

振戦、縮瞳、流涎、筋緊張亢進/低下、体温下降が認められた。

パラチオン投与群(P)

投与1時間から1日後にかけて、攣縮、振戦、縮瞳、流涎、筋緊張亢進/低下、体温下降が認められた。

キシリルカルブ投与群(X)

投与1時間から3日後にかけて、攣縮、振戦、縮瞳、流涎、筋緊張低下、体温下降が認められた。

50%硫酸ニコチン水溶液投与群(N)

投与1時間から6日後にかけて、振戦、痙攣、流涎、筋緊張低下、体温下降が認められた。

1.4. 体重 (表2)

投与7日後における全生存動物の体重は順調に増加した。

2. 複合投与試験

2.1. 試験群

混合剤の単回投与による毒性兆候と半数致死量を検索するために複合投与試験を実施した。複合投与液中の2剤の混合率は、Duboisの方法¹⁾に従って単剤LD₅₀値の比(等価毒性比)とした。試験群及び複合投与用量(単剤当たりの用量)は以下の通りとした。

メタミドホス+パラチオン投与群

用量 3.8(M3.4+P0.4)、5.7(M5.1+P0.6)、8.5(M7.7+P0.8) mg/kg

メタミドホス+キシリルカルブ投与群

用量 56(M5.1+X51)、84(M7.7+X76)、126(M11.5+X114) mg/kg

メタミドホス+50%硫酸ニコチン水溶液投与群

用量 26(M2.2+N24)、39(M3.4+N36)、59(M5.1+N54)、89(M7.7+N81)mg/kg
パラチオン+ キシリルカルブ投与群

用量 52(P0.6+X51)、77(P0.8+X76)、115(P1.2+X114) mg/kg

パラチオン+ 50%硫酸ニコチン水溶液投与群

用量 36(P0.4+N36)、54(P0.6+N54)、81(P0.8+N81)、121(P1.2+N121)、182(P1.9+N181) mg/kg

キシリルカルブ+ 50%硫酸ニコチン水溶液投与群

用量 31(X15+N16)、47(X23+N24)、69(X34+N36)、104(X51+N54)、157(X76+N81) mg/kg

2.2. 死亡率及びLD₅₀値 (表3)

各試験群における死亡率(死亡数/投与数)及びLD₅₀値を以下に示す(下線は推定半数致死量)。

メタミドホス+パラチオン

用量 (mg/kg)	死亡率	LD ₅₀ 値 (95%信頼限界)
3.8	0%	6.9 mg/kg (5.0-9.7 mg/kg)
<u>5.7</u>	20%	
8.5	80%	

メタミドホス+キシリルカルブ

用量 (mg/kg)	死亡率	LD ₅₀ 値 (95%信頼限界)
56	0%	95 mg/kg (79-114 mg/kg)
84	20%	
126	100%	

メタミドホス+50%硫酸ニコチン水溶液

用量 (mg/kg)	死亡率	LD ₅₀ 値 (95%信頼限界)
26	0%	52 mg/kg (39-69 mg/kg)
39	20%	
<u>59</u>	60%	
88	100%	

パラチオン+キシリルカルブ

用量 (mg/kg)	死亡率	LD ₅₀ 値 (95%信頼限界)
52	0%	108 mg/kg (73-158 mg/kg)
77	0%	
115	60%	

パラチオン+50%硫酸ニコチン水溶液

用量 (mg/kg)	死亡率	LD ₅₀ 値 (95%信頼限界)
36	0%	91 mg/kg (77-108 mg/kg)
54	0%	
81	20%	
121	100%	
182	100%	

キシリルカルブ+50%硫酸ニコチン水溶液

用量 (mg/kg)	死亡率	LD ₅₀ 値 (95%信頼限界)
31	0%	86 mg/kg (算出不能)
47	0%	
69	0%	
104	100%	
157	100%	

2.3. 神経毒性症状 (表 3)

メタミドホス+パラチオン投与群

投与 1 時間から 1 日後にかけて、攣縮、振戦、縮腫、流涎、筋緊張低下、体温下降が認められた。

メタミドホス+キシリルカルブ投与群

投与 1 時間から 1 日後にかけて、攣縮、振戦、縮腫、流涎、筋緊張亢進/低下、体温下降が認められた。

メタミドホス+50%硫酸ニコチン水溶液投与群

投与 1 時間から 3 日後にかけて、攣縮、振戦、痙攣、縮腫、流涎、筋緊張亢進/低下、体温下降が認められた。

パラチオン+キシリルカルブ投与群

投与 1 時間から 4 日後にかけて、攣縮、振戦、縮腫、流涎、筋緊張亢進/低下、体温下降が認められた。

パラチオン+ 50%硫酸ニコチン水溶液投与群

投与 1 時間から 6 日後にかけて、攣縮、振戦、痙攣、縮腫、流涎、筋緊張亢進/低下、体温下降が認められた。

キシリルカルブ+ 50%硫酸ニコチン水溶液投与群

投与 1 時間から 1 日後にかけて、攣縮、振戦、縮腫、流涎、筋緊張低下、体温下降が認められた。

2.4. 体重 (表 4)

投与 7 日後における全生存動物の体重は順調に増加した。

2.5. 複合毒性の評価

2 剤の毒性が加算的である場合には、LD₅₀ 値の半量を混合して投与した場合 (推定半数致死量) の死亡率が 50%になると推定し、混合剤における推定半数致死量での死亡率が 50%を上回る場合は相乗的、下回る場合は拮抗的に作用を持つと判断した。

さらに、混合剤の LD₅₀ 値 (実測値) を求め、推定半数致死量 (期待値) との比によって複合毒性強度を表した。

LD₅₀ の期待値と実測値及びその比を以下に示す。

メタミドホス+パラチオン

期待値 (mg/kg)	実測値 (mg/kg)	複合毒性強度 (期待値/実測値)
5.6	6.9	0.81

メタミドホス+キシリルカルブ

期待値 (mg/kg)	実測値 (mg/kg)	複合毒性強度 (期待値/実測値)
56	95	0.59

メタミドホス+50%硫酸ニコチン水溶液

期待値 (mg/kg)	実測値 (mg/kg)	複合毒性強度 (期待値/実測値)
59	52	1.13

パラチオン+キシリルカルブ

期待値 (mg/kg)	実測値 (mg/kg)	複合毒性強度 (期待値/実測値)
51	108	0.47

パラチオン+50%硫酸ニコチン水溶液

期待値 (mg/kg)	実測値 (mg/kg)	複合毒性強度 (期待値/実測値)
54	91	0.59

キシリルカルブ+50%硫酸ニコチン水溶液

期待値 (mg/kg)	実測値 (mg/kg)	複合毒性強度 (期待値/実測値)
104	86	1.21

D. 考察

類似の作用機序を持つ農薬群の単回複合経口投与による急性毒性影響を確認するため、有機リン剤のメタミドホス及びパラチオン、カーバメート剤のキシリルカルブ、ニコチン製剤である50%硫酸ニコチン水溶液を8週齢の雌性ラット(BrlHan:WIST@Jcl(GALAS))に単剤あるいは複合投与した。これらの剤の主要な毒性発現機序は次の通りである。

有機リン剤及びカーバメート剤は、共に副交感神経における神経伝達物質であるアセチルコリンを分解する酵素(アセチルコリンエステラーゼ; AChE)の活性を阻害することによって、コリン作動性神経の過興奮を惹起させる。アセチルコリンに対するレセプターはムスカリンレセプターとニコチンレセプターに大別されるが、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤による副交感神経系に対する影響は、ムスカリンレセプターを介する作用が優位である。一方、ニコチン製剤はニコチンレセプターと特異的に結合して副交感神経系に作用するが、ニコチンレセプターは交感神経節及び神経筋接合部

に多数存在し、これらの部位における神経伝達との関連性が高い。そのため、ニコチン製剤は交感神経作動性の作用と神経筋接合部における脱分極性の筋緊張低下を招く(図1及び2)。

2種の有機リン剤あるいは有機リン剤とカーバメート剤を組合せた単回複合投与影響についてはいくつかの報告があり、その組合せにより拮抗(例 Prathion と Marathion¹⁾、Marathion と Xylilcarb²⁾等)、相加(例 Fention と DDVP³⁾、Marathion と XMC²⁾等)、相乗の様々な効果が認められている。相乗効果では、単剤 LD₅₀ 値との比較して毒性が数倍に増強されることが報告されている(Marathion と BPMC で 5.4 倍²⁾、Marthion と Dipterex で 2.2 倍¹⁾、Fenitorothion と BPMC で 5.5 倍⁴⁾、Fenthion と BPMC で 1.6 倍⁵⁾等)。

一方、ネオニコチノイド及びニコチン製剤と有機リン剤あるいはカーバメート剤との in vivo における複合投与毒性の報告は殆どない。今回使用した50%硫酸ニコチン水溶液は、最近まで農薬登録が存在していた古典的なニコチノイドである。現在農薬として広く用いられているネオニコチノイドは、ニコチンの分子構造を元にして、昆虫に対して薬効が高く哺乳類には低毒性となるように開発されてきた⁶⁾。よって、50%硫酸ニコチン水溶液と有機リン剤及びカーバメート剤との複合投与影響の検討は、ネオニコチノイドの複合暴露影響を推測する上での有用な情報となる。

単剤投与試験

各被験物質の単剤投与における毒性変化と半数致死量(LD₅₀値)の算出を目的とした試験では、4剤とも自律神経系に対する影響を示す典型的な症状が投与直後から発現し、生存動物では投与後7日以内に回復した。有機リン剤

のメタミドホス及びパラチオン、カーバメート剤のキシリルカルブでは、振戦、攣縮、縮瞳、流涎などの症状が強く認められた。これらの症状は、コリンエステラーゼ活性阻害に起因する副交感神経系の興奮を示唆する所見である。一方、ニコチン製剤である 50%硫酸ニコチン水溶液投与による症状は、痙攣及び筋緊張低下が特徴的であった。これらの症状は、ニコチンレセプターを介した中枢神経興奮あるいは神経筋接合部の過剰な興奮を示唆するものと考えられた。

投与7日後における全生存動物の体重は、症状の回復を反映して順調に増加した。

複合投与液の混合比を決定する根拠になる各被験物質の LD₅₀ 値は次の通りであった。

メタミドホス； 10 mg/kg

パラチオン； 1.1 mg/kg

キシリルカルブ； 101 mg/kg

50%硫酸ニコチン水溶液； 107 mg/kg

複合投与試験

複合毒性の検索を目的とした 4 剤のうち 2 剤を組み合わせた単回複合投与試験の投与方法は、LD₅₀ 値の比（等価毒性比）で 2 剤の混合率を決定する Dubois の方法¹⁾に従った。

複合投与における各組合せにおいても、単剤と同様にコリンエステラーゼ活性阻害に起因する典型的な副交感神経系の興奮を示唆する症状が認められた。また、50%硫酸ニコチン水溶液投与に起因する臨床症状の中でも顕著な発現がみられた痙攣は、有機リン剤あるいはカーバメート剤との複合投与では殆どみられなかった。これらの症状は、投与直後から認められ、生存動物では投与後 7 日以内に回復し、投与 7 日後における全生存動物の体重も増加した。

各被験物質混合剤の LD₅₀ 値は次の通りだった。

メタミドホス + パラチオン； 6.9 mg/kg

メタミドホス + キシリルカルブ； 95 mg/kg

メタミドホス + 50%硫酸ニコチン水溶液；
52 mg/kg

パラチオン + キシリルカルブ； 108 mg/kg

パラチオン + 50%硫酸ニコチン水溶液； 91
mg/kg

キシリルカルブ + 50%硫酸ニコチン水溶液； 86 mg/kg

単回複合投与毒性の評価

Dubois の方法では、2 剤の毒性が加算的である場合は LD₅₀ 値の半量を混合して投与した致死率が 50%になると推定する（推定半数致死量）。よって、半量混合剤の推定半数致死量を投与した際の死亡率が、50%を上回る場合は相乗的作用、下回る場合は拮抗的作用を持つと考えられる。さらに、等価毒性比で用量段階的に 2 剤を混合して混合剤の LD₅₀ 値を求め、推定半数致死量との比で複合毒性の強度を表す。

作用機序が類似する農薬を組合せて実施した今回の試験結果から、複合毒性強度を各剤ごとにまとめた。

メタミドホス

+ パラチオン； 0.81

+ キシリルカルブ； 0.59

+ 50%硫酸ニコチン水溶液； 1.13

有機リン剤であるメタミドホスは、同じ有機リン剤のパラチオン及びカーバメート剤のキシリルカルブとの組合せでは拮抗的に作用することが判明した。これらは、アセチルコリンエステラーゼとの結合部位において競合阻害が生じた結果であると考えられた。同じくコリ

ン作動系に作用するものの、その機序が異なる50%硫酸ニコチン水溶液との複合投与では軽微な相乗効果がみられた。これには神経筋作用が比較的強い剤の組合せであることが関係している可能性が推察された。

パラチオン

- + メタミドホス ; 0.81
- + キシリルカルブ ; 0.47
- + 50%硫酸ニコチン水溶液 ; 0.59

有機リン剤であるパラチオンは、メタミドホスと同様に、有機リン剤及びカーバメート剤との組合せで拮抗的作用を示した。特にキシリルカルブとの複合投与において半数致死量が期待値の倍となり、明らかに毒性が低下した。有機リン剤中毒の予防的措置としてカーバメート剤が有効であることは良く知られており、この組合せはその典型例であると考えられた。一方、パラチオンと50%硫酸ニコチン水溶液との複合投与では、メタミドホスの場合とは異なり明かな拮抗的影響がみられた。パラチオンはニコチンレセプターと結合してアゴニスト作用を抑制する有機リン剤のひとつであることから、ニコチン製剤に対して拮抗的に作用したものと考えられた。

キシリルカルブ

- + メタミドホス ; 0.59
- + パラチオン ; 0.47
- + 50%硫酸ニコチン水溶液 ; 1.21

カーバメート剤であるキシリルカルブは、前述の通り有機リン剤との組合せでは拮抗的に作用することが判明した。一方、50%硫酸ニコチン水溶液との複合投与では、軽度ながら相乗効果がみられた。キシリルカルブもメタミドホスと同様に神経筋作用が比較的強いいため、筋緊張

低下に対する作用が亢進した可能性が考えられた。

50%硫酸ニコチン水溶液

- + メタミドホス ; 1.13
- + パラチオン ; 0.59
- + キシリルカルブ ; 1.21

前述の通り、50%硫酸ニコチン水溶液は、メタミドホス及びキシリルカルブとの組み合わせでやや相乗的に、パラチオンとの組み合わせで拮抗的に作用した。50%硫酸ニコチン水溶液とこれらの剤との複合投与による特徴的な影響は、50%硫酸ニコチン水溶液の単独投与では低用量にまで認められた痙攣が顕著に抑制されたことであった。この有機リン剤あるいはカーバメート剤との複合投与による痙攣の抑制が、コリンエステラーゼ阻害作用を有する剤とニコチン製剤との組み合わせにおいて普遍的に生じる影響か否については、さらなる検討が必要である。

E. 結論

今回用いた農薬の単回投与による複合暴露実験では、有機リン剤とカーバメート剤の組合せでは拮抗的に作用し、ニコチン製剤とカーバメート剤の組合せでは軽度ながら相乗効果がみられた(複合毒性強度1.21)。一方、ニコチン製剤と有機リン剤との組合せでは、メタミドホスとでは相乗的に、パラチオンとでは拮抗的に作用し、剤の組合せによって逆の結果が得られた。このことは、複合毒性の予測の困難さを示すものであり、複数の農薬の複合暴露影響あるいは累積毒性の評価は、農薬群ごとに幾多の実験的検証を重ねた上で慎重に行う必要があることが示唆された。

F. 参考文献

- 1) Dubois KP. (1961) Potentiation of toxicity of organophosphorus compounds. *Adv. Pest. Control Res.*, 4: 117-151
- 2) Takahashi H., Miyaoka T., Tsuda S., and Shirasu Y. (1982). Combined toxicity of malathion and carbamate insecticides in mice and rats. *J. Pesticide Sci.*, 8, 41-45.
- 3) WHO (1972). *Pesticide Residue Series*, No. 1, Fenthion, Geneva.
- 4) Takahashi H., Miyaoka T., Tsuda S., and Shirasu Y. (1984). Potential toxicity of 2-sec-butyl methylcarbamate (BPMC) by O,O-dimethyl O-(3-Methyl-4-nitrophenyl) phosphorothioate (Fenitrothion) in mice; relationship between acute toxicity and metabolism of BPMC. *Fundam. Appl. Toxicol.* 4, 718-723.
- 5) Miyaoka T., Takahashi H., Tsuda S., and Shirasu Y. (1984). Potentiation of acute toxicity of 2-sec-butyl methylcarbamate (BPMC) by fenthion in mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 4, 802-807.
- 6) Yamamoto I., Yabuta G., Tomizawa M., Saito T., Miyamoto T., and Kagabu S. (1994). Molecular mechanism for selective toxicity of nicotinoids and neonicotinoids. *J. Pesticide Sci.* 20, 33-40.
- 7) Albuquerque E.W., Pereira E.F.R., Aracava Y., Fawcett W.P., Oliveira M., Randall W.R., Hamilton T.A., Kan R.K., Romano Jr. J.A., and Adler M. (2006). Effective countermeasure against poisoning by

organophosphorus insecticides and nerve agents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 13220-13225.

- 8) Smulders C.J.G.M., Bueters T.J.H., Vailati S., van Kleef R.G.D.M., and Vijverberg H.P.M. (2004). Block of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by organophosphate insecticides. *Toxicological Sciences* 82, 545-554.

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 有機リン剤とカーバメート剤及びニコチン製剤のラットにおける急性経口複合投与影響：首藤康文、齋島淳子、藤江秀彰、小松豊、青山博昭、原田孝則 第151回日本獣医学会学術集会（東京、2011）

H. 知的財産権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図 1. 有機リン剤/カーバメート剤及びニコチン製剤の自律神経における作用の概要

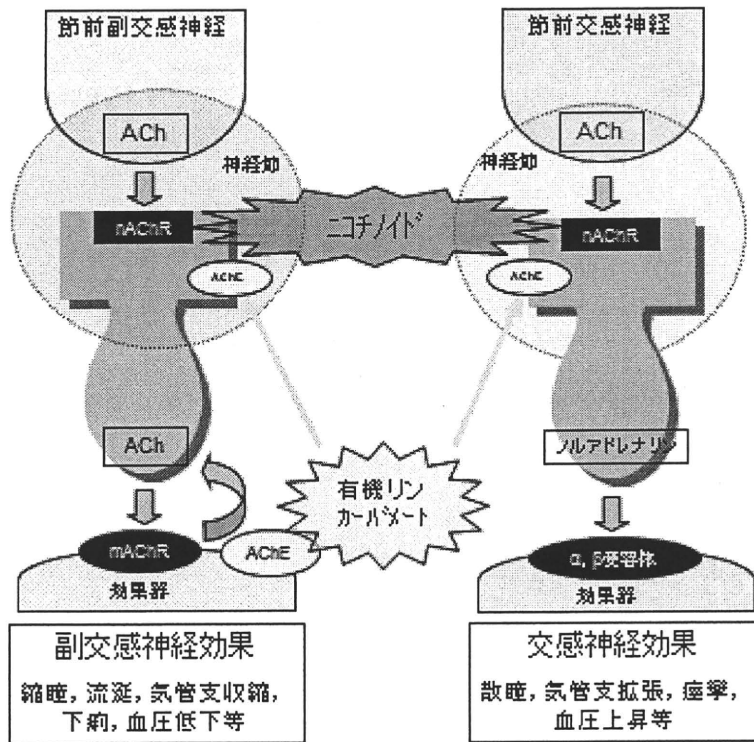


図 2. 有機リン剤/カーバメート剤及びニコチン製剤の神経筋接合部における作用の概要

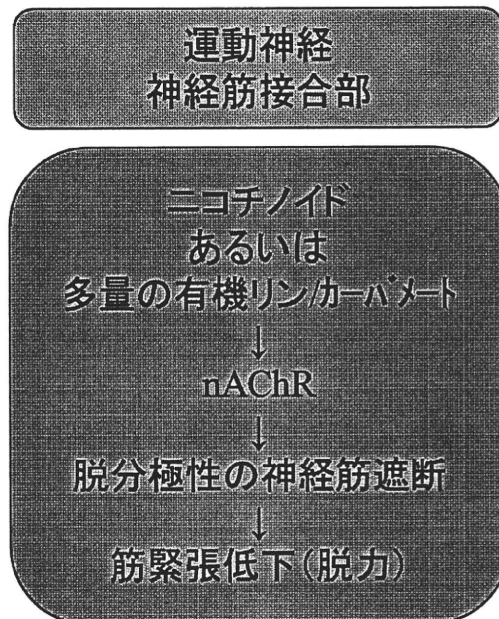


Table 1 - 1 Clinical observation (Methamidophos)

Dose (mg/kg)	Signs	Time after administration									
		1	3	6 hrs	1	2	3	4	5	6	7 days
7.0	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	2.00 ^a	2.00	0.40	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0.60	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-2.00	-2.00	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0.60	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0.60	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	Mortality	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5
	Twitch	2.00	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	1.00	1.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-2.00	-2.00	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	1.50	0.50	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0.50	0.50	-1.00	-1.50	-1.00	-1.00	-0.50	0	0	0
	Hypothermia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	Mortality	4 / 5	5 / 5								
	Twitch	2.00	-								
	Tremor	1.00	-								
	Convulsion	0	-								
	Miosis	-2.00	-								
	Salivation	1.00	-								
	Muscle tone	0	-								
	Hypothermia	0	-								

Mortality: Cumulative number of animals found dead / number of animals treated.

a: Group mean score.

Table 1 - 2 Clinical observation (Parathion)

Dose (mg/kg)	Signs	Time after administration									
		1	3	6 hrs	1	2	3	4	5	6	7 days
1.0	Mortality	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5
	Twitch	1.33 ^a	1.00	1.00	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0.67	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-1.00	-1.00	-0.33	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0.33	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0.33	-0.33	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.3	Mortality	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
	Twitch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Convulsion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Miosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Salivation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Muscle tone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hypothermia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Mortality: Cumulative number of animals found dead / number of animals treated.

a: Group mean score.

Table 1 - 3 Clinical observation (Xylycarb)

Dose (mg/kg)	Signs	Time after administration										
		1	3	6 hrs	1	2	3	4	5	6	7 days	
50	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	2.00 ^a	0.60	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-1.60	-0.40	-0.40	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0.80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.40	-0.40	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-0.20	-0.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
63	Mortality	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5
	Twitch	2.00	1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-1.75	-0.25	-0.25	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	2.00	0.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.50	0	-0.25	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-1.00	-0.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
79	Mortality	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5
	Twitch	2.00	1.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-0.75	-0.25	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	1.75	0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.25	-0.25	-0.50	-0.25	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-1.00	-0.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0
98	Mortality	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5
	Twitch	2.00	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	1.50	1.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.00	-1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
122	Mortality	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
	Twitch	2.00	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-2.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	2.00	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.00	-1.00	-1.00	-1.00	-1.00	-1.00	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	-1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
154	Mortality	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5
	Twitch	2.00	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-2.00	-1.00	-0.50	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	2.00	1.00	1.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.00	-0.50	-0.50	-1.00	-1.00	-0.50	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-0.50	-0.50	-0.50	0	0	0	0	0	0	0	0
192	Mortality	5/5										
	Twitch	-										
	Tremor	-										
	Convulsion	-										
	Miosis	-										
	Salivation	-										
	Muscle tone	-										
Hypothermia	-											

Mortality: Cumulative number of animals found dead / number of animals treated.

a: Group mean score.

Table 1 - 4 Clinical observation (50%Nicotine sulfate WS)

Dose (mg/kg)	Signs	Time after administration									
		1	3	6 hrs	1	2	3	4	5	6	7 days
64	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	0 _a	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	1.40	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0.4	0.40	0.20	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.20	-1.80	-1.00	-0.20	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	-1.60	-0.60	0	0	0	0	0	0	0
80	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	0.80	0.80	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0.80	0.80	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.00	-1.60	-1.80	-1.00	-0.80	-0.80	-0.20	-0.20	0	0
	Hypothermia	-0.20	-1.80	-0.80	0	0	0	0	0	0	0
100	Mortality	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5
	Twitch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	0.67	0	0.33	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0.33	1.33	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0	0	0
	Miosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-0.67	-1.33	-1.67	-2.00	-2.00	-1.67	-1.00	-0.67	-0.33	0
	Hypothermia	-0.33	-1.67	-1.67	-1.00	0	0	0	0	0	0
125	Mortality	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
	Twitch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	1.00	0	1.00	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.00	-2.00	-2.00	-1.00	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-0.50	-2.00	-2.00	0	0	0	0	0	0	0
156	Mortality	4/5	5/5								
	Twitch	0	-								
	Tremor	0	-								
	Convulsion	1.00	-								
	Miosis	0	-								
	Salivation	0	-								
	Muscle tone	-1.00	-								
	Hypothermia	-1.00	-								

Mortality: Cumulative number of animals found dead / number of animals treated.

a: Group mean score.

Table 2 - 1 Body weight - Group mean value (Methamidophos)

(g)

Dose (mg/kg)		Before administration	7 days after administration
7.0	Mean	148	179
	S.D.	3	8
	N	5	5
11	Mean	150	175
	S.D.	3	7
	N	5	2
16	Mean	152	
	S.D.	7	
	N	5	

S.D.: Standard deviation.

N: Number of animals.

Table 2 - 2 Body weight - Group mean value (Parathion)

(g)

Dose (mg/kg)		Before administration	7 days after administration
1.0	Mean	152	176
	S.D.	5	4
	N	5	3
1.3	Mean	157	
	S.D.	3	
	N	5	

S.D.: Standard deviation.

N: Number of animals.

Table 2 - 3 Body weight - Group mean value (Xylycarb)

(g)

Dose (mg/kg)		Before administration	7 days after administration
50	Mean	150	186
	S.D.	11	14
	N	5	5
63	Mean	145	181
	S.D.	4	7
	N	5	4
79	Mean	146	178
	S.D.	7	11
	N	5	4
98	Mean	152	179
	S.D.	8	16
	N	5	3
122	Mean	151	167
	S.D.	10	
	N	5	1
154	Mean	146	168
	S.D.	6	2
	N	5	2
192	Mean	149	
	S.D.	6	
	N	5	

S.D.: Standard deviation.

N: Number of animals.

Table 2 - 4 Body weight - group mean value (50%Nicotine sulfate WS)

(g)

Dose (mg/kg)		Before administration	7 days after administration
64	Mean	153	183
	S.D.	10	9
	N	5	5
80	Mean	149	174
	S.D.	6	9
	N	5	5
100	Mean	148	157
	S.D.	3	3
	N	5	3
125	Mean	149	185
	S.D.	8	
	N	5	1
156	Mean	149	
	S.D.	5	
	N	5	

S.D.: Standard deviation.

N: Number of animals.

Table 3 - 1 Clinical observation (Methamidophos + Parathion)

Dose (mg/kg)	Signs	Time after administration									
		1	3	6 hrs.	1	2	3	4	5	6	7 days
3.8 (M3.4 + P0.4)	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	2.00 ^a	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	0.80	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-1.80	-1.60	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0.20	0.20	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.20	-0.60	-0.60	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-0.40	0	-0.20	0	0	0	0	0	0	0
5.7 ^b (M5.1 + P0.6)	Mortality	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5
	Twitch	2.00	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	1.00	1.75	0.25	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-2.00	-2.00	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	1.00	0.50	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.00	-0.50	-1.25	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-0.50	-0.25	-1.00	0	0	0	0	0	0	0
8.5 (M7.7 + P0.8)	Mortality	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
	Twitch	2.00	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	2.00	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-2.00	-2.00	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.00	0	-2.00	-1.00	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	0	-1.00	0	0	0	0	0	0	0

Mortality: Cumulative number of animals found dead / number of animals treated.

a: Group mean score.

b: Expected LD₅₀.

Table 3 - 2 Clinical observation (Methamidophos + Xylycarb)

Dose (mg/kg)	Signs	Time after administration									
		1	3	6 hrs	1	2	3	4	5	6	7 days
56 _b (M5.1 + X51)	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	2.00 _a	0.20	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-1.80	-1.20	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0.80	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-0.80	-0.40	0	-0.20	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-0.20	-0.20	0	0	0	0	0	0	0	0
84 (M7.7 + X76)	Mortality	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5
	Twitch	2.00	2.00	0.50	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	2.00	1.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-2.00	-1.25	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	1.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0.50	-0.25	-0.25	-0.25	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-0.50	-0.25	-0.25	0	0	0	0	0	0	0
126 (M12 + X114)	Mortality	5/5									
	Twitch	-									
	Tremor	-									
	Convulsion	-									
	Miosis	-									
	Salivation	-									
	Muscle tone	-									
Hypothermia	-										

Mortality: Cumulative number of animals found dead / number of animals treated.

a: Group mean score.

b: Expected LD₅₀.

Table 3 - 3 Clinical observation (Methamidophos + 50%Nicotine sulfate WS)

Dose (mg/kg)	Signs	Time after administration									
		1	3	6 hrs	1	2	3	4	5	6	7 days
26 (M2.2 + N24)	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	0 _a	0	0.40	0.20	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	0	-0.60	-0.40	-0.20	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.20	0.80	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	-0.20	0	0	0	0	0	0	0	0
39 (M3.4 + N36)	Mortality	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5
	Twitch	1.20	1.50	0.25	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	1.60	2.00	0.50	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-1.20	-2.00	-1.50	-0.25	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0	0	0.25	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.20	-1.20	-1.00	-0.25	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-0.60	-1.20	-0.75	0	0	0	0	0	0	0
59 _b (M5.1 + N54)	Mortality	1/5	1/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5
	Twitch	1.75	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	2.00	2.00	2.00	1.00	0	1.00	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-1.75	-2.00	-2.00	-1.00	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0	0.25	1.00	0.50	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.50	-2.00	-2.00	-1.50	-1.00	-1.00	0	0	0	0
	Hypothermia	-0.75	-2.00	-1.00	0	0	0	0	0	0	0
89 (M7.7 + N81)	Mortality	0/5	5/5								
	Twitch	0.60	-								
	Tremor	1.20	-								
	Convulsion	1.00	-								
	Miosis	-1.00	-								
	Muscle tone	-1.00	-								

Mortality: Cumulative number of animals found dead / number of animals treated.

a: Group mean score.

b: Expected LD₅₀.

Table 3 - 4 Clinical observation (Parathion + Xylycarb)

Dose (mg/kg)	Signs	Time after administration									
		1	3	6 hrs	1	2	3	4	5	6	7 days
52 _b (P0.6 + X51)	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	2.00 ^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0.80	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-0.20	-0.40	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	0	0.20	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
77 (P0.8 + X76)	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	2.00	2.00	0.20	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	1.60	1.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-2.00	-1.00	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	1.20	1.20	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-0.60	0	-0.20	-0.20	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	-0.40	-1.00	0	0	0	0	0	0	0	0
115 (P1.2 + X114)	Mortality	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5
	Twitch	2.00	2.00	2.00	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	2.00	1.00	1.00	0	0	1.00	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	-2.00	-2.00	-1.00	-0.50	0	0	0	0	0
	Salivation	1.50	2.00	2.00	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0	-0.50	-1.50	-1.50	-1.00	-1.00	-0.50	0	0	0
	Hypothermia	-1.00	-2.00	-1.00	-0.50	0	0	0	0	0	0

Mortality: Cumulative number of animals found dead / number of animals treated.

a: Group mean score.

b: Expected LD₅₀.

Table 3 - 5 Clinical observation (Parathion + 50%Nicotine sulfate WS)

Dose (mg/kg)	Signs	Time after administration									
		1	3	6 hrs	1	2	3	4	5	6	7 days
36 (P0.4 + N36)	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	1.80 ^a	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-0.40	-0.60	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-0.40	-0.60	-0.20	-0.20	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54 ^b (P0.6 + N54)	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	2.00	2.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0.20	1.60	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-0.80	-1.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-0.40	-0.20	-0.60	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
81 (P0.8 + N81)	Mortality	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5
	Twitch	0.80	2.00	0	0.50	0	0	0	0	0	0
	Tremor	2.00	2.00	2.00	0.25	0.50	0.50	0	0	0	0
	Convulsion	0	0.20	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-0.60	-1.40	-1.60	-0.50	0	-0.50	0	0	0	0
	Salivation	0.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	0.60	-0.40	-1.60	-1.00	-1.00	-0.50	-0.25	-0.25	-0.25	0
	Hypothermia	0	-0.40	-0.80	0	0	0	0	0	0	0
121 (P1.2 + N121)	Mortality	4/5	5/5								
	Twitch	2.00	-								
	Tremor	2.00	-								
	Convulsion	2.00	-								
	Miosis	-2.00	-								
	Salivation	0	-								
	Muscle tone	2.00	-								
Hypothermia	-1.00	-									
182 (P1.9 + N181)	Mortality	5/5									
	Twitch	-									
	Tremor	-									
	Convulsion	-									
	Miosis	-									
	Salivation	-									
	Muscle tone	-									
Hypothermia	-										

Mortality: Cumulative number of animals found dead / number of animals treated.

a: Group mean score.

b: Expected LD₅₀.

Table 3 - 6 Clinical observation (Xylycarb + 50%Nicotine sulfate WS)

Dose (mg/kg)	Signs	Time after administration									
		1	3	6 hrs	1	2	3	4	5	6	7 days
31 (X15 + N16)	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	1.60 ^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-1.80	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-0.80	-1.00	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	-0.40	0	0	0	0	0	0	0	0
47 (X23 + N24)	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	2.00	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0.60	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-2.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-1.00	-1.20	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	-0.80	0	0	0	0	0	0	0	0
69 (X34 + N36)	Mortality	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Twitch	2.00	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tremor	0.60	1.60	0	0	0	0	0	0	0	0
	Convulsion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miosis	-1.80	-1.40	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muscle tone	-0.20	-1.20	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypothermia	0	-1.40	0	0	0	0	0	0	0	0
104 ^b (X51 + N54)	Mortality	5/5									
	Twitch	-									
	Tremor	-									
	Convulsion	-									
	Miosis	-									
	Salivation	-									
	Muscle tone	-									
	Hypothermia	-									
157 (X76 + N81)	Mortality	5/5									
	Twitch	-									
	Tremor	-									
	Convulsion	-									
	Miosis	-									
	Salivation	-									
	Muscle tone	-									
	Hypothermia	-									

Mortality: Cumulative number of animals found dead / number of animals treated.

a: Group mean score.

b: Expected LD₅₀.