

# 大日本蚕糸会 研究報告

第69号 令和4年3月(2022)

## 目次

### 報文

1. グリシジルメタクリレートグラフト加工絹糸の化学修飾による濃染効果  
蚕糸科学技術研究所 花乃内智彦  
群馬県立群馬産業技術センター 繊維工業試験場 信澤和行・齋藤裕文・齋藤 宏 …… 1
2. カイコ用ペレット人工飼料への各種化合物添加による利用法の検討  
蚕糸科学技術研究所 持田裕司・松本正江・竹村洋子・大沼昭夫 …… 9
3. 食性異常蚕と広食性蚕の選抜継代  
蚕糸科学技術研究所 竹村洋子・大沼昭夫・持田裕司 …… 17
4. 養蚕用ピロシートの代替品の評価  
蚕糸科学技術研究所 持田裕司・松本正江・鶴井裕治・近藤 進・池嶋智美 …… 25

一般財団法人大日本蚕糸会  
蚕糸科学技術研究所

# Journal of DAINIPPON SILK FOUNDATION

No.69, March 2022

## Contents

### Research Reports

1. TOMOHIKO HANANOCHI, KAZUYUKI NOBUSAWA, HIROFUMI SAITO and HIROSHI SAITO:  
Effect of chemical modifications of glycidyl methacrylate grafted silk yarns on deep color ..... 1
2. YUJI MOCHIDA, MASAE MATSUMOTO, YOKO TAKEMURA and AKIO OHNUMA:  
Study on various utilization of artificial pellet diet for silkworm  
by soaking chemical compounds ..... 9
3. TAKEMURA YOKO, AKIO OHNUMA and YUJI MOCHIDA:  
Rearing of the non-preference mutations and polyphagous silkworm ..... 17
4. YUJI MOCHIDA, MASAE MATSUMOTO, YUJI TSURUI, SUSUMU KONDO and SATOMI IKEJIMA:  
Examination of alternatives to Pillo sheets for sericulture ..... 25

Published by

**THE DAINIPPON SILK FOUNDATION**

# グリシジルメタクリレートグラフト加工絹糸の化学修飾による濃染効果

花之内智彦<sup>1</sup>・信澤和行<sup>2</sup>・齋藤裕文<sup>2</sup>・齋藤 宏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>蚕糸科学技術研究所, <sup>2</sup>群馬県立群馬産業技術センター 繊維工業試験場

(2022年1月18日受理)

TOMOHIKO HANANOUCHI<sup>1</sup>, KAZUYUKI NOBUSAWA<sup>2</sup>, and HIROFUMI SAITO<sup>2</sup> and HIROSHI SAITO<sup>2</sup>: Effect of chemical modifications of glycidyl methacrylate grafted silk yarns on deep color dyeing

## 緒 言

絹はアミノ酸が重合したタンパク質繊維であり、繊維中の酸性基、塩基性基などが染料と結合するため、染色性や発色性に優れた繊維である。絹は同じタンパク質繊維の羊毛に比べて塩基性基が少なく、酸性染料で染色した場合、飽和染着量が小さいので、濃色に染まり難いことや染色堅牢度に劣ることが知られている(本馬・生谷, 1983)。黒などの濃色染めでは、染料濃度を上げて濃色に染色するが、染色堅牢度の低下は免れない。染色堅牢度との関係から染料濃度を上げられない場合、見掛けの発色性を向上させる方法(山口, 1981)として深色加工剤による加工方法が実用化されているが、クリーニングにより深色加工剤が脱落する故障事例が報告されている(吉田・池田, 2007)。染色堅牢度が高い絹の濃色染めができれば、絹製品の消費性能や意匠特性が向上する。また、羊毛などの他繊維と絹との濃色の交織製品への展開に繋がると思われる。

これまで、絹繊維の持つ欠点を改善することや機能性を向上させる化学加工に関する研究が行われており(加藤, 1987)、絹繊維のグラフト重合は使用するモノマーによって、かさ高性、染色性等が向上することが報告されている(塩崎, 1985; 京都織物精練協同組合, 1990)。反応性の高いエポキシ基を持つグリシジルメタクリレート(GMA)モノマーを用いた絹繊維のグラフト重合に関する研究については、グラフト重合で最も用いられているメタクリルアミド(MAA)の染色性や染色堅牢度を向上させる目的で、MAAとGMAを配合あるいはGMAモノマーのみでグラフト重合した絹織物は、未処理織物に比べて、酸性染料、塩基性染料の染色性が向上するとともに湿潤摩擦堅牢度の向上することが報告されている(加古・片山, 1993)。GMAモノマーでグラフト重合した絹糸(GMA加工糸)を室温の亜硫酸ナトリウム水溶液に長時間浸漬して染料と親和性のあるスルホン酸基を導入した結果、カチオン染料の濃染効果が認められたものの、長時間の化学修飾処理の影響で伸度が低下することを報告している(花之内, 2016)。

本報では、染色工場で簡便で効率的に化学修飾できる方法として、高温の亜硫酸ナトリウム水溶液で短時間のGMA加工糸のスルホン化(SS処理)を行い、スルホン酸基の導入の有無とその濃染効果をSS処理前後の試料の重量測定とカチオン染料を用いたSS処理糸の染色実験およびその染色糸の測色から検討した。また、SS処理の影響で糸が脆化しているのかどうかを確認するために引張試験を行った。さらに、絹用染料の中で、酸性染料が最も使用されている染料種の一つであることから、GMA加工糸をアンモニア水溶液でアミノ化(AM処理)し、酸性染料と親和性のあるアミノ基の導入とその濃染効果についても検討した。

## 材料と方法

### 1. GMA 加工系の調製

アルカリ精練した 21d/24 諸より糸（練減率 24.7%）に GMA モノマーを用いてグラフト重合を行った。繊維重量の 40wt% の GMA モノマーと GMA モノマー重量の 10wt% のポリオキシエチレンラウリルエーテル系非イオン界面活性剤（DKS NL-600F, 第一工業製薬(株), 京都）とを精製水に混合し、ホモジナイザーで 5000rpm, 5 分間の乳化処理を行った。乳化したモノマー溶液に試料, GMA モノマー重量の 3wt% の過硫酸アンモニウムおよび 2g/L のギ酸を加えて, 2°C / 分の割合で 40°C から 80°C まで昇温し, 45 分間グラフト重合を行った後, 試料表面に付着したホモポリマーを除去するため, 1g/L の高級アルコール系非イオン界面活性剤（シュネル EC5, モーリン化学工業(株), 群馬）で 80°C, 20 分間のソーピングを行った。得られた GMA 加工糸の重量増加率は 38.4% であった。実験で使用した試薬はすべて富士フィルム和光純薬(株)(大阪) のものを使用し, GMA は試薬一級, 過硫酸アンモニウムおよびギ酸では試薬特級を用いた。

### 2. GMA 加工系の化学修飾

GMA グラフトポリマー中のエポキシ基に化学修飾剤を反応させ, スルホン酸基およびアミノ基等の官能基を導入した。エポキシ基のスルホン化 (SS 処理) は難波ら (1973) の方法に準じ, 試料を 10w/v% 亜硫酸ナトリウム水溶液（試薬特級, 富士フィルム和光純薬(株), 大阪）に浸漬し, 浴比 1 : 50, 80°C, 30 分間処理した後, 水洗し, 風乾した。エポキシ基のアミノ化 (AM 処理) については後藤ら (2017) の方法に準じて行った。試料を 5.6v/v% アンモニア水（試薬特級, 富士フィルム和光純薬(株), 大阪）に浸漬し, 浴比 1 : 50, 70°C, 30 分間処理した後, 水洗し, 風乾した。SS 処理および AM 処理した試料の処理前後の絶乾重量から重量増加率を算出した。

### 3. 化学修飾糸の染色試験

SS 処理糸はカチオン性のカチオン染料, AM 処理糸にはアニオン性の酸性染料を用いて染色した。カチオン染料による SS 処理糸の染色は, 0.277g のカチオン染料 (Nichilon Pure Blue 7G (C. I. Basic blue 3), 日成化成(株), 愛知) を約 pH3 に調整した酢酸溶液 278ml に溶解して染浴を調製し, 80°C, 30 分間染色した後, 1g/L のシュネル EC5 で 80°C, 20 分間ソーピングし, 水洗, 風乾した。酸性染料による AM 処理糸の染色では, 0.046g の酸性染料 (Aminyl Red F-RSN (C. I. Acid Red 114), 田岡化学工業(株), 大阪) と硫酸アンモニウム（試薬特級, 富士フィルム和光純薬(株), 大阪）0.138g とを精製水 230ml に添加した染浴で 80°C, 30 分間染色した。そして, 1g/L のシュネル EC5 で 80°C, 20 分間ソーピングし, 水洗, 風乾した。なお, 染色試験では, 未処理, GMA 加工糸および GMA 加工糸の化学修飾糸を同時に染浴に投入し, 染色した。

### 4. 化学修飾糸の測色

紐状の試料を分光色差計 (SE6000, 日本電色工業(株)) で測色した。D65 光源, 10° 視野, 400nm から 700nm までの波長範囲で 10nm 毎の反射率から  $L^*a^*b^*$  表色系値を算出した。また, 色差 ( $\Delta E^*(ab)$ ) は未処理の平均値を基準としてそれぞれの  $L^*a^*b^*$  表色系値の平均値から算出した。さらに, 波長領域 400nm から 700nm までの反射率から濃色性の指標である Total K/S 値 (近藤, 1978) を (1) 式により算出した。

$$\text{Total K/S} = \sum \{(1-R)^2/2R\} \quad (1)$$

R : 反射率

K : 光の吸収

S : 光の拡散反射

## 5. 化学修飾糸の引張試験

20°C, 65%RH の恒温恒湿室内で調湿した試料をテンシロン (RTG-1210, (株) A&D 製) で糸長 100mm, 引張速度 50mm/分の条件で引張試験を行った。なお, 1 試料につき 30 本の引張試験を行った。

## 結 果

### 1. GMA 加工糸へのスルホン酸基およびアミノ基の導入

GMA 加工糸に亜硫酸ナトリウムおよびアンモニア水を反応させ, 加工糸中の GMA ポリマーのエポキシ基をスルホン化およびアミノ化するため, 目標とする官能基が導入されれば, 試料の重量が増加すると考えられる。亜硫酸ナトリウムでスルホン化処理した SS 処理糸は 4.0%, アンモニア水でアミノ化処理した AM 処理糸では 1.9% の重量増加がみられた (表 1)。また, 80°C, 30 分間の高温処理を行った SS 処理糸 (高温処理糸) の重量増加は, 既報 (花之内, 2016) の常温で 72 時間処理した糸 (常温処理糸) の重量増加 (約 3.9%) と同程度の数値を示した。

表 1 化学修飾した GMA 加工糸の重量増加率

化学修飾剤	重量増加率 (%)
亜硫酸ナトリウム	4.0
アンモニア水	1.9

GMA 加工糸と化学修飾剤が反応し, 糸中のエポキシ基にスルホン酸基およびアミノ基が導入できれば, 染料が繊維に染着しやすくなり, SS 処理糸や AM 処理糸は GMA 加工糸よりも濃色に染色されると考えられる。糸中のエポキシ基にスルホン酸基およびアミノ基が導入されていることを確認するため, SS 処理糸はカチオン性のカチオン染料, AM 処理糸にはアニオン性の酸性染料で染色し, 染色糸の色の濃さを目視判定した。カチオン染料で染色した SS 処理糸 (図 1) は, GMA 加工糸 < 未処理 < SS 処理糸の順に濃色となった。酸性染料で染色した AM 処理糸 (図 2) では, GMA 加工糸 < 未処理 = AM 処理糸の順に濃色に染色されていた。

### 2. SS 処理糸および AM 処理糸に導入した官能基の濃染効果

染色した SS 処理糸および AM 処理糸は, 未処理に比べてどれくらいの濃染効果があるのかを染色糸の測色値から検討した。カチオン染料で染色した SS 処理糸について (表 2), 明度を表す  $L^*$  値は, SS 処理糸 < 未処理 < GMA 加工糸, 青みを表す (数値が小さくなるほど青い)  $b^*$  値では SS 処理糸 < 未処理 < GMA 加工糸の順に数値が高くなった。  $t$  検定の結果,  $L^*$  値はすべての組み合わせで  $P < 0.01$  で有意であった。  $b^*$  値では, 未処理と SS 処理糸間で  $P < 0.05$  で有意となった以外はすべての組み合わせで  $P < 0.01$  で有意であった。また, カチオン染料で染色した高温処理糸と既報 (花之内, 2016) の常温処理糸とでは, 両者の  $L^*$  値に差はみられないが, 常温処理糸の  $a^*$  値および  $b^*$  値はそれぞれ -8.30, -24.04 であり,  $a^*$  値は高温処理糸 < 常温処理糸,  $b^*$  値が常温処理糸 < 高温処理糸となった。  $t$  検定の結果,  $L^*$  値は有意差がみられなかったが,  $a^*$  値および  $b^*$  値ともに  $P < 0.05$  で有意であった。

酸性染料で染色した AM 処理糸について (表 3),  $L^*$  値は AM 処理糸 < 未処理 < GMA 加工糸, 赤みを表す (数値が大きくなるほど赤い)  $a^*$  値は GMA 加工糸 < 未処理 < AM 処理糸の順に数値が高くなった。  $t$  検定の結果,  $L^*$  値はすべての組み合わせで  $P < 0.01$  で有意であった。  $a^*$  値では, 未処理と GMA 加工糸間で有意差はみ



上：未処理  
中：SS処理糸  
下：GMA加工糸



上：未処理  
中：AM処理糸  
下：GMA加工糸

図1 カチオン染料で染色したSS処理糸

図2 酸性染料で染色したAM処理糸

表2 染色したSS処理糸のL\*a\*b\*表色系値およびTotal K/S

	L*a*b*表色系値 <sup>1)</sup>				Total K/S <sup>2)</sup>
	L*	a*	b*	$\Delta E^*(ab)$	
未処理	56.79(0.64)	-27.57(0.19)	-19.10(0.25)	-	77.93(3.07)
SS処理糸	21.77(0.27)	-11.93(0.30)	-19.62(0.33)	38.36	595.39(17.90)
GMA加工糸	67.24(0.61)	-20.98(0.30)	-12.03(0.34)	14.24	24.25(1.33)

1) L\*a\*b\*表色系値は1試料につき5か所の平均値と標準偏差（括弧内）で表した。また、L\*値は明度を表し、a\*値およびb\*値は色の方向を示し、+a\*値は赤方向、-a\*値は緑方向、+b\*値は黄方向、-b\*値は青方向を表す。

2) Total K/S値は濃色性の指標で、数値が高いほど濃色性を示す。

表3 染色したAM処理糸のL\*a\*b\*表色系値およびTotal K/S

	L*a*b*表色系値 <sup>1)</sup>				Total K/S <sup>2)</sup>
	L*	a*	b*	$\Delta E^*(ab)$	
未処理	46.57(0.43)	56.75(0.16)	27.19(0.19)	-	172.65(5.74)
AM処理糸	43.33(0.30)	59.23(0.22)	28.53(0.29)	4.29	252.55(7.10)
GMA加工糸	50.81(0.53)	56.66(0.31)	23.12(0.21)	5.88	114.21(3.76)

1) L\*a\*b\*表色系値は1試料につき5か所の平均値と標準偏差（括弧内）で表した。また、L\*値は明度を表し、a\*値およびb\*値は色の方向を示し、+a\*値は赤方向、-a\*値は緑方向、+b\*値は黄方向、-b\*値は青方向を表す。

2) Total K/S値は濃色性の指標で、数値が高いほど濃色性を示す。

られなかったが、それ以外の組み合わせでは、 $P < 0.01$  で有意であった。未処理の平均値を基準にして色差 ( $\Delta E^*(ab)$ ) を算出し、その違いを人間の感覚的に認知できるかを評価した (土谷, 1981)。カチオン染料で染色した SS 処理糸については  $\Delta E^*(ab)$  が 12 以上となり、別の色と判定された。また、高温処理糸と既報 (花之内, 2016) の常温処理糸の間の  $\Delta E^*(ab)$  は 5.7 となり、 $\Delta E^*(ab)$  が 3 から 6 の範囲であることから、色差が極めて著しいと判定された。酸性染料で染色した AM 処理糸では  $\Delta E^*(ab)$  が 3 から 6 の範囲であり、色差が極めて著しいと判定された。

濃色性の指標となる Total K/S 値は GMA 加工糸 < 未処理 < AM 処理糸および SS 処理糸の順に高くなった。また、常温処理糸の Total K/S 値は 591.6 であり、高温処理糸の Total K/S 値の方が僅かに高い値となった。

### 3. SS 処理糸および AM 処理糸の引張特性

亜硫酸ナトリウムおよびアンモニア水で処理すると糸が脆化することが考えられるため、各試料の引張試験を行った (表 4)。強度は SS 処理糸 = AM 処理糸 < GMA 加工糸 < 未処理、伸度およびヤング率では AM 処理糸 < SS 処理糸 < GMA 加工糸 < 未処理の順に数値が高くなった。 $t$  検定の結果、強度および伸度はともに、SS 処理糸と AM 処理糸間で  $P < 0.05$  で有意であり、それ以外の組み合わせでは  $P < 0.01$  で有意であった。ヤング率については、SS 処理糸と AM 処理糸間で有意差はみられなかったが、それ以外の組み合わせでは  $P < 0.01$  で有意であった。また、本実験の高温処理糸と既報 (花之内, 2016) の常温処理糸の引張特性について、常温処理糸の強度および伸度はそれぞれ 3.6gf/d, 18.2% であり、高温処理糸に比べて強度は僅かに高いが、伸度が低下している。 $t$  検定の結果、強度および伸度はともに、 $P < 0.05$  で有意であった。

表 4 SS 処理糸および AM 処理糸の引張特性

	強度 (gf/d)	伸度 (%)	ヤング率 (kgf/mm <sup>2</sup> )
未処理	4.8(0.1)	22.0(0.6)	307.0(22.8)
GMA加工糸	3.8(0.1)	20.8(0.5)	249.2(15.2)
SS処理糸	3.5(0.1)	20.0(0.6)	231.5(15.7)
AM処理糸	3.5(0.1)	19.7(0.3)	223.6(15.5)

強度、伸度およびヤング率は 1 試料につき 30 本の平均値と標準偏差 (括弧内) で示した。

## 考 察

染色は染浴中の染料が繊維表面に吸着した後、染料が繊維内部に拡散し、繊維内部で繊維-染料間に働くイオン結合やファンデルワールス力により、繊維に染着する。絹の繊維構造や絹を構成するアミノ酸組成が同じであるとする、酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸および末端基などが染料と結合するので、染料の染着量には上限があると考えられる。GMA グラフト加工糸中の GMA ポリマーのエポキシ基と化学修飾剤とを反応させ、染料と結合しやすい官能基を導入できれば、染料の染着量が増加し濃色に染められると考える。GMA 加工糸のスルホン化およびアミノ化を行ったところ、SS 処理糸および AM 処理糸はともに重量増加がみられた。また、SS 処理糸にカチオン染料、AM 処理糸を酸性染料で染色したところ、SS 処理糸および AM 処理糸はともに、GMA 加工糸に比べて濃色に染色された。これらのことから、SS 処理糸はスルホン酸基、AM 処理糸にはアミノ基が導入されたことが示唆された。また、高温処理糸の重量増加は、

既報（花之内，2016）の常温処理糸の重量増加と同程度の数値を示し，高温処理により短時間で官能基を導入でき，染色工場で化学修飾処理を活用できると思われる。なお，酸性染料およびカチオン染料で染色した GMA 加工糸は，未処理よりも淡色に染色された。加古・片山（1993）は GMA モノマーでグラフト重合した絹織物は，酸性染料および塩基性染料の染色性が向上すると報告しており，本実験の結果と真逆の結果となっている。加古・片山（1993）の試料の重量増加率は約 12% であるのに対して，本実験の GMA 加工糸が約 38% の重量増加率であり，絹糸中に 3 倍近くの GMA ポリマーが存在している。今丸ら（1972）は疎水性モノマーのスチレンモノマーを用いたグラフト加工糸を酸性染料で染色すると，染着量が低下することを報告している。この理由として，絹の官能基の一部をスチレンポリマーが封鎖したのではないかと推測している。スチレンと同じ疎水性モノマーの GMA でグラフト重合を行っているため，絹の官能基の一部が GMA ポリマーで封鎖され，酸性染料およびカチオン染料の染着量が低下し，淡色に染まったのではないかとと思われるが，今後の検討課題としたい。

官能基が導入された SS 処理糸および AM 処理糸は，未処理に比べてどれくらいの濃染効果があるのか染色糸を測色し， $L^*a^*b^*$  表色系値および Total K/S 値で評価した。染着量の増加とともに，明度を表す  $L^*$  値が低下することが知られている（高岡ら，1990）。カチオン染料で染色した SS 処理糸は未処理の 40% 程度の  $L^*$  値となり，染料の染着量が高いことが予想される。染料の染着量が高いことから， $b^*$  値が小さくなり，青味が増したものと思われる。SS 処理糸の Total K/S 値は未処理の 7.6 倍の数値となり，かなり高い濃染効果であることがわかった。また，未処理と SS 処理糸間の  $\Delta E^*$  (ab) は 12 以上となり，別の色と判定されたことから，SS 処理糸は人間の感覚的にもわかるほどの濃染効果を有している。ただし，SS 処理糸の Total K/S 値はかなり高いにもかかわらず，青みを表す  $b^*$  値の低下が少ないように思われる。スルホン酸基を導入したことで，急激に染料が繊維表面に吸着する一方で，繊維内部への染料の拡散が遅く，繊維表面で染料が固着する，染料の上被り現象が発生しているのではないかとと思われる。カチオン染料の濃度を下げるとか，緩染剤のようなものを使用して上被り現象が発生しない条件で染色し，濃染効果について詳細に検討することとしたい。カチオン染料で染色した本実験の高温処理糸と既報（花之内，2016）の常温処理糸とでは，染料濃度が同じであるが，糸の太さ（常温処理は 27d/2 諸より糸を使用）が異なること，染料の上被り現象の発生の懸念があるため，本実験の高温処理糸と既報（花之内，2016）の常温処理糸を単純に比較することはできないが， $a^*$  値および  $b^*$  値から常温処理糸の方が，青みが強いことがわかる。また，高温処理糸の Total K/S 値は 595.4，常温処理糸の Total K/S 値が 591.6 であり，同程度の濃色性を示すと思われる。

酸性染料で染色した AM 処理糸の  $L^*$  値は，未処理に比べて僅かに小さく，染料の染着量がわずかに高いことが予想される。染料の染着量が僅かでも高いことから， $a^*$  値が高くなり，赤味が増したものと思われる。AM 処理糸の Total K/S 値は未処理の 1.46 倍であり，濃染効果があることがわかった。未処理を基準とした AM 処理糸の  $\Delta E^*$  (ab) は，色差が極めて著しいと判定されたことから，人間が知覚できるくらいの濃染化が AM 処理糸で達成されていると思われる。なお，AM 処理糸についても SS 処理糸と同様に官能基が導入され，酸性染料の上被り現象が発生すると思われるが，酸性染料の染料濃度は，カチオン染料の染料濃度の 20% 程度の使用量であり，染色後のソーピングで繊維表面の過剰な染料が除去され，染料の上被り現象は少ないと思われる。

SS 処理糸および AM 処理糸の引張特性について，強度については未処理に比べて GMA 加工糸，SS 処理糸および AM 処理糸は大きく低下しているが，破断時の荷重をみると，未処理は 1,755gf に対して，GMA 加工糸，SS 処理糸および AM 処理糸は 1,800gf 以上となり，荷重の低下はみられない。強度は単位織度当たりの数値に換算した数値であり，グラフト加工糸は未処理に比べて重量が約 38% 増加し，重量から換算した織度が増加した分，単位織度当たりの強度値が小さくなったものと思われる。伸度は処理を進めるに従い低下するが，GMA 加工糸，SS 処理糸および AM 処理糸は未処理の 90% 以上の伸度の保持率を示し

ている。また、SS 処理糸および AM 処理糸は GMA 加工糸の 95%以上の伸度の保持率を示し、大幅な伸度の低下はみられなかった。GMA 加工糸、SS 処理糸および AM 処理糸のヤング率は未処理の 70 から 80%くらいの数値であり、グラフト重合により糸がやわらかくなる傾向を示した。また、SS 処理糸および AM 処理糸と GMA 加工糸間のヤング率の差は未処理と GMA 加工糸間の差よりも小さく、SS 処理糸および AM 処理糸と GMA 加工糸間の糸のやわらかさの差はあまりないものと思われる。本実験の高温処理糸と既報（花之内、2016）の常温処理糸の引張特性について、高温処理に比べて温和な常温処理の方が、強度および伸度の低下は少ないと予想されたが、常温処理糸は未処理の 74%の伸度の保持率となり、高温処理糸の方が伸度の保持率が高くなった。常温処理糸は高温処理糸に比べて糸の太さが細く、化学修飾処理の影響を受けやすいため、高温処理糸に比べて伸度が低下したものと思われる。

## 要 約

GMA 加工糸の効率的な化学修飾法として、高温・短時間の化学修飾を検討した。GMA 加工糸に亜硫酸ナトリウム水溶液を反応させた SS 処理糸およびアンモニア水を反応させた AM 処理糸はともに重量増加がみられた。また、カチオン染料で染色した SS 処理糸および酸性染料で染色した AM 処理糸は、GMA 加工糸に比べて濃色に染色され、SS 処理糸はスルホン酸基、AM 処理糸にはアミノ基の導入を確認した。SS 処理糸および AM 処理糸はそれぞれ未処理の 7.6 倍、1.46 倍の Total K/S 値となり、濃染効果があることがわかった。高温・短時間処理の SS 処理糸は、常温・長時間の SS 処理糸と同程度の重量増加率と Total K/S 値を示し、常温処理に比べ短時間で官能基を導入できるので、染色工場で活用できる効率的な化学修飾処理と思われる。なお、SS 処理糸および AM 処理糸の強・伸度は未処理に比べて大幅な数値の低下はみられなかった。

## 引用文献

- 後藤宗治・金子英樹・白石悟智・川喜田英孝・上江洲一也（2017）芳香族アミン系官能基を有するポリマーブラシを用いた中空糸細孔内への酵素の固定化. 北九州工業高等専門学校研究報告, 50, 61-65.
- 花之内智彦（2016）メタクリル酸グリシジルグラフト加工絹糸の濃染化の試み. 蚕糸会研報, 63, 1-4.
- 本馬達夫・生谷吉男（1983）絹繊維の特性, その利点と欠点. 織消誌, 24, 87-93.
- 今丸 眞・渡辺忠雄・阿久根 了（1972）絹繊維のグラフト重合 スチレンまたはメチルメタクリレートグラフト絹繊維の性状について. 日蚕雑, 41, 202-208.
- 加古 武・片山 明（1993）メタクリルアミド/グリシジルメタクリレートおよびグリシジルメタクリレートグラフト絹織物の染色性. 日蚕雑, 62, 137-144.
- 加藤 弘（1987）絹繊維の加工技術とその応用. 185-261, (株)繊維研究社, 東京.
- 近藤一夫（1982）染色の科学. 22-23. (株)建帛社, 東京.
- 京都織物精練協同組合（1990）精練技術誌. 153-181, 京都織物精練協同組合, 京都.
- 難波征太郎・佐々木清文・成田隆人・石坂弘子・柿木英夫（1973）スルホン化したメタクリル酸グリシジルグラフト重合絹糸の摩擦帯電性. 日蚕雑, 43, 45-50.

- 塩崎英樹 (1985) 絹のグラフト加工 - 研究と技術について. 日蚕雑, 54, 91-100.
- 高岡 昭・福田光宗・中村理香 (1990) 植物色素による染色 - インド茜抽出液による染色 -. 家政誌, 41, 859-865.
- 土谷 久 (1981) 測色と表色. 日本火薬染色技術報文集, 1, 807-835.
- 山口新司 (1981) ブラックフォーマル素材. 織消誌, 22, 121-125.
- 吉田弥生・池田善光 (2007) 衣類の濡れに伴う変色. 東京都立産業技術研究センター研究報告, 2, 96-97.

### Summary

Chemically modified yarns were prepared from glycidyl methacrylate (GMA) grafted silk yarns by sulfonation with sodium sulfite (SS-treatment) and amination with ammonia (AM-treatment). The rate of weight increase of the chemically modified yarns and their dyeing experiments confirmed whether functional groups such as sulfonic acid groups and amino groups were introduced to the epoxy groups into the GMA-grafted yarns. The rate of weight increase of the chemically modified yarns were increased. Dyed chemically modified yarns, such as SS-treated yarns dyed with cationic dye and AM-treated yarns dyed with acidic dye were dyed deeper color than the GMA-grafted yarns. There were indicated that sulfonic acid groups were introduced into the SS-treated yarn and amino groups were introduced into the AM-treated yarn. Total K/S values of the SS-treated and AM-treated yarns were 7.60 and 1.46 times as large as those of the untreated yarns. Thus, there were found that the SS-treated yarns and AM-treated yarns had effective for deep color dyeing with cationic dye and acid dye, respectively. The tensile properties of SS--treated yarns and AM-treated yarns were lower than those of untreated yarns, but the effect of chemical modification was slight.

# カイコ用ペレット人工飼料への 各種化合物添加による利用法の検討

持田裕司・松本正江・竹村洋子・大沼昭夫

蚕糸科学技術研究所

(2022年2月15日受理)

YUJI MOCHIDA, MASAE MATSUMOTO, YOKO TAKEMURA and AKIO OHNUMA, Study on various utilization of artificial pellet diet for silkworm by soaking chemical compounds

## 緒 言

カイコの人工飼料飼育は、1960年に全幼虫期間の飼育に成功した後、組成の改善と飼育技術の進歩により、1～2齢あるいは1～3齢の共同稚蚕人工飼料育が広く養蚕現場に普及した(水田ら, 1973)。また、人工飼料の低コスト化をめざした研究と相まって、人工飼料により適合した広食性蚕品種の育成も行われた(山本, 1994)。

カイコの人工飼料の低コスト化をめざした研究開発の過程で、ペレット状の人工飼料(ペレット人工飼料)が開発された(堀江, 1991)。このペレット人工飼料は、2軸エクストルーダーで作る多孔質でペレット状の乾燥飼料であり、使用する際に水に浸漬して調製する。粉末状の飼料原体(乾物飼料)に一定量の水を加えて、一定時間加熱した後に冷却して、給餌可能な飼料(湿体飼料)に調製する従来の人工飼料とは異なり、ペレット人工飼料は水戻しするだけでカイコに給餌可能となるという特徴を有している。

この特徴を活かしたペレット人工飼料の新たな利用法が期待される。そこで、本報では、ペレット人工飼料の新たな利用法として、3眠蚕の誘導、農薬の影響及び着色繭の作製を試みたので、それらの結果の概要について報告する。

## 材料と方法

人工飼料は、日本農産工業株式会社の原種1-3齢用S人工飼料(ソーセージタイプ、以後、シルクメイトSとする。)及び原種用1-3齢及び壮蚕用(粉体、以後、シルクメイトMとする。)を用いた。また、ペレット人工飼料は、シルクメイトMとトウモロコシ粉末の混合物を原体として、東芝機械株式会社製の二軸エクストルーダーを用いて作製した(持田ら, 2021)。

### 1. イミダゾール系化合物による3眠蚕の誘導

供試蚕品種として「プラチナボーイ」及び「錦秋×鐘和」を用いた。

イミダゾール化合物のkk-62(1-benzyl-5-[2,6-dimethyl-heptanyl]imidazole)は、従来から誘導3眠蚕化剤として利用されている(Akai et al, 1984, 木内ら1985, 持田ら, 2011)。0.02gのkk-62を0.3mlのエタノールで溶解し、722mlの0.3%プロピオン酸水を加えよく混合した。278gのペレット人工飼料(乾体)をポリピレン製の袋に入れ、そこにkk-62を含む溶液を加え、袋の外側から軽く手で揉んで、袋中のペレット飼料とよく混合し、30～40分間静置した後に給餌した。

比較対照として、従来から3眠蚕の誘導で使われている“湯練り人工飼料”を用いた。0.2gのkk-62を0.3mlのエタノールで溶解した後、722mlの温湯(85℃)を加えた。ここに素早くシルクメイトMを加え、

ミキサー (KicthienAidK5ss) でよく攪拌した後、直ちにタッパーに入れて冷却し、5℃で保存した。

1～2齢はシルクメイトSで飼育し、3齢餉食から2日間はkk-62を添加した人工飼料を摂食させた。各区300頭の2連で、この2日間の人工飼料給餌量は1頭当たり0.3gとした。3齢3日目から上蔭までの期間は桑葉で飼育した。

## 2. トリフミン水和剤による3眠蚕の誘導

供試蚕品種として「錦秋×鐘和」及び「ひたち×にしき」を用いた。

日本曹達株式会社のトリフミン水和剤（以後、トリフミン）を450ppm含む350mlの温湯（85℃）と175gのシルクメイトMをミキサーでよく攪拌した後、給餌するまでタッパーに入れて5℃で保存した。ペレット飼料では、175gのペレット飼料に450ppmのトリフミンを含む350mlの蒸留水を加え、よく吸水させた。なお、吸水の方法は、前記のポリピレン製の袋を用いた方法と同じである。

試験区Iは、①ペレット飼料にトリフミン水溶液を吸水させた区、②シルクメイトMにトリフミン水溶液を添加した区、③トリフミン無添加のペレット飼料区（対照）及び④トリフミン無添加のシルクメイトMの区（対照）を設定した。各試験区は300頭の2連とし、3齢餉食時に1頭当たり0.3gの飼料を与え、2日間摂食させた後、上蔭まで桑葉で飼育した。なお、1～2齢期間はシルクメイトSで飼育した。

また、上述の試験では、トリフミンがペレット人工飼料全体に均一に分布していない可能性が示唆されたので、試験区IIは、トリフミンを2mlのアセトンで溶解してから、上述と同様に飼料の調製を行い、同様の試験を行った。

## 3. 農薬のカイコに対する影響評価

供試蚕品種として「小石丸」、「東」及び「ひたち×にしき」を用いた。

住友化学株式会社のスミチオン乳剤と住友化学株式会社のBT水和剤STゼンターリン顆粒水和剤のカイコに対する影響を調査した。農薬の濃度は、 $10^{-3}$  Mから $10^{-8}$  Mに設定した。小径の稚蚕用ペレット飼料100gに試験液200mlを吸水させた飼料を給餌した。吸水方法は前述の方法と同じである。シャーレ(9cm×1.5cm)を用いて、各試験区50頭の2連で蟻蚕から摂食させ、毛振率と2齢起蚕率を調査した。

## 4. 着色繭の作製

供試蚕品種として「ひたち×にしき」を用いた。

染料剤として、株式会社柳屋のローズピンク、パープル、ブルー、ネイビーブルーの4種類を用いて、濃度が1%と2%の水溶液を調製した。また、富士フィルム和光純薬株式会社のローダミンBを用いて、0.03%の濃度の水溶液を調製した。100gのペレット飼料に各水溶液200mlを吸水させた飼料を与えた。各試験区50頭の2連で5齢1日目から6日間、1頭当たりトータルで17gの飼料を与えた。飼育成績の他に、繭の着色についても調査した。

なお、1～4齢期間はシルクメイトSで飼育した。

## 結 果

### 1. イミダゾール系化合物による3眠蚕の誘導

誘導3眠蚕化剤を添加した人工飼料を与えたカイコの飼育成績を表1に示した。kk-62を添加したペレット人工飼料を与えた時の3眠化率は、「プラチナボーイ」で98.7%、「錦秋×鐘和」で96.9%であり、いずれの品種でも3眠化率は非常に高い確率であった。これらの値は、比較対照とした“湯練り人工飼料”を与えたときの3眠化率の99.2%（プラチナボーイ）及び99.0%（錦秋×鐘和）と比べて、差異は認められなかった。

3齢経過は、ペレット人工飼料を与えた試験区の方が“湯練り人工飼料”を与えた試験区よりも若干長かった。しかし、繭重、繭層重、繭糸長、繭糸織度などには両者の間で大きな差異は見られなかった。この結果は、両区の飼料条件（1～2齢：シルクメイトS，3齢3日目～上簇：桑葉）が、kk-62を添加した人工飼料を与えた3齢起蚕からの2日間を除けば、全く同じであることを考えれば当然の結果であると思われる。

表1 ペレット人工飼料及び湿体人工飼料へkk-62を添加した飼育成績

品種名	飼料	3齢	4齢	5齢	全齢	3眠	化蛹	取繭	単繭	繭層	繭層	繭糸	繭糸	繭糸	解舒	生糸量
		経過	経過	経過	経過	化率	歩合	量	重	重	歩合	長	量	織度	率	歩合
		(日・時)	(日・時)	(日・時)	(日・時)	(%)	(%)	(kg)	(g)	(cg)	(%)	(m)	(cg)	(d)	(%)	(%)
プラチナ ボーイ	ペレット+kk-62	6.17	6.16	-	20.19	98.7	97.1	11.6	1.29	29.5	22.9	1,082	23.1	1.93	91.3	18.7
	湯練+kk-62	6.07	6.16	-	20.19	99.2	97.8	12.3	1.28	29.5	23.1	1,107	23.9	1.95	93.9	19.0
	ペレット(対照)	3.23	5.00	6.01	22.20	0.0	96.7	17.7	1.87	48.1	25.3	1,203	37.4	2.80	91.5	20.3
	湯練(対照)	3.23	5.00	6.01	22.20	0.0	96.7	17.7	1.86	47.1	25.8	1,240	37.4	2.72	96.3	20.5
錦秋 × 鐘和	ペレット+kk-62	6.23	6.00	-	20.19	96.9	94.1	12.2	1.32	26.9	20.3	942	20.9	2.00	96.3	15.8
	湯練+kk-62	6.07	6.16	-	20.19	99.0	97.5	13.2	1.46	30.0	20.5	991	22.9	2.08	92.8	15.8
	ペレット(対照)	4.07	4.16	6.07	23.02	0.0	98.5	21.1	2.10	48.4	23.0	1,127	38.2	3.05	96.6	17.9
	湯練(対照)	4.07	4.16	6.07	23.02	0.0	98.2	21.0	2.11	48.5	23.0	1,225	39.1	2.88	92.8	18.1

1-2齢はシルクメイトSを用い飼育した。ペレットは水戻し時にkk-62を添加した。湯練は、シルクメイトMの湯練り時にkk-62を添加した。各区3齢起蚕で300頭調整。無添加の人工飼料(対照)で飼育。各区3齢飼食から2日間各飼料を摂食させ3日目より上簇まで桑葉育。各区300頭×2連で飼育。

### 2. トリフミン水和剤による3眠蚕の誘導

現在、イミダゾール系化合物のkk-62は、製造中止となっている。このため、日本曹達株式会社のトリフミン水和剤を用いて、3眠蚕の誘導を試みた。トリフミン水和剤は、イミダゾール系化合物であるトリフミゾールを主とする市販の農薬であり、kk-62の代替としてカイコの3眠化を誘導できる薬剤であることが報告されている（岡田ら，2008）

トリフミンを添加した人工飼料を与えたカイコの飼育成績を表2に示した。試験区Iは、トリフミンをそのまま水に溶かし、ペレット人工飼料を与えた時の3眠化率は、「錦秋×鐘和」で35.3%、「ひたち×にしき」で14.1%であり、トリフミン添加の“湯練り人工飼料”を与えた時の3眠化率、99.7%（錦秋×鐘和）及び（ひたち×にしき）100%に比べて極めて低い値であった。また、化蛹歩合を両飼料間で比べてみると、いずれの品種においてもペレット人工飼料区の方が低かった。

試験区IIでは、トリフミンをアセトンで溶解した場合の3眠化率及び化蛹歩合のいずれにおいてもペレット人工飼料区と“湯練り人工飼料区”の間に差異は見られず、いずれも高い値を示した。

表2 ペレット人工飼料及び湿体人工飼料へトリフミンを添加した飼育成績

品種名	飼料	3齢 経過 (日・時)	4齢 経過 (日・時)	5齢 経過 (日・時)	全齢 経過 (日・時)	3眠 化率 (%)	化蛹 歩合 (%)	収繭 量 (kg)	単繭 重 (g)	繭層 重 (cg)	繭層 歩合 (%)	繭糸 長 (m)	繭糸 量 (cg)	繭糸 織度 (d)	解舒 率 (%)	生糸量 歩合 (%)	小節 点 (点)	
試験区 I																		
錦秋 × 鐘和	①ペレット+トリフミン	8.00	6.08	-	22.07	35.3	74.3	14.9	1.78	40.2	22.3	-	-	-	-	-	-	-
	②湯練+トリフミン	8.00	6.08	-	22.07	99.7	93.1	14.7	1.50	32.5	21.7	1,256	26.2	1.91	89.9	17.3	94.5	
	③ペレット(対照)	5.00	5.00	7.02	25.01	0.0	93.1	22.1	2.29	54.2	23.6	1,489	45.0	2.76	76.2	19.1	97.5	
	④湯練(対照)	5.00	5.00	7.02	25.01	0.0	93.1	22.3	2.17	51.6	23.8	1,332	42.9	2.94	79.1	19.0	97.5	
ひたち × にしき	①ペレット+トリフミン	4.08	10.18	-	24.08	14.1	39.7	8.3	1.98	45.9	23.4	-	-	-	-	-	-	-
	②湯練+トリフミン	7.08	7.04	-	21.03	100.0	99.4	21.2	1.44	32.7	22.7	1,167	25.8	2.03	80.3	17.6	99.0	
	③ペレット(対照)	4.07	5.01	6.17	23.00	0.0	97.4	21.2	2.18	51.3	23.5	1,265	43.3	3.13	85.9	19.6	99.5	
	④湯練(対照)	4.07	5.01	6.17	23.00	0.0	98.0	21.3	2.15	50.5	23.5	1,353	41.7	2.83	83.1	19.4	99.0	
試験区 II																		
錦秋 × 鐘和	①ペレット+トリフミン	7.00	6.04	-	21.03	97.6	91.1	11.8	1.24	27.4	22.0	1,146	23.0	1.84	87.8	18.7	95.5	
	②湯練+トリフミン	7.00	6.09	-	21.02	99.7	91.4	13.4	1.38	30.5	22.1	1,188	25.7	1.98	92.7	18.2	96.0	
	③ペレット(対照)	4.16	5.00	6.04	23.03	0.0	95.7	19.1	1.90	44.5	23.4	1,222	34.8	2.60	92.8	17.6	97.0	
	④湯練(対照)	4.16	5.00	6.04	23.03	0.0	95.7	19.1	1.90	44.5	23.4	1,222	34.8	2.60	92.8	18.1	96.0	
ひたち × にしき	①ペレット+トリフミン	7.00	6.08	-	20.07	99.4	96.9	12.2	1.28	28.3	22.1	1,004	22.2	2.02	81.8	17.6	99.5	
	②湯練+トリフミン	7.00	6.08	-	20.07	99.7	99.1	12.2	1.23	27.7	22.4	985	22.2	2.06	92.3	18.2	97.0	
	③ペレット(対照)	4.00	5.08	5.23	22.06	0.0	90.4	17.7	1.91	42.8	22.4	1,172	34.3	2.68	97.9	17.7	99.0	
	④湯練(対照)	4.00	5.00	6.07	22.06	0.0	96.6	17.7	1.80	41.7	23.1	1,136	32.1	2.59	79.9	17.7	98.0	

1-2齢はシルクメイトSを用い飼育した。①ペレットは水戻し時にトリフミンを添加した。②湯練は、シルクメイトMの湯練り時にトリフミンを添加した。③と④は無添加の人工飼料(対照)で飼育。各区3齢飼食から2日間各飼料を摂食させ3日目より上簇まで桑葉育。各区350頭×2連で飼育。

試験区 I ; トリフミンをそのまま添加, 試験区 II ; アセトンにてトリフミンを溶解後に混合。

表3 スミチオン乳剤を添加したペレット人工飼料での毛振と2齢起蚕率

スミチオン乳剤 希釈濃度	ひたち×にしき		東		小石丸	
	24時間 毛振率	2齢 起蚕率	24時間 毛振率	2齢 起蚕率	24時間 毛振率	2齢 起蚕率
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	100	98.0	52.0	40.0	92.0	12.0
10 <sup>-3</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10 <sup>-4</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10 <sup>-5</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10 <sup>-6</sup>	14.0	2.0	18.0	12.0	2.0	0.0
10 <sup>-7</sup>	100	98.0	20.0	32.0	84.0	14.0
10 <sup>-8</sup>	100	100	52.0	28.0	80.0	16.0

各濃度に希釈したスミチオン乳剤でペレット人工飼料の水戻しを行った。

表4 ゼンターリ BT 水和剤を添加したペレット人工飼料での毛振と2齢起蚕率

ゼンターリ BT水和剤 希釈濃度	ひたち×にしき		東		小石丸	
	24時間 毛振率	2齢 起蚕率	24時間 毛振率	2齢 起蚕率	24時間 毛振率	2齢 起蚕率
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	100	100	44.0	32.0	92.0	18.0
10 <sup>-3</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10 <sup>-4</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10 <sup>-5</sup>	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10 <sup>-6</sup>	66.0	24.0	2.0	0.0	50.0	4.3
10 <sup>-7</sup>	98.0	90.0	12.0	10.0	74.0	2.6
10 <sup>-8</sup>	100	100	18.0	22.0	96.0	13.2

各濃度に希釈したゼンターリBT水和剤でペレット人工飼料の水戻しを行った。

### 3. 農薬のカイコに対する影響評価

スミチオン乳剤及びゼンターリ BT 水和剤を添加したペレット人工飼料での飼育結果をそれぞれ表 3 及び表 4 に示した。スミチオン乳剤においては、「ひたち×にしき」、「東」及び「小石丸」のいずれの品種においても  $10^{-3}M \sim 10^{-5}M$  の範囲で毛振している個体は全く見られなかった。 $10^{-6}M$  以下の濃度では、毛振蚕や 2 齢起蚕が見られたが、品種の間で若干違いが見られ、「東」が一番強く影響を受け、「ひたち×にしき」は影響が一番弱く、「小石丸」はその中間であった。しかし、スミチオン乳剤無添加のペレット人工飼料に対する適性（毛振率及び 2 齢起蚕率）が 3 品種の間で異なっていることから、今回の結果のみで、スミチオン乳剤の影響に 3 品種の間で違いがあると判断するのは難しいと思われる。

ゼンターリ BT 水和剤においても、スミチオン乳剤で得られた結果とほぼ同様な結果が得られた。

### 4. 着色繭の作製

表 5 に示したように、各種染料を添加したペレット人工飼料を与えても今回の試験に用いた「ひたち×にしき」の成育に大きな影響は見られなかった。また、図 1 に示したように、染料を添加したペレット人工飼料を与えることにより、繭を着色させることが可能であった。しかし、染料の種類によって、繭が着色する場合と、着色しない場合があった（表 6）。このうち、ローダミン B は、毒性が強く、0.1% の濃度では全てが死亡したが、0.03% の濃度では着色繭になった。

繭が着色する場合、食下された染料は、中腸から体内に循環されるため、図 2 に示したように、幼虫の体も染料の色を呈した。繭が着色する他の染料でも同様な結果が得られた。繭が着色しない場合には、幼虫の体も染色されていなかった。

表 5 各染料でペレットを水戻し, 5 齢に与えた飼育成績

染料水/濃度	経過日数		化蛹歩合 (%)	収繭量 (kg)	単繭重 (g)	繭層重 (cg)	繭層歩合 (%)
	5 齢 (日・時)	全齢 (日・時)					
ローズピンク 1%	7.02	23.22	100	16.6	1.52	31.4	20.7
パープル 1%	7.02	23.22	100	16.1	1.53	32.3	21.1
ブルー 1%	7.02	23.22	100	16.3	1.51	31.5	20.8
ネイビーブルー 1%	7.02	23.22	96.0	15.8	1.63	34.5	21.2
ローズピンク 2%	7.02	23.22	100	16.4	1.59	24.1	15.2
パープル 2%	7.02	23.22	100	15.0	1.43	30.9	21.5
ブルー 2%	7.02	23.22	92.0	14.4	1.52	33.3	21.8
ネイビーブルー 2%	7.02	23.22	100	15.4	1.48	29.8	20.2
無添加(対照)	7.02	23.22	100	17.4	1.74	35.3	20.3

供試品種は「ひたち×にしき」を用い各区 50 頭×2 連。  
1-4 齢はシルクメイト S を用いた。

表 6 カイコのペレットへの試薬添加摂食による繭の染色

染色試薬	分子量		(%)	繭染色
ニュートラルレッド	288	塩基性	0.1	○
メチルオレンジ	327	酸性	0.1	○
ローダミン B	479	塩基性	0.03	○
メチレンブルー	320	塩基性	0.1	△
メチルレッド	269	酸性	0.1	×
エオシン	647	酸性	0.1	×
トリパンブルー	961	塩基性	0.2	×

供試品種「ひたち×にしき」



図 1 染料添加ペレット飼料によって生育した蚕が作った繭

1-A はローズピンク 1% . 1-B はパープル 1% . 1-C はブルー 1% . 1-D はネオビーブルー 1% . 対照は無添加 .

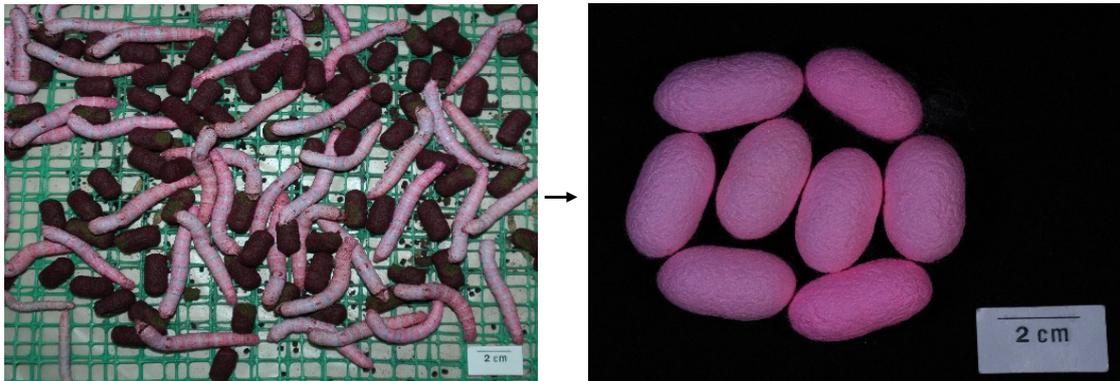


図2 ローダミンB添加ペレット飼料を与えたカイコと繭

### 考 察

ペレット人工飼料は、水戻しするだけでカイコに給餌が可能となる簡易な人工飼料である。今回、この特性を利用したペレット人工飼料の新たな利用法について検討した結果、イミダゾール系化合物等による3眠蚕の誘導、農薬によるバイオアッセイ、クラフト作製に利用できる着色繭の作製等において利用が可能であることが判った。

従来の誘導3眠化法は、かつて市販されていた“かんたん人工飼料”等にkk-62を添加し、ミキサーなどで混合し、湯練り飼料とするものであった。この方法に比べ、ペレット人工飼料では水戻しの際に3眠化剤を添加するだけで簡単に給餌できることから、3眠蚕作出の効率化が期待される。しかしながら、トリフミン水和剤の3眠蚕の誘導の試験において、ペレット人工飼料の水戻し水にトリフミン水和剤を直接溶解させて使用した場合、3眠蚕の誘導率が極めて低かった（試験区Ⅰ）。そこで、トリフミンを一旦アセトンに溶解させた後に、水戻し水と混合して使うと、高い3眠蚕誘導率が得られた（試験区Ⅱ）。この結果は、水溶性ではない化合物を飼料に混合するときには、適切な溶媒を選択することが重要であることを示唆している。

カイコを用いた農薬等薬物の生物検定における問題点の一つとして、飼料の調製方法の煩雑さ等があげられているが（浅野・宮本，2004）、ペレット人工飼料を用いることで解決できる事例も多いと考えられる。しかし今回の結果は、ペレット人工飼料を用いて農薬等のバイオアッセイを行う場合、カイコの食性について十分留意しなければならないことを示している。つまり、食性の影響が大きく出て、農薬等の影響を潜在化してしまうことが危惧される。飼料に対する食性（嗜好性）は、通常の人工飼料に比べ、ペレット人工飼料の方が蚕品種間での差異が大きいと推察されるので、ペレット人工飼料を用いた試験結果から農薬等の影響について蚕品種間での差異を論じようとするときにはとりわけ注意が必要である。

繭人形等のクラフト製作の場では、着色繭に対する需要が高い。今回、染料とペレット人工飼料を用いて容易に着色繭を生産できることが判った。ただし、染料の種類によって着色繭を作れる場合とそうでない場合があり、この違いが何に起因するかは今のところ不明である。

新薬の開発においては、試験管内で探索された生理活性を有する候補化合物に対して、その治療効果を適切なモデル動物で評価することが必要である。最近、関水らを中心に、カイコをモデル動物として創薬研究が行われている（浜本・関水，2014，浜本・関水，2018）。膨大な候補化合物の中から、目的とする化合物を効率的にスクリーニングするためには、簡易で効率的な方法が必要となる。今後、ペレット人工飼料とカイコを使ったアッセイ系が有効な手段・方法となることを期待したい。

## 要 約

今回、使用する際に水に浸漬（水戻し）するだけで給餌が可能なペレット人工飼料の特性を利用して、水戻し時に各種化合物を混合したペレット人工飼料の新たな利用法について検討した。その結果、イミダゾール系化合物等の添加による3眠蚕の誘導、農薬添加によるバイオアッセイ、染料添加によるクラフト作製の着色繭の作製が可能となり、ペレット人工飼料は従来の人工飼料に比べて、極めて簡便にアッセイ系や生産系に利用できることが判った。

## 引用文献

- Akai, H., Kimura, K., Kiuchi, M., and Shibukawa, A. (1984) The effect of anti-juvenile treatment on cocoon and cocoon filaments in *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn., 53, 545 – 546.
- 浅野昌司・宮本 和久 (2004) *Bacillus thuringiensis* 製剤の品質管理のためのカイコを用いた生物検定—現行法とその修正案—. 応動昆, 48, 13-21.
- 岡田英二・中島健一・三澤利彦・大沼美雪・宮崎栄子・間瀬啓介・高林千幸 (2008) カイコの3眠蚕と4眠蚕における生糸の光沢・色彩について. 日本シルク学会誌, 17, 7-21.
- 木内 信・木村敬助・赤井 弘 (1985) 抗幼若ホルモン活性物質投与による3眠蚕の誘導とその計量形質. 日蚕雑, 54, 77-81.
- 浜本・関水 (2014) カイコをモデル動物とした創薬. 生化学, 86, 578-582.
- 浜本・関水 (2018) カイコ細菌・真菌感染モデルを用いた新規抗生物質の開発. Yakugaku Zasshi 138, 895-899.
- 堀江保宏 (1991) 簡易調製人工飼料の開発, 蚕糸科学と技術, 30, 46-49.
- 水田美照・島貫英二・古山三夫・中村正雄・遊佐富士雄 (1973) 人工飼料による稚蚕飼育標準表の作成に関する試験. 蚕糸試験場彙報, 98, 1-16.
- 持田裕司 (2011) イミダゾール化合物 KK-42 の投与による原種の3眠化率の品種間差異について. 蚕糸会研報, 59, 15-20.
- 持田裕司・松本正江・竹村洋子・大沼昭夫 (2021) カイコ用ペレット人工飼料の作製法と飼料組成の検討. 蚕糸会研報, 68, 33-51.
- 山本俊雄 (1994) 新広食性蚕品種「はばたき」の性状. 蚕糸科学と技術, 33, 26-29.

## Summary

In this study, we investigated the new application of pellet artificial diet mixed with various compounds during the soaking process, taking advantage of the characteristics of pellet artificial diet, which can be fed by simply soaking in water at the time of use. As a result, it became possible to induce three-molting silkworms by adding imidazole compounds, to conduct bioassays by adding pesticides, and to produce colored cocoons for craft production by adding dyes.



# 食性異常蚕と広食性蚕の選抜継代

竹村洋子・大沼昭夫・持田裕司

蚕糸科学技術研究所

(2022年2月18日受理)

TAKEMURA YOKO, AKIO OHNUMA and YUJI MOCHIDA : Rearing of the non-preference mutations and polyphagous silkworm

## 緒言

カイコは桑葉以外の餌を食さない狭食性の産業昆虫である。なぜ、桑葉を好んで食べるのか？興味深い問題である。鳥居・森井（1948）は、小顎の先端を除去するとカイコはクワ葉以外の植物を食下するようになることを報告した。また、カイコの人工飼料が普及するにつれて（伊藤，1983；堀江，1990），人工飼料により適合した蚕品種の育成が求められた。そこで，人工飼料に対して遺伝的に適性を備えた蚕品種を育成するため，桑葉を識別する機能を失った小顎を持ち，クワ葉以外の植物を食べるカイコの作出が試みられた（田島・小林1952）。1952年，53年および83年にx線およびγ線照射による突然変異誘発処理とフダンソウに対する摂食性の選抜を行うことにより，食性異常の変異系統を選抜することに成功した（田島ら，1984；田島・大沼，1985）。しかし，これらの系統は食物の摂食範囲は広がったが，劣性の致死遺伝子を伴っているため，これらから実用品種を育成することは困難であった（田島・町田，1958）。

そこで，横山（1970，1975）は，致死遺伝子を伴わない食性に関する自然突然変異蚕を見つけ出すことを目的に，数多くの保存品種の4齢起蚕にキャベツを与えることにより，広い食性を有するカイコのスクリーニングを行い，「沢J」を育成した。その後，朝岡・真野（1992）は，摂食調査に用いる飼料をキャベツから桑葉粉末が添加されていない「LP-1人工飼料」（堀江・渡辺，1983）に切り替えることにより，人工飼料により適材の品種（実用品種）を選抜，育成した。現在，「あさぎり」，「はばたき」，「ほのぼの」等が低コスト人工飼料に適合する代表的な広食性品種として育成されている（真野ら，1991；山本，1994；山本俊雄ら，2000）。このように「沢J」をはじめとする食性に関する自然突然変異蚕は，以後，実用的な広食性蚕品種の開発に利用されてきた。

本報告では，フダンソウに対する摂食性を指標に選抜継代している放射線照射由来の食性異常系統および桑葉粉末無添加人工飼料に対する摂食性を指標に選抜継代している自然食性突然変異系統の長期間にわたる選抜継代について報告する。現在，日本遺伝学会より優性を顕性，劣性を潜性に言い換えられているが，利便上，優性と劣性を用いた。優性，劣性は，子の代での形質の現れ方に基づいた言葉で，優れている，劣っているという意味ではない。

## 材料と方法

### 1. フダンソウによる放射線照射由来の食性異常系統の選抜継代

供試蚕品種として，1952年，1953年および1983年に放射線照射を行い，フダンソウ等に対する摂食性で選抜された系統，「A-4」，「D-1」，「D-5」，「E-11」及び「S-2」の5系統を用いた。1～2齢は桑葉

で飼育し、3 齢飼食前に石灰を撒いて蚕座を乾燥した後、短冊状に切ったフダンソウ（株式会社サカタの種）を 30 分間与えた。この間にフダンソウを摂食したカイコの数を調べ、摂食した頭数を全頭数で除した値をフダンソウの 3 齢摂食率とした。この摂食率を指標として選抜継代を行った。

選抜継代は、1994 年から 2021 年までの 28 年間、毎年行った。

## 2. 桑葉粉末無添加人工飼料（M-0 飼料）による自然突然変異の食性異常系統の選抜継代

供試蚕品種として、キャベツや桑葉粉末無添加人工飼料により選抜した食性異常系統（広食性系統）の「セヴェンヌ白」、「バグダッド」、「世界一」、「緋紅」、及び「沢 J」、並びに選抜された食性異常系統の広食性遺伝子を基に蛾区選抜やアレル交配した系統である「peSek」（Sek と同じ染色体 *pe* を連鎖させて蛾区選抜した系統）、「Brd」（国指定品種 ANS82A を元とする系統）、「ZeBJpe」（「Brd」と「沢 J」を掛け合わせ、*p<sub>ph</sub>* を同じ第 3 染色体の *Ze* と連鎖させ、第 5 染色体の *pe* を導入した系統）及び「Ze-L」（「沢 J」由来、*p<sub>ph</sub>* をヘテロに持ち、*Ze* を *Ze<sup>p<sub>ph</sub></sup>* と連鎖させた系統）の 9 系統を用いた（大沼・田島, 1996；田島・大沼, 1991；1992）。

用いた桑葉粉末無添加人工飼料（M-0 飼料）は、大沼（1998）が堀江・渡辺（1969）の開発した組成から噛みつき因子のモリンを抜くなどの改良を加えたものを用いた（表 1）。以前は、粉体飼料と防腐剤を含む蒸留水を混合した後、30 分間蒸煮することにより飼料を調製していた。しかし現在は、①ポリプロピレン製タッパーウェア（13.5 × 20.5 × 5.8cm, 容量 1.4ℓ）に粉体飼料 186g, 防腐剤 30ml, 蒸留水 525 ml を入れ、よく攪拌→②軽くキッチンラップで蓋をして、電子レンジ（500W）で 7 分間加熱後、スパチュラで良く攪拌→③さらにもう一度電子レンジ（500W）で 7 分間加熱した後、良く攪拌→飼料を直接キッチンラップで覆い、30 分間水冷した後、冷蔵庫に保管するという手順で調製している。

表 1 人工飼料の組成

M-0人工飼料組成		無機塩混合物の組成		ビタミンB混合物の組成	
物質	重量(g)	物質	重量(g)	物質	重量(g)
1 βシトステロール	5	硫酸マンガン	0.5	ビオチン	0.02
2 ソルビン酸	4	塩化ナトリウム	1.0	葉酸	0.02
3 L-アスコルビン酸	10	リン酸第2鉄	2.0	リボフラビン	0.2
4 無機塩混合物	45	リン酸カルシウム	5.0	塩酸チアミン	0.2
5 ビタミンB群混合物	10	塩化カリウム	15.0	ピリドキシン(B6)	0.3
6 クエン酸	50	リン酸マグネシウム	15.0	ニコチン酸	1.0
7 寒天	150	炭酸カルシウム)	20.0	パント酸カルシウム	1.5
8 大豆油	30(40cc)	リン酸2カリウム	41.5	イノシトール	20.0
9 馬鈴薯澱粉	100	合 計	100.0	塩化コリン	15.0
10 蔗糖	100			セルロース	62.0
11 脱脂大豆粉末	400	防腐剤組成		合 計	100.0
12 セルロース粉末	340	物質	混合量		
合 計	1234.0	クロラミフェニコール	750mg		
		プロピオン酸	35ml		
13 防腐剤	200ml	蒸留水	965ml		
14 蒸留水	3500ml	合 計	1000.0		

1-4ですり鉢を使用してよく混ぜる  
1, 2で混ぜない方がベター  
大豆油は寒天単体に混合して用いる  
1-12で良く混合する

孵化した蟻蚕にM-0飼料を与え、48時間後の毛振率を調査した。この48時間後毛振率を指標にして選抜継代を行った。選抜継代は、1994年から2021年までの28年間、毎年行った。また、「ZeBJpe」と「Ze-L」については、摂食、不摂食の幼虫について斑紋分離調査を行った。

## 結 果

### 1. フダンソウによる放射線照射由来の食性異常系統の選抜継代

放射線照射とフダンソウ等による摂食性により選抜された系統の1994年から2021年までの28年間におけるフダンソウに対する3齢起蚕の摂食率の変化を表2に示した。「A-4（食性異常遺伝子*Np-A4*）」の摂食率は36.0% ± 10.2（平均値 ± 標準偏差）であり、同様に、「D-1（*Bt*）」では48.4% ± 14.6、「D-5（細胞質因子）」では43.8% ± 13.8、「E-11（*Np*）」では31.5% ± 9.9、「S-2（*Nps*）」では35.3% ± 6.9であり、5系統の平均値は、39.0% ± 2.8であった。致死遺伝子を持つ系統である「A-4」および「E-11」の孵化率は、それぞれ50%および63%であった。また「D-1」の*Bt*は、*spli*のアレルであり、幼虫体が柔らかい。年により摂食率に変動が見られるものの、フダンソウに対する3齢摂食率を毎年調査することに、また、致死遺伝子を持つ系統では孵化率も併せて調査することにより、各系統の食性異常遺伝子は継代できているといえる。

### 2. 桑葉粉末無添加人工飼料（M-0飼料）による自然突然変異の食性異常系統の選抜継代

供試した自然突然変異の食性異常9系統のM-0飼料による毛振率の結果を表3、図1に示した。2010年には、原因は不明であるが、明らかにほとんど全ての系統で毛振率に異常な値が認められた。そこで、2011年から2017年までは、広食性蚕育成用シルクメイトL4M（日本農産工業株式会社、2011年製）を用いて毛振率の調査を行った。表2の平均値と標準偏差は、2010年から2017年の毛振率を除いた値である。

M-0飼料に対する毛振率の平均値は、広食性遺伝子*Sek*を持つ「セヴェンヌ白」、「バグダッド」、「世界一」及び「pe*Sek*」ではそれぞれの93.3%、97.6%、97.2%及び97.9%であり、いずれも高い値を示した。広食性遺伝子*Sek*と*pph*の両方持つと仮定している「緋紅」では86.0%と若干低い値であった。また、広食性遺伝子*pph*のみを持つ系統では、「沢J」、「Brd」及び「ZeBJpe」ではそれぞれ98.7%、98.5%及び92.5%と高い値を示した。「Ze-L」においては、*pph*をヘテロに持つため81.0%と若干低い値であったと考えられる。今回の結果から、用いた9系統いずれもM-0飼料に対して高い摂食性を有しているといえる。「ZeBJpe」や「Ze-L」については、摂食率調査のほか、3、4齢時に摂食、不摂食幼虫の斑紋分離の有意差を調査した（表4）。「ZeBJpe」は、摂食、不摂食幼虫とも*Ze*と<sup>Ze</sup>の頭数の間に有意差がなく、「Ze-L」の頭数は、摂食した区の*Ze*と<sup>Ze</sup>の間には*Ze*が少なく、不摂食では*Ze*が多くとも有意差がある事が、 $\chi^2$ 乗検定により確認された。これにより、食性遺伝子の連関と不完全優性が確認できている。このようにして広食性に対する摂食調査と継代維持を行っている。



図1 M-0人工飼料による48時間後の毛振い  
左:C108, 右:沢J

表2 放射線照射による食性突然変異蚕による年別フダン草3齡摂食率(%)

品種名	食性異常 遺伝子	1994年	1995年	1996年	1997年	1998年	1999年	2000年	2001年	2002年	2003年	2004年	2005年	2006年	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年	2014年	2015年	2016年	2017年	2018年	2019年	2020年	2021年	平均	標準 偏差
A-4	Np-A4	26.7	23.5	23.0	26.1	35.3	34.4	30.0	35.9	44.8	20.5	50.8	19.0	43.2	48.5	22.4	42.8	20.6	43.3	42.5	48.8	32.2	35.3	53.4	47.0	43.4	31.3	38.4	45.0	36.0	10.2
D-1	Bt	6.3	5.0	35.8	44.0	47.7	45.6	40.6	64.7	71.6	60.6	59.7	44.8	63.3	35.4	49.9	57.5	63.5	69.3	50.8	53.8	35.3	38.9	38.3	28.6	32.1	39.3	71.1	56.8	48.4	14.6
D-5	細胞質因子	24.3	23.4	15.8	28.9	44.5	52.0	36.9	74.4	62.5	47.0	58.0	39.1	47.3	51.9	53.0	54.5	31.9	52.2	34.6	43.0	20.9	34.1	53.3	33.9	46.7	45.3	63.1	55.2	43.8	13.8
E-11	Np	17.0	34.4	31.7	29.9	52.4	35.5	37.0	56.0	47.1	25.4	45.4	18.0	32.0	26.2	17.6	26.8	24.6	25.0	42.6	33.1	30.7	26.3	24.0	30.2	21.1	22.1	37.9	33.2	31.5	9.9
S-2	Nps	26.6	32.0	30.9	24.0	30.3	36.3	30.6	40.8	44.6	29.4	32.8	27.1	45.8	41.0	46.1	49.3	40.7	33.5	27.5	28.0	34.7	36.8	30.1	29.7	34.4	37.0	40.9	47.4	35.3	6.9
																総合計												39.0	2.8		

表3 食性選抜による広食性カイコのM=0人工飼料による年別毛振率(%)

品種名	食性 遺伝子	1994年	1995年	1996年	1997年	1998年	1999年	2000年	2001年	2002年	2003年	2004年	2005年	2006年	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年	2014年	2015年	2016年	2017年	2018年	2019年	2020年	2021年	平均	標準 偏差A				
セヴェンヌ白	Sek				95.7	96.6	85.1	98.8	99.2	97.9	99.7	99.8	98.6	97.4	97.6	99.0	98.8	98.8	111.6	98.3	96.7	99.1	99.6	98.4	99.8	99.8	93.1	97.9	96.6	99.2	97.6	2.8	98.8	1.0	
バグダッド	Sek				88.5																														
世界一	Sek				90.4	98.5	99.1	97.8	98.4	93.6	98.1	96.1	98.6	99.5	99.9	96.7	94.6	27.5	89.7	98.4	97.0	98.7	98.7	99.4	99.7	98.9	98.1	95.9	98.9	95.9	6.0	97.4	3.2		
peSek	Sek				96.4	99.8	98.9	98.8	99.2	99.5	97.4	96.9	95.8	99.1	96.5	96.0	98.1	46.9	94.6	97.1	97.6	99.5	96.4	99.7	99.1	98.9	98.0	97.1	97.4	97.9	1.2	97.7	1.7		
緋紅	paph?	69.2	64.6						80.6	79.1	80.2	85.9	84.5	84.5	89.9	87.9	89.2	84.4	86.4	81.3	88.2	97.0	94.8	94.7	95.0	88.3	88.6	86.7	92.6	83.5	7.5	91.1	5.4		
沢	paph	98.8	98.0	97.3	99.3	99.9	99.8	99.0	99.8	100.0	99.2	99.6	98.1	98.5	98.2	93.0	99.8	59.1	64.9	95.3	98.6	99.7	99.3	99.8	100.0	99.6	97.1	98.1	99.6	98.6	1.6	93.9	12.0		
Brd	paph	66.6	98.8	96.3	95.2	99.5	97.7	98.6	97.8	98.2	99.0	99.2	98.7	99.1	98.4	98.0	99.1	76.3	95.2	96.2	98.1	98.9	99.4	99.6	99.7	100.0	99.7	99.0	97.6	96.8	7.0	98.2	1.7		
ZeBipe	paph				88.5	97.0	95.4	93.8	95.1	95.4	95.3	92.6	91.4	90.3	82.4	93.9	97.6	26.9	77.7	66.8	68.5	88.3	95.9	93.4	87.5	96.4	89.5	82.0	95.1	92.5	4.5	82.6	10.8		
Ze-L	paph				92.1	64.8	80.6	88.7	88.6	92.1	89.8	92.3	83.5	75.5	87.8	71.4	78.4	69.4	80.6	68.6	58.7	62.7	67.4	62.3	72.8	70.6	74.8	78.6	84.7	75.6	81.6	8.3	66.2	4.7	

は、桑入り人工飼料にて飼育  
は、L4M人工飼料にて毛振調査  
平均, 標準偏差; 2010年から2017年を削除した値  
平均A, 標準偏差A; 2011年から2017年までの値

表4 M-0人工飼料による毛振, 非毛振個体のZe分離

品種名	48h 毛振	毛振			48h 非毛振	非毛振			合計					
		Ze	+Ze	小計		Ze	+Ze	小計	Ze	+Ze				
ZeBjpe	頭	847	≡	345	706	186	53	≡	45	98	414	≡	390	804
	%	82.0	51.1	48.9	87.8	18.0	54.1	45.9	12.2	51.5	48.5			
Ze-L	頭	1388	≪	807	1330	371	29	≫	10	39	552	≪	817	1369
	%	78.9	39.3	60.7	97.2	21.1	74.4	25.6	2.8	40.3	59.7			

掃立48時間後に毛振調査 3.4齢で斑紋分離調査

≪:  $\chi^2$  二乗検定で1%の有意差あり

≡:  $\chi^2$  二乗検定で有意差なし

考 察

通常のカイコは、フダンソウを摂食しない。摂食したとしても後代にまで遺伝しない。放射線照射とフダンソウ等に対する摂食性により選抜され、食性異常の遺伝子を持つ系統「A-4」, 「D-1」, 「D-5」, 「E-11」, 「S-2」の3齢起蚕のフダンソウ摂食率の変化は、修飾遺伝子の影響や摂食調査のタイミングにより摂食率に変動をきたすが、初期を除いて、約20%以上の摂食率を示し、極端な低下はみられない。このことから、毎年各系統の食性異常遺伝子を継代できていると考えられる。しかし、摂食を目視で判断していること、絶食後の調査のため、食性異常遺伝子を持たないカイコもフダンソウをかじってしまうことがあり、これを選抜してしまう可能性がある。また、摂食させすぎると死亡するため、1952年の放射線照射によって得られた食性異常蚕で継代できたのはたったの1頭であった。再度、放射線実験を行い1953年に致死系統の1系統(E-11), 1983年に4系統が得られている(田島ら, 1984)。

現在、研究所内で農薬を全く使用せずに栽培したフダンソウを用いて放射線照射由来の食性異常蚕の選抜を行っている。フダンソウは、カイコが例外的に摂食する場合もあるクワ科やキク科ではなく、ヒユ科の植物で栽培が容易、葉が大きい、摂食選抜がし易い等から用いている。しかし、やむを得ず市販の小松菜を用いて選抜を行うことがあり、そうした場合に小松菜の栽培時に用いられたと思われる農薬の影響で胸部が膨らんで死亡してしまう例がみられる(図2)。このため、市販の小松菜を使う場合には



図2 2種類の市販の小松菜を摂食した5齢カイコ

左: 摂食しても異常なし

右: 摂食後, 胸部が膨れ, 動かなくなる。吐液し死亡

注意が必要である。通常のカイコは、桑以外は摂食せずに餓死する。しかし、摂食後に死亡するということは、食性異常蚕を毒性物質等のバイオセンサーとして利用できる可能性を示唆している。

3 齢および 4 齢飼食時に摂食調査を行い、ダブル選抜を行っている。しかし、致死遺伝子を持ち、孵化率が 75% 以下の「A-4」と「E-11」系統の産下卵の中に致死卵が無い蛾区があることがある。このような場合には、食性異常遺伝子が含まれていないことがあるので、継代には十分注意が必要である。最近、「E-11」から繭層歩合の高い蛾区が出てきており、繭層歩合に関する選抜継代を試みている。ある遺伝形質が変わらないように継代を行っている中でも他の形質に変化が認められることがあり、そうした変化を見逃さないことも重要である。

遺伝資源として保存されている系統の中からキャベツや桑葉粉末無添加人工飼料により選抜された食性異常系統である、「セヴェンヌ白」、「バグダッド」、「世界一」、「peSek」、「緋紅」、「沢 J」、「Brd」、「ZeBJpe」および「Ze-L」は、桑葉粉末無添加飼料 M-0 飼料に対する 48 時間毛振における摂食性に関して長期にわたって調査した。その結果、「世界一」や「緋紅」は、M-0 飼料による選抜効果があらわれており、特に「世界一」から蛾区選抜を行った「peSek」の摂食率の標準偏差は小さく、摂食効果が強く表れていることが判った。しかし、「世界一」の M-0 飼料を摂食しないカイコを継代すると、摂食率の蛾区間差異が大きくなることが確認されており（データ未発表）、継代過程で広食性遺伝子が失われてしまう危険性も示唆されている。「セヴェンヌ白」や「沢 J」は、選抜の当初から広食性遺伝子の発現に高い安定性があった。広食性遺伝子の *Sek* と *pph* の単一遺伝子の桑葉粉末無添加人工飼料に対する摂食性に関しては、差異がないと思われる。「ZeBJpe」の *Ze* の *pph* は、アレルである「沢 J」由来の  $Ph^S$  と「Brd」由来の  $Ph^B$  を持たせ、 $+^{Ze}$  は  $Ph^S$  をホモに持たせた。これによる摂食率の有意差を 3, 4 齢時に幼虫斑紋で分離調査を毎年行っているが、 $\chi$  二乗検定による有意差はなく、 $Ph^B$  と  $Ph^S$  を同時に持つ摂食向上の効果はみられなかった。しかも、摂食率は単一の遺伝子を持つ「沢 J」や「Brd」と比較してやや低いように思われる。「Ze-L」の *Ze* のカイコは、 $Ph^S$  をヘテロにもち、 $+^{Ze}$  は  $Ph^S$  をホモに持つ。広食性遺伝子  $Ph^S$  は、不完全優性であり毛振率は理論値でおおよそ 75% 程度になると考えているため（大沼・田島, 1996）、摂食率の有意差を 3, 4 齢時の幼虫斑紋の分離調査で毎年行っている。摂食区では、 $Ph^S$  ヘテロである *Ze* 数がホモの  $+^{Ze}$  よりが少なく、不摂食区では *Ze* が多く、二乗検定による有意差がある事が確認されおり、不完全優性の証明と遺伝形式が維持されていると確信している。

人工飼料の出来栄には時によって差がみられ、また、市販の飼料ではその組成等が変更になることがある。2010 年にみられた低い毛振率は、ビタミン B 群の塩化コリンの劣化に起因しているのではないかと推察している。2011 年から 2017 年の日本農産工株式会社の「LAM 飼料」での毛振率は、M-0 飼料とほぼ同じ値を示したので、広食性遺伝子を選抜できているとみなし、用いてきた。しかし、最近の市販の人工飼料では、カイコの摂食性を高めるために桑葉粉末やクロレラが比較的多めに入っていると思われ、そうした飼料を用いて食性異常蚕の摂食性を調べることは難しい。2016 年に購入した「LAM 飼料」は、粉体の色が明らかに緑色になり、桑葉粉末の含有量が高いと思われた。この飼料を用いた時の「Ze-L」の毛振率は 91.0% であり、「Ze-L」の毛振率の理論値、約 75% よりかなり高い値を示した。したがって、スクリーニングに用いる飼料は重要であり、「Ze-L」の毛振率や M-0 飼料では毛振りを極めてしない「C108」や「赤熟」等の毛振りを参考にして、食性異常蚕の摂食性の調査に使う飼料の摘否を判断する必要がある（図 1）。

ゲノムが単一に近いと考えられる保存品種の中から選抜した食性異常系統（広食性系統）は、自然界での食性突然変異の発生・伝達の過程の解明、摂食メカニズムの解明、昆虫の食性の進化の解明等を行う上で貴重な研究材料でありと考えられる。現在、これら広食性系統の食性遺伝子については、解明が続けられており（菊地ら, 2018 ; Zhong-Jie Zhang, *et al.*, 2019）。著者らが選抜継代している系統も研究対象として供試されている。

食性異常蚕は、基礎研究での利用ばかりでなく、実用的な面での活用も期待される。従来、交配育種によって広食性蚕品種が開発されてきたが、今後、広食性に関与する遺伝子の単離・同定が出来れば、こうした遺伝子を遺伝子操作やゲノム編集技術を使って、人工飼料への適合性が低い実用品種に直接導入することにより、短期間で効率的に実用形質が優れた広食性品種を開発することが可能となる。

また、多種多様な化学物質が各種産業分野で利用されているが、なかには有害な化学物質もあり、これらの物質の変異原性や環境への悪影響などが社会的に懸念されている。そのため、それらの物質の毒性等を簡易に素早く検定するバイオアッセイ系の開発は重要な課題の一つである。そのような背景において、カイコの広食性系統を用いて農作物残留農薬の影響調査や植物中の生理活性物質の検出が試みられており（高部真典・石井正市, 1997; 石井正市・高部真典 1999）、バイオアッセイ系としての食性異常系統の利用が今後広がる可能性を持っている。

貴重な食性異常系統を今後も途絶えることなく選抜継代し、様々な面での研究材料として活用されるよう安定的な提供を行っていきたい。

## 要 約

放射線照射処理やフダンソウ等に対する摂食性で選抜された食性異常系統、5系統をフダンソウに対する3齢起蚕の摂食率を指標に28年間わたって選抜継代を行った。3齢摂食率の平均値は、「A-4（食性異常遺伝子 *Np-A4*）」で36%、「D-1（*Bt*）」で48%、「D-5（細胞質因子）」で43%、「E-11（*Np*）」で31%、及び「S-2（*Nps*）」で35%であり、いずれの系統も安定的に選抜継代することができた。

遺伝資源として保存されている系統からキャベツに対する摂食性で選抜した食性異常系統を桑無添加人工飼料（M-0飼料）による48時間毛振率を指標に15年以上にわたって選抜継代した。広食性遺伝子 *Sek* を持つ「セヴェンヌ白」、「バグダッド」、「世界一」及び「*peSek*」の摂食率の平均はいずれも90%以上であった。広食性遺伝子 *pph* のみを持つ「沢 J」、「Brd」及び「*ZeBJpe*」の摂食率の平均はいずれも90%以上であった。*Sek* と *pph* の両方持つと仮定されている「緋紅」の摂食率は86%であった。*Ze* が *pph* をヘテロ、<sup>+</sup>*ze* が *pph* をホモに持つ「*Ze-L*」の摂食率は、81%であった。以上の結果から、いずれの系統も安定的に選抜継代が可能であった。

## 引用文献

- 朝岡 潔・真野保久（1992）蚕におけるLP-1人工飼料による広食性の初期選抜．日蚕雑，61，1-5.  
堀江保宏 編著（1990）革新養蚕のための技術戦略 - 広食性品種の低コスト人工飼料育を中心にして - . 1-146. 日本蚕糸新聞社，東京.  
堀江保宏・渡辺喜二郎（1969）人工飼料育における家蚕の熱量要求について．蚕試報，38，377-385.  
堀江保宏・渡辺喜二郎（1983）線型計画法による家蚕人工飼料組成の設計とくに家畜飼料 素材の導入について．蚕試報，29，259-283  
石井正市・高部真典（1999）広食性蚕の利用による植物中の生理活性物質の検出とハウレンソウに含まれる脱皮ホルモン様物質．日蚕雑，68，381-386.  
伊藤智夫（1983）蚕の栄養と人工飼料．1-223. 日本蚕糸新聞社，東京.  
菊地玄太・木内隆史・川本宗孝・李允求・竹村洋子・大沼昭夫・新保博・勝間進・嶋田透（2018）カイコ広食性系統沢 J の主働遺伝子 *pph* の同定．蚕糸・昆虫機能利用学術講演会・日本蚕糸学会大会講演要旨集，89，36  
真野保久・朝岡 潔・伊原音重・中川 浩・平林 隆・村上正子・永易健一（1991）広食性多糸量蚕品種「あ

- さざり」の育成. 蚕糸・昆虫研報告, 3, 31-56
- 大沼昭夫 (1998) 蚕の在来種に潜在する食性突然変異の探索とその遺伝様式. 蚕研彙報, 47, 5-49.
- 大沼昭夫・田島弥太郎 (1996) “世界一”に見出された新しい広食遺伝子 *Sek*. 蚕研彙報, 44, 1-13.
- 高部真典・石井正市 (1997) 人工飼料に混入した農作物付着農薬の蚕児に及ぼす影響. 東北蚕糸研究, 22, 16.
- 田島弥太郎・小林義彦 (1952) 蚕の食性に関する突然変異の誘発. 日本蚕糸学会関東支部第4回講演要旨, 9-10.
- 田島弥太郎・小林義彦・小沢民治・町田 勇 (1984) 蚕の食性突然変異 (*Np*) の研究. 蚕研彙報, 32, 7-30.
- 田島弥太郎・大沼昭夫 (1985) 蚕の食性突然変異に関する研究 - 第2部 (1) 新しい突然変異の研究. 蚕研彙報, 33, 1-19.
- 田島弥太郎・大沼昭夫 (1991) 蚕の食性突然変異に関する研究 (第2部) 第13報 2種の広食蚕系統の遺伝的解析. 蚕研彙報, 39, 1-9.
- 田島弥太郎・大沼昭夫 (1992) 蚕の食性突然変異に関する研究 (第2部) 第14報 広食性遺伝子が蚕の第三染色体に座位することを証明する実験. 蚕研彙報, 40, 1-6.
- 田島弥太郎・町田 勇 (1958) 蚕の食性に関する突然変異の研究 (VIII) 食性異常蚕出現率の淘汰ならびに正常系との交雑実験. 国立遺伝研年報, 8, 25-26.
- 鳥居一男・森井謙介 (1948) 蚕児の食性に対する研究 第2報 蚕児が桑葉を選択する感覚器の存在部位について. 蚕研彙報, 2, 6-12.
- 山本俊雄 (1994) 新広食性蚕品種「はばたき」の性状, 蚕糸科学と技術, 33, 26-29
- 山本俊雄・間瀬啓介・長坂幸吉・岡田英二・宮島たか子・伊坪友子・榎島 守 (2000) 細織度・広食性蚕品種「ほのぼの」の育成. 日蚕雑, 69, 31-37.
- 横山忠雄 (1970) 食性異常蚕の品種別分布とその人工飼料に対する反応について. 蚕研彙報, 18, 16-23.
- 横山忠雄 (1975) 蚕の食性に関する研究 (XI) 食性異常蚕沢 J の由来と性質. 蚕研彙報, 24, 27-30.
- Zhang Z-J・Zhang S-S・Niu B-L・Ji D-F・Liu X-J・Li M-W・Bai H・Palli S-R・Wang C-Z・Tan A-J (2019) A determining factor for insect feeding preference in the silkworm, *Bombyx mori*. PLoS Biol., 17(2), e3000162.

## Summary

Feeding rate investigation of radiation-induced non-preference mutations in the silkworm using Swiss chard was conducted for 28 years. The average 3<sup>rd</sup>-instar larvae feeding rate was 36% for "A-4 (non-preference *gene*, *Np-A4*)", 48% for "D-1 (*Bt*)", 43% for "D-5 (cytoplasmic factor)", 31% for "E-11 (*Np*)", and 35% for "S-2 (*Nps*)". Feeding rate investigation of polyphagous mutations in the silkworm using M-0 artificial diet was conducted for more than 15 years. The average of feeding rate by newly hatching larvae for 48 hours was more than 90% for "Cevenne white", "Baghdad", "Sekaiichi", and "peSek". These strains have polyphagous *gene* *Sek*. The average of feeding rate was 86% for "Hiko", which is considered to have both the polyphagous *gene* *Sek* and *pph*. The average of feeding rate was more than 90% for "Sawaj", "Brd" and "ZeBJpe", which have the polyphagous *gene* *pph*. The rate was 81.0% for "Ze-L", which have the *pph* heterozygous. Based on these results, we continue to maintain selective rearing of the non-preference mutations and polyphagous silkworms

# 養蚕用ピロシートの代替品の評価

持田裕司・松本正江・鶴井裕治・近藤 進・池嶋智美

蚕糸科学技術研究所

(2022年2月21日受理)

YUJI MOCHIDA, MASAE MATSUMOTO, YUJI TSURUI, SUSUMU KONDO, and SATOMI IKEJIMA : Examination of alternatives to Pillo sheets for sericulture

## 緒 言

近年、養蚕農家の減少に伴い、養蚕関連機器や資材を製造・販売する企業の廃業や営業停止が相継いだ。このため、蚕具や消耗資材の入手が極めて困難な状況に陥っている。こうした状況に対応するため、一般財団法人大日本蚕糸会や群馬県を中心に、養蚕業から撤退した農家で不要となった蚕具等の調査を行い、希望する農家に譲渡するという、いわゆる蚕具の再利用に取り組んできた。

また、新たに養蚕事業に取り組み始めた企業による、例えば、製造が中止になっていた回転簇用のボール簇の作製し、希望する農家への販売が行われている。また、当研究所においても、粘着面に蚕種を張り付けて催青が行える「糊付け催青台紙」の唯一の供給先であった企業が2012年に製造中止したことから、著者ら（池嶋ら，2020）は、蚕種製造業者と協力して、2015年に市販の材料を活用した新しい散種（ばらだね）用の催青台紙を完成させた。この台紙は、現在も蚕種製造業者において従来品に比べて遜色のない散種催青台紙として使用されている。このような技術協力によって、今後も、製造中止となった蚕具や資材の代替品を開発し、普及していくことが必要である。

最近、重要な消耗資材で製造が中止になった養蚕資材の一つに、養蚕用の防水ピロシートと吸水ピロシートの2種類のピロシートがある（図1）。防水ピロシートは、農家等においては、貯桑時の桑の乾燥防止（桑の回りに巻く）、屋外の露天飼育の蓋（上の覆い）、簇の下に敷く菰、上簇時に条払い機の下に敷いて熟蚕や糞の拡散防止など様々な用途に利用されてきた。一方、吸水ピロシートは、上簇室の回転簇を吊した下の床に敷いて、熟蚕の尿の吸収に用いられてきた。また、ピロシートを使った波形簇の試作も行われた（丸山，1971）。当研究所においても、壮蚕用多段循環自動飼育装置（株式会社信光技研製）の飼育ワゴンの底に防水ピロシートを敷いて壮蚕の条桑育を行うことで飼育を保っている。また、多段移動式蚕架による少量多品種



図1 試験に用いた各種資材  
(幅20cm×長さ30cmに裁断)



図2 丸三製紙株式会社製の吸水ピロシート

の飼育においては、飼育台に防水ピロシートを敷き、その上に蚕座紙を敷いてカイコの飼育を行っている。

今回、ピロシートの代替品となりうる市販資材の探索を行った結果、床養生シートと畑用カミマルチが有力な候補と考えられたので、これらを使用した場合の飼育成績等から代替品としての評価を行った結果を報告する。ご校閲をいただいた蚕糸科学技術研究所所長新保博博士に深く感謝の意を表す。

## 材料と方法

### 1. 材料

養蚕用の防水ピロシート及び吸水ピロシートは、丸三製紙株式会社製のものをを用いた。防水ピロシートは、株式会社側島から購入し、当研究所で保有していたものを使用し、吸水ピロシートは、当研究所には在庫がなかったので、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構から譲っていただいた（図2）。

防水ピロシート及び吸水ピロシートの代替品候補としてそれぞれ床養生シート（幅1m×長さ50m、両面ラミネート加工、栄光加工紙株式会社、図3のA）及び畑用カミマルチ（幅1.35m×長さ100m、三洋製紙株式会社、図3のB）を用いて検討を行った。床養生シートは、飼育ワゴンの底の敷物と吸水性試験用に、畑用カミマルチは熟蚕尿の吸収用に使用した。



図3 床養生シート（栄光加工（株）製、両面ラミネート加工、幅1m×長さ50m、上段A）  
畑用カミマルチ（三洋製紙（株）製、幅135cm×長さ100m、下段B）

### 2. 蚕飼育試験

当研究所の壮蚕用多段循環自動飼育装置（株式会社信光技研）の飼育ワゴン（4個）にブルーシート（黒色）を張り、各飼育ワゴンの底に、底の大きさに合う大きさに裁断（幅1m×長さ1.5m）した防水ピロシート及び床養生シートを敷き（図4）、条桑飼育を行った（図5）。

飼育試験は、2021年春蚕期に行った。飼育試験には交雑種の「春嶺×鐘月」を用い、3齢まで人工飼料（日本農産工業株式会社のシルクメイト原種1-3齢用S）で飼育し、4齢飼食から自動飼育装置の飼育ワゴンで桑葉育を開始し、4齢2日目に頭数整理を行い、1区1,000頭の2連で飼育試験を行った。

同年の晩秋蚕期に交雑原種の「かい×りょう」を用いて同様の飼育試験を行った。この場合、1区800頭の2連で試験を行った。

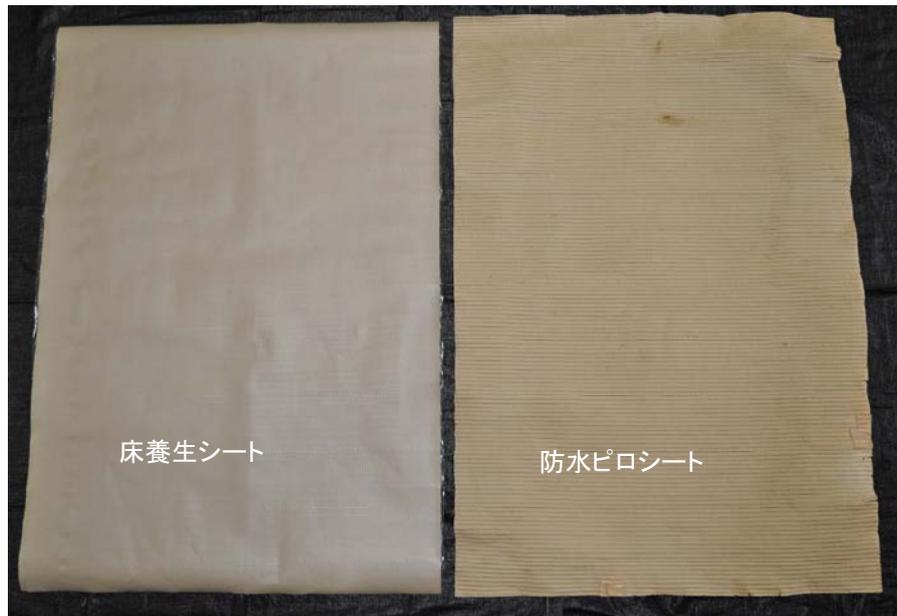


図4 壮蚕用多段循環式自動飼育装置の飼育ワゴンの底の大きさに合うように裁断した(幅1m×長さ1.5m)床養生シート及び防水ビロシート

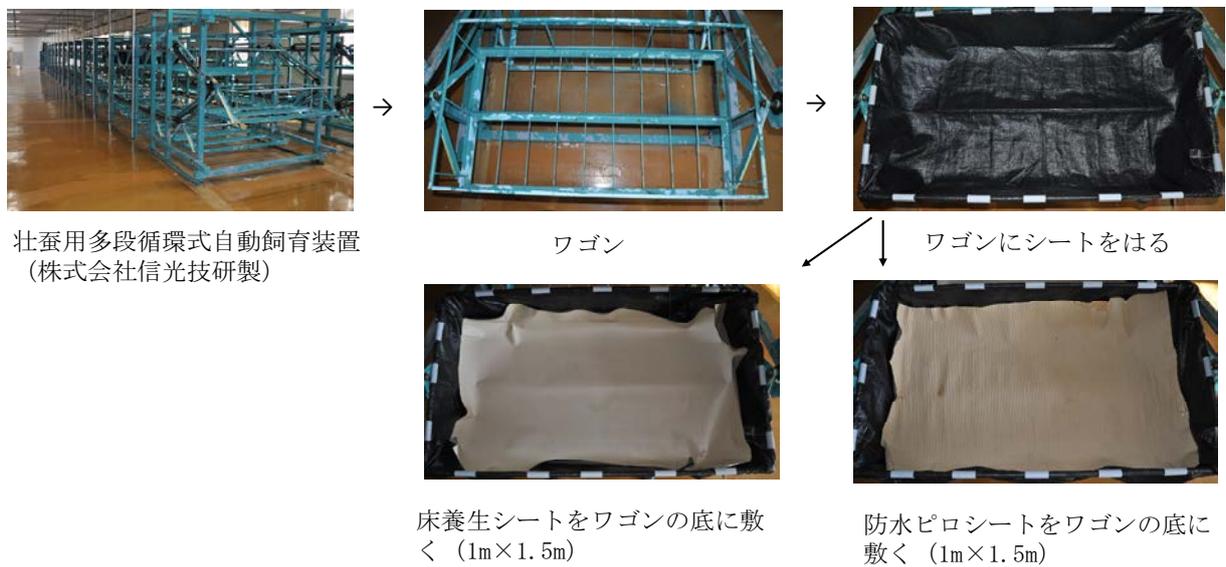


図5 壮蚕用多段循環式自動飼育装置の飼育ワゴンの組立

### 3. 上簇時の尿吸収試験

上簇時に上簇室の回転簇を吊した下の床に畑用カミマルチを敷き（図6）、上簇時に排泄されるカイコの尿の吸収力について検討した。



図6 熟蚕の排泄する尿を吸収するために回転簇を3段吊り下げた床に敷いた畑用カミマルチ

### 4. 各種資材の吸水性試験

吸水ピロシート、防水ピロシート、床養生シート、畑用カミマルチ及び新聞紙を用いて、各資材の吸水性について調査した。図1のように、各資材を幅20cm、長さ30cmに裁断し、バット（サンバット、三甲株式会社）に入れ、そこに約200mlの水を加えて、24時間静置した（図7）。24時間吸水させた後、各資材の端を指でつまんで持ち上げ、持ち上げた資材から水滴が落ちるのがほぼ確認できなくなった時点で、資材の重量を測定した。吸水させた資材の重量から吸水前の資材の重量を差し引いた値をもって、それぞれの資材の吸水量とした。



新聞紙

吸水ピロシート

畑用カミマルチ

図7 各種資材の吸収性試験（幅20cm、長さ30cmに裁断し、24時間吸水させた）

結果と考察

春蚕期に「春嶺×鐘月」を用いて行った飼育試験の結果を第1表に示した。飼育成績及び繰糸成績には、防水ピロシートと床養生シートとの間でほとんど差異は認められなかった。同様に、第2表に示したように、晩秋蚕期に「かい×りょう」を用いて行った試験においても、飼育成績、繰糸成績のいずれにおいても防水ピロシートと床養生シートとの間には大きな差異は認められなかった。

表1 交雑種の「春嶺×鐘月」を用いた飼育試験の成績

供試品	5齢 経過 (日・時)	全齢 経過 (日・時)	収繭 量 (kg)	単繭 重 (g)	繭層 重 (cg)	繭層 歩合 (%)	繭糸 長 (m)	繭糸 量 (cg)	繭糸 繊度 (d)	解舒 率 (%)	生糸量 歩合 (%)	小節 点 (点)
床養生シート	6.07	25.06	16.5	1.71	40.0	23.4	1,045	29.2	2.55	92.8	17.1	99.5
ピロシート	6.07	25.06	15.9	1.75	40.7	23.3	1,048	31.2	2.72	89.2	17.8	99.5

各1,000頭×2連飼育. 収繭量は1万頭収繭量. 交雑繰糸試験

表2 交雑原種の「かい×りょう」を用いた飼育試験の成績

供試品	5齢 経過 (日・時)	全齢 経過 (日・時)	収繭 量 (kg)	単繭 重 (g)	繭層 重 (cg)	繭層 歩合 (%)	繭糸 長 (m)	繭糸 量 (cg)	繭糸 繊度 (d)	落 緒 (回)	揚 り (粒)	残 繭 (粒)
床養生シート	6.17	24.00	16.0	1.74	42.0	24.1	1,411	30.6	1.95	6	1	1
ピロシート	6.17	24.00	15.9	1.66	39.2	23.7	1,371	28.0	1.84	7	1	1

各800頭×2連飼育. 収繭量は1万頭収繭量. 原種40粒繰糸試験

図8に4齢2日目の頭数整理時と5齢5日目の飼育状態を示したが、この写真からもカイコの成育状態には資材による差異のないことが示された。なお、飼育期間（約1週間）を通して、毎日除沙を行い、蚕座を動かしたが、この作業によって防水ピロシート、床養生シートのいずれにも大きな損傷は認められなかった。

回転蓆を3段吊り下げた床に畑用カミマルチを敷き（図9）、上蓆後3日目の状態を調査したところ、

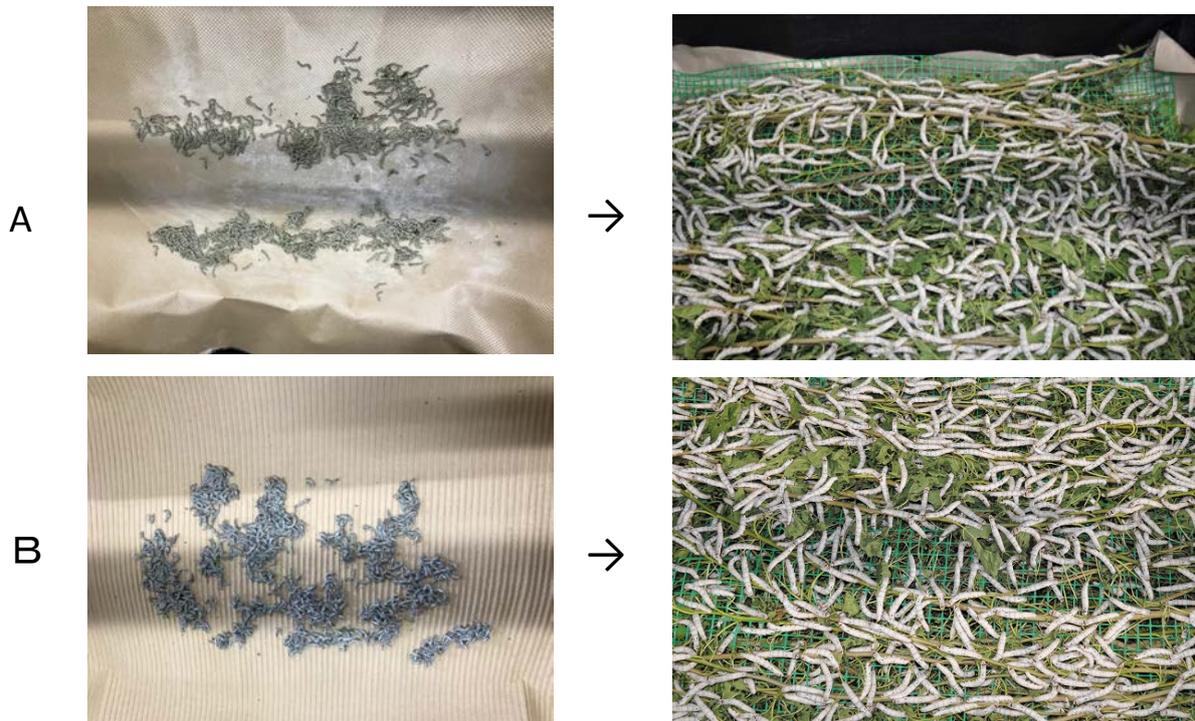


図8 交雑原種「かい×りょう」(800頭)の4齢2日目(左)及び5齢5日目(右)の飼育状況：Aは床養生シート，Bは防水ピロシートを用いた



図9 回転蓆3段を吊り下げた下の床に敷いた畑用カミマルチの上蓆後3日目の状態（大量の尿を吸い取っている）

表3 各種資材の吸水力調査の成績

資材名	資材の重さ (20×30cm) (g)	資材の 含水量 (g)	資材1g 当たりの 含水量 (ml)	資材1㎡ 当たりの 含水量 (ml)
新聞紙1枚	3.0	11.4	3.8	152.0
新聞紙4枚	12.2	42.7	3.5	569.8
吸水ピロシート	19.3	67.0	3.5	893.3
畑用カミマルチ	8.8	25.7	2.9	342.7
防水ピロシート	17.0	43.5	2.6	580.0
床養生シート	10.2	27.9	2.7	372.0

単純に同じ面積での含んだ水の量を測定した。

畑用カミマルチが熟蚕の排泄した尿を十分に吸収していることが確認できた。

各資材の含水量を調査した結果を表3に示した。資材1gあたりの吸水量は、新聞紙、吸水ピロシート、畑用カミマルチ、床養生シート、防水ピロシートの順に多かった。4枚重ねた新聞紙の1㎡当たりの含水量は、約570mlとかなり多く、5、6枚重ねることにより、吸水ピロシートの代替品となりうるが、回転蒭の下に敷くのにやや手間がかかり、作業性の点で難がある。畑用カミマルチの1㎡あたりの吸水量は、吸水ピロシートの約40%と少ないが、2枚重ねることにより、ほぼ同程度の吸水力を持たせることができる。また、ロール状のため、回転蒭の下に敷く際の作業性は優れており、吸水ピロシートの代替品に十分なり得る。

今回の試験結果から、床養生シート及び畑用カミマルチはそれぞれ養蚕用の防水ピロシート及び吸水ピロシートの代替品として利用可能であることが示された。しかし、使用にあたってはいくつかの注意が必要である。

園芸用などとしてピロシートに似たようなものがあるが、食害防止のため殺虫剤などが含まれているものがある。今回使用した栄光加工紙株式会社製の床養生シートはカイコの成育等への影響は見られなかったが、他社の同等製品を使う場合には、事前にカイコの成育等に影響があるか確認しておく必要がある。

強度の点においては、熟蚕の排泄した尿を吸った畑用カミマルチは吸水ピロシートに比べて弱いので注意が必要である。シートを短い長さで使うときには問題はないが、少し長くして使うと、尿を吸収した畑用カミマルチの両端を二人で持ち、そのまま持ち上げると破れてしまうことがある。このため著者らは、尿を吸った畑用カミマルチを廃棄するときには、端からロール状に巻いてから捨てることで破損を免れている。また、床養生シートは防水ピロシートに比べると素材が少し薄く破れやすいが、取り扱いに注意すれば機能的には代替品として十分利用できる。

## 要 約

養蚕用の防水ピロシート及び吸水ピロシートの代替品について検討した結果、それぞれ市販の床養生シート及び畑用カミマルチが代替品として利用可能であることが判った。

## 引用文献

- 池嶋智美・鶴井裕治・近藤 進・山口 満・田中幸夫（2020）少量多品種の蚕種製造・配布に対応する技術の開発. 蚕糸会研報, 67, 17-24.
- 丸山 誠（1971）ピロシート製波形まぶしの試作. 蚕糸研究, 81, 31-35.

## Summary

As the result of investigating alternatives to waterproof Pillo sheets and water-absorbent Pillo sheets for sericulture, it was found that commercially available floor curing sheets and field Kami mulch (mulching recycling paper) could be used as alternatives, respectively.