HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	イラガ前蛹の血液中の氷晶進行速度
Author(s)	篠崎, 壽太郎
Citation	低温科學. 生物篇, 11, 1-11
Issue Date	1954-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/17561
Type	bulletin (article)
File Information	11_p1-11.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Jutaro SHINOZAKI 1954 The Velocity of Crystallization of Ice from the Blood of Prepupae of Slug Moth. *Low Temperature Science, Ser. B, 11.* (With English résumé p. 11)

イラガ前蛹の血液中の氷晶進行速度*

篠崎壽太郎

(低溫科學研究所　生物學部門)

(昭和29年2月受理)

I

過冷却されている水及び溶液中の氷晶進行速度 (velocity of crystallization of water, 以下 V. C. と略記する) に關しては, 二三の研究はあるが, 動物体液についての測定はない様である。Walton 及び Brann (1916, a 及び b) 及び Brann (1918) は水及び溶液で V. C. の測定を行い, 次の様な結果を得た。眞性溶液となる物質 (塩類等) は總て V. C. の値を純水中の値よりも低下させるが, ferric hydroxide は例外で, 4%では同様に V. C. を低下させるが1或いは2%では V. C. を低下させないで, かえつて促進することを見出した。Freundlich 及び Oppenheimer (1925) は Brann (1918) の測定において ferric hydroxide が V. C. を促進する事實に注目し, この原因は同物質の sol の粒子が非球狀 (板狀) であるためと考えた。そこで多くの膠質液, 乳濁液等を用い, −3°～−7°C で V. C. の測定を行い, 球狀粒子は V. C. を低下させるが, 非球狀 (棒狀; 板狀) 粒子は增大させることを見出し, 豫想の正しかつたことを證明した。Püllen (1933) は蛋白溶液で, 球狀蛋白粒子は V. C. を低下させ, 棒狀蛋白粒子は V. C. に對しほとんど影響を與えないか, 或いはあつても僅か促進するに過ぎないという結果を得た。

これ迄に越冬期のイラガ前蛹を材料として, 虫全体の過冷却点及び含水量, 血液の過冷却点, 氷点並びに含水量などの季節的變化の測定を行い, 不完全ながらその結果は發表されている[1]。イラガ血液の凍結過程の詳細な顯微鏡的觀察は朝比奈 (1953) によつてなされ, 血液中の V. C. は純水, 塩溶液中より遙に小さく, 過冷却度の大きいほど早くなり, 更にまたこの V. C. は血液の氷点及び過冷却点が最低である越冬期に於て最小であることが定性的に見出されている。

イラガ前蛹の過冷却現象を解明するためには, 先ずその凍結過程を調べることが必要であり, 且つ又越冬中の虫が凍結するとき, その体内を氷晶が進行する速さを知ることも生理學的に見

* 北海道大學低溫科學研究所業績　第238號
本研究費の一部は文部省科學研究費による。

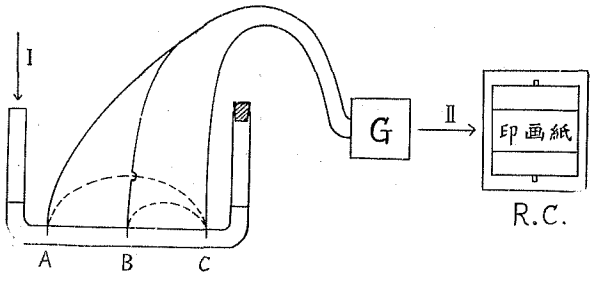
て大切なことに思われるので，朝比奈[4]が定性的に見出した事實を定量的に確かめるために本實驗を行い，併せて前述のイラガの諸性質の季節的變化及び前記諸氏の色々な物質の溶液での實驗結果と比較考察してみた。

II

測定は低温室（約 −20°C）内に設けられた恒温槽の中で行われた。恒温槽は内槽，外槽からなり，内槽は縦，横，高さがそれぞれ 80，25，30 cm で，これを 100，35，50 cm の外槽内に，内外槽の間隔が 10 cm になる様に入れてある。この内外槽に飽和 $CaCl_2$ 溶液を入れた。温度調節のために，これ等の内外槽にはそれぞれ 2 個づつの攪拌器及び電熱器を左右に具え，内槽では島津製の鋭感温度調節器と，低温室外に設置した鋭感繼電器（箕作式）により，また外槽では通常の水銀・トルオール温度調節器と繼電器を用いて，電熱器への電流の調節を行つた。更にこれらの水槽全体は外槽とさらに 10 cm の間隔を有する木の函に入れられてある。恒温槽の熱容量は相當大きいので温度の變動は小さいことが豫想される。實際，室温 12.8°C，水槽温 16.8° で調べた際，± 0.04° の精度で一定温度を保持したから，低温室温 −20°，水槽温 −1°～−10° の場合にも ± 0.1° 以内の精度は十分保證出來ると思われる。

第 1 表　測定に用いたU字管の大きさ（cm）

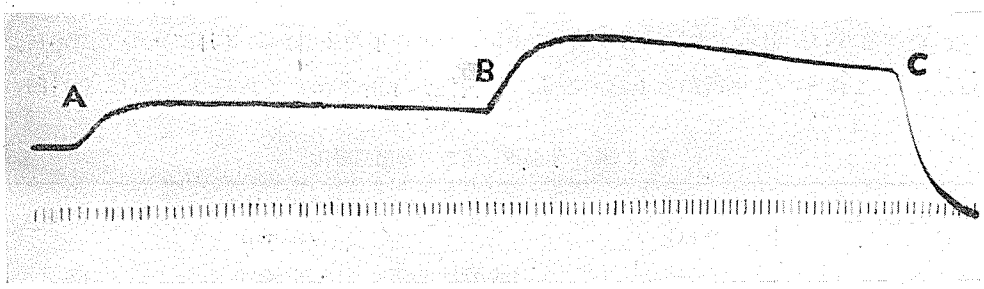
U 字 管	熱電對間の距離 AB	熱電對間の距離 BC	外 徑	内 徑
I	5.06	5.01	0.57	0.36
II	4.93	4.98	0.63	0.39
III	5.02	4.99	0.61	0.42



第 1 圖　測 定 裝 置（模式圖）
A, B, C …… 熱電對（實線—銅，破線—コンスタンタン）
G …… mirror-galvanometer.
R. C. …… revolving-camera.
矢印 I …… 先端部に氷晶の附着している植氷用鋼線。
矢印 II …… galvanometer の鏡の反射光を示す。

過去の研究者達[7),9)~12)]は V. C. の測定を次の様にして行つた。ガラス製U字管に，水または溶液を入れ，これをガラス窓附の恒温槽に入れて冷却し，管の一端から植氷を行い，管の一定距離を氷晶前面の進むに要する時間を stop watch で測定し，V. C. を求めた。この方法によると着色液（色素）或いは混濁液についての測定は不可能であり，管の一定距離を氷晶が常に等速度で進行するか否かも不明である。本實驗では第 1 表に示されている太さの U 字管を用い，この管には第 1 圖に示されている様に熱電對（徑 0.2 mm の銅—コンスタンタン）を約 5 cm 間隔にとりつけ，その先端がほぼ管の中央になる様にした。管の小孔と熱

電對との隙間は齒科用の合成樹脂及びシリコン (D. C. 803) でふさいである。この管に約 30 匹の虫の血液 (約 2.5 cc) を入れてからこれを所定温度の恒温槽に入れて冷やした。この際縦管の内壁に水分が附着していると自働的に過冷却が破れる危險があるので注意して水分を拭い取つた。かかる注意を施しても，なお自働的に過冷却が破れ，測定が出來なくなることがしばしばあつた。U 字管内の血液が恒温槽の温度と等しくなつてから (3～4 分を要する) 氷晶が A より C に向つて進む樣に A 端の方に植氷した。植氷は先端に氷を附着させた鋼線を懸垂しておき，電磁石を働かせて鋼線を落下させ，その先端を液中に侵入させる方法で行われた。C 端には U 字管を運ぶ際に内部の液の動搖を防ぐのと，C 端からの植氷を防ぐためにゴム栓を施した。氷晶の前面が A, B, C 點を通過する際，潜熱が放出されて温度變化が起る。この變化により熱電對に流れる電流を，低温室外の mirror-galvanometer に流し，その鏡の振れを revolving-camera で自記させ，同時に time-mark を入れてやると第 2 圖に示された曲線が得られる。



第 2 圖　測定の 1 例　(25/I, 1954)
U 字管 II を使用，測定温度：　−9.5°C
A, B, C …… 熱電對 A, B, C の所を氷晶の前面が通過した瞬間を表わす。
time-mark …… 1 目盛は 1 秒

この曲線から前述既知の AB, BC 間を氷晶が通過するのに要する時間が求められ，V. C. の値を得ることが出來る。この方法によると着色液でも溷濁液でも測定することが出來，途中に熱電對が入つているので V. C. が等速であるか否かも知ることが出來る。熱電對を取り付ける小孔のため管の構造が壓力に對し弱くなり，純水で過冷却度の比較的大きな場合は，氷の壓力のために管が破壊されることがある。あらかじめ U 字管を石鹸水，クローム硫酸液で良く洗滌してから熱電對を取りつけ，實驗中は使用後石鹸水で洗滌し，水道水でよく石鹸を取り去つてから蒸溜水を通して用いた。

虫の背部に鋏で縦に創口を開けてから虫体を腹側に折り曲げ溢れ出る血液をビーカーに受けて集めた。この方法で集めた血液には小量の脂肪体の小片が浮んでおり，これを除去して實驗に用いた。大低の場合は集めたままの血液を用いたが，その中には血球細胞を含んでいる。稀に遠心して血球細胞を除いた血液も用いた。

Brann (1918) は管壁の厚さは V. C. に影響せぬが，管徑は影響すると報告している。本實驗に用いた U 字管の内徑は互に少しの違いはあるが，この程度の差は測定結果にはほとんど影

響を與えなかつた。

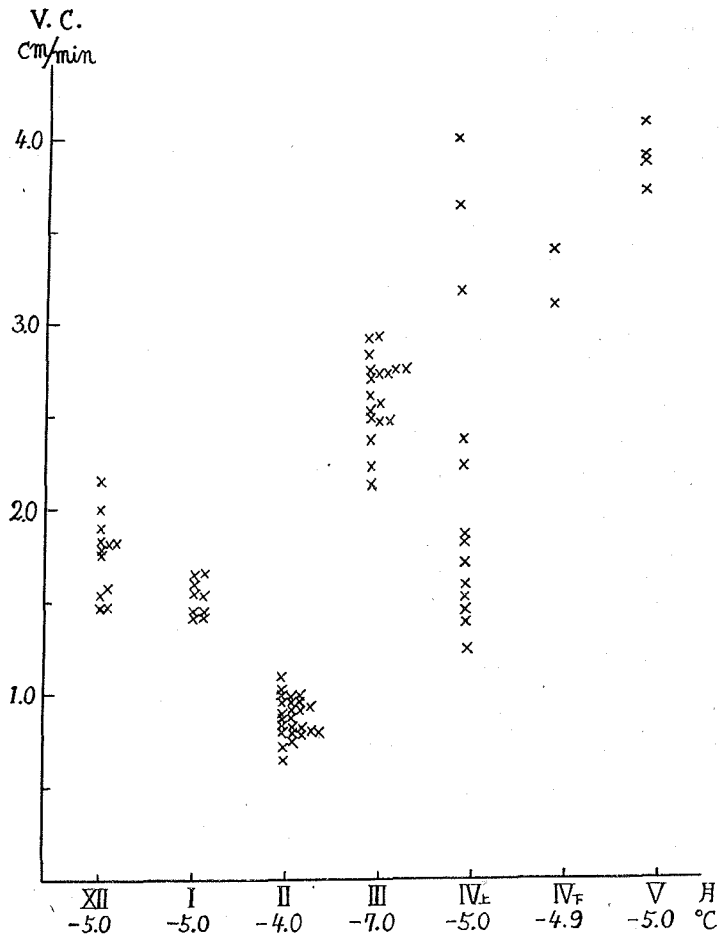
III

第2表及び第3圖は，1952年12月から1953年5月迄のイラガ前蛹の血液（以後單に血液と呼ぶ）中の V. C. の各月の測定値と，その分布を示すものである。 繭に入るときにいろいろ大きな變化を示した血液は[1]，その後も徐々に變化を續け12月にも未だ變化を終えないで，V. C. は12月より1月の方がさらに幾分小さくなる。2月及び3月の V. C は夫々 −4.0°C 及び−7.0°C で測定した値なので，− 5.0°C で測定した1月の値との直接比較は出來ないが，次の2事實を根據として，1月から3月末まで血液中の V. C. の値には變化がないものと推定される。 (1) 測定値の「ばらつき」は3月迄は比較的小さく，4月になると非常に大きくなるが，−5.0°C で測定した4月の値を仔細に見ると，これ等の値が2群に分けられ，そのうち低い値は1月に等しく，高い方は5月に等しいことに氣が付くであろう。 (2) 1954年1月に測定した色々な冷却溫度に於ける V. C. を示す曲線（第5圖）の上に，1953年の1月から3月に亘つて測定した値が重なる。 これ等の2事實から上述の推定の妥當性が了解されるであろう。 V. C. を目印にし

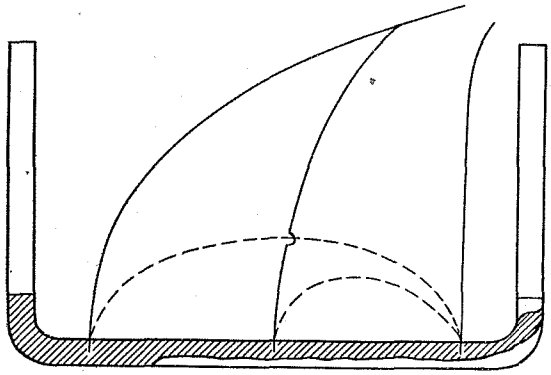
第 2 表　氷晶進行速度の季節的變化

測定年月	測定溫度 (°C)		氷晶進行速度 (cm/min)	測 定 數
1952, XII	−5.0	1st fr.	1.76±0.20	12
1953, I	−5.0	1st fr.	1.54±0.09	9
		2nd fr.	1.35±0.14	5
II	−4.0	1st fr.	0.87±0.11	25
		2nd fr.	0.85±0.15	19
III	−7.0	1st fr.	2.60±0.22	18
		2nd fr.	2.50±0.26	16
		3rd fr.	2.67±0.26	5
$IV_{上}$	−5.0	1st fr.*	1.71±0.34	10
		1st fr.**	3.59	3
		2nd fr.	1.45±0.19	8
$IV_{下}$	−4.6	1st fr.	1.88±0.35	4
	−4.9	1st fr.	3.23	2
V	−5.0	1st fr.	3.87±0.13	4
		2nd fr.	3.91±0.16	4
		3rd fr.	4.02±0.22	4

1st fr. …… 初凍結，2nd fr. …… 1回融かしてから2回目の凍結，3 rd fr. …… 3回目の凍結。
* 値が1月に近いもの，** 値が5月に近いもの。



第 3 圖　血液中の V. C. の各月に於ける測定値の分布
(1952, XII ～ 1953, V)
各月の下に示された數字は測定溫度を表わす。



第 4 圖　血球細胞により不凍結部の生じた測定例
(模式圖)　實驗番號 …… C411　(第3表參照)
斜線部 …… 凍結部　　白色部 ……不凍結部

第3表　遠心して血球細胞を除いた血液と，細胞を含んでいる血液中の氷晶進行速度 (−4.0°C, 2月)

實驗番號		氷晶進行速度 (cm/min)	
		AB	BC
C 405	遠心	0.79	1.02
C 407	未遠心	0.98	0.83
C 409	遠心	0.99	0.89
C 411*	未遠心	0.86	0.64
C 419	遠心	0.81	0.96
C 421	未遠心	0.91	1.09

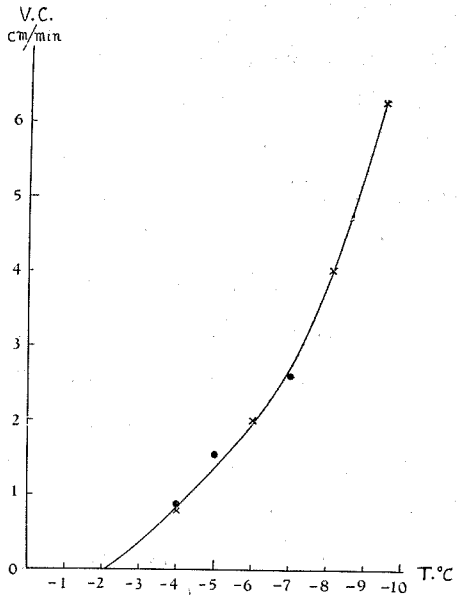
* 明瞭に不凍結部が認められた。(第4圖)

た場合，1月から3月まで血液に變化はなく，4月に暖かくなるとともに血液は變化を始め前蛹が蛹化の準備を始めるものと思われる。初凍結と再凍結のV. C.には，ほとんど差は認められず，從つて凍結による血液の變化はないものと思われる。

血液には多數の血球細胞が浮游しており，最初は大体ばらばらに存在するが，一度凍結してから融解すると凝集して肉眼で樂に認められる様になる。この現象は常に見られるもので，この正確な說明は今の所出來ないが，遠心した際，遠心端に集められた細胞も凝集することから考えると，多分多數の細胞が氷の間に包み込まれるか，或いは氷により管の一部に押し集められた結果と思われる。第4圖に見る様に實驗終了後にも不凍部の見られることが時々あつた。この現象は主として −4.0°C で實驗した1953年2月を中心としてその前後に見られた。この不凍部には凝集した細胞塊が多量に認められ，氷晶の進むにつれて押し集められたものと思われる。細胞塊はV. C.を遲くするとともに，細胞塊の密集した部分への氷の侵入を或る程度防ぐ，その結果細胞塊周圍の血液は濃縮されて，氷点が下り實驗溫度（−4.0°C）では凍結を起すことが出來なくなる。これが不凍部の出來る原因と考えられる。一方コナマダラメイガ (*Ephestia*) では，幼虫期特に前蛹期に血球數が最も多いと云う報告 (Arnold, 1952) がある。このことから考えると，イラガ前蛹も血球數は相當に多いものと考えられる。しかし，イラガでは，前蛹期が相當長期に亘つているので，この間でも血球數に變化があるものと思われる。2月に前蛹の血液で不凍部の生ずるのは，この時期に血球數が最も多くなつているためと想像される。前述の通り細胞塊がV. C.を遲くするものとすれば，その密度の高くなるBC間を氷が進行する方が，AB間に於けるよりも遲くなる筈である。そこで細胞塊により不凍部の生じたことの明らかな結果について，この事實の有無を檢討してみた。2月に −4.0°C で測定した5回の平均として，AB間のV. C.は 0.87±0.07 cm/min，BC間では 0.77±0.08 と云う値が得られ，この差は5%の危險率で有意であり，豫想は正しい様に思われる。−7.0°C では差が認められなかつた。これはV. C.が大きいため，細胞塊が前方に押し集められると云うよりはむしろ氷晶の間に取り込まれるために細胞塊の障壁が十分にできなかつたことによると考えられる。一般にAB及びBC間のV. C.の値には大差なく，氷晶は血液中を大体等速度で進行するものと思われる。更に細胞塊のV. C.を遲くする作用をみるため，約70匹の血液を集め，半分を遠心して細胞を除き，殘りをそのままU字管に入れて測定してみた。結果は第3表にあるが，結果はまちまちで，血球細胞を含み不凍部を生じた場合 (C 411) は細胞を含まない場合 (C 409) よりもV. C.の小さいことは明瞭であるが，他の場合にはこの關係が逆になつたりして細胞塊のV. C.を遲くする作用は明瞭でない。これ等の場合には不凍部は見られず，細胞の存在はV. C.にほとんど影響していない。以上を總合してみると，細胞數が多く，溫度の餘り低くない場合には，血球細胞がV. C.を幾分遲くすると云えよう。前揭の第2表，第3圖では，不凍部を生じたり，細胞塊の影響の顯著な値を除いてある。

1954年1月に血液のV. C.と過冷却度の關係を調べてみた。この場合には，細胞塊の影響は

認められなかつた。結果は第4表と第5圖にまとめてある。比較のために第4表には純水中の V. C. と，0.6 M NaCl* 中の V. C. が示されてある。この表から解る通り，血液中の V. C. は純水或いは 0.6 M NaCl 中のそれよりも非常に小さく，第2表の5月の値と比較してみると更に明瞭である**。第5圖には1953年の値も入れてあり，1954年の値と大差のないことが認められる。Freundlich 及び Oppenheimer (1925) の純水中での測定結果は過冷却度の大きい程 V. C. は急速に増大することを示している。同様に血液でも過冷却度の増大するにつれて V. C. の増加は大きく，曲線の傾きは急になる。この曲線を温度の高い方へ延長して横軸（温度軸）との交点を求め



第5圖　V. C. に及ぼす冷却温度の影響
× …… 1954, I.　● …… 1953, I～III.

第 4 表　氷晶進行速度に及ぼす冷却温度の影響

温　度 (°C)	氷　晶　進　行　速　度 (cm/min)				
	純　水	純　水	0.6 M NaCl	血　液	血　液
−1.0		18.5 (3)			
−2.0		29.2±3.7 (23)			
−3.0	33				
−4.0	63	70.1 (4)	4.63±0.18 (11)	0.80±0.03 (11)	0.87±0.11 (25)
−5.0	100		9.74±0.78 (6)		1.54±0.09 (9)
−6.0	187			2.00±0.07 (10)	
−7.0	285				2.60±0.22 (18)
−8.1				4.03±0.12 (11)	
−9.5				6.28±0.39 (11)	
備　考	Freundlich 及び Oppenheimer (1925)による。U-Tube 内徑 0.82 cm	U字管内徑 0.56 cm	氷点は−2.1°C で血液のそれと大体等しい。U字管は血液の場合と同じ。	1954年1月に測　定	1953年1～3月に測　定 (第2表)

(註)　括弧内の数字は測定数を示す。

*　0.6 M NaCl の氷点は −2.1°C でこの時期のイラガ前蛹の血液の氷点とほぼ等しい[1]。

**　5月には血液の氷点は −0.7 °C になり[1]，−5.0°C では氷点が −2.1°C の 0.6 M NaCl よりは遙かに過冷却されているにもかかわらず 0.6M NaCl よりも V. C. が小さいことは，血液中での V. C. が如何に小さいかを明白に物語るものである。

てみると大体 −2.0°C 附近になり，この時期の血液の氷点[1]が −2.0°C であることを考え併せると，興味深いものがある。何故なら氷点に於ては，液の一部に氷の核が出來たとしても，放出された潜熱が奪い去られないため，V. C. は零と考えられるからである。この測定は −9.5°C で打ち切つた。その理由は −10.0°C では如何に注意しても，U 字管内の血液が自働的に凍結してしまうため測定が不可能であつたからである。−3.0°C では血液の氷点 (−2.0°C) との温度差が小さいため凍結の潜熱により熱電對に流れる電流が弱いのと，V. C. が遅いため測定裝置を改良せぬ限り測定が困難なので，−3.0°C における實驗は未だ行つていない。

次に U 字管内の血液中を伸びる氷晶の形* について述べる。植氷のために血液中に落下させた鋼線の先端に附着している氷晶を中心として澤山の樹枝狀の氷晶が最初に血液中に出來る。これ等の氷晶のうちの或るものが管の中を進行し始める。その様子は，中軸になる氷晶が管壁に沿つて蛇行し，それと同時に羊齒狀の枝が伸び，中軸及びそれから出た枝の先端が大体管の同一斷面上に並んで，即ち氷晶の前面が大体同一平面上に並んで，管の中を A から C に向つて進行する。血液の場合，管の中心部の狀態は透視出來ないので不明である。熱電對の存在は氷晶の進行及び形に對し，ほとんど影響がない様である。

IV

8 月の末から 9 月の初めにかけて，幼虫が繭に入り前蛹になるときに，虫自身の過冷却点，血液の過冷却点，氷点等に大きな變化が認められるが，前蛹になつた後も寒さの加わるにつれて，それ等の値は次第に低下して，大体 1 月に入つて最低値に達し，その後 4 月末から 5 月にかけて，蛹化するに先立つて再び高くなる**。血液中の V. C. も上記の諸性質の變化と同一傾向を示すことは前述の通りである。即ち血液の氷点等の最低の時期に V. C. も最低値を示す。又第 3 圖に見る様に V. C. が最低値を示す時期には，測定値も割合狹い範圍に分布しているが，これは血液の性質が凍結に對し割合安定になつているためと思われる。これに對し 4 月，5 月になると血液が自働的に凍結をする場合が多くなり，不安定になるため V. C. の値が大きく振れてくるのであろう。血液の含水量は營繭期を境として急激な變化を示すが[1]，前蛹になつてからの變化は僅かで，營繭直後の血液で 77.5%，1 月で 75.5%，3 月で 75.6% で 4 月でも大体變らないものと思われる***。しかるに血液の氷点，過冷却点或いは V. C. 等は秋から冬になるとき及び冬から春に移るときに大きな變化を示すが，溶媒である水の量に大差がない以上血液を構成している物質の濃度變化が，これ等の變化に對應していなければならず，これは血液

* 懸滴された血液中の氷晶の形については朝比奈 (1953) を參照されたい。U字管の場合は朝比奈の寫眞にある樹枝狀六花の 1 本が管の中を進行すると考えて大体に於て差支えない。しかし氷晶の中軸が 1 本であるか或はそれ以上あるのかについては，未だ確實にされていない。

** 青木・篠崎 (1953) の報告は，これ等の値の季節的變化については不完全なもので，その後これ等を補う結果も少しは得られているが，なお測定を續行中である。

*** 全含水量が營繭直後で 65.2%，1 月に 62.0%，3 月に 62.2%，4 月に 62.3% であることから考えて，血液の含水量も 4 月になつても變化はないものと思われる。

構成物質の分解，吸着物質の遊離，イオンに解離或いは組織細胞と血液の間の物質の移動によるものと考えられる。上述の諸性質の最低値を示す越冬期に於て血液濃度は最も高くなる*。過去の研究者達[7),9)~12)]の結果も V. C. を低下させる物質は濃度の大なる程 V. C. を小さくすることを示している。このことから考えるとイラガの血液も1～3月に V. C. が最低であるのは，血液組成の變化と濃度の増加から説明出來るであろう。

血液中の V. C. が純水中或いは NaCl 溶液に比べて小さいことは，血液に含まれる物質によるものと當然考えられるので，前述諸氏[7),9)~12)]の結果を參考として，この点について考察してみたい。Walton 及び Brann (1916, a 及び b)，Brann (1918) は塩類，糖類等の水溶液について研究を行い，水に溶けたこれ等の物質は，何れも V. C. の値を純水中のそれよりも低下させることを見た。この遲延作用は等モル濃度溶液でも物質により異なり，各物質に特有な性質によるもので，水和 (hydration) の大きい物質程大きいことを報じている。NaCl, KCl でもかなり V. C. を低下させるが，水和の大きい $MgCl_2$, $CaCl_2$ ではその作用が非常に大きく，糖類でも顯著である。Freundlich 及び Oppenheimer (1925) は膠質液，乳濁液等の研究から，球狀粒子は V. C. を低下させるが非球狀 (棒狀，板狀) 粒子は V. C. を高めることを見出した。例えば球狀粒子である乳香ゾル，油の乳濁液，澱粉及びゼラチン溶液は何れも V. C. を低下せしめる。Püllen (1933) は球狀蛋白質 (albumin, myogen) 及び棒狀蛋白質 (globulin, myosin) で實驗し，前者は餘り大きくはないが，明らかに V. C. を低下させる作用を有するが，後者では極く僅かの促進的作用を示すか，或いは全然影響を有しないと云うことを見出した。蠶等蛾の幼虫の血液の組成[8),13)]は含窒素化合物のうち蛋白質は數%位迄で，albumin 及び globulin を含んでいる。アミノ酸の含量は著しく大きく，昆虫類血液の特質をなしている。この外，尿素及び尿酸が含まれる。また無機塩成分としては，Na, K, Ca, Mg, Cl 及び P 等が含まれ，Na に比し K が多く，Mg, Ca も割合に多い。還元物質 (糖，その他) も存在する。油は微粒子 (lipomicron) の形で相當大量に存在し，*Phormia* の幼虫では油が血液全容積の 1% を占める程である[8)]。イラガ前蛹の血液の組成もこれに似たものと想像される。V. C. を低下させるのに Na. K も與つているが，水和の大きい Ca, Mg 塩の存在は見逃し得ぬ要因であろう。油の微粒子の存在も V. C. の低下に關係のあることは，Freundlich 達[9)]の研究から明らかである。その他の物質も V. C. の低下に夫々役割りを果しているであろうが，アミノ酸の含量の多いことが恐らく最大の原因であると思われる。血液に含まれる蛋白質は，Püllen (1933) の結果から考えて血液の V. C. の低下に餘り大きな影響を及ぼしているとは考えられない。併しながら朝比奈 (1953) は生長しつつある氷晶の周圍に濃縮された親水性膠質の層が出來，これが氷の生長を抑えると考えた。Püllen の研究に用いた蛋白溶液よりも昆虫血液の蛋白含量は多いから，朝比奈の云う意味で，蛋白質が V. C. を低下させるに役立つているかも知れない。前述の如く血液中の遊離細胞

* 血液の氷点はこの時期に $-2.0°C$[1)] で，この値から計算した血液濃度は約 1.1 M 非電解質溶液と等價である。

もまたV. C. の低下に幾分關係あるものと思われる。

凍結によつて放出される潜熱により，過冷却狀態にある液体の溫度は氷点に迄高められる。この場合，液溫の低い程多量の潜熱を要し，それに應じて氷晶の生長も大きくなければならぬと考えられる。このことから溫度の低い程 V. C. の大きいことは，定性的に一應了解されるであろう。

初凍結，再凍結に於て V. C. の等しいことからみて，イラガ前蛹の血液では凍結によつて著しい非可逆的の變化は起らないものと考えられる。同様の事實は朝比奈[4]によつても認められている。虫体が凍結する場合，その血液中の V. C. が小さいと，血球細胞或いは濃縮された親水性膠質の層はよく形成される結果，組織細胞は氷晶との直接接觸即ち植氷の危險から防がれることになり，更に濃縮血液による脫水のために細胞内凍結は起り難くなつていると考えられる。これ等の現象を中心として，イラガ前蛹の耐凍性機構が我々によつて既に論ぜられた[3)~6)]。

本研究を御指導下さつた青木教授に厚く感謝する。

摘　　要

越冬中イラガ前蛹の血液を材料として，その中での氷晶進行速度 (V. C.) の測定を行い，その季節的變化及びそれに及ぼす過冷却度の影響を調べた。

イラガ幼虫は，秋に繭に入るとき色々な性質（血液の氷点等）の急變があり，寒さが加わると共に段々に變化して1月に最低値となり，そのままで冬を越し春になると又高くなる[1)]。血液中の V. C. も同様な經過を辿り，秋から冬にかけての結果は未だ得られていないが，12月では未だ變化の途中で，1月よりも V. C. の値が幾分高く，1月に最低となり，その狀態で3月末迄經過し，4月に入り增加し始め，5月になるとその値が急に大きくなり，1月の値の2.5倍にも達する。1～3月に V. C. が最低値を示すのは，一つにはこの時期の血液濃度が最高であることによると思われる。血液中の V. C. は純水中或いは同氷点を示す濃度の NaCl 溶液中よりも遙かに低い値である。この事實は血液中に含まれる物質の働きによるもので，これについての簡單な考察が過去の研究者達[7),9)~12)]の結果を參照してなされた。

V. C. の値は冷却溫度が低くなるにつれて，即ち過冷却度が大きくなるにつれて大きくなり，その値の增加の割合は溫度が低くなる程大きくなる。

文　　献

1) 青木廉・篠崎壽太郎 1953 イラガ前蛹の過冷却について. 低溫科學, **10**, 103.
2) Arnold, J. W. 1952 The haemocytes of the Mediterranean flour moth *Ephestia kühniella* Zell. Cand. J. Zool., **30**, 352.
3) 朝比奈英三・青木廉 1951 耐凍性昆虫の凍り方. 昆虫, **19**, 13.
4) 朝比奈英三 1953 イラガ血液の凍結過程. 低溫科學, **10**, 117.
5) 朝比奈英三・青木廉・篠崎壽太郎 1953 越冬イラガ幼虫の耐凍性機構. 昆虫, **20**, 11.

6) Asahina, E., K. Aoki and J. Shinozaki 1954 The freezing process of frost-hardy caterpillars. Bull. Ent. Res, **45**,
7) Brann, A. 1918 The effect of dissolved substances on the velocity of crystallization of water. III. Further evidence that the existence of hydrates in solution explains the retarding effect of the solute on the velocity of crystallization of water. J. Amer. Chem. Soc., **40**, 1168.
8) Buck, J. B. 1953 Physical properties and chemical composition of insect blood. Insect Physiol. (Edited by Roeder), New York, pp. 147-190.
9) Freundlich, H. and F. Oppenheimer 1925 Über die Krystallisationsgeschwindigkeit unterkühlter wäßriger Sole. Ber. deutsch. chem. Ges., **58**, 143.
10) Püllen, C. 1933 Die Gefriergeschwindigkeit und Teilchengestalt in Eiweißlösungen. Biochem. Zeitsch, **266**, 153.
11) Walton, J. H. and A. Brann 1916 a The effect of dissolved substances on the velocity of crystallization of water. J. Amer. Chem. Soc., **38**, 317.
12) Walton, J. H. and A. Brann 1916 b The effect of dissolved substances on the velocity of crystallization of water. II. The existence of hydrates in solution as an explanation of retarding effect of the solute on the velocity of crystallization of water. J. Amer. Chem. Soc., **38**, 1161.
13) Wigglesworth, V. B. 1950 The Principles of Insect Physiology, London, pp. 277-279.

Résumé

The velocity of crystallization of ice (hereafter designated as V. C.) from the blood of prepupae of *Cnidocampa flavescens* has been determined at various temperatures during the overwintering period.

The measurement was carried out as follows. About 2.5 cc of blood collected from prepupae was put into U-glass-tube with an inside diameter of about 0.4 cm, which is provided with three thermocouples (copper-constantan, 0.2 mm in dia.) inserted into the U-tube through small pores at intervals of about 5 cm (Fig. 1). After the blood in the U-tube had been undercooled to bath temperature, to initiate the freezing, ice crystal was introduced into the blood through one open end of the U-tube. When the ice front had reached the thermocouple, the current flowing in it by the latent heat of crystallization was led to the mirror-galvanometer. The deflection of the mirror of the galvanometer induced by the thermal current and the time-mark were simultaneously self-recorded by a revolving-camera (Fig. 1). From the records the V. C. was calculated from the time necessary for the ice front to advance a known distance of the tube between the thermocouples.

The V. C. of the blood becomes lower as the weather grows colder; the lowest is reached in January and stays constant up to the end of March. The V. C. begins to increase as the weather becomes warmer in April; in May attains 2.5 times as high value as in January. The tendency of the seasonal change is similar to that of the other physical properties of the blood such as the freezing point. The lowest value of the V. C. in winter may be due to the increased concentration of the blood in this period.

The V.C. of the blood increases with lowering of undercooling temperature and the more the blood is undercooled, the more rapid becomes the rate of increase of the V. C.

The V. C. of the blood is much slower than that of pure water or of NaCl solution which has the same freezing point as blood. Referring to the results obtained by Walton and Brann (1916, a and b), Brann (1918), Freundlich and Oppenheimer (1925) and Püllen (1933), that this fact may be due to the retarding effects of the blood constituents, was briefly discussed.