種々の酵素型からみたクワコとカイコの 類縁関係について

吉 武 成 美

東京大学農学部養蚕学教室

Received October 26, 1965

DIFFERENCE IN THE MULTIPLE FORMS OF SEVERAL ENZYMES BETWEEN WILD AND DOMESTICATED SILKWORMS

NARUMI YOSHITAKE

Laboratory of Sericulture, Faculty of Agriculture, University of Tokyo,
Bunkyo-ku, Tokyo

ABSTRACT

Agar gel electrophoretic technique was used to compare the multiple forms of esterase and phosphatase occurring in the wild silkworm, *Theophila mandarina* L., collected from various districts in Japan. When the zymogram patterns of acid phosphatase in blood of the wild silkworm were compared they could be grouped into two distinct types, Kanto and Kansai (east and west of Nagoya).

The analytical results of esterase in blood and of esterase and alkaline phosphatase from other organs could not be classified into two distinct types as described for acid phosphatase.

But for a few exceptions, similar esterase and phosphatase isozymes detected by the authors in domesticated silkworm, *Bombyx mori* L., could be observed. Hence the genes responsible for the production of the isozymes in both the species of silkworms may be similar. However, the frequency of the occurrence of these genes are different for each species.

Quantitative analysis revealed that the activities of esterase and alkaline phosphatase in the domesticated silkworm were often twice as that of the wild silkworm. Moreover, there are evidences to show that several genes found in the domesticated silkworm might be derived due to the duplication of primitive genes in the wild silkworm by unequal crossing over. A duplication of genes might have played an important role in the differentiation of *Bombyx mori* from *Theophila mandarina*, rather than a mutation.

クワコ (*Theophila mandarina* L.) はその形態や生態がカイコ (*Bombyx mori* L.) に類似しているため、古くから両者は近縁であると考えられて来た。

Sasaki (1898) は日本に棲息するクワコと Moore によって記載された中国大陸北部および満州・朝鮮半島に産するクワコとを比較して形態的に全く同一であることを明らかにし、さらにクワコとカイコの比較研究からクワコはカイコの祖先型であろうと結論した。青木 (1915) はカイコとその近縁昆虫との関係について血清学的研究を行ない、クワコとカイコは極めて近縁であることを立証した。川口 (1923) はクワコの染色体が外山、勝木、谷津、小熊らの観察のように $n=27$ でカイコよりも 1 個少ないことを認めるとともに、カイコの染色体の

うち2個がクワコのそのの1個と対合することを明らかにした。その後川口 (1934), 松村 (1936), 森 (1939), 大村・片岡 (1943), 広部 (1950), 藤本・林屋・城野 (1959, 1960) 並びに堀内・清水・安江 (1965) などクワコとカイコの関係について多くの研究が種々の形質についてなされ, それらの結果から両者の祖先が同一であるという見方の妥当性がさらに裏づけられた。

一ガインド産クワコ (*Theophila huttoni* West) については, 田島・稲垣 (1958) の研究により染色体数が $n=31$ であることが明らかにされたが, 染色体数からみてインドで現在飼育されているカイコがこの昆虫の馴化に由来したものとは考えにくいという。

近時 isozyme の研究の進展に伴ない, isozyme のレベルから生物の生態を究明しようとする新しい研究分野が誕生した。この方面の研究材料として昆虫は好材料であるとともに, 応用昆虫学あるいは養蚕学上からもかかる方面の研究が要望されている。野外昆虫を用いてその生態型と酵素型あるいは蛋白型との関係について行なった研究は少ないが, カイコではその生態型の一種と考えられ地理的品種と酵素型との間には深い関連があることが松村 (1951), 吉武 (1963), 吉武・江口 (1965), 吉武・秋山 (1965) などによって指摘されている。しかしクワコに関してはこういった方面からの研究が全くない。

そこで著者は各地の蚕業試験場, 蚕糸試験場支場並びに大学各位のご協力を得て各地に棲息するクワコ約100匹を採集し, 種々の組織器官における2, 3の酵素について電気泳動の解析を行ない, その採集地による差異およびカイコとの相違などについて比較検討した。その結果クワコとカイコの酵素型の差異並びにクワコとカイコの種的分化の機構などに関して若干の知見を得たのでその概要について報告する。

ご協力を頂いた江口正治博士並びにクワコ採集についてご支援いただいた方々に紙上をかりて厚くお礼申し上げます。なお本研究の一部は文部省総合研究 (代表者吉川秀男博士) 費によって行なったものである。

材 料 と 方 法

クワコは北は岩手県から南は鳥取県までの本州に棲息していたもので, 採集したクワコ (最終令幼虫) を桑とともに紙箱に入れ速達で郵送して頂き供試した。採集個所は Table 1 に示すように15個所で合計92匹のクワコについて調査した。

調査した酵素は血液の酸性ホスハターゼ, エステラーゼ, 中腸のアルカリ性ホスハターゼ, エステラーゼ, 皮膚のエステラーゼおよび絹糸腺のエステラーゼである。これらの酵素の寒天電気泳動法による検出については, すでにその詳細を前報 (吉武, 1963) で述べたのでここでは省略する。

皮膚および絹糸腺のエステラーゼ活性の測定は Nachlas and Seligman (1949) および Ozaki and Koike (1965) の方法を多少変更して行なった。すなわち皮膚の場合にはその0.1gにpH7.0のM/10磷酸緩衝液5mlを加え, また絹糸腺の場合には0.1gに2mlを加えてホモジナイズした後3,500rpmで5分間遠心分離しその上清を酵素液として用いた。また基質としては0.01% β -naphthyl acetate を用いた。すなわちその10mgをとり2mlのアセトンを加え完全に溶解し, それにpH7.0 M/10磷酸緩衝液50ml, 脱イオン水48mlを加え作成した。反応組成は次のとおりである。

0.01% β -naphthyl acetate	2ml	あらかじめ37°C 10分保護
enzyme solution	0.2~0.5ml	加えてから37°C 10分保護
0.4% naphthanyl diazo blue B	0.5ml	加えてから37°C 5分保護
10% TCA	0.5ml	

上記の反応液 (合計3.2~3.5ml) を15ml内容の共栓遠心管に入れ, さらにethyl acetate 4.5mlを加え約2分間強振して色素をethyl acetate層に移行せしめ, 3,500rpmで5分間遠心分離した後, スペクトロニック20 (島津製) を用いて540m μ で比色定量を行なった。なお基準曲線の作成には β -naphtholを用い, 酵素活性は生組織重1gの1時間当りに分解する β -naphtholの μ モル数で示した。

実験結果

1. クワコの酵素型の地域的差異

15個所から集められた92匹のクワコについて、その種々の酵素型を個体別に調べたところ Table 1 に示したような結果を得た。

血液の酸性ホスハターゼ：カイコの場合は Bph^O , Bph^A , Bph^B , Bph^C および Bph^D の5種の遺伝子（これらは相互優性関係にある複対立遺伝子）にそれぞれ支配される5種の isozyme が発見されているが (Yoshitake and Akiyama 1964), クワコではCおよびD isozyme 以外のものは見出されず, Bph^C および Bph^D の2種の遺伝子のみが分布していることがわかった。各採集個所の調査個体数が少ないので, Bph^C および Bph^D 遺伝子の出現頻度が地域的に異なるか否かははっきりいえないが, 愛知県以西で採集した16個体がすべて Bph^D 遺伝子のみを保有しており, Bph^C 遺伝子を有する個体が全くなかったことは, 酵素型が地域的に異なるといってもよいかもしれない。長野県以東においても Bph^D 遺伝子の出現頻度の方が高く, Bph^C 遺伝子のその約2.5倍である。

しかしその後入手した鹿児島産のクワコ（第2化期目）2匹について調査したところ, それらはそれぞれCD型とCC型であり, 鹿児島産のクワコには Bph^C 遺伝子が分布していることがわかった。

以上述べた採集場所の違いによる酵素型の差異が一体如何なる生態的意味を有するかについては, 今後さらに検討の要がある。

血液のエステラーゼ：カイコでは Bes^O , Bes^A , Bes^B および Bes^C の4種の遺伝子が存在することが明らかにされているが (古武・江口1965), クワコでも全く同様にこれら4種の遺伝子が見出された。しかしこれらの遺伝子の出現頻度が地域的に異なるか否かは調査数が少ないのではっきりわからないが, 一見したところでは差異は認められない。

Table 1. Distribution of several genes in *Theophila mandarina* L. collected in different places

Place of collection ¹⁾	Number of larvae tested	Number of larvae having															
		<i>Bph</i>			<i>Bes</i>						<i>Aph</i> ₂		<i>Ies</i>				
		C	CD	D	O	A	B	C	AC	BC	+	-	C	CD	D	DE	E
Iwate (Mizusawa)	3		2	1		1		2			3			1	2		
Fukushima (Yanagawa)	2		2			1			1		2				1	1	
Yamagata (Shijō)	5		4	1				2	3		5			1	3	1	
Ibaragi (Sekijō) ²⁾	7	2	3	2		1		3	3		7		1		4	1	1
Tochigi (Utsunomiya)	7	1	4	2		1		3	2	1	7				6	1	
Gunma (Maebashi)	5		1	4	1			2	1	1	4	1			4	1	
Saitama (Kumagaya) ²⁾	5		2	3				2	3		5				3	2	
Tokyo (Tanashi)	25	2	9	14	2			10	10	3	22	3		3	14	5	3
Tokyo (Hino)	5		2	3		2		1	2		5			1	4		
Yamagata (Kobuchizawa)	2			2				2			2				2		
Nagano (Nagano)	5		3	2		1		4			5			1	4		
Nagano (Ueda)	5		2	3		1		1	3		5			2	3		
Aichi (Kasugai)	5			5			1	4			5				4	1	
Aichi (Kōnan)	7			7				2	5		6	1		1	4	1	1
Tottori (Tottori)	4			4		1		3			4				3	1	

1) The name of city or town is shown in parenthesis.

2) Occurrence of quail gene (*q*) was observed in some individuals.

中腸のアルカリ性ホスハターゼ：カイコでは極めて少数ではあるが見出された *Aph*⁻¹ 遺伝子は (吉武1963), クワコでは今のところ発見されていない. *Aph*⁻² 遺伝子は 92個体中 5 個体において見出されたが, この遺伝子の出現頻度が地域的に異なるか否かはわからない.

皮膚のエステラーゼ：カイコでは *Ies*^A, *Ies*^B, *Ies*^C, *Ies*^{AB}, *Ies*^{AC} および *Ies*^O の 6 種の遺伝子が見出されているが (吉武・江口未発表), このうちクワコに存在するのは *Ies*^C 遺伝子のみである. クワコでは *Ies*^C 遺伝子

以外にカイコでは見出されなかった *Ies*^D および *Ies*^E 遺伝子が多く分布している. *Ies*^D および *Ies*^E 遺伝子がカイコに見出された *Ies*^C あるいは *Ies*^{AC} 遺伝子などと対立関係にあることは, カイコ×クワコの F₁ 個体について調べた結果から確認された. しかし Table 1 の結果からわかるように, これらの遺伝子の分布は地域的には相違がないように思われる.

以上の酵素の他に, 絹糸腺のエステラーゼ, 中腸のエステラーゼなどについても調査を行ない, その zymogram の 1 部がカイコと異なることがわかったが, この場合においても採種場所による差異は明瞭でない. 結局本研究の範囲で地域差が認められたのは血液の酸性ホスハターゼ型のみで, 他の酵素型については差がないようである.

2. クワコとカイコにおける酵素型の差異 (遺伝子分布の相違)

種々の酵素の isozyme がクワコとカイコでどのように異なるかは前項で述べたが, これらの isozyme を支配する遺伝子の出現頻度が両者でどのように異なるかを調べてみた. 血液の酸性ホスハターゼ, 血液のエステラーゼおよび皮膚のエステラーゼについて調査した結果を Table 2 に示した.

Fig. 1. Diagram showing zymogram patterns of esterase types in the integument of the wild and domesticated silkworms.

Table 2. Difference in the distribution of several genes between wild and domesticated silkworms

Esterase type of the blood							
	Number of larvae examined	<i>Bes^O</i>	<i>Bes^A</i>	<i>Bes^B</i>	<i>Bes^C</i>		
<i>Bombyx mori</i>	768	28.1%	62.5	3.1	6.3		
<i>Theophila mandarina</i>	92	3.3	27.7	2.7	66.3		
Acid-phosphatase type of the blood							
	<i>Bph^O</i>	<i>Bph^A</i>	<i>Bph^B</i>	<i>Bph^C</i>	<i>Bph^D</i>		
<i>Bombyx mori</i>	7.3%	4.2	9.4	51.0	28.1		
<i>Theophila mandarina</i>	0.0	0.0	0.0	23.8	76.2		
Esterase type of the integument							
	<i>Ies^A</i>	<i>Ies^B</i>	<i>Ies^{AB}</i>	<i>Ies^{AC}</i>	<i>Ies^C</i>	<i>Ies^D</i>	<i>Ies^E</i>
<i>Bombyx mori</i>	1.5%	20.7	7.5	22.1	48.2	0.0	0.0
<i>Theophila mandarina</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	7.1	77.2	15.7

カイコのデータとしては、農林省蚕糸試験場 新庄原蚕種製造所(初秋蚕期)、同 小淵沢原蚕種製造所(春蚕期) および同宮崎原蚕種製造所(春蚕期) 保存の合計 192 系統について各 4 匹ずつ調査した結果(吉武・江口・秋山・土屋 未発表)を用いた。

表からわかるように血液エステラーゼの場合、カイコで一番出現頻度が高い遺伝子は *Bes^A* 遺伝子であるのに反しクワコでは *Bes^C* 遺伝子であり、明らかに遺伝子の出現頻度が異なっていることがわかる。しかしこれらの遺伝子に関するクワコとカイコとの差異は非連続的ではなく、連続的な変異でこれは重要な意味を有しているように思う。血液の酸性ホスハターゼに関しては、クワコではカイコに存在する *Bph^O*, *Bph^A* および *Bph^B* 遺伝子が全く見出されず、また共通に存在する *Bph^C* および *Bph^D* 遺伝子の出現頻度も非常に異なり、カイコでは *Bph^C* > *Bph^D* であるのにクワコでは逆に *Bph^C* < *Bph^D* である。

一方皮膚のエステラーゼは、クワコとカイコにおいて共通に存在するのは *Ies^C* 遺伝子のみで、しかもクワコにおける *Ies^C* 遺伝子の出現頻度は全体の 7 % で非常に低い。従って皮膚のエステラーゼ活性を支配する遺伝子に関しては、クワコとカイコとの間に殆んど共通性がないと見ることもできる。特にカイコでは後述するように *Ies^{AB}* および *Ies^{AC}* 遺伝子といったいわゆる重複型と思われる遺伝子が高い頻度(全体の約 30 %)で見出されるのに反し、クワコではすべて単一型のみで重複型と思われる遺伝子は全く見出されなかった。

以上 3 種の酵素についてクワコとカイコにおける遺伝子分布差異の調査結果の概要を述べたが、程度の差はあれいずれの場合にもその分布が両者間で連続的であることが認められた。すなわちクワコとカイコは極めて近縁であることが再認識されたわけである。

3. クワコとカイコにおける皮膚、絹糸腺などのエステラーゼ活性の差異

前述のようにカイコの皮膚のエステラーゼ型を電気泳動でしらべてみると、Fig. 1 に示したように *Ies^A*, *Ies^B*, *Ies^C*, *Ies^{AB}*, *Ies^{AC}* および *Ies^O* の 6 種の型が見出される。これらについて電気泳動の場合と同様 β -naphthyl acetate を基質としてエステラーゼ活性を定量してみると、Table 3 に示したように *Ies^{AB}* および *Ies^{AC}* 型では *Ies^A*, *Ies^B* あるいは *Ies^C* 型の約 2 倍の活性を有することがわかった。すなわち前者は *Ies^A* と *Ies^B* あるいは *Ies^C* 遺伝子との間に不均等交叉が生じその結果生じた重複型遺伝子ではないかと想像されるのである。カイコにおいてはこういった重複型遺伝子の分布が高いが、クワコでは電気泳動的にもまた定量の結果からも重複遺伝子と思われるものは 1 例も見出されなかった。

Table 3. Difference of the esterase activity among strains
Esterase activity of the integument

Strain	Type of enzyme (Isozyme)	Esterase activity (μ moles/g/hr)
<i>Bombyx mori</i> (Shinshôchô)	<i>Ies^A</i>	292
<i>Bombyx mori</i> (Mukonaka C-4)	<i>Ies^C</i>	233
<i>Bombyx mori</i> (Koishimaru)	<i>Ies^C</i>	272
<i>Bombyx mori</i> (Sekuzâtô)	<i>Ies^{AB}</i>	501
<i>Bombyx mori</i> (Cambodge)	<i>Ies^{AC}</i>	580
<i>Theophila mandarina</i>	<i>Ies^D</i>	282
<i>Theophila mandarina</i>	<i>Ies^E</i>	267

Esterase activity of the silk-gland

<i>Bombyx mori</i> (Cambodge)	<i>Ses^{AA}</i>	121
<i>Bombyx mori</i> (Heiwa)	<i>Ses^{AA}</i>	131
<i>Bombyx mori</i> (Koishimaru)	<i>Ses^{BB}</i>	119
<i>Bombyx mori</i> (Annan)	<i>Ses^A</i>	46.3
<i>Theophila mandarina</i>	<i>Ses^A</i>	45.3
<i>Theophila mandarina</i>	<i>Ses^A</i>	50.0

絹糸腺についても同様にそのエステラーゼ活性を両者間で比較してみると、カイコではその殆んど系統がクワコの約2倍の活性を有していることがわかる (Table 3)。電気泳動的には活性帯の太さ並びにその色調がクワコはカイコの大部分の系統に比して弱いことが観察された。こういった点から絹糸腺のエステラーゼ活性を支配する遺伝子が、カイコにおいては多くの系統において重複している可能性が考えられる。同様の現象が中腸のアルカリ性ホスハターゼなどの酵素でも認められ、クワコにおいてはいずれの場合もその活性がカイコに比して低かった。

考 察

本研究は2, 3の酵素活性を支配する遺伝子が、日本各地に棲息するクワコ間でどのように異なっているかという問題と、これらの遺伝子がクワコとカイコとでどのように相違しているかという問題の2つの点について解明を行なったわけである。前者については本研究の範囲では地域的に大きな差異はないという結果を得たが、調査個体数が少ないため明確な結論は出せない状態である。これについてはさらに多くの個体について調査を行ない結論を出したいと考えている。従ってここでは主として後者の問題、すなわちクワコとカイコの酵素型からみた関係について考察を行なってみたい。

すでに述べたように血液のエステラーゼ遺伝子 (*Bes*) については、クワコとカイコとではそれらの出現頻度は異なるが、遺伝子の種類については全く同じである。血液のホスハターゼ (*Bph*) については、遺伝子の出現頻度の差異だけではなく、遺伝子の種類にも相違がありクワコではカイコに存在する *Bph⁰*, *Bph^A*, *Bph^B* 遺伝子は分布していない。さらに皮膚のエステラーゼ (*Ies*) についてみると、*Ies^C* 遺伝子が両者に存在するもののクワコではこの遺伝子の出現頻度は極めて低く、こういった点から皮膚のエステラーゼ遺伝子については現在からうじてクワコとカイコの連続性が保たれているといった感がする。すなわちこれらの遺伝子に関して両者では殆んど共通性がなく、クワコ独特あるいはカイコ独特の遺伝子がそれぞれ分布している (Table 2)。

本研究において上記3種の遺伝子を取りあげたところ、たまたまクワコとカイコ間で比較的遺伝子分布が似ているもの (*Bes*)、非常に異なっているもの (*Ies*) およびその中間 (*Bph*) といった例にぶつかったわけである。恐らくもっと沢山の形質について調べてみると、さらにいろいろの程度の差異を有するものが見出されるに違いない。すなわち本研究の場合には見られなかったが、クワコとカイコで連続性が全くみられなくなった形質もあると想像される。種の分化も多分こういったかたちで進行し、長い時間的経過の後に連続性を有する形質が次第に減少し、その結果新しい種が形成されるものと考えられる。それでは形質によって連続性の状態 (不連続方向への進行状態) がなぜ異なるのであろうか。これは今のところ環境にその要因を求める他はない。

Bph 遺伝子についてみると、カイコのみ分布する *Bph⁰*, *Bph^A* および *Bph^B* 遺伝子はカイコの方向に分化してから後に突然変異として生じたものか、それとも野棲のクワコでは *Bph⁰*, *Bph^A* および *Bph^B* 遺伝子は *Bph^C* および *Bph^D* 遺伝子に比して不利であり淘汰されてしまったのか、いずれの機構によったか問題である。前報で述べたように *Bph⁰* 遺伝子は血液において α -naphthyl phosphate を加水分解する酸性ホスハターゼ活性を欠くものであり、また *Bph^A* 遺伝子も *Bph^C* あるいは *Bph^D* 遺伝子に比してその活性が低い点から生物にとって決して有利な遺伝子とは考えられず、こういった点からむしろカイコで人為的にこれらの遺伝子が保存されたのではないかと考えることもできるが、さらに検討する必要がある。

一方皮膚のエステラーゼについてみると、前にも述べたようにクワコとカイコの間でそれらに関与する遺伝子の共通性は殆んどなく、しかもカイコでは *Ies^{AB}* および *Ies^{AC}* といった重複遺伝子と思われるものの分布が多いのに反し、クワコではこういった遺伝子は全く存在しない。すなわちカイコではクワコの酵素活性の2倍の活性を示す遺伝子が多く分布しているわけである。

すでに述べたように遺伝子の重複を生ぜしめた機構としては、不均等交叉を考えるのが最も自然のように思われるが、カイコがクワコの馴化に由来しているとするとういった遺伝子の重複は多分人為淘汰の過程で生じたものと想像される。またこういった遺伝子の重複によると思われる例は、皮膚のエステラーゼのみではなく絹糸腺のエステラーゼ、中腸のアルカリ性ホスハターゼなど著者らの調査した酵素の多くに見出されたことから普

遍的な現象と思われる。カイコのみではなく他の昆虫 (Kikkawa 1964) あるいはヒト (Hopkinson *et al.* 1964) などにおいてもかかる遺伝子の重複が生じている可能性がそれらの研究結果から想像され興味深い。

このような不均等交叉による遺伝子の重複は、恐らく染色体の倍加あるいは部分的倍加などに比して生体としては非常に僅かな遺伝物質の増加であるので殆んど生理的に悪影響を与えないのではなかろうか。こういった意味で2倍体生物では相当高い頻度でこのような遺伝子の重複が起こっている可能性が考えられる。従来しられている物質の量を支配する遺伝子でしかも単純なメンデル分離をなすものは、多分この種の遺伝子と思われる。

クワコとカイコとの種的分化の機構特に現在両者間で認められる量的形質の顕著な相違は、遺伝子の重複によるその活性の急激な増大におうところが大きいと考えれば、単なる遺伝子突然変異あるいは淘汰に起因すると考えるよりも無理なく説明できよう。

要 約

日本各地から採集したクワコ (*Theophila mandarina* L.) を用いて、その血液、皮膚、中腸および絹糸腺などのエステラーゼ並びにホスハターゼ活性を電気泳動的に解析し、それらの地域差について比較検討した。その結果血液酸性ホスハターゼ型に関しては関東型と関西型 (名古屋以西) に分けて考えることもできるが、他の酵素についてはその地域的差異が認められなかった。

一方クワコとカイコとの間におけるこれら酵素型の相違をみると、それらを支配する遺伝子の出現頻度は明らかに相違するが、遺伝子の種類については両者に連続性があることが認められた。またある種のカイコの皮膚、絹糸腺および中腸などに存在する1, 2の酵素がクワコのその約2倍の活性を有することが電気泳動と定量的結果から明らかにされた。このような2倍の活性を有する遺伝子の生ずる機構は多分不均等交叉による遺伝子の重複に起因しているものと考えられる。クワコからカイコの進化は単なる突然変異の集積によると考えるよりも、遺伝子の重複により多く原因しているものと考察した。

文 献

- 青木 薫, 1915 蚕兒における沈澱反応に関する所見. 蚕試報告 **1**: 93-120.
- 藤本直正・林屋慶三・城野晋, 1959 繭の色素に関する研究 (V) クワコ繭の色素について. 日本蚕糸学雑誌 **28**: 84-87.
- 藤本直正・林屋慶三, 1960 繭の色素に関する研究 (VI) インド産のクワコおよびカイコの繭色素について. 日本蚕糸学雑誌 **29**: 420-424.
- 広部達道, 1950 桑蚕暗色斑紋と淡黄繭との連関について (要旨). 遺種 **25**: 68-69.
- Hopkinson, D. A., N. Spencer, and H. Harris, 1964 Genetical studies on human red cell acid phosphatase. *Am. J. Human Genet.* **16**: 141-154.
- 堀内彬明・清水 滋・安江 昇, 1965 クワコの黄起について. 日本蚕糸学雑誌 **34**: 155-157.
- 川口栄作, 1923 細胞学的見地に立ちて桑蚕より家蚕への推移を論ず (I), (II), (III). 蚕業新報 **31**: 46-52, 159-165, 428-434.
- 川口栄作, 1934 かいて *Bombyx mori* との交雑によるくわこ *Bombyx mori var mandarina* の因子分析. 遺種 **9**: 154-156.
- Kikkawa, H., 1964 An electrophoretic study on amylase in *Drosophila melanogaster*. *Japan. J. Genetics* **39**: 401-411.
- 松村季美, 1936 消化液 アミラーゼ作用の遺伝に関する家蚕と野蚕 (桑蚕) との交雑試験. 植及動 **4**: 1857-1860.
- 松村季美, 1951 家蚕における日本種, 支那種, 印度支那種及びヨーロッパ種のアミラーゼ型の分布. 蚕試報告 **13**: 521-533.
- 森繁太郎, 1939 家蚕及び野蚕における気管分布型について. 蚕試報告 **9**: 377-433.

- Nachlas, M. M., and A. M. Seligman, 1949 Evidence for the specificity of esterase and lipase by the use of three chromogenic substrates. J. Biol. Chem. **181**: 343-355.
- 大村清之助・片岡 平, 1943 家蚕と桑蚕の卵紋の形, 大きさ及びその成因. 日本蚕糸学雑誌 **14**: 263-275.
- Ozaki, K., and H. Koike, 1965 Naphthyl acetate esterase in the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler, with special reference to the resistant colony of organophosphorus insecticide. Japan. J. Appl. Ent. Zool. **9**: 53-59.
- Sasaki, C., 1898 On the affinity of our wild and domestic silkworms. Ann. Zool. Jap. **2**: 33-41.
- 田島弥太郎・稲垣栄一, 1958 インド産クワコの染色体数(要旨). 日本蚕糸学雑誌 **27**: 177.
- 吉武成美, 1963 カイコの中腸におけるエステラーゼ型の品種間差異について. 日本蚕糸学雑誌 **32**: 285-291.
- 吉武成美, 1964 カイコにおける中腸組織のアルカリ性ホスハターゼ型に関する遺伝学的研究. 日本蚕糸学雑誌 **33**: 28-33.
- Yoshitake, N., and M. Akiyama, 1964 Genetical studies on the acid phosphatase in the blood of the silkworm, *Bombyx mori* L. Japan. J. Genetics **39**: 26-30.
- 吉武成美・江口正治, 1965 カイコの幼虫血液におけるエステラーゼ型の品種間差異について. 日本蚕糸学雑誌 **34**: 95-98.
- 吉武成美・秋山昌子, 1965 カイコの幼虫血液における酸性ホスハターゼ型の品種間差異について. 日本蚕糸学雑誌 **34**: 99-103.