

## 家蠶으로부터 分離된 새로운 Microsporidia S80의 特性

林 鍾 聲 · 趙 世 衍 \*

慶北大學校 農科大學 蠶絲學科 · \*農水產部 國立蠶種場

### Characteristics of New Microsporidia S80 Isolated from Silkworm, *Bombyx mori* L. in Korea

Lim, Jong Sung · Cho, Sae Yun

Dept. of Sericulture, Coll. of Agric., Kyungpook Natl. Univ.

\*National Silkworm Egg Production Station, Ministry of Agric.

#### Summary

The new microsporidia S80 isolated from, *Bombyx mori* L. in Korea showed ovoid in the morphology of the spores and the size were measured  $2.9+0.28\mu$  in length and  $1.7\pm 0.29\mu$  width. No other microsporidian spore like this has not been so far isolated from Silkworm. The length of the polar filament extruded in hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) at  $30^\circ C$  was  $26\mu$  of a round cytoplasm on the top. The spores were partly stained with Giemsa, Safranin-O and Gram as the same staining properties as *Nosema bombycis*, Microsporidia K 79 and other microsporidian spores.

The fine structures were observed under scanning electron microscope through ultrathin sectioning. The spore wall was composed of three layers; the thin exospore of an electron dense rippled layer, the thick electron lucent endospore which was thinning considerably at the polar filament insertion point, and the inner limiting membrane. Polar cap present at the spore apex, with a long polar filament of 12-13 coils, subtending angle of  $60^\circ$  to spore axis, which is tubular made up of a multilayered and are a benes core, light ring structure enclosing the dance core, the dark ring structure enclosing the inner light ring structure and the other than and light ring structure bounded from cytoplasm.

Lamellate polaroplast occupied the anterior part of the spore, and the two nuclei with dense nucleoplasm bounded by a double nuclear envelope were cited in the slight downer middle portion of spore.

From the characteristics of the shape, size and fine structures, it is certain to reason the Microsporidia S80 belong to the phylum Microspora, class Microspora, order Microsp-

orida, order Microsporida. The shape of two nuclei cited seems to be genus Nosema, but in the classification for the suborder it should be defined wheather pansporoblasts be formed or not and for the genis especial attempts have been made to define the characters which distinguish the disporous genera in the life cycle.

Survey through the infection of the bad cocoons during 1980 to 1982 in South Korea the areas contaminated with new microsporidia were revealed 5 provinces of Kyung-Gi, Kang-Won, Chung-Nam and Chun-Nam.

Pathological effects inoculated per os at second instar larvae of silkworm, the LD 50 was  $7.1 \times 10^7$ /ml as lower pathogenecity than that of Nosema bombycis Naegeli of  $1.2 \times 10^7$ /ml. While on the other hand the inoculation of the microsporidia at fourth instar larvae lowerd the whole cocoon weight and cocoon shell wegith and significant at 1% level.

The microsporidia S80 defined it can not be transmitted transovarially from the result of predictive and collective examination of 21 egg batches from the infected female moth.

## 緒 論

Protozoa (原生動物)는 單細胞로 되어 있으며 眞核細胞라는 點 以外에는 進化論의 으로 반드시 어떤 聯關이 있는 것이 아니고 起原이 다른 雜多한 生物이 包含되어 있다.<sup>1)</sup> 따라서 分類學的으로 볼때 Protozoa는 自然的인 分類가 아닌 人爲的인 分類이며, 多樣한 單細胞性 眞核生物群의 總稱이다. 이러한 Protozoa 中에는 特히 孢子 形態를 갖는 것들이 있으며 이러한 것들은 一般的으로 Sporozod 라고 부르는데 이것이 分類學上의 자리를 차지하기 始作한 것은 1889年 O. Bütschli<sup>2)</sup>의 分類에서 Phylum Protozoa (原生動物門)의 4個 Class 中의 하나인 Class Sporozoa (孢子虫綱)로 分離되면서 부터라고 말할 수 있다. Sporozoa는 그後 1926年 G. N. Calkins<sup>3)</sup>의 分類에서 Phylum Protozoa의 Subphylum Sporozoa (孢子虫亞門)로 格上되었다가 1980年 "A newly revised classification of the protozoa"<sup>4)</sup>에서는 Subkingdom Protozoa (原生動物亞界)의 7個 Phylum 中 4個의 Phylum 即 Apicomplexa, Microspora, Ascetospora, Myxozoa 등으로 分化되었다. 現在 Sporozoa는 5,600餘種이 알려져 있으며, 이들은 大部分이 寄生性인 點에서 重要視된다.

그런데 Sporozoa 中에서도 Phylum Microspora에 屬하는 것들은 通稱 Microsporidia (微孢子虫類)라고 하는데, 크기는 길이 3~8  $\mu$  幅 1~3 $\mu$  程度로서 상당히 작고, polar filament를 갖는 單細胞性 孢子를 形成하며 anchoring disc (polar cap)를 갖추고 있거나 그 外에 posterior vacuole이나 polaroplast 등이 있는 것도 많다.

Microsporidia는 特히 昆蟲에 寄生하는 것이 40% 程度나 되며 病原性이 높아서 昆蟲에 致命的인 影響을 주는 것이 많다.<sup>5)</sup> 일찌기 Microsporidia에 依한 昆蟲의 疾病으로서 研究된 것은 Louis Pasteur에 依한 누에의 微粒子病이며<sup>6)</sup> 이 病은 본래 프랑스에서 多少 發生되고 있던 것으로서 1840年代부터 急激히 發生이 增加하였으며 그後 이태리, 스페인 터어키, 中國 및 다른 나라에까지 擴散되었고, 1860年代에 이르러 유럽에서는 이 病에 感染되지 않은 蠶種을 얻을수 없었으며,<sup>6)</sup> 日本으로부터 蠶種을 收入해야 되었다.<sup>23)</sup> 蠶作을 威脅하는 가장 무서운 이 病을 防除하기 爲하여 養蠶農家에서는 누에 飼育 施設에 對한 徹底한 消毒을 해야 함은 물론 國家에서는 蠶業法令으로 이 病의 豫防에 힘쓰고 있는바 蠶種 生産 過程에서는 母蛾檢査, 補正檢査, 病毒豫知檢査 등을 通하여 微粒子病의 病原體인 Nosema bombycis Naegeli의 孢子가

檢出된 區의 卵을 淘汰시키고 있다.<sup>19)</sup> 이러한 檢査 過程에서 *Nosema bombycis*를 識別하는 가장 重要한 基準이 되고 있는 것은 胞子의 形態와 크기로서 成熟한 胞子의 길이는 3.6~3.8 $\mu$ 이며 短徑은 2.0~2.3 $\mu$ 으로서 卵圓形<sup>20)</sup>이다. 그런데 누에로 부터는 *Nosema bombycis*와 形態가 다른 *Microsporidia*가 發見되어 注目을 받고 있는데, 日本에서는 1970年代에 細型微粒子,<sup>21)</sup> 小型微粒子,<sup>22)</sup> *Pleistophord* sp.<sup>23)</sup> 등이 알려졌으며, 1980년에는 *Nosema* sp. M 11, *Nosema* sp. M 12, *Nosema* sp. M 14 등이 藤原<sup>14)</sup>에 의하여 發表되었고 1981년에는 佐藤<sup>17)</sup> 등이 *Pleistophord*屬의 M 27 및 기타 *Nosema bombycis*의 變種들에 關하여 報告한바 있다. 한편 우리나라에서는 林<sup>20)</sup> 등이 慶北 地方에서 1979년에 發見한 새로운 *Microsporidia* (K79)를 最初로 發表하였다. 또한 1980年 國立蠶種場에서 實施한 下繭檢査 過程에서 지금까지 알려진 *Microsporidia* K79나 *Nosema bombycis*보다도 크기가 작은 *Microsporidia*가 檢出되었으며, 이것은 林等<sup>21)</sup>에 의하여 *Microsporidia*로 看做되었으며 未知의 種으로서 Mx로 처음 紹介되었고 그後 慶北大學校 農科大學 昆蟲病理學 研究室에서 *Microsporidia* S80이라고 命名하였다. 一般적으로 *Microsporidia*의 特性은 胞子의 크기와 形態 以外에도 染色性 등이 알려져 있다.<sup>17), 21)</sup> 또한 오늘날 *Microsporidia*의 分類와 同定에 있어서 重要한 Taxa가 되고 있는 것이 胞子의 微細構造로서 *Microsporidia*는 必須적으로 polar cap과 polar filament를 갖추고 있으며 그밖에 polaroplast나 posterior vacuole의 有無에 따라 Class가 分類되고, 胞子의 細胞壁이나 突出器具等 構成要素의 發達程度에 따라 Order가 分類되며, 發育過程에서의 特性이나 核의 數 및 기타 特性에 따라 Suborder 및 Genus가 決定되는데 누에의 既存 *Microsporidia*인 *Nosema bombycis* 胞子의 微細構造<sup>16)</sup>는 exospore와 endospore로 構造된 細胞壁에 싸여져 있는 内部에 polar cap, polar filament, 2個

의 核 및 posterior vacuole 등이 밝혀져 있다. 特히 *Microsporidia*의 微細構造에서 나타나는 polar filament는 coiled part에 있어서 胞子의 縱軸에 對한 coil의 기울기가 winding 回數 등의 特徵을 分類에 適用하려는 試圖<sup>24)</sup>가 있다.

*Microsporidia*의 特性에 있어서 形態적인 것 以外에도 病原性이나 寄主範圍 또는 徑卵傳達 與否 等도 重要하다. *Microsporidia* M 12에 있어서는 누에에 對한 病原性的 強弱이나 徑卵傳達 與否<sup>25)</sup> 및 Nuclear-polyhedrosis Virus 間의 病原性 抑制現象<sup>13)</sup> 등이 알려져 있고, 小型微粒子는 蟲質과 產卵數에 나쁜 影響을 미치는 것으로 報告되었다.<sup>10)</sup> 그러나 *Microsporidia* S80은 누에로부터 檢出되었다는 것과 *Microsporidia*로 생각된다는 點 以外에는 그 特性이 알려지지 않고 있다. *Nosema bombycis*가 蠶作에 미치는 影響이 큰 만큼 누에로부터 發見된 새로운 *Microsporidia* S80에 對한 特性의 糾明은 韓國의 蠶作 安定을 爲하여 必要하며 *Microsporidia*의 分類와 同定을 爲한 基礎資料를 確立한다는 點에서 볼때 昆蟲病理學上 價値있는 일이다.

## 材料 및 方法

### *Microsporidia*의 分離

病蠶을 採取하여 한마리씩 따로 磨碎하고 光學顯微鏡 下에서 600倍로 檢査하여 *Microsporidia* S80이 檢出된 磨碎液을 收集하였으며, 이것은 2~3겹의 gauze를 使用하여 濾過한 다음 2,000 r.p.m.s로 3分間씩 5回 遠心分離하여 胞子를 精製하였으며 3代에 걸쳐 繼代 飼育하여 胞子의 크기 및 形態가 變하지 않음을 確認하였다.

### 胞子의 形態와 크기 및 極絲의 觀察

胞子의 形態는 400倍, 600倍, 1,000倍 等의 倍率로 觀察하였으며, 染色性을 알아보기 爲하여 Giemsa, Safranin-O, Gram 染色 等

을 하였고, 胞子の 크기는 100個에 對하여 各各 길이와 幅을 測定하였으며 H. J. Benson<sup>25)</sup>의 方法에 準하였다. 한편 胞子를 hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) 原液으로 30℃에서 40分間 處理하여 polar filament (極絲)를 抽出하였고 그 길이를 10個씩 測定하여 平均 길이를 算出하였다. 以上の 試驗에서는 *Nosema bombycis* 및 *Microsporidia* K79를 供試하여 *Microsporidid* S80과 比較하였다.

#### 胞子の 微細構造

精製한 胞子를 5% glutaraldehyde로 1時間 固定하고 Trager's B medium에 20分씩 洗滌한 다음 2% Osmic acid로 1時間 30分間 後固定을 하였고 다시 Trager's B medium에 20分間 洗滌하고 25, 50, 75, 100(%)의 4段階 ethanol에서 20分씩 脫水하였으며 propylene oxide에 48時間 處理後 embedding mixture와 propylene oxide 混合液에 48時間 두었다가 다시 embedding mixture에서 48時間 infiltration하고 epon-812에 ultramicrotome으로 sectioning하여 gold乃至 silver section을 Lormvar와 carbon을 coating 한 copper grid에 떠서 55分間 Millonig<sup>26)</sup> 染色後 uranyl acetate로 15分間 染色하였으며 走査型 電子顯微鏡 下에서 30,000乃至 40,000倍率로 觀察하였다.

#### 發生地域 分布

*Microsporidia* S80의 發生地域 調査는 下繭의 檢査 結果에 依하였으며 下繭의 檢査 方法은 먼저 고치를 切開하고 그 속의 病蠶 또는 蛹을 磨碎한 다음 光學顯微鏡 下에서 600倍로 檢査하여 胞子の 檢出 與否를 確認하였다. 調査地域은 京畿, 江原, 慶北, 慶南, 忠北, 忠南, 全北, 全南 등 8個 道이며 調査 時期 및 調査量은 1980年 秋蠶期에 道別로 下繭 400個씩을 收集하였고 1981年과 1982年의 春蠶期과 秋蠶期에는 各道別로 800個씩의 下繭을 無作爲로 採取하였으며, 모두 5회에 걸쳐 26,000個의 下繭을 檢査하였고 年度別

蠶期別로 各 地域에서의 檢出比率을 求하였다.

#### 病原性 檢定

供試蠶品種은 蠶 119×蠶 120으로 하였고, 1982年 春蠶期에 飼育하였으며 完全任意 2反復으로서 누에 數는 區當 30頭씩으로 하고, 2~3齡期에는 紗례에서 4齡期 以後에는 木製蠶箔에서 飼育하였고 溫湿度는 標準法에 따라 調節하였다. 供試 病原体는 6個月間 5℃로 保管한 胞子를 使用하였으며, 먼저 高濃度로 精製한 胞子の suspension을  $1.6 \times 10^8$ /ml,  $1.6 \times 10^7$ /ml,  $1.6 \times 10^6$ /ml,  $1.6 \times 10^5$ /ml 등 4段階 濃度의 接種原을 만들었다. 接種 方法은 먼저 桑葉을  $1\text{cm}^2$  크기의 正方形으로 切片하여 表面과 裏面에 接種原을 塗抹後 陰乾하여 2齡 起蠶에 12時間 添食시켰다. 接種後 各 區別로 感染致死蠶 數를 調査하여 L. J. Reed 등<sup>27)</sup>의 方法에 따라  $LD_{50}$ 을 算出하는 한편 感染致死率의 probit (Y)를 接種濃度의 logarithm (X)의 函數로 表示했을 때의 回簇直線 方程式으로부터 Probit line을 求하였다. 以上の 試驗에서는 既存 *Microsporidia*인 *Nosema bombycis*도 供試하여 比較하였다.

#### 蠶質에 미치는 影響

蠶119를 供試하여 1982年 春蠶期에 桑葉을 하였고 接種時에는 紗례에서 키우고 그 後에는 木製蠶箔에서 標準法으로 飼育하였다. 接種原은  $1.6 \times 10^8$ /ml,  $1.6 \times 10^7$ /ml,  $1.6 \times 10^6$ /ml,  $1.6 \times 10^5$ /ml 등의 4段階로 만들어 桑葉에 塗抹하여 陰乾시킨後 4齡 起蠶에 12時間 添食시켰으며 化蛹後에 接種 區別 및 雌雄別로 各 고치의 全繭種과 繭層重을 調査하여 接種區와 無接種區 間의 全繭重 및 繭層重의 差異에 對한 有意差를 檢定하였다.

4齡蠶의 接種과 病蛾比率 및 病蛾의 蠶種 生産力

徑卵傳達 與否를 確認하기 爲한 試驗에 必要한 病蛾를 얻은 同時에 病蛾發生率 및 感染된 雌蛾나 雄蛾가 蠶種의 生産力에 미치는 影響을 알아보기 爲하여 먼저 蟲質에 미치는 影響에 關한 試驗에서 4齡 起蠶에 接種하여 얻은 蛹을 接種區와 非接種區 및 雌雄別로 區分하고 이때 接種區는 接種濃度別로 區分하였다. 各區의 蛹은 化蛾後에 化蛾比率를 調查하고 交尾試驗 後에 感染蛾比率를 調查하였다. 蠶種 生産力에 關한 試驗은 一旦 接種區를 病蛾(D), 非接種區는 健全蛾(H)로 看做하고 交尾試驗을 하였으며 交尾의 組合은 接種區의 雌蛾(D♀) X 接種區의 雄蛾(D♂), 接種區의 雌蛾(H♀) X 非接種區의 雄蛾(H♂), 非接種區의 雌蛾(H♀) X 接種區의 雄蛾(D♂), 非接種區의 雌蛾(H♀) X 非接種區의 雄蛾(H♂) 等の 4種으로 하였다. 交尾시간은 3時間으로 하였으며, 産卵이 끝난 後에 蛾別로 磨碎하여 顯微鏡으로 檢査하였고 이 檢査 結果로부터 接種濃度別로 各區의 病蛾 發生率을 算出하는 한편 交尾試驗에서 接種區의 나방으로서 感染이 되지 않은 것으로 밝혀진 나방이 사용된 交尾組는 除外하였고 交尾組合에 成功한 各區의 雌蛾數, 産卵母蛾數, 母蛾別 平均 産卵數, 蛾區別 不受精卵比率 等を 調查하였다.

#### 徑卵傳達 與否

病蛾와 健全蛾의 交尾組合에서 얻은 卵을 各 組合別로 3蛾씩 採取하여 産卵後 20時間 常溫에서 浸酸한 다음 漸進法으로 23日間 催靑하였고, 孵化한 蠶蠶를 自然死시킨後 磨碎하여 檢査하였으며, 이 檢査에 使用되고 남은 卵은 冷蔵浸酸法으로 同年 秋蠶期에 掃蠶하였으며 蛾區別로 飼育을 하면서 次代蠶에서 的 感染與否를 確認하였다.

#### 結 果

胞子の 形態와 크기 및 極絲의 觀察 Mic-

rosporidia S80의 胞子は 卵圓形으로서 *Nosema bombycis*의 胞子와 形態는 비슷하나 크기가 작게 보이며 Microsporidia K79는 長卵圓形으로서 서로 區分이 된다. 이러한 胞子들은 모두 Giemsa, Safranin-O, Gram 染色에서 잘 染色되었으며 部分的으로 染色되는 特徵이 뚜렷이 나타났다. Figure 1은 代表的인 것으로서 Giemsa 染色을 한 胞子를 볼 수 있는데 A는 *Nosema bombycis*, B는 Microsporidia K79, C는 Microsporidia S80 이다. 以上 3種의 胞子들은 極絲를 抽出하여 觀察한 結果 가는 실 모양의 極絲 끝에는 밝게 보이는 둥근 胞子原形質(sporoplasm) 이 突出되어 있는 것이 보였으며 Microsporidia S80의 境遇는 代表的인 形態로서 Figure 1의 D에 提示하였다. 한편 Microsporidia S80의 胞子の 크기와 抽出된 極絲의 길이 等を 測定한 結果는 Table 1과 같다. Microsporidia S80은 胞子の 長이가  $2.9 \pm 0.28 \mu$ 이므로 Microsporidia K79보다 幅이 작을뿐 아니라 길이는  $1.6 \mu$ 이나 더 작아서 區別하기 쉽고, *Nosema bombycis* 보다는 길이가  $1 \mu$  정도 작고, 長幅率이 *Nosema bombycis* 가 1.9인데 比하여 1.6이므로 보다 더 둥글게 보인다.  $H^2O^2$  原液으로 抽出한 極絲의 길이는 Microsporidia K79가  $86 \mu$ 으로서 가장 길고 *Nosema bombycis* 가  $65 \mu$ 으로 다음이며 Microsporidia S80은  $26 \mu$ 으로서 가장 짧았다.

#### 胞子の 微細構造

Figure 2의 電子顯微鏡 寫眞에서 A, C는 胞子の 縱斷面으로서 30,000倍로 觀察한 것이며 B는 橫斷面을 같은 倍率로 본 것이고, D, E는 斜角으로 切斷된 것으로서 D는 40,000倍 E는 30,000倍로 觀察한 것이다. A에서 胞子の 殼은 電子密度가 높고 凹凸이 있는 外殼(exosqore: ex)과 透明하고 두꺼운 層으로 이루어진 內殼(endospore: en)을 볼 수 있으며 endospore는 頂端部(apex: ap)에 서는 다른 部位보다 상당히 얇게 보인다. apex의 endospore 아랫쪽에는 電子密度가 높

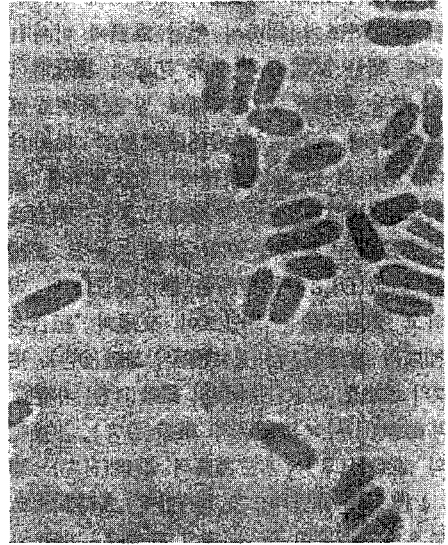
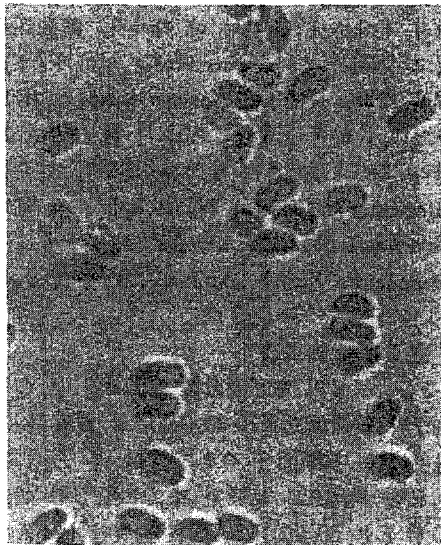
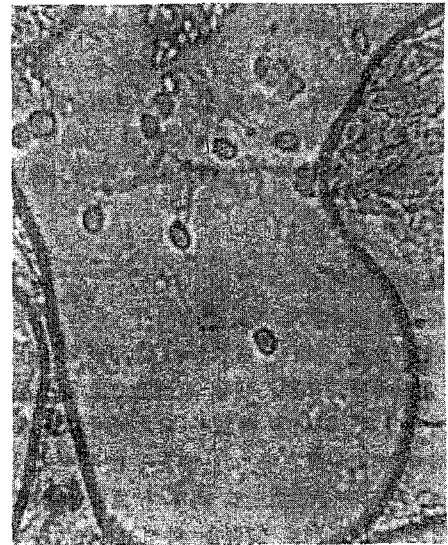
A ( $\times 1000$ )B ( $\times 1000$ )C ( $\times 1000$ )D ( $\times 600$ )

Figure 1. Light microscopic observations on the spores of *Nosema bombycis* (A), *Microsporidia K 79* (B), *Microsporidia S 80* (C), Stained with Giemsa's solution. The polar filament of *Microsporidia S 80* extruded in hydron peroxide (D).

Table 1. Measurements of the microsporidian spores

Microsporidian spores	Shape of spore	Size of spore			Length of polar filament ( $\mu$ )
		Length ( $\mu$ )	Width ( $\mu$ )	Length per width	
Microsporidia S80	Ovoid	$2.9 \pm 0.28$	$1.7 \pm 0.29$	$1.6 \pm 0.23$	26
<i>Nosema bombycis</i>	Ovoid	$3.9 \pm 0.24$	$2.1 \pm 0.23$	$1.9 \pm 0.09$	65
Microsporidia K79	Ovocylindrical	$4.5 \pm 0.05$	$2.0 \pm 0.03$	$2.3 \pm 0.04$	86

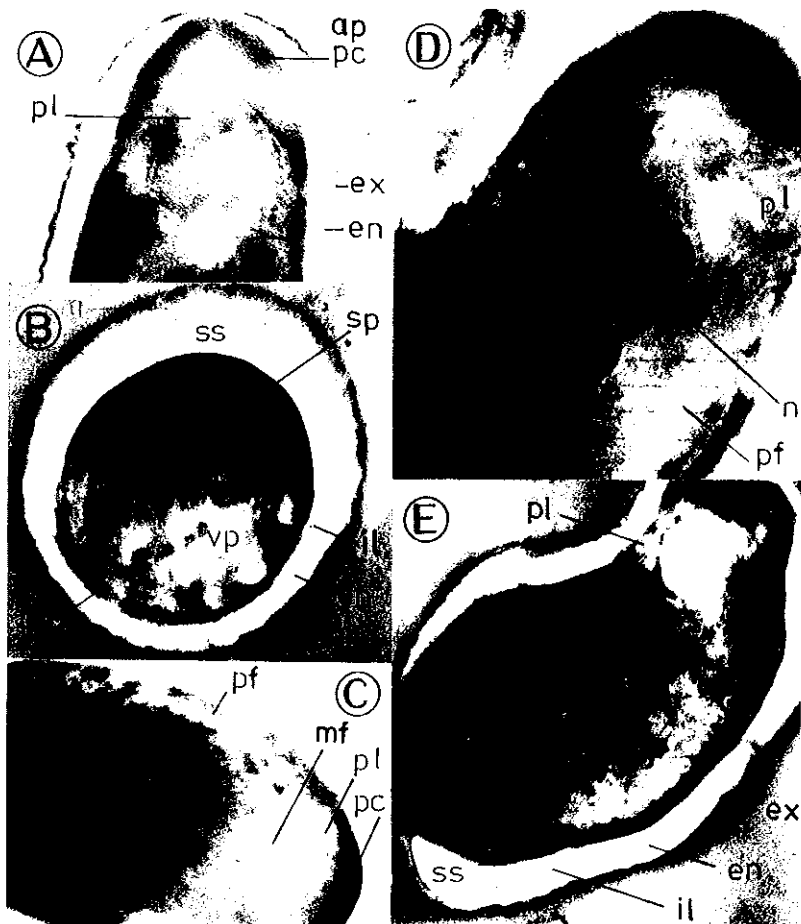


Figure 2. Electron micrographs of the spore of *Microsporidia S 80* ultrathin section through longitudinal (A, C), transversal (B) and oblique (D, E) sectioning. Magnification: A, B, C, E ( $\times 30,000$ ), D (40,000). ap: apex, en: endospore, ex: exospore, il: inner limiting layer, mf: manubroid part of polar filament, n: nuclei, pc: polar cap, pf: polar filament, pl: polaroplast lamellae, sp: sporoplasm, ss: shrinkage spaces, vp: vesiculate.

게 나타나는 삿갓모양의 polar cap(pc)이 있고 polaroplast 後部는 vesiculate part(vp)가 있어서 電子密度가 낮게 보인다. Figure 2의 B에서는 가운데에 vesiculate part 및 그 周圍에는 lamellar 構造의 polaroplast(pl)가 觀察되고, endospore와 cytoplasm 즉 sporoplasm(sp) 사이에 있는 한層의 限界膜인 inner limiting layer(il)가 있고 그 內側面을 따라 極絲(polar filament: pf)가 둥글게 말려 있는 것이 희미하게 나타나고 그 內側에는 polaroplast의 後部 橫斷面이 보인다. C에서는

polaroplast의 lamella 構造의 縱斷面이 뚜렷이 보이는 同時에 polarcap에서 後方으로 곧게 뻗어나가는 polar filament의 manubroid part(mf)가 觀察되며 polar filament의 斷面 13개가 보이는데, polar filament의 core는 電子密度가 높고 그 周圍를 電子密度가 매우 낮은 層이 둘러싸고 있어서 하얀 고리와 같이 보이며 이 light ring structure는 多少 두꺼우며 바깥쪽에는 light ring structure를 둘러싸는 電子密度가 높은 部分에 고리모양으로 둘러싸고 있고(dark ring structure) 제일

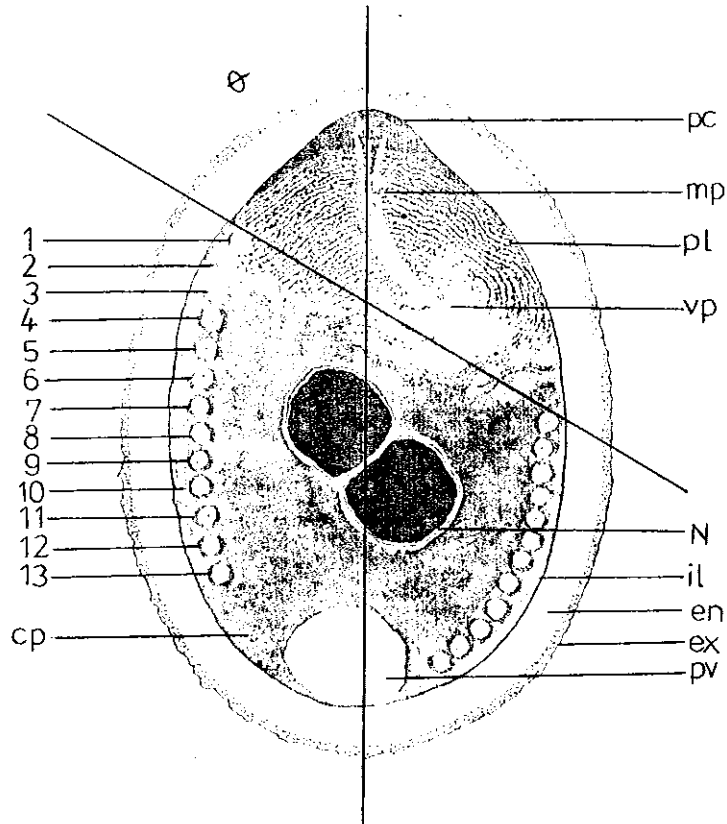


Figure 3. Diagrammatic representation of the fine structure of a spore of *Microsporidia* S 80, details have been combined from electron micrographs described and partly shown. (pc: polar cap, mp: manubroid part of polar filament, pl: polaroplast lamellae, vp: vesiculate part of polaroplast, N: nuclei, il: inner limiting layer, 1-13: number of coils, cp: cytoplasm,  $\theta$ : angle of tilt).



바깥쪽에는 電子密度가 낮은 한점의 얇은 膜이 있어 細胞質과 境界部를 이루고 있다. D는 中央에 2個의 큰 核(n)이 認定되며 그核은 隣接해 있고 核은 2겹의 膜으로 싸여져 있는데 核의 原形質은 電子密度가 높은 物質이 均一하게 차 있는 것이 特徵이다. E의 上部에 회계 보이는 部分의 中心으로 polar filament의 manubroid part가 通過하는 곳으로 생각되며 그 周圍를 둘러싸는 lamellar 構造가 보이고 胞子の 下部에는 sectioning 過程에서 생긴 shrinkage(ss)에서 B의 境遇와 같이 sporoplasm을 둘러싸고 한 層의 限界膜(il)을 볼 수 있고, C에서 觀察된 polar filament의 斷面이 더욱 뚜렷이 觀察되 比較의 두꺼운 층인 흰 고리 모양의 分分은 여러개의 球狀物質이 念珠처럼 一列로 連結되어 둥글게 core를 둘러싸고 있는 것으로 보인다.

以上の 結果를 綜合하여 胞子の 微細構造에 對한 圖解를 作成해 보면 Figure 3과 같다. 여기서  $\theta$ 는 胞子の 縱抽에 對하여 polar filament의 coiled part가 形成된 角度로서

60°程度로 나타났고 胞子は 電子密度가 높고 凹凸이 있는 exospore와 透明하고 두꺼운 endospore로 싸여 있고 endospore의 內側에는 spore plasm을 둘러싸는 한층의 inner limiting layer가 있으며 endospore는 頂端部가 다른 部分보다 매우 얇으며 그 바로 밑에는 polar cap이라 부르는 anchoring disc가 있고 여기서 polar filament의 manubroid part는 뒷쪽으로 나아간다. polar filament는 12~13個의 斷面이 胞子殼의 內側面을 따라 排列되어 있고 胞子の 下端部에 있는 posterior vacuole 近處에서 끝난다. 胞子の 中心에서 약간 下部로 치우쳐 있는 곳에는 2中膜에 싸여져 있는 2개의 核이 隣接하여 있으며, 確實치는 않으나 그 아랫쪽 胞子の 後端部에는 posterior vacuole이 있을 것으로 본다.

#### 發生地域 分布

年度別 및 地域別 發生現況을 Table 2에서 보면 1980년에는 京畿道에서 0.5%, 忠南에서 1.5%가 처음 發見되었으며 2地域의 平均

Table 2. The areas and the ratio of the new microsporidium (S80) infection during autumn 1980 to autumn 1982. Surveyed the area through 8 provinces in Korea and sampling the 400 to 800 bad cocoons from each province in every spring and autumn.

Year	Rearing season of silkworm	Contaminated area ( province)	Inspected bad cocoons (number)	Inspected bad cocoons (number)	Percentage of infection (%)
1980	Autumn	Kyung-gi	400	2	0.5
		Chung-Nam	400	6	1.5
		Average	400	4	1.0
1981	Spring				
	Autumn				
1982	Spring	Kyung-gi	800	15	1.9
		Chun-Nam	800	1	0.1
		Average	800	8	1.0
	Autumn	Kang-won	800	5	0.6
		Chung-Buk	800	4	0.5
Average	800	4.5	0.6		

檢出比率는 1.0%였고, 1981년에는 春秋蠶期 모두 檢出되지 않았다. 그 後 1982年 春蠶期에는 全南에서도 새로이 0.1%가 檢出되었으며 特히 最初로 그 發生이 알려졌던 京畿地域은 1.9%로 檢出比率이 增加되었다. 1982年 春蠶期에는 京畿道에서 檢出되지 않은 반면 隣接地域인 江原 및 忠北 地域에서 各各 0.5% 및 0.6%가 檢出되었다.

#### 누에에 對한 病原性

2齡起蠶에 接種한 境遇 Microsporidia S 80에 感染된 누에는 모든 接種濃度에서 5齡期부터 致死하기 始作하였으며  $10^8$ /ml에서는 63.3%가 致死하였고  $10^7$ /ml에서는 41.7%,  $10^6$ /ml에서는 20.7%,  $10^5$ /ml에서는 11.7%였으며, 이와 같은 Table 3의 結果로 부터 算出한 LD 50은  $7.1 \times 10^7$ /ml이었다. 한편 病原性을 比較하기 爲하여 같은 時期에 接種試

驗을 한 *Nosema bombycis*는 濃度가  $10^7$ /ml 以上인 境遇 4齡期부터 致死蠶이 發生하였고 致死率은  $10^8$ /ml에서는 88.3%,  $10^7$ /ml에서 60.0%였고,  $10^6$ /ml에서는 5齡期부터 28.3%가 致死하였고,  $10^5$ /ml일 때에는 上簇以後에 비로소 5.3%가 致死하였으며 LD 50은  $1.2 \times 10^7$ /ml로 밝혀졌다. 接種濃度와 致死率間의 關係를 Figure 4에서 probit line을 求하여 比較하여 보았을때 *Nosema bombycis*의 누에에 對한 致死率이 低濃度에서는 낮으나 濃度가 增加함에 따라 急激히 增加하는 반면 Microsporidia S 80은 低濃度에서는 多少 致死率이 높으나 接種濃度가 增加함에 따른 致死率의 增加는 緩慢하게 나타났으며  $10^6$ /ml 以上の 濃度에서는 *Nosema bombycis*보다 病原性이 상당히 낮은 것으로 밝혀졌다.

Table 3. Pathogenicity of the Microsporidia S80 to the silkworm inoculated per os at second instar larvae after ecdysis.

Treatment	Replicate	Number of tested larvae	Number of dead larvae					% of dead larvae
			4 th instar	5 th instar	Mounting stage	Pupal stage	Total	
$1.6 \times 10^8$ /ml	1	30	—	12	6	—	18	60.0
	2	30	—	10	10	—	20	66.7
	Average	30	—	11	8	—	19	63.3
$1.6 \times 10^7$ /ml	1	30	—	9	3	—	12	40.0
	2	30	—	7	6	—	13	43.3
	Average	30	—	8	4.5	—	12.5	41.7
$1.6 \times 10^6$ /ml	1	30	—	3	4	—	7	23.3
	2	30	—	5	1	—	6	20.0
	Average	30	—	4	2.5	—	6.5	20.7
$1.6 \times 10^5$ /ml	1	30	—	2	—	2	4	13.3
	2	30	—	—	—	3	3	10.0
	Average	30	—	1	—	2.5	3.5	11.7

\* Silkworm variety : Jam 119×Jam 120

\* Rearing season : Spring, 1982

\* LD 50 :  $7.1 \times 10^7$ /ml

Table 4. Pathogenicity of the *Nosema bombycis* to the silkworm inoculated per os at second instar larvae after ecdysis.

Treatment	Replicate	Number of tested larvae	Number of dead larvae				% of dead larvae	
			4th instar	5th instar	Mounting stage	Pupal stage		
$1.6 \times 10^6$ /ml	1	30	6	11	5	—	25	83.3
	2	30	8	13	10	—	28	93.3
	Average	30	7	12	7.5	—	26.5	88.3
$1.6 \times 10^7$ /ml	1	30	1	9	7	—	17	56.7
	2	30	—	13	6	—	19	63.3
	Average	30	0.5	11	6.5	—	18	60.0
$1.6 \times 10^5$ /ml	1	30	—	4	5	2	11	36.7
	2	30	—	4	2	—	6	20.0
	Average	30	—	4	3.5	1	8.5	28.3
$1.6 \times 10^4$ /ml	1	30	—	—	—	1	1	3.3
	2	30	—	—	—	2	2	6.7
	Average	30	—	—	—	1.5	1.5	5.0

\* Silkworm variety : Jam 119×Jam 120

\* Rearing season : Spring, 1982

\* LD 50 :  $1.2 \times 10^7$ /ml

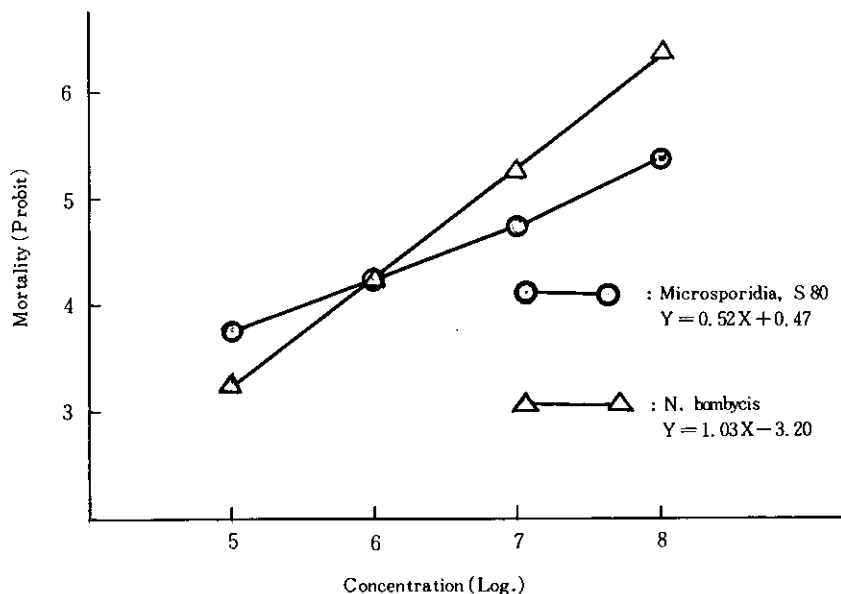


Fig. 4. Dose-mortality responses (probit) of Microsporidia S80 and *N. bombycis* to the silkworm larvae at second instar.

菌質에 미치는 影響

Microsporidia S80을 4齡起蠶에 接種하였을 때에 Table 5에서와 같이 接種區別로 얻은 고치는  $10^8$ /ml 濃度에서 36.7%,  $10^7$ /ml에서는 56.7%,  $10^6$ /ml에서는 60%,  $10^5$ /ml에서는 73.3%로서 無接種區에서 80%의 고치를 얻은 것에 比하여 모든 接種區의 營繭比率이 낮으며 接種濃度가 높을수록 얻을수 있는 고치의 量이 적었다. 여기서 얻은 고치의 蛹을 鑑別하여 雌繭으로 區分하고 各各 全繭重과 繭層重을 測定하였는데, 全繭重에 있어서 雌繭 및 雄繭은  $10^5$ /ml 濃度로 接種한 區에서는 無接種區에 比하여 떨어지지 않으나

$10^6$ /ml 以上の 濃度로 接種한 區에서는 全繭重에 比하여 全繭重이 크게 떨어지며 特히 雄蛾의 境遇  $1.6 \times 10^8$ /ml 濃度로 接種한 區는 健全한 고치의 1/3 程度에 不遇한 것으로서 큰 差異가 나타났다. 그리고 繭層重에 있어서도  $10^6$ /ml 以上の 濃度로 接種한 境遇 濃度가 높을수록 重量이 낮은 傾向이 보였다. 이와 같은 結果로부터 接種區와 無接種區 間의 有意差를 檢定한 Table 6의 分析表에서 雌繭과 雄繭은  $1.6 \times 10^6$ /ml 以上の 濃度로 接種했을 때 全繭重과 繭層重의 減少는 1% 水準 以上の 高度의 有意差가 認定되었다.

Table 5. Effect of inoculation of Microsporidia S80 on the cocoon quality.

Dose (/ml)	Number of tested larvae	Number of cocoons				Weight of whole cocoon (g)		Weight of cocoon shell (cg)	
		Female	Male	Total	Percent	Female	Male	Female	Male
$1.6 \times 10^8$	30	6	5	11	36.7	$0.75 \pm 0.2$	$1.44 \pm 0.2$	$42.1 \pm 2.5$	$41.1 \pm 8.1$
$1.6 \times 10^7$	30	8	9	17	56.7	$1.81 \pm 0.1$	$1.46 \pm 0.2$	$44.2 \pm 4.1$	$44.3 \pm 2.9$
$1.6 \times 10^6$	30	8	10	18	60.0	$1.86 \pm 0.1$	$1.61 \pm 0.8$	$45.1 \pm 2.3$	$45.2 \pm 3.1$
$1.6 \times 10^5$	30	11	11	22	73.3	$2.23 \pm 0.1$	$1.93 \pm 0.6$	$49.6 \pm 1.9$	$51.0 \pm 2.6$
Control	30	10	14	24	80.0	$2.23 \pm 0.2$	$1.89 \pm 0$	$50.6 \pm 4.2$	$51.0 \pm 4.1$

\* Silkworm variety : Jam 119

\* Rearing season : Spring, 1982

\* The leaves smeared with microsporidian spores were fed on the 4th instar larvae after ecdysis.

Table 6. Analysis of data from inoculated and not inoculated in table 5.

Dose	Whole cocoon weight		Cocoon shell weight	
	Female	Male	Female	Male
$1.6 \times 10^8$ /ml	0.480**	0.466**	9.500**	9.907**
$1.6 \times 10^7$ /ml	0.418**	0.419**	6.275**	6.707**
$1.6 \times 10^6$ /ml	0.368**	0.276**	5.500**	5.807**
$1.6 \times 10^5$ /ml	0.003	0.032	0.955	-0.011

\*\* Significant at 1% level.

4齡×의 接種과 病蛾 發生率

4齡起蠶에 接種한 境遇 그 濃度別 化蛾比率과 病蛾比率을 Table 7에 提示하였다.  $10^8$ /ml에서는 30%가 化蛾하였으며  $10^7$ /ml에서

는 50%,  $10^6$ /ml에서는 60%,  $10^5$ /ml에서는 70%가 化蛾하였다. 이와 같이 接種濃度에 따라 化蛾比率이 크게 낮아지는 것은 물론 化蛾한 나방도  $10^7$ /ml 以上の 濃度에서는 100

Table 7. Concentrations of the inoculum (Microsporidia S80) and their effect on the ratio of moth infection following inoculation per os at 4th instar larvae of silkworm. (silkworm variety : Jam 119)

Dose (/ml)	Number of larvae tested (A)	Number of moth			Number of moth infected (C)	B/A × 100 (%)	C/B × 100 (%)
		Female	Male	Total (B)			
1.6 × 10 <sup>8</sup>	30	5	4	9	9	30.0	100
1.6 × 10 <sup>7</sup>	30	7	8	15	15	50.0	100
1.6 × 10 <sup>6</sup>	30	8	10	18	17	60.0	94.4
1.6 × 10 <sup>5</sup>	30	11	10	21	17	70.0	80.9
control	30	10	13	23	0	76.7	0

Table 8. Combination in crossing with healthy and diseased moth and their effect on the fecundity.

Combination in crossing	No. of batches	No. of batches which laid eggs	% of batches which laid eggs	No. of eggs per batch			% of non fertilized
				Total	Fertilized	Non fertilized	
D♀ × D♂	12	9	75.0	527	497	30	5.6
D♀ × H♂	14	12	85.7	531	502	29	5.5
H♀ × D♂	9	8	90.0	537	517	20	3.7
H♀ × H♂	10	10	100.0	540	528	12	2.2

%가 감염되었으며, 10<sup>8</sup>/ml에서는 94.4%, 10<sup>5</sup>/ml에서는 80.9%가 감염된 것으로 밝혀졌다.

#### 病蛾의 蠶種 生産力

4齡期에 接種하여 얻은 病蛾를 健全蛾와 여러가지 組合으로 交尾後 産卵시킨 結果는 Table 8과 같다. 感染된 雌蛾와 雄蛾의 交尾區(D♀ × D♂)에서는 12마리의 母蛾를 얻었으며 그중 産卵한 母蛾는 75%에 不過하며 母蛾別 平均 産卵數는 527個였으며 蛾區別 平均 不受精卵比率은 5.6%였다. 感染된 雌蛾와 健全한 雄蛾의 交尾區(D♀ × H♂)에서는 母蛾 14마리 中 85.7%가 産卵하였고 平均 産卵數는 531個이고 不受精卵比率은 5.5%였다. 健全한 雌蛾와 感染된 雄蛾의 交尾區(H♀ × D♂)는 9마리의 母蛾 中 90%가

産卵하였는데 平均 産卵數는 537個였고 그中 3.7%가 不受精卵이었다. 그러나 健全한 雌雄蛾의 交尾區(H♀ × H♂)에서는 10마리의 母蛾가 모두 産卵하였고 平均 産卵數는 540個였으며 不受精卵은 2.2%였다.

#### 徑卵傳達 與否

病蛾와 健全蛾 間의 交尾組介 即 感染된 雌蛾와 雄蛾間의 交尾區(D♀ × D♂), 感染된 雌蛾와 健全한 雄蛾의 交尾區(D♀ × H♂), 健全한 雌蛾와 感染된 雄蛾의 交尾區(H♀ × D♂), 健全한 雌蛾와 健全한 雄蛾(H♀ × H♂)等 4個의 組合에서 雌蛾가 感染된 境遇는 17蛾區이었고 여기서 얻은 豫知檢査方法에 準한 次代蠶의 檢査에서는 Table 9 및 10과 같이 Microsporidia S80이 檢出되지 않았다.

Table 9. Results of predictive examination

Combination of cross	Replicates		
	1	2	3
D ♀ × D ♂	—	—	—
D ♀ × H ♂	—	—	—
H ♀ × D ♂	—	—	—
H ♀ × H ♂	—	—	—

D : Diseased moth, H : Healthy moth, — : Negative

Table 10. Results of collective examination.

Combination of cross	Replicates								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
D ♀ × D ♂	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D ♀ × H ♂	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H ♀ × D ♂	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H ♀ × H ♂	—	—	—	—	—	—	—	—	—

D : Diseased moth, H : Healthy moth, — : Negative

### 考 察

새로 發見된 Microsporidia S80을 누에의 既存 Microsporidia인 *Nosema bombycis*에 比하여 크기가 작으며 1979年 韓國에서 發見된 Microsporidia K79와는 形態와 크기의 差異가 더욱 뚜렷히 나타난다. 또한 이러한 胞子들은 크기와 形態 極絲抽出 染色性等의 特性으로 보아 Microsporidia로 看做 할 수 있다. Microsporidia S80은 卵圓形으로 길이는  $2.9 \pm 0.28 \mu$  幅은  $1.7 \pm 0.29 \mu$ 으로서 우리나라에서 알려진 *Nosoma bombycis*나 Microsporidia S79와 다른 것은 물론 지금까지 日本에서 새로운 Microsporidia로 分離되어 報告한바 있는 細型微粒子<sup>11)</sup>의 胞子は 길이가  $3.6 \mu$ 로서 서로 다르며 小型微粒子<sup>12)</sup>의 길이  $1.8 \sim 2.0 \mu$  幅  $0.8 \sim 1.1 \mu$ 에 比하여는 더 크다. 한편 藤原<sup>14)</sup>가 1980年 報告한 Microsporidia들 중에서 *Nosema sp.* M11은 그 形態에 있어서 오히려 石原 등이 發表한 細型微粒子와

닮았으며, *Nosema sp.* M12는 1979年 韓國에서 發見된 K79와 類似的한 것으로 林等<sup>16)</sup>에 依해 報告된 바 있고, *Nosema sp.* M14는 길이  $4.2 \pm 0.29 \mu$  幅  $2.4 \pm 0.15 \mu$ 으로서 胞子の 幅이 比較的 크고 길이는 M12보다 짧다. 그러므로 Microsporidia S80은 크기와 形態에 있어서 새로운 것이다. 極絲를 抽出하여 比較함에 있어서 一般的으로 *Nosema bombycis*의 極絲는 平均  $124.4 \mu$ 이라고 하는데<sup>17)</sup> 本試驗에서  $65 \mu$ 으로 짧게 나타난 것을 볼 수 있으며 이것은 極絲의 抽出方法의 差異에 起因하는 것으로 볼 수 있다. 同一한 方法으로 抽出한 極絲의 길이는 3種의 Microsporidia中에서 Microsporidia K79가 가장 길었으며 다음이 *Nosema bombycis*였고 Microsporidia S80은 가장 짧았다.

胞子の 微細構造를 보여주는 電子顯微境寫眞에서 polaroplast의 後方에 나타나는 電子密度가 낮은 部分은 vesicurate part로 形成되었기 때문이라고 推定할 수 있고, Figure

2-B의 橫斷面에서 孢子殼의 內面을 따라 밝게 나타나는 것은 polar filament가 壁面을 따라 말려있는 狀態이다. 이것은 흔히 孢子의 縱斷面에서 나타나는 polar filament의 橫斷面으로 부터 winding 回教 即 coil의 數 등을 알 수 있다. 그리고 孢子的 殼은 특히 endospore가 透明하기 때문에 sample의 準備過程에서 exospore와 sporoplasm 사이에 resin이 浸透하지 않아서 생긴 一種의 shrinkage space로 誤認할 憂慮가 있으나 이는 Figure 2-B.E에서 觀察되는 sporoplasm(sp)과 inner limiting layer(il) 사이에 생긴 眞正한 shrinkage spaces(ss)가 inner limiting layer에 依하여 바로 바깥쪽의 endospore(en)와 區分되어 있는 것과 比較해 볼때 分明히 다른 것을 알 수 있고 따라서 Microsporidia S80에서 透明하고 두꺼운 endospore의 存在를 認定할 수 있다. 이 endospore의 頂端部는 다른 部位에 比하여 매우 얇은데 이곳으로 極絲가 抽出된다고 생각한다. 따라서 孢子的 殼이 exospore와 endospore 및 inner limiting layer로 이루어져 있고 內部에 發達된 polar cap과 polaroplast 등을 갖추고 있는 점과 2核의 存在形態 등의 特性으로 미루어 볼때 分類學上으로 概存 *Nosema bombycis* 와 Microsporea綱, Microsporida에 屬 한다는 것은 確實하나 亞目이나 屬을 決定하는데 必要한 發育段階上의 特性, 即 發育 過程에서 pansporoblast를 形成하는지의 與否 및 1個의 sporont에서 몇개의 spore가 形成되는지에 關하여 밝힐 必要가 있다.

Microsporidia S80의 發生地域은 京畿道를 中心으로하여 江原, 忠北, 忠南, 全南 등의 隣接地域으로 擴散되고 있는 實情이며 다른 地域에서도 極히 낮은 比率로 分布하고 있을 것으로 본다. 또한 그 病原性은 *Nosema bombycis*보다 낮고 徑卵傳達이 되지 않는 것으로 밝혀졌지만, 4齡蠶에 接種하였을 때에 나타나는 全繭重이나 繭層重의 減少는 絲繭 養蠶에 미치는 被害를 보여주는 것이고, 化蛹 比率의 低下는 물론 感染된 雌蛾로부터 產卵

不能蠶의 出現이나 產卵한 蛾區에서 나타나는 卵數의 低下와 不受精卵의 增加는 健全한 雌蛾가 感染된 雄蛾와의 交尾 結果에서도 나타나는 事實로 미루어 볼 때에 種繭養蠶에서도 損失을 입게 되는 것은 事實이며 이와 같은 被害는 小型微粒子<sup>24)</sup>에 依해서도 繭重이나 繭層重의 減少, 卵數의 減少를 招來하는 것이 알려져 있으나, 實際로 自然狀態에서 이 程度의 感染이 쉽게 일어날 것인지의 與否가 疑問이다. 그리고 徑卵傳達到 關한 本試驗에서 感染된 雌蛾를 基準으로 할 때에 21反復이며 雄蛾를 基準으로 할 때에 17反復이었으며, 母體를 통한 徑卵傳達이 確認되는 境遇는 徑卵傳達이 이루어 지는 頻도가 21마리 당 1마리 以上일 境遇이다. 따라서 徑卵傳達は 이루어지지 않거나 된다고 해도 그 頻도는 상당히 낮은 것으로 생각된다.

## 摘 要

1980年 韓國에서 發見된 Microsporidia S80은 孢子的 長이가  $2.9 \pm 0.28 \mu$  幅이  $1.7 \pm 0.29 \mu$ 으로 卵圓形인데 그 크기와 形態로 보아 누에에 寄生하는 Microsporidia로서 지금까지 韓國이나 日本에서 알려져 것들과는 다른 것이다. 過酸化水素 原液으로 處理하였을 때에 抽出된 極絲의 長이는 平均  $26 \mu$ 이었고 極絲의 先端에서 둥근 모양의 sporoplasm이 突出되어 있는 것이 觀察되었다. 한편 孢子는 Giemsa, Safranin-O, Gram 등의 染色에서 部分的으로 染色되는 特徵이 나타났으며, 電子顯微鏡으로 觀察한 孢子的 微細構造는 제일 바깥 部分이 電子密度가 높고 凹凸이 있는 얇은 exospore로 둘러싸여 있고 그 안쪽에는 透明하고 두꺼운 endospore가 있는데 endospore는 孢子的 頂端部가 다른 部位보다 상당히 얇은데 이곳으로 極絲가 抽出되는 것으로 생각된다. endospore와 cytoplasm과의 境界部에는 細胞質을 싸고 있는 한層의 限界膜인 inner limiting layer가 있다. 細胞質의 前部에는 polar cap이 있고 그 밑에는 lam-

ellar 構造의 發達된 polaroplast가 있으며 polaroplast의 後部는 vesiculate part로 되어 있는 것으로 보인다. polar filament는 anchoring disc인 polar cap에서 끈게 떨어져 나가다가 胞子の 内壁를 따라 돌면서 용수철 처럼 말려 있는데 polar filament의 coiled part 中央에 2重膜에 싸여진 電子密度가 높은 原形質로된 2核이 隣接하여 있으며 胞子の 部端部에는 posterior vacuole이 있을 것이다. 이러한 胞子の 크기와 形態 및 微細構造로 보아 Microsporidia인 것을 確認할 수 있으며 分類學 上의 位置는 Microsporea綱, Microsporidia目에 所屬시킬 수 있고 亞目 및 屬을 糾明하기 爲해서는 그 生活史가 밝혀져야 한다.

Microsporidia S80을 2齡 起蠶에 徑口接種한 境遇의 LD50은  $7.1 \times 10^7$ /ml로서  $1.2 \times 10^7$ /ml인 *Nosema bombycis*와 比較할때 病原性이 낮은 것으로 나타났으나 그 發生地域이 京畿道를 中心으로 隣接地域인 江原, 忠北, 忠南 및 全南에서도 發生되고 있는 點과 4齡期 接種時 全繭重과 繭層重에 나쁜 影響을 미칠 뿐 아니라 化蛾比率이 낮고, 感染된 母蛾는 물론 感染된 雄蛾와 交尾한 母蛾에서도 産卵不能蛾가 發生하거나 産卵數가 健全區에 比하여 떨어지는 同時에 不受精卵 比率도 높은 것으로 볼때 絲繭養蠶은 물론 種繭養蠶에 있어서도 被害를 입고 있을 것으로 본다. 感染 母蛾 21마리에서 얻은 次代蠶의 檢査結果 徑卵傳達는 되지 않는 것으로 나타났으나 혹시 徑卵傳達이 된다고 해도 그 頻度는 매우 낮은 것이며 1/21未滿일 것으로 생각된다.

## 引用文獻

1. 青木清, (1959), 昆蟲病理學, 東京, 技報堂; pp. 413-419.
2. 有賀久雄, (1973), 昆蟲病理學, 東京, 養賢堂; pp. 522-535.
3. 阿部芳彦, 藤原公, (1979), カイコ幼蟲の中腸上皮細胞に寄生する原蟲 pleistophord sp. (Microsporidia: Nosematidae)의 増殖様式., 日本蠶絲學雜誌 48

- : 19: 23.
4. Benson, H. J., (1967), Microbiological applications, a laboratory manual in general microbiology., California, W. M. C. Brown co.; pp. 28-50.
5. Burges, H. D., Canning, E. U. and Hulls, I. K., (1974), Ultrastructure of *Nosema oryzedephili* and the taxonomic value of the polar filament, J. of invertebrate Pathol. 23: 135-139.
6. Bütschli, O., (1881), "Protozoa", Bronn's Klassen und ordnungen des their reichs, 1: 1585-2035.
7. Calkins, G. N. (1926), The biology of the protozoa, Philadelphia, Led & Febiger: pp. 1-22.
8. Cantwell, G. E., (1974), Insect pathology Vol. I, New York, Morcel dekker, Inc; pp. 273-279.
9. 田中茂男, 清水考夫, 小林正彦, 右原廉(1972), 家蠶의 新原蟲病について., 日本蠶絲學雜誌 41: 89-95.
10. 田中茂男, (1972), 新原蟲病蠶의 重, 層重た上ひ 産卵數について., 日本蠶絲學雜誌, 41: 305-308.
11. 韓明世, (1981), 家蠶에 寄生하는 Nuclear-polyhedrosis virus와 새로운 Microsporidia, *Nosema* sp. (M<sub>11</sub>) 間의 相互作用., 慶北大學校 大學院 碩士學位論文; pp. 1-53.
12. 福原敏彦, (1979), 昆蟲病理學, 東京, 學會出版センター; pp. 105-106.
13. 福原敏彦, (1979), 昆蟲病理學, 東京, 學會出版センター; pp. 107-122.
14. 藤原公, (1980), カイコから分離された3種の微胞子蟲(*Nosema* spp)について., 日本蠶絲學雜誌 41: 89: 95.
15. 右原廉, 小林正彦, 藤原公, (1971), 日本蠶絲學會 41回 講演要旨; p. 48.
16. Ishihara, R., (1968), Some observations on the fine structure of sporoplasm discharged from spores of a microsporidian, *Nosema bombycis*., J. of Invertebrate Pathol. 12: 245-258.
17. 金鍾聲, (1980), 家蠶에 寄生하는 새로운 微胞子蟲(*Nosema* sp.)에 關한 研究, 慶北大學校 大學院 碩士學位 論文; pp. 1-50.
18. Levine, N. D. et. al., (1980), A newly revised classification of the protozoa., J. Protozool. 27: 37-58.
19. 林鍾聲, 文在裕, (1978), 家蠶解剖生理學 醫病學 서울, 鄉文社; pp. 262-277.
20. 林鍾聲, 韓明世, 李永根, 金鍾聲, 金炳準, (1980



- 1981), 韓國에서 發見된 새로운 微胞子蟲에 關한 研究., 韓國蠶絲學會 1980年 秋季 및 1981年 春季學術 研究發表會 發表要旨: pp.2-3.
21. 林鍾聲, 李永根, 趙世衍, 韓明世, (1981), 家蠶에서 分離된 새로운 微胞子에 關한 研究., 大韓蠶絲會 研究報告: pp.1-36.
22. 林鍾聲, 孫海龍, (1981), 새로 分離된 微胞子 (Microsporidia *Nosema* sp.  $M_{12}$ )의 누에에 對한 病原性 및 徑卵傳達에 關한 研究., 農村振興廳 產學協動, 81: 1-27.
23. 三谷賢三郎, (1929), 最近蠶病學, 中卷, 東京, 明文堂: pp.40-151.
24. Millonig, G., (1961), A modified procedure for lead staining of thin sections., *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 11: 736.
25. Reed, H. J. and Muench, H., (1938), A simple method of estimating fifty percent endpoints., *The Am. J. of Hygiene.*, 27: 493-497.
26. Steinhaus, E. A., (1949), *Principles of insect pathology*, New York, Mc Graw-Hill Book co.; p.757.
27. 佐藤令一, 小林正彦, 渡部仁, 藤原公, (1981), 카이코에서 分離された 微胞子蟲類胞子の 螢光抗體法による 識別., *日本蠶絲學雜誌*, 50: 180-184.