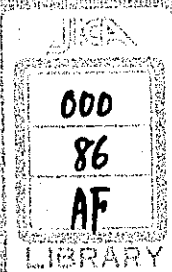


カイコの微粒子病

昭和46年3月

海外技術協力事業団



JICA LIBRARY



1009229[4]

国際協力事業団		
受入 月日	'84. 4. -5	000
		86
登録No.	02689	AF

序

蚕の微粒子病は蚕糸業にとってその盛衰のカギを握る重大な病害の一つであります。このことは世界の養蚕国において微粒子病の消長がその国の養蚕業の消長と一致している歴史的事実をみれば明らかであります。

わが国においても19世紀末の頃は、微粒子病の罹病率が非常に高かったのでありますが、本病の研究および検査技術の進歩、蚕種の顕微鏡検査の義務づけ等を内容とした法的規則により現在では極めて低い病害率におさえることに成功しています。

現在、開発途上国においては養蚕業の振興意欲が高まりつつあり、これ等の国は養蚕振興計画を樹立して養蚕業の振興を図っているところではありますが、微粒子病がその振興に大きな障害となっていると伺っております。

このような開発途上諸国の養蚕業に対して、わが国が技術協力を行なうことは極めて有益なものと思われれます。

今回養蚕業の技術参考資料として「蚕の微粒子病」を刊行する運びとなりましたが、本書は蚕の微粒子病に関するテキストブックとして広く養蚕業の技術協力に携わる関係者にとって貴重な資料となるものと思われれます。

本書の執筆は農林省蚕糸試験場の上田金時博士にお願い致しましたが、同氏はわが国の蚕微粒子病の権威者として御活躍中の方であります。

本書が関係各位に広く御利用いただければ幸甚に存じます。

1971年1月

海外技術協力事業団

理事長 田付景一

海外技術協力事業団	
受入 月日	PF
登録No.	2787 45
	K

目 次

ま え が き	1
I 蚕糸業における微粒子病の脅威と研究の歴史	3
II 日本における微粒子病検査規則の推移	6
III 微粒子病のおこり方	8
IV 微粒子病の検査の方法	14
V 微粒子病の防除	21
VI そ の 他	22
i) 微粒子病の試験研究に必要な方法	22
ii) 自家製造蚕種の問題	22
iii) 飼育室等の汚染調査	23

ま え が き

世界の養蚕国において微粒子病による被害は、19世紀半ばから幾多の消長を経ながら、現在も絶滅していない。微粒子病防除に関しては化学薬品による蚕室などの消毒も嚴重に行なわれてきたが、防除の主役は母蛾検査において不健全な母蛾の産んだ卵の棄却することにある。母蛾検査は19世紀後半のLouis PASTEURらの研究により、この病気が原生動物の寄生によっておこり、しかも卵を経て次の代へ伝わることを明らかにされて以来、罹病母蛾の産んだ有毒蚕種の淘沙、棄却するために行なりものである（この際、産下された卵を母蛾別に識別するため、1蛾ごとに袋の中に蛾を入れる袋どり採種法または1つの枠の中に産ませる枠取採種法を行なり必要がある）。

微粒子病は蚕糸業にとって、その産業規模の大小に拘らず、常にその発展のカギをにぎるものである。その防除対策を怠っていては、蚕糸業の発展を期待することはできない。

ある国が蚕糸業の発展を願い、計画する時は先づ、微粒子病の防除対策を樹立することが必須の条件であることを忘れてはならない。

参考のために、日本の現状を紹介すれば、母蛾検査は国の法規をもって規制し、普通蚕種については、その母蛾を抜取検査により（全部を検査するのではないが）0.5%以上の有毒蛾をふくむ母蛾の集団の産んだ卵はすべて棄却しなければならぬ。原々蚕種、原蚕種については全数検査をもって、有毒蚕種の完全使用禁止を行なっている。

I 蚕糸業における微粒子病の脅威と研究の歴史

微粒子病の発生が、蚕糸業の盛衰に多大の影きよを与えていることは、世界各国におけるいくつかの史実がこれを示している。

特に19世紀中期のヨーロッパにおける被害は大きく、かつ世界的規模にまで広がり、収繭量は激減して、蚕糸業は莫大な損害をうけた。その一例をフランスにみると、1845年に微粒子病がVaucluse地方(県)に発生し、その翌年には隣接した3つの地方(県)に伝播し、以後5~6年の間にフランス全土に広がり、1951年には被害のない地方はほとんどみられなくなった。

フランスにおける両生産量(年)

1821~1830年	10,000,000kg
1831~1840年	14,000,000
1841~1845年	17,000,000
1846~1852年	21,000,000
1853年	26,000,000
1854年	21,500,000
1855年	19,800,000
1856年	7,500,000
1863年	6,500,000
1864年	6,000,000
1865年	4,000,000

よって1850年頃からは蚕種をイタリアのLombardie地方から求めて、収繭量は増大した。ところが1854年には、微粒子病はイタリア、スペインにも伝播し、蚕種貿易商はギリシャ、トルコに蚕種を求めた。しかしこの地帯も1859~1860年には汚染され、さらに蚕種をシリア、コーカサス、Moldavie, Valachieに求めたが、この地方も次第に被害をうけ、1864年にはアジアから、特に日本の蚕種が健全な蚕種として注目され輸入された。しかしフランスにおける微粒子病の被害は、蚕種の輸入だけでは防きえず新しい蚕種

の需給を上まわり、収繭量は最盛期の1/6に減少し、1856年被害は猛烈を極め、フランスの蚕糸業は壊滅の寸前にまで至った。日本の輸出蚕種も1866年のフランスの蚕種検査において、約2/3が有毒であることが分った世界中の養蚕国が微粒子病の脅威にさらされていたわけである。この19世紀中期の微粒子病の爆発的大被害以前にも、微粒子病の被害とみられる記録は、数十年の周期でみられるが、顕微鏡による病原体の確認がなされていないので、微粒子病と断定することも、また被害の規模も確認できないが古くから存在しているものが、蚕糸業の振興業に乗じて広く、深く伝播したものと思われる。微粒子病との闘いが始まってから約100年、現在もその脅威は拭いさらされていない。法的規制を行なっている日本においても、その運用を誤れば、一企業あるいはある一地方の蚕糸業を壊滅させる危険を充分にはらんでいる。

人間の社会生活においても、法定伝染病として扱われているコレラ、天然痘、ペストなどの発生のニュースはしばしばきかれるところである。その防除は、一地方あるいは一国の防疫体制で防ぎきれものではなく、国際的な防疫協力によって、常にきびしい監視体制がしかれていなければならない。微粒子病についても同じことであって、吾々はこのすばらしい天然繊維・絹を生産する誇りとともに、その防除の国際的な責任をもつことを自覚しなければならないだろう。

微粒子病の研究は、19世紀の微生物学の発展とともに進行し、原生動物学としてはマラリア病原体の発見よりも先んじている。

1849年フランスのGUÉRIN-MÉNEVILLEは蚕の微粒子病の病原体を、蚕の体液に寄生する微生物として“HEMATOZOID”と名付け、後にドイツのNAGELIはこれを学名NOSEMA BOMBYCISと命名した。1865年よりLOUIS PASTEURはフランス南部の養蚕地帯アレス(ALES)において約5年間研究を進め1870年“ETUDES SUR LA MALADIE DES VERS A SOIE”の大著を著し、この蚕病をMALADIE CORPUSCULAIREとよび、その発育、伝染の様相をくわしく研究し、母体内で経卵伝染することを発見しその予防の方法を発見し、ヨーロッパ蚕糸業の挽回に大きく貢献した。さらに、1884年フランスのBALBIANIはLecons sur Sporozoairesを著し、微粒子病々病原体を、原生動物、胞子虫綱・微胞子虫類に属すること明らかにした。その後

1909年に至り、ドイツのSTEMPELLは微粒子病々原体の形態、生活史について精細なる研究業績を発表した。その後今日まで、多くの研究者により、研究業績が積み重ねられてきた。予防法はL. PASTEURの発見による経卵感染という現象を基とした袋取採種法に、また学術研究の大綱としては、STEMPELLの業績に負うところが極めて大きい。

II 日本における微粒子病検査規則の推移

19世紀後半のヨーロッパにおける微粒子病の流行に際しては、無毒蚕種の唯一の保有国と考えられ、蚕種輸出を行なっていた日本にも、病毒の波はひしひしとおしよせてきていた。1866年にフランス皇帝に贈った蚕種に、多くの微粒子病々原体が見出された。これによると、日本にも以前からこの病気が存在していたものと思われる。しかし、日本における微粒子病の流行は、ヨーロッパより遅れること十数年で、1873年に始めて政府技術者を、オーストリー、ゲルズの国立蚕業試験場に派遣して、顕微鏡による微粒子病検査法を学ばせた。この時以来今日に至るまでの約100年間にわたる微粒子病とのたたかいが始まったのである。そして1884年、東京に蚕病試験場を設置して、微粒子病に関する試験研究と、検査員の養成を行ない、フランスの袋取採種法に対して、枢製採取法を考案した。

法規としては、1885年の農商務省通達をうけ、各府県が蚕種取締規則を定めて、蚕種の顕微鏡検査が義務づけられ、蚕種の売買には、微粒子病検査合格の証印が必要とされるようになった。この検査法は各府県の実状によって若干異なり、また原蚕種、普通蚕種の両者について、越年種、不越年種などの区別なしに検査を行なうところが大部分であったが、一部では普通蚕種および不越年種の原因種については検査の行なわれていない府県もあった。しかしこの検査法により、病毒蛾歩合は1890年の36.3%から、1892年には13.3%に激減し、著しい効果がみとめられた。

1897年に至ってようやく、国の法律第10号をもって蚕種検査法を公布し、日本全体に微粒子病の検査を画一的に施行させることとなった。しかも原蚕種は框製として母蛾検査を行ない、管理目標を完全無毒とした。また1900年よりは、検査を不越年種にも適用させることとし、母蛾検査の近代的な法律規制はほぼここに確立した。

1905年には、この法律を改正して、他の蚕病の軟化病、膿病、硬化病、きよう蛆病の消毒防除法をふくめて、蚕病予防法を公布した。

以後、検査技術の改良が次々に行なわれ、1935年には特殊な沈降管による

微粒子病胞子の自然沈降法を採用し、1945年には、普通蚕種検査について抜取検査法が確立された。

以上の検査法は、原蚕種の全蛾検査は勿論、普通蚕種の抜取検査も、1蛾別の磨砕によって行なわれてきたが、1967年に集団検査技術が考案され、従来の方法より検査精度が高く、仕事の能率も良いことが確認されたので1968年にこの方法が法制化された。集団検査法は、検査単位として、原々蚕種、原蚕種および普通蚕種について、14、28、30蛾を1カップに入れる、カッター式ミキサーで磨砕し、遠心分離により胞子を集める方法である。その詳細については後述する。

1880年代より行なわれてきた微粒子病検査法は、今日まで微粒子病防除に大きな役割を果たしてきた。微粒子病の発生は、気候などの自然条件により、また検査精度、消毒方法などの人為的条件によっても左右されるが、1図にみられるように、微粒子病の病毒率を漸減させ、また爆発的な発生もみることなく、極めて低い病毒率に抑えることができたことを示している。



Annual change in pebrine contamination rate of F1 Hybrid in Japan

Ⅲ 微粒子病のおこり方

カイコの微粒子病は、学名 *Nosema bombycis* という原生動物に属する病原体の寄生によっておこる蚕病で、経口感染するほかに、経卵感染する点で、他の蚕病と著しく異っている。

病原体は原生動物門 Phylum Protozoa, 刺胞子虫亜門 Subphylum Cnidosora 小孢子虫綱 Class Microsporidica, 小孢子虫目 Order Microsporida, 単刺胞子虫亜目 Suborder Monoenidina, 1ゼマ科 Family Nosema に属する。成熟した胞子は長卵円形で、およそ $3.6 \sim 3.8 \times 2.0 \sim 2.3 \mu$ の大きさである。この胞子は家蚕の幼虫の胃液によって発芽し、胞子の長径の30数倍に及ぶ長い極糸を出し、その突端にアメーバ芽体が出現する。アメーバ芽体は2つの核とその他の内部器官をそなえ、一層の限界膜をもっている。またアメーバ芽体は分裂によって増殖し、消食管の細胞間隙から体液内に出て全身に広まり、種々の組織器官特に脂肪組織、筋肉組織などに寄生し、分裂増殖後1つの核となり胞子を形成する。微粒子病原体はこの life-cycle を4日以内で完結することができる。

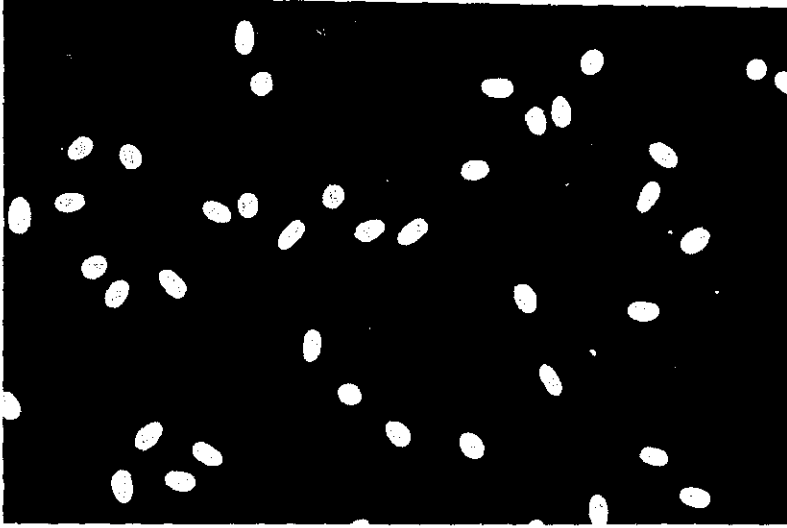
経原感染の経路は、4～5令期に微粒子病に感染した雌の幼虫が蛾になった時に、病原体が卵巣に寄生し、さらに卵内に移行し、その卵が産下されたあと、胚子内および次代蚕の体内で増殖し発病するものである。産下されたあと、卵内で病原体は発育、増殖するが、その速度は宿主である卵の発育に左右され、卵が休眠すれば、病原体の発育、増殖も休止し、催青などによって、卵は感染程度が比較的重い場合は孵化できずに死ぬものが多いが、軽い場合は孵化して幼虫期に発病斃死する。

孵化した経卵感染蚕は、感染程度によって異なるが、その多くは2～3令期頃までに発育が不齊一となり、いわゆる遅眠蚕、細蚕とよばれる症状を示し、ふんの中に胞子を排泄して斃死する。

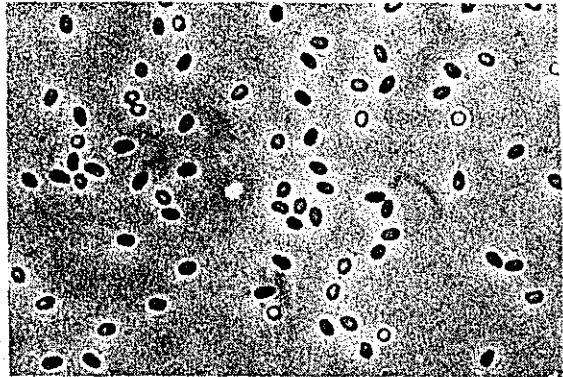
この様な経卵感染蚕が健康蚕にまじって飼育されれば、図に示すように、感染蚕の排泄する胞子が感染源となり、その胞子を食下することによって病気が広がる。その時期は、大体1～2令期であり、この感染を第1期感染とよぶ。

(Photo-1)

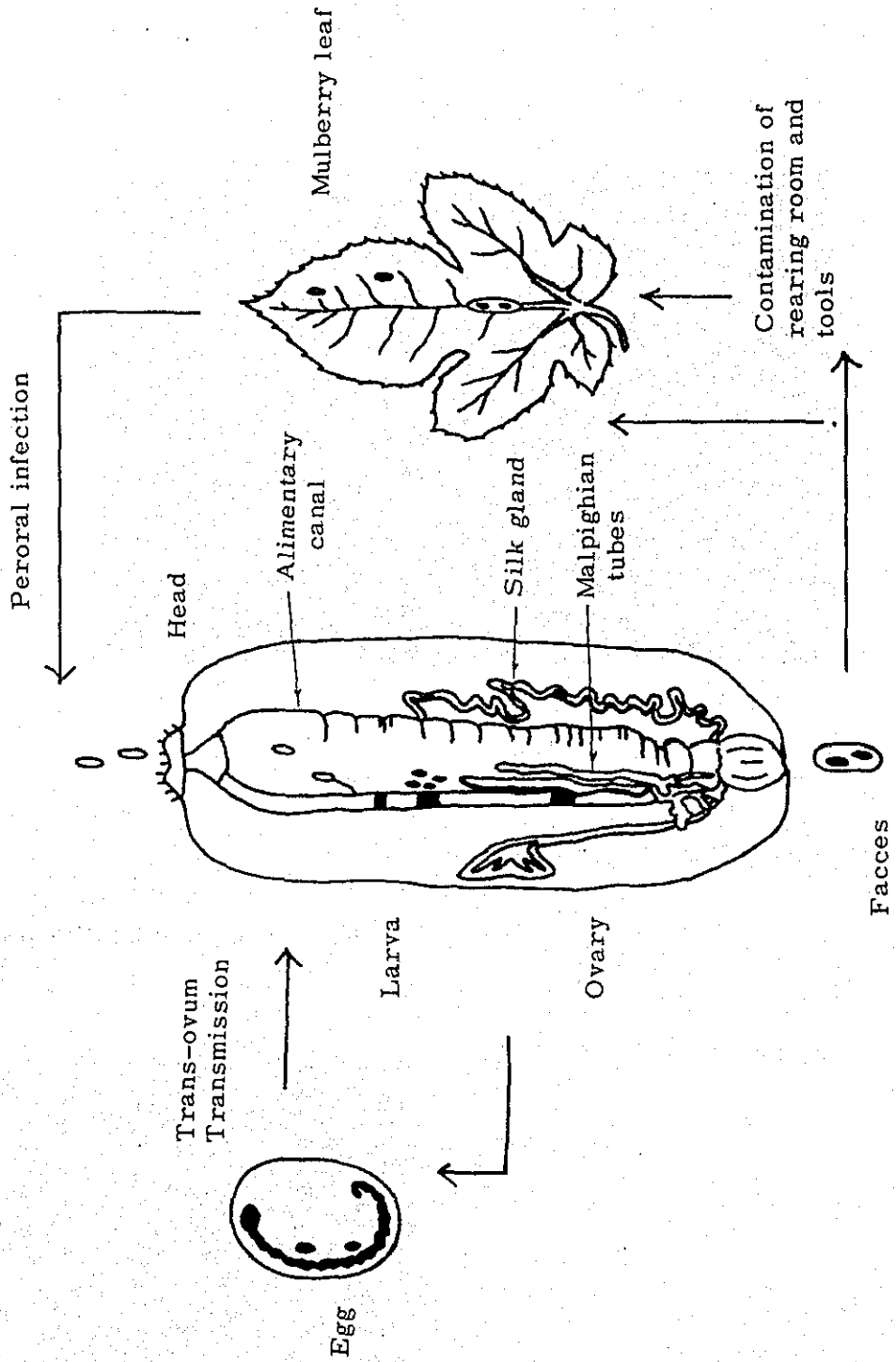
Spores of Pebrine Disease



Spores of Pebrine Disease



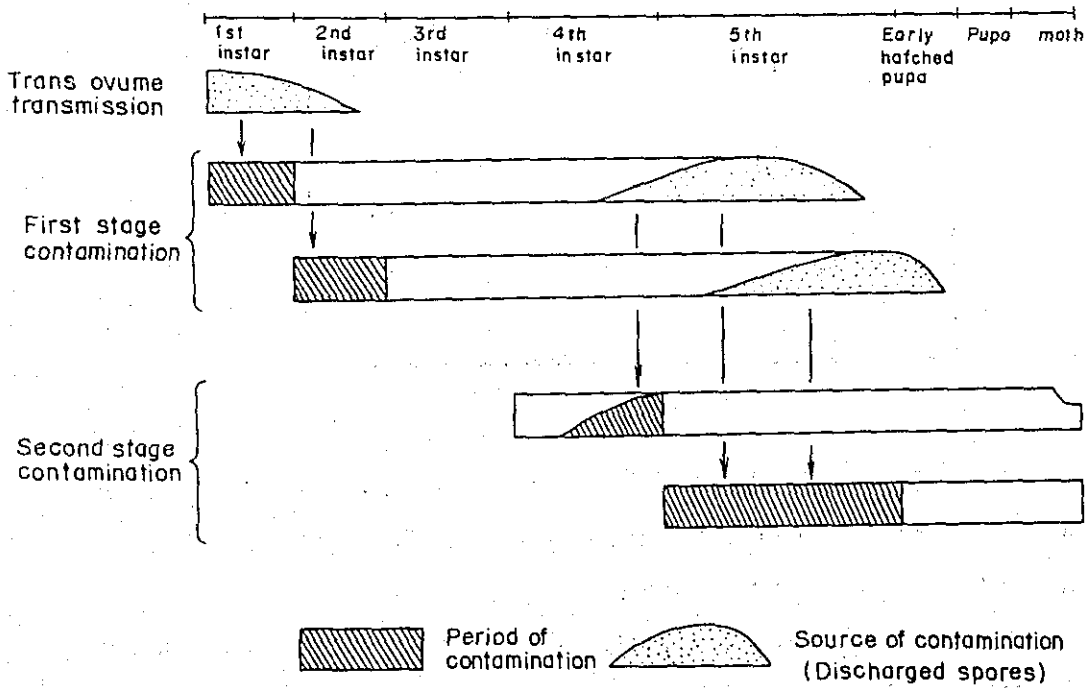
Transmission Channel of Pebrine Disease



第1期感染をうけた蚕は、3令期頃まで比較的 normally 發育するが、4令後期から5令初期の頃に病徴があらわれ、ふんの中に胞子を排泄しながら上簇までに斃死する。この時間に排泄された胞子によってさらに経口感染が行なわれ、この感染を第2期感染とよぶ。この4~5令期に感染した個体の殆んどは化蛾して、感染卵を産下する。

経卵感染蚕が蚕座に混入した場合、その混入割合と蚕作の関係をみると、表のとおりであり、混入した経卵感染蚕数が増加することによって健蛹歩合は減少する。また経卵感染蚕1頭の感染力についてみると表のとおりである。春蚕期と夏秋蚕期とは異なり、夏秋蚕期の方が病気の広がりのはげしいことが示されてい

経卵感染蚕を混入した場合の蚕座感染の起り方



経卵感染蛾蚕の混入数と蛾の感染歩合

[健康蚕300頭の蚕座に経卵感染蛾蚕を混入した場合]

感染蚕混入数	0	1	2	4	8	16	32	64
蛾合春	0	41	37	52	75	100	100	100
の感夏	0	71	82	100	100	100	100	100
歩秋	0	20	34	43	82	100	100	100

微粒子病胞子の最少減染量

[供試頭数10頭中感染した個体数]

添食量	1粒	10粒	100粒	1,000粒
2令起蚕	2	4	10	10
添食3期	0	4	10	10
添食4期	0	2	7	10
添食5期	0	0	5	10
5令5日目	0	0	2	10

る。この様に飼育条件によっても病気の広がり方は異なる。また蚕室、蚕具に以前に発生した微粒子病が排泄した胞子が残っていれば、それが蚕座に混入して感染源となることは、いうまでもない。

つぎに各令起蚕における胞子接種量と感染との関係を見ると、表のとおりである。経口接種によって感染する最少胞子量は、令期によって異なり、5令期では100粒程度で感染するが、2令起蚕では1～10粒の胞子を食下することによって感染する。また最少量で感染した個体の斃死時期は、2令起蚕に感染したものは5令期に、3令起蚕で感染したものは簇中または繭中で斃死し、4～5令期に感染したものは殆んど化蛾し産卵し、次代に病気を伝える。実際の場合には感染

量が多いので、発病はこれより早くなる。

以上のように、微粒子病の進み方はゆるやかであり、感染から斃死まで2～3週間を要する。しかし病原体の感染力は非常に強く、また病気の広がりも大きいので、微粒子液は一度発生するとその病原体を絶滅させることが極めてむづかしい。

Ⅳ 微粒子病検査の方法

微粒子病の検査は、母蛾を検査して無毒蚕種を選別するために行なわれるが、その検査を補足するために蚕種、掃きながら、および幼虫、蚕室のゴミなどについて、検査を行なうことができる。

1) 母蛾の乾燥および保存

微粒子病々原体は蛾の体内において、産卵後も増殖するが、自然死した蛾の腐体内では糸状菌やバクテリアの増殖が著しく、すぐ腐敗するので鏡検が困難になる。それで母蛾は産卵が終ればすぐ乾燥する必要がある。

母蛾の乾燥温度は65～75℃が最適で、80℃以上の高温にすると胞子の変形し、光沢を失ない、かつ比重が減少し、胞子の判別、集胞子法に障害が生じ検査ができなくなる。

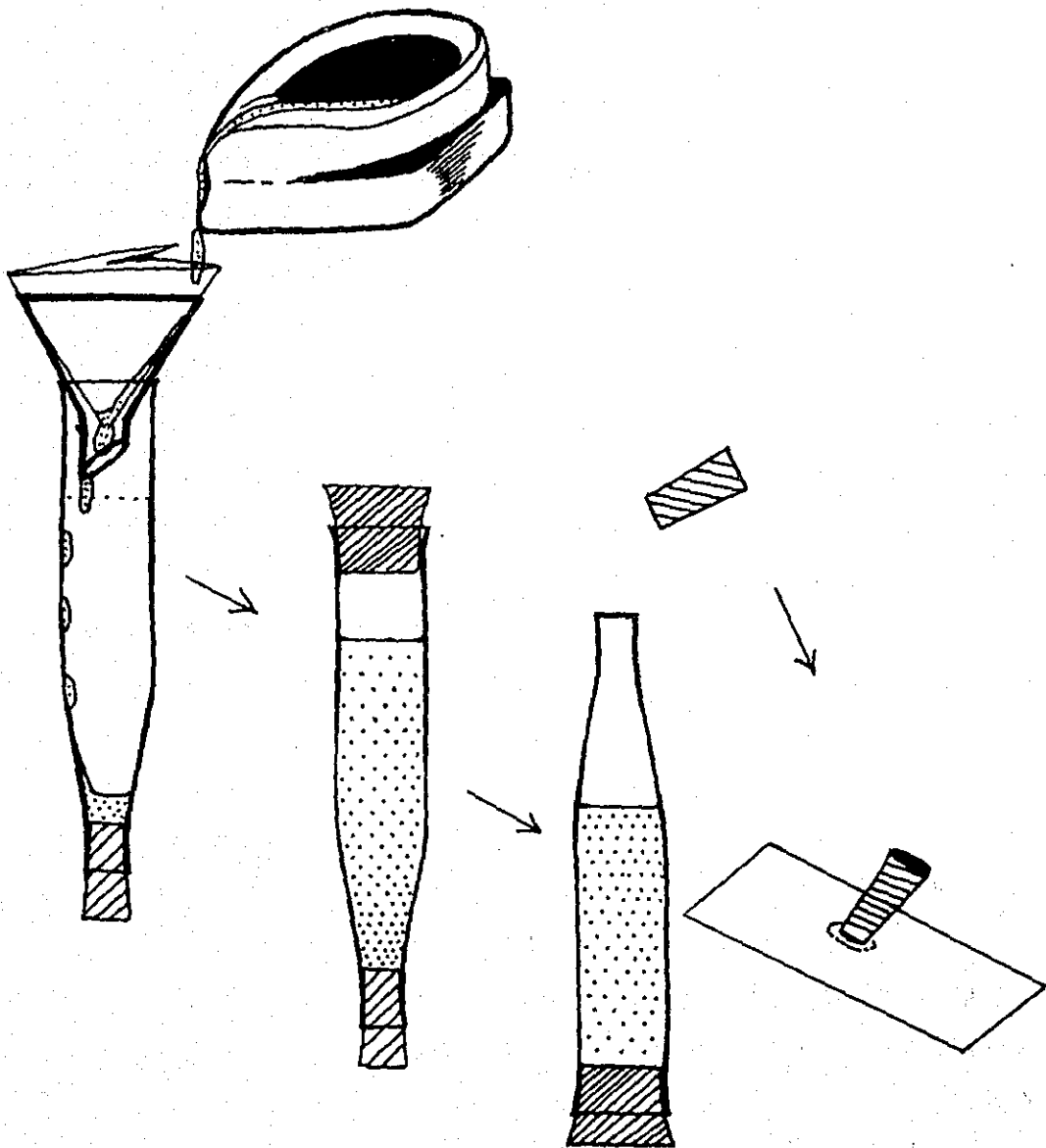
検査をすぐ行なうことができずに母蛾を保存する場合は、十分に乾燥して、糸状菌、バクテリアなどの発生を防ぎ、またカソオブムシなどに食害されないように、ナフタリン、パラジクロールベンゼンなどの防虫剤を入れて、缶またはビニール袋は密封して保存する。

2) 母蛾検査

A) 個体検査

蛾は磨砕して微粒子病胞子の有無を顕微鏡で検査するのであるが、それらは個体検査と集団検査とがある。個体検査の場合、乾燥蛾を予め2% KOHの約2 mlの磨砕液で充分膨潤させ、乳鉢、乳棒により蛾体の組織細胞を完全としめし病原体をよく遊離させるように行なう。

ラボラック液の作り方、第1液として、さらし粉(bleaching powder) 20 gを50 mlの水に溶かし、さらに水を加えて500 mlとする。第2液として NaOH 2.5 gを500 mlの水に溶かす。第1液および第2液を等量混合して、その上清液を原液とし、密栓して冷暗所に保存する。乾燥度によって異なり、液量が多くなると、磨砕が不十分になりがちであり、少なければ鏡検の際に、視野内に爽雑物が多くなって、検出精密が落ちる。



For collection of spore

1. A moth is crushed in a 2% KOH solution and filtrated.
2. 5 ml of water is added.
3. Left undisturbed for about 24 hours.
4. The tube is turned upside down and the rubber plug is removed and put on the slide glass.

念を入れて検査する必要があるときは、胞子を集める方法をとると良い。それには磨砕液を目のあらい戸紙で戸過しながら、高さ約7 cm, volume約6 ml, 上下にゴム栓のついた沈降管に注ぎ入れ、水を加えて約5 mlとし、生蛾の場合24時間、乾燥蛾の場合48時間静置する。気温が高くバイテリヤの増殖のおそれがある場合は、10% Formalinまたは5% Cresolを数滴入れる。48時間たったならば徐々に管を逆にして、それまで下側にあった栓をはずして付着した沈澱物をスライドグラスに移す。次に、検液をスライドグラス上に滴下してカバーグラスをかけ鏡検する。カバーグラスから余分の液が出て、ガーゼで吸いとったり、または液が少なくて乾燥してしまわないように注意する必要がある。

顕微鏡の光源は、自然光または人工光源によるが、終日連続的に鏡検する場合は、人工光源の方が光量による検出のふれを無くすことがされ、また鏡検者の疲労が少なく鏡検の精度も高い。

顕微鏡の倍率は600倍以上でよく観察でき、大量の試料を鏡検する検査時には600倍が最も適している。この場合対物・接眼レンズは、 $\times 40$ と $\times 15$ と $\times 60$ と $\times 10$ の組み合わせがあるが、作動距離を短かく、焦点深度を深くする必要から $\times 40$ と $\times 15$ の組み合わせの方がよい。このレンズの組み合わせによる焦点深度は、胞子の短径の約半分1 μ 程度であるので、作動には微動装置のついた顕微鏡を使う必要がある。成熟胞子は無色で光沢があるが、絞りを細めれば明暗のコントラストを生じ観察しやすくなる。

位相差顕微鏡は、無色の透明な対象物であっても、物の光学的な厚さ(屈折率 \times 厚さ)のちがいを、光の回折の干渉による位相のずれとしてとらえることができる。

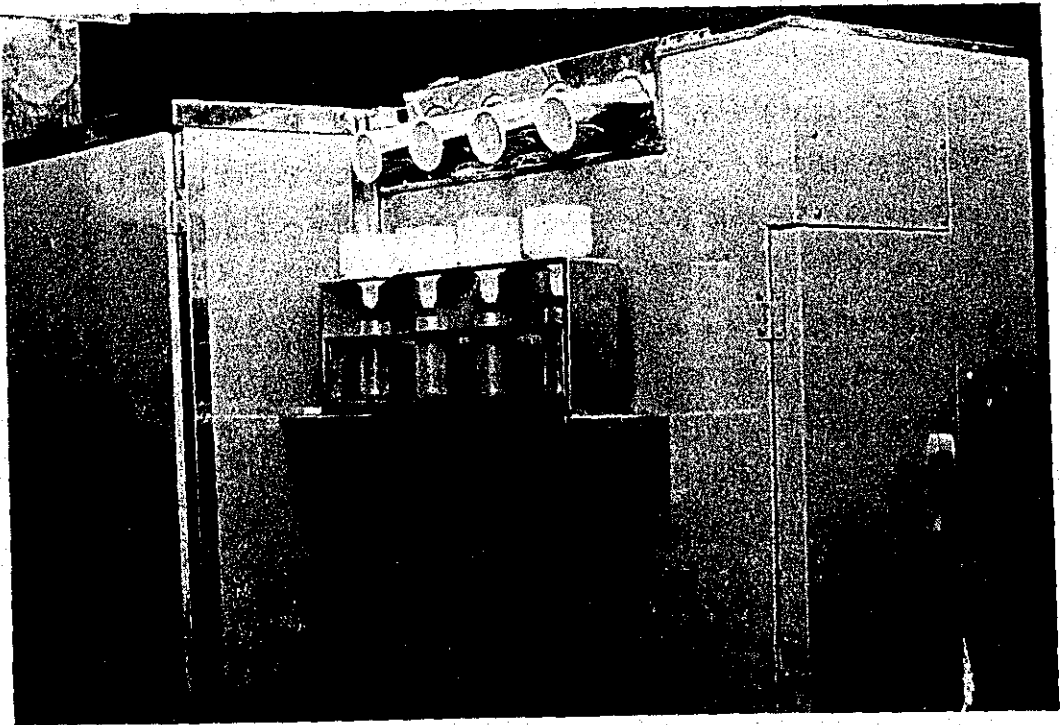
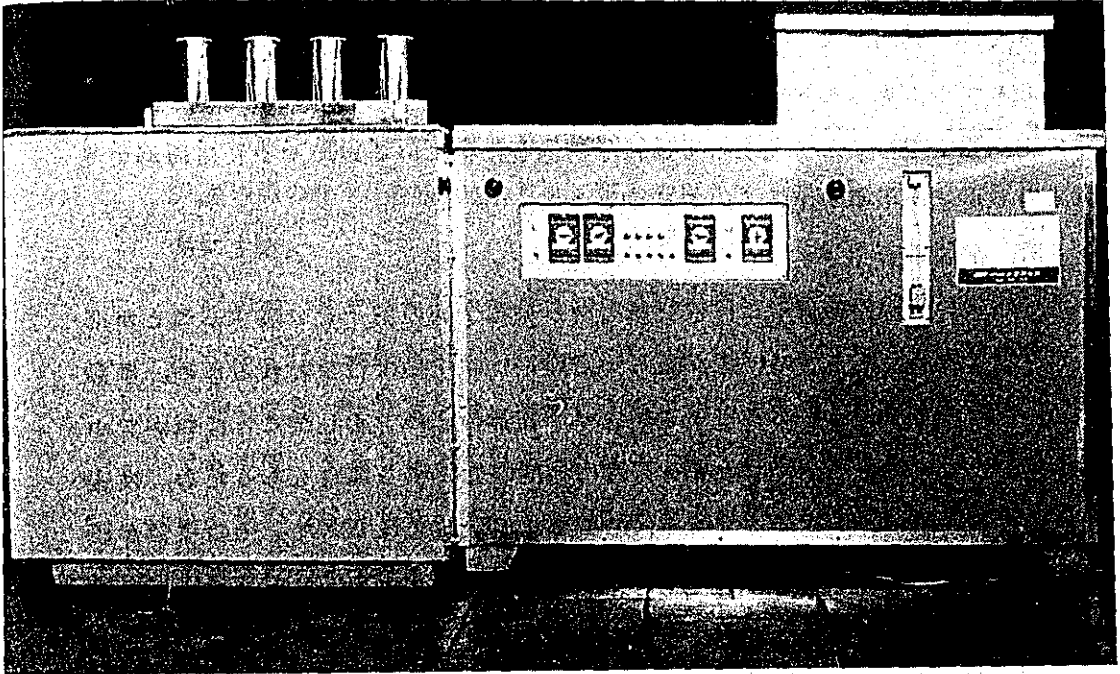
胞子は青白く光って、輪かくも明瞭に見え、未熟胞子およびシizontは明るい視野のなかに光沢のない黒褐色の像に見られるので、普通の光学顕微鏡より適している。

§ 胞子の判別

微粒子病検査は、一般に成熟胞子を観察することが多いが、宿主細胞内で分裂増殖中のシizontと呼ばれるもの、成熟胞子より大きいもの、細長いもの、洋ナシ形のものなど、大きさ、形、光沢が異なり、むしろこれらが混在することによ

Apparatus for Mass Pebrine Inspection of Moths

(Photo-2)



って、微粒子病胞子として確認することが多い。

緑きょう菌、赤きょう菌（糸状菌）の分生胞子は微粒子病の胞子に極めてよく似ているが、前者の大きさは $3.6\mu \times 2.5\mu$ でやゝまるみをおび、後者は $3.5\mu \times 2.0\mu$ でやゝ両端が尖り、両者とも光沢が弱く、胞子の中心部に顆粒がみられる。またとうもろこしの花粉粒も微粒子病胞子に似ているが、やや長楕円形で光沢もあるが、大小不同であるので判別できる。

B) 集団検査

微粒子病の検査には、検査試料から微粒子病の胞子を分離することが必須である。日本では検査がある一定時期に集中して行なわれるため、多数の労力を必要とすることおよび乳棒、乳鉢のまめつくしたことに気がつかないと、磨砕が不完全となって検出精度の低下する場合もあるため、検査能率の向上と検査技術の簡易化、標準化が要望されていた。その要望が研究者の努力によってかなえられ、日本では、1968年から集団検査法による検査が行なわれるようになった。

これは14～30蛾を一緒に磨砕して、その中から胞子を取り出すのであるから、例えばその中の1蛾だけが罹病していた場合にも、その1集団の産下した卵はすべて棄却することになるので、微粒子病の少ない国でしか利用することはできない。

集団検査法はカッター式のミキサ転によって一度に多数の蛾を磨砕し、その中から遠心分離器によって胞子を集めるもので、その手順は次のとおりである。

検査集団の蛾数 — ミキサーの1個のカップに収容して磨砕しうる蛾数は、蛾体の大きさ、病毒率（病毒率が高い場合、集団の蛾数を少なくしないと病毒蛾群に含まれて廃棄しなければならない健康卵は多くなる。）目的とする胞子検出精度と検査能率から、その蛾数を決定するが、10蛾以上40蛾以下は検査することができる。

磨砕 — ミキサーのカップの容量は0.5% K_2CO_3 溶液の70～80 mlで、これに検査すべき蛾を入れミキサーの回転数9,000～10,000 r.p.m. 2分間磨砕する。磨砕溶液のPHを高くすると、胞子の分離は良

くなるが、蛾体成分の溶出により粘度が高まり、磨砕液の濾過が困難になる。逆にPHが低いと蛾体組織が凝集して胞子の分離を悪くする。またそれぞれの地域の水質に応じて、磨砕溶液の K_2CO_3 濃度を±0.1%程度上下させることは可能である。

磨砕後の静置——磨砕後約2分間の静置すると、組織片は上層に浮かび濾過の際のカップを傾斜させると、下の液層の部分が先に流出して濾過を容易にする。

濾過——ロートに脱脂綿と目のあらい濾紙をおいて、磨砕液を静かに流しこみ、濾液を沈澱管にうける。

遠心沈澱——濾液は遠心沈澱をするが使用する遠心沈澱器の半径約9cmで8本架、2,600 r.p.m.、または4本架3,000 r.p.m.、約3分遠心する。遠心力は $1500 \times g$ とする。それぞれ対象の位置に入れる沈澱管の重量は均衡させ、誤差は5%以下をする。

沈澱の溶解——遠心沈澱した後、その上清液をすて、2%のKOH約2mlを加えて沈澱を溶解する。(もし生蛾を検査する場合は、上清液を静かにすて、沈澱が中間浮遊物と一緒に流出しないように留意する。沈澱はそのまま攪拌するか、あるいは0.5% K_2CO_3 溶液を少量加えて溶解する。)

またこの沈澱に水70~80mlを加えて振とうして、再遠心沈澱させると被検液に夾雑物が多い場合に鏡検しやすくなる。この場合も沈澱はそのまま攪拌して溶解する。

プレパラートの作成および鏡検は(a)の場合と同様である。

C) その他の検査

1) 蚕種および掃がらの検査

母蛾検査で経卵感染卵が完全に除かれたか否かを確かめようとする時は、その蛾の産んだ蚕種または掃がらを試料として検査すれば良い。

微粒子病が母体伝染する時は卵内に病原体が移行するが、卵巣内の卵の発育が大分進んで、包卵被膜で包まれた時期以後にはもはや移行はみられない。従って同一母蛾の産んだ卵の中では早く産卵された卵は感染していない場合が多く、おそく産下された卵の方が感染度が高い。それ

で母蛾検査の精度を，産下卵の検査で確認する場合には，おそく産下された卵を検査試料とする方が良い。また卵内の病原体は，卵の発育に応じて増殖，発育するので，孵化直前または蛾蚕について検査するのが良い。掃がらについて検査する時は，経卵感染卵の多くは，不受精卵，死卵となる場合が多いので，これらの卵を見落してはならない。

ii) 幼虫の検査

微粒子病蚕は病勢が進むにともない経過は不齊となり，遅れ蚕・細蚕・不眠蚕・起縮み蚕となり，それらの症状が1～2令期ごろに現われ，3令期ごろには斃死するから，検査試料の採取は1～2令期に行なう。

第1期感染蚕すなわち1～2令期に感染した個体は，4眠期ごろになって経過が不齊となり，5令起蚕で起縮み蚕となり死亡する。もし5令初期を正常に発育しても，5令後期になって軟化病的症状を呈するか，あるいは上簇してもまゆをつくることができなないので死亡する。したがって4眠前後から上簇期にかけて試料を採取する。

また蚕種製造のための種繭について，微粒子病の有無を早期に知るため，蛹または特に保温して発蛾を促進した蛾または一群の中で早く発蛾した蛾について検査をすれば，もしそれらが高度に感染していた場合は，その種繭から採種することは無益なので蛹の時期に焼却する。蛹の体内では十分な孢子形成が行なわれていないため検出精度は蛾あるいは初発蛾について行なうか，蛹の中腸をとりだして検査する。

V 微粒子病の防除

微粒子病には経卵と経口の2つの感染経路があるが、このうち前者は母蛾検査によって防除することができる。

経口感染は蚕児が微粒子病々原体の胞子を食下することによっておこる。その胞子が蚕の口に運ばれる経路は、経卵感染蚕の排泄する胞子によって蚕座内が汚染され、胞子が桑について口に入る場合と、蚕室・蚕具に以前から胞子が附着していたものが桑の葉について口に入る場合とがある。

経卵感染の蚕種が掃立てられた場合、たとえ蚕作に被害が目立たなかったとしても、罹病蚕からの排泄物およびそれが死んだ時、その死体からおびたどしい数の胞子が出て、蚕室・蚕具に付着し、あるいは蚕沙とともに運ばれて桑園、蚕室の周辺にまきちらされる。その汚染範囲は、蚕室の天井から、貯桑場をはじめ、堆肥舎、畜舎、寝室のすみこまで及ぶ。

蚕室、蚕具に付着した胞子は、冷暗湿潤状態では1年以上も感染力をもつが、明所で乾燥状態にあっては1ヶ月位で1%以下の感染力しかみられないので、蚕具類は室外に出して日乾すると消毒効果が大きい。

薬剤によって消毒を行なう場合には、2% Formalinあるいは200倍クライトに30分以上浸せさせなければならぬ。特に蚕室などに薬剤散布をする場合は室温20℃以上を保ち、少なくとも30分以上薬液が乾燥しない状態におけなければならない。

VI そ の 他

i) 微粒子病の試験研究に必要な方法

微粒子病の試験研究のうち、病原体の同定に必要な方法について簡単にのべる。これらの同定方法は、病原体が活着している状態で行なわれる方法で、乾燥蛾からえられた病原体には適用できない。

a) 発芽試験法

6%に希釈した過酸化水素水 H_2O_2 solution の少量に、等量の胞子懸濁液を入れ、 $25^{\circ}C$ 5~10分で胞子は極糸を突出させ、数分後にその先端にアメーバ芽体の出現するのが顕微鏡で観察される。また $1/20 \sim 1/40$ M KOH 溶液中の胞子懸濁液に $1/10$ M HCl または $1/10$ M KH_2PO_4 溶液を滴下すると、顕微鏡の視野内で極糸の発芽するのが観察できる。試験管内で発芽した胞子は、試験管の振とうによって、極糸のからむのを肉眼で見ることができる。

b) ギムザ染色法 (Giemsa)

微粒子病々原体の分裂・増殖の過程すなわち Shizont の時期は、普通の光学顕微鏡では見ることができない。位相差顕微鏡によって確認することができるが、さらに核の分裂状態をギムザ染色によって確かめることができる。微粒子病の罹病部位を $40^{\circ}C$ 位に暖めたスライドガラス上にうすく塗抹し、手早く風干し、メタノール液で1~5分固定する。染色は蒸溜水 $10 ml$ あたり $0.3 \sim 0.4 ml$ のギムザ液を滴下した液で30分~2時間染色する。蒸溜水の代わりに PH 6.8 の燐酸緩衝液を用いれば染色は安定する。染色後、蒸溜水または燐酸緩衝液で軽く洗い、風干して封入鏡検する。

ii) 自家製造蚕種の問題

今まで述べてきたように、微粒子病は経卵感染を断ち切らなければ、いかに環境の浄化を行なっても、防除しきれぬものでないばかりか、経卵感染蚕の病毒は広がる一方である。日本においても、第一に自家製造蚕種の禁止を行ない、原蚕種の母蛾検査によって、病毒率を急激に減少させることができた。従って、常に母蛾検査をうけた無毒の原蚕種によって交配された交雑種を農家に配布しなければならない。この点、優良な品種育成と、無毒蚕種の配布とは車の両輪として、

平行して進められなければならない。その為に原々蚕種，原蚕種の製造所においては，特に蚕室，蚕具の消毒を徹底して行ない，無毒の蚕種の配布が，その国の蚕糸業を推進させる第一歩である。それ故，それぞれの国の実状にあった蚕種製造に対する行政的措置が，その国の蚕糸業の運命を決定づけるといっても過言ではない。

Ⅲ) 飼育室等の汚染調査

飼育室等の汚染は，先きに飼育した微粒子病蚕の排出物・死体等に基因するものであり，その分布は飼育室はもとより，飼育者の行動範囲のすべての場所におよぶ。

検査試料は，上記の場所を選定し，蚕の遺体，蚕糞，蚕沙等を目標として集める。

検査試料は，0.1～0.2%苛性カリ液，または0.5%炭酸カリ液を用い，ミキサーで3～5分間磨砕する。これを脱脂綿で濾過し，遠心沈澱（1500 μ 3分間）を行ない鏡検標本とする。

これらの検査試料には糸状菌等の孢子が含まれることがあるので，判定には十分留意する。

