

蛔虫卵試験管内脱殻に関する観察

(その 2) 滅菌水中での脱殻について

谷口 富士雄

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室 (主任 松林久吉)

(昭和 30 年 1 月 31 日受領)

蛔虫卵を夏季の室温或は 25~28°C の孵卵器内で培養し、仔虫が形成されて数 10 日或は数日を経て、同じ室温或は孵卵器内で仔虫が自然に脱殻するか否かについては久しく議論されたところである。近藤 (1920)、浅田 (1921)、大場 (1923)、平沢 (1928)、栗栖 (1932)、豊田 (1932) 等は相当数の脱殻仔虫を認めて居り、井田 (1929)、稲留 (1932)、Mc Rae (1935) 等はこれを否定し、それは偶発的に作用した機械的或は化学的刺戟によるもので生物学的脱殻ではないと述べている。

私は豚蛔虫卵を試験管内滅菌水中で培養していたが、偶然昭和 29 年 8 月中旬より 9 月下旬までの間に培養後約 30~150 日を経過した 76 本の試験管中 7 本のものに 10~30% 程度の脱出仔虫が存在するのを認めた。尙お培養は 28°C に調節した孵卵器内で行ったのであるが、実際には気温がそれよりも高くなることが屢々あったので孵卵器内の温度はそれにつれて可成り著しく上下したと思われる。この滅菌水中に於ける脱殻について追求することは現在まで試みて来た人工胃液、人工腸液、Pepton 或は Glucose の溶液による試験管内脱殻並に細菌、微等の繁殖がそれに及ぼす影響の観察と共に蛔虫卵の脱殻機転を解明する一助にでもなり得るのではないかと思ひ、原因として想像される 2, 3 の条件、即ち培養開始前に作用させた Antiformin の時間、1 試験管に含有される虫卵数及び夏季に於ける孵卵器の温度変化等について実験観察を試みた。

実験材料及び方法

実験に使用した虫卵は総て豚蛔虫子宮腔部より可及的雑菌の混入を避けて採取し、更に 5% Antiformin 液を所要時間作用させ、滅菌水で 5 回洗滌し、試験管内滅菌水

中に培養した。虫卵数及び脱出仔虫数は載物硝子上に少量の虫卵浮游液をとり、被蓋せず鏡検する様にし、これを 3 枚の標本について計数し、その平均を求めた。無菌試験は Thioglycollet 培地を、又 pH の測定には東洋濾紙の試験紙を用いた。

実験成績

滅菌水中での脱殻が温度の変化や、一定容積中の虫卵数の多少等の影響によつて起り得るものか否かを確める目的で次の如く、先ず予備的な実験を行つた。虫卵は既に培養してあつたもので、培養日数は 41~177 日を経っていた。全て無菌で然も脱殻仔虫を認めない材料を用いた。これを数回振盪して、略々均一とした後、虫卵数を算えると共に、 $\frac{1}{10}$ 量を他の試験管に移し、その後滅菌水の増減を行い、虫卵数の多い方は液量を 0.5 ml とし、少いものは 1 ml とした。この 2 本の試験管を 1 組とし、この様なもの 18 組を 2 群に分けた。第 1 群は 28°C に保ち続け、第 2 群は温度変化をした。即ち毎日午前 10 時より午後 6 時までの 8 時間は 38°C の孵卵器内に置き、その後は翌朝 10 時まで室温に放置した。当時の室温は 8~10°C であつた (自記温度計)。これを 10 日及び 15 日後に鏡検し、脱殻仔虫の有無を検すると同時に、無菌試験並に pH の測定をした。脱殻仔虫が多数の場合はそれらが重なり合つて算定が困難であるので試験管内容全体を稀釈し、振盪攪拌後、脱殻率を求めた。尙お第 1 群のものは 15 日後更に第 2 群と同様の温度変化を行つた。

第 1 群の成績は第 1 表に、第 2 群の成績は第 2 表に示した。第 1 群に於て、28°C に保つた時は虫卵数の多いものゝ 2 例で 7~9% 程度の脱出仔虫をみ、温度を変化せしめる操作を始めてからは脱殻率は昂まり、20% 以上の脱出仔虫を算するものもあつた。初めから温度を夜と昼とで変化せしめた第 2 群では脱殻の見られる例が多くその率も 42% に達したものがあつた。そして何れの場

Fujio Taniguchi: Observations on the hatching of ascaris larvae in vitro. II. Hatching in sterile media. (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo, Japan.)

第1表 予備実験第1群の成績

番号	使用虫卵			脱殻率			その他	
	培養日数	アンチホルミン作用時間	虫卵数	28°C 10日目	28°C 15日目	温度変化後 10日目	無菌試験	pH
I	* { 41	25分	128,000	5	7	21 (15)	—	5.8
			12,800	1	1	12 (6)	—	5.8
II	* { 41	25	206,000	9 (2)	8	20 (23)	—	5.8
			20,600	0	3	28 (9)	—	5.8
III	50	20	160,000	0	0	0 (2)	—	5.8
			16,000	0	0	0	—	5.8
IV	50	20	48,000	0	0	1 (3)	—	5.8
			4,800	0	0	0	—	5.8
V	59	不明瞭	98,000	0	2	2	—	5.8
			9,800	0	0	0	—	5.8
VI	66	同上	530,000	0	2	1	—	5.8
			53,000	0	0	0	—	5.8
VII	87	同上	106,000	0	1	3	—	5.8
			10,600	0	0	0	—	5.8
VIII	94	同上	46,000	0	0	0	—	5.8
			4,600	0	0	0	—	5.8
IX	130	同上	78,000	0	0	0	—	5.8
			7,800	0	0	0	—	5.8

* は同一虫体よりの虫卵

尚脱殻率中 () 内は脱殻寸前のものゝ率

第2表 予備実験第2群の成績

番号	使用虫卵			脱殻率		その他	
	培養日数	アンチホルミン作用時間	虫卵数	温度変化後 10日目	温度変化後 15日目	無菌試験	pH
I	* { 41	30分	36,000	14 (23)	16 (82)	—	5.6
			3,600	3 (2)	2 (8)	—	5.8
II	* { 41	30	44,000	32 (17)	—	—	5.6
			4,400	2 (10)	4 (17)	—	5.6
III	50	25	108,000	0	0	—	5.6
			10,800	0	0	—	5.6
IV	50	25	48,000	0	0	—	5.4
			4,800	0	0	—	5.8
V	59	不明瞭	320,000	42 (6)	—	—	5.8
			32,000	1	0	—	5.8
VI	66	同上	94,000	5	13 (4)	—	5.6
			9,400	0	1	—	5.8
VII	111	同上	46,000	3	5	—	5.8
			4,600	0	0	—	5.8
VIII	130	同上	68,000	0	0	—	5.8
			6,800	0	1	—	5.8
IX	177	同上	48,000	0	0	—	5.6
			4,800	0	0	—	5.8

* は同一虫体よりの虫卵

尚脱殻率中 () 内は脱殻寸前のものゝ率

合でも脱出仔虫は培養日数の若いものに見られることが多い様である。

尙お表中、Antiformin の作用時間不明瞭というのは

既に培養してあつた材料を用いたため、その作用時間が正確に測定してなかつたものであり、実際の作用時間は約30分間程度である。虫卵数算定等による虫卵の破損

第3表 本実験各虫体よりの虫卵での成績 (その1)

番号	使 用 虫 卵			28°C 40日目の所見		温 度 変 化 後 所 見				
	程度	アンチホルミン作用時間	水流終了時間	虫卵数	仔虫形成率	脱出仔虫率	10日目脱殻率	20日目脱殻率	無菌試験	pH
I	++	10分	64分	60,000	73	0	0	0	—	5.8
				3,000	100	0	0	0	—	5.8
II	+	15	65	94,000	42	0	0	0	—	5.4
				4,700	98	0	0	0	—	6.0
III	+	15	69	70,000	51	0	0	0	—	5.8
				3,500	100	0	0	0	—	5.8
IV	+	20	79	70,000	40	0	0	0	—	5.4
				3,500	100	0	0	0	—	6.0
V	++	20	69	70,000	65	0	0	0	—	5.4
				3,500	100	0	0	0	—	5.8
VI	++	20	74	44,000	62	0	0	0	—	5.8
				2,200	100	0	0	0	—	5.8
VII	±	25	91	66,000	64	0	0	0	—	5.8
				3,300	100	0	0	0	—	5.8
VIII	+	25	84	50,000	50	0	2	3	—	5.4
				2,500	100	0	0	0	—	6.0
IX	+	25	74	56,000	74	0	0	17(5)	—	5.4
				2,800	95	0	0	0	—	5.8
X	+	25	77	50,000	53	0	0	0	—	5.8
				2,500	99	0	0	0	—	5.8

脱殻率中 () 内は脱殻寸前のものゝ率

第4表 本実験各虫体よりの虫卵での成績 (その2)

番号	使 用 虫 卵			28°C 40日目の所見		温 度 変 化 後 所 見				
	程度	アンチホルミン作用時間	水流終了時間	虫卵数	仔虫形成率	脱出仔虫率	10日目脱殻率	20日目脱殻率	無菌試験	pH
I	±	30分	96分	54,000	66	0	0	11	—	5.8
				2,700	100	0	0	0	—	5.8
II	±	30	92	72,000	68	0	62	—	—	5.4
				3,600	98	0	0	32	—	5.8
III	+	30	89	48,000	65	0	2	6	—	5.4
				2,400	99	0	68	—	+	5.6
IV	±	30	100	40,000	67	0	5	12(4)	—	5.4
				2,000	93	0	0	0	—	6.0
V	±	35	97	32,000	71	0	0	24	+	5.6
				1,600	94	0	0	0	—	5.8
VI	±	35	95	90,000	55	0	2	13(6)	—	5.8
				4,500	100	0	0	0	—	5.6
VII	±	35	101	60,000	58	0	0	21	—	5.6
				3,000	98	0	0	18	—	5.6
VIII	±	40	102	56,000	58	0	0	0	—	5.8
				2,800	99	0	2	0	—	5.8
IX	±	40	100	58,000	60	0	0	2	—	5.8
				2,900	97	0	0	29	—	5.6
X	±	40	100	62,000	79	1	53	—	+	5.0
				3,100	97	0	58	—	+	5.4
XI	++	45	110	44,000	56	0	5	19(5)	—	5.4
				2,200	100	0	0	0	—	5.8

脱殻率中 () 内は脱殻寸前のものゝ率

第5表 本実験同一虫体よりの虫卵での成績

番号	使 用 虫 卵		28°C 40日目の所見				温度変化後所見			pH	
	程度	アンテホルミン作用時間	水流終了時間	虫卵数	仔虫形成率	脱出仔虫率	10日目脱殻率	20日目脱殻率	無菌試験		
I	+	{	15分	68分	48,000	87	0	0	0	—	5.8
			45	89	2,400	100	0	0	0	—	5.4
II	++	{	15	83	66,000	54	0	0	0	—	5.6
			45	105	3,300	100	0	87(5)	0	—	5.8
III	+	{	15	80	48,000	93	0	0	0	—	5.4
			45	108	2,400	100	0	0	0	—	6.0
IV	+	{	15	73	64,000	50	0	0	5	—	5.4
			45	105	3,200	87	0	0	0	—	5.8
V	++	{	15	75	32,000	93	0	0	0	—	5.6
			120	180	1,600	100	0	0	0	—	5.6
VI	±	{	15	75	34,000	87	1	0	34	—	5.6
			120	180	1,700	100	0	0	0	—	5.6
VII	±	{	15	75	24,000	70	0	0	0	—	5.8
			120	180	1,200	98	0	0	0	—	5.6
VIII	+	{	15	75	28,000	78	0	47	—	—	5.6
			120	180	1,400	100	0	0	0	—	5.8
IX	+	{	15	75	48,000	79	0	0	0	—	5.4
			120	180	2,400	100	0	0	0	—	5.4
X	±	{	15	75	62,000	85	0	87*	—	+	6.0
			120	180	3,100	100	0	0	0	—	5.6
XI	±	{	15	75	28,000	93	0	0	0	—	5.4
			120	180	1,400	98	0	0	0	—	5.4
XII	±	{	15	75	26,000	100	36(15)	—	—	—	5.4
			120	180	1,300	100	0	0	0	—	5.6
XIII	±	{	15	75	14,000	96	0	0	0	—	6.0
			120	180	700	99	0	0	0	—	5.4
XIV	±	{	15	75	16,000	100	0	32(14)⊕	—	—	5.8
			120	180	800	100	0	0	0	—	5.4
XV	+	{	15	75	28,000	92	0	0	0	—	5.8
			120	180	1,400	100	0	0	0	—	5.4
XVI	+	{	15	75	32,000	100	0	41(26)*	—	—	5.8
			120	180	1,600	100	0	0	0	—	5.4

脱殻率中 () 内は脱殻寸前のものゝ率。

* は温度変化後2日目の所見, ⊕は同様5日目の所見。

或は仔虫の脱出は殆んど見られず, 多い場合でも2~3%であつた。

本実験。

予備実験により兎に角滅菌水中で脱殻の起ることが明瞭になつたので, 各虫体よりの虫卵を5% Antiformin液に10~45分間作用後, 水洗し, 一定量を取り, 鏡檢計數し, 同時に卵殻の破損したものゝ率を調べた。試験管内滅菌水の量は各2mlとし, 虫卵数の少いものは多いものゝ1/20とし, 40日間28°Cで培養した。仔虫形成状態及び脱出仔虫の有無を鏡檢すると同時に無菌試験を行い, その後は予備実験同様の温度変化を与え, 10

日及び20日後に鏡檢し, 再び無菌試験をすると共にpHを測定した。尙おこの時期の室温は5~8°Cであつた。

成績は第3表, 第4表に示した通りであり, 表中, 虫卵の程度とは虫卵採取時の所見及び鏡檢時の感じより仮定したもので, (++)は全部が受精卵であり, 子宮切断時虫卵が流出したものであり, (+)は全部が受精卵であるが, しぼり出す必要のあつたもので, (±)とは1~2%程度の不受精卵を含んでいるものである。又水洗終了時間とはAntiformin作用より5回水洗の終了するまでの時間であり, 虫卵数は1ml中の数を示す。

28°C 40日間では何れの場合でも脱出仔虫を殆んど認

めなかつた。無菌的に操作し得たものでは温度を変化した後は 1 例を除いて虫卵数の多いものがより高率に脱殻し 10 日目に 62 % を示すものがあつた。20 日後には脱出仔虫を見る試験管数は更に増えている。又 Antiformin の作用時間が 30~45 分間のものに脱出仔虫を認めた例が多く、25 分間以下では 1 例のみに 17 % の仔虫を見ただけである。虫卵の程度には余り関係がない様である。

次に同一虫体よりの虫卵について Antiformin の作用時間を変更した。即ち子宮を分岐部で 2 分し、作用時間を 15 分間と 45 分間及び 15 分間と 120 分間とし、前同様の実験をした。但し例 V, VI, VII, VIII は以前の実験では脱出仔虫の死んでいるものが多かつたので、比較的多数の仔虫が脱出し、生存している間に観察せんとして、温度変化後 2 日, 5 日, 10 日, 20 日目に鏡検した。

28°C に培養中脱殻したものは第 5 表に見られる如く 1 例のみであり、温度変化後には Antiformin の作用を 45 分間或は 120 分間受けたものでは 32~87 % という脱殻率を示した。これは全て虫卵数の多いもの場合であり、同時間作用を受けたものでも虫卵数の少い時は全然脱出仔虫を認めなかつた。

然し Antiformin の作用時間を異にする虫卵でも卵殻は培養開始前或は 40 日後の鏡検の際に、形態上殆んど差を認めることは出来ず、且つ操作中破損したものは極く僅かである。又仔虫形成率も作用時間による差を 40 日後では示さず、寧ろそれは虫卵数により左右され、虫卵数の多いものは何れの場合も仔虫形成率が悪かつた。

次に虫卵数が少く、20 日間に亘つて毎日温度を変化させたにもかかわらず、脱殻の起らなかつた材料を、Antiformin の作用時間によつて分類し、7 群に分けた。即ち第 1 群は第 3 表中の 10~20 分間 Antiformin を作用させたもの (実験番号 I~II)、第 2 群は第 3 表中の 25 分間作用のもの (実験番号 VII~X)、第 3 群は第 4 表中の 30~45 分間作用のもので脱殻の起らなかつたもの (実験番号 I, IV, V, VI, XI)、第 5 群は第 5 表中の 45 分間作用のもの (実験番号 I~IV)、第 4 群はそれと同一実験番号の 15 分間作用のもの、第 7 群は第 5 表中の 120 分間作用のもの (実験番号 V~VIII)、第 6 群はそれと同一実験番号の 15 分間作用のものである。各群とも虫卵を総て 1 本の試験管に集め、単位容積中の虫卵数を多くするために、その液量を虫卵の沈澱するのを待つて約 0.5 ml とし、これを 38°C に保ち、1 日, 2 日, 5 日に鏡検した。その結果は第 6 表の如くで、第 7 群では 82 %, 第 5 群では 44 % の仔虫が 24 時間目に脱出して居

り、第 3 群では 5 日までに 15 % のものが脱殻した。

第 6 表 虫卵数の少いものを Antiformin の作用時間により分類したものと成績

番号	アンチホルミン作用時間	脱 殻 率			無菌試験
		1 日	2 日	3 日	
1 群	10~20分	0	0	0	—
2 群	25	0	0	0	—
3 群	30~45	1	3	15	—
4 群	15	0	0	0	—
5 群	45	44 (2)	—	—	—
6 群	15	0	0	0	—
7 群	120	82	—	—	—

脱殻率中 () 内は脱殻寸前のものと率

以上の実験全体を通じ、脱殻の起つた殆んど総ての場合に、その虫卵の大部分のものが卵殻の一部 (多くは極に近い部位) に欠損を生じ、そこから仔虫が脱出する方法によつて居り、極めて少数の虫卵に、卵殻全体が菲薄になり、仔虫の脱出するのが観察された。尙ほ雑菌が混入し、繁殖した様な場合には、虫卵数等に無関係に割合高率に脱殻するのが見られた。

考 按

実験に使用した虫卵は水洗後の虫卵数算定の際にも、培養 40 日後の鏡検の場合にも、各虫卵々殻は略々同様の感じで、蛋白膜の除去された外は卵殻は各層を有し、それに対する Antiformin 作用時間の差を鏡検上認めることが殆んど出来ず、且つ仔虫脱出後の大部分の卵殻は Pitts (1948) が仔虫包蔵卵に Antiformin と苛性ソーダの混合液を 24 時間作用させて脱殻を行つた時の所見とは明らかに異つていた。井田 (1930) は豚蛔虫卵々殻には、濃厚な Antiformin によつても数時間では余り変化を受けない層があると報告しているが、本実験の結果では、同一虫体よりの虫卵でも採取時に Antiformin の作用を長時間受けたものは高い脱殻率を示すのに反し、短時間のものでは脱殻せず、仔虫脱出と Antiformin の作用時間の間には関係がある様に思われる。これは形態的には差を認めることが困難であつても、卵殻が諸種の理化学的刺戟を透過せしめる度に差異を生じ、卵内仔虫に及ぼす影響が異なるのではないかと考えられる。事実、温度変化後の脱殻率はその差を一層明瞭にしている。

豊田 (1931, 1932) は蛔虫卵の Pepton 或は Glucose

溶液による人工孵化を行い、蛔虫仔虫の脱出には、蛋白質、糖等の栄養素が必要であると云っているが、O'Connor (1951) は Ringer-Tyrode 液でも脱殻を見ずとして、その必要を否定している。本実験もメヂウムが滅菌蒸溜水であり、その様なものゝ存在は全く必要としないことは明らかである。

牛山 (1953) によればラッテの肝臓内に蛔虫卵を注入した場合に、生虫卵は死虫卵より強度の障碍を与えて居り、卵殻内の代謝物質が卵殻を透し、拡散することを暗示している。この事と実験結果、即ち脱殻は又虫卵数により左右され、含有虫卵数の少い場合は 28°C では殆んど脱出仔虫を見ず、温度変化後に少数のものが脱殻している程度であり、虫卵数の多い場合は脱殻例も多く、率も高い。且つ虫卵数が少い場合に全然脱殻を見なかつたものでも虫卵数を増し、液量を減ずると、相当に高い率に脱出仔虫を見ること並に仔虫形成率も虫卵数により影響を受けること等を併せ考えると、卵内仔虫或は卵細胞の新陳代謝産物等の蓄積によるメヂウムの変化或はメヂウム内の酸素の欠乏等が起るのではないかと思われる。この様な状態が卵殻を透して、仔虫に作用し、それに反応して仔虫が分泌する酵素の如きものによる卵殻の溶解と、仔虫の活潑なる運動とが共に働いて脱殻が起つたのではないかと想像される。

結 論

豚蛔虫卵を 28°C の孵卵器で培養中、その試験管内滅菌水中に仔虫が脱出した様な例に遭遇したので、その再現を試み、滅菌水のみでも蛔虫仔虫は脱殻することを確かめ得た。この滅菌水中での脱殻は培養中の温度変化、培養虫卵数及び虫卵採取時の Antiformin 作用時間等に関係があると思われる。

稿を終るに臨み松林教授の御指導、御校閲並に浅見講師の御助言に深く感謝致します。

文 献

- 1) 近藤喜一 (1920) : 蛔虫の経皮的感染に関する研究, 東京医事新誌, 2181 : 1123. —2) 浅田順一 (1921) : 蛔虫の経皮的感染に関する実験的研究, 東京医事新誌, 2238 : 1473. —3) 大場辰之允 (1923) : 蛔虫卵子の孵化要約並に感染能力に就て, 台湾医学会雑誌, 228 : 176. —4) 平沢一三 (1928) : 蛔虫の外界脱殻仔虫の経口的感染に関する実験的研究, 東京医事新誌, 2532 : 1350. —5) 栗栖荘太郎 (1932) : 蛔虫卵殻内仔虫の外界に於ける自然脱殻現象及び動物体内特に消化管以外の脱殻に就て (1), 日本医事週報, 1871 : 519. —6) 豊田一長 (1932) : 寄生虫卵

(特に蛔虫卵) の人工孵化に関する研究 (第2回報告) 蛔虫幼虫の経口的並に経皮的感染に就て, 大阪医学会雑誌, 31 : 2823. —7) 井田正二 (1929) : 蛔虫の成熟仔虫の脱殻機転に就て, 慶応医学, 9 : 89. —8) 稲留藤次郎 (1932) : 自然界に於ける蛔虫仔虫の経皮的感染ありや, 慶応医学, 12 : 863. —9) McRae, A. (1935) : The extracorporeal hatching of Ascaris eggs. J. Parasit. 21 : 222. —10) Pitts, T.D. (1948) : Experimental hatching of the eggs of Ascaris suum. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 69 : 348. —11) 井田正二 (1930) : 蛔虫卵の卵殻構成に就て, 慶応医学, 10 : 965. —12) 豊田一長 (1931) : 寄生虫卵 (特に蛔虫卵) の人工孵化に関する研究, 東京医事新誌, 2748 : 1. —13) O'Connor, G.R. (1951) : Morphological and environmental studies on the hatching of Ascarid eggs in vitro. J. Parasit. 37 : 179. —14) 牛山昌三 (1953) : 日本住血吸虫卵の病害機転, 慶応医学, 30 : 283.

Summary

In the first report of this study, it was stated that embryonated eggs of ascaris rarely hatched out in sterile media. In succeeding experimental works, however, a large number of hatched out larvae were seen in sterile water in 7 of 76 test tubes which had been kept in a 28°C incubator for a period of 30-150 days. This occurred in August and September, 1954, when the atmospheric temperature often rose above 30°C, so that the temperature in the incubator must have risen above 30°C from time to time. This rise and fall of the temperature was supposed to be one of the factors which stimulated the hatching in sterile media. Several other factors such as the time of exposure of eggs to sodium hypochlorite solution before incubation, density of eggs in the media were supposed to be the cause of the hatching in sterile media and investigations were made in these respects.

Results are summarized as follows:

1) Exposure of embryonated eggs to 38°C from 10 to 18 o'clock and to 8-10°C from 18 to 10 o'clock every day for 10-15 days, induced far more hatching than to keep them in 28°C incubator throughout the same period.

2) Exposure of unsegmented eggs to 5% sodium hypochlorite solution for 45-120 minutes before incubation induced very frequent hatching when exposed to the rise and fall of temperature after they have embryonated. Exposure of eggs to the same solution for 15 minutes rarely induced hatching by the same procedure.

3) Hatching was accomplished more readily in media containing a large number of eggs than in media containing less number of eggs when they were exposed to the rise and fall of the tem-

perature. This suggests that some metabolic products of embryo may be discharged into the medium and the accumulation of the products seems to stimulate the hatching of larvae.