



SUOMI—FINLAND
(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

[8] (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLÄGGNINGSSKRIFT 65530

C (45) Patentti myönnetty 11.06.1984
Patent meddelat.

(51) Kv. Ik.³/Int. Cl.³ A 01 N 43/16

(86) Kv. hakemus — Int. ansökan

(21) Patenttihakemus — Patentansöknings 813122

(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag 08.10.81

(23) Aikupäivä — Giltighetsdag 08.10.81

(41) Tulut julkaisuihin — Blivit offentlig 10.04.82

(44) Nähtävöityminen ja kuulutus julkaisun pvm. —
Ansökan utlagd och utskriften publicerad 29.02.84

(32)(33)(31) Pyydetty etuuskäytä — Begärd prioritet 09.10.80

USA(US) 195527 Toteennäytetty-Styrkt

(71) Sterling Drug Inc., 90 Park Avenue, New York, New York, USA(US)

(72) Nathan Norman Crounse, Myrtle Beach, South Carolina,
James Robert Heitz, Starkville, Mississippi, USA(US)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Synergistisiä hyönteismyrkkykoostumuksia -
Synergistiska insekticidsammansättningar

(57) Tiivistelmä

Keksintö kohdistuu synergeettisiin hyönteismyrkkykoostumuksiin muodostuen seoksista, jotka sisältävät vähintään yhtä hyönteismyrkkyä tehokasta ksanteeniväriä valittuna ryhmästä, johon kuuluvat erytrosiini ja Rose Bengal sekoitettuina oleellisesti hyönteismyrkkyä tehoittoman ja synergeettisesti vaikuttavan natriumfluoriseinin kanssa.

(57) Sammandrag

Uppfinningen hänför sig till synergistiska insekticidkompositioner, vilka består av åtminstone ett insekticidalt aktivt, vattenlösligt xantenfärgämne, vilket valts bland erytrosin och Rose Bengal, i blandning med insekticidalt väsentligen inaktivt och synergistiskt effektivt natriumfluorescein.

Synergistisiä hyönteismyrkkykoostumuksia

Esiteltävä keksintö kohdistuu uusiin synergistisiin hyönteismyrkkykoostumuksiin, jotka muodostuvat vesiliukoisten ksantaanivärien seoksista ja jotka sisältävät vähintään yhtä hyönteismyrkkynä tehokasta väriä valittuna joukosta, johon kuuluvat erytrosiini ja Rose Bengal, sekoitettuna oleellisesti hyönteismyrkkynä tehottoman natriumfluoreseiinin kanssa sekä menetelmään hyönteisten torjumiseksi mainituilla seoksilla.

Sekä erytrosiini että Rose Bengal yksinään käytettyinä sekä myös keskenään sekoitettuna ovat tunnetusti tehokkaita hyönteismyrkkyjä. Useimmissa merkittävässä alan tutkimuksissa liitetään teho hyönteismyrkkynä yleensä näkyvän valon foto-dynaamiseen vaikutukseen hyönteisiin tai niiden toukkiin, jotka on esikäsitelty väriaineella pimeässä ja joihin sitten on kohdistettu näkyvää valoa.

A. Barbieri, Rivista di Malariologica 7:456-63(1928) esittää, että jos 15 moskiiton (Culex) toukkaa käsiteltiin Rose Bengal'in vesiliuoksella pitoisuudella 1:30 000 ja niitä pidettiin pimeässä useita tunteja, kaikki toukat kuolivat kolmen tunnin aikana jouduttuaan diffuusiin auringonvaloon. Barberi esitti myös, että "useat toukat ja hyönteiskotelot" käsiteltyinä vesiliuoksella, joka sisälsi erytrosiinin ja Rose Bengal'in seosta, väkevyyden ollessa 1:30 000 ja pidettyinä useita tunteja kuolivat (yhtä hyönteiskoteloä lukuunottamatta) kahden ja puolen tunnin aikana altistuessaan diffuusille (auringon) valolle.

H. Schildmacher, Biol.Zentr. 69:468-77(1950) esittää, että Rose Bengal ja erytrosiini, kumpikin erikseen käytettynä, pitoisuudella 1:100 000 ovat vaikuttavia toukkamyrkkyinä toisen ja kolmannen toukka-asteen välillä moskiiton suhteen (Anopheles maculipennis) altistettaessa välittömästi käsiteltyt toukat suoralle auringonvalolle 130 minuutin ajaksi, mutta että uraniini (natriumfluoreseiini) hylättiin tehokkaana hyönteismyrkkynä, koska, samoissa testiolosuhteissa, kolmekymmentäkaksi toukkaa nejästäkymmenestä säilyi elossa verrattuna kolmeenkymmeneenyhdeksään neljästäkymmenestä eloonjääneestä

käsittelemättömästä vertailutoukasta. Erytsosiinin tapauksessa säilyi elossa viisi neljästäkymmenestä toukasta ja Rose Bengal'in tapauksessa yksikään neljästäkymmenestä toukasta ei säilynyt elossa. Tämä tutkija ilmoittaa myös, että eloonjääminen erytrosiinilla ja Rose Bengal'illa esikäsiteltyjen toukkien suhteen ennen altistamista valolle oli yhtäsuuri tai suurempi kuin eloonjääminen toukilla, joita oli pelkästään pidetty vedessä pimeässä saman ajan.

J.E. Fondren, Jr. ja J.R. Heitz, *Environmental Entomology* 7, no 6:843-46 (1978), esittävät että erytrosiini ja Rose Bengal yksittäin syötettyinä täysikasvuaisille kasvo-kärpäksille (*Musca autumnalis*) kumpaakin pitoisuudella 5×10^{-3} M 2-prosenttisessa maitosokeriliuoksessa ja pidettäessä kärpäsiä pimeässä fluoresoivalle valolle altistamisen seuraamana, aiheuttavat 8,16 ja 1,53 tuntia olevat LT_{50} -arvot vastaavasti, kun taas natriumfluoreseiini samalla pitoisuudella antaa suuremman kuin 48 tuntia olevan LT_{50} -arvon.

J.R. Broome, M.F. Callahan ja J.R. Heitz, *Environmental Entomology* 4, no 6:883-886 (1975) esittävät, että sekä erytrosiini että Rose Bengal ovat fotodynaamisesti kuolettavia mustan, tuotetun tulimuurahaisen (*Solenopsis richteri*) suhteen syötettynä erikseen koehyönteisille pimeässä 24 tunnin ajan pitoisuudella 5×10^{-3} M 1-prosenttisessä sukroosiliuoksessa altistamisen seuraamana fluorosesoivalle valolle eri pituisin ajoin.

T.P. Yoho, J.E. Weaver ja L. Butler, *J. Economic Entomology*, 64:972-3 (1971) esittävät, että huonekärpänen (*Musca Domestica*), jota on esisyötetty (pimeässä) joko erytrosiinilla tai Rose Bengal'illa liuotettuna maitosokeriliuokseen 0,125 prosentin pitoisuuteen, kuolleisuus altistuksen jälkeen luonnolliselle valolle on vastaavasti 89 ja 100 prosenttia, kun taas natriumfluoreseiini samoissa olosuhteissa ja samalla pitoisuudella ei omaa tappavaa vaikutusta.

J.R. Heitz ja W.W. Wilson, *Disposal and Decontamination of Pesticides*, ACS Symposium Series, no 73 (1978), esittävät että ksanteenivärien erytrosiinin, Rose Bengal'in ja natriumfluoreseiinin puoliintumisajat väkyvässä valossa ovat tuntien suuruusluokkaa ja että valossa hajaantunut jäännösmateriaali

on vähemmän myrkyllinen hyönteisten (huonekärpäsen) ja bakteerien suhteen kuin hajaantumattomat värit.

Esiteltävä keksintö antaa synergistisen hyönteismyrkkykoostumuksen muodostuen seoksesta, joka sisältää hyönteismyrkkynä tehokkaan määrän vähintään yhtä hyönteismyrkkyä valittuna ryhmästä, johon kuuluvat erytrosiini ja Rose Bengal, yhdessä synergistisesti tehokkaan määrän kanssa fluoreseiinin alkalimetallisuolaa, jonka osuus on alueella noin 0,3-1,0 paino-osaa yhtä paino-osaa kohti mainittua hyönteismyrkkyä.

Esiteltävä keksintö kohdistuu myös menetelmään hyönteisten torjumiseen tai surmaamiseen, mikä menetelmä käsittää hyönteisen saattamisen kosketukseen synergistisesti tehokkaan hyönteismyrkkykoostumuksen kanssa ja syömään sitä, koostumuksen ollessa seoksen, joka sisältää hyönteismyrkkynä tehokkaan määrän vähintään yhtä hyönteismyrkkyä valittuna ryhmästä, johon kuuluvat erytrosiini ja Rose Bengal, yhdessä synergistisesti tehokkaan määrän kanssa fluoreseiinin alkalimetallisuolaa, jonka määrä on alueella noin 0,3-1,0 paino-osaa yhtä paino-osaa kohti mainittua hyönteismyrkkyä.

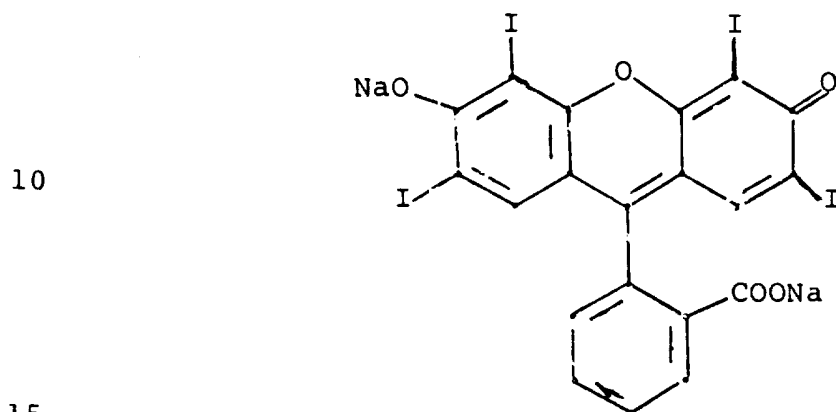
Termien "hyönteismyrkky" ja "hyönteismyrkkynä vaikuttava" on tässä yhteydessä tarkoitettu käsittävän tappavan vaikutuksen kyseessä olevan hyönteisen sekä toukkamuotoon että täysikasvuiseen muotoon.

Tässä käytettynä termi "synergistinen hyönteismyrkkykoostumus" tarkoittaa yhdistelmää tai seosta, joka sisältää vähintään yhtä hyönteismyrkkynä tehokasta yhdistettä ja oleellisesti hyönteismyrkkynä tehotonta yhdistettä, jolloin seoksen teho hyönteismyrkkynä on suurempi kuin koostumuksen kummankin aineosan tehojen summan vaikutus. Tässä käytettynä termiin "seos" sen tarkoittaessa natriumfluoreseiinin, erytrosiini B'n ja Rose Bengal'in yhdistelmää kuuluvat sekä väriaineiden kiinteiden muotojen seokset sekä myös vesiliuokset, jotka sisältävät väriaineiden seosta liuenneena.

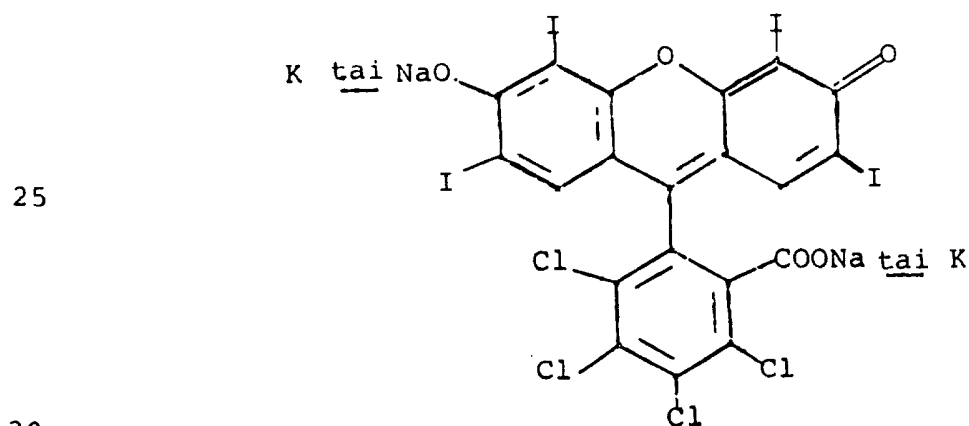
Vesiliukoiset ksantaanivärit, joita käytetään valmistettaessa tämän keksinnön mukaisia synergistisiä koostumuksia,

65530

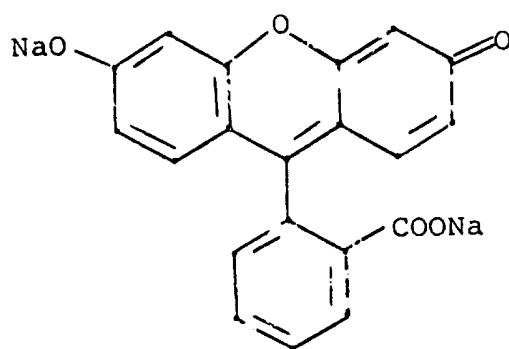
ovat kaikki vanhoja ja alalla hyvin tunnettuja, erikoisesti
väriainealalla. Hyönteismyrkkinä vaikuttava väri erytro-
siini on dinatrium-2', 4', 5', 7'-tetrajodofluoreseiini ja
tunnetaan myös C.I. väri-indeksin numerona 45430 nimellä
5 Acid Red 51 sekä nimellä erytrosiini B. Sen rakennekaava on



Hyönteismyrkkinä vaikuttava väriaine Rose Bengal on 4, 5, 6,
7-tetrakloro 2', 4', 5', 7'-tetrajodofluoreseiinin dikalium-
tai dinatriumsuola ja tunnetaan se myös C.I. väri-indeksin
numerona 45440 nimillä Acid Red 94 ja Rose Bengal B. Sen ra-
20 kennekaava on



Oleellisesti hyönteismyrkkinä tehottoman värin, nat-
riumfluoreseiinin rakennekaava on



5
10 ja tunnetaan se myös väri-indeksin numerona 45350 ja nimillä uraniini sekä C.I. Acid Yellow 73.

Nykyisessä ekologisessa ilmapiirissä useiden erittäin tehokkaisen hyönteismyrkkujen kuten DDT'n ja klordaenin käyttö on kielletty tai sitä on voimakkaasti rajoitettu niiden
15 kestävä myrkyllisyyden vuoksi eläimiin, jotka eivät ole myrkytyksen kohteina sekä ilmeisen vaaran vuoksi jäännösten leviämiseksi ihmiseen vesivarastojen ja ravintoketjun välityksellä. On pyritty kehittämään tehokkaita hyönteismyrkkyjä, joissa ei esiinny näitä haittoja. Yhdisteiden joukkoon, jotka
20 on todettu hyönteismyrkkyinä tehokkaiksi ilman epäedullisia jäteominaisuuksia, kuuluvat määrättyt ksanteenivärit. Erikoinen on kauan tiedetty, että erytsoniini ja Rose Bengal omaavat fotodynaamisesti vaikuttavan tehon hyönteismyrkkyinä hyönteisiin, jotka ovat syöneet väriaineita. Tiedetään myös, että
25 nämä värit sekä myös oleellisesti hyönteismyrkkyinä tehoton natriumfluoreseiini, joita on käytetty ravintoaineissa ja farmaseuttisissa tuotteissa, ovat oleellisesti myrkyttömiä ihmiselle ja niitä on kauan pidetty turvallisina ihmisen ravinnossa ja hoidossa. Lisäksi tiedetään myös, että nämä aineet
30 hajoavat näkyvän valon vaikutuksesta verrattain lyhyen ajan kuluessa. Täten erytrosiinilla ja Rose Bengal'illa on edullisia ominaisuuksia, mitkä tekevät ne hyväksyttäviksi laajalti levitettäessä hyönteismyrkyissä ympäristössä esimerkiksi moskiiton ja kärpästen torjunta-aineissa.

35 Aikaisemmin erytrosiinin ja Rose Bengal'in korkea hinta on haitannut näiden yhdisteiden käyttöä laajalti levitettävissä hyönteismyrkyissä. Esiteltävä keksintö antaa tavan tämän hankaluuden voittamiseksi yhdistämällä verrattain halvan ksanteeniväriä, natriumfluoreseiinin erytrosiinin ja/tai Rose Bengal'in

5 kanssa, jolloin huomattavasti vähennetään kalliimpien eryt-
rosiinin ja Rose Bengal'in tarvittavia määriä vastaavan
hyönteismyrkkyvaikutuksen saavuttamiseksi. Tämän seurauk-
sena näitä hyönteismyrkkyinä tehokkaita värejä voidaan
5 myös edullisesti käyttää surmaamisnopeuden suurentamiseksi
tarvitsematta käyttää näiden hyönteismyrkkyvärien suuria
pitoisuuksia niissä sovellutuksissa, joissa halutaan nope-
ampi hyönteismyrkyn vaikutus.

10 Tämän keksinnön mukaisia synergistisesti vaikutta-
via hyönteismyrkkykoostumuksia voidaan valmistaa ja käyttää
joko tehokkaasti keskenään sekoitettuina hienojakoisina kiin-
teinä aineina tai vesiliuoksina. Kulloinenkin muoto riippuu
halutusta määrätystä käytöstä. Täten jos halutaan "syötti"-
15 tyyppinen käyttö, voidaan syötti kyllästää käytetyn koostu-
muksen vesiliuoksella. Kiinteää muotoa voidaan käyttää myös
sellaisenaan tai sitä voidaan sekoittaa sopiviin lisäainei-
siin kiinteinä laimennusaineina, kuten esimerkiksi sokerin,
talkin, bentoniitin, kaoliinin tai piigeelin kanssa sovel-
luttu. Samoin esiteltävän koostumuksen vesiliuokset
20 tai haluttu. Samoin esiteltävän koostumuksen vesiliuokset
voivat haluttaessa sisältää erilaisia lisäaineita, kuten
pinta-aktiivisia aineita, haihtumista hidastavia aineita
ja dispergoivia aineita levittämistä varten laajoille alu-
eille ruiskuttamalla.

25 Erikoisen käyttökelpoisia "syötti"-tyyppisiin sovel-
lutuksiin kärpästen torjuntaan kuuluvat ne esiteltävän kek-
sinnön mukaiset koostumukset, joihin on lisätty sokeria tai
sokeriliuoksia. Esimerkiksi jotain huokoista, imukykyistä,
inerttiä materiaalia kuten puuvillaa, selluloosavanua, suo-
30 turvetta ja vastaavia aineita voidaan kyllästää sokeriliuok-
sella, joka on valmistettu liuottamalla tämän keksinnön mu-
kaisia koostumuksia sokeriliuokseen ja kyllästämällä johonkin
sopivaan muotoon muodostettua materiaalia hyönteisten syö-
teiksi.

35 Esiteltävien synergististen hyönteismyrkkykoostumusten
vesiliuokset ovat erikoisen sopivia ruiskutettaviksi. Niitä
voidaan helposti käyttää kärpästen torjuntaan maitotaloudessa
ja siipikarjataloudessa, jolloin on välttämätöntä käsitellä

ruiskuttamalla meijereiden lattioita ja kanaloiden häkki-
rakennelmien alapuolella olevia altaita. Niitä voidaan
käyttää myös karpästen torjuntaan niissä eläinten ruokinta-
ja kasvatustehtävissä, joissa eläinten muodostamat jätteet
5 aiheuttavat vaikeuksia karpästen torjunnassa. Täten esi-
teltäviä koostumuksia voidaan käyttää vesiruiskeissa kä-
siteltäessä navetoiden ja sikaloiden lattioita sekä rako-
lattioilla varustettujen navettojen alapuolella olevia al-
10 taita. Esiteltävän keksinnön sekä kiinteät että liuosmaiset
muodot soveltuvat moskiittojen torjuntaan. Tällöin vesi-
liukoisia kiinteitä koostumuksia voidaan pölyttää käsitel-
tävän veden pinnalle, johon ne liukenevat helposti ja tou-
kat pystyvät syömään niitä. Vaihtoehtoisesti koostumusten
15 liuoksia voidaan ruiskuttaa käsiteltävän veden pinnalle tai
niitä voidaan dispergoida veteen jonkun alalla tunnetun me-
netlmän avulla.

Esiteltäviä koostumuksia voidaan valmistaa helposti
kiinteässä muodossa sekottamalla huolellisesti keskenään
20 aineosien mitatut määrät jollakin sopivalla tavalla, esimer-
kiksi nauhasekoittimen, kuulamylllyn tai V-muotoisen vaippa-
sekoittimen avulla. Koostumuksien vesiliuoksia voidaan
helposti valmistaa liuottamalla yksinkertaisesti peräkkäin
tai samanaikaisesti yksittäiset aineosat veteen haluttuina
25 pitoisuuksina. Vaihtoehtoisesti voidaan valmistaa jokai-
sesta aineosasta tunnetun väkevyyden omaava varastoliuos
erikseen ja mitatut tilavuusmäärät erillisiä liuoksia voi-
daan sitten yhdistää.

HYönteismyrkkynä vaikuttamattoman fluoreseiinin alka-
30 limetallisuolan suhde hyönteismyrkkyinä tehokkasiin erytro-
siini B:hen ja Rose Bengal'iin esiteltävissä koostumuksissa
voi vaihdella laajasti ja rajoittaa sitä vain mainitun fluo-
reseiinin alkalimetallisuolan suurimmat pienimmät määrät,
jotka ovat synergeettisesti vaikuttavia. Tätä suhdetta voi-
35 daan siten säätää edullisimpien tasojen mukaan haluttujen ta-
loudellisten näkökohtien ja vaikutusten mukaan hyönteismyrk-
kynä. Erikoisen suositeltava suhde on alueella noin 0,3-
1,0 paino-osaa fluoreseiinin alkalimetallisuolaa yhtä paino-
osaa kohti mainittua hyönteismyrkkyväriä.

65530

Määrättyyn hyönteismyrkkysovellutukseen käytetyn esiteltävän koostumuksen väkevyys, joko kiinteässä muodossa tai liuoksena, riippuu täysin sellaisista tekijöistä kuin niiden käyttömuodosta, s.o. ovatko ne syöttinä, ruiskutteenä, 5 pölytettävänä jauheena jne, laimentimen tai kantajan luonteesta ja tehokkuudesta, joihin koostumuksia lisätään ja käyttötavasta. Lisäksi koostumuksia voidaan valmistaa väkevöityinä liuoksina niiden saamiseksi sopiviksi kuljetusta ja varastointia varten. Väkevöidyt liuokset voidaan sitten 10 laimentaa haluttuun pitoisuuteen kulloistakin sovellutusta varten välittömästi ennen käyttöä.

Tämän keksinnön mukaiset synergistiset koostumukset ovat tehokkaita kaksisiipisiä hyönteisiä (Diptera) vastaan, erikoisesti Muscidae-lahkoa, esimerkiksi Musca domestica la- 15 jia ja Culicidae-lahkoa, esimerkiksi Aedes Triseriatus ja Culex pipiens quinquefasciatus lajeja vastaan.

Seuraavat esimerkit kuvaavat erilaisia keksinnönmu- kaisia hyönteismyrkkykoostumuksia ja niiden tehoa koetoukka ja -hyönteisiä vastaan. Esimerkeissä käytetty testaustapa 20 seuraa yleisesti alalla tunnettua testimenettelyä ksanteeni- värien hyönteismyrkkyvaikutusten tutkimiseksi, jolloin koe- hyönteisiä esikäsitellään pimeässä ja ne altistetaan sitten näkyvälle valolle. Tätä testausmenettelyä käytettiin vertai- lukelpoisten tulosten saamiseksi yksittäin käytettyjen hyön- 25 teismyrkkyvärien kanssa alalla aikaisemmin käytetyn testime- nettelyn mukaisesti. Esimerkit ovat pelkästään kuvaavia ei- vätkä ne rajoita keksintöä niihin.

Esimerkki 1

30 Kaikkiaan neljäänkymmeneen 250 ml vetoiseen läpinäky- vään muovimaljaan pantiin kuhunkin 100 ml tislattua vettä ja 10 neljännän toukka-asteen Aedes triseriatus-lajin toukkaa (Diptera: Culicidae) pantiin jokaiseen maljaan. Kymmenen mal- 35 jan muodostaman ryhmän jokaiseen maljaan pantiin Rose Bengal'n $2,5 \times 10^{-3}$ M vesipitoista varastoliuosta määrä, joka vastasi lopullista laimennusta 102 ppm ja natriumfluoreseiinin $2,5 \times 10^3$ M vesipitoista varastoliuosta määrä, joka vastasi lopul- lista laimennusta 61 ppm, lisättiin toisen kymmenen maljan

muodostaman ryhmän jokaiseen altaaseen. Samat määrät kum-
 paakin varastoliuosta lisättiin sitten kolmannen kymmenen
 maljan muodostaman ryhmän jokaiseen maljaan niin, että jokai-
 seen maljaan saatiin lopullisessa laimennuksessa yhdistelmä,
 5 joka sisälsi 102 ppm Rose Bengal'ia ja 61 ppm natriumfluo-
 reseiinia. Neljättä kymmenen maljan muodostamaa ryhmää käy-
 tettiin vertailuun, jolloin vain tislattu vesi muodosti väli-
 aineen toukille. Kaikkien ryhmien maljaan lisättiin alfalfa-
 tabletti ravinnoksi ja hyönteisiä inkuboitiin välittömästi
 10 täydellisessä pimeydessä kaikkiaan 18 tuntia ennen altis-
 tamista valolle. Inkubaatiojakson aikana voivat toukat naut-
 ta väriaineita.

Maljoissa olevat toukat altistettiin sitten tasaisesti
 valolle saatuna kahdesta Sylvania'n kylmävalo-fluoresenssi-
 15 lampusta, jotka antoivat valon forometrisesti mitatuksi voi-
 makkuudeksi liuosten pinnalle arvon $1250 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$. Toukkien
 kuolleisuutta valvottiin tunneittain, kunnes likimain 50-pro-
 senttinen kuolleisuus esiintyi toukissa, joille oli suoritettu
 Rose Bengal käsittely. Kuolema todettiin liikkumattomuutena
 20 toukkaa koskettaessa. Samalla tavalla toinen neljännes touk-
 ka-asteen ryhmä jokaisesta esikäsitelystä ryhmästä (400 touk-
 kaa käsittelyä kohti) valmistettuna edelläesitellyllä tavalla
 altistettiin keskipäivän auringolle Mississippi'ssa heinäkuu
 puolivälin päivänä. Auringonvalon voimakkuus liuosten pin-
 25 nalla vaihteli välillä 5600 $6500 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ fotometrin avulla
 mitattuna mitattuna ilmastollisten olosuhteiden vaikutuksesta.
 Toukkien kuolleisuus mitattiin 10 minuutin välein, kunnes noin
 50 prosentin kuolleisuus esiintyi Rose Bengal käsittelyn saa-
 neissa toukissa. Tulokset on esitetty seuraavassa taulukossa I.

30

Taulukko I

Aedes Triseriatus-toukkien neljännes toukka-asteen pro-
 sentuaalinen kuolleisuus käsiteltäessä natriumfluoreseiini/
 Rose Bengal väriseoksella ja altistettaessa näkyvälle valolle.

65530

Käsittely	Annos (ppm)	Fluoresoiva valo (18 h)	Auringonvalo (20 min)
Vertailu		0,0	0,0
5 Natriumfluoreseiini	61	0,0	0,0
Rose Bengal	102	53,3	47,5
Rose Bengal:	102:61	86,7	97,0
natriumfluoreseiini			

10 Nämä arvot osoittavat, että pelkästään Rose Bengal'illa käsiteltyjen toukkien noin 50-prosenttinen kuolleisuus esiintyi 18 tunnin jälkeen altistamisesta fluoresoivalle valolle ja 20 minuutin jälkeen altistusta auringonvalolle. Ne osoittavat myös, että toukat eivät kuolleet käsiteltäessä pelkästään natriumfluoreseiinilla. Kuitenkin yhdistettäessä

15 natriumfluoreseiini ja Rose Bengal kasvoi seoksen aiheuttama toukkien kuolleisuus 62,7 prosenttia fluoresoivaa valoa käytettäessä ja 66,3 prosenttia auringonvalossa verrattuna vastaaviin kuolleisuusarvoihin käytettäessä yksinomaan Rose Bengal'ia. Nämä arvot osoittavat, että saavutetaan huomattavasti

20 parantunut (synergeettinen) hyönteismyrkkyvaikutus A. trise-riatus-toukkia vastaan käsiteltäessä niitä yhdistelemällä, joka sisältää 0,6 osaa selvästi hyönteismyrkkinä tehotonta natriumfluoreseiiniä yhtä osaa kohti hyönteismyrkkinä vaikuttavaa Rose Bengal'ia.

25 Esimerkki 2

Kaikkiaan kahteenkymmeneen 250 ml vetoiseen läpinäkyvään muovimaljaan pantiin jokaiseen 100 ml tislattua vettä ja 20 Culex pipiens quinquefasciatuslajin neljänneen toukkaa pantiin jokaiseen maljaan. Jokaiseen viiden maljan muodostaman ryhmän maljaan lisättiin Rose Bengal'in $2,5 \times 10^{-3} M$ (paino/tilavuus) vesipitoista varastoliuosta määrä, jolla

30 lopulliseksi laimennukseksi saatiin 4,0 ppm ja toisen viiden maljan muodostaman ryhmän jokaiseen maljaan lisättiin natriumfluoreseiinin $215 \times 10^{-3} M$ (paino/tilavuus) vesipitoista varastoliuosta määrä, jolla lopulliseksi laimennukseksi saatiin 4,0 ppm. Samat määrät molempia varastoliuoksia lisättiin

35

sitten kolmannen viiden maljan muodostaman ryhmän maljoihin niin, että jokaiseen maljaan saatiin laimennukseksi yhdistelmä, joka sisälsi 4,0 ppm Rose Bengal'ia ja 4,0 ppm natriumfluoreseiinia. Neljäs viiden maljan muodostama ryhmä toimi vertailuna, jolloin tislattu vesi oli ainoa väliaine toukkia varten. Kaikkien ryhmien jokaiseen maljaan lisättiin yksi alfalfa-tabletti ravinnoksi, minkä jälkeen maljoissa olevat toukat altistettiin välittömästi valolle 24 tunnin ajaksi saatuna kahdesta General Electric'in kylmävalo-fluoresenssilampusta. Valon fotometrisesti mitattu voimakkuus liuostan pinnalla oli $1200 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$. Toukkien kuolleisuus mitattiin 30 minuutin välein.

Edelläesietty menettely toistettiin käyttäen seitsemää muuta Rose Bengal'in ja natriumfluoreseiinin pitoisuutta, jolloin käytettiin 8, 16, 32, 128, 256 ja 512 ppm pitoisuuksia sekä erikseen että yhdistettynä yhtä suurin osuuksin. Näissä kokeessa eri aikaväleihin havaitut kuolleisuudet on esitetty seuraavassa taulukossa II.

Taulukko II

Culex pipiens quinquefasciatus-toukkien neljännen toukka-asteen prosentuaalinen kuolleisuus käsiteltäessä natriumfluoreseiini/Rose Bengal-väri-seoksella ja altistettaessa fluoroisoivalle valolle.

Käsittely	Annos (ppm)	Kuolleisuusprosentti					
		Valaisuaika (tuntia)					
		2	4	8	16	24	
Vertailu	-	0	0	0	0	0	
Fluoreseiini	4	0	0	0	0	0	
	8	0	0	0	0	0	
	16	0	0	0	0	0	
	32	0	0	0	0	0	
	64	0	0	0	0	0	
	128	0	0	0	0	0	
	256	0	0	0	0	0	
	512	0	0	0	0	0	
Rose Bengal	4	0	0	0	0	0	
	8	0	0	0	0	0	
	16	0	0	0	2,5	27,5	
	32	0	0	2,6	28,2	53,8	
	64	0	0	12,5	42,5	72,5	
	128	0	0	17,5	55,0	92,5	

	256	0	5,0	17,5	87,5	97,5
	512	0	7,5	20,0	95,0	97,5
Rose Bengal:						
5	Fluoreseiini	4:4	0	0	0	0
		8:8	0	0	2,5	17,5
		16:16	0	0	5,0	27,5
		32:32	0	0	10,0	40,0
		64:64	0	2,5	17,5	52,5
10		128:128	0	5,0	27,5	90,0
		256:256	0	7,5	30,0	95,0
		512:512	0	7,5	35,0	100,0

Nämä arvot osoittavat synergistisen hyönteismyrkkyvaikutuksen, minkä natriumfluoreseiini aiheuttaa käsiteltäessä. C.p. quinquefasciatus-toukkia yhdistelmällä, joka sisältää yhtä suuret paino-osuudet selvästi hyönteismyrkkinä vaikuttavaa Rose Bengal'ia ja selvästi hyönteismyrkkinä tehotonta natriumfluoreseiinia verrattaessa kuolleisuusprosenttiin saatuna käytettäessä vastaava määrä pelkästään Rose Bengal'ia. Synergistinen vaikutus ilmenee selvästi kahdeksannen ja kuudennessa tunnissa välillä ja niinkin pienellä annosmäärällä kuin 8 ppm Rose Bengal-aineosaa hyönteismyrkkyseoksessa.

Natriumfluoreseiinin ja Rose Bengal'in vertailevat vaikutukset hyönteismyrkkinä käytettynä yksitellen ja yhtä suurien painopitoisuuksien yhdistelmänä C.p. quinquefasciatus-toukkien neljännen toukka-asteen suhteen LT_{50} arvoina (valaisuaika, joka vaaditaan 50 prosentin kuolleisuuteen) funktiona annospitoisuudesta määritettiin taulukosta II otettujen arvojen logaritmi muunnoksen avulla tilastollista analyysiä varten. Tulokset on esitetty seuraavassa taulukossa III.

Taulukko III

Natriumfluoreseiini/Rose Bengal-väri-seoksen hyönteismyrkkyvaikutuksen ajallinen teho *Culex pipiens quinquefasciatus*'ta vastaan valoitettaessa fluoresoivalla valolla.

Käsittely	LT ₅₀ -arvo (valaisuaika) Annosmäärä (ppm)							
	4	8	16	32	64	128	256	512
Natriumfluoreseiini	I	I	I	I	I	I	I	I
5 Rose Bengal	I	I	I	22.3	16.9	13.1	9.9	9.0
Rose Bengal:	I	I	22.5	16.6	13.4	9.2	8.3	6.8
natriumfluoresiini 1:1								

10 I = Ei vaikutusta tai arvot riittämättömät tilastanalyysiä varten.

15 Nämä arvot osoittavat natriumfluoreseiinin synergistisen vaikutuksen Rose Bengal'iin siinä suhteessa, että yhdistelmät, jotka sisältävät yhtä suuret paino-osuudet hyönteismyrkkinä tehotonta natriumfluoreseiinia ja hyönteismyrkkinä tehokasta Rose Bengalia, aiheuttavat likimain saman prosentuaalisen kuolleisuuden C.p. quinquefasciatus-toukkien neljänsille toukkaasteille noin 20-25 prosenttia lyhyemmän ajan kuluessa kuin pelkästään Rose Bengal käytettynä samana pitoisuutena.

20 Natriumfluoreseiinin ja Rose Bengal'in teho hyönteismyrkkinä käytettäessä yksinään tai yhtä suurien paino-osuuksien yhdistelmänä C.p. quinquefasciatus-toukkien neljänsiä toukka-asteita vastaan ilmoitettuna LC₅₀-arvoina (pitoisuus, joka vaaditaan 50-prosenttista kuolleisuutta kohti annettuna aikana) määritettiin taulukosta II otettujen arvojen logaritmisella muunnoksella tilastanalyysiä varten. Tulokset on esitetty taulukossa IV.

30 Taulukko IV

Natriumfluoreseiini/Rose Bengal-väri-seoksen pitoisuuden vaikutus hyönteismyrkkytehoon *Cules pipiens quinquefasciatus*'ta vastaan valotettaessa fluoresoivalla valolla.

		LC ₅₀ (ppm)				
		valaisuaika (tuntia)				
Käsittely		2	4	8	16	24
Natriumfluoreseiini	I	I	I	I	I	I
5 Rose Bengal	I	I	I	86.3	29.9	
Rose Bengal:	I	I	I	35.1	13.6	
natriumfluoreseiini						
1:1 (paino)						

10 I = Ei vaikutusta tai arvot riittämättömät tilastanalyysiä varten.

15 Nämä arvot osoittavat, että noin 55-60 prosenttia pienempiä pitoisuuksia tarvitaan Rose Bengal'in ja natriumfluoreseiinin yhtä suurien paino-osuuksien yhdistelmiä varten likimain saman hyönteismyrkkyvaikutuksen saavuttamiseksi C.p. quinquefasciatus-toukkia vastaan valotettuna fluoresoivalla valolla kuin käytettäessä pelkästään Rose Bengal'ia, mikä osoittaa natriumfluoreseiinin synergeettisen vaikutuksen Rose Bengal'iin.

20 Esimerkki 3

25 Seuraavassa esitettävää menettelyä käyttäen laboratoriossa kasvatettua lajia olevia täysikasvuisia huonekärpäsiä (Musca domestica) bioanalysoitiin erytrosiini B'n ja natriumfluoreseiinin seosten vaikutuksen suhteen hyönteismyrkkyinä verrattuna pelkästään erytrosiini B'n vaikutukseen hyönteismyrklynä. Kahdeksasta kymmeneen vuorokauden vanhoja huonekärpäsiä sijoitettiin läpinäkyvään muovimaljaan (tilavuus 250 ml, läpimitta 11,5 cm, korkeus 4,5 cm) varustettuna alumiinikannella ja 13 mm pituisella puuvillaisella hammastamponilla sijoitettuna muovimaljaan sen pohjalle. Käyttäen tutkittavan värin $2,5 \times 10^{-3} M$ varastoliuosta valmistettiin tunnetun väripitoisuuden omaava liuos 2-prosenttiseen sokeriliuokseen ja sitä levitettiin ylimäärin puuvillatamponille. Kärpäsiä pidettiin täydellisessä pimeydessä 24 tuntia ennen niiden altistamista valolle, minä aikana niitä ruokittiin vain väriliuoksella. Valmistettiin 8-10 samanlaista säiliötä, jotka sisälsivät 80-100 hyönteistä kaikkiaan, jokaista värikäsittelyä varten. Samoin valmistettiin vertailumalja ilman väriainetta.

24 tunnin esikäsittelyn jälkeen täydellisessä pimeydessä kannella peitetyissä maljoissa olevat kärpäset altistettiin tasaisesti valolle saatuna kahdesta General Electric'in kylmävalo-fluoresenssilampusta, jotka antoivat fotomet-

5 rillä mitatuksi valon voimakkuudeksi $1200 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ maljan syvyyden keskikohdalla. Maljassa ei kehittynyt merkittävää määrää lämpöä. Kuolleisuus määritettiin esikäsittelyajan (pimeyden) suhteen ja sitten puolen tunnin välein valaisun alkamisesta. Kaikki hyönteiset, jotka kuolivat ennen al-

10 tistamista valolle, poistettiin esikäsitteltyjen hyönteisten kokonaismäärästä.

Edelläesitetty altistusmenettely suoritettiin myös käsittelemättömille vertailuhyönteisille ja hyönteisille syötettiin kolmea eri natriumfluoreseiinipitoisuutta, viittä

15 erytrosiini B-pitoisuutta ja viittä eryteosiini B/natriumfluoreseiini-seosta, jotka sisälsivät noin 0,43 paino-osaa natriumfluoreseiiniä yhtä paino-osaa kohti erytrosiini B:tä. Näissä kokeissa eri aikavälein saadut prosentuaaliset kuol-

20 leisuudet on esitetty yhteenvedettyinä seuraavassa taulukossa V.

Taulukko V
 Täysi-ikäisen Musca domestica'n prosentuaalinen
kuolleisuus käsiteltäessä natriumfluoreseiini/erytrosiini B
värioseoksella ja valaistuksessa fluoresoivalla valolla

Annos		Prosentuaalinen kuolleisuus										
Käsittely (ppm)		Valaisuaika (tuntia)										
		0.3	0.5	7.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	12.0	24.0
Vertailu	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Natriumfluc-	11.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
reseiini	49.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	189.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Erytrosiini	26.4	0	0	0	0	0	0	0	0	14.1	33.3	33.3
	52.8	0	0	0	0	0	0	1.0	1.0	37.4	84.8	84.8
	114.4	0	0	1.0	3.0	4.0	7.0	11.0	16.0	21.0	47.0	98.0
	220.0	2.0	5.1	12.1	20.2	27.3	32.3	37.5	44.4	55.6	77.8	100.0
	440.0	6.1	15.2	29.3	42.7	60.6	65.7	66.7	73.7	78.8	89.9	100.0
Erytrosiini	26.4:11.2	0	0	0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	33.3	55.6
B Natrium	52.8:22.7	0	0	1.0	2.0	3.0	3.0	4.0	5.0	5.0	54.5	90.9
fluoreseiini	114.4:49.0	1.0	3.0	6.0	9.0	10.0	12.0	18.0	19.0	20.0	63.0	100.0
	220.0:94.5	5.1	16.2	22.0	28.3	34.0	40.4	45.5	52.5	60.6	80.8	100.0
	440.0:189.0	16.0	34.0	46.0	57.0	67.0	71.0	73.0	75.0	78.0	89.0	100.0

Nämä arvot osoittavat synergistisen hyönteis-
myrkkyvaikutuksen eri pitoisuuksilla saatuina hyönteis-
myrkkynä tehottoman natriumfluorseiinin vaikutuksesta yh-
distettynä hyönteismyrkkynä tehokkaan erytrosiini B'n
5 kanssa painosuhteessa noin 0,4 paino-osaa natriumfluore-
seiinia jokaista paino-osaa kohti erytrosiini B'tä käsitel-
täessä täysi-ikäisiä huonekärpäsiä verrattuna prosentuaa-
liseen kuolleisuuteen aiheutuneena saman painomäärän vaiku-
tuksesta pelkästään erytrosiini B'tä. Synergeettinen vaiku-
10 tus ilmenee erikoisen selvästi 1,5 ja 3,5 tunnin välillä ja
niin alhaisilla annostasoilla kuin 26,4 ppm erytrosiini B'tä
yhdessä 11,2 ppm kanssa natriumfluoreseiinia.

Natriumfluoreseiinin ja erytrosiini B'n hyönteismyrk-
kyvaikutuksen vertailu eri pitoisuuksilla käytettynä erik-
15 seen ja yhdistettynä 0,4 paino-osaa natriumfluoreseiinia
ja yksi paino-osa erytroseiini B'tä täysi-ikäisiä huonekär-
päsiä vastaan LT_{50} -arvojen mukaan funktiona annospitoisuu-
desta määritettiin taulukossa V esitettyjen arvojen loga-
ritmisen muunnoksen avulla tilastanalyysiä varten. Tulok-
20 set on esitetty seuraavassa taulukossa VI.

Taulukko VI

Natriumfluoreseiini/erytroosiini B-väri-seoksen ajallinen teho hyönteis-
myrkkynä Musca domestica'n suhteen valaistaessa fluoresoivalla valolla

Käsittely	LT ₅₀	tunneissa	valaistus (annosmäärä ppm)		
Natrium- fluoreseiini	I (11,2)	I (22,7)	I (49,0)	I (94,5)	I (189,0)
Erytroosiini B	I (26,4)	14,1 (52,8)	12,3 (114,4)	4,2 (220,0)	1,7 (440,0)
Erytroosiini B:	20,2 (26,4:)	10,9 (52,8:)	8,6 (114,4:)	3,2 (220,0:)	1,1 (440,0:)
Natriumfluore- seiini	11,2	22,7	49,0	94,5	189,0

18

I = ei vaikutusta tai arvot riittämättömiä tilastoanalyysiä varten

65530

- Nämä arvot osoittavat natriumfluoreseiinin syner-
gistisen vaikutuksen yhdistettynä erytrosiini B'n kanssa,
jolloin yhdistelmä sisältää noin 0,4 paino-osaa hyönteis-
myrkkynä tehotonta natriumfluoreseiiniä yhtä paino-osaa
5 kohti hyönteismyrkkynä tehokasta erytrosiini B'tä, antaen
likimain saman kuolleisuusprosentin täysi-ikäisten huone-
kärpästen suhteen noin 22-35 prosenttia lyhyemmän ajan ai-
kana kuin pelkästään erytrosiini B käytettynä yhtä suurena
pitoisuutena.
- 10 Natriumfluoreseiinin ja erytrosiini B'n vaikutus hyön-
teismyrkkynä käytettynä erikseen ja yhdistelminä, joissa
painosuhteet olivat noin 0,4 paino-osaa natriumfluoresei-
nia yhtä paino-osaa kohti erytrosiini B'tä, täysi-ikäisiin
huonekärpäsiin LC_{50} -arvoina määritettiin taulukosta V otet-
15 tujen arvojen logaritmimuunnoksen avulla tilastanalyysiä
käyttäen. Tulokset on esitetty seuraavassa taulukossa VII.

Taulukko VII

Natriumfluoreseiini/erytroosiini B-väri-seoksen väkevyyden vaikutus hyönteis-
myrkyn tehoon valaistaessa fluoresoivalla valolla

Käsittely	LC ₅₀ (ppm)										
	valaisu (tuntia)										
	0.3	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	12.0	24.0
Natrium- fluoreseiini	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Erytroosiini B	I	I	607.1	483.9	351.9	325.5	299.1	255.1	211.1	96.7	35.2
Erytroosiini B:	1223:	607.1:	466.3:	395.9	316.7:	281.5:	255.1:	228.7:	211.1:	52.7:	26.4:
Natriumfluore- seiini (ppm)	525.8	261.0	200.4	170.2	136.1	121.0	109.7	98.3	90.7	22.6	11.2

I = ei vaikutusta tai arvot riittämättömät tilastoaalysyysia varten

Nämä arvot osoittavat natriumfluoreseiinin syner-
gistisen vaikutuksen erytrosiini B'n vaikutukseen hyönteis-
myrkkynä, jolloin suunnilleen voidaan saavuttaa sama kuol-
leisuusaste huonekärpäsiin käytettäessä erytrosiini B'n yh-
5 distelmää natriumfluoreseiinin kanssa likimääräisessä suh-
teessa 0,4 paino-osaa natriumfluoreseiinia yhtä paino-osaa
kohti erytrosiini B'tä kuin käytettäessä yksinomaan suurempia
määriä erytrosiini B'tä. Täten noin 10-20 prosenttia vähem-
män erytrosiini B'tä tarvitaan vastaavia LC_{50} -arvoja varten
10 seoksessa altistuksen valolle ollessa 4 tuntiin asti ja noin
25-40 prosenttia vähemmän altistuksen valolle ollessa 12-24
tuntia.

Esimerkki 4

Edellä esimerkissä 3 esitetyn testimenettelyn mu-
15 kaan bioanalysoitiin laboratoriossa kasvatettua, täysi-ikäis-
tä *Musca domestica* kärpäslajia Rose Bengal'ia ja natriumfluo-
reseiinia sisältävien seosten hyönteismyrkkyvaikutuksen mää-
räämiseksi verrattuna pelkästään Rose Bengal'in tehoon hyön-
teismyrkkynä.

20 Tutkimuksessa käytettiin kolmea natriumfluoreseiini-
pitoisuutta, viittä Rose Bengal'in pitoisuutta ja viittä Rose
Bengal/natriumfluoreseiini-seoksen pitoisuutta, jotka sisäl-
sivät noin 0,35 paino-osaa natriumfluoreseiinia yhtä paino-
osaa kohti Rose Bengal'ia. Näissä testeissä eri aikaväleihin
25 havaitut kuolleisuusprosentit on esitetty seuraavassa tau-
lukossa VIII.

Taulukko VIII

Täysi-ikäisen *Musca Domestica*'n prosentuaalinen kuolleisuus käsiteltäessä natriumfluoresiini/Rose Bengal-väriaineseoksella ja altistettaessa valolle

5

Kuolleisuusprosentti

Valaisuaika (tuntia)

Käsittely	Annos (ppm)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Vertailu	---	0	0	0	0	0	0
10 Natriumfluoreseini	11.2	0	0	0	0	0	0
	49.0	0	0	0	0	0	0
	189.0	0	0	0	0	0	0
	Rose Bengal	0	0	0	0	0	0
	30.6	0	0	0	0	0	0
15 Rose Bengal:	61.2	0	0	0	0	10	10
	132.6	0	4	20	32	48	56
	255.0	8	32	62	70	78	94
	510.0	6	14	34	58	80	84
	Rose Bengal:						
Natriumfluoreseini	30.6:11.2	0	0	0	0	0	0
	61.2:22.7	0	0	0	0	6	22
	132.6:49.0	4	8	16	42	64	86
	255.0:94.5	14	32	60	82	98	100
	510.0:189.0	16	40	66	80	94	100

20

Nämä arvot osoittavat synergistisen vaikutuksen esitetyillä pitoisuuksilla saatuna hyönteismyrkkinä tehottoman natriumfluoreseinin avulla yhdistettäessä hyönteismyrkkinä tehokkaan Rose Bengal'in kanssa suhteessa noin 0,37 paino-osaa natriumfluoreseiniä yhtä paino-osaa kohti Rose Bengal'ia ja käsiteltäessä täysi-ikäisiä huonekärpäsiä verrattuna prosentuaaliseen kuolleisuuteen saatuna käyttäen samaa painomäärää pelkästään Rose Bengal'ia. Synergistinen vaikutus on erikoisen ilmeinen välillä 2,0-3,0 tuntia ja pitoisuuksilla vain jopa 49,0 ppm natriumfluoresiinia yhdessä 132,6 ppm kanssa Rose Bengal'ia.

Vertaileva tutkimus hyönteismyrkkytehokkuudesta täysi-ikäisiä huonekärpäsiä vastaan käyttäen natriumfluoreseiniä ja Rose Bengal'ia eri pitoisuuksilla erikseen ja keskenään sekoitettuna suhteessa noin 0,37 paino-osaa natriumfluoreseiniä yhtä paino-osaa kohti Rose Bengal'ia LT_{50} -arvojen

mukaan suoritettiin taulukosta VIII saatujen arvojen mukaan logaritmimuunnosta käyttäen tilastollista analyysiä varten. Tulokset on esitetty seuraavassa taulukossa.

65530

Taulukko IX

Natriumfluoreseiini/Rose Bengal-värireseoksen ajallinen vaikutus hyönteismyrkyn
tehoon Musca domestica'n suhteen valaistuksessa fluoresoivalla valolla

Käsittely	LT ₅₀ valaisutunteina (annoksen väkevyyden ppm)			
Natriumfluoreseiini	I (11.2)	I (22.7)	I (49.0)	I (94.5)
Rose Bengal	I (30.6)	I (61.2)	2.6 (132.6)	1.3 (255.0)
Rose Bengal: Natriumfluoreseiini	I (30.6) (11.2)	I (61.2) (22.7)	1.8 (132.6) (49.0)	1.3 (255.0) (94.5)
				1.1 (510.0) (189.0)

I = Ei vaikutusta tai arvot riittämättömät tilastotoanalyysiä varten

Taulukon IX arvot osoittavat, että yhdistelmät, jotka sisältävät noin 0,37 paino-osaa hyönteismyrkkinä tehotonta natriumfluoreseiinia yhtä paino-osaa kohti hyönteismyrkkinä tehokasta Rose Bengal'ia, antavat likimain saman prosentuaalisen kuolleisuuden täysi-ikäisiin huonekärpäsiin noin 30-35 prosenttia lyhyemmän ajan aikana kuin Rose Bengal samana pitoisuutena yksinään käytettynä.

Natriumfluoreseiinin ja Rose Bengal'in tehokkuus hyönteismyrkkinä käytettynä erikseen ja yhdistelmänä painosuhteessa noin 0,37 paino-osaa natriumfluoreseiinia yhtä paino-osaa kohti Rose Bengal'ia täysi-ikäisiä huonekärpäsiä vastaan LC_{50} -arvojen mukaan määritettiin taulukosta VIII otettujen arvojen avulla logaritmimuunnosta käyttäen tilastollista analyysiä varten. Tulokset on esitetty seuraavassa taulukossa X.

Taulukko X

Pitoisuuden vaikutus natriumfluoreseiini/Rose Bengal-väri-seoksen tehoon hyönteismyrkkinä *Musca domestica*'aa vastaan valotettaessa fluoresoivalla valolla

Käsittely	LC_{50} (ppm)					
	Valaisuaika (tuntia)					
Käsittely	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Natriumfluoreseiini	I	I	I	I	I	I
Rose Bengal	I	I	214.1	173.3	142.8	122.4
Rose Bengal:	I	540.4:	224.3:	142.8:	112.2:	91.7:
natriumfluoreseiini		200.5	83.2	53.0	41.6	34.1

I = ei vaikutusta tai arvot riittämättömät tilastanalyysiä varten

Nämä arvot osoittavat natriumfluoreseiinin synergistisen vaikutuksen Rose Bengal'iin siinä, että likimain sama kuolleisuusaste aiheutuu huonekärpäsiin käytettäessä Rose Bengal'in ja natriumfluoreseiinin yhdistelmiä, jotka sisältävät noin 0,37 paino-osaa natriumfluoreseiinia yhtä

65530

paino-osaa kohti Rose Bengal'ia kuin saadaan käytettäessä vain yksinään suurempia Rose Bengal-pitoisuuksia.

Täten likimain 18 prosenttia vähemmän Rose Bengal'ia vaaditaan seoksessa samoja LC_{50} -arvoja varten käytettäessä kahden tunnin valotusta ja noin 33 prosenttia vähemmän käytettäessä 2,5-3,0 tunnin valotusaikaa.

Esimerkki 5

Edellä esimerkissä 2 käytettyä testimenettelyä seuraten bioanalysoitiin *Culex pipiens quinquefasciatus*-lajin neljännen toukka-asteen toukkia Rose Bengal'ia ja natriumfluoreseiinia sisältävien seosten vaikutuksen suhteen hyönteismyrkkynä verrattuna pelkästään Rose Bengal'in tehoon hyönteismyrkkynä, minkä jälkeen suoritettiin vertaileva bioanalyysi *Culex pipiens quinquefasciatus* toukkien toisen toukka-asteen suhteen seoksella, joka sisälsi erytrosiini B'tä, Rose Bengal'ia ja natriumfluoreseiinia, diffuusissa (varjostetussa) auringonvalossa fluoresoivan valon asemestä. Kolme aineosaa sisältävän seoksen vaikutusta hyönteismyrkkynä verrattiin jokaiseen aineosaan yksin käytettynä sekä seokseen, joka sisälsi Rose Bengal'ia ja erytrosiini B'tä. Testit suoritettiin kirkkaana päivänä ympäristölämpötilan ollessa 9-13°C ja fotometrisesti mitatun valon voimakkuuden liuosten pinnalla 460-700 $\mu E/m^2$.s. Testitulokset on esitetty seuraavassa taulukossa XI.

Taulukko XI

Culex pipiens quinquefasciatus-toukkien toisen toukka-asteen prosentuaalinen kuolleisuus käsiteltäessä natriumfluoreseiini/erytrosiini B/Rose Bengal-väriaineseoksella ja altistettaessa difuusille auringon valolle

Käsittely	Annos (ppm)	Kuolleisuusprosentti, valaisuaika/tuntia				
		1	2	3	4	5
Vertailu	---	0	2	2	4	4
Fluoreseiininatrium	10	0	2	2	2	2
Rose Bengal						
Erytrosiini B	10	0	14	24	26	32
Rose Bengal:	10	0	6	18	22	26
erytrosiini B	10:10	0	14	24	24	36
Rose Bengal:erytrosiini B:natriumfluoresiini	10:10:10	0	26	32	36	48

Nämä arvot osoittavat natriumfluoreseiinin syner-
 gistisen vaikutuksen erytrosiini R'n ja Rose Bengal'in
 seokseen siinä suhteessa, että Rose Bengal'in ja erytrosiini
 B'n yhdistelmällä käytettynä yhtä suurina paino-osuuksina
 5 pitoisuudella 10 ppm toukkien esikäsittelyyn pimeässä ja al-
 tistettaessa siten toukat diffuusille auringon valolle vii-
 den tunnin ajaksi ei ole oleellisesti suurempaa vaikutusta
 hyönteismyrkkynä kuin käytettäessä yksinomaan Rose Bengal'ia
 samalla tavalla ja samoissa olosuhteissa mutta, että Rose
 10 Bengal'in ja erytrosiini B'n seoksen, joka lisäksi sisältää
 yhtä suuren osan natriumfluoreseiinia, pitoisuudella 10 ppm
 teho hyönteismyrkkynä kasvaa noin kolmanneksen altistettaessa
 valolle viideksi tunniksi verrattuna Rose Bengal/erytrosiini
 B-seokseen, joka ei sisällä natriumfluoreseiinia.

15 Esimerkki 6

Edellä esimerkissä 2 esitettyä testimenettelyä käy-
 tettiin Rose Bengal/natriumfluoreseiini-seosten hyönteismyrk-
 kyvaikutuksen määrittämiseksi käsiteltäessä *Culex pipiens quinque-*
fasciatus-lajin neljännen toukka-asteen toukkia verraten yksi-
 20 nään käytetyn Rose Bengal'in hyönteismyrkkytehoon, minkä jäl-
 keen suoritettiin vertaileva tutkimus seoksilla, jotka sisäl-
 sivät pitoisuudella 10 ppm yhtä suuret paino-osuudet erytro-
 siini B'tä, Rose Bengal'ia ja natriumfluoreseiinia, *Culex*
pipiens quinquefasciatus-lajin ensimmäisen toukka-asteen tou-
 25 kille verraten jokaista aineosaa yksinään käytettynä saavutet-
 tuun tehoon sekä Rose Bengal'in ja erytrosiini B'n seoksella
 saavutettuun tehoon. Testi suoritettiin 24°C lämpötilassa
 ja fotometrillä mitattu fluoresoivan valon voimakkuus liuos-
 ten pinnalla oli 1200 $\mu\text{E}/\text{m}^2$. s. Testitulokset on esitetty
 30 seuraavassa taulukossa XII.

Taulukko XII

Culex pipiens quinquefasciatus-lajin ensimmäisen toukka-asteen
 prosentuaalinen kuolleisuus käsiteltäessä niitä natriumfluore-
 seiini/erytrosiini B/Rose Bengal-seoksella ja altistettaessa
 35 fluoresoivalle valolle

Käsittely Annos (ppm)		Kuolleisuusprosentti Valaisuaika (tuntia)				
Vertailu		0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
Natriumfluoreseini	---	0	0	0	0	0
5 Erytrosiini B	10	0	0	0	0	0
Rose Bengal	10	0	0	0	5.0	7.5
Rose Bengal: erytrosiini B	10	0	0	2.5	22.5	60.0
Rose Bengal: erytrosiini	10:10	0	0	7.5	32.5	67.5
10 B:natriumfluoreseini	10:10:10	0	0	5.0	45.0	77.5

Nämä arvot osoittavat 38 prosentin kasvun kuolleisuusprosenttiin neljän tunnin kuluttua ja 5 prosentin kasvun kahdeksan tunnin kuluttua altistamisen jälkeen fluoresoivalle valolle saatuna suhteessa 1:1:1 olevalla seoksella, joka sisältää 10 ppm Rose Bengal'ia, erytrosiini B'tä ja natriumfluoreseiniä jokaista verrattuna suhteessa 1:1 olevaan seokseen, joka sisältää Rose Bengal'ia ja erytrosiini B'tä kumpaakin 10 ppm ja osoittaen siten natriumfluoreseinin synergistisen vaikutuksen erytrosiini B'tä ja Rose Bengal'ia sisältävään hyönteismyrkkyseokseen.

Esimerkki 7

Esimerkin 3 mukaista edellä esitettyä bioanalyysimenettelyä seuraten määrättiin natriumfluoreseinin suhteen vaikutus Rose Bengal'iin täysi-ikäisten huonekärpästen (*Musca domestica*) suhteen. Tutkittiin vertailevasti kaksi seosta, joista toinen sisälsi 0,43 paino-osaa natriumfluoreseiniä jokaista paino-osaa kohti Rose Bengal'ia ja toinen sisälsi noin 4,3 paino-osaa natriumfluoreseiniä jokaista paino-osaa kohti Rose Bengal'ia verraten pelkästään Rose Bengal'ia käytettäessä saatuun tehoon hyönteismyrkkyinä. Fluoresoivan valon voimakkuus säiliön syvyyden keskikohdalla oli $1200 \mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ja ympäristön lämpötila oli 24°C . Tulokset on esitetty seuraavassa taulukossa XIII.

Taulukko XIII

Natriumfluoresiinin ja Rose Bengal'in välisen suhteen vaikutus käsiteltäessä täysi-ikäisiä huonekärpäsiä (*Musca domestica*) natriumfluoreseiini/Rose Bengal-seoksella ja altistettaessa fluoresoivalle valolle

		Valaisuaika (tuntia)						
	Käsittely	Annos (ppm)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
	Vertailu	---		0	0	0	0	0
10	Natriumfluoreseiini	189.0	0	0 ¹	0	0	0	0
	Rose Bengal	440.0	0	31.3	45.9	45.7	62.0	75.0
	Rose Bengal: natriumfluoreseiini	440.0:189.0	0	45.2	54.0	63.3	72.7	83.3
15	Rose Bengal: natriumfluoreseiini	440.0:1890.0	0	30.0	34.0	38.0	44.7	46.7

Nämä arvot osoittavat, että edelläesitetyn seoksen, joka sisältää 0,43 paino-osaa natriumfluoreseiinia yhtä paino-osaa kohti Rose Bengal'ia, aiheuttama kuolleisuusprosentin kasvu on alueella 44 prosentista 1,0 tunnin jälkeen 11 prosenttiin 3,0 tunnin jälkeen verrattuna pelkästään Rose Bengal'ia käytettäessä saatuun samalla pitoisuudella, kun taas seos, joka sisältää 4,3 paino-osaa (kymmenkertaisen määrän) yhtä paino-osaa kohti Rose Bengal'ia on alentanut kuolleisuusprosenttia 4,2 prosenttia 1,0 tunnin jälkeen ja 38 prosenttia 3,0 tunnin jälkeen. Tämä osoittaa natriumfluoreseiinin synergeettisen vaikutuksen Rose Bengal'in tehoon hyönteismyrkkinä, kun hyönteismyrkkinä tehottoman natriumfluoreseiinin paino-osien määrä seoksessa on pienempi kuin hyönteismyrkkinä tehokkaan Rose Bengal'in paino-osien määrä ja synergeettisen vaikutuksen häviämisen, jos natriumfluoreseiinin paino-osien määrä on paljon suurempi kuin Rose Bengal'in paino-osien määrä.

Patenttivaatimukset

1. Synergistinen hyönteismyrkkykoostumus, t u n -
n e t t u siitä, että se sisältää hyönteismyrkkyä tehok-
5 kaan määrän vähintään yhtä hyönteismyrkkyä valittuna ryh-
mästä, johon kuuluvat dinatrium - 2',4',5',7' - tetrajodi-
fluoreseiini (erytrosiini) ja 4,5,6,7-tetrakloori- 2',4',
5',7' -tetrajodifluoreseiinin dikalium- tai dinatriumsuola
(Rose Bengal), yhdessä synergistisesti tehokkaan määrän
10 kanssa fluoreseiinin alkalimetallisuolaa, jolloin jälkim-
mäistä on noin 0,3-1,0 paino-osaa yhtä paino-osaa kohti
mainittua hyönteismyrkkyä.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen koostumus, t u n -
n e t t u siitä, että hyönteismyrkky on erytrosiinin ja
15 Rose Bengal'in seos.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen koostumus, t u n -
n e t t u siitä, että erytrosiinin, Rose Bengal'in ja nat-
riumfluoreseiinin paino-osuudet ovat likimain yhtä suuret.

4. Jonkin patenttivaatimuksen 1-3 mukainen koostumus,
20 t u n n e t t u siitä, että se sisältää lisääainetta valit-
tuna kiinteiden laimentimien, kantajien ja pinta-aktiivis-
ten aineiden joukosta.

5. Jonkin patenttivaatimuksen 1-3 mukainen koostumus,
t u n n e t t u siitä, että mainitun hyönteismyrkyn ja
25 mainitun fluoreseiinisuolan mainittua seosta käytetään
vesiliuoksena.

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen koostumus, t u n -
n e t t u siitä, että se sisältää pinta-aktiivisia aineita,
dispergoivia aineita ja haihtumista hidastavia aineita.

Patentkrav

1. Synergistisk insekticidkomposition, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att den omfattar en insekticidalt
5 effektiv mängd av åtminstone ett insekticidmedel, vilket
valts bland dinatrium -2',4',5',7', - tetraiodfluorescein
(erytrosin) och ett dikalium- eller dinatriumsalt av 4,5,-
6,7 - tetraklor - 2',4',5',7' - tetraiodfluorescein (Rose
Bengal), tillsammans med en synergistiskt effektiv mängd
10 av ett alkalimetallsalt av fluorescein, varvid det senare
är närvarande i en mängd av ca. 0,3-1,0 viktdelar per en
viktdel av nämnda insekticidmedel.
2. Komposition enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att insekticidmedlet är en blandning
15 av erytrosin och Rose Bengal.
3. Komposition enligt patentkravet 2, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att viktdelarna av erytrosin, Rose
Bengal och natriumfluorescein är ungefär lika stora .
4. Komposition enligt något av patentkraven 1 - 3,
20 k ä n n e t e c k n a d därav, att den innehåller ett till-
satsmedel, vilket valts bland fasta förtunningsmedel,
bärare och ytaktiva medel.
5. Komposition enligt något av patentkraven 1-3,
k ä n n e t e c k n a d därav, att nämnda blandning av
25 nämnda insekticidmedel och nämnda fluoresceinsalt används
i form av en vattenlösning.
6. Komposition enligt patentkravet 5, k ä n n e -
t e c k n a d därav, att den innehåller ytaktiva medel,
dispergermedel och avdunstningsreducerande medel.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

-