



Title	イラガ血液の凍結過程
Author(s)	朝比奈, 英三; ASAHINA, Eizo
Citation	低温科学, 10, 117-126
Issue Date	1953-03-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/17549">https://hdl.handle.net/2115/17549</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	10_p117-126.pdf



## イ ラ ガ 血 液 の 凍 結 過 程\*

朝比奈英三

(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和27年9月受理)

野外で低温にさらされつつ越冬するような昆虫にはその体が固く凍結しても生きていられるものが少なくない。<sup>1)</sup>このような場合体内で凍っているものは主として血液(体液) Haemolymphであつて、組織細胞は氷の間に挟まれて脱水されるにすぎない。<sup>2)</sup>北海道における典型的な耐凍性昆虫であるイラガも、この好例であつて、越冬期には $-20^{\circ}\text{C}$ でも長期の凍結に耐えるが、他の時期になると遙かに耐凍性がなくなる。また蟲体の過冷却しうる温度も季節に従つて變化し、しかもこの變化は体内の大きな部分を充たしている血液の變化に主因をおくものと考えられる。<sup>3)</sup>そこでこの昆虫の体の血液の凍り方にも季節的の變化のあることが考えられ、更にこれが昆虫が凍つても死なない機構の中で何等かの役割を果しているのではないかと想像される。このために盛夏より翌年初夏までの各時期に、即ちイラガの攝食期の幼蟲より越冬して成蟲に至るまでの各時期にその血液の凍結過程を観察した。

### I. 材料と方法

札幌においてイラガ (*Cnidocampa flavescens*) は7~8月に産卵され、孵化後カエデ、クリ、サクラ、ウメ等を主要食物として9月中には完熟幼蟲となり、10月上旬にはほとんど繭に入り、前蛹の形で樹上に越冬し、翌年6月に蛹化、7月にを繭を破つて羽化する。使用した材料は

- a. 攝食期の完熟五齡幼蟲
- b. 營繭後3日の前蛹
- c. 越冬期の前蛹
- d. 春期(5月初旬)の前蛹
- e. 蛹化前(6月初旬)の前蛹
- f. 蛹化5日後の蛹
- g. 羽化直前の蛹
- h. 羽化直後の成蟲

以上の8時期のもので、多くの場合は歩脚の先端を切斷して採血した。

\* 北海道大學低温科学研究所業績 第165號。

方法は1滴の血液をカバーガラス上にとり、その上を流動パラフィンまたは液状珪素樹脂でおおつて懸滴とし、\*これを低温室内で温度調節装置を施した顕微鏡下で観察した。懸滴の温度は小形の熱電對を懸滴中にさし入れて測定した。従つて植氷以前にはかなり血液の温度に近いものを測りうるが、血液中に氷が現われてからは、その氷晶の生長しつつある先端部の温度とは或る程度の差を生ずることはまぬかれない。本文に記した温度はすべてこの熱電對の示度そのままの値である。また血液の過冷却を破るためには、顕微解剖針の先に小氷片をつけて懸滴が所要の温度に冷却された時に植氷して凍結を開始させた。

## II. 観察結果

### A. 小さい過冷却度で凍結がはじまつた時：

イラガ血液中での氷晶の生長過程は、異なつた時期においても結晶の形の上では本質的な差を認めないが、越冬期の血液では最も氷の生長速度が小さい。従つて観察しやすいため、まず主としてこの場合について述べる。

過冷却度がきわめて小さいと、血液に氷片をふれても、その氷片から潤葉状の氷晶が突出してくるだけで(第1圖)、氷片をとり去れば、血液中には氷晶が残らない。或る程度以上の過冷却状態において始めて血液中に分離した氷晶を、植氷によつて作り出すことが可能になる。

冷却速度が充分小さければ植氷によつて血液中に圓板状の氷胚が現われる。これはせいぜい數十 $\mu$ の直径にまで發達すると角ばつてきて、百數十 $\mu$ に達するころには明らかな六角形となり、その6箇の放射軸の方向へ更に發達して廣幅樹枝状となり、間もなくその先端から樹枝状の氷がのびはじめ(第2, 5, 6圖)。この氷の枝は典型的な羊齒状\*\*であつて、越冬期の血液の場合は特に規則正しい配列をしている(第3圖)。冷却速度が大きくなるほど、この圓板→板状六花の過程は省略されて植氷點に現われる氷晶は樹枝状のもののみとなる。

時期的に血液の凍結過程を追つてみると、春期はかなり遅くまで(d-期)越冬期に近い性質を現わす。しかし時期が越冬期より離れるほど血液の氷點は上り、また植氷可能な温度も上る(第1表)。そして越冬期の場合と同じ程度の過冷却度においても血液中に出来る結晶の中心の数は多くなりやすく(これは必ずしも結晶核の数を意味しない)、従つて六花の形は亂れ、また放射状にのびる6本の氷の枝も数が増えたり、太くなつたりして不規則になつてくる(第7, 8, 9, 12圖)。しかし過冷却度をごく小さく保つことに成功した場合は、たとえ夏の時期の血液といえども、越冬期の場合と同様に、植氷するのが困難であり、また植氷によつて現われた氷晶もその中心が單一の場合は樹枝の幅こそ廣いが規則的な六花の形をとることは稀ではない(第10圖)。

結晶の生長速度はこの装置で定量的に比較することは無理であるが、夏季には越冬期の少

\* この状態でc期の血液は數時間は外觀上の變化がない。他の時期では時間がたつと色調が黒變するが、一番變化の速い夏の血液でも24°Cにおいて20分内外を要し、低温では遙かにおそくなる。

\*\* 氷の結晶の形の呼稱はすべて中谷<sup>9)</sup>による。

第 1 表  
各時期におけるイラガ血液の性質

時 期	植氷可能の 最高温度	氷 点 *
a. 攝食期の幼蟲	-0.8°C	-0.75 ± 0.06°C
b. 營繭3日後	-1.0°	-0.93 ± 0.07 (營繭中)
c. 越冬期前蛹	-2.4°	-2.04 ± 0.15
d. 春期前蛹	-1.0°	-0.72 ± 0.03
e. 蛹化前の前蛹	-0.8°	—
f. 蛹化5日後	-0.6°	—
g. 羽化直前	-1.0°	—
h. 羽化直後の成蟲	-0.6°	—

\* 青木・篠崎<sup>1)</sup>による。

このことから考えると過冷却度が大きいときでも出来る氷晶の中心は常に少数であるらしい。

春の前蛹においてもこれらのことは大体同様に認められるが、それ以外 (c, d 期以外) の時期においては、凍結するときの速度がきわめて速いために、植氷点を中心として無数の細い氷の枝が不規則乍ら放射状に噴出してくるのを認めるにすぎない。しかもこのときの結晶中心は多数出来るらしく、氷晶の形は樹枝状ではあるが甚だ亂れ、本来の六花の形は想像も出来ないほどである。

C. 凍結による血液の濃縮:

凍結の進行につれ生長する氷晶をとりまく血液は濃縮されていく。冷却によつて氷晶の發達が更にすすむと成長した氷の枝は次第相接し、遂には夫々の氷の枝の間に濃縮された血液を脈状に拆出する。c, d 兩期以外の時期の血液では相接した氷は融合してほとんど一樣になるため脈状の血液は氷の間に挟みこまれるが、氷の融合が更にすすむとこの脈はところどころで切れ、滴状または球状となる。このとき氷の接着融合した跡にはその表面に凹所が出来ているらしい (第 11 圖)。氷の生長速度が非常に速い (例えば成蟲の血液等の) 場合では、以上の現象は僅かの過冷却度においても近々十數秒の間に終る一連の過程にすぎない。\*\*\* 凍結する時の温度が低いほど氷の枝の太さも細いため、拆出される濃縮血液の形も小さくなりかつ數が多くなる。このような凍結過程は植物細胞液でみられる氷粒式フラッシングの凍結過程<sup>2)</sup> と、きわめてよく似たものであるが、イラガ血液においては氷の間にとじこめられる拆出物は常に液状であつて決して固体の性質を現わさない。

\*\* 例えば六花の氷晶の最先端の生長速度は、-0.2°C 位の過冷却度で c-期には 1 mm/分、a-期及び e-期、g-期にはこの 2 倍以上である。f-期にはややおそくなるらしい。

\*\*\* -1.2°C では凍結がはじまつてから 15 秒間にほとんど滴状に切れてしまう。

くとも 2 倍以上の速度をもつように見える。\*\* そして越冬期の血液では過冷却度が更に大きくなつても氷晶の生長速度はそれ程速くならないのに對し、夏期の場合には僅かの過冷却度の増加によつてきわめて大きな生長速度を與えることが出来る。

B. 比較的大きな過冷却度で凍結がはじまつた時:

越冬期の血液では圓板または板状六花の過程が省略されて、いきなり樹枝状氷が現われるが、結晶の形はかなり規則的な羊齒状六花である。

越冬期のイラガ血液ではいかに過冷却度を大きくしてやつても、少くとも $-23^{\circ}\text{C}$ より高温では上記のように濃縮血液が氷の中に挟みこまれることはない。冷却速度が大きいと羊齒状の氷がきわめて細くかつ密に血液中に發達するが、血液は分斷されずほとんどすべてが連続相をなしているように見える(第4圖)。越冬期につづくd期の血液も大体これと同じ凍結過程であるが、c, d-期以外の時期では、比較的ゆつくり冷却しても、凍結血液の温度が或る程度以上下れば血液はほとんど常に氷晶中に閉じこめられる(第13圖)。

尙イラガの血液は各種の遊離細胞を含んでいるが、これらの細胞は血液の凍結にあつては細胞外凍結をおこすものが少くない。

#### D. 凍結した血液の融解:

凍っている血液をあたためると、氷晶は次第に融けて小さくなり、濃縮されていた血液は次第に淡められて容積をましてくる。滴状に分離して氷の間に閉じこめられていた血液はそのままの形で大きくなり次々と隣接する血液滴と合一していく。このようにして全く氷晶の消えた血液は數回の反復凍結の後でも最初の状態との間に外觀的な變化は認められない。

凍結した越冬期の血液を急に融かすと、氷の消えた後も、濃縮血液の部分の暗色に見えるため、樹枝状氷の跡が抜けたように淡く見える。しかしこのような氷晶の跡はみるみる小さくなってゆき、せいぜい1分間以内多くは數秒間でその姿が消え、融解した血液は全く一樣になってしまう。この現象は他の時期の血液でも認められることがあるが、暗色部の存在する時間は更に短いのが常である。

### III. 考 察

イラガ血液中に出来る氷晶の成長過程は形の上では、純粹の水の場合<sup>8)</sup>と全く同様である。ただ血液の場合はその中で氷の生長速度が著しく小さいために、本來の水又は鹽溶液の場合には、極端に小さい過冷却度\*にあつて始めて認められるような氷晶の形を、比較的大きな過冷却度においても観察しやすいのに過ぎないのであろう。すでに述べたように、過冷却度が小さいと血液に接した植氷片より氷晶を突出させることは出来ても、血液中に分離した氷晶を作ることは困難であるから、植氷片とそれによつて脱水されつつある血液との間には氷の貫き難い層が存在するという解釋も出来る。元來昆蟲の血液は親水性膠質を多量に含んでいるから、凍結する際に氷晶のまわりに密接して濃縮膠質液の層を生ずることが考えられる。また急速な融解後氷晶のあつた跡に認められる淡色部の輪画が縮少して消失するのに意外に時間がかかることは、氷が融けて出来た水が前述の層をとつて濃縮血液の中に入る速度が小さいことを現わしている。凍結の進行中にはこの層に對する水の透過性は更に小さいことが想像されるから當然氷晶の生長速度は抑えられるであらう。このことは既に一般の親水性膠質について指摘さ

\* 荒川・樋口<sup>9)</sup>によれば純水中では $-0.005\sim-0.01^{\circ}\text{C}$ の温度で圓板状の氷晶が出現可能である。

れ,\* 昆蟲の凍結現象にも関係あるものと想像されている。<sup>10)</sup> Wigglesworth は昆蟲体の過冷却能力がこのような物質の量に関係をもつと考えている。<sup>11)</sup> たしかに越冬期のイラガ前蛹は直接水を体壁に接着させてもなお若干の過冷却能力がある。<sup>2)</sup> しかし上述のような膠質層の存在はその体内に凍結が始まっている場合にその組織細胞の細胞内凍結を防ぐことにより大きく影響するものと思われる。我々の観察によれば越冬期のイラガ前蛹は最も耐凍性が大きく\*\*その心臓をきり出して血液と共に凍らせると、 $-20^{\circ}\text{C}$ で過冷却を破つた場合でも常に細胞外凍結をおこし、融解後には蠕動を恢復する。<sup>7)</sup> もちろんこの場合細胞の耐凍性は第一義的には、恐らくその原形質膜の性質に由来するものであろうが、生物組織の細胞内凍結が植氷によつて起されると想像する限り、<sup>5)</sup> 氷晶と細胞との間における上述のような氷の貫きにくい膠質層の存在は、細胞内凍結を防ぐために何等かの役割を果たしていると考えてよいであろう。しかも凍結の結果濃縮された血液が越冬期を離れた時期には氷晶中に挟みこまれることが多いという事實から、上述の膠質層が越冬期には最も効果的に作用しうるものと想像されるのである。昆蟲の血液中にあるこのような膠質は恐らく多くのアミノ酸や蛋白質よりなるものであろうが、それは昆蟲の各時期において、量的にもまた質的にも異なるものであろう。

#### IV. 摘 要

典型的な耐凍性昆蟲であるイラガの攝食期幼蟲より越冬期を経て翌年夏、羽化するまでの各期における血液を採りその凍結過程を観察した。血液中の氷晶の形は圓板→六角板→羊齒狀六花の過程で發達する。越冬期を離れた時期には氷晶の形が亂れやすく、また凍結によつて濃縮された血液は氷晶中に挟まれ脈状またはそれが切れて滴状となつて氷の中に閉じこめられる。越冬期には大きな過冷却度で凍結がはじまつても、氷晶の形は相當に規則的な六花であり、濃縮された血液を氷の中に閉じこめることなく、かつ氷晶の生長速度は他の時期の場合に比べて最も小さい。即ちイラガ血液の凍結過程は本質的には純水の場合と全く同様で、ただその凍結速度が甚だ小さいに過ぎないのである。これは血液が凍る場合に、その中に多量にある親水性膠質が生長しつつある氷晶の周囲で濃縮されて、氷の貫きにくい、かつ水の透過性の低い層をつくるからであると考えられる。このような血液の性質は昆蟲の組織細胞の細胞内凍結を防ぐために役立つしていると想像され、この作用は越冬期の血液では最も効果的に働くものと考えられる。

#### 引用文献

- 1) 青木 廉・篠崎壽太郎 1953 イラガ前蛹の過冷却について. 低温科學, 10, 103.
- 2) 青木 廉・篠崎壽太郎 1953 a. イラガ前蛹の過冷却に及ぼす冷却速度の影響. 同誌. 10, 109.
- 3) 荒川 淳・樋口敬二 1951 氷の結晶の成長について. 科學, 21, 649.

\* Kistler, S. S. (1935) 未發表, Salt<sup>(10)</sup> の引用による。

\*\* 凍結したまま  $-20^{\circ}\text{C}$  にて少なくとも 130 日間は生存する。

- 4) 朝比奈英三 1948 生物の凍結過程の分析 V. 植物細胞のフラッシ型凍結の一様式に就いて. 低温科学, 4, 85.
- 5) 朝比奈英三 1950 生物の凍結過程の分析 VI. 植物細胞液の凍結過程の一様式. 低温科学, 5, 115.
- 6) 朝比奈英三・青木 廉 1951 耐凍性昆虫の凍り方. 昆虫, 19, 13.
- 7) 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 (印刷中).
- 8) 今井一郎 1949 水の氷結に就いて. 雪氷, 11, 10.
- 9) 中谷宇吉郎 1946 雪の研究. 岩波書店.
- 10) Salt, R. W., 1939 Studies on the freezing process in insects. Minnesota Agr. Expt. Sta. Tech. Bull., 116, 3.
- 11) Wigglesworth, V. B., 1939 The Principles of Insect Physiology.

---

### Résumé

The freezing process of the blood of a frost hardy caterpillar (*Cnidocampa flavescens*) was observed at various developmental stages.

There is no fundamental difference between the ice crystal form of pure water and that of the caterpillar blood. The rate of crystal growth in the blood, however, is very much slower than in water. The ice formed at the inoculated point, originates from discoidal germs and grows to hexagonal fern-like crystals (Fig. 2). In the blood of the insect in its summer stages, a rapid fusion of dendritic ice crystals causes an imbedding of condensed blood in the ice mass, consequently many vein-like branches or droplets of the blood are trapped (Fig. 11). On the other hand, the ice formed in the blood of overwintering prepupa grows very slowly and the condensed blood is not usually imbedded in the ice (Fig. 4), as the branches of the ice crystals do not fuse into a large ice mass.

It may safely be asserted that as the ice grows in the blood it becomes coated with a layer of condensed blood in which a large quantity of hydrophilic colloids exists. The physical properties of the above mentioned blood layer, some of which were demonstrated in the present observation, may play a role in preventing the freezing of the interior of the tissue cells. This advantageous function of the blood layer is most effectively performed in the blood of overwintering insect.

---

## 圖 版 説 明

## 第 1 圖 版 前蛹 (越冬期) の血液の凍結

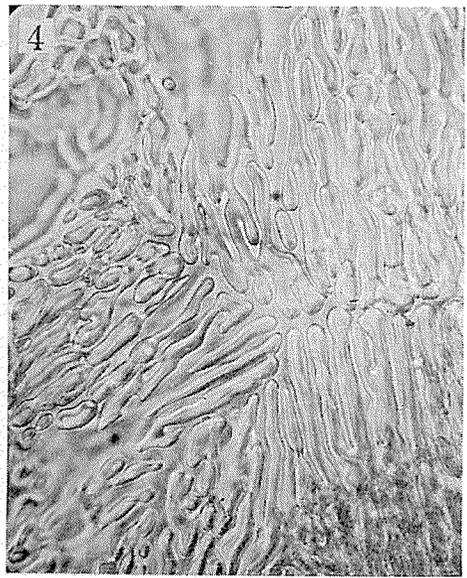
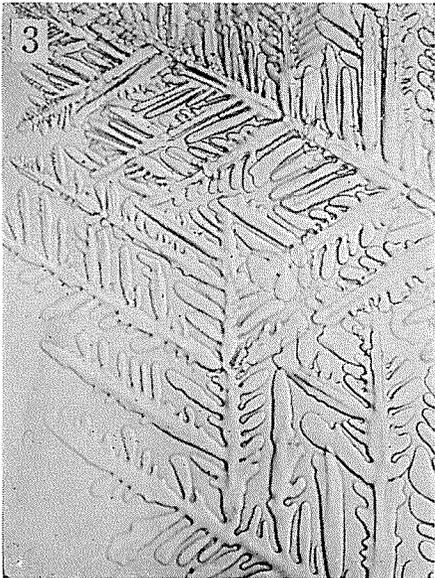
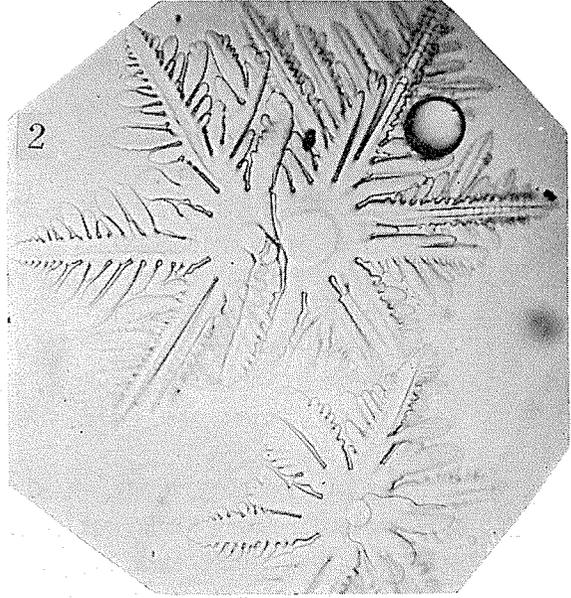
1.  $-2^{\circ}\text{C}$  にて植氷すると潤葉状の氷晶が植氷片より突出するが分離せず。
2.  $-2.6^{\circ}\text{C}$  で植氷, 15 秒後,  $-2.6^{\circ}\text{C}$  で撮影。
3. 同上。3 分後, 發達した氷晶の先端部,  $-3^{\circ}\text{C}$ 。
4.  $-20^{\circ}\text{C}$  にて過冷却が破れてから 11 分後,  $-20^{\circ}\text{C}$  血液は氷晶中に閉じこまれない。  
(1 圖  $75\times$ , 2, 3 圖  $100\times$ , 4 圖  $350\times$ )

第 2 圖 版 春期より羽化期までの血液の凍結 ( $100\times$ )

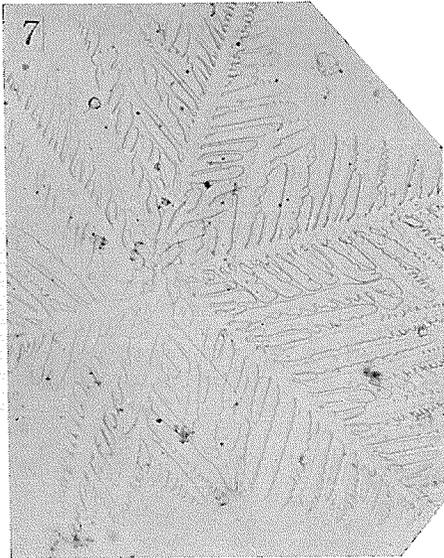
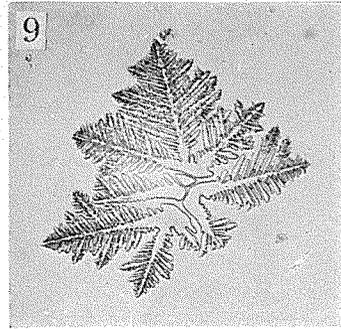
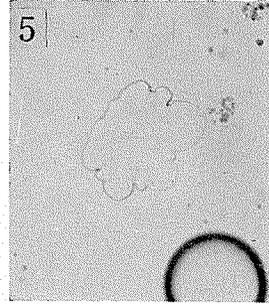
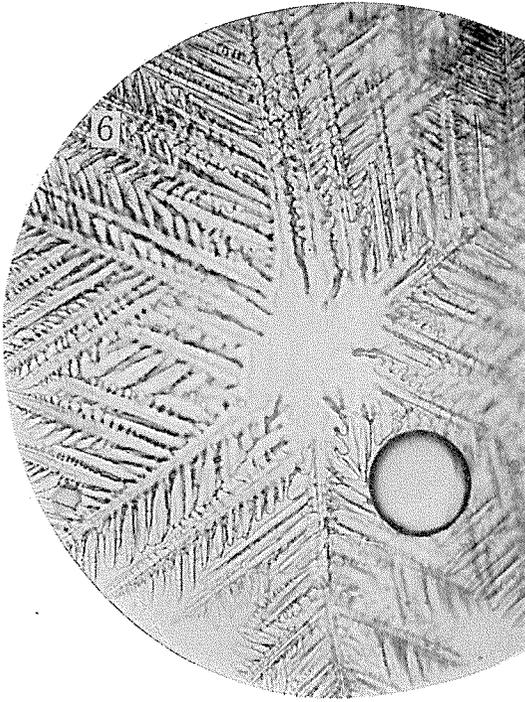
5. 前蛹 (5 月 4 日)。 $-1.2^{\circ}\text{C}$  で植氷直後。
6. 同上。1 分後,  $-1.6^{\circ}\text{C}$ 。
7. 前蛹 (蛹化前數日)。 $-0.8^{\circ}\text{C}$  で植氷, 15 秒後,  $-1^{\circ}\text{C}$ 。
8. 蛹 (蛹化後 5 日)。 $-0.9^{\circ}\text{C}$  で植氷, 1 分後,  $-1^{\circ}\text{C}$ 。黒い塊は血液中に遊離している脂肪細胞。
9. 蛹 (羽化直前)。 $-1^{\circ}\text{C}$  で植氷, 10 秒後,  $-1.2^{\circ}\text{C}$  位。

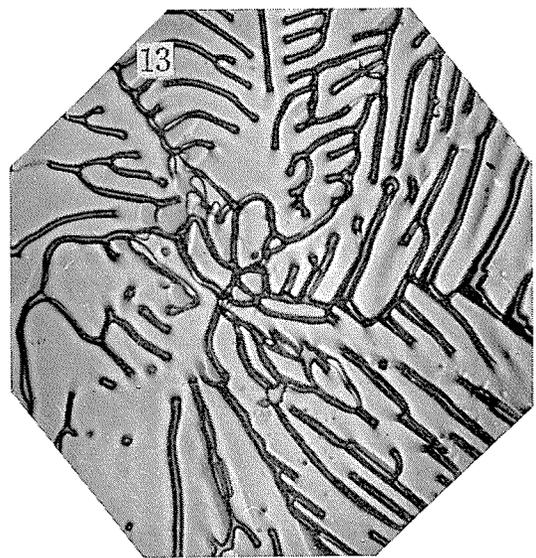
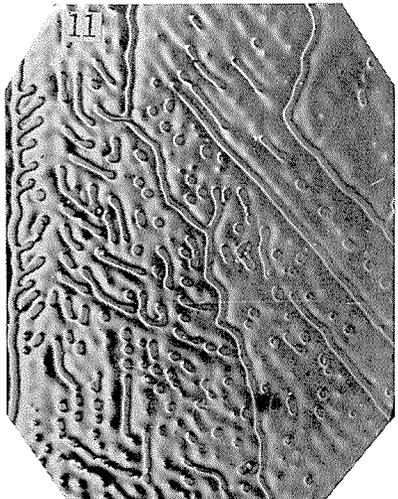
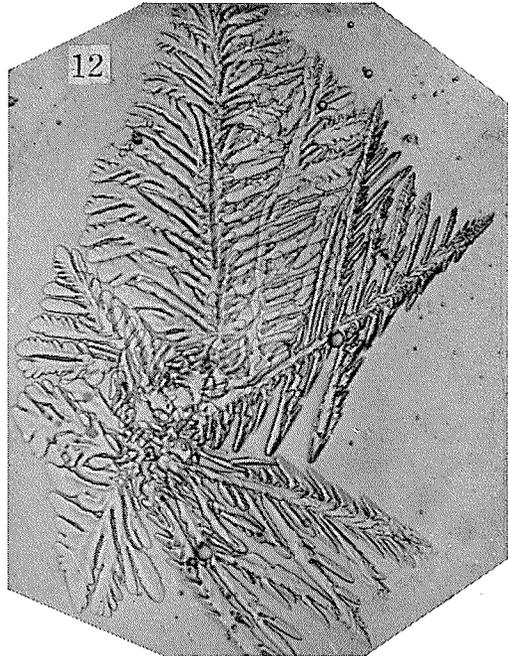
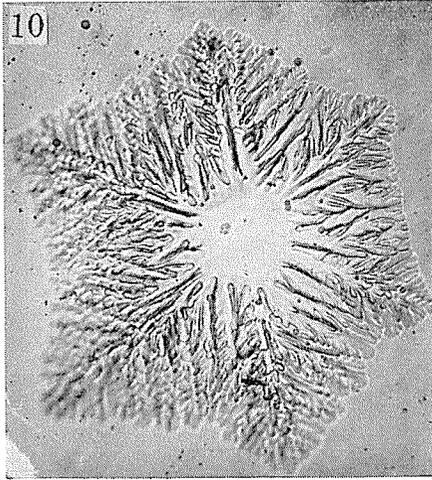
第 3 圖 版 營繭期までの幼蟲の血液の凍結 (約  $\times 100$ )。

10. 攝食活動期 (五令)。 $-0.8^{\circ}\text{C}$  で植氷, 10 秒後,  $-1^{\circ}\text{C}$  位。
11. 同上。 $-1^{\circ}\text{C}$  で植氷ゆつくり冷却し 30 分後,  $-4.8^{\circ}\text{C}$ 。血液は澁状または脈状になって氷晶中に閉じこまれる。
12. 營繭 3 日後。 $-0.7^{\circ}\text{C}$  で植氷, 10 秒後,  $-0.7^{\circ}\text{C}$  位。
13. 同上同じ氷晶の中心部, 9 分後,  $-8^{\circ}\text{C}$ 。血液は樹枝状の氷晶間に閉じこまれて後に分斷される。



第 1 圖 版





第 3 圖 版