

熟蚕が排せつする尿の起病性とその不活化

高 木 武 人

目 次

I 緒 言	(16)
II 熟蚕尿の起病性	(16)
III 熟蚕尿の起病性の不活化	(19)
IV 総括および考察	(21)
V 摘 要	(22)
文 献	(23)

I 緒 言

蚕児が營繭に先立って排泄する液、いわゆる熟蚕尿については、先に波多野¹⁾、中根・高橋²⁾によってその組成が解明されており、また繭糸質に悪影響を及ぼす簇中多湿化の1因に挙げられ、これを排除する上簇改良、あるいは孤抜き技術として重視され、幾多の研究がなされている。

しかし熟蚕尿の起病性についてはその報告がみられない、そこで著者はこの熟蚕が排泄する尿を採取し桑葉に塗抹して蟻虫に食下させ起病性を調べ、更にその不活化を試みた。

本研究を行なうにあたり、校閲の労を賜った石塚亮場長、終始助言をいただいた田口恒雄分場長、病理化学部及川英雄専門研究員、また実験に際し有益な助言をされた病理化学部阿部禎技師、文献の収集に援助された長野県赤穂高等学校今村理則教諭に深厚の謝意を表する。

II 熟蚕尿の起病性

1966年の晩秋蚕期に混合採取した熟蚕尿の上清稀釈液を、蟻蚕に添食したところ軟化病を多発し、起病性があることを知ったので、1967年の初、晩秋蚕期には各熟蚕より個別に尿を採取して、はたして全ての蚕尿に起病性があるか否かについて検討を加えた。更にこれら熟蚕尿の添食によって発生した病蚕の磨砕液を蟻蚕に添食させた場合の起病性即ち伝染性のものか否かについて試験した。

1、混合採取した熟蚕尿の起病性

(1) 材料および方法

1960年の晩秋蚕期に、作柄が10分作であり外観上健康とみられる熟蚕が、營繭直前に排泄する尿をあらかじめ乾熱滅菌した試験管に集め、夾雑物の混入を避けるため直ちに遠心分離(3,000 r・p・m 15~20分間)を行ない、その上澄を原液として2.5~5℃の冷蔵庫に貯えておき、随時とり出して試験に供した。

起病性の検定は、この尿原液に滅菌水を加えて、 10^{-1} 、 10^{-2} 、および 10^{-3} の10倍階段稀釈液を作り、桑葉の表裏に塗抹し、萎れない程度に乾して、日126号×支126号蟻蚕に12時間食下させ、その後は普通桑を与え、4令起蚕に至るまでの病蚕発生状況を調査した。

添食蚕児の飼育は、恒温室(26℃)内において、大型シャーレの底に濡らした濾紙を敷き、その

上に防乾紙を重ね蚕をおいた。3令期にはこの濾紙を取り除いた。この試験は反覆2回、それぞれ蠶蚕100頭あて用い1回目は2連制、2回目は単連制で行なった。

(2) 試験の結果

才1表 混合採取した熟蚕尿の添食による起病性

(1~4令起蚕)

区 別	項 目	才 1 回			才 2 回		
		健康蚕	軟化病蚕	その他**	健康蚕	軟化病蚕	その他
蚕尿 10^{-1}	a	3頭	93頭	4頭	0頭	100頭	0頭
	b	3	95	2			
蚕尿 10^{-2}	a	6	94	0	2	97	1
	b	4	96	0			
蚕尿 10^{-3}	a	27	72	1	14	83	3
	b	8	90	2			
無添食*	a	96	1	3	100	0	0
	b	99	0	1			

添食：日126×支126の蠶蚕各区100頭供試

* 無添食区は蚕尿の代わりに滅菌水を添食した。

** その他は主として遺失蚕 才4表以下同じ

熟蚕尿を遠心分離して得た上澄の10倍階段稀釈液を、桑葉に塗抹して蠶蚕に添食した各区は、それぞれ軟化病蚕を多発して高い起病性のあることを示した。即ち 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} と稀釈液が薄くなるに従い起病性は僅か低下したが、 10^{-3} においても試験を打ち切った4令起蚕に至るまでに約80%程度の発病をみた。

2、個別採取した熟蚕尿の起病性

(1) 材料および方法

1967年初秋および晩秋の両蚕期に、回転簇に上簇した各熟蚕が、営繭の足場を作ってから、尾部を簇の枠外に出し、褐色糞を排泄した後に放出する蚕尿を、滅菌して番号を付けた試験管に個別採取した。採取蚕は無作為に選んだのでそのうちにはいわゆる死籠蚕(繭中斃蚕)あるいは簇中斃蚕が混在して、その熟蚕が排泄した尿が起病性に大きく関与するのではないかとの疑いもたれるので、尿採取の際に試験管と同番号を記したビニールテープをそれぞれの簇孔につけて、その後の化蛹、化蛾まで追跡調査を行なった。

起病性の検定は、個別別に採取した1頭分の蚕尿に滅菌水を各10mlあて注加し、よく振盪混和した後、桑葉に塗抹して、日126号×支126号の蠶蚕30頭あてに24時間添食させ、その後は普通桑に切り替えて飼育を行ない、3令起蚕時と4令起蚕時に生存蚕数を調べ起病性の有無を判定した。飼育の方法は、前記の混合採取蚕尿の添食飼育に抛った。

(2) 試験の結果

熟蚕尿の採取蚕は、初秋蚕期に支124号×日124号の熟蚕から37頭分、支126号×日126号から30頭分、日126号×支126号より24頭分採取し、前記の方法により蠶蚕添食を試みた。

才2表 個別採取した熟蚕尿添食蚕の斃蚕数分布

(初 秋)

区 別			斃 蚕 数					計
			(頭) 0 ~ 1	2 ~ 3	4 ~ 5	6 ~ 7	8 ~ 10	
3 蚕 令 調 起 査	蚕添食 尿区	× 支 1 2 4 *	匹 21 ④ **	匹 9	匹 4	匹 1	匹 2	匹 37 ④
		× 日 1 2 4						
	尿区	× 支 1 2 6	匹 14 ①	匹 10 ③	匹 5	匹 1	匹 1	匹 30 ④
		× 日 1 2 6						
	対 照 区			1				1
4 蚕 令 調 起 査	蚕添食 尿区	× 支 1 2 4	匹 15 ③	匹 12	匹 4 ①	匹 4	匹 2	匹 37 ④
		× 日 1 2 4						
	尿区	× 支 1 2 6	匹 12	匹 9 ③	匹 4 ①	匹 2	匹 2	匹 30 ④
		× 日 1 2 6						
	対 照 区			1				1

* 蚕品種名は、それぞれの蚕品種より採った蚕尿を添食したことを示す。

** ○内の数値は繭中斃蚕となった熟蚕より採った尿の添食区数

添食：日 126 × 支 126 の蠶蚕各区 30 頭供試

才3表 個別採取した熟蚕尿添食蚕の斃蚕数分布

(晩 秋)

区 別			斃 蚕 数					計
			(頭) 0 ~ 4	5 ~ 9	10 ~ 14	15 ~ 19	20 ~	
3 蚕 令 調 起 査	蚕添食 尿区	× 日 1 2 4	匹 70 ②	匹 5	匹	匹	匹	匹 75 ②
		× 支 1 2 4						
	尿区	× 日 1 2 6	匹 24 ②					匹 24 ②
		× 支 1 2 6						
	対 照 区			1				1
4 蚕 令 調 起 査	蚕添食 尿区	× 日 1 2 4	匹 47 ②	匹 14	匹 4	匹 8	匹 2	匹 75 ②
		× 支 1 2 4						
	尿区	× 日 1 2 6	匹 16 ①	匹 3 ①	匹 1	匹 2	匹 2	匹 24 ②
		× 支 1 2 6						
	対 照 区			1				

添食：日 126 × 支 126 の蠶蚕各区 30 頭を供試

その結果の概要は次のとおりであった。即ち試験を打ち切った4令起蚕の時点で「起病性あり」の判定基準を添食蚕の斃蚕割合10%にとれば、初秋蚕期採尿のうち27~30%のものから、また晩秋蚕期においては33~37%の蚕尿に起病性が認められた。

この試験における罹病蚕の種類とその割合は、軟化病(F)蚕が84.5%、膿病蚕は13.0%であり、硬化病蚕は2.5%の発生をみた。またこれら斃蚕の発生は3令期に多くみられた。

次に蚕尿を採取した後において、繭中斃蚕となったものが初秋蚕期の尿採取蚕67頭中8頭、晩秋蚕期には99頭中4頭発生し、蛹態死は晩秋蚕期のものより3頭発生したが、そのほかは全て化蛾した。この繭中斃蚕となった熟蚕が排泄した尿は強い起病性を示すものと予想していたが、本試験においてはその事例がなかった。

3、熟蚕尿の添食によつて生じた病蚕の起病性

(1) 材料および方法

1966年の晩秋蚕期に蚕尿を採取して遠心分離を行ない、その上澄の 10^{-5} 稀釈液を蠶蚕に添食して発生した4令起蚕時の病蚕と、同時飼育の無添食健康蚕をとり、それぞれ磨碎して才1回目は $\frac{1}{2} \times 10^{-1}$ 、才2回目は 10^{-5} となるように蒸留水を加え綿濾過した濾液を、更に遠心分離(3,000 r.p.m 15分間)して上清を作り、桑葉に塗抹して日126号×支126号の蠶蚕50頭あてに才1回目は24時間・2回目は20時間添食させ、3令起蚕までの病蚕発生状況を調べた。本試験は2連制により実施した。

(2) 試験の結果

才4表 熟蚕尿の添食により生じた病蚕の起病性

(1~3令起蚕)

区 別	項 目	才 1 回			才 2 回		
		健康蚕	軟化病蚕	その他	健康蚕	軟化病蚕	その他
病蚕磨碎濾液	a	1頭	46頭	3頭	0頭	49頭	1頭
	b	0	49	1	2	48	0
健蚕磨碎濾液	a	48	1	1	47	2	1
	b	45	3	2	48	0	2
無 添 食	a	50	0	0	50	0	0
	b	49	0	1	50	0	0

添食：日126×支126の蠶蚕各区50頭を供試

無添食区は磨碎濾液の代わりに滅菌水塗抹給与

熟蚕尿の添食により生じた病蚕の起病性を蠶蚕添食により検討したところ、才1回、才2回目を通じ病蚕磨碎濾液を添食した場合は、健蚕磨碎濾液あるいは無添食のもとに比べ多くの軟化病蚕を発生させ、明らかに伝染性的のものであることを知った。

III 熟蚕尿の起病性の不活化

熟蚕尿を蠶蚕に添食した場合、明らかに伝染力のある起病性を示したので、これを不活化させるため、ホルマリン液、クライト水およびネオPPSなど薬剤によるものと、日光消毒の効果を検討した。

(1) 材料および方法

1966年の晩秋蚕期に採取して遠心分離を行なった上澄の蚕尿原液を用い、9月下旬から10月中旬にかけて次の方法によりそれぞれ2連制をもって試験した。

a、ホルマリン液およびクライト水による不活化

滅菌したスライド硝子上に蚕尿原液を0.1mlあて塗抹展開して風乾したものに、2%ホルマリ液、あるいは200倍のクライト水を小型噴霧器を用い表面が潤う程度に噴霧して、室内(23.5℃)に静置した。次いで噴霧15分または30分後に、10mlの蒸留水に脱脂綿をもって洗い落とし、その懸濁液を桑葉に塗抹し、支126号×日126号の蠶蚕50頭あてに24時間添食させ、4令起蚕までの発病状況をみた。

b、ネオPPSによる不活化

前法に準拠して作った蚕尿原液塗抹スライド硝子を、内法76cm×48cm×76cmの恒温器に納めネオPPS1.5gを用いて燻蒸を行ない、ガス発生後2時間、4時間、6時間目に取出して、前法に準じ10mlの懸濁液を作り、蠶蚕50頭あてに添食を行ない消毒効果をみた。

○、日光消毒による不活化

蚕尿原液を塗抹したスライド硝子を金網籠に入れ、午前10時から直射日光に曝露して、1時間、3時間、6時間後に前法に拠り懸濁液を作り、蟻蚕100頭あてに添食を行なった。

(2) 試験の結果

熟蚕尿をスライド硝子上に塗抹展開して、2%ホルマリン液、200倍のクライト水およびネオPPSによる処理、ならびに日光消毒の効果をみたところ、本試験の如く裸出状態にあるものは強い病原性の割合には不活化し易いようであり、概ね次の結果が得られた。

才5表 熟蚕尿の起病性の不活化 (1) (1~4令起蚕)

区 別		項 目	健 康 蚕	軟 化 病 蚕	そ の 他
2%ホルマリン	15分接触	{a	43頭	7頭	0頭
		{b	44	4	2
"	30分接触	{a	45	5	0
		{b	49	1	0
200倍クライト	15分接触	{a	46	2	2
		{b	46	4	0
"	30分接触	{a	43	6	1
		{b	48	2	0
無消毒		{a	5	44	1
		{b	25	24	1
無添食		{a	49	1	0
		{b	48	0	2

添食：支126×日126の蟻蚕各区50頭供試

各接触区は蚕尿原液をそれぞれの薬剤に接触後その懸濁液を添食

無消毒区は蚕尿原液を薬剤に接触しないで、その懸濁液を添食

無添食区は蚕尿原液の代りに滅菌水を添食

} 次表以下同じ

才6表 熟蚕尿の起病性の不活化 (2)

(1~4令起蚕)

区 別		項 目	健 康 蚕	軟 化 病 蚕	そ の 他
ネオPPS燻蒸2時間		{a	40頭	9頭	1頭
		{b	48	1	1
"	4時間	{a	47	3	0
		{b	49	1	0
"	6時間	{a	48	2	0
		{b	47	2	1
無消毒		{a	12	36	2
		{b	3	45	2
無添食		{a	49	0	1
		{b	48	1	1

添食：支126×日126の蟻蚕各区50頭供試

才7表 熟蚕尿の起病性の不活化 (3)

(1~4令起蚕)

区 別 \ 項 目			健 康 蚕	軟 化 病 蚕	そ の 他
日 光 消 毒	1 時 間	a	60 頭	37 頭	3 頭
		b	73	25	2
"	3 時 間	a	67	32	1
		b	75	25	0
"	6 時 間	a	86	14	0
		b	81	13	6
無 消 毒		a	34	61	5
		b	—	—	—
無 添 食		a	98	1	1
		b	—	—	—

添食：支126×日126の蟻蚕各区100頭供試

2%ホルマリンおよび200倍クラフト水によっては、15分間接触で不活化がかなり促されるようであるが、より完全を期するには30分以上の接触が望まれ、またネオPPSの燻蒸中の温度は23~25℃であったが、不活化には4時間以上の燻蒸で効果が認められた。日光消毒を実施した10月7日は快晴の好天気であったが、陽射しはあまり強くなかった、結果は6時間日光に曝露したものは無消毒のものに比べ相当の効果が認められた。

IV 総括および考察

蚕児が営繭のため吐糸を始め足場を作り、結繭直前に至り褐色の糞(熟蚕糞)を排泄した後に放出する熟蚕尿について、波多野¹⁾はその色およびPH価を調べ、営繭に際し無用の消化液を排泄するもので、新陳代謝の結果物としての尿ではないと報告し、中根・高橋²⁾は蚕尿の組成(排泄量、理化学的性質等)を詳査し、更に胃液と蚕尿のPH価および灰分組成を比べ、蚕尿は胃液を主体とし、その他営繭、化蛹に不必要な新陳代謝の果成物など各種不要物の混合であると報じている。

また、熟蚕尿は繭糸質特に解舒に悪影響を及ぼすといわれる簇中の多湿化を促進する要因とされ、その排除を意図する上簇改良あるいは菰抜き技術として重要視され、古くより多くの研究がなされている。

しかしながら熟蚕尿の起病性についてはその報告がみられないので、作柄が10分作に達し外観上も健康とみられる熟蚕が排泄する尿を試験管に集収し、夾雑物等の混入を避ける目途で遠心分離した上澄の尿原液を、滅菌水をもって 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} に稀釈を行ない、桑葉に塗抹して蟻蚕に12時間食下させたところ、4令起蚕に至るまでに多くの軟化病蚕を発生させ著しい起病性のあることを知った。

次いでこれらの起病性は、はたして全ての蚕尿にみられるものか、換言すれば時により上簇後に死籠蚕(繭中死蚕)となる熟蚕が排泄した蚕尿が混入していて、起病性を増大させたのではないかと疑いがもたれたので、個体別に熟蚕尿を採り、その採取した熟蚕が営繭する簇孔に番号を記したビニールテープを貼り付け、爾後化蛾までの途中で斃死するか否かの追跡調査を行ないながら添食試験をした。この場合採取尿に加えた蒸留水は10mlとしたが、もとより排泄蚕尿量は蚕品種、雌雄、個体等により異なり、またその全量を完全に採取することは困難であるので、採取量を個体別に秤量する必要があった。しかし、これを行なうことは秤器をその都度滅菌する必要があり、多数の材料を処理することは難かしいので、ここでは前試験において稀釈度を 10^{-2} あるいは 10^{-3} としても起病性に大差がない結果を得ていることから、均一に10mlを注加することは稀釈度に差異を生ずるが、個体別の起病性の有無を検討する所期の目的は

適えられるものと考えた。尿添食の結果は、供試熟蚕のほぼ25～40%の個体が排泄した尿に起病性があることを知った。また死籠蚕となった熟蚕が排泄した尿の起病性は、本試験では例証が少なく確言できないがあまり高い起病性を示すものはなかった。この点については今後死籠蚕の成因面からの攻究が必要であろう。

また、熟蚕尿を添食することにより発生する病蚕の再感染力をみたが、強い病原体をもつことが知り得た。

これら熟蚕尿がもつ起病性は、胃液を主体として営菌化蛹後は不要となる代謝産物などの混合したものであるという、蚕尿の成因からも察知できるが、山崎・山田・小林⁵⁾の健康で化蛾したものの排泄した熟蚕糞の大部分のものに強い病原性があり、それは5令盛食期蚕児の糞より強い病原性を示すという発表からみても、その熟蚕糞の排泄直後に放出される熟蚕尿の起病性は首肯される。

従って熟蚕尿の早期処理は、菌糸質向上を目的とする上簇改良あるいは孤抜き技術のみでなく、病原隔離の面からも考慮さるべきであり、また蚕尿は、上簇室、簇器類の汚染に関わるものとして、多回育を行なう場合には無視できないものと思われる。

熟蚕尿の不活化については、汚染の対象が蚕室、地面および簇器類であることを考慮して、薬剤には現在広く用いられているホルマリン、クライトおよびネオPPSを選び、また日光消毒の効果も併せて検討した。

その効果判定にはいろいろの方法があるが、ここでは滅菌スライド硝子上に尿原液をとり、塗抹展開して室内に置き、風乾固着するのを待って、薬剤接触または日光曝露を行ない、次いで脱脂綿を用いて蒸溜水で洗い落とし懸濁液を作り、桑葉に塗抹して蠶蚕に食下させる方法をとった。

その結果は薬剤等に接触し易い裸出状態に置かれた故か、起病性の強い割合には不活化され易いように思われた。即ち2%ホルマリンならびに200倍のクライト水には30分間以上の接触、ネオPPSでは4時間以上の燻蒸によりほぼ目的が達せられたが、簇器類あるいは木材、地面などに浸透した場合については更に試験の要がある。また日光消毒は6時間以上である程度の不活化が促進されるが、この場合消毒日が快晴とはいえず秋日和で陽射等の点も考えられるが完全とは言えない。このほかに乾、湿熱などの利用も考えられるが、汚染対象物を考えると実用価値が劣るようである。

なお起病性の持続期間等については、今後に残された課題である。

V 摘 要

熟蚕が営菌直前に排泄する尿の起病性を蠶蚕添食により調べ、またその不活化を試みた。

- (1) 蚕作が10分作に達し、外観上健康とみられる熟蚕が排泄する熟蚕尿に著しい起病性を認めた。
- (2) その起病性のある蚕尿は全ての熟蚕が排泄するものではないが、本試験では25～40%のものに病原性が認められた。
- (3) 熟蚕尿の添食によって発病した病蚕は強い再感染力をもっている。
- (4) 熟蚕尿の起病性はホルマリン、クライト、ネオPPS等の薬剤によって不活化することができる。

以上のことより熟蚕尿の早期処理は、単に菌糸質の向上を目的とした上簇改良のみでなく、病原隔離の

面からも有効な手段であること、また熟蚕尿は上蔭室、蔭器類、地面等を汚染し、病原性を高めることに与かっていることを考察した。

文 献

- 1) 波多野岩吉(1923)大日本蚕糸会報 261:2~9
- 2) 中根 信一・高橋 忠一(1937)蚕糸界報 46、541:33~36
- 3) 高木 武人(1966)日蚕東北講要 20:2~3;岩手蚕試年報(昭・41)14:287~291
- 4) 高木 武人(1967)日蚕東北講要 21:2~3;岩手蚕試年報(昭・42)15:108~110
- 5) 山崎 寿・山田たけを・小林あつ子(1967)日蚕雑(要旨)36、3:233