

# 家蠶 細胞質多角體 바이러스의 誘發, 干涉 및 病原性 增進現象에 의한 經卵傳達에 관한 研究

林 鍾 聲

農村振興廳 蠶業試驗場

## Studies on the Transovarial Transmission of Cytoplasmic Polyhedrosis Virus with Reference to the Phenomena of Induction, Interference and Virulence Enhancement in the Silkworm, *Bombyx mori*

Jong Sung Lim

Sericultural Experiment Station, O.R.D.

### SUMMARY

Transovarial transmission of cytoplasmic polyhedrosis virus in the silkworm was studied by observing the phenomena of induction, interference and virulence enhancement in the larvae from moths inoculated with hexagonal polyhedra of cytoplasmic polyhedrosis virus.

The experimental results obtained are as followings.

1. The effect of inoculation with tetragonal polyhedra of cytoplasmic polyhedrosis virus on the rate of infective induction with hexagonal polyhedron virus and with hexagonal plus tetragonal polyhedron viruses in the larvae from moths infected with hexagonal polyhedron virus was studied. Infection rate was higher by 40 to 60 percent in the larvae from infected female group than in the larvae from noninfected female group.
2. In the studies of the effect of formalin-feeding on the induction of infection with hexagonal polyhedron virus, infection rate was higher by 40 percent in the larvae from infected female group than in the larvae from noninfected female group. However, there was no significant difference in the infection rates between the two formalin-concentration groups.
3. The effect of cold treatment on the induction of infection with hexagonal polyhedron virus was studied. Infection rate was higher by 50 percent in the larvae from infected female group than in the larvae from noninfected female group. No difference was found in the infection rates of the two treatment groups of 12 and 48 hours.
4. The phenomena of induction and interference were studied by observing rate of infection with hexagonal polyhedron virus induced by the inoculation with tetragonal polyhedron virus. The degree of interference of primary hexagonal polyhedron virus by secondary tetragonal polyhedron virus was increased as the dosage of secondary virus was increased. At the concentration of  $1 \times 10^8$ /ml of the secondary virus, the degree of interference was similar to that of control group. On the other hand, infection with tetragonal polyhedron virus at low concentration was interfered by the primary virus. At the concentration of  $1 \times 10^7$ /ml of tetragonal polyhedron virus, however, the rate of infection with tetragonal polyhedron virus was increased sharply, which is still lower by 30 percent than that of control group.

5. In the studies of induction and virulence enhancement, based on the rate of mixed infection with hexagonal and tetragonal polyhedron viruses, the highest difference of infection rate between experimental group and control group exceeded 40 percent when the concentration of tetragonal polyhedron virus was  $1 \times 10^7$ /ml. However, the infection rate of control group was not affected by concentrations of tetragonal polyhedron virus.

## I. 緒 論

家蠶(*Bombyx mori*, Linnaeus)의 세포질多角體 바이러스는 Ishimori(1934)에 의하여 처음으로 發見되었고, 辻田(1949)는 이 바이러스 多角體의 形態가 六角型임을 밝혔다. 北澤等(1959)은 同一 幼蟲內에 六角型과 四角型의 細胞質多角體 바이러스가 混合感染될 수 있다고 報告하였고, Hukuhara等(1966\*)은 三角型의 細胞質多角體 바이러스를 또한 分離同定하였다. 最近에 이르러 山口等(1970, 1973 a,b)에 의하여 새로운 바이러스株로 생각되는 中腸核多角體 바이러스 A, B 및 C가 分離同定되었다. 韓國에서는 金(1965)이 細胞質多角體 바이러스病을 처음 報告하였다.

昆蟲 바이러스의 經卵傳達는 Conte(1907)와 Bolle(1908)에 의하여 처음으로 알려졌으며, Bergold(1958 a,b)는 이것을 transovium과 transovarial transmission으로 나누어 설명하였다. 福原(1962)에 의하면 家蠶의 細胞質多角體 바이러스도 經卵傳達된다고 하였다. 이 傳達過程은 潜在性 바이러스(occult virus)로서 蠶卵을 거쳐 前代의 蠶兒에서 次代로 傳達된다고 하였다. 이 사실은 昆蟲體內的 潜在性 바이러스를 直接的인 方法이 아니고 다만 間接的인 方法으로 알 수 있었다. 즉 바이러스를 活性化하는 誘發現象을 利用하여 바이러스의 感染을 確認하였다.

福原(1962)와 有賀等(1962, 1964)은 細胞質多角體 바이러스의 經卵傳達를 究明하였는데, 福原(1962)는 5齡起蠶을 5°C에서 24時間 冷藏處理한 후 正常飼育을 한 低溫處理의 單一活性化法을 적용하였다. 이로써 四角型의 細胞質多角體 바이러스가 潜在狀態로 蠶卵을 통하여 前代에서 次代蠶으로 經卵傳達되었다고 하였다. 有賀等(1964)도 福原(1962)와 같은 方法인 單一活性化法을 적용하여 誘發케한 實驗에서 四角型 細胞質多角體 바이러스의 活性化程度는 바이러스病에 抵抗力이 강한 家蠶品種에서 보다 약한 品種에서 높았다고 報告하였으며 抵抗力을 좌우하는 遺傳因子는 바이러스의 活性化에 중요한 역할을 하는 것 같다고 하였다.

Cunningham(1967\*)은 潜在性 바이러스를 lysogenic bacteriophage에 비유하여 이것이 provirus처럼 昆蟲體內에 存在하고 있다가 活性化되면 lytic phase로 이

행된다고 하였다.

Steinhaus(1958a,b, 1960,)는 昆蟲의 潜在性 바이러스를 活性化시키는 要因으로서 密育, 化學劑의 添食, 高溫接觸, 低溫接觸, 심한 乾燥, 多濕, 絶食, 榮養의 缺乏, 特異成分의 缺乏, 飼料의 過水分含量, 酸素의 缺乏, hormone의 不均衡, 中毒, 太陽照射, X-ray, 物理的 傷處, 過度한 活動의 17가지로 分類하였다. 이와 같은 活性化 要因은 목적에 따라 室驗室內과 野外用으로 구분되어 있다. Cunningham(1967<sup>b</sup>)은 지금까지 室驗室內 要因으로서 物理的 活性化要因(密育, 飼料, 溫度, 濕度, 紫外線 및 X-ray照射), 化學的 活性化要因, 異型바이러스 添食등을 들었다. 그리고 Aruga(1963)도 家蠶幼蟲에 여러 종류의 室驗室內用 活性化 要因을 적용하였다.

冷藏處理로 活性化된 바이러스病의 誘發程度는 여러 조건에 영향을 받는다고 하였다. 즉 發病率은 5齡起蠶을 5°C에 24時間 冷藏處理한 것이 가장 높고, 冷藏處理時期를 稚蠶期에서 壯蠶期로 變動함에 따라 誘發率도 높아졌다. 그러나 飼育時期別 冷藏處理에서는 脫皮直後가 가장 높고 眠中이 가장 낮았으며, 原種은 交雜種보다 發病率이 높았다(有賀 1958a,b, 有賀 1959, 1961, 福原等 1959, 樺澤 1960, 鮎澤等 1960, 山樹等 1961). 冷藏處理하면 給桑量이 增加함에 따라 誘發率도 增加하고, 또한 春蠶期보다 秋蠶期와 晩秋蠶期에 誘發率이 增加하였다. 潜在性 바이러스의 活性化에 의한 誘發程度의 變化는 冷藏處理 前後에 있어서 家蠶의 어떤 生理的 要因등에 좌우하는 것 같았다(有賀等 1959, 鮎澤 1961, 石川等 1966).

冷藏處理 直後 核質多角體 바이러스나 細胞質多角體 바이러스의 經口接種은 誘發率을 높이고, 이 두 바이러스를 同時에 接種하면 한 家蠶의 個體內에 核質多角體 바이러스와 細胞質多角體 바이러스의 混合感染率이 높았다. 이것은 細胞質多角體 바이러스가 冷藏處理와 관련해서 潜在性 核質多角體 바이러스를 活性化한 것이다. 이 때 低溫處理와 바이러스 經口接種과의 重複處理은 4齡期 보다 5齡期の 低溫處理直後에 接種한 것이 誘發率이 높았다(田中等 1963).

5齡起蠶에 바이러스液(細胞質多角體 바이러스)을 注射해서 25°, 30° 및 34°C에서 飼育하면 中腸組織에서 多

角體 바이러스의 增殖比率는 30°C區가 가장 높고, 25°C區가 다음으로 높았으며, 34°C區가 가장 낮았다(宮島 등 1968, 宮島 1971). 家蠶의 5齡起蠶 冷蔵處理는 中腸皮膜組織의 感受性を 높인다고 알려졌다(阿部 1974).

低溫處理(5齡起蠶을 5°C에 24時間 處理)直後의 高溫處理(40°C의 溫水槽에 5分間 또는 50°C의 乾熱에 30分間 處理)에 의한 潛在性 細胞質多角體 바이러스의 活性化程度는 低溫處理 單獨群보다 확실히 낮았다. 그러나 冷蔵處理後 30 내지 120분이 경과된 다음의 高溫處理時는 低溫處理 單獨의 誘發程度와 거의 같았다(有賀 등 1962, 岩下 등 1963, 1964).

3眠蠶과 4眠蠶을 齡期別로 高溫(38°C)과 多濕(90%)에 48時間 處理하면 3齡期에 處理한 것 보다 4齡期에 處理한 것이 현저히 높은 誘發率을 나타냈다(岩下 등 1964, 宮島 1968).

不合理한 蠶卵의 取扱과 細胞質多角體 바이러스의 發生과의 關係는 浸酸時期가 適期보다 이르거나 늦을 때, 催育溫度가 30°C의 高溫이나 25°C일 경우 細胞質多角體 바이러스가 發生되었다. 人工孵化時 浸酸後의 不完全한 脫酸은 孵化比率에는 영향을 주지 않으나 細胞質多角體 바이러스病을 發病시켰다(樺澤 1960, 橫川 등 1963, 橫川 1964<sup>b</sup>).

紫外線 및 放射線 照射에 의한 바이러스의 誘發率은 여러 조건의 영향을 받는다. 紫外線 照射나 X-ray 照射는 單獨處理로는 誘發이 不可能하나 冷蔵處理 前後에 照射하면 冷蔵處理 單獨의 경우보다 훨씬 높은 誘發率을 나타냈다(Aruga 등 1961).  $Co^{60}$  線을 5齡 起蠶에 3,000 내지 6,000r를 照射하면 核質多角體 바이러스 및 細胞質多角體 바이러스의 潛在性 바이러스가 活性化하여 誘發한다. 發病率은 照射量에 따라 增加하여 60,000r에서 약 40%를 보였고, 그 중 細胞質多角體 바이러스는 84%였다. 바이러스의 活性化 過程中 家蠶의 體重增加曲線은 放射線 照射後 2 내지 3日是 變化가 없으나 그後 低下하였다. 이 때 中腸의 Catalase 活性度는 照射後 2 내지 3日 對照區보다 높았지만 그後에는 低下하였다 放射線이 家蠶 生體에 미치는 영향은 化學劑 添食의 경우와 유사한 것 같았다(村上 1960).

化學的인 活性化 要因으로 EDTA 外 18種의 化學劑를 添食시킴으로서 核質多角體 바이러스 및 細胞質多角體 바이러스病을 發病시켰다. 特히 sodium 鹽은 潛在性 바이러스를 活性化하여 細胞質 多角體 바이러스病을 發病시켰고, 그 發病程度는 4齡期보다 5齡期에서 높았으며 3齡期에 EDTA, sodium cyanide 또는 昇汞을 添食한 家蠶을 4齡 起蠶에 冷蔵處理하면 化學劑를 添食하지 않고 冷蔵處理한 것보다 細胞質多角體 바이러스病의 誘發이

높았다(有賀 등 1960). 家蠶의 齡期別로 EDTA를 添食하면 1, 2 및 3齡에서는 전혀 發病하지 않았으나 4齡에서는 약간의 發病을, 5齡에서는 극히 發病率이 높았다(福原 1961). 石灰硫黃合劑 外 5種의 農藥을 實用濃度로 희석하여 이것을 數回(1 내지 8回) 家蠶에 添食시키면 細胞質多角體 바이러스病이 發病하였다. 飼育時期別 農藥添食의 誘發效果는 春蠶期보다 秋蠶期에 높았고, 齡期別 農藥添食의 發病效果는 4齡期보다 5齡期에서 높았다(橫川 등 1960, 橫川 1964<sup>a, b</sup>). 金屬酵素阻害劑인 殺菌劑 thiuram, oxyn 銅의 主成分 diethylcarbamin 酸-natrium, 8-hydroxyquinoline의 溶液을 3 내지 5齡期 各 起蠶부터 8 내지 10日間 添食시키면 8-hydroxyquinoline은 潛在性 바이러스를 活性化하여 심히 發病케하였고, diethylcarbamin 酸-natrium은 낮게 發病하였다(河合 1965). 8-hydroxyquinoline과 sodium diethylthiocarbamate는 0.5gm과 0.25gm 溶液(증류수 500cc에 溶解)을 各各 4齡期에 8日間 添食시키면 核質多角體 바이러스 및 細胞質多角體 바이러스病이 誘發되었다(河合 1967).

異型 바이러스 添食에 따른 誘發에 있어서 다른 昆蟲에서 分離한 多角體 바이러스를 家蠶에 接種하면 潛在性인 細胞質多角體 바이러스가 活性化하여 發病하였다(Smith 등 1953 a, b, 1961). *Dasychira pudibunda*(L.)의 細胞質多角體 바이러스가 *N. sertifer*의 核質多角體 바이러스를 誘發시켰고, 異型 核質多角體 바이러스의 經口接種도 다른形態의 核質多角體 바이러스를 誘發시켰다(Longworth 등 1968). 昆蟲에서 交叉感染은 흔히 일어나지만 이것을 밝히면 대개의 경우 二次的으로 感染된 바이러스가 潛在性 바이러스를 活性化하여 誘發케 한다(Smith 등 1963).

F型 바이러스와 細胞質多角體 바이러스間의 干涉關係에서는 一次 F型 바이러스는 二次 細胞質多角體 바이러스를 干涉한다. 그러나 一次 細胞質多角體 바이러스는 二次 F型 바이러스를 干涉하지 못하는데 이 때 F型 바이러스의 濃度가 높은 수록 더욱 크게 나타났다(有賀 등 1965). 家蠶과 野蠶에서 각각 分離한 核質多角體 바이러스 또는 細胞質多角體 바이러스의 二重感染의 경우 家蠶의 바이러스가 一次 感染되었으면 二重感染率이 높았다. 5齡 起蠶에 바이러스를 接種하고 5°C에서 冷蔵處理하면 二重感染을 일으키나 1個의 核內에 2種의 多角體가 混在하지는 않았다(Aruga 등 1963, 石川 등 1967). 中腸의 核質多角體 바이러스는 二次 感染된 細胞質多角體 바이러스보다 接種濃度가 높을 때 干涉現象이 현저하며 이 때 한 個體內에 核質多角體 바이러스와 細胞質多角體 바이러스가 混在할지라도 結局 同

一 圓筒細胞內에 함께 存在하지 않았다(田中等 1967). 異型 바이러스인 六角型 細胞質多角體 바이러스와 四角型 細胞質多角體 바이러스를 接種할 때 1齡期 接種은 混合感染率이 높는데 반하여 4 및 5齡期에 接種하면 四角型이나 六角型의 細胞質多角體 바이러스중 어느 한 가지 바이러스만이 感染되었다. 이 때 극히 드문 경우이나 中腸細胞內에서의 混合感染도 한가지 形態의 바이러스만이 존재하였다. 이것은 한 바이러스에 感染된 細胞는 다른 바이러스의 感染에 대하여 어느 期間은 感染을 허용하지 않은것 같다(Aruga 등 1961). 細胞質多角體를 80°C에 10 내지 15分間(또는 60°C에 140 내지 160分間) 不活化하여 이것을 一次로 接種하면 다른 細胞質多角體 바이러스의 二次感染을 抑制하는 干涉現象을 보였다. 이 때 細胞質多角體 바이러스의 多角體에서 分離한 바이러스가 一次 接種原일때 干涉現象은 강하며, 나아가서 同型的인 것보다 異型的인 것에 의한 干涉現象이 더욱 강하게 나타났다(有賀 등 1962, 1964, 有賀 1963). 紫外線照射로 不活化된 六角型의 細胞質多角體 바이러스를 3回 添食시키고, 12時間 後 二次의 四角型의 細胞質多角體 바이러스를 接種하면 四角型 細胞質多角體 바이러스病의 發病을 抑制하나 一回 添食하면 干涉現象은 약하게 나타났다(有賀 등 1965). 紫外線照射로 不活化된 細胞質多角體 바이러스를 一次 接種한 後 계속해서 細菌 (*Streptococcus faecalis*, *Serratia* 屬菌)을 接種하고 二次로 F 型 바이러스를 經口接種하면 干涉現象은 일어나지 않았다(有賀 등 1971). 紫外線에 不活化된 六角型 細胞質多角體 바이러스와 二次로 接種한 四角型 細胞質多角體 바이러스와의 干涉現象에 있어서는 紫外線에 不活化된 六角型 細胞質多角體 바이러스의 濃도가 높으면 干涉現象이 강하고, 낮으면 干涉現象이 약하였다. 이 때 六角型 細胞質多角體 바이러스를 不活化시키기 위한 紫外線의 效果的 處理時間은 3時間보다 2時間이 좋았다(有賀 등 1970a). 紫外線에 不活化시킨 六角型 細胞質多角體 바이러스와 二次로 感染된 四角型 細胞質多角體 바이러스間에는 不活化된 六角型 細胞質多角體 바이러스를 接種하고 그 後 4 내지 5齡期에 四角型 細胞質多角體 바이러스를 二次로 經口接種하여도 干涉現象이 높은 것으로 보아서 이 경우에는 一次 接種과 二次 接種의 期間이 길어도 有効한 것 같았다(有賀 등 1970b).

福原(1961)과 有賀 등(1962, 1964)은 家蠶의 細胞質多角體 바이러스의 經卵傳達를 究明하기 위한 實驗에서 바이러스를 前代의 家蠶에 經口接種하고나서 生存된 母蛾에서 採種한 原種을 次代에 飼育하면서 5齡 起蠶에 冷藏處理하여 活性化 程度를 검토하였다. 이로써 經卵傳達의

가능성을 밝혔다. 이 實驗에서 有賀 등은 次代家蠶에서 活性化된 바이러스가 經卵傳達되었다고 結論지었다.

이 研究에서는 經卵傳達를 究明하기 위하여 보다 發展된 다음과 같은 實驗方法을 적용하였다.

첫째, 異型바이러스, formalin 添食, 그리고 冷藏處理를 각각 적용하여 誘發現象을 일으켰고,

둘째, 誘發과 干涉現象을 이용하였고,

셋째, 誘發과 病原性 增進現象을 이용하여 經卵傳達를 間接的으로 證明하였다. 그리고 바이러스의 感染을 비롯한 潛性性 바이러스의 活性化 여부와 바이러스 同定을 위하여 光學顯微鏡法 이외에 電子顯微鏡法과 免疫螢光抗體法을 적용하였다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 供試바이러스

供試바이러스로는 日本 東京大學 農學部 養蠶學教室의 渡部 仁 博士로부터 分讓받은 六角型 및 四角型의 細胞質多角體 바이러스를 사용하였다.

### 2. 供試家蠶

母系와 父系로 日本種과 中國種인 原種을 交雜한 현 우리나라 獎勵品種인 잠 103×잠 104를 供試家蠶으로 하였다. 前代蠶의 飼育은 春期에 실시하였고, 次代蠶의 飼育은 秋期에 即時浸酸하여 稚蠶期에는 箱子育, 壯蠶期에는 普通育으로 飼育한 것을 供試하였다.

### 3. 家蠶의 人工感染

六角型 細胞質多角體 바이러스는 經口投與하여 人工 感染시켰는데 이때 바이러스의 濃度は 증류수에 10<sup>6</sup>/ml 되도록 하였다. 이것을 桑葉에 塗抹, 陰乾하여 5齡 起蠶에 經口接種하고 普通飼育을 하였다. 病蠶은 바이러스 分離 同定을 비롯한 血清學的 實驗과 그밖의 目的에 사용하였고, 生存된 幼蟲은 化蛾시켜 바이러스에 노출된바 있는 蠶卵을 얻는데 사용하였다.

經卵傳達를 究明하기 위한 實驗에 사용할 蠶卵은 다음의 4가지 種類로 交配하여 얻었다. 즉 非接種雌(♀)×非接種雄(♂), 非接種雌(♀)×接種雄(♂), 接種雌(♀)×非接種雄(♂) 및 接種雌(♀)×接種雄(♂) 등이다. 採種된 後 母蛾는 75°C에 1일 단 乾燥시키고, 一蛾區別로 檢査하여 前代에 經口接種한 六角型 細胞質多角體 바이러스와 同一한 것만을 調査하여 同定하였다. 이때의 同定方法은 一次로 光學顯微鏡法을 그리고 二次는 免疫螢光抗體法 및 電子顯微鏡法으로 同定하였다.

### 4. 感染家蠶으로 부터의 바이러스의 採取

바이러스에 感染된 病蠶으로부터 血液을 採取하였다 그러기 위하여 病蠶의 胸肢를 切斷하고 거기에서 流出되는 血液을 유리 slide에 받고나서 陰乾한 後 Giemsa

染色을 하여 핵質多角體 바이러스와 細胞質多角體 바이러스를 分類하였다. 그리고 나서 中腸을 切斷하여 여기서 分離한 一部 組織을 다시 Giemsa 染色과 螢光抗體法으로 同定確認한 後 採取한 모든 組織을 磨碎器로 磨碎한 것을 바이러스材料로 삼았다. 이 材料는 短期保管의 경우  $-5^{\circ}\text{C}$ , 長期保管의 경우는  $-20^{\circ}\text{C}$  내외에 保存하면서 사용하였다.

#### 5. 中腸의 細胞質多角體와 核質多角體의 分離同定

病蠶은 0.85% 生理的 食鹽水에 넣고 解剖하여 中腸部分을 切取하였다. 切取된 組織에서 分離한 多角體는 micropipette 을 이용하여 증류수로 浮遊液을 만들고 이것을 유리 slide 위에 塗抹 陰乾하였다. 陰乾된 유리 slide 위에 Giemsa 染色液을 1 ml 떨어트리고 이것을 알콜램프의 불꽃위에서 4 내지 5 회 加熱한 後 증류수로 洗滌하여 陰乾하였다. 陰乾된 試料는 光學顯微鏡下에서 1,000 내지 1,500 배로 觀察하고 陽性的인 것은 細胞質多角體 바이러스로, 陰性的인 것은 核質多角體 바이러스로 同定하였다. 이때 不確實한 것은 電子顯微鏡法으로 鏡檢하였다.

#### 6. 六角型과 四角型的 細胞質多角體의 分離同定

病蠶의 中腸에서 採取하고 一次로 光學顯微鏡法으로 觀察한 것은 다시 二次로 免疫螢光抗體法에 의하여 同定하였다. 이때 免疫螢光抗體法에서는 12,800 배로 희석한 抗血清을 사용하여 同定하였다.

六角型 또는 四角型的 細胞質多角體 바이러스로 同定된 中腸組織은 각각 分類 收集하였고 이것을 증류수와 섞어서 磨碎器(Homogenizer, type HB, Mitamura Riken Kogyo, Inc.)로 5,000 내지 10,000 rpm 으로 磨碎하였다. 磨碎液은 2 내지 3 겹의 거즈로 濾過해서 큰 組織과 不純物을 除去하였다. 濾過된 浮遊液은 1,000 rpm 에서 10분과 7,000 rpm 에서 30分間씩 遠心分離하여 多角體보다 比重이 무거운 粗大組織을 除去하였다. 그리고 끝으로 7,000 g에서 10分間 遠心濃縮된 浮遊液을 sucrose density gradient centrifugation (Brakke, 1951)으로 순화하였다. 이때 sucrose density gradient 溶液은 1,050 gm sucrose를 500ml의 증류수에 넣고 加熱하여 溶解시킨 飽和液을 原液으로 사용하였다. sucrose 溶液層은 遠心 分離用 유리管(60 ml 容量)內에 밑에서부터 90, 80, 70, 60, 50, 40 및 30%의 濃度를 각각 5ml씩 10ml pipette 로 分注하고 이것을  $5^{\circ}\text{C}$  冷藏庫에 1日 이상 保管해서 유리管內의 sucrose 溶液이 자리잡게 하였다. 이와같이 준비된 유리管內 sucrose 溶液 上層에 多角體 浮遊液을 5 내지 10ml 를 分注하고 나서 3,500 g에 15分間 遠心分離하였다. 遠心分離 後 굵은 長針이 부착된 10ml 注射器로 白色部分의 50 내지 70% 層을 뽑고 이것을 3배의 증류수로 희석하였다. 희석된 多角體浮遊

液은 다시 5,000 g에서 30分間 遠心分離하는 過程을 數回 反復하여 糖分을 洗滌하였다. 그리고 多角體가 서로 엉켜서 sucrose density gradient centrifugation 이 곤란할 때는 0.005M EDTA 로 희석해서 浮遊液을 만들어 사용하였다. 多角體의 純粹性을 確認하기 위해서는 2% euchrysin 으로 染色한 後 螢光顯微鏡으로 鏡檢하였다. 이 때 組織이나 細菌은 밝게 나타나는데 반하여 多角體는 매우 약하게 發光되므로 쉽게 알 수 있었다.

#### 7. 細胞質多角體 바이러스의 分離

多角體로부터 바이러스의 純粹分離는 Yasuhara 등(1964)과 Hukuhara 등(1966<sup>b</sup>)의 分離方法에 준하여 실시하였다. 즉 0.2 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  와 0.2 M  $\text{NaHCO}_3$  溶液을 1:9로 混合한 alkali 溶液 1ml 에 純粹分離된 多角體( $1 \times 10^8$ /ml)가 들어가도록 희석하고 이것을 약 1 내지 2 時間 室溫에 放置하여 多角體에서 바이러스粒子가 分離되어 나오도록 하였다. 이것을 8 배의 증류수로 희석하고 5,000 g에서 10分間 遠心分離하여 溶解되지 않고 沈澱된 多角體는 除去하고 그 上清을 同定하였다.

上層液은 10,000 g에서 1時間 遠心分離해서 沈澱된 바이러스粒子를 소량의 증류수로 희석하였다. 純粹分離된 바이러스粒子는 電子顯微鏡에 의하여 同定하였다

#### 8. 電子顯微鏡法에 의한 바이러스의 同定

本 實驗에서 사용한 電子顯微鏡은 Hitachi, Model HU-11E 로서 通常 75KV 에서 可動하였다. 바이러스同定을 위한 電子顯微鏡法에서는 抽出 分離된 바이러스를 鏡檢하는 方法과 組織內 바이러스를 鏡檢하는 두 가지의 方法으로 수행하였다. 純粹分離된 多角體나 感染된 家蠶의 中腸에서 抽出한 多角體를 0.5 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  와 0.5 M  $\text{NaHCO}_3$  를 1:9로 混合한 alkali 溶液에 섞어서 室溫에 30分 내지 1時間 放置하였다. 多角體가 溶解된 이 浮遊液을 8배의 증류수로 희석하고 이것을 100,000 g로 1時間 超遠心分離하여 電子顯微鏡으로 鏡檢할 바이러스의 沈澱物을 얻었다. 바이러스를 鏡檢하기 위해서는 200 mesh grid 위에 formvar 또는 collodion 支持膜을 被覆하고 이 被覆된 grid 는 炭素를 이용한 眞空蒸着法으로 支持膜을 補強하여 사용하였다.

바이러스 染色은 negative staining method 를 적용하였다. 染色劑는 potassium phosphotungstate(PTA Stic. Chem. Co.)를 증류수에 희석해서 2%(W/V)로 만들고 이것의 pH 는 1N NaOH 溶液으로 7.0으로 調整해서 사용하였다. 染色方法은 被覆된 grid 위에 micropipette 으로 바이러스 浮遊液을 한방울 떨어뜨려 陰乾하고 이것을 준비된 2% potassium phosphotungstate에 3 내지 5分間 染色하였다. 이와같이 染色된 바이러스는 다시 陰乾한 後 電子顯微鏡으로 觀察하였다.

組織內 바이러스의 同定은 感染된 家蠶 幼蟲을 Trager's B medium 속에 넣고서 解剖顯微鏡下에서 中腸을 切斷하고 이것을 더 잘게 切斷하여 一次 固定液인 5% glutaraldehyde에 60分間 固定하였다. 一次 固定된 組織은 Trager's B medium에 20分씩 2回 洗滌하였다. 洗滌된 組織은 二次 固定液인 2% osmic acid에 1 내지 2 時間 固定하고 다시 Trager's B medium에 洗滌하였다. 二次 固定된 組織은 25, 50, 75 및 100% ethanol에 각각 25 내지 30分씩 脫水過程을 거친後 propylene oxide에 48時間 脫水하였다. 完全脫水된 組織은 50 : 50의 propylene oxide와 resin(Epikot 812) 混合液에 1 日間씩 2回의 包埋過程을 거쳐서 resin(Epikot 812)에 包埋하였다. 包埋는 gelatin capsule 속에 組織을 하나씩 넣어서 60°C의 恒溫器에서 3 내지 4日間 固化시켰다. 包埋된 組織의 微細切片은 ultramicrotome(Servall MF-2)을 사용하여 2내지 10mm/sec 程度로 60 내지 100  $\mu$ 의 두께로 切片하였다. 切片된 組織의 染色은 positive staining method를 적용하였다. 이 때 formvar로 被覆된 200 mesh grid와 被覆되지 않은 400 mesh grid

를 사용하였다. 染色方法은 2% uranyl acetate로 30分間 一次 染色하고 증류수로 洗滌한 다음 lead citrate (Reynolds 1963)로 30分間 二次 染色하고 나서 電子顯微鏡으로 觀察하였다. 電子顯微鏡法에 의한 細胞質多角體 바이러스의 判定基準은 Fig. 1, 2, 3, 4와 같다.

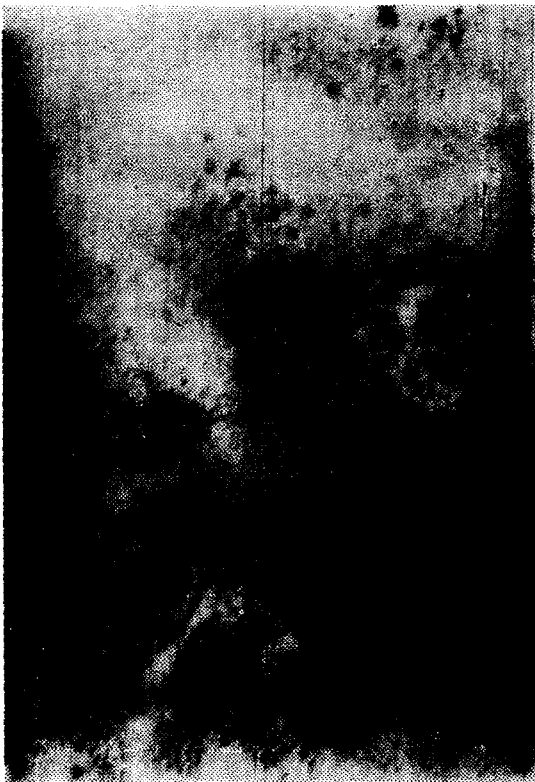


Fig. 1. Virus isolated from polyhedron of cytoplasmic polyhedrosis virus in alkaline solution. ( $\times 45,000$ )



Fig. 2. Apical cytoplasm of cylindrical cells of mid-gut in the larvae of silkworm illustrating several virogenic stroma. ( $\times 39,000$ )



Fig. 3. An early virogenic stroma with mature virus particles of cytoplasmic polyhedrosis virus. ( $\times 17,000$ )

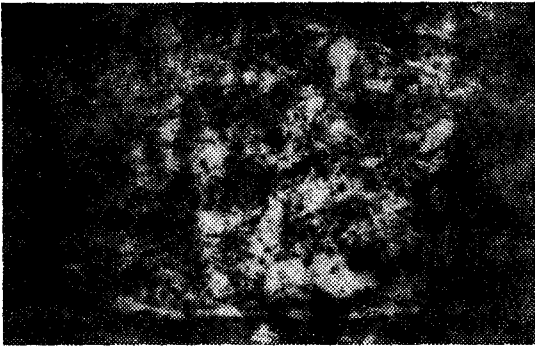


Fig. 4. Relatively large virogenic stroma associated with polyhedra and virus particles of cytoplasmic polyhedrosis virus. ( $\times 17,000$ )

### 9. 細胞質多角體 바이러스의 螢光抗血清

一次 抗血清은 藤原等(1966)의 免疫方法에 準하여 만들었다. 純粹分離된 細胞質多角體 바이러스의 多角體를 0.85% 食鹽水에 浮遊하여  $10^8$ /ml로 희석하고 이것을 免疫原으로 하여 家兔의 靜脈內에 注射하였다. 方法 A에서는 總 24ml를 1회 2ml씩 12회로 나누어 接種하였고, 方法 B에서는 2.5ml를 9회에 걸쳐 接種하였다. 方法 C에서는 3.0ml씩 4회로 나누어 注射하였다. 여기에 사용한 家兔는 3.5kg의 健康한 것으로 한 免疫群에 2頭씩을 供試하고 全採血은 免疫注射 終了後 1週日째 하였다.

二次 血清은 家兔의 正常血清을 硫安半飽和鹽析法(Goldman 1968, Kawamura 1969)에 의하여 얻은  $\gamma$ -globulin을 免疫原으로 하여 만들었다. 이것을 山羊에 免疫하여 抗血清(沈降價 1:160)을 얻었다.

Fluorescein isothiocyanate (FITC, Sigma Chem. Co.)와 結合시킨 螢光色素標識抗體는 二次 血清을 다시 硫安半飽和鹽析法에 準한 分劃法으로 만들었다. 즉 36 ml의 抗血清을 磷酸緩衝食鹽水(pH 7.5)로 2배 희석하고 이것의 2배 硫安半飽和鹽을 서서히 떨어트리면서 magnetic stirrer로 계속해서 30分間 섞었다. 이 때의 白色液은 9,000 rpm에 15分間 冷藏遠心分離해서 白色의 globulin의 沈澱物을 얻었다. 沈澱된 globulin으로 다시 30 ml 磷酸緩衝食鹽水 浮遊液을 만들어 15 ml의 硫安半飽和液을 30分에 걸쳐 서서히 섞었다. 여기서 얻어진 白色의 溶液은 다시 9,000 rpm에 15分間 冷藏遠心分離해서 globulin을 얻었다. 이와 같은 過程을 2회 더 反復한 다음 얻은 白色沈澱物을 3 ml의 磷酸緩衝食鹽水로 희석하였다. 희석한  $\gamma$ -globulin 浮遊液은 protein fraction meter에 의해서 蛋白質量을 測定하고 FITC는 測定된 蛋白質量의 1/150量으로 結合시켰다. 分劃된  $\gamma$ -globulin과 FITC의 結合過程은 carbonate-bicarbonate buffer에 溶

解된 FITC液溶에  $\gamma$ -globulin을 서서히 섞어서  $5^{\circ}\text{C}$ 에서 24時間 結合시켰다. FITC와 結合된  $\gamma$ -globulin의 分劃은 높이 30cm, 直徑 2.5cm 유리管의 sephadex G-25 (Pharmacia, Uppsala, Sweden) column을 사용하여 실시하였다. 이 때 사용한 磷酸緩衝食鹽水(pH 7.5)의 總量은 200 ml로서 흐름의 速度는 약 45 ml/hr로 조절해서 分劃하고 이 중 최초의 80 ml만을 濃縮하였다. 分劃된 FITC  $\gamma$ -globulin을 半透性膜 세로판 袋에 넣고 이것을 polyethylene glycol의 飽和溶液에 넣어 1日間 濃縮시켰다. 濃縮된 溶液은 FITC  $\gamma$ -globulin 浮遊液의 pH가 6.3이 될 때까지 磷酸緩衝溶液(pH 6.3, 0.017 M)에 24時間 이상 透析하였다. 그리고 標識抗體를 Krywienczyk(1963)에 準하여 家蠶組織에 吸着시켜 非特異的 成分을 除去하였다. 이것은  $-80^{\circ}\text{C}$  冷凍器에 保管하면서 수시로 사용하였다.

### 10. 細胞質多角體 바이러스에 대한 螢光抗體反應法

免疫螢光染色法은 間接法을 적용하였다. 즉 抗原(細胞質多角體)을 유리 slide 위에 塗抹 陰乾하고 이것을 99% acetone (井上등 1971)에 20分間 室溫에서 固定한 다음 抗原抗體反應을 보았다. 段階적으로 희석한 一次 血清을 준비된 抗原위에 滴下시켜  $37^{\circ}\text{C}$ 의 恒溫器內에서 30 내지 60分間 反應시킨 後 磷酸緩衝食鹽水(pH 7.5)로 剩餘抗血清을 씻어 除去하였다. 다시 1:10으로 희석한 二次 血清을 그위에 滴下하여 反應시킨 後 磷酸緩衝液으로 洗滌하였다. 이렇게 抗原抗體反應이 完了된 유리 slide 위에 1:9의 磷酸緩衝食鹽水와 glycerin 混合液을 2 내지 3방울 떨어뜨려 螢光顯微鏡(Tiyoda fluorescence microscope FM-200A)에서 鏡檢하였다. 이때 螢光光源은 高壓水銀燈으로 하였으며 BV 또는 UV filter를 사용하여 暗視野法으로 觀察하였다.

反應程度는 卅, +, 土, -의 4階級으로 나누었으며 +는 螢光色素에 의하여 細胞質多角體 바이러스의 形態

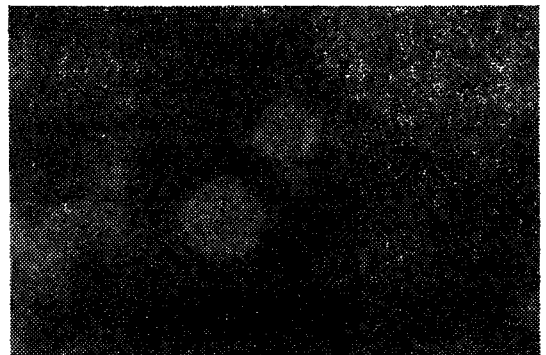


Fig. 5. Fluorescent stained hexagonal and tetragonal polyhedra of cytoplasmic polyhedrosis virus. ( $\times 4,000$ )



Fig. 6. Fluorescent stained tetragonal polyhedra of cytoplasmic polyhedrosis virus. ( $\times 4,000$ )

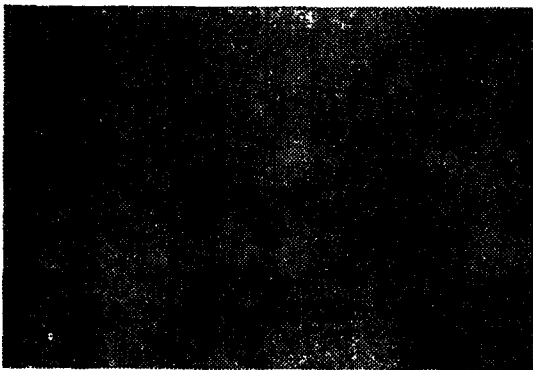


Fig. 7. Fluorescent stained tetragonal polyhedra of cytoplasmic polyhedrosis virus. ( $\times 4,000$ )

가 분명히 나타나는 것을 基準으로 하였다.  $\uparrow$ 는  $\pm$ 보다 螢光이 강한 것을, 그리고  $\downarrow$ 는 그 程度가 약하여 구별이 어려울 程度며,  $-$ 는 전혀 나타나지 않은 程度였다. 螢光抗體反應에 의한 四角型 및 六角型의 細胞質多角體 바이러스의 分類는 Fig. 5, 6, 7에 준하였다.

#### 11. 潛在性 細胞質多角體 바이러스의 經口接種에 의한 活性化處理

純粹分離 및 同定된 四角型 細胞質多角體 바이러스를 증류수에 희석하여  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  및  $10^8$ /ml의 4段階濃度의 浮遊液을 만들었다. 이 浮遊液을 각각 桑葉에 塗抹 陰乾하고 이것을 4種類의 交配組形式別(♀ $\times$ ♂, ♀ $\times$ ♂, ♀ $\times$ ♂ 및 ♀ $\times$ ♂)로 前代蠶에서 處理된 次代蠶 3齡 交配種의 2齡 起蠶에 經口接種하였다. 이 때 각 處理群은 3反復으로 각 反復을 30頭씩 供試하였다. 接種後 飼育中에 發生하는 病蠶들은 一次 光學顯微鏡으로 鏡檢하고 二次의 免疫螢光染色法과 電子顯微鏡法을 적용하여 同定 分類하였다. 이 때 同定結果에 따라서 細胞質多角體 바이러스는 六角型 또는 四角型 多角體의 單獨感染과 六角型 및 四角型 細胞質多角體 바이러스 混合感染 등으로 分類하여 調

査하였다.

#### 12. 潛在性 細胞質多角體 바이러스의 formalin 添食에 의한 活性化處理

formalin을 증류수에 희석하여 두가지 濃度, 2 및 3% (W/V) formalin 溶液을 만들었다. 이것을 각각 桑葉에 塗抹 陰乾한 後 이 桑葉을 4種類의 交配組形式別(♀ $\times$ ♂, ♀ $\times$ ♂, ♀ $\times$ ♂, 및 ♀ $\times$ ♂)로 前代蠶에서 바이러스處理된 次代蠶인 3齡 交配種의 3齡 起蠶에 添食하였다. 活性化의 判定은 經口接種에 의한 活性化處理의 경우와 同一하게 하였다.

#### 13. 潛在性 細胞質多角體 바이러스의 冷蔵處理에 의한 活性化處理

4種類의 交配組形式別(♀ $\times$ ♂, ♀ $\times$ ♂, ♀ $\times$ ♂ 및 ♀ $\times$ ♂)로 前代蠶에서 處理된 次代蠶 3齡 交配種을  $5^{\circ}\text{C}$ 에서 12 또는 24時間 處理하였다.

處理方法은 稚蠶期에는 箱子育, 壯蠶期에는 普通育을 한 家蠶幼蟲을 3眠 脫皮 直後 餵食하지 않고 petri dish에 處理區別로 나누어서 준비된  $5^{\circ}\text{C}$  冷蔵庫에 넣었다. 이때 12 또는 24時間의 處理 동안은 給桑하지 않고 一定時間 處理後 出庫한 다음 給桑을 하고 다시 普通育을 하였다. 活性化의 判定은 經口接種에 의한 活性化處理의 경우와 同一하게 하였다.

## Ⅲ. 結 果

家蠶에 있어서 細胞質多角體 바이러스가 前代에서 次代로 經卵傳達될 때에는 潛在性 바이러스 狀態로 傳達되는데 이 潛在性 바이러스의 存在를 直接的으로 確認할 수 없으며 다만 間接的인 方法에 의해서만 알 수 있다. 즉 潛在性 바이러스를 지니고 있는 家蠶에 어떤 要因을 부여하여 潛在性 바이러스를 活性化시켜 發病케 하거나 또는 活性化된 바이러스를 觀察하므로써 細胞質多角體 바이러스의 經卵傳達를 추측할 수 있다. 그러므로 이 研究에서는 潛在性 바이러스를 活性化하는 方法으로 첫째, 異型 바이러스의 接種, 둘째, formalin의 添食, 셋째, 冷蔵處理, 넷째, 誘發·干涉現象의 利用, 다섯째, 誘發·毒力增強 現象등을 응용하여 間接的으로 細胞質多角體 바이러스가 前代에서 次代로 經卵傳達되는 現象을 實驗的으로 밝혔다.

#### 1. 四角型 細胞質多角體 바이러스의 次代接種에 의하여 活性化되는 六角型 細胞質多角體 바이러스의 經卵傳達 感染에 관하여

六角型 細胞質多角體 바이러스를 接種받은 家蠶에서 이 바이러스가 經卵傳達된다고 가정하면 次代蠶에는 이 바이러스가 潛在性으로 感染되어 있고 이 바이러스는 異型인 四角型 細胞質多角體 바이러스의 感



染으로 活性化 될 것이다. 그리고 六角型 細胞質多角體 바이러스를 接種하지 않았던 交配組의 次代蠶에서 보다 前代蠶에 接種된 交配組의 것에서 높은 것이다. 여기에서는 위의 가능성을 證明하기 위하여 다음과 같은 實驗을 하였다.

前代蠶에 接種하여 生存된 母蛾중 前代蠶에 接種된 細胞質多角體 바이러스와 同一한 活性 바이러스가 檢出되는 母蛾단을 採取하고 이 母蛾를 前代에 細胞質多角體 바이러스를 接種하지 않은 것과의 交配組, 즉 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(♂), 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 接種雄(♂), 잠103의 接種雌(♀)

×잠104의 非接種雄(♂) 및 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 接種雄(♂) 등 4種類의 交配組別로 실시하였다.

여기서 産卵된 蠶種을 孵化飼育하다가 2齡 起蠶에 四角型 細胞質多角體 바이러스를 4가지의 다른 濃度로 經口接種하였다. 供試家蠶은 實驗群마다 30頭씩, 3反復으로 하였다.

次代蠶에 接種한 異型인 四角型 細胞質多角體 바이러스에 의한 潛在性 六角型 細胞質多角體 바이러스의 活性化程度는 家蠶의 感染率로 表示하였고 表 1과 같다. 여기서 感染의 判定은 六角型과 六角型 및 四角型 細胞質多角體 바이러스의 混合感染을 基準하였다.

Table 1. Effect of Inoculation of Tetragonal Polyhedron Virus on the Rate of Hexagonal Polyhedron Virus Infection and Mixed Infection with Hexagonal and Tetragonal Polyhedron Viruses in the Larvae from Moths Infected with Hexagonal Polyhedron Virus.

Cross-batch	Replication	Infection Rate (%)			
		Virus Concentration			
		1×10 <sup>6</sup> /ml	1×10 <sup>7</sup> /ml	1×10 <sup>7</sup> /ml	1×10 <sup>8</sup> /ml
Noninfected female × Noninfected male (♀×♂)	1 2 3 Average	3.3 13.3 3.3 6.6	6.7 6.7 33.3 15.6	16.7 16.7 6.7 13.4	3.3 20.0 20.0 14.4
Noninfected female × Infected male (♀×♂)	1 2 3 Average	6.7 0 6.7 4.5	13.3 16.7 3.3 11.1	23.3 20.0 10.0 17.8	20.0 16.7 13.3 16.7
Infected female × Noninfected male (♀×♂)	1 2 3 Average	46.7 60.0 53.3 53.3	60.0 63.3 50.0 57.8	76.7 80.0 76.7 77.8	63.3 76.7 73.3 71.1
Infected female × Infected male (♀×♂)	1 2 3 Average	63.3 60.0 46.7 56.7	60.0 63.3 60.0 61.1	73.3 70.0 70.0 71.1	63.3 63.3 66.7 64.4

ANOVA

SV	DF	SS	MS	F
Total	47	16,016.49	—	—
Replication	2	40.52	20.56	0.50
A	3	13,853.52	4,617.84	113.32**
Error(A)	6	244.51	40.75	—
B	3	880.10	297.37	8.93**
AB	9	209.46	23.27	0.71
Error(B)	24	788.39	32.85	—

C.V.=Main plot; 17.53%  
Sub pot; 15.74%

LSD 5% 1%  
A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>=6.38 9.46

B<sub>2</sub>]-B<sub>1</sub> =4.83 6.54  
A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>=9.66 13.03

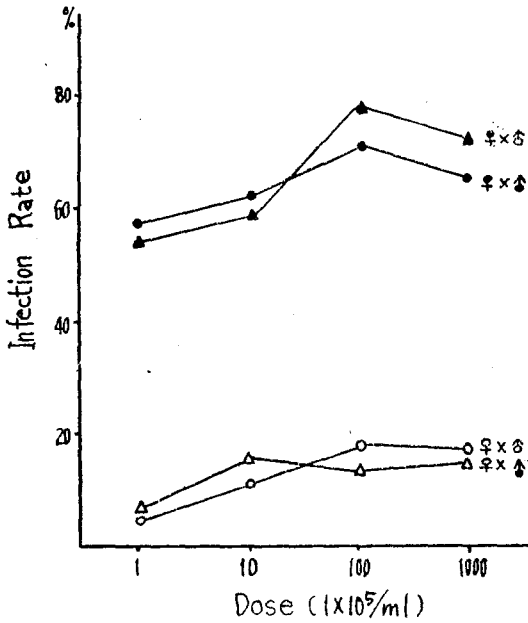


Fig. 8. Comparison of rates of infection with hexagonal polyhedron virus and with hexagonal and tetragonal polyhedron viruses in the larvae from infected and noninfected female groups.  
 ♀, ♂ : Noninfected female and male moth.  
 ♀, ♂ : Infected female and male moth.

六角型 細胞質多角體 바이러스의 活性化程度는 表 1

Table 2. Effect of Formalin Feeding on the Induction of Hexagonal Polyhedron Virus Infection in the Larvae from Moths Infected with Hexagonal Polyhedron Virus.

Cross-batch	Infection Rate (%)							
	2 % formalin				3 % formalin			
	Replication			Average	Replication			Average
	1	2	3		1	2	3	
Noninfected female × Noninfected male (♀ × ♂)	6.7	10.0	0	5.6	3.3	6.7	3.3	4.4
Noninfected female × Infected male (♀ × ♂)	26.7	6.7	3.3	12.2	3.3	16.7	3.3	7.8
Infected female × Noninfected male (♀ × ♂)	60.0	56.7	43.3	53.3	36.7	50.0	53.3	46.7
Infected female × Infected male (♀ × ♂)	40.0	43.3	46.7	43.3	53.3	33.3	46.7	44.4

과 같이 次代蠶에 接種한 四角型 細胞質多角體 바이러스의 接種濃度別로보아 對照群인 잠 103의 非接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(♂)에서는 각각 6.6, 15.6, 13.4 및 14.4%이었으며, 잠 103의 非接種雌(♀)×잠 104의 接種雄(♂)의 경우에는 4.5, 11.1, 17.8 및 16.7 % 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(♂)은 53.3, 57.8, 77.8 및 71.1%, 그리고 잠103의 接種雌(♀)×잠 104의 接種雄(♂)에서는 56.7, 61.1, 71.1 및 64.4%이었다. 즉 濃度別 六角型 細胞質多角體 바이러스의 活性化 程度는 統計적으로 1×10<sup>5</sup> 및 1×10<sup>6</sup>/ml 와 1×10<sup>6</sup>, 1×10<sup>7</sup> 및 1×10<sup>8</sup>/ml 는 각각 같은 水準에 있으며 接種後 生存된 雌蛾가 母體로 된 實驗群은 그렇지 않은 實驗群에 比하여 感染率이 매우 높았다(圖 8참조).

위와 같은 結果는 感染된 母蛾系統의 次代蠶에서 潛在性 바이러스가 活性化된 것으로 생각할 수 있다. 이것은 前代에 接種된 바이러스가 蠶卵을 통하여 次代蠶에 傳達되는 것임을 의미한다.

## 2. Formalin 添食으로 活性化된 六角型 細胞質 多角體 바이러스의 經卵傳達 感染에 관하여

潛在性으로 家蠶에 感染된 細胞質多角體 바이러스는 그 家蠶에 formalin 을 添食함으로써 活性化된다. 따라서 이 實驗에서는 前代蠶에 細胞質多角體 바이러스를 感染시키고 潛在性 바이러스를 지니고 있다고 생각되는 次代蠶에게 formalin 을 添食시켜 潛在性 바이러스를 誘

ANOVA

SV	DF	SS	MS	F
Total	23	5,953.73	—	—
Replication	2	110.23	55.12	1.69
A	3	5,160.39	1,720.13	52.66**
Error (A)	6	195.98	32.66	—
B	1	14.82	14.82	0.27
AB	3	31.24	10.41	0.19
Error (B)	8	441.06	55.13	—

C.V.=Main plot; 19.89%  
Sub plot; 25.84%

L.S.D. 5% 1%  
A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub> =8.07 12.23  
B<sub>2</sub>-B<sub>1</sub> =6.99 10.17  
A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>=13.98 20.34

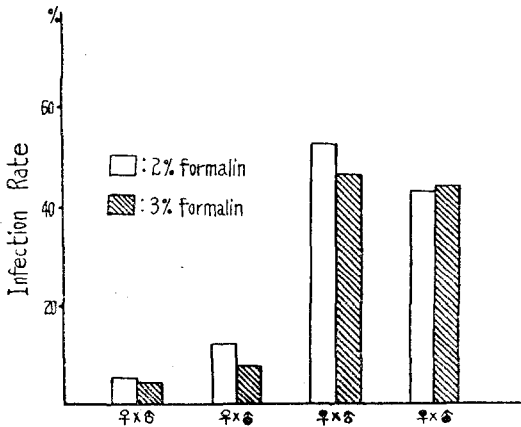


Fig. 9. Comparison of rates of infection with hexagonal polyhedron virus induced by formalin feeding in the larvae from infected and noninfected female groups.  
♀, ♂: Noninfected female and male moth.  
♀, ♂: Infected female and male moth.

發시킴으로서 前代에서 次代로 바이러스가 經卵傳達되었는가를 밝혔다. 이 實驗에서도 供試蠶은 4種類의 交配組別로 處理되어 飼育中인 次代蠶을 3齡起蠶에 2 및 3% formalin을 桑葉에 塗抹 陰乾後 이 桑葉을 給與한 結果 表 2와 같은 成績을 얻었다.

表 2와 같이 2% formalin를 添食하였을 경우 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(♂), 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 接種雄(♂), 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(♂) 및 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 接種雄(♂)에서의 潛在性 六角型 細胞質多角體 바이러스의 活性化程度는 각각 5.6, 12.2, 53.3 및 43.3%로서 接種後 生存된 雌蛾를 母體로하여 얻은 實驗群은 그렇지 않은 實驗群에 比하여 感染率이 매우 높았다(圖 9참조).

表 2에서 보는바와 같이 3% formalin을 添食하였을

때에 六角型 細胞質多角體 바이러스의 活性化程度는 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(♂), 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 接種雄(♂), 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(♂) 및 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 接種雄(♂)에서 각각 4.4, 7.8, 46.7 및 44.4%로서 2% formalin 添食의 경우와 같이 感染된 雌蛾의 實驗群이 感染되지 않은 雌蛾를 母體로한 實驗群보다 感染率은 훨씬 높았다(圖 9참조).

以上の 結果를 종합해 보면 前代蠶에 接種한 六角型 細胞質多角體 바이러스는 潛在狀態로 있다가 次代蠶에서 formalin 添食에 의하여 비로소 活性化되었는데 이것은 前代에 接種된 바이러스가 潛在狀態로 蠶卵을 통하여 次代蠶에 傳達되었기 때문이라고 생각된다.

3. 冷藏處理에 의한 活性化로 六角型 細胞質多角體 바이러스의 經卵傳達 感染에 관하여

前代蠶에 感染되어 次代蠶으로 經卵傳達되었을 潛在性인 細胞質多角體 바이러스의 存在를 證明하기 위하여 次代蠶을 冷藏處理하였다. 次代蠶은 역시 4種類의 交配組別로 얻은 4齡起蠶을 5°C에서 12及 24時間씩 각각 冷藏處理하였다. 그 結果는 表 3과 같다.

4種類의 交配組인 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(♂), 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 接種雄(♂), 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(♂) 및 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 接種雄(♂)을 5°C에서 12時間 冷藏處理한 結果 潛在性 六角型 細胞質多角體 바이러스의 活性化程度는 각각 12.2, 14.4, 64.4 및 60.0%로서 感染된 雌蛾를 母體로한 實驗群은 感染되지 않은 雌蛾를 母體로한 實驗群보다 感染率이 대단히 높았다(圖 10참조).

그리고 5°C에서 24時間 冷藏處理를 하였을 경우 潛在性 六角型 細胞質多角體 바이러스의 活性化程度는 각각 21.1, 13.3, 71.1 및 74.4%로서 感染된 雌蛾를

Table 3. Effect of Cold Treatment on the Induction of Hexagonal Polyhedron Virus Infection in the Larvae from Moths Infected with Hexagonal Polyhedron Virus.

Cross-batch	Infection Rate (%)							
	12 hours'				24 hours'			
	Replication			Average	Replication			Average
	1	2	3		1	2	3	
Noninfected female × Noninfected male (♀×♂)	13.3	10.0	13.3	12.2	13.3	20.0	30.0	21.1
Noninfected female × Infected male (♀×♂)	23.3	10.0	10.0	14.4	16.7	10.0	13.3	13.3
Infected female × Noninfected male (♀×♂)	50.0	63.3	80.0	64.4	66.7	73.3	73.3	71.1
Infected female × Infected male (♀×♂)	40.0	60.0	80.0	60.0	80.0	63.3	80.0	74.4

ANOVA

S V	D F	S S	M S	F
Total	23	7,422.86	—	—
Replication	2	176.93	88.46	2.10
A	3	6,502.98	2,167.66	51.50**
Error (A)	6	252.52	42.09	—
B	1	129.22	129.22	3.59
AB	3	73.17	24.39	0.68
Error (B)	8	288.03	36.00	—

C.V.=Main plot; 16.59%  
Sub plot; 15.34%

L.S.D. 5% 1%  
A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub> =9.17 13.88  
B<sub>2</sub>-B<sub>1</sub> =5.65 8.22  
A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>=11.30 16.44

母體로 한 實驗群은 感染되지 않은 雌蛾를 母體로 한 實驗群보다 感染率이 대단히 높았다(圖 10참조).

異型 바이러스의 次代 接種과 formalin 添食 實驗과 같이 細胞質多角體 바이러스는 前代에서 次代로 蠶卵을 통하여 傳達되는 것으로 생각할 수 있다.

4. 六角型(一次)과 四角型(二次) 細胞質多角體 바이러스의 誘發·干涉現象을 이용한 細胞質多角體 바이러스의 經卵傳達 感染에 관하여

前代蠶에 六角型 細胞質多角體 바이러스를 感染시키고 여기서 얻은 次代蠶에서 潛在性 바이러스를 지니고 있다고 생각되는 家蠶에 二次로 四角型 細胞質多角體 바이러스를 接種하면 六角型 細胞質多角體 바이러스가 誘發된다.

誘發된 活性 六角型 細胞質多角體 바이러스는 二次 바이러스와 干涉現象을 띄게 된다.

위와같은 경우 誘發과 干涉現象은 一次 바이러스가 經卵傳達되었으나 아니냐에 따라 다르며 一次 바이러스가 經卵傳達된 경우에는 다음과 같은 結果를 가져오리라 고 믿어진다. 즉 첫째, 一次 바이러스에 기인하는 誘發率은 二次 바이러스의 力價가 높아질수록 낮아지며, 둘째, 二次 바이러스에 의한 感染率은 二次 바이러스의 力價에 구애됨이 없이 어떤 범주에서는 二次 바이러스의 力價上昇이 억제될 것이다.

이 實驗에서는 위에 세운 가정을 誘發과 干涉現象이 관여되는 一次 바이러스와 二次 바이러스와의 관계를

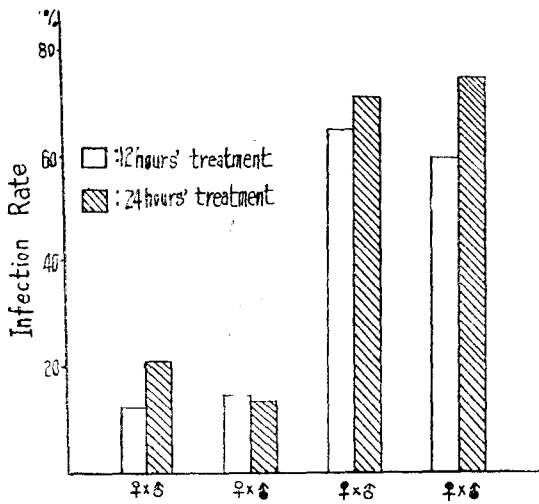


Fig. 10. Comparison of rates of infection with hexagonal polyhedron virus induced by cold treatment in the larvae from infected and noninfected female groups.  
 ♀, ♂ : Noninfected female and male moth.  
 ♀, ♂ : Infected female and male moth.

證明하고 나아가서 細胞質多角體 바이러스의 經卵傳達의 가능성을 證明하였다.

前代蠶에 六角型 細胞質多角體 바이러스를 接種하고 生存된 母蛾를 4種類의 交配組인 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(♂), 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 接種雄(♂), 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(♂) 및 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 接種雄(♂) 등으로 交尾하고 이것을 孵化飼育하다 2齡 起蠶에 四角型 細胞質多角體 바이러스를 4段階의 濃度로 經口 接種하여 調査하였다. 여기서 感染된 家蠶은 個體別로 鏡檢하여 四角型 細胞質多角體 바이러스의 單一感染幼蟲과 六角型 細胞質 多角體 바이러스의 單一感染幼蟲으로 分類해서 그 干涉現象을 檢討하였다.

前代蠶에서 次代蠶으로 傳達되어 活性化된 六角型 細胞質多角體 바이러스에 대한 次代蠶에 接種한 四角型 細胞質多角體 바이러스의 干涉現象을 調査하기 위하여 前代蠶에 六角型 細胞質多角體 바이러스를 接種하고 生存된 母蛾를 4種類의 交配組別로 交尾 後 産卵한 것에서 얻은 次代蠶에 六角型 細胞質多角體 바이러스의 單一感染幼蟲을 먼저 調査하였다. 즉 表 4와 같이 雌蛾가 前代에 接種되지 않은 잠103의 非接種雌(♀)×잠

Table 4. Effect of Inoculation of Tetragonal Polyhedron Virus on the Rates of Infection with Hexagonal and Tetragonal Polyhedron Virus in the Larvae from Moths Infected with Hexagonal Polyhedron Virus.

Cross-batch	Replication	Infection Rate (%)															
		$1 \times 10^5$ /ml				$1 \times 10^6$ /ml				$1 \times 10^7$ /ml				$1 \times 10^8$ /ml			
		Hexagonal	Polyhedra	Tetragonal	Polyhedra	Hexagonal	Polyhedra	Tetragonal	Polyhedra	Hexagonal	Polyhedra	Tetragonal	Polyhedra	Hexagonal	Polyhedra	Tetragonal	Polyhedra
Noninfected female × Noninfected male (♀×♂)	1	0	10.0	0	20.0	0	60.0	0	93.3								
	2	10.0	3.3	0	23.3	0	40.0	6.7	53.3								
Noninfected male (♀×♂)	3	0	3.3	20.0	33.3	0	26.7	0	63.3								
	Average	3.3	5.5	6.7	25.5	0	42.2	2.2	70.0								
Noninfected female × Infected male (♀×♂)	1	6.7	10.0	0	30.0	3.3	50.0	3.3	46.7								
	2	0	16.7	0	30.0	0	40.0	3.3	50.0								
Infected male (♀×♂)	3	3.3	26.7	0	43.3	0	33.3	0	53.3								
	Average	3.3	17.8	0	34.4	1.1	41.0	2.2	50.0								
Infected female × Noninfected male (♀×♂)	1	43.3	3.3	43.3	3.3	6.7	6.7	0	26.7								
	2	43.3	13.3	26.7	10.0	23.3	3.3	3.3	16.7								
Noninfected male (♀×♂)	3	43.3	3.3	36.7	0	20.0	10.0	0	26.7								
	Average	43.3	6.0	35.6	4.4	16.7	6.7	1.1	23.4								
Infected female × Infected male (♀×♂)	1	60.0	0	50.0	0	13.3	16.7	6.7	20.0								
	2	50.0	0	36.7	3.3	6.7	13.3	6.7	33.3								
Infected male (♀×♂)	3	36.7	0	30.0	3.3	6.7	10.0	0	30.0								
	Average	48.9	0	38.9	2.2	8.9	13.3	4.5	27.8								

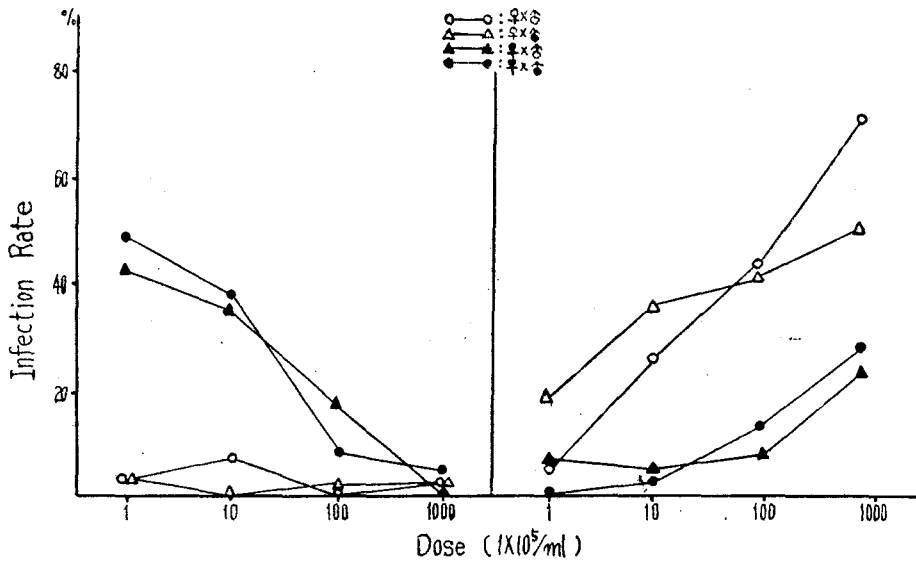


Fig. 11. Comparison of rates of infection with hexagonal polyhedron virus (left) and with tetragonal polyhedron virus (right) in the larvae from infected and noninfected female groups.

○, ◇ : Noninfected female and male moth.

●, ◆ : Infected female and male moth.

104의 非接種雄(◇) 및 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 接種雄(●)의 次代蠶에 四角型 細胞質多角體 바이러스의 接種 濃度別 六角型 細胞質多角體 바이러스의 單一 感染幼蟲은 3.3, 6.7, 0 및 2.2%와 3.3, 0, 1.1 및 2.2 %인데 反하여 雌蛾가 前代에 接種된 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(◇) 및 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 接種雄(●)의 次代蠶에 六角型 細胞質多角體 바이러스의 單一 感染 幼蟲은 43.3, 35.6, 16.7 및 1.1%와 48.9, 38.9, 8.9 및 4.5%이었다.

二次 바이러스인 四角型 細胞質多角體 바이러스에 感染된 幼蟲數는 表 4와 같이 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(◇) 및 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 接種雄(●)에 대해 각각 5.5, 25.5, 42.2 및 70.0%와 17.8, 34.4, 41.1 및 50.0%인데 反하여 六角型의 細胞質多角體 바이러스에 感染된 雌蛾가 交配組에 포함된 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(◇) 및 잠103의 接種雌(♀)×잠104의 接種雄(●)에서는 각각 6.0, 4.4, 6.7 및 23.4% 그리고 0, 2.2, 13.3 및 27.8 %의 二次 感染率을 나타내었다.

이 實驗結果는 다음과 같다. 즉 六角型 細胞質多角體 바이러스가 潜在하고 있는 家蠶에 四角型 細胞質多角體 바이러스를 二次로 接種하면 첫째, 六角型 細胞質多角體 바이러스는 誘發과 함께 干涉되어 感染을 이루지 못하여 이와같은 干涉現象은 二次 바이러스의 力價와 反比例하였다. 둘째, 二次 바이러스인 四角型 細

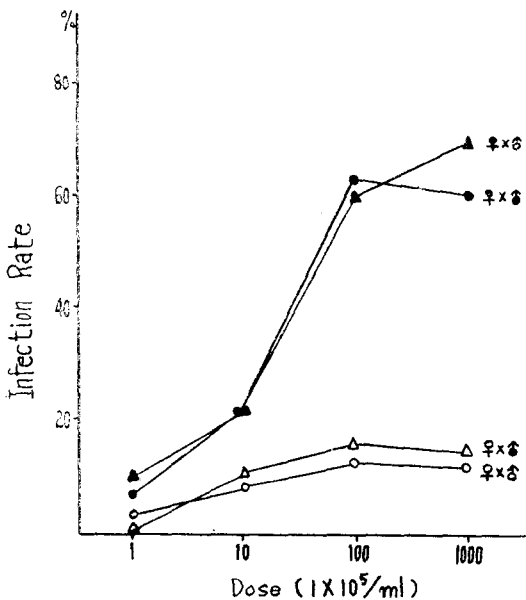
胞質多角體 바이러스는 誘發되는 一次 바이러스에 의해서  $1 \times 10^7$ /ml에 이르도록 干涉받다가 그 이상의 力價에서는 약간의 感染率上昇을 보였다. 한편 非潛在性 바이러스를 지니는 對照群에서는 그와 같은 경향이 없었다(圖 11참조).

#### 5. 六角型和 四角型 細胞質多角體 바이러스의 誘發·增進現象에 관하여

次代蠶으로 傳達된 潛在性 六角型 細胞質多角體 바이러스는 異型 바이러스인 四角型 細胞質多角體 바이러스의 接種에 의하여 活性化되고 六角型和 四角型 細胞質多角體 바이러스間에는 干涉現象이 일어났다. 그러나 同一 幼蟲內에 四角型和 六角型 細胞質多角體 바이러스가 混合感染된 경우에는 二次 바이러스에 의하여 感染率이 높아졌다. 混合感染의 경우에는 潛在性 바이러스의 誘發 程度에서 實驗群이 그렇지 않은 實驗群에서 보다 二次 바이러스에 대한 病原性이 두텁게 높았고 이 有意性있는 差異는 六角型 細胞質多角體 바이러스의 經卵傳達 感染을 間接적으로 뒷받침하여 주었다. 이 사실을 證明하기 위하여 前代蠶으로부터 潛在性 六角型 細胞質多角體 바이러스가 感染되지 않은 系統의 雌蛾가 交配組에 포함된 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 非接種雄(◇) 및 잠103의 非接種雌(♀)×잠104의 接種雄(●)의 次代蠶에 있어서의 混合感染 幼蟲數를 調査하였고, 이 結果는 表 5와 같다. 즉 바이러스의 接種 濃도가 높아지면서 각각 3.3, 8.9, 13.4 및 12.2% 그

**Table 5. Effect of Inoculation of Tetragonal Polyhedron Virus on the Rate of Mixed Infection with Hexagonal and Tetragonal Polyhedron Viruses in the Larvae from Moths Infected with Hexagonal Polyhedron Virus.**

Cross-batch	Replication	Infection Rate (%)			
		Virus Concentration			
		1×10 <sup>5</sup> /ml	1×10 <sup>6</sup> /ml	1×10 <sup>7</sup> /ml	1×10 <sup>8</sup> /ml
Noninfected female × Noninfected male (♀×♂)	1 2 3 Average	3.3 3.3 3.3 3.3	6.7 6.7 13.3 8.9	16.7 16.7 6.7 13.4	3.3 13.3 20.0 12.2
Noninfected female × Infected male (♀×♂)	1 2 3 Average	0 0 3.3 1.1	13.3 16.7 3.3 11.1	20.0 20.0 10.0 16.7	16.7 13.3 13.3 14.4
Infected female × Noninfected male (♀×♂)	1 2 3 Average	3.3 16.7 10.0 10.0	16.7 36.7 13.3 22.2	70.0 56.7 56.7 61.1	63.3 73.3 73.3 70.0
Infected female × Infected male (♀×♂)	1 2 3 Average	3.3 10.0 10.0 7.8	10.0 26.7 30.0 22.2	60.0 63.3 63.3 62.2	56.7 56.7 66.7 60.0



**Fig. 12. Comparison of rates of mixed infection with hexagonal and tetragonal polyhedron viruses in the larvae from infected and noninfected female groups.**  
 ○, △ : Noninfected female and male moth.  
 ●, ▲ : Infected female and male moth.

리고 1.1, 11.1, 16.7 및 14.4%인데 反하여 潜在性六角型細胞質多角體 바이러스가 次代蠶으로 感染된 系統의 雌蛾가 交配組에 포함된 잠103의 接種雌(●)×잠104의 非接種雄(△) 및 잠103의 接種雌(●)×잠104의 接種雄(▲)에 있어서는 각각 10.0, 22.2, 61.1 및 70.0% 그리고 7.8, 22.2, 62.2 및 60.0%의 感染率을 나타내었다. 六角型和 四角型 細胞質多角體 바이러스의 混合感染 程度를 그림으로 표시하면 圖 12와 같이 潜在性六角型細胞質多角體 바이러스가 感染된 系統의 雌蛾가 포함된 交配組는 次代蠶에 있어서 四角型細胞質多角體 바이러스의 接種濃度가 높아지면서 급격히 增加하는 경향이 있는데 反하여 一次 感染이 없었던 雌蛾와의 交配組로부터 얻은 次代蠶에 있어서는 混合感染 程度가 바이러스의 接種濃度에 따라서 커다란 變化를 나타내지 않았다. 첫째, 六角型の 潜在性 細胞質多角體 바이러스가 주로 雌蛾를 통해서 次代蠶으로 傳達된 것이 次代蠶에 接種한 二次바이러스에 의해서 活性化되었고, 둘째, 두가지 바이러스가 混合感染된 경우에는 四角型 細胞質多角體 바이러스의 接種濃度가 높아지면서 病原作用을 增進하였다. 그러나 前代에서 六角型 細胞質多角體 바이러스에 노출된 바 없는 家蠶에서는 比較的 그와 같은 增進現象이 없었다.

#### IV. 考 察

家蠶에 있어서 細胞質多角體 바이러스는 經卵傳達된다는 것이 알려졌다(福原 1962, 有賀 등 1964). 蠶體內에 바이러스가 侵入되면 病原성을 띄워서 家蠶으로 하여금 發病케 하여 斃死시키는 한편, 病原성을 띄우지 않고 潛在性으로 蠶體內에 存在할 수 있다. 그러므로 經卵傳達는 주로 後者의 경우에 일어날 수 있다. 經卵傳達의 可能性은 이 바이러스病을 豫防 또는 管理하는데 매우 중요시되는 까닭에 그 진위를 확실히 해야 함에도 불구하고 經卵傳達의 可能性을 부정하는 文獻(Yamafuji 1956, 1958, Yamafuji 등 1947, 1950<sup>a,b,c</sup> 1951, 1957<sup>a,b</sup>) 도 상당수에 달하고 있다.

이 研究에서는 經卵傳達感染을 證明하기 위한 새로운 方法을 응용하였다. 모든 實驗에 共通되는 것으로는 두 가지를 들 수 있고 이것을 하나하나 考察하면 다음과 같다.

區 分	前代 感染 細胞質多角體 바이러스	誘 發 處 理	交 配 組	經卵傳達의 究明
福 原(1962)	六角型, 四角型	冷 藏 處 理	♀×♂	誘 發
有賀 등(1964)	四 角 型	冷 藏 處 理	♀×♂, ♀×♂ ♀×♂, ♀×♂	誘 發
著 者	六 角 型	1. formalin 添食 2. 冷藏處理 3. 四角型 細胞 質多角體 바이러스의 接種	♀×♂, ♀×♂ ♀×♂, ♀×♂	誘 發 · 干 涉 誘 發 · 增 進

♀ 또는 ♂ : 感染母蛾, ♂ 또는 ♀ : 非感染母蛾  
 용한 것에 국한되어있고 이경우에도 福原(1962)와 有賀 등(1964)만이 前代에서 바이러스를 處理하였을 뿐 대부분 (有賀 1958 a, b, 有賀 등 1959, 1961, 福原 등 1959, 樺澤 등 1960, 鮎澤 등 1960, 山樹 등 1961, 鮎澤 1961, 田中等 1963, 石川 등 1966)의 경우 前代에서의 바이러스 處理를 하지 않고 誘發케 하였다. 이 研究에서는 異型 바이러스를 次代에 接種하여 줌으로써 誘發은 물론이고 干渉現象과 病原性 增進現象을 처음으로 이용하여 經卵傳達를 間接적으로 證明하였다.

#### 誘發現象을 이용한 經卵傳達의 證明

潛在性 바이러스에 자극을 주어서 活性化하는 誘發要因으로 異型 바이러스의 接種, 冷藏處理, 그리고 formalin 添食의 세 가지를 實驗하였다. 供試 異型 바이러스는 四角型 細胞質多角體 바이러스를 이용하였는데 이처럼 異型 바이러스를 誘發要因으로 家蠶에 이용한 것은 이 研究에서 처음 시도된 것으로 믿어진다. 冷藏處理와 formalin 添食에 의한 誘發에 관해서는 여러 先人(有賀 1958a, b, 有賀 등 1959, 1961, 福原 등 1959, 樺澤 등 1960, 鮎澤 등 1960, 山樹 등 1961, 鮎澤 1961)에 의하여 시도된 바 있다. 이 研究에서는 그 處理內容에 있어서 약간의 變法은 적용되었다고는 하나 그 結果에 있어

첫째, 家蠶을 前代에서 바이러스에 感染되게 하여 次代의 供試蠶으로 하여금 潛在性의 바이러스에 感染되도록 하기 위한 實驗에서는 六角型 細胞質多角體 바이러스를 供試하였다. 이와 같은 實驗法은 福原(1962)에 의하여도 시도된 바 있는데 그는 誘發處理와 交配組가 著者와 달랐다.

둘째, 經卵傳達되었을 것으로 믿게 하는 感染된 雌蛾를 중심으로한 交配組에 있어서 有賀 등(1964)이 시도한 交配組와 同一한 方法을 적용하였으나 이 研究에서는 供試바이러스와 誘發處理를 달리 함으로써 經卵傳達된 潛在性 바이러스의 活性化程度를 더욱 뚜렷하게 할 수 있었다.

위에 적은 두가지 方法을 위시한 經卵傳達의 間接的인 證明方法을 福原(1962)와 有賀 등(1964)의 것과 比較하면 다음 表와 같다.

經卵傳達의 間接的인 證明方法으로는 誘發現象을 이

서는 Kitajima(1926), 有賀 등(1959) 및 鮎澤(1961)의 성적과 일치됨을 보았다. 따라서 이 實驗은 다른 誘發現象을 더욱 확실히 방증하는 것이 될 수 있다는데 그 의의를 찾을 수 있다고 본다.

異型 바이러스에 의한 誘發에 있어서 實驗群과 對照群과의 誘發程度의 차이는 感染率로 따져서 前者의 경우 40 내지 50 %가 增加되었다. 한편 誘發要因인 異型 바이러스의 經口接種의 경우 바이러스의 量과 誘發程度에는 의의있는 상관관계가 없는 것으로 보아 분명히 誘發이라고 規定할 수 있다고 본다. 단지 여기에서 感染率의 基準을 六角型과 六角型 및 四角型의 두 型の 感染에 국한시켰을 때 異型 바이러스에 의한 誘發이 成立된다고 믿어진다.

위에 적은 세가지 誘發要因에 의한 共通的인 結果로는 感染된 母蛾가 交配된 實驗群에서 모두 높은 誘發이 일어나서 經卵傳達의 可能性을 입증하여 준 반면에 非感染雌蛾나 感染雄蛾가 交配된 對照群에서는 극히 낮은(5 내지 20 %) 誘發이 이룩되어 좋은 對照를 이루었다. 더욱이 感染雄蛾의 次代蠶은 誘發效果에 아무런 영향을 끼치지 못하는 점은 經卵傳達의 可能性을 또한 방증하여 준 結果가 된다고 믿어진다.



### 誘發·干涉現象을 이용한 經卵傳達의 證明

六角型 細胞質多角體 바이러스에 感染된 家蠶에 四角型 細胞質多角體 바이러스를 重複感染시키면 兩者 間에는 干涉現象이 일어났다. 즉 潛在性으로 存在하는 一次 바이러스는 二次 바이러스의 重複感染에 의해서 먼저 誘發되고 뒤이어 干涉받았다. 그리고 干涉現象의 類型은 家蠶이 一次 바이러스와 二次 바이러스 중 어떤 바이러스에 感染되었는가에 따라 다음과 같이 달랐다. 一次 바이러스가 六角型 細胞質多角體 바이러스이고 二次 바이러스는 四角型 細胞質多角體 바이러스일 경우 一次 바이러스에 感染된 家蠶만을 基準삼을 때 다음과 같은 干涉現象을 볼 수 있었다. 感染雌蛾가 交配된 組에서는 낮은 濃度の 二次 바이러스에 의해서 높은 誘發率을 보인 반면에 낮은 干涉現象을 보였으나, 二次 바이러스 量이 높아질수록 심한 干涉現象을 보여  $1 \times 10^8$  /ml에 이르러서는 誘發이 되지 않았던 對照群과 同一한 程度가 될 水準까지 干涉하였다. 한편 感染의 基準을 六角型이 아닌 四角型 細胞質多角體 바이러스에 두었을 때는 앞의 경우처럼 우선 六角型 細胞質多角體 바이러스가 誘發되고 이것이 二次 바이러스를 干涉하게 되었다. 이 사실은 非經卵傳達된 즉 一次 바이러스가 없는 對照群에서는 二次 바이러스 量에 따라 이에 感染되는 家蠶의 數가 增加되나, 一次 바이러스를 지니는 家蠶은  $1 \times 10^7$ /ml의 二次 바이러스 量에 이르도록 一次 바이러스에 의해 干涉된 점이다.

### 誘發·增進現象을 이용한 經卵傳達의 證明

一次 바이러스인 六角型 細胞質多角體 바이러스를 前代蠶에 處理하여 感染된 次代蠶에 二次 바이러스로 四角型 細胞質多角體 바이러스를 重複感染시키고 나서 一次 및 二次 바이러스에 混合感染된 家蠶을 보면 病原性의 增進現象이 觀察되었다. 즉 一次 바이러스에 感染된 實驗群에서는 60 내지 70%의 感染을 보였으나 非感染된 對照群에서는 二次 바이러스의 處理量과 관계 없이 20 %이하의 感染率을 보여 주었다.

이 사실은 분명히 一次 바이러스에 感染됨으로써 二次 바이러스에 의하여 誘發되고 뒤이어 二次 바이러스의 處理量과 비례해서 病原성이 增進됨을 알 수 있다. 病原性 增進作用의 機轉은 알 수 없으나 다만 一次와 二次 바이러스에 의한 混合感染을 허용하는 家蠶에 대하여는 二次 바이러스가 誘發에서 끝이거나 또는 誘發을 일으키고 干涉現象을 일으키는 것과는 달리 誘發하고 뒤이어 病原作用을 增進하는 것 같다.

앞에서 지적한 바 經卵傳達를 證明하기 위한 誘發·干涉現象과 誘發·病原性 增進現象의 이용은 이 研究에

서 처음으로 다루어졌고 이 문제는 앞으로 學術 및 應用的인 면에서 더욱 研究될 問題로 믿어진다.

## V. 摘 要

家蠶에 있어서의 細胞質多角體 바이러스의 經卵傳達感染을 究明하기 위하여 六角型 細胞質多角體 바이러스를 前代蠶에 接種하고 이에 感染된 雌蛾의 交配組와 非感染된 雌蛾의 交配에서 얻어진 次代蠶에 있어 誘發現象의 차이, 誘發·干涉現象의 차이를 觀察하고 分析하여 經卵傳達感染의 可能性을 밝혔다. 여기에서 얻어진 實驗結果는 다음과 같다.

1. 異型 바이러스인 四角型 細胞質多角體 바이러스에 의한 六角型 細胞質多角體 바이러스의 誘發實驗에서 感染된 바이러스의 種類를 六角型的 單一感染과 六角型과 四角型的 混合感染을 모두 基準삼을 때 感染雌蛾 交配群에서는 對照群보다 40내지 60%가 더 높은 誘發程度를 보였다.

2. formalin 添食에 의한 六角型 細胞質多角體 바이러스의 誘發實驗에서 六角型 細胞質多角體 바이러스에 의한 誘發만을 基準삼을 때 實驗群은 對照群에 비하여 약 40%의 높은 誘發程度를 보였다. 이 實驗에서 添食한 2 또는 3%의 formalin 濃도는 誘發程度에 있어서 차이를 가져오지 못했다.

3. 冷藏處理에 의한 六角型 細胞質多角體 바이러스의 誘發實驗에서 六角型 細胞質多角體 바이러스에 의한 誘發만을 基準삼을 때 實驗群은 對照群에 비하여 약 50%의 높은 誘發程度를 보였다. 이 實驗에서 적용한 12 또는 24時間의 冷藏處理群間에 의의있는 차이가 認定되지 않았다.

4. 誘發·干涉現象에 관한實驗에서 誘發과 干涉되는 바이러스를 六角型 細胞質多角體 바이러스에 국한시켰을 때는 二次 바이러스인 四角型 細胞質多角體 바이러스의 處理濃도가 높아질수록 一次 바이러스인 六角型 細胞質多角體 바이러스 量이  $1 \times 10^8$ /ml에 이르러서는 對照群과 同一한 水準에 놓이게 되었다.

한편 誘發과 干涉되는 바이러스를 四角型 細胞質多角體 바이러스에 국한시켰을 때는 낮은 濃度の 二次 바이러스는 誘發된 一次 바이러스에 의하여 干涉받았고, 二次 바이러스 量이  $1 \times 10^7$ /ml에서부터 二次 바이러스에 感染된 家蠶이 增加되었으나 對照群보다는 약 30%가 미달되는 感染率을 보였다.

5. 誘發·病原性 增進現象에 관한 實驗에서 誘發과 增進되는 바이러스를 四角型과 六角型 細胞質多角體 바이러스의 混合感染 된것에 국한시켜 보면 二次 바이러스인 四角型 細胞質多角體 바이러스의 濃도가 높아지

서  $1 \times 10^7$ /ml에 이르면 混合感染은 최고도에 이르러 實驗群과 對照群간의 차이는 40%를 넘게 되었다. 여기에서 對照群은 二次 바이러스의 濃度와 관계없이 아무런 영향을 받지 않았다.

謝辭: 이 研究를 遂行함에 있어서 始終 指導해 주신 金洛禎 教授님, 崔炳熙 教授님 그리고 朴光義 教授님께 深甚한 謝意를 드리며 本論文이 完成될 수 있도록 努苦를 아끼지 않고 指導하여 주신 全允成 教授님과 鄭吉澤 教授님께 또한 深甚한 謝意를 드립니다. 그리고 本論文을 위한 實驗을 遂行함에 있어 電子顯微鏡使用에 적극 協助해 주신 李淳炯 學兄과 누에 飼育試驗을 도와 준 金槿榮, 任大準君에게 아울러 感謝드립니다.

本實驗에 供試한 細胞質多角體 바이러스를 分讓하여 주신 東京大學 農學部 渡部仁 教授님께 또한 感謝드립니다.

### 引用文獻

- 阿部芳彦, 鮎澤千尋. 1974. カイコの各種組織における核多角體病感受性に關する研究(I) 低溫處理蠶における中腸皮膜組織の感受性の變化. 日蠶雜 43, 200-205.
- 鮎澤啓夫, 古田要二, 長樂 勇. 1964. 蠶を低溫處理したのち短時間食桑させた場合の多角體病誘發. 日蠶雜 33, 417-418.
- 有賀久雄. 1958a. 家蠶におけるウイルス病抵抗性の機構(IV) 多角體病蠶の發生と環境. 日蠶雜 27, 5-9.
- 有賀久雄. 1958b. 家蠶におけるウイルス病抵抗性の機構(VI) 飼育時期と中腸型多角體病發生率. 日蠶雜 27, 14-17.
- Aruga, H. 1963. Induction of virus infections. In "Insect Pathology, An Advanced Treatise" (Ed. E.A. Steinhaus), Vol. 1, pp.499-530. Academic Press, New York.
- 有賀久雄, 荒井成彦. 1959. 低溫處理による家蠶多角體病の誘發に關する研究. 日蠶雜 28, 362-368.
- 有賀久雄, 橋本陽子. 1965. 紫外線により不活化された家蠶中腸型多角體病ウイルスと活性ウイルスの干涉. 日蠶雜 34, 351-354.
- 有賀久雄, 福原敏彦. 1960. 化學藥品の添食による家蠶多角體病の誘發. 日蠶雜 29, 44-49.
- 有賀久雄, 福原敏彦. 1961. 家蠶中腸型多角體病の誘發されたウイルスと接種されたウイルスとの干涉. 日蠶雜 30, 31-35.
- Aruga, H., Hukuhara, T., Fukuda, S., and Y. Hashimoto. 1963. Interference between cytoplasmic-polyhedrosis viruses of the silkworm, *Bombyx mori* (Linnaeus), and of the Pine Caterpillar, *Dendrolimus spectabilis* (Butler). J. Insect Path., 5, 415-421.
- Aruga, H., Hukuhara, T., Yoshitake, N., and Israngkul Na Ayudhya. 1961. Interference and latent infection in the cytoplasmic polyhedrosis of the silkworm, *Bombyx mori* (Linnaeus). J. Insect Path. 3, 81-92.
- 有賀久雄, 福原敏彦. 吉武成美, A., Israngkul. 1961. 接種された二種の中腸型多角體ウイルス間の干涉. 日蠶雜 30, 23-30.
- 有賀久雄, 岩下嘉光. 1971. 紫外線不活化細胞質多角體病ウイルス添食が腸内細菌による軟化病發生に及ぼす影響. 日蠶雜 40, 217-220.
- 有賀久雄, 金井榮一, A., Israngkul. 1959. 家蠶多角體病の誘發と蠶兒の生理狀態との關係. 日蠶雜 28, 369-374.
- 有賀久雄, 長島榮一. 1962. 家蠶中腸型多角體病抵抗性に對する染色體と細胞質の役割. 日蠶雜 31, 101-107.
- 有賀久雄, 長島榮一, 武井隆三. 1964. 家蠶細胞質多角體病ウイルスの經卵傳達による發病. 日蠶雜 33, 460-463.
- 有賀久雄, 田中茂男, 清水孝夫. 1965. 家蠶における傳染性軟化病ウイルスの細胞質多角體病ウイルスに對する干涉. 日蠶雜 34, 385-390.
- 有賀久雄, 渡部仁. 1959. 家蠶における原種と交雜種との間の低溫處理による多角體病誘發率の差異. 日蠶雜 28, 302-307.
- 有賀久雄, 渡部仁. 1961. 家蠶の原種と交雜種における2,3誘發處理による多角體病誘發率. 日蠶雜 30, 36-42.
- 有賀久雄, 渡部仁. 1970a. 家蠶における紫外線不活化細胞質多角體病ウイルスと活性ウイルスとの干涉(I) 干涉に關係する2,3の條件. 日蠶雜 39, 273-276.
- 有賀久雄, 渡部仁. 1970b. 家蠶における紫外線不活化細胞質多角體病ウイルスと活性ウイルスとの干涉(II) 蠶品種並びに接種間隔. 日蠶雜 39, 382-386.
- 有賀久雄, 渡部仁, 長野ヒロ. 1963. 家蠶細胞質多角體病ウイルスと熱による不活化ウイルスとの干涉現象. 日蠶雜 32, 51-57.
- Aruga, H., and N. Yoshitake. 1961. Studies on the induction of nuclear and cytoplasmic polyhedroses by treating with X-rays and ultraviolet light in the silkworm, *Bombyx mori* L. Japan. J. Appl. Ent. Zool., 5, 46~49. (In Japanese, English summary)
- 有賀久雄, 吉武成美. 1964. 各種の條件下における2種の家蠶細胞質多角體病ウイルス間の相互作用. 日蠶雜

- 33, 345-351.
- 有賀久雄, 吉武成美, 渡部仁. 1962a. 家蠶中腸型多角體病ウイルスとその不活化ウイルスとの相互作用について. 日蠶雜 31, 17-24.
- 有賀久雄, 吉武成美, 渡部仁. 1962b. 低温處理と高温處理とを併用した場合の家蠶多角體病誘發率. 日蠶雜 31, 139-142.
- 鮎澤千尋. 1961. 低温處理による家蠶多角體病の誘發について. 日蠶雜 30, 101-108.
- 鮎澤千尋, 佐藤敏夫. 1960. 低温飼育蠶の誘發處理による多角體病の發生について. 日蠶雜 29, 260.
- Bergold, G.H. 1958a. Some topics of insect virology. Trans. 1st. Intern. Conf. Insect Pathol. and Biol. Control, Praha, 1958, pp.191-195.
- Bergold, G.H. 1958b. Viruses of insects. In "Handbuch der Virusforschung" (C. Hallauer and K.F. Meyer, eds) Vol. 4, pp.60-142. Springer, Vienna.
- Bolle, J. 1908. Z. landwirtsch. Versuchsw. Oesterr. 11, 279-280.
- Brakke, M.K. 1951. Density gradient centrifugation, A new separation technique. J. Am. Chem. Soc., 73, 1847-1848.
- Conte, A. 1907. Compt. Rend. Session Assoc. Franc. Advance. Sci. 36, 622-623.
- Cunningham, J.C. 1967a. A study of latency in insect virus diseases. A thesis submitted to the University of Oxford for the degree of Doctor of Philosophy. pp.4.
- Cunningham, J.C. 1967b. A study of latency in insect virus diseases. A thesis submitted to the University of Oxford for the degree of Doctor of Philosophy. pp.11-17.
- Goldman, M. 1968. Fluorescent antibody methods. pp. 93-95. Academic Press, New York and London.
- Harrap, K.A. 1969. The structure and replication of some insect viruses. A thesis submitted to the University of Oxford for the degree of Doctor of Philosophy. pp. 52-68.
- 藤原公, 扇元敬司, 須藤恒二, 上田金時. 1966. 家蠶微粒体病原體 *Nosema bombycis* NÄGELIの免疫蛍光染色について. 蠶絲研究 58, 14-19.
- 福原敏彦. 1961. EDTA による家蠶中腸型多角體病の誘發. 日蠶雜 30, 351-353.
- 福原敏彦. 1962. 家蠶細胞質多角體病ウイルスの次代蠶への傳達. 日蠶雜 31, 97-100.
- 福原敏彦, 有賀久雄. 1959. 温度處理による家蠶多角體病の誘發現象. 日蠶雜 28, 235-241.
- Hukuhara, T., and Y. Hashimoto. 1966a. Studies of two strains of cytoplasmic-polyhedrosis virus. J. Invert. Path., 8, 184-192.
- Hukuhara, T., and Y. Hashimoto. 1966b. Serological studies of the cytoplasmic and nuclear-polyhedrosis viruses of the silkworm, *bombyx mori* L. J. Invert. Path., 8, 234-239.
- 井上元, 鮎澤千尋. 1971. 螢光抗體法による家蠶ウイルス性軟化病の診斷に関する研究. 蠶試報 25, 21-40.
- 石川義文, 淺山哲. 1967. 野外昆虫多角體病と家蠶多角體病との關係(V) 數種りん翅目昆虫における核多角體病ウイルスの二重感染. 日蠶雜 36, 83-87.
- 石川義文, 沖野英男. 1966. 冷蔵處理後生し桑給與と多角體病の誘發. 日蠶雜 35, 232.
- Ishimori, J. 1934. Contribution a l'etude de la grasserie du ver a soie (*Bombyx mori*). Compt. rend. Soc. Biol., p. 116.
- 岩下嘉光, 有賀久雄. 1963. 高温湿度衝擊を與えた蠶兒のウイルス病の誘發について. 日蠶雜 32, 182.
- 岩下嘉光, 有賀久雄. 1964. 高温湿度衝擊を與えたカイコの2種多角體病の誘發について. 日蠶雜 33, 124-129.
- 榊澤敦, 瀬戸川 喜多夫, 蛸原富男. 1960. 蠶の中腸型多角體病に関する研究 (I) 起蠶冷蔵誘發の蠶期的關係および各令蠶の食下傳染について (II) 催青卵冷蔵並びに蠶種製造途上における2, 3の條件と誘發との關係. 日蠶雜 29, 261.
- 河合孝. 1965. ジエチルチオカルバミン酸ナトリウム並びに8ハイドロキシヒノリンによる家蠶多角體病の誘發について. 日蠶雜 34, 208.
- 河合孝. 1967. ジエチルチオカルバミン酸ナトリウム並びに8ハイドロキシヒノリンによる家蠶多角體病の誘發について. (續報) 日蠶雜 36, 236.
- Kawamura, A. 1969. Fluorescent antibody techniques and their applications. pp. 23-33. University of Tokyo Press.
- 金潤植. 1965. 人為的誘發에 의한 家蠶中腸型多角體病의 研究. 韓蠶雜 4, 47-50.
- Kitajima, E. 1926. Relationship between grasserie in the silkworm and feeding formalin. Sangyo-shinpo, 393, 268-275. (In Japanese, seen in Aruga, 1963).
- 北澤敏男, 高見丈夫. 1959. 蠶卵胚子に對する中腸型多角體ウイルスの接種實驗. 日蠶雜 28, 59-64.

- Krywienczyk, T. 1963. Demonstration of nuclear polyhedrosis in *bombyx mori* (Linnaeus) by fluorescent antibody technique. *J. Insect. Path.* 5, 309-317.
- 倉田啓而. 1969. 無菌蠶の利用による蠶ウイルス病誘発の研究 (2) ヒドロキシルアミン, EDTA, 青酸化物, 弗化物, ホルマリンの添食およびガンマ線照射の影響. *蠶試報* 23, 149-171.
- Longworth, J.F., and J.C. Cunningham. 1968. The activation of occult nuclear polyhedrosis viruses by foreign nuclear polyhedra. *J. Invert. Path.* 10,
- 宮島成壽. 1971. 發育時期を異にした家蠶幼虫の細胞質多角體病ウイルスに対する感受性の變化. *日蠶雜* 40, 227-230.
- 宮島成壽. 川瀬茂實. 1968. 家蠶における細胞質多角體病の發病におよぼす高温の影響. *日蠶雜* 37, 390-394.
- 村上昭雄. 1960. 5令初期の放射線照射による中腸型多角體病の發生とその生物學的影響. *日蠶雜* 29, 262.
- Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Cell. Biol.* 17, 208.
- Smith, K. M., Hills, G. J., and C. F. Rivers. 1961. Studies on the cross-inoculation of the *Tipula* iridescent virus. *Virology*, 13, 233-241.
- Smith, K.M., and N. Xeros. 1953a. Studies on the cross-transmission of polyhedral viruses. Experiments with a new virus from *Pyrameis cardui*, the painted lady butterfly. *Parasitology*, 43, 178-185.
- Smith, K.M., and N. Xeros. 1953b. Cross-inoculation studies with polyhedral viruses. Symposium. Interaction of viruses and cells. Rome, 1953, 81-96.
- Steinhaus, E.A. 1958a. Stress as a factor in insect disease. Proc. 10th Intern. Congr. Ent., Montreal, 1956, 4, 725-730.
- Steinhaus, E.A. 1958b. Crowding as a possible stress factor in insect disease. *Ecology*, 39, 503-514.
- Steinhaus, E.A. 1960. The importance of environmental factors in the insect-microbe ecosystem. *Bact. Rev.*, 24, 365-373.
- Steinhaus, E.A., and J.P. Dineen. 1960. Observations on the role of stress in a granulosis of the variegated cutworm. *J. Insect Pathol.* 2, 55-65.
- 田中茂男. 有賀久雄. 1963. 低温處理の家蠶多角體病感染におよぼす影響. *日蠶雜* 32, 226-231.
- 田中茂男. 有賀久雄. 1967. 家蠶の中腸核多角體病ウイルスと細胞質多角體病ウイルスとの干涉. *日蠶雜* 36, 169-176.
- 辻田光雄. 1949. 蠶の中腸皮膜に於ける膿病多角體の形成に就て. *日蠶雜* 18, 326-327.
- Yamafuji, K. 1956. Presence of deoxyribonuclease in silkworm polyhedral virus. *Nature*, 178, 89.
- Yamafuji, K. 1958. Role of deoxyribonucleic acid and deoxyribonuclease in induction processes of polyhedrosis virus. Proc. 10th Intern. Congr. Ent., Montreal, 1956, 4, 731-736.
- Yamafuji, K., and T. Cho. 1947. Weitene studien über die Entstehung des seidenraupen-polyeder virus ohne Virusinfektion. *Biochem. Z.*, 318, 95-100.
- Yamafuji, K., and H. Omura. 1950. The formation of silkworm virus by acetoxime feeding. *Enzymologia*, 14, 124-127.
- Yamafuji, K., and F. Yoshihara. 1950. On the virus production and oxime formation in silkworms fed with nitrites. *Enzymologia*, 14, 124-127.
- Yamafuji, K., and K. Hirayama. 1957. Nucleases and proteases in silkworms in the early stage of viral infection and chemical induction. *Enzymologia*, 18, 120-124.
- Yamafuji, K., Akita, T., and M. Inaoka, 1950. Experimental production of silkworm virus under sterile conditions. *Enzymologia*, 14, 164-169.
- Yamafuji, K., Yoshihara, F., Eto, M., and H. Omura. 1951. Induction of polyhedrosis by injecting deoxyribonucleic acid fractions isolated from healthy silkworms. *Enzymologia*, 17, 237-244.
- Yamafuji, K., Yoshihara, F., and K. Hirayama. 1957. Protease and deoxyribonuclease in viral polyhedral crystal. *Enzymologia*, 19, 53-58.
- 山口邦友. 1973. 家蠶の中腸核多角體病について(Ⅵ) 變異系と考えられる新系統, B系. *日蠶雜* 42, 74-78.
- 山口邦友, 鮎澤千尋. 1970. 家蠶中腸核多角體病について(Ⅳ) 變異系と考えられる新系統, BおよびC<sub>1</sub>系. *日蠶雜* 39, 342-350.
- 山口邦友, 福原敏彦. 1973. 家蠶の中腸核多角體病について(Ⅸ) 新變異系統, B<sub>2</sub>の分離. *日蠶雜* 42, 239-243.
- 山崎義寛, 政田晴彦, 大道澄夫. 1961. 家蠶の中腸型膿病に関する研究 (Ⅶ) 第5齡起蠶の冷蔵による中腸型膿病の誘発について. *日蠶雜* 30, 237.
- Yasuhiro, H., and K. Aizawa. 1964. The fine structure of the cytoplasmic-polyhedrosis virus of the silkworm, *Bombyx mori* (Linnaeus). *J. Insect Pathol.*

6. 53-77.

- 横川正一. 1964a. 中腸型多角體病の發生に及ぼすウイルス接種と理化學的處理の影響. 日蠶雜 33, 239.
- 横川正一, 1964b. 蠶卵の取扱いと中腸型多角體病發生との關係. 日蠶雜 33, 394-398.
- 横川正一. 岡部房之. 1961. 未熟蠶上簇並びに冷蔵處理と次代蠶の中腸型多角體病發生との關係. 日蠶雜 30,

237.

- 横川正一. 山口邦友. 1960. 農藥附着桑給與による家蠶中腸型多角體病の誘發について. 日蠶雜 29, 133-136.
- 横川正一. 山口邦友, 岡部房之. 1963. 蠶卵の取扱いとくに越年卵(活性卵)の高溫接觸あるいは浸漬時の水洗不完全と中腸型多角體病發生との關係. 日蠶雜 32, 180.