

ミヤイリガイ殺貝剤の実験室内効果判定法の検討 (2)

保 阪 幸 男

国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和 34 年 7 月 31 日受領)

筆者は殺貝剤に対するミヤイリガイの抵抗性に関する試験方法を、PCP-Na を指標として、結果の検討を試み、すでにその 1 部は本報 (1) において発表した。すなわち各種方法のうちでは筆者のいわゆる直接浸漬法Ⅱが殺貝剤の効果判定法として最も適しており、且つその作用時間は 48 時間が適当であることをのべた (保阪, 1959)。

今回は更に上記 4 つの方法について薬効発現状況の安定性について試験し、同時に Moon ら (1958) により報告されている Immersion test との比較考察を行うとともに、又薬剤作用時の温度条件の検討をも行つた。

材料と方法

1. 材 料

1) 使用薬品：水溶性殺貝剤である PCP-Na 3号(90~92% Sodium pentachlorophenate), これはミヤイリガイ殺貝用として旭電化工業株式会社で製造されたものである。

2) 使用貝山梨県棲息地より採取した殻長 6.5mm 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 3~7 日間室内に保存されたものである。使用に際しては、あらかじめこれを清水 (水道水を数日間室内に放置することにより、遊離塩素を除去せしめたもの) に浸し、活動を始めたものを実験に供した。

2. 方 法

1) 供試殺貝方法

a) 直接浸漬法Ⅱ：ペトリシャーレ (直径約 12 cm) に各種濃度の PCP-Na 溶液各 100cc を入れ、その中に被検貝 10 個づつを入れて、薬液表面直下まで木枠付ビニール網をかぶせ、貝が薬液より離脱することを防止した

YUKIO HOSAKA: Study on standardized technics for testing the susceptibility of *Oncomelania snail* to molluscicides (2) (Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo)

(寄生虫学雑誌 8 巻 2 号 103 頁参照)。

b) Plate method 変法Ⅰ, 変法Ⅱ及び直接浸漬法Ⅰはここでは略す (寄生虫学雑誌 8 巻 2 号, 102~103 頁参照)。

c) Moon の Immersion test: 筆者がこの試験を行いつつあつた時たまたま Moon ら (Moon ら, 1958) がミヤイリガイを用いてその殺貝剤の効果試験の方法とその結果とを発表した。氏らの方法は次の如くである。すなわち容量約 20cc の管瓶に各種濃度の PCP-Na 溶液を入れ、これに被検貝 10 個を入れて更に全量が約 20cc になる様に同濃度の薬液を注加し、板状ガラスでこれに蓋をなし、6 時間作用の後被検貝を水洗し、66 時間後にその生死の判定を行う方法である。そこで今回は併せてこの方法の可否をも検討することとした。

2) 使用薬剤の調製

各試験毎にまず PCP-Na 0.256 g を蒸留水 1 l に溶解して原液となし、これを倍数稀釈法により、128 ppm より 0.03125 ppm までの各種濃度の液に調製し得る様にし、試験に際してはその所要濃度を所定量、所定の方法に用いた。

3) 作用時間

薬剤と貝との接触時間は Moon の Immersion test 以外の方法においてはすでに 48 時間が適当であると云う結果を得ている (保阪, 1959) ので作用時間はすべて 48 時間とした。しかし Moon らの Immersion test の場合では Moon らは作用時間を 6 時間としているので、この方法と直接浸漬法Ⅱとの比較検討の際に限り、6, 12, 24 および 48 時間のそれぞれの作用時間において実験を行つた。

4) 薬剤作用後の貝の生死判定

いずれの場合においても所定の作用時間終了後たゞちに貝を清水でよく洗い、これを清水中に入れて 72~96 時間室温下に放置し、生死の状態を観察した。この間メデイウムの水は数回これを交換することにより、生死の状

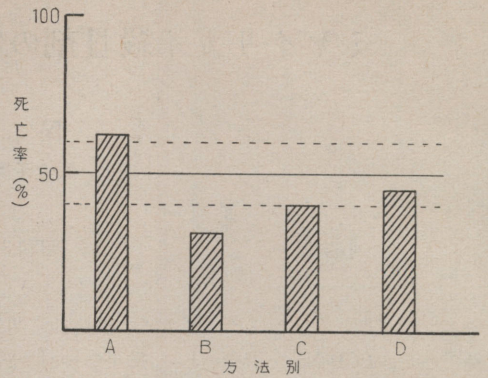
態の観察に便ならしめるとともに、腐敗等による貝への悪い影響をさけることに意を注いだ。生死の判定は、72～96時間後に清水より自動的にはい出したものは生とし、残余はこれを押しつぶしてその際軟体部の収縮運動が著明であるならば、又はたとえ緩慢な収縮運動でも、それが貝の体の半ば以上におよぶ時はそれを生と判定し、かかる反応の欠如せるものを死と判定した。

実験成績

1. 殺貝効果発現の安定性

まづ一定の地域より同一の時期に採取したミヤイリガイのグループの一部を使用し、4つの方法により11～22℃の温度において致死量の検定を行い、その結果よりまづ各方法のMLDを計算した。その結果は、Plate method 変法Ⅰでは11ppm、Plate method 変法Ⅱでは14ppm、直接浸漬法Ⅰでは0.75ppm、直接浸漬法Ⅱでは0.5ppm、であつた。そこでこの各薬量を使用し、ほぼ同一の温度条件下において、各4つの方法につき残余の貝10コづつの10のグループ(計100コ)に対し、その各々の方法のMLDの量をふたたび作用せしめ、その薬効発現状況を観察した。第1図は各方法別に再び各MLDを作用せしめた場合における死亡率を示したものである。これによれば Plate method 変法Ⅰにおける試験貝の死亡率は62%、Plate method 変法Ⅱにおけるそれは31%、直接浸漬法Ⅰにおけるそれは40%、直接浸漬法Ⅱにおけるそれは45%であり、直接浸漬法Ⅱがその50%死亡率にもつとも近い値を示している。

次に各方法において同一条件で、同一濃度の薬剤を作



第1図 各方法におけるMLDに相当する薬量を再び同方法によりミヤイリガイに作用させた際の貝の死亡率(作用時間48時間温度11～22℃)
A Plate method 変法Ⅰ, B 同Ⅱ,
C 直接浸漬法Ⅰ, D 同Ⅱ

用せしめた貝10コづつの10のグループについて、そのグループ毎の生死の状況をみると第1表の如くである。いまこの表から各方法別にその不偏分散を算出すると、Plate method 変法Ⅰの場合は2.4、Plate method 変法Ⅱでは1.4、直接浸漬法Ⅰでは2.0、直接浸漬法Ⅱでは1.2であり、これまた直接浸漬法Ⅱにおいて薬効の発現状況の安定性もつとも高いことが示唆された。

2. 薬剤作用時の温度を一定にした場合と、しからざる場合における薬効発現の安定度の比較

従来のこの様な試験にあつては薬剤作用は室温で行っている。しかし室温はその作用期間中にしばしばかなり

第1表 各方法におけるMLDに相当する薬量を作用させた際の薬効の発現状況
(使用薬剤はPCP-Na, 作用時間は48時間, 温度は11～22℃)

実験番号	Plate method 変法Ⅰ		Plate method 変法Ⅱ		直接浸漬法Ⅰ		直接浸漬法Ⅱ	
	使用貝数	死貝数	使用貝数	死貝数	使用貝数	死貝数	使用貝数	死貝数
1	10	4	10	3	10	6	10	6
2	10	5	10	4	10	2	10	4
3	10	6	10	4	10	4	10	5
4	10	5	10	3	10	3	10	3
5	10	9	10	1	10	2	10	3
6	10	8	10	3	10	4	10	5
7	10	7	10	5	10	6	10	6
8	10	5	10	4	10	4	10	4
9	10	7	10	2	10	4	10	4
10	10	6	10	2	10	5	10	5
対照	10	0	10	0	10	0	10	0

第 2 表 薬剤作用時の温度を一定にした場合と、それに或程度の変動をもたせた際の薬効の発現状況
(薬剤は PCP-Na, 作用時間は 48 時間)

薬剤の 濃度 (PPM)	実験室内 (11°~27.5°C)			孵卵器内 (20.5°~21°C)		
	実験番号 1	実験番号 2	実験番号 3	実験番号 1	実験番号 2	実験番号 3
	死貝/使用貝	死貝/使用貝	死貝/使用貝	死貝/使用貝	死貝/使用貝	死貝/使用貝
0(対照)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
0.125	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
0.25	2/10	3/10	6/10	5/10	7/10	7/10
0.5	7/10	10/10	10/10	9/10	10/10	10/10
1	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
2	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

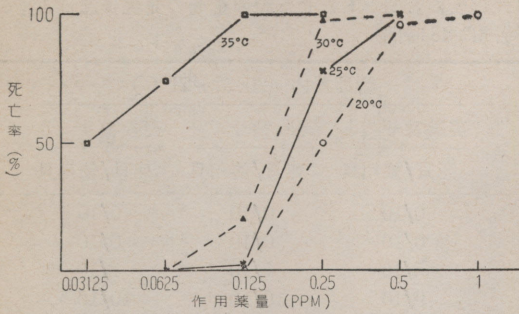
第 3 表 各種温度下において PCP-Na を作用させた貝の生死の状況
(方法は直接浸漬法 II, 八田村 A 地区の貝を使用)

実験番号		1	2	3	4	5	合計
温度	作用薬量	死貝/使用貝	死貝/使用貝	死貝/使用貝	死貝/使用貝	死貝/使用貝	死貝/使用貝
20°C ±1°C	0	0/10	0/10				0/20
	0.0625	0/10	0/10	0/10	0/10		0/40
	0.125	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/50
	0.25	9/10	5/10	6/10	4/10	1/10	25/50
	0.5	10/10	9/10	10/10	10/10	9/10	48/50
	1	10/10	10/10	10/10			30/30
25°C ±1°C	0	0/10	0/10				0/20
	0.0625	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/50
	0.125	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	1/50
	0.25	10/10	10/10	8/10	4/10	7/10	39/50
	0.5	10/10	10/10	10/10	10/10		40/40
	1	10/10	10/10				20/20
30°C ±1°C	0	0/10	0/10				0/20
	0.03125	0/10	0/10	0/10	0/10		0/40
	0.0625	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/50
	0.125	1/10	0/10	8/10	1/10	0/10	10/50
	0.25	10/10	10/10	10/10	9/10	10/10	49/50
	0.5	10/10	10/10	10/10			30/30
35°C ±1°C	0	2/10	0/10				2/20
	0.03125	3/10	5/10	1/10	9/10	7/10	25/50
	0.0625	7/10	9/10	10/10	8/10	8/10	42/50
	0.125	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	50/50
	0.25	10/10	10/10				20/20
	0.5	10/10	10/10				20/20

の変動を来す場合がある。そこでここでは試験時の環境温度を一定にした場合と、しからざる場合とで、その効果発現に差異があるか否かについての検討を行った。

すなわち温度を一定に保った孵卵器内 (20.5~21°C)

と、その温度に若干フレのある室内 (11~27.5°C) とにおいて PCP-Na の各種濃度を他の条件を一定として作用せしめた際における貝の死亡状況をみた。第 2 表はその結果を示したものである。これをみると、その結果は大体において両者ともにいちじるしい差異はないよう



第2図 各種温度下におけるPCP-Naの薬効発現状況 (方法は直接浸漬法II, 八田村A地区の貝を使用)

あるが、たゞ生死の限界濃度と思われるPCP-Na 0.25 ppm作用のものにあつては、10コづつ3回の試験の各結果をみると、定温下ではその死亡数はそれぞれ5, 7, 7であるのに、変温下ではそれは2, 3, 6となつており、後者に比して前者の方が薬効の安定性がやや高いようであつた。

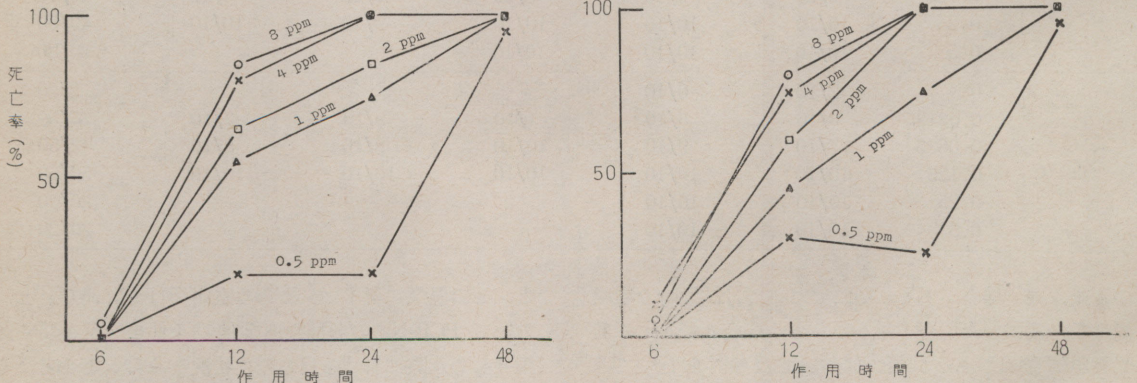
3. 各種温度下におけるPCP-Naの薬効発現状況

20°C±1°C, 25°C±1°C, 30°C±1°Cおよび35°C±1°Cの孵卵器内でPCP-Naの各種濃度を同時に10コづつの貝2~5群に作用させた際における、その死亡状況は第3表のようである。又この2~5回の成績を合計したものの死亡率を図で示すと第2図のようになる。この表および図をみると20°C, 25°C, 30°Cの各温度における貝の死亡率は、その作用温度が高くなるのにしたがつて、PCP-Naの薬剤の生死の限界濃度がおおむね高くなることは当然のことながら、いまその限界濃度と考えられるもの(20°Cで濃度0.25ppm, 25°Cでも同様0.25ppm,

30°Cでは0.125 ppm, 35°Cでは0.03125ppm)についての夫々の5群について不偏分散を計算してみると、それは夫々20°Cでは8.5, 25°Cでは6.3, 30°Cでは9.5, 35°Cでは10.0となり、温度25°Cのものにおいてその安定性をもつとも高いようである。

4. MoonらのImmersion test(Moonら, 1958)の検討
 ここでは筆者の直接浸漬法IIを対照としてMoonらのImmersion testの検討を行つた。まづPCP-Naの0.5, 1, 2, 4, 8 ppm水溶液を作り、これを上記両法によつて所定数の貝に所定時間作用せしめ、その際の貝の生死状況を検した。なお作用時間は6, 12, 24, 48時間とした。第3図はその結果を示したものである。いまこの結果をみるにMoonらの原法では作用時間を6時間としているが、室温においてこの時間では0.5ppmより8 ppmにいたるまでの薬量で、その各々の殺貝効果の差はほとんどわづかに止つているが時間的経過とともに薬効は遂次増大し、作用48時間となるにいたつて、筆者のいわゆる直接浸漬法IIとはほぼ等しき効果を示すに至る。すなわち原法の6時間浸漬というのは薬効の感度から云つて余り適当な時間とも思えない。

なお以上の試験は温度20°C~22°Cの孵卵器内で行つたものであるが、Moonらのその報告によれば28°Cの温度下でそれを行つているので、温度条件を同様にして、又MoonらのImmersion testの原法では薬剤溶液の使用量を約20ccとしているが、これは長時間作用では後述の如く使用1個体当りの薬液量が少きに失すると考えられるので、これを100ccに増量したMoonらのImmersion test変法をも含めて、作用時間をMoonらの原法のとおり6時間としたものと、同氏の方法的安定性を増加せん



第3図 直接浸漬法II及びMoonらのImmersion test (液量20ccの場合)によりPCP-Naを各時間作用させた際の薬効発現状況 (温度20°~22°C) 左: 直接浸漬法II, 右: Immersion test(Moonら原法)

第 4 表 各方法により 6 時間 PCP-Na をミヤイリガイに作用させた際の貝の死亡状況 (温度 29°±1°C)

薬剤濃度 (PPM)	直接浸漬法 II		Immersion test (Moon)		Immersion test 変法	
	生貝	死貝	生貝	死貝	生貝	死貝
0	10	0	10	0	10	0
0.25	10	0	10	0	10	0
0.5	10	0	10	0	10	0
1	9	1	7	3	10	0
2	9	1	6	4	8	2
4	6	4	5	5	5	5
8	6	4	3	7	6	4
16	3	7	6	4	6	4
32	8	2	5	5	7	3
64	5	5	5	5	8	2
128	7	3	2	8	5	5
258	3	7	6	4	5	5

第 5 表 各方法により 48 時間 PCP-Na をミヤイリガイに作用させた際の貝の死亡状況 (温度 29°±1°C)

薬剤濃度 (PPM)	直接浸漬法 II		Immersion test (Moon)		Immersion test 変法	
	生貝	死貝	生貝	死貝	生貝	死貝
0	10	0	4	6	10	0
0.03125	10	0	3	7	10	0
0.0625	10	0	7	3	10	0
0.125	10	0	4	6	2	8
0.25	0	10	0	10	0	10
0.5	0	10	0	10	0	10
1	0	10	0	10	0	10
2	0	10	0	10	0	10
4	0	10	0	10	0	10
8	0	10	0	10	0	10
16	0	10	0	10	0	10
32	0	10	0	10	0	10

との目的をもつてこれを 48 時間としたものについて、PCP-Na の各種濃度溶液を貝に作用させてその薬効発現状況を観察した。その結果は、第 4, 5 表の如くである。いまこれを見ると 6 時間作用の場合、いずれの方法も 1~2 ppm 位よりその薬効が発現するが、それ以上の薬剤濃度を作用させたものにおいてもその貝の死亡率はさして高くなり、256ppm という高濃度においてさえもいずれの方法においてもそれは 100% に達しなかつた。この事実は作用 6 時間という短時間にあつては、そのいずれの方法においても薬効が十分に發揮しえないことを示唆している。

しかし 48 時間作用の場合には、直接浸漬法 II では 0.125ppm 以下の薬量を作用させた貝には全く死亡するものがなく、0.25ppm に至り、薬効は顕著に現れて貝の死亡率は 100% に達しているが、一方 Moon らの Immersion test においてはすでに 0.03125 ppm の薬量を作用させた貝で死亡するものが現れるばかりでなく、特にその原法にあつては対照貝にも死亡するものが現れている。この事実は Moon らの原法においては、すでに 48 時間作用において薬剤以外の有害な影響が貝の死亡率の増大に影響を与えていることを示唆する。同変法にあつてはおおむね直接浸漬法 II と同様の結果がみられた。

考察および討論

すでに前にも述べたように筆者は殺貝剤の効果判定の方法を決定すべく、諸種の方法について PCP-Na を用い実験的にその効果に関し比較検討した。その結果各種方法の中ではいわゆる直接浸漬法 II, 48 時間浸漬がこれに最も適することは第 1 報に報告したとおりである。

ここでは更にこの直接浸漬法 II における薬効発現の安定性について検討を行い、加うるにその温度条件の如何についての検討も行った。まづその安定性について云えば各種方法について MLD を予め決定し、再び同一条件においてその死亡率をみるに、Plate method 変法 I では 62%, 同変法 II のそれは 31%, 直接浸漬法 I では 40% であるのに比し、直接浸漬法 II ではその死亡率は 45% であり、さきに測定した MLD に最も近い値を示している。いまこれらの標本百分率に対する母集団百分率は MLD であるので 50% であり、その 5% の危険率における誤差は ±10% となり、母百分率は 40~60% となる。これを標本百分率と比較すると直接浸漬法 II では 45% であり、母百分率とほぼ一致しているとみてよい。

又各方法において薬効を作用させた貝 10 コづつ 10 のグループについての成績より計算した不偏分散は、Plate method 変法 I におけるそれが最も大きく、次で直接浸漬法 I, Plate method 変法 II と順次に小さくなり、直接浸漬法 II におけるそれが最も小さかつた。

以上のことより 4 方法の中にあつては、同一条件下では直接浸漬法 II におけるその薬効発現状況が最も安定性があると考えてよい様である。

次に薬剤作用時の温度が薬効発現におよぼす影響についてさあるが、第 1 に孵卵器を使用して温度を一定にした場合と、室内において温度に或程度の変動がある場合との成績を比較してみると、前述した如く温度を一定に

した場合の方が薬効の発現がやや安定性を示す様である。

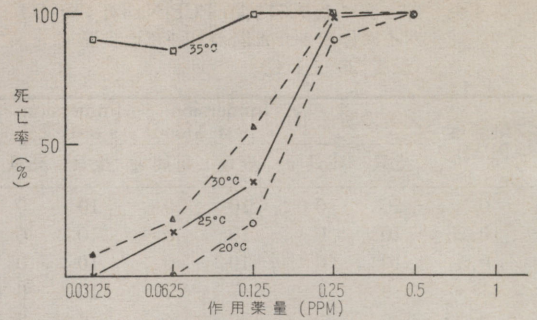
しかしここで問題になりうることは、孵卵器等を使用した場合にあつては室内と異り貝が暗黒状態におかれ、その結果貝の運動性が異り、したがつてまた薬効発現にこれが影響をあたえないかどうかと云うことである。しかし安羅岡(1959)によれば暗黒下におけるミヤイリガイの行動は正常の明るさの室内にあげるそれとやや異つたところはあるが、その運動量はほぼ同様であろうと推定されると云う。したがつてこの場合の薬効の発現が明所における場合と異なるようなことは存在しないであろうと思われる。

次に各種温度が PCP-Na の薬効発現におよぼす影響についてであるが、前述した様に $20^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 $30^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ におけるその成績では、とりわけ各種温度における貝の生死の限界量と思われる PCP-Na の濃度における安定性は、 $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ の場合において最も高いという結果が現れている。すなわちこの場合における同一試験群の死亡率の不偏分散が他のいづれの気温下の場合よりも小さい。一方ミヤイリガイの生物学的な好適温度条件がおおむね 25°C 内外であることをも考え合せると、作用環境温度は 25°C 附近が適当であると考えられる。

なおここで実験に使用する貝の群化と使用数の問題に触れておく。ここで注目すべきはいま上記の成績(第3表参照)によれば、同一温度で同一薬量を10コ群3ないし5群を同時作用せしめた場合にあつても、この際その各群の死亡貝の現れ方にはかなりの変動が認められると云うことである。しかし作用薬量別にこの個体数を合計したもので、その死亡率は薬量が多くなるのに比例して高くなるどころの正常の死亡率曲線にほぼ一致する様な価となつている。

このことは薬剤の効果判定に際しては出来る限り多くの貝を使用し、しかも10コづつ少くとも3つのグループ位に同時に同濃度の薬剤を作用させ、その合計について効果を云々するのがより正確なる値に近接するであろうことを示唆するものとする。

なお又、実験材料としてのミヤイリガイの個体群差の問題についても、ここでいささか触れておきたい。前述の各種温度下で PCP-Na を作用させたミヤイリガイは、もつぱら山梨県八田村A棲息地から採取したものであり、その成績は第3表及び第2図の様であつたが、これに比して全く同様の試験をほぼ同一条件下において、八田村B棲息地より採取した貝を使用して行つたところ、



第4図 各種温度下で PCP-Na をミヤイリガイに作用させた際の薬効発現状況(方法は直接浸漬法 II, 八田村B地区の貝を使用)

第4図の様になり、その死亡率曲線の型は両者ともほぼ同様の傾向を示しているものの、各その薬効発現状況にはやや相違が認められる。このことは両地区の貝の PCP-Na に対する感受性の差とみるより他なく、かような点よりすれば、一般に実験に際しては材料としてのミヤイリガイはこれを一定地域よりとることが望まれるわけである。なおこのことは現在本邦において殺貝剤使用状態にある程度の差が存在しており、とりわけ PCP-Na に対する抵抗性が問題になつている現在においては、特に注意を要する。すなわちこの場合八田村A地区は PCP-Na で殺貝を行つたといわれる地区であり、B地区はおそらく PCP-Na を用いたことがないと思われる地区であることにも考慮の余地がある。

さて以上の実験と考察の結果からして、水溶性殺貝剤の効果判定試験の標準的方法としては、次の方式が適当であろうと考える。

(1) 材料としてミヤイリガイは、なるべく一定地域より同時期に採取したものを使用し、同一時試験に使用する貝の個体数は多い方が望ましい。また同個体群の数についても同様であるが、少くとも同時1群10個体以上同時3群以上のそれが望ましい。(2) 薬剤作用方法は前述したいわゆる直接浸漬法 II による。(3) 薬剤の作用時間は48時間とする。(4) 試験環境温度は孵卵器等を利用し、その温度を一定に保つ。具体的には 25°C 前後で行うことが望ましい。

なお Moon らの Immersion test (Moon ら, 1958) についてであるが、これは直接浸漬法 II とほとんど同様の見地から考案された方法であり、しかも手技が比較的簡単である。たゞこの Moon らの方法は封鎖された約 20cc の液量中に10コの貝を浸漬して、6時間後にその効果を

みるというやり方をとつている。しかし私の試験の結果では、6時間浸漬では各薬液濃度におけるその殺貝効果がほとんど等しく出てきているという鈍感性があり、この点各濃度における薬液の効果判定にとつては不利である。また原著者が行つたと同一の環境温度下(28°C~30°C)で作用時間を48時間とすると、おそらく貝1コ当りの液量の少いためと思われるが、対照貝までが或程度死亡するという不利がある。そこで同法を改変し、使用貝10コに対して薬液を100ccとして同様の試験を行つてみると(第4, 5表参照)この場合には筆者の直接浸漬法Ⅱとほぼ同様の結果を示すことがわかつた。しかし柳沢(1959)によれば殻長約7.7mmの貝1コの30°Cの水における酸素消費量は約4.4 μ l/1時間であると云う。正常時の水の溶存酸素量は30°Cの場合、約5.26ml/lであるので、かりにMoonらのImmersion testの場合を考えれば20ccの水では溶存酸素量は約105 μ lとなり、10コの貝はこれを2~3時間で消費し終ることになる。Immersion testの際水表面を板状ガラスでおおうという方法においては容易に酸素の補給は望めない。又同法でかりに液量を貝10コに対して100ccとするも、この場合の溶存酸素量は約526 μ lで、10コの貝48時間ではその溶存酸素量のほとんど大部分はこれより早く(約12時間以内)消費せられてしまつてゐる。したがつて被検貝の呼吸には悪影響がおよぼされていることは想像にかたくない。一方筆者の直接浸漬法Ⅱにおいては100ccの水では溶存酸素量は約526 μ lであり、10コの貝がこれを消費すれば約12時間でなくなることになるが、しかしこの方法ではシャーレの口にはなお200ml位の空気層があると云うこと、又柳沢(1959)によれば、かような状態下においては溶存酸素量を正常時の40%程度まで実験的に低下せしめたものが6時間後にはほとんど正常時の量までに復しているということ等より考え、おそらく貝の呼吸に悪影響を及ぼすことはまづないであろうと思われる。

以上種々の点よりこれらの方法の比較においては、その目的とする殺貝剤の効果判定方法としてMoonらのImmersion testおよびその変法は必ずしも適当な方法とは云い得ない様である。

要 約

ミヤイリガイ殺貝剤の室内における効果判定にあたり、いかなる方法により行うのが最もよいかについて検討するために種々の実験を行つてきた。その一部はすで

に報告したが、今回は更に各種方法における薬効発現状況の安定性、薬剤作用時の温度がその薬効発現に及ぼす影響、およびMoonらのImmersion test(Moonら, 1958)との比較考察について試験し、次の結果を得た。

(1) 4つの方法(Plate method 変法Ⅰ及び同変法Ⅱ, 直接浸漬法Ⅰ及び同法Ⅱ)における薬効発現状況をみれば、直接浸漬法Ⅱが最も安定性を示した。直接浸漬法Ⅱの手技は次の如くである。先づペトリシャーレ(直径約12cm)に各種濃度の薬液を各100cc入れ、それに被検貝10コづつを入れて、薬液表面直下まで木枠付ビニール網をかぶせ、貝が常に薬液に接触している様にする。

(2) 薬剤作用時の温度はこれを一定に保つた方が、然らざる場合に比してその薬効の安定性を期待し得る。又殺貝剤の効果判定にあつては20°C~30°Cの温度の範囲でこれを行つてもよいが、25°C前後が最も適当であろうことが示唆された。

(3) 直接浸漬法ⅡとMoonらのImmersion testとの比較においては、Immersion testはその原法では作用時間が短かきに失し、これを適当な時間(48時間)にした場合、貝の呼吸が阻害されるという点で考慮を要する。直接浸漬法Ⅱではその様なことを考慮する必要がないことがわかつた。

以上を総合し、又すでに報告した成績をも含めて、水溶性殺貝剤の効果判定試験の標準的方法としては次の方法が適当であろうと考える。

- 1) 材料としてのミヤイリガイはなるべく一定の地域より同時期に採取した、ほぼ同殻長のものを使用する。
- 2) 薬剤作用方法は直接浸漬法Ⅱによる。
- 3) 薬剤作用時間は48時間とする。
- 4) 試験は孵卵器など温度を一定に保つことが出来るところで行い、その温度は25°C前後で行う。

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜つた国立予防衛生研究所寄生虫部長小宮義孝博士に深く感謝の意を表するとともに、種々御教示を賜つた同部石崎達博士、安羅岡一男博士、柳沢十四男博士及び同部の諸兄姉、又ミヤイリガイ採取に際し御援助をたまわつた山梨県医学研究所地方病科飯島利彦博士および同科の諸氏に対し感謝の意を表する。

文 献

- 1) Hoffman, D. D. *et al.* (1951): The effect of temperature on the molluscicidal activity of Cupper sulfate. *Science* 114, 521-523. — 2) 保阪幸男(1959):

ミヤイリガイ殺貝剤の実験室内効果判定法の検討(1), 寄生虫学雑誌, 8(1), 102-107. — 3) Kuntz R. E. (1957): Relationship of temperature to molluscicidal activity. Amer. J. Trop. Med. & Hyg. 6(5), 940-945. — 4) Okamoto K. (1959): Influence of water temperature on movement of *Oncomelania nosophora*. 昭和医学会雑誌, 19(1), 78-81. — 5) Walton, B. C. *et al.* (1958): Development of resistance to molluscicides. 寄生虫学雑誌, 7(3), 90. — 6) 柳沢十四男 (1959): ミヤイリガイの研究(13), ミヤイリガイの呼吸について, I, その自家呼吸, 寄生虫学雑誌, 8(3), 389. — 7) 安羅岡一男 (1959): ミヤイリガイの行動, とりわけ暗黒下のそれについて, 動物学会関東支部第11回大会報告.

Summary

Standardized technics for testing the susceptibility of *Oncomelania* snail to molluscicides were experimentally in the laboratory.

In a previous report of this series, the conclusions were induced that the direct immersion method II. (Hosaka 1959) is to be recommendable and the exposure of snail to compounds for 48 hours assures more exact data.

In the present report, the stability on appearance of molluscicidal effect of four methods (modified plate method I., II., direct immersion method I. & II.) were examined comparatively. In the direct immersion method II., especially, the effect of temperature on appearance of molluscicidal effect were observed. On the other hands, immersion test (Moon

et al. 1958) was reexamined in comparison with direct immersion method II. The results obtained were as follows.

1. In four methods, the direct immersion method II. showed the highest stability on appearance of molluscicidal effect.

2. More exact data was obtained when the snails were exposed at an invariable temperature. The suitable temperature range for testing the molluscicidal effect was 20°-30°C and the optimum 25°C.

3. The immersion test (Moon *et al.* 1958) leaves some room for consideration to the following two points: a) the period of exposure of snail to compound seems to be too short. b) a normal respiration of snails seems to be disturbed in such a small amounts of media as 20 cc.

From the results mentioned above, the standardized technic for testing the susceptibility of *Oncomelania* snail to molluscicides was considered to be performed by the following procedure.

1) The snails showing the same shell length which were collected from the same district on the same day should be used as materials. 2) It appears that the method for exposure of snail to molluscicides should be performed by using the direct immersion method II. 3) The time for exposure of snail to molluscicides should be performed for 48 hours. 4) The assay should be made in an incubator at about 25°C.