

# 家蠶의 Virus 性 軟化病에 關한 研究

韓 季 容

(서울 農業 大學)

Study on the Infectious Flacherie Virus of Silkworm, *Bombyx Mori L.*

K. Y. Han

Seoul Municipal College of Agriculture

## Summary

Current overseas research reveals that among the pathogens causing flacherie of silkworm, damage by infectious flacherie virus is the most serious, but little research in this field has been reported in Korea.

This experiment was undertaken to observe the occurrence of infectious flacherie virus by means of biological environmental conditions associated with occurrence of virus disease and interaction of the virus of flacherie and *Bacillus* spp. isolated from flacherie silkworm, and to determine ways to check infection by the virus during the rearing of silkworms.

The results obtained are as follows:

1. The pathogen, infectious flacherie virus observed in Korea, is proved to be round in shape and 26-30m $\mu$  in diameter under observation with electron microscope.
2. The infectious flacherie virus-disease occurred apparently in conditions of nutritional disturbance such as shortage of diet or rearing in high temperature and humidity during the 3-4th instar.
3. The percentage of disease-occurrence was increased remarkably, and the latent period was shortened in the case of simple inoculation of virus suspension as compared with the suspension added with bacteria.
4. The application of calcium hydroxide in the silkworm-rearing bed is able to check infection of virus disease.

## I. 緒 言

蠶作은 膿病과 軟化病의 發生率에 따라 左右되는 것이다. 最近의 研究에 依하여 軟化病中에서 Virus 性軟化病이 發見되었으며 本病으로 因하여 連續적으로 遺作이 되는 事例가 많다고 하였다.

이에 關하여 처음으로 山崎 壽(1960)는 長野縣下의 集團의 遺作地帶에서 發生한 空頭性軟化病이 從來부터 提唱하였던 生理障害說 또는 細菌說에 因한 軟化病과는 달리 傳染性이며 그 病原은 經口接種과 電子顯微鏡

觀察로는 Virus 로 推定된다고 報告하였다. 細田(1962) 등은 그 遺作地帶의 軟化病蠶體에서 採取 繼代한 病原體(鬮崎株)를 供試하여 接種時期와 接種濃도에 따르는 發病과의 關係試驗에서 羅病率이 매우 높은 結果를 얻어 그 傳染性을 認定하였으며 鮎澤(1964) 등은 傳染性軟化病蠶體에서 遊離한 球形 Virus 粒子를 檢定하여 詳細히 報告하였다. 川瀨復藤(1967)은 遠心分離, Chlorform 處理, 硫安鹽析 등의 方法으로 精製한 本病의 Virus 는 直徑이 약 30 m $\mu$ 의 球狀粒子이고 紫外線吸收는 極小 240 m $\mu$ , 極大 260m $\mu$ , 260/280=1.4~1.5 인

典型的인 핵蛋白質의 性質을 띠운 RNA Virus 이라 하였으며 岩下 高橋(1967)는 軟化病Virus(FV) 感染蠶의 中陽細胞에서 核에 近接한 細胞質에 球狀의 20~25  $\mu$ m의 Virus 粒子가 膜構造에 따라서 規則的으로 配列하고 있는 境遇와 細胞內小器官이 崩壞한 細胞質內에 고루 散在하고 있음을 觀察함에 따라서 病原體와 增殖部位가 밝혀졌다. 이로서 Virus 性軟化病的 正貌는 判明되었으나 그 發病에 細菌이 關與되는가를 究明하기 爲하여 石川 宮就(1968)는 軟化病蠶에서 分離한 Streptococcus 및 Serratia 를 蠶蠶에 單獨으로 接種한데에서는 病蠶이 發生되지 않았으나 Virus 와 2種의 細菌을 各各 混合接種한 것에서는 發病率의 增加와 潛伏期間이 短縮되어 Virus 와 細菌과의 相互作用이 있음을 指摘하였으며 鮎澤 (1968)등은 人工飼料에 依한 個體育으로 널리 分布되어 있는 Virus 性軟化病的 Virus 와 自然發生한 軟化病蠶에서 分離한 細菌 G 27 과의 接種實驗에서 Virus 또는 細菌의 單獨接種에는 0~20%의 發病率인데 대하여 Virus 를 接種한 다음에 4齡이거나 5齡에 細菌을 接種하면 50~100%의 病蠶이 發生하여 石川 宮島의 實驗結果를 是認하였다. 더우기 Virus 를 微量接種하여 發病되지 않는 境遇에서도 細菌만 接種하면 100%에 가까운 發病率을 나타내는 境遇도 있다고 하므로 育蠶上 매우 重要な 蠶病이라 생각하게 되었다. 그 1

例로서 1962 年부터 3 個年間に 걸친 福島縣의 蠶病實態調査에서 軟化病中에 約 70%은 Virus 性軟化病이었으며 西城 西村(1965)은 埼玉縣에서의 蠶作과 本病의 發病率間에는 相關關係  $r=0.87$  로 比較的 높았다고 하였다. 그러므로 本病에 對한 基礎資料를 얻고자 1969 年 晚秋蠶期에 第一次的으로 起病性檢定을 하였고 今般에는 東亞自然科學獎勵金を 받아서 우리나라의 어떠한 育蠶條件에서 發病되며 그 病原體는 무엇인가를 電子顯微鏡으로 檢定하였으며 Virus 와 細菌과의 共同作用과 Virus 의 蠶座內 防止에 關해서 몇가지의 結果를 얻었으므로 이에 報告하는 바이다.

本 研究에 積極協調하여주신 東亞日報를 비롯하여 成均館大學校科學技術研究所의 蘇仁永教授와 韓國應用微生物研究所의 여러 教授님에게 眞心으로 感謝하오며 實驗遂行에 協力하여주신 京畿蠶業研究所의 韓昌祚課長과 本大學 蠶絲學科 吳駿植先生님과 金南琪 李鍾國 李春雨君에게 謝意를 表합니다.

## II. 材料 및 方法

### (1) 軟化病的 發生要因試驗

本 實驗의 供試蠶品種은 蠶 103×蠶 104 의 越年種이었으며 稚蠶期에 市平 壯蠶期에는 改良鼠返을 給與

Table 1. Rearing condition of silkworm in spring

Treatment	Rearing method					
Control	Instar					
	1st-2nd		3rd-4th		5th	
	T(°C)	H(%)	T(°C)	H(%)	T(°C)	H(%)
	26	80	25	75	23	70
High Temperature and Humidity in 3-4 instar	T and H are same as control		3rd-4th		T and R are same as control	
			T(°C)	H(%)		
			30	90		
Fed with half amount	1. T and R.H are same as control. 2. Fed with half amount of mulberry.					
Fed with soft leaf	1. T. and R.H. are same as control. 2. Fed with soft leaf.					
Fed with hard leaf	1. T and R.H are same as control. 2. Fed with hard leaf(leaves were collected from lower part of 1/3 in shoot).					
Fed with half soft leaf	1. T and R.H are same as control. 2. Fed with half soft leaf.					

Remark: T; Temperature, R.H; Relative Humidity

하였다. 試驗區는 分割區配置法으로 3反覆에 各區當 供試頭數는 300頭로 5月 17日 掃蠶하여 普通育으로 표 1과 같은 不良條件을 주워서 實施하였다.

病蠶調査는 病徵과 體液 또는 中腸組織의 磨碎液을 鏡檢하여 多角體有無에 따라 多角體病과 軟化病으로 分類하였다.

(2) 軟化病蠶의 中腸 磨碎濾過液에 의한 起病性檢定

夏蠶과 初秋蠶에 牧丹大同의 浸酸種을 供試하였으며 試驗場所는 京畿蠶業研究所 試驗室에서 分割區配置法으로 3反覆에 各區當 200頭로 改良鼠返을 給與하였다. 供試病原液은 표 1의 飼育試驗에서 發生한 軟化病蠶의 中腸을 採取하여 多角體가 없음을 確認하고 少量의 蒸溜水를 넣고 磨碎한 다음에 1000r.p.m 10分間 遠



Fig. 1. Bacillus Bacteria 1 (Electronmicroscope)  
A: Bacteria

에서 半 한마와 같은 方法으로 濾過한 液을 電子顯微鏡으로 觀察하였고 그 밖의 病蠶檢査는 (1)과 같이 行하였음.

(3) Virus 粒子的 電子顯微鏡檢定

成均館大學校 科學技術研究所의 蘇仁永教授에 依賴하여 檢定하였다.

(4) 病蠶의 中腸에 대한 病理組織學的 觀察

岩下, 管家(1968)의 Virus 性軟化病蠶의 簡易組織診斷法에 따라서 空頭病蠶과 縮小病蠶의 中腸皮膜組織을 Pyroninmethylgreen 染色에 依한 塗抹標本을 作成하여 封入體形成有無狀況을 觀察하였으며 常法에 따라 中腸組織의 切片標本을 作製하여 Virus 性軟化病과 細菌性軟化病의 症狀를 比較하였다.

(5) 軟化病發生에 있어서 Virus와 細菌과의 共同作用

心分離한 上澄液을 또 다시 Seitz 限外濾過器에 濾過한 一部液을 成均館大學 電子顯微鏡室에서 Virus 檢定을 依賴하여 Virus의 存在하고 그 濾液을 原液으로 10倍液 100倍液 1,000倍液, 10,000倍液으로 稀釋하였다. 이와같이 調製한 濾液을 各濃度別로 生葉에 塗抹하여서 各齡別로 蠶蠶과 起蠶에 12時間에 添食接種하였으며 添食期間中은 覆蓋育으로 하고 添食齡期와 다음 齡期까지 普通育으로 飼育하였다.

病蠶檢査는 病蠶의 個個體에 對한 病原體를 電子顯微鏡檢定으로 Virus 인가를 研明하여서 그 發病數를 調査하여야 原則이였지만 本大學에 電子顯微鏡施設을 갖추지 못하여 到底히 不可能할일이어서 空頭症狀와 縮小症狀를 띤 壯蠶期의 病蠶을 無作爲로 採取하여 위



Fig. 2. Bacillus, Bacteria 2 (Electronmicroscope)  
A: Bacteria.

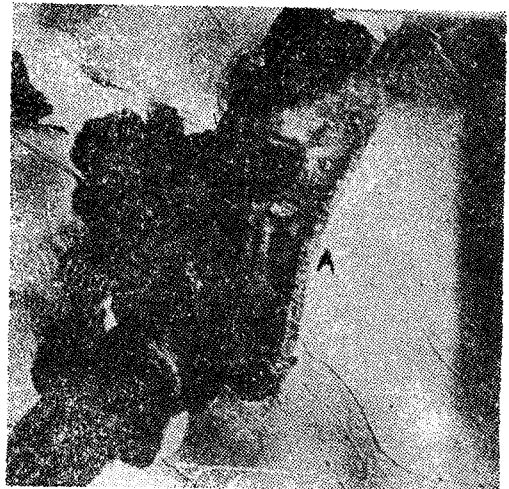


Fig. 3. Bacillus, Bacteria 3 (Electronmicroscope)  
A: Bacteria.

秋蠶期에 牡丹×大同을 供試하여 分割區配置法의 3 反覆으로 各區當 200 頭씩 普通育에 改良鼠返을 給與하였다. 供試 Virus 液은 電子顯微鏡觀察에서 Virus 粒子를 確認한 濾過液을 10 倍의 濃度로 稀釋한 液으로 하였으며 供試細菌은 韓國應用微生物研究所에서 軟化病蠶體

로부터 純粹分離한 Bacillus 의 3 種菌株에 對하여 各各 1 白金耳量에 蒸溜水 10 cc 씩 넣어 調製하였고 다음 表 1, 2, 3 와 같다.

Bacillus 의 3 種菌株의 菌性은 다음과 같다.

### 1. Characteristics of physiological Activity

Strain No.	Gram Stain	Motility	Catalase	Indole	Methyl red test
B 1	positive	motile	positive	not produced	positive
B 2	negative	motile	positive	not produced	positive
B 3	variable	motile	positive	not produced	negative

Strain No.	Liquefaction in gelatin stab culture	Types of liquefaction in gelatin stab culture	Voges-Proskauer reaction
B 1	slow liquefaction	crateri-form	negative
B 2	not liquefaction		negative
B 3	slow liquefaction	crateri-form	negative

Strain No.	Gas produced test	Hydrogen sulfide test
B 1	not produced from glucose	not produced
B 2	not produced from glucose	not produced
B 3	not produced from glucose	not produced

### 2. Characteristics of Growth in Nutrient Agar

Strain No.	Shape	Size	Form	Elevation
B 1	rods(long)	0.9 to 1.4 by 2.9 to 5.0 microns	irregular	flat
B 2	rods	0.4 to 0.7 by 1.4 to 4.0 microns	circular	convex
B 3	rods	0.5 to 0.7 by 1.4 to 4.0 microns	circular	convex

Strain No.	Edge	Optical features	Rate of colony formation	Surface form	Contents
B 1	curled	opaque	rapid	smooth	curled
B 2	undulate	translucent	rapid	striate	finely granular
B 3	entire	translucent	rapid	striate	finely granular

### 3. Characteristics of Growth in Nutrient Agar Slat

Strain No.	Amount of growth	Form	Elevation	Optical features
B 1	growth abundant	echinulate	flat	opaque
B 2	growth scant to moderate	echinulate	convex	translucent
B 3	growth scant to moderate	echinulate	convex	translucent

Strain No.	Brilliance	Color	Surface condition	Oder
B 1	dull	creamy white	smooth	fecal odor
B 2	glistening	grayish white	rough	none
B 3	dull	grayish white	rough	none

#### 4. Characteristics of Growth in Nutrient Broth

Strain No.	Surface growth	Amount of sediment	Nature of sediment
B 1	flocculant	little	flocculant
B 2	flocculant	little	flocculant
B 3	membranous	little	flocculant

Strain No.	Amount of turbidity	Oder	Amount of growth
B 1	moderate uniform turbidity	facal oder	growth abundant
B 2	turbidity light	none	growth scant to moterate
B 3	turbidity light	none	growth scant to

實驗方法是 Virus 液 細菌液 및 Virus 液과 細菌液의 同量混合液을 生葉에 塗抹하여 蟻蠶에 12 時間 食下 시키었으며 病蠶檢査는 (1)의 方法과 同一하다.

#### (6) Virus 性軟化病의 蠶座內 感染防除試驗

晩秋蠶期에 牧丹×大同을 供試하고 (4)의 實驗에서 採取한 濾過液을 10 倍로 稀釋한 供試 Virus 液을 改良鼠返의 桑葉에 塗抹하여 2 齡起蠶에 12 時間 食下시킨 다음 新鮮한 甍잎을 給與하였으며 亂塊法으로 配置하고 3 反覆에 3 區當 300 頭씩 普通育을 하였다. 供試病原菌을 經口接種後에 하루에 1 回씩 隔沙劑로 標準區는 왕겨를 消石灰區는 消石灰粉末을 普通飼育할 때의 程度

의 量을 뿌리고 papzol 區는 0.09 m<sup>2</sup> 當 5 gr 을 蠶座에 고루 撒布하였다. 石灰窒素區는 桑田標準量의 石灰窒素를 2 倍量을 施與한 桑葉을 給與하였으며 病蠶檢査는 (1)의 實驗方法과 같이 하여 發病蠶數를 調査하였다.

#### Ⅲ. 實驗 結果

(1) 春蠶期의 어떠한 飼育中의 不良條件에서 軟化病이 發生되는가를 實驗한 成績은 Table 2 와 같다.

Table 2. Number of Flacherie in each Treatment

Treatment	Replication Stage	Flacherie				
		I	II	III	Total	Average
Control	1 st instar	1	1	1	3	1.00
	2 nd instar	3	3	1	7	2.33
	3 rd instar	3	8	2	13	4.33
	4 th instar	4	6	8	18	6.00
	5 th instar	6	4	7	17	5.67
	cocoon bed stage	2	3	3	8	2.67
	cocoon stage	3	2	4	9	3.00
	Total	22	27	26	75	3.57

Treatment	Item Replication stage	Flacherie				
		I	II	III	Total	Average
High. T. and H in 3~4 instar	1 st instar	4	2	2	8	2.67
	2 nd instar	5	3	14	22	7.33
	3 rd instar	6	5	6	17	5.67
	4 th instar	21	10	14	45	15.00
	5 th instar	9	7	13	29	9.67
	cocoon bed stage	18	24	19	61	20.33
	cocoon stage	16	21	12	49	16.33
	Total	79	72	80	231	11.00
Fed with half amount	1 st instar	8	4	2	14	4.67
	2 nd instar	7	7	5	19	6.33
	3 rd instar	4	8	6	18	6.00
	4 th instar	14	11	10	35	11.67
	5 th instar	21	25	18	64	21.33
	Cocoon bed Stage	36	40	30	106	35.33
	Cocoon Stage	6	9	11	26	8.67
	Total	96	104	82	282	13.43
Fed with soft leaf	1 st instar	1	1	0	2	0.67
	2 nd instar	5	8	2	15	5.00
	3 rd instar	11	6	5	22	7.33
	4 th instar	13	10	9	32	10.67
	5 th instar	9	9	11	29	9.67
	Cocoon bed stage	19	16	26	61	20.33
	Cocoon Stage	3	4	7	14	4.67
	Total	61	54	60	175	8.33
Fed with hard leaf.	1 st instar	5	3	1	9	3.00
	2 nd instar	8	3	7	18	6.00
	3 rd instar	0	1	7	8	2.67
	4 th instar	12	13	13	38	12.67
	5 th instar	11	14	9	34	11.33
	Cocoon bed Stage	22	26	18	66	22.00
	Cocoon Stage	9	4	8	21	7.00
	Total	67	64	63	194	9.24
Fed with half soft leaf	1 st instar	7	2	1	10	3.33
	2 nd instar	10	5	8	23	7.67
	3 rd instar	8	3	6	17	5.67
	4 th instar	12	12	8	32	10.67
	5 th instar	39	23	27	89	29.67
	Cocoon bed Stage	35	48	44	127	42.33
	Cocoon Stage	12	10	16	38	12.67
	Total	123	103	110	336	16.00
Sum	Total	448	424	421	1,293	10.26

軟化病의 發病蠶數는 표 3 과 같이 1% 水準에서 많았고 飼育中의 不良條件에 있어서 軟葉半減區이거나 給桑量半減區와 같이 누에는 榮養障害를 받았을 때에는 3~4 齡期에 高溫多濕의 氣象環境보다 發病數가 많았다

軟葉區와 硬葉區는 摘桑時의 氣象與件과 葉位의 正確度를 期하지 못하여 標準區와 큰 差異는 없었으나 實際로 春蠶期는 葉質과軟化病의 發生과는 깊은 關係가 없다고 思料되었다.

Table 3. Analysis of variance of the Table 2

Factor	DF	SS	MS	F
Total	125	11,208.36		
Replication	2	10.43	5,215	0.7761
Treatment(V)	5	1,953.59	390.72	58.1515**
Error (a)	10	67.19	6,179	
Stage (D)	6	5,580.86	930.143	81.1076**
DV	30	2,770.57	92,352	8.0530**
Error(b)	72	825.72	11,468	

各 試驗區에서 多角體病의 發生率이 높았고 軟化病 蠶體의 一部分의 磨碎濾過液을 電子顯微鏡으로 Virus 粒子를 檢出되어 Virus 性軟化病이 發生하였음을 認定하

였다. 이를 確認하기 爲하여 供試 Virus 液을 生葉添食 法으로 接種하여 그 起病性을 檢定한 成績은 다음과 같

Table 4 Number of silkworms infected by flacherie

rearing	Replication	Silkworm infected by flacherie (%)									
		Summer rearing					Early fall rearing				
		I	II	III	Total	Average	I	II	III	Total	Average
Distilled water	1st instar	19.5	23.7	26.5	69.7	23.23	5.0	11.5	9.5	26.0	8.66
	2nd instar	27.0	23.0	25.0	75.0	25.00	13.5	21.5	8.5	43.5	14.50
	3rd instar	29.0	18.0	24.5	71.5	23.83	5.5	12.0	10.5	28.0	9.33
	4th instar	13.5	15.5	15.5	44.5	14.83	19.5	28.0	39.0	86.5	28.83
	5th instar	12.0	15.5	8.5	36.0	13.00	14.5	17.5	18.5	50.5	16.83
	Sum Total	101.0	95.7	100.0	296.7	19.78	58.0	90.5	86.0	234.5	15.63
Non-filtered susp.	1st instar	94.2	91.1	88.7	274.0	91.33	96.5	90.5	91.5	278.5	92.83
	2nd instar	82.03	90.0	80.5	252.5	84.17	81.5	80.5	71.0	233.0	77.66
	3rd instar	58.0	74.0	60.0	192.0	64.00	68.0	73.5	55.5	196.5	65.50
	4th instar	69.0	46.5	79.5	195.0	65.00	65.5	62.5	65.0	193.0	64.33
	5th instar	34.5	40.0	43.0	117.5	39.17	31.0	23.5	37.5	92.0	30.66
	Sum Total	337.7	341.6	351.7	1,031.0	68.73	342.5	330.5	320.0	993.0	66.20
Filtered susp.	1st instar	31.2	33.5	36.6	101.3	33.77					
	2nd instar	35.0	34.0	31.0	100.0	33.33					
	3rd instar	29.0	30.5	22.6	82.1	27.37					
	4th instar	27.0	30.0	31.0	88.0	29.33					
	5th instar	20.0	22.0	17.5	59.5	19.83					
	Sum Total	142.2	150.0	138.7	430.9	28.73					
Diluted ×10	1st instar	25.4	34.5	35.5	95.4	31.80	88.0	91.5	89.5	269.0	89.66
	2nd instar	40.0	37.5	42.0	119.55	39.83	71.0	68.0	56.5	195.5	65.16
	3rd instar	32.5	31.5	28.5	92.5	30.83	70.0	60.0	75.0	205.0	68.33

treatment	rearing Replication Age	Silkworm infected by flocherie (%)									
		Summer rearing					Early fall rearing				
		I	II	III	Total	Average	I	II	III	Total	Average
	4 th instar	31.5	28.0	28.0	87.5	29.17	65.5	63.0	74.0	202.5	67.50
	5 th instar	17.2	20.0	26.0	63.2	21.07	36.5	27.0	32.0	95.5	31.86
	Sum Total	146.6	151.5	160.0	458.1	30.54	331.0	309.5	327.0	967.5	64.50
Diluted × 100	1 st instar	32.5	31.5	35.0	99.0	33.00	82.5	81.5	79.0	243.0	81.00
	2 nd instar	38.0	37.0	39.0	114.0	38.00	62.0	64.5	70.5	197.0	65.66
	3 rd instar	31.5	29.5	22.5	83.5	27.83	70.0	74.5	53.0	197.5	65.83
	4 th instar	22.9	21.6	15.5	60.0	20.00	26.5	31.5	29.0	87.0	29.00
	5 th instar	13.0	19.0	17.5	49.5	16.50	26.0	20.0	37.0	83.0	27.66
	Sum Total	137.9	138.6	129.5	406.0	27.06	267.0	272.0	268.5	807.5	51.50
Diluted × 1,000	1 st instar	26.5	30.5	25.5	82.5	27.50	35.5	29.5	41.0	106.0	35.33
	2 nd instar	26.5	25.5	27.5	79.5	26.50	41.0	47.0	48.5	136.5	45.50
	3 rd instar	22.5	22.0	18.0	62.5	20.83	30.5	43.5	35.5	109.5	36.50
	4 th instar	23.4	11.7	11.1	46.2	15.40	27.5	31.0	25.0	83.5	27.83
	5 th instar	10.0	11.0	12.0	33.0	11.00	26.5	23.0	29.0	78.5	26.16
	Sum total	108.9	100.7	94.1	303.7	20.25	161.0	174.0	179.0	514.0	34.26
Diluted × 10,000	1 st instar	35.0	37.5	46.0	118.5	39.50	31.5	32.5	36.5	100.5	33.50
	2 nd instar	25.5	35.5	25.5	86.5	28.83	32.0	42.0	40.0	114.0	38.00
	3 rd instar	24.5	20.5	24.5	69.5	23.17	37.0	27.0	29.5	93.5	31.16
	4 th instar	19.0	20.5	19.5	59.0	19.67	27.5	17.5	28.0	73.0	24.33
	5 th instar	18.0	15.7	19.0	52.7	17.57	22.0	20.0	25.0	68.0	22.66
	Sum Total	122.0	129.7	134.5	386.2	25.74	151.0	138.0	159.0	449.0	29.93
Total		1096.3	1107.8	1108.5	3312.6	31.55	1310.5	1315.5	1339.5	3965.5	44.06

表 4 에서 보는바와 같이 1%의 水準에서 起病性을 認定하였으며 大體로 Virus 를 多量接種한 것은 少量接種한 것보다 潛伏期間이 짧고 發病率이 높았다. Virus

에 對한 抵抗力은 齡이 높아감에 따라 強하였음은 표 5, 6에서 보는 바와 같다.

本 實驗은 生葉添食法으로 遂行하였기 때문에 病原

Table 5. Difference between mean of each instar(Summer rearing)

Stage	1 st instar	2nd instar	3rd instar	4 th instar	5 th instar
Average	c 40.02	c 39.38	b 31.12	b 27.63	a 19.59

LSD 5%=3,690 1%=4,907

Table 6. Difference between mean of each instar (early fall rearing)

stage	1 st instar	2 nd instar	3 rd instar	4 th instar	5 th instar
Average	e 68.02	d 61.30	c 55.33	b 48.37	a 31.16

LSD 5%=3,939 1%=5,252



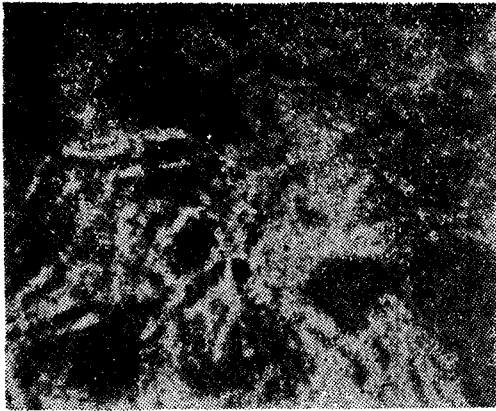


Fig 4. Mid-gut cell of diseased silkworm, stained with PM. 900×, A ; inclusion body.

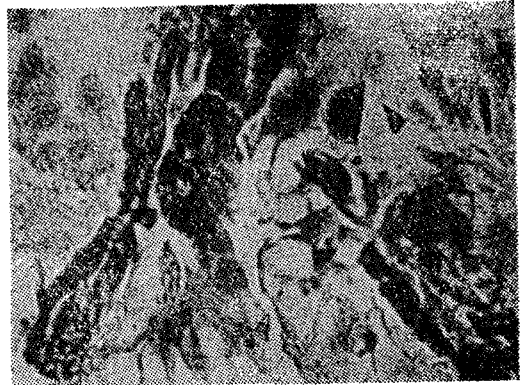


Fig 5. Histological preparation of mid-gut of diseased silkworm. Stained with PM. 600×, A; inclusion body.

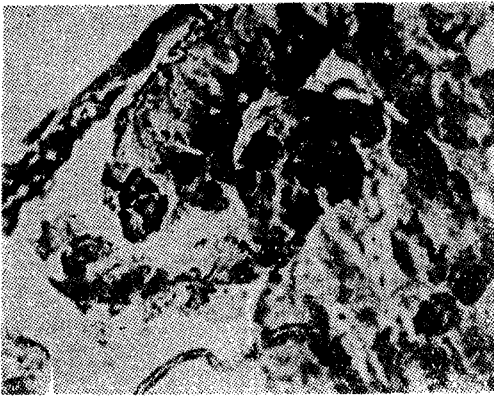


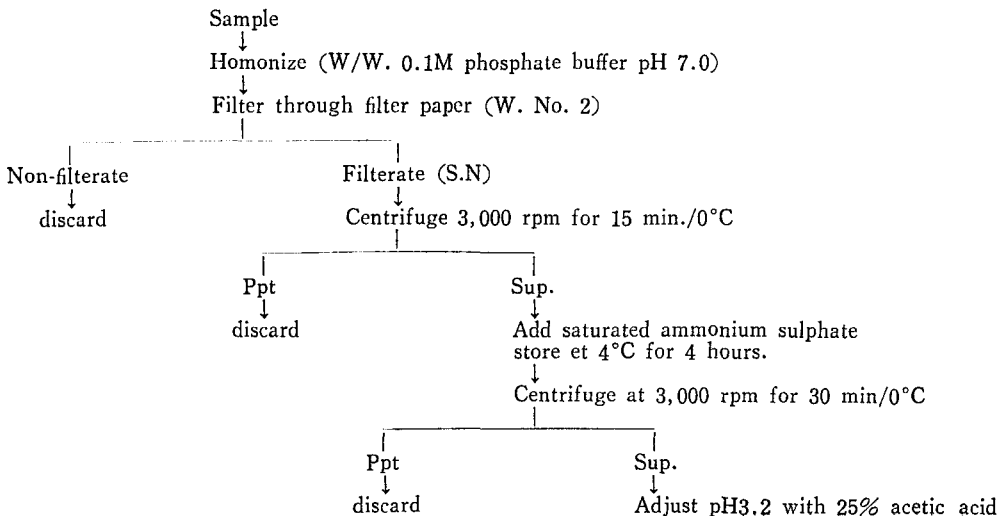
Fig 6. Cross section of silkworm mid-gut infected by bacterial flacherie. Stained with hematoxylin-eosin, degenerated cells were released in mid-gut cavity.

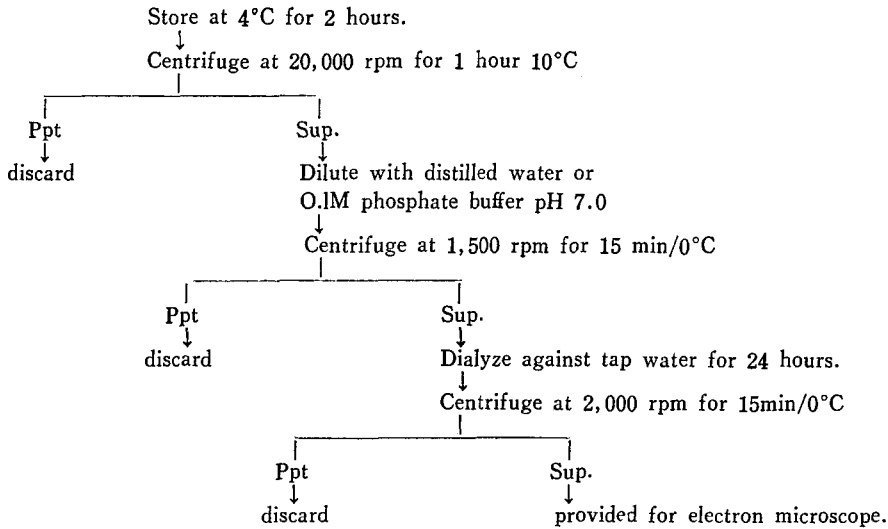
성이 강한 卒倒菌과 같은 細菌이 經口로 侵入할 可能性이 많아 供試 Virus 液의 接種으로 起病性を 認定 하였다고 해서 Virus 性軟化病이라고 速斷하기에는 많은 問題點이 있음에 따라 岩下 管家<sup>14)</sup>의 診斷法에 依하여 PM 染色으로 塗抹標本을 作成하여 中腸皮膜細織을 觀察한바 사진 5에서 封入體가 形成되었고 中腸의 切片標本에서는 사진 6와 같이 封入體가 觀察되었는데 對하여 細菌性軟化病의 切片標本에는 封入體의 形成이 없었으며 中腸腔에 退化細胞가 脫落되어있는 것을 觀察할 수 있었다.

本 實驗에서 發生한 病蠶의 中腸磨碎濾過液體를 電子顯微鏡으로 다음과 같이 精製하여서 觀察하였다.

軟化病蠶體에서 檢出한 Virus 粒子는 膿病과 같이 多角體를 形成하지 않는 遊雜의 球形 Virus 이었음은 鮎澤(1964) 須藤(1967), 岩下高橋<sup>11)</sup> 등의 觀察과 一致하

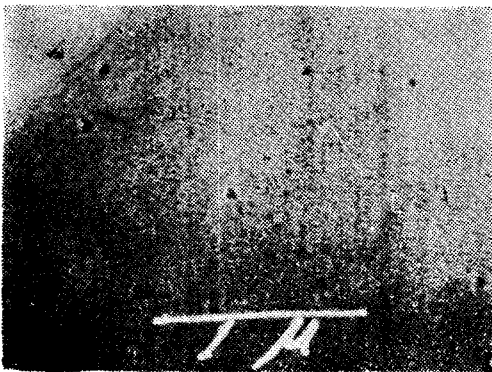
Table 7. purification process of the infections flacherie virus of silkworm.





**Table 8. Examination process of the in infections flacherie virus of silkworm.**

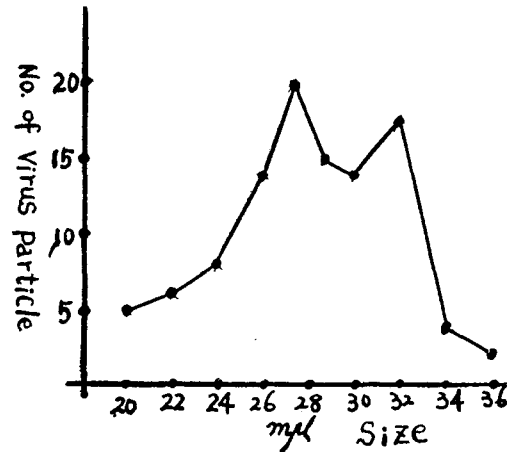
cleave Sample
↓
spray for wire grid/150 mesh/ /colodian membrane
↓
dry for room Temp.
↓
shadowing for carbon (99.9999) at 10-5×2mm Hg in vaccum evaporator HITACH HUS-3 for 45°
↓
Electron micrography for HITACHI HS-6/50 KW



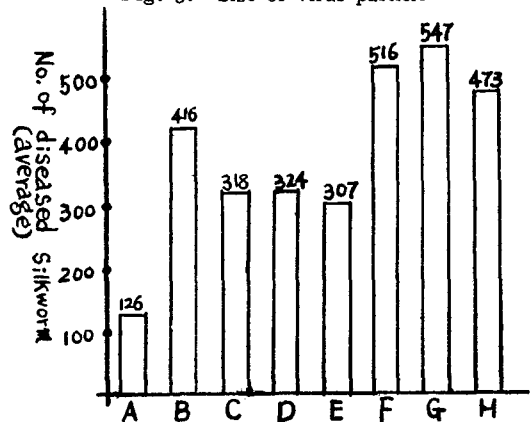
**Fig. 7. Virus particle of the infections flacherie virus of silkworm.**

였으며 크기는 20.8~34 $\mu$  이고 中央値가 26~30 $\mu$ 로 Fig. 8 에서 보는 바와 같다.

(2) Virus 性軟化病의 發病에 미치는 細菌의 影響을 調査하기 爲하여 Virus 10 倍液과 細菌液을 1:1 의 比率로 混合하여 蠶蠶와 生葉添食한 接種試驗成績은 도



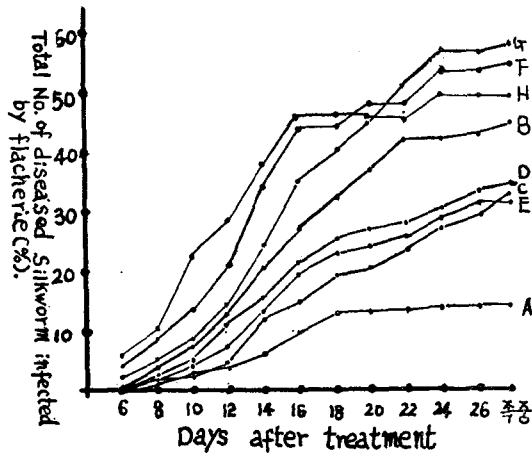
**Fig. 8. Size of virus particle**



**Fig. 9. Interaction between infection flacherie virus and some bacteria in the silkworm**

Remark. A: Control B: Virus iosolution  
C: Bacteria 1 D: Bacteria 2  
E: Bacteria 3 F: Virus+Bacteria 1  
G: Virus+Bacteria 2 H: Virus+Bacteria 3

Fig. 10. Total No Number of diseased silkworm inoculated with flacherie virus and bacteria spp.



표와 같이 細菌의 B<sub>1</sub>區 B<sub>2</sub>區 B<sub>3</sub>區는 共히 標準蒸溜水 區보다 發病率이 높았으나 Virus 10 倍液의 單獨接種區 보다는 낮았다. 그러나 Virus 와 細菌을 混合接種하였 을 때는 어느것을 單獨接種한 境遇보다도 發病率이 높 아서 共同作用을 이루어졌음은 石川 宮島<sup>11)</sup>와 鮎澤 古 田<sup>2)</sup>의 實驗과 一致되었으며 潛伏期間이 짧았다(Fig. 10 參照)

(3) 供試 Virus 의 10 倍液을 2 齡起蠶에 添食接種하 여 Virus 의 蠶座內 感染을 防除하고자 晚秋蠶期에 試 驗한 成績은 Fig. 11 과 같이 消石灰를 蠶座에 뿌리는것 이 가장 效果的方法이었으며 Papzol 區나 石灰窒素施與 區는 큰 差異를 認定할 수 없었으나 山崎는 Papzol 은 蠶糞에 들어있는 Virus 의 第二次傳染을 防止하는데에 效果가 있다고 하였다.

#### IV. 考 察

著者は 秋蠶飼育(1969)에서 發生한 軟化病蠶의 中腸 組織에 多角體를 形成하지 않는 個體의 磨碎濾過液을 蠶座에 生葉添食으로 接種하여 起病性을 認定하였고 本 實驗에 있어서도 같은 結果를 얻었으므로 田中 清水<sup>20)</sup> 의 同定法에 따라 Virus 性軟化病이 發生한다고 推定 하였다. 그러나 河北 林, 渡邊는 傳染性軟化病蠶의 磨碎液에 起病性因子를 細菌學的으로 再檢討하였던 바 限外濾過하는 Micoplasma 와 같은 微生物(PPLO)

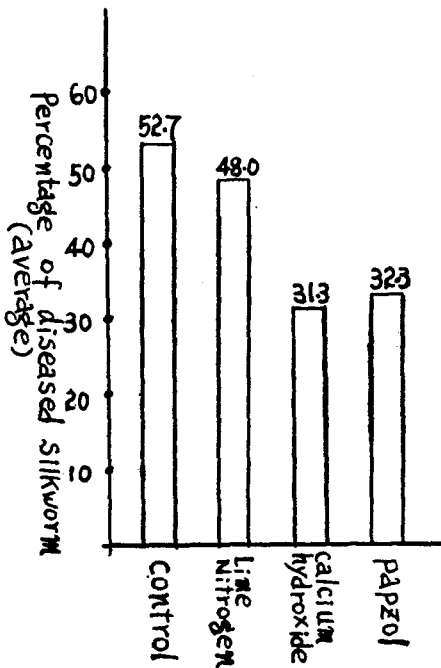


Fig. 11. Control experiment various in treatment



Fig. 12. Bacteria like Bacillus Sotro  
(Electron Microscope)

이 존재하여 軟化病의 病原이 될수 있다는 점으로 보아 起病性이 있다고 해서 Virus 性軟化病이라 推定하기에는 問題點이 남아있을 뿐만 아니라 Fig. 11, 12 과 같은 毒素을 가진 卒倒菌의 類似菌이 軟化病蠶體에서 檢索된 것을 이루어 보아 兩蠶期에 걸친 實驗資料로서는 Virus 性軟化病으로 同定하기에는 未及하다고 생각하여 岩下管家<sup>14)</sup>의 病理組織學的 診斷法에 따르는 中腸組織標本에서 Pyronin 好染性的 封入體를 Fig 4, 5 에서와 같이 檢出함과 電子顯微鏡觀察에서 多角體를 形成하지 않는 遊離의 球狀 Virus 粒子를 把握하게 되므로서 Virus 性軟化病의 發生을 確認하게 된 것이다. 勿論 Virus 粒子에 關한 寫眞攝影觀察을 著者自身이 하지않아 青木<sup>3)</sup>著者에 揭載된 鮎澤干尋의 Virus 原圖와 다른바도 없지않으나 이는 寫眞의 擴大差異에 있다고 思料되었으며 Virus 의 直徑은 約 27 m $\mu$ 로 되어있고 岩下 高橋<sup>12)</sup>는 20~25m $\mu$  川瀬 須藤<sup>4)</sup>는 30 m $\mu$ 로서 크기의 幅이 매우 넓은것을 보아서 本檢定에 큰 錯誤가 없다고 認定되지만 앞으로 더욱 實驗을 하여서 補完하고자 생각하는 바이다.

(2) 最近에 있어서 家蠶의 Virus 病發生에 對하여 感染이나 誘發이나 하는 論題를 놓고 서로의 立場대로 論及되고 있다. 卽有賀 (1963)들은 多角體病이 理化學的 또는 生物學的의 處理로 誘發된다고 한데 松原(1966)는 全齡無菌飼育에서 軟化病이나 多角體病이 誘發되지 않았다고 하여 서로 엇갈리고 있다. 이에 關하여 日本蠶絲學會 第36回 Symposium에서 鮎澤는 微量感染된



Fig. 13. toxin of Bacteria 10,000 $\times$   
(Electron microscope)

Virus와 宿主間에 平衡狀態를 維持하고 있을 때를 Occult Virus이라 하였고 石川은 이 Occult Virus는 前代부터 傳해오는 것보다 그 代의 初期에 感染된 것이 어떠한 Stress로 誘發된다고 하였다. 이와같은 見解로 볼 때에 Virus 性軟化病의 Virus도 鮎澤의 調査한 바와 같이 昆蟲의 Moratorvirus라면 自然界에 널리 分布되어 있어서 家蠶의 幼蟲에 Contamination되어 Occult Virus로 있다가 本實驗<sup>11)</sup>과 같은 不良條件으로 飼育하면 誘發된다는 것은 있을 수 있는 것이다. 西城 西村<sup>18)</sup>은 軟化病의 傳染性에 關한 研究에서 人爲的 誘發條件으로는 物理的 環境보다 榮養的 生理障害에 있었다고 하였음은 그 見解에 알맞는 實驗例시라고 생각함에 따라 Virus 性軟化病에도 多角體病의 誘發과 같은 廣義의 誘發現象이 나타난다는 認定을 더욱 굳게 되었다.

(3) 石川 宮島<sup>11)</sup>는 病原性이 매우 弱한 細菌일지라도 Virus과의 相互作用으로 發病率이 높아졌다고 하였음은 本實驗과 같은 傾向이었고 鮎澤 古田<sup>2)</sup>은 Virus 性軟化病이 發現되지 않는 微量의 Virus接種을하면 약 100%에 가까운 發病率이 나타나는 경우도있는데 對하여 Virus는 First invader로서 細菌의 繁殖을 助長하기 때문이라고 解釋을 내리고 있는것이다. 이와같은 實驗과 理論이 바로 누에를 飼育하는데 適用된다고 하면 細菌性軟化病보다도 Virus 性軟化病은 蠶作安定上 매우 重要な 蠶病이라고 推察되었다. 그러므로 蠶品種間에는 Virus의 感收性이 다르므로<sup>10)</sup> 經座接種<sup>21)</sup>에 依한 蠶區

選拔<sup>7)</sup>로서 蛾耐病性品種을 育成하여 本病을 豫防하는것이 基本課題라고 생각하였으며 5-fluorouracil는 Virus의 增殖抑制에 効果의이였다는 宮島 川瀨의 實驗과 같이 抑制藥品開發과 Virus의 不活化에 有効適切한 方法으로 누에의 Virus 汚染을 미리 막아야 하겠다. 大久保<sup>17)</sup>는 蠶蛾에 Virus의 不顯性感染이 있었다고 하였으므로 蠶種製造家の 施設을 改善하여서 優良蠶種生産에 힘을 기울여야 할 것이며 좋은 育蠶條件으로 廣義의 誘發現象이 일어나지 않도록 누에를 保護함과 아울러 本實驗成績에서 5-fluorouracil는 Virus의 增殖抑制에 効果의이였다는 宮島 川瀨의 實驗과 같이 抑制藥品과 Virus의 不活化에 有効適切한 消毒藥品이 開發되어 防除에 萬全을 期함과 아울러 消石灰를 使用하여 Virus의 蠶座內感染을 防止하여야 하겠다. 大久保<sup>17)</sup>는 Virus의 不顯性感染이 있다고 하였으므로 蠶種製造家の 施設을 改善하여서 優良蠶種을 生産하고 廣義의 誘發現象이 일어나지 않도록 좋은 生活條件으로 누에를 보는 바와 같이 消石灰를 使用하여 Virus의 蠶座內感染을 防止하여야 하겠다.

本 研究에서 Virus 性軟化病에 對한 基礎資料를 얻었으므로 앞으로 實驗을 계속하여 未及한바를 補完하고저 하는바이다.

## V. 摘 要

最近 外國에서 Virus 性軟化病을 發見하였으며 本病으로 因한 被害는 다른 軟化病보다 매우 甚하였음을 밝혔다. 그러나 우리나라에서는 거의 發病與否조차 밝혀지지 못하고 있는것이다. 그러므로 本 研究에서 Virus 性軟化病이 發生하는가를 生物學的檢定과 電子顯微鏡觀察로 究明하였고 家蠶을 어떠한 不良條件으로 飼育하였을 때에 誘發現象이 나타나는가를 調査하였다. 그리고 軟化病의 Virus와 軟化病蠶體에 分離한 Bacillus spp의 細菌과의 共同作用 및 Virus의 蠶座內感染防止에 對하여 實驗을 하였다.

그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1) 우리나라에서 Virus 性軟化病이 發生하였으며 그 病原體인 Virus 粒子는 球形이고 直徑이 26~30 m $\mu$  이었음을 同定하였다.

2) 누에를 食桑不足으로 因한 榮養障害를 입히게 하거나 3~4 齡期의 高溫多濕環境에서 飼育하면 廣義의 誘發現象이 뚜렷이 나타났음을 認定하였다.

3) Virus 또는 細菌을 單獨接種한 境遇보다 混合接種한 境遇는 潛伏期間이 짧고 發病率이 높은 結果를 얻어 Virus에 細菌과의 共同作用이 이루어졌음을 認定하

였다.

4) Virus의 蠶座內感染防止에는 消石灰를 使用함이 效果의方法이 있음을 認定하였다.

## 參 考 文 獻

- 1) 有馬正三·阿久津弘美·河村尚德(1967): 第37回學術講演要旨·232.
- 2) 鮎澤千尋·古田要二·兒王禮次郎·中筋祐五郎(1968): 日蠶雜·37, 395~402.
- 3) 青木·清著(1969): 蠶桑病害蟲論 174~261.
- 4) 川瀨茂實·須藤千春·山崎(1967): 第37回學術講演要旨, 232.
- 5) 友田亘孝·坂口謹一郎編(1960): 微生物實驗法26~29.
- 6) 古田要二·鮎澤千尋(1968): 第38回學術講演要旨, 252.
- 7) 敏田敏夫(1968): 日蠶雜 37, 281~287.
- 8) 福島縣蠶絲課編·新しい養蠶, 97~101.
- 9) 細田茂和 東 敏夫 山崎 壽(1966) 日蠶雜 35, 71~77.
- 10) 韓季容(1969): 韓國微生物學會誌, 21~34
- 11) 石川義文·宮島成壽(1968): 日蠶雜 37, 475~476.
- 12) 岩下嘉岩·高橋章夫(1967): 第37回學術講演要旨.
- 13) \_\_\_\_\_. 管家英治(1968): 第38回 國學講演要旨, 332.
- 14) \_\_\_\_\_. 管家英治(1969): 日蠶雜 38, 64~70
- 15) 栗栖彦彦 內海 進, 市川吉夫(1966) 第36回學術講演要旨, 235
- 16) 丸山茂和·市岡正道(1966): 第36回學術講演要旨 443.
- 17) 大久保保紀元(1966): 日蠶雜 81-84.
- 18) 埼玉縣蠶業試驗場編, 研究業績要錄(1966): 294~298.
- 19) 田中茂男(1969): 日蠶雜 38 21-27
- 20) \_\_\_\_\_. 清水孝夫(1967): 長野蠶試要報 No. 3. 61-69
- 21) 宇治川喜平·有賀久雄(1966): 日蠶雜 35, 23-26.
- 22) 渡邊正男外·6人(1968): 日蠶雜 37, 213~218.
- 23) 山崎蠶(1960): 蠶絲界報 Vol. 67, No 816, 14-17.
- 24) \_\_\_\_\_. (1962): 蠶絲界報Vol. 71, No. 834, 26-27.
- 25) \_\_\_\_\_. 山田たけを·尾澤あつ子(1968): 第38回學術講演要旨 335.
- 26) \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 小林あつ子(1968): 日蠶雜 37 155-156
- 27) \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. (1965): 日蠶雜 34, 355-358.
- 28) \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. (1966): 日蠶雜 35, 158-160, 161-163.