

砒酸石灰の殺貝効果について

小 宮 義 孝 保 阪 幸 男

国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和33年3月10日受領)

最近中国では *Oncomelania* の殺滅に酸性砒酸石灰を使用している(小宮, 1957)が, この薬剤はいわゆる食毒であつて, その殺貝効果については蘇(1954), 小宮ら(1957a)の中国における日本住血吸虫媒介者たる *Oncomelania hupensis* に対する実験があり, いづれもよい結果を得ている。

しかし日本におけるその媒介者たるミヤイリガイ *Oncomelania nosophora* に対する殺貝効果についての実験はその例をみないので, 私たちは酸性砒酸石灰 (Calcium biarsenate) のこれに対する殺貝効果について実験を行い, 同時に現在農薬として広く使用されている塩基性砒酸石灰 (Calcium arsenate) のそれについても実験を行つてみた。

実験は酸性砒酸石灰の各種濃度の殺貝効果(A1試験)作用時間を異にした場合のその殺貝効果(A2試験)および塩基性砒酸石灰の各種濃度の殺貝効果(B試験)の三実験に分けて行つた。

実験材料と方法

1. 材料

1) 使用薬品: 使用した薬品は酸性砒酸石灰 $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{AsO}_4)_2]$ 試薬用, 関東化学株式会社製のもの, 塩基性砒酸石灰 $[\text{As}_2\text{O}_5\cdot\text{CaO}, \text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2]$ 農薬用, 日本農薬株式会社製のものである。

2) 使用貝: 山梨県棲息地より採取した殻長約7mm以上のミヤイリガイ *Oncomelania nosophora* で, 使用にさきだち乾燥状態のまま3~5日間室内に保存した。使用に際しては予めこれを清水中に浸し, 活動を開始したものを実験に供した。ここに清水というのは水道水を数日間室内に放置し遊離塩素を除去したものである。

YOSHITAKA KOMIYA & YUKIO HOSAKA: On the molluscicidal effect of arsenic compounds of calcium on *Oncomelania nosophora*, the vector snail of *Schistosoma japonicum*. (Department of Parasitology, National Institute of Health, Tōkyō.)

2. 方法

1) 薬剤の稀釈: 酸性砒酸石灰および塩基性砒酸石灰は水には難溶であるから, 前者は予め乳鉢ですりつぶして粒子を小さくした後, 後者はそのまま懸濁液となし, A1試験では倍数的に200ppmより3,200ppmまでの5段階の濃度とした。A2試験では1,600ppmより6,400ppmまでの3段階とし, B試験では250ppmより16,000ppmまでの7段階の濃度とした。

2) 薬剤の撒布: 上記の薬剤は食毒であることが分つているので, 貝の摂食し易いようにこれを濾紙上に一様に撒布した。撒布には小型のスプレイを用い, これにこれらの懸濁液を入れ, ペトリーシャーレ(直径約12cm)の底に濾紙を一枚しき, その表面に薬剤が均等にゆきわたる様に撒布した後, その中央に各供試貝を10コづつおいた。薬剤撒布量は100cm²当りのmg数に換算出来る様に, 1つのシャーレに各濃度懸濁液を5cc撒布した。なおこの場合の薬剤濃度はA1試験では100cm²当り12, 4, 8, 16mgの5段階, A2試験では8, 16, 32mgの3段階とし, B試験では1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80mgの7段階とした。

3) 作用時間: 薬剤と貝との接触時間は, A1試験とB試験においては一律に48時間, A2試験にあつては0.75時間, 1.5時間, 3時間, 6時間, 12時間, 24時間, 48時間の7段階とした。なおA1試験およびB試験の場合には接触開始後1, 2, 6, 24, 48の各時間毎に, A2試験においては20分, 40分, 1, 2, 4, 6, 12, 24の各時間毎に移動した貝をそれぞれ再び中央に集め, 以て貝の薬剤への接触を確保することに努めた。また試験中は貝の薬剤摂食が妨げられないように常に濾紙表面の湿潤を保持することに努めた。

4) 薬剤作用後の貝の生死判定: A, B, 試験いづれの場合においても所定の各作用時間終了後たゞちに貝を清水でよく洗つた後, これを清水中に入れて48時間放置し, そのメディウムの水は数回これを交換して生死の状

態を観察した。生死判定はまず清水より自動的にはい出したものは生とし、残余はこれを分離針の刺戟に反応するものをまづ生と判定した。反応を示さないものはこれを押しつぶしてその際の体収縮運動が著明であるか、又は緩慢な収縮運動でもそれが貝の体の半ば以上におよぶものは生と判定し、かかる反応の欠如せるものを死と判定した。

実験成績と考察

1. 酸性硫酸石灰の作用薬量と貝の死亡状況

貝各10個づつに対して酸性硫酸石灰の各薬量を48時間作用せしめた(2回同一試験を行った)結果は第1表のとおりである。

第1表 ミヤイリガイに対する酸性硫酸石灰の各種濃度の殺貝効果 (28°C-32°C)

濃度 (ppm)	薬量 (mg/100 cm ²)	使用貝数	死貝数	死亡率 (%)
0	0	20	0	0
200	1.0	20	0	0
400	2.0	20	1	5
800	4.0	20	16	80
1,600	8.0	20	19	95
3,200	16.0	20	20	100

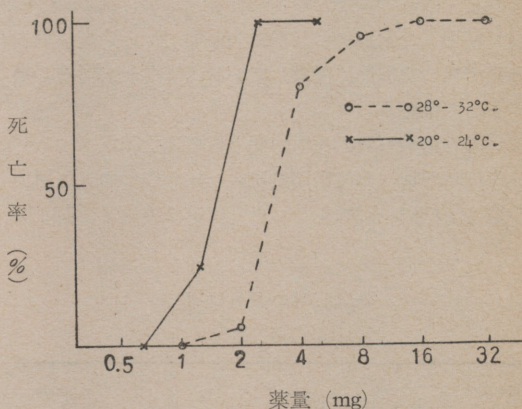
酸性硫酸石灰のミヤイリガイに対する殺貝効果を、その 100cm² 当りの撒布薬量についてみれば、28°C~32°C の温度下では 2 mg 位を作用させたものあたりから多少その効果は現われる様であるが、4 mg 以上の作用で貝の死亡率は急激に上昇 4 mg で80%を示し、16 mg 以上で、100%のそれを示した。

いま死亡率を縦軸にとり、薬量を対数目盛にして横軸にとつて、第1表の各値を記点し図を画くと第1図点線の様にS字形に近い型の曲線が得られるので、この各値を基にして一応 Fisher の中央理論致死量 (MLD) の計算法を応用してMLDを計算すると、薬剤撒布量として 3.3mg/100 cm² であり、その上限と下限とは 3.6mg~3.0 mg/100 cm² であつた。また殺貝事業等に应用する際のことを考慮して、100%の殺貝効果をあげ得る薬量を出すのに便利な、しかも理論値として或程度の確実性が保証され得るところとして 90%理論致死量 (LD 90) を計算してみると 5.5mg/100 cm² であつた。

小宮ら(1957a)の *Oncomelania hupensis* に対する殺

第2表 酸性硫酸石灰を各時間作用させた際のミヤイリガイの生死の状況 (20°C-24°C)

薬量 (mg/100cm ²)	作用時間 (時間)	作用時間 (時間)						
		0.75	1.5	3	6	12	24	40
8	生	17	10	12	12	11	4	0
	死	3	10	8	8	9	16	20
16	生	11	10	10	9	5	1	0
	死	9	10	10	11	15	19	20
32	生	12	6	8	5	3	0	0
	死	8	14	12	15	17	20	20
0 (対照)	生	20	20	20	20	20	20	20
	死	0	0	0	0	0	0	0



第1図 20°C~24°C と 28°C~32°C の温度におけるミヤイリガイに対する酸性硫酸石灰の殺貝効果

貝効果試験における中国製酸性硫酸石灰のMLDは、温度17°C~24°Cで作用時間48時間においては 3.5 mg/100 cm² (2.93 mg~4.18 mg/100 cm²) であつた。前述の様に、*O. nosophora* に対する酸性硫酸石灰(日本製)のMLDは 3.3mg/100 cm² (3.0 mg~3.6 mg/100 cm²) であり、この場合両者はほぼ一致した値となつた。しかし *O. nosophora* の場合の温度条件は 28°C~32°C であり、*O. hupensis* の場合の温度よりやや高い。そこで20°C~24°Cの温度下で酸性硫酸石灰の *O. nosophora* に対する殺貝効果について試験した(第1図実線)。この場合には 1.25 mg/100 cm² を作用させた貝の死亡率は 25%であり、2.5mg/100cm² を作用させたもののそれは 100%を示した。この場合死亡率0から100%の間に25%の一

点しかないため Behrens の計算法の一部分を応用して* MLDを推定すると約 1.6 mg/100 cm² であった。いま直ちにこれの数字を比較に供するには使用貝数の少いこと、中国製酸性硫酸石灰の純度等不明の点があること等の難点もあるが、かりにこのまま比較するならば、*O. lupensis* と *O. nosophora* の酸性硫酸石灰に対する抵抗力は、前者の方がやや高いと考えてよい様である。

次に *O. nosophora* の場合 20°C~24°C と 28°C~32°C の両温度下における酸性硫酸石灰の殺貝効果を比較してみると、むしろ低温条件下において効果が大きであった。これはこの薬剤が貝に摂食されることにより毒性を現わすといわれており、一方貝が30°C前後の温度になるとその摂食運動は低下するという著者らの1人の観察(小宮ら, 1957 b) とをあわせて考慮するときは、却つて低温において死亡率が高いこともうなづける。なお、上の二つの実験に使用した貝はいずれも山梨県産ではあるが、異つた地区で異つた季節に採取している点等も一応考慮の余地があるにはある。

2. 酸性硫酸石灰の作用時間と貝の死亡状況

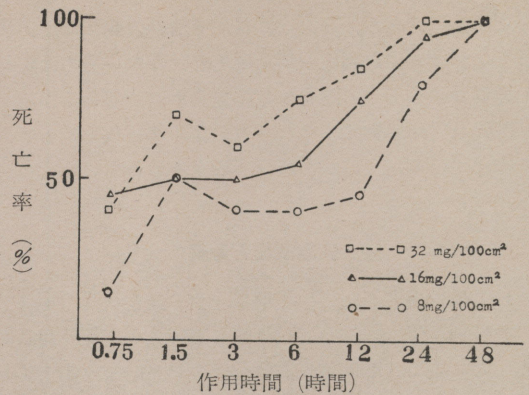
各作用時間別に各使用薬量に対し10コづつの貝を用いた成績(2回同一試験を行つた)は第2表および第2図

第3表 ミヤイリガイに対する塩基性硫酸石灰の殺貝効果 (15°C—23°C)

濃度 (ppm)	薬量 (mg/100 cm ²)	使用貝数	死貝数	死亡率 (%)
0	0	30	0	0
250	1.25	30	0	0
500	2.5	30	3	10
1,000	5	30	15	50
2,000	10	30	19	63.3
4,000	20	30	28	93.3
8,000	40	30	28	93.3
16,000	80	30	21	70

の様である。この場合作用薬量は前項1.の成績において48時間作用で100%の死亡率を得た薬量16 mg/100 cm² とその半量および倍量の 8 mg/100 cm² と 32mg/100 cm² とについて試験した。

いま第2図を見ると3濃度段階の薬量を、0.75時間作用させたものでは貝の死亡率はそれぞれ15%、40%、45



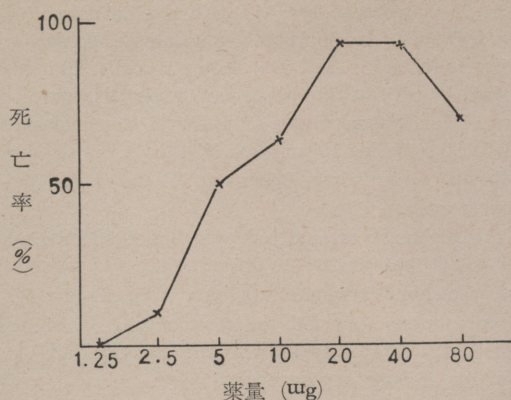
第2図 酸性硫酸石灰の作用時間とミヤイリガイの死亡率との関係 (20°C—24°C)

%となる。1.5時間作用のものでは貝の死亡率はすべて50%以上を示しているが、その後6時間までの作用のものでは、その死亡率はわずかに上下するものの、その間顕著な変化はみられない。これはおそらくは本薬剤が摂食毒であるという条件に影響されたためでもあろうか。12時間作用のものでは、8 mg/100 cm² の薬量を作用させたものを除いては、貝の死亡率は6時間作用以前のものに比しやや高く、爾後は作用時間が長いものほどその貝の死亡率は高くなる傾向を示している。32 mg/100 cm² の薬量を作用させたものでは24時間作用で、8 mg/100 cm² と16mg/100 cm² の薬量を作用させたものでは48時間作用で、その貝の死亡率は100%に達している。これはA1試験の結果とほぼ一致している。このことは同時に室内試験における酸性硫酸石灰の殺貝効果判定は、作用時間48時間で行うのが妥当であることを示唆している。

3. 塩基性硫酸石灰の薬量別の貝の死亡状況

塩基性硫酸石灰の各作用薬量に対し10コづつの貝を用い、3回同一試験を行つたその成績は第3表および第3図のとおりである。塩基性硫酸石灰のミヤイリガイに対する殺貝効果を100cm²当りの薬量についてみれば、15°C~23°Cの温度下では2.5mgを作用させたものあたりからその効果は現われる様であり、5mgを作用させたものでは貝の死亡率は50%を示し、10mgを作用させたものでは63%、20mgを作用させたものでは93%で最高の死亡率を示した。40mgを作用させたものでも貝の死亡率は93%であり、80mgを作用させたものでは70%であつて、その死亡率はむしろ低下する傾向を示した。

* この場合には MLD の計算に Fisher 法が使えない。



第3図 ミヤイリガイに対する塩基性硫酸石灰の殺貝効果 (15°C-23°C.)

いま Fisher の MLD 計算法を応用して MLD を計算すると、薬剤撒布量として 6.9 mg/100 cm² で、その上限と下限は 6.2 mg~7.6 mg/100 cm² であった*。

塩基性硫酸石灰の *O. nosophora* に対する殺貝効果を酸性硫酸石灰のそれと比較すると前者の MLD は 15°C~23°C の温度下で 6.9 mg/100 cm² であり、後者の MLD は 28°C~32°C では 3.3 mg/100 cm²、20°C~24°C では約 1.6 mg/100 cm² である。かりにこれだけと比較すると殺貝効果は塩基性硫酸石灰に比し酸性硫酸石灰の方がやや高いとみてよい。しかしこの場合、酸性硫酸石灰は試薬用の純度の高いものを使用し、塩基性硫酸石灰は農薬用のものを使用している点等も考慮の余地がある。又実際殺貝事業等に应用することを考えれば、塩基性硫酸石灰は農業用に広く用いられているものであり、粒子が小さく懸濁液にしやすく酸性硫酸石灰より撒布するのが容易である等の利点は見逃せない。

* なお筆者らは薬剤の作用方法について若干の検討を行ってみたが、この薬剤を作用させた貝は対照貝に比し運動性が高くなる様であり、しかもシャーレの底にしかれた薬剤を撒布した濾紙から離れるものが多くなっていた。濾紙から離れることを防止する様な手段をとり、強制的にその濾紙に止めようとするれば貝は殻内に軟体部を入れて活動を停止することを観察した。小宮 (1957b) は酸性硫酸石灰の種々の量を土に混入して *O. hupensis* に摂食させたところ、混入した薬剤の量が非常に多くなると貝の摂食運動はやゝ低下することを観察した。以上のことはこの場合における殺貝効果の動揺の一つの原因であろうとも考えられる。

要約

酸性硫酸石灰および塩基性硫酸石灰の *O. nosophora* に対する殺貝効果について、室内試験を行い次の様な結果を得た。

1. 酸性硫酸石灰の殺貝効果は、48時間作用 (28°C~32°C) では 2 mg/100 cm² 前後の薬量を作用させたものあたりから現われると推定され、16 mg/100 cm² 前後の薬量を作用させると貝の死亡率は 100% に達する。

2. 酸性硫酸石灰の貝に対する MLD は、48時間作用 (28°C~32°C) の場合 3.3 mg/100 cm² (3.0 mg~3.6 mg/100 cm²) であり、同時に LD 90 は約 5.5 mg/100 cm² であった。又同じく 20°C~24°C の条件下におけるその値はそれぞれ約 1.6 mg/100 cm² および約 2.3 mg/100 cm² であった。

3. 酸性硫酸石灰の *O. nosophora* に対する殺貝効果は 28°C~32°C の温度下と 20°C~24°C の温度下とでは後者においてやや高い傾向を示した。

4. 酸性硫酸石灰 8 mg/100 cm² および 16 mg/100 cm² の薬量の 0.75 時間前後作用で殺貝効果は発現される様である。この場合 48 時間作用で貝の死亡率は 100% に達する。

5. 酸性硫酸石灰の *O. nosophora* に対する殺貝効果を室内で試験する際は、48時間作用させたものについて効果判定を行うのが妥当であろうことが示唆された。

6. 塩基性硫酸石灰の殺貝効果は 48 時間作用 (15°C~23°C) では、2.5 mg/100 cm² 前後の薬量を作用させたものより現われると推定され、20 mg/100 cm² および 40 mg/100 cm² の薬量を作用させたものでは貝の死亡率は約 90% 以上となり、それ以上の薬量を作用させた場合にはその死亡率は低下するなどの動揺が示された。

7. 塩基性硫酸石灰の貝に対する MLD は 48 時間作用 (15°C~23°C) では 6.9 mg/100 cm² / (6.2 mg~7.6 mg/100 cm²) であった。

稿を終るにあたり、ミヤイリガイの採取に御援助をたまわつた山梨県立医学研究所の杉浦三郎博士および飯島利彦技師に感謝の意を表する。

本論文の一部は昭和 32 年 9 月第 17 回日本寄生虫学会東日本支部大会で報告した。

文献

- 1) 小宮義孝(1957) : 中共の住血吸虫病防治対策に対する意見書. 日本医事新報, 1711, 45-49. —2) 小宮義孝・他(1957 a) : PCP-Na と酸性硫酸石灰の殺貝効果について. 臨床消化器病学, 5(3), 43-46. —3) 小宮義孝・他(1957 b) : *Oncomelania* の食性に関する一新検査方法と *O. lupensis* の食性に関する2, 3の知見. (*Oncomelania* の食性に関する研究1). 日本生態学会誌, 7(1), 18-22. —4) McMullen, D. B. (1949) : A plate method of screening chemicals as molluscicides. J. Parasit 35, 28 (abstracts). —5) 蘇徳隆(1954) : 化学滅螺在予防血吸虫病上の地位. 中華衛生雜誌, 2, 81-94.

Summary

Molluscicidal effects of calcium arsenate [As_2O_5 , CaO , $\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2$] and calcium biarsenate [$\text{Ca}(\text{H}_2\text{AsO}_4)_2$] on *Oncomelania nosophora* were tested in laboratory and the results were as follows.

- A. The results of calcium biarsenate.
1. Calcium biarsenate was shown to be effective with the doses above $2\text{mg}/100\text{cm}^2$ for 48-hour exposure ($28^\circ\text{--}32^\circ\text{C}$). The death rate of snails at $16\text{mg}/100\text{cm}^2$ for 48-hour exposure was 100%.

2. Median lethal dose (MLD) and lethal dose of 90% (LD 90) of calcium biarsenate on *O. nosophora* were as follows: MLD: $3.3\text{mg}/100\text{cm}^2$ ($3.0\text{mg--}3.6\text{mg}/100\text{cm}^2$) at $28^\circ\text{--}32^\circ\text{C}$ for 48-hour exposure.

ca. $1.6\text{mg}/100\text{cm}^2$ at $20^\circ\text{--}24^\circ\text{C}$ for 48-hour exposure.
LD 90: $5.5\text{mg}/100\text{cm}^2$ at $28^\circ\text{--}32^\circ\text{C}$ for 48-hour exposure. ca. $2.3\text{mg}/100\text{cm}^2$ at $20^\circ\text{--}24^\circ\text{C}$ for 48-hour exposure.

3. Calcium biarsenate showed more effective at $20^\circ\text{--}24^\circ\text{C}$ than at $28^\circ\text{--}32^\circ\text{C}$.

4. Calcium biarsenate was found to be effective for 45-minute exposure with the doses of $8\text{mg}/100\text{cm}^2$. The death rate of snails with the doses of $8\text{mg}/100\text{cm}^2$ for 48-hour exposure was 100%.

5. The exposure of snails to the compounds for 48 hours assures more exact data.

B. The results of calcium arsenate.

1. Calcium arsenate was shown to be effective with the doses above $2.5\text{mg}/100\text{cm}^2$ for 48-hour exposure ($15^\circ\text{--}23^\circ\text{C}$). The death rate of snails with doses of $20\text{mg}/100\text{cm}^2$ was shown to be higher than 90%.

2. Median lethal dose of calcium arsenate on *O. nosophora* was $6.9\text{mg}/100\text{cm}^2$ ($6.2\text{mg--}7.6\text{mg}/100\text{cm}^2$) for 48-hour exposure at $15^\circ\text{--}23^\circ\text{C}$.