

宮入貝卵子の発育と孵化に関する研究

野 島 尚 武

長崎大学熱帯医学研究所寄生虫学部門 (主任: 片峰大助教授)

(Received for Publication February 10, 1973)

An Observation on Growth and Hatching of *Oncomelania* Eggs under Certain Laboratory Conditions

Hisatake NOJIMA

Department of Parasitology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

(Director : Prof. Dr. Daisuke KATAMINE)

Abstract

The present study has been undertaken to find the most efficient procedure and most optimal conditions for obtaining a large number of young *Oncomelania* snails in the laboratory for experimental purpose. In this study the author attempted to obtain detailed information about the influence of some environmental physical factors on growth and hatching of the eggs. Initially, the response of the eggs to temperature and degree of wetness was observed.

Fresh eggs of *O. nosophora* and *O. quadrasi* which were covered with mud-like particles were collected from the egg-laying chambers at daily intervals and placed on soil or filter paper contained in Petri dishes which were kept at constant temperature and moisture. If conditions were proper, the egg-cells developed up to mature larvae and some of them hatched normally in these culture chambers.

For testing the influence of wetness, the six grades of wetness were experimentally established according to amount of water contained in filter paper of 15cm diameter. On dry soil and dry filter paper, the eggs died within several hours. In *O. nosophora* eggs, desirable amount of water given to filter paper was around 6ml at least, but *O. quadrasi* eggs required much larger amount of water for the survival and development.

Under desirable wetness conditions, optimal growth was found at about 20-25°C in which about 80 per cent or more of the eggs developed to the mature stage (the stage of late veliger) within 20 days. Higher temperature over 30°C resulted increased mortality in the early stage of development. At 15°C, on the other hand, the eggs required a longer period of incubation for maturation, especially *O. quadrasi* eggs markedly inhibited in the development. On further lowering of temperature below 10°C they almost ceased their growth.

In culture chamber, the eggs began to hatch naturally 20 to 30 days after incubation under ideal conditions, but the rate of hatching was not especially high. If the culture ground and filter paper were covered with water at this time, mature eggs actively hatched within 24 hours. On the other hand, when the fresh eggs were cultivated on filter paper submerged into water from beginning, most of eggs developed to mature eggs and hatched successively day by day. According to the observation based on these phenomena, the incubation period necessary to obtain maximum hatching was recognized to be about 22 days at 20°C, 15 days at 25°C and 13 days at 27-30°C respectively. Therefore, this procedure can be recommended as an efficient way to obtain young snails.

緒 言

総ての住血吸虫及び住血吸虫症の実験的研究には多数の宮入貝が必要である。従って在来も宮入貝の生態の観察や飼育の研究が行われ多数の報告がある。しかしながらこれらの研究を概観すると、その大多数は成貝や、自然に孵化した稚貝を対象として其の後の発育と、その条件を追求したもので、宮入貝の卵子の発育や、孵化の条件について記載したものは極めて少ない。僅かに杉浦(1933)が *O. nosophora* の卵子で胚子の発育過程を観察し、王ら(1956)が *O. hupensis* の卵子の発育に及ぼす、水分と温度の影響について言及している。そのほか、杉浦(1933)、Abbott(1946)、Ishii & Tsuda(1951)、Otori(1956)、Chi & Wagner(1957)らが卵子の自然孵化とその経過を観察報告し

ているにすぎない。著者は実験室内で、著者が考案した土壌培地、濾紙培地を用いて宮入貝卵子の飼育を試み、その発育過程を観察すると同時に、発育及び孵化に及ぼす温度と水分量の影響等を詳しく検討、最も能率的に多数の稚貝を得るに必要な方法と諸条件を追究した。住血吸虫症に対する適確な化学療法剤の開発がまだ充分でない今日、本症の予防、撲滅対策の重点が、宮入貝の殺滅に指向されねばならないことは勿論である。この意味で現在、宮入貝に対する殺貝剤の研究、天敵の利用、物理的殺貝法等に多くの研究がみられるが、自然界に於ける卵子に対する対策も当然考えられてよいことであって、本研究はその基礎研究の一部としても意義あるものと考えらる。

実験材料及び方法

実験に用いられた宮入貝は久留米産の *O. nosophora* とフィリッピン産の *O. quadrasi* の二種類である。産卵及び飼育に用いた土壌は久留米市筑後川沿岸の自然棲息地から持ち帰ったものである。

1. 産卵のための培地は 15cm径のペトリジャーに同大の、水分を含ませた円形濾紙を敷き、その

上に適当に水分を与えてよくこねた上記土壌を 5~10 mmの厚さに平坦に盛り、その表面をヘラを用いて滑らかにした。この産卵培地に1ヶ当り宮入貝50個体ずつ投入し、ガラス板で蓋をして湿度を保って飼育する。その産卵培地の土壌は2週間毎に新しいものに取換え、その都度約50mgの配合飼料(マイミール、マウス固

型飼料、卵殻を夫々2:2:1の割で配合したものを与えた。産みおとされた泥皮を被った卵子(Fig. 1)を毎日、数を算定し、これを孵卵培地に移す。

2. 孵卵培地としては土壤培地と濾紙培地の2種を用いた。土壤の場合には前記産卵培地と同様、15cm径ペトリ・シャーレに濾紙を置き、その上にミンチで細土化した乾燥土壤を2~3mmの厚さに薄くぬり、これに水分を加え、土壤表面の水分量を一定に調整した。濾紙培地はシャーレに15cm径の濾紙を敷いただけで、一定量の水分を与えた。

これらの培地の上に産卵培地から得られた新鮮な卵子を概ね50~100個を行儀よく並べ、培地内の水分と湿度を保つためにガラス板で被い、ワセリンで封じて飼育した。(Fig. 2,3)

3. 孵卵培地の水分はそれに含まれる水分量によって第1度から第6度までの6段階に分け、各温度と組合せて実験群を設定した。培地の水分量の規定は土壤と濾紙でその基準が異なる。土壤の場合には、乾燥状態を第1度、水浸しの状態を第6度とし、その中間は土壤の上に軽く立てた巾5mmの濾紙片に10秒間に上昇する水の高さで表わした。即ち1mm, 2~3mm,



Fig. 1 Fresh eggs covered with mud-like particles on the soil.

4~6mm, 7~10mmを夫々第2度乃至第5度とした。濾紙の場合は15cm径濾紙に含ませる水分量で示し、その量は夫々第2度で3ml, 第3度で4ml, 第4度で6ml, 第5度で8mlとしてある。第6度は冠水した状態である。

4. 飼育温度は10°Cから32°Cまでの7群とし、夫々を孵卵器、低温恒温槽、などを用いて恒温に保った。

5. 各条件下に置かれた孵卵培地の卵子は孵卵開始から概ね毎日乃至数日毎に泥皮を破り、内部の卵子の生死と発育段階を観察すると共に、卵子が成熟して更に自然孵化する経過を追究した。

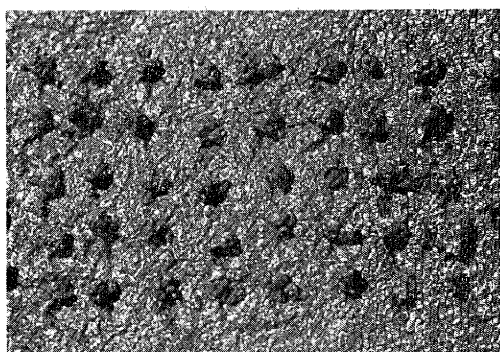


Fig. 2 Eggs placed on soil in culture chamber.

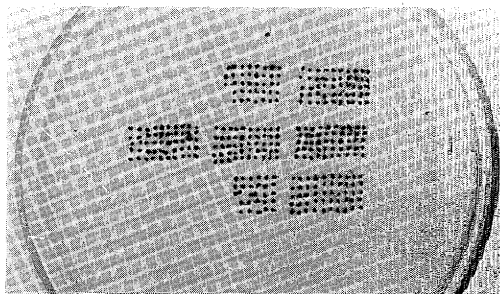


Fig. 3 Eggs placed on filter paper in culture chamber.

実験成績

I 宮入貝の産卵

O. nosophora の自然棲息地である筑後川の川原にて、2月上旬, 3月中旬, 4月上旬, 5月下旬, 6月中旬の夫々異なった季節に採集した宮入貝成員を実験室に持ち帰り、各群毎に雌雄夫々50個体づつを産卵培地に

移し、20~25°Cの飼育室にて飼育する。毎日の産卵数を数え、1週毎の産卵数の累計を図示したのがFig. 4である。これをみると、2月群では飼育開始後、6日目に産卵が始まり、2月下旬から3月中旬にかけて産卵数のピークがあり、1週間の集計で夫々約600個前

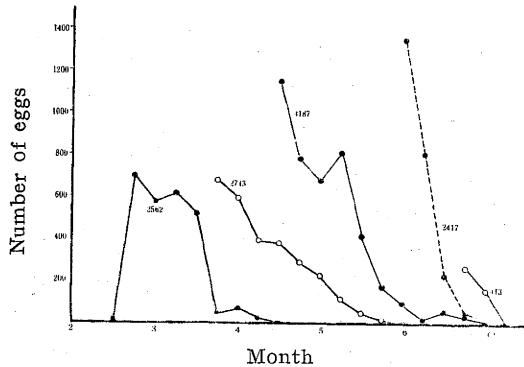


Fig. 4 Seasonal variation of egg-laying of *O. nosophora* from natural field.

後の産卵がみられ、その後急激に落ちて4月上旬まで、約7週間産卵が持続している。その間産卵された卵子の総数は2562個である。3月群は3日目から産卵がみられ、その数は3月下旬の1週間で既に677個、その後次第に減少しながら5月下旬までの約9週間持続し、総数2713個の産卵がみられた。4月群では初日から産卵があり最初の1週間で1151個の極めて多数の産卵がみられ、次第に減少しながら11週間続き7月上旬に終熄している。産卵総数は4187個で最も多い。1日当りの最高産卵数として4月下旬に550個を記録している。5月下旬群は最初の1週間に1342個を数えたが、6月下旬から7月に入ると産卵が急速に低下し終熄する。産卵総数は2417個である6月中旬のものでは産卵はすぐに始まるが7月上旬には産卵は止まり、その数は413個で産卵期間も僅に2週間にすぎなかった。これらのほか、7月中旬、9月中旬、10月下旬に採集された宮入貝では産卵は非常に少なく、引き続き、実験室内で飼育すると、いずれも翌年の1月頃より多数の産卵がみられる。以上の知見から自然界に於ける *O. nosophora* は3月の初めから生殖腺の発育が始まり、産卵活動のピークは概ね4、5、6月にあり7月に入ると下降線をたどり、秋季にはあっても非常に少ないと思われる。

一方実験室内で20-25°Cの下で飼育し成貝となった *O. quadras* を雌雄共に50個体づつ9月中旬より、同じ産卵培地で産卵を行わせると、1日の最高産卵は142個であったが、その産卵は18週間以上続き、その間1週間毎に集計した産卵数に大きな消長がみられない。産卵総数は4103の多数に至った。

II. 宮入貝卵子の生存、発育に及ぼす温度、水分量の影響

宮入貝の卵子を孵卵培地に移し、適当な温度と水分量の下で飼育して、色々の時期に泥皮を取り去ってその発育を実顕顕微鏡で観察すると、胚子は分割期、囊胚期、担輪子期、被面子初期、中期を経てやがて被面子後期即ち成熟卵子に発育する。この時期になると胚子は卵子の全域を占める大きさと、稚貝が殆んど完成し、既に殻層が1層半はみられる。孵化能力を持ちつゝあり、このまゝ外界におかれても生存可能である。20°Cの温度下では孵卵開始後1~5日で分割期~囊胚期、6~10日で担輪子期~被面子初期、11~15日で被面子中期、概ね16日以上たつと被面子後期(成熟卵子)に発育する。以下の実験では条件によって14日乃至120日間まで観察し、卵子が成熟卵子となる割合即ち成熟率で、卵子の発育を比較した。実験は *O. nosophora*, *O. quadras* の2種について色々な温度と水分量を組合せ、合計87群について発育を観察した。(Table. 1, 2)

1. 濾紙上飼育の成績

水分量の第1度即ち完全な乾燥状態ではいかなる温度条件のもとでも両種共に数時間内に総ての卵子が死滅し、全く発育がみられない。第2度(15cm径濾紙に3mlの水を含む)では *O. nosophora* は20°C, 25°C, 27°Cの温度帯で成熟卵子への発育がみられる、孵卵開始後20日前後の観察でその成熟率は夫々75, 79, 11%で、20-25°Cで高い成熟率がみられる。水分量が第3度(水量が4ml)になると、その率は夫々89, 89, 28%と上昇する。第4度(6ml)は濾紙が飽和状態の水分量であるが、20°C, 25°C 27°Cで夫々96, 85, 77%が成熟し、30°Cでも同じ時期に18%が成熟卵子となっている。温度が15°Cにおかれた場合は飼育後65日目になって、その46%がやっとなり成熟卵子に発育している。温度が15°Cのように低いと卵子は死滅はしないが、発育に更に時間がかかることが分る。第6度即ち水浸しの状態では30°Cでも65%の高い成熟率が得られ、多量の水分の存在が好結果をもたらしている。尚32°C以上、10°C以下ではいかなる水分量を与えても成熟卵子までの発育がみられない。*O. nosophora* の濾紙上飼育の場合、最も適当な温度帯は概ね20-25°C附近にあり、第4度以上の水分量があれば高率に成熟卵子に発育する。

一方 *O. quadras* を用いた実験では水分量が第5度即ち濾紙が水8mlを含む程度になってはじめて成熟卵子が見い出される。しかもその率は20°Cで11%, 25°Cで6%, 27°Cで0%で極めて低い。水浸しの状態(第

Table 1 Influence of temperature and wetness on growth and survival of *Oncomelania nosophora* egg on filter paper.

Temperature	32°C	30°C	27°C	25°C	20°C	15°C	10°C
Period of incubation	15	18	18	18	22	65	120
Wetness 1				0% (100)	0% (100)		
2			11% (100)	79% (100)	75% (200)		
3			28% (130)	89% (110)	89% (200)		
4	0% (100)	18% (100)	77% (228)	85% (300)	96% (260)	46% (100)	0% (50)
5		17% (47)	70% (80)	77% (90)	86% (154)	52% (250)	
6	0% (50)	65% (100)	76% (100)	72% (100)	90% (130)	0% (100)	

% : Maturation rate, () : Number of eggs

Remarks : Grade of wetness is expressed by the amount of water contained in filter paper with 15cm diameter as follows ; 1. dry condition, 2. 3ml 3. 4ml, 4. 6ml, 5. 8ml, and 6. condition covered with a large amount of water.

Table 2 Influence of temperature and wetness on growth and survival of *Oncomelania quadrasi* egg on filter paper.

Temperature	32°C	30°C	27°C	25°C	20°C	15°C	10°C
Period of incubation	15	18	18	18	22	65	120
Wetness 1					0% (50)		
2					0% (50)		
3					0% (50)		
4		0% (50)	0% (50)	0% (85)	0% (303)		
5	0% (153)	0% (130)	0% (102)	6% (112)	11% (198)		
6	0% (88)	64% (113)	69% (118)	72% (123)	83% (111)	21% (100)	0% (100)

% : Maturation rate, () : Number of eggs

6度)になると、夫々83%, 72%, 69%更に30°Cで64%が得られる。従って *O. quadrasi* では *O. nosophora* と比べてその発育には多量の水分が必要である。殊に水分の不足群ではその発育が分割期や、囊胚期などの発育初期で止まっているものが多い。水分量が第6度の下で 15°C, 65日目の成績では成熟率は21%で *O. nosophora* のそれより低い。32°C 以上, 10°C 以下では *O. nosophora* と同様、成熟がおこらない。

2. 土壌培地での飼育成績 (Table. 3, 4)

濾紙のかわりに土壌培地を用いて飼育実験を行うと *O. nosophora* の場合。水分量が第2度で 20°C では65%の成熟卵子がみられたが 27°C では5%と非常に低い。第3度でも 25°C, 27°C では29%, 9%と低く、30°C では成熟してこないが、20°C では75%の成熟率である。第4度で最もよい成績が各温度で得られ、20°C で84%, 25°C で83%, 27°C で58%が20日前後で成熟率がみられ 30°C でも35%が成熟している。15°C では65日目に51%で、発育が遅れるが比較的多数の成熟卵子が得られている。第4度以上に培地の水分量が増加すると成熟率が落ち、水浸しの状態の第6度になると、20°C で58%の成熟をみたのみで、他の温度群ではその出現がみられない。この様に濾紙の場合と異なって水分量が余り多いと、発育が障碍される。

殊に 25°C 以上の高い温度群にその傾向が強い。32°C 以上, 10°C 以下では成熟しないのは濾紙上飼育と同じである。

O. quadrasi では濾紙の時と同様、どの温度でも水分量が第4度以下では成育がなく、水浸しの状態ではじめて順調な発育がおこっている。即ち第6度ではその率は 20°C で84%, 25°C で93%, 27°C で76%と高い。30°C以上15°C以下では成熟卵子は出現しない。

以上、濾紙でも土壌でも、両種とも卵子の発育の最適な温度帯は概ね 20°C 乃至 25°C 附近にあり、温度がこれより高くても低くてもその発育と成熟率は低下する傾向がある。*O. quadrasi* ではその成熟率は既に 15°C で著明に制限される。*O. quadrasi* は多量の水分を必要とし、*O. nosophora* は低湿度に比較的強い。

更に卵子の各発育段階での温度の影響を詳しくみるため、土壌上飼育の途上で分割期—囊胚期(1~5日)、担輪子期—被面子初期(6~10日)、被面子中期(11~15日)、被面子後期(16~20日)に当る時期に一過性に5日間のみ有害と思われる温度、即ち15°C 以下, 30°C 以上の温度にさらし、その時以外は20°C, 水分量が第4度の最適条件下で飼育し、卵子のその後の生存、発育に及ぼす影響を追究した。その成績は Table 5 に示してあるが、その影響が最も強いのは

Table 3 Influence of temperature and wetness on growth and survival of *Oncomeria nosophora* egg on soil.

Temperature	32°C	30°C	27°C	25°C	20°C	15°C	10°C
Period of incubation	15	18	18	18	22	65	120
Wetness 1			0% (50)		0% (50)		
2	0% (100)	0% (100)	5% (1050)		65% (700)		
3	0% (100)	0% (100)	9% (1000)	29% (35)	75% (800)		
4	0 (195)	35% (210)	58% (1518)	83% (470)	84% (1895)	51% (80)	0% (50)
5	0% (76)	0% (236)	30% (375)	58% (80)	69% (395)	38% (115)	
6		0% (50)	0% (50)	0% (50)	58% (450)	0% (50)	

% : Maturation rate, () : Number of eggs

Remarks : Grade of wetness is standardized by the height of rising water on the strip (5mm in width) of filter paper which is set on the surface of culture ground as follows : 1. dry condition, 2. 1 mm, 3. 2-3 mm, 4. 4-6 mm, 5. 7-10mm height, and 6. condition covered with a large amount of water.

Table 4 Influence of temperature and wetness on growth and survival of *Oncomelania quacrasii* egg on soil.

Temperature	32°C	30°C	27°C	25°C	20°C	15°C	10°C
Period of incubation	15	18	18	18	22	65	120
Wetness							
1					0% (50)		
2					0% (50)		
3					0% (50)		
4			0% (50)	0% (50)	0% (100)		
5			0% (100)	18% (100)	10% (100)		
6	0% (50)	0% (74)	76% (50)	93% (95)	84% (50)	0% (50)	0% (50)

% : Maturation rate, () : Number of eggs

Table 5 Influence of temporary exposure to bad conditions of temperature for 5 days on eggs at various stage of development

Stage of growth examined (Period of exposure)	Maturation rate (after 26 days of incubation)			
	Early cleavage -Gastrula (1-5th day)	Trochophora -Early veliger (6-10th day)	Middle veliger (11-15th day)	Late veliger (16-20th day)
Temperature				
32°C	0%	24%	60%	72%
30°C	80%	78%	70%	82%
15°C	83%	73%	82%	72%
10°C	75%	76%	79%	78%
5°C	10%	65%	70%	76%

Maturation rate of control group (20°C) : 81%

A number of eggs examined for each group vary from 40 to 85.

32°C の高温であって、それが分割期—囊胚期になされた場合は、その間に卵子の総てが死滅し、その後常温に戻しても発育がみられない。担輪子期に作用させた場合でも成熟し得たものは僅か24%で発育能力が強く障害される。更に被面子中期でも僅かながら影響を受けることが分る。5°C の低温は担輪子期以後では余り影響を与えないが、分割期—囊胚期に卵子がさらさ

れると強い障害を受け、その後成熟したものは10%に過ぎない。要するに 32°C や 5°C の異常温度は分割期—囊胚期の発育初期で致命的な打撃を卵子に与える。殊に 32°C は夫々の発育段階でも発育に悪い効果を与える。30°C, 15°C, 10°C への一過性の暴露は殆んど影響がみられない。

Ⅲ 孵化の要因

1. 土壤培地上での卵子の成熟と自然孵化

水分量が第4度乃至第5度の土壤培地で *O. nosophora* の卵子の飼育を続けると、卵子の成熟とこれに伴って自然孵化が起ってくる。Fig. 5, 6, 7 は 20°C, 25°C, 27°C の温度下で毎日から数日毎に観察した卵子の成熟率と、自然孵化との関係を見たもので、卵子の成熟率は 20°C で16日、25°C で12日頃に70%以上に、27°C で13日頃に50%以上に達し、孵卵期間と共に上昇し 20°C, 25°C で80%以上が、27°C で約60%が成熟する。培地上での稚貝の発生は20°C では32日目、25°C では21日目、27°C では24日目頃から始まり、その数は次第に増加するが、20°C 群では飼育45日目で、総卵子数の約50%に達するが、25°C 群では30日目で約30%、27°C では30日目で約20%の自然孵化がみられる。特に 27°C ではその後増加が余りみられない。一般に自然孵化は卵子が成熟した後、かなり時間をおいて始まり、その速度も極めてゆるやかで、全体としての自然孵化率も低い。又 25°C 以上に温度が高い場合はその率が低下する傾向がみられる。培地の水分量が第3度以下であると成熟卵子に発育したのもこのまゝの第3度以下で飼育する限り孵化がみられていない。

2. 冠水による孵化

上記土壤培地で成熟卵子の出現がみられる頃から毎日或いは数日毎に順次に冠水を行ってみると、20°C群

では飼育19日目のものから 25°C 群では13日、27°C では14日目から稚貝の孵化が起る。その孵化率は Fig. 5, 6, 7 で太い線で示すように次第に増加し、夫々23日、14日、15日目以降になると大部分が、この操作によって孵化してくる。一般的に言って冠水によっておこる孵化は卵子の成熟よりも遅れておこり、外観的に成熟しても孵化能力を持つまでには時間がかかる様に思われる。孵化能力の獲得も 20°C に比べ、25°C, 27°C が早い。自然孵化に比べ冠水による人工的孵化は極めて高率である。又飼育期間と冠水による孵化率との関係を見ると、20°C では飼育45日を経ても殆んど100%に近い孵化率がみられ成熟卵子がこの温度では永く孵化能力を維持できる。しかし 25°C, 27°C 群での孵化率は概ね19日頃が peak で、その後ではその率が次第に低下する傾向があり、特に 27°C では20日以後、即ち自然孵化がおこる時期以後にはその低下が著しい。以上のように卵子が成熟した頃を見はからって冠水を行うことにより、一挙に高率に新鮮稚貝を得ることが出来る。

次に冠水による孵化現象を実体顕微鏡下で詳しく観察すると、早いものでは冠水後5分以内に卵子を被う泥皮の表面に亀裂を生じ、次第にそれは大きくなってその間隙から活発に動いている稚貝がみられる。なかの稚貝は積極的に泥皮を摂食しながら、亀裂を押しひろげ脱出をはかり、遂に孵化が完成する。はじめに亀

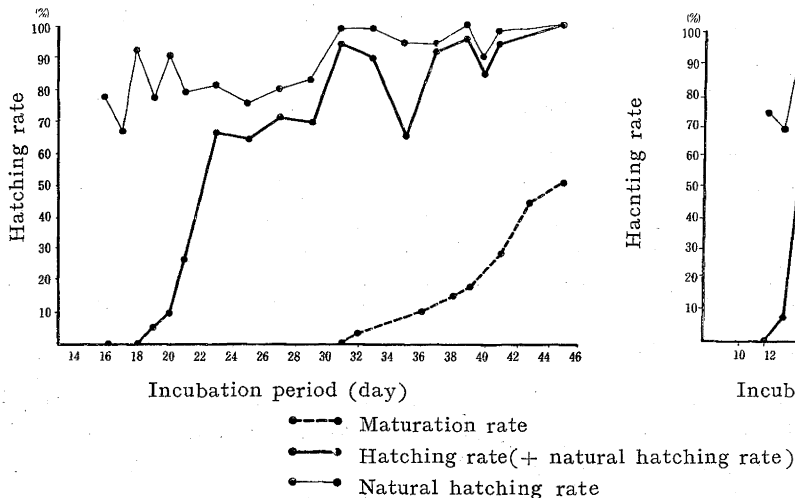


Fig. 5 Showing increase of maturation of eggs according to period of incubation on culture ground and their hatchability(20°C)

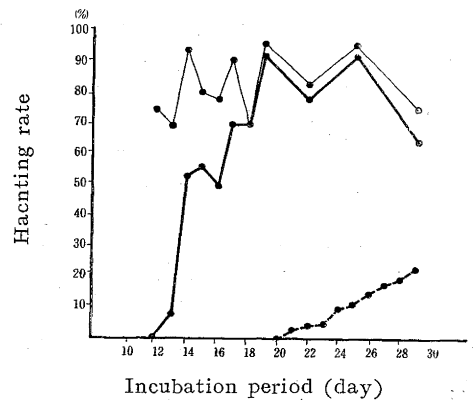


Fig. 6 Showing increase of maturation of eggs according to period of incubation on culture ground and their hatchability(25°C)

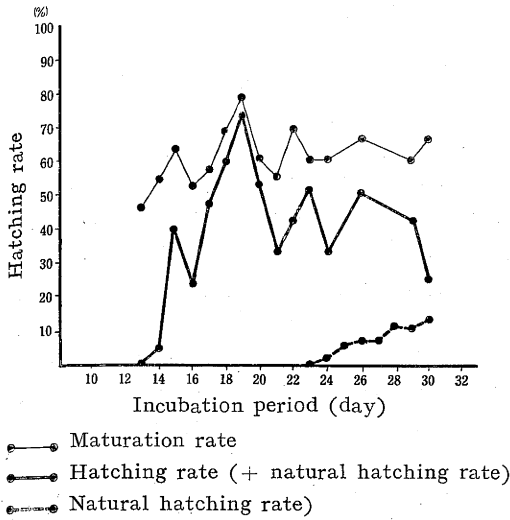


Fig. 7 Showing increase of maturation of eggs according to period of incubation on culture ground and their hatchability (27°C)

裂が生じてから大部分のものは30分以内に脱出するが、なかにはこれに数時間を要するものがある。

冠水による孵化の時間的経過をみたのが Fig. 8 である。20°C で26日間飼育した卵子を含む土壌培地に20°C の水を注ぐと、30分で15%、2時間で19%、5時間で45%、24時間で85%の成熟卵子が孵化を完了する。又同じ条件で31日間飼育したものでは2時間で29%、5時間で実に87%、24時間には98%とほとんど全ての成熟卵子が孵化をする。このように成熟した卵子は冠水後24時間以内に大部分が孵化してくるが、こと

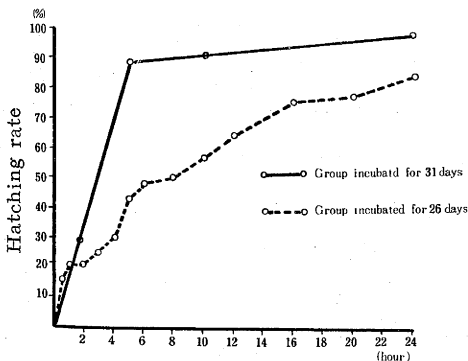


Fig. 8 Acceleration of hatching process provoked by submerging of mature stage eggs into water.

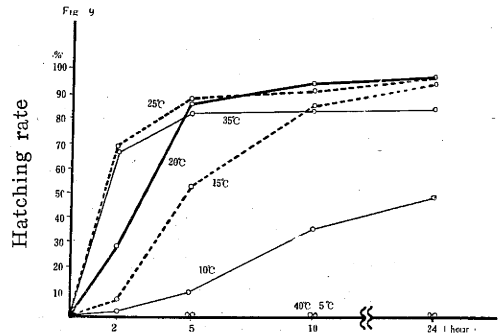


Fig. 9 Hatching process of *Oncomelania* eggs submerged into water of various temperature.

に飼育日数が長いものがより速かである。

次に同じく31日間飼育した群で加える水の水温の影響を24時間観察した。それによると 40°C の高温水、5°C の低温水では孵化は全くおこらない。特に 40°C の場合には泥皮をひらいてみると、全卵子が死滅しているのが確認された。5°C の低温水を注いで観察したもの新たに 20°C の水を注ぐと、その61%が孵化してくる。低温水は孵化能力には影響は少ない。10°C の水では2時間で3%、5時間で10%、10時間で36%、24時間後でも49%の孵化率で抑制がみられる。15°C の水では2時間で7%、5時間で52%で幾分抑制される傾向があるが、その後10時間で85%、24時間で95%が孵化している。25°C、35°Cの冠水では夫々2時間で69%、67%、5時間で88%、83%と順調な孵化がおこるが、35°Cではその後孵化するのが絶える。(Fig. 9)

3. 浸水濾紙上での孵化

水分量が第6度の濾紙上で宮入貝卵子を20-25°C で飼育すると好適な土壌培地(第4度の水分量)と同様、高率に成熟卵子に発育し、自然孵化がおこることは前に述べた。

宮入貝 (*O. nosophora*, *O. quadrasi*) の新鮮卵子を夫々100個ずつ、濾紙上に並べてこれを水を盛ったペトリシャーレの中に漬けて、飼育の初めから水中で培養すると、順調に成熟卵子に発育する。孵化能力を持つに至ったものから逐次孵化し、稚貝が遊出する。

先づ *O. nosophora* の卵子でみると、孵化は 30°C、27°C で夫々11日、12日に始まり、次第にその数は増加して13日目に peak を示し、4日間で夫々全卵子の60%、80%が孵化を完了する。25°C の場合は飼育13日目に始まり18日目までに68%が孵化した。その peak は15日にある。20°C では孵化開始の時期がおくれ、

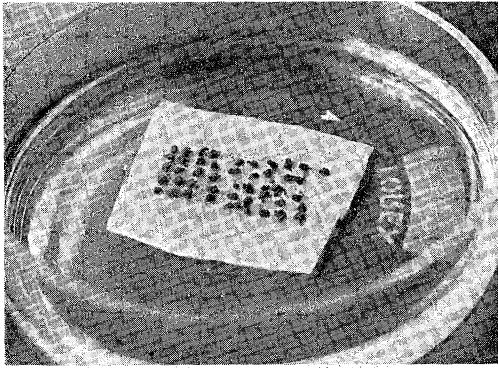


Fig. 10 Eggs submerged into water in petri dish.

20日に最初の孵化がおり、22日目と頂点として88%が28日までには孵化している。一般的に言って水温が低くなれば次第に孵化が遅れ、その期間も長くなる。

20°Cでは孵化曲線はゆるやかである。*O. quadrasi*でも略同様であるが、孵化率は夫々30°Cで42%、27°Cで52%、25°Cで79%、20°Cで70%で、孵化の始まる時期は30°C、27°Cで12日、25°Cでは14日で孵化稚貝数のpeakはいずれも15日である。20°Cでは孵化の開始もずっと遅れて20日目で、頂点は23~24日頃にみられる。*O. quadrasi*では*O. nosophora*に比べて孵化の期間が長く、だらだらと続く傾向がある。最も能率的に稚貝を得るには*O. nosophora*では20°C、*O. quadrasi*では25°Cで孵化率が最も高く最適である。

(Fig. 10, 11, 12)

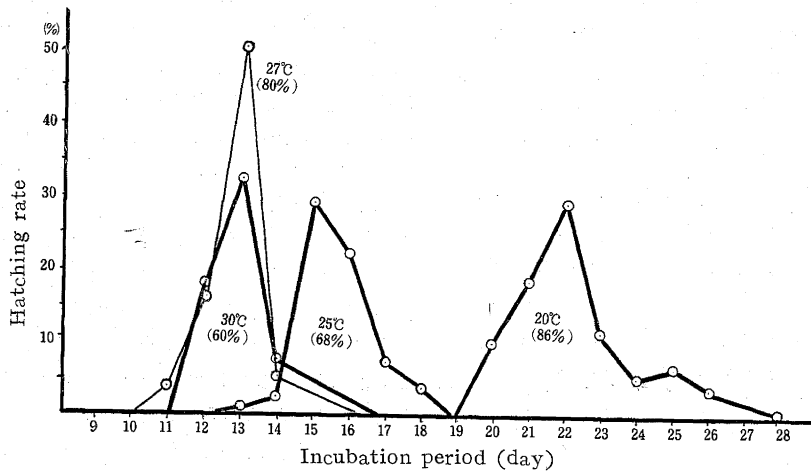


Fig. 11 Hatching of *O. nosophora* eggs cultivated on filter paper submerged from beginning into water.

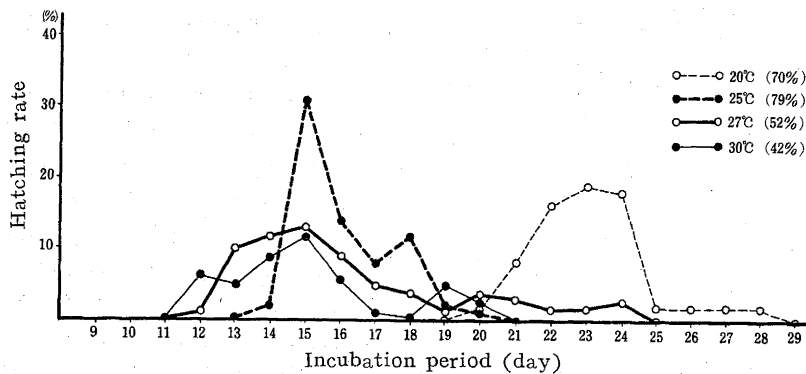


Fig. 12 Hatching of *O. quadrasi* eggs cultivated on filter paper submerged from beginning into water.

総括と考察

現在までに宮入貝の生態の観察や飼育の研究が多数の研究者によってなされてきたが、そのほとんどが成貝あるいは自然孵化した後の稚貝についての生態観察や飼育条件を追究したもので、宮入貝卵子の発育や孵化に関する観察は極めて少ない。その主な原因は多数の同じ年令の卵子を集めることと、観察の方法の難しさにあると思われる。著者はペトリ・シャーレを用いた産卵培地と孵卵培地を考案し、*O. nosophora* と *O. quadrasi* の産卵をみ、卵子の発育と孵化を観察してそれに及ぼす諸環境条件の影響を追究した。

先づ産卵について著者は自然棲息地の筑後川沿岸より異なった季節に採集された宮入貝 *O. nosophora* を実験室に持ち帰り、20-25°C飼育室で飼育し、産卵の推移を観察した。その結果9月から11月にかけて採集したものでは2週間以内には産卵はおこらず、その後であっても非常に少ない。2月、3月のものは1週間以内に産卵がおこり、4、5、6月のものは採集の直後から多数の産卵がある。6月の中旬頃になると産卵数が著明に減少し、7月に入れば一律に産卵が終息する。このことから自然界に於ける産卵は主として4、5、6月の3ヶ月の内に行われると思われる。

次に孵卵培地の土壌或いは濾紙に含まれる水分量を確実に規定ないし秤量し、温度との組み合わせを作って飼育し、*O. nosophora*、*O. quadrasi* の両種卵子の生存、発育に及ぼす物理的環境条件の影響を追究した。濾紙上飼育の場合、適温で両種とも充分の水分量があるといづれも順調な発育がみられる。その下限をみると、*O. nosophora* は第2度即ち僅かの湿り気があれば低率ながら成熟卵子に発育するものがあり、第4度（濾紙に6ml）以上あれば安定して高率に発育する。一方 *O. quadrasi* は水浸しの状態でなければ殆んど発育しない。土壌培地で飼育してみると、*O. quadrasi* はやはり充分の水分量が必要であるが、*O. nosophora* では中間の水分量即ち第4度で最も成績がよく、水浸しの状態になると、明らかに成熟率が低下する。殊に25°C以上の温度になると発育する前に死滅するものが増加する。これは恐らく土壌の異常分解、微生物の異常繁殖による酸素量、pHの変化に起因するものが考えられる。このように *O. nosophora* は比較的低湿度に強く、*O. quadrasi* はそれより更に多量の水分を必要とし、特に発育初期での水分不足は致命的である。王ら(1956)の *O. hupensis* についての観察では潮泥の状態が最もよいとしているが、これは本実験の第5度と第6度の中間の水分量であり、*O. quadrasi* *O. hupensis*

の両種卵子の発育に至適な水分量はほぼ似かよったものと思われる。宮入貝卵子の発育に至適な温度は概ね20-25°C前後の間にあり、水分量が適当ならば大部分が成熟する。32°C以上では死滅し、10°C以下では発育は停止する。殊に32°Cの効果は発育初期に於いて著明でたとえ2日間の一時的な暴露であっても致命的に作用する。15°Cの場合には発育が遅延し、その率も低下するが、*O. quadrasi* では低温に弱く、特にその影響が顕著である。飯島(1965)も一般的に最適温度は20-30°Cとし、それより高温又は低温が発育に障害的に働くことを述べているが、著者の成績は数の上で更にこれを確認つけたものと云える。

自然孵化の観察として、Chi & wagner が26°Cで *O. formosana* では9-41日、*O. nosophora* では9-45日、*O. quadrasi* では8-40日の夫々の期間に孵化をみている。又 Otori が *O. nosophora* では20-25°Cで12-35日、24-29°Cで11-33日に自然孵化を観察している。しかし全卵子に対する孵化率は明らかでない。著者は土壌培地の上で *O. nosophora* 卵子の大部分が成熟卵子となった頃を見計らって、培地に水を注ぎ冠水させると、一挙に孵化がおこり、24時間内に成熟卵子の大部分が孵化を完了する事実を確認した。この場合冠水する水の温度は20-25°Cが最適で、40°Cの水温では卵子が死滅し、5°Cの水では孵化がおこらない。土壌培地上での卵子の成熟と孵化能力を得るまでに必要な飼育期間は温度や水分量などの環境条件によって異なるが、冠水による孵化は20°Cでは19日、25°Cで13日、27°Cで14日頃からおこり、その数は次第に増加する。従って最も能率よく稚貝を得る為には20°C飼育では30日、25°C、27°Cの飼育では20日前後に冠水を行うのが最も望ましい。卵子の孵化能力は20°Cでは45日間飼育を続けても充分維持されるが、27°Cの場合には土壌上で20日を過ぎると冠水しても明らかにその率は低い。高温のもとで長く土壌上に放置すれば20日を過ぎると孵化能力を失うものと思われる。

O. nosophora と *O. quadrasi* の卵子を初めから水中に漬けた濾紙の上で20-30°Cの温度で飼育すると、卵子はよく発育し、孵化能力を持つに至つたものから遂次稚貝が遊出する。孵化の開始は温度が高い程促進されるが、全卵子の孵化率からみると、*O. nosophora* では20°Cで86%、*O. quadrasi* では25°Cで79%と最適である。先にも杉浦(1933)、Abbott(1946)、Ishii(1951)、Otori(1956)、Chi et(1957)等が自然界及び研究室での観察で、各種宮入貝卵子の孵化までの

期間を想定しているが、これらの成績には実験的根拠が乏しい。著者は水中に漬けた濾紙培養の成績から一応孵化発生 peak を示す日を基準として、新鮮卵子が孵化するまでに必要な飼育期間は *O. nosophora* では 27-30°C で13日、25°Cで15日、20°C では22日、*O. quadrasi* では 25°C 以上で15日、20°Cで22-24日と考えられる、

以上著者は宮入貝卵子の発育、孵化に及ぼす物理的

条件の影響について研究室内で実験的に追究し、温度と水分量が密接に関係があることを明らかにしたが、自然界に於いても気温、降雨、冠水、洪水、旱天などの自然環境によって宮入貝の発生消長が微妙に影響を受けていることが想像される。又実験室内で多数の宮入貝稚貝を得る為の方法として土壤培地の冠水法、濾紙飼育法が極めて効果的であることを知った。

摘 要

著者は宮入貝 *O. nosophora*, *O. quadrasi* 卵子の発育孵化に及ぼす物理的条件、特に温度と水分量の影響について実験的観察を行い次の結果を得た。

- 1) 久留米で採集された宮入貝からみると、自然界に於ける *O. nosophora* の産卵の時期は主として 4, 5, 6月にあり、7月に入ると終熄するものが多い。
- 2) 宮入貝の成熟には一定量以上の培地の水分が必要である。一般に *O. nosophora* は比較的水分不足に強いが、*O. quadrasi* は少くとも水浸しの状態以上の水分が必要である。
- 3) 最適の温度は両種とも概ね 20°C 乃至 25°C 附近にあり、概ね20日前後に大部分が成熟卵子に発育する。32°C 以上、10°C 以下ではその途上に死滅又は発育を停止する。特に発育初期に於いてその影響が強い。
- 4) 成熟卵子に発育した時期に飼育培地に冠水すると、

一挙に多数の稚貝を得ることができる。

- 5) 初めから水中に漬けた濾紙上で飼育すると、卵子は順調に発育、逐次孵化し、高率に稚貝を得ることができる。
- 6) 培地で卵子が孵化するまでに要する飼育期間は温度により異なるが、25°C で概ね15日である。
- 7) 冠水処理及び、浸水濾紙飼育は実験室内で、多数の稚貝を得る方法として推奨出来る。

稿を終るに当り、御指導と御校閲を戴きました恩師片峰大助教授に深甚の謝意を表します。貝採集にあたって御協力戴きました久留米大学岡部浩洋教授をはじめ、熱研寄生虫学教室の諸兄に感謝致します。尚、本研究は文部省科学研究費及び日米医学協力会議の補助を受けた。

文 献

- 1) **Abbott, R. T.** : The egg and breedings of *Oncomelania quadrasi* Moellendorff, the schistosomiasis snail of the Philippines. Occ. Paps. Mollusks, Harvard Coll., 1 (6) : 41-48, 1946.
- 2) 網尾勝 : 海産腹足類の比較発生ならびに生態学的研究. 下関水産大学研究報告, 12(23) : 229-358, 1963.
- 3) **Chi, L. W. & Wagner, E. D.** : Studies on reproduction and growth of *Oncomelania quadrasi*, *O. nosophora*, and *O. formosana*, Snail hosts of *Schistosoma japonicum*. Amer. J. trop. Med. & Hyg., 6 (5) : 949-960, 1957.
- 4) **Davis, G. M.** : The systematic relationship of *Pomatiopsis lapidaria* and *Oncomelania hupensis formosana* (Prosobranchia : Hydrobiidae). Malacologia, 6 (1-2) : 1-143, 1967.

- 5) **Dewitt, W. B.** : *Pomatiopsis lapidaria*, its occurrence in the Washington, D. C. area and its laboratory rearing in comparison to that of *Oncomelania spp.* . J. Parasit., 38 (4) : 321-326, 1952.
- 6) 飯島利彦 : 日本住血吸虫中間主ミヤイリガイ個体群の自然棲息地における消長に関する生態学的研究. 寄生虫学雑誌, 8 (3) : 586-600, 1959.
- 7) 飯島利彦 : ミヤイリガイ. 山梨県寄生虫予防会, 1965.
- 8) **Ishii, N. & Tsuda, E.** : Possibility on (sic) the spreading of *Oncomelania nosophora*, the intermediate snail host of *Schistosoma japonicum*, in other areas besides its own habitats. Yokohama Med. Bull., 2 : 366-375, 1951.

- 9) 小宮義孝, 小島邦子, 小山力: ペトリ・シャーレによる *Oncomelania* のかんたんな飼育法, 寄生虫学雑誌, 8: 721-724, 1959
- 10) 川本脩二: 宮入貝 (日本住血吸虫, 中間宿主) の生物学的研究, 第2編宮入貝の生態, 京都府立医科大学雑誌, 55(6): 873-879, 1954.
- 11) 松田肇: 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内における飼育繁殖方法について. 寄生虫学雑誌, 18(5), 523-529, 1969.
- 12) McMullen, D. B.: The control of schistosomiasis japonica, 1. Observations on the habits, ecology, and life cycle of *Oncomelania quadrasi* the molluscan intermediate host of *Schistosoma japonicum* in the Philippine Islands. Amer. J. Hyg., 45 (3): 259-273, 1947.
- 13) 王倍信・苑学理・刘世妍: 釘螺生殖与発育の研究. 中華医学雑誌, 42: 426-440, 1956.
- 14) 阪本謙一: 甲府地方におけるミヤイリガイの季節的消長, 殻長構成の変動, 越冬様子について. 寄生虫学雑誌, 9(6): 701-705, 1960.
- 15) Otori, Y., Ritchie, L. S. & Hunter, G. W., III: The incubation period of the eggs of *Oncomelania nosophora*. Amer. J. trop. Med. & Hyg., 5: 559-561, 1956.
- 16) Pesigan, T. P., Hairston, N. G., Jauregual, J. J., Garcia, E. G., Santos, A. T., Santos, B. C. & Besa, A. A.: Studies on *Schistosoma japonicum* infection in the Philippines. Bull. Wld Hlth Org., 18: 481-578, 1958.
- 17) Sandground, J. H. & Moore, D. V.: Notes on the rearing of *Oncomelania* spp. in the laboratory. J. Parasitology, 41 (1): 109-113, 1955.
- 18) Eugiura, S.: Studies on biology of *Oncomelania nosophora* (Robson), an intermediate host of *Schistosoma japonicum*. Mittlgn. pathol. Inst. d. mediz. Fakultat, Niigata, 31: 1-18, 1933.
- 19) 津田栄造: 日本住血吸虫中間宿主宮入貝の撲滅に関する研究, (5) 東京土壌に於ける宮入貝卵子及び稚貝の発育. 東京医事新誌, 69(2): 30-31, 1952.
- 20) Van der Schalie, H. and Davis, G. M.: Culturing *Oncomelania* snails for studies of oriental Schistosomiasis. Malacologia, 6, 321-367, 1968.
- 21) Wagner, E. D. & Moore, B.: Effects of water level fluctuation on egg laying in *Oncomelania nosophora* and *Oncomelania quadrasi*. Amer. J. trop. Med. & Hyg., 5: 553-558, 1956.
- 22) Wagner, E. D. & Wong, L. W.: Some factors influencing egg laying in *Oncomelania nosophora* and *Oncomelania quadrasi*, intermediate hosts of *Schistosoma japonicum*. Amer. J. Med. & Hyg., 5 (3): 544-561, 1956.