラスフィルター-17 G 2 を用いて減圧にしながら沪過し少量のアセトンを用いてミキサー内の残留物をガラスフィルターに移しガラスフィルター上の残留物を洗浄する。このアセトン溶液を減圧のもとでロータリーエバポレーターを用いて濃縮して 50 ml にする。この場合水浴の温度は 30°C に保つ。この濃縮液をアンモニアを用いてアルカリ性(pH=11)に調整し分液漏斗に移し n-ヘキサン 30, 20, 20 ml で振とう抽出し n-ヘキサン層を捨てる。水層を 5 N 塩酸溶液を用いて酸性(pH=2)に調整してエーテル 30, 20, 20 ml で抽出する。エーテル層を集めで無水硫酸ナトリウム約 2 g、次いで Nuchar-Attaclay 0.5 g を加えて脱水、脱色して、沪紙 (No. 5C) を用いて沪過し沪液をロータリーエバポレーターを用い上記の方法で 50 ml に濃縮する。これをジアゾメタン法<sup>1)</sup>でメチルエステル化して再びロータリーエバポレーターを用いて一定量に濃縮する。この溶液をミクロ注射器を用いて一定量とり、検量線の作成と同一の条件でガスクロマトグラムを記録し、ピークの高さ及びピーク面積を求めて検量線より試料中の TIBA の含有量を算出する。

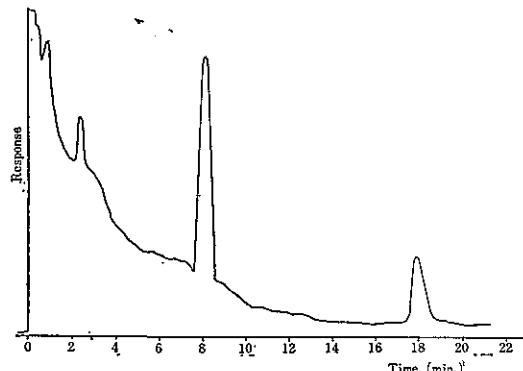
#### 結果および考察

固定相液体としてシリコングリース DC-11、ポリエチレングリコールアシペート (PEG A)、ネオペンチールグリコールサクシネットを検討した。PEG A ではピークの形状は良好であるが、無散布区のりんごの一つの成分のピークと TIBA メチルエステルのピークが重なり分離が悪い。ネオペンチールグリコールサクシネットは分離は良いが感度が悪くまた TIBA メチルエステルの保持時間(Rt) が遅い。シリコングリース DC-11 は Rt も適当で分離も良いので本実験ではこの固定相を用いた。カラム温度は 170°C, 185°C, 195°C に



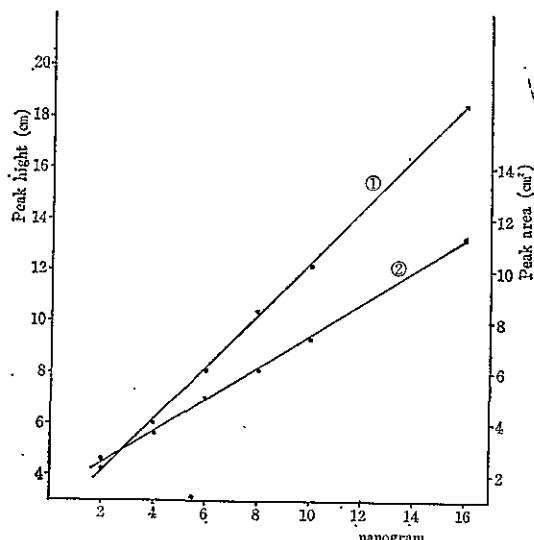
第1図 りんご果実(無散布試料)抽出物のガスクロマトグラム

Fig. 1 Gas-chromatogram of extract from untreated apple fruits.



第2図 りんご果実(TIBA 2 ppm 添加試料)抽出物のガスクロマトグラム

Fig. 2 Gas-chromatogram of extract from apple fruits added 2 ppm of TIBA



第3図 TIBA の検量線

Fig. 3 Calibration curves of TIBA

① Peak height (cm)

② Peak area (cm<sup>2</sup>)

について検討した結果  $195^{\circ}\text{C}$  がピークの形状も良好で  $R_t$  も適当であった。2の操作条件で得られた無散布区のりんごのガスクロマトグラムを第1図に、また無散布区のりんごに 2 ppm の TIBA を加えた場合のガスクロマトグラムを第2図に示す。TIBA メチルエヌテルの  $R_t$  は 8 分で 18 分に不明のピークが得られた。TIBA の検量線を第3図に示す。2~16 nanogram の間で直線

第1表 りんご中のTIBAの回収率  
Table 1. Recovery of TIBA from apple

Added(ppm)	Found(ppm)	Recovery(%)
2.00	1.275	63.75
2.00	1.340	67.00
2.00	1.515	75.75
0.50	0.355	71.00
0.50	0.312	62.40
0.10	0.069	69.00
0.10	0.061	61.00
0.05	0.024	48.00
0.05	0.020	40.00

が得られた。りんごに 2, 0.5, 0.1, 0.05 ppm の TIBA を加えて、5 の定量操作で得られた回収率を第1表に示す。平均回収率は 2 ppm で 65.8%, 0.5 ppm で 66.7%, 0.1 ppm で 65.0%, 0.05 ppm で 44.0% であり、0.05 ppm が定量的検出限界である。この方法を実際には場で散布したりんごについて適用した。りんごの品種は国光、紅玉の2種では場は宮城県農業試験場を使用した。紅玉の葉剤散布日は1967年9月7日、試料採集日は同年9月29日であり、国光の散布日は1967年10月9日、試料採集日は同年11月8日である。このいずれの試料も TIBA は 0.05 ppm 以下であった。

## 文 献

- 1) SCHLENK, H. and GELLERMAN, J. L. : Anal. Chem., 32 : 1412 (1960)

**Summary****Residue analysis of 2,3,4-triodobenzoic acid**

By Tetuki KAWAHARA, Shinkō GOTŌ and Tsukasa KASHIWA

An electron capture gas chromatography was investigated for the determination of 2,3,4-triodobenzoic acid in apples. The sample was macerated with acetone and the filtrate of the macerate were concentrated to about to 50 ml using suction and rotary evaporator in water bath at 30°C. This solutions were adjusted to pH=11 with ammonia solution and were extracted by hexane. Hexane were discarded. The aqueous solution were adjusted to pH=2 by hydrochloric acid and were extracted by ether. Ether solution were dried over sodium sulfate, were decolorized by Nuchar-

Attaclay and were methylated using diazomethane. Some  $\mu l$  of ether were injected into the column. A glass column of 5 feet in length and 1/8 inch in outside diameter was packed with 5%DC silicone grease 11 on 60~80 mesh chromosorb W and operated at 195°C with nitrogen gas at a flow rate 27ml/min. The retention time of TIBA methyl-ester was 8 min. The avarage recovery at 2 ppm level was 68.83% and detection limit was 0.05 ppm. The values of testing sample were below 0.05 ppm.

# 各種農薬のニセナミハダニ, *Tetranychus telarius* (L.) に対する効力

松 谷 茂 伸

わが国で害虫防除のために合成農薬が使用されるようになってから20年余経過し、この間に開発された農薬の種類は非常に多い。これらの農薬にはハダニ類に有効な薬剤が多数含まれているが、薬剤によりその効果や作用特性は相違している。

著者は農薬検査所において、約10年間にわたり主なハダニ防除用薬剤の効力を室内で検定した。本報においては、ニセナミハダニについて行なった結果をまとめて報告することとする。

## 実験材料と方法

供試虫：実験に供試したニセナミハダニは農薬検査所の温室または恒温室（平均温度28°C, 濡度75% R. H. 24時間照明）で累代飼育されてきた（由来不詳）もので、検定の結果、ほとんどすべての薬剤に対して感受性であると考えられる。

効力検定法：薬剤試験用寄主植物としては、6cm鉢に育成されたインゲンマメ幼苗の初生葉だけを残し、他の葉を切除したものを用いた。殺成虫試験の場合には、上記の供試植物を所定濃度の薬液に15秒浸漬し、乾燥させた後ハダニの逃亡を防ぐために葉柄にタングルフットを塗り、葉に雌成虫を接種した（一区20頭）。一方、殺卵試験の場合には供試植物に雌成虫20頭を接種し24時間産卵させた後雌成虫を除去し、卵を葉とともに薬液に15秒浸漬した（一区100~200卵）。薬剤処理後はすべて温度28°C, 24時間照明の恒温室におき（湿度は1963年以降は75% R. H. に調節した。それ以前の試験では調節していないが、その後大部分の薬剤について、湿度75% R. H. で再試験している）。成虫致死率は1日後および3日後に、未ふ化卵率は5日後に調査し、この結果よりプロピット法によって LC<sub>50</sub> 値を算出した。さらに殺卵試験においては、ふ化した幼虫の生死をも調査し、ふ化幼虫が完全に死亡する最低濃度を“ふ化幼虫100%致死最低濃度”とした。

なお、上記の方法で落下および行方不明虫が多くなるときは、leaf disc method によって殺成虫試験を行なつ

た。

各試験とも原則として、薬剤処理濃度は5段階、二区制、二回反覆で行なった。

供試薬剤：既登録の農薬については登録用サンプルまたは市販品を、それ以外のものでは試験用サンプルを供試し、表示値を有効成分量とみなして計算した。

## 実験結果と考察

実験結果は第1表のとおりである。

この試験は過去10年間にわたり、その間、実験方法、実験条件を一定にして行われたものである。この間に供試ハダニの飼育条件によって薬剤感受性が変動する（季節的変動）ことが明らかになった<sup>1)</sup>。しかし本報のデータでは、そこまでは検討されていない。さらにハダニ類に対する農薬の効力は、ハダニの種類、系統、寄主植物<sup>2)</sup>、薬剤の製剤形態などの要因によって変動することがあり、または場における効果は薬剤の直接的な効力だけでなく、残効性、天敵に対する影響などによっても変わる。したがって本試験の結果のみではハダニ防除用薬剤について、直ちに結論を下すことは困難であるが、本試験の結果からおよそつきのようなことがいえると思われる。

1) マラソン、DDVPなど初期に使用された薬剤の一部、ETHO、ETHN、DCPM、PMP、CPASなど選択性のとくに強い薬剤を除き、ほとんどのハダニ防除用薬剤はニセナミハダニの成虫、卵のいずれかまたは両者に対して、LC<sub>50</sub> 値がほぼ 100 ppm 以下であり、とくにハダニの防除を主目的として用いられる薬剤（浸透性殺虫剤、選択性殺ダニ剤）では、二・三の例外を除いて、この値がほぼ 10 ppm またはそれ以下である。

2) 一般に有機りん系の薬剤は卵に対して、効力が低い。

3) 一般に有機りん系およびDN系の薬剤は、成虫に対して速やかに効力を示す。

なお、混合剤の場合、相乗作用についての検討は行なっていない。

第1表 各種農薬のニセナミハダニに対する効力  
Table 1. Toxicity of Pesticides to *Tetranychus telarius* (L.)

Pesticides	Concentration of active ingredients	Toxicity to adult females				Toxicity to eggs		
		24 hours		72 hours		LC <sub>50</sub> (ppm)	Slope of regres- sion line	Minimum LC <sub>100</sub> to hatched larvae
		LC <sub>50</sub> (ppm)	Slope of regres- sion line	LC <sub>50</sub> (ppm)	Slope of regres- sion line			
Parathion e. c.	46.6%	10.5	2.29	3.26	1.66	1260.	2.89	200~400
Parathion-methyl e. c.	40%	23.4	3.06	12.4	2.57	3460.	4.18	3000~5000
Malathion e. c.	50%	289.	3.24	77.9	2.08	1960.	2.24	2000~4000
EPN e. c.	45%	8.87	2.36	3.77	1.71	70.7	2.41	80~160
TEPP	40%	52.1	2.58	35.4	2.51	—	—	—
Diazinon e. c.	34%	77.2	2.43	14.8	2.27	2160.	2.90	2000~4000
Dichlorvos e. c. (DDVP)	50%	350.	3.06	223.	2.58	—	—	—
Naled e. c. (Dibrom)	50%	167.	3.51	84.2	2.70	4250.	2.88	—
Fenthion e. c. (Baycid)	50%	2.75	2.42	1.80	2.16	—	—	2000
Papthion e. c.	50%	2.39	4.04	1.79	3.75	188.	2.49	200~400
Ethion e. c.	50%	0.957	2.56	0.666	2.77	5.97	2.14	10~20
Mecarbam e. c.	25%	7.12	2.46	1.88	2.02	81.0	2.53	>200
Imidan w. p. (PMP)	50%	338.	1.93	172.	2.41	—	—	200~400
Phosalone e. c.	35%	2.50	1.61	0.729	2.80	5.32	2.75	7~10
Amiphos e. c. <sup>①</sup>	40%	0.579	1.95	0.335	1.94	359.	2.10	100~200
Formothion e. c.	22%	7.48	3.27	5.31	3.25	755.	2.73	200
Demeton-S-methyl e. c.	25%	1.78	1.60	0.710	1.22	—	—	200
Dimethoate e. c.	43%	1.27	3.36	0.189	2.00	1130.	2.48	200
Thiometon e. c.	25%	7.37	1.83	3.27	2.90	—	—	500
Estox e. c.	50%	3.45	1.53	1.32	2.07	—	—	150~250
Schradan e. c.	48%	87.7	1.97	15.9	1.92	—	—	—
Vamidothion e. c.	40%	4.10	2.02	1.81	2.21	1150.	1.95	25~50
Fusso <sup>②</sup>	10%	1300.	1.23	601.	0.89	524.	2.02	>2000
Dioxathion e. c. (Delnav)	33%	0.348	2.76	0.104	2.74	1.79	2.17	2
Phenkaption e. c.	18%	0.886	3.02	0.754	4.34	9.54	2.63	20~40
Amidothioate e. c. <sup>③</sup>	50%	0.815	2.63	0.389	3.15	3.49	2.80	5~10
*PTMP e. c. <sup>④</sup>	50%	0.349	0.64	0.0363	0.79	11.2	1.96	20
Chlorfenson e. c. (CPCBS)	25%	—	—	—	—	76.2	2.29	250~500
Dimite e. c. (BCPE)	15%	40.9	2.52	27.8	2.50	56.6	2.39	100~200

Pesticides	Concentration of active ingredients	Toxicity to adult females				Toxicity to eggs		
		24 hours		72 hours		LC <sub>50</sub> (ppm)	Slope of regres- sion line	Minimum LC <sub>100</sub> to hatched larvae
		LC <sub>50</sub> (ppm)	Slope of regres- sion line	LC <sub>50</sub> (ppm)	Slope of regres- sion line			
Tetradifon e. c.	8%	—	—	—	—	5.13	1.19	20
Tetrasul w. p. (Diphenyl sulfide)	17%	—	—	—	—	2.64	1.56	>10
Dicofol e. c. (Kelthane)	18.5%	0.914	2.06	0.602	3.18	3.18	2.67	8~16
Chlorobenzylate e. c.	21%	118.	2.13	43.5	3.57	115.	2.56	200~250
Chloropropylate e. c.	22%	9.11	3.57	7.05	2.75	18.1	2.18	30~60
Bromopropylate e. c. <sup>5)</sup>	25%	8.01	2.75	3.43	2.75	8.29	3.43	20
*Smite e. c. <sup>6)</sup>	55%	2410.	1.13	197.	0.82	418.	1.71	400
*Ormite e. c. <sup>7)</sup>	57%	998.	0.88	16.6	0.95	580.	2.86	100~200
FABA w. p. <sup>8)</sup>	40%	37.1	2.43	19.1	1.28	0.331	2.54	>2
FABB w. p. <sup>9)</sup>	40%	—	—	208.	1.99	4.24	1.89	32
Nissol e. c. <sup>10)</sup>	25%	130.	2.20	63.0	1.17	35.7	1.73	>320
*Galecron e. c.	50%	584.	1.09	52.2	1.64	45.8	1.31	1000
HCl salt of Galecron	60%	—	—	225.	1.39	10.5	1.30	>100
Rotenone e. c.	2%	250.	1.36	—	—	77.9	1.44	>200
Dinoseb (DNBP)	36%	15.9	2.52	11.8	2.57	89.6	2.43	100~200
Binapacryl w. p.	50%	4.91	2.26	3.08	2.03	0.946	1.70	2.5~5
Thioquinox w. p. (Eradex)	50%	601.	0.69	26.3	0.93	4.02	1.77	>100
Morestan w. p.	25%	42.8	1.09	13.7	1.75	2.18	1.46	5~10
Dinocap w. p. (Karathane)	19.5%	145.	2.70	27.6	2.39	21.2	3.45	20~40
Chlorfenson 15%, Aramite 15% e. c.		23.8	1.41	4.78	1.95	31.9	3.00	>100
*Chlorfenson 15%, Aramite 30%, Dimite 15% e. c.		104.	1.20	13.1	1.12	104.	2.28	120~240
Chlorfenson 18%, DCPM 7% e. c.		—	—	1170.	2.12	125.	1.64	500
Chlorfenson 25%, Dimite 25% e. c.		61.2	2.03	30.5	2.74	2.55	2.04	>20
CPAS <sup>11)</sup> 25%, Dimite 25% w. p. (Milbex)		23.2	3.00	13.0	2.98	5.50	2.84	>20
Chlorobenzylate 15%, Dimite 20% w. p.		25.6	2.74	10.0	2.59	5.82	3.49	6~12
CPAS 25%, DDDS <sup>12)</sup> 10%, DCPM 15% w. p. (Micasin)		—	—	615.	1.54	119.	1.48	20~50
Tetradifon 8%, DDDS 9% e. c.		897.	1.34	97.6	1.74	2.59	1.74	20
Azoxybenzene 35%, DDDS 14% e. c.		6090.	1.02	85.3	0.69	6.10	2.89	10~20
Smite 22%, Azoxybenzene 38% e. c.		1860.	0.48	12.1	0.61	9.67	2.44	>25
Tetradifon 8%, Smite 12% e. c.		1120.	1.70	9.03	1.94	5.03	1.93	>32

Pesticides	Concentration of active ingredients	Toxicity to adult females				Toxicity to eggs		
		24 hours		72 hours		LC <sub>50</sub> (ppm)	Slope of regres- sion line	Minimum LC <sub>100</sub> to hatched larvae
		LC <sub>50</sub> (ppm)	Slope of regres- sion line	LC <sub>50</sub> (ppm)	Slope of regres- sion line			
Tetradifon 4%, Dicofol 9% e. c. Mecarbam 25%, Dicofol 14% e. c. ETHO <sup>13)</sup> 25.5%, ETHN <sup>14)</sup> 4.5% e. c. Dimethoate 30%, BCHC <sup>15)</sup> 10% e. c. Papthion 30%, Dimethoate 15% e. c. Chloropropylate 20%, BDS <sup>16)</sup> 7% e. c. Chloropropylate 20%, Galecron 25% e. c. Dinex (DN) 4%, Dimethoate 30% e. c. Sulfur 70%, Dinex 6% w. p.	62.6 17.1 — 1.41 4.32 5.40 14.3 0.788 121.	1.35 1.76 — 4.22 2.58 2.62 2.39 3.24 2.87	6.97 2.18 2120. 1.17 2.27 3.68 8.43 0.613 69.4	1.65 1.04 0.74 4.82 2.13 2.30 2.47 3.62 2.76	5.14 185. 159. 1580. 314. 8.10 19.6 354. 155.	1.40 2.05 1.84 3.46 2.38 2.53 1.47 3.30 3.02	10 200 >1000 62.5~125 80 25~50 >130 150 500	
Zectran e. c. Demeton e. c. Phorate e. c. (Thimet) 50% Mesyston e. c. Phosdrin e. c. Guthion e. c. Carbophenothion e. c. (Trithion) Thiocron e. c. Chlorbenside w. p.	65% 50% 50% 25% 50% 50% 45% 30% 20%	263. 7.59 3.26 2.77 83.0 34.3 0.0938 5.40 —	5.65 2.10 4.72 1.41 2.74 2.00 1.77 3.39 —	207. — 1.93 1.05 42.0 — — 3.43 —	4.11 — 4.54 1.09 2.50 — — 3.23 —	4620. — — — — 190. 9.29 149. 30.6	1.11 — — — — 1.98 2.39 1.54 2.00	500~1000 — — — — 1000 12~20 25~50 >200

1) O,O-dimethyl-S-2-(acetylaminio) ethyldithiophosphate, 2) fluoroacetamide, 3) N-ethyl-O-methyl-O-(2-chloro-4-methylmercaptophenyl) phosphoramidothioate, 4) O,O-diethyl-S-(*p*-chlorophenyl thiomethyl) phosphorothioate, 5) isopropyl-4,4-dibromobenzilate, 6) 2-{2-(*p*-tert.-butylphenoxo) isopropoxy} isopropyl-2-chlorethyl sulfite, 7) 2-(*p*-tert.-butylphenoxy) cyclohexyl 2-propyl sulfite, 8) monofluoroaceto-*p*-bromoanilide, 9) monofluoroaceto-*p*-bromobenzylamide, 10) N-methyl-N-(1-naphthyl) monofluoroacetamide, 11) 4-chlorophenyl 2,4,5-trichlorophenyl azosulfide, 12) bis-(*p*-chlorophenyl) disulfide, 13) ethyl O-toluoyl-3,6-dichloro-2-methoxybenzohydroxamate, 14) ethyl N-toluoyl-3,6-dichloro-2-methoxybenzohydroxamate, 15) 2-methyl-bicyclo-[2,2,1]-heptane-2-carbonic acid, 16) benzyl disulfide

\* Adulticidal tests for these pesticides were carried out by leaf disc method.

\*\* Above 5000 ppm or nontoxic

## 要旨

ニセナミハダニの成虫および卵に対する各種農薬の効力を室内において検定した。その結果は第1表に示すように、ハダニ類の防除に用いられている薬剤の大部分

は、成虫、卵のいずれかまたは両者に対してほぼ100ppm以下のLC<sub>50</sub>値を示した。

## 文献

- 1) 松谷茂伸: 本誌 No.7: 41~45 (1967)
- 2) " " No.8: 11~15 (1968)

## Summary

Toxicity of Pesticides to Eggs and Adults of *Tetranychus telarius* (L.)

By Shigenobu MATSUTANI

Laboratory experiments were conducted to observe the effectiveness of various pesticides against eggs and adults of *T. telarius* (L.). In most of the pesticides which are used to control spider

mites, the LC<sub>50</sub> values for eggs or/and adults of *T. telarius*(L.) were below 100 ppm, as shown in Table 1.

## ツマグロヨコバイの大量飼育装置

杉 本 濡

ツマグロヨコバイ *Nephrotettix cincticeps* UHLER はわが国におけるイネの重要害虫の一つであるが、近年発生量の増加と殺虫剤抵抗性の発達が重視されている。

この昆蟲の周年大量飼育には現在、温室でイネによって飼育する方法<sup>1,2)</sup>と、人工照明の室内でイネの幼苗によって飼育する方法<sup>3)</sup>とが用いられている。これらのうちで、後者の方法は前者よりも温度や飼育条件の条件を一定に保ちやすく、労力も少なくてすむ。しかしこの方法も、1世代の飼育の間に飼料を何回も更新しなければならぬため、必ずしも容易ではない。

著者は上記の、イネ幼苗による室内飼育法を簡便化するために、飼料の仕掛けと更新を簡単に行なうことのできる飼育装置を作成した。この装置による飼育方法の概要について現在なお検討中であるが、現在までに良好な飼育状態が得られているので、装置と飼育方法、飼育成績の概要を報告する。

報告にあたって、この装置の作成上貴重なご教示を頂いた農林省農業技術研究所岩田俊一博士ならびに農林省農業試験場三田久男技官に厚くお礼を申しあげる。

### 飼育装置

#### 飼育箱

飼育箱は第1図に示すような形状寸法で、特に底と天井の両面をガラス張りにし、どちらを下にして置いた場合にも、図に示す飼料皿が挿入できるように作った。わくは木製で、飼育虫の排泄物による汚れを洗い落しやすいように、白色の耐水性塗装を施した。前面は内部の觀察を容易にすることも考慮して、上下2段のガラス板の戸を取り付け、戸と木わくのすき間のパッキングとして、木わくにフェルトを貼った。2枚の戸はそれぞれ4個の爪によって取付けられ、簡単に着脱でき、また取付けたまま横にずらして開くこともできる。左右と後の3面は目の細かいポリエチレン網（日本中野織縫株式会社製、日東紡サンライン強力網100目、83×64メッシュ）を張った。

#### 飼料皿

飼料皿は第1図に示すように、透明なステロール製の浅い皿（30.3×23.3×1.8cm）で、イネの幼苗を培養する際は乾燥とウンカ・ヨコバイ類の侵入を防ぐために、

同じく透明なステロール製のふたをかぶせておく。飼料皿とふたはいずれも市販のステロール容器（矢崎化工株式会社製、長方形容器 H-1500）の、ふたの部分を利用した。すなわち、この容器のふたは高さ3cmの縁が付いているが、縁の一部分が容器の身とはめ合せるようを作られている。そこで、はめ合せる部分（高さ1cm）を切り落したものを作り、それを飼料皿とし、切り落さぬままのものを飼料皿のふたに用いた。

飼育箱に挿入される飼料皿にはあらかじめ、太さ約2mmのステンレス鋼線を溶接して作った格子を1枚、発芽した種子の上にのせるようにしてはめこんでおく（第1図に示す）。この格子は、第2図に示すように飼育箱を倒さにしたときに、幼苗を吊す役割をはたす。

#### イネ幼苗の培養方法

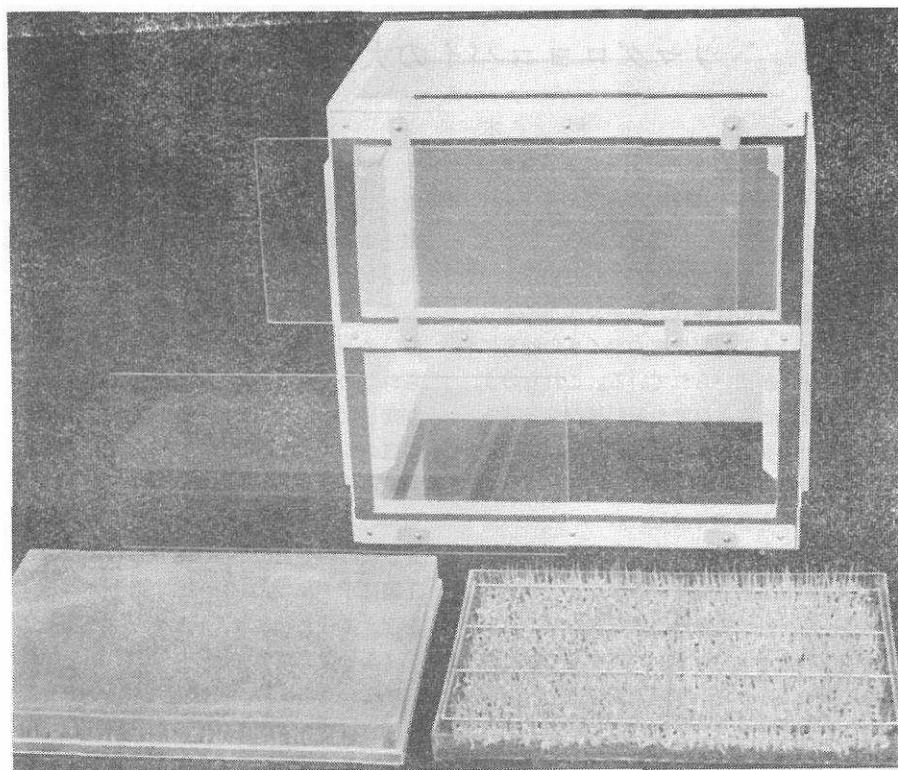
イネの幼苗は、飼料皿内に無施肥の沖積土（荒木田）を深さ約1cmに鎮圧して入れ、灌水して湿りを与えた上に種子を播種し、覆土しないままで培養するようにした。この方法によれば、種子が浸土された場合や、深い水に没された場合よりも発芽生育が早く、整一である。また、土を用いず水だけで培養する方法よりも、飼育箱に挿入したものの灌水管理が容易である。

播種後、液用有機水銀剤で消毒を施し、水洗せずに播種する。播種量は第1表に示すように、飼育虫の生育にしたがって、幼虫期には飼料皿を交換するごとに増すようにした。所定量の種子を播種するには、第3図に示すような方法を用いた。この方法によれば、手で播くよりもはるかに簡便に、しかも均一に播種ができる。

播種後、飼料皿は前記のふたをかぶせて28°C、24時間照明の恒温室内で培養する。3～4日間培養すると幼苗が高さ2～3cmに生育するので、これを飼料に用いる。ただし産卵させるための幼苗だけは5日間培養して、草丈4～5cmに達したものを使っている。培養中は灌水そのほかの管理を全く必要としない。なお、培養には段数の多い棚（銅板製）を用いており、広い場所を必要としない。照明は室の天井に設けられた白色螢光灯だけであり、特別に設備してはいない。

#### 飼育箱内の飼料皿の交換方法

飼育箱に挿入した飼料皿は、後記および第1表に示す



第1図 飼育装置

Fig 1. A rearing cage and feeding trays. The cage is 35cm×27cm and 36cm high, with the glass-glazed top and bottom. Young rice seedlings are grown in the feeding tray with the moistened soil covered with a transparent lid (left). A tray with the rice seedlings covered with a stainless steel wire lattice (light) is inserted in the cage. The trays must be renewed several times to complete one generation of the green rice leafhopper in such a manner as shown in Fig. 2. Each cage can produce about 1000 adults of the leafhopper.

ように、産卵させた幼苗は幼虫のふ化直後に、また幼虫～成虫期の飼料幼苗は7日ごとに、新しく準備したものと交換する。交換の方法は第2図に示すとおりで、飼育箱を倒さにして古い幼苗を上に吊し、それを手で払うことによって、虫をほとんど残らず新しい幼苗の上に移すことができる。この作業のためには2～3日前から、飼育箱内の飼料皿への灌水をひかえ、皿内の土を半ば乾燥させ、固結させるようにする。また作業は飼育箱の後側だけを明るくし、箱の戸を上下いずれか1枚ずつ開いて行なうようすれば、虫をほとんど逃がすことがない。

なお飼育箱内から虫を採取する場合にも、飼育箱を倒さにして虫を幼苗から払い落せば、虫を残らず採取することができる。この場合、箱内の飼料皿を交換してから3日以上経っていれば、幼苗の根がかなり張っており、

箱を倒さにして幼苗を吊すことができる。

## 飼育

上記の飼育装置は当所において1968年6月から使用しているが、緒論に記したように飼育条件の諸要因を検討中であり、未だ確定的な飼育条件を設定していない。ここには現在の漸定的な飼育方法と、飼育成績の概要を述べる。

### 温湿度および照明の条件

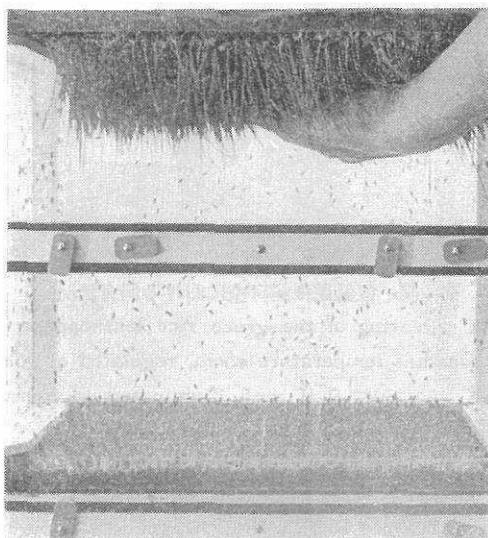
現在、温度25～26°C、関係湿度50～60%，16時間照明の恒温飼育室内で飼育している。その状況は第4図のとおりで、照明は全て白色螢光灯を用い、天井に設けられた40W 2灯のほか、飼育棚後側に飼育箱2個ごとに20W 1灯を設備している。

### 飼育虫

現在、東京都府中市産と高知県南国市産の2個体群を飼育している。前者はマラソンに対する感受性がかなり高く、後者はマラソン抵抗性である。それぞれ1967年9月と同年7月に現地水田から採集され、いずれも採集直後から当所温室内でイネの幼苗によって累代飼育され、そのうち現在の室内飼育に移されたもので、1969年3月までにそれぞれ15世代および17世代を経過した。この間、両個体群とも殺虫剤による淘汰を全く受けていない。

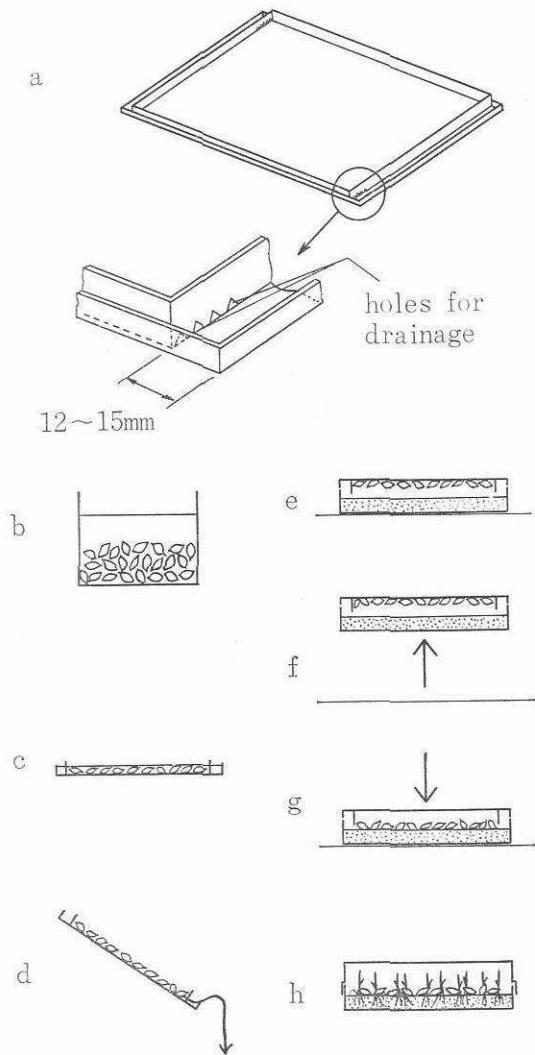
### 飼育方法

増殖；親虫には、羽化後1～2週間を経た成虫を用いている。この場合、著者<sup>1)</sup>がさきに羽化後日数と産卵数との関係をしらべた結果から見て、雌成虫は1日に1頭平均10卵内外を産むと考えられる。産卵は前記飼育室内で行なわせている。飼育箱に産卵用のイネ幼苗と、通常1箱あたり雌100頭および雄20～30頭の親虫を入れて、24時間産卵させ、そののち吸虫管を用いて親虫を完全に除去するようにしている。この条件においては飼育箱1



第2図 飼料の交換

Fig. 2. Renewing of the rice seedlings. The cage is turned upside down and the old seedlings are hung from the top, supported by the wire lattice. Then a new tray with fresh seedlings is inserted under the old tray. After the insects staying on the old seedlings are brushed off by hand, the old tray is taken out.



第3図 飼料皿への播種方法

Fig. 3. Way of seeding. a: Seeding plate. b: rice seeds in seed dressing liquid. c: the seeds with a small amount of the seed dressing liquid are put into the seeding plate. d: wet seeds remain adhered on the plate after the liquid is run off. e: the plate is turned upside down and put on a feeding tray filled with the moistened soil. f: the plate and the tray are taken up together and g: let fall on the table so that the seeds stand on the soil surface. h: the seeds germinate on the soil surface; the transparent lid prevents water evaporation from the soil.

個あたり1000卵内外が産卵されると推定される。

幼虫～成虫期の飼育；産卵から8～9日後に幼虫がふ化するので、10日後に第1回の飼料交換を行ない、その後は7日ごとに飼料を交換する。産卵から25～26日後に雄成虫が羽化し始め、雌成虫はこれより遅れて28～31日後ごろに羽化する。さらに羽化が遅れる個体はほとんどない。成虫を産卵期まで飼育すると、1世代の経過日数は40日内外となる。以上を要約して第1表に示す。

なお、累代飼育中の前記両個体群はそれぞれ、現在毎週1個ずつ飼育箱を準備して増殖させており、飼育管理は毎週、水曜日に産卵、土曜日に飼料交換と、同一曜日に行なっている。増殖用の成虫は経過日数35日（5週間）のものと、42日（6週間）のものを半数ずつ採取し、混合して用いている。

#### 飼育成績

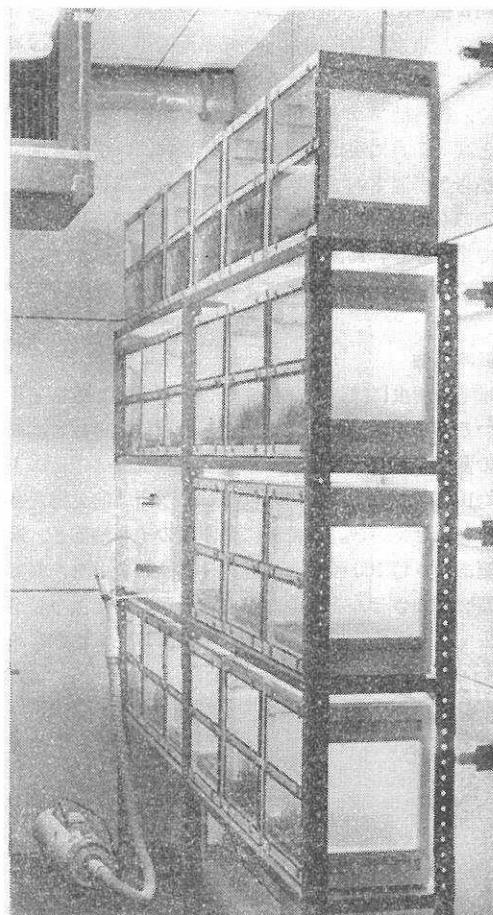
現在上記の飼育方法によって、飼育箱1個あたり800～1000頭の成虫が得られている。この羽化虫数を前記産卵条件における推定産卵数と比較すると、飼育虫の生存率はきわめて高いものと考えられる。

河野<sup>5)</sup>は温室内でイネの幼苗を飼料として、生存率のきわめて高い飼育に成功しているが、それは虫数400頭に対して浸種した糲20g（推定容積40～50ml）を用いて培養した幼苗を与え、老令幼虫～成虫期にはこれを4日ごとに交換している。この場合と、本報告の1000頭あたり、種糲量200mlで7日ごとに交換するという条件（第1表参照）とは、飼料給与量がおむね一致する。

現在、前記のように累代飼育中の両個体群は、毎週1回増殖を行なっているので、両個体群それぞれ、毎週飼育箱1個、すなわち上記のように800～1000頭の新成虫が生産されている。また必要に応じて、飼育箱数を増すことによって羽化数を倍加させることができる。

以上の方法で累代飼育された両個体群についてそれぞれ、二、三の世代における雌成虫の平均体重と、マラソン感受性水準をしらべた結果は第2表のとおりであった。すなわち、両個体群とも温室で飼育されていた1968年2月から、10世代を経過した最近までの間に、平均体重は常に5mg以上あり、マラソン感受性水準はほとんど変化していないと認められる。平均体重は河野<sup>5)</sup>、北方ら<sup>6)</sup>の報告を参照すると、ほ場の個体群のそれに勝るとも劣らないことができる。なお繁殖能力については最近、特に調査を行なっていないが、衰えた傾向は認められていない。

病気の発生は、最近の1年間には全く認められなかつた。以前、虫が白いカビにおおわれて多数死滅すること



第4図 恒温昆虫飼育室における飼育状況

Fig. 4. Rearing of the green rice leafhoppers in a constant temperature room, regulated at 25～26°C, 50～60% R.H. and illuminated by white fluorescent lamps for 16 hours a day.

があったが、この病気は飼育管理を十分にし、特に飼育密度の規制と、産卵後の老いた成虫を完全に除去することによって、自然に予防されるようになったと考えられる。

#### 今後の問題点

現在までの飼育成績については、調査に未だ不十分な点がある。今後さらに、次の点について検討する必要がある。すなわち、飼育条件のうちで最も重要な点は飼育密度と、それに関連して、飼料とするイネ幼苗の生育条

第1表 1世代の飼育経過

Table 1. Rearing schedule of the green rice leafhopper through one generation at a constant temperature of 25~26°C, rice seedlings are renewed five times as the insects develop.

Tray of rice seedlings	Time of renewal (days after oviposition)	Volume of seeds per tray (ml)	Developmental stage	Days after oviposition
Initial		50	Oviposition for 24 hours .....	0~1
1st renewal	10	100	Hatch of larvae.....	8~9
2nd //	17	160		
3rd //	24	200	Emergence of male adults .....from 25~26	
4th //	31	200	Emergence of female adults.....	28~31
5th //	38	200	Adults matured are collected for propagating next generation .....	35~42

第2表 累代飼育した東京産および高知産ツマグロヨコバイ雌成虫の平均体重およびマラソン感受性水準

Table 2. Average body weight and malathion-susceptibility level of female adults of two strains of the green rice leafhopper reared on rice seedlings for successive generations.

Method of rearing	Date of testing	Tokyo strain			Kochi strain		
		Generation	Body weight	LD <sub>50</sub> per body weight <sup>2)</sup>	Generation	Body weight	LD <sub>50</sub> per body weight <sup>2)</sup>
Conventional method <sup>1)</sup>	Feb. 1968	5th	6.1 mg	2.04 µg/g	7th	5.4 mg	15.5 µg/g
Present method	Jan. 1969	12th	5.2	2.00	15th	5.5	13.4
	to Mar. 1969	13th	5.7	1.86	16th	5.8	15.1
			5.5	1.61		5.6	15.7
		15th	5.5	1.54	17th	5.1	14.9
						5.1	16.9

1) Carried out in a green house, replaced with the present method in early June, 1968.

2) Calculated from the results of the topical application method.

件であろう。現在の飼料給与条件が妥当であるか、あるいは改善することによって、飼育箱1個あたりの飼育虫数を、さらに増加できるものかを検討する必要がある。一ぱう、累代飼育における繁殖力を維持し、安定した大量飼育を可能とするためには、産卵能力の一定した成虫が得られるような飼育条件を確認することも必要である。また本報告の装置のように小型の飼育箱によって、なるべく多くの虫数を飼育しようとする場合には、生息の過密化が虫の行動上に何らかの悪影響を及ぼすことがないかという点も、検討すべき問題となるかもしれない。

## 摘要

イネの幼苗によるツマグロヨコバイの室内飼育を能率的に行なうために、飼料幼苗の準備と給与の方法を簡便化した飼育装置を作成した。この装置は飼育箱1個あたり800~1000頭を高い生存率で飼育することができる。現在、東京産マラソン感受性個体群、高知産マラソン抵抗性個体群を累代飼育しているが、両個体群とも雌成虫の平均体重が5 mg以上あり、マラソン感受性水準は10世代を経過した間にも変化しなかった。現在の飼育規模では上記2個体群おののおの、毎週1000~2000頭の成虫が

生産できる。なお飼育虫に病気は発生していない。

### 引用文献

- 1) 新海 昭：植物ウイルス病，朝倉書店：30(1960)
- 2) 深谷昌次・小島建一・湯嶋 健・野村健一・八木 誠政・弥富喜三・斎藤哲夫：新農業研究施設，南江堂：9 (1966)
- 3) 尾崎幸三郎：黒須泰久：応動昆11：145 (1967)
- 4) 杉本 湿：応動昆，昭和43年度大会講演要旨：No. 205 (1968)
- 5) 河野達郎：殺虫剤抵抗性害虫に関する試験成績，日本植物防疫協会：78 (1964)
- 6) 北方節夫・椎野明雄・小島建一：防虫科学28：29 (1963)

### Summary

Rearing Cage for Mass Rearing of Green Rice Leafhopper, *Nephotettix cincticeps* UHLER (Hemiptera, Deltocephalidae)

By Atsushi SUGIMOTO

The green rice leafhopper is one of the most important pest insects of rice plant in Japan. This insect can be reared on young rice seedlings under artificial illumination in laboratory. However, this rearing method is rather laborious because the rice seedlings are necessary to be renewed several times during the period of one generation. To facilitate this rearing method, the author has

devised a new type of rearing cage in which the rice seedlings can be easily replaced. By using the cages of this type, two strains of the green rice leafhopper, one malathion-resistant and one malathion-susceptible, have been reared successfully, producing about 1000 to 2000 adults of each strain every week.

## アブラナ科植物のカルス培養法

中 村 広 明

アブラナ科植物の組織培養については GAUTHERET<sup>1)</sup> (1939) の報告に早くも見られ、次いで NOBÉCOURT<sup>2)</sup> (1943) が発表しているが、その後の研究例は意外に少い。筆者はアブラナ科植物の obligate parasite であるべと病菌 *Peronospora parasitica* (PERS.) FRIES を *in vitro* で培養するため、その medium として寄主植物から誘導された培養カルスの利用を試みてきた<sup>3)</sup>。カルスを得る手段としては第一に GAUTHERET の例にならいルタバガやカブの貯蔵根の切片をナフタレン酢酸を含む寒天培地に置床する方法を用いた。一方幼植物を酵母エキスの含まれる培地に置床してカルスを誘導させる方法が JAGENDORF ら<sup>4)</sup> (1952) によってキャベツの幼根について報告され、菅野<sup>5)</sup> (1966) も同様な方法でダイコンの胚軸からカルスを得ているので、第二にこの方法を応用した。

こうして得られたカルスはべと病菌あるいはウイルスの *in vitro* 培養の手段になり得るほか、既報<sup>6)</sup> のように殺菌剤の生物検定法としても独特な面があり、また発生学や生理学などの研究材料にもなり得ると考えられるので、カルスの誘導および培養の具体的な操作法をここに報告する。本実験をおこなうに当たり、貴重な植物の種子を分与された東北大学農学部育種学教室の日向康吉博士に深謝の意を表す。

### 材 料 と 方 法

貯蔵根などの場合 培養基としては  $\frac{1}{2}$  KNOP-HELLER の液にグルコース 3%, チアミン 1 ppm,  $\alpha$ -ナフタレン酢酸(NAA) 1 ppm, 粉末寒天 0.7% を加えた培地 (KNと略称、第1表) を用い、通常  $18 \times 1.8\text{cm}$  の試験管に 13 ml ずつ分注し、アルミニウム製のキャップを施して 120°C で 30 分間高压滅菌する。

ルタバガ (*Brassica napus* L. var. *rapifera*), カブ (*B. rapa* L.) の貯蔵根あるいはコールラビ (*B. oleracea* L. var. *gongylodes*) の肥大茎から無菌的に切片を取り出すには、まずそれらの肥大組織のみを切りとて水洗し、滅菌したビーカーに入れてアルコールに瞬

時浸した後、次亜塩素酸ナトリウム液 (アンチホルミンを有効塩素が 1% になるように水で希釈したもの) に 45 分間浸漬する。消毒を終った植物は滅菌渾紙 (30 × 30 cm) の束 (約 20 枚を重ねたもの) の間にはさみ、火炎で滅菌した外科刀で  $5 \times 5 \times 10\text{ mm}$  位 (自然状態の上下方向を長くする) の直方体に切り出す。この切片を根の方向を上 (自然状態とは逆) にして試験管の寒天面に 5 mm の深さに挿し、キャップを施す。これらの試験管は 25°C で約 2,000 ルックスに 16 時間照明下で培養を続ける。カブの継代培養には KN 培地に 1 l 当りカブの根または葉 200 g の煎汁を加えた培地 (KNR 培地) を用いる。

第1表 KN 培地の処方

Table 1. Composition of KN\* medium

\*KN: KNOP's solution + HELLER's solution + NAA

#### Major elements (KNOP's solution × 1/2)

Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	500	mg/l.
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	125	mg/l.
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	125	mg/l.
KNO <sub>3</sub>	125	mg/l.

#### Minor elements (HELLER's solution)

FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	1	mg/l.
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	1	mg/l.
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1	mg/l.
MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.1	mg/l.
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.03	mg/l.
AlCl <sub>3</sub>	0.03	mg/l.
NiCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.03	mg/l.
KI	0.01	mg/l.

#### Organic constituents

Thiamine · HCl	1	mg/l.
$\alpha$ -Naphthaleneacetic acid	1	mg/l.
Glucose	30	g/l.
Agar	7	g/l.

第2表 MDY培地の処方

Table 2. Composition of MDY\* medium

\*MDY; MURASHIGE-SEKOOG's medium+2,4-D+  
Yeast extract

Major elements		
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	mg/l.
KNO <sub>3</sub>	1900	mg/l.
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440	mg/l.
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370	mg/l.
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	mg/l.
Na <sub>2</sub> -EDTA	37.3	mg/l.
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.8	mg/l.
Minor elements		
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2	mg/l.
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	22.3	mg/l.
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	8.6	mg/l.
KI	0.83	mg/l.
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25	mg/l.
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025	mg/l.
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025	mg/l.
Organic constituents		
myo-Inositol	100	mg/l.
Nicotinic acid	0.5	mg/l.
Pyridoxin·HCl	0.5	mg/l.
Thiamine·HCl	0.1	mg/l.
Glycine	2	mg/l.
2,4-Dichlorophenoxyacetic acid	2	mg/l.
Yeast extract	5	g/l.
Sucrose	30	g/l.
Agar	7	g/l.

幼植物の場合 培養基としては MURASHIGE-SKOOG の培地に酵母エキス 0.5%, 2,4-D 2 ppm, 粉末寒天 0.7 %を加えた培地 (MDY 培地, 第2表) を用いる。分注、滅菌の方法は KN 培地の場合と同じである。

用いた 9 種の植物の genome はカブとハクサイ (*Brassica pekinensis* RUPR.) が A( $n=10$ ) であるほかはそれぞれ組成を異にする。すなわち、クロガラシ (*B. nigra* KOCH) は B( $n=8$ ), キャベツ (*B. oleracea* L. var. *capitata*) は C( $n=9$ ), ハガラシナ (*B. juncea* Coss.) は AB( $n=18$ ), ヨウシュナタネ (*B. napus* L.) は AC ( $n=19$ ), アビシニアガラシ (*B. carinata* BRAUN) は BC( $n=17$ ), シロガラシ (*Sinapis alba* L.) は ( $n=12$ ), ダイコン (*Raphanus sativus* L.) は R( $n=9$ )

第3表 MDY 培地に置床した植物の種類と  
種子のアンチホルミン耐性Table 3. Plants placed on MDY medium  
to produce calluses and their differences  
in sensitivity to sodium hypochlorite.

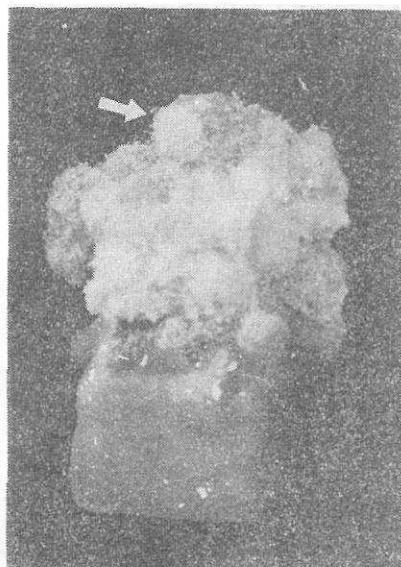
Species	Genome	Period of sterilization	No. of seeds germinated / No. of seeds placed
<i>Brassica rapa</i>	A	60 minutes	20/20
<i>Brassica pekinensis</i>	A	60	8/10
<i>Brassica nigra</i>	B	10	3/5
<i>Brassica oleracea</i>	C	15	13/20
<i>Brassica juncea</i>	AB	20	20/27
<i>Brassica napus</i>	AC	15	15/15
<i>Brassica carnata</i>	BC	10	16/20
<i>Sinapis alba</i>	—	10	14/15
<i>Raphanus sativus</i>	R	70	12/12

である。クロガラシ、ヨウシュナタネ、アビシニアガラシおよびシロガラシの種子は東北大學農学部育種学教室から分譲されたものを、他は市販のものを使用した。

この場合のカルス誘導は次のようにおこなう。各植物の種子を滅菌したペトリ皿中でアルコールに瞬時浸した後、有効塩素約 1% の次亜塩素酸ナトリウム液に浸漬する。植物によって本剤に対する耐性が違うので、それを考慮して処理時間を変える (第3表参照)。処理後の種子は滅菌済紙で消毒液を吸い取ってから、ペトリ皿中の MDY 培地上に置床する。これらは 25°C, 16 時間照明下で培養すると、発芽した幼植物の寒天面に接觸している部位 (幼根、胚軸あるいは子葉) からカルスが生じてくるので、その部分を切りとって、MDY 培地を入れた試験管に移植し、継代培養を続ける。

## 結 果

貯蔵根などの切片からのカルス KN 培地上の切片からは培養開始後 10~15 日を経過すると培地に接觸していない部分に白色乃至淡緑色のカルスが発達してきて、30 日後頃までは重量を増した (第1図)。さらに 30 日間は外見上あまり変化がみられないが、それ以上経ると壞死症状が進み、枯死に至る。この場合発生したカルスを 30~40 日後に新たなる KN 培地に移植したが、カルスを新生することなく枯死した。カブの場合は KN 培地に移植すればカルスは生育を続けるが、10 回の繰返し実験で得



第1図 カブの貯蔵根から生じたカルスとベト病菌の分生子梗(矢印)

Fig. 1. Callus tissue derived from a turnip storage root and conidiophores of *Peronospora perasitica* (arrow).

られた結果は第4表にまとめられているように、移植を重ねる毎にカルスを新生する個体数は次第に減り、3回目までが限度であった。

根の方向を下にして植え込んだ切片や、老化した組織からの切片の場合は発根することが多かった。また、培

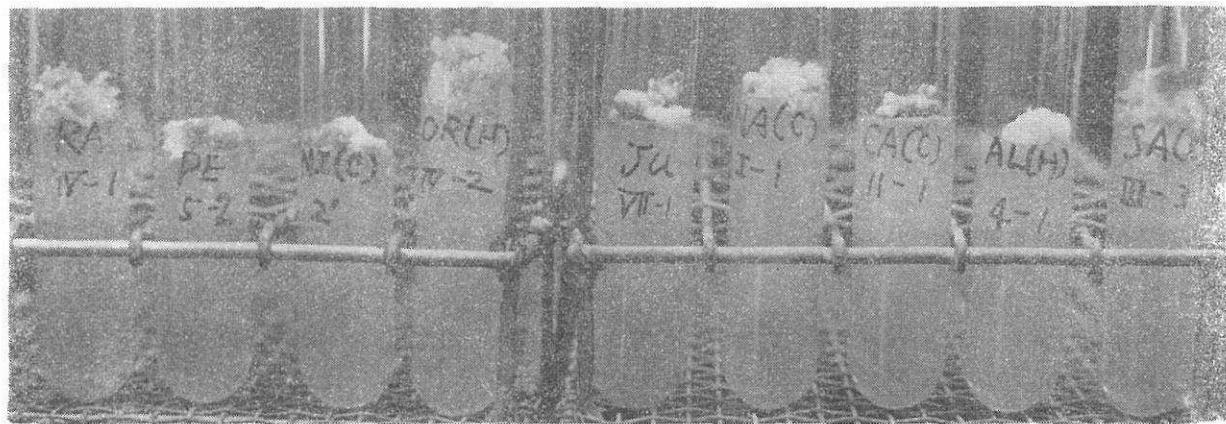
第4表 カブの貯蔵根から生じたカルスの  
KNR培地による継代培養の経過

Table 4. Successive culture of turnip callus  
derived from storage root on KN medium  
supplemented with turnip leaf decoction  
(200g/l.)

	Passage		
	I	II	III
No. of calluses transplanted	160	53	4
No. of calluses well grown	30	9	0
% of calluses well grown	18.7	16.9	—

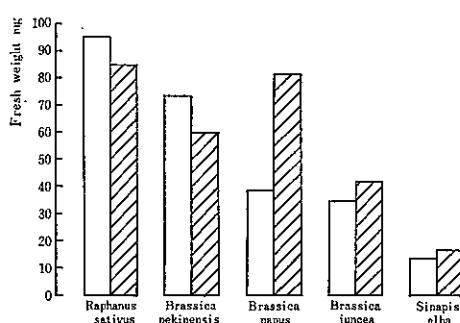
養30~50日後のカルス上にベト病菌を接種するとカルスは感染して10日後までには胞子形成がみられた(第1図)。

幼植物からのカルス MDY培地上で種子から発芽した幼植物は培地に接触している部位が幼根、胚軸あるいは子葉のいずれであっても、そこからカルスを形成した。MDY培地の2,4-DをNAAにおきかえた培地またはKN培地に種子を置床すると発根と発芽だけが起り、カルスは形成されなかった。用いた9種の植物はいずれもMDY培地上でカルスを生じ、また継代培養も可能であったが、生じたカルスの形態や性質は一様ではなかった(第2図)。



第2図 MDY培地で培養した9種のアブラナ科の幼植物から生じたカルス

Fig. 2. Callus tissues derived from seedlings of 9 species of crucifers cultured on MDY medium.  
(Left to right) *Brassica rapa*, *B. pekinensis*, *B. nigra*, *B. oleracea*, *B. juncea*, *B. napus*, *B. carinata*, *Sinapis alba* and *Raphanus sativus*.



第3図 MDY培地で40日間培養した5種のアブラナ科植物のカルスの生長と光との関係

Fig. 3. Growth of callus tissues of 5 crucifer species cultured 40 days on MDY medium under the conditions of light (open bar) or dark (bar with oblique lines).

生長の度合は植物により、また clone によっても異なるが、一般に生重量の増加は置床10日後から30日後までにいちじるしく、40日後まで続き、40日間での生重量の増加は4～5倍、生長の旺盛な場合は10倍程度であった。

第3図はMDY培地への移植2回目の各種のカルスを40日間照明下または暗黒下で培養した結果の生重量の増加量を示したものである。ダイコンとハクサイの場合は照明のある方が暗黒下よりも重量の増加が多いが、ヨウシュナタネ、カラシナおよびシロガラシの場合はその関係が逆で、カルスの生長におよぼす光の影響は一定でない。

なお、こうしてMDY培地上で幼植物に形成されたカルスは、同じ培地で継代培養する限り、カルスのみを新生して、根や葉などを分化するようなことはなかった。また、これらのカルスにべと病菌を接種しても胞子形成はみられなかった。

## 考 察

貯蔵根などからカルスを誘導する場合の問題点は第一に継代培養の困難なことである。KN培地あるいはそのNAAの代りにIAAを用いた培地上に植え込まれた組織切片からは容易にカルスが形成されるのに比べ、このカルスを移植してさらにカルスの新生を促すのに好適な培地はまだ見いだされていない。現在までのところ、カブの煎汁を加えた培地(KNR)に移植することによっ

てカブのカルスを3回まで継代培養を続けることができたにすぎない。

貯蔵根のような肥大した器官がない植物からはカルス誘導ができないこともこの方法の難点の一つである。通常の茎、葉柄または根の切片を同様な方法でKN培地に置床しても顕著なカルスが形成されることはない。しかもダイコンの場合は普通の貯蔵根は勿論、カブに似た貯蔵根をもつハツカダイコンさえも、これらの切片からはすでにGAUTHERET<sup>1)</sup>も指摘しているように小さなカルスを点々と生じるにすぎない。

照明下の培養で得られたカルスの色は、場合によって異なり白から緑であった。ルタバガの根から生ずるカルスは常に葉緑素に富む緑色であったが、コールラビの肥大茎からは多くの場合淡緑色、時々白色のカルスがみられ、カブの根からは普通は白色、時々淡緑色のカルスを生じた。カブの場合、カルスの色のちがいは切片の由来が根に近いか芽に近いかには関係がなかった。

また、根の方向を下にして植え込んだ切片や老化した組織からの切片でいちじるしい発根を見ることがあるが、その機構についてはまだ追求していない。

一方、幼植物からカルスを誘導する場合の事情は全く異なる。この方法で、供試した9植物のすべてからカルスを得ることができ、誘導の時と同じ培地(MDY)で継代培養も可能であった。

その代り、べと病菌を接種しても胞子形成は起らず、これは貯蔵根などの切片からKN培地上で生じたカルスに接種した場合に盛んな胞子形成がしばしばみられたこと対照的である。

*Nicotiana affinis* の幼植物で同様な研究をしたTYRON<sup>2)</sup>は酵母エキスは光によって変質するので暗黒下で培養すべきであるといっている。しかし、本実験で照明の有無による5種のアブラナ科植物のカルスの生長を比較したところ、一定の関係は得られなかった(第3図参照)。

MDY培地で培養を続ける場合、カルスから芽や根を分化するような例は観察されなかったが、培地の組成を変えた場合を今後検討する必要があろう。またこの実験では固形培地のみを用いてきたが、液体培地での回転培養または振とう培養を次に試みたい。

2つの異なる誘導法によって得られたカルスの性質の相違は、その化学組成、代謝活性、あるいは生理学的活性に差のあることを示しているので、この点の解明は重要な今後の研究課題と考えられる。

## 要　　旨

貯蔵根などの肥大した器官および幼植物を起源として、アブラナ科植物からカルスを誘導し、培養する2つの方法について詳述した。

貯蔵根などからカルスの形成を導くにはNAAを含む寒天培地を用いるのが最適で、カブおよびルタバガの貯蔵根ならびにコールラビの肥大茎を材料とした場合に好結果が得られた。しかし継代培養は困難であった。

2,4-Dと酵母エキスを含む寒天培地上に種子を置床することにより、供試した9植物ではいずれも幼植物からカルスを形成させることができた。

べと病菌は貯蔵根などからNAAを含む培地上で得られたカルスにはよく感染し、胞子形成がみられたが、幼植物から2,4-Dと酵母エキスを含む培地上で形成されたカルスには接種しても胞子形成をみると至らなかつた。

培地の組成、光の影響、培養法などについて考察を加えた。

## 文　　献

- 1) GAUTHERET, R. J. : Compt. Rend. Soc. Biol. Fr., 130 : 244~247 (1939)
- 2) NOBÉCOURT, P. : Bull. Soc. Bot. Fr., 90 : 201~203 (1943)
- 3) 中村広明 : 日植病報 15 : 217 (1960)
- 4) JAGENDORF, A. T., BONNER, D. M. & NAYLOR, A. W. : Bot. Gaz., 113 : 334~347 (1952)
- 5) 菅野延彦 : 植物組織培養株についてのおぼえ書 (竹内正幸編) P. 6 (1963)
- 6) 中村広明 : 本誌 No. 6 : 67~70 (1963)
- 7) GAUTHERET, R. J. : Rev. Cytophys. Vég., 6 : 87~180 (1942)
- 8) TRYON, K. : Amer. Jour. Bot., 42 : 604~611 (1955)

## Summary

### Techniques for the Induction of Callus Tissues from Crucifers.

By Hiroaki NAKAMURA

Two techniques are developed to obtain callus tissues from crucifers.

1) Secondary meristems from storage roots of turnip, *Brassica rapa* L. and rutabaga, *B. napus* L. var. *rapifera*, and bulbous stem of kohlrabi, *B. oleracea* L. var. *gongylodes*, were induced to produce callus tissues, and cubes from the tissues were aseptically excised and placed on the solid medium which consists of 1/2 diluted KNOP's solution, HELLER's microelement solution, α-naphthaleneacetic acid (1 ppm), and glucose(3%). However, subculture of these calluses was not successful.

2) Surface-sterilized seeds of 9 species of crucifers; *Brassica rapa* L., *B. pekinensis* RUPR., *B. nigra* KOCH, *B. oleracea* L. var. *capitata*, *B. juncea* Coss., *B. napus* L., *B. carinata* BRAUN,

*Sinapis alba* L. and *Rapheanus sativus* L. were placed on MURASHIGE-SKOOG's medium supplemented with 2,4-D (2 ppm) and yeast extract (0.5%). In each plant tested, seeds were germinated aseptically and callus tissue was induced to form from cotyledon, hypocotyl or radicle which was contact with agar medium. These calluses were successively subcultured on the same medium. The difference in fresh weight between the dark- and light-grown calluses was not significant.

All the kind of calluses obtained with two-above-mentioned techniques were inoculated with conidial suspension of *Peronospora parasitica* (PERS.) FRIES by pipetting. Abundant sporulation was recognized to occur on calluses produced by the former technique, whereas no sporulation was observed on those produced by the latter.

## Polyoxin の生物学的定量法について

桜井 寿・森田利夫・鈴木洋子・吉田孝二

Polyoxin は *Streptomyces cacaoi* var. *asoensis* の培養液中に複合体として生産され、現在までに微生物活性を有する成分として A, B, D, E, F, G, H, J, K, L, M および不活性成分として C, I の 13 成分が純粋に分離されている。これら成分はそれぞれ構造上密接な関係をもち、広範囲にわたる植物病原菌に対して特異的な抗菌力を示すことが報告<sup>1, 2, 3, 4, 5, 6, 7)</sup> されている。このような polyoxin を含む製剤の力価試験方法を検討するための基礎試験として、polyoxin 各成分の抗菌力を数種の植物病原菌を試験菌にえらび寒天平板法で比較検討した。その結果、供試した試験菌の種類または同一種においても菌株の相違により、polyoxin 各成分の抗菌力が異なることが認められた。しかし、阻止円の直径と polyoxin 各成分の濃度の対数が示す標準曲線はいずれの試験菌を用いた場合にもほぼ平行関係にあることが認められた。また、polyoxin 各成分の希釀液を混合した場合はそのいかなる組合せにおいても拮抗的あるいは相乗的な生物活性を示さず単純な相加的な活性を示した。したがって polyoxin 各成分の間には加成性が成立するので polyoxin 複合体からなる製剤の力価試験は微生物検定法で可能であると考えられる。なお、本報告の一部はすでに日本植物病理学会で講演発表<sup>8, 9)</sup> してきたが、それらをとりまとめてここに報告する。

### 実験材料および方法

本実験には第 1 表に示した試験菌および培地を用い、力価試験は寒天平板法で行なった。直径約 9 cm の滅菌したペトリ皿に基層として検定培地 20 ml を注いで水平に置き、その上に種層として以下に記す試験菌浮遊液を接種した培地 4 ml を注入して寒天平板を作った。供試した polyoxin 各成分は 1/15 M リン酸緩衝液 pH 6.0 で溶解し、適当な濃度に希釀して寒天平板上のカップに満たし、28°~30°C で 18~20 時間培養したのち、阻止円の直径を 0.5 mm まで測定した。試験菌浮遊液の調製は菌株によって下記の 2 方法で行なった。

#### 1) *Pellicularia sasakii* や *Rhizoctonia solani*

第 1 表 試験菌と培地の組成

Table 1. The test organisms and compositions of media

Test organism	Propagation medium		Test medium	
<i>Pellicularia sasakii</i>	Sucrose Pepton Meat extract NaCl Water pH	30 g 5 g 5 g 5 g 1000ml 6.0~6.4	Potato brothe Sucrose Agar Water pH	300g/L 20 g 10 g 1000ml 6.0~6.4
<i>Rhizoctonia solani</i>				
<i>Alternaria mali</i>	Dry apricot brothe Agar Water pH	25g/L 20 g 1000ml 5.0	Sucrose L-Asparagine V-8 juice Agar	10 g 0.5 g 10ml 10 g
<i>A. kikuchiana</i>				
<i>Fusarium oxysporum</i>	Glucose KNO <sub>3</sub>	10 g 2 g	Glucose KNO <sub>3</sub>	10 g 2 g
<i>F. moniliforme</i>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O Agar Water pH	0.1 g 0.5 g 10 g 1000ml 5.0	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O Agar Water pH	0.1 g 0.5 g 10 g 1000ml 5.0
<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	Yeast extract Soluble starch Agar Water pH	2 g 10 g 10 g 1000ml 6.4	Yeast extract Soluble starch Agar Water pH	2 g 10 g 10 g 1000ml 6.4

### 菌株

検定培地と同じ組成の寒天斜面培地に 28°C で約 2 週間培養した菌糸を 500 ml 容坂口フラスコに準備した 60 ml の増殖用培地に接種し、28°C で 68~72 時間往復振とう培養した。培養した菌体をホモジナイザーで 20,000 r.p.m. 2~3 分間処理して細分し試験菌浮遊液とした。検

定培地に約10%の割合で添加して寒天平板の種層とした。

2) *Alternaria* 属, *Fusarium* 属および *Cochliobolus miyabeanus* 菌株

増殖用寒天斜面培地に 28°C で 1~2 週間培養して形成させた分生孢子を無菌水に浮遊させ、その適当量を検定培地に添加して寒天平板の種層とした。

### 実験結果

#### 1. 各種植物病原菌に対する polyoxin 各成分の抗菌力

実験に供試した植物病原菌はいずれも polyoxin 各成分に感受性をもつが、成分によって感受性がことなり、また阻止円の鮮明度もことなった。polyoxin 各成分の抗菌力を定量的に比較するために比較的鮮明な阻止円が形成された *Alternaria mali* ROBERTS A.C.I. 1157, *Cochliobolus miyabeanus* (S. ITO et KURIBAYASHI) DRECHSLERA. C.I. 1159, *Fusarium oxysporum* SCHLECHTENDAHL f. *niveum* (E.F. Smith) SNYDER et HANSEN A.C.I. 1053, および *Pellicularia sasakii* (SHIRAI) S. ITO A.C.I. 1134 を試験菌としてえらび、各菌株の平板上に形成された阻止円の直径が 20~30mm を示す polyoxin 各成分の濃度を求めた。その抗菌力を polyoxin B を標準の力値として表示したものが第2表である。この表から polyoxin 各成分の抗菌力が選択的であることが認められ、*Alternaria mali*, *Cochliobolus*

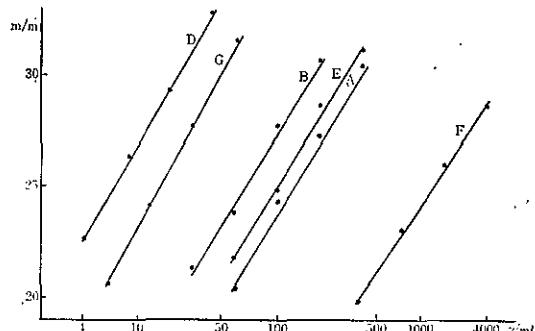
第2表 植物病原菌に対する polyoxin A, B, D, E, F および G の抗菌力

Table 2. Effects of polyoxins A, B, D, E, F and G on phytopathogenic fungi in the cup-plate method

Fraction	Purity with UV method	Estimated value			
		<i>Pellicularia sasakii</i>	<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>niveum</i>	<i>Alternaria mali</i>
A	98.6	a) 507	a) 1,620	a) 2,602	a) 3,606
B	103.6	1,000	1,000	1,000	1,000
D	85.3	6,850	305	25	141
E	95.0	490	113	—	—
F	89.5	63	526	41	405
G	90.7	3,680	1,790	337	3,400

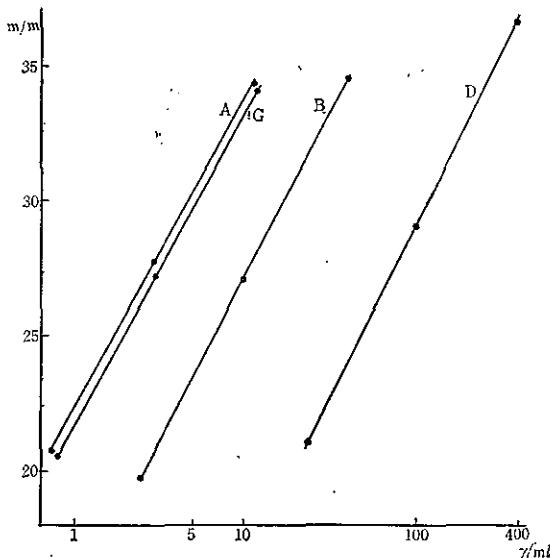
a) : Estimated value was calculated as polyoxin B potency

*miyabeanus* および *Fusarium oxysporum* f. *niveum* に対して polyoxin A, B および G の各成分が強い抗菌



第1図 *Pellicularia sasakii* による polyoxin A, B, D, E, F および G の標準曲線

Fig. 1. Standard curves of polyoxins A, B, D, E, F, and G established with *Pellicularia sasakii* in the cup-plate method



第2図 *Alternaria mali* による polyoxin A, B, D および G の標準曲線

Fig. 2. Standard curves of polyoxins A, B, D and G established with *Alternaria mali* in the cup-plate method

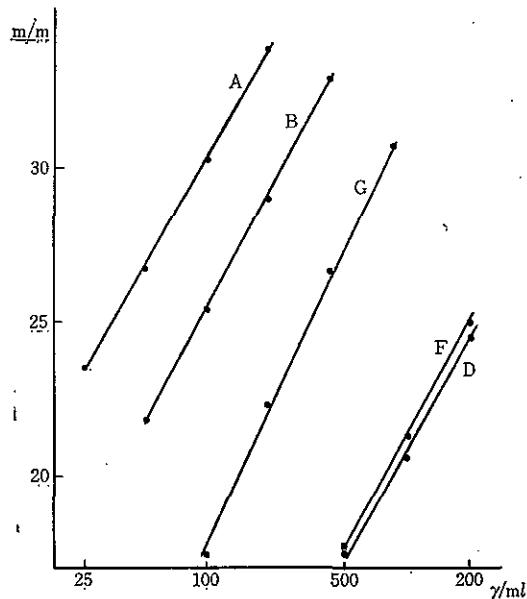
力を示し、なかでも A が最も強い抗菌力を示し、阻止円も最も鮮明であった。これらの菌株に比較して *Pellicularia sasakii* においては polyoxin D の抗菌力が強く、阻止円も最も鮮明であった。このように試験菌の種類によって polyoxin 各成分に対する感受性はことなるが、検定標準曲線については第 1 ~ 3 図に示したようにいずれの試験菌を用いた場合においてもほぼ平行の関係が認められた。

## 2. 同種あるいは近縁種に属する各菌株に対する抗菌力

一般に多くの植物病原菌は同一種であっても寄主植物や地域によって分離した菌株が培地上でいろいろな性質を示す現象は通常みられるので、数種の病原菌について同種あるいは近縁種に属する数菌株を用いて Polyoxin 各成分の抗菌力を比較した。

### a. *Pellicularia sasakii* および *Rhizoctonia solani* 菌株に対する抗菌力

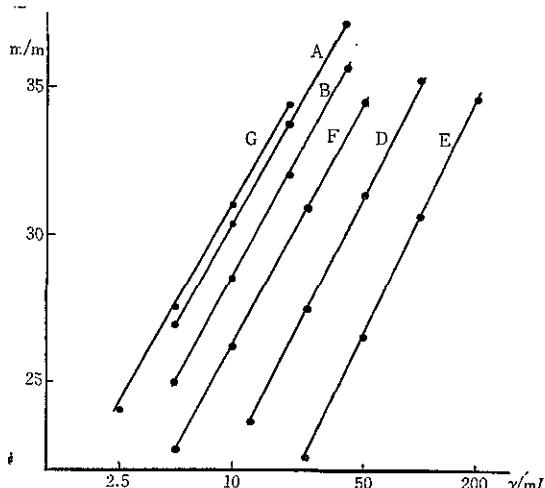
イネ紋枯病菌 *P. sasakii* と多くの植物を侵す *R. solani* の分類学上の問題については多くの報告がある。また、両菌とも培地上の生理的性質をことにする多くの系統が存在することも報告されているので、本実験にお



第3図 *Fusarium oxysporum* f. *niveum* による polyoxin A, B, D, F および G の標準曲線

Fig. 3. Standard curves of polyoxins A, B, D, F and G established with *Fusarium* f. *niveum* in the cup-plate method

いては水稻紋枯病から分離された 2 菌株および渡辺<sup>10</sup>が *Pellicularia* 属菌株の培養型の分類の基準として用いた I A 型および III A 型の 2 菌株と当農業検査所圃場で陸



第4図 *Cochliobolus miyabeanus* による polyoxin A, B, D, E, F および G の標準曲線

Fig. 4. Standard curves of polyoxins A, B, D, E, F and G established with *Cochliobolus miyabeanus* in the cup-plate method

第3表 *Pellicularia sasakii* および *Rhizoctonia solani* に対する polyoxin A, B, D および G の抗菌力

Table 3. Effects of polyoxins A, B, D and G on *Pellicularia sasakii* and *Rhizoctonia solani* in the cup-plate method

Test organism No.	Host plant	Polyoxin fraction			
		A	B	D	G
<i>P. sasakii</i> 1081	Paddy rice	a) 347	a) 1,000	a) 4,761	a) 3,378
<i>P. sasakii</i> 1134	Paddy rice	505	1,000	6,896	4,048
<i>P. sasakii</i> 1079	Upland rice	649	1,000	3,012	4,524
<i>P. sasakii</i> 1080	Upland rice	757	1,000	2,506	5,464
<i>R. solani</i> 1135	Upland rice	210	1,000	6,896	1,196
<i>R. solani</i> 1136	Sugar beet	869	1,000	9,708	1,763
<i>R. solani</i> 1138	Sugar beet	299	1,000	809	1,844

a) : Estimated value was calculated as polyoxin B potency

稻紋枯病から分離した2菌株、合計6菌株についてpolyoxin A, B, DおよびGの抗菌力を比較した。その結果を第3表に示した。この表から同一種の病原菌でも菌株によって polyoxin 各成分の抗菌力がことなることが認められた。水稻紋枯病から分離した菌株と陸稻紋枯病から分離した菌株 No. 135 は polyoxin D > G > B > A の順序に感受性を示し、陸稻紋枯病から分離した菌株 No. 79 および No. 80においては G > D > B > A の感受性を示し、DとGとの感受性の順序が逆転している。サトウダイコンから分離した菌株 No. 136 は前記3菌株と同じ傾向を示しているが、菌株 No. 138 の感受性の傾向は全くことなり G > B > D > A の順序をもつことが認められた。阻止円の鮮明度は感受性の高い成分ほど鮮明になる傾向を示した。

#### b. *Alternaria* 属菌株に対する抗菌力

*Alternaria* 属の14菌株のなかから胞子形成の良い3菌株について polyoxin 各成分の抗菌力を比較したもののが第4表である。3菌株ともに polyoxin 各成分に対する感受性はイネ紋枯病および *Rhizoctonia solani* 菌株とことなり、polyoxin D に最も感受性が弱いようである。リンゴ斑点落葉病およびナシ黒斑病菌に対しては polyoxin A, G および B 各成分が強い抗菌力を示し D の抗菌力は弱い。分離植物の不明な菌株については上記2菌株と検定培地の組成がことなるので同一には考えられないが、やはり前記2菌株と同じ傾向をもつのではないかと考えられる。

#### c. *Fusarium* 属菌株に対する抗菌力

*Fusarium* 属13菌株のなかから胞子形成のよい2菌株

第4表 *Alternaria* 属菌株に対する polyoxin

A, B, D および G の抗菌力

Table 4. Effects of polyoxins A, B, D and G on *Alternaria* spp. in the cup-plate method

Test organism No.	Host plant	Polyoxin fraction			
		A	B	D	G
<i>Alternaria</i> sp. 1010*	Unknown	a) 750	a) 1,000	a) 77	a) 2,234
<i>A. mali</i> 1157	Apple	3,660	1,000	141	3,400
<i>A. kikuchiana</i> 1146	Japanese pear	3,240	1,000	125	1,750

a) : Estimated value was calculated as polyoxin B potency

\*: Test medium : potato dextrose agar

第5表 *Fusarium* 属菌株に対する polyoxin A, B, D および G の抗菌力

Table 5. Effects of polyoxins A, B, D and G on *Fusarium* spp. in the cup-plate method

Test organism No.	Host plant	Polyoxin fraction			
		A	B	D	G
<i>F. moniliforme</i> 1053	Sugar cane	a) 2,100	a) 1,000	a) 182	a) 2,404
<i>F. oxysporum</i> 1047	Water melon	2,602	1,000	25	337

a) : Estimated value was calculated as polyoxin B potency

について抗菌力を比較した結果を第5表に示した。供試した2菌株ともに polyoxin 各成分に対する感受性は *Alternaria* 属菌株と同様な傾向を示し、polyoxin A, B および G の各成分には感受性が高いが D には著しく低い。また、阻止円の鮮明度も、A, B および G の各成分は明瞭であったが D は劣ることが観察された。

3. polyoxin A, B, D, E, F および G 成分の加成性  
polyoxin A, B, D, E, F および G の各成分に対する各種試験菌の薬剤感受性はそれぞれ菌株によってことなる

第6表 polyoxin 2成分の加成性

Table 6. The additive property of two polyoxin fractions in the cup-plate method

Fraction	Estimated value					
	<i>Pellicularia sasakii</i>			<i>Alternaria mali</i>		
	Mean	n	R	Mean	n	R
A B	% 94.3	3	4.4	% 101.8	2	2.1
A D	96.6	3	14.6	98.6	2	7.3
A G	100.8	3	16.2	102.1	2	2.2
A E	100.4	2	1.0	99.5	2	6.4
A F	98.4	3	10.2	98.8	2	14.0
B D	94.1	3	7.9	100.0	2	1.1
B G	103.6	2	9.2	103.2	2	9.7
B E	99.3	2	7.6	95.8	2	10.6
B F	99.1	2	3.8	99.0	2	22.4
D G	100.3	3	7.4	104.7	3	9.8
D E	98.9	3	14.5	102.0	2	14.9
D F	97.2	3	10.6	100.0	2	2.0
G E	100.8	2	0.5	99.3	2	16.0
G F	104.2	2	2.4	106.1	2	1.8
E F	97.2	2	3.7	97.2	2	18.0

第7表 polyoxin 3成分の加成性

Table 7. The additive property of three polyoxin fractions in the cup-plate method

Fraction	Estimated value					
	<i>Pellicularia sasakii</i>			<i>Alternaria mali</i>		
	Mean	n	R	Mean	n	R
A BD	104.0	2	7.6	94.7	2	0.1
A BG	103.6	2	12.0	101.5	3	7.2
A BE	109.8	3	6.0	102.3	2	11.5
A BF	104.2	2	19.7	104.1	2	0
AD G	95.8	3	11.4	100.6	3	7.1
A D E	96.9	3	2.0	100.1	2	8.3
AD F	99.7	3	3.4	97.7	2	13.4
A G E	102.3	2	14.6	104.1	2	3.6
A G F	101.6	2	10.6	104.1	3	11.5
A E F	99.0	2	9.3	104.6	2	7.1
B D G	99.1	3	13.7	105.6	2	7.1
B D E	104.3	2	7.0	107.8	3	3.4
B D F	104.0	2	1.1	97.0	2	5.9
B G E	104.4	2	6.2	105.1	3	4.7
B G F	102.4	2	7.7	105.1	3	4.7
B E F	104.1	3	14.1	103.0	2	11.6
D G E	101.5	3	4.9	96.8	2	15.0
D G F	97.5	3	8.7	103.5	3	12.1
D E F	100.8	2	2.0	101.9	2	4.5
G E F	103.1	2	2.8	104.2	2	12.2

が、いずれの試験菌を用いた場合にも、各成分の検定標準曲線はほぼ平行関係にあることが認められたので、複合 polyoxin の力価試験において各成分の間に加成性が成立するか否かを検討するために下記の実験を行なった。

polyoxin A, B, D, E, F および G の 6 成分が試験菌 *Alternaria mali* やび *Pellicularia sasakii* に對してほぼ同一の阻止円を形成する単独の溶解液を等量宛混合して、2, 3, 4, 5 やび 6 成分の混合液 57 種の組合せを作り、polyoxin B を標準薬剤にえらび混合液の力価を測定した。力価測定値を各成分の力価から算出した理論値に対する百分率で表わして資料を整理し、その結果を第 6 ~ 9 表に示した。また、試験菌 *P. sasakii* を用い、検定培地を改良した培地（酵母エキス 5 g, 可溶性澱粉 20 g, 寒天末 10 g, 脱イオン水加えて 1 l, 減菌後の pH 5.5~6.0）を用いて 2 成分の混合液 10 種について調べた結果を第 10 表に示した。

第8表 polyoxin 4成分の加成性

Table 8. The additive property of four polyoxin fractions the in cup-plate method

Fraction	Estimated value					
	<i>Pellicularia sasakii</i>			<i>Alternaria mali</i>		
	Mean	n	R	Mean	n	R
A B D G	99.0	2	1.2	104.6	2	1.0
A B D E	99.4	2	1.3	103.5	2	13.2
A B D F	99.9	2	2.2	107.3	3	7.8
A B G E	103.6	2	1.1	104.0	2	1.1
A B E F	107.1	3	8.3	101.7	2	9.4
A B G F	101.4	2	3.7	110.8	3	7.2
A D G E	96.4	3	3.5	101.9	2	3.8
A D G F	97.4	3	13.7	106.4	2	9.7
A D E F	102.8	3	15.0	105.8	2	3.4
A G E F	101.1	2	5.8	99.3	2	13.0
B D G E	99.8	2	0.5	102.7	2	9.0
B D G F	101.1	2	9.0	97.6	2	9.1
B D E F	97.5	2	1.0	100.0	2	12.3
B G E F	103.8	2	4.1	99.9	2	15.2
D G E F	103.0	2	2.1	101.6	3	14.4

第9表 polyoxin 5成分および6成分の加成性

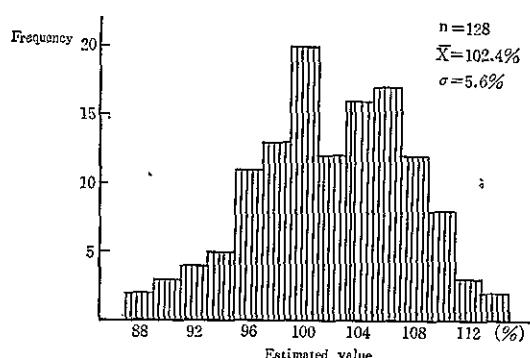
Table 9. The additive property of five and six polyoxin fractions in the cup-plate method

Fraction	Estimated value					
	<i>Pellicularia sasakii</i>			<i>Alternaria mali</i>		
	Mean	n	R	Mean	n	R
A B D G E	101.4	2	1.5	101.4	2	0.9
A B D G F	97.5	2	3.7	108.0	2	5.2
A B D E F	103.6	2	1.5	101.5	3	8.0
A B G E F	103.0	2	0	104.1	3	5.0
A D G E F	99.6	2	8.0	106.7	2	0.8
B D G E F	101.2	2	2.1	100.0	2	0.9
A B D G E F	99.1	3	7.6	103.9	3	4.8

これら一連の力価試験における検定精度を求めるとき、第 5 図および第 6 図に示したように力価測定値の度数分布はほぼ正規分布をしていることが認められた。*P. sasakii* を用いた場合には試験回数  $n=135$ , 力価測定値の総平均値  $\bar{x}=100.4\%$ , 標準偏差  $\sigma=5.2\%$  の値を得た。*A. mali* を用いた場合には試験回数  $n=128$ , 力価

第10表 改良培地による polyoxin 2成分の加成性  
Table 10. The additive property of two polyoxin fractions in the cup-plate method with improved test medium

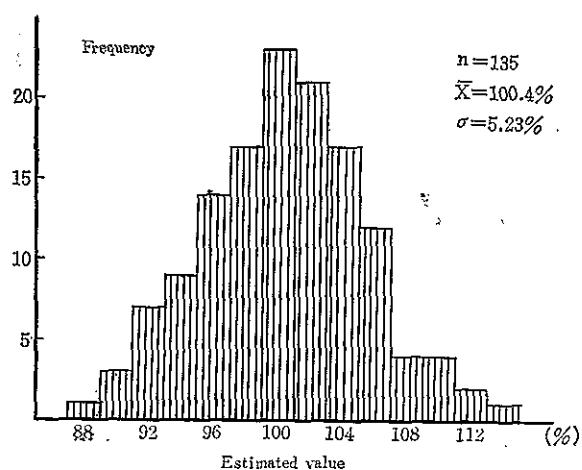
Fraction	Estimated value		
	<i>Pellicularia sasakii</i>		
	Mean	n	R
A B	103.3	7	11.0
A D	103.2	5	5.3
A G	94.6	7	10.9
A F	109.0	5	9.0
B D	100.0	5	12.3
B G	91.3	5	10.7
B F	105.7	5	9.8
D G	91.3	5	14.3
D F	105.6	5	7.4
G F	97.0	5	12.6



第5図 *Pellicularia sasakii* による力価測定値の度数分布図

Fig. 5. Histogram of estimated values in the cup-plate method with *Pellicularia sasakii*

測定値の総平均値  $\bar{x}=102.4\%$ 、標準偏差  $\sigma=5.6\%$  の値が求められ、2試験菌株の間に差は認められなかった。これらすべての組合せの実験を通じて polyoxin 各成分のいずれの組合せにおいても拮抗的あるいは相乗的な生物活性は認められず、したがって各成分間に加成性が成立すると考えられる。



第6図 *Alternaria mali* による力価測定値の度数分布図

Fig. 6. Histogram of estimated values in the cup-plate method with *Alternaria mali*

## 考 察

polyoxin の各成分はそれぞれ構造上極めて密接な関係をもっているが、寒天平板法における抗菌力と各成分の構造との関係を第2～5表から *Pellicularia sasakii* および *Rhizoctonia solani* に対しては polyoxin 各成分のなかで polyoximic acid を含まない polyoxin D, B および G の抗菌力が強く、これらの菌株に対する抗菌性の作用機作には polyoximic acid は全く関与しないものと考えられる。これに比較して *Alternaria*, *Cochliobolus* および *Fusarium* の各菌株に対して polyoxin の構造上その母核となる部分に 5-hydroxymethyl uracil を含む polyoxin A, B および G の各成分が強い抗菌力をもつが、その部分に uracil 5-carboxylic acid を含む polyoxin D, F および E の各成分の抗菌力は非常に弱い。このように polyoxin 各成分の構造と抗菌力の関係については *P. sasakii* および *R. solani* の菌株に対する作用機作と *Alternaria*, *Cochliobolus* および *Fusarium* 属の各菌株に対する作用機作は全く異なるのではないかと考えられる現象が認められた。

以上のように試験菌の種類によって polyoxin 各成分に対する感受性は異なるが、polyoxin 各成分の濃度の対数と阻止円直径が示す検定標準曲線は第1～4図に示したようにいずれの試験菌を用いた場合にもほぼ平行した関係を示している。また、polyoxin 各成分間における相加、拮抗、相乗の各作用を調べるために各成分の等

力値の溶液を等量宛混合した溶液を作り、その力値を理論値と比較検討した結果は各成分の抗菌力は相加的であり、阻止円の鮮明度も各成分の特徴を示すことが認められた。したがって複合 polyoxin の力値は单体力値の総和として示すことができるので、作物病害防除薬剤としての polyoxin 製剤は polyoxin 複合体を主成分とするものであっても、生物学的定量法によって成分を保証することが可能であると考えられる。

最後に本実験を行うにあたり、試験菌株を分譲していただいた鳥取大学農学部西村正暁博士、東京都農業試験場阿部善三郎技師、飯島勉技師、また材料その他についてご便宜いただいた科研化学鶴高木幸太郎、山本質、クミアイ化学鶴赤柴健夫の諸氏に厚くお礼申し上げる。

### 摘要

1. 抗生物質 polyoxin の生物学的定量法を検討するための基礎試験として各成分の抗菌力について数種の植物病原菌を試験菌にえらび寒天平板法で比較検討した。

2. その結果、試験菌の種類または同一種においても菌株間で polyoxin 各成分に対する感受性は異なる。しかし、阻止円の直径と polyoxin 各成分の濃度の対数とが示す検定標準曲線はいずれの試験菌を用いた場合にもほぼ平行関係にあることが認められた。

3. polyoxin 各成分に対する試験菌の感受性については *Pellicularia sasakii* および *Rhizoctonia solani* は polyoxin B, D および G の各成分に感受性が高く、A, E および F の各成分には低い。*Alternaria*, *Cochliobolus miyabeanus* および *Fusarium* 属の菌株は polyoxin A, B および G の各成分に感受性が高く、D, E および F の各成分には低いことが認められた。

4. 阻止円の鮮明度はいずれの試験菌を用いた場合にも、それぞれ試験菌に感受性の高い成分ほど鮮明な阻止円を形成することが認められた。

5. polyoxin A, B, D, E, F および G の各成分の間に加成性が成立することが認められ、polyoxin 複合体の力値は单体力値の総和として示すことができる。

### 引用文献

- 1) SUZUKI, S., ISONO, K., NAGATSU J., MIZUTANI, T., KAWASHIMA, Y. & MIZUNO, T. : J. Antibiotics, Ser. A, 18: 131 (1965)
- 2) ISONO, K., NAGATSU, J., KAWASHIMA, Y. & SUZUKI, S. : Agr. Biol. Chem., 29: 848 (1965)
- 3) ISONO, K. & SUZUKI, S. : Agr. Biol. Chem., 30: 813~814 (1966)
- 4) ISONO, K. & SUZUKI, S. : Agr. Biol. chem., 30: 815~816 (1966)
- 5) SUZUKI, S., ISONO, K., NAGATSU, J., KAWASHIMA, Y., YAMAGATA, K., SASAKI, K. & HASHIMOTO, K. : Agr. Biol. Chem., 30: 817~819 (1967)
- 6) ISONO, K., NAGATSU, J., KOBITANI, K., SASAKI, K. & SUZUKI, S. : Agr. Biol. chem., 31: 190~199, (1967)
- 7) ISONO, K. & SUZUKI, S. : Agr. Biol. Chem., 32: 1193~1197 (1967)
- 8) 桜井寿・森田利夫・吉田孝二：日植病報 33: 318~319 (1967)
- 9) 桜井寿・鈴木洋子・吉田孝二・高木幸太郎・山本質：日植病報, 34: 192 (1968)
- 10) 渡辺文吉郎：土壤病害の手引 日本植物防疫協会版 72~73 (1962)

### Summary

#### Quantitative Analysis of Polyoxins with Bioassay

By Hisashi SAKURAI, Toshio MORITA, Hiroko SUZUKI and Koji YOSHIDA

Many kinds of phytopathogenic fungi were screened for test organisms of polyoxins bioassay, which form clear cut zones by the individual fractions. It was found that *Alternaria mali* and *Pellicularia sasakii* are excellent test organisms for fractions A, B and G, and fraction D, respec-

tively. Ten u/ml of fraction B can be detected by the cup-plate method using the *A. mali* and 5 u/ml of fraction D by using *P. sasakii*. Absence of the interaction, that is consistence of the additive property was recognized among each of polyoxin fractions.

## ジベレリン製剤のイネ苗を用いた生物検定法 における緩衝液の検討

行 本 峰 子

ジベレリン製剤の定量法として現在イネ苗を用いた生物検定法が行なわれているが、これらの製剤には、賦型剤、着色剤など、それぞれ異なる成分が含まれているため、被検液(ジベレリンとして4~0.0625μg/ml)のpHは一定ではない。イネ苗のジベレリンに対する感度はpHによって異なることが知られており、このため、イネ苗の伸びから正しくジベレリン含量を定量するためには、検定液の調整に緩衝液を用いてpHを一定に保つことが必要である。その場合、緩衝液の種類、濃度、pHなどがイネの生育そのものにおよぼす影響と、ジベレリンのイネに対する作用におよぼす影響を考えなければならないであろう。イネの生育は微酸性が適しているので、酸性側の広いpH域(pH 3~8)に使用できるリン酸クエン酸緩衝液を用いて、ジベレリン製剤の検定における、pHおよび緩衝液の最適条件を知るべく二三の実験を行なった。なお本実験を行なうにあたり、生物課長吉田孝二博士にいろいろ助言をいただいた。あつくお礼を申し上げる。

### 実験材料および方法

ジベレリン製剤として、A剤(粒状、ジベレリン3.1%)およびB剤(錠剤、ジベレリン3.58%)の2種を用いた。緩衝液はMC ILVAINE氏のリン酸クエン酸緩衝液(0.2MNa<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-0.1Mクエン酸)を選び、それぞれ2倍希釈の系列を作り、両者を混合することによって各濃度の緩衝液を調整した。pHの測定はガラス電極pH計(東亜電波HM-5 A型)によった。イネ苗の培養、ジベレリン処理の方法は、前報<sup>2)</sup>に準じて行なった。すなわち、モミを水浸してから2日目に寒天培地に播種(1シャーレあたり15粒)し、その翌日ジベレリン溶液20mlを加え、さらに1週間、30°C螢光灯照明下\*で培養後、第2葉鞘の長さを測定した。用いたモミの品種は、農林8号および短銀である。なお用いたガラス器具、緩衝液は使用前に加熱滅菌を行なった。

第1表 ジベレリン溶液のpH

Table 1. pH values of gibberellin solution

Concentration (μg/ml)	4	1	0.25
Gibberellic acid	5.13	5.32	5.41
Formulation A	5.05	5.34	5.44
〃 B	6.58	6.50	6.27

第2表 ジベレリン溶液の経時変化

Table 2. Changes of pH values of gibberellin solutions under the conditions of 30°C and 16 hrs. light (4ppm of gibberellin)

Days after preparation	0	1	2	3	4	5
Gibberellic acid	5.31	5.49	5.48	5.41	5.46	5.60
Formulation A	5.14	5.32	5.41	5.38	5.46	5.60
〃 B	6.47	7.29	7.55	7.38	7.39	7.62

### 結 果

#### 1. 製剤を水に溶解させた時のpHおよびその経時変化

製剤A、BおよびジベレリンAsを脱イオン水に溶解させた時のpHは、第1表の通りで、製剤間に明らかに差が見られる。さらにこれらジベレリン溶液(4μg/ml)を、イネ苗の培養と同じ条件下において、pHがどのように変化するかを測定したところ、第2表に示すように、いずれの溶液もpHは次第に上昇し、2日後にはほぼ平衡に達した。このpHの変化は製剤によって異なり、製剤Bが著しい。

#### 2. 緩衝液の緩衝能力

MC ILVAINE氏のリン酸クエン酸緩衝液の原液(×1)×2、×4および×8希釈液を、pH 4.0~6.0に調整し、各製剤をジベレリンとして4μg/mlになるように溶解させた時のpHを測定して、緩衝能力の有無を調べた。その結果は第3表の通りで、×1、×2および×4の緩衝液はほぼ完全に緩衝作用を示したが、×8の場合は製剤B-pH 4の時、わずかに緩衝作用が劣るようであった。

\* 16時間明-8時間暗

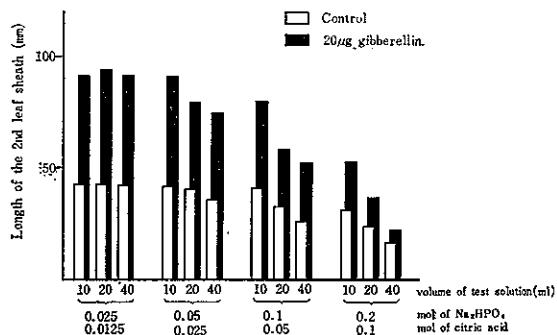
第3表 ジベレリン製剤を種々の濃度の緩衝液に溶解させた時のpHの値

Table 3. Final pH values of gibberellin solutions prepared with several buffers (4 $\mu\text{g}/\text{ml}$  gibberellin)

Mol of $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0.2	0.1	0.05	0.025
Mol of citric acid	0.1	0.05	0.025	0.0125
Buffer only	4.02	4.00	4.00	4.01
plus Gibberellic acid	4.01	4.00	4.00	4.01
// Formulation A	4.01	4.00	4.00	4.01
// // B	4.03	4.02	4.06	4.16
Buffer only	4.98	4.99	4.99	4.98
plus Gibberellic acid	4.98	4.99	5.00	4.97
// Formulation A	4.98	4.99	5.00	4.97
// // B	4.99	5.00	5.03	5.10
Buffer only	5.98	6.00	5.99	5.99
plus Gibberellic acid	5.98	5.99	6.00	5.99
// Formulation A	5.99	5.99	5.99	5.98
// // B	5.99	6.00	6.02	6.03

### 3. 緩衝液の濃度および液量が、イネ苗の生育およびジベレリンの感度におよぼす影響

上に述べた $\times 1 \sim \times 8$ の希釈濃度の緩衝液(pH 4)を用いてジベレリン検定液を作り、イネ苗(農林8号)の伸びを測定した。ジベレリン A<sub>3</sub>は1シャーレあたり20 $\mu\text{g}$ 含まれるように検定液を調整した。すなわち、10 ml 处理区は2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、20 ml 处理区は1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、40 ml 处理区は0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度である。



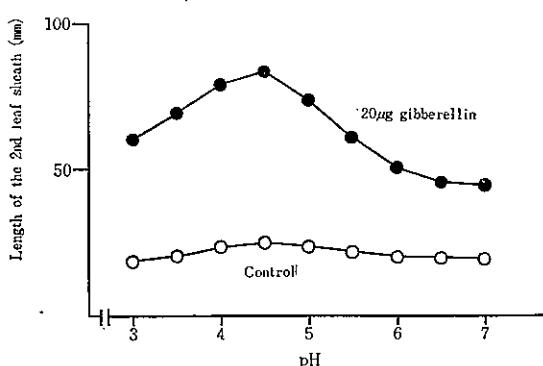
第1図 ジベレリンの感度におよぼす緩衝液の濃度と液量の影響

Fig. 1. Effect of concentration and volume of buffer solution containing 20 $\mu\text{g}$  of gibberellin on elongation of the leaf sheath

理区は 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$  のように、液量と濃度をかえて試験を行なった。結果は第1図に示す通りで、ジベレリン無添加の場合のイネの生育は、緩衝液の濃度が高いほど、そして液量が多いほど阻害され、その割合は、濃度(モル)と液量(ml)の積が等しい時、ほぼ一定であった。濃度および液量が、 $\times 2 \sim 10\text{ml}$ ,  $\times 4 \sim 20\text{ml}$ ,  $\times 8 \sim 40\text{ml}$  の時、イネの生育はほぼ正常になると思われる。一方、ジベレリンを添加した場合、対照区に対するジベレリン処理区の第2葉鞘長の比は、 $\times 8$ 緩衝液の場合、液量 10ml, 20ml, 40ml 区ではそれぞれ 2.2, 2.2, 2.2,  $\times 4$ の場合、2.2, 2.0, 2.1,  $\times 2$ の場合、1.9, 1.8, 2.0 および  $\times 1$  の場合は 1.7, 1.5, 1.3 となり、対照区の伸長阻害の大きい場合ほどこの比が小さい傾向が見られた。すなわち、対照区のイネの生育が阻害される条件の時、ジベレリンの感度も低下するのが見られたが、これに対しては、緩衝液の液量より濃度が大きな影響をおぼしているようであった。

### 4. 種々のpHにおけるイネ苗のジベレリンによる伸びの比較

0.04Mの  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と 0.02M のクエン酸溶液を用いて、pH 3.0～7.0の緩衝液を調整し、それぞれ 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$  になるようにジベレリンを添加した時のイネ苗(短銀)の伸びの変化を調べたところ、第2図に示すような結果が得られた。対照区のイネ苗の生育は pH によって変化し、pH 3.0 および 6.5 以上の時、根の生育が阻害され葉色も淡く、pH 3.5 および 6.0 の時はわずかに根の生育が阻害されているのが観察された。これらの肉眼的な観察結果と第2葉鞘の長さはほぼ平行しており、第2葉鞘



第2図 ジベレリンの感度におよぼすpHの影響

Fig. 2. Effect of pH on the response of the leaf sheath to gibberellin

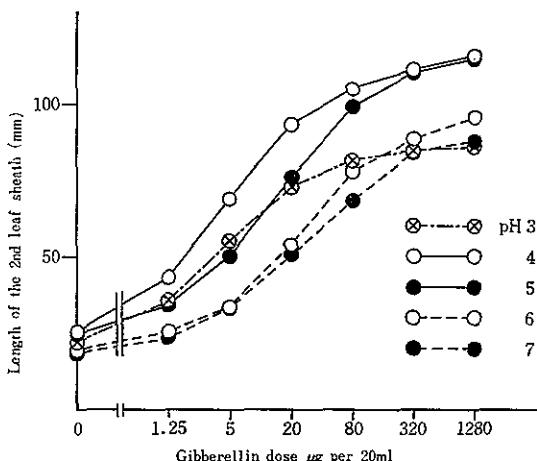
の長さが最大となる pH 4.5 前後がイネの苗の生育に最も適していると考えられる。一方ジベレリン処理区において、根の生育阻害および葉の黄化と pH との関係は対照区と同様であったが、第 2 葉鞘長は pH 4.0 と 4.5 の間で最大となり、対照区の最適 pH 4.5 よりわずかに酸性側に移動しているようであった。酸性条件下では、根の生育は阻害されるにもかかわらずジベレリンに対する感度は高いように思われた。

#### 5 pH をえた時の薬量感応曲線の比較

4と同じ緩衝液を用いて、ジベレリンの薬量に対するイネ苗(短銀)の伸びを調べたところ、第 3 図に示すような感應曲線が得られた。いずれの pH の場合もシグモイド曲線となり、第 2 葉鞘長はある薬量以上ではほぼ平衡に達した。平衡に達した時のイネの伸び、すなわち第 2 葉鞘の最大伸長量と、曲線の勾配が最大となる時のジベレリンの薬量は、pH が異なることによって変化した。最大伸長量は、pH 4.0 および 5.0 が最も大で、6.0 がこれに次ぎ、pH 3.0 および 7.0 は小であった。曲線の勾配が最大となる薬量、すなわち薬量の増加に対してイネ苗の伸長が著しい薬量は、pH 3.0 および 4.0 では 20ml 中 1.25~20μg であったが、pH 5.0, 6.0 および 7.0 では 5~80μg となり、緩衝液の pH が低いほど、低濃度のジベレリンに感度が高い傾向が見られた。

### 考 察

ジベレリンの生物定量に緩衝液を用いる場合、二つの



第3図 種々の pH における薬量感応曲線

Fig. 3. Dose-response curves at various pH values

点が問題になると思われる。すなわち緩衝液の濃度と pH である。

1) 緩衝液の濃度。緩衝作用は濃度が高いほど強いが、ある濃度以上になるとイネの生育が阻害される。イネの生育阻害は濃度だけでなく液量にも関係し、生育阻害度は一定の範囲内で緩衝液の濃度(モル)と液量(ml)に比例した。すなわちこの範囲内では、濃度ではなく溶液中に含まれる塩類の絶対量がイネの生育に影響をおよぼしたと考えられる。直接イネの根に対しては濃度が影響をおよぼすと思われるが、液量が多くなるに従い、イネ苗の水中に没する割合が増加し、緩衝液の作用を受ける部分が増加するためと思われる。さらに寒天培地への塩類の吸着も考えられる。これらが総合的に作用してイネ苗の生育に影響していると思われる。一方、緩衝液にジベレリンを加えると、塩類含有量が多いほど、イネ苗のジベレリンに対する感度が低下する傾向が見られた。すなわちジベレリンは緩衝液による阻害を回復しない。従ってジベレリンの検定法としては、イネ苗の生育が阻害されない条件の中で、緩衝能力を高めるためになるべく濃度の高い緩衝液を用いる必要があると思われる。本実験から、0.04M の  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と 0.02M のクエン酸を用いて緩衝液を調整し 1 シャーレあたり 20 ml 添加するのが適当であると考えられる。

2) pH の影響 イネ苗の生育は pH によって影響を受けるが、pH の変化に伴い、溶液中に存在する各イオンの濃度割合が変化するので、これらのイオンが独自にイネ苗に対して作用するのか、または総合的に pH という形で作用するのかは明らかではない。イネの生育は pH 4.0 ~ 4.5 の時に最適で、これより酸性側またはアルカリ性側に傾むくに従い生育の阻害が見られる。一方ジベレリンに対する感度は生育の程度とは必ずしも平行せず、低 pH においてはイネの生育は阻害されるがジベレリンに対する感度は高かった。また、種々の pH における薬量感應曲線の結果からは、pH が低いほど低濃度のジベレリンに感度が高く、一方イネの最高伸長量は pH 4.0 および 5.0 の時に最高であった。従って、検定法に使用する pH は 4 前後が適当であると考えられる。

### 摘 要

1. ジベレリン製剤を蒸留水に溶解した時の pH は、製剤により異なる値を示した。
2. 種々の濃度の  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  およびクエン酸を用いて緩衝液を調整し、緩衝液の濃度と、ジベレリン製剤に対する緩衝作用との関係を調べたところ、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  およ

ビクエン酸の濃度がそれぞれ 0.05M および 0.025M より高い時, 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$  のジベレリン溶液に対して緩衝作用を示した。

3. 緩衝液の濃度および液量が、イネの生育におよぼす影響を調べたところ、濃度が高いほど、そして液量が多いほど阻害は大きかった。阻害の程度は、濃度(モル)と液量( $\text{ml}$ )の積が等しい時ほぼ一定であった。ジベレリンに対する感度は、緩衝液によるイネ苗の阻害の程度が大きい場合ほど小さく、この感度低下には液量より濃度が大きな影響をおよぼした。

4. pH 3.0~7.0 の範囲内において、イネ苗の伸び

は pH 4.5 の時に最高であったが、ジベレリンを 1 シャーレあたり 20 $\mu\text{g}$  加えると最高伸長点は pH 4.0~4.5 とわずかに酸性側に移動した。

5. 種々の pH (3.0~7.0) におけるジベレリンの薬量とイネ苗の伸びの関係を調べたところ、pH が低いほど低濃度のジベレリンに感度が高く、イネの最高伸長量は、pH 4.0 および 5.0 の時に大きかった。

### 参考文献

- 1) OGAWA, Y.: Plant & Cell Physiol., 4: 227 ~237 (1963)
- 2) 行本峰子: 本誌 No. 7: 61~65 (1967)

### Summary

#### Effects of pH and Concentration of Buffer Solution on Bioassay for Formulated Gibberellin with Rice Seedlings

by Mineko YUKIMOTO

Leaf sheath elongation of the rice seedlings treated with gibberellin is remarkably affected by pH of test solution. The present experiments were carried out to find the most suitable conditions for gibberellin bioassay. Results are as follows:

1. pH values of aqueous solutions of the formulated gibberellin from market are different from those of pure compound of gibberellic acid.

2. Buffer solutions of various concentrations were prepared with  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  and citric acid. When the concentration of buffer solution was higher than 0.05mol ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) and 0.025mol (citric acid), buffers were effective to 4 $\mu\text{g}$  of gibberelline per 1 ml.

3. Growth of rice seedling was retarded as the buffer concentration became higher or volume increased. Rate of the inhibition was not changed

so far as the product of concentration (mol) and volume ( $\text{ml}$ ) was fixed. The response of the leaf sheath to gibberellic acid was influenced more strongly by the buffer concentration of test solutions rather than the volume.

4. pH of the 1 ppm solutions of gibberellic acid was adjusted to particular values ranging from 3.0 to 7.0 with 0.04 mol phosphate and 0.02 mol citrate solution, and the effect of pH on the growth of rice seedling was tested. The growth of rice seedlings was most remarkably accelerated at pH 4.5 in the absence of gibberellin and at pH values smaller than 4.5 in the presence of gibberellin.

5. Dosage-response patterns at pH values 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 and 7.0 were compared, and maximum response of the rice seedlings to gibberellic acid was observed at pH 4.0 and 5.0.

## 市販そ菜・果物中の鉛残留量

渡辺孝弘・後藤真康・柏 司

Takahiro WATANABE, Shinkō GOTŌ and Tsukasa KASHIWA : Lead Residues in Vegetables and Fruits of Market Origin

Lead residues in tomato, cucumber, grapes, apple, persimmon, spinach, cabbage etc. from market origin were determined. The samples were incinerated and the lead was isolated from the ashes by dithizone extraction in order to be subjected for quantitative analysis with the alternating current polarograph. Analytical results demonstrated the residue levels in these fruits and vegetables were lower than the established tolerances.

近年、残留農薬の人体に及ぼす影響について関心が高まり、昭和43年3月30日、厚生省では食品衛生法に基づき、りんご、ぶどう、きゅうり、トマトの4作物を対象とした $\gamma$ -BHC, DDT, パラチオン, ひ素, 鉛の5農薬についての残留許容量を告示し、同年10月より市販食品の検査を実施している。当所でも市場に出廻っているそ菜、果物の鉛残留量について、若干の実態調査を行なってきたので、ここに、昭和44年3月までの分析結果の一部を報告する。

対象作物はトマト、きゅうり、ぶどう、りんご、かき、ほうれん草、キャベツ、レタス、葉玉ねぎである。試料は東京都北多摩郡清瀬町所在の八百屋3店より各作物につき約1kgを購入した。したがって、生産地は千葉、埼玉、山梨、長野県等で、関東近辺が多く、りんごは信州産のものが多い。

分析方法としては、試料を灰化し、ジチゾン抽出によって鉛を単離したのち、交流ポーラグラフィーによって定量した。

なお、厚生省設定の残留分析法<sup>1)</sup>では試料を灰化したのち、ジチゾン比色法によって定量しており、本法を用いた場合と分析結果は一致した。

分析結果は下表に示すとおり、いずれも許容量（りんご：5ppm、ぶどう、きゅうり、トマト：1ppm）に比べかなり低い。

分析結果表

購入年月日	試 料	産 地	鉛 ppm	平 均 ppm
43. 9. 25	りんご(紅玉)	山 梨	0.62	0.62
10. 14	きゅうり	仙 台	0.24	0.24
	りんご(紅玉)	信 州	1.02 0.80	0.91
10. 29	りんご(紅玉)	信 州	1.05 1.19	1.12
	かき	岐 阜	0.15 0.30	0.23
11. 12	ほうれん草	東村山	0 0	0
	トマト	山 梨	0	0
11. 27	レタス	埼 玉	0 0	0
	りんご(スタークリング)	信 州	1.02 0.81	0.92
12. 11	キャベツ	信 州	0 0	0
	りんご(ムツ)	信 州	0 0	0
44. 1. 29	りんご(紅玉)	信 州	0.16 0.24	0.20
	キャベツ	愛 知	0 0	0
2. 13	りんご(国光)	青 森	0.26 0.25	0.26
	きゅうり	高 知	0 0	0
3. 18	りんご(国光)	信 州	0.19 0.15	0.17
	葉玉ねぎ	千 葉	0 0	0

1) 農業生産技術 No. 20: 44~46 (1969)

## 抄 錄

川原哲城・伊東富士雄・金沢 純\* トリアジン系除草剤のガスクロマトグラフィー 農薬生産技術 No. 18 : 20~23 (1967)

6種のs-トリアジン(シマジン、アトラジン、プロパジン、トリエタジン、アメトリン、プロメトリン)除草剤の分離する条件と定量法を検討した。10%PEG Aカラムを用いると6種類のs-トリアジンの内5種類が相互分離し、アメトリンとシマジンはこの条件では分離できなかった。しかし30%アピエゾングリースカラムを用いるとこのものは分離できた。プロメトリンとトリエタジンは安息香酸ベンジルを内標準物質として用い、カラムは30%アピエゾングリースLにエマルゾーゲンWS-32を1%含ませ、カラムの長さ1m、カラム温度230°C、キャリヤガス流速100ml/minで定量分析ができた。プロメトリンの工業用原体は平均値96.8%で標準偏差は0.44であり、市販水和剤も平均値46.14%で標準偏差は0.62であった。

\* 農林省農業技術研究所

Tetuki KAWAHARA, Fujio Itō and Jun KANAZAWA\* Gas-liquid chromatography of s-triazines herbicides Pesticide and Technique No. 18 : 20~23 (1967)

The mutual separation and quantitative determination of six s-triazines (simazine, atrazine, propazine, trietazine ametonine, prometorine.) herbicides were investigated. Five of six s-triazines were mutually separated by 10% polyethylene glycol adipate ester at 200°C in column temperature, but simazine and ametonine did not separated. These were separated mutually by 30% apiezon grease L at 230°C in column temperature. Prometorine and trietazine were quantitatively determination using benzyl benzoate as internal standard. A stainless steel column 1m in length was packed with 30% apiezon grease L and 1% emulsogen WS 32 on celite 545, and operated at 230°C with helium gas at a flow rate 100ml/min. The standard deviation and analysis of technical material of prometryne were calculated to be 0.44 and 96.8%. The standard deviation and analysis value of commercial wettable powder were calculated to be 0.62 and 46.14%.

\* National Institute of Agricultural Science

川原哲城・柏 司 ガスクロマトグラフィーによるくん蒸剤中のDDVPの定量 農薬生産技術 No. 19 : 27~28 (1968)

DDVPくん蒸剤は合成樹脂にDDVPを含ませたも

のでDDVP乳剤の公定分析法をそのまま応用できない。この為に合成樹脂とDDVPを分離する必要がある。分離する方法として試料1.2gをテトラヒドロフラン40mlを約60°Cに加温して溶解せしめ、これにメタノール40mlを加えてかきまぜ樹脂を凝固し、メタノールにとけているDDVPをガスクロマトグラフ法(乳剤の公定分析法)で定量した。またDDVPの経時変化を各種温度で検討した。分解は温度が高くなると大きくなり、室温でも徐々に分解していた。

Tetuki KAWAHARA and Tsukasa KASHIWA Determination of DDVP in fumigant by gas-liquid chromatography Pesticide and Technique No. 19 : 27~28 (1968)

Fumigant was composed of DDVP and resin so that official method of DDVP emulsion could not directly applied to fumigant. It was necessary to separate fumigant to resin and DDVP. 1.2g sample was dissolved in 40ml tetrahydrofuran in water bath at 60°C. This solution was cooled to room temperature and was added 40ml methanol, then resin, was coagulated and DDVP was dissolved in methanol. This methanol solution containing DDVP were injected into column. The condition of gas-liquid chromatograph was same as official method of DDVP emulsion. Degradation of DDVP in various temperature was investigated. Decomposition of DDVP were high according as temperature rises and were slowly decomposed in room temperature.

川原哲城・柏 司 フェニルN-メチルカーバメートのガスクロマトグラフィー 分析化学 17 : 923~925 (1968)

市販されているフェニルN-メチルカーバメート殺虫剤7種類についてガスクロマトグラフィーによる分離定性法を検討した結果、(1)20%DC550と5%DEGS,(2)20%DC550と20%PEG 20Mのいずれかの組合合わせを用いることによってそれぞれのピークを分離できた。次に7種類のうち3,4-ジメチルフェニルN-メチルカーバメート(MPMC)のガスクロマトグラフ分析に際し、このものは装置で熱分解して、3,4-ジメチルフェノールに変化することが確かめられた。

Tetuki KAWAHARA and Tsukasa KASHIWA Gas-liquid chromatography of phenyl N-methylcarbamates Japan Analyst (Bunseki Kagaku) 17 : 923~925 (1968)

A method for the separation and identification

of mixtures of substituted phenyl N-methylcarbamates by gas-liquid chromatography with thermal conductivity detector was described. By the combination of two operating conditions, mixtures of seven phenyl N-methylcarbamates could be mutually separated. It was confirmed that 3,4-dimethyl N-methylcarbamate was converted to 3,4-dimethylphenol during the operation with gas chromatography. This technique should be useful for analysis of pesticide formulation and residue analysis.

鈴木啓介・後藤真康・柏 司 アルドリン粉剤のガスクロマトグラフィーによる定量（簡便法）農業生産技術 No. 19 : 23~24 (1968)

粉剤中の1,2,3,4,10,10-ヘキサクロル-1,4,4a,5,8,8a-ヘキサヒドロー-1,4,5,8-エンド, エキソージメタノナフタレン (HHDN) をアセトンを用いてバッチ法によって抽出したのち, ガスクロマトグラ法によって定量した。

ガスクロマトグラフの操作条件は次の通りである。  
カラム充てん剤: 20% H V S G /セライト545 (32~48  
メッシュ)

分離管: ステンレス製カラム, 内径 3 mm, 長さ 2 m  
分離管温度: 215°C

試料気化室温度: 約280°C

キャリヤーガスおよび流速: ヘリウム, 27ml/分

検出器フィラメント電流: 80mA

Attenuation: × 2

チャート送り速度: 4cm/分

調製粉剤について分析した結果, 測定値の標準偏差は 0.9%, 回収率は 99.7% であった。

Keisuke SUZUKI, Shinkō GOTŌ and Tsukasa KASHIWA Rapid analysis of aldrin in dusts by gas-liquid chromatography. Pesticide and Technique No. 19 : 23~24(1968)

A method was proposed for the gas-liquid chromatographic determination of 1,2,3,4,10,10-hexachloro-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-1,4,5,8-endo, exo-dimethanonaphthalene (HHDN) in dusts.

To the sample was added acetone solution containing 200mg of di-isobutylphthalate. After allowing to stand at room temperature overnight, an aliquot of the acetone solution was injected into a gas chromatograph with a stainless column (2m × 3mm) packed with 20% high vacuum silicone grease on 32-48 mesh Celite 545 and a thermal conductivity detector.

The column temperature was adjusted at 215°C. Helium was used as a carrier gas, the flow rate being maintained to 27ml per minute. The recovery was 99.7% on a preparation of dust.

鈴木啓介・後藤真康・柏 司 サフラニン法による有機リン系農薬の微量定量 分析化学 10 : 1279~1283 (1968)

10種類の有機リン系農薬をサフラニン法によって微量定量した。すなわち, 試料に少量の過酸化水素と硝酸を加えて湿式分解し, モリブデン酸塩-色素混合液を加え, サフラニン-リンモリブデン酸アンモニウムの沈でんを生成させる。この沈でんを遠心分離し, 1Nの塩酸で数回洗浄したのち, アセトンに溶解し, 波長535μmの吸光度を測定する。この方法による10種類の有機リン系農薬の平均回収率は, リンとしてほぼ 0.5μg, 0.2μg の場合についてそれぞれ98.5%, 98.2% であった。また, 1.86μg (リンとして約0.25μg) のジメトエートを5回分析したところ, 平均回収率は95.5%, レンジは14%となつた。

Keisuke SUZUKI, Shinkō GOTŌ and Tsukasa KASHIWA Micro analysis of some organophosphorus pesticides by spectrophotometric method using safranine reagents. Japan Analyst (Bunseki Kagaku) 10 : 1279~1283 (1968)

One milliliter of the methanol solution containing organophorus pesticide, corresponding to 5~0.5μg of phosphorus, is transferred quantitatively into a 10ml test tube, and mixed with 1ml of 30% hydrogen peroxide and two drops of nitric acid. The content is boiled on a flame, and then clean air is passed through the test tube to eliminate nitric acid. One milliliter of 0.8N HCl and 0.5ml of deionized water are added, and it is boiled again until the total volume is reduced to 1ml. After cooling, it is diluted to 0.5~0.1μg/ml of phosphorus concentration with dilute HCl, and made finally to 0.8N in HCl. One milliliter of this solution is mixed with 4ml of the dye-molybdate solution, and centrifuged after standing for 10 minutes. The colored supernatant is removed by a gentle suction through a glass capillary. After being washed twice with each 4ml of 1N HCl by centrifuge, the precipitate is dissolved in acetone to make up to 5ml. The absorbances of the test solution and a reagent blank, carried through the whole procedure without the sample solution, at 535μm are measured against acetone as the reference. The amount of phosphorus is obtained from the difference between these values, referring to a calibration line.

吉田孝二・西内康浩・橋本 康 農葉製剤の魚類への毒性評価について 農葉生産技術 No.19 : 24~26 (1968)

現在魚毒性評価はコイを用いた標準試験法およびミジンコ類に対する室内試験を基礎として行われていて、原体の毒性をもって原則として全ての製剤の毒性を代表させている。原体毒性と製剤のそれとは大部分は一致しているが現行の方法には次のような問題点がある。

(1) 少数ではあるが原体と製剤とでは毒性が著しく異なることがある。(2) 単位面積当たりに投下される成分量の多少の差が考慮されていない。(3) 副成分の毒性が評価されない。(4) 使用場所および使用条件が考えられていない。(5) 混合剤の毒性評価が適切でない。(6) 魚種による毒性の差異。これらの問題点を解決する為に水田に使用する農葉について次の様な試案を考えた。即ち、原体の半数致死濃度 (TLm) の代りに製剤のそれを考えてこれをXとする。一方、当該製剤の基準使用量を水深5cmの水田に散布したときの水田水中の期待濃度を求めこれをYとする。いずれの濃度も原体換算しない値で表わす。液剤は10a 当り200lを散布量とした。次に  $Y/X = Z$  を求めこれを危険度とする。この値は実際に農葉の水田中における理論的最高濃度と魚類に対する TLmとの比を示すものでありこの数値が大であれば水棲生物への危険性が高いことを意味する。Zの値が0.1以下の場合をA類(実用上安全) 5.0以上の場合をC類(実用上危険) 0.1~5.0をB類として分類すると、従来の原体毒性による分類とよく一致し、しかも前記の問題点のうち(6)を除く諸問題に考慮が払われ従来の矛盾が補正される結果を得た。

なお、問題点(6)の魚種による毒性の差については今後水産関係機関の協力を得て解決すべき問題として残る。

Koji YOSHIDA, Yasuhiro NISHIUCHI and Yasushi HASHIMOTO A new classification of pesticides by Fish-toxicity. Pesticide and Technique No. 19 : 24~26 (1968)

At present, the toxicity of pesticide to aquatic organisms is evaluated by the standard method with carp and a tentative method with daphnids, and every registered pesticide is classified into 3 groups according to the toxicity of its active ingredients with the exceptions of PCP, Endrin, Dieldrin and Telodrin. The classification is rec-

ognized to need few modifications when it was made according to the toxicity of formulated product, but remains for further improvement because of the pending subjects as follows :

1. Some cases are recognized where the toxicity of ingredient is remarkably different from that of formulated product.

2. Application rate of active ingredient per acre is utterly neglected.

3. Toxicity of additive is not evaluated.

4. Application site and method are not considered.

5. The toxicity of combined formulation including more than one ingredient is not properly classified.

6. Specific difference of aquatic organisms in the sensitivity to pesticides is not well studied.

Then, in order to supply the (some of) above-mentioned deficiencies a new standard for classification was proposed for pesticides for paddies hereinafter.

Suppose TLm of the formulated product, not that of active ingredient, to be X, and the concentration expected when the standard rate of the pesticide is applied in paddies holding irrigation water in depth of 5 cm, to be Y. The concentration is expressed in diluted amount of formulated product, not of active ingredient in the water. Spraying amount of liquid per 10 are is supposed to be 200l. Then, calculate "Safety index" Z, which is defined as the quotient of X by Y and means the ratio of TLm to the expected maximum concentration of pesticide in the paddy water. The smaller index means the higher safety. When pesticides are classified into 3 groups of A ( $Z < 0.1$ ),  $(0.1 < Z < 5.0)$  and C ( $Z > 5.0$ ), the pesticides in each group are practically same to those in the present counterpart groups, overcoming the deficiencies mentioned above except No. 6. However, specific difference of aquatic organisms in the sensitivity to pesticides remains for further study.

## 魚類に対する毒性試験法\* (英訳・邦文対照)

総務課調査係

## Standard Method for the Evaluation of Acute Toxicity of Agricultural Chemicals to Fish (English text)

\*: 昭和40年11月25日農政局長通達40農政B第2735号

The recommended measure or index of relative toxicity of agricultural chemicals to fish is the median tolerance limit (symbol: TLm) for exposure period of 24 hr., 48 hr. and 72 hr. At least 48hr. TLm generally should be determined and recorded.

## (1) Apparatus and Instrument

The containers or aquaria in which the tests are performed should be of glass and able to hold more than 10 l of test solution. They may be cylindrical glass jars or rectangular glass aquaria so far as the ratio of diameter to height or that of length and width to height is not so large. A series of test should be performed by using the containers of same type.

## (2) Test Animal

Test animal is in principle carp, *Cyprinus carpio*, averaging 5 cm in total length. However, *Pseudorasbora parva*, *Oryzias latipes* etc. will do to the chemicals which will not be applied in paddy field provided that the toxicity of the chemical in question can be easily compared with that of some existing one.

The test fish should be acclimatized for at least one week to the conditions similar to those under which the test are to be performed. They should be fed once a day during the acclimation period, but should not be fed for a period of about two days before they are used in a test. The fish used for each individual toxicity evaluation must be obtained from the same source at the same time. Specimens used for test purpose must show no evident symptoms of disease, or abnormalities of appearance or behavior, at the time of their transfer to test containers.

## (3) Test Conditions and Procedure

The test should be performed at a uniform

魚類に対する急性毒性試験法としては TLm(median tolerance limit) を求める試験法で行なう。TLm 値は 48時間におけるものを採用し、できるかぎり 24時間、72 時間におけるものも併記する。

## 1 装置および器具

試験容器は容量が10 l 以上のガラス水槽を用い、方形のものでは 3 辺の比が、円筒形のものでは直径と高さの比が大きくないものが望ましい。同時に行なう試験には同一種類の容器を用いなければならない。

## 2 供試生物

供試生物は原則として全長 5 cm 前後のコイとする。ただしその農薬が水田に使用されないものであればヒメダカ、モツゴなどを用いてもよいが、この場合はその毒性が他の農薬の毒性と容易に比較できるような参考試料を併記しなければならない。供試魚は試験条件になじませるために入手後供試までに最低 1 週間の期間を置く。この期間中は 1 日 1 回給餌し、供試前 48 時間は餌止めをする。

試験に際しては供試魚の大きさをできるだけ揃え、同一試験に供試する魚は同一条件で入手したものとする。この試験には病気または外見や行動に異状のある魚は使わないようとする。

## 3 試験条件および操作

試験の際の水温は 20~28°C とし試験中の水温変化は

temperature between 20° and 28°C. It is desirable to hold the temperature at all times within a range extending about 2°C above and below the average test temperature selected and reported. The weight of all fish in a test container should not exceed 1 gram per liter of the liquid medium tested.

Along with each series of tests, a concurrent control should be performed in exactly the same manner as the other tests, but using the diluent water alone as the medium in which the fish are held. There should be no more than 10 percent mortality among the controls during the course of a test. Otherwise, the test results cannot be deemed reliable.

#### (4) Calculation of TLm value

TLm values can be derived by straight-line graphical interpolation method introduced by P. Doudoroff et al. in 1951. Experimental data are plotted on semi-logarithmic coordinate paper, with test concentrations laid off on the logarithmic scale and survival percentages on the arithmetic scale; connecting with a straight line the two points which represent survival percentages at two successive concentrations of the test series which were lethal to more than half and to less than half of the test animals; and noting the concentration which corresponds to 50 percent survival on this graph.

#### (5) Treatment of Agricultural Chemical

It is desirable that toxicity evaluations are performed not only for formulated chemicals but also for active ingredients alone. Ingredients which are not miscible with water should be suspended in aqueous solution by using as small quantity of some adequate solvent as possible. When some solvents are used, their toxicity must be evaluated concurrently. However, evaluation of toxicity of dust or wettable powder is performed without solvent, though stirring is made repeatedly at the time of preparing test liquid. In addition, test liquids are allowed to stir just before the starting of the test and or after 24 hr. exposure, if necessary.

±2°C以内にとどめるようにする。供試薬液の各濃度について同時に試験する個体数は少なくとも10尾とする。供試薬液の量は供試魚の体重1gについて1l以上とする。必ず希釈に用いた水のみの対照区を設け、この区において10%以上の斃死があった場合はこの試験結果は使用しない。

#### 4 試験結果の取扱い

試験結果から TLm を求めるのにはダードロフの方法による。すなわち、片対数グラフの対数目盛に供試薬液の濃度をとり、普通目盛には生存率をとり、測定された生存率が50%より上の点と下の点で最も50%に近いものを選ぶ。この両点を直線で結び50%の線と交わる点の濃度を TLm とする。

#### 5 供試薬剤の取扱い

ある農薬の試験はその製剤とともに原体について行なうことが望ましい。水に親和しない原体はできるかぎり少量の適当な溶剤を加えて懸濁するようにする。なお、溶剤を使用した場合は溶剤のみの対照区をつくるなければならない。粉剤、水和剤はできるだけ毒性を把握するようになるが、この場合溶剤などは加えない。必要に応じて魚を入れる直前および24時間後に供試薬液を攪拌する。

## 農薬の魚毒性分類について 生物課毒性係

### On the Present Classification of Pesticides by Fish-Toxicity.

昭和38年農薬取締法の一部改正が行なわれたが、その際に農薬の水産動植物に対する毒性（以下魚毒性と略称）が新たに取上げられた。これは魚介類に対して毒性の強いP C P除草剤が普及して広く水田に使用されるようになり各地で魚介類に対する不詳事故の発生が多くなって來たので法の規制に至ったものである。しかし、この種の事故はその後もあとを絶たず、農薬安全使用の面からもその対策の必要性は切実なものとなつた。

そこで、農薬の魚毒性について使用者に注意を喚起して事故を防止するため、各農薬の魚毒性を試験成績に基いて分類し製品に表示する事が緊急対策として取上げられた。

数年来広範囲の実験が行なわれた結果、大部分の農薬成分および製剤について魚毒性を明らかにすることが出来たのでここに紹介し、参考に供したい。

なお、P C P除草剤やドリン剤等の既に使用規制を受けているものについては従来どおりの規制を受けることはいうまでもない。

#### 魚毒性の分類および表示について

現在、農薬取締法では水産動植物に有毒な農薬についてはその旨を記載しなければならないことになっているが、正しい表示がなされるためには、まず、あらゆる農薬について、魚毒性の正確な分類が行なわれなければならない。そのため、上述の様に数年にわたりて関係機関で魚毒性検定試験が行なわれ、その成績によって各農薬の毒性の評価がなされてきた。表示は昭和41年10月から各製品一齊に実施されているが、分類はその後の追加試験成績によって何回か改正され、今回殆んどの農薬の毒性が明らかになつたので、別表に掲げるような分類一覧表が得られた。

一覧表は昭和44年1月1日現在のもので、本年はこの分類表に従つて表示が行なわれることになっている。なお、この一覧表は今後毎年1回1月1日付で新規農薬の追加を主体として補正されることになっている。補正に関しては本誌44ページの抄録を参照されたい。

#### 魚毒性のA·B·C分類の基準

前項の分類は、農政局長通達になつてある「魚類に對

- 1) 昭和38年法律第87号、昭和38年5月1日農林省告示第553号
- 2) 昭和40年11月25日農政局長通達40農政B第2735号

する毒性試験法<sup>2)</sup>」によって試験した結果、各農薬の原体が示すコイに対する半致死濃度（以下TLmと称す）の値によって原則として分類している。なお、ミシンコ類を判定の参考にしているが、これは魚類と共に水産有用生物の1つである甲殻類に対する毒性を考慮したものである。

分類の具体的な基準は次のようである。

A類 コイに対する48時間後のTLmが10 ppm以上で、甲殻類に対しても毒性が低いと考えられ、実際問題として事故発生のおそれのはほとんどないもの。

B類 コイに対する48時間後のTLmが0.5~10 ppmのものおよび10 ppm以上でも甲殻類に対する毒性が高いと判断されるもの。

C類 コイに対する48時間後のTLmが0.5 ppm以下であるもの。

甲殻類に対する毒性の強さは、ミシンコおよびタマミシンコを使用した試験結果から判断し、3時間後のTLmが0.5 ppm以下のものを毒性が高いとしてある。

製品容器には次の意味の表示をすることになっている。

A類 通常の使用方法ではその該当がない。（此の項は製品への表示は拘束しない）

B類 通常の使用方法では影響は少ないが、一時に広範囲に使用する場合には十分注意する。

C類 毒性があるので使用にあたっては薬剤が河川等に飛散流入しないよう特に注意する。

すべての製剤には上記の例に従つて明記され、この趣旨が十分徹底されるようになっている。

なお、分類の基礎となった試験成績は各々の文献を参照されたい。

#### 文 献

西内康浩・橋本 康：防虫科学 32(1) : 5~11  
(1967)

吉田孝二・橋本 康・西内康浩：植物防疫 21 : 109~111 (1967)

橋本 康・西内康浩：水産増殖 15(1) 75~79 (1967)

西内康浩・橋本 康：水産増殖 16(1) 19~26 (1968)

橋本 康・菅原寛夫：応動昆 5 : 145~150 (1961)

吉田孝二・西内康浩・橋本 康：農業生産技術 No. 19 : 24~26 (1968)

&lt;別表&gt;

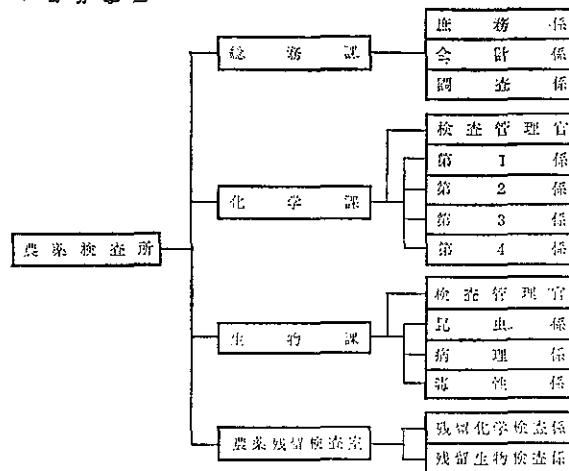
## 農薬の魚毒性分類一覧表

	A	B	C	D・指定・規制
殺虫剤	アゾキシベンゼン・アナバシン・カーバム・クロルフェナミジン・クロルプロピレート・クロルベンジレート・硅化鉱・酸化第二鉄・ジフェニルスルフィド・松脂合剤・石灰窒素・たばこ粉・テトラジホン・バミドチオン・ひ酸石灰・ひ酸鉄・ホルモチオニ・マシン油・メタアルデヒド・メチルジメトン・メナゾン・モノフルオル酢酸アミド・硫酸ニコチン・BHC・CDBE・CPAS・DAEP・DBCP・DCIP・D-D・DDDS・EDB・EDC・EMPC・ESP・ETHN・ETHO・FABA・FABB・IPSP・MNFA・TCE	アミドチオエート・アラマイド・アレスリン・エチオン・エチルチオメトン・カーバノレート・カルタップ・キノキサリン系・ケルセン・サリチオン・ジシノサン系有機燐・ジメトエート・除虫菊・ダイアオキン・チオメトン・パラチオン・ホサロン・マラソン・メカルバム・メチルパラチオン APC・BCPE・BHC(乳剤を除く)・BPMC・BRP・CMP・CPCBS・CPMC・CYAP・CYP・DCPM・DDT(乳剤を除く)・DDVP・DEP・DMTP・DSP・ECP・EPBP・EPN・MEP・MIPC・MPMC・MPP・MTMC・NAC・PAP・PHC・PMP・PPPS・REE・TEPP・XMC	アルドリン クロルデン デリス ヘプタクロル ベンゾエピン BAB・BHC(乳剤) BPPS・CVP D D T (乳剤) DN・DNBP DNOC	エンドリン ディルドリン テロドリン
殺菌剤	アンバム・硫黄・カーバム・過酸化水素・カスガマイシン・カルバジン酸系・グリセオフルビン・酢酸ニッケル・ジネブ・ストレプトマイシン・生石灰・石灰硫黄合剤・セロサイシン・チアシアシン・ノボピオシン・フェナジンオキシド・フェンチアゾン・プラスチサイシンS・ポリオキシン・有機ニッケル・有機ひ素・硫酸オキシキノリン BDC・CBA・CECA・CNA・DAD・NNN・PCBA・PCNB	塩化ベンザルコニウム・キノキサリン系・サリチルアニリド・シクロヘキシミド・ジチアノン・チウラム・銅*・ニトロスチレン・ポリカーバメート・マンネブ・メチラム・硫酸亜鉛・有機硫黄・有機銅 CDX・CPA・DAP・DAPA・DPC・EBP・EDDP・ESBP・ETM・IBP・NBT・PCM	キャプタン・グアニジン系 ・ジクロン・ジメチルアンバム・ジラム・スルフェン酸系・ダイホルタン・トリアジン・ファーバム・有機水銀・有機錫・硫酸銅 BINAPACRYL・DDPP・M HCP・NBA・PCP-Ba・TPN	
除草剤	アトラシン・アメトリン・塩素酸塩・シアノ酸塩・ジクワット・シデュロン・ジフェナミド・スルファミン酸塩・デスマトリン・パラコート・弗化ナトリウム・プロパジン・プロマシル・プロメトリン・リニュロン・レナシル・2,4-PA(ナトリウム塩・アミニ塩) ATA・CAT・COMU・CMPT・CMU・CNP・DBN・DCBN・DCPA・DPA・EPTC・IPC・MCP(ナトリウム塩・アミニ塩)・MCPE・MCPFA・MDBA・NPA・PAC・TCA・TCBA	キサントゲン酸塩・クロロクスロン・トリエタシン・トリフルラリン・2,4,5-T, 2,4-PAエチルエステル ACN・BIPC・CBN・CMMMP・DCMU・MCC・MCP(エチルエステル)・MCPB・MCPCA・MCPP・NIP・SAP	アイオキシニル 有機錫 DCNP DNBP DNBPA DNOC	P C P

注) 殺そ剤・植物成長調整剤・展着剤・くん蒸剤・くん煙剤はA

\*: 基性塩化銅など

事務分掌圖



定員 行政職(一) 35名  
行政職(二) 1名

既刊：

- |         |     |      |            |
|---------|-----|------|------------|
| 農業検査所報告 | 第1号 | 68頁  | 昭 25. 3.31 |
|         | 第2号 | 139頁 | 昭 26. 3.31 |
|         | 第3号 | 110頁 | 昭 27. 3.31 |
|         | 第4号 | 54頁  | 昭 30.12.25 |
|         | 第5号 | 68頁  | 昭 34. 3.31 |
|         | 第6号 | 84頁  | 昭 38. 3.31 |
|         | 特別号 | 69頁  | 昭 39.10.31 |
|         | 第7号 | 104頁 | 昭 42. 3.31 |
|         | 第8号 | 141頁 | 昭 43. 3.31 |

(創立20周年記念号)

Back numbers :

Annual Report of the Agricultural Chemical Inspection Station

- |       |                        |
|-------|------------------------|
| No. 1 | 68p. March 31, 1950    |
| No. 2 | 139p. March 31, 1951   |
| No. 3 | 110p. March 31, 1952   |
| No. 4 | 54p. December 25, 1955 |

Bulletin of the Agricultural Chemical Inspection Station (*the renewed name of "Annual Report of the Agricultural Inspection Station"*)

- |               |  |
|---------------|--|
| No. 5         | 68p. March 31, 1959  |
| No. 6         | 84p. March 31, 1963  |
| Special Issue | 69p. October 31, 1964  |
| No. 7         | 104p. March 31, 1967   |
| No. 8         | 141p. March 31, 1968 (Jubilee issue in commemoration of the 20th anniversary of the station) |

農薬検査所報告編集委員

鈴木 照麿  
渡辺 孝弘  
橋本 康  
中村 広明

EDITORS

Terumaro SUSUKI Editor-in-Chief  
Takahiro WATANABE Chemist  
Yasushi HASHIMOTO Entomologist  
Hiroaki NAKAMURA Plant Pathologist

昭和44年3月25日印刷  
昭和44年3月31日発行

農薬検査所報告 第9号

農林省農業検査所  
〒187 東京都小平市鈴木町 2-772  
電話 小金井 0423-83-2151(代)

印刷所 共立印刷株式会社  
印刷者 田辺俊雄  
〒166 東京都杉並区和田1-14-13  
電話 381-7246(代)