



Formosan Entomologist

Journal Homepage: entsocjournal.yabee.com.tw

【Research report】

稚蠶期家蠶人工飼料用防腐劑之真篩選【研究報告】

廖光正、謝豐國、朱耀沂

*通訊作者E-mail :

Received: Accepted: 1991/07/24 Available online: 1991/09/01

Abstract

摘要

以抑制飼料腐敗的效果和對飼料育蠶生長及發育的影響為檢定基準，篩選家蠶人工飼料用防腐劑。結果顯示在乾重100g飼料添加氯黴素(chloramphenicol) 10mg · 雙氫鏈黴素(dihydrostreptomycin)5mg · 丙酸(propionic acid)1500mg 及岑木酸(sorbic acid)200mg，可有效地抑制人工飼料遭受微生物污染，而且對稚蠶期(1-3齡)之家蠶發育無不良影響。

Key words:

關鍵詞: 家蠶、人工飼料、防腐劑。

Full Text:  [PDF\(0.35 MB\)](#)

下載其它卷期全文 Browse all articles in archive: <http://entsocjournal.yabee.com.tw>

稚蠶期家蠶人工飼料用防腐劑之篩選

廖光正 臺灣省蠶蜂業改良場 苗栗公館館南村261號

謝豐國 臺灣省蠶蜂業改良場 苗栗公館館南村261號

朱耀沂 國立臺灣大學植物病蟲害學系 臺北市羅斯福路四段1號

摘 要

以抑制飼料腐敗的效果和對飼料育蠶生長及發育的影響為檢定基準，篩選家蠶人工飼料用防腐劑。結果顯示在乾重100g飼料添加氯黴素(chloramphenicol)10mg，雙氫鏈黴素(dihydrostreptomycin)5mg，丙酸(propionic acid)1500mg及莽木酸(sorbic acid)200mg，可有效地抑制人工飼料遭受微生物污染，而且對稚蠶期(1~3齡)之家蠶發育無不良之影響。

關鍵詞：家蠶、人工飼料、防腐劑。

Screening of Antiseptics for Artificial Diet for the Silkworm, *Bombyx mori* L.

Guang-Jeng Liaw Taiwan Apicultural and Sericultural Experiment Station, 261 Kuannan, Kungkuang, Miaoli, Taiwan, R.O.C.

Feng-Kuo Hsieh Taiwan Apicultural and Sericultural Experiment Station, 261 Kuannan, Kungkuang, Miaoli, Taiwan, R.O.C.

Yau-I Chu Department of Plant Pathology and Entomology, National Taiwan University, 1 Roosevelt Road, Sec. IV, Taipei, Taiwan 100, R.O.C.

ABSTRACT

Based on inhibition of putrefaction and effects on larval development, antiseptics for an artificial diet for the silkworm were screened under laboratory conditions by inoculation of harmful microorganism into the diet. The results show satisfactory antibiosis when the diet includes 10mg chloramphenicol, 5mg dihydrostreptomycin, 1500mg propionic acid, and 200mg sorbic acid per 100mg dry weight. This complex also appears safe for the development of silkworm larvae.

Key words: Silkworm, *Bombyx mori*, artificial diet, antiseptics.

前 言

家蠶的人工飼料，含有豐富的營養成份和大約75%的水，很適合真菌、細菌等微生物的繁殖。此等微生物一繁殖，飼料開始腐敗，引起飼料組成改變，進而降低飼料營養成份，並產生有毒物質(飯塚，1971)。自腐敗飼料分離到的微生物相非常複雜，主要為細菌的*Streptococcus*、*Diplococcus*等屬(兒玉，1975)，酵母菌之*Saccharococcus*、*Pichia*等屬(松原等，1973；飯塚，1971)，以及麴菌*Aspergillus*屬(松田等，1973；繩田，1978)。其中屬於*Streptococcus*的數種並已被證實對飼料育蠶具有病原性(永江，1974，1977a，1977b；永江及鈴木，1976，1982)。由於攝食腐敗飼料之蠶極易死亡，因此飼料腐敗之防止，為人工飼料養蠶的一個成敗關鍵。

飼料之腐敗大多發生於家蠶的飼育期間，環境通常分別為 $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ， $80 \pm 10\% \text{RH}$ 。在微生物不能繁殖的環境條件下，蠶也不能生存，所以如高溫，低溫，乾燥，紫外線、輻射線處理等物理性滅菌方法不適用於人工

飼料。因此除了無菌飼育，人工飼料中添加防腐劑以殺死或抑制微生物的繁殖乃是常用的方法。良好人工飼料的防腐劑除了要能抑制飼料上微生物的繁殖，還必須無礙於家蠶攝食性。

丙酸(propionic acid, PA)具有飼料防腐效果，而且可以促進家蠶生長，如與岑木酸(sorbic acid, SA)併用，防腐效果更佳(新村及桐村，1974)。氯黴素(chloramphenicol, CA)為廣效性抗生素，在1.5-2%的範圍內對家蠶之成長具有促進效果(新村及桐村，1974)，也可和丙酸併用(橋本等，1977；新村等，1978)。此外，雙氫鏈黴素(dihydro-streptomycin, DSM)也被用於實用性家蠶人工飼料(山田等，1978)。然而臺灣的自然條件與日本有異，據我們的經驗，僅用上述一種或兩種防腐劑，仍然常發生飼料腐敗現象，因此有必要改良防腐劑。

防腐劑的篩選，通常先就腐敗的飼料，蠶糞，病死蠶等分離各種微生物，鑑定其分類地位，再做防腐劑之藥效檢定(松原等，1973)，而以飼料上所出現的菌落或菌株，蠶攝食飼料後發育緩慢，發病，死亡的情形為

評估防腐劑效果之依據(兒玉, 1975; 新村及桐村, 1974)。

本研究就CA,DSM,PA,SA等防腐劑, 測出4種併用時達到飼料防腐目的所需最低劑量, 並由飼育試驗證實對家蠶無害, 可供在臺灣發展實用性家蠶人工飼料參考。

材料與方法

1.防腐效果檢定

飼料之配製依古山等(1980)修改: 將氯黴素、雙氫鏈黴素、丙酸等防腐劑, 分別依其在飼料內終濃度的設定量溶解於飼料用水(每克乾物用3ml)的五分之一, 另加入岑木酸0.2%(新村及桐村, 1974)和維生素; 待飼料的其他粉末原料與另外五分之四的水混合均勻, 在電鍋中蒸20分鐘, 稍冷至約60°C後, 混在一起攪拌均勻完成人工飼料。將此飼料充填入96孔微量盤(microplate)的小孔中, 約3/4滿。微生物源, 取自本研究室人工飼料養蠶時得到的發黴飼料及死蠶, 加水20倍(v/w)磨碎, 經3000rpm離心15分鐘除去組織碎塊後, 取上層液為微生物源。取10倍連續稀釋液滴注入微板孔內的飼料上, 每孔20ul。然後以食品保鮮用PE薄膜包覆微量盤, 在約27°C的室溫下靜置5天後, 調查微生物菌落之生長情形, 據以判斷防腐效果。

2.養蠶試驗

為確認加入飼料中的防腐劑不妨礙蠶的發育, 根據防腐效果檢定結果於每乾重100g飼料添加氯黴素10mg, 雙氫鏈黴素5mg, 岑木酸200mg及設定量的丙酸, 飼育孵化蠶至3眠。於第4,8,12日, 即蠶發育至1眠, 2眠, 3眠時, 調查眠蠶(molting larvae)隻數及體重, 以及起蠶(exuvated larvae)隻數, 做為發育指標。眠蠶不吃不動, 體重變化小; 起蠶體色較黑, 頭/胸橫寬比前一齡的蠶大2倍

以上, 均容易辨認。

結 果

1.防腐效果檢定

在乾重100g飼料中加入雙氫鏈黴素5-100mg時, 所用添加量對微生物生長之阻止作用之間並無差異, 皆能有效地抑制稀釋1000倍微生物源之產生菌落, 但不能抑制稀釋100倍微生物源之生長(表一)。故在以後的試驗中, 雙氫鏈黴素添加量採用可抑制稀釋1000倍微生物源產生菌落的最低濃度, 即5mg/100g飼料乾重。

要抑制稀釋100倍的微生物源的菌落產生, 每100g飼料乾重中須加入20mg之氯黴素, 但如此添加量, 對稀釋10倍的微生物源, 仍不足以抑制菌落的產生(表二)。故以後試驗中所使用之氯黴素用量為10或15mg/100g。

當100g乾飼料配合15mg氯黴素添加丙酸17.5mg時, 對稀釋100倍微生物源可以有效抑制菌落之產生(表三)。但對稀釋10倍者, 必須把丙酸加至175mg才有效。當將氯黴素添加量減為10mg時, 則需1750mg之PA才足以抑制菌落之產生。

2.養蠶試驗

結果如表四, 在飼育第4日, 丙酸1500mg與1750mg兩處理區的一眠蠶體重、一眠蠶數及二齡起蠶數都沒有差異, 但是2000mg處理區的一眠蠶體重較前二處理區輕, 一眠蠶數較多而起蠶數較少($p < 0.05$), 即眠的經過顯著遲緩。於飼育第8日, 二眠蠶體重及越眠速度在三種處理濃度之間的差異較小, 但仍然呈現和一眠時相同的趨勢, 顯示丙酸用量增加有不利影響。至飼育第12日明顯呈現飼料中丙酸過量之負面效果, 眠蠶體重減輕, 起蠶數也減少($p < 0.05$)。綜合以上, 無論從眠

表一 雙氫鏈黴素之防腐效果

Table 1. Antiseptic efficacy of dihydrostreptomycin (DSM) against microbes isolated from rotted artificial silkworm diet

Microbes dilut.	DSM Content (mg / 100g dry diet *)				
	5	25	50	75	100
1 / 10	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
1 / 100	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
1 / 1000	- -	- -	- -	- -	- -

Two replicates. + : colonies appeared. - : colony did not appear

* Besides DSM, the diet was also mixed with chloramphenicol 1mg, propionic acid 0.7mg, and sorbic acid 200mg.

表二 氯黴素的防腐效果

Table 2. Antiseptic efficacy of chloramphenicol (CA) against microbes isolated from rotted artificial silkworm diet

Microbes dilut.	DSM Content (mg / 100g dry diet *)			
	5	7	10	20
1 / 10	+ +	+ +	+ +	+ +
1 / 100	+ +	+ +	+ +	- -
1 / 1000	- -	- -	- -	- -

Two replicates. +, -: see footnote to Table 1.

* Besides CA, the diet was also mixed with dihydrostreptomycin 5mg, propionic acid 0.7mg, and sorbic acid 200mg.

蠶體重，以及越眠的速度，都顯示乾重100g之飼料中丙酸含量超過1500mg時，添加量之增加，阻礙攝食蠶的發育，而且阻礙的程度隨著飼料時間加長而愈明顯。

討 論

本研究根據微生物之培養試驗及養蠶試驗，推薦一組添加人工飼料中之較佳防腐劑配方：即乾重100g飼料中添加氯黴素10mg，雙氫鏈黴素5mg，丙酸1500mg及岑木酸200mg。在以後之各種養蠶試驗中發現此種配

方之人工飼料僅偶而有飼料腐敗之現象，在實用上滿足防腐要求。

一般抗生物質的篩選經過分離每一種微生物然後進行處理培養試驗。然而篩選飼料用防腐劑，因為飼料中含有防腐劑以外的各種營養成份，直接影響PH值，使分離培養的結果未必即適於飼料使用。本試驗直接測試對人工飼料防腐效果再調查對蠶體的影響，因此雖未確知供試微生物的種類，但已達到防腐的初步目的。

此配方中各防腐劑用量，為折中考量的結論。若增加用量，固然可以達到更完全的

表三 丙酸的防腐效果

Table 3. Antiseptic efficacy of propionic acid (PA) against microbes isolated from rotted artificial silkworm diet

Microbes dilut.	PA Content (mg / 100g dry diet *)		
	17.5	175	1750
1 / 10	+ +	+ +	- -
	(+ +)	(- -)	(- -)
1 / 100	+ +	+ -	+ +
	(- -)	(- -)	(- -)
1 / 1000	- -	- -	- -
	(- -)	(- -)	(- -)

Two replicates. +, - : see footnote to Table 1.

* Besides PA, the diet was also mixed with dihydrostreptomycin 5mg, chloramphenicol 10mg (or 15mg when in parentheses), and sorbic acid 200mg.

表四 人工飼料添加丙酸對蠶生長之影響

Table 4. Effect of propionic acid in artificial diet on the growth of silkworm 1st~3rd larval instar

Rearing days *	Propionic acid(mg)**	Avg. body wt.(mg) at molt @	No. larvae molting	No. larvae exuvated
4	1500	5.62±0.07a	17.0±1.0a	9.0±0.0a
	1750	5.68±0.12a	18.0±1.0a	9.0±1.0a
	2000	5.27±0.03a	23.0±1.0b	3.0±1.0b
8	1500	31.48±1.64a	8.0±1.0a	17.0±2.0ab
	1750	29.46±0.50ab	7.0±1.0a	18.0±1.7a
	2000	27.93±0.90b	11.0±1.0b	14.0±2.0b
12	1500	194.48±8.50a	6.0±1.7a	15.0±1.7a
	1750	168.17±5.49b	10.0±1.0b	11.0±1.0b
	2000	143.71±3.52c	11.0±1.7b	8.0±1.7b

* At 1st, 2nd, 3rd molt, respectively.

** Besides propionic acid, 10mg chloramphenicol, 5mg dihydrostreptomycin, and 200mg sorbic acid per 100g dry diet.

@ Means of 3 replicates. 30 newly hatched larvae were used in each replicate. Figures in the same column followed by the same letter are not significantly different from one another ($p \geq 0.05$, Duncan's multiple range test).

防腐效果，但也會造成對飼育蠶的生理妨礙，提高成本、加速抗藥性菌株的產生等缺點，所以原則上儘量採取低濃度。比較新村及桐村(1974)所訂出的適當劑量，本配方的雙氫鏈黴素量只為其中十分之一。對高於稀釋倍數100倍以上濃度的微生物含有液未達到有效的抑制作用(表一)，其原因或許在供試的微生物種類不同，或供試用飼料組成之差異所致。雖然使用氯黴素15mg可得較佳防腐效果(表二，表三)，但氯黴素之連續使用會導致蠶體內乳酸菌產生抗性(永江，1977a)，所以取較低量之10mg。

新村及桐村(1974)曾指出在使用濃度1.5~2%之範圍，丙酸可促進蠶之生長；本試驗結果以相當1.5%之1500mg較有利於蠶之發育，超過時有害(表四)，可能是由於併用4種防腐劑之故。又丙酸酸化飼料的作用，可能降低飼料PH值而不利於微生物之生長；檸檬酸(citric acid)雖非防腐劑，在飼料中可能也有相同作用(連及林，1989)，不過其對人工飼料中微生物的影響，仍有待試驗。

併用多種防腐劑或抗生素，除了減少出現抗藥菌株的可能性(永江，1977a)，並著眼於擴大抑制微生物範圍。不過家蠶的食性範圍極窄，因而限制能選用的藥劑種類。表一~三都顯示對較高濃度的微生物必須用較高濃度的防腐劑才能達到抑菌效果。既然家蠶人工飼料用防腐劑的種類及用量都受限制，為達到良好的防腐效果，飼育環境的衛生仍是不可忽略的問題。在潔淨環境下養蠶，人工飼料不易腐敗，不但可減少防腐劑用量，也可以一次給予較多量飼料而延長更新飼料的間隔時間，達到省工養蠶的目的。

誌 謝

本研究承古武仕先生及楊秀珠小姐技術

協助，謹此致謝。

參考文獻

- 連塗發、林炳宏。1989。有機酸對肉雞生長性能之影響。科學農業37: 277-280。
- 山田弘生、小片真弓、深田哲夫、高橋利、代田稔。1978。クロレラを主成分とする家蠶人工飼料の研究Ⅱ.飼料組成と飼育成績。日蠶雜47: 490-500。
- 古山三夫、中村正雄、遊佐富士雄、森良種、水田美照。1980。人工飼料育による蠶の年間全令飼育に関する試験。蚕糸試験場彙報111: 37-45。
- 永江敏規。1974。人工飼料育蠶から分離した乳酸菌の起病性Ⅰ.人工飼料育蠶と桑葉育蚕に對する起病性の差異。日蠶雜43: 471-477。
- 永江敏規。1977a。人工飼料育蠶から分離した乳酸菌の起病性Ⅲ.分離菌株の抗生物質耐性。日蠶雜46: 25-31。
- 永江敏規。1977b。人工飼料育蠶から分離した乳酸菌の起病性Ⅳ.*Streptococcus faecalis*の起病性に及ぼす人工飼料組成への影響。日蠶雜46: 384-390。
- 永江敏規、鈴木直雄。1976。人工飼料育蠶から分離した乳酸菌の起病性Ⅱ.分離乳酸菌の菌學的性狀。日蠶雜45: 41-47。
- 永江敏規、鈴木直雄。1982。人工飼料育蠶から分離した乳酸菌の起病性Ⅴ.*Streptococcus faecalis*の起病性に及ぼすビタミンB群の影響。日蠶雜51: 40-45。
- 兒玉禮次郎。1975。細菌性疾病とその對策。濱村保次編『人工飼料育への道』pp. 166-219。みすず書房。東京。
- 松田基一、松浦雄一、遊佐富士雄。1973。蚕飼育室における空中浮游微生物の調

査および測定法の検討について。蚕糸試験場彙報96: 83-127。

松原藤好、川杉正一、桶口英吉。1973。蠶の人工飼料の防腐剤の選抜に関する研究。京工織大繊維學報96: 93-127。

新村正純、桐村二郎。1974。カイコの人工飼料における防腐剤の開発。日蠶雜43: 163-170。

新村正純、橋本重文、桐村二郎。1978。實用的なカイコの人工飼料の開発V.幼蟲體液の核酸関連物質および遊離アミノ酸組成に及ばず飼料中無機物およびビタミンB群の組成改良の効果。日蠶雜47: 1-8。

飯塚敏彦。1971。Streptococcus faecalis AD-4による人工飼料育蠶の發病機作。日蠶雜41: 89-93。

橋本重文、新村正純、桐村二郎。1977。實用的なカイコの人工飼料の開発IV.無機物組成およびビタミンB群組成の改良。日蠶雜46: 475-485。

繩田幸春。1978。家蠶人工飼料における麴菌の繁殖と感染について。九州蚕糸9: 59。

收件日期：1991年5月22日

接受日期：1991年7月24日