

## Imidazole系 殺菌劑 Trifumin에 의한 早熟 3眠蠶의 繭絲質

文在裕 · 洪性辰 · 李根九\* · 張承鍾\*\* · 李藝三

서울대학교 農業生命科學大學, \*京畿道 蠶業事業所, \*\*農村振興廳 蠶業試驗場

### Qualities of cocoon and Cocoon filament of the Precocious Trimolting Silkworm, *Bombyx mori*, induced by Trifumin

Jae Yu Moon, Seong Jin Hong, Keun Ku Lee\*, Seong Jong Chang\*\* and Heui Sam Lee

College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Suwon, Korea

\*Provincial Sericulture Station, Kyungki-Do, Suwon, Korea

\*\*Sericultural Experiment Station, RDA, Suwon, Korea

#### Abstract

In order to investigate the possibility of fine-size cocoon production by the use of imidazole compound, Trifumin, the cocoon and cocoon filament qualities, dietary efficiency and fibroin component were examined. Cocoon size, cocoon weight and cocoon shell weight of trimolter were smaller than those of tetramolter. Cocoon shell weight of trimolter was 58% and 26% of that of tetramolter in the 3rd instar treated larvae and in the 4th instar treated larvae, respectively. Amount of cocoon shell produced per 1g dry matter ingested was 94% and 85% of that of tetramolter in the 3rd instar treated larvae and in the 4th instar treated larvae, respectively. The effects of Trifumin on the reeling tests were different according to the stage of the treatment. When Trifumin was treated at the 3rd instar larvae, reelability of cocoon filament, amount of cocoon filameat, size of cocoon filament, reelability percentage and raw silk percentage of cocoon were 100%, 60%, 60%, 97% and 90%, respectively. When Trifumin was treated at the 4th imstar larvae, most of reelability tests were inferior to those of the 3rd instar treated larvae, but reelability percentage was increased 13%. The Trifumin treatment did not affect the electrophoretic patterns of cocoon fibroin.

Key words : Precocious trimolter, tetramolter, silkworm (*Bombyx mori*), Trifumin (Lipsol)

#### 緒 論

最近, 絹의 需要擴大를 위해 細纖維 高치의 生産이 切實히 要求되고 있다. 細纖維 高치의 生産方法으로서, 細纖維 4眠性 蠶品種의 育成, 遺傳的 3眠性 蠶品種의 飼育등이 檢討되고 있지만, 抗幼若호르몬 이 논문은 '93년도 학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의해서 연구되었음

(AJH) 活性物質의 投與에 의한 普通 4眠性 蠶品種을 3眠化하는 것도 하나의 方法이라 할 수 있다.

누에에 대해 AJH 活性을 나타내는 物質에는 여러 種類가 있지만, 그 대부분은 3眠蠶을 誘發하는 이외에 유충과 번데기의 中間體 出現이나 發育阻害등을 보임으로서 細纖維 高치의 安定的 生産이라는 觀點에서 볼때 문제가 많다. 그러나 Imidazole계 化合物의 一種인 KK-42類나 SSP-11은 高率로써 4眠蠶을 3眠化

할 수 있으므로 KK-42類나 SSP-11 利用에 의한 細織度 고치의 安定的 生産이 可能해지고 있다. (Akai *et al.*, 1984; 木内 等, 1985; Kuwano *et al.*, 1985). 그러나, KK-42類나 SSP-11은 아직 商品化되지 않아 購入하기 어려운 실정이다. 本 研究者들은 우리나라에서 市販되고 있는 Imidazole계 殺菌劑 中에서 Lipsol이 主成分으로 되어 있는 Trifumin을 보통 4眠性 蠶品種의 누에에 投與한 結果, 高率으로써 4眠蠶의 3眠化에 성공하였다. (文等, 1992, 1994). 따라서 本 研究은 우리 나라에서 市販되는 殺菌劑, Trifumin의 利用에 의한 細織度 고치의 生産可能性을 檢討할 목적으로, Trifumin을 白玉蠶의 3齡, 4齡 누에에 投與하여 誘發된 早熟 3眠蠶의 繭質, 飼料效率 및 繰絲試驗에 의한 絲質을 調査하였으며, 동시에 Trifumin이 繭層 fibroin成分에 미치는 影響에 대해서도 調査하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 누에의 飼育

白玉蠶을 供試하여 1993년 秋期에는 各 試驗區마다 反覆當 300頭씩 2反覆으로, 1994년 秋期에는 各 試驗區마다 300頭씩 3反覆으로 하여 서울大學校 農業生命科學大學 天然纖維學科의 애누에 人工飼料 飼育箱 및 京畿道 蠶業事業所의 蠶室에서 全齡 甁잎으로 飼育하였다.

### 2. 抗幼若호르몬 (AJH) 活性物質의 投與

供試한 AJH活性物質로서는 Imidazole系 殺菌劑의 一種인 Trifumin으로서, 主成分은 Lipsol, ((E)-4-chloro- $\alpha$ - $\alpha$ -trifluoro-N-[1(1H-imidazole-1-yl)-2-propoxyethylidene]-o-toluidine)이다.

Trifumin의 投與方法은 甁잎에 의한 添食으로서, 甁잎을 500倍의 Trifumin液에 數秒동안 浸漬한 후, 약 1 時間동안 風乾하여, 1993년 秋期에 飼育한 누에는 4齡 飼食 후, 48 時間동안 給與하였고, 1994년 秋期에 飼育한 누에는 3齡 飼食 후 48 時間동안 給與하였다.

### 3. 飼料效率 調査

飼料效率은 常法 (平塚, 1917)에 따라 調査하였다. 3齡 初期 Trifumin 投與에 의한 早熟 3眠蠶區와 對照의 4眠蠶區에 있어서는 3齡起蠶부터 熟蠶에 이르기까지, 各 試驗區마다 反覆當 300頭씩 3 反覆에 對한 食下乾物量을 調査하였다. 또한, 4齡初期 Trifumin 處理에 의한 早熟 3眠蠶區와 對照의 4眠蠶區에

어서는 4齡起蠶부터 熟蠶에 이르기까지 各 試驗區마다 反覆當 300마리씩 2 反覆에 의한 食下乾物量을 調査하였다. 한편, 繭質을 調査하여 食下乾物 1g當 生産되는 繭層重을 計算하였다. 그리고, 모든 성적은 雌雄平均하여 1頭當으로 計算하였다.

### 4. 繭質 調査

各 試驗區마다 雌雄별로 25顆씩의 고치에 대한 繭重 및 繭層重을 調査하고, 繭重에 대한 繭層重의 百分率로서 繭層比率를 計算하였다. 그리고, 모든 성적은 雌雄平均하여 고치 1顆 當으로 算出하였다.

### 5. 繰絲試驗

1993년 秋期 및 1994년 秋期에 蠶業試驗場 製絲 研究室에서 繭檢定實施基準에 準해서 繰絲試驗을 하였다.

1 回의 繰絲粒數는 300~400 粒으로 해서 各 試驗區마다 2反覆으로 繰絲를 하였다.

### 6. 繭層 fibroin의 polyacrylamide gel 電氣泳動

#### 1) 精練

건건하지 않은 정상고치의 견층을 잘게 자른 후, 잘게 자른 견층 200 mg을 마르세이유 비누에 의한 알칼리 정련을 했다. 즉, 마르세이유 비누 (5 g/l)와 2.5% 탄산나트륨의 혼합액 (육비 1 : 100)으로 95°C 이상에서 30분간 2회 정련했다. 정련 후 증류수로 50°C에서 3회이상 수세하고 나서, 상온에서 계속 수세했다. 수세 후 페놀프탈레인 용액으로 비누가 완전히 빠져나갔는지 확인했다.

#### 2) 견층 fibroin의 가용화

정련에 의해 견층에 있는 sericin을 제거한 후, 견층 fibroin을 ethanol과 CaCl<sub>2</sub>에 처리하여 가용화시켰다.

#### 3) 전기영동

전기영동은 薄生(1973)의 방법에 따라 실시하였다. 즉, 가용화한 fibroin을 Tris완충액 (0.35 M Tris-HCl, 8M urea, pH 8.6)에 용해하고,  $\beta$ -mercaptoethanol을 0.5 M이 되도록 첨가하여 37°C에서 2시간 진탕보온에서 S-S결합을 절단한 후 iodoacetamide을 0.25 M이 되게 첨가하여 생성된 SH기를 보호했다. 그리고 0.1%  $\beta$ -mercaptoethanol을 함유한 8 M urea에 대해서 5°C에서 24시간 투석한 후 그대로 전기영동에 사용하거나 투석 후 -20°C에 보관했다. gel의 조성은 5% acrylamide, 0.26% bis-acrylamide, 4 M urea, Tris-citric acid buffer (pH 2.9)로 했다. gel은 2장의 유리판 사이에 작성하고 농축젤은 사용하지 않고 직

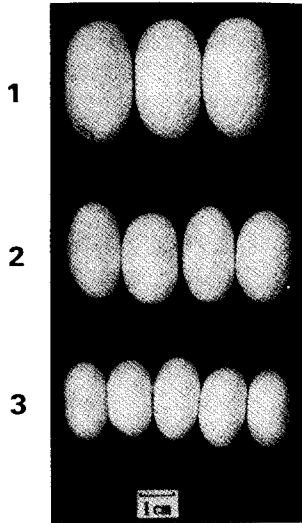


Fig. 1. Cocoon size of the precocious trimolters induced by Trifumin. 1. Control(tetramolter), 2. Small-sized cocoons after Trifumin treatment during 3rd instar(precocious trimolter), 3. Extremely small cocoons after Trifumin treatment during 4th instar(precocious trimolter).

접 분리겔 위에 comb을 넣어 폭 5 mm의 시료구를 작성했다. 겔화가 일어난지 30분 후에 comb를 제거하고 주사기로 fibroin용액 20  $\mu$ l,  $\beta$ -mercaptoethanol 7  $\mu$ l의 혼합액을 시료구에 주입했다. sample층 위에 전극용 완충액을 조심스럽게 중층했다. 전극용 완충액에는 0.37 M glycine-citric acid (pH 4.0)을 사용했다. 영동 종료 후 gel은 0.25% Coomassie Brilliant Blue R-250, 45% ethanol, 15% acetic acid에서 염색하고 10% ethanol, 10% acetic acid 혼합액에서 탈색했다.

## 結果 및 考察

### 1. 고치의 크기

Trifumin을 3齡, 4齡 누에에 投與해서 誘發된 早熟 3眠蠶 고치의 크기를 그림 1에 표시하였다. 그림 1에서 보는 바와 같이 對照의 4眠蠶 고치의 폭  $1.90 \pm 0.10$  cm (100), 길이  $3.50 \pm 0.075$  cm (100)에 비해, 3齡 初期 Trifumin 投與 고치는 80%, 77%, 또한 4齡 初期 Trifumin 投與 고치는 더욱 작아져서 66%, 63%로서 고치의 크기가 현저하게 감소함을 알 수 있다.

이와같이 Trifumin 投與에 의해 고치가 작아지는 것은 4眠蠶이 3眠化되면서 飼育日數가 短縮되기 때문이며, 이것은 이미 보고되고 있는 (Akai *et al.* 1984; 木内 등, 1985; 赤井 등, 1986) 것과 같은 경향이었다.

### 2. 繭質

Trifumin를 3齡, 4齡 누에에 投與해서 誘發된 早熟 3眠蠶의 繭質을 表1에 表示하였다. 表1에서 보는 바와 같이, 3齡 初期 Trifumin 投與蠶 고치는 對照의 4眠蠶 고치 (=100)에 비해 繭重에 있어서는 68%, 繭層重에 있어서는 58%로 되고 繭層比率에 있어서는 85%로 減少하였다. 또한, 4齡 初期 投與蠶 고치는 對照의 4眠蠶 고치 (=100)에 비해 繭重 36%, 繭層重 26%, 繭層比率 72%로써, 그 減量이 더욱 현저하였다. 이와같이 Trifumin 投與에 의해 繭質이 低下되는 것은 4眠蠶이 3眠化되면서 飼育日數가 短縮되기 때문이며, 이것은 이미 報告되고 있는 木内等 (1985), 赤井等 (1986)의 結果와 같은 傾向이었다.

### 3. 飼料效率

Trifumin을 3齡, 4齡 누에에 投與해서 誘發된 早熟 3眠蠶의 飼料效率를 表2에 表示하였다. 表2에서 보는 바와 같이, 3齡 初期 Trifumin 投與에 의한 早熟 3眠蠶에 있어서 食下乾物 1g當 繭層生産量은 7.18 g으로 對照 4眠蠶의 7.57 g에 비해 94%에 해당되는데, 이는 이미 보고하고 있는 木内等 (1985)의 結果와 一致하고 있다. 이와같이 3령초기 Trifumin 투여에 의한 조숙 3면잠에 있어서, 사료효율이 대조의

Table 1. Cocoon qualities of the precocious trimolters induced by Trifumin(Average of male and female).

Treatments and stages	Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight(cg)	Percentage of cocoon shell weight(%)
Control (tetramolter)	1.90 (100)	48 (100)	25.2 (100)
Trifumin treatment during 3rd instar (precocious trimolter)	1.30 (68)	28 (58)	21.5 (85)
Control (tetramolter)	2.00 (100)	45 (100)	22.5 (100)
Trifumin treatment during 4th instar (precocious trimolter)	0.73 (36)	12 (26)	16.4 (72)

**Table 2.** Food efficiency of the precocious trimolters induced by Trifumin (Average of male and female).

Treatments and stages	Dry matter ingested in mulberry leaves per larva (g)	Cocoon shell weight (cg)	Amount of cocoon shell produced per g of dry matter (cg)
Control (tetramolter)			
3rd instar	0.202		
4rd instar	1.094		
5th instar	5.043		
total	6.339	48	7.57 (100)
Trifumin treatment during 3rd instar (precocious trimolter)			
3rd instar	0.398		
4th instar	3.498		
total	3.896	28	7.18 (94)
Control (tetramolter)			
4th instar	0.918		
5th instar	4.252		
total	5.170	45	8.70 (100)
Trifumin treatment during 4th instar (precocious trimolter)			
4th instar	1.608	12	7.46 (85)

( ): Index.

**Table 3.** Cocoon reeling tests of the precocious trimolters induced by Trifumin(Average of 2 replications).

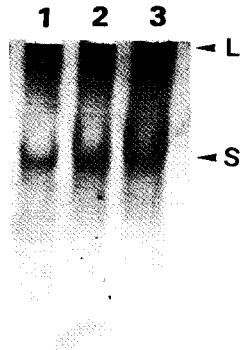
Items	Treatments and stages			
	Control (tetramolter)	Trifumin treatment during 3rd instar (precocious trimolter)	Control (tetramolter)	Trifumin treatment during 4th instar (precocious trimolter)
Length of cocoon filament (m)	1,189 (100)	1,197 (100)	1,147 (100)	852 (74)
Amount of cocoon filament (cg)	38.7 (100)	23.4 (60)	41.3 (100)	11.0 (26)
Size of cocoon filament (d)	2.95 (100)	1.77 (60)	3.25 (100)	1.17 (36)
Reelability percentage (%)	79 (100)	77 (97)	85 (100)	94 (110)
Raw silk percentage of cocoon (%)	19.19 (100)	17.30 (90)	18.45 (100)	11.02 (59)

( ): Index

4면잠에 비해 94%나 되는것은 Trifumin 투여에 의한 3면화와 함께 견질은 저하되지만, 사육일수가 단축되기 때문이다. 따라서 사료효율이라는 관점에서 볼 경우, Trifumin 이용에 의한 細織度 고치 생산에 대한 경제성이 있음을 알 수 있다. 그러나 4령초기 Trifumin 투여에 의한 조숙 3면잠에 있어서 食下乾物 1g 당 繭層生産量은 7.46 g으로서 대조 4면잠의 8.70 g에 비해 85%로써 그 사료효율이 낮았다.

#### 4. 繭絲試驗

Trifumin을 3령, 4령 누에에 투여해서 유발된 조숙 3면잠 고치의 繭絲成績을 표 3에 표시하였다. 대조의 4면잠고치 (100)와 비교하면 繭絲長은 3령 초기 투여에서는 100%로써 대조와 차이가 없었지만, 4령 초기 투여에서는 74%로 감소하였다. 繭絲量은 3령 초기 투여에서는 60%, 4령초기 투여에서는 26%로



**Fig. 2.** polyacrylamide gel electrophoresis of fibroin from cocoons produced by Trifumin induced precocious trimolters. Electrophoresis was carried out on 5% polyacrylamide gel at pH 2.9 included in 4M urea. The samples was mixed with 8M urea and 5  $\mu$ l  $\beta$ -mercaptoethanol. 1. control (tetramolter), 2. Trifumin treatment during 3rd instar (precocious trimolter), 3. Trifumin treatment during 4th instar (precocious trimolter) L; large band, S; small band.

현저히 감소하였다. 그러나, 繭絲織度は 3령 초기 투여에서는 60%, 4령 초기에서는 36%로 상당히 가늘어졌다. 生絲量比率은 3령초기 투여에서는 90%나 되었지만, 4령 초기에서는 59%로 상당히 감소하였다. 해서율은 3령초기 투여에서는 97%로 낮았지만, 4령 초기에서는 110%로써 오히려 높았다. 이와같이 3령 초기 투여의 경우 고치의 해서율이 다소 낮은 것은 1994년 후기 조숙 3면잠의 상족때 일손 부족으로 인하여 자리빠기 시기가 늦었기 때문이라 추측된다. 이상과 같이 Trifumin 투여에 의해서 생산된 조숙 3면잠 고치의 繭絲質은 저하되지만, 견사섬도가 2.0D 이하로 가늘어짐을 알 수 있다. 또한 Trifumin 투여 시기에 따라 조숙 3면잠 고치의 사질에 큰 차이가 있어, 생사량비율에 있어서 3령 초기 투여의 경우는 4령 초기 투여의 경우에 비해 상당히 높아서 대조의 4면잠 (100)에 비해 90%에 해당되고 있다.

### 5. Trifumin投與가 早熟 3眠蠶고치의 繭層 fibroin 成分에 미치는 影響

본 연구에서는 Trifumin 투여가 조숙 3면잠 고치의 견층 fibroin 성분에 미치는 영향을 알기 위해, 3령, 4령누에에 Trifumin을 투여해서 얻어진 조숙 3면잠 고치에 대해서 견층 fibroin의 전기영동상을 조사하였다.

그림2에서 보는 바와 같이 조숙 3면잠 고치와 대조의 4면잠 고치에 있어서 다같이 이동도를 달리하는

2本の fibroin band가 검출되었는데, 이러한 결과는 薄生 (1973)의 보고와 일치하고 있다. 이와같이, 조숙 3면잠 고치와 대조의 4면잠 고치의 견층에서 추출된 fibroin의 전기영동상에 차이가 보이지 않으므로써 Trifumin의 3령, 4령누에의 투여로 유발된 조숙 3면잠의 견층 fibroin 성분에 별다른 차이가 없음을 알 수 있다. 그러나 AJH 활성물질의 투여는 유발된 조숙 3면잠의 견층 sericin 성분에 영향을 주는 것으로 보고되어 이점에 관해서는 다음 기회에 확인할 필요가 있을 것으로 생각된다 (坪井 등, 1988).

이상의 결과를 종합해보면, Trifumin의 투여에 의한 조숙 3면잠은 대조의 4면잠에 비해 견질, 사질, 사료효율에 있어서는 다소 떨어지지만, 3면화에 의한 사육경과의 4-5일 단축 (文 1994; 미발표), 고치실의 세섬도화 등은 양잠이나 견가공면의 큰 잇점이 되므로 금후 Trifumin 투여에 의한 세섬도고치의 생산 문제를 긍정적인 측면에서 검토할 필요가 있다고 본다. 또한 Methophrene 투여에 의한 증견효과는 잠품종에 따라서 차이가 있으므로 (Shibukawa et al, 1981), 금후 Trifumin 투여에 의한 조숙 3면잠의 유발에서도 Trifumin투여에 의해 보다 양호한 견질성적을 나타내는 잠품종의 선발문제도 검토되어야 할 것으로 생각된다. 또한 3령기에 AJH 활성물질을 투여해서 3면화된 종령잠 (4령잠)에 다시 AJH활성물질을 투여하는 것에 의해서 조숙 3면잠의 증견효과를 얻을 수 있으므로 (久保田, 1986) 금후 이 방면에 대해서도 검토가 필요하다고 생각된다.

## 摘 要

우리 나라에서 시판되는 Imidazole系 殺菌劑 Trifumin 利用에 의한 細織度고치의 生産 可能性을 검토할 목적으로, Trifumin을 3齡, 4齡 누에에 投與하여 誘發된 早熟 3眠蠶의 繭絲質, 飼料效率 및 Trifumin 投與에 의한 繭層 fibroin 成分에 미치는 影響에 대하여 調査하였다.

1. Trifumin 投與에 의한 早熟 3眠蠶 고치는 繭形이 작아지고 繭重 및 繭層重이 減少하였는데, 그 정도는 Trifumin 投與時期에 따라 달라지고 3齡初期보다도 4齡初期 投與가 현저하였다. 繭層重에 있어서 3齡初期 投與에 의한 3眠蠶 고치는 對照의 4眠蠶 고치 (100)에 대해 60%, 4齡初期에 의한 3眠蠶 고치는 26%였다.

2. 食下乾物 1g當 繭層 生産量은 對照의 4眠蠶 (100)에 대해 3齡初期 投與에 대한 早熟 3眠蠶에 있어서는 94%, 4齡初期 投與에 의한 早熟 3眠蠶에 있

어서는 85%였다.

3. 繭絲成績은 對照의 4眠蠶 고치 (100)에 대해 3齡初期 投與에 의한 早熟 3眠蠶 고치에 있어서는 繭絲長 100%, 繭絲量 60%, 繭絲織度 60%, 解序率 97%, 生絲量比率 90%였다. 또한 4齡初期 投與에 의한 早熟 3眠蠶 고치에 있어서는 繭絲長 74%, 繭絲量 26%, 繭絲織度 36%, 解序率 110%, 生絲量比率 59%였다.

4. 繭層fibroin 성분에 있어서는 Trifumin 處理에 의한 早熟 3眠蠶 고치와 對照의 4眠蠶 고치간에 차이가 없었다.

## 引用文獻

- Akai, H., K., Kimura, M. Kiuchi and A. Shibukawa (1984) Effects of anti-juvenoid treatment on cocoon and cocoon filaments in *Bombyx mori*, J. Seric. Sci. Jpn. 53(6) : 545-546.
- 赤井 弘·木内 信·木村 敬助 (1986) 抗幼若ホルモン活性物質의 投與と家蠶繭絲의 織度および 微細構造, 日蠶雜 55(5) : 386-396.
- 薄生 卓麿 (1973) 繭層タンパク質의 S-S結合의 開裂による 抽出とゲル電氣泳動による 分別, 日蠶雜 42(1) : 17-23.
- 平塚 英吉 (1917) 食下量. 近以消化量, 蠶體生理學 : 119-133.
- 木内 信·木村 敬助·赤井 弘 (1985) 抗幼若ホルモン活性物質의 投與による 3眠蠶의 誘導とその 計量形質, 日蠶雜 54(1) : 77-81.
- Kuwano, E., R. Takeya and M. Eto (1985) Synthesis and anti-juvenile hormone activity and of 1-substituted-5-((E)-2,6-dimethyl-1,5-heptadienyl)imidazoles, Agric. Biol. Chem. 49 : 483-486.
- 久保田 貴志·木内 信·赤井 弘 (1986) 抗幼若ホルモン活性物質의 誘導 3眠蠶への 再投與による 増絲效果, 日蠶雜 55(6) : 527-528.
- 文在 裕·洪性 振·李 藝三 (1992) Imidazole系 殺菌劑 Lipsol에 의한 누에의 3眠效果 韓國蠶絲學會'92 秋季 學術研究 發表資料 : 36.
- 文在 裕·洪性 振·李 藝三 (1994) Imidazole系 殺菌劑 Lipsol에 의한 3眠蠶의 誘發과 그 計量形質, 韓國學術振興財團報告書 : 1-11.
- Shibukawa, A. and H. Akai (1981) Effects of Manta on the silk production of a silkworm race producing heavy cocoon shells, J. Seric. Sci. Jpn. 50(2) : 73-76.
- 坪井 恒·羽賀 算信·牛山 令子 (1986) 生理活性物質利用 生産繭의 繭絲質의 評價, 蠶絲試驗場彙報 134 : 41-61.