

家蠶消化液の殺菌力に就いて

中 澤 喜 雄

Yoshio NAKAZAWA: On the bactericidal action of the intestinal fluid of the silkworm, *Bombyx mori*, L.

緒 言

家蠶の消化液には強い殺菌力があり、桑葉と共に食下された細菌は縦ね消化管内にて殺滅せらるゝ事は周知の事實である。

普通の軟化病の發生は蠶兒の消化管内細菌繁殖が主因を成すものであるから本病發生と蠶兒消化液の殺菌力とは重要な關係がある。蠶兒消化液の殺菌力に就いては既に多數の學者の研究がある。

1923年岩淵、渡邊兩氏は卒倒菌芽胞を用ひて此の殺菌力に就て試験し、強い殺菌力を有すること、此の殺菌力は60°Cにて1時間加熱すると減退し、65°Cにて1時間煮沸すると消失するものであつて本殺菌力は消化液中の鹽基性物質とは無關係のものと云はれた。又1925年立岩亭氏は蠶兒消化液の鹽基度を種々の場合に測定して其殺菌力を試験したるに鹽基度の高き程殺菌力が強く軟化病は恐らく或原因によつて其鹽基度が低下せる場合に細菌の繁殖を許して發病するものであらうとなした。尙同氏の試験では蠶兒の消化液は加熱100°C 30分間では其殺菌力に殆んど差がなかつた。1927年藤井晉松、鈴木幸兩氏は蠶兒消化液の鹽基度並に其殺菌力に就いて試験し軟化病蠶は健康蠶よりも消化液の水素イオン濃度が増加する。而して其消化液中には水素イオン濃度以外に更に抗菌性物質が存在し兩者共に働いて殺菌力を示すものである。此抗菌性物質は單なる化學的物質で軟化病蠶に於ては健康蠶よりも消化液中の抗菌性物質が減少するものとなした。其他蠶兒消化液の性質に就いて波多野岩吉、鈴木英亮、萩原孫三、横山良毅等の諸氏の研究がある。

余も亦佐藤利一博士指導の下に此の殺菌力について聚落鑑別の便宜上より蠶菌を用ひて2、3實驗を行ひたる結果多少異つた成績を得たる故こゝに報告して大方の御批判を乞はんとする次第である。

1 實驗方法及試驗成績

豫備實驗に於て蠶兒消化液の蠶体内殺菌力と、蠶体外即ち吐出せしめた消化液殺菌力とは大体に於て同じであつた。即ち蠶体内に於て強い殺菌力を有するものは吐出せしものに於ても殺菌力が強く又蠶体内にて弱い殺菌力を有するものは吐出液に於ても同様に弱いことを確かめたので、實驗の精密簡易を欲するため次の如き方法をとつた。

供試蠶兒は吐出液量多きを要するため5齡蠶を用ひ、吐液前は原則として3時間絶食せしめた。これは食桑中のもの又は離桑直後のものは、吐液困難にして且、其の殺菌力は至つて弱いからである。この蠶兒に110ボルト4アンペアの電流を通じ、其口部に滅菌試験管を當て吐出消化液を滴下せしめた。

此吐出液を1分間2000廻轉の遠心分離器にかけ(約3分)其上澄液を用ひた。勿論此等の操作は無菌的に而も可及的迅速に行つたのである。

吐出液については蠶により時により其量に差異はあつたが大体に於て長時間絶食のもの程吐出量多く且速であつた。吐出液の色は黄綠色に褐色を帯び、時に褐色のものもあつたが其の色の差異は殺菌力とは無關係の如くであつた。1試験區の消化液は多くは10頭以下で1c.c.を得ることは出来たが原則として1區20頭又はそれ以上吐出したものをよく混合して用ひた。

斯くして得た液1c.c.をとりこれに、37°Cにて1晝夜培養せる蠶菌1白金耳量を1c.c.の滅菌水に浮遊せしめた液2白金耳量を混じ、所定の時間毎に其1白金耳を寒天扁平培養基に移し、其聚落數を検し、其時間による減少状態を比較して消化液殺菌力の強弱を測定した。尙其作用中はwater bathを用ひて普通は20°Cに保つた。それ以外の場合には其旨附記した。又菌液混合前の材料1白金耳量の細菌を検し、其多少をも調べた。

蠶菌を使用したのは、其色素生成により他菌と區別するに便するためであつたが、色素生成少く其區別出来ざる場合ありしことと、混合前の細菌數を検しあるを以て、其聚落數の合計を示して成績とした。

1シャーレにつき大体10000個以上の聚落ありと思ふものは顯微鏡描寫轉法により各シャーレ10視野を検し面積比より算出したが其確實性は實測の結果90%であつた。それ以下のものは肉眼或はルーペにより全面又は $\frac{1}{2}$ 面、 $\frac{1}{4}$ 面について計數した。

1殺菌力試験の供試蠶兒は同一條件のものを使用した。

A. 作用中の温度と消化液殺菌力の關係(以下家蠶消化液殺菌力を本力と呼ぶ)

同一條件下の消化液に前記方法で蠶菌を混合し所定温度のwater bath中に保護して作用せしめた。

標準水區とは、滅菌水1c.c.を消化液同様に取扱つたものである。然れども何れの場合にも同様の結果を示したので後には之を省略した場合もある。尙直後とは、細菌を混合し其白金耳を殺菌し其冷却をまち、直に鈎菌したもので大体混合後1分位である。

a) 第1實驗、歐18、春蠶、5齡3日目

聚 落 數

作用中温度	作用時間	蠶菌混	混合直後	30分	1時間	2時間	3時間	4時間	5時間
		合前							
標準水	30°C	0	3,800	欠	3,510	3,150	欠	3,260	3,120
消化液	30°C	2	10,600	3	0	1	0	0	0
同	25°C	1	10,800	2,140	88	0	1	0	0
同	20°C	0	11,000	3,330	1,460	47	4	0	0
同	15°C	1	11,200	6,840	3,890	634	92	19	0

b) 第2實驗、日110、夏蠶5齡2日目、3日間絶食したものの消化液

聚落數

作用時間		混合前	混合直後	30分	1時間	2時間	3時間	4時間
作用中温度								
標準水	35°C	0	5,240	欠	5,110	4,760	欠	4,980
消化液	35°C	3	13,200	0	0	0	0	0
同	30°C	2	13,900	0	0	0	0	0
同	25°C	1	12,600	98	0	0	0	0
同	20°C	2	16,300	2,880	149	0	0	0
同	15°C	1	9,210	5,480	1,650	118	8	0

【備考】聚落數は最下位まで計算したが多少の計算誤差あるを豫期し、各區の數は4捨5入して、上より3位だけを示すこととした。以下此れに同じ。

本試験の成績によれば、本力は高温なる程強力に作用する。是恰も諸殺菌劑が高温に於て殺菌力が大なると同様である。

B. 本力の煮沸による影響。

常法により採液したものを2分し一は無處理の標準とし、他はコッホ釜にて100°C中で所定時間煮沸後取出し試験した。

a) 第1實驗 神奈川青熟、夏蠶、5齡起蠶、煮沸時間10分 聚落數

作用時間		混合前	混合直後	30分	1時	2時	3時	4時
區別								
無處理消化液		0	5,380	2,180	567	44	2	1
煮沸消化液		0	5,640	1,880	513	17	30	7

b) 第2實驗 日110×支105 秋蠶、5齡2日目、1時間絶食後採液、20分煮沸 聚落數

作用時間		混合前	混合直後	10分	30分	1時	1.5時	2時	3時
區別									
無處理消化液		8	39,300	6,480	2,380	1,720	1,110	603	905
煮沸消化液		0	36,500	6,760	1,760	1,250	391	245	655

本實驗の成績によると、上記程度の加温は消化液の殺菌力に殆ど影響を與へないものと看做すことが出来る。此の成績は岩淵氏等の試験結果と大差がある。

C. 酸性物質添加の本力に及ぼす影響。

常法により採液し1部は無處理の標準とし、他は1Nの硫酸添加(2.8gの炭酸曹達と0.7gの炭酸加里とを水100c.c.に溶解したもの1c.c.を中和するに要する量)により大体中和せしめた。中和したものは黄褐色の沈澱を多く生じ、且全体が黄色を帯びて来る。尙對照區として添加硫酸と同數滴の水を添加して稀釋したる場合をも同時に檢した。

a) 日110×支105、秋蠶、5齡5日目、絶食1晝夜後採液

聚 落 數

區 別	作用時間							
	混合前	混合直後	10分	30分	1時	1.5時	2時	3時
標準無處理區	9	146,000	16,430	12,800	3,850	1,100	448	23
對照水添加區	7	31,800	31,200	8,430	7,240	2,830	1,550	962
酸添加中和區	8	135,000	45,900	24,500	16,400	9,400	8,890	10,100

b) 第2實驗 平和×安奈、秋蠶、5齡2日目 聚 落 數

區 別	作用時間								
	混合前	混合直後	10分	30分	1時	1.5時	2時	3時	12時
無處理消化液	13	51,200	7,320	1,970	462	60	7	1	3
水添加消化液	28	77,700	7,320	3,310	1,730	1,044	684	556	欠
酸添加消化液	20	73,100	41,700	6,810	4,152	5,800	6,320	8,950	93,900

備考 作用時間3時間以後は室溫に放置しておいたものである。

此試驗成績によると、殺菌力は無處理のもの最も強く、水添加により稀釋する時は本力が弱められ、酸添加により中和に近づくしむる時は非常に本力の減弱を示し、12時間後には著るしく増加して居るのを見る。

此の結果よりすれば本力は消化液中のアルカリ性によりて起るか、又はアルカリ性物質と最も深い関係があると見られる。

D. 壯蠶期多濕育が本力に及ぼす影響。

5齡起蠶をトタン箱育1日3回給桑育を行ひ所定日數飼育後のものを多濕育とし、同蠶區の普通育による蠶兒を標準とした。其間の給桑量は各區等量にした。

a) 第1實驗 泰山、夏蠶 5齡起蠶3日間試驗育 聚 落 數

區 別	作用時間						
	混合前	混合直後	30分	1時	2時	3時	5時
蒸溜水區	0	11,700	12,900	10,800	9,030	9,010	9,240
標準區消化液	0	39,500	14,500	4,560	19	0	0
多濕育消化液	35	38,100	18,900	15,800	4,120	2,030	405

b) 第2實驗 日110×支105、秋蠶 聚 落 數

區 別	作用時間						
	混入前	混入直後	30分	1時	2時	3時	4時
標準區消化液	0	4,830	58	31	10	0	0
多濕區消化液	49	6,230	3,880	2,710	2,680	1,650	1,820

本成績よりする時は5齡期に於ける多濕環境飼育は、明に蠶兒消化液殺菌力を減衰せしめるものであると認め得る。此れは多濕の蠶兒に對する生理的影響よりして消化液のアルカリ度の減少を來す結果として本力の衰弱を來すものと思はれる。

E. 呼吸障害の本力に及ぼす影響

5 齡期蠶兒離桑後 4 時間のを、浸水により 1 時間半呼吸障害を與へ、其後復活を待ちて吐液せしめた。標準區は同一條件蠶兒を其間絶食せしめておいた。

a) 第 1 實驗、日 110、秋蠶、5 齡 3 日目蠶兒 聚 落 數

區 別	作用時間							
	混合前	混合直後	10 分	30 分	1 時	1.5 時	2 時	3 時
標準消化液	9	146,000	16,500	12,800	3,850	1,110	448	23
呼吸障害消化液	12	165,000	38,300	35,500	13,900	8,360	7,510	7,280

b) 第 2 實驗 日 110 × 支 105、秋蠶 5 齡 2 日目、絶食 2 時間後浸水 聚 落 數

區 別	作用時間							
	混合前	混合直後	10 分	30 分	1 時	1.5 時	2 時	3 時
標準區消化液	3	51,600	7,320	1,970	462	60	7	1
呼吸障害區消化液	6,3684	114,000	73,400	57,400	60,800	69,700	16,210	1,640

本實驗の第 2 例に於ては混合前の細菌餘りに多くして、推論に困難なるも、第 1 實驗の夫れと綜合して、呼吸障害を與へたるものは本力が弱くなるものと斷ずる事が出来やう。

F. アルカリ液又は 10% 醋酸添食が本力に及ぼす影響

5 齡 2 日目蠶兒に、2% の炭酸加里、炭酸曹達、炭酸石灰、10% 醋酸、等の水溶液を連續 5 回添食したものを常法により採液して供試した。對照區として水添食區を設けた。

泰山、夏蠶、5 齡 2 日目 5 回添食 聚 落 數

區 別	作用時間							
	混合前	混合直後	10 分	30 分	1 時	1.5 時	2 時	3 時
標準區消化液	3	5,150	7,320	1,970	462	60	7	1
對照區消化液(水添食)	15	10,200	9,640	欠	8,790	欠	8,920	7,980
2% 炭酸加里區消化液	302	39,500	6,160	3,240	1,270	726	472	702
2% 炭酸ソーダ區消化液	396	39,800	17,000	7,420	2,720	1,222	482	314
2% 炭酸石灰區消化液	358	61,900	12,500	5,810	1,860	836	518	416
10% 醋酸區消化液	310	78,500	5,860	3,020	1,180	518	322	274

本實驗は一回のみにて結論を下すことは危険なれども、混合前の細菌の多き點、及び殺菌作用のおくれる點、等より見て大体に於て此等物質の添食は、消化液のアルカリ性を強化せずして、却つて其の殺菌力を減衰せしめる傾向がある事が認められる。

G. 絶食障害の本力に及ぼす影響

5 齡期蠶兒を室溫にて絶食せしめ、所定の時間毎に吐液せしめた。使用蠶菌は同様のものを日々移植して同一條件のものを使用した。

a) 第一實驗 歐 18 春蠶 5 齡 3 日目蠶を絶食せるもの 聚 落 數

區 別	作用時間						
	混合前	混合直後	1 時	2 時	3 時	4 時	5 時
3 時間 絶食 區	3	28,500	7,120	865	59	9	12

12	同	4	38,500	16	2	4	2	4
24	同	74	35,490	302	57	65	53	84
48	同	480	38,300	472	521	474	783	844
72	同	408	40,100	2,610	343	335	364	434
96	同	498	25,900	7,360	1,080	555	614	561
120	同	694	41,200	23,300	1,280	1,050	1,240	1,580
144	同	309	35,400	6,160	585	356	518	503

b) 第2實驗 神奈川青熟 夏蠶 5齡2日目蠶を絶食 聚落數

區別	作用時間							
	混合前	混合直後	10分	30分	1時	1.5時	2時	3時
絶食3時間消化液	8	39,300	6,490	2,380	1,720	917	503	15
同 24 同	9	46,100	16,460	12,760	3,480	1,108	448	63
同 48 同	欠	欠	欠	欠	欠	欠	欠	欠
同 72 同	390	10,700	7,820	5,040	3,400	1,740	1,012	876

備考 第2實驗は或事情のために48時間區は欠、又72時間以後は出来なかつた。

此成績よりすると、絶食後12時間に於て本力最も強く、絶食3時間區と24時間區とは大差なく相當強く、48時間以後になると急激に本力弱くなり、120時間に於ては最も弱きを示した。然し144時間絶食區が却つて本力の強きを示せるは解釋に苦しむ所で、今後再検討を要する點である。

本成績は大体に於て、絶食後の腸内細菌數の消長について研究された佐藤博士の成績と似て居る結果を示した。

H. 本力の5齡期間中に於ける變化

春蠶期5齡蠶兒を用ひ、起蠶より上族迄普通育をせるものを、毎日離桑4時間絶食後常法によりて吐液供試した。同一條件の細菌を使用したのは勿論である。

聚落數

區別	作用時間							
	混合前	混合直後	30分	1時	2時	3時	4時	5時
5齡起蠶消化液	0	15,500	4,160	1,710	194	12	2	0
5齡1日目消化液	4	33,000	13,400	9,100	3,270	104	81	16
同 2 同	8	64,800	13,300	2,320	45	4	5	0
同 3 同	6	66,400	12,500	2,310	2	18	5	1
同 4 同	12	30,400	23,700	3,230	19	5	0	3
同 5 同	38	66,200	30,600	3,200	132	57	37	49
同 6 同	19	28,100	6,510	989	9	35	52	15
同 7 同	306	28,800	14,400	4,080	2,970	3,640	3,580	4,260
同 8 同	592	102,000	47,600	34,900	27,900	25,500	31,900	34,600

同 9 同	276	87,300	27,800	6,530	5,240	6,630	8,410	13,160
同 10 同 (熟蠶)	欠	132,000	128,000	101,200	139,000	152,000	173,000	183,000

【備考】 熟蠶の混合前は培養基破壊の爲め計算し得ざりき

本成績による時は本力は5齡起蠶より4日目頃迄は最も強く、5日、6日目に於ては稍弱まり7日目以後に於ては急激に減弱を來し10日目即ち熟蠶に於ては最も弱く殆ど認め得ずして、却つて消化液内に於て細菌の増殖するを見る。

II. 總 括

本實驗は5齡期家蠶に電流を通じて消化液を吐出せしめ、遠心分離器にて其中の食桑片を去り、それに盛菌を混合し、一定時間毎に其液を寒天扁平培養に移して、菌の形成せる聚落数を計算して消化液殺菌力の強弱を測定したものである。本實驗の範圍内にては其結果から次の如き事が認められる。

1. 同一家蠶消化液は(本試驗の範圍は15°C乃至35°C) 高温なる程強力に作用する。
2. 家蠶消化液殺菌力は本實驗の範圍内(100°C 20分以下煮沸)にては煮沸によりて殆ど左右されない。
3. 家蠶消化液は水にて稀釋することにより殺菌力を弱められる。
4. 家蠶消化液は酸性質添加により中性に近づかしむることにより、甚だしく其殺菌力は減弱される。
5. 5齡期に於ける多濕飼育は明に其消化液の殺菌力を減弱せしめる。
6. 浸水による蠶兒の呼吸障礙は、消化液の殺菌力を減少せしめる。
7. 家蠶に夫々2%の炭酸曹達、炭酸石灰、炭酸加里水溶液又は10%醋酸水等を添食せしむれば消化液殺菌力の減弱を來す。
8. 家蠶の絶食障礙は消化液殺菌力の減弱を來す。而して其状態は
絶食12時間迄は却つて本力が増加し。
24時間より48時間迄は稍本力減少し。
72時間に到れば減少明かになり。
96時間絶食以後は激甚なる本力の減少を示す。
9. 5齡期消化液殺菌力は、餉食後6日目までは、起蠶と同様強力にして、7日以後に於ては急激に減退し、熟蠶に於ては殆ど認め難くなる。

以上の結果を綜合すると家蠶消化液の殺菌力は、含有アルカリ性物質に關係あるものと思はれる。

附。本稿を終るに當り、懇切なる指導を賜はりたる恩師佐藤利一博士、校閲を賜はりたる本縣下伊那農學校早川校長、種々助力を賜はりたる長友戸部正久氏、細川豊氏及び小林嘉明氏に深甚なる謝意を表す。

(於 長野縣下伊那農學校)

文 獻

- 佐藤利一 蠶の敗血症並に一般軟化病の性質及び豫防法
 波多野岩吉 蠶桑化學
 田中義磨 蠶の生理講話
 岩淵平介、渡邊静夫 大日本蠶絲會報 第374號 大正12年
 立岩 享 東京高等蠶絲學校學術報告 第54號 大正14年
 藤井音松 大日本蠶絲會報 昭和2年 3~4月號
 勝又藤夫 長野縣蠶業試驗場報告 第八號及第二十七號
 蒲生俊興 山口定次郎 永井覺 蠶絲學雜誌 第五卷三號 昭和八年
 中澤喜雄 蠶絲學雜誌 第六卷二號 昭和八年
 佐藤利一 外三名 蠶絲學雜誌 第八卷三號 昭和十一年
 勝又藤夫 蠶絲學雜誌 第八卷三號 昭和十一年

(受理 昭和11年12月15日)

On the bactericidal action of the intestinal fluid
 of the silkworm, *Bombyx mori* L.

Yoshio NAKAZAWA.

(Received Nov. 15, 1936)

Résumé

1. This paper deals with the research on the bactericidal action of the intestinal fluid of the 5th instar Silk worm. *Bacillus prodigiosus* were mixed with the intestinal fluid in test tubes and the mortality of the bacteria was measured at some different intervals of time.
2. From 15°C to 35°C the bactericidal action was strong in high temperatures rather than in low temperatures.
3. The bactericidal action is slightly influenced by boiling 20 minutes at 100°C.
4. The bactericidal action is degraded by diluting the fluid with water, and is very much weakened by neutralizing the fluid with acids. Therefore, it seems that the bactericidal action has close relation to some alkaline substance in the fluid.
5. When the larva reared under the humid or respiratory impediment conditions at the 5th stage, the bactericidal action of the intestinal fluid works weaker than those of the larva normally reared.
6. When the larva fed on the mulberry leaves on which smeared with 2% sodium carbonate, 2% calcium carbonate or 10% acetic acid, the bactericidal action of the intestinal fluid becomes weaker than those of the larva normally fed on.
7. In the fasting state, the bactericidal action of the intestinal fluid works strongest but the duration of fasting the continues longer the weaker it becomes.
8. During 6 days of the 5th stage the bactericidal action of the intestinal fluid is strong almost nearly-equal, but in the later period it falls weak and at mounting period it act very scarcely.