

蚊の寄生線虫 *Reesimermis nielsenii* の生態 とくに宿主への接近について

栗 原 毅

帝京大学医学部寄生虫学教室

(昭和50年11月19日 受領)

蚊の駆除、疾病媒介蚊の防除に多用された合成殺虫剤が、蚊の抵抗性出現や環境汚染に原因して、これに代わる防除法の開発が検討されている。天敵利用もその一案で、Mermithidaeの線虫の一種、*Reesimermis nielsenii* Tsai and Grundmann, 1969は、中でも実用化が注目されている蚊幼虫の寄生虫である。

これまでに本種線虫については、継代飼育の方法と飼育条件 (Petersen 1972, 1973a, Petersen & Willis 1970, 1972a) や、生活史と宿主選択性 (Petersen *et al.* 1968, 69) などの研究が進められ、容易に大量飼育ができるようになった。飼育の所要経費も安価で (Petersen 1973b), また蚊以外の生物への影響が実験的には皆無に近い (Ignoffo *et al.* 1973, 1974) などの実用上の利点も知られている。

しかし、実際に蚊の発生源に放した防除の試みの中には、必ずしも満足でない成績もある (Mitchell *et al.* 1972, Chapman *et al.* 1972) し、また、宿主の蚊の種によつては、かなり良い成績をえた例もある (Petersen & Willis, 1972 b, c.; Petersen *et al.* 1972, 1973)。そしてこれらの実施を報告した著者らは、「より実用化するのには、本種の習性、生態の研究が、一層進展せねばならない」と強調している。すでに多くの寄生性蠕虫類で、その行動、宿主への接近・侵入のメカニズムなどの報告例を見るが、寄生虫利用の害虫駆除にも、同様な解析が必要と考える。

本報告は、本種線虫の寄生世代に移る前の感染幼虫、(Infective stage, preparasitic stage) の生態、とくに宿主に侵入するまでの過程を追った室内実験の概要で、水温と、宿主の密度・分布が寄生率に及ぼす影響、ならびに感染幼虫が宿主周辺に集中化し感染が成立する生態についての観察を、記述した。

材料和方法

供した線虫は、アメリカ農務省 Dr. J. J. Petersen より分与されたコロニーを、継代飼育したものである。Petersen & Willis (1972a) の方法に従い、本種の卵が産みつけられている砂培地 (Sand culture) を保存し、必要に応じて浸水して感染幼虫を孵化游泳せしめた。

各実験に使用した感染幼虫は浸水開始後2時間以内にえたもので、その数の測定は、静止した水中より0.1ml づつピペットで採水してホールスライドにとり、その中の感染幼虫数を実体顕微鏡下で調べた。20回これを繰返して、その平均値から、感染幼虫の密度と全数を推定した。

宿主は継代飼育のチカイエカ *Culex pipiens molestus* Forskal で、2齢脱皮後24時間以内の幼虫を用いた。寄生率と定着した線虫数の算定は、幼虫と線虫を同一容器内に放置して4日後 (特記した場合を除く) の幼虫を、10倍の実体顕微鏡下で解剖し、体内から摘出した線虫数の記録に基いている。幼虫は、1幼虫あたり1日0.5mgのマウス用粉末飼料を与えた。水温は、特記した場合を除き、25°Cで、すべて実験容器ごと定温度室内に入れて規定水温を保った。実験用容器 (以下容器と記す) は、原則として口径9cmの腰高シャーレを使用した。

幼虫を容器内の特定位置に配置する際は、50メッシュ。ポリエチレン製の網で作った口径2.5cmの円筒型カプセル (以下カプセルと記す) を用いた。これに規定数の幼虫を入れて任意の位置におく。幼虫に接近する線虫密度は、カプセル内からピペットで採水して実体顕微鏡下におき、その数を算えた。

経時的に観察をする際は、常に同一条件の容器を同時に設定しておき、一容器は一観察時のみ用いた。

本研究の一部は、文部省科学研究費の補助を受けた。

成 績

1. 水温の影響

1-1. 10, 15, 20, 25, 30°C の各水温で, 150匹ずつの感染幼虫を分離し, 2 ml の水中におき, 経時的に死亡率を調べた. 死亡率は, 日を追ってシグモイド曲線状に増加した. 生存数平均値から累積死亡率を計算してこれをプロビットに変換して, 経過時間ごとにプロットすると, 各水温条件下とも, 一次直線によく一致する. Fig. 1 は, 算出した回帰直線をしめしている. ここか

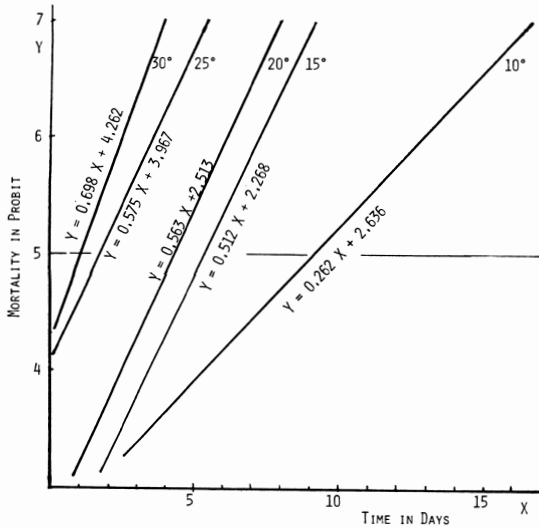


Fig. 1 Effect of water temperature on the survivorship of infective stage nematodes

ら算出される LT-50 の値は, 10°C で9.02日, 15°C 5.33日, 20°C 4.41日, 25°C 1.79日, 30°C 1.05日となり水温が高いほど, 寿命が短くなることをしめしている.

1-2. 15-30°C の4段階の水温の各々, 同一容器内

に150匹の感染幼虫と, 2 齢幼虫を50または150匹を放置した場合の各組み合わせでの, 寄生率と1 宿主あたり定着した線虫数平均値 m などについて検討した. Table. 1 は, その成績で, 宿主である2 齢幼虫が50匹でも150匹でも25°C に最大の寄生率と, m の値が見出された. 低水温では寄生率が低下するがこの差異は, 分散分析により $F_0=8.836$ (宿主150の場合), $F_0=12.572$ (50の場合)と, 1%で有意であつた. また定着した線虫数も $F_0=6.022$, $F_0=9.148$ と, 有意な差をしめた. しかし供した宿主の数は, 寄生率にさらに大きな影響をみせていた.

2. 宿主の密度と分布の影響

2-1. 7段階の異なる宿主密度, すなわち, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 250の各宿主(2 齢幼虫)と同じ容器内に150の感染幼虫を放し, 寄生率などを比較した. Table. 2 はその5回繰返した実験の結果をしめしてい

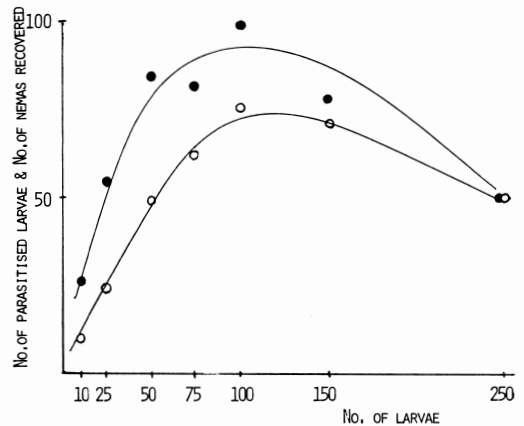


Fig. 2 Effect of host densities on the infection rate of mosquito larvae(O) and on the number of nematodes established(●)

Table 1 Effect of water temperature on the rate of parasitism of *Culex pipiens molestus* larvae exposed to 150 infective stage nematodes, and mean number of nematodes recovered per host (m) with the standard deviation (s.d.). All the values are the mean for five trials

Water temperature	%parasitism	No. mosquito larvae exposed			%parasitism	m	s.d.
		150	m	s.d.			
15°C	21.6	0.24	0.502	74.4	0.93	0.715	
20	26.4	0.42	0.555	84.8	1.08	0.667	
25	47.2	0.52	0.590	99.2	1.68	0.778	
30	44.8	0.45	0.515	96.0	1.52	0.857	

Table 2 Effect of increasing numbers of host on the rate of parasitism and the number of parasites recovered, exposed to 150 infective stage parasites.
All the values are the mean for five trials

No. of hosts exposed (N)	10	25	50	75	100	150	250
No. of hosts parasitised (H)	10.0	24.8	49.6	63.0	75.2	70.8	50.0
Rate of parasitism %	100	99.2	99.2	84.0	75.2	47.2	20.0
No. of parasites recovered (E)	26.6	52.2	84.0	81.6	99.9	78.0	50.0
Mean No. of nematodes (m=E/N)	2.660	2.088	1.680	1.088	1.000	0.520	0.200
standard deviation	1.242	0.967	0.778	0.707	0.762	0.590	0.401
variance	1.542	0.935	0.605	0.499	0.580	0.348	0.160
Mean No. of nemas/infected host (m'=E/H)	2.660	2.104	1.693	1.295	1.328	1.101	1.000

Table 3 Effect of the host arrangement on the rate of parasitism and the number of nematodes in the parasitic stage per host. 60 larvae were restricted to specific locations in each of flat-bottomed vessels 9 cm in diameter with 50 ml water, by placing them in various number of cylindrical cages, made by 50-mesh plastic screen, 2.5 cm in diameter, and exposed with infective stage nematodes for 6 hours. The larvae were contained in a cage and placed at a spot, or all the larvae divided equally into two cages, or three cages, four cages and/or five cages. The cages were arranged along the inner wall of the vessel with the same distance. All the values are the mean for three replications

No. infective stage nemas exposed	300					600				
	No. of host cages/vessel					No. of host cages/vessel				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
No. of host parasitized (H)	19.2	20.4	40.8	39.6	40.9	43.8	48.0	57.6	55.8	53.4
% parasitism	32	34	68	66	68	73	80	96	93	89
No. of parasites recovered (E)	22.8	26.4	52.8	61.2	66.0	82.2	95.4	117.6	100.2	99.0
Mean No. of nemas/host (m=E/60)	0.28	0.44	0.88	1.02	1.10	1.37	1.59	1.96	1.67	1.65
standard deviation	0.602	0.704	0.773	1.039	1.015	1.236	1.356	1.180	1.073	1.250
Mean No. nemas/infected host (m'=E/H)	1.18	1.29	1.29	1.54	1.61	1.87	1.98	2.04	1.79	1.85

る。

寄生率は、密度が低下するにつれて高い値をしめし、100%近い寄生率は供試線虫数の1/3の宿主数、またはそれ以下の際にえられた。

宿主体内に定着した線虫総数(E)は、宿主密度100で最大となり、それより高密度でも低密度でも減少する。またこの宿主密度100において、寄生された宿主の総数(H)も最大になる(Fig. 2)。このTable 2におけるEとHの間の相関係数は $r=0.879$ ($p<0.05$) と算出され、また、

$$E=0.919H+22.632$$

の回帰式が見出された。

寄生定着した線虫の、宿主当りの密度 m は、宿主の密度が大となる程低下して、宿主密度(N)の対数値との間に、

$$m=-1.806\log_{10}N+4.555$$

の回帰式がえられた。また m の標準偏差値と m との比(変動係数)は、宿主密度が大きくなる程、大になるため、定着数のバラツキが、次第に大きくなるものと考えられる。

寄生定着した線虫の密度を、寄生を受けた宿主当りの値 $m'=E/H$ で算出すると、最大の宿主密度250で $m'=1.0$ 、以下宿主が少なくなる程、増加する。すなわち重複寄生が多くなる。この間に

$$m'=-1.30\log_{10}N+3.92$$

2-2. 感染幼虫を50mlの水と共に300または600匹ずつ容器にとり、1時間静置して、この中に60匹の2齢幼虫を5通りの分布状態に配置した。カプセル1コに全60匹の幼虫を入れ1カ所においた場合、2コに30匹ずつ入れ、2カ所に相対しておく場合、同様3コに20匹ずつ、

Table 4 Densities of infective stage nemas per ml water. The samples were taken from four cylindrical cages, made by 50-mesh plastic screen of 2.5 cm in diameter, located along the inner wall of a vessel, 9 cm in diameter, with same distance each other. All the test replicated 10 times

	Vessels without larvae				Vessels with larvae				
	Cage placed at	A	B	C	D	A*	B	C*	D
Density at 2 hrs after nemas introduction	2.70	2.90	2.70	3.10	5.30	2.00	4.10	2.60	
standard deviation	1.337	0.737	1.159	1.595	2.406	1.333	1.663	2.366	
Density at 6 hrs after nemas introduction	3.40	3.10	2.50	2.30	3.80	2.80	2.10	1.70	
standard deviation	1.576	1.449	2.173	1.337	1.549	1.316	1.370	1.567	

* introduced 10 mosquito larvae in the cage A and C respectively.

Table 5 Mean number of nematodes established in 2-nd instar larva exposed for various periods. The 25 larvae were placed in a cylindrical cage 2.5 cm in diameter, made by 50-mesh plastic screen and located at a edge of the vessel, 9 cm in diameter. All the test replicated three times

No. parasite introduced	Hours after exposure	No. host examined	No. host parasitized	No. parasite recovered	Mean No. nemas per host	s.d.
500	0.5	50	8	8	0.16	0.374
	2	50	28	54	1.08	1.222
	4	50	36	62	1.24	1.011
	6	50	40	86	1.72	1.514
	8	50	48	92	1.84	1.027
	10	50	50	96	1.92	1.037
	14	49	49	100	2.04	1.135
	18	47	47	103	2.19	1.209
	22	52	52	111	2.13	1.372
A 1000*	22	49	49	120	2.44	1.472
B 500*	18	49	49	99	2.02	1.181
* 250*	22	49	49	107	2.18	1.409
C 250*	22	44	44	98	2.22	1.198

* 14 hours after the exposure to 500 infective stage nemas, the larvae together with cage were transferred to the new vessel which contains A 1000, B 500 and C 250 fresh infective stage nematodes respectively. Thus the net exposure time to 1000 nematodes was 8 hours, to 500 nematodes 4 or 8 hours, and to 250 nematodes for 8 hours

4 コ15匹, 5 コ12匹ずつ, いずれも等間隔に, 内壁沿いに, 強制配置した. 6時間この状態にして, 以後幼虫は, 別の蒸溜水に移し, 飼育し, 剖検したところ, 分布が局在している一カプセル1, 2 コに閉じこめられている場合に寄生率が低下した (Table 3). 定着した線虫総数も, 同様に減少する. しかし, 定着した線虫数の寄生された宿主当りの密度 m' は, 供試数が300だと宿主が分散している程, 大きな値をしめすのに, 線虫600では, 分布程度による影響が一律ではない. 被寄生宿主数は少数であったが, 線虫の活動は大であったと解される.

3. 感染幼虫の行動

3-1. 感染幼虫500匹, 水50mlの容器内にカプセル4コを等間隔に配置した. 2時間後, 6時間後に, 各カプセルから1mlの水をとり, 感染幼虫の数を比較したところ, Table 4にしめすように, 各カプセルの感染幼虫数に差異は少なく, 統計的に有意な差はなかつた.

また, 4コのカプセル中, あい対する2コには10匹の幼虫を放したところ, 2時間後には, 宿主のいるカプセルでは, ほぼ2倍の線虫密度となつた. その差は $t_0 = 4.9803$ ($p < 0.001$) で有意がある. しかし6時間後には

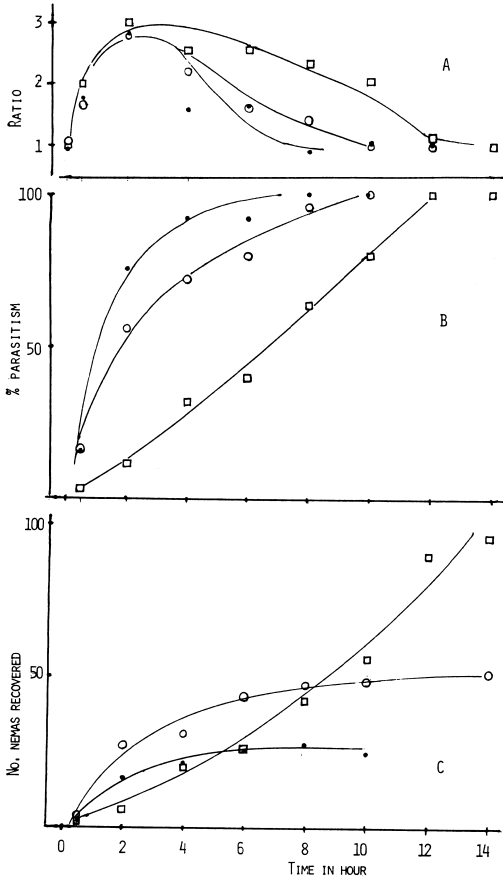


Fig. 3 Effect of different exposure period on A- the ratio of density of infective stage nematode in a cage with larvae/without larvae, B- rate of parasitism in 2nd instar larvae, and C- number of parasitic stage nematodes recovered from all the hosts exposed. Two cylindrical cages, 2.5cm in diameter, made by plastic screen, locate on the opposite edges in a vessel, 9cm in diameter, with 500 infective stage nematodes and 50ml of water. Then, 10(●), 25(○) or 50(□) larvae were introduced in a cylindrical cage. In each observation period, a sample of two ml of water was taken from the cage and the number of infective stage nematodes were examined (A). The larvae were separated from the parasites at the end of each exposure time, and examined for parasitism (B and C)

その差が少なくなり、有意な差ではなくなった ($t_0 = 1.5598$, $0.1 < P < 0.2$).

3-2. 同様に2コのカプセルを静置し、一方のカプセルに、2, 10, 25または50匹の2齢幼虫を放し、他方を対照区として、それぞれのカプセル内の線虫密度を経時的に比較観察した。

この内、宿主数2匹のカプセルでは、開始後30分で6.0/ml:対照3.1/ml, 2時間6.2:2.2, 4時間7.0:3.5, 6時間3.0:3.2を記録した。密度の比は、1.93, 2.81, 2.0, 0.93と変化したわけである。3回繰返したが、供した幼虫のうち解剖時点まで生存したのは、30分接触の6匹中2匹にすぎなかった。そしてこの2匹は各11, 12匹の線虫を宿していた。いずれの宿主数の場合も同様だが、宿主は線虫との接触により異常に激しい動きをする。この2匹の場合、4時間接触でこの動きが止まり、6時間では疑死状態になってしまった。

Fig. 3 Aは、幼虫数10, 25, 50の各々の場合の密度比を調べた成績で、いずれの宿主数でも開始後30分には、感染幼虫の集まりが見られ、2時間でピークとなることを示している。前述の2匹の場合、6時間で、比の値が1以下に戻ったが、10匹では8時間、25匹10時間、50匹では12~14時間を経過して、1もしくは、1前後となる。ピーク時の密度は、いずれの宿主数でも、対照区の2~3倍で、大差ない。

集中化現象に伴う寄生率の変化を調べるために、実験の翌日から解剖をはじめた(4日間保存飼育すると、その間に死ぬ個体が多かったからである)。寄生率は、Fig. 3 Bに示すように、少ない宿主数では、かなり早期に高まる。そして定着した線虫数E (Fig. 3 C, 1宿主あたり平均値 $m \times$ 供試宿主数N)も、寄生率の上昇とほぼ同じようなパターンで増加する。

各経過時ごとのEの数値と、寄生を受けた宿主数Hとの間には、宿主数10, 25, 50の各々で $r=0.979$, $r=0.987$, $r=0.980$ と、著しく高い相関係数を見出した。

3-3. 上述の実験で、25匹の宿主の入ったカプセルは、さらにそのまま放置して、線虫との接触時間を延長してみた。その結果14時間の時点では、寄生率100%、寄生世代の線虫密度 $m=2.04$ が、22時間時点では、 $m=2.13$ と僅かに増加した (Table 5)。

そこで14時間時点の宿主を、カプセルごと、別の新鮮な線虫1000匹のいる容器Aに移してみたところ、22時間時点では、 $m=2.44$ になった。同様に容器B (新鮮な感染幼虫500がいる)、またはC (同250)に移した場合は、それぞれ $m=2.18$, 2.22 であつた。100%寄生を受け

て、さらに新鮮な感染幼虫と接触してえられた m の値は、14時間時点の2.04との間に、有意な差はみられなかった。Table 5から計算すると、25匹の既寄生宿主群に対して、新たに接触した線虫250匹は、8時間の接触期間に計4.67匹が、500匹では1.0匹(Fig. 4 B)、1,000匹でも10.22匹の線虫が、宿主の体内に侵入できたにすぎない。

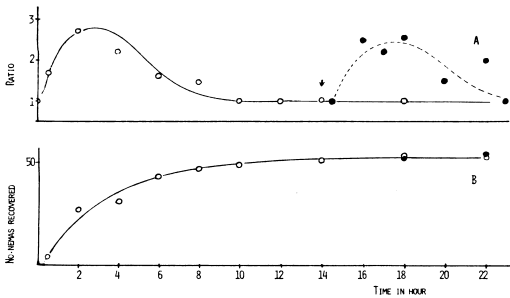


Fig. 4 Effect of exposure period on A, the ratio (as explained on Fig. 3) and B, the number of parasitic stage nemas recovered. 14 hours after the exposure to 500 infective stage nemas, the larvae were transferred ↓ to the new vessel which contained 500 fresh infective stage nemas (●), and it compared with the results of "not transferred" (○) (see also Table 5).

それにもかかわらず、Fig. 4 A は、100%寄生している宿主の周囲に線虫が、前述 3-2 で観察したのと全く似た形で集中化したことをしめしている。すなわち、容器 Bに移すと、カプセル内に、Fig. 3 A にしめすのと同様な集中がおこる。

考 察

一連の実験を通じて、本種線虫を蚊対策に実用化の際の問題点、および本種の宿主に接近する機構を検討した。

本種線虫を蚊発生源に放して、蚊の幼虫に寄生させ駆除をしようとするには、あらかじめ水中に孵化游出させた感染幼虫を発生源に運び散布する方法が従来とられていた。目的害虫の寄生率、死亡率を高めるのには、この際に、宿主数に対応する十分な感染幼虫を放すことが、必要とされていた (Petersen & Willis, 1970)。今回の実験 (2-1) でも、この重要性を指摘しうる。加えて、宿主のいない水中での線虫の死亡が、かなり早期に、高率で起った。バンコクでの Chapman ら (1972)

は、散布の18時間以前に感染幼虫を孵化游出しているが、これでは、宿主と接触するまでに40%近い死亡率だと推察され、宿主一寄生虫比の計算の誤差を生み、効率が低下しよう。

宿主の分布が偏在していると、十分な線虫が集まりにくい。餌の周囲や、孵化直後の卵塊周辺に集まっている幼虫に対して、充分多数の線虫が集中するには、極めて多数の線虫を投入せねばなるまい。したがって、野外でこの線虫を散布するには、宿主幼虫の数はもちろん、分布状況についても検討し、施用量をきめなくてはならない。

一定数の線虫を供しているのにかかわらず、宿主が高密度だと、寄生率はもとより、寄生を受けた宿主数と、宿主体内に侵入定着した線虫数までが減少する (Fig 2)。宿主が多過ぎても少なすぎても、線虫の生存率が低下するわけで、これは、特に本種を継代飼育する場合に注意を要する点である。宿主が多すぎると寄生を受ける宿主数の減る現象は Petersen & Willis (1970)、Petersen (1973 c) も観察し、宿主密度が高いと宿主に噛まれたりする線虫の傷害が多発し、寄生効率が低下するのではないかと推論している。しかし、本実験の結果からは、これは恐らく感染幼虫が宿主体内に潜入するまでの行動に原因すると考えられる。すなわち、本種が、宿主体内に入る迄に二つの過程を経ている。一つは、宿主周辺に集まること、他は、宿主と接触し体内に入る段階である。

宿主の周辺の線虫密度は、急速に (30分以内に) 高まった。これが、第一の過程、集中化である。この集中化現象は、

- 1) 密度が初めの2時間位は増加していくが、その後は、たとえ未寄生の宿主がいても増加が進行することなく、宿主のいない場所の2—3倍程度を保っている。
- 2) 初期の頃は密度が、宿主数の多少に応じた大小をしめさない。しかし、宿主が多いと、集中化している時間が長期にわたる。
- 3) 集中化は数時間継続して解散し、その時点での寄生率は、100%に達していた。しかしその後、新しい線虫が加わると、既感染幼虫群をとり巻く集中化が、再度起る。という特徴を見出した。

多くの蠕虫類で、宿主を認知する機構が研究され、たとえば Chernin (1970) は、住血吸虫ミラシジウムが中間宿主の貝から抽出された物質に激しく誘引されることを示した。他に、宿主の出す CO_2 、温度差などに反応する各種の寄生虫の例が、Croll (1972) の綜説に詳し

い。本線虫の場合、宿主の何を感知して集まるか不明であるが、上述の 1), 2) から、宿主を認知して集まってくる線虫は、そのごく周辺部にいるものに限られているのではないかと考える。

集中化は、宿主との接触の機会を増加させるから、第二の過程、宿主体内への侵入には好都合な現象である。しかし宿主が多くなるのに応じてより多数の寄生虫が誘引をされないのだから個々の宿主がより多数の寄生虫に攻撃される機会は、宿主密度が低いほど、高い。一方、宿主体内から見出された線虫総数は、寄生された宿主の総数との間に、高い相関関係をしめし、さらに、寄生世代線虫数の平均値 m は、その分散の値より大であった。本種の宿主侵入は、かなり選択的、規則的なようだ。

従つてある宿主密度までであれば、宿主が多いほど、寄生定着する線虫総数が増加する。この域を越えた高密度の宿主では、恐らく宿主の動きもより激しくなり線虫の侵入定着を相乘的に難かしくし、一方集中化をより長期に維持するには線虫の寿命が尽きてしまうので、結果として、定着する線虫数が少なくなると考える。

2匹の宿主に対しては、100%の寄生が完了してもなお4~5時間も集中化が続き、ついには宿主を殺してしまつた。所が、完全に寄生されて数時間を経過した宿主群には、8時間もの集中化をしめしながら、ごく少数しか宿主体内に侵入出来なかつた。宿主は、最初の感染に対しては全く無防備で、一度に多数の侵入を許すが、数時間を経過すると、既感染に伴う再感染防衛機構が、備えさせられたと解される。この防衛機構の解析は、他の問題、宿主周辺の集中化が、50, 25, 10, と宿主数が減少するにつれて早期に終つた理由、あるいは、線虫を宿主周辺に誘引する作用機構などと共に、今後明らかにしたい問題である。

まとめ

蚊幼虫に寄生する線虫 *Reesimermis nielsenii* の、チカイエカ *Culex pipiens molestus* に寄生する効率と、寄生定着にいたる過程を検討した。

寄生率は、宿主密度の高いとき、水温の低いとき、宿主の分布が偏在しているときには低下した。感染幼虫の、宿主のいない水中での寿命は高水温ほど短い。適切な宿主数と接触するときは、定着にいたる数が増加し、生存率が高まるが、宿主数が少なくても、多すぎても減少する傾向をしめした。

感染幼虫は、宿主群の周辺に集中化するが、その場の感染幼虫密度は、宿主数が増加しても激増することなく、ただ集中化している時間が長くなる。しかし、経時的に密度が高まることはない。また、100%寄生している宿主に対しても、新しい感染幼虫は、同じように集中化する。

線虫の宿主体内への侵入定着は、少ない宿主数では、きわめて早くにおこなわれる。侵入は、集中化の継続と伴つて進行するが、宿主数が多いと、100%寄生迄により長い時間を要する。しかし、既に寄生を完了して数時間経過した宿主に対する侵入は、著しく少ない。侵入・定着した寄生虫数と、寄生を受けた宿主数の間には高い相関関係が認められた。

供した線虫は、アメリカ農務省 Dr. J. J. Petersen より寄与された。また、本稿作製にあたり、国立予防衛生研究所寄生虫部林滋生部長の御助言を頂き、筑波大学安羅岡一男教授に、文献の貸与をえた。当研究室の大森南三郎教授他教室員一同の実験協力も併せて、各位に感謝する。

文 献

- 1) Champan, C. H., Pant, H. L. Mathis, M. J. Nelson & B. Phantomachinda (1972) : Field release of the nematode *Reesimermis nielsenii* for the control of *Culex pipiens fatigans* in Bangkok, Thailand. WHO/VBC/72.412 (mimeographed).
- 2) Chernin, E. (1970) : Behavioral responses of miracidia of *Schistosoma mansoni* and other trematodes to substances emitted by snails. J. Parasit., 56(2), 287-296.
- 3) Croll, N. A. (1972) : Behaviour of larval nematodes. in Behavioural aspects of parasite transmission, ed. E. U. Canning & C. A. Wright. London.
- 4) Ignoffo, C. M., K. D. Biever, W. W. Johnson, H. O. Sarders, H. C. Chapman, J. J. Petersen & D. B. Woodard (1973) : Susceptibility of aquatic vertebrates and invertebrates to the infective stage of the mosquito nematode *Reesimermis nielsenii*. Mosquito News, 33(4), 599-602.
- 5) Ignoffo, C. M., J. J. Petersen, H. C. Chapman & J. F. Novotony (1974) : Lack of susceptibility of mice and rats to the mosquito nematode *Reesimermis nielsenii*. Mosquito News, 34(4), 425-428.
- 6) Mitchell, C. J., P. S. Chen & H. C. Chap-

- man (1972) : Exploratory trials utilizing a Mermithid nematode as a control agent for *Culex* mosquito in Taiwan. WHO/VBC/72.410 (mimeographed).
- 7) Petersen, J. J. (1972) : Factors affecting sex ratios of a mermithid parasite of mosquitoes. *J. Nematology*, 4(2), 83-87.
 - 8) Petersen, J. J. (1973 a) : Factors affecting mass production of *Reesimermis nielsenii*, a nematode parasite of mosquitoes. *J. Med. Ent.*, 10(1), 75-79.
 - 9) Petersen, J. J. (1973b) : Role of mermithid nematodes in biological control of mosquitoes. *Exp. Parasit.*, 33, 239-247.
 - 10) Petersen, J. J. (1973 c) : Relationship of density, location of hosts, and water volume to parasitism of larvae of the southern house mosquito by a mermithid nematode. *Mosquito News*, 33(4), 516-520.
 - 11) Peterson, J. J., H. C. Chapman & D. B. Woodard(1968) : The bionomics of a mermithid nematode of larval mosquitos in southwestern Louisiana. *Mosquito News*, 28(3), 346-352.
 - 12) Petersen, J. J., H. C. Chapman & O. R. Willis (1969) : Fifteen species of mosquitoes as potential hosts of Mermithid nematode *Romanomermis* sp. *Mosquito News*, 29(2), 198-201.
 - 13) Petersen, J. J., J. B. Hoy & A. G. O'Berg (1972) : Preliminary field tests with *Reesimermis nielsenii* against mosquito larvae in California rice fiele. *Calif. Vector News*, 19(7), 47-50.
 - 14) Petersen, J. J., C. D. Steelman & O. R. Willis (1973) : Field parasitism of two new species of Louisian rice field mosquitoes by a Mermithid nematodes. *Mosquito News*, 33(4), 573-575.
 - 15) Petersen, J. J. & O. R. Willis(1970) : Some factors affecting parasitism by Mermithid nematode in Southern house mosquito larvae. *J. Econ. Ent.*, 63(1), 175-178.
 - 16) Petersen, J. J. & O. R. Willis(1972a): Procedures for the mass rearing of a mermithid parasite of mosquitoes. *Mosquito News*, 32(2), 226-230.
 - 17) Petesen, J. J. & O. R. Willis (1972b) : Preliminary field applications of *Reesimermis nielsenii* to control mosquito larvae. WHO/VBC/72.357 (mimeographed).
 - 18) Petersen J. J. & O. R. Willis(1972c) Results of preliminary field application of *Reesimermis nielsenii* (Mermithidae : Nematoda) to control mosquito larvae. *Mosquito News*, 32(3), 312-316.

Abstract

POPULATION BEHAVIOUR OF *REESIMERMIS NIELSENI*, A NEMATODE
PARASITE OF MOSQUITOES, WITH NOTES ON THE ATTRACTION
OF INFECTIVE STAGE NEMATODES BY MOSQUITO
LARVAE, *CULEX PIFIENS MOLESTUS*

TAKESHI KURIHARA

(*Department of Parasitology, Teikyo University
School of Medicine, Kaga, Itabashi, Tokyo*)

This paper describes the population behaviour of *Reesimermis nielsenii* Tsai and Grundmann (Mermithidae: Nematoda), a promising biological control agent, with respect to the attraction of the infective stage nematodes to mosquito larvae, *Culex pipiens molestus*, under the laboratory condition.

Each of 150 infective stage nematodes was separated and placed with 2 ml. of water under constant temperature at 10, 15, 20, 25 and 30°C respectively. The number of the active nematodes was decreasing as time passed. The LT-50 values were calculated as 1.79 days at 25°C and 5.33 days at 15°C. However, the rate of parasitism was higher when the nematodes exposed to mosquito larvae at the 25°C than when these placed under the lower temperatures.

Various numbers of the second instar larvae were exposed to 150 parasites. As a result, almost 100% parasitisms were obtained when the number of parasites in the infective stage to the mosquito larvae exceeded a ratio of 3:1. As the number of larvae increased the percentage of parasitism decreased.

Sixty larvae were arranged in each of glass vessels with various patterns of distribution using screen containers and exposed to a constant number of infective stage nematodes. Rate of parasitism was lower when the caged larvae were held at a edge or two spots than when the caged larvae were dispersed for more than three spots in the vessels.

Marked aggregation of infective stage nematodes in the screen cages, which contain 2, 10, 25 or 50 mosquito larvae, were observed. However, the density of the nematodes in each cage was not risen as exposure time elapsed. Though the number of larvae in the cage increased yet the density of nematodes aggregated were not risen. The phenomena of aggregation prolonged for 6 hours when the nematodes were exposed to two mosquito larvae, 8 hours to 10 larvae, 10 hours to 25 larvae and 12 hours to 50 larvae.

The incidence of parasitism and the number of parasites in parasitic stage increased with the lapse of exposure time. All the larvae were parasitised when the aggregation ceased in each cage except in case of the two larvae which were parasitized within 30 minutes after the initiation of exposure. When the nematodes freshly hatched were exposed to the 25 larvae which had already been exposed for 14 hours to the nematodes and supposed to have been thoroughly parasitised, the active aggregation of the parasites also took place. Nevertheless, incidences of subsequent penetration of nematodes were extremely low.