

基于 RAPD 分析的中国野桑蚕和家蚕遗传多样性和系统发育关系研究

鲁 成, 余红仕, 向仲怀

(西南农业大学农业部蚕桑学重点实验室, 重庆 400716)

摘要: 对具代表性的中国 11 个地区的野桑蚕 *Bombyx mandarina* 进行了随机引物扩增多态性 DNA (RAPD) 分析, 结果表明: 不同地区的野桑蚕的遗传距离较大, 最大为 0.465 (安康-镇江), 最小的也有 0.209 (武汉-合肥); 同一地区不同个体野桑蚕的遗传距离也较大, 最大为 0.318, 最小的为 0.144。它们均远大于家蚕 *B. mori* 品种内个体间的遗传距离 (最大为 0.068、最小为 0.015), 甚至超过了家蚕品种间的遗传距离 (最大为 0.258、最小为 0.197)。这表明中国野桑蚕是一个十分混杂的、遗传多样性非常丰富的群体。另外, 在大多数情况下野桑蚕的遗传距离表现出与空间距离正相关。遗传距离和系统发育分析结果显示陕西一带的野桑蚕成分复杂, 有重要的演化意义。

关键词: 中国野桑蚕; RAPD 分析; 分子系统树; 遗传距离

中图分类号: Q963 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296 (2002) 02-0198-06

The genetic diversity and phylogenetic relationship of *Bombyx mandarina* and *B. mori* from China based on RAPD analysis

LU Cheng, YU Hong-Shi, XIANG Zhong-Huai (The Key Sericultural Laboratory of the Ministry of Agriculture, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China)

Abstract: The random amplified polymorphism DNA (RAPD) analysis of the mulberry wild silkworm, *Bombyx mandarina*, from 11 representative regions in China was made. The results showed that the genetic distance of the mulberry wild silkworm in different regions was quite high, from 0.465 (Ankang-Zhenjiang) to 0.209 (Wuhan-Hefei); the genetic distance between individuals of the mulberry wild silkworm from the same region was also high, from 0.144 to 0.318; both were higher than the genetic distance between individuals of the silkworm, *Bombyx mori*, and even higher than the genetic distance between varieties of the silkworm. These results suggested that the mulberry wild silkworm from China be a very complex population with abundant genetic diversity. Furthermore the genetic distance of the mulberry wild silkworm was positively related to the distance of space in most cases. The positions of the mulberry wild silkworm from Shaanxi were very peculiar in the molecular dendrogram, suggesting the importance of this region in the evolution and diversification of this species.

Key words: *Bombyx mandarina*; RAPD analysis; molecular dendrogram; genetic distance

DNA 分子多态性研究是分子系统学研究的重要基础, 家蚕 *Bombyx mori* 有数百个品种, 地理上有 4 大系统, 即中国系统、热带系统、欧洲系统和日本系统; 生态上有一化、二化、多化; 已有研究表明家蚕系统间 DNA 多态性十分丰富 (Yoshitake *et al.*, 1965; 夏庆友等, 1998)。家蚕是由中国野桑蚕 *Bombyx mandarina* 驯化而来的 (Yoshitake *et al.*, 1967, 1987; 蒋猷龙, 1982; 李焕文, 1985), 因此, 野桑蚕作为丰富的野生蚕业资源, 是可开发

利用的宝贵基因库资源, 同时也是研究家蚕起源分化的重要材料, 从而受到各国学者的高度重视。迄今已对野桑蚕的数量性状 (杨希哲等, 1984)、生活习性 (华德公, 1996; 郑声镛, 1992) 以及在同工酶 (Yoshitake, 1996)、染色体 (李振刚等, 1983; 曾锦标, 1978) 上与家蚕品种之间的亲缘关系及在蚕育种 (鼓卫平, 1987; 杨鹤楼, 1982) 上的利用等进行了较深入的研究。但是, 几乎所有的研究都是将野桑蚕作为一个相同的参照, 如江苏、四川、

安徽等各地只采集当地的野桑蚕作为材料, 甚至在与家蚕比较时均视为相同的野桑蚕。然而, 从野桑蚕起源而来的家蚕有许多地理类型和生态类型, 各种类型之间也有相当大的遗传差异。因此, 野桑蚕的地理类群分布差异、生态类型差异也应是很大的, 即其基因资源是十分丰富的。由于对野桑蚕可能存在的遗传多样性(差异性)等基础方面尚未进行系统研究, 因而要利用野桑蚕丰富基因资源也是很难的。为此, 我们利用随机引物扩增多态性 DNA (random amplified polymorphism DNA, RAPD) 技术, 对 11 个地区的野桑蚕进行 DNA 多态性的研究, 进而从分子系统学的角度分析各地野桑蚕及其与家蚕的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

家蚕材料选择有代表性的 C108 和大造品种。野桑蚕收集自我国东、西、南、北部分有代表性的地区, 产地包括: (1) 杭州野桑蚕(浙江顾国达提供); (2) 周至野桑蚕(陕西周至蚕研所提供); (3) 安康野桑蚕(陕西胡必利、高贵提供); (4) 重庆野桑蚕(重庆西南农大桑园); (5) 武汉野桑蚕(湖北叶伟兵、郝渝等提供); (6) 合肥野桑蚕(安徽金长江提供); (7) 镇江野桑蚕(江苏陈克平、李木旺提供); (8) 浒关野桑蚕(江苏司马扬虎提供); (9) 吴江野桑蚕(江苏司马扬虎提供); (10) 许昌野桑蚕(河南胡士华提供); (11) 沈阳野桑蚕(辽宁石德林提供)。

1.2 模板 DNA 的制备

模板 DNA 制备参照夏庆友等(1996, 1998)的方法。家蚕的两个品种 C108 和大造于 1999 年春季饲养, 抽提个体蛹 DNA; 野桑蚕于 1999 年 5 月在全国各地区采集, 参见 1.1, 取蛹进行 DNA 的抽提, 然后分两个部分进行, 即单个蛹 DNA 进行 RAPD 分析和同一地区 4~5 个蛹 DNA 混合为 DNA 池后用于 RAPD 分析。

电泳检测, 并用 BIO-RAD Smart specTM 3000 分光光度计测定浓度, 然后用 TE 稀释, 保证 DNA 的浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 纯度 $A_{260/280}$ 在 1.8 左右。

1.3 PCR 体系及扩增程序

参照夏庆友等(1996, 1998)的方法并进行优化, 反应采用 oil-free 管在 Tehermolyne Amplitron I 型 DNA 合成仪上进行。

引物分为两组: ①家蚕个体和 3 个地区野桑蚕个体引物: OPP-11、OPP-12、OPP-13、OPP-14、OPU-05、OPU-07、OPU-08、OPU-10、OPU-12、OPU-16 共 10 个; ②11 个地区野桑蚕的引物: OPS-18、OPS-19、OPC-18、OPZ-06、OPZ-13、OPW-03、OPB-08、OPB-10、OPB-11、OPB-14、OPB-17、OPB-18、OPC-01、OPC-02、OPC-05 共 15 个。

1.4 数据分析与建树

对每一引物而言, 在特定位置出现扩增带记为“1”, 未出现扩增带记为“0”, 以此作为数据记录标准(常青等, 1998; 吕宝忠, 1993)。分析软件采用 RAPDistance (Armstrong *et al.*, 1996), 版本为 Vision 1.04 (相似系数计算选择 Opinion21 的 14) 和 NJ (Neighbor Joining Method, 邻接法) 分析软件。

2 结果与分析

2.1 野桑蚕及家蚕 DNA 多态性的聚类分析

采用 10 个引物对 20 个不同个体的 DNA 进行扩增, 共得到 132 条可区分的 DNA 带型。平均每个随机引物扩增 13.2 条。扩增带数最多的为 OPP-11, 为 15 条; 最小的为 OPP-13, 11 条。132 条带中有 114 条表现为多态性, 占 86.4%, 平均每个引物多态性带数为 11.4 条。多态性最多的是 OPU-05 和 OPU-08, 有 92.9%; 最少的是 OPP-13, 有 72.7%。

将扩增的每一带(DNA 片段)看作一个可以区分的分子标记, 计算 3 个不同地区野桑蚕种群间和 2 个家蚕品种间的遗传距离(1 - 相似系数)得遗传距离矩阵(表 1)。

从表 1 可以看出: 家蚕不同品种不同个体间的遗传距离最小为 0.197, 最大为 0.258, 同一品种不同个体间的遗传距离最小为 0.015, 最大为 0.068; 野桑蚕不同地区不同个体间的遗传距离最小为 0.205, 最大为 0.379, 同一地区不同个体间的遗传距离最小为 0.144, 最大为 0.318; 家蚕和野桑蚕之间的遗传距离最小为 0.295, 最大为 0.424。由此可以看出: 纯度较高的家蚕品种, 其品种内个体间的差异很小, 遗传距离也极小, 而同一地区野桑蚕个体间的遗传距离较大(从 0.144 到 0.318), 有的甚至超过了家蚕品种间的遗传距离, 这表明同一地区的野桑蚕是十分混杂的群体。

用 NJ 法对 3 个不同地区野桑蚕和 2 个不同家蚕品种的 20 个个体进行聚类分析, 得到如图 1 的

表 1 3 个地区的野桑蚕及 2 个家蚕品种的遗传距离矩阵

Table 1 Distance matrix of *B. mandarina* from three different regions and *B. mori* of two varieties

1	0																			
2	0.235	0																		
3	0.318	0.220	0																	
4	0.311	0.288	0.295	0																
5	0.326	0.303	0.280	0.364	0															
6	0.364	0.326	0.258	0.402	0.205	0														
7	0.379	0.265	0.212	0.371	0.144	0.152	0													
8	0.341	0.288	0.205	0.348	0.227	0.189	0.205	0												
9	0.318	0.311	0.303	0.295	0.265	0.303	0.273	0.280	0											
10	0.341	0.288	0.356	0.303	0.348	0.386	0.341	0.333	0.205	0										
11	0.348	0.326	0.348	0.356	0.386	0.379	0.379	0.341	0.212	0.144	0									
12	0.379	0.326	0.364	0.371	0.295	0.303	0.288	0.311	0.212	0.220	0.197	0								
13	0.333	0.417	0.379	0.402	0.311	0.348	0.348	0.356	0.364	0.402	0.409	0.394	0							
14	0.311	0.409	0.402	0.394	0.303	0.341	0.356	0.379	0.356	0.364	0.402	0.371	0.068	0						
15	0.318	0.417	0.394	0.417	0.326	0.348	0.364	0.386	0.364	0.371	0.409	0.409	0.076	0.038	0					
16	0.295	0.379	0.356	0.379	0.303	0.341	0.356	0.364	0.371	0.394	0.402	0.402	0.053	0.045	0.053	0				
17	0.318	0.341	0.333	0.311	0.311	0.364	0.348	0.371	0.409	0.356	0.394	0.364	0.197	0.235	0.242	0.205	0			
18	0.333	0.356	0.348	0.326	0.311	0.379	0.364	0.386	0.424	0.371	0.409	0.379	0.212	0.250	0.258	0.220	0.015	0		
19	0.333	0.356	0.348	0.326	0.311	0.379	0.364	0.386	0.424	0.371	0.409	0.379	0.212	0.250	0.258	0.220	0.015	0.015	0	
20	0.341	0.364	0.371	0.333	0.318	0.371	0.356	0.379	0.417	0.364	0.402	0.356	0.220	0.258	0.265	0.227	0.038	0.053	0.038	0

1~4: 杭州产野桑蚕 *B. mandarina* from Hangzhou; 5~8: 周至产野桑蚕 *B. mandarina* from Zhouzhi; 9~12: 重庆产野桑蚕 *B. mandarina* from Chongqing; 13~16: 家蚕 C108 (*B. mori* C108); 17~20: 家蚕大造 (*B. mori* Dazao)

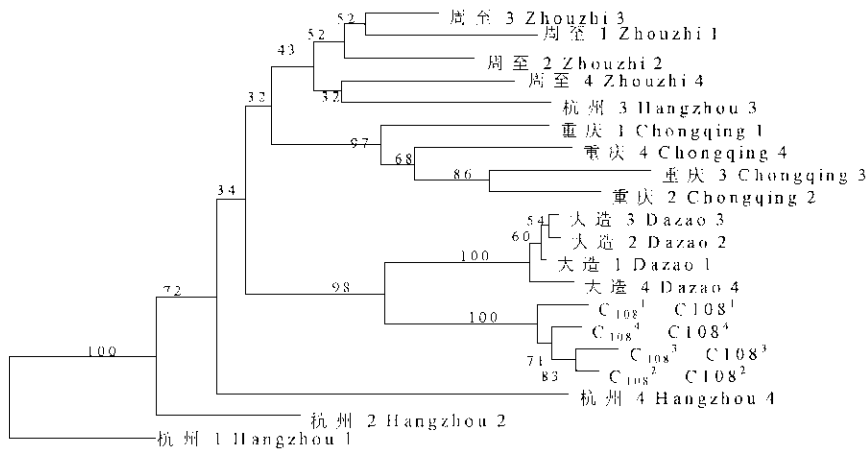


图 1 NJ 树及 Bootstrap 分析

Fig. 1 Dendrogram generated by NJ method and Bootstrap analysis

聚类图。从图 1 可看出野桑蚕个体能够聚在一起，家蚕个体也聚在一起，明显地分为两类：即家蚕和野桑蚕。同时，同一地区野桑蚕的不同个体也能聚在一起（杭州野桑蚕一个个体例外），同一品种的家蚕亦能很好地聚在一起。这说明个体能够反映该地区野桑蚕的遗传特性。

2.2 不同地域野桑蚕的 DNA 多态性

2.2.1 PCR 扩增结果：用 15 个随机引物对 11 个

不同地域野桑蚕 DNA 进行扩增，共得到 172 条 DNA 带型（表 2）。平均每个随机引物扩增 11.5 条。扩增带数最多的为 OPB-08，为 17 条；最少的为 OPC-05，7 条。172 条带中有 153 条表现为多态性，占 89.0%，平均每个引物多态性带数为 11.5 条。多态性最多的是 OPB-18、OPC-01、OPC-02、OPC-18 和 OPW-03，有 100%，最少的是 OPC-05，有 42.9%，可见因引物不同扩增产物均有显著差

异，其中引物 OPS-18 的扩增结果见图 2。同时，不同的品种扩增的总带数亦不相同，其中最多的重庆产野桑蚕达到 102 条带，最少的为杭州产野桑蚕和安康野桑蚕，有 83 条带，相差 19 条带。

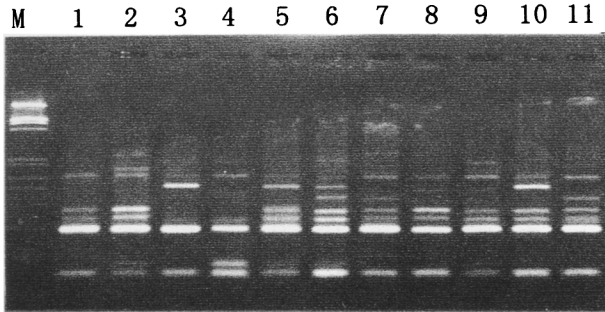


图 2 由引物 OPS-18 扩增产生的 RAPD 带型

Fig. 2 RAPD profiles generated by primer OPS-18

M: λ DNA *Eco*R I / *Hind* III molecular weight marker; 1 ~ 11 为分别来自杭州、周至、安康、重庆、武汉、合肥、镇江、浒关、吴江、许昌、沈阳的野桑蚕 Numbers from 1 to 11 represent *B. mandarina* from the regions of Hangzhou, Zhouzhi, Ankang, Chongqing, Wuhan, Hefei, Zhenjiang, Huguan, Wujiang, Xuchang and Shenyang, respectively

2.2.2 遗传距离矩阵和聚类图：同前面的计算方法相同，得到 11 个地区野桑蚕的遗传距离矩阵(表 3)。从中可以看出，来自安康和镇江的野桑蚕之间的遗传距离最大，为 0.465；来自武汉和合肥的野桑蚕之间的遗传距离最小，为 0.209。由此可见在空间上距离较近的野桑蚕遗传距离较小，亲缘关系较近；空间上相距较远的野桑蚕遗传距离较大，亲缘关系较远。

用 NJ 方法对 11 个地区野桑蚕进行聚类分析，得到如图 3 的树形图。从该图发现，所研究的 11 个地区的材料在遗传距离（校正后的遗传距离）为 0.158 时聚为明显的 5 个类群。

第 I 类群由来自安康的野桑蚕组成；第 II 类群由来自周至和重庆的野桑蚕组成，聚类水平为 0.154；第 III 类群由来自吴江、镇江、浒关的野桑蚕组成，聚类水平为 0.156；第 IV 类群由来自沈阳的野桑蚕组成；第 V 类群由来自杭州、许昌、武汉、合肥的野桑蚕组成，聚类水平为 0.158。

表 2 不同地区野桑蚕 PCR 扩增结果统计表

Table 2 PCR amplified products of the sample of *B. mandarina* from 11 regions

编号 Sample Nos.	野桑蚕产地 Source of <i>B. mandarina</i>	带数 Bands
1	杭州 Hangzhou	83
2	周至 Zhouzhi	99
3	安康 Ankang	83
4	重庆 Chongqing	102
5	武汉 Wuhan	98
6	合肥 Hefei	92
7	镇江 Zhenjiang	91
8	浒关 Huguan	94
9	吴江 Wujiang	93
10	许昌 Xuchang	94
11	沈阳 Shenyang	86

表 3 11 个地区野桑蚕的距离矩阵

Table 3 Distance matrix of *B. mandarina* from 11 regions

	杭州 Hangzhou	周至 Zhouzhi	安康 Ankang	重庆 Changqing	武汉 Wuhan	合肥 Hefei	镇江 Zhenjiang	浒关 Huguan	吴江 Wujiang	许昌 Xuchang	沈阳 Shenyang
杭州 Hangzhou	0										
周至 Zhouzhi	0.314	0									
安康 Ankang	0.430	0.372	0								
重庆 Changqing	0.355	0.308	0.378	0							
武汉 Wuhan	0.355	0.413	0.343	0.326	0						
合肥 Hefei	0.285	0.343	0.378	0.279	0.209	0					
镇江 Zhenjiang	0.360	0.384	0.465	0.401	0.390	0.308	0				
浒关 Huguan	0.366	0.401	0.331	0.395	0.349	0.291	0.238	0			
吴江 Wujiang	0.360	0.372	0.360	0.355	0.331	0.308	0.337	0.285	0		
许昌 Xuchang	0.308	0.413	0.378	0.372	0.291	0.279	0.355	0.349	0.343	0	
沈阳 Shenyang	0.366	0.390	0.401	0.430	0.337	0.337	0.390	0.326	0.366	0.314	0

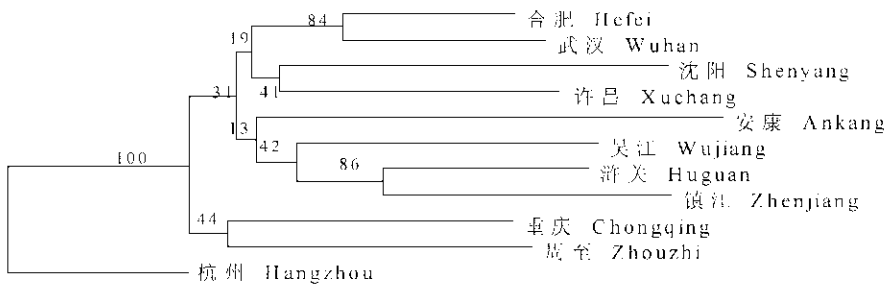


图 3 NJ 树及 Bootstrap 分析

Fig. 3 Dendrogram generated by NJ method and Bootstrap analysis

3 讨论

3.1 野桑蚕的遗传多样性

本研究发现：不同地区野桑蚕的遗传差异较大，其遗传距离为 0.209 ~ 0.465，这比家蚕品种间的遗传距离（0.126 ~ 0.344）大（夏庆友等，1998）。同时，即使是同一地区的野桑蚕，其个体间的遗传差异（遗传距离：0.144 ~ 0.318）也达到了家蚕品种间的遗传差异。这表明野桑蚕的遗传多样性十分丰富，作为重要的种质资源是十分有用的。

3.2 不同地区野桑蚕的遗传距离

11 个具有地域代表性的中国野桑蚕 PCR 扩增结果，发现不同引物扩增多态性差异更高，最高达 100%，最小只有 42.9%，平均为 89.0%，明显高于同一地区不同个体的多态性。各地野桑蚕两两比较的遗传距离共有 55 个组合，遗传距离从 0.209（武汉与合肥）到 0.465（安康与镇江），但大多数的遗传距离在 0.3 ~ 0.4 之间（有 39 个组合）。从整体来看，遗传距离的大小与空间距离有一定的正相关关系，如地理空间距离近的镇江与浒关、武汉与合肥、合肥与许昌、合肥与浒关、浒关与吴江等，其遗传距离也较小（小于 0.3），而空间距离远的安康与杭州、安康与沈阳、重庆与沈阳、安康与镇江、重庆与镇江等的遗传距离也大（大于 0.4）。这与野桑蚕的生活习性上一致的，但有例外，如安康与周至（0.372）、安康与重庆（0.378），这也许表明陕西-四川-重庆一带的野桑蚕遗传背景较为复杂，而且遗传距离也部分表现为：野桑蚕以陕西为中心向其他地区辐射。为此，作者认为黄河流域陕西一带的野桑蚕在起源进化上的地位很重要。

3.3 各地野桑蚕的遗传距离

由于同一地区野桑蚕个体之间遗传距离较大，已接近不同地区不同个体间的遗传距离，其遗传聚类的误差也较大，但结果也有一定的参考意义。NJ 法对 3 个不同地区野桑蚕和 2 个不同家蚕品种的 20 个个体进行聚类分析，发现野桑蚕个体能够聚在一起，家蚕个体也聚在一起。又用 NJ 法对 3 个不同地区野桑蚕和 2 个不同家蚕品种进行聚类分析，得到相同的结果（余红仕等，2000），也证明了家蚕和野桑蚕属不同的种。同时同一地区野桑蚕的不同个体能聚在一起（杭州产野桑蚕一个个体例外），同一品种的家蚕亦能很好地聚在一起，且遗传距离系数较小。NJ 法聚类分析的结果与上述遗传距离的分析结果相似，即地理空间距离相近的吴江、镇江、浒关的野桑蚕在较低水平聚在一起，而陕西、重庆的野桑蚕在聚类树上的位置十分特殊，特别是安康地区的野桑蚕位于聚类树的最上层。这也许说明陕西地区的野桑蚕在起源进化上有重要意义。对此有待进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- Armstrong J, Gibbs A, Peakall R, 1996. RAPDistance programs: version 1.04 for the analysis of RAPD fragments. Canberra: Australian National University.
- Chang Q, Zhou K Y, 1998. Phylogeny reconstruction in the study of molecular evolution. *Chinese Biodiversity*, 6 (1): 55 - 62. [常青, 周开亚, 1998. 分子进化研究中系统发生树的重建. 生物多样性, 6 (1): 55 - 62]
- Hua D G, 1996. Atlas of Diseases and Insect Pests in Silkworm and Mulberry. Jinan: Shandong Science Publishing House. 28 - 42. [华德公, 1996. 蚕桑病虫害原色图谱. 济南: 山东科学出版社. 28 - 42]
- Jiang Y L, 1982. The Origin and Differentiation of Domesticated Silkworms. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Publishing House. 3 - 21. [蒋猷龙, 1982. 家蚕的起源和分化. 南京: 江苏科技出版社. 3 - 21]

- Li H W, 1985. Probing into the origin and voltinism variations of mulberry silkworms. *Newsletter of Sericultural Science*, (1): 41 - 45. [李焕文, 1985. 蚕桑与家蚕的起源及其化性变化的探索. 蚕学通讯, (1): 41 - 45]
- Li Z G, Wu Q Y, 1983. The observational analyses of wild silkworm chromosomes. *Acta Sericologica Sinica*, 9 (1): 57 - 58. [李振刚, 吴秋英, 1983. 野蚕染色体的观察分析. 蚕业科学, 9 (1): 57 - 58]
- Lu B Z, 1993. The construction of molecular evolutionary dendrogram. *Zoological Research*, 14 (2): 186 - 193. [吕宝忠, 1993. 分子进化树的构建. 动物学研究, 14 (2): 186 - 193]
- Peng W P, 1987. The morphological breeding of wild silkworm in China. *Newsletter of Sericultural Science*, (1): 48 - 53. [彭卫平, 1987. 中国野桑蚕性状的育种学研究. 蚕学通讯, (1): 48 - 53]
- Xia Q Y, Zhou Z Y, Lu C *et al.*, 1996. A study on conditions, and repeatability and inheritance patterns on random amplification polymorphic DNA (RAPD) in *F₁* of silkworm (*Bombyx mori*). *Acta Sericologica Sinica*, 22 (1): 20 - 25. [夏庆友, 周泽扬, 鲁成等, 1996. 家蚕 RAPD 的扩增条件、重复性及遗传模型研究. 蚕业科学, 22 (1): 20 - 25]
- Xia Q Y, Zhou Z Y, Lu C *et al.*, 1998. Molecular phylogenetic study on the radical differentiation of *Bombyx mori* by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Acta Entomologica Sinica*, 41 (1): 32 - 40. [夏庆友, 周泽扬, 鲁成等, 1998. 家蚕不同地理品种分子系统学研究. 昆虫学报, 41 (1): 32 - 40]
- Yang H L, 1982. The breeding and genetic trend of the crossing between domesticated silkworm and wild silkworm. *Science and Technology of Sericulture*, (2): 1 - 4. [杨鹤楼, 1982. 家蚕 × 野桑蚕育种和遗传趋势探索. 蚕桑科技, (2): 1 - 4]
- Yang X Z, Jiang T C, Fu X S, 1984. The comparison and evolution of some quantitative characters of *Bombyx mori* and *Bombyx mandarina*. *Newsletter of Sericultural Science*, (2): 42 - 60. [杨希哲, 蒋同庆, 付锡三, 1984. 家蚕与野桑蚕一些数量性质的比较与进化. 蚕学通讯, (2): 42 - 60]
- Yoshitake N, Masaharu E, 1965. Distribution of the blood esterase types in various strains of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 34 (2): 99 - 103.
- Yoshitake N, 1966. The blood relationship of *Bombyx mori* and *Bombyx mandarina* based on the enzyme types. *Jap. J. Genet.*, 41 (1): 259 - 267.
- Yoshitake N, 1967. Phylogenetic aspects on the origin of Japanese race of the silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 37 (2): 83 - 87.
- Yoshitake N, Jiang Y L, 1987. Origin and differentiation of *Bombyx mori*. *Acta Sericologica Sinica*, 13 (3): 182 - 184. [吉武成美, 蒋猷龙, 1987. 家蚕的起源和分化. 蚕业科学, 13 (3): 182 - 184]
- Yu H S, Lu C, Zhou Z Y *et al.*, 2000. A preliminary study on DNA polymorphism of *Bombyx mandarina* M. in China. *Acta Sericologica Sinica*, 26 (2): 94 - 98. [余红仕, 鲁成, 周泽扬等, 2000. 中国野桑蚕 DNA 多态性研究初报. 蚕业科学, 26 (2): 94 - 98]
- Zen J B, 1978. The preliminary observation on the hybridization of domesticated silkworm and wild silkworm and chromosome analyses of the hybrids. *Bulletin of Sericulture*, (4): 21 - 24. [曾锦标, 1978. 家蚕与野蚕的杂交及染色体的初步观察. 蚕桑通报, (4): 21 - 24]
- Zheng S Y, 1992. The prevention of Mulberry Diseases and Insect Pests. 2nd ed. Beijing: Agricultural Publishing House. 185 - 191. [郑声镛主编, 1992. 桑树病虫害防治学 (第二版). 北京: 农业出版社. 185 - 191]