

日本住血吸虫症に関する実験的研究

第1報 ミヤイリガイの実験室における飼育繁殖方法について

松 田 肇

東京大学医科学研究所寄生虫研究部 (主任: 佐々学教授)

(1969年7月11日 受領)

まえがき

日本住血吸虫の感染実験あるいは抗住血吸虫剤スクリーニングテストを行う際に、その中間宿主であるミヤイリガイを実験室内で大量に飼育繁殖させる必要がある。マンソン住血吸虫 *Schistosoma mansoni* を用いての研究に比べ、日本住血吸虫 *S. japonicum* での研究は種々な面でその遅れをみせている。これは、主として前者の中間宿主である *Biomphalaria glabrata* の飼育と繁殖が容易であるのに対し、後者の中間宿主 *Oncomelania* spp. の実験室内飼育とその維持、繁殖が困難なことに よる。

今回著者は実験室内でミヤイリガイを飼育繁殖する際の基礎的諸条件として、環境、容器、土壌、飼料等の問題を検討した。元来ミヤイリガイは水陸両棲貝であるが、孵化直後の稚貝はほとんど常に水中で生活しており、成貝となるに従い湿潤な陸上に棲息している。今回著者は、稚貝と成貝のこの異なる棲息状況に基づき、水槽を用いた稚貝の発育のための飼育環境と、素焼鉢での成貝の産卵のための飼育環境とを別々に設定し、また産卵後成貝を別の鉢に分離する操作により、次代の稚貝を大量に得ることが出来、一方稚貝も急速に発育を完了し、すみやかに産卵を開始させ得ることが可能となった。ここに我々がいま採用しているミヤイリガイの飼育繁殖方法と、これを設定するにいたるまでの研究経過のあらましを報告する。このような方法で、これまで山梨産 *Oncomelania hupensis nosophora* は6代、久留米産3代、フィリピン産 *O. h. quadrasi* 3代、台湾産 *O. h. formosana* 3代まで累代飼育させることができた。

材料および方法

1. 実験材料

山梨県甲府市八田村上高砂堤外地のミヤイリガイ棲息

地溝渠で1967年4月、1968年4月及び7月に採集したミヤイリガイ *Oncomelania hupensis nosophora* (Robson) の成貝を産卵用とした。

2. 成貝の産卵のための飼育方法

殻長 5 mm 以上を有する貝を無作為的に各300個体ずつ、径 30 cm、高さ 10cm の素焼鉢に泥を 5 cm の高さに入れたものに投入し、約1カ月間飼育し産卵させた後、成貝を新しく作った別の鉢に移す。成貝の飼育期間中は週2～3回ずつ壁面上に登った貝を毛筆又はピンセットで泥上に落とし、飼料を与えると同時に産卵を容易にさせるために汲み置き水で泥面を常に湿った状態に保つた。また飼育鉢下部の容器中に入れた水は、月1～2回新しい水と交換した。

3. 産卵後から稚貝孵化までの飼育方法

産卵は主として泥面上あるいは鉢の壁面で行われるが、成貝分離後、約1カ月間、すなわち産卵された卵のほとんどが孵化する間、素焼鉢にガラス蓋をかぶせ泥面を湿った状態で飼育する。この間特に注意する点として、卵及び稚貝は乾燥に対してほとんど抵抗性をもたないので稚貝が素焼鉢の壁面上にはい登り乾燥するのを防ぐ為に洗滌瓶で汲み置き水を注ぎ稚貝を泥上にもどす操作を週2～3回ずつ繰り返すと同時に泥面上を常に湿った状態に保つた。また鉢の下部に敷いた水も月2～3回新しい水と交換し、この期間は飼料をほとんど与えずに飼育を行った。

4. 稚貝の分離及び飼育方法

孵化した稚貝は鉢の壁面あるいは泥面上で活発な運動を示している。稚貝を分離する際に、先ず洗滌瓶で水を軽く注ぐことにより壁面上の稚貝を下部の泥上に落とし、次いで泥面上約20cmの高さから約1～2lの汲み置き水を静かに注ぎ、稚貝を浮遊させた後に、その水をナイロン製の細かい網に注ぎ込む方法を十数回繰り返す。ほとんどの稚貝の回収が認められなくなるまで同一

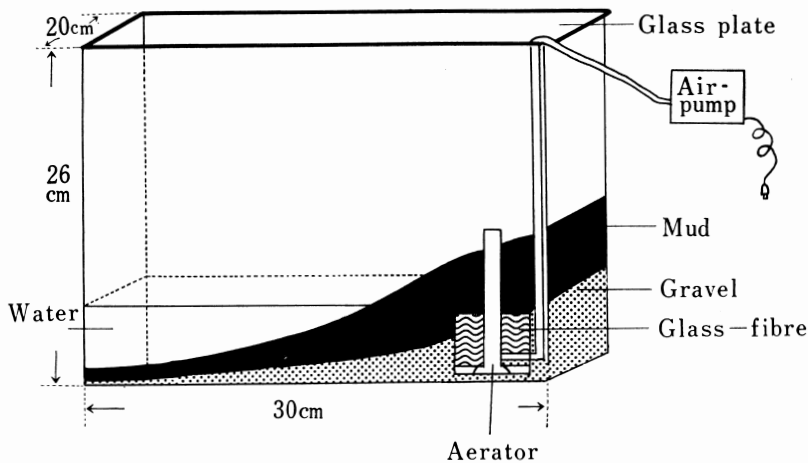


Fig. 1 Aquarium for rearing young snails

操作を反復した。回収した稚貝は実体顕微鏡下で生死を確認したのち実験に使用した。稚貝の飼育には、ガラス水槽（30×20×26cm）を用い、底部に砂利及び泥を斜面に敷き、汲み置き水を約1ℓ入れ、水深を約5cmとなるようにした。また水中フィルターを泥の部分に埋め、水を常に濾過灌流する装置を考案した（図1）。

稚貝は投入後約1カ月以内は水中で棲息し、それ以後はガラス壁面上を登るので、その乾燥を防ぐ為に週2～3回毛筆あるいは洗滌瓶で水を注ぐことにより稚貝を水中へ戻した。

5. 飼料及び飼育条件

稚貝の発育を飼料条件の面から実験した結果、稲藁、牡蠣殻及び炭酸カルシウムの単独或はその各々を飼料に加えて飼育した場合に特にその発育の促進が認められた。従つて以下に示すような組成の飼料を作製し、とりあえずの基準とした。すなわち、離乳フレーク（ベビーミールA・和光堂製）：50g、米粉：20g、マウス・ラット飼育用粉末飼料（CE-2・日本クレア製）：10g、乾燥酵母（エビオス末）：5g、牡蠣殻：3g、クロレラ粉末：2gの割合で混合し、成貝（300個体群）には約150～200mgを週2ないし3回に分けて与え、水槽中の稚貝には、その約半量を同様に分けて与えた。その他の飼料として乾燥稲藁を水槽1個あたり約1.5～2gを月1回ずつ投入した。照明は20Wの植物栽培用紫色蛍光ランプ（FL 20S・PG 三菱電機 KK）を水槽の上面から点灯し、夜間は消灯した。成貝の飼育には室内の照明を用いた。飼育室の温度は、各実験中特に明記した以外は全て25±1℃である。

6. 飼育土壌

飼育に用いた土壌は、甲府市八田村のミヤイリガイ棲息地及び神奈川県日吉町袋の水田の土壌を採取した後、風乾させたものである。なお後者の方が成績がよかつたので2～3の実験の他は全て日吉土壌を用いた。日吉土の風乾細土20gを酢酸カセイソーダ法で分散させ、A. S. K. 土壌淘汰分析装置（木屋製作所）で粒度分析を行った結果、砂 37.50%、微砂 14.55%、粘土 47.95%であり、本土壌は植壤土（粘土含量37.5～50.0%）である。

尚、この結果は日本農学会法に基く粒径区分（砂 2.0～0.05mm、微砂0.05～0.01mm、粘土0.01mm以下）を参考にした。

7. 飼育水

水道水を2～3日間タンクに汲み置いた後使用した。

8. 成長率の測定法

水槽へ投入した稚貝は、各実験群ともその20個体を無作為的に取り出し、1カ月毎に実体顕微鏡に取り付けたマイクロメーターで殻長の長さを測りその平均を求めて成長率を算出した。

実験成績

1. 水槽による稚貝の飼育成績

ミヤイリガイの棲息地である甲府の水田の土壌と、非棲息地である神奈川県日吉町袋の水田の土壌の両者で稚貝の発育を比較した。泥は風乾させ使用前に水を加え軟泥とし、図1に示したように水槽中に斜面に敷いた。水を約1ℓ入れ、1晩放置後2代目の稚貝200個体をそれぞれ水槽へ投入し、その後の両者の発育を毎月計測し比較した。飼育開始時の1957年5月29日には日吉泥投入群の平均殻長は0.80mmで、甲府泥投入群では0.81mmであ

Table 1 Average shell length (in mm) and its standard deviation of snails cultured on different soil

Soil	Days after start of culture				Survival rate (%)
	0	30	60	90	
Hiyoshi	0.80±0.07	2.95±0.45	6.30±1.25	6.31±0.89	90.5
Kofu	0.81±0.10	3.36±0.46	4.50±0.99	4.78±0.68	92.5

Table 2 Average shell length (in mm) and its standard deviation of snails cultured under different population density

No. of snails in an aquarium	Days after start of culture				Survival rate (%)
	0	30	60	90	
100	0.89±0.08	3.28±0.45	5.71±0.57	5.79±0.90	95.0
200	0.88±0.10	2.84±0.54	4.33±0.68	4.91±0.74	95.0
300	0.89±0.09	2.46±0.30	3.35±0.33	4.10±0.69	92.0
400	0.93±0.10	2.54±0.41	3.41±0.43	3.68±0.62	85.0

つた。表1に示すように30日後には両者間に著明な発育の差は認められないが、60日後には前者で6.30mm、後者で4.50mmと両者の発育に明らかな差が認められ、90日後には、前者は6.31mm、後者は4.78mmという成績を示した。尚90日後の貝の生存率は前者で90.5%、後者で92.5%であり、生存率に関しては両者間に著しい差は認められなかった。飼育室の毎月の平均温度は、それぞれ26°C、28°C、30°Cであった。

個体群密度の影響が稚貝の発育にどのような差を生ずるかをみるために、水槽中の飼育土は甲府の泥を用い、飼育開始時の個体数を100、200、300、400個と変えて90日間の発育を観察した。餌の量はそれぞれ50、100、150及び200mgを週2回に分けて与えた。その結果、表2に示すように、投入時の1967年5月29日には各群の平均殻長はそれぞれ0.89mm、0.88mm、0.89mm、0.93mmであったものが、100個体投入群で最も発育が早く、30日後にはすでに他群との間に差が認められ、3.28mmに達し、60日後には既でに5.71mm、90日後に5.79mmに達した。200個体投入群では30日後に2.84mm、60日後に4.33mm、90日後に4.91mmに達した。300個及び400個体投入群では飼育開始後30～60日迄は両者間に著しい差は認められぬが、90日後に300個体群でやや発育が早い傾向を示した。また90日後の各群の生存率は、100及び200個体投入群で95.0%、300個体群で92.0%、400個体群で85.0%であった。

以上の結果から、同一環境を有する水槽中におけるミヤリガイの発育速度は、飼育開始時の個体群密度により影響を受け、個体数の多くなるに従い発育の抑制が認

められ、死亡率も増加する傾向を示した。しかもその発育に及ぼす密度の影響は、飼育開始後かなり早期から認められた。

2. 産卵及び孵化に及ぼす物理的諸条件の検討

採集成員各300個体を1968年5月22日から30日間、径30cmの素焼鉢3個で飼育し、30日目に成員を別の鉢へ分離した。飼育期間中素焼鉢の上面はガラス板で蓋をした。成員分離後10日、20日及び30日目に総ての稚貝を回収し、どの時期に多数の生存稚貝が回収出来るかを観察した。その結果、10日目に回収した成績では、生存個体260個(84%)、死滅個体48個、総計308個と非常に少く、20日目では生存個体824個(95%)、死滅個体46個、総計870個の回収成績を示し、生存個体数が多くなる傾向を示した。これに反し、30日目では生存個体741個(77%)、死滅個体216個、総計957個と孵化総数は20日目と比べると多数であるが、反つて死亡率が多くなり、結果として回収生存個体数が少くなる結果を得た。従つて稚貝の回収は成員分離後20日目頃を実施すれば最も大量の生存個体が回収出来ることが明かとなった。10日目と20目に於ける死滅個体数に差が認められないことは、成員飼育期間中にすでに孵化した稚貝と成員が共存していたために死滅したものと考えられ、成員分離後の飼育条件下での死滅ではないものと推測される。

採集成員各300個体を1968年7月20日から30日間、径30cmの素焼鉢8個で飼育した。そのうち4個は網蓋を使用し、他の4個はガラス蓋を用いて飼育した。各群共30日目に成員を全て別の鉢へ分離した。網蓋及びガラス蓋の両者をさらに2群(2鉢ずつ)に分け、成員分離後

15日目に1回水洗し、一時的に孵化した稚貝を回収した群と、未水洗の群を作り、各飼育条件下での30日目の稚貝の回収成績を比較した。その結果表3に示すように、

Table 3 Number of newly hatched snails recovered from the soil kept under different conditions, 30 days after removal of adult

Cover	Times of collection	No. alive	No. dead	Total no.	Death rate (%)
Screen	Twice	5,790	212	6,002	3.5
		1,957	319	2,276	14.0
"	Once	2,448	1,249	3,697	33.8
		1,032	648	1,680	38.6
Glass plate	Twice	656	260	916	28.4
		450	153	603	25.4
"	Once	466	175	641	27.3
		466	94	560	16.8

成貝飼育期間中網蓋を使用し、成貝分離後1回15日目に水洗を行い稚貝を回収した鉢では、生存個体、死滅個体及び孵化総数がそれぞれ5,790個、212個、6,002個となり別の鉢では各1,957個、319個及び2,276個であった。次に網蓋・未水洗の例では各2,448個、1,249個、3,697個で、別の鉢では1,032個、648個及び1,680個であり産卵数に関しては両者間に大差は認められないが、2回稚貝を回収した群では1回の成績に比べ死亡率の減少が認められた。成貝飼育期間中ガラス蓋を使用した群では、回収回数に関係なく産卵数の減少及び稚貝の死亡率の増加の傾向が認められた。

以上のように孵化総数及び生存個体数の両者から検討すると、成貝分離後少くも15日目に1回水洗を行い、孵化した稚貝をある程度分離すると同時に老廃物等を除去する操作を行った後に最終的に更に稚貝を回収する方法は多数の生存稚貝を分離する1方法であろうと結論づけられる。

考 察

前に述べたように、住血吸虫症に関する実験的研究は主としてマンソン住血吸虫を用いて行われてきたが、これはその中間宿主となる貝が水槽で極めて容易に飼育できるのに対して、日本住血吸虫の中間宿主である広義のミヤイリガイ *Oncomelania* spp. はいづれも実験室内で繁殖させることが困難であったことによる。

ミヤイリガイ類を実験室内で飼育繁殖させる試みはすでに多くの研究者が行なっており、あるていどの成功も

報告されているが、それを実験室内で大量に増殖させ、累代飼育を行うにいたつてはいない。Vogel (1948) は *O. hupensis* の成貝をガラス張りの水槽の底に泥土を斜面にして水を半ば入れたものに放つて次代の幼貝の发育をみたが、これを室温(ハンブルグ)においたため、産卵は春と夏に限られたという。DeWitt (1952) はこのような陸部と水部をもつ容器に4種の *Oncomelania* を放ち、室温を26~28°C に保つた結果、年間を通じて産卵をみたという。しかしこのような方法では age のそろつた稚貝を大量にうることも、貝を増殖させることもできない。

ペトリ・シヤーレを用いて小規模に貝を飼育繁殖させることも可能で、その生活史観察の目的には便利である。Sandground & Moore (1955) はシヤーレに泥をななめにしき、水を半ば入れ、成貝を放ち、アルギン酸ソーダに飼料をまぜたものを濾紙に塗布してあたえ、孵化した稚貝が濾紙に集まってくるのを回収している。小宮ら (1959) は径9cm のシヤーレを用い、成貝の飼育と産卵のためにはこれに壤土を斜面にして水を半ば加え、稚貝の发育には壤土を平面にしてこれを水でおおうのがよいと述べている。Van der Scharie & Davis (1965) は、径9cm のシヤーレ中に径6cm の盛土を作り壁面と泥の間に約40cc の水を入れた。氏は、この方法は稚貝を飼育するには良いが成貝の維持及び産卵には適当でないとしている。この実験で稚貝を1シヤーレ中に1ないし2個体入れた時に最も成長が早く、それ以上の個体を入れた場合に发育の抑制を認めた。また Davis (1967) は *O. h. formosana* 等を用いて種々飼育器内での生存、産卵、稚貝の发育及び生存等を比較している。特に Van der Scharie & Davis (1968) は、4種の *Oncomelania* を水槽、ガラス円筒、大型又は中型素焼鉢、プラスチック製浅箱及びペトリ・シヤーレの6種の飼育装置で検討し中型素焼鉢に雄5、雌5匹を入れた状態が成貝の生存及び稚貝の産生に最も優れているとした。最も悪い容器は水槽、大型鉢、ガラス円筒であり、特に水槽は貝が十分に发育しないと云っている。又氏は飼育した成貝からの産卵は、季節的なリズムは明白ではないとしている。従つて著者の経験においても採集貝を室内で一定の温度(25±1°C)で飼育した際にどの季節に採集したものでも、飼育開始後2~3カ月間はほぼ平均して多数の稚貝を得ることが出来るが、それ以後はその発生が減少することを認めている。しかしこれらの現象は、累代飼育が進むと共に、野外の季節変動の影響は弱まり、全ての種類の *Oncomelania* はその室温に順

応して、年間を通じて一定した産卵を認め得ることと推測される。また氏は、産卵は中型素焼鉢で行い、稚貝をペトリ・シャーレで飼育している。また、中國大陸においても近年日本住血吸虫の研究が盛に行われ、*Oncomelania* の飼育についても范学理・王培信 (1957) などの報告がなされている。また Moose *et al.* (1962) の指摘しているように稚貝の発育にとってその飼料の質は重要な要素となる。飼育土壌に関しても、津田 (1952 a, b, c, 1953) は山梨県のミヤイリガイ棲息地の土壌のみならず、非棲息地である東京、埼玉、岩手及び北海道の土壌上に於て産卵増殖が可能であつたと述べている。一方保阪ら (1953) は、礫土地及び砂土地でのミヤイリガイの発育は、壤土地及び植土地にくらべ成長が速いと述べている。しかし小宮 (1959) は、要はその土質が珪藻などの有機成分に富み、かつその構成粒子の大きさが均一に大に過ぎない限り、粘質から砂質にいたるまでの壤土上において、充分棲息しうると推定している。

以上のように、これまでなされた多くの研究は、野外で採集した *Oncomelania* をなるべく長く生存させて実験に供するか、あるいは少規模に稚貝を成貝にまで発育させる方法を報告したものが多く、我国においてはすでに野外でミヤイリガイを採集することも次第に困難となりつつある現状に堪がみて、我々はこれを実験室内で大量に累代飼育して実験に供する方法の確立を志し、ほぼその目的を達したものと考える。

今回我々が開発した方法の特徴は、まず成貝の産卵のための環境と、孵化した稚貝を成貝に発育させるための環境とを別にし、前者には湿った泥土をしいた素焼鉢などを、後者にはガラス水槽を用い、泥を斜面に敷き、エアポンプを連結したフィルターを泥中に埋めて水の浄化をはかったことが成功した。室温を年間ほぼ 25°C 以上に保つことにより産卵が四季を通じて行われるようになった。これに植物栽培用紫色蛍光ランプの光をあてて生物学的浄化作用を期待した。飼料にはとくに貝殻の発育のために必要な有機質やカルシウムをあたえること、とくに稲わらの切片を多く加えることで好成績を収めた。また、成貝の産卵と稚貝の発育のためには底に用いる泥の性質も大きな影響をもち、これについては、我々は非流行地のいわゆる日吉産泥を用いて、山梨県のミヤイリガイ棲息地の泥よりも好成績を収めたことは興味深い。

以上のような基礎実験の成績をもとに、それぞれの環境下で、貝の死亡率を低くし、増殖率をあげ、生長率をふやし、かつ人手とスペースを節約するうえに最も有利

な条件を求める実験がさらに行われた。ここに述べた方法は今後の研究によりさらに改良される余地が大きい。が、原則的にはこのような方法によつて各種の *Oncomelania* を実験室内で累代飼育と増殖をさせることが可能になったと考える。尚当研究部では、ミヤイリガイの稚貝を大型水槽で大量に飼育し、かなり良好な成績を収めているので次の機会に報告したい。

結 論

1. 我々は日本住血吸虫 *Schistosoma japonicum* の中間宿主となる広義のミヤイリガイ *Oncomelania* spp. の実験室内における累代飼育と大量増殖のための研究を行い、次のような方法を用いて、山梨産の *O. h. nosophora* については 6 代、久留米産 3 代、フィリピン産 *O. h. quadrasi* 3 代及び台湾産 *O. h. formosana* 3 代までの累代飼育と増殖に成功した。

2. 貝の stage により飼育方法を別々に分けた。即ち成貝の産卵のための飼育は大型素焼鉢に湿った泥をしいたもので行い、孵化した稚貝の飼育はこれをガラス水槽に移し、底部に泥を斜面に敷き、水中フィルターで水を濾過灌流した。照明は水槽上面から植物栽培用紫色蛍光灯を点灯し、室温は冬でもほぼ 25°C に保った。

3. 甲府及び日吉産の水田の土壌上での稚貝の発育は、3 カ月後に前者は 4.78mm (生存率 92.5%)、後者は 6.31mm (生存率 90.5%) と、泥の種類により発育に差が認められた。

4. 同一環境下での水槽中に投入する稚貝の個体数を 100, 200, 300, 400 個と変えた場合に、その発育は 3 カ月後にそれぞれ 5.79mm (生存率 95%)、4.91mm (95%)、4.10mm (92%) 及び 3.68mm (85%) と個体数の増加にともない発育の抑制が認められた。

5. 成貝 300 個を大型素焼鉢で 1 カ月間飼育後とり除き、その後 10 日、20 日及び 30 日目に全ての稚貝を回収した結果、それぞれの生存数は 260 個 (生存率 84%)、824 個 (95%)、741 個 (77%) で、20 日後の回収が最も好成績であつた。

6. 成貝飼育期間中、網蓋あるいはガラス蓋で飼育し、成貝分離後 15 日目に 1 回水洗した場合と、未水洗の場合とで 30 日後の稚貝回収成績を比較すると、通風のよい網蓋を用い、水洗を行つたものが最も好成績であつた。

この研究にあたり御援助と御協力をえた当研究部の佐々学教授、田中寛助教授、小林準三博士、塚越雅子氏、二瓶直子文学修士らの方々に深謝する。

参考文献

- 1) Davis, G. M. (1967) : The systematic relationship of *Pomatiopsis lapidaria* and *Oncomelania hupensis formosana* (Prosobranchia: Hydrobiidae). *Malacologia*, 1-143.
- 2) Dewitt, W. B. (1952) : *Pomatiopsis lapidaria*, its occurrence in the Washington, D. C. area and its laboratory rearing in comparison to that of *Oncomelania* spp. *J. Parasit.*, 38, 321-326.
- 3) 范学理・王培信(1957) : 釘螺人工飼養和繁殖方法的研究(摘要). 血吸虫病研究資料汇编, 526頁, 上海衛生出版社, 上海.
- 4) 保阪幸男・飯島利彦・中山茂(1953) : 宮入貝の生物学的研究(1). 宮入貝の發育状況の觀察. 寄生虫誌, 2, 95(会).
- 5) 小宮義孝(1959) : 日本における日本住血吸虫の予防対策. 日本の医学 1959年, 第15回日本医学会總會學術記念記録, 第II卷, 631-636.
- 6) 小宮義孝・小島邦子・小山力(1959) : ペトリ・シャーレによる *Oncomelania* のかんたんな飼育法. 寄生虫誌, 8, 721-724.
- 7) Moose, J. W., Williams, J. E. and Fleshman, P. (1962) : Rice cereal as sustenance for rearing *Oncomelania* snails in the laboratory. *J. Parasit.*, 48, 68.
- 8) Sandground, J. H. and Moore D. V. (1955) : Notes on the rearing of *Oncomelania* spp. in the laboratory. *J. Parasit.*, 41, 109-113.
- 9) 津田栄造(1952 a) : 日本住血吸虫中間宿主宮入貝の撲滅に関する研究(4). 東京土壤に於ける宮入貝の棲息及び産卵能力. 東京医事新誌, 69(2), 29-30.
- 10) 津田栄造(1952 b) : 日本住血吸虫中間宮入貝の撲滅に関する研究. (5) 東京土壤に於ける宮入貝卵及び稚貝の發育. 東京医事新誌, 69(2), 30-31.
- 11) 津田栄造(1952 c) : 日本住血吸虫中間宮入貝の撲滅に関する研究. (6) 神奈川, 埼玉, 東京土壤上における宮入貝の産卵増殖. 東京医事新誌, 63(3), 27-29.
- 12) 津田栄造(1953) : 日本住血吸虫中間宮入貝の撲滅に関する研究. (7) 北海道, 岩手, 東京土壤上に於ける宮入貝産卵増殖並に宮入貝撲滅に関する考察, 東京医事新誌, 70(7), 377.
- 13) Van der Schalie, H. and Davis, G.M. (1965) : Growth and stunting in *Oncomelania* (Gastropoda: Hydrobiidae). *Malacologia*, 3, 81-102.
- 14) Van der Schalie, H. and Davis, G. M. (1968) : Culturing *Oncomelania* snails (Prosobranchia: Hydrobiidae) for studies of oriental Schistosomiasis. *Malacologia*, 6, 321-367.
- 15) Vogel, H. (1948) : Über eine Dauerzucht von *Oncomelania hupensis* und Infektionsversuche mit *Bilharzia japonica*. *Z. f. Parasitenk.*, 14, 70-91.

Abstract

STUDIES ON EXPERIMENTAL SCHISTOSOMIASIS. I. STUDIES ON THE METHODS FOR MASS BREEDING OF THE SNAIL INTERMEDIATE HOST, *ONCOMELANIA HUPENSIS NOSOPHORA*

HAJIME MATSUDA

(Department of Parasitology, the Institute of Medical Science, the University of Tokyo)

A series of laboratory investigations have been carried out for the purpose of establishing an efficient method for breeding large numbers of *Oncomelania hupensis nosophora*, so that sufficient supplies of the snail intermediate host could be made for screening tests of anti-schistosomal drugs. After a number of trials and errors, the following techniques have been developed with which large numbers of the snail could be bred for at least 6 generations in our laboratory.

Two types of containers were employed according to the developmental stages of the snail. Unglazed potteries 30 cm in diameter and 10 cm in height containing wet soil are used for oviposition of adult snails. Young snails hatched from eggs deposited in the soil were collected and transferred to glass aquaria 30 cm long, 20 cm wide and 26 cm high, containing soil in a slope on one side and water on another side. An airpump filter for circulating the water was placed in the soil and each aquarium was illuminated with a fluorescent lamp (purple lamp for culture of plants) for the purpose of encouraging the growth of the green algae. Adequate amount of food composed of powder of laboratory animal food, chlorera, oyster shell and pieces of rice straw was provided for the growth of young snails.

The youngs of *Oncomelania* bred in the aquaria reached to adults and commenced oviposition in about three months, under the temperature of 25°C or over. The speed of growth of the snail as well as the number of eggs recovered was dependent upon the character of the soil used as the substratum, and the material collected at rice paddy of Hiyoshi (non-endemic area) gave better results than with those from the natural breeding places in Yamanashi Prefecture. The population density of the young snails released in the aquaria also had effects on the speed of growth and the survival rate. In one of the experiments for example, the average shell length and the percentage of survivals as observed three months after releasement of the young snails in each aquarium were 5.79 mm and 95% for 100 snails, 4.91 mm and 95% for 200 snails, 4.10 mm and 92% for 300 snails, and 3.68 mm and 85% for 400 snails.

A series of experiments have been carried out also for establishing the most efficient and economic methods for collecting young snails from eggs deposited by adults released on the soil in the potteries. In one of the experiments in which 300 adults were put in the containers for a period of one month and the youngs were collected at varying intervals after the adults were removed, the numbers and the survival rates of youngs recovered from the soil were 260 and 84% on the 10th day, 824 and 95% on the 20th day, and 741 and 77% on the 30th day. It was also shown that the maximum numbers of the youngs could be recovered from the soil when the containers were covered with a screen net rather than a glass, and also by rinsing with clean water at least once in two weeks.