

セルカリア遊出に関する研究

(1) 自然散光, 人工光下でのマンソン及びビルハルツ 住血吸虫セルカリアの遊出応答, 及び暗黒刺激

野 島 尚 武 佐 藤 淳 夫

鹿児島大学医学部医動物学教室

(昭和53年3月17日 受領)

はじめに

吸虫類セルカリアがその中間宿主貝から遊出するのに日内周期性を見出したのは, *Cercaria elephantis* の遊出をみた Cort (1922) が最初とされ, 引き続いて Horsfall (1930) が *Cercaria infracaudata* で, Rees (1931) が *Cercaria limbifera* で追認している.

一方住血吸虫セルカリアについては Faust and Hoffman (1934) が *Australorbis glabratus* からのマンソン住血吸虫セルカリアに昼間遊出性を報告し, Gordon *et al.* (1934) が *Biomphalaria pfeifferi* からのマンソン住血吸虫及び *Physopsis globosa* からのビルハルツ住血吸虫セルカリアに同じく昼間遊出性を見出したのが最初である. 日本住血吸虫セルカリアの遊出については Bauman *et al.* (1940) はフィリピン strain で夜間遊出性を見出し, 逆に Mao *et al.* (1949) は中国 strain で昼間遊出性を提起した. 一方 Komiya and Ishii (1954) は本邦 (久留米, 山梨) strain でいずれの遊出性も認めないとしたが, 再び Kifune and Takao (1970) は本邦 (久留米) strain で夜間遊出性を確認し, 夫々異なつた日内周期性が報告されている.

この日内周期性についてマンソン住血吸虫及びビルハルツ住血吸虫のセルカリアは正午前後に最も多く遊出してくるとされてはいるが, その詳しい生態学的観察はなされてない. 実験的に光刺激が与えられてから経過時間毎のセルカリアの遊出状況は McClelland (1967), Webbe and James (1972) の報告にみられるが, 温度規定がなされてなく, 又観察方法にも問題があつて正午前後の自然遊出のピークを説明するに至っていない.

更に兩種住血吸虫のセルカリアに於けるその自然遊出の途上での光遮断で生じる遊出への影響については全く知られていない.

本研究に於いてはマンソン住血吸虫及びビルハルツ住血吸虫の兩種のセルカリアについてアフリカ・ケニアの住血吸虫流行地での自然散光の下にセルカリアの自然遊出, あるいは種々の条件を与えた時の遊出を経過時間毎に観察し, 更に鹿児島でそれらの遊出を実験的に種々の条件下で再現させた詳細な観察をしたので報告する.

I ケニアでの現地観察 実験材料と実験方法

この観察は東アフリカ・ケニアの南東部, タンザニアとの国境近くに位する Taveta の現地実験室 (22~30 C) で1975年8~10月に, 実験的にマンソン住血吸虫を感染させた *Biomphalaria pfeifferi* と野外でビルハルツ住血吸虫に自然感染していた *Bulinus globosus* からのセルカリアの遊出について行なわれた. 感染貝は少なくとも2~3日水槽あるいは大型シャーレで飼育されたのち実験に供された.

光条件として北側窓下の明るい自然散光を用いたので時刻の経過とともに光の強さが変るが, 実施時期が現地の乾期にあたり晴天が続いて連日安定した自然散光が得られた.

4 ml の井戸水を容れた小型シャーレ (20mm 径×20 mm 高) の中に感染貝1個体をおき, 1時間毎に次の新しいシャーレに貝を移して前のシャーレの遊出セルカリア数を算定し, 2~4個の貝を同時に観察してその平均値を遊出数とした. 算定は少量のホルマリンを滴下しセ

ルカリアを固定した後均等に分散するように攪拌・静置し、実体顕微鏡下で行なつたが、簡易的にシャーレの下に区画分けをする線条を描いたガラス板を置き、一定区画上のセルカリア数から概算した。セルカリア数が100未満で少ない時は全てのセルカリアを算えた。

セルカリアの算定方法は報告者によって少しづつ異なるが、概して飼育水の一部抜き取りによつて得られた数値で推定している。本研究では、飼育容器に遊出したセルカリアを直接観察して算え、観察が簡単かつ正確になるように工夫した。

成 績

1. 自然遊出

マンソン住血吸虫セルカリア（以下単にマンソン）及びビルハルツ住血吸虫セルカリア（以下ビルハルツ）の遊出を1時間毎に連続24時間観察すると、両種とも6PMから翌日の8AMまでの間には全く遊出してこなかつた。8AM以降から遊出がみられその数は時間を追つて急速に増加し、11AMから1PMにそのピークを認め、その後急速に遊出数は減少した。両種の自然遊出の時間的経過は、Fig. 1, Fig. 2 に示されるように、セルカリア数（10以上）を対数に変換した数値で表記すると正規分布曲線に似たものになる。1個の貝から24時間での遊出セルカリア総数は、マンソン、ビルハルツで夫

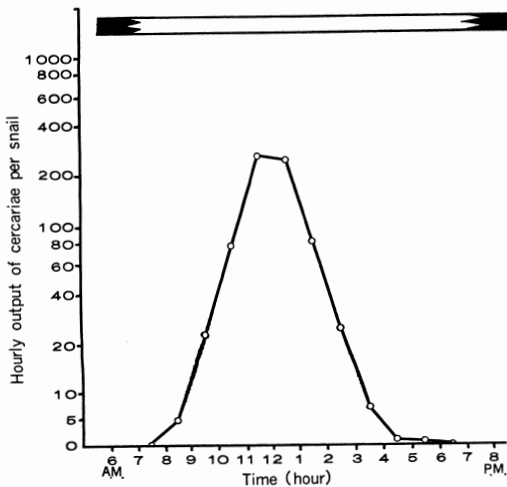


Fig. 1 Natural emergence of *S. mansoni* cercariae from *Biomphalaria pfeifferi* in a day.

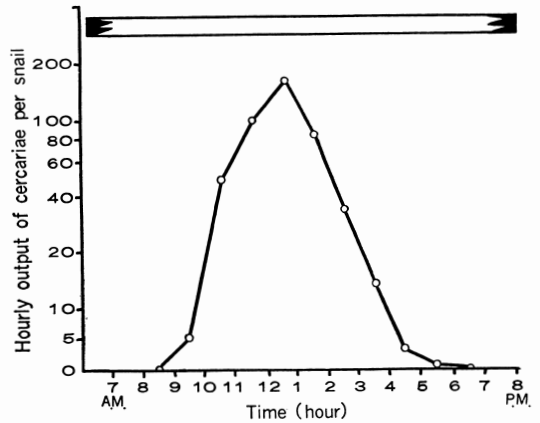


Fig. 2 Natural emergence of *S. haematobium* cercariae from *Bulinus globosus* in a day.

々最高4,727, 2,265隻を示したが、通常両種とも1,000内外の遊出数を示した。又両種ともピーク時の1時間での遊出セルカリア数は24時間での総数の30~40%を占め、ピーク時を含めた前後の計3時間には総数の75%以上が集中する完全な昼間遊出性が認められた。

2. 光の影響

マンソン、ビルハルツの両種で、前日のセルカリアの自然遊出が終つた夕刻より写真用暗袋（ビニール布製）の中の暗黒においた感染貝について、翌日の9AMから5PMまで順次1時間毎に暗袋から取り出し、夫々のそれまでの暗黒下での遊出数とその後の外界（自然散光下）での1時間毎の遊出数を観察した。

両種とも暗黒下での遊出は Fig. 1, Fig. 2 で示した自然遊出での同じ時刻の遊出と比べて非常に抑制された。Fig. 3, Fig. 4 には夫々マンソン、ビルハルツでの成績の一部が示めされている。図中の棒は暗袋の中で、外に取り出すまでに暗黒下で遊出してきたセルカリア数を示し、それによるとビルハルツ (Fig. 4) では 2PM までほぼ完全に遊出が抑制されている。一方マンソン (Fig. 3) でも 11AM 以降僅かづつ遊出がみられるがほとんど抑制された状態である。

このように暗黒で遊出が抑制されている感染貝を外界に取り出し、自然散光にあてると急速にセルカリアの遊出がみられる。10AM から 5PM までの夫々の時刻に取り出しその後のセルカリア遊出経過を経過時間毎にみると、両種ともその遊出数は取り出した直後の1時間に最初のピークをみ、更にもう一つのピークを早くて3時

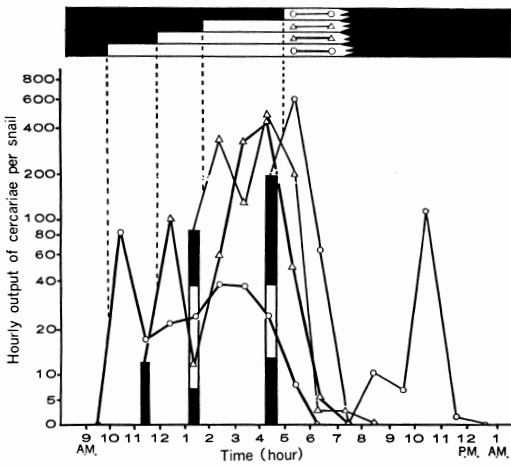


Fig. 3 The response of *S. mansoni* cercariae to light when the snails were kept in complete darkness overnight till 10AM, 12AM, 2 PM or 5 PM.

Each stick shows the number of cercariae output from the snails under darkness.

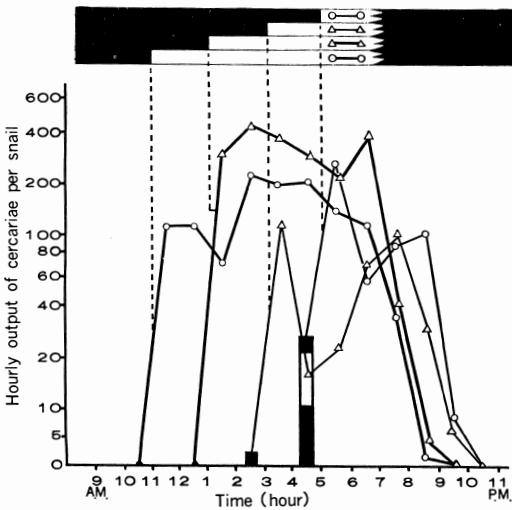


Fig. 4 The response of *S. haematobium* cercariae to light when the snails were kept in complete darkness overnight till 11 AM, 1 PM, 3 PM or 5 PM.

Each stick shows the number of cercariae output from the snails under darkness.

間目、遅くて7時間目に見出すことが出来る。即ち光に即時的に反応する段階のものと、遅延的に反応する段階のものがあると推測される。遅延的に遊出する後者の場合、Fig. 3, Fig. 4にある5 PMに取り出したグループでは、第2のピークとして自然散光が既にない夜間に至つて遊出のピークを作るのがみられ、光の作用時と反応時の顕著なずれを認める。

3. 自然遊出の途上での光遮断の効果

早朝より1時間毎に遊出をみていくと、Fig. 1, Fig. 2に示した自然遊出が再現される。その自然遊出の途上で10AM から 5 PM までの1時間毎に感染貝を暗袋の中に移し、引き続き暗黒下で1時間毎の遊出をみてみた。Fig. 5, Fig. 6には夫々マンソン、ビルハルツでの成績の一部が示されている。

マンソンでは *B. pfeifferi* からのセルカリア遊出は Fig. 5に示されるように Fig. 1で見られた自然遊出とほとんど同じで著しい影響は認められない。

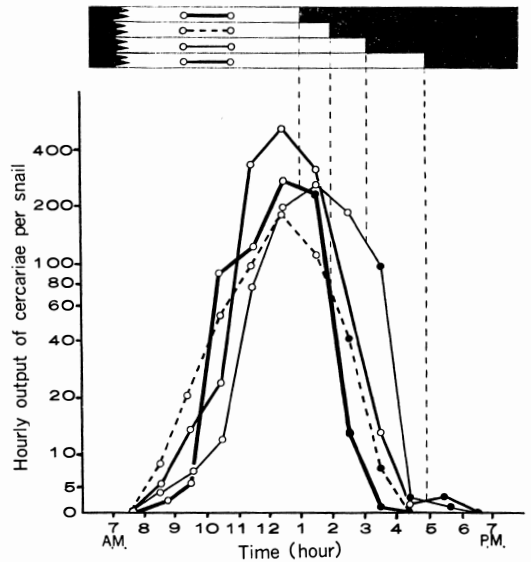


Fig. 5 Little influence of darkness observed on emergence of *S. mansoni* cercariae from *B. pfeifferi* during the daytime.

一方ビルハルツでは *B. globosus* からのセルカリアの遊出は Fig. 2にある自然遊出のパターンを追従することなく、非常に多数のセルカリアが暗黒にした最初の1時間に遊出してくる現象がみられた。自然遊出でのピーク時前の11AM, 12AM に貝を暗黒下におくと、暗黒下

の1時間にその日のセルカリア総数(夫々1,700, 3,180)の夫々46%, 68%と非常に多数の遊出がみられ, 2時間以内では両種とも80%以上が集中して遊出する。又自然遊出のピークが既に終わった3~5PMに貝を暗黒下におくと, 暗黒下の1時間に新たにピークを作つて多数が遊出する。一方自然遊出が始まっていない10AMに暗黒にしても暗黒直後に可成りのセルカリアが遊出してくるが, 暗黒下ではその後の遊出は少なく, 1日の総数でも190と遊出が少ない。このようにビルハルツでは自然遊出の途上での暗黒はその遊出を刺激すると考えられる。

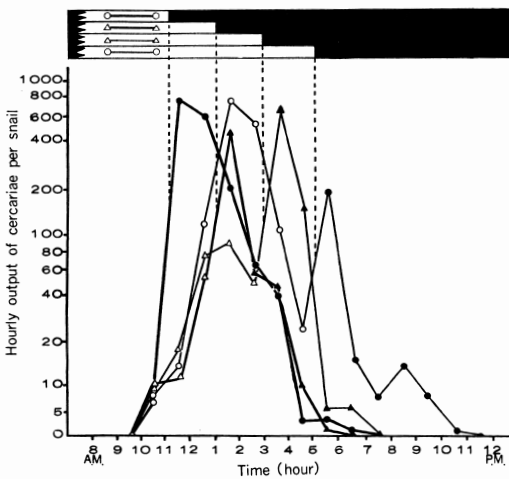


Fig. 6 The influence of darkness on emergence of *S. haematobium* cercariae during the daytime, by placing the snails into complete darkness at 11AM, 1PM, 3PM or 5PM.

II 実験室内観察

実験材料と実験方法

マンソン住血吸虫及びその中間宿主は, プェルトリコからの住血吸虫と *Biomphalaria glabrata* を, ビルハルツ住血吸虫はケニアからの住血吸虫と *Bulinus globosus* とを用いた。前者はマウスで, 後者はハムスターで実験室内維持されている。貝への感染は, マンソン住血吸虫では5隻/1貝のミラシジウムと成員の *B. glabrata* を, ビルハルツ住血吸虫では5隻/1貝のミラシジウムと6~8mmの若い *B. globosus* を5時間接触させることによつた。いずれの貝もミラシジウムと接触後直ちに環流式水槽の中で28~30C, 連続照明(水槽の濾床面で1,500ルクス)の条件で, レタスを飼料としてセ

ルカリアが遊出するまで飼育した。遊出開始後は15cm径のシャーレに200mlの脱クロール水道水とレタスと共に, 4~6個の感染貝を25Cの恒温, 24時間明暗周期(LD 12:12, 12時間照明時は1,500ルクス)の下に2週間以上飼育して遊出セルカリア数が安定して多くなるのを待った。遊出状況の観察は, 同じく4~6個の感染貝をシャーレ飼育すると同時にLD 12:12を基本として照明点灯時(8AM)から消灯時(8PM)まで1時間毎にシャーレを変え, もとのシャーレの飼育水に残存するセルカリアを算えることによつた。交換時の飼育水は夫々の実験温度と同じ水温で用意された脱クロール水道水である。1,500ルクスの照度は20Wの白色蛍光灯(ナショナルFL 20S-W)を1~3本点灯して得られた。光による蓄積熱を除去するためにシャーレはフタをせず開放にしたので水温は直接水中で計りつつ一定に保たれた。この時循環送風式恒温器内の温度は1.5~2C高めであった。開放にしたためにシャーレの外に貝が脱出する事故はセルカリア遊出開始直後の数日中で *B. glabrata* にまれにみられたが, 2週間以上遊出経過をみて実験を開始した後は, 貝は常に水中に生活し, セルカリア遊出の観察に支障はなかつた。遊出セルカリア数の算定は先のケニアでの方法と似ているが, 飼育シャーレが15cm径と大きく4~6個の感染貝を容れていることが異なる。飼育水(200ml)にホルマリン1mlを入れ充分攪拌・静置すると, 30分後には体が延びて固定されたセルカリアがシャーレ底面に沈む。これをケニアでの方法と同様に, 区画分けする線条を描いたガラス板の上におき, 任意の3区画上のセルカリアを算えて概算したものを遊出数とした。又100隻以下のセルカリアの時は全数を算えた。

成 績

1. 光に対するセルカリアの遊出応答

種々の温度条件で, 24時間明暗周期(LD 12:12)の下に照明時での1時間毎のセルカリアの遊出数を算え, 光に対する遊出応答をみた。実験観察前の感染貝は25C, LD 12:12の下に明暗が変る毎に飼育水を交換して飼育してある。これを実験前日の照明消灯時(8PM)から実験温度に移した。点灯時(8AM)に飼育水を交換して得られた(暗黒時に遊出した)セルカリア数は非常に少なく, ほとんど0であつたことから暗黒時での遊出数は成績に考慮されなかつた。

①連続4日間における照明時のセルカリアの遊出応答

Table 1 An irregular response of hourly output of *S. mansoni* cercariae on the 1st day, and the regular response on the 2nd, 3rd, and 4th days

The four successive days	Total in a day	Number of cercariae per snail (%)											
		the 1st 08:00-09:00	2nd 09:00-10:00	3rd 10:00-11:00	4th 11:00-12:00	5th 12:00-13:00	6th 13:00-14:00	7th 14:00-15:00	8th 15:00-16:00	9th 16:00-17:00	10th 17:00-18:00	11th 18:00-19:00	12th hour 19:00-20:00
25C													
the 1st day	5,784.0	576.0 (10.5)	945.0 (16.3)	1,164.0 (20.1)	1,918.0 (33.2)	673.5 (11.6)	259.5 (4.5)	115.0 (2.0)	97.5 (1.7)	19.5 (0.3)	12.0 (0.2)	4.0 (0.1)	0 (0)
the 2nd day	4,143.5	49.0 (1.2)	105.0 (2.5)	209.0 (5.0)	644.0 (15.5)	1,652.5 (39.9)	271.5 (6.6)	101.0 (2.4)	18.0 (0.4)	20.0 (0.5)	3.0 (0.1)	1.5 (0.0)	
the 3rd day	3,386.8	31.0 (0.9)	15.0 (0.4)	180.0 (5.3)	769.0 (22.7)	1,155.5 (34.1)	854.5 (25.2)	268.3 (7.9)	75.0 (2.2)	25.5 (0.8)	10.0 (0.3)	2.5 (0.1)	0.5 (0.0)
the 4th day	3,417.3	9.0 (0.3)	18.0 (0.5)	158.0 (4.6)	690.0 (20.2)	1,500.0 (43.9)	764.5 (22.4)	225.5 (6.6)	33.5 (1.0)	14.0 (0.4)	4.0 (0.1)	0.8 (0.0)	0 (0)
20C													
the 1st day	2,801.5	284.5 (10.2)	579.5 (20.7)	399.5 (14.3)	705.5 (25.2)	500.5 (17.9)	241.0 (8.6)	50.0 (1.8)	32.5 (1.2)	30.0 (1.1)	7.5 (0.3)	1.0 (0.0)	0 (0)
the 2nd day	1,732.5	4.0 (0.2)	32.0 (1.8)	87.0 (5.0)	224.0 (12.9)	357.5 (20.6)	650.0 (37.5)	262.0 (15.1)	70.0 (4.0)	28.0 (1.6)	14.5 (0.8)	3.5 (0.2)	0 (0)
the 3rd day	671.3	2.0 (0.3)	21.0 (3.1)	51.0 (7.6)	95.0 (14.2)	129.5 (19.3)	218.0 (32.5)	96.0 (14.3)	34.5 (5.1)	14.0 (2.1)	8.5 (1.3)	1.3 (0.2)	0.5 (0.1)
the 4th day	1,933.5	6.0 (0.3)	81.0 (4.2)	209.0 (10.8)	267.0 (13.8)	403.0 (20.8)	510.5 (26.4)	259.0 (13.4)	130.0 (6.7)	50.0 (2.6)	10.0 (0.5)	5.5 (0.3)	2.5 (0.1)

Numbers of snails used in both the experiments (25C, 20C) : 4
Each cercarial output during the darkness-time from 20:00 to 8:00 was negligible because of quite small number.

Table 2 An irregular response of *S. haematobium* cercariae on the 1st day, and the regular response on the 2nd, 3rd and 4th days

The four successive days	Total in a day	Number of cercariae per snail (%)											
		the 1st 08 : 00—09 : 00—10 : 00—11 : 00—12 : 00	2nd	3rd	4th	5th 13 : 00—14 : 00	6th 14 : 00—15 : 00	7th 15 : 00—16 : 00	8th 16 : 00—17 : 00	9th 17 : 00—18 : 00	10th 18 : 00—19 : 00	11th 19 : 00—20 : 00	12th hour
25C													
the 1st day	1,212.5	13.0 (1.1)	97.0 (8.0)	156.0 (12.9)	368.0 (30.4)	200.0 (16.5)	149.0 (12.3)	189.0 (15.6)	27.0 (2.2)	10.0 (0.8)	2.5 (0.2)	0.5 (0.0)	0.5 (0.0)
the 2nd day	575.0	2.0 (0.3)	0 (0)	1.0 (0.2)	112.0 (19.5)	257.0 (44.7)	142.5 (23.9)	51.0 (8.9)	10.0 (1.7)	3.0 (0.5)	1.0 (0.2)	0.5 (0.1)	0 (0)
the 3rd day	571.5	10.0 (1.7)	2.0 (0.3)	8.0 (1.4)	122.0 (21.3)	227.0 (39.7)	128.0 (22.4)	56.5 (9.9)	15.0 (2.6)	2.5 (0.4)	0.5 (0.1)	0 (0)	0 (0)
the 4th day	452.5	1.0 (0.2)	11.0 (2.4)	27.3 (6.0)	77.0 (16.5)	202.0 (44.6)	39.0 (19.7)	40.0 (8.8)	6.0 (1.3)	1.0 (0.2)	0.5 (0.1)	0 (0)	2 (0.1)
20C													
the 1st day	417.5	0 (0)	9.0 (2.2)	16.0 (3.8)	58.0 (13.9)	33.0 (7.9)	200.0 (47.9)	48.0 (11.8)	24.5 (5.9)	14.0 (3.5)	10.0 (2.4)	3.0 (0.7)	2.0 (0.9)
the 2nd day	161.5	2.0 (1.2)	0.5 (0.3)	8.0 (5.0)	10.0 (6.2)	22.0 (13.6)	61.0 (37.8)	37.5 (23.2)	10.0 (6.2)	4.5 (2.8)	2.5 (1.5)	2.0 (1.2)	1.5 (0.9)
the 3rd day	98.0	4.0 (4.1)	2.0 (2.0)	2.0 (2.0)	7.0 (7.1)	12.0 (12.2)	32.0 (37.8)	18.0 (18.4)	10.0 (10.2)	2.5 (2.6)	1.5 (1.5)	1.0 (1.0)	1.0 (1.0)
the 4th day	88.5	0.5 (0.6)	1.0 (1.1)	1.0 (1.1)	5.5 (6.2)	11.5 (13.0)	37.5 (42.4)	20.0 (22.6)	8.0 (9.0)	1.0 (1.1)	1.5 (1.7)	0.5 (0.6)	0.5 (0.6)

Numbers of snails used in both the experiments (25C, 20C) : 4

Each cercarial output during the darkness-time from 20 : 00 to 8 : 00 was negligible because of quite small number.

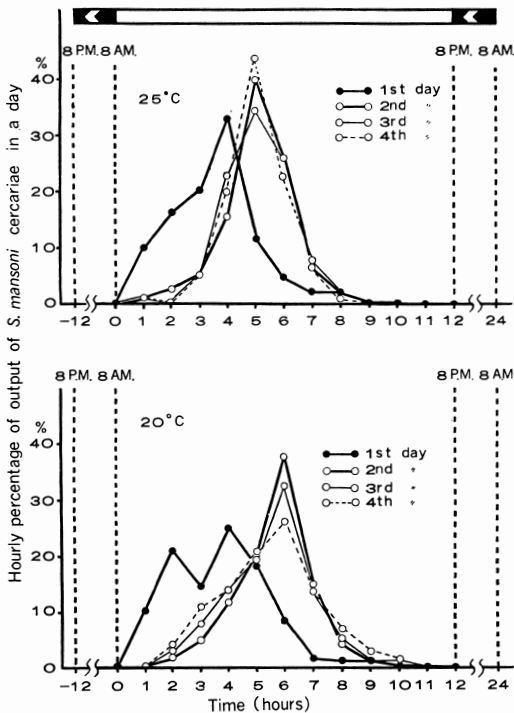


Fig. 7 Hourly output of *S. mansoni* cercariae from *B. glabrata* exposed to light at 25C and 20C on the 4 successive days.

25C, 20C の各温度で連続した第1～4日間の照明時について、Table 1にマンソン住血吸虫セルカリア（以下単にマンソン）、Table 2にビルハルト住血吸虫セルカリア（以下ビルハルト）の1時間毎のセルカリア遊出数と総遊出数に対する割合を示した。Fig. 7, Fig. 8は夫々Table 1, Table 2の遊出割合を図化したものである。両種の住血吸虫でいずれの温度でもそのセルカリアの遊出経過は第2日目以降では明らかに一定のパターンを示すが、第1日目は不規則である。

このことから遊出応答の時間的経過を観る際は不規則な第1日目の観測は捨て去り、第2日目以降の規則的な遊出応答について以下の観察がなされた。

◎種々の温度における照明時でのセルカリアの遊出応答

Table 3にマンソン、ビルハルトの遊出応答が温度別に示されている。前記したようにこの成績は第2日目以降の観察結果である。30C, 27C, 25C, 20C, 15Cの恒温における照明時の遊出パターンとして、マンソンでは4, 4, 5, 6, 6時間目、ビルハルトでは3, 4,

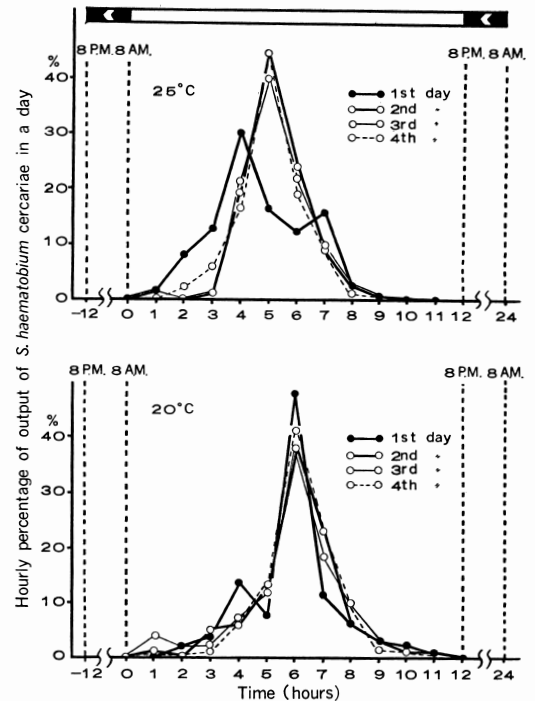


Fig. 8 Hourly output of *S. haematobium* cercariae from *B. globosus* exposed to light at 25C and 20C on the 4 successive days.

5, 6, (7)時間目にピークを認める規則的な滑らかな曲線が得られた (Figs. 9, 10)。両種とも高温になる程そのピークが照明開始から短時間内に現われる。ビルハルトでは15Cの低温は第2日目以降には全く遊出が停止し遊出パターンが得られなかった。しかしこの15Cでの観察に限り、一旦20Cで1日間の前操作（1時間毎の飼育水交換）を行って、次の日に15Cとした第1日目の遊出応答で、僅かな遊出総数20隻/4貝）ではあるが、7時間目に小さなピーク（8隻）を認めた。ピーク時（1時間）の遊出はマンソンでは15C, 20C, 25C, 27C, 30Cと温度が上昇するに従い、遊出数の割合が夫々36.9%, 37.5%, 39.5%, 44.3%, 47.1%と増加している。一方ビルハルトではその割合は20C, 25C, 27C, 30Cで夫々36.9%, 45.7%, 43.0%, 36.2%と、25Cで最も多く、より高温の27C, 30Cでは減少している。

以上のように両種の住血吸虫で僅かに遊出応答に差がみられるが、各温度での光に対する遊出応答にいずれも規則性がみられることが分つた。

Table 3 The regular response of hourly output of *S. mansoni* and *S. haematobium* cercariae to light in dependence on temperature

Temp.	No. of snails	Total in a day	Number of cercariae from the snails (%)											
			the 1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th	8th	9th	10th	11th	12th hour
			Twelve successive hours during the light-time											
			08 : 00—09 : 00—10 : 00—11 : 00—12 : 00—13 : 00—14 : 00—15 : 00—16 : 00—17 : 00—18 : 00—19 : 00—20 : 00											
<i>S. mansoni</i>														
30C	4	26,214	992 (3.8)	1,448 (5.5)	5,146 (19.5)	12,342 (47.1)	2,932 (11.2)	2,022 (7.7)	882 (3.4)	322 (1.2)	116 (0.4)	10 (0.0)	2 (0.0)	0 (0)
27C	4	14,854	200 (1.3)	148 (1.0)	980 (6.6)	6,580 (44.3)	4,940 (33.3)	1,456 (9.8)	432 (2.9)	88 (0.6)	26 (0.2)	2 (0.0)	2 (0.0)	0 (0)
25C	4	16,574	196 (1.2)	420 (2.5)	836 (5.0)	2,576 (15.5)	6,610 (39.5)	4,276 (25.8)	1,086 (6.6)	404 (2.4)	72 (0.4)	80 (0.5)	12 (0.1)	6 (0.0)
20C	4	6,930	16 (0.2)	128 (1.8)	348 (5.0)	896 (12.9)	1,430 (20.6)	2,600 (37.5)	1,048 (15.1)	280 (4.0)	112 (1.6)	58 (0.8)	14 (0.2)	0 (0)
15C	4	3,069	0 (0)	0 (0)	0 (0)	93 (3.0)	688 (22.4)	1,132 (36.9)	752 (24.5)	288 (9.4)	80 (2.6)	30 (1.0)	6 (0.2)	0 (0)
<i>S. haematobium</i>														
30C	5	3,344	66 (2.0)	356 (10.6)	1,212 (36.2)	932 (27.9)	613 (18.3)	130 (3.9)	25 (0.7)	8 (0.2)	2 (0.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
27C	5	3,002	26 (0.9)	4 (0.1)	76 (2.5)	1,292 (43.0)	972 (32.4)	586 (19.5)	36 (1.2)	6 (0.2)	4 (0.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
25C	6	3,207	26 (0.8)	10 (0.3)	50 (1.6)	741 (23.1)	1,464 (45.7)	580 (18.1)	224 (7.0)	88 (2.7)	14 (0.4)	8 (0.2)	2 (0.1)	0 (0)
20C	8	2,922	4 (0.1)	43 (1.6)	148 (5.1)	382 (13.1)	361 (12.4)	1,078 (36.9)	412 (14.1)	180 (6.2)	130 (4.4)	124 (4.2)	50 (1.7)	10 (0.3)

Each cercarial output during the darkness-time from 20 : 00 to 8 : 00 was negligible because of quite small number. These results obtained here were observed on the second day, and the results on the first day were neglected because of irregular response and pattern, as shown in Tables 1 and 2, and Figs. 7 and 8.

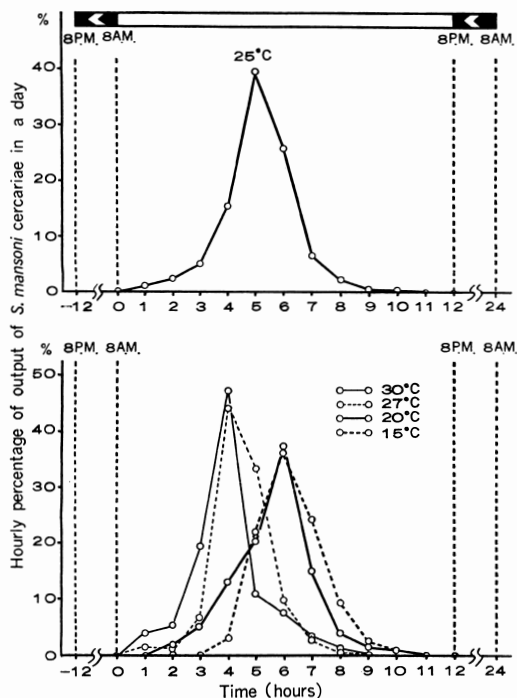


Fig. 9 The pattern of hourly output of *S. mansoni* cercariae from *B. glabrata* exposed to light at 30C, 27C, 25C, 20C or 15C.

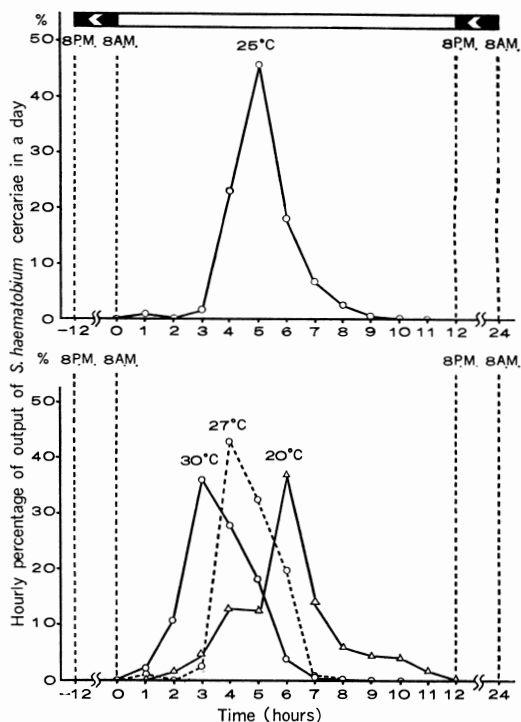


Fig. 10 The pattern of hourly output of *S. haematobium* cercariae from *B. globosus* exposed to light at 30C, 27C, 25C or 20C

2. セルカリア遊出に及ぼす暗黒の影響

前記したように両種セルカリアは、25Cの恒温では照明時の5時間目にピークをもつ規則的な遊出を示すが、この遊出応答を標準(control)として照明時の途上で任意の1時間だけ光を遮断(暗黒化)してその影響をみてみた。

①マンソンの暗黒への遊出応答

照明点灯から1時間経過した2時間目の1時間だけを暗黒にしたものではその遊出応答はcontrolと同じパターンで暗黒の影響はない(Fig. 11のA)。3、4時間目に暗黒にしたものではピーク時の遊出割合が低下し、遊出パターンにやや乱れが生じる(Fig. 11のB)。5時間目以降に暗黒にしたものでは、暗黒にした1時間の遊出割合がやや増加しているが、controlとほぼ同じ遊出パターンとみなされる(Fig. 11のC, D)。

このようにマンソン住血吸虫では照明時での1時間の暗黒は遊出応答にほとんど影響を与えないと考えられる。

②ビルハルトの暗黒への遊出応答

controlでのピーク(5時間目)より前、即ち照明点灯から2、3、4時間目の1時間を暗黒にしたものでは、暗黒にした1時間にピークが移動し、その後遊出数は減少していく(Fig. 12のA, B)。ピーク時(5時間目)に暗黒にしたものではcontrolよりはるかに高い5時間目のピークを作る(Fig. 12のB)。5時間目のピークが終つてからの6、7、8、9時間目に暗黒にしたものでは5時間目のピークの他に暗黒にした夫々6、7、8、9時間目に新たに第2の高いピークがみられる(Fig. 12のB, C)。しかし10、11時間目の暗黒では少数が遊出してくるのみで著しい影響が無い(Fig. 12のD)。第2のピークを認める6、7、8、9時間目に暗黒にしたもので、第1のピーク(本来の5時間目のもの)とその後の第2のピークとの比率を求めると、第1のピーク100に対して第2のピークは夫々248、143、92、39となる。一方controlでのピークに対する6、7、8、9時間目の遊出の比は夫々40、15、6、1でそれらの差は夫々208、128、86、38となり、暗黒で刺激さ

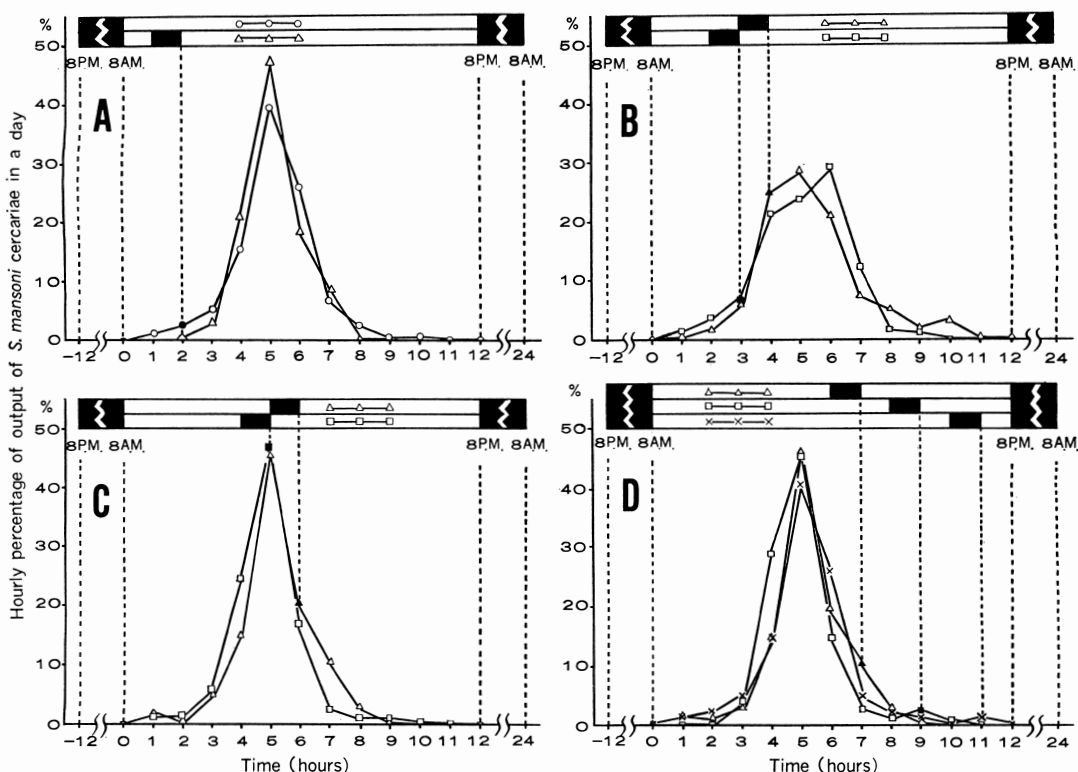


Fig. 11 Little influence of darkness observed on the pattern of hourly output of *S. mansoni* cercariae from *B. glabrata* during the light-time.

れて遊出したセルカリア数の割合の表わすものである。このことから遊出応答のピーク時近くに暗黒にした場合がより有効な刺激であると考えられる。

このようにマンソンと異ってビルハルツでは、そのセルカリア遊出に暗黒は著しい影響を与え、明らかに刺激として作用していることが分つた。

次にピークを過ぎてから新たに第2のピークを形成して遊出してきたセルカリアの“よりどころ”をみる為に、前日、当該日、翌日の連続3日間の遊出応答をみてみた。前日、翌日には照明時に暗黒刺激を与えず、当該日だけには2, 3, 4, 6, 8あるいは10時間目に1時間の暗黒刺激が与えられた。Fig. 13には3日間の遊出パターンが遊出数の増減で示めされ、夫々の3日間の遊出総数は図中に前日、当該日、翌日の順に附した。照明点灯から2, 3時間目の1時間だけ暗黒にしたものでは、連続3日間の夫々の遊出総数には差はないと思われる (Fig. 13のA, B)。しかし4, 6, 8時間目の1時間だけ暗黒にしたものでは、1日のセルカリア数 (per

snail) は4時間目のもので512, 560, 375隻 (前日、当該日、翌日の順)、6時間目のもので438, 750, 344隻、8時間目のもので444, 745, 268隻となり、当該日が増加し、翌日の総数が著しく減少している (Fig. 13のC, D, E)。更に10時間目の1時間だけ暗黒にしたものでは、遊出パターンの変動もなく、又遊出総数にも変動がないと思われる (Fig. 13のF)。Table 2にある25Cでの標準遊出応答で2, 3時間目の1時間での遊出は0.3%, 1.6%と低く、又10時間目のそれも0.2%と低い。一方4~8時間目のそれは2.7~45.7%とより高い。このことから、セルカリア遊出が活発な時期 (25Cで点灯より4~8時間) での暗黒は、翌日遊出予定のセルカリアの遊出をも促すと推測される。

更にこの暗黒刺激の有効である最小時間を見る為に25Cの恒温で5時間目のピークを終えた8時間目のはじめに種々の時間 (2, 5, 10, 30秒, 1, 5, 10, 30, 60分) だけ暗黒刺激を与えて、その刺激を与えないものをcontrolとして比較観察した。5時間目の第1のピーク

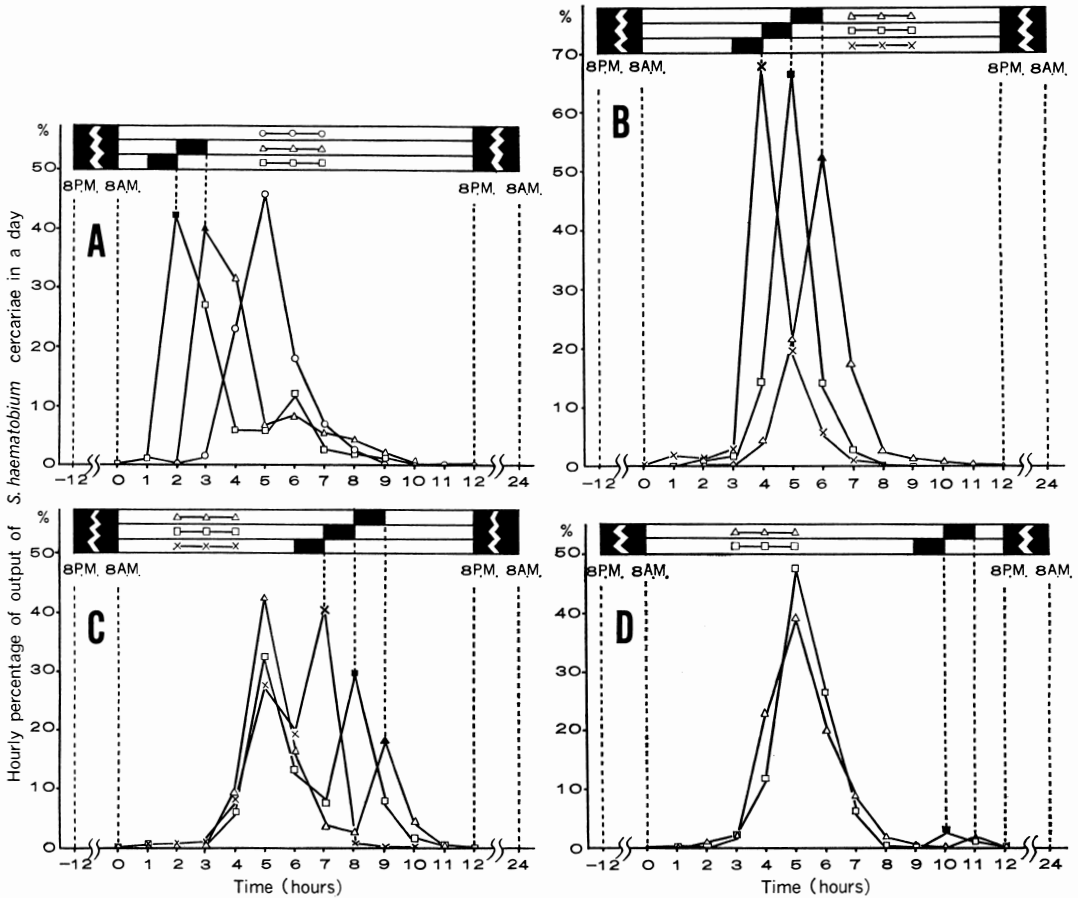


Fig. 12 Remarkable influence of darkness observed on the pattern of hourly output of *S. haematobium* cercariae from *B. globosus* during the light-time: Darkness forced numerous cercariae to escape.

時のセルカリア数に対する8時間目の1時間の遊出数の割合は、controlで7.3~11.3%を示すに対し、2秒間の暗黒では7.4%とその影響をみないが、5秒間では26.3%と明らかに遊出数が増加したとみられる。30秒間~10分間に暗黒にしたものはいずれも71.8~81.7%の高い値を示し、暗黒による著しい遊出数の増加をみた。30分、60分間暗黒にしたものでは遊出セルカリア数はピークと同じ高さになる100%前後の値を示した (Table 4)。

以上から照明時の光遮断 (暗黒) はビルハルツの遊出に強い刺激として作用し、5秒間の短時間でも有効である。更に暗黒に刺激されるセルカリアは当日遊出予定のセルカリアだけでなく、翌日遊出予定のセルカリアをも含むことが推測された。

考 察

マンスン住血吸虫及びビルハルツ住血吸虫のセルカリアの自然遊出に於いて昼間遊出性があることはよく知られている。本研究でもケニアでの自然遊出の観察で同じ傾向を認め、その遊出経過はセルカリア数 (10隻以上) を対数変換してみると、Fig. 1, Fig. 2 のように兩種共に11AM から 1PM にピークがある正規分布に近似した曲線で示され、6PM 以降 8AM 以前の夜間には全く遊出がみられない。現地では日内気温変動が22~30Cで正午前後で光量 (自然散光) が最大値を示すと同時に水温も高くなり、これらと一致してセルカリア遊出のピークがみられる。一方、実験室内人工照明下での遊出の観察でも24時間明暗周期 (LD 12 : 12, L : 1,500 ル

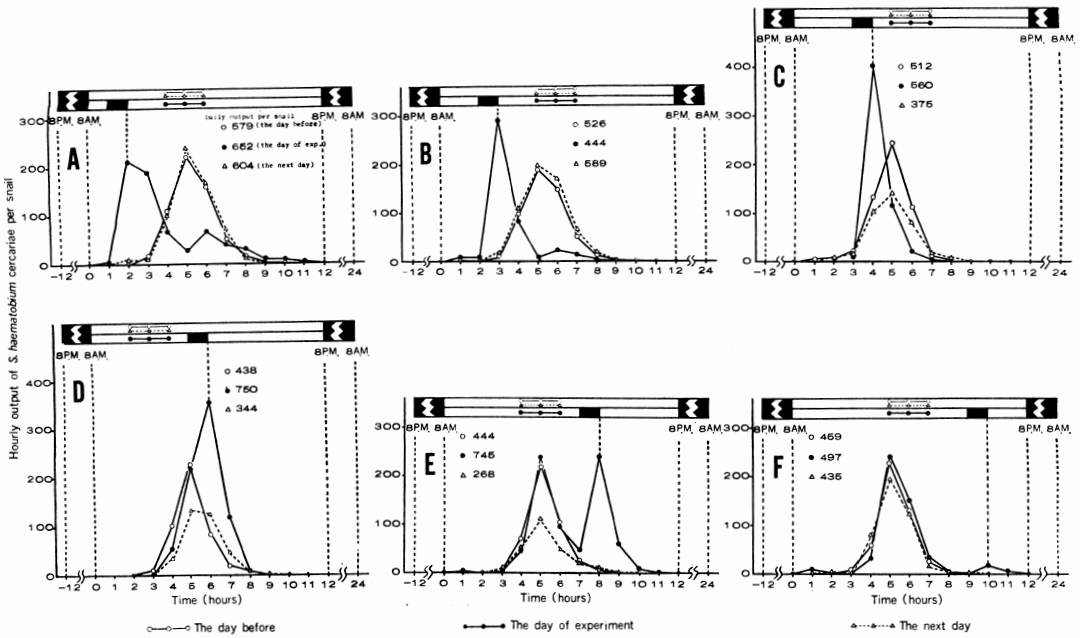


Fig. 13 Hourly and daily output of *S. haematobium* cercariae from *B. globosus* in the day before, the day of experiment and the next day: Darkness forced not only “today’s cercariae” but also “tomorrow’s cercariae” to escape.

The numbers of daily output in the 3 successive days are marked in each figure.

Table 4 Comparison of a regular peak in the 5th one hour and a new peak stimulated by darkness in the 8th one hour at 25°C: Light-cut for 5 seconds and more was able to force *S. haematobium* cercariae to shed

*Duration of darkness	No. of snails	Number of cercariae (%) from the snails			Percentage in b/a
		Total output in a day	a (in the 5th one hour)	b (in the 8th one hour)	
O second (control)	4	1,592	720(45.2)	56(3.5)	7.8
	5	2,088	846(40.5)	96(4.6)	11.3
	4	1,426	652(45.7)	48(7.4)	7.3
2 seconds	4	1,808	808(44.7)	60(3.3)	7.4
5	3	2,005	784(39.1)	206(10.3)	26.3
10	4	2,421	884(36.5)	492(20.3)	55.7
30	3	2,873	928(32.3)	736(25.6)	79.3
60	4	1,862	652(35.0)	468(25.1)	71.8
5 minutes	3	2,374	818(34.5)	668(28.1)	81.7
10	4	3,256	1,160(35.6)	936(28.7)	80.7
30	5	2,444	656(26.8)	716(29.3)	109.1
fully	5	2,408	708(29.4)	760(31.6)	107.3
one hour	4	2,368	720(30.4)	660(27.9)	91.7
	4	2,286	615(26.9)	672(29.4)	109.3

* Light was put off at the beginning of the 8th hour during the light-time.

クス)の光条件でマンソン, ビルハルツは30C, 27C, 25C, 20C, 15Cで夫々4, 4, 5, 6, 6時間目と3, 4, 5, 6, (7)時間目に遊出のピークをもつ一定の遊出パターンを示し, 水温が高い程早くピークに達することが確認された。このことは自然条件下での遊出がその日の朝から光量の増加, 水温の上昇が徐々に起こるのを反映した結果であることを推測させる。即ち Barbosa *et al* (1954), Rowan (1958), Sturrock (1965), Valle *et al.* (1971)がマンソンで, El-Gindy and Radhawy (1965)がビルハルツで自然条件下での遊出を観察して夫々が異なつた時刻でのピークを報告していることが理解できる。

次にケニアでの現地観察で, 感染貝を前日の夜から引き続いてそのまま暗黒に置くと, 兩種住血吸虫とも昼間でも貝からのセルカリア遊出は抑制され, 特にビルハルツでは, ほぼ完全に抑制される。この抑制された状態のものを暗黒から外に取り出すと, 光に反応して多くのセルカリアが遊出してくる。その遊出経過は即時的な多数のセルカリア遊出がやがて減少してから3~7時間後に再び多数のセルカリアが遊出してくる。ここで, 遅延して多数遊出してくる時刻が既に自然散光がない夜間である場合もあることは注目される。前者の即時的な遊出は, 暗黒下でもセルカリアの産生が進行するに従いその後の遊出に関する生物学的成熟過程が完了して遊出待機状態として蓄積された“古いセルカリア”は光が与えられると, 直ちに反応して遊出し得ると考える。一方後者の3~7時間後にピークがある遊出は, 日内の光周期に応じた正常な自然遊出に相当するもので, 本研究で明らかになつた(光によつて遊出が促され温度が高い程遊出のピークが早期に出現する)遊出応答の基本に従うものである。

人工照明下での1時間毎の遊出の観察は少なく, McClelland (1967)が *B. sudanica* からのマンソンの遊出と *B. nasutus* からのビルハルツの遊出で, 前者で照明後2~3時間目, 後者で4時間目に遊出のピークをみている。又 Webbe and James (1972)は *B. globosus*, *B. truncatus*からのビルハルツの遊出に夫々4時間目, 5時間目にピークを見出ししている。本研究では照明時での遊出応答パターンをみる過程で実験第1日目に得た結果はデータにばらつきがあり規則性に欠けていることから, これを捨て去り, 温度によつて一定パターンを示す連続した第2日目以降のデータに基づいて遊出応答を求めた。McClelland (1967), Webbe and James

(1972)らの報告には観察時の人工照明の照度や明確な温度が示されてなく, 又本研究で不安定期とみなされた実験第1日のデータが主に使用されたと推測する。しかし両者で遊出の観察の前日までの感染貝の飼育維持には自然光を用いたことが想像され, 本研究(ミラシジウム接触直後から全観察期間を通じて人工照明下に飼育維持された)との飼育条件の差についても考慮する必要がある。

又飼育水の交換そのものもセルカリア遊出を促すことは Bolwig (1955)が貝を水槽から試験管に移した時により多くのセルカリアが遊出すると指摘したことと関連があり, 筆者らもよく経験する事実である。このことは1時間毎の遊出状況を見る時に同じく1時間毎に飼育水の交換を伴うと云う観察方法自体がセルカリア遊出を促すことを意味する。第1日目の不規則な遊出パターンはこの影響が最も著しい時のものである。しかもパターンの乱れがピーク時までの短縮を伴つて現われることから, 遊出に関する生物学的成熟が一部進行したセルカリアの遊出によるものと考え, 前述の長時間暗黒の下で遊出が抑制された“古いセルカリア”と関連をもつて理解しやすい。更に第2日目以降では1時間毎の飼育水交換の条件(照明時の経時的遊出状況をみている)下で, セルカリア産生からセルカリア遊出に至る生物学的成熟の全ての過程が淀みなく進行すると解される。即ち, 結果的には第1日目の頻回な飼育水交換の操作が第2日目以降の安定した経時的遊出応答に導いたことになり, 第1日目の操作が第2日目以降の実験観察の前操作として重要になる。前操作として最少何回の飼育水交換で有効であるかは更に検討の要がある。

現在までに吸虫類のセルカリアの遊出について光の遮断(暗黒化)がセルカリアの遊出を促進すると云う現象は知られていない。本研究のケニアでの観察で *B. globosus* からのビルハルツの遊出に於いてその順調な自然遊出の途上でその感染貝を暗黒下に移すと, 暗黒直後から非常に多数のセルカリアが遊出してくる現象を見出し, 次いで実験室内での一定温度, 光の条件下で再現し得た。更に25Cの恒温での遊出応答は照明点灯より5時間目にピークをもつ一定のパターンであることを基本として, 照明途上で任意に1時間だけ暗黒にして得られた遊出パターンを比較することにより, 明らかに暗黒がビルハルツの遊出を刺激することが示された。そしてこの暗黒刺激は遊出が盛んにみられている時期(遊出のピーク時)に最大の効果を現わす。この時, この暗黒刺激

は単に当日遊出する予定のセルカリアのみならず翌日遊出する予定のセルカリアをも刺激して遊出させると推測される結果を得た。更にこの刺激となる暗黒は5秒間でも有効で、30秒間以上の暗黒は1時間の暗黒とほとんど変わらない有効な刺激であつた。ビルハルツの暗黒に対する強い感受性は実験室内で感染実験に用いる大量のセルカリア(当日と翌日の2日分のセルカリア)を得る方法として利用出来る。一方マンソンでは暗黒刺激はほとんど影響がなく両種の差が指摘されたことは生物学的に興味深い。

以上述べてきたマンソン及びビルハルツ住血吸虫セルカリアの遊出応答に、1)光によつて遊出が促され、一峰性の遊出ピークを示す規則的遊出応答で、温度が高い程ピークが早期に現われる最も基本的な遊出パターンを示すもの、2)長時間の暗黒でその遊出が抑制された時に、光に即時的に反応遊出する応答で、遊出に関する生物学的成熟が完了・蓄積された“古いセルカリア”が示すもの、3)1)の遊出応答を観察するのに、照明時に1時間毎の飼育水交換を行つた時、第1日目に見られる不規則な遊出応答で、規則的遊出(第2日目以降)より、そのピークが早く現われるもので、遊出に関する生物学的成熟が一部進行したものが示すもの、4)昼間でセルカリアが遊出している時期に暗黒刺激によつて当日と翌日遊出予定のセルカリアが即時的に遊出する場合で、ビルハルツのみに見られるもの、以上の4つの応答形式を認めることが出来た。夫々の応答形式の理解のために、セルカリアの遊出に関する生物学的成熟の過程の存在を導入して説明に務めたが、尚不充分で、特に4)の遊出応答は現時点では説明しがたい。更にスポロチスト内でのセルカリアの産生、成熟の過程と各種の遊出促進の因子との関係を明らかにする必要があると考える。

いずれにしても上記の4つの遊出応答のうち即時的にセルカリアの遊出をみる2)及び4)の応答形式は感染疫学上重要である事が指摘出来る。即ち流行地の貝棲息水域で作業する時、人や物品の移動による影、或いは水中の木片、木葉等を移動させることによつて、セルカリアの急激な遊出を誘う結果に連なることに注目すべきであろう。

結 論

(1) アフリカ・ケニアの現地実験室で *B. pfeifferi* からのマンソン及び *B. globosus* からのビルハルツ住血吸虫セルカリアの遊出について以下の結果を得た。

a. 自然遊出はマンソン及びビルハルツともに完全な昼間遊出性を示し、その遊出経過はセルカリア数(10以上)を対数に変換すると、11AM から 1PM にピークをもつ正規分布に近似した曲線で示される。

b. 両種とも前日夜から引き続き翌日の昼間まで暗黒下におかれた貝からの遊出は非常に抑制され、特にビルハルツで顕著である。

c. 上記bで抑制された状態で光を与えると、両種共に即時的に反応遊出するセルカリア(“古いセルカリア”)と遅延的に反応遊出するセルカリアとの2段階の遊出応答がみられる。

d. ビルハルツでは貝からの順調な自然遊出の途上で貝を暗黒に移すと、その直後に非常に多数のセルカリアが遊出してくる。しかしこの現象はマンソン住血吸虫には見られない。

(2) 種々の一定温度条件の下に *B. glabrata* からのマンソン及び *B. globosus* からのビルハルツ住血吸虫セルカリアの遊出について24時間明暗周期(LD 12:12, L 1,500ルクス)下に照明時での1時間毎の遊出応答とその途上での暗黒の影響をみて以下の結果を得た。

a. 両種に於いて連続4日間に渡つて照明時の遊出応答をみてみると、最初の1日目は不規則な遊出パターンを示すが、2日目以降は安定した規則的な遊出応答を示す。

b. 規則的な2日目のセルカリアの遊出応答について30C, 27C, 25C, 20C, 15Cの各温度でのマンソン及びビルハルツの遊出応答をみると、照明点灯より前者で4, 4, 5, 6, 6時間目と後者で3, 4, 5, 6, (7)時間目の1時間に夫々のピークがある一定の滑らかな曲線を示す。且、高い温度ほど遊出のピークは早期に現われる。

c. ビルハルツに対する暗黒刺激は、照明時での遊出が盛んなピーク前後に於いて最も強力に作用し、当日遊出する予定のものだけでなく翌日遊出する予定のものをも遊出させる。しかし照明点灯より10時間以降では暗黒にほとんど反応しなくなる(25C)。

d. このビルハルツに対する暗黒刺激は5秒間以上で有効に働き、30秒間以上では1時間の暗黒と同程度に強力に作用する。

稿を終るにあたり、アフリカ・ケニアでの現地観察の機会を与えられたケニア政府、Dr. J. N. Itotia (Director of the National Public Health Laboratory Ser-

vices), Dr. T. K. A. Siongok (Head of the Division of Vector Borne Diseases, National Public Health Laboratory Services) 並びに長崎大学熱帯医学研究所特別事業“ケニア国に於ける住血吸虫症に関する研究”の研究班・班長片峰大助博士及び班員各位の協力に深甚の謝意を表す。

文 献

- 1) Barbosa, F. S., Coelho, M. V. and Dobbin, J. E. (1954): Qualidades de vector dos hospedeiros de *S. mansoni* no nordeste do Brasil. Duracao da infestação e eliminacão de cercarias em *A. glabtatus*. Publ. Avuls. Inst. Aggeu Magalhães, 3, 79-92.
- 2) Bauman, P. M., Bennett, H. J. and Ingalls, J. W. Jr. (1948): The molluscan intermediate host and schistosomiasis japonica. Observations on the production and rate of emergence of cercariae of *Schistosoma japonicum* from the molluscan intermediate host, *Oncomelania quadrasi*. Amer. J. Trop. Med., 28, 567-576.
- 3) Bolwig, N. (1955): An experimental study of the behaviour and host-recognition in *Schistosoma* cercariae. S. Afr. J. Sci., 51, 338-344.
- 4) Cort, W. W. (1922): A study of the escape of cercariae from their snail hosts. J. Parasit., 8, 177-184.
- 5) EL-Gindy, M. S. and Radhawy, I. A. (1965): Periodicity and longevity of *Schistosoma haematobium* caecariae liberated from *Bulinus truncatus* in central Irag. Bull. Endem. Dis. (Baghdad), 7(1/2), 55-72.
- 6) Faust, E. C. and Hoffman, W. A. (1934): Studies on schistosomiasis mansoni in Puerto Rico. Biological studies. 1. The extra-mammalian phases of the life cycle. Puerto Rico J. Pub. Hlth. Trop. Med., 10, 1-47.
- 7) Gordon, R. M., Davey, T. H. and Peaston, H. (1934): Transmission of human bilharziasis in Sierra Leone, with an account of the life-cycle of the schistosomes concerned, *S. mansoni* and *S. haematobium*. Ann. Trop. Med., 28, 323-419.
- 8) Horsfall, M. W. (1930): Studies on the structure of *Cercaria infracaudate* n. sp. J. Parasit., 17, 43-49.
- 9) Kifune, T. and Takao, Y. (1970): Factors influencing the release of *Schistosoma japonicum* cercariae from *Oncomelania nosopnora*. Japan. J. Trop. Med., 11, 48-49.
- 10) Komiya, Y. and Ishii, K. (1954): The shedding aspect of cercariae of *Schistosoma japonicum* from its snail host, *Oncomelania nosophora*, in Japan. Japan. J. Med. Sci. Biol., 7, 25-37.
- 11) Mao, C. P., Li, L. and Wu, C. C. (1949): Studies on the emergence of cercariae of *Schistosoma japonicum* from their Chinese snail host, *Oncomelania*. Amer. J. Trop. Med., 24, 937-944.
- 12) McClelland, W. F. J. (1967): Production of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni* cercariae in Tanzania. Exp. Parasit., 20, 205-218.
- 13) Rees, G. (1931): Some observations and experiments on the biology of larval trematodes. Parasitol., 23, 428-440.
- 14) Rowan, W. B. (1958): Daily periodicity of *Schistosoma mansoni* cercariae in Puerto Rico Waters. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 7, 374-381.
- 15) Sturrock, R. F. (1965): Studies on the biology of *Biomphalaria angulosa* Mandahl-Barth and on its ability to act as an intermediate host of *Schistosoma mansoni*. Ann. Trop. Med. Parasit., 59, 1-9.
- 16) Valle, C. M. Pellegrino, J. and Alvarenga, N. (1971): Ritmo circadiano de emergencia de cercárias (*Schistosoma mansoni*-*Biomphalaria glabrata*). Rev. Brasil. Biol., 31, 53-63.
- 17) Webbe, G. and James, C. (1972): Host-parasite relationships of *Bulinus globosus* and *B. truncatus* with strains of *Schistosoma haematobium*. J. Helminth., 46, 185-199.

Abstract

THE EMERGENCE OF SCHISTOSOME CERCARIAE FROM THE SNAILS
1. HOURLY RESPONSE OF CERCARIAL EMERGENCE OF *SCHISTOSOMA*
MANSONI AND *S. HAEMATOBIMUM*, AND EFFECT OF
LIGHT-CUT ON THEIR EMERGENCE

HISATAKE NOJIMA AND ATSUO SATO

(Department of Medical Zoology, Faculty of Medicine, Kagoshima
University, Kagoshima, Japan)

This study has been undertaken to know the influence of light and darkness on cercarial emergence and to clarify the mechanism of diurnal periodicity in cercarial emergence of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium*.

Experiments in part 1 were performed at laboratory (22-30C) in Taveta, Kenya, and those in part 2 were done at our laboratory in Kagoshima, Japan. The source of light used in part 1 was diffuse sunlight near the window and each infected snail was placed in a small dish with 4 ml of well water. The source of light in part 2 was artificial fluorescent illumination (1500 lux) and the infected snails, which were maintained under the above illumination even during cercarial incubation after exposure to miracidia, were placed in a petri-dish (15 cm in diameter) with 200 ml of dechlorinated tap water in LD 12:12 of cyclic conditions of light and darkness at a constant temperature. The hourly number of cercariae was obtained by counting them on some parts in the dish placed on a glass plate with small equal sections, after fixing them by formalin and agitating to make them evenly.

1. The results in part 1 are summarized as follows;

a. Under natural light conditions, hourly emergence of *S. mansoni* and *S. haematobium* cercariae from *Biomphalaria pfeifferi* and *Bulinus globosus*, respectively, showed quite diurnal periodicity, the peak of which occurred between 11 AM and 1 PM (Figs. 1,2).

b. Under the conditions where the snails were kept in darkness till the daytime overnight, cercarial emergence of *S. haematobium* was strictly suppressed until 2 PM. Shedding of *S. mansoni* cercariae was also suppressed, but it was not so remarkable as that of *S. haematobium* (Figs. 3, 4).

c. On the above suppressed conditions during the daytime, exposure of the snails to light resulted in shedding of a number of cercariae of both species. The pattern of emergence showed one immediate peak and the other delayed peak after light stimulation (Figs. 3, 4).

d. While *S. haematobium* cercariae were periodically shedding during the daytime, a large number of cercariae escaped from the snails when the snails were transferred into complete darkness. The pattern of emergence showed a spiky peak in the first one hour. Nevertheless this phenomenon was not observed on *S. mansoni* cercariae (Figs. 5, 6).

2. The results in part 2 are summarized as follows;

a. Under artificial light conditions, hourly emergence of *S. mansoni* and *S. haematobium* cercariae from *B. glabrata* and *B. globosus*, respectively, did not show a regular pattern at

the first day in a series of observations for 4 successive days. However, it became to show a certain regular pattern, depending on temperature, at the second, third and fourth days (Figs. 7, 8).

b. A peak of the regular pattern in hourly response of *S. mansoni* cercariae at 30C, 27C, 25C, 20C, or 15C was seen in the 4th, 4th, 5th, 6th or 6th hour during the light-time, respectively. On the other hand, that of *S. haematobium* cercariae at 30C, 27C, 25C or 20C was seen in the 3rd, 4th, 5th or 6th hour, respectively (Figs. 9, 10).

c. The regular pattern in cercarial emergence of *S. haematobium* in LD 12:12 at 25C, the peak of which was seen in the 5th hour during the light-time, disappeared and changed into a different pattern, when the snails were placed into darkness and returned into light one hour later during the light-time. Many cercariae were forced to shed in one hour of darkness on that occasion. The darkness stimulation to *S. haematobium* cercariae was most effective when their emergence was most active around the peak in the regular pattern during the light-time. But darkness no more stimulated the cercariae over the 10th hour during the light-time. Further, it seemed that the darkness stimulation forced not only "today's cercariae" but also "tomorrow's cercariae". On the other hand, the regular pattern in cercarial emergence of *S. mansoni* was little disturbed, whenever the snails were removed into darkness during the light-time in the same way (Figs. 11, 12, 13).

d. Additionally, only 5 seconds of darkness was effective to make a large number of *S. haematobium* cercariae shed. Furthermore, 30 short seconds of darkness was almost the same stimulative as fully one hour (Table 4).

In this study, 4 types of cercarial responses have been suggested, the first of which is the regular pattern by "normal cercariae" in hourly emergence depending on temperature (2-a, 2-b), the second of which is the immediate shedding by "old cercariae" after exposure to light on the suppressed conditions under complete darkness (1-c), the third of which is the irregular pattern by "partially old cercariae", the peak of which tends to occur earlier than that of the regular pattern (2-a), and the last of which is the immediate shedding only by *S. haematobium* cercariae after darkness stimulation during the daytime (1-d) and light-time (2-c, d).