

누에 고름병 바이러스와 흰곤음병균에 대한 포르말린 燻煙消毒

李永根 · 李載昌 · 姜錫權* · 姜龍雲**

農村振興廳 蠶業試驗場 · *서울대학교 農科大學 · **京畿道蠶種場

Disinfection of Nuclear Polyhedrosis Virus and Yellow Muscardine Pathogen (*Beauveria bassiana*) of Silkworm, *Bombyx mori* L., by Formalin Fumigation

Yung Keun Lee, Jae Chang Lee, Seok Kwon Kang* and Yong Un Kang**

Sericultural Experiment Station, R.D.A. Suwon, Korea

*College of Agriculture, Seoul National University, Suwon, Korea

**Kyung Gi Provincial Silkworm Breeding Station, Suwon, Korea

Summary

The disinfectivity of formalin fumigation was tested against silkworm nuclear polyhedrosis virus and yellow muscardine pathogen, *Beauveria bassiana*. The inactivation of the virus was acquired when it was fumigated by adding 30g of potassium permanganate to 75ml of formalin per 3.3m² of rearing room area and viability of the yellow muscardine pathogen was also lost with the same treatment of fumigation.

It was also proved that the fumigation didn't give any damage to silkworm larvae when it was applied 2 or 3 times to grown larvae.

緒 言

포르말린은 蠶蠶에서 오랫동안 소독약제로서 사용되어 오고 있다. 사람의 눈에 대한 강한 자극 때문에 이의 사용이 매우 불편함을 느끼면서도 이 약제가 오랫동안 사용되어 오고 있는 이유는 미생물의 종류면에서 자기 다른 여러종류의 누에병원체에 대하여 강한 소독력을 갖고 있기 때문이다.

포르말린의 주성분인 포르말데히드 가스를 이용한 다른 형태의 약제로서는 粉劑 형태인 “파프졸”과 燻蒸劑인 네오피. 피. 에스(NEO P.P.S)가 사용되어 오고 있다. 그러나 오늘날 양잠이 노동력의 부족으로 위축되어 가는 시점에서 “파프졸”은 규모가 큰 농가에서는 그 撒布에 있어서 노동력이 요구되기 때문에 이 약제의 사용이 점차 감소되어지고 있다.

또한 “네오피. 피. 에스”는 일찌기 青木 등(1958)과 그 밖의 연구자에 의하여 누에병원체에 대한 약효가 확인되었고 사육중 소독약제로서의 응용가능성을 누에

핵 및 세포질다각체 바이러스에 대한 약효와 누에가 받는 약해면에서 검토되어 보고된 바 있다(鄭 등, 1975; 林 등, 1976; 金 등, 1982). 그러나 “네오피. 피. 에스”를 이용하는 데는 이를 혼증시킬 때 그 燃焼에 있어서 어려운 점이 있다. 따라서 오늘날에는 농가에서 이의 이용을 기피하고 있어서 거의 이용되지 않는 실정이다. 그런데 오래전부터 畜産에서 포르말린에 과당간산카리를 혼합반응시켜 발생되는 “포름알데히드” 가스로 가축사 소독에 이용하고 있는데(吳, 1988) 이 방법은 과당간산카리의 값이 외국에서 수입 되어오기 때문에 비싼 것이 단점이긴 하나 省力的인 면에서는 권장할만한 방법이다.

따라서 누에병원체에 대한 약효와 누에가 받는 약해는 “네오피. 피. 에스”의 경우와 같으리라고 생각되므로 著者 등은 이러한 문제점들을 감안하여 본 연구에서 이 방법의 이용에 필요한 약제의 적정량을 구명하여 양잠에서의 응용 가능성을 검토하였기에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 고름병 바이러스 준비

고름병 바이러스(Nuclear Polyhedrosis Virus)는 1988년 봄누에때 잠업시험장에서 고름병에 걸린 5령 말기 누에의 乳白色 현탁액을 채취하여 냉장고(4°C)에 보관하였다가 시험을 실시할 때(1989년 봄, 가을누에 때) 꺼내어 0.01% SDS 용액으로 처리한 후 원심분리로 2회 세척하여 공시하였다.

바이러스 농도를 10⁷/ml로 만들어 Petri-dish에 부어 실험실내에서 자연 건조시켜 누에시령의 상, 중, 하단에 배치하고 포르말린 燻煙소독을 실시하였다. 처리된 바이러스를 다음날 수집하여 멸균수로 다시 원래의 바이러스농도(10⁷/ml)대로 만들어 인공사료(크기: 4cm×2cm×0.5cm)에 塗抹하여 4령 갓 누에에 24시간 점식시킨 후 새로운 사료로 사육을 계속하면서 병잠을 조사하였다.

2. 노란곰음병균의 준비

노란곰음병균은 1988년 가을누에때 잠업시험장에서 채집한 노란곰음병잠으로 부터 병원균을 분리하여 Czapek's solution agar에 배양하여 시험에 공시하였다.

배양된 균을 수집하여 멸균수로 현탁액을 만들어 건열소독된 흡습지(5mm×5mm)에 오염시켜 고름병 바이러스와 같이 누에시령의 상, 중, 하단에 배치하고 혼연소독을 실시하였다. 하룻밤을 지난후 소독된 흡습지를 수집하여 Czapek's solution broth에 배양하고 균의 자람을 조사하였다.

3. 포르말린과 과망간산카리(KMnO₄) 혼합에 의한 燻煙消毒

잠실에미소독

잠실에 이미 오염되어 있는 누에 병원체와 각종 미생물을 제거시키기 위하여 혼연소독을 실시하기전에 관행의 방법으로 시험을 실시할 잠실들의 에미소독을 실시하였다.

燻煙消毒실시

포르말린과 과망간산카리의 적정 혼합비율을 알아보기 위하여 그 비율을 3.0:1, 2.5:1, 2.0:1, 1.5:1로 혼합한 결과 2.5:1이 가장 적정한 것으로 나타나 본 시험에서의 포르말린과 과망간산카리의 혼합비율은 2.5:1로 하였다.

잠실 단위면적당 적정 소요약제량을 구명하는에는 과망간산카리 값이 포르말린 값 보다 비싼 것을 고려하여 과망간산카리의 양을 밝히기로 하고 잠실면적 3.3m²당 10, 20, 30, 40g의 수준으로 하였다.

포르말린과 과망간산카리의 혼합은 양동이에 포르말린을 먼저 계량하여 준비하고 거기에 필요한 양의 과망간산카리를 넣었다. 이때 양동이 하나에 포르말린 0.5l, 과망간산카리 200g을 넘지 않게하여 이들이 반응할 때 양동이 밖으로 튀어나오지 않도록 하였다.

4. 사육중 포르말린 혼연소독

사육중 포르말린 혼연소독을 실시할 때 누에에 미치는 영향을 조사하기 위하여 4령 1일째와 5령 1일째 2회 소독을 실시한 것과 4령 1일째와 5령에는 1일째, 3일째 처리하여 3회 처리한 것을 비교하였다. 이 시험에서 적용된 과망간산카리의 양은 고름병 바이러스와 노란곰음병균에 대하여 소독효과를 나타낸 수준보다 한단계 더 높은 수준인 잠실면적 3.3m²당 40g을 처리하였다. 허무중에서 처리시키는 실제로 이 기술이 농가에 보급될 때 포름알데히드 가스에 의한 불편을 없애기 위하여 저녁급상후에 처리하고 다음날 아침 급상때까지 유지시켰다.

結果 및 考察

1. 고름병 바이러스에 대한 소독효과

잠실면적 3.3m²당 과망간산카리 10~40g의 수준별로 바이러스의 不活化 효과를 보면 표 1에서와 같다. 무처리인 대조구에서는 잠가의 상단과 중간 위치에서는 100%의 발병을 나타내고 하단에서는 73.0%의 발병율을 나타내며 비하여 처리수준중 가장 적은양인 10g의 수준에서는 5.0~8.3%의 발병율을 보임으로써 높은 소독효과를 나타냈다. 20g의 수준을 보면 봄누에때는 잠가위치 중간에서는 20%, 상단에서는 3.3%, 하단에서는 9.9%의 발병율을 보임으로써 중간위치를 제외하고는 10g의 수준과 비슷한 결과를 보였으나 가을누에때의 시험에서는 상단에서만 3.3% 발병율을 보였을 뿐 잠가의 중, 하단에서는 전혀 병이 발생하지 않았다. 30g의 수준에서는 봄, 가을누에 때 한가지로 잠가 하단에서만 1.6%의 발병율을 보였을 뿐 상, 중단에서는 발병되지 않음으로서 거의 완전한 소독효과를 보였다. 가장 많은 양을 처리한 40g의 수준에서는 봄누에때 잠가 중간 위치에서만 1.6%의 발병율을 보였고 잠가의 기타 위치에서는 발병되지 않았다.

이상의 결과를 종합해 보면 잠실면적 3.3m²당 과망간산카리 10g과 포르말린 25ml을 혼합하여 포름알데히드 가스를 발생시킬 때 고름병 바이러스에 대한 不活化효과는 매우 높게 나타났고 과망간산카리 양과 포르말린 양을 잠실면적 3.3m²당 각각 30g과 75ml를 혼합하였을 때는 바이러스의 불활환화는 거의 완전하게 나

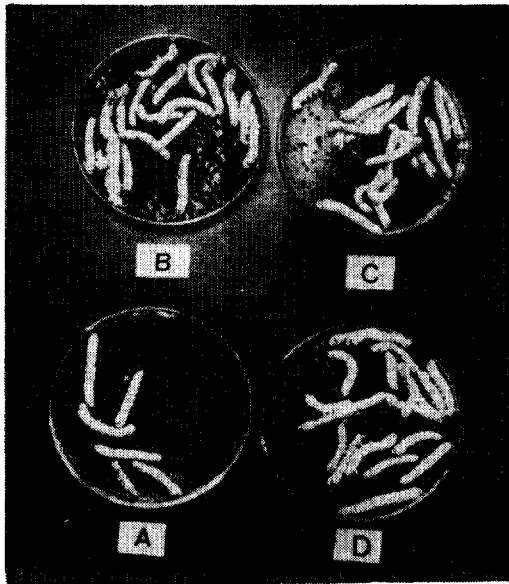


Fig. 1. Larvae inoculated *peros* with nuclear polyhedrosis virus formalin-fumigated for overnight by adding 40g of potassium permanganate to 100ml of formalin per 3.3m² of rearing room area. Inoculated larvae were fed on artificial diet.

Location of virus on rearing bed

- A : Control(no fumigation)
- B : Middle
- C : Upper
- D : Down

다났다(그림 1).

이러한 혼연소독을 실시할 때 잠가의 상, 중, 하단 별로 바이러스 불활화 정도는 차이가 없는 것으로 나타나 과망간산카리와 포르말린의 혼합반응에 의하여 발생된 포르말데히드 가스의 잠실내에서의 확산은 위치 별로 거의 균일하게 이루어지는 것으로 생각된다.

2. 노란곰음병균에 대한 소독효과

노란곰음병균에 대한 소독(살균) 효과는 표 2에서와 같다. 잠실면적 3.3m²당 과망간산카리 10g의 수준에서는 무처리(균이 오염된 흡습지를 예비소독을 실시한 잠실에 배치하였다가 수집하여 배양시킨 것)와 같은 발육을 보였고 과망간산카리 20g의 수준에서는 균의 자람이 과망간산카리 10g때 보다는 약간 억제되었음을 보였다. 그리고 과망간산카리 30g, 40g의 수준에서는 균이 전혀 자라지 못하였다(그림 2). 따라서 처리된 약제의 양적인 면에서 보면 잠실면적 3.3m²당 과망간산카리 30g, 포르말린 75ml을 반응시킨 때는 노란곰음병균도 완전히 살균됨을 보여주었다. 또한 잠가의 위

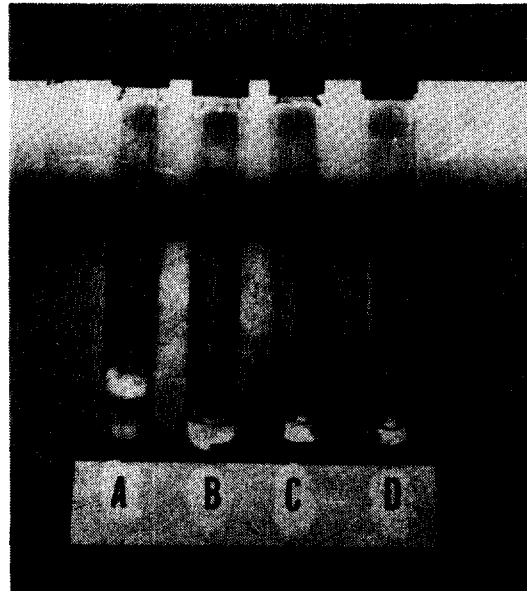


Fig. 2. Culture of yellow mulscardine pathogen, *B. bassiana* after formalin-fumigated by adding 30g of potassium permanganate to 75ml of formalin per 3.3m² of rearing room area. The fungus grew only in control(non-fumigated).

Location of fungus on rearing bed

- A : Control(no fumigation)
- B : Upper
- C : Middle
- D : Down

차별로 보면 상, 중, 하단 사이에 각 처리의 수준에서 균의 자람에 차이를 보이지 않았다.

이와같이 노란곰음병균에 대한 과망간산카리에 의한 포르말린 혼연소독효과는 처리약제의 양적인 면에서 볼 때 고름병 바이러스때와 같은 경향을 보여 주었다. 즉 과망간산카리를 잠실면적 3.3m²당 30g으로 적용할 때는 이 두 종류의 누에 병원체는 불활화와 살균이 됨을 보여 주었다.

3. 포르말린 혼연소독이 누에에 미치는 영향

포르말린 혼연소독이 누에에 미치는 영향을 全繭重, 繭層重, 繭層比率, 幼蟲期間, 실크립새울 및 檢定生絲量比率 면에서 검토하였다. 표 3에서와 같이 2회처리(4령 1일째, 5령 1일째), 3회처리(4령 1일째, 5령 1, 3일째) 그리고 무처리를 비교하였다. 全繭重을 보면 이들 처리간에 별차이가 없음을 보여 주었고 繭層重은 무처리가 약간 떨어졌다. 그밖에 실크립새울에서만 3회 처리때가 82%로 2회 처리때 87%, 무처리 88%에 비하여 약간 떨어졌을 뿐 繭層比率, 幼蟲期間, 檢定生絲

Table 1. Bioassay of formalin fumigation disinfectivity against nuclear polyhedrosis virus of silkworm larvae

Amount of potassium permanganate applied per 3.3m ² of rearing room area	Location of virus on rearing bed	Percentage of diseased larvae	
		Spring rearing season	Autumn rearing season
10g	Upper	8.3	
	Middle	5.0	
	Down	6.6	
20g	Upper	3.3	3.3
	Middle	20.0	0
	Down	9.9	0
30g	Upper	0	0
	Middle	0	0
	Down	1.6	1.6
40g	Upper	0	0
	Middle	1.6	0
	Down	0	0
Control (no fumigated)	Upper	100	66.6
	Middle	100	76.6
	Down	73	86.6

Dried virus in petri dish in the shade was treated with formalin fumigation by adding potassium permanganate to formalin in rearing rooms for overnight and fourth instar larvae were inoculated *per os* with concentration of 10⁷/ml of the treated virus on the artificial diet.

Table 2. Effect of formalin fumigation against yellow muscardine pathogen of silkworm larvae

Amount of potassium permanganate applied per 3.3m ² of rearing room area	Location of pathogen on rearing bed		
	Upper	Middle	Down
10g	+++	+++	+++
20g	++	++	++
30g	-	-	-
40g	-	-	-
Control (no fumigated)	+++	+++	+++

++ : Good growth of the fungus
 +++ : Best growth of the fungus
 - : No growth of the fungus

Contaminated filter paper pieces with yellow muscardine pathogen were located on rearing beds and treated with formalin fumigation by adding potassium permanganate to formalin for overnight. The treated contaminated filter paper pieces were transferred onto Czapek's solution broth and the growth of the fungus was checked.

量比率 등에서도 이들 세 처리 사이에 별다른 차이가 없음을 보여주었다.

따라서 사육중 4령에서 1회, 5령기간에 1~2회에 포르말린 훈연소독을 실시할 때 누에는 별 영향이 없는 것으로 생각된다.

摘 要

포르말린에 과망간산카리(KMnO₄)를 넣어 화학적 반응에 의하여 발생되는 포름알데히드 가스로 누에고름 병 바이러스의 不活化와 흰군웬병균에 대한 소독시험을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Table 3. Influence of formalin fumigation application on grown silkworm larvae

No. of application	Days of larval stage (4th~5th instar)	Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (cg)	Percentage of cocoon shell (%)	Percentage of reelability (%)	Percentage of raw silk (%)
2(Day of application: 1st day of 4th and 5th instar)	12.5	2.03	47.2	23.3	87	19.44
3(Day of application: 1st day of 4th instar, 1st and 3rd day of 5th instar)	12.5	2.07	47.1	22.8	82	19.75
Control(No fumigated)	12.5	2.03	46.3	22.8	88	19.46

The fumigations were carried out after last feeding of the day in the evening and rearing rooms were kept sealed until next morning. The chemical amounts applied each time of formalin and potassium permanganate per 3.3m² of rearing room area were 100ml and 40g respectively.

1. 누에 고름병 바이러스(Nuclear polyhedrosis virus)의 不活化는 잠실면적 3.3m²당 포르말린 25ml에 과망간산카리 10g을 혼합하여 하룻밤 동안 훈연소독을 실시하였을 때 상당한 수준의 소독효과가 있었고 같은 잠실단위 면적에 포르말린 75ml와 과망간산카리 30g을 혼합하여 하룻밤 동안 훈연상태를 유지하였을 때는 거의 완전한 不活化가 이루어졌다.

2. 노란곰움병균에 대한 살균효과는 잠실면적 3.3m²당 포르말린 50ml에 과망간산카리 20g을 반응시켜 훈연소독을 실시하였을 때는 처리받은 균의 자람이 상당한 수준 억제 되었고 같은 단위면적에 포르말린 75ml와 과망간산카리 30g을 혼합시켰을 때는 완전한 살균이 이루어졌다.

3. 포르말린 훈연소독에 의한 누에에 미치는 영향은 4령 1일째와 5령 1일째 2회와 4령 1일째, 5령 1,3일째 각 1회씩 3회를 처리하였을 때(훈연소독은 저녁급상후에 실시하고 다음날 아침 급상때까지 유지시킴) 全繭重, 繭層重, 繭層比率, 幼蟲期間(4~5齡) 등에서는 무

처리와 차이가 있었으나 3회 처리시에는 실패품새울은 무처리에 비하여 약간 떨어졌다.

引用文獻

- 青木 清・中里泰夫・藤本 勲・河上 清・鈴木弘子(1958) 硬化病及び桑病に關連のある試験. VIII. PPSによる蠶室蠶具の消毒. 蠶絲研究 24:13-14.
- 鄭台岩・林鐘聲・金槿榮・李永根・李虎雄(1975) 네오 피, 에스의 蠶體消毒 可能性에 관하여(務報). 韓蠶誌 17:179.
- 林鐘聲・金槿榮(1976) Neo-PPS 燻蒸에 의한 蠶體消毒에 관한 研究(1). 누에 바이러스病에 대한 藥效. 韓蠶誌 18:79-81.
- 金槿榮・李載昌(1982) Paraform aldehyde(Neo-PPS) 燻蒸에 의한 蠶體消毒에 관한 研究 II. 藥害에 관한 試驗. 韓蠶誌 24(2):25-27.
- 吳鳳國(1988) 現代家蠶學, 文運堂. 240.