HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	鮭卵の過冷却に就いて
Author(s)	酒井, 昭
Citation	低温科學, 6, 147-157
Issue Date	1951-03-31
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17491
Type	departmental bulletin paper
File Information	6_p147-157.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Akira SAKAI 1951 On the Supercooling of the Salmon Egg (*Oncorhynchus keta*). *Low Temperature Science*, 6. (with English resume p. 156)

鮭卵の過冷却に就いて (I)*

酒　井　　昭

(低溫科学研究所　生物学部門)

(昭和23年5月受理)

I.

一般に変溫生物は過冷却され易いものであり，一時過冷却狀態になつても，必ずしも致死的影響を受けるものでない事はよく知られている。

過冷却の影響に就いては動植物細胞，組織に就いて，かなりの報告があるが，一般に断片的のもののみで，その時の冷却条件の記載が殆んどないために，嚴密な意味での比較が出来ない現狀である。今我々に一番必要なのは冷却条件の明らかな正確なる実験事実を集める事である。この意味で鮭卵を用い，冷却条件と過冷却度との関係，及び過冷却の影響について二，三の実験を試みた。

冷却する場合最も重要な条件の一つは冷却速度である。媒質が冷やされる時，その中の卵自身が如何なる速さで冷えて行くかを，決定しなければならないし，卵自身の溫度が外囲の溫度と平衡になる迄に要する時間を知る事も必要である。この目的のために熱電対を卵に挿入して，卵を冷やした場合の卵内溫度変化を測定してみたが，卵膜が柔軟のために挿入個所より卵黄が流出する結果凍り易く，目的は果せなかつたので，熱電対を卵に出来る丈近くに置いて卵表面の冷却速度を測つた。この場合の溫度は卵表面近くの流動パラフインのものであるが，この方法で冷却速度の大体の相対的の値と，卵が冷却溫度と平衡に達する迄の時間を測つた。

実験材料は鮭 (Oncorhynchus keta) の卵である。同一系列の実験には，同一腹卵のみを使つた。

表面に附着して居る液を，濾紙で充分に拭いた卵を低溫室 (−20°C) 中の恒溫箱 (±0.3°C) の中で所定の溫度に冷した。

卵の媒液としては，生物に害作用のない事，水と混合せず滲透的に作用しない事，氷点の低い事，無色透明で外部より卵の凍結有無を一見して判別出来る事等の条件を充すものとして，流動パラフインを選んだ。

卵をシヤーレに入れた流動パラフイン中で冷すか，又は細い薄肉の試験管 (径 1.4cm，長

* 北海道大学低溫科学研究所業績　第91號

さ3cm）中に約4ccの流動パラフインを入れて卵がガラス壁に直接ふれない様にガラス綿で卵を流動パラフイン中に支持して冷した。

猶鮭卵の未吸水卵の氷点は約−0.56°Cで吸水卵の氷点は約−0.46°Cである。

II.

先ず過冷却自体が卵にとつて致死的であるかどうかを調べるために，200個の未受精，未吸水の卵を流動パラフインに入れたまゝ室温（10°C）より直接−10°Cの恒温箱中に入れて冷却してみた。冷却速度は零度附近に於て約0.09°C/分，約2時間半後に冷却温度と平衡になつた。

平衡後24，48，72時間毎に10個宛取出して水道水中に24時間対照卵と*約10個宛飼育した。過冷却卵と凍結卵の区別は，凍結卵は白変しているが，過冷却卵は透明であるから一見して判定出来る。死卵の判定は次の方法で行つた。死卵は油滴が一つに大きく集つている。又水道水中に入れたとき死卵は原形質膜の不透過性を失つているから，卵内電解質は外囲に拡散するためにグロブリンが沈澱して白濁する。このような理由で，此の実験では水道水中に入れてから24時間以内に白濁した卵を死卵とみなした。48時間以上過冷却された卵の中には原形質膜が收縮して卵膜より離れたものが出て来たが，この様な卵は明に異常であるから実験から除いた。

結果は−10°Cに24，48，72時間過冷却した卵は少くとも24時間以内には白変しなかつた。−10°C以下の低温度に長時間過冷却する事は困難であるが，單時間の場合は比較的容易である。冷却速度0.1°C/分で−18°Cに平衡後2分間過冷却した卵（5個）は，前同様少くとも24時間以内には白変しなかつた。

次に未受精の吸水卵を−1°Cの室温に流動パラフイン中に入れて放置しておくと，囲卵腔の水が凍結し，卵表面に氷が析出するが卵内には凍結が進まないで，長く過冷却狀態におかれる。斯様な囲卵腔丈凍結した卵は死なない。然し卵内に凍結が起きたときは凍結温度，時間の如何に拘わらず皆死んで了つた。從つて−18°C迄過冷却しても，−10°Cに72時間過冷却狀態においても，又囲卵腔及卵表層に氷が生じても，卵自身さえ凍結しない限り，過冷却自体は卵に致死的の影響を與えるものではない。

過冷却された丈では卵が死なない事丈は，上の実験から明らかであるが，然し過冷却が卵に全く影響を及ぼさないとは考えられない。この点を確めるために未受精，未吸水の卵を予め−4°，−6°，−8°，−10°Cの各温度に平衡後5，20時間それぞれ過冷却した後，各〻の受精率の変化を調べた。

冷却速度0.09°C/分で冷却した卵を$^{1}/_{7.5}$M[1]平衡塩溶液中で卵表面の流動パラフインを洗い

* 對照卵とは10°Cの流動パラフイン中に同時間入れて置いた卵である。

去つてから，通常の乾導法で受精させ，水道水(10°C)で約16時間飼育後(4～8細胞期)固定して各，30個宛に付いて受精率を調べた。受精の判定は分割が起きているかどうかで決めた。分割している卵の発生狀態は※対照卵と同様の狀態にあつた。

第 1 表

過冷却の受精に及ぼす影響

（未受精卵）

時間 / 溫度	受精率（%） 5 時間	20 時間
N.C(0°C)	100	100
− 4°	100	100
− 6°	100	100
− 8°	40	20
−10°	10	0

第一表から判る様に過冷却溫度が−6°C 以上の場合には受精率は20時間以内では対照と変らないが，−8°C 以下では甚だしく低下し，−10°C 以下では殆んど受精していない。5, 20時間の間には余り差が認められない事からして，−8°C 以下では 5 時間以内に不可逆的な変化が起ると考えられる。

−10°C，5 時間では原形質の集合狀態は，20～30%の卵が不規則であるが，−10°C 20 時間の場合には全ての卵に於て原形質の集合狀態が不規則か，或は原形質の集合量が少い。然し過冷却溫度が更に低くても，時間が短かければ受精率には殆んど影響がない。例えば−16°C で2分間過冷却した卵は対照卵と同様の受精率を示した。猶受精した卵の卵割は皆正常である。

次に精子の過冷却を調べた。精液を氷点以下に長時間過冷却する事は困難であるから毛細管（長さ10cm，内径0.2～0.4mm）中に精液を入れ，毛細管の兩端を流動パラフインで封じ，冷却速度をおそくするために，毛細管を綿で包み厚肉の硝子管の中に入れて冷却した。冷却速度は約 0.08°C/分 であつた。毛細管の内径を之より小さくする時は，毛細管中より精液を取出す事が困難のために上記のものを使用したのである。

第二表に示した様に −6°～−10°C に20時間過冷却した精子は大体害作用を受けていないと云えよう。

第 2 表

過冷却の精子に及ぼす影響

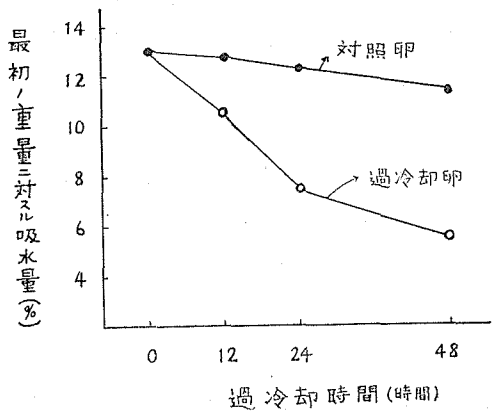
時間 / 溫度	受精率 20
N. C (0°C)	100
− 6	100
− 8	95
−10	90

之に反して凍結し※※た精液は全然受精能力がない。以上の結果から精子は卵とちがつて過冷却の影響が少いが，精液を過冷却する事が技術的に困難であるから，より低溫度長時間の過冷却の影響を調べる事は出来なかつた。

鮭卵は水中に産み出された後，吸水し其の結果囲卵腔が生じてくる。予め過冷却された卵の吸水量は溫度が低く過冷却時間が長くなるにつれて減少する。第 1 図に於て縦軸は最初の卵重量に対する吸水量の相対値を百分率で示し，横軸は−10°Cに過冷却した時間を示してある。結果は第1図に示してあるとうりである。之の吸水量の減少

※ 對照卵とは同時 10°C の流動パラフイン中に入れておいた卵の事である。

※※ 精液が凍結した時には毛細管の兩端より凍結した液が突出しているし，又毛細管中の凍結精液は縞狀を呈するから凍結の判定が出来る。



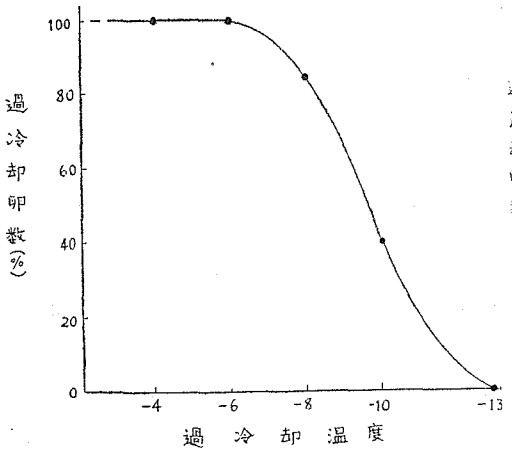
第1圖　過冷された卵の吸水量

が如何なる原因によつて起るかは，吸水現象の機構が明でないから，今の所，言及出来ないが，卵膜の変化もある程度関係しているのであろう。

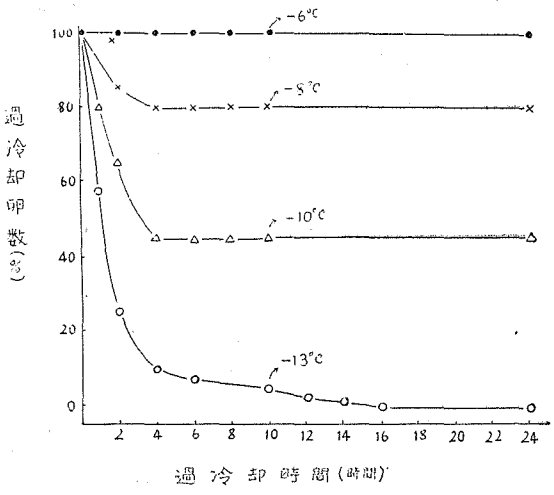
III.

次に鮭の卵を過冷却せしめる条件を調べた。前述の薄肉の管に4cc，流動パラフインを入れ，卵をガラス綿で支持し，卵の表面に出来る丈近く Ring 状の尖端を有する熱電対をおいて，温度変化を調べた。卵を入れた試験管を −18°C に冷やされてある，アルコール中で同一冷却速度で冷やした。卵の表面の状態が過冷却の度合に大きい影響を持つて居るから，充分に濾紙で拭つてから実験した。同一系列の実験には同一腹及同一状態の卵のみを使用した。

温度と過冷却度との関係は第2図に示してある。之は各温度に未受精，未吸水卵を24時間おいた後の過冷却卵数を示してある。温度の低くなる程過冷却しにくくなる。−6°C 以上では少くとも24時間の間は過冷却が破れないが，−10°C 以下では過冷却しにくく長時間過冷



第2圖　各温度に24時間置いた後の過冷却卵数

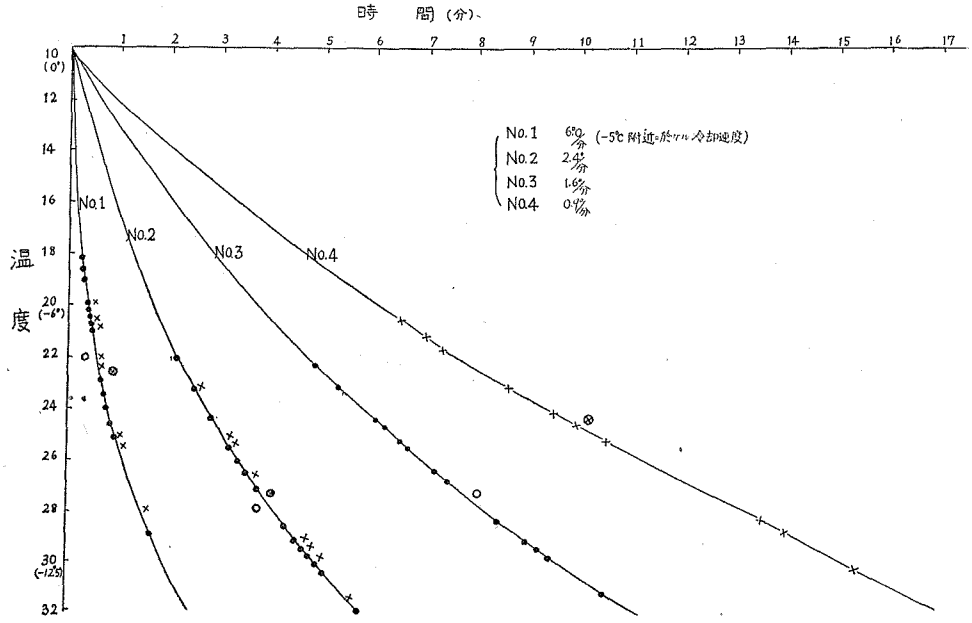


第3圖　各温度に於ける時間と過冷却の關係

却状態におく事は非常に困難である。然しこの第2図の結果からは，24時間迄の途中の各時間に於ける過冷却卵数の変化が判らないから，−6°，−8°，−10°，−13°C の各温度に就いて，24時間過冷却した場合の途中の経過を調べてみた。第3図から判る様に，少くとも−10°C 以上の場合に於ては，卵が媒液の温度と平衡になる迄に凍り易く，平衡後は凍り難い。以上の事実から，卵が媒液の温度と平衡になる迄の過程，即ち冷却速度が重要なる要因で，平

衡後の時間的要因は余り関係がない。－10°C以下の場合に於ては，冷却速度のみでなく，時間的要因も無視出来ないようである。この事を確めるため，及び冷却速度と過冷却度との関係を更に調べるために次の実験を行つた。

冷却溫度は全て－18°Cで，冷却速度は－5°C附近に於て 6.0°C/分（No. 1），2.4°C/分（No. 2），1.6°C/分（No. 3），0.9°C/分（No. 4）。即ち相対速度 10：6：3：1 の4種類の冷却速度で卵を冷やした。この際冷却速度以外の他の条件は全て同様にした。結果は第4，5図に示した。第4図の横軸は時間を縦軸には溫度の相対値（電流計の読み）を示してある。



第4圖　冷却速度と過冷却度　●×} lotの差を示す

第3表　冷却速度と過冷却度との關係

（過冷却度は電流計スケールの讀みで示す，10が0°Cにあたり，1目盛は約0.07°Cになる。以下第11表まで同様）

冷却速度 / 過冷却度	6°C/分	2.4°C/分	1.6°C/分	0.9°C/分
第一系列	22.3±3.0	27.9±2.29	27.3±2.68	25.1±3.55
第二系列	23.8±3.05	27.3±2.70		

第3表は第4図の結果をまとめたものである。この表から判るように，冷却速度の差によつて，過冷却の度合に差を生ずる。冷却速度が大きくなると比較的過冷却は破れ易く，ある程度以上冷却速度が小さくなつても亦過冷却が破れ易くなるようで，その間に過冷却がよく起こる冷却速度の範囲があるらしく思われる。若しも冷却速度のみが過冷却度を左右する要因であるならば，冷却速度の小さくなるにつれて過冷却度が増加する筈であるが，事実はある程度冷却速度が小さくなると，

* 過冷却度は過冷却が破れて，溫度の上昇する溫度で，電流計の読みの相対値で示してある。数字の大きくなるにつれて，溫度の絶対値が大きくなる。

寧ろ過冷却しにくくなる事から考えて，ある低溫度以下に於ては單に冷却速度のみでなく，ある低溫度にさらされる時間の長さも過冷却度を左右する要因と考えられる。

次に媒体が過冷却度に及ぼす影響を調べるために同一冷却速度で，流動パラフインと空氣を使つて未受精，未吸水卵の過冷却度を調べた。第4表は空氣，流動パラフイン中での過冷却速度を示したもので，之から判るように流動パラフイン中の方が空氣中より過冷却し易い事が分る。氷の形成は濕つた表面で作られる結晶の核から進展するから，表面は乾燥している事，或は水に不溶性の媒体で被われて居る事は過冷却の重要なる要素の一つである。空氣を媒体として卵を冷やすときは，空氣の溫度が降下するにつれて，空氣中の水蒸氣が凝縮して表面に結晶核を作る機会の多い事によつて，上記の結果は理解される。

第 4 表　冷媒と溫冷却度との関係

冷　媒	流動パラフイン	空　氣
過冷却度	27.1 ± 1.72	22.2 ± 1.67

生理的狀態と過冷却度との関係を調べるために次の実験を行つた。生理的狀態を変化させる方法として，卵を乾かぬ様に室溫（0°C）に貯藏し，採集後7日間の貯藏中の変化を調べた。

第5表は貯藏中に於ける過冷却度の変化を示すもので，卵が古くなるにつれて，殊に五日以後は急に過冷却が破れ易くなると共に変異が大きくなつてくる。貯藏日数の経過に従つて卵の生理的狀態は低下してくるから，兩者の間に関係が認められる様である。然しこの過冷却する度合の変化が果して卵の内部の変化によるのか，單に卵の表層の変化によるかは分らないから，この二つの事柄を分析せねばならない。

第 5 表　貯藏中に於ける過冷却度の變化

貯藏日数	1　日	3　日	4　日	6　日	7　日
過冷却度	30.4±1.89	28.7±1.81	28.1±1.96	24.3±2.27	23.1±2.54

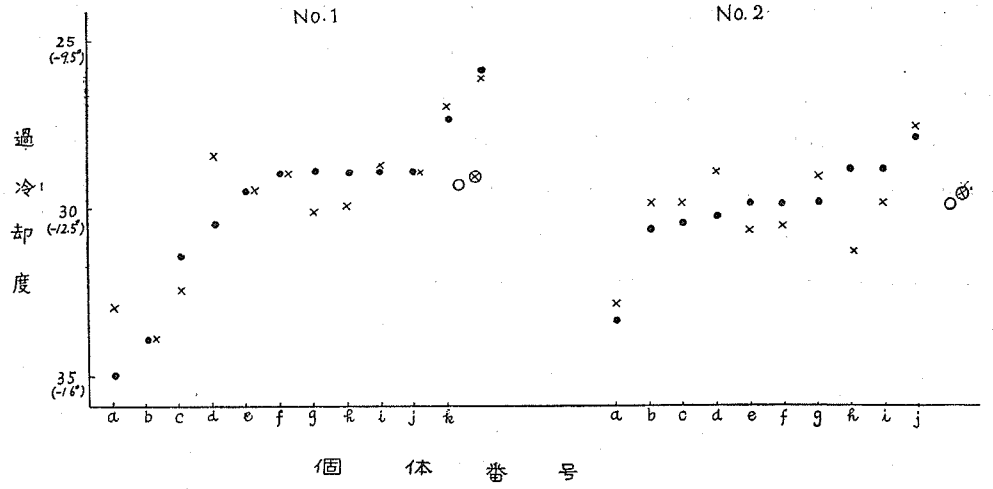
貯藏日数に従つて卵の過冷却度と共に正常な卵を空氣中（0°C）で20分間放置して卵表面を乾かした場合（約半数の卵は死ぬ）の過冷却度を，同時に調べるならば，貯藏中の過冷却の度合の変化が卵膜に起る変化によるのか，卵内部の変化によるか推定される。何故ならば，たとえ貯藏中に卵膜に変化が起きていても，その表面を乾かした後には卵膜の狀態は，いずれの場合も同じになつて了うものと考えられるからである。第6表は卵表面を乾かさない卵と，乾かした卵の貯藏中に於ける過冷却度の変化を示してある。卵表面を乾かさない卵は，貯藏に伴つて過冷却が破れ易くなるが，卵表面を乾かした卵は少くとも貯藏日数7日以内のときは殆んど同

第 6 表　貯藏中に於ける卵膜表面の過冷却度に及ぼす影響

貯藏日数 / 過冷却度	1　日	5　日	7　日
濕潤卵	30.4 ± 2.42	25.4 ± 3.19	23.8 ± 1.98
乾燥卵	31.1 ± 2.59	30.3 ± 2.08	29.4 ± 2.47

一の値を示すから，上記貯藏中の過冷却度の変化は卵表層の変化によると考えられる。若しこの考え方が正しければ卵の生，死には無関係に卵の表面の如何によつて卵の過冷却度は決まる事になる。之を證明するために次の実験を行つた。凍結した卵を5°C に 60 分間おいて融解せしめた後再び同一条件の下で凍結させて初，再凍結の過冷却度を調べてみた。

第5図は初凍結，再凍結の際の過冷却度を示してある。同一縦軸の2点•と×は同一卵の初，再凍結の際の過冷却度を示してある。No. 1,2 共に初，再凍結の際の過冷却度には差がなかつた。



第 5 圖　初，再凍結の際の過冷却度の比較

横軸の個體番號は卵の個體を示し，●は初凍結，×は再初凍結の場合の過却却度を，又 No. 1 及び No. 2 は lot を示す。
○ 及び ⊗ はそれぞれ初凍結及び再凍結時の過冷却度の平均値である。

更に 40°C で 30分間流動パラフイン中で熱処理した卵と対照卵を比較して見たが，その過冷却度には差は認められない。(第 7 表)

以上の実験に於て卵膜の表面の条件は生卵死卵，大体等しいとみて差支えない。事実過冷却度にも差はみとめられないのである。従つて卵膜の表面の狀態が過冷却に大きな影響を持つものと云えよう。従つて卵表面の変化がない限りは，卵の生理的狀態の変化によつて過冷却の度合が変る事はない様である。

第 7表　熱處理された卵の過冷却度

處理 / 過冷却度	コントロール	流動パラフイン中40°Cで30分間
第 1 系 列	30.6 ± 2.15	30.9 ± 2.50
第 2 系 列	29.7 ± 2.50	29.1 ± 2.59

卵が水道水中に浸されると卵膜が肛擧して最初の重量の約15%内外の水を吸つて囲卵腔が出来る。吸水によつて卵膜がどういう風に変化するかは未だよく分らないが，卵膜は吸水して固くなる事は確である。又卵表層に透明層[2]が出来る。水に接した後の卵膜に起こるこの様な変化が卵の過冷却度に如何なる影響を及ぼすものかを確めるために未吸水卵及び吸水卵の過冷却度を調べた。第 8 表に示してある通り両者の間には明瞭な差がみられ，未吸水卵の方がよく過冷却する。その原因は卵内部，囲卵

第 8 表　未吸水卵，吸水卵，脱水卵の過冷却度

卵の條件 / 過冷却度	未吸水	吸水	脱水
第 1 系 列	28.0 ± 2.20	24.8 ± 1.83	24.3 ± 1.74
第 2 系 列	29.2 ± 1.74	26.5 ± 2.30	27.2 ± 2.72

腔，卵膜及卵表層（透明層を含む）の3つが考えられるが，卵内容は前述の実験から，直接の関係がないと考えられるので，囲卵腔と卵膜，卵表面が吸水卵の過冷却しにくい原因となつているものと思われる。若しも囲卵腔中の水が吸水卵の過冷却に関係するものならば，10%アラビアゴム溶液中で脱水*された吸水卵は脱水しない吸水卵よりも，過冷却するはずである。然しながら第8表の結果からみると兩者の間には大きい差が認められないから，囲卵腔の存在がその大きい原因とは考えられない。更に卵の凍結をみていると囲卵腔が最後に凍る事から考えても囲卵腔は吸水卵の過冷却の破れ易い事には，あまり関係がない様に思われる。從つて卵膜の吸水による変化がこの原因の様に考えられる。

次に未処理の卵，及び ⅕M，1M の各平衡塩溶液中に30分間浸した卵の過冷却度を比較してみた。第9表に示してあるように，明な差が生じた。即，高張溶液に浸す事によつて，過冷却し易くなる。囲卵腔の液の濃度の変化は卵を平衡塩溶液中に浸す時間を短くすれば無視出来るから，次に ⅕，1M 溶液中に 0°C で 30～40 秒浸した後の過冷却度を調べてみた。高張溶液中に單時間浸した丈でも，過冷却度は可成り変化した。次に 1M 溶液中に30分間浸してから，1°Cの水道水中に30～40秒浸した卵は対熱卵と過冷却度は変らない（第10表）。

第 9 表　平衡塩溶液處理（30分間）の過冷却度に及ぼす影響

塩濃度 / 過冷却度	水道水	⅕ M	1 M
30 分 處 理	24.2 ± 2.55	26.1 ± 1.32	30.3 ± 1.97
40 秒 處 理	24.0 ± 1.66	25.9 ± 1.54	27.3 ± 1.14

第　10　表

條　件	水道水 →	1M 平衡塩溶液 (0°C で30分浸す) →	水道水 (0°C で40秒浸す) →	1M平衡塩溶液 (0°C で40秒浸す)
過 冷 却 度	28.3 ± 1.55	31.9 ± 1.63	29.0 ± 1.48	30.4 ± 2.01

又斯様な処理によつて卵膜にたとえ変化が起るとしても，それは透明層を通じて起るはずである。之等の事実から水道水，高張溶液中で低溫度，單時間の処理で過冷却度が変るのは，上の媒液中で單時間に可逆的な変化**[1]を受ける透明層が大きい役割をなしている様に考えられ

* 吸水卵を5～10%のアラビアゴム溶液中に浸すと囲卵腔は認められなくなり，卵重量も殆んど最初の値になる。從つてアラビアゴム溶液中囲卵腔内の水は殆んど全部とられたと考えられる。

** 吸水した鮭卵の卵膜の最外層に厚さ約 17～20 μ 位の透明なる層が存在するが，未吸水卵では全く見られない。この透明層は卵より低調なる外囲の中に於てのみ現われ，その厚さは外囲の濃度に支配される。透明層の明瞭に現はれている卵を等張溶液中に入れると10秒内外（室温）で見えなくなるが，卵を低調液に入れると再び現はれる。0°では30～40秒でこの可逆的変化が起る。

る。若しも透明層のみが過冷却度を支配するならば，0°Cの高張溶液中では，おそくとも1分以内に透明層が消失するので，より長時間高張溶液に処理しても，過冷却度は変化しない筈である。又若しも卵膜の変化も過冷却度に関係するならば，0°Cで1分以上高張溶液に浸した時は，過冷却度は変化するであろう。1M溶液中（0°C）で20，40秒，3，10，20分の各時間浸した卵の過冷却度は第11表に示してある様に時間の長くなるにつれて漸次増大する。

第 11 表　1M平衡塩溶液に浸した時間と過冷却度との関係

浸した時間	水道水（コントロール）	20 秒	40 秒	3 分	10 分	20 分
過冷却度	23.6 ± 1.57	26.9 ± 1.81	26.8 ± 1.63	27.7 ± 1.50	30.7 ± 0.90	31.4 ± 1.61

この際1M溶液の氷点は約−3.7°Cである。対照卵（水道水中）の過冷却点が約−8.5°Cである。之を1M溶液中に10分間浸した後の過冷却度は対照より4°C低く，20分浸した時は，約5°C低くなつている，透明層の消失は0°Cに於て30〜40秒で肉眼的には見えなくなるが，実質的には処理時間の長くなるにつれて，より以上の変化も起ると考えられるが，卵膜の変化も当然之に大きい役割を持つていると思われる。

要するに吸水卵の過冷却度は卵膜及透明層の状態が重要なる要因である。又吸水卵が未吸水卵に較べて過冷却しにくいのは，囲卵腔が出来たからではなくて，吸水によつて現われた透明層及卵膜の変化が重要なる要因と考えられる。吸水卵を1M平衡塩溶液中に数分（0°C）浸し，適当なる冷却速度で冷却する時は未吸水卵と同じ様に，−20°C近く迄過冷却された事も，上述の考えから容易に了解される。

摘　　要

1）鮭の卵を使つて過冷却が卵及精子に及ぼす影響と卵の過冷却され易い条件について調べた。

2）流動パラフィン中で0.09°C/分の冷却速度で−10°Cに72時間，或は−18°Cに2分間過冷却しても，過冷却自体は卵にとつて，致死的のものではない。囲卵腔が凍つても，卵内部が凍らなければ致死的とはならない。之に反して内部凍結は凍結温度，時間の如何に係わらず，全て致死的である。

3）過冷却した卵の受精率は−6°C以上の温度では少くとも20時間内では対照と比して変化がないが−8°C以下では数時間の過冷却で急激に低下する。殊に−10°C以下で数時間過冷却した時は全然受精しないが，−10°C以下でも短時間の時は受精能力を失わない。

4）精子は卵とちがつて，−10°C，20時間の過冷却でも受精能力を殆んど失わない。

5）予め過冷却された卵の吸水量は一般に小さく，過冷却度が大きくなる程，又過冷却時間の長くなる程吸水量は減少する。

6）卵の過冷却する能力は低温度，長時間になるにつれて減少するが，用いた条件では

−10°C 以下では過冷却しにくい。又−10°C 以上の場合に於ては，過冷却を支配する要因は，冷却速度が主で，時間的要因は余り関係しない。−10°C 以下では冷却速度と共にある低溫度にさらされる時間の長さも過冷却度に関係してくる様である。

7) 冷却速度が小さい方が過冷却し易いが，最も過冷却し易い或る冷却速度範囲が存在するらしい。

8) 空氣を媒体とするよりも，流動パラフインを媒体にした方が過冷却し易い。

9) 未吸水卵の過冷却度を支配する要因は卵膜の狀態で，生理的狀態と過冷却度との間には何の関係も認められない。

10) 吸水卵の過冷却を支配する要因は卵膜及その外層の透明層の狀態が重要なる意味をもつているが，囲卵腔は之に殆んど関係がない。

終りに臨み本研究に於て御懇篤なる御指導を賜つた青木教授に対して深謝の意を表す。

文 献

1) Aoki, k. 1939 Ueber die Wasseraufnahme der Lachseier. I. J. Fac. Sci. Hokkaido Univ., Sec. IV. **7**, 27.

2) 青木 廉 1941 鮭卵の透明層 科學, **11**.

Résumé

The effect of supercooling on the salmon egg and the necessary conditions under which the eggs can be supercooled, were studied.

1) In general, for the eggs, supercooling itself is not fatal. Those which have never been in contact with water are capable of being cooled to −10°C with the cooling rate of 0.09°C/min., in liquid paraffin without ice formation and further being kept under this supercooled condition for 72 hours, or even at −18°C for minutes.

2) The freezing of the perivitelline fluid is not fatal to the egg, unless the egg itself is frozen. On the other hand, the freezing of the egg proper is fatal, independently of duration and temperature of freezing.

3) Fertilizability of eggs, which have been exposed to the supercooled state at −6°C for 24 hours, is normal, but it decreases with descending of temperature. And the eggs become completely unfertilizable when supercooled at −10°C for several hours.

4) The spermatozoon is not injured by supercooling of −10°C within 24 hours, and there is mark no difference in fertizability between supercooled and normal spermatozoa.

5) The degree of water absorption of the egg previously supercooled decreases, with increasing of duration and temperature of the supercooling.

6) The degree and duration of supercooling which can be applied to the egg decreases with lowering of temperature. In the cooling condition of this experiment it was difficult to apply a supercooling below −10°C for several hours.
7) The eggs can be more easily supercooled in liquid paraffin than in the air.
8) Generally speaking, the eggs are easily supercooled when the slow cooling rate is employed, but it seems, for the supercooling, to exist some favourable range in the cooling rate.
9) There was no correlation between the physiological conditions of the eggs and the degree of supercooling. In the unfertilized and water-unabsorbed eggs, the state of the chorion plays an important role.
10) The water-absorbed egg is less liable to be supercooled than the water-unabsorbed egg, and this is not due to the existence of the perivitelline space, but to the state of the chorion and the hyaline layer.