

陸生ホタル研

No.148

2025年12月25日

陸生ホタル生態研究会事務局

電話：FAX 042-663-5130

Em:rikuseihotaru.07@jasmine.ocn.ne.jp

全国ホタル研究会誌、31、15-16（1998）

ゲンジボタルの卵の孵化と保存法に対する温度効果

深澤 賢二・西川 直希・草桶 秀夫（福井県福井市）

はじめに

ホタルの成虫の寿命が約2週間と極めて短く、発生時期も限られているため、ホタルの生態研究にも時期的制限がある。したがって、卵の孵化と保存の方法が確立されれば、ホタルの研究が時期的制限もなく行われることが可能になると思われる。

本研究では、ゲンジボタルの卵の孵化と保存の方法に対する温度の効果について調べた。

実験方法

1) ゲンジボタルの採集

ゲンジボタルの成虫は、5月29日福井県清水町山内地区から採集した。ホタルの産卵は、20cm四方の発泡スチロールの箱の上下に大きな穴を開け、その穴をネットで塞ぎ、その中に湿った苔を入れ、この上に産卵させた。なお、産卵箱には、ホタルの成虫を雄10匹と雌2匹を入れ、室温で1週間ほど放置した（福岡県ホタル研究連絡会、1988）。

2) ゲンジボタルの卵の採取

ゲンジボタルの卵は、飼育箱内のホタルが苔に産卵した卵をピンセットで拾い集めた。

3) ゲンジボタルの卵の孵化

シャーレに湿ったろ紙を敷き、その上に卵を50個置いた。シャーレは、4°C、25°C、27°C、37°C、または、室温に放置し、約3カ月間、卵の孵化状態を調べた（江上、1982）。

4) ゲンジボタルの卵の保存

保存液（PB1液）に凍結保護液（DMSO液）を加え、氷浴中で冷却した。凍結保護液の最終濃度は3Mである。凍結容器に保存液を0.2ml入れ、その中に卵を25個入れた。次に、卵を入れた凍結容器を氷浴中に移し、あらかじめ冷却しておいた3Mの凍結保護液を等量（0.2ml）加えた（4°Cで保存する場合、凍結保護液の代わりに保存液0.2ml加えた）。

この容器を氷浴中に15分間静置した後、-18°C、-85°C、-40°C、-20°Cまたは4°Cの条件

下で保存した（石島、1995；Whittingham, 1972）。

結果と考察

1) ゲンジボタルの卵の孵化

種々の温度においてゲンジボタルの卵の孵化状況について30日間調べた。その結果、図1に示したように室温（20～30°C）で行った場合、約82%の孵化率を示し、最も高い値を示した。また、27°Cにおいても孵化率が78%とほとんど室温の場合と同じ値を示した。しかしながら、4°Cおよび37°Cでは、まったく卵の孵化が認められなかった。4°Cで放置した卵は放置する前の卵と比べ形状の変化が認められなかった。このことは4°Cでは低温のため、細胞内の代謝活動が低下し、仮死状態になったものと考えられる。また、37°Cで放置した卵は、茶色く変色し、カビが生えているものも見られた。このことは37°Cの保存では高温のため、卵が死んだものと考えられる。

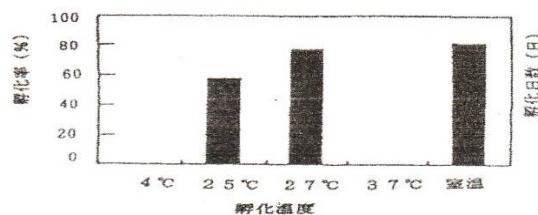


図1. 卵の孵化率に及ぼす孵化温度の影響

次に、卵の孵化が観察される最短孵化日数を調べたところ、27°Cで孵化を行った場合、13日目で最も早く最初の孵化が観察された。続いて、25°Cで孵化を行った場合、17日目で、それぞれ最初の孵化が観察された（図2）。

平均孵化日数は27°Cが15.8日、25°Cが17.1日、室温が17.8日であり、27°C付近で平均孵化日数が最も短くなることがわかった。また、孵化の観察された期間を調べたところ、27°Cでは11日間と孵化日数が分散していたのに対し、室温では4日間と短い期間で孵化が観察された。これらの結果は、27°Cでは温度が一定で

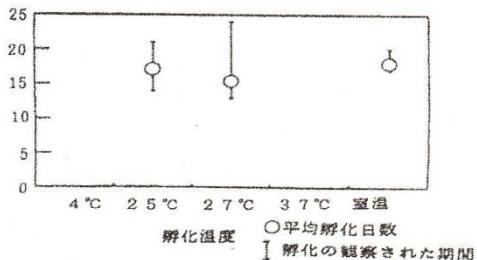


図2. 孵化日数に及ぼす孵化温度の影響

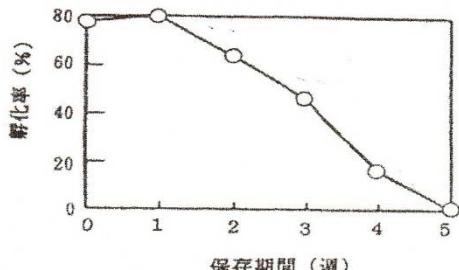


図3. 孵化率に及ぼす4°Cでの保存期間の影響

あるのに対し、室温では、昼と夜の温度差が生じていることから、自然界の気温の変化が卵の孵化に重要であることを示唆している。

2) ゲンジボタルの卵の保存

種々の温度で1週間卵を保存したのち、27°Cで30日間卵の孵化を試みた。その結果、卵の保存が4°C以外では、まったく孵化が認められなかった。そこで、4°Cで所定期間保存したのち、27°Cで30日間孵化を試みたのが図3である。図3からわかるように、保存期間の増加とともに孵化率は低下し、5週間の保存でまったく孵化が認められなくなった。しかしながら、4週間の保存で孵化率は16%となり、4週間まで4°Cに卵を保存しても、約6個に1個の割合で卵の孵化が可能であることが示唆された。

今後、さらにゲンジボタルの卵の長期保存の方法を確率をめざして検討する。

引用文献

- 石島芳郎 1995, 動物バイオテクノロジーの基礎実験. 三共出版.
- 福岡県ホタル研究連絡会 1988, ホタルの人工飼育手引書.
- 江上信雄・勝見充行 1982, 実験生物学口座1 生物材料調製法. 丸善.
- Whittingham, D.G. · Leibo, S.P. and Mazur, P. 1972, Survival of Mouse Embryos Frozen to -196 and -269°C. *Science*, 178:411-414.

【結論】

卵の孵化温度は、4°C及び37°Cで全く孵化しなかったが、25°C、27°C、及び室温では60%～80%の孵化が確認された。卵の平均孵化日数は、保存温度が27°Cで15.8日、25°Cで17.1日、室温で17.8日であり、27°Cで最も孵化日数が短かった。

ゲンジボタルの卵の保存

吉川貴浩・草桶秀夫（福井県福井市）

1. はじめに

ホタルは日本古来より夏の風物詩として親しまれており、ホタルの生態学的研究はさかんに行われている。しかしながら、成虫の寿命が約2週間と極めて短く、時期も限られているため、ホタルの生態研究にも時期的制限がある。そこで、卵の保存法と保存卵の孵化法が確立されればホタルの研究が時期的制限もなく広く行われることが期待される。

深澤ほか（1998）はゲンジボタルの卵を4°Cで約4週間保存できることを報告した。本報告では、さらなる長期保存を目的に、卵の保存に対する温度と緩衝液の効果について報告する。

2. 実験方法

1) ゲンジボタルと卵の採取

ゲンジボタルの成虫は、6月2日、3日に福井県清水町山内地区および福井県福井市町から採取した。ホタルの雄8匹と雌6匹を、20cm四方の発砲スチロールの箱に入れ、産卵させるため湿った苔を置いた（福岡県ホタル連絡協議会、1988）。約1週間後、苔に産卵されたホタルの卵をビンセットで拾い集めた。

2) ゲンジボタルの孵化

シャーレに湿ったろ紙を敷き、その上に卵を50個置いた。シャーレは、所定温度に放置し、卵の孵化状況を調べた（江上、1982）。

3) ゲンジボタル卵の保存

ゲンジボタル卵を次の3つの方法で保存した。

(1) 不凍保存液：保存液（PBI液（石島、1995））、生理食塩水（PBS（-））で温らせたろ紙（WET保存）またはその液中（液中保存）にホタル卵50個を置き、0°C、4°C、8°C、15°Cで保存した。

(2) 凍結保存：PBI液に凍結保護液（DMSOおよびグリセリン）を加え、ホタル卵を50個浸し、徐々に-40°Cまで温度を下げ、凍結させた。

凍結保護液の終濃度は、それぞれ5%，10%，15%である（石島、1995；根井、1985）。

(3) 乾燥保存：ホタル卵50個を4°C、15°C、27°Cで、乾燥させた状態で保存した。また、ホタル卵100個のうち50個を液体窒素に浸せきした。対照実験として50個の卵を水道水で温らせた。これらの50個の卵はそれぞれ27°Cで孵化を観察した。

3. 結果と考察

1) ゲンジボタル卵の孵化

種々の温度におけるホタル卵の孵化率を調べ、その結果を図1に示した。卵の孵化率は20°Cで88%，21°Cで92%，27°Cで90%と高い値を示し、21°Cのとき最も高い孵化率を示した。30°Cでの孵化率は38%と低い値を示し、さらに、孵化した幼虫の半数以上は翌日には死滅していた。平均孵化日数は、15°Cで約60日、18°Cで約39日、20°Cで約34日、21°Cで約28日、27°Cで約16日、30°Cで約18日となり、27°Cが最も短い孵化日数であった。

以上のことから孵化率と孵化日数を考慮すると、孵化温度は27°Cが最適であるといえる。

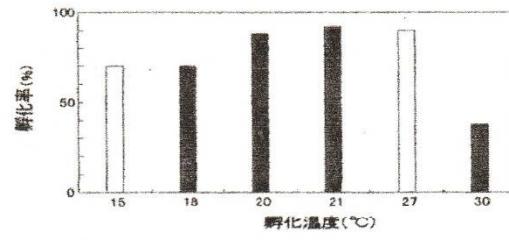


図1. ゲンジボタル卵の孵化におよぼす
温度の影響

■ PBI液
■ PBS(-)

2) ゲンジボタル卵の保存

不凍保存法によって卵を保存したところ、0°Cで1週間、4°Cで8週間、8°Cで12週間

まで保存が可能であった。15°Cでは、保存の段階で孵化したので、卵の保存は不可能であることがわかった。最も長く保存できた8°Cにおける保存期間と孵化率との関係を調べた。その結果を図2に示した。尚、卵の保存緩衝液は、PB1またはPBS(-)に浸して行った。また、卵の保存はWET保存、または、液中保存にて行った。その結果、保存法はWET保存の方が、液中保存に比べ高い孵化率を示した。また、緩衝液として、最も長く保存できたのはPB1であるが、PBS(-)の方がPB1よりも高い孵化率を示した。PB1を用いた場合、孵化率が低かったのは、PB1の栄養成分がリッチであるため卵に雑菌が繁殖し、卵の死滅が生じたものと考えられる。次に、凍結保存法によって卵を保存したところ、卵の孵化は全く認められなかった。さらに、4°C、15°C、27°Cで卵の乾燥保存を試みたところ、27°Cのみ4%の孵化率を示した。しかしながら、孵化した幼虫はすべて死滅した。

乾燥後凍結した卵は全て孵化しなかった。

以上の結果から、卵の保存は、8°C、WET保存でPB1液中に卵を放置することによって約3ヶ月間保存できることが明らかになった。

今後、さらにゲンジボタルの卵の長期保存について検討していきたい。

4. 引用文献

江上信雄・勝見充行 1982, 生物材料調整法. 実験生物学講座I, pp. 134-135.

福岡県ホタル研究連絡会 1988, ホタルの人工飼育手引書.

深澤賢二・西川直希・草彅秀夫 1998, ゲンジボタルの卵の孵化と保存法に対する温度効果. 全国ホタル研究会誌, (31): 15-16.

石島芳郎 1995, 動物バイオテクノロジーの基礎実験. 三共出版.

根井外喜男 1985, 微生物の保存法. 東京大学出版会.

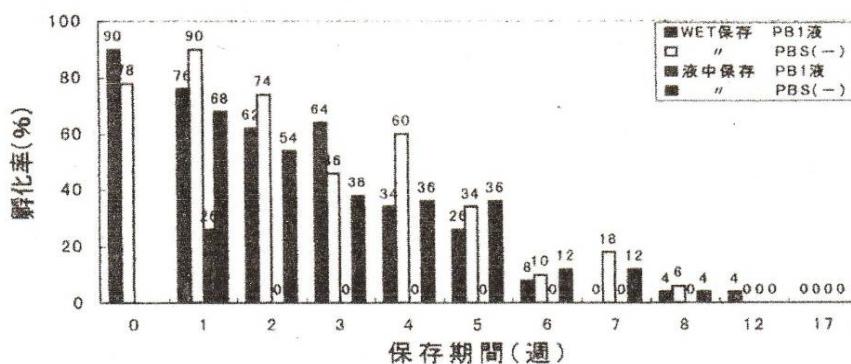


図2. 8°Cで保存した卵の孵化率

【 結 論 】

卵の孵化率は、20°C保存で88%、21°C保存で92%、27°C保存で90%であり、21°Cの時最も高いふ化率を示した。30°C保存でのふ化率は38%と低く、ふ化した幼虫の半数以上は翌日には死滅していた。卵を8°Cで保存すると、約3か月間生存した。

草桶先生の御寄稿を読んで

小俣軍平

この度は、皆様方よくご存知の草桶秀夫先生に、ゲンボタルの卵についてご寄稿をいただきました。自然保護運動の歴史の中で、ゲンジボタルはそのシンボル的存在としてよく知られており、生態研究に関する論文も数多くありますが、この種の飼育段階における卵と温度の関わりを検討した報告は、あまり目にした事がありませんでした。この度、先生の細部にわたる検証の結果を拝読し、その大きさを再認識させられ、陸生ホタルの同様のテーマについても、心して取り組まなければ・・・との思いを新たにしました。

陸生ホタルについては、卵ではなく幼虫の成長段階における温度との関係で、板当沢時代に忘れられない出来事がありました。陸生ホタルの幼虫は、産卵から孵化、その後の成長段階でもすべて地上と浅い地中で生活しますが、オオオバボタルだけは、産卵・孵化・その後もずっと、放置されて腐食した木にカミキリムシが穿って開けた穴の中で過ごします。この調査結果を「板当沢」に掲載したところ、横浜ホタルの会の後藤好政先生から、「そんなことはありえない」とご批判をいただき、鈴木浩文先生と都立大学の理学部の学生共々、板当沢現地を訪れて、現場を見たいと言われました。真冬の2月初めの事で、板当沢林道には15cmの雪が積もっていました。オオオバボタルの幼虫が生息している、腐食しこけの生えて凍結した杉の丸太を、雪の中から掘り出して、鑿を使って切りくずしてみました。後藤先生が「居るはずがない・・・」と言われた幼虫が、生きたまま出てきました。板当沢時代の多くの出来事の中でも、特に記憶に残っているものの一つです。

不思議なのは、凍結した環境で、オオオバボタルの幼虫がどうやって生きていたのかということです。人間でも哺乳動物・両性類でも、みな死んでしまうというのに、なぜオオオバボタルの幼虫は生存が可能なのか・・・・、今でもまったく解りません。当時、矢島先生も小西先生も、何も言われませんでした。

関連した事例として挙げられるのが、滋賀県の伊吹山に生息する陸生ホタルです。伊吹山は頂上一帯が草原になっていて、冬季には日本海から伊勢湾に吹き抜ける季節風の影響で大雪が降ります。積雪8mという記録があるそうですが、この下でホタルの幼虫は何事も無いように休眠し、翌年の7月に羽化します。なぜこんなことが出来るのでしょうか。

会員の皆様、ぜひご意見をお寄せ下さい。お願いいいたします。

あとがき

● 寄付・カンパのお知らせ

東京都多摩市の土屋 学様から1万円のカンパを頂戴しました。心より御礼申し上げます。
活動資金として大切に使わせていただきます。

- 異例の酷暑に見舞われた2025年もようやく終わります。今年は、陸生ホタルの生態研究が思うようにできなかつたばかりでなく、地震災害・山火事・異常な殺人事件の多発と、不安な毎日でした。国外を眺めてみても、民族同士のいがみあいによる戦争が多発しています。犠牲になるのは子供と老人と弱い者ばかりです。
- 多摩丘陵の一角で見つかった小型のゲンジボタルの分布状況も、まったく調査を進めることができませんでした。捕虫網で成虫を捕獲すれば、小学生でも調べられる内容ですので、来年は何とかして、全国各地の状況を調べたいものです。
- このところ朝夕の気温が急落しました。風邪などひかれませんよう、どうぞ皆さまご自愛のうえ、良いお年をお迎え下さい。