

# α-Amylase를 添加한 人工飼料가 家蠶의 成長 및 血糖量에 미치는 影響에 관한 研究

金 啓 明 · 文 在 裕\*

農村振興廳 蠶業試驗場, \*서울대학교 農科大學

## Studies on the Effects of α-Amylase added to Artificial Diet on the Larval Growth and the Amount of Blood Sugar of the Silkworm, *Bombyx mori* L.

Kye Myung Kim, Jae Yu Moon\*

Sericultural Experiment station, Office of Rural Development

\*College of Agriculture, Seoul National University

### Summary

This experiment was conducted to investigate the effects of α-amylase, added to artificial diet, on the larval growth and on the amount of blood sugar of the silkworm *Bombyx mori* L.. The artificial diet containing 20% mulberry leaf powder was fed on the 5th instar silkworm. The results obtained were summarized follows:

1. The digestibility in both sexes was increased by feeding artificial diet with α-amylase and increase of the digestibility was greater in the female than in the male.
2. Larval body weight was increased in the female but was the male, compared with those in each sex of the control, respectively.
3. There was an increase of the single cocoon weight and cocoon shell weight, as compared with that of the control.
4. It was evident that the artificial diet containing α-amylase was more effective than the control, and the effect of the diet was considerable higher in the female than in the male.
5. The amount of the blood sugar on the 7th day of 5th instar was decreased as compared with that of the control.

### 緒 言

家蠶의 榮養에 關係는 平塚(1917) 等에 의하여 基礎的인 研究 結果가 報告된 이래, 그동안 많은 研究 結果가 發表되어 왔으나 家蠶은 桑葉을 唯一한 飼料로 利用하는 單食性 昆蟲이므로 桑葉을 家蠶의 飼料로 하는 한 그 組成을 任意로 바꿀 수 없기 때문에 家蠶의 榮養要求性을 直接的으로 解明하는 것은 不可能하였다. 그러나 福田等(1960), 伊藤等(1960), 吉田藤(1960)에 의한 人工飼料의 研究는 家蠶의 榮養要求性을 究明하는 端緒가 되어 最近에는 家蠶榮養에 對한 量的, 質的要求性이 거의 解明되고 있다.

즉 蛋白質 및 Amino acid, Glucose 等 炭水化物, 脂肪酸等 脂質, Vitamin B群 및 C, 그리고 無機物 等の 榮養效果나 그 要求量이 거의 밝혀지고 있다.

그리고 最近에 人工飼料는 各種 農藥의 피해나 飼育의 安定性, 農村勞賃 上昇等의 問題點 解決을 위한 稚蠶共同育의 試圖等으로 거의 實用化段階에 이르고 있다.

그러나 人工飼料의 實用化에는 무엇보다도 飼料의 生産費節減과 그 効率增大等의 여건이 充足되어야 한다고 생각된다. 그런데 家蠶의 消化率은 桑葉으로 飼育할 경우 5齡에 約 37%에 不過한데, 이는 飼料중 單糖類等은 直接吸收되지만 그보다도 多量으로 含有

되어 있는 澱粉等과 같은 多糖類는 거의 消化利用을 못하기 때문이다.(堀江 1959)

따라서 本研究는 Amylase를 利用해서 人工飼料 中の 澱粉과 같은 多糖類를 分解하여 누에가 消化利用할 수 있도록 함으로서 人工飼料의 效率을 높이고자 함에 있다.

## I. 研究 史

Bottger(1942)에 의하여 조명나방(*Ostrinia nubilalis*)의 人工飼料가 처음으로 出現된 이래, 많은 食植性 昆蟲의 人工飼料가 研究되었으며, 家蠶에 대해서도 吉田等(1960), 福田等(1960), 伊藤等(1960)에 의하여 처음으로 開發된 이래 家蠶의 榮養要求性에 관한 研究 뿐만 아니라 病理學的인 研究分野等에 있어서도 劃期的인 轉換期가 마련되었다.

그중 生理學的인 面에서는 虫白質 및 Amino acid, Glucose 等 炭水化物, 脂肪酸等 脂質, Vitamin B群 및 C, 無機物 等 各種物質의 榮養效果나 그 要求量이 거의 알려졌는데, 特히 桑葉中에 含有되어있는 炭水化物은 小糖類라던 消化管 中腸皮膜細胞에서 分泌되는 分解酵素에 의하여 分解된 뒤 吸收된다는 것이 堀江(1959)에 의하여 밝혀졌고, Mukaiyama, F. et al. (1964)에 의하면 家蠶이 攝取한 炭水化物은 脂肪組織의 Glycogen과 血液의 Trehalose의 生合成에 利用된다고 한다. 또한 堀江(1959)에 의하면 攝取한 炭水化物의 大部分은 代謝에 必要한 Energy源으로 利用되며 Glycogen 및 Trehalose로 蓄積되었다가 必要에 따라 分解되어 各組織에 供給된다고 한다.

그런데 이 炭水化物의 分解酵素인 Amylase는 消化液(堀江 1959, 藤井等 1930, 金勝 1972, 加藤 1931, 小池 1954, 松村 1924, 松村 1935, 浦野等 1971)과 中腸組織(堀江 1959, 藤井等 1930, 小池 1954) 및 血液(小池 1954, 松村 1924, 山藤 1932) 그리고 唾腺(向山 1961)에 存在함이 밝혀졌는데, 이중 消化液中에 存在하는 Amylase가 가장 活性이 강하다고 한다.(堀江 1959)

한편 이들 Amylase의 最適 pH는 消化液에서는 9.2(堀江 1959, 藤井等 1930, 山藤1932)이고 中腸組織에서는 8.0(藤井等 1930, 神岡等 1971)이며 血液에서는 7.0(松村 1924, 山藤 1932)이라고 한다.

기타 Amylase의 作用에 대해서는 山藤(1932)에 의하면 血液中的 Amylase는 家蠶을 絶食시키면 分解力이 현저히 增加된다고 하며, 松村(1933)에 의하면 血液內 糖量의 增加와 血液內 Amylase의 作用은 正의 相關關係가 있다고 한다.

또한 松村(1951)와 平田等(1969)에 의하면 消化液 Amylase의 活性은 品種에 따라 差異가 있어서 活性이 극히 강한 것(+)과 거의 없는 것(-)으로 大別되며 그 差異는 第8 染色體上에 있는 遺傳子에 의해서 支配된다고 한다.

## II. 材料 및 方法

1. 供試家蠶品種은 蠶 117×蠶118을 사용했다.
2. 供試  $\alpha$ -Amylase ( $\alpha$ -1,4-glucan 4-glucanohydrolases)는 Activity (by Bernfeld)가 最小 20 $\mu$ /mg (日本和光 純藥(株) 製品)인 것을 사용했다.
3. 試驗飼料의 組成은 Table 1과 같이 乾燥桑葉粉末 20%를 含有하는 人工飼料를 사용했고, 蛋白質源으로서는 Soybean meal을, 澱粉源으로서는 Potato starch를 各各 使用했다.
4. 血糖量의 測定
  - 가. Glucose에 對한 Calibrating curve의 作成
    - (1) 0.01%의 glucose solution을 各各 試驗管에 0, 0.1, 0.2, ……0.9ml씩 넣고 蒸溜水를 加해서 전체가 2ml가 되게 했다.
    - (2) 各 試驗管에 80% Phenol solution를 0.05 ml씩 넣었다.
    - (3) 各 試驗管에 濃黃酸 5ml를 直接 加해서 黃褐色으로 發色시켜서 自然放冷시켰다.
    - (4) 光電比色計(Spectronic 20)로 490nm에서 吸光度를 測定했다.
    - (5) Fig. 1과 같이 Calibrating curve를 作成

Table 1. Composition of artificial diet used.

Substances	Amount
Mulberry leaf powder	20g
Soybean meal (defatted)	40
Potato starch	15
Agar	5
Cellulose powder	5
Sugar	5
Ascorbic acid	2
Citric acid	3
Salt mixture	2
$\beta$ -Sitosterol	0.2
Soybean oil	2
Antibiotic	0.8
Total	100.0
Vitamin B mixture	Added
Anticeptic	Added
Dist. water (per g dry diet)	2.7ml

發色시킨 뒤 自然放冷시켰다.

(3) 光電比色計(Spectronic 20)로 吸光度를 測定하여 Fig. 1의 Curve of calibration for glucose에 對照하여 血糖量을 定量했다.

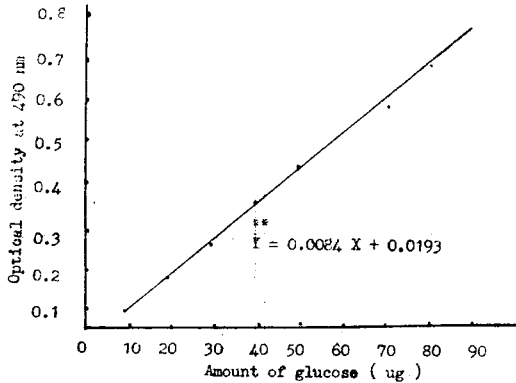


Fig. 1. Curve of calibration for glucose

했다.

#### 나. 血糖의 定量

- (1) 遠心管에 5齡 7日째 家蠶의 血液 0.5ml를 넣고 여기에 0.6N의 Perchloric acid (HClO<sub>4</sub>) 4.5ml를 가한 뒤 靜上後 3,000 r.p.m에서 10分間 遠心分離했다.
- (2) 上澄液 0.1ml를 試驗管에 넣고 蒸溜水를 가해서 2ml가 되게 한 뒤 80% Phenol solution 0.05ml와 濃黃酸 5ml를 가해서

#### 5. 누에의 飼育

蠶 117×蠶118의 雌雄 各各 20頭씩을 區分하여 Table 1의 飼料로 全齡飼料하였으며, α-Amylase 添加는 飼料乾物 100g에 대하여 1g씩을 넣었다. 5齡 5日째 蠶體重을 단 후 調製된 飼料定量을 秤量給餌하였다가 24時間後 다음給餌 직전에 蠶體重을 단 후 蠶糞과 殘飼料를 收去하여 90°C의 熱風乾燥機에서 48時間 以上 乾燥시킨 뒤 105°C에 마무리 乾燥秤量하였다.

血液은 5齡 7日째에 解剖法에 의해서 採取하여 -20°C에 保存하였다가 血糖量分析에 사용했다.

α-Amylase는 飼料에 添加하여 잘 混合한 뒤 20°C 以上의 溫度에서 40分間 放置하여 어느정도 Starch를 分解시킨 뒤 100°C의 蒸氣에서 25分間 삶았다.

## II. 實驗 結果

### 1. 누에의 消化에 미치는 影響

飼料에 α-Amylase의 添加가 누에의 消化에 미치는 影響을 조사한 結果를 보면 Table 2와 같다.

Table 2. Amount of dry diet ingested and digested, and digestibility of silkworm larvae at 5th day of 5th instar.

Treatments		Amount of diet fed	Wt. of feces	Amount of diet remained	Amount of diet ingested	Ingestive ratio	Amount of diet digested	Digestibility
α-Amylase	Female	14.3g	5.8g	5.5g	8.8g	61.5%	3.0g	34.1%
	Male	14.6	6.2	6.3	8.3	56.8	2.1	25.3
	Average	14.5	6.0	5.9	8.6	59.3	2.6	30.2
Control	Female	14.8	6.7	4.7	10.1	68.2	3.4	33.7
	Male	14.8	6.3	6.4	8.4	56.8	2.1	25.0
	Average	14.8	6.5	5.6	9.2	62.2	2.7	29.3

(15 larvae of each sex tested)

Table 2에서 보는 바와 같이 雌雄 各各 15頭에 대하여 乾物 食下量, 消化量 및 消化率을 調査한 結果 處理區(α-Amylase 添加區)는 對照區(無處理區)에 비하여 乾物 消化量은 같은 水準이었으나 乾物 食下量이 적어서 乾物 消化率은 指數로 3%정도 높았다. 이를 다시 雌雄別로 보면, 雌蠶은 處理區나 對照區 다 같이 雄蠶보다 乾物에 대한 食下量과 消化量이 많았으며 消化率도 높았다.

### 2. 누에의 體重 增加에 미치는 影響

飼料에 α-Amylase의 添加가 누에의 體重增加에 미치는 影響을 調査한 結果는 Table 3과 같다.

Table 3에 있어서 α-Amylase로 分解시켜 飼料의 給餌前(5齡 5日째)와 給餌後(5齡 6日째)의 24時間 동안의 體重增加量을 보면 處理區는 對照區에 비하여 20%의 增加를 보였다. 그 內容을 보면 雄蠶의 增體量은 處理區나 對照區가 大差 없었으나 雌蠶에 있어

**Table 3.** Body weight of silkworm larva

(g per larva)

Treatments		Female	Male	Average
α-Amylase	Before supply (5th day of 5th instar)	4.33	3.91	4.21
	After supply (6th day of 5th instar)	5.02	4.41	4.72
	Body weight gained	0.69	0.50	0.60
Control	5th day of 5th instar	4.37	3.93	4.15
	6th day of 5th instar	4.84	4.45	4.65
	Body weight gained	0.47	0.52	0.50

(Average of 15 larvae of each sex tested)

**Table 4.** Cocoon quality

Treatments		Cocoon weight	Cocoon shell weight	Percent of cocoon shell
α-Amylase	Female	2.38g	44.5cg	18.7%
	Male	1.65	40.2	24.4
	Average	2.02	42.4	21.0
Control	Female	1.95	33.6	17.2
	Male	1.56	38.8	24.9
	Average	1.76	36.2	20.6

(Average of cocoons of each sex tested)

서는 處理區가 0.69g으로서 對照區의 0.47g에 비하여 47%나 增體되었다.

**3. 繭質에 미치는 影響**

飼料에 α-Amylase의 添加가 繭質에 미치는 影響을 보면 Table 4와 같다.

Table 4에서 보는 바와 같이 全繭重, 繭層重 다

같이 處理區가 對照區에 비하여 현저히 무거웠으며, 그 程度는 雄蠶보다 雌蠶이 더 컸다. 그리고 全繭重의 增加보다는 繭層重의 增加가 더 컸다.

**4. 人工飼料의 効率에 미치는 影響**

飼料에 α-Amylase의 添加가 飼料의 効率에 미치는 影響을 調査한 結果는 Table 5와 같다.

**Table 5.** The efficiency of artificial diet (dried matter) at 6th day of 5th instar.

(g per silkworm larva)

Treatments		Amount of diet ingested for 100g of body weight gain	Amount of diet ingested for production of 10g of cocoon shell weight.	Amount of diet ingested for production of 10g of cocoon weight.
α-Amylase	Female	85.51g	13.26g	2.48g
	Male	110.00	13.68	3.33
	Average	97.76	13.47	2.91
Control	Female	142.55	19.94	3.44
	Male	107.69	14.43	3.59
	Average	125.12	17.19	3.52

Table 5에서 보는 바와 같이 누에의 增體量, 繭層重 및 全繭重을 基準으로 한 飼料의 效率을 보면 對照區에 비하여 處理區의 效率이 높았다. 이를 雌雄別로 보면 雌蠶은 處理區나 對照區가 大差없는 水準이었으나 雌蠶에 있어서는 處理區의 效率이 현저히

높았다.

**5. 누에의 血糖量에 미치는 影響**

飼料에 α-Amylase의 添加가 熟蠶直前 누에의 血糖量에 미치는 影響을 調査한 結果는 Fig. 2와 같다.

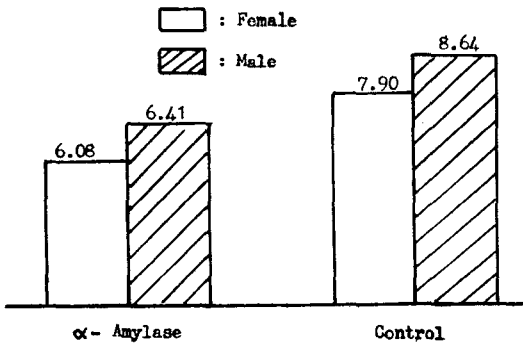


Fig. 2. Amount of blood sugar (mg/ml blood)

Fig. 2에서 보는 바와 같이 5齡 7日째 누에의 血糖量을 調査한 結果 處理區의 血糖量이 對照區 보다 低었으며, 이를 雌雄別로 보면 處理區나 對照區 다 같이 雄蠶에 비하여 雌蠶이 血糖量이 低었다.

#### IV. 考 察

本 實驗은 桑葉 粉末 20%가 含有된 人工飼料로 全齡飼育中 5齡 盛食期(5日째)에 α-Amylase로 Starch와 같은 多糖類를 單糖類로 分解시켜 飼料를 給餌한 것을 處理區로 하고, 無處理區를 對照區로 하여 消化量, 體重增加量, 繭質 및 飼料의 効率에 미치는 影響을 調査했고, 5齡 7日째 누에의 血液을 採取하여 血糖量을 調査한 結果이다.

##### 1. 누에의 消化에 미치는 影響

處理區는 對照區에 비하여 食下量은 多少 낮으나 消化率에 높은 것으로 보아 飼料의 効率面에서 볼 때 이는 α-Amylase의 效果가 컸던 것으로 思慮된다.

그리고 處理區나 對照區 다 같이 雄蠶보다 雌蠶의 食下率이나 消化率에 높았는데 이는 桑葉育에서 平塚(1917)가 얻은 結果와 같은 傾向이었다.

##### 2. 누에의 體重增加에 미치는 影響

飼料에 α-Amylase를 添加한 結果 雄蠶에 비해서 雌蠶의 增體效果가 컸는데 이는 雌蠶의 消化率의 增加에 기인된 것으로 思慮된다.

##### 3. 繭質에 미치는 影響

全繭重, 繭層重 다 같이 處理區가 對照區에 비하여 현격히 무거웠으며, 그 傾向은 雄蠶보다 雌蠶이 더 컸다. 이는 α-Amylase가 澱粉의 分解를 促進시켜 누에가 이용하기 쉽게 만듦으로서 높은 消化率과 相關하여 增體效果도 있었고, 繭層量도 增加되었으 며, 그 傾向도 雄蠶보다 雌蠶이 보다 현저했던 것 으로 思慮된다. 그런데 本 實驗에 사용된 澱粉은

Potato starch로서 이를 飼料에 15% 含有시켰는데 이중 α-Amylase로 인한 澱粉의 分解정도와 繭層量에 이용된 정도는 추후 더 究明되어야 할 問題라고 思慮된다.

일반적으로는 文等(1978), 堀江(1971)에 의하면 繭層은 家蠶이 消化吸收한 약 64%의 蛋白態 室素中 약 46.8%로 形成되며 특히 雌蠶은 극히 能率 좋게 消化하여 家蠶自身의 體蛋白質을 만들거나 繭絲蛋白質의 素材로 活用하며, 炭水化合物은 食下量의 約 40.5%가 消化吸收되어 그중 약77.6%가 Energy源이나 脂肪酸 및 非必須 Amino acid合成에 消費된다고 한다.

#### 4. 人工飼料效果에 미치는 影響

處理區는 對照區에 比하여 增體效果가 있었고, 繭質을 向上시키는 效果가 있었기 때문에 體重 100g을 增加시키는 데 必要한 飼料量이나 繭重과 繭層重 10g을 各各 生産하는데 必要되는 飼料의 量은 處理區가 적으며, 그 傾向은 雌蠶이 雄蠶보다 현저하다. 이는 飼料의 消化率에 기인된 것으로 思慮된다.

#### 5. 누에의 血糖量에 미치는 影響

一般的으로 藤井(1930)에 의하면 消化液中 澱粉 및 蛋白質 分解酵素의 5齡期 消長은 起蠶 때가 많고, 2~3日째에 一時的으로 減少하나 그후 다시 增加하여 盛食期까지 유지하다가 熟蠶이 되면 다시 減少한다고 한다.

松村(1933)에 의하면 血液內 糖量의 增加와 血液內 Amylase의 作用은 正의 相關關係가 있다고 한다. 따라서 α-Amylase를 添加한 飼料를 먹은 處理區의 5齡 5日째 當時는 無處理飼料를 먹은 누에 보다 血糖量이 많을 것으로 思慮되나 本 實驗에서는 處理區가 對照區보다 血糖量이 低었으며, 그 傾向은 雄蠶보다 雌蠶이 현저했는데 이는 血液採取時期가 거의 누에로서의 成長이 마무리 段階인 5齡 7日째(熟蠶 1日 前)이므로 飼料中의 Starch와 같은 多糖類로 부터 生成된 糖類가 이미 누에의 體重增加와 繭層量 增加에 效率의 으로 利用되어 無處理飼料를 먹은 누에 보다 血糖의 消耗가 더 많았을 것으로 思慮되나 이에 關한 것은 차후 보다 세밀히 究明되어야 할 問題라고 思慮된다.

#### V. 摘 要

桑葉이 20% 含有된 누에의 人工飼料에 있어서 5齡 5日째에 α-Amylase를 添加시켜 飼料를 給餌한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 消化率은 雌雄蠶 다같이 對照區에 비하여 높았으며, 雌蠶은 雄蠶보다 높았다.

2. 體重에 있어서는 雄蠶은 對照區와 같은 水準이 있으나 雌蠶의 體重이 對照區에 比하여 增加되었다.
3. 繭質에 있어서는 繭重, 繭層重 다같이 對照區에 比하여 增加되었다.
4. 飼料의 效率은 處理區가 對照區보다 높았으며, 그 程度는 雌蠶이 더 현저했다.
5. 5齡 7日에 있어서 누에의 血糖量은 對照에 比하여 적었다.

### 參 考 文 獻

- 平田保夫, 浦生卓磨(1969) 蠶品種における消化液アミラーゼ型, 日蠶雜 38, 395~400.
- 平田保夫, 浦生卓磨(1969) 家蠶의 消化液におけるアミラーゼ活性의 品種間 差異와 個體變異, 日蠶雜 38, 401~405.
- 平塚英吉(1917) 家蠶의 榮養에 關する 研究, 日蠶試報 2(4), 1~30.
- 堀江保宏(1959) 家蠶消化管의 生理學的 研究 (II). 消化液及 中腸組織의 炭水化物 分解酵素, 日蠶試報 15, 365~382.
- 堀江保液(1971), 蠶의 榮養要求から見た 桑葉葉質, 蠶科技 10(3), 32~38.
- 藤井音松, 加藤清時(1930) 家蠶의 消化酵素에 就て, 態本蠶試報 3(2), 35~69.
- 福田紀文, 須藤光正, 樋口芳吉(1960), 人工飼料による 蠶의 飼育, 日蠶雜 29(1), 1~3.
- Ito, T. (1960), Effect of sugars on feeding of larvae of the silkworm, *Bombyx mori* L., *Insect physiology* 5(1), 95~107.
- 伊藤智夫, 田中元三(1960) 人工飼料による 蠶兒의 飼育及 5眼蠶分離에 關하여, 日蠶雜 29(3), 191~196.
- 神岡四郎, 向山文雄, 武井輝雄, 伊藤智夫(1971) 家蠶による 人工飼料의 消化와 利用, 日蠶雜 40, 473~483.
- 金勝廉介(1972) カイコの 消化液アミラーゼ에 關하여, 日蠶雜 41:445 ~451.
- 加藤清時(1931) 蠶兒による 桑葉炭水化物消化에 關する 研究, 日蠶雜 2, 226~231.
- 小池久義(1954) 昆蟲의 炭水化物 分解酵素에 關하여, (1) 數種昆蟲에 於ける 炭水化物 分解酵素의 分布, 動雜 63, 228~234.
- 松村季美(1933), 遺傳的 Amylase 四型에 關する 研究 (II). 日蠶雜 5(1), 61.
- 松村季美(1935) 家蠶의 消化液及 體液에 於ける 아미ラーゼ作用에 關する 遺傳的 並に 生理學的 研究, 長野蠶試報 28, 1~124.
- 松村季美(1951) 家蠶의 異なる 系統의 消化 아미ラーゼ 遺傳子의 作用, 日蠶試報 13, 513~516.
- 向山文雄(1961) 家蠶幼蟲의 唾腺에 於ける 二, 三의 消化酵素에 關하여, 日蠶雜 30, 1~8.
- Mukaiyama, F., Horie, Y. and Ito, T. (1964) Amylase of digestive juice and utilization of dextrin and starch in the silkworm, *Bombyx mori* L., *Insect physiology* 10, 247~254.
- 文在裕, 林鍾聲(1978) 新稿 家蠶解剖生理學 蠶病學 152~196, 鄉文社
- 浦野松幸, 向山文雄, 浜野國勝(1971) 家蠶의 炭水化物 分解酵素에 對する 飼料組成의 影響, 日本蠶絲學會 41回講演要旨集, 31.
- 山藤一雄(1932) 家蠶의 酵素에 關する 研究, 日蠶雜 5, 31~311.
- 吉田德太郎, 松岡道男, 木村孝一(1960) 乾燥桑葉粉末을 基本とする 人工飼料による 家蠶의 飼育에 關하여, 日蠶試報 15(10), 543~586.