宮入貝の呼吸系に関する研究

第Ⅱ報 春、夏及び秋に採集した宮入貝の呼吸系 に及ぼす殺貝剤の影響

阿 部 ち よ の

群馬大学医学部衛生学教室 (主任 沢田利貞 教授)

緒 言

著者¹⁾は先に冬季に採集した宮入貝の呼吸系に及ぼす5種殺貝剤即ち86% Sodium Pentachlorophenate (pcp-Na), 80% Sodium Pentachlorophenate, Santobrite (79% pcp-Na), 40% Dinitro-O-Cyclohexylphenol (DN-I) 及び硫安の効果について観察を行ない殺貝剤の効果はこれ等薬剤によって宮入貝の呼吸が阻害されるために起るとの推定を行なった。

前回の実験に使用した宮入貝は冬眠状態の貝を土中より採集したものであったので今回は地表に現われ活動している宮入貝, 即ち春季夏季秋季に採集した貝を以って5種殺貝剤の宮入貝の呼吸系に及ぼす影響について実験を行ない, 2~3の知見を得た。

実験材料及び方法

実験に使用した薬剤は冬季に採集した宮入貝に使用したものと同一86% Sodium Pentachlorophenate (pcp-Na), 80% Sodium Pentachlorophenate, Santobrite (79% Pcp-Na), 40% Dinitro-O-Cyclohexylphenol (DN-I) 及び硫安の5種の薬剤である。

実験に使用した宮入貝は春季(4月下旬から5月中旬の間) 夏季(8月) 秋季(10月) に山梨県の殺貝剤未撒布地域に於て採集し, 実験室に持ち帰り冬季の阻害実験(前報告)と同一の方法によって実験を行なった。

実 験 成 績

(1) 春季に採集した宮入貝

酸素吸収量と磷酸BufferのpHとの関係についてpH4.5よりpH7.5までの範囲において酸素

吸収量を測定したところpH5.7に於いて酸素吸収量は最も高く pH6.0 以上及び pH5.5 以下の範囲に於いてやや低下が認められ至適pH領域は pH5.5~6.0 の間にあることが判った。磷酸Bufferの濃度については1/20M~1/70M濃度のBufferを使用したところ濃度1/20Mで酸素吸収量は最も低く濃度1/50M~1/60M~1/70Mに於いては殆ど酸素吸収量は変化が認められなかったが1/60M及び1/70Mの場合には時間の経過と共に緩衝能の低下が認められたので本実験には濃度1/50M pH5.7 Bufferを使用した (Fig1.2)。

薬剤による貝の呼吸阻害度は前報と同様に行なった。即ち薬剤の作用をうけた宮入貝の酸素吸収量を計り, 対照宮入貝の酸素吸収量を100とした相対値(%)を求めて阻害度をあらわした。対照に用いた宮入貝100mg当りの酸素吸収量は4月下旬に採集した貝では8例中最高32.2 μ l最低23.6 μ l平均27 μ lで5月中旬に採集した貝では7例中最高39 μ l最低21.6 μ l平均33 μ lで後者に於いて著明に酸素吸収量の増加が認められた。

殺貝剤による呼吸阻害実験について

1) 硫安による阻害効果

硫安を磷酸Bufferにて濃度1%, 10⁻¹%, 5×10⁻²%, 2×10⁻³, 10⁻³% になるように稀釈し, これを側室に入れ予備振盪後主室に添加し, 2時間に亘り酸素吸収量を測定した。濃度1%に於ける1時間後の阻害度は-65%, 2時間後は-71%を示し比較的著明な阻害効果が認められたが10⁻¹%~2×10⁻³%の濃度では殆ど阻

Fig. 1 Effect of Phosphate buffer Concentration Oxygen uptake were measured for 120 minutes

Fig. 2 Effect of Phosphate buffer pH Oxygen uptake were measured for 120 minutes

害効果は認められず僅かに2時間値に於いて-12%~-2%の阻害度を示したに過ぎなかった。 $10^{-3}\%$ の濃度ではかえって呼吸促進が認められ、従って有効濃度の限界は $2 \times 10^{-3}\%$ と $10^{-3}\%$ との間に認められた (Tab. 1) .

2) PCP-Naによる阻害効果

70%, 80%, 86%の3種pcp-Naを用いて硫酸の場合と同様の方法によって実験を行なった。しかし1%濃度ではpcp-Naは沈澱物を生ず

るので本実験に於いてはこれを除外した。

79%pcp-Naを使用した際には $10^{-1}\%$ ~ $10^{-3}\%$ の阻害度は1時間値-83%~76%, 2時間値-87%~-83%であり、これらの各濃度では差異は殆どなく何れも高度の阻害効果が認められた。 $2 \times 10^{-4}\%$ では1時間値-59%, 2時間値-65%でやや阻害効果の低下が認められ、 $10^{-4}\%$ では1時間値+3%, 2時間値+9%で僅かな呼吸促進を示し、従って有効濃度の限界は $2 \times 10^{-4}\%$ と $10^{-4}\%$ との間に認められた。

80%pcp-Naの際は $10^{-1}\%$ ~ $2 \times 10^{-4}\%$ の阻害度は1時間値-83%~-59%, 2時間値-85~66%であり、 $10^{-4}\%$ では1時間値+7%, 2時間値+3%で呼吸促進がみられ、従って有効濃度の限界は $2 \times 10^{-4}\%$ と $10^{-4}\%$ との間に認められた。

86%pcp-Naの際は $10^{-1}\%$ ~ $10^{-3}\%$ の阻害度は1時間値-96%~-91%, 2時間値-96%~-93%であった。 $2 \times 10^{-4}\%$ は1時間値-74%, 2時間値-80%でやや阻害効果の低下がみられたが、 $10^{-4}\%$ でもなお1時間値-16%, 2時間値-17%の阻害効果が認められ、3種pcp-Naの中で最強の阻害力を示した (Tab. 1) .

3) DN-1による阻害効果

$10^{-1}\%$ ~ $2 \times 10^{-3}\%$ の阻害度は1時間値-86%~-76%, 2時間値-89%~-81%, $10^{-3}\%$ は1時間値-57%, 2時間値-66%を示したが、 $2 \times 10^{-4}\%$ では1時間値-10%, 2時間値-9%と阻害度の著明な低下が認められ、 $10^{-4}\%$ は阻害度1時間値

Table 1 Spring

Concentration (%)	Ammonium Sulfate		DN-1		79%PCP-Na		80%PCP-Na		86%PCP-Na	
	Inhibitory rate %		%		%		%		%	
	(min) 60	(min) 120	60	120	60	120	60	120	60	120
1	-65	-71								
10^{-1}	-9	-12	-85	-89	-83	-87	-69	-78	-96	-96
5×10^{-3}	-8	-2	-86	-85	-82	-85	-83	-85	-94	-95
2×10^{-3}	-8	-5	-76	-81	-76	-85	-71	-75	-94	-95
10^{-3}	+6	+2	-57	-66	-81	-83	-59	-69	-91	-93
2×10^{-4}			-10	-9	-59	-65	-60	-66	-74	-80
10^{-4}			+4	+6	+3	+9	+7	+3	-16	-17

+4%, 2時間値+6%であり, かえって呼吸促進が僅かに認められ有効濃度の限界は 2×10^{-4} %と 10^{-4} %との間に認められた。

以上の実験成績より春季に採集した宮入貝に対する5種殺貝剤の呼吸阻害効果は86%pcp-Naが最強であり, 次いで79%pcp-Na, 80%pcp-Na, 40%DN-1, 硫安の順位に阻害効果が認められた。(Tab. 1)

(Ⅱ) 夏季に採集した宮入貝

酸素吸収量と磷酸 BufferのpHとの関係についてpH4.5~7.5の範囲において酸素吸収量を測定し, pH5.0以上6.0以下では低下しpH5.5に於いて最高の酸素吸収量を示した。濃度は1/10M~1/70M濃度を使用したところ1/60Mに於いて酸素吸収量高く, 1/10Mから1/30Mの高濃度の場合より1/40Mから1/70M低濃度に於いて高い値を示したので本実験には濃度1/60M, pH5.5のBufferを使用した (Fig. 3, 4)。

対照に用いた宮入貝100mg当り酸素吸収量は9例中最高33.6 μ l, 最低23.6 μ l, 平均29 μ lであった。

殺貝剤による呼吸阻害実験について

Fig. 3 Effect of Phosphate buffer Concentration Oxygen uptake were measured for 120 minutes

Fig. 4 Effect of Phosphate buffer pH Oxygen uptake were measured for 120 minutes

1) 硫安による阻害効果

1%濃度の阻害度は1時間値-66%, 2時間値-76%で比較的強い阻害効果を示したが 10^{-1} %では1時間値-13%, 2時間値-19%と急激に阻害効果の低下を示し, 5×10^{-3} %では1時間値+6%, 2時間値+4%でかえって呼吸促進がみられ, 2×10^{-3} %, 10^{-3} %の濃度では1時間値-6%, -2%, 2時間値-10%-1%と再び僅かな阻害効果が認められた。(Tab. 2)

2) PCP-Naによる阻害効果

79%pcp-Naの際には 10^{-1} %~ 10^{-3} %の濃度では1時間値-86%~-78%, 2時間値-90%~-85%の著しい阻害効果が認められたが 2×10^{-4} %では1時間値-41%, 2時間値-40%で阻害力の低下が見られる。

80%pcp-Naの際には 10^{-1} %~ 2×10^{-4} %の濃度に於いて1時間値-81%~-62%, 2時間値-85%~-80%の阻害効果が認められた。

86%pcp-Naの際には 10^{-1} %~ 2×10^{-4} %の濃度に於いて1時間値-89%~-74%, 2時間値-88%~-78%の阻害効果が認められた。これら3種のpcp-Naの阻害効果は殆ど差異が認められなかったが, 一部79%pcp-Naの 2×10^{-4} %濃度の阻害効果の低下が認められた(Tab. 2)。

3) DN-1による阻害効果

10^{-1} %, 5×10^{-3} %, 2×10^{-3} %, 2×10^{-4} %, 濃度に於ける阻害度は1時間値-86%~-80%, 2時間値-89%~-83%で殆ど差異はなく, 10^{-3} %濃度の阻害度は1時間値-61%, 2時間値-68%を示し僅かな低下を示した。

以上の実験成績より夏季に採集した宮入貝に対する5種殺貝剤の呼吸阻害効果は, 3種pcp-Na及びDN-1の各々に優劣の差異は殆どなく, 硫安のみが他に比較して阻害効果は低かった (Tab. 2)。

(Ⅲ) 秋季に採集した宮入貝

酸素吸収量と磷酸BufferのpHとの関係についてpH4.5~7.0の範囲において酸素吸収量を測定したところpH5.0, pH5.5に最高の酸素吸収量を示しpH6.0以上の範囲で低下が認められ

Table 2 Summer

Concentration (%)	Ammonium Sulfate		DN-1		79%PCP-Na		80%PCP-Na		86%PCP-Na	
	Inhibitory rate (%)		%		%		%		%	
	(min) 60	(min) 120	60	120	60	120	60	120	60	120
1	-66	-76								
10 ⁻¹	-13	-19	-86	-89	-86	-89	-62	-80	-82	-88
5×10 ⁻³	+6	+4	-83	-84	-79	-85	-72	-81	-77	-84
2×10 ⁻³	-6	-10	-80	-83	-85	-90	-72	-82	-89	-89
10 ⁻³	-2	-1	-61	-68	-78	-86	-81	-85	-74	-78
2×10 ⁻⁴			-85	-84	-41	-40	-74	-80	-74	-83

Table 3 Autumn

Concentration (%)	Autumn		DN-1		79%PCP-Na		80%PCP-Na		86%PCP-Na	
	Inhibitory rate (%)		%		%		%		%	
	(min) 60	(min) 120	(min) 60	120	60	120	60	120	60	120
1	-20	-55								
10 ⁻¹	+9	-3	-86	-85	-91	-97	-80	-88	-93	-89
5×10 ⁻³	-1	0	-86	-88	-89	-88	-83	-90	-84	-87
2×10 ⁻³	0	-4	-76	-79	-94	-95	-86	-90	-84	-87
10 ⁻³	-10	-8	-53	-62	-94	-89	-80	-89	-81	-89
2×10 ⁻⁴			-50	-55	-89	-89	-73	-76	-79	-88
10 ⁻⁴			+30	+24	-8	0	-8	+4	-15	-12

Fig. 5 Effect of phosphate buffer concentration Oxygen uptake were measured for 120 minutes

た。濃度は1/20M~1/70Mの範囲で測定し1/40%に於いて最も高く、1/50M、1/60Mでやや低下を示したので本実験には濃度1/40M、pH5.3のBufferを使用した (Fig. 5, 6)。

対照宮入貝100mg当り酸素吸収量は8例中最高25.9μl, 最低24.3μl, 平均25μlであった。

Fig. 6 Effect of phosphate buffer pH Oxygen uptake were measured for 120 minutes

殺貝剤による呼吸阻害実験について

1) 硫安による阻害効果

1%濃度の阻害度は1時間値-20%, 2時間値 55%を示したが、10⁻¹%~2×10⁻⁴%の濃度では殆ど阻害効果は認められず1時間値-10%~+9%, 2時間値-8%~0%であった (Tab. 3)。

2) PCP-Naによる阻害効果

79%pcp-Naは $10^{-1}\%$ ～ $2 \times 10^{-4}\%$ の濃度に於いて、1時間値-94%～-89%、2時間値-97%～-88%の著明な阻害効果が認められたが、 $10^{-4}\%$ では1時間値-8%、2時間値0%を示し殆ど阻害効果は認められなかった。80%pcp-Naは濃度 $10^{-1}\%$ ～ $2 \times 10^{-4}\%$ の阻害度は1時間値-86%～-73%、2時間値-90%～-76%であり阻害効果が著明に認められたが $10^{-4}\%$ では1時間値-8%、2時間値+4%で阻害効果は殆ど認められなかった。86%pcp-Naは $10^{-1}\%$ ～ $2 \times 10^{-4}\%$ の濃度では阻害度1時間値-93%～-79%、2時間値-89%～-87%を示し、著明な阻害効果を認めたが $10^{-4}\%$ では1時間値-15%、2時間値-12%で軽度の阻害効果を認めたのみであった。これら3種のpcp-Naの阻害効果はいずれも濃度 $10^{-1}\%$ ～ $2 \times 10^{-4}\%$ に於いて著明であり $10^{-4}\%$ の濃度では86%pcp-Naが軽度に阻害を示したのみで79%、80%pcp-Naには殆ど認められなかった (Tab. 3)。

3) DN-1による阻害効果
 $10^{-1}\%$ ～ $2 \times 10^{-3}\%$ の阻害度は1時間値-86%～-76%、2時間値88%～79%を示したが $10^{-3}\%$ ～ $2 \times 10^{-4}\%$ では1時間値-53%～-50%、2時間値-62%、55%と阻害効果の低下が見られ、 $10^{-4}\%$ に於いて

Fig. 7 Inhibitory effects in each season

Fig. 8の1 Inhibitory effect in each chemical

Fig. 8の2 Inhibitory effect in each chemical

ては1時間値+3%, 2時間値+24%を示して呼吸促進が認められ, 有効濃度の限界は $2 \times 10^{-4}\%$ と $10^{-4}\%$ との間にあることが判明した。

以上の実験成績より秋季に採集した宮入貝に対する5種殺貝剤のうち呼吸阻害効果は3種pcp-Naに著しく認められた (Tab. 3)。

総 括

燐酸Bufferの至適濃度は冬季, 秋季は1/40M春季, 夏季は1/50, 1/60Mに於いて酸素吸収量が最も高く, 至適 pH は春季5.7, 夏季5.5, 秋季5.3 冬季6.2であった。

四季を通して最も酸素吸収量の亢進を示したのは春季, 夏季で秋季, 冬季にはその低下が認められた。亢進の時期は宮入貝の活動の盛んな季節と一致する。又宮入貝の酸素吸収量は冬眠時期には春季, 夏季に比較してはるかに低いことがわかった。

季節別に5種薬剤の呼吸阻害効果をみると, 春季は86%pcp-Naに強い阻害効果が認められ, 夏季は79%, 80%, 86%pcp-Na及び40%DN-1の間に著明な阻害効果の差異は認められなかった。秋季は79%pcp-Naに強い阻害効果が認められ, 冬季は86%pcp-Naに強い阻害効果が認められた。なお硫安は何れの季節にも阻害度は低かった (Fig. 7)。

5種薬剤の各々について季節別の阻害効果をみると硫安は冬季に顕著で次で夏及び春, 秋季の順で, 40%DN-1は何れの季節にも余り差異が認められない。79%pcp-Naは秋季に最も顕

Fig. 9 Inhibitory effect about each chemical in each season

著で春及び夏, 次に冬季の順位で, 80%pcp-Naは秋夏春冬季の順位, 86%pcp-Naは春季が最も顕著で秋春冬季では差異はないと考えられた。(Fig. 8)

以上のことより四季に亘る使用薬剤の阻害効果の顕著であったものは春季における86%pcp-Na, 秋季における79%pcp-Na, 80%pcp-Na及び86%pcp-Naであった。夏季及び冬季は他の季節に比べて劣るように考えられる。5種薬剤の宮入貝に及ぼす呼吸阻害は季節によって異なることが判った。津田氏²⁾は室内実験により

宮入貝は冬季に於いて薬剤に対する生物学的抵抗強く夏季に弱まると述べているが必ずしもこのことに一致しなかった (Fig. 9) .

結 語

四季別に採集した宮入貝に対する酸素吸収量及び5種殺貝剤の呼吸系に及ぼす効果をしらべた。

(1) 四季を通じて高い酸素吸収量を示したのは宮入貝の活動の盛んな春季夏季であった。

(2) 5種薬剤中最も強い阻害作用を示したものは季節別にみると春季に於いては86%pcp-Na, 秋季では79%pcp-Na 夏季に於いては79%pcp-Na及び86%pcp-Na であった。冬季には86%pcp-Naであった。

(3) 薬剤別にみると硫安は冬季に強く40%DN-1は余り差異は認められない。pcp-Naは四季を通じて一般に作用が強いが特に79%pcp-Naは秋季, 80%pcp-Naは秋季, 86%pcp-Naは春季に強力であった。

(4) 呼吸阻害の強い時期は春季秋季であり, 春季の86%pcp-Na, 秋季の79%pcp-Na及び86%, 80%pcp-Naであった。

終りに臨み本研究に御懇篤な御指導御校閲を賜った沢田教授に心よりの感謝の意を表する。本研究の一部はGrant from the National Institute of Health of the United States E-1109Rによった。こゝに謝意を表する。

文 献

- 1) 阿部チヨノ : 日本衛生学雑誌, 12 : 4, 1957.
- 2) 津田栄造 : 東京医事新誌, 69 : 1, 1952.
- 3) 川本脩二 : 医学と生物学, 28 : 3, 1953.
- 4) 岡本坦 : 医学と生物学, 30 : 4, 1954.
- 5) 岡本坦 : 医学と生物学, 30 : 5, 1954.
- 6) 小林晴治郎, 杉浦三郎 : 最新寄生虫病学, VI 1953.
- 7) McMullen, D.B. et al. : Jour. Parasit., 34 : 33, 1948 :
- 8) Wright, H. et al. : Amer. Jour. Hyg., 47 : 1, 1948.
- 9) Ingalls, W. et al. : Jour. Parasit., 35 : 2, 1949.
- 10) Umbreit, W.W. et al. : Manometric Techniques and Tissue Metabolism, 1949.
- 11) McMullen, D.B. et al. : Am. Jour. Trop. Med., 31, 5 : 1951.
- 12) Noran, M.O. : Pub. Health Reports, 65 : 45, 1950.
- 13) 二宮春忠. 他 : 生化学, 23 : 2, 1951.
- 14) 二宮春忠. 他 : 生化学, 23 : 3, 1951.
- 15) 岡部浩洋. 他 : 久留米医学雑誌, 5 : 7, 1952.
- 16) 岡部浩洋. 他 : 久留米医学雑誌, 15 : 8, 1952.
- 17) Ritchie, L.S. : Am. Jour. Trop. Med. Hyg., 4 : 3, 1955.
- 18) 宮木高明 : 科学, 25 : 7, 1955.
- 19) 佐藤重房. 他 : 北関東医学雑誌, 6 : 4, 1956.

STUDIES UPON THE RESPIRATORY SYSTEM OF ONCOMELANIA NOSOPHORA.

REPORT II.

Chiyono ABE

Dept. of Hygiene, School of Medicine,

Gunma University (Director : Prof. T. Sawada)

The rate of oxygen uptake by snails collected in four seasons and the effect of 5 chemicals (86% sodium pentachlorophenate, 80% Sodium pentachlorophenate, Santobrite, 40% Dinitro-O-cyclohexylphenol, ammonium sulphate) upon the respiration of snails were investigated.

- 1) . The rate of oxygen uptake was increased when the snail was more active.
- 2) . In spring and winter, 86% PCP-Na showed the strongest inhibitory effect upon the oxygen uptake and in summer and autumn 79% PCP-Na showed the strongest inhibitory effect.
- 3) . Ammonium sulfate was effective upon snail in winter.