家蚕の繭層中の遊離アミノ酸および尿素含量に 及ぼす飼料の影響

山田政枝・中村晃三・井口民夫

農林水産省蚕糸試験場

Effects of Diets on the Contents of Free Amino Acids and Urea in the Cocoon Shell of the Silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Masae YAMADA, Kōzō NAKAMURA and Tamio INOKUCHI (Sericultural Experiment Station, Ohwashi, Yatabe, Ibaraki 305, Japan). *Jap. J. appl. Ent. Zool.* **27**: 46–51 (1983)

There were significant quantitative differences in the contents of free ninhydrin-positive substances and urea in the cocoon shell of silkworms reared on an artificial diet and on mulberry-leaves. The total amount of free ninhydrin-positive substances in the cocoon shell spun by the larvae fed on the artificial diet was much higher than that of the cocoon from larvae fed on mulberry leaves. The composition pattern of free ninhydrin-positive substances in the cocoon shell differed remarkably between the cocoons of both groups. When the larvae were fed on mulberry leaves, the major free amino acids present in the cocoon shell were leucine, methionine-sulfoxide, asparagine, isoleucine and valine. On the other hand, in the cocoon shell spun by the larvae fed on the artificial diet, urea was dominant and the contents of glutamic acid and leucine showed high levels exceeding 95 μg per g of cocoon shell. In silkworms reared on an artificial diet, the urea contents in the cocoon shell rose to approximately 2 mg per g of cocoon shell, or 1.0 mg per cocoon, while in the cocoon shell from larvae fed on mulberry leaves the contents were negligible. The urea contents in the cocoon shell were influenced by the composition of the artificial diets, the stage of which the silkworms were reared on them and the silkworm varieties. The urea contents of the cocoon were much higher in the inner layer than in the outer layer, and in the male than in the female.

緒 言

家蚕繭層中に水溶性アミノ酸が存在することについては定性的には金子 (1932) の報告がある。また阿久根 (1950) は繭層中の遊離アミノ酸を定量し、繭層 100 g 中にグリシンが 50 mg 内外含まれていることを報告した。さらに桐村 (1962) は微生物定量法によって繭層に含まれる遊離アミノ酸を測定し、合計量で 0.15% 検出され、フェニルアラニン、グリシン、ロイシン、セリンは 100 $\mu\text{g}/\text{g}$ 以上含まれていることを報告した。著者の 1 人、山田 (1976) は繭層セリン中に検出されるグルコサミン、ガラクトサミンが遊離状態で存在するか否かを調べるために、繭層中の遊離アミノ酸組成について検討した。その後、著者らは繭層中の遊離ニンヒドリン陽性物質と蚕品種および飼料の関係を検討したところ、牡蚕を人工飼料で育て得られる繭の繭層には尿素が多量検出されることをみいだした。この現象と飼料条件との関係

を検討し、若干の知見を得たので報告する。なお、繭層尿素は 5 齢幼虫を人工飼料で飼育した場合にみられ、現行の稚蚕人工飼料育ではまったく問題にならないことを述べておきたい。

材料および方法

1. 材料

限性蚕品種、紅白×同榮とその原種およびセバンス白ほか 8 品種について、全齢を桑葉 (桑品種、一の瀬) または人工飼料で飼育して得られた繭層を供試した。用いた人工飼料は主として、蚕糸試験場で考案された組成 (堀江ら, 1973) を改良したものをを用いたが、一部は市販の人工飼料 (シルクメイト, 日本農産工業) および合成飼料 (伊藤・荒井, 1965) についても実験した。また営繭中の熟蚕の排尿などによる二次的影響を防ぐために、上簇は紙筒を用いて、1 個体ずつ営繭させた。

Table 1. Contents of free ninhydrin-positive substances in the cocoon layer of silkworms^{a)} reared on different diets

Substance	Diet				Substance	Diet			
	Mulberry leaves		Artificial diet			Mulberry leaves		Artificial diet	
	Female	Male	Female	Male		Female	Male	Female	Male
	(μg/g)		(μg/g)			(μg/g)		(μg/g)	
Cysteic acid	8.6	9.9	15.9	7.1	Isoleucine	59.3	61.1	35.0	28.4
Taurine	0.4	0.5	0.5	0.5	Leucine	162.6	142.9	105.0	85.7
Urea	tr.	tr.	2609.3	3288.6	Tyrosine	15.8	22.1	8.4	10.3
Aspartic acid	5.0	8.5	5.9	10.5	Phenylalanine	15.5	52.1	7.2	12.5
Methionine sulfoxide	63.8	60.5	39.7	20.3	β-Alanine	8.4	2.4	2.7	3.2
Threonine	11.7	21.6	28.8	27.7	β-Amino- <i>iso</i> -butyric acid	0.9	tr.	0.7	tr.
Serine	15.5	31.2	4.6	41.5	γ-Amino- <i>n</i> -butyric acid	tr.	tr.	3.6	tr.
Asparagine	46.7	88.2	30.4	33.6	Ethanolamine	0.9	1.2	0.4	0.5
Glutamic acid	25.2	44.4	161.1	273.5	Ammonia	20.0	19.4	7.8	11.4
Glutamine	0.5	0.7	1.4	0.8	Ornithine	4.8	5.8	8.8	13.4
Sarcosine	27.0	33.9	6.6	5.4	Tryptophan	6.4	3.9	1.7	1.3
α-Amino adipic acid	22.8	40.5	14.3	17.4	Lysine	5.0	5.3	5.9	10.0
Glycine	8.0	36.6	5.5	5.8	1-Methyl-histidine	4.1	4.4	1.0	33.9
Alanine	15.3	14.0	12.1	15.3	Histidine	30.7	34.2	19.8	21.8
Glucosamine	36.9	25.2	19.9	12.3	3-Methyl-histidine	2.4	2.5	tr.	tr.
α-Amino- <i>n</i> -butyric acid	2.0	1.4	0.5	1.2	Arginine	13.7	12.0	16.6	49.0
Valine	53.1	46.1	34.5	32.0	Hydroxyproline	3.0	3.3	3.0	tr.
Lanthionine	7.4	4.2	5.1	9.5	Proline	3.3	12.8	10.4	17.6
Cystine	15.2	22.1	23.3	18.0					
Methionine	17.9	15.4	16.6	18.0					
Cystathionine	0.6	0.4	0.6	0.7	Total	740.4	890.8	3274.6	4138.7

^{a)} Silkworm variety : Kōhaku×Dōei.

2. アミノ酸分析

繭層 2g を約 2~3mm 角に切り、80% エチルアルコールを用いて 80°C で 30 分間熱抽出した。この操作を 3 回くり返し、抽出液を合わせて、エバポレータを用いて濃縮した。ついで、色素およびロウ質物をエチルエーテルにより抽出除去したのち、0.01N 塩酸に溶解したものを分析試料とした。アミノ酸分析は日立高速アミノ酸分析計 835-30 形により、リチウム緩衝液を用いて 4 時間分析で行った。一方、分析ピークのペプチドを識別するため、分析試料の一部を 3N 塩酸で 3 時間減圧下で加水分解し、同様にアミノ酸分析を行った。

3. 尿素的定量

上記 80% エチルアルコール抽出液についてジアセチルモノオキシム法 (飴野・亀岡, 1969) に従った。すなわち、80% エチルアルコール抽出液を 5ml とし、その 20 μl に 0.12M ジアミノモノオキシム/6.6mm チオセミカルバミド/5M リン酸の混液 (1:1:10) 3ml を加え、20 分間 100°C で加熱後、冷水下で 5 分間放置し、540 nm の吸光度を測定した。尿素態窒素の算出は尿素標準液 (20 mg/dl) との比色によって求めた (尿素量 = 尿素-N 量 × 2.14)。なお、測定はすべて 3 連制で行い、

定量値は平均値 ± 標準誤差で表した。

結 果

1. 繭層遊離アミノ酸

繭層エチルアルコール抽出液のアミノ酸分析の結果、51 のピークが認められた。そのうち 3N 塩酸による加水分解の結果、4 ピークはペプチドと推察された。同定できた 39 種のニンヒドリン陽性物質の定量値を Table 1 に示した。ニンヒドリン陽性物質の定量値の合計では両飼料の間で大きな違いが認められ、人工飼料育のほうが桑葉育よりも雌雄ともにほぼ 4.5 倍高い値が示された。個々の物質についても、桑葉育ではロイシン、イソロイシン、バリン、アスパラギン、メチオニンスルホキサイドが比較的多く検出されたのに対して、人工飼料育では尿素、グルタミン酸、ロイシンなどが多く検出され、その構成パターンは桑葉育の繭層と大きく異なることが示された。とくに人工飼料育における尿素的定量値は桑葉育との差が顕著であることが認められた。しかし、アミノ酸分析では尿素的の溶出位置にわずかにペプチドが重なることから、尿素的の正確な定量は個別定量によらなければならなかった。

Table 2. Effects of diets on urea-N contents^{a)} in the cocoon shell of silkworms of different varieties

Silkworm variety	Diet			
	Mulberry leaves		Artificial diet	
	Female	Male	Female	Male
Kōhaku×Dōei	0.062±0.001	0.063±0.002	1.239±0.068	1.866±0.042
Dōei	0.093±0.001 ^{b)}		1.389±0.026	1.512±0.051
Kōhaku	0.038±0.002	0.000	1.002±0.033	1.173±0.067
Awakunisan	0.014±0.002	0.015±0.002	0.244±0.017	0.361±0.029
Sevenu-shiro	0.013±0.003	0.015±0.003	0.222±0.018	0.363±0.019
Chusu-otsu	0.015±0.001	0.013±0.001	0.569±0.005	0.728±0.037
Marke-ōken	0.022±0.000	0.034±0.001	0.787±0.028	0.966±0.075
Renshin	0.014±0.001	0.051±0.001	0.696±0.028	0.591±0.020
Koishimaru	0.063±0.000	0.064±0.001	0.397±0.014	0.520±0.019
Datenishiki	0.041±0.001	0.051±0.002	0.244±0.008 ^{b)}	

^{a)} Values are expressed as mg/g with standard errors.

^{b)} Cocoons from females and males were mixed.

Table 3. The relationship between urea-N content in the cocoon shell^{a)} and dietary conditions

Dietary conditions	Female		Male	
	Cocoon shell weight (mg)	Urea-N (mg/g)	Cocoon shell weight (mg)	Urea-N (mg/g)
Rearing on mulberry leaves throughout larval stages.	533	0.062±0.001	507	0.063±0.002
Rearing on mulberry leaves from 4th-instar after being raised on artificial diet.	520	0.000	500	0.000
Rearing on artificial diet from 4th-instar after being raised on mulberry leaves.	450	1.297±0.093	410	1.332±0.042
Rearing on artificial diet throughout larval stages.	520	1.239±0.068	430	1.866±0.042
Rearing on a commercial artificial diet ^{b)} from 5th-instar after being raised on the same diet as above.	520	0.899±0.036	450	0.797±0.046

^{a)} Silkworm variety : Kōhaku×Dōei.

^{b)} Purchased from Nihon Nōsan Kōgyō Co.

Table 4. Difference in urea-N contents^{a)} between inner layer and outer layer of cocoon shell

Silkworm variety	Female		Male	
	Inner layer	Outer layer	Inner layer	Outer layer
Dōei×Kōhaku	1.316±0.013	0.893±0.053	1.826±0.115	0.138±0.062
Dōei	1.364±0.074	0.865±0.044	1.481±0.169	1.110±0.035
Kōhaku	1.308±0.109	1.075±0.072	1.715±0.059	1.221±0.072

^{a)} Values are expressed as mg/g with standard error.

2. 繭層中の尿素の定量

アミノ酸分析の結果から人工飼料育では繭層中に尿素が多量検出されることを知ったので、さらに数品種についてこの点を確かめた。Table 2 に示したように、尿素-N は桑葉育では繭層 1g 当たり 0~0.06 mg しか検出されなかったが、人工飼料育では蚕品種によって異なるが、0.2~1.9 mg 検出され、明らかに桑葉育より多いことが認められた。両飼料区間の繭層尿素-N 量の差は供試した蚕品種についてすべて 1% 水準で有意であった。また、人工飼料育の繭層中に検出される尿素量には雌雄差

が認められ、蓮心以外では雄のほうが高い値を示した。

つぎに人工飼料育によって得られる繭層中の尿素量と飼料条件との関係について検討した。まず 1~3 齢を人工飼料で飼育し、4 齢以降を桑葉育した場合および逆に稚蚕を桑葉で飼育し、壮蚕を人工飼料で飼育した場合について、それぞれ全齢人工飼料育および全齢桑葉育と比較した。Table 3 に示すように、壮蚕を人工飼料育した場合にのみ多くの尿素が繭層中に検出され、稚蚕期の飼料条件は関係ないことが認められた。なお、4 齢までを実験室で調製した飼料で飼育し、5 齢を市販の飼料で飼

Table 5. Effects of concentration of mulberry leaf powder in the artificial diet on urea-N contents in the cocoon shell^{a)b)}

Concentration of leaf powder (%)	Female		Male	
	Cocoon shell weight (mg)	Urea-N (mg/g)	Cocoon shell weight (mg)	Urea-N (mg/g)
0	278	0.930±0.050	235	1.048±0.027
10	370	0.863±0.021	300	1.136±0.044
20	420	1.058±0.032	375	1.234±0.064
30	465	1.139±0.064	390	1.186±0.019
40	480	0.977±0.040	410	1.211±0.018
50	450	0.750±0.035	370	0.760±0.053

a) Silkworm variety : Kōhaku×Dōei.

b) Content of leaf powder in the original artificial diet was 22.3% of dry matter.

Table 6. Effects of concentration of soybean meal in the artificial diet on urea-N contents in the cocoon shell^{a)b)}

Concentration of soybean meal (%)	Female		Male	
	Cocoon shell weight (mg)	Urea-N (mg/g)	Cocoon shell weight (mg)	Urea-N (mg/g)
10	125	0.603±0.026	140	1.150±0.018
20	215	1.089±0.033	205	1.414±0.121
30	310	1.016±0.020	315	1.292±0.035
40	375	0.921±0.046	315	1.133±0.077
50	395	1.110±0.096	340	1.225±0.027
60	415	1.352±0.021	390	1.410±0.069

a) Silkworm variety : Kōhaku×Dōei.

b) Content of soybean meal in the original artificial diet was 40.0% of dry matter.

育した場合の繭層中尿素量はやや低い値であったが、それでも全齢桑葉育および壮蚕のみ桑葉育した場合に比較すると、きわめて高い値であった。

つぎに人工飼料育の繭層中に検出される尿素と繭層部位の関係をj知るため、繭層を内・外層に2分してそれぞれの尿素-Nの定量を行った。Table 4に示したように、用いた3品種とも、雌雄にかかわらず内層のほうが高い値を示した。その差は紅白の雌および同榮の雄以外はすべて1%水準で有意であった。

Table 5と6には、人工飼料のおもな成分である桑葉粉末および脱脂大豆粉末について、その添加量と繭層中尿素-N量の関係を示した。

桑葉粉末については、無添加の場合および50%添加のような比較的多量の添加において繭層中尿素量は低い傾向を示した。一方、脱脂大豆粉末量については、10%添加飼料では雌において明らかに低い値であったが、雄では一定の傾向が認められなかった。いずれにしても飼料中のおもな成分である桑葉粉末および脱脂大豆粉末の添加量を変化させた場合、繭層中の尿素量がいくらか低下する場合もみられたが、桑葉育と同程度に低下させることはできなかった。

つぎに用いた人工飼料のうち、各成分を1個ずつ欠如した飼料で飼育した場合について、繭層中尿素量を定量した。脱脂大豆粉末欠如飼料の場合は卵アルブミンを乾物飼料100g当たり10gの割合で添加した。Table 7に示したように、桑葉粉末の欠如、脱脂大豆粉末を卵アルブミンで置換した場合、β-シトステロールや糖を欠如した場合および防腐剤を欠如した場合は、繭層尿素-N量は全成分を含む対照飼料に比較してかなり低い値を示した。しかし、いずれの場合も繭層中の尿素量を桑葉育のレベルまでは低下できなかった。

また飼料中の脱脂大豆粉末を他の純蛋白質に変え、さらに桑葉粉末を含まないいわゆる合成飼料を用いて5齢幼虫を飼育すると、Table 8に示すように、繭層尿素量はいずれもかなり低いことが示された。とくにアミノ酸混合物またはハモステインカゼインを添加した飼料での繭層尿素量の低下が著しかった。しかし、この場合でも桑葉育に比較すると10倍程度高い値であった。

以上述べたように、家蚕の壮蚕を人工飼料で飼育すると繭層中に尿素が多量検出され、その量は蚕品種、雌雄および飼料により若干異なるが、桑葉育程度の低い値を示す事例はみいだせなかった。

Table 7. Effects of omission of one substance from the artificial diet on urea-N contents in the cocoon shell^{a)}

Substance omitted	Female			Male		
	Cocoon shell weight (mg)	Urea-N		Cocoon shell weight (mg)	Urea-N	
		mg/g of cocoon	mg/single cocoon		mg/g of cocoon	mg/single cocoon
None	488	1.322	0.645	394	1.661	0.654
Mulberry leaf powder	240	0.752	0.180	290	1.167	0.338
Soybean meal ^{b)}	286	0.685	0.196	231	0.971	0.224
Soybean oil	471	1.380	0.650	416	1.220	0.508
Cellulose powder	494	1.174	0.580	383	1.577	0.604
β -Sitosterol	442	0.918	0.406	360	1.349	0.486
Ascorbic acid	486	1.313	0.638	416	1.545	0.643
Sorbic acid	490	1.188	0.582	393	1.519	0.597
Salt mixture	474	1.302	0.617	406	1.441	0.585
Sucrose	563	0.927	0.522	506	1.023	0.518
Potato starch	467	1.250	0.584	386	1.575	0.602
Morin	465	1.390	0.646	394	1.546	0.609
Citric acid	450	1.224	0.551	371	1.333	0.495
Vitamin B mixture	450	1.374	0.618	350	1.541	0.539
Antiseptic	287	0.660	0.189	270	1.074	0.290

^{a)} Silkworm variety : Kōhaku×Dōei.

^{b)} Egg albumin was added at a 10% level.

Table 8. Effects of different protein sources in synthetic diets on urea-N contents in the cocoon shell^{a)}

Protein source	Female (mg/g of cocoon)	Male (mg/g of cocoon)
Casein (milk)	0.515±0.004	0.719±0.019
Casein (Hammarsten)	0.407±0.031	0.673±0.039
Egg albumin	0.809±0.042	0.725±0.227
Amino acid mixture ^{b)}	0.409±0.022	0.548±0.013

^{a)} Silkworm variety : Kōhaku×Dōei.

^{b)} Prepared according to the method of Ito and ARAI (1965).

考 察

先に桐村 (1962) は微生物定量法によって繭層中遊離アミノ酸の定量を行い、フェニールアラニン、グリシン、ロイシン、セリンが多いことを報告した。今回の分析では、桑葉育の場合、ロイシン (雌雄平均: 153 μ g/g) が最も多く、ついでメチオニンスルホキサイド、アスパラギン、イソロイシン、バリンなども雌雄平均で 50 μ g/g 以上の高い値であった。両分析値の違いは、阿久根 (1950) が指摘したように材料繭の保存法の違いのほかに桑品種と蚕品種の違いによって生じたものと思われる。

家蚕を人工飼料で飼育した場合、カイコの幼虫血液の遊離アミノ酸パターンは桑葉育と異なり、オルニチンの

蓄積が顕著であることが知られている (井口, 1971; 新村ら, 1977)。その原因として、人工飼料ではアミノ酸組成がグルタミン酸に富む脱脂大豆粉末を蛋白源として用いており、したがって蚕体内におけるオルニチンからグルタミン酸への代謝経路においてグルタミン酸量の増加がフィードバックして血液オルニチン量を高めるものと考えられてきた。また、家蚕幼虫はアルギニンをオルニチンに変換でき (井口, 1969; INOKUCHI et al., 1969), 血液オルニチンの蓄積と蚕体内における尿素の生成が示唆されていた。しかし、アルギニンからオルニチンへの代謝経路で生ずる尿素がいかなる運命をたどるかについてはいまままでに十分な知見が得られていなかった。今回の実験で、その一部は吐糸に伴って排泄されることを明らかにすることができた。

従来昆虫の吐糸営繭については、室素や水分調節のための排泄作用と考えられているが、蚕体内に蓄積された尿素を吐糸とともに体外に排泄していることは興味深い。本報告では繭層尿素の生成過程は解明しなかった。しかし、本研究で明らかにしたように繭層の内層のほうが外層より若干多いものの尿素が全層を通じて検出されることから、幼虫体表面に分泌された尿素が、営繭中あるいは化蛹脱皮の際に皮膚を通じて繭層に付着すると思われるよりも、吐糸とともに繭糸表面に付与されたと考えたほうが妥当なように思われる。この点は今後究明すべき問題である。先に KOBAYASHI et al. (1980) は人工飼

料育の熟蚕尿には尿素が多量検出されることを報告し、それは飼料に由来するものと考察した。今回の著者らの実験でも、前述したように人工飼料育の繭層中の尿素量は蚕品種や飼料組成等によって異なることが認められたが、桑葉育と同じ程度に低い事例はなく、人工飼料中に尿素が存在するようにみうけられた。その後の実験により、人工飼料育では繭層や熟蚕尿のみでなく、糞中でも尿素含量が高いこと、また熟蚕期以降の血液尿素量が著しく高くなることが判明した。しかも、桑葉育ではこの時期からウレアーゼ活性が急激に高まるのに対して、人工飼料育ではウレアーゼ活性が低いことを知った（井口ら、未発表）。すなわち、人工飼料調製中の加熱によりウレアーゼが失活したため、尿素が幼虫体内に蓄積し、それが繭層に排泄されたとも考えられ、現在その可能性を検討中である。

人工飼料中の繭層中尿素量はほとんどの事例で示されたように雄のほうが雌より多かった。先に、幼虫から蛹への変態時の硫黄の排泄についても雄のほうが雌よりも多いことが示されており（新保, 1980）、代謝面での雌雄差の存在は興味あることと思われる。

今回の実験により、壮蚕の人工飼料育では繭1粒当たり1.0 mg程度の尿素が検出されることを知ったが、これは煮繭および製糸工程で溶出されるものと思われる。従来、製糸排水中に尿素の存在が問題にされたことはなかったが、今後全齢人工飼料育が行われるようになった場合には排水中の尿素の処理法を考究しておく必要がある。

摘 要

家蚕の繭層に検出される遊離ニンヒドリン陽性物質と尿素の含量は飼料条件によって異なる。全ニンヒドリン陽性物質の合計量は人工飼料育で得られた繭層のほうが桑葉育で得られた繭層よりはるかに高い値を示した。個

個のニンヒドリン陽性物質についても両飼料区間で著しい違いがみられ、桑葉育ではロイシン、メチオニン、スルホキサイド、アスパラギン、イソロイシン、バリンが多く検出されるのに対して、人工飼料育繭層では尿素がきわだって多く検出され、またグルタミン酸とロイシンも繭層8当たり95 μg 存在した。

引 用 文 献

- 阿久根 了(1950) 繭層中の遊離アミノ酸について(第1報) アミノ酸の簡易微量定量法. 日蚕雑 19: 492—495.
- 館野成子・亀岡満子(1969) 日常臨床生化学超微量定量(増訂2版)(柴田 進・佐々木匡秀共著). 東京: 金芳堂, pp. 239—245.
- 堀江保宏・井口民夫・渡辺喜二郎・中曾根正一・柳川弘明(1973) 家蚕人工飼料の組成と飼料効率. 蚕試験報 96: 41—55.
- 井口民夫(1969) 家蚕のアミノ酸栄養に関する研究 II. プロリン要求およびアルギニン要求に対する数種アミノ酸の影響. 蚕試験報 23: 389—410.
- INOKUCHI, T., Y. HORIE and T. ITO (1969) Urea cycle in the silkworm, *Bombyx mori*. Biophys. Res. Comm. 35: 783—787.
- 井口民夫(1971) 家蚕幼虫の血液遊離アミノ酸組成に及ぼす飼料条件の影響. 日蚕雑 40: 281—287.
- 伊藤智夫・荒井成彦(1965) 家蚕の栄養に関する研究 VIII. アミノ酸要求ならびに各種蛋白質の栄養効果について. 蚕試験報 19: 345—373.
- 金子英雄(1932) 家蚕繭層水溶液の呈色反応. 蚕糸学雑(上田) 4: 166—168.
- 桐村二郎(1962) 微生物法による絹糸蛋白質のアミノ酸組成と化学構造に関する研究. 蚕試験報 17: 447—522.
- KOBAYASHI, M., F. MUKAIYAMA and K. HAMANO (1980) Studies on the nitrogenous compounds in urine of mature silkworm larvae, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Appl. Ent. Zool. 5: 60—65.
- 新村正純・橋本重文・桐村二郎(1977) 実用的なカイコの人工飼料の開発 III. 人工飼料育蚕幼虫体液の核酸関連物質および遊離アミノ酸の分析. 日蚕雑 46: 469—474.
- 新保 博(1980) 家蚕における硫黄の利用について. 蚕試験報 28: 187—201.
- 山田政枝(1976) 家蚕繭層中に含まれる遊離ニンヒドリン陽性物質について. 日蚕関東支部第27回大会講演要旨集: 47.