

sericologia

Revue des Vers à Soie

Journal of Silkworms

Publiée par la Commission Séricicole Internationale
Published by the International Sericultural Commission
25, quai Jean-Jacques Rousseau - 69350 La Mulatière - France

Directeur Gérant
Rédacteur en Chef
Rédacteur Adjoint

H. BOUVIER
G. CHAVANCY
A. FOURNIER

Managing Director
Chief Editor
Deputy Editor

COMITE DE REDACTION **EDITORIAL BOARD**

BEAULATON J. (France)
BECK D. (France)
BOSQUET G. (France)
COUBLE P. (France)
DANDIN S.B. (Inde / India)
DAS B.C. (Inde / India)
DATTA R.K. (Inde / India)
DOIRA H. (Japon / Japan)
FONSECA T.C. (Brésil / Brazil)
FOURCHE J. (France)
FREDDI G. (Italie / Italy)
GOLDSMITH M.R. (USA)
IATROU K. (Canada)
JOLLY M.S. (Inde / India)
KAWAKAMI K. (Japon / Japan)
KOBAYASHI M. (Japon / Japan)
KRISHNASWAMY S. (Inde / India)

LEGAY J-M. (France)
LIU S-X. (Chine / China)
LU H-S. (Chine / China)
MANO Y. (Japon / Japan)
NARASIMHANNA M.N. (Inde / India)
PERSOONS C.J. (Pays-Bas / Netherlands)
PRUDHOMME J-C. (France)
REALI G. (Italie / Italy)
SHIMURA K. (Japon / Japan)
SHIRATA A. (Japon / Japan)
SOMASHEKAR T.H. (Inde / India)
SONWALKAR T.N. (Inde / India)
TAKAHASHI R. (Brésil / Brazil)
TAZIMA Y. (Japon / Japan)
VAGO C. (France)
VEY A. (France)
XIA J-G. (Chine / China)
YAMASHITA O. (Japon / Japan)

SOMMAIRE - CONTENTS

Errata	i
Actualités / News	iii
Statistiques 1992 / 1992 statistics	v

Articles originaux / Original papers

Breeding of two bivoltines, MG511 and MG512, of silkworm, <i>Bombyx mori</i> L., for higher viability and silk productivity	577
Obtention de deux lignées bivoltines, MG511 et MG512, de ver à soie <i>Bombyx mori</i> L. à viabilité et productivité supérieures	589
P.J. RAJU & N.B. KRISHNAMURTHY	
Effects of potassium iodide and iodized salt on the larval growth and cocoon characters of the silkworm, <i>Bombyx mori</i> L., race BSR-832	595
Effets de l'iodure de potassium et d'un sel iodé sur la croissance larvaire et les caractères du cocon chez le ver à soie <i>Bombyx mori</i> L., race BSR-832	599
M.A. QADER, A.A. SARKER, M.A. RAB & A.C. BARMAN	
Amylases of the polyvoltine silkworm (<i>Bombyx mori</i>) : variation of activity in the Thai local race	603
Amylases chez le ver à soie polyvoltin (<i>Bombyx mori</i> L.) : variation d'activité chez les races thaïlandaises locales	611
A. PROMBOON, A. ENGKAKUL, L. GNIERNISIRI & P. SAKSOONG	
Effect of cold storage of multivoltine and multi × bivoltine silkworm eggs, <i>Bombyx mori</i> L. (Lepidoptera : Bombycidae), at low temperature on hatching performance	615
Effet de la conservation à basse température des oeufs polyvoltins et poly × bivoltins du ver à soie <i>Bombyx mori</i> L. (Lepidoptera : Bombycidae) sur l'éclosion	621
A. MANJULA & H.K. HURKADLI	
Valeur nutritive de quelques clones de mûrier (<i>Morus alba</i> L.)	623
Nutritive value of some mulberry clones (<i>Morus alba</i> L.)	631
T.C. FONSECA, J.E. DE ALMEIDA, F. OKAMOTO & E.A. DA CUNHA	
Response of mulberry (<i>Morus indica</i> var. Kanva-2) to inoculation with the nitrogen-fixing bacterium, <i>Azospirillum brasilense</i>	635
Réponse du mûrier (<i>Morus indica</i> var. Kanva-2) à l'inoculation avec la bactérie fixatrice d'azote, <i>Azospirillum brasilense</i>	641
B.R. DAYAKAR YADAV & T.G. NAGENDRA KUMAR	
Flower induction in long-term culture from internodal callus in <i>Morus alba</i> L.	645
Induction de fleurs à partir de cals internodaux chez <i>Morus alba</i> L. dans des cultures de longue durée	651
P. NARAYAN, S.P. CHAKRABORTI & K. SENGUPTA	
Development of powdery mildew disease in mulberry and its control	653
Le développement de l'oïdium chez le mûrier et son contrôle	663
SUBRATA BISWAS, S.K. MANDAL & P.K. CHINYA	

SOMMAIRE (suite) - CONTENTS (continued)

Influence of growth regulators on the development of leaf rust and powdery mildew diseases of mulberry 669

Influence des régulateurs de croissance sur le développement de la rouille foliaire et de l'oïdium chez le mûrier 675

R.S. TEOTIA, K.M. RAO & S.K. MANDAL

Coheritable foliar variations in *Terminalia* species 677

Variations foliaires cohéritables chez l'espèce *Terminalia* 685

P.K. SRIVASTAV, SHOBA BECK, A.A. SIDDIQUI, K. THANGAVELU & B.N. BRAMCHARI

Notes brèves / Brief notes

Effect of nutritional quality of foliage of four oak species on oak tasar silkworm rearing 689

Effet de la qualité nutritive des feuilles de quatre espèces de chênes sur l'élevage du ver à soie tasar du chêne 693

R.K. PANDEY, M.K.R. NOAMANI & P.K. DAS

Osmundalin : antifeedant of a lepidopterous insect, *Bombyx mori*, from the royal fern (*Osmunda japonica*) 695

L'osmondaline : antiappétant d'un lépidoptère, *Bombyx mori*, extrait de l'osmonde royale (*Osmunda japonica*) 701

T. SHIMIZU & M. YAZAWA

Bibliographie / Bibliography 705

Sériciculture générale / General sericulture 707

Mûrier / Mulberry 713

B. mori : élevage nutrition, pathologie / *B. mori* : rearing, feeding, pathology 721

Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie / Non mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology 727

Vers à soie : génétique / Silkworms : genetics 731

Vers à soie : physiologie, biochimie / Silkworms : physiology, biochemistry 733

Vers à soie : œufs, embryologie / Silkworms : eggs, embryology 737

Vers à soie : glandes séricigènes / Silkworms : silk glands 739

Soie / Silk 741

Instructions aux auteurs

Information for contributors

ERRATA

Plusieurs erreurs se sont glissées dans la version anglaise de l'article intitulé 'Effect of temperature and humidity on hatching of eggs of the muga silkworm, *Antheraea assama* Ww., during incubation' par A. Barah, A.K. Sengupta & M.V. Samson (1993 - *Sericologia* 33(2), pages 343-347).

Dans l'introduction, il faut lire : "As all the insects are ectothermous..." et "Doke (1935)" au lieu de "As all the insects are esothermous..." et "Doke (1939)".

Dans la figure 1, lire : "the muga silkworm" au lieu de "muga silworms".

Dans la discussion, deux phrases ont vu leur sens modifié. Dans la phrase "The curve (...) partially detrimental", lire "hatching percentage in all the humidity regimes" (2e paragraphe, 3e ligne) au lieu de "hatching percentage are in all the humidity regimes". Dans la phrase "Therefore, an attempt (...) above it", lire "was just above it" (4e paragraphe, 10e ligne) au lieu de "was not just above it".

Deux références bibliographiques ont été omises, il s'agit de :

DOKE N. (1935) Effects of temperature and humidity during the incubation of silkworm eggs on their hatching. *Jap. J. Applied Zool.*, 7, 63-69.

HAND S.C. (1983) The effect of temperature and humidity on the duration of development and hatching success of the aphid, *Sitobion avenae*. *Entomol. Exp. Appl.*, 33(2), 220-222.

Nous prions les auteurs de l'article ainsi que nos lecteurs de bien vouloir nous en excuser.

*Several mistakes have slipped into the English version of the paper entitled 'Effect of temperature and humidity on hatching of eggs of the muga silkworm, *Antheraea assama* Ww., during incubation' by A. Barah, A.K. Sengupta & M.V. Samson (1993 - *Sericologia* 33(2), pages 343-347).*

In the introduction, one should read 'As all the insects are ectothermous...' and 'Doke (1935)' for 'All the insects are esothermous...' and 'Doke (1939)'.

In figure 1, read 'the muga silkworm' for 'muga silworms'.

In the discussion, two sentences have had their meanings altered. In the sentence 'The curve (...) partially detrimental', read 'hatching percentage in all the humidity regimes' (2nd paragraph, 3rd line) for 'hatching percentage are in all the humidity regimes'. In the sentence 'Therefore, an attempt (...) above it', read 'was just above it' (4th paragraph, 10th line) for 'was not just above it'.

Two bibliographical references were omitted, these are :

*DOKE N. (1935) Effects of temperature and humidity during the incubation of silkworm eggs on their hatching. *Jap. J. Applied Zool.*, 7, 63-69.*

*HAND S.C. (1983) The effect of temperature and humidity on the duration of development and hatching success of the aphid, *Sitobion avenae*. *Entomol. Exp. Appl.*, 33(2), 220-222.*

We would like to apologise to the authors of the paper and our readers for these errors.

Le Comité exécutif de la CSI, réuni à l'Ambassade du Japon à Paris le 26 octobre 1993, a attribué le **Prix Louis Pasteur 1993** aux personnalités suivantes pour leur éminente contribution au développement de la sériciculture dans leur pays et au niveau mondial :

- Dr S. Krishnaswami (Inde) ;
- Dr Soedjarwo (Indonésie) ;
- Dr Yasuhiro Horie (Japon).

Au nom de ses Etats membres et de ses Membres associés, la CSI adresse toutes ses félicitations aux trois lauréats pour cette récompense justement méritée.

The ISC Executive Committee, which convened at the Embassy of Japan on 26th October 1993, has awarded the **1993 Louis Pasteur Prize** to the following personalities for their notable contribution to the development of sericulture in their countries and at the international level.

- Dr S. Krishnaswami (India) ;
- Dr Soedjarwo (Indonesia) ;
- Dr Yasuhiro Horie (Japan).

On behalf of its Member States and Associate Members, the ISC wishes to congratulate the three winners on this much deserved award.

CANADA

Deux postes de niveau post-doctorat sont à pourvoir dans le cadre d'études utilisant le clonage d'expression, l'identification des partenaires d'hétérodimérisation et la caractérisation fonctionnelle des facteurs de transcription par transcription *in vitro*, transfection et transformation des embryons.

Une expérience dans ce domaine est indispensable et une connaissance des réactions de phosphorylation est souhaitée.

Le C.V. et les noms de 3 références doivent être adressés à :

Professor K. Iatrou, Department of Medical Biochemistry, The University of Calgary, 3330 Hospital Drive N.W., Calgary, Alberta T2N 4N1, Canada.
Fax : +1 403 270-0737.

Two postdoctoral positions are available for studies involving expression cloning, identification of heterodimerization partners and functional characterization of transcription factors by *in vitro* transcription, transfection and embryo transformation.

Relevant experience is required and additional experience with phosphorylation-mediated signalling pathways will be an asset.

Send C.V. and names of 3 referees to :

STATISTIQUES 1992 - 1992 STATISTICS

Tableau I. Production de cocons et de soie grège en 1992

Table I. 1992 cocoon and raw silk production

Pays	Cocons frais (tonnes)	Soie grège (tonnes)
<i>Country</i>	<i>Fresh cocoons (tonnes)</i>	<i>Raw silk (tonnes)</i>
Brésil / <i>Brazil</i>	17 586	2 296
Bulgarie / <i>Bulgaria</i>	423	36
Chine / <i>China</i>	673 000	60 570
Colombie / <i>Colombia</i>	321.9	50
Côte d'Ivoire / <i>Ivory Coast</i>	2.85	0
Egypte / <i>Egypt</i>	32.8	4.7
Grèce / <i>Greece</i>	32.6	-
Inde	107 139	10 657
<i>India</i>		(1 091)*
Indonésie / <i>Indonesia</i>	1 066	141
Italie / <i>Italy</i>	13	-
Japon / <i>Japan</i>	15 553	5 085
Madagascar ⁽¹⁾	55	4.4
Maroc / <i>Morocco</i>	1.25	0.15
Philippines	18	4.368
		(import. + prod.)
Roumanie / <i>Rumania</i>	105	11
Sri Lanka	4	4.5
Taiwan	8	0
Thaïlande / <i>Thailand</i> ⁽²⁾	2 720	1 940
Turquie / <i>Turkey</i>	790	140
Total	818 871.40	82 035.118

- Données non fournies / *Data not given.*

* Entre parenthèses, soie non mûrier / *In parentheses, non mulberry silk.*

(1) Octobre 1991 à mai 1992 / *October 1991 to May 1992.*

(2) 340 bi + 1 600 poly.

Tableau II. Exportations et importations de cocons et de soie grège en 1992

Table II. 1992 cocoon and raw silk import and exports

Pays	Exportation de cocons secs (tonnes)	Exportation de soie grège (tonnes)	Importation de cocons secs (tonnes)	Importation de soie grège (tonnes)
Country	Dry cocoon exports (tonnes)	Raw silk exports (tonnes)	Dry cocoon imports (tonnes)	Raw silk imports (tonnes)
Brésil / Brazil	674	2 026	0	0
Bulgarie / Bulgaria	35	5	-	-
Chine / China	1 597	10 825	0	0
Colombie / Colombia	-	54	34.3	-
Côte d'Ivoire / Ivory Coast	2.5	0	0	0
Egypte / Egypt	-	-	18	250
France	-	4.3	1.2	387.1
Inde	-	-	-	1 415
India	-	-	-	(661)*
Indonésie / Indonesia	0	0	0	250
Italie / Italy	13	-	-	1 691 ⁽¹⁾
Japon / Japan	-	-	2 085	1 560
Madagascar ⁽²⁾	0	0	0	0
Maroc / Morocco	-	-	-	1
Pérou / Peru	-	-	-	-
Philippines	0.16	2.31	-	0
Roumanie / Rumania	0	0	52	0
Sri Lanka	-	-	-	-
Taiwan	0	0	0	512
Thaïlande / Thailand	0	95.4	0	405
Turquie / Turkey	128	7.85	0	24

- Données non fournies / Data not given.

* Entre parenthèses, soie non mûrier / In parentheses, non mulberry silk.

(1) Janvier à août 1992 / January to August 1992.

(2) Octobre 1991 à mai 1992 / October 1991 to May 1992.

Tableau III. Prix moyens du kilogramme de cocons en dollars américains en 1992

Table III. Average prices for 1 kg cocoons in US dollars in 1992

Pays	Prix payé aux producteurs (cocons frais)	Prix à l'exportation (cocons secs)	Prix à l'importation (cocons secs)
Country	Price paid to producers (fresh cocoons)	Export price (dry cocoons)	Import price (dry cocoons)
Brésil / Brazil	2.23	11.31	0
Bulgarie / Bulgaria	5	9.2	-
Chine / China	2	11	0
Colombie / Colombia	2.9	-	12.2
Côte d'Ivoire / Ivory Coast	1.8	12.7	-
Egypte / Egypt	8.9	-	5.3
Grèce / Greece	-	-	-
Inde / India	5	-	-
Indonésie / Indonesia	2	-	-
Italie / Italy	3	7	-
Japon / Japan	13.3	-	12.5
Madagascar ⁽¹⁾	3	0	0
Maroc / Morocco	-	-	-
Pérou / Peru	-	-	-
Philippines	2.40	6 - 7	6 - 7
Roumanie / Rumania	18	0	10
Sri Lanka	2.8	-	-
Taiwan	8.4	0	0
Thaïlande / Thailand	3.32	11.06	-
Turquie / Turkey	2.93	6.64	0

- Données non fournies / Data not given.

(1) Octobre 1991 à mai 1992 / October 1991 to May 1992.

BREEDING OF TWO BIVOLTINES, MG511 AND MG512, OF SILKWORM, *BOMBYX MORI* L., FOR HIGHER VIABILITY AND SILK PRODUCTIVITY

P.J. RAJU & N.B. KRISHNAMURTHY

Sericulture Section, Department of Studies in Zoology, University of Mysore, Manasagangotri, Mysore - 570 006, India.

*Breeding experiments were conducted to evolve new hardy bivoltine breeds of silkworm, *Bombyx mori* L., by utilising two existing bivoltine races, NB4D2 and NB7, and a multivoltine race, Pure Mysore. By inbreeding the hybrids of the above pure races combined with recurrent backcrossing and selection for productivity and viability at each and every generation, two hardy bivoltine breeds, one spinning white oval cocoons and the other white dumbbell cocoons, were isolated. These breeds, herein referred MG511 with Chinese racial features and MG512 with Japanese racial features, have been bred through over 35 generations and revealed significant improvement in regard to viability compared to the existing bivoltines. The overall performance of the evolved breeds with regard to viability and productivity as well as fibre technological characters is discussed emphasising their superiority over the existing bivoltine races in the field.*

Keywords : *Bombyx mori*, bivoltine breeds, viability, productivity.

INTRODUCTION

Hybridization as an important tool has been exploited by many breeders in the improvement of livestock for their economic gains. Apart from livestock, among insects, the silkworm, *Bombyx mori* L., has been subjected to such hybridization techniques to attain maximum silk productivity. The silkworm races in recognition of their economic importance have been extensively studied for the desirable traits through inbreeding by the breeders. However, continuous and prolonged inbreeding results in the accumulation of many deleterious genes leading to inbreeding depression thereby resulting in the deterioration of some of the economic traits. Nevertheless, the overall combinations of beneficial traits could be achieved in a reasonable way by several breeding techniques followed by selection procedures, as the silkworm breeder has at his disposal a diversified array of gene combinations to manipulate and isolate new silkworm breeds having desirable qualities for commercial exploitation. According to Kovalov (1970), the improvement of indigenous races could be achieved through hybridization utilising exotic races. Further, Harada (1956) opined that new silkworm breeds could only be evolved through hybridization followed by selection. Though India has a number of indigenous races, it suffers for want of new silkworm races in competing with other sericulturally advanced countries such as China and Japan where significant progress has been achieved in synthesising highly productive and resistant silkworm races suitable to their native climatic conditions through hybridization (Yokoyama, 1956). Till the 1970's, Indian sericulture was mostly multivoltine-oriented and bivoltine rearing was restricted only to the maintenance and multiplication of foreign races imported from other countries. During this period, attempts were made to import, rear and breed new bivoltine races in the tropical climates with an appropriate rearing technology. This has resulted in the evolving of bivoltine races like Kalimpong-A and NanNung 6D and also the new bivoltine (NB) series, like NB7, NB18 and NB4D races, has been evolved

(Narasimhanna *et al.*, 1976). However, these races were mostly used for producing commercial crossbreed cocoons with that of multivoltine Pure Mysore females, but are not fully utilised for the production of pure bivoltine silk, in view of their poor adaptability to the fluctuating environmental conditions of the tropics. Hence, there is a need to formulate need-based breeding strategies to evolve robust bivoltine races to improve the productivity and viability traits.

Keeping the foregoing account in view, the authors have felt the need for studying a few pure races and to use them as a breeding material to achieve the desired goal of evolving two bivoltine breeds with better productivity and viability traits apart from possessing good fibre qualities and to exploit them commercially in the interest of the sericulture industry.

MATERIALS AND METHODS

In the course of the present studies initiated during the year 1983, two bivoltines, NB7 and NB4D2, along with multivoltine, Pure Mysore, races maintained at the germplasm of the Sericulture Section, Department of Studies in Zoology (University of Mysore, India) formed the breeding material.

The breeding plan (Fig. 1) of the present experiment represents the production of progeny from a cross between females of NB4D2 $\times$ males of NB7. The F₁ hybrid females thus obtained were outcrossed to PM males to obtain the F₂ progeny which was further inbred for analysing cocoon colour segregation to green, pale yellow, white and dull white in F₃ generation. From F₃, the progeny spinning white cocoons was isolated, backcrossed separately to NB7 and NB4D2 females respectively and as such to be continued as subline I and subline II. The F₄, herein, in each subline was given a recurrent backcross separately to NB7 and NB4D2 females as in the preceding cross. During the course of inbreeding from F₄ onwards, in subline I careful selection was made to isolate white oval cocoons and in subline II white dumbbell cocoons with good built and architecture were selected. Further, each subline was inbred coupled with selection until stability for productivity and viability has been achieved.

The rearings were conducted following the improved silkworm rearing technology for both chawki (early stage) and adult rearings suggested by Yokoyama (1963) and Krishnaswami (1978). Further, a definite period of 3 hours' mating length was followed for the sublines isolated to enhance the fecundity of silkworm eggs as suggested by Petkov *et al.* (1979). Observations were made on five traits of economic importance, viz. yield/10,000 larvae brushed by number, yield/10,000 larvae brushed by weight, single cocoon weight, single shell weight and cocoon shell percentage. The data with regard to the isolation of new bivoltine breeds (MG511 and MG512) along with their respective control races were analyzed by employing the statistical model for one way classification, which is as follows :

$$Y_{ij} = u + G_i + e_{ij}$$

where,

Y_{ij} = actual effect of i th generation of the race

u = constant effect

G_i = effect of i th generation

e_{ij} = random component effect

Based on the above statistical procedure, the inference has been drawn in regard to the new breeds as explained in the second paragraph.

In addition, to evaluate the post-cocoon parameters like reeling and other fibre technological properties, 3 kg of cocoons from each of the evolved breeds and the pure races were reeled on a Japanese multiend reeling machine at CSR&TI, Mysore.

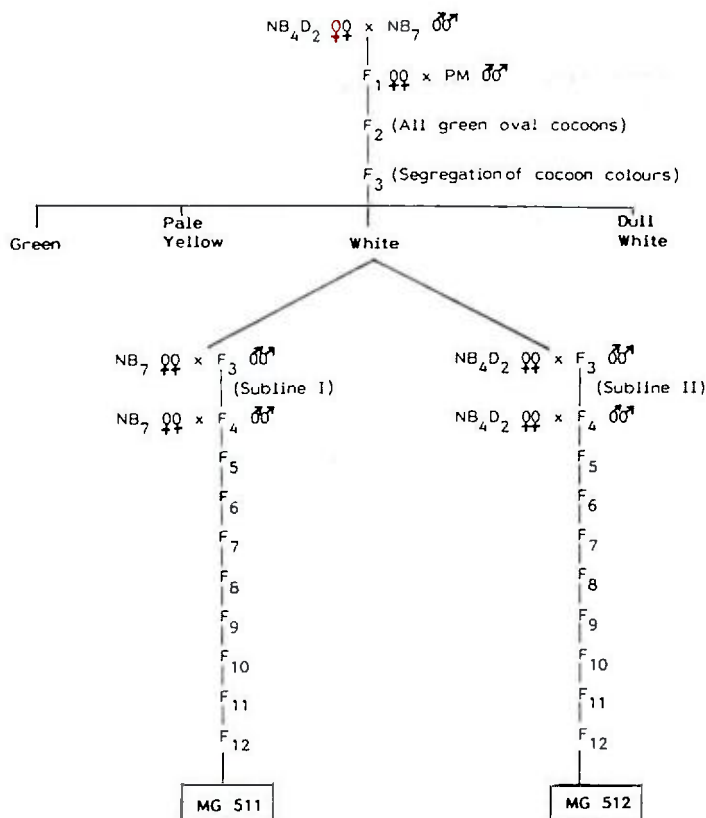


Fig. 1 : Breeding plan.

Fig. 1 : Plan de sélection.

RESULTATS

Analyses of variance (ANOVA) calculated for the five characters under study of the evolved breeds and the respective controls over 12 generations with their mean performances are presented in Tables I-V.

Yield/10,000 larvae by number :

During the course of inbreeding, sublines I and II for selecting a higher yield by number (Table I), the two evolved breeds, MG511 and MG512, have shown insignificant ($P > 0.05$) differences for the said traits at the later generations of F_{10} to F_{12} , which reflects on the fixation of this trait in the evolved breeds. Comparison of the overall means of yield by number showed a significant ($P < 0.01$) increase in MG511 (9295) both over KA (8603) and NB_7 (8799), while MG512 (9323) has also shown a significant ($P < 0.01$) increase both over NB_{18} (8825) and NB_4D_2 (9101) races.

Yield/10,000 larvae by weight :

The data pertaining to yield by weight (Table II) reveal that the two evolved breeds, MG511 and MG512, have insignificant ($P > 0.05$) differences between F_{11} and F_{12} generations, which indicates

that the trait yield by weight breeds true in the evolved breeds. Comparison of the overall means of yield by weight showed a significant ($P < 0.01$) increase in MG511 (16.529 kg) both over KA (14.361 kg) and NB₇ (14.734 kg), while MG512 (16.683 kg) showed a significant ($P < 0.01$) increase over NB₁₈ (15.366 kg), but the increase of yield by weight in MG512 is insignificant ($P > 0.05$) over NB_{4D2} (16.193 kg).

Table I. Mean values of yield/10,000 larvae by number of the evolved bivoltine breeds and the respective controls from F₁-F₁₂ generations.

Tableau I. Valeurs moyennes du rendement en nombre pour 10 000 larves chez les races bivoltines isolées et chez les témoins correspondants de la génération F₁ à la génération F₁₂.

Generations	Control races				Evolved bivoltine breeds	
	KA	NB ₇	NB ₁₈	NB _{4D2}	MG511	MG512
Génération	Races témoins				Races bivoltines isolées	
	KA	NB ₇	NB ₁₈	NB _{4D2}	MG511	MG512
F ₁	8824.333	8938.000	8892.000	9033.000	9090.000	9090.000
F ₂	8898.000	8771.333	8991.666	9142.000	9211.333	9211.333
F ₃	8775.000	8937.666	8819.333	9162.666	9250.666	9302.000
F ₄	8753.666	8839.000	8713.000	9155.333	9247.333	9404.666
F ₅	8819.000	8687.000	8964.000	9085.666	9329.333	9400.000
F ₆	8748.333	8914.000	8891.000	9080.000	9402.333	9330.666
F ₇	8831.000	8800.333	8756.333	9175.000	9325.000	9425.000
F ₈	8865.000	8744.000	8909.000	9173.333	9365.333	9393.333
F ₉	9023.000	8811.000	8853.666	9174.000	9354.333	9403.666
F ₁₀	8826.666	8578.333	8595.666	8983.333	9297.000 [§]	9287.000 [§]
F ₁₁	8639.666	8701.333	8727.000	8988.666	9393.000 [§]	9313.000 [§]
F ₁₂	8636.666	8866.333	8796.666	9063.333	9275.666 [§]	9322.666 [§]
Overall mean	8808.356	8799.024	8825.746	9101.689	9295.106	9323.606
Moyenne générale	±106.214	±109.822	±114.517	±72.803	±88.132	±96.904
F value / Valeur de F	4.532**	7.059**	3.176**	2.263*	2.584*	2.324*
Standar error / Ecart type	49.785	41.312	64.212	48.242	54.787	63.422
CD at 5 %	146.023	121.171	188.338	141.497	160.693	186.021

* Significant / Significatif ($P < 0.05$)

** Significant / Significatif ($P < 0.01$)

§ Insignificant / Peu significatif ($P > 0.05$)

't' test for overall mean / Test 't' pour la moyenne générale :

NB₇ vs MG511 ($P < 0.01$)

NB₁₈ vs MG512 ($P < 0.01$)

NB_{4D2} vs MG512 ($P < 0.01$)

Table II. Mean values of yield/10,000 larvae by weight (kg) of the evolved bivoltine breeds and the respective controls from F₁-F₁₂ generations.

Tableau II. Valeurs moyennes du rendement en poids (kg) pour 10 000 larves chez les races bivoltines isolées et chez les témoins correspondants de la génération F₁ à la génération F₁₂.

Generations	Control races				Evolved bivoltine breeds	
	KA	NB ₇	NB ₁₈	NB ₄ D ₂	MG511	MG512
Générations	Races témoins				Races bivoltines isolées	
	KA	NB ₇	NB ₁₈	NB ₄ D ₂	MG511	MG512
F ₁	14.357	14.813	15.528	16.015	17.794	17.794
F ₂	14.529	14.481	15.653	16.199	17.356	17.356
F ₃	14.320	14.910	15.457	16.270	17.286	17.800
F ₄	14.369	14.792	15.212	16.183	17.151	17.837
F ₅	14.385	14.312	15.820	16.054	17.358	17.479
F ₆	14.055	14.744	15.541	16.207	17.331	16.714
F ₇	14.397	15.305	15.250	16.570	15.795	16.228
F ₈	14.440	15.208	15.667	16.521	15.895	16.028
F ₉	14.719	15.395	15.523	16.561	15.901	16.023
F ₁₀	14.368	13.942	14.663	15.819	15.194	15.322
F ₁₁	14.286	14.330	15.023	15.903	15.733 [§]	15.806 [§]
F ₁₂	14.109	14.580	15.055	16.016	15.515 [§]	15.813 [§]
Overall mean	14.361	14.734	15.366	16.193	16.529	16.683
Moyenne générale	± 0.173	± 0.435	± 0.332	± 0.252	± 0.919	± 0.922
F value / Valeur de F	2.668*	29.810**	6.878**	6.391**	51.345**	56.278**
Standar error / Ecart type	0.106	0.080	0.127	0.100	0.128	0.123
CD at 5 %	0.312	0.234	0.372	0.293	0.376	0.361

* Significant / Significatif (P < 0.05)

** Significant / Significatif (P < 0.01)

§ Insignificant / Peu significatif (P > 0.05)

't' test for overall mean / Test "t" pour la moyenne générale :

KA vs MG511 (P < 0.01)

NB₇ vs MG511 (P < 0.01)

NB₁₈ vs MG512 (P < 0.01)

Single cocoon weight :

The mean values of single cocoon weight depicted in Table III reveal that the evolved breeds, MG511 and MG512, have insignificant (P > 0.05) differences between F₁₀, F₁₁ and F₁₂ generations, which indicates the true nature of breeding of the said trait. Comparison of the overall means of single cocoon weight showed a significant (P < 0.01) increase in MG511 (1.884 g) both over KA (1.759 g) and NB₇ (1.784 g), while MG512 (1.909 g) showed an insignificant (P > 0.05) increase over NB₁₈ (1.879 g) and a decrease from NB₄D₂ (1.920 g).

Single shell weight :

The data with regard to single shell weight of the evolved breeds presented in Table IV reveal that MG511 has insignificant (P > 0.05) differences from F₁₀ to F₁₂ generations, while the said

insignificant differences are between F₁₁ and F₁₂ generations in MG512, indicating the fixation of this trait in the above evolved breeds. Comparison of the overall means of single shell weight showed a significant ($P < 0.05$) increase of MG511 (0.354 g) over KA (0.336 g) but an insignificant ($P > 0.05$) increase over NB7 (0.343 g), while MG512 (0.360 g) revealed an insignificant ($P > 0.05$) decrease from NB₁₈ (0.377 g) but a significant ($P < 0.01$) decrease from NB_{4D2} (0.394 g) for the said trait.

Table III. Mean values of single cocoon weight (g) of the evolved bivoltine breeds and the respective controls from F₁-F₁₂ generations.

Tableau III. Valeurs moyennes du poids d'un cocon (g) chez les races bivoltines isolées et chez les témoins correspondants de la génération F₁ à la génération F₁₂.

Generations	Control races				Evolved bivoltine breeds	
	KA	NB ₇	NB ₁₈	NB _{4D2}	MG511	MG512
Génération	Races témoins				Races bivoltines isolées	
	KA	NB ₇	NB ₁₈	NB _{4D2}	MG511	MG512
F ₁	1.750	1.785	1.879	1.933	2.084	2.084
F ₂	1.758	1.785	1.879	1.922	2.021	2.021
F ₃	1.763	1.794	1.885	1.925	1.994	2.031
F ₄	1.768	1.795	1.881	1.917	1.974	2.010
F ₅	1.760	1.782	1.890	1.917	1.878	1.975
F ₆	1.753	1.783	1.886	1.922	1.855	1.908
F ₇	1.760	1.776	1.881	1.920	1.803	1.840
F ₈	1.755	1.779	1.880	1.922	1.815	1.891
F ₉	1.759	1.779	1.880	1.925	1.810	1.815
F ₁₀	1.753	1.777	1.861	1.908	1.784 [§]	1.795 [§]
F ₁₁	1.764	1.790	1.872	1.918	1.798 [§]	1.810 [§]
F ₁₂	1.765	1.792	1.874	1.915	1.800 [§]	1.809 [§]
Overall mean	1.759	1.784	1.879	1.920	1.884	1.909
Moyenne générale	± 0.005	± 0.006	± 0.007	± 0.006	± 0.104	± 0.107
F value / Valeur de F	1.715 ^{NS}	2.339*	2.105 ^{NS}	1.914 ^{NS}	218.239**	402.468**
Standar error / Ecart type	-	0.005	-	-	0.007	0.006
CD at 5 %	-	0.013	-	-	0.021	0.016

* Significant / Significatif ($P < 0.05$)

** Significant / Significatif ($P < 0.01$)

§ Insignificant / Peu significatif ($P > 0.05$)

NS : Not significant / Non significatif.

't' test for overall mean / Test "t" pour la moyenne générale :

KA vs MG511 ($P < 0.01$)

NB₇ vs MG511 ($P < 0.01$)

Cocoon shell percentage :

The data pertaining to this trait of the evolved bivoltine breeds presented in Table V reveal that MG511 has insignificant ($P > 0.05$) differences from F₁₀ to F₁₂ generations, while MG512 showed similar insignificant differences between F₁₁ and F₁₂ generations, indicating the stability of the trait

cocoon shell percentage in the evolved breeds, MG511 and MG512. Comparison of the overall means of cocoon shell percentage showed an insignificant ($P > 0.05$) decrease of MG511 (18.779) from KA (19.130) but a significant decrease ($P < 0.01$) decrease from NB7 (19.273), whereas MG512 (18.851) showed a significant ($P < 0.01$) decrease both from NB18 (20.129) and NB4D2 (20.527) races.

Table IV. Mean values of single shell weight (g) of the evolved bivoltine breeds and the respective controls from F₁-F₁₂ generations.

Tableau IV. Valeurs moyennes du poids d'une coque (g) chez les races bivoltines isolées et chez les témoins correspondants de la génération F₁ à la génération F₁₂.

Generations	Control races				Evolved bivoltine breeds	
	KA	NB7	NB18	NB4D2	MG511	MG512
Génération	Races témoins				Races bivoltines isolées	
	KA	NB7	NB18	NB4D2	MG511	MG512
F ₁	0.337	0.347	0.379	0.384	0.405	0.405
F ₂	0.338	0.348	0.378	0.385	0.386	0.386
F ₃	0.339	0.352	0.379	0.397	0.387	0.388
F ₄	0.337	0.346	0.383	0.390	0.383	0.384
F ₅	0.337	0.341	0.391	0.382	0.364	0.383
F ₆	0.333	0.343	0.368	0.400	0.348	0.370
F ₇	0.331	0.342	0.361	0.388	0.332	0.349
F ₈	0.332	0.337	0.377	0.397	0.334	0.338
F ₉	0.335	0.336	0.381	0.401	0.336	0.330
F ₁₀	0.339	0.344	0.377	0.398	0.321 [§]	0.324
F ₁₁	0.340	0.345	0.382	0.404	0.326 [§]	0.333 [§]
F ₁₂	0.340	0.345	0.375	0.402	0.328 [§]	0.333 [§]
Overall mean	0.336	0.343	0.377	0.394	0.354	0.360
Moyenne générale	± 0.003	± 0.004	± 0.007	± 0.007	± 0.029	± 0.028
F value / Valeur de F	1.521 ^{NS}	2.511*	2.977*	15.860**	223.348**	189.628**
Standar error / Ecart type	-	0.003	0.005	0.002	0.002	0.002
CD at 5 %	-	0.008	0.013	0.005	0.005	0.005

* Significant / Significatif ($P < 0.05$)

** Significant / Significatif ($P < 0.01$)

§ Insignificant / Peu significatif ($P > 0.05$)

NS : Not significant / Non significatif.

't' test for overall mean / Test "t" pour la moyenne générale :

KA vs MG511 ($P < 0.05$)

NB4D2 vs MG512 ($P < 0.01$)

In addition, the fibre technological characters of the control races, KA, NB7, NB18 and NB4D2, and that of the evolved bivoltine breeds, MG511 and MG512, presented in Table VI reveal that the two evolved breeds, MG511 and MG512, recorded higher values of reelability (84.000 % and 92.500 %, respectively), neatness (94.400 % and 92.100 %, respectively), evenness (86.100 % and

84.900 %, respectively) and cleanness (90.400 % and 91.700 %, respectively) over the respective controls.

Table V. Mean values of cocoon shell percentage of the evolved bivoltine breeds and the respective controls from F₁-F₁₂ generations.

Tableau V. Valeurs moyennes de la richesse soyeuse (%) chez les races bivoltines isolées et chez les témoins correspondants de la génération F₁ à la génération F₁₂.

Generations	Control races				Evolved bivoltine breeds	
	KA	NB ₇	NB ₁₈	NB _{4D2}	MG511	MG512
Génération	Races témoins				Races bivoltines isolées	
	KA	NB ₇	NB ₁₈	NB _{4D2}	MG511	MG512
F ₁	19.176	19.436	20.200	19.880	19.543	19.543
F ₂	19.216	19.510	20.140	20.063	19.096	19.096
F ₃	19.223	19.653	20.273	20.616	19.396	19.096
F ₄	19.093	19.270	20.403	20.303	19.413	19.096
F ₅	19.173	19.143	20.733	19.956	19.403	19.416
F ₆	19.006	19.243	19.523	20.833	18.783	19.390
F ₇	18.883	19.243	19.200	20.196	18.403	18.963
F ₈	18.906	18.956	20.060	20.666	18.430	18.590
F ₉	19.033	18.900	20.290	20.826	18.556	18.193
F ₁₀	19.353	19.390	20.283	20.880	18.003 [§]	18.056
F ₁₁	19.283	19.280	20.410	21.086	18.120 [§]	18.383 [§]
F ₁₂	19.276	19.260	20.043	21.020	18.213 [§]	18.400 [§]
Overall mean	19.130	19.273	20.129	20.527	18.779	18.851
Moyenne générale	± 0.159	± 0.213	± 0.408	± 0.427	± 0.566	± 0.508
F value / Valeur de F	1.851 ^{NS}	2.778*	4.396**	23.163**	42.296**	35.135**
Standar error / Ecart type	-	0.129	0.195	0.089	0.087	0.086
CD at 5 %	-	0.377	0.573	0.261	0.256	0.252

* Significant / Significatif (P < 0.05)

** Significant / Significatif (P < 0.01)

§ Insignificant / Peu significatif (P > 0.05)

NS : Not significant / Non significatif.

't' test for overall mean / Test "t" pour la moyenne générale :

NB₇ vs MG511 (P < 0.01)

NB₁₈ vs MG512 (P < 0.01)

NB_{4D2} vs MG512 (P < 0.01)

DISCUSSION

The breeding of silkworms since long has been aimed towards the evolving of superior and hardy breeds either by means of selection alone or by combining outcrossing and/or backcrossing with selection in subsequent generations. The final aim of the breeder is primarily to evolve a breed which can give rise to stabilized crops and secondly to improve both the quantity and the quality of silk (Tazima, 1984). Sericulturally developed countries, such as Japan, have achieved remarkable progress

by designing systematic breeding plans for the synthesis of productive races. India has increased its silk production from 969 metric tonnes in 1950 to 10,000 metric tonnes in 1988, and has turned out to be the second largest silk producer in the world (Datta, 1988). This is largely due to the introduction of bivoltine races in the Indian sericulture. In silkworms, the studies carried out for various characters have shown that they could be changed to suit the breeder's choice, since selection for one trait has correlation with genetic changes of other traits. The correlation for a few traits in silkworms is negative and for some it is positive (Tsuchima and Kurashima, 1960 ; Suzuki and Ichimaru, 1961 ; Gamo and Ichiba, 1971 ; Raju, 1990). Hence, during the course of breeding of new breeds, the breeder has to be aware of the response of certain traits to selection and its correlated changes with other economic traits. Involving of both bivoltines and multivoltines in breeding programmes could provide combination of genomes leading to the evolution of hardy bivoltine breeds with higher productivity and viability. Inbreeding the hybrids to isolate and stabilize silkworm varieties which breed true is well documented by Harada (1952), Hirobe (1968) and Gamo (1976). Similarly, Kovalov (1970) is of the opinion that improvement of silkworm races is possible by outbreeding them with exotic races. So also Tazima (1964) has advocated the repeated backcrossing method for the improvement of cocoon quality.

Table VI. Values of fibre technological characteristics of the evolved bivoltine breeds and the respective control races.

Tableau VI. Valeurs des caractères technologiques de la fibre chez les races bivoltines isolées et les races témoins.

Controls/ Evolved breeds	Fibre technological characters			
	Reelability (%)	Neatness (%)	Evenness (%)	Cleanness (%)
Témoins/ Races isolées	Caractères technologiques de la fibre			
	Dévidabilité (%)	Netteté (%)	Régularité (%)	Propreté (%)
KA	72.000	79.800	81.600	71.100
NB ₇	73.100	78.800	83.000	74.000
NB ₁₈	76.900	76.500	73.100	70.000
NB ₄ D ₂	78.200	81.300	76.500	75.600
MG511	84.000	94.400	86.100	90.400
MG512	92.500	92.100	84.900	91.700

In the breeding programme (Fig. 1), which envisages evolving new hardy bivoltines, the aim was to evolve more resistant bivoltines that can give rise to stable cocoon crops with better viability compared to the existing bivoltines. As evidenced by the findings of Gamo and Ichiba (1971), in silkworms, the correlation for a few traits is negative and for some it is positive. Such a negative correlation is observed for the traits productivity and viability and hence an attempt is being made to increase the viability of the evolved bivoltine breeds. Moreover, as suggested by Lekuthai and Butrachand (1974) and Strunnikov and Strunnikov (1986), the selection parameters in the present

studies were primarily aimed at improving the viability characters, such as yield by number, without sacrificing much of the productivity traits like cocoon weight, shell weight and cocoon shell percentage. In addition, during the later generations of inbreeding, selection was applied to select desired genotypes to improve the traits of importance like productivity and viability as followed in poultry breeding to improve the productivity (Dempster *et al.*, 1952).

The present findings of the authors, that the two evolved bivoltine breeds of MG511 with Chinese racial characters spinning white oval cocoons and MG512 with Japanese racial characters spinning white dumbbell cocoons were found to be superior in regard to viability and productivity over their respective controls, viz. KA, NB7, NB18 and NB4D2, as evidenced by the values of yield by number and weight (Tables I and II), although the cocoon shell percentage of the evolved breeds is slightly lower. The traits yield by number and weight reflect the viability and productivity of the races under study. In the present experiment, all the control races, KA, NB7, NB18 and NB4D2, even though they have a higher cocoon weight, shell weight and cocoon shell percentage (Tables III-V) have a lower yield by weight, but the evolved breeds, MG511 and MG512, besides possessing a moderate cocoon weight, shell weight and cocoon shell percentage have better viability (yield by number) compared to the respective controls, thus heralding a significant ($P < 0.01$) increase in the total yield by weight. This improvement in the yield by number and weight is of major interest in the breeding programme for evolving bivoltine breeds suitable to the tropics. Further, the two evolved bivoltine breeds, MG511 and MG512, have recorded better fibre qualities (Table VI) of reelability, neatness, evenness and cleanness compared to the respective control races, thus providing that they have a better grade of silk than the existing races. Moreover, the evolved breeds at the later generations of inbreeding (F₁₀ to F₁₂) have shown insignificant differences among the generations for various traits under study, which not only reflects on their stability but also found to breed true.

Thus, in view of the above findings, the newly evolved bivoltine breeds, MG511 and MG512, of silkworm, *Bombyx mori* L., could be effectively utilised for commercial rearings.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to express their sincere thanks to Dr G. Sreerama Reddy, Professor of Sericulture and Chairman of the Department of Studies in Zoology (University of Mysore, India), for the facilities provided and one of the authors (Dr P.J. Raju) to the Government of Karnataka for the financial support through the World Bank aided Sericulture Research Project. The authors are also highly indebted to the Director of CSR&TI, Mysore, for the help rendered in the analyses of reeling and other technological traits.

REFERENCES

- DATTA R.K. (1988) Indian sericulture - past, present and future. Souvenir. Int. Cong. on Trop. Seric. Prac. (18-23 February), Bangalore, 217-227.
- DEMPSTER E.R., LERNER I.M., LOWRY D.C. (1952) Continuous selection for egg production in poultry. *Genetics*, 5, 693-708.
- GAMO T. (1976) Recent concepts and trends in silkworm breeding. *Farming*, 10(6), 11-12.
- GAMO T., ICHIBA S. (1971) Selection experiment on fibroin hydrolyzing ratio in silkworm cocoons, its effects on the environmental characters. *Japanese J. Breed.*, 21(2), 87-92.
- HARADA C. (1952) On the double cross of the silkworm. *Japanese J. Breed.*, 2(2), 3.
- HARADA C. (1956) On the relation between commercial characters and their F₁ hybrids in *Bombyx mori*. *Prod. Int. Genet. Symp.*, 352-356.
- HIROBE T. (1968) Evolution, differentiation and breeding of the silkworm. The silk road - past and present. *Genetics in Asian Countries*, XII Int. Cong. Genetics, Tokyo, 25-36.
- KOVALOV P.A. (1970) Silkworm breeding technique. Translated and published by Central Silk Board, Bombay, India.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New Technology of silkworm rearing. CSR&TI Bull. no. 2, Central Silk Board, India, 1-23.

- LEKUTHAI P., BUTRACHAND S. (1974) Improvement of bivoltine silkworm races. Bull. Thai Seric. Res. Train. Cent., 2, 48-54.
- NARASIMHANNA M.N., CHANDRASHEKARAIAH, GEETHADEVI R.G., PRABHA G. (1976) Ecogenetic attributes of the newly evolved bivoltine hybrid 'Nandi' in *Bombyx mori* L. Proc. Dunn-Dobzhansky Symp. Genet., 379-386.
- PETKOV N., GEORGI A., MLADENOV, NACHEVA J. (1979) Effect of mating length of silkmoths of some inbred silkworm, *Bombyx mori*, lines on silkworm seed quantity and quality. Zhivotnov'd. Nauki., 16(3), 116-122.
- RAJU P.J. (1990) Studies on the hybridization and synthesis of new breeds of silkworm, *Bombyx mori* L. Ph. D. thesis. University of Mysore, Mysore, India.
- STRUNNIKOV V.A., STRUNNIKOV L.V. (1986) The nature of genes controlling the silk productivity of silkworm cocoons. Dokl. Akad. Nauk. USSR, 290(1), 234-237.
- SUZUKI K., ICHIMARU M. (1961) On the inheritance of the weight of cocoon shell in *Bombyx mori*. (IV) Cross between two races, Shakei and Cambodge. J. Sericult. Sci. Japan, 29(6), 501-505.
- TAZIMA Y. (1964) The Genetics of the Silkworm. Logos Press, London, pp. 421.
- TAZIMA Y. (1984) Silkworm moths. In Evolution of Domesticated Animals. I.L. Mason (ed.), Longman, London and New York, 416-424.
- TSUCHIMA S., KURASHIMA H. (1959) Studies on the heritability of measurable characters in *Bombyx mori*. (III) Heritability in the hybrids of two different strains. J. Sericult. Sci. Japan, 27(4), 253-256.
- YOKOYAMA T. (1956) On the application of heterosis in Japanese sericulture. Proc. Int. Genet. Symp., 527-531.
- YOKOYAMA T. (1963) Sericulture. Ann. Rev. Entomol., 8, 287-306.

OBTENTION DE DEUX LIGNEES BIVOLTINES, MG511 ET MG512, DE VER A SOIE *BOMBYX MORI* L. A VIABILITE ET PRODUCTIVITE SUPERIEURES

P.J. RAJU & N.B. KRISHNAMURTHY

Sericulture Section, Department of Studies in Zoology, University of Mysore, Manasagangotri, Mysore - 570 006, Inde.

Des expériences de sélection ont été réalisées à partir de deux races bivoltines existantes, NB₄D₂ et NB₇, et de la race polyvoltine Pure Mysore afin d'isoler de nouvelles races de vers à soie Bombyx mori L. résistantes. Par accouplement consanguin des hybrides de ces races pures combiné avec un croisement de retour récurrent et une sélection de la productivité et de la viabilité à chaque génération, on est parvenu à isoler deux souches bivoltines résistantes, l'une filant des cocons ovales blancs et l'autre des cocons ceintrés blancs. L'isolement de ces souches, dénommées MG511 (caractères de type chinois) et MG512 (caractères de type japonais) et sélectionnées sur 35 générations, constitue une amélioration significative pour ce qui concerne la viabilité par rapport aux bivoltins existants. La performance globale des souches sélectionnées pour ce qui concerne la viabilité, la productivité et les caractères technologiques de la fibre est discutée et démontre leur supériorité par rapport aux races bivoltines existant sur le terrain.

INTRODUCTION

L'hybridation est un outil important qui est exploité par de nombreux sélectionneurs afin d'augmenter leurs revenus par l'amélioration du bétail. Chez les insectes, on a soumis le ver à soie *Bombyx mori* à ces techniques d'hybridation pour obtenir une productivité maximale. Les diverses races de vers à soie, dont l'importance économique est reconnue, ont été étudiées de manière extensive afin de sélectionner les caractères recherchés par accouplements consanguins. Cependant, des accouplements consanguins et continus se traduisent par une accumulation d'un grand nombre de gènes nuisibles entraînant une dépression consanguine et la détérioration de certains des caractères économiques. Néanmoins, on est parvenu à obtenir des combinaisons globales de caractères positifs à l'aide de plusieurs techniques d'élevage suivant des procédures de sélection mises à la disposition du sériculteur. Ces techniques donnent un grand nombre de combinaisons génétiques permettant de manipuler et d'isoler de nouvelles races de vers à soie présentant les caractères recherchés au niveau commercial. D'après Kovalov (1970), on peut améliorer les races locales par hybridation avec des races exotiques. Harada (1956) pense que de nouvelles races de vers à soie ne peuvent être isolées que par l'hybridation et la sélection. Bien que l'Inde dispose d'un grand nombre de races indigènes, elle souffre d'un manque de nouvelles races de vers à soie dans la concurrence avec les pays développés en matière séricicole, comme la Chine et le Japon où des progrès significatifs ont été accomplis dans la synthèse par hybridation de races de vers à soie résistantes et performantes adaptées aux conditions climatiques locales (Yokoyama, 1956). Jusque dans les années 1970, la sériculture indienne était surtout axée sur l'élevage polyvoltin, l'élevage bivoltin étant confiné à la conservation et la multiplication des races étrangères importées d'autres pays. Durant cette période, des tentatives avaient été faites pour importer, élever et sélectionner de nouvelles races bivoltines en zone tropicale à l'aide d'une technologie d'élevage appropriée. On a pu ainsi isoler des races bivoltines comme Kalimpong-1 et NanNung 6D et la nouvelle série bivoltine (NB) qui comprend les races NB₇, NB₁₈

et NB₄D₂ (Narasimhanna et coll., 1976). Cependant, ces races étaient principalement utilisées pour produire des cocons d'intérêt commercial par croisement avec des femelles de la race polyvoltine Pure Mysore et n'étaient pas utilisées pour la production de soie bivoltine pure, du fait de leur adaptabilité médiocre aux conditions fluctuantes du climat tropical. Il est donc nécessaire de formuler des stratégies de sélection spécifiques afin d'isoler des races bivoltines robustes pour améliorer la productivité et la viabilité.

Au vu de ce qui précède, les auteurs ont jugé nécessaire d'étudier quelques races pures et de les utiliser comme matériel de sélection pour isoler deux races bivoltines présentant une meilleure productivité et une viabilité supérieure, outre les qualités recherchées de la fibre, et de les exploiter à l'échelle commerciale dans l'intérêt de l'industrie séricicole.

MATERIELS ET METHODES

Au cours de cette étude, initiée en 1983, deux races bivoltines, NB₇ et NB₄D₂, ainsi que la race polyvoltine Pure Mysore (PM) maintenues à la réserve génétique de la section séricicole du Département de Zoologie (Université de Mysore, Inde) ont servi de matériel de sélection.

Le plan de sélection (Fig. 1) de cette expérience donne l'obtention des descendants d'un croisement entre des femelles de NB₄D₂ × des mâles de NB₇. Les femelles hybrides F₁ obtenues ont été croisées avec des mâles PM pour obtenir les descendants F₂ qui ont ensuite été accouplés entre eux pour analyser la ségrégation de la couleur du cocon vers le vert, le jaune pâle, le blanc et le blanc crème à la génération F₃. A partir de F₃, la descendance filant des cocons blancs a été isolée et rétro-croisée séparément avec des femelles NB₇ et NB₄D₂, ces croisements respectifs ont été poursuivis et dénommés sous-lignée I et sous-lignée II. La génération F₄ de chaque sous-lignée a été soumise à un rétro-croisement avec des femelles de NB₇ et de NB₄D₂ comme pour le croisement précédent. Au cours de l'élevage consanguin à partir de F₄, une sélection précise a été faite afin d'isoler des cocons ovales blancs chez la sous-lignée I ; chez la sous-lignée II, les cocons ceintrés blancs présentant une bonne constitution et une bonne architecture ont été sélectionnés. De plus, chaque lignée a été soumise à un accouplement frères-soeurs et à une sélection jusqu'à obtention d'une stabilité de la productivité et de la viabilité.

Les élevages ont été réalisés suivant la technologie d'élevage améliorée du ver à soie pour les jeunes larves et pour les larves matures selon les recommandations de Yokoyama (1963) et de Krishnaswami (1978). En outre, une durée d'accouplement ferme de 3 heures a été suivie pour les sous-lignées isolées afin de favoriser la fécondité des oeufs de vers à soie, comme l'ont suggéré Petkov et coll. (1979). Les observations ont porté sur cinq caractères d'intérêt économique comme le rendement en nombre/10 000 larves levées, le rendement en poids/10 000 larves levées, le poids d'un cocon, le poids d'une coque et la richesse soyeuse. Les données concernant l'isolement des nouvelles races bivoltines (MG511 et MG512) ainsi que celles des races témoins ont été analysées selon le modèle statistique de classification unidimensionnelle suivant :

$$Y_{ij} = u + G_i + e_{ij}$$

où,

Y_{ij} = effet réel de la ième génération de la race

u = effet constant

G_i = effet de la ième génération

e_{ij} = effet de la composante aléatoire

A partir de ce protocole statistique, des conclusions ont été formulées concernant les nouvelles souches, ainsi que nous l'avons expliqué dans le premier paragraphe.

Par ailleurs, afin d'évaluer les paramètres post-cocon comme le dévidage et les autres propriétés techniques de la fibre, 3 kg de cocons de chacune des races isolées et des races pures ont été dévidés sur une dévideuse multi-bouts japonaise au Central Sericultural Research and Training Institute de Mysore.

RESULTATS

Les analyses de variance (ANOVA) calculées pour les cinq caractères considérés des races isolées et des parents respectifs sur 12 générations et leurs performances moyennes sont présentées dans les tableaux I à V.

Rendement en nombre/10 000 larves :

Après la sélection consanguine des sous-lignées I et II visant à obtenir un meilleur rendement en nombre (Tableau I), les deux races isolées, MG511 et MG512, présentent des différences peu significatives ($P > 0,05$) pour ce caractère aux générations F_{10} à F_{12} , ce qui reflète la fixation de ce caractère chez les races isolées. La comparaison des moyennes générales du rendement en nombre révèle une augmentation significative ($P < 0,01$) chez MG511 (9295) par rapport à KA (8603) et à NB7 (8799) tandis que MG512 (9323) présente une augmentation significative ($P < 0,01$) à la fois par rapport à NB18 (8825) et à NB4D2 (9101).

Rendement en poids/10 000 larves :

Les données concernant le rendement en poids (Tableau II) révèlent que les deux lignées isolées, MG511 et MG512, présentent des différences peu significatives ($P > 0,05$) entre les générations F_{10} , F_{11} et F_{12} , ce qui indique que ce caractère est bien établi chez les races isolées. La comparaison des moyennes générales obtenues pour le rendement en poids fait apparaître une augmentation significative ($P < 0,01$) chez MG511 (16,529 kg) à la fois par rapport à KA (14,361 kg) et NB7 (14,734 kg), tandis que MG512 (16,683 kg) présente une augmentation significative ($P < 0,01$) par rapport à NB18 (15,366 kg) mais l'augmentation du rendement en poids chez MG512 est peu significative ($P > 0,05$) par rapport à NB4D2 (16,193 kg).

Poids d'un cocon :

Les valeurs moyennes du poids d'un cocon présentées dans le tableau III révèlent que les lignées isolées MG511 et MG512 présentent des différences peu significatives entre les générations F_{10} , F_{11} et F_{12} , ce qui indique que ce caractère a bien été sélectionné. La comparaison des moyennes générales obtenues pour le poids d'un cocon fait apparaître une augmentation significative ($P < 0,01$) chez MG511 (1,884 g) à la fois par rapport à KA (1,759 g) et par rapport à NB7 (1,784 g) tandis que MG512 (1,909 g) présente une augmentation peu significative ($P > 0,05$) par rapport à NB18 (1,879 g) et une diminution par rapport à NB4D2 (1,920 g).

Poids de la coque :

Les données concernant le poids de la coque pour les races isolées (Tableau IV) révèlent que MG511 donne des différences peu significatives ($P > 0,05$) de la génération F_{10} à la génération F_{12} et que ce caractère présente des différences peu significatives entre F_{11} et F_{12} chez MG512, ce qui indique qu'il s'est bien fixé chez ces races. La comparaison des moyennes générales obtenues pour le poids d'une coque fait apparaître une augmentation significative ($P < 0,05$) chez MG511 (0,354 g) par rapport à KA (0,336 g) et une augmentation peu significative ($P > 0,05$) par rapport à NB7 (0,343 g), tandis que MG512 (0,360 g) présente une diminution peu significative ($P > 0,05$) par rapport à NB18 (0,377 g) et une diminution significative ($P < 0,01$) par rapport à NB4D2 (0,394 g) pour ce caractère.

Richesse soyeuse :

Les données obtenues pour ce caractère chez les races bivoltines (Tableau V) révèlent que MG511 donne des différences peu significatives ($P > 0,05$) de la génération F_{10} à la génération F_{12} ainsi que MG512 de F_{11} à F_{12} , ce qui indique que ce caractère est stable chez les races isolées. La comparaison des moyennes générales obtenues pour la richesse soyeuse fait apparaître une diminution peu significative ($P > 0,05$) chez MG511 (17,779) par rapport à KA (19,130) et une diminution significative ($P < 0,01$) par rapport à NB7 (19,273), tandis que MG512 (18,851) présente une diminution significative ($P < 0,01$) à la fois par rapport à NB18 (20,129) et par rapport à NB4D2 (20,527).

En outre, l'analyse des caractères technologiques de la fibre des races témoins (KA, NB7, NB18 et NB4D2) et des deux races bivoltines isolées (MG511 et MG512) (Tableau VI) fait apparaître que les deux races isolées, MG511 et MG512, donnent des valeurs supérieures à celles obtenues chez les témoins pour la dévidabilité (respectivement 84,000 % et 92,500 %), la netteté (respectivement 94,400 % et 92,100 %), la régularité (respectivement 86,100 % et 84,900 %) et la propreté (90,400 % et 91,700 %).

DISCUSSION

Depuis longtemps, l'objectif de la sélection des vers à soie est de mettre au point des races supérieures et résistantes soit en utilisant la sélection seule, soit en combinant l'hybridation et/ou le rétro-croisement avec la sélection aux générations suivantes. Le but final du sélectionneur est, en premier lieu, d'isoler une race susceptible de donner des récoltes stables et, en deuxième lieu, d'améliorer la production de soie sur les plans quantitatif et qualitatif (Tazima, 1984). Les pays à sériculture développée, comme le Japon, ont accompli des progrès remarquables en concevant des plans de sélection systématiques permettant l'obtention de races productives. L'Inde est parvenue à augmenter sa production de soie de 969 tonnes en 1950 à 10 000 tonnes en 1988, devenant ainsi le deuxième producteur mondial de soie (Datta, 1988). Ceci est principalement dû à l'introduction de races bivoltines dans la sériculture indienne. Chez le ver à soie, les études réalisées pour la sélection de divers caractères ont montré qu'ils pouvaient être modifiés suivant les besoins des sélectionneurs, étant donné que la sélection d'un caractère donné est corrélée à la modification génétique d'autres caractères. Chez le ver à soie, la corrélation est négative pour certains caractères et positive pour d'autres (Tsuchima et Kurashima, 1960 ; Suzuki et Ichimaru, 1961 ; Gamo et Ichiba, 1971 ; Raju, 1990). Le sélectionneur doit donc, lorsqu'il procède à la sélection de nouvelles races, tenir compte de la réaction de certains caractères à la sélection et des modifications corrélées avec les autres caractères économiques. L'utilisation à la fois des bivoltins et des polyvoltins dans les programmes de sélection pourrait fournir des combinaisons de génomes permettant la mise au point de races bivoltines à productivité et viabilité supérieures. L'accouplement consanguin des hybrides afin d'isoler et de stabiliser les variétés de vers à soie donnant des caractères conformes a été étudié de manière approfondie par Harada (1952), Hirobe (1968) et Gamo (1976). De même, Kovalov (1970) pense qu'il est possible d'améliorer les races de vers à soie par hybridation avec des races exotiques. Tazima (1964) préconise également la méthode du rétro-croisement répété pour améliorer la qualité des cocons.

Notre programme de sélection (Fig. 1) visait à mettre au point de nouvelles races bivoltines plus résistantes susceptibles de donner des récoltes de cocons stables et ayant une meilleure viabilité que les races bivoltines existantes. Comme le montrent les résultats de Gamo et Ichiba (1971), chez le ver à soie, la corrélation est négative pour certains traits et positive pour d'autres. La corrélation est de type négatif entre la productivité et la viabilité et nous tentons donc actuellement d'améliorer la viabilité des races bivoltines. De plus, comme l'ont suggéré Lekuthai et Butrachand (1974) et Strunnikov et Strunnikov (1986), l'étude des paramètres de sélection présentée ici visait principalement à améliorer certains caractères de viabilité comme le rendement en nombre sans trop sacrifier les caractères de productivité comme le poids d'un cocon, le poids d'une coque et la richesse soyeuse. De plus, au cours de l'accouplement consanguin des générations suivantes, on a procédé à une sélection afin d'isoler les génotypes désirés pour améliorer les caractères d'importance comme la productivité et la viabilité, suivant la méthode de sélection utilisée chez la volaille pour améliorer la productivité (Dempster et coll., 1952).

Les résultats obtenus par les auteurs montrent que les deux races bivoltines isolées, MG511 (caractères de type chinois et cocons blancs ovales) et MG512 (caractères de type japonais et cocons blancs ceintrés), s'avèrent supérieures à leurs témoins respectifs (KA, NB7, NB18 et NB4D2) pour ce qui concerne la viabilité et la productivité (Tableaux I et II), bien que la richesse soyeuse des races isolées soit légèrement inférieure. Le rendement en nombre et en poids reflète la viabilité et la productivité des races étudiées. Dans ces expériences, toutes les races témoins (KA, NB7, NB18 et NB4D2), malgré un poids du cocon, un poids de la coque et une richesse soyeuse supérieurs

(Tableaux III à V), ont un rendement en poids inférieur, tandis que MG511 et MG512, outre un poids du cocon, un poids de la coque et une richesse soyeuses modérés, présentent une meilleure viabilité (rendement en nombre) que les témoins respectifs et donnent donc une augmentation significative ($P < 0,01$) du rendement total en poids. Cette amélioration du rendement en nombre et en poids est d'intérêt capital pour les programmes de sélection visant à isoler des races bivoltines adaptées aux conditions tropicales. De plus, les deux races bivoltines isolées (MG511 et MG512) enregistrent des valeurs supérieures pour les qualités de la fibre (Tableau IV) au niveau de la dévidabilité, de la netteté, de la régularité et de la propreté par rapport à leurs témoins respectifs, ce qui prouve qu'elles donnent une soie de grade supérieur à celui des races existantes. En outre, aux dernières générations du croisement consanguin (F₁₀ à F₁₂), les races isolées présentent des différences peu significatives entre les générations pour les divers caractères étudiés, ce qui reflète non seulement leur stabilité mais également le fait que ces caractères sont sélectionnés.

Au vu des résultats présentés ici, les races bivoltines nouvellement isolées MG511 et MG512 du ver à soie *Bombyx mori* L. pourraient être avantageusement exploitées à des fins commerciales.

EFFECTS OF POTASSIUM IODIDE AND IODIZED SALT ON THE LARVAL GROWTH AND COCOON CHARACTERS OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L., RACE BSR-832

M.A. QADER, A.A. SARKER, M.A. RAB & A.C. BARMAN

Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

An experiment was conducted to study the effects of potassium iodide (KI) and iodized salt (sodium chloride containing 35 ppm KI) on the larval growth and cocoon characters of the silkworm, *Bombyx mori* L., race BSR-832. The results revealed that the highest larval weight (30.55 g, weight of 10 mature larvae), single cocoon weight (1.30 g), single shell weight (0.22 g) were found in 0.5 % concentration, whereas the highest length of filament (712.16 m) and size of filament (2.52) were found in 0.4 % concentration and the shortest larval period (20.75 days) and lowest larval mortality (1.0 %) were observed in 0.2 % and 0.3 % concentrations of iodized salt, respectively. The effects of higher concentrations of potassium iodide were found to be insignificant. Suggestion has been made to use iodized salt as a growth stimulator of the silkworm, *Bombyx mori* L., for better cocoon crop production.

Keywords : Iodized salt, mulberry leaves, silkworm cocoon characters.

INTRODUCTION

The role of iodine in the growth and development of insects is recognised by a number of workers (Berg *et al.*, 1959 ; Bhakthan and Gilbert, 1968). Thyroxine, or iodinated amino acid, is present in insects and invertebrates (Berg *et al.*, 1959 ; Limpel and Casid, 1957). Many workers reported that the thyroid hormone has physiological effects on various insects (Bhakthan and Gilbert, 1968 ; Karlson and Schulz-Enders, 1963 ; Majumdar and Medda, 1975 ; Svetlov and Korsakova, 1968). Majumdar and Medda (1975) also reported that thyroxine increased larval weight, silk production, egg laying and reduced the larval period of the silkworm, *Bombyx mori* L. Majumdar (1982) observed that when potassium iodide entered the body of the silkworm it helped to increase the larval weight and shortened the larval period. Chakraborty and Medda (1978) found that potassium iodide stimulated the growth and increased protein synthesis in the silk gland of the silkworm, *Bombyx mori* L. But no information on the effects of sodium chloride containing KI (iodized salt) on the economic characters of silkworms is available.

The present investigation, therefore, was undertaken to find out the effects of potassium iodide and iodized salt (sodium chloride containing KI) on the larval growth and cocoon characters of the silkworm, *Bombyx mori* L., race BSR-832.

MATERIALS AND METHODS

Five concentrations of potassium iodide (BDH, England) and iodized salt (sodium chloride containing 35 ppm potassium iodate, Eagle Brand, Gujarat, India), viz. 0.1 %, 0.2 %, 0.3 %, 0.4 % and 0.5 %, with a control (distilled water) treatment were considered for this study. Eggs of silkworm, *Bombyx mori* L., race BSR-832 were brushed and the worms were reared in the rearing house of Bangladesh Sericulture Research and Training Institute (Rajshahi, Bangladesh). Third instar larvae

were taken at random and distributed in different groups for experiment. Each group consisted of fifty larvae with three replications. The worms of all the groups were fed with mulberry leaves of variety BSRM-5 four times a day. The larvae of experiment and control groups were kept in an identical condition of light, temperature (23-28 °C), humidity (70-85 %) and food (except the treatment). The worms of different groups were fed with mulberry leaves previously soaked in different concentrations of potassium iodide and iodized salt at least for one hour, after which leaves were dried by fanning. Similarly, the control groups were fed with mulberry leaves soaked in distilled water. The larval weight was taken before the worms started spinning and after cocoon formation, cocoon weight, shell weight, shell percentage, length and size of filament, etc., were recorded carefully.

Table I. Performance of the silkworm, *Bombyx mori* L., race BSR-832, fed with mulberry leaves soaked in potassium iodide and iodized salt.

Tableau I. Performances du ver à soie Bombyx mori L., race BSR-832, nourri avec des feuilles de mûriers imbibées d'iodure de potassium et de sel iodé.

Chemical used	Concentration (%)	Weight of 10 mature larvae (g)	Single cocoon weight (g)	Single shell weight (g)	Shell percentage	Length of filament (m)	Size of filament (denier)
<i>Produit chimique</i>	<i>Concentration (%)</i>	<i>Poids de 10 larves matures (g)</i>	<i>Poids d'un cocon (g)</i>	<i>Poids d'une coque (g)</i>	<i>Richesse soyeuse (%)</i>	<i>Longueur du filament (m)</i>	<i>Diamètre du filament (denier)</i>
Potassium iodide	0.1	24.40 ^f	1.22 ^a	0.18 ^b	14.50 ^b	565.15 ^d	1.99 ^c
	0.2	23.00 ^g	1.07 ^b	0.15 ^b	13.70 ^c	506.78 ^c	1.97 ^c
Iodure de potassium	0.3	21.12 ^h	0.97 ^b	0.14 ^c	14.80 ^b	519.58 ^c	1.93 ^c
	0.4	19.98 ⁱ	0.65 ^c	0.07 ^d	11.20 ^d	399.56 ^f	1.29 ^c
	0.5	15.75 ^h	0.42 ^d	0.04 ^e	8.12 ^e	344.90 ^g	1.17 ^f
Iodized salt	0.1	26.26 ^d	1.26 ^a	0.17 ^b	13.80 ^c	555.73 ^d	1.84 ^d
Sel iodé	0.2	27.03 ^c	1.26 ^a	0.18 ^b	14.00 ^c	602.58 ^c	1.93 ^c
	0.3	29.42 ^b	1.28 ^a	0.19 ^a	15.10 ^b	657.55 ^b	2.00 ^c
	0.4	29.50 ^b	1.28 ^a	0.20 ^a	15.70 ^b	712.16 ^a	2.52 ^a
	0.5	30.55 ^a	1.30 ^a	0.21 ^a	16.60 ^a	648.45 ^b	2.25 ^b
Control (distilled water) <i>Témoin (eau distillée)</i>		25.35 ^e	1.21 ^a	0.17 ^b	14.10 ^c	527.92 ^c	1.98 ^c

Figure(s) in the same column followed by the same letter(s) are not significantly different at 5 % level as per Duncan's new multiple range test.

Le(s) chiffre(s) d'une même colonne suivi(s) d'une lettre identique ne diffère(nt) pas de manière significative au seuil de 5 % d'après le test de Duncan.

RESULTS AND DISCUSSION

The mean performance of the cocoon characters of the silkworm, *Bombyx mori* L., is presented in Table I. Duncan's new multiple range test (Duncan, 1951) suggests significant differences among the treatments and cocoon characters both for potassium iodide and iodized salt for most of the components studied. From Table I it can be seen that feeding with mulberry leaves soaked in different concentrations of iodized salt increased the larval weight. The highest larval weight (30.55 g) was

found in 0.5 % concentration of iodized salt which differed significantly from the other treatments of iodized salt and potassium iodide, respectively. The effects of different concentrations of potassium iodide on the larval weight were found to be significantly lower than in the control (distilled water). Majumdar and Medda (1975) reported that thyroxine increased the body weight of silkworms. On the other hand, Majumdar (1980) found that 25 µg/ml of potassium iodide increased the larval weight. In our experiment, iodized salt significantly increased the larval weight over potassium iodide and control treatments.

Fig. 1: Effects of potassium iodide and iodized salt on the larval period (days) of the silkworm, *Bombyx mori* L., race BSR-832.

Fig. 1 : Effets de l'iodure de potassium et du sel iodé sur la durée larvaire (jours) chez le ver à soie Bombyx mori L., race. BSR-832.

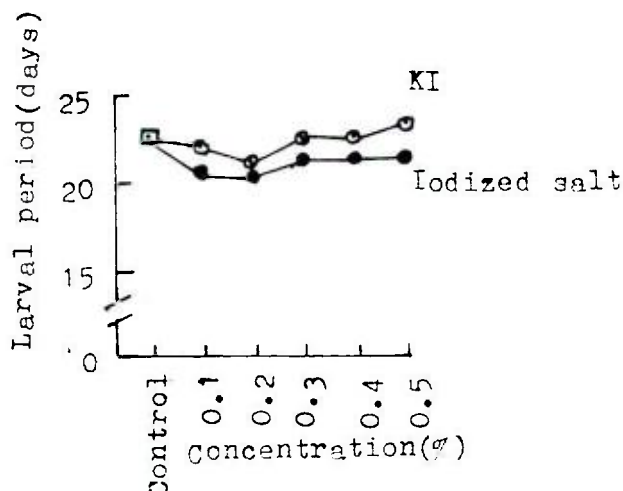
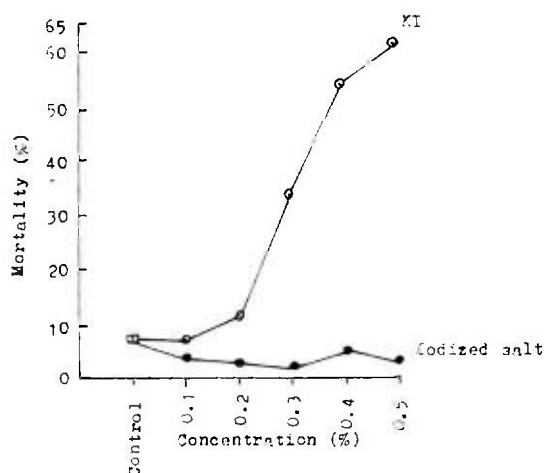


Fig. 2: Effects of potassium iodide and iodized salt on the larval mortality of the silkworm, *Bombyx mori* L., race BSR-832.

Fig. 2 : Effets de l'iodure de potassium et du sel iodé sur la mortalité larvaire chez le ver à soie Bombyx mori L., race. BSR-832.



The highest single cocoon weight (1.30 g) was observed in 0.5 % concentration of iodized salt (Table I). No significant difference was found among the treatments of iodized salt but the latter differed significantly from potassium iodide (0.3 %, 0.4 % and 0.5 % concentrations). Majumdar (1980) reported that a lower dose of KI significantly increased the cocoon weight. In the case of shell weight, no significant difference was obtained among 0.3 %, 0.4 % and 0.5 % concentrations of iodized salt but the difference between potassium iodide and control treatments was found to be significant.

Chakraborty and Medda (1978) found that 20 µg/ml potassium iodide increased shell weight over the control treatment. Our findings revealed that 0.5 % concentration of iodized salt significantly increased shell weight over KI and control treatments.

Shell percentage (16.40) was higher in 0.5 % concentration of iodized salt and lower (8.12) in 0.5 % concentration of potassium iodide (Table I). From the table, it may also be seen that a significant difference was observed among the concentrations of iodized salt and KI in the case of shell percentage. Similar results were reported by Majumdar (1980) and Chakraborty and Medda (1978) who fed 25 µg/ml and 20 µg/ml of potassium iodide with mulberry leaves, respectively.

The maximum length of filament (712.16 m) and size of filament (2.52) were found in 0.4 % concentration of iodized salt, which varied significantly from KI and control treatments.

Fig. 1 and 2 show the duration of the larval period and larval mortality. From Fig. 1, it can be seen that the larval period up to the start of spinning was shortened with 0.2 % concentration of iodized salt and prolonged with 0.5 % concentration of potassium iodide. It was 22.75 days in the control (no treatment), 23.00 days with potassium iodide (0.5 % concentration) and 20.75 days with iodized salt (0.2 %) treatments. Similar results were reported by Chakraborty and Medda (1978) and Majumdar (1982). It is evident (Fig. 2) that the highest larval mortality was found in 0.5 % concentration of potassium iodide and the lowest in 0.3 % concentration of iodized salt. It was 61.00 % in potassium iodide (0.5 %), 7.0 % in the control and 2.00 % in iodized salt (0.3 %). The epidermis of silkworm larvae treated with potassium iodide (0.3 %, 0.4 % and 0.5 % concentrations, respectively) became dark brown because of iodine toxicity and there was a higher mortality. Majumdar (1982) reported similar results of mortality due to iodine toxicity to the larvae treated with 10 µg/ml potassium iodide. Lower doses of iodate significantly increased the larval weight, cocoon weight, length of filament, shortened the larval period and decreased the larval mortality. These results are similar to those caused by thyroxine (Majumdar and Medda, 1975) and lower doses of iodide (Chakraborty and Medda, 1978; Majumdar, 1982). Lower doses of iodate probably were capable of stimulating larval growth and increase silk production of the silkworm, *Bombyx mori* L.

CONCLUSION

From the foregoing results and discussion, it may be concluded that iodized salt (as a source of potassium iodate) may be used for feeding with mulberry leaves as a stimulator for larval growth and quantity of silk production.

REFERENCES

- BERG O., GORBAN A., KOBAYASHI H. (1959) The thyroid hormones in invertebrates and lower vertebrates. In Comparative Endocrinology. John Wiley and Sons, Inc., New York, 302-319.
- BHAKTHAN N.M.G., GILBERT L.I. (1968) Effects of some vertebrate hormones on lipid mobilization in the insect fat body. Gen. Comp. Endocrinol., 2, 186-197.
- CHAKRABORTY M., MEDDA A.K. (1978) Effect of potassium iodide on silkworms (*Bombyx mori* L.) nistari race. Science and Culture, 44(5), 231, 232.
- DUNCAN D.B. (1951) A significance test for differences between ranked treatments in an analysis for variance. Virginia J. Sci., 2, 171-189.
- KARLSON P., SHULZ-ENDERS A. (1963) Über die Wirken des Thyroxine auf die oxydative Phosphorylierung in insekten Mitochondrien. Gen. Comp. Endocrinol., 3, 111-119.
- LIMPEL K.E., CASIDA J.E. (1957) Effect of iodised compounds in insects. J. Exp. Zool., 135.
- MAJUMDAR A.C. (1982) Note on the physiological effects on the growth and reproduction of silkworm fed on mulberry leaves soaked in potassium iodide. Indian J. Agric. Sci., 52(4), 250-252.
- MAJUMDAR A.C., MEDDA A.K. (1975) Studies on the thyroxine and vitamin B₁₂ induced changes in the life cycle of silkworms. Indian J. Physiol. Applied Sci., 29, 1-13.
- SVETLOV P.G., KORSAKOVA G.F. (1968) The effect produced by some chemical agents introduced into the food of the forked mutant of *Drosophila melanogaster* larvae on the development of *Sternumma chrochaetae* in imago. Akad. Nauk. USSR, 178, 1190-1193.

EFFETS DE L'IODURE DE POTASSIUM ET D'UN SEL IODE SUR LA CROISSANCE LARVAIRE ET LES CARACTERES DU COCON CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI* L., RACE BSR-832

M.A. QADER, A.A. SARKER, M.A. RAB & A.C. BARMAN

Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, Bangladesh.

*Une expérience a été réalisée afin d'étudier les effets de l'iodure de potassium (KI) et des sels iodés (chlorure de sodium contenant 35 ppm de KI) sur la croissance larvaire et les caractères du cocon chez le ver à soie *Bombyx mori* L., race BSR-832. Les résultats révèlent que le poids larvaire (30,55 g, poids de 10 larves matures), le poids d'un cocon (1,30 g), le poids d'une coque (0,22 g) sont maximaux avec la concentration à 0,5 %, alors que la longueur (712,16 mètres) et le diamètre (2,52) du filament sont maximaux avec la concentration à 0,4 % ; la durée larvaire minimale (20,75 jours) et la mortalité larvaire la plus faible (1,0 %) étant obtenues respectivement avec les concentrations à 0,2 % et 0,3 % de sel iodé. Les effets des concentrations supérieures de iodure de potassium ne sont pas significatifs. Pour améliorer la production de cocons, on suggère donc d'utiliser le sel iodé comme stimulateur de croissance du ver à soie *Bombyx mori* L.*

INTRODUCTION

Le rôle de l'iode dans la croissance et le développement des insectes est reconnu par un certain nombre de chercheurs (Berg et coll., 1959 ; Bhakthan et Gilbert, 1968). La thyroxine ou les acides aminés iodés sont présents chez les insectes et les invertébrés (Berg et coll., 1959 ; Limpel et Casid, 1957). De nombreux chercheurs ont observé que l'hormone thyroïdienne avait des effets physiologiques chez divers insectes (Bhakthan et Gilbert, 1968 ; Karlson et Shulz-Enders, 1963 ; Majumder et Medda, 1975 ; Svetlov et Korsakova, 1968). Majumder et Medda (1975) ont également observé que la thyroxine augmentait le poids larvaire, la production de soie et le taux de ponte et réduisait la durée larvaire chez le ver à soie *Bombyx mori* L. Majumder (1982) a observé que l'addition d'iodure de potassium dans le corps du ver à soie favorisait l'augmentation du poids larvaire et diminuait la durée larvaire. Chakraborty et Medda (1978) ont montré que l'iodure de potassium stimulait la croissance et augmentait la synthèse des protéines dans la glande séricigène du ver à soie *Bombyx mori* L. Il n'existe cependant aucune information sur les effets du chlorure de sodium contenant du KI (sel iodé) sur les caractères économiques du ver à soie.

Cette étude a donc été initiée afin de déterminer les effets de l'iodure de potassium et du sel iodé (chlorure de sodium contenant du KI) sur la croissance larvaire et les caractères du cocon chez le ver à soie *Bombyx mori* L., race BSR-832.

MATERIELS ET METHODES

Cinq concentrations d'iodure de potassium (BDH, Angleterre) et de sel iodé (chlorure de sodium contenant 35 ppm d'iodure de potasse, Eagle Brand, Gujarat, Inde), soit 0,1 %, 0,2 %, 0,3 %, 0,4 % et 0,5 %, ainsi qu'un traitement témoin (eau distillée) ont été considérés pour cette étude. Des oeufs de la race BSR-832 du ver à soie *Bombyx mori* L. ont été levés et les vers ont été élevés dans la magnanerie du Bangladesh Sericulture Research and Training Institute (Rajshahi, Bangladesh). Des

larves du troisième âge ont été sélectionnées au hasard et réparties en différents groupes expérimentaux. Chaque groupe est composé de 50 larves et trois réplicats. Les vers de tous les groupes ont été nourris avec des feuilles de mûriers de la variété BSRM-5 quatre fois par jour. Les larves des groupes expérimentaux et témoins ont été maintenues dans les mêmes conditions pour ce qui concerne la lumière, la température (23 °C-28 °C), l'humidité (70-85 %) et la nourriture (sauf pour le traitement). Les larves des différents groupes ont été nourries avec des feuilles de mûriers préalablement trempées dans de l'iodure de potassium et du sel iodé à différentes concentrations pendant au moins une heure, après quoi les feuilles ont été séchées par ventilation. Parallèlement, les groupes témoins ont été nourris avec des feuilles de mûriers trempées dans de l'eau distillée. Le poids larvaire a été relevé avant le début du filage ; après la formation des cocons, le poids du cocon, le poids de la coque, la richesse soyeuse, la longueur et le diamètre du filament, etc., ont été notés.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les performances moyennes en ce qui concerne les caractères du cocon du ver à soie *Bombyx mori* L. sont présentées dans le tableau I. Le test de Duncan (Duncan, 1951) fait apparaître des différences significatives entre les traitements et entre les caractères du cocon aussi bien pour l'iodure de potassium que pour le sel iodé pour la plupart des composantes étudiées. On peut voir, sur le tableau I, que le nourrissage avec des feuilles de mûriers trempées dans du sel iodé à différentes concentrations entraîne une augmentation du poids larvaire. Le poids larvaire maximal (30,55 g) a été obtenu avec la concentration à 0,5 % de sel iodé, ce qui diffère de manière significative des autres traitements au sel iodé et à l'iodure de potassium. Les résultats obtenus avec différentes concentrations d'iodure de potassium sur le poids larvaire sont nettement inférieurs à ceux du témoin (eau distillée). Majumder et Medda (1975) ont observé que la thyroxine augmentait le poids du ver à soie. Par ailleurs, Majumder (1980) a démontré que 25 µg/ml d'iodure de potassium entraînait une augmentation du poids larvaire. Dans nos expériences, le sel iodé augmente le poids larvaire de manière significative par rapport au traitement à l'iodure de potassium et au témoin.

Le poids d'un cocon (1,30 g) est plus élevé avec la concentration de sel iodé à 0,5 % (Tableau I). Aucune différence significative n'a été observée entre les traitements à base de sel iodé mais ceux-ci diffèrent de manière significative des traitements à base d'iodure de potassium (concentrations à 0,3 %, 0,4 % et 0,5 %). Majumder (1980) a observé que des doses inférieures de KI augmentaient le poids du cocon de manière significative. Dans le cas du poids de la coque, aucune différence significative n'a été obtenue entre les concentrations à 0,3 %, 0,4 % et 0,5 % de sel iodé mais les différences entre l'iodure de potassium et le témoin se révèlent significatives. Chakraborty et Medda (1978) ont observé que 20 µg/ml d'iodure de potassium entraînaient une augmentation du poids de la coque par rapport au témoin. Nos résultats révèlent que la concentration de sel iodé à 0,5 % augmentait le poids de la coque de manière significative par rapport au traitement à base de KI et par rapport au témoin.

La richesse soyeuse (16,40) obtenue avec la concentration à 0,5 % de sel iodé est supérieure alors que celle obtenue avec la concentration à 0,5 % d'iodure de potassium est inférieure (8,12) (Tableau I). Ce tableau fait également apparaître des différences significatives entre les différentes concentrations de sel iodé et celles de KI dans le cas de la richesse soyeuse. Des résultats identiques ont été relevés par Majumder (1980) et Chakraborty et Medda (1978) après nourrissage avec des feuilles de mûriers imbibées respectivement de 25 µg/ml et 20 µg/ml d'iodure de potassium.

La longueur (712,16 m) et le diamètre (2,52) maximaux du filament ont été obtenus avec la concentration à 0,4 % de sel iodé, résultats qui diffèrent fortement de ceux obtenus pour le traitement au KI et pour le témoin.

Les figures 1 et 2 présentent la durée de la période larvaire et la mortalité larvaire. La figure 1 montre que la durée larvaire jusqu'au début du filage est réduite après traitement au sel iodé à la concentration de 0,2 % et prolongée avec l'iodure de potassium à la concentration de 0,5 %. Elle est de 22,75 jours chez le témoin (non traité), de 23 jours pour l'iodure de potassium (concentration à 0,5 %) et de 20,75 jours avec le sel iodé (concentration à 0,2 %). Des résultats comparables ont été obtenus par Chakraborty et Medda (1978) et Majumder (1982). Il est évident (Fig. 2) que la mortalité

larvaire est plus élevée avec la concentration à 0,5 % d'iodure de potassium qu'avec la concentration à 0,3 % de sel iodé. Elle est de 61,00 % avec l'iodure de potassium (à 0,5 %), de 7,0 % chez le témoin et de 2,00 % avec le sel iodé (à 0,3 %). L'épiderme des larves de vers à soie traitées avec de l'iodure de potassium (concentrations à 0,3 %, 0,4 % et 0,5 %) devient marron foncé en raison de la toxicité de l'iode et la mortalité est plus élevée. Majumder (1982) a obtenu des résultats comparables sur la mortalité larvaire causée par la toxicité de l'iode chez les larves traitées avec de l'iodure de potassium à 10 µg/ml. Une dose inférieure d'iodure de potasse entraîne une augmentation significative du poids larvaire, du poids du cocon, de la longueur du filament et une diminution de la durée et de la mortalité larvaire. Ces résultats sont identiques à ceux obtenus après traitement à la thyroxine (Majumder et Medda, 1975) et après traitement avec des doses inférieures d'iode (Chakraborty et Medda, 1978 ; Majumder, 1982). Il est probable que les doses inférieures d'iode stimulent le développement larvaire et permettent d'augmenter la production de soie chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

CONCLUSION

Des résultats et de la discussion qui précèdent, on peut conclure que le sel iodé (comme source d'iodure de potasse) peut être utilisé pour traiter les feuilles de mûrier avant le nourrissage pour stimuler le développement larvaire et la production de soie.

AMYLASES OF THE POLYVOLTINE SILKWORM (*BOMBYX MORI*): VARIATION OF ACTIVITY IN THE THAI LOCAL RACE

A. PROMBOON¹, A. ENKAKUL¹, L. GNERNISIRI² & P. SAKSOONG²

1. Department of Biochemistry, 2. Department of Genetics, Kasetsart University, P.O. Box 1020,
Bangkok 10900, Thailand.

This report presents the pattern of the total amylase activities during larval development and some properties of the enzymes in some polyvoltine stocks of Thailand. Among 24 strains studied, variations in the activity of the total enzymes were noted at the peak feeding day of the fifth instar. Eight overlapping groups were differentiated in order to select the high amylase activity strains to be used as raw materials for the future breeding work for the areas under water constraints.

Keywords : Amylase activity, carbohydrases, polyvoltine strains.

INTRODUCTION

The differences between aged and young mulberry leaves are largely due to the water content and the amount of carbohydrates and fiber. Under ideal conditions, tender leaves are fed to the early stages of silkworm, whereas the more mature leaves are used for the later stage ones. However, in the dry season shoot development is retarded due to the low level of soil moisture and obtaining the leaves of requisite quality becomes difficult. Farmers in such rain-fed areas during the dry period are mostly dependent on the rearing of the polyvoltine silkworm (Anonymous, 1991). The polyvoltine strains, as compared to the commercial bivoltine strains, thrive better and require no special handling. Such high tolerance to adverse environment and disease (Anonymous, 1991) attracts the attention of the breeders. Since mulberry is the only source of food, some enzymes must be enabling the polyvoltine silkworm strains to digest the poor quality leaves and extract the required nutrients for their development.

The amylases from silkworms have drawn the attention of sericulturists since 1934 (Matsumura, 1934), and a number of studies concerning the properties, activities and polymorphism of amylase isozymes have been reported (Hara *et al.*, 1984 ; Askawa and Hanano, 1989). The enzymes help in the digestion of starch in the food plant (Tanaka and Kusano, 1980). However, the studies had mostly been confined to the strains reared in the temperate zone and only very recently the oriental strains were investigated (Abraham *et al.*, 1992 ; Chatterjee *et al.*, 1992). Studies on the amylase activities have as yet not been carried out in the popular polyvoltine strains of Thailand and these strains are, despite their low yield, reared by about 80 per cent of the farmers in the northeast of the country. The hardy characters of the strains are considered most valuable for the breeding program in evolving the commercial parents for egg production.

Thus, 24 strains of polyvoltine silkworms were screened for their amylase activities and this report presents the properties and activity pattern of the enzyme in different larval stages.

MATERIALS AND METHODS

Materials :

The silkworms were fed four times daily, with plucked irrigated-mulberry leaves. The collections of worms for enzyme extraction were at 11 am, which was prior to the second feed of the day.

Amylase activity pattern during larval development :

The total enzymes (to be referred to as total) were derived from the whole worms from hatching till mounting. Four polyvoltine strains were studied to derive the developmental pattern of amylase activity. Each sample consisted of three replications. The extraction was performed by grinding the whole worms in 0.02 M phosphate buffer, pH 7.5 (1:1 w/v) at 4 °C in the presence of 1 mM Ca^{2+} , and the extract was centrifuged at 10,000 Xg in a refrigerated centrifuge for 10 mins. The supernatant was kept in ice or at -20 °C until used.

Optimum conditions for amylase activity :

The effects of pH range (4-12), temperature range (30-70 °C) and the presence of certain ions in various concentrations (1-10 mM for Ca^{2+} and Mg^{2+} ; and 10-100 mM for Cl^-) and their combinations were studied. All assays were made with the total enzymes except for the effect of pH which was determined separately for hemolymph, gut and total enzymes.

The hemolymph was obtained from fourth day larvae of the fifth instar. The incision was made on the last abdominal leg and the samples were collected in chilled tubes and stored at -20 °C until used. The gut juice was collected by grinding the whole digestive tract. The extraction procedure was the same as that used for total enzymes. All assays were performed with three replications.

Amylase activity in the polyvoltine strains :

Since the variations within each strain were not known, ten individual of the fifth instar larvae were collected on the peak feeding day (day 3-5) and the total enzymes were assayed as described earlier.

Methods :

The amylase activity was assayed after the method of Bernfeld (1955) and Schramm and Loyter (1966). The reaction mixture comprised 0.5 ml 1 % soluble starch in 0.49 ml ammonium chloride buffer of pH 10.0 containing 10 mM Cl^- and 0.01 ml of the enzyme extract, and the incubation was made at 30 °C for 10 mins. The reaction was stopped by a dinitrosalicylic acid solution (DNS) 1.0 ml (4 °C) and boiled in a water bath for 5 mins. For the control, the reaction of enzymes was terminated by adding the DNS solution prior to the addition of enzymes. The measurement of released maltose was performed at 540 nm. The protein concentration was determined by the method of Folin and Lowry (Lowry *et al.*, 1951).

RESULTS AND DISCUSSION

Enzymatic properties : pH and temperature :

The gut and the total amylase from the polyvoltine strains showed maximum activity at pH 9.8, and the enzyme in the hemolymph gave maximum activity at pH 6.5 (Fig. 1). The total amylases could thus be used to represent the gut enzyme when assayed at pH 10.0 as, at this pH, the activity of amylase of hemolymph was almost nil. The total enzymes exhibited a rather wide range of working temperature from 30 °C to 70 °C with an optimum at 55 °C (Fig. 2). These two properties conformed well with the observation made on the temperate varieties (Horie *et al.*, 1959 ; Ito *et al.*, 1962 ; Kanekatsu, 1973).

Enzymatic properties : the effect of ions :

The increasing concentrations of Ca^{2+} from 1 mM to 10 mM, either alone or in combinations with Mg^{2+} and/or Cl^- interfered with the amylase activities (Table I) while Mg^{2+} and Cl^- alone produced no significant effect (Table I). This result was not in accord with previous reports indicating

the stabilising role of divalent cations (Kaneatsu, 1978) and the activating role of Cl^- (Ito *et al.*, 1962) on the digestive amylase.

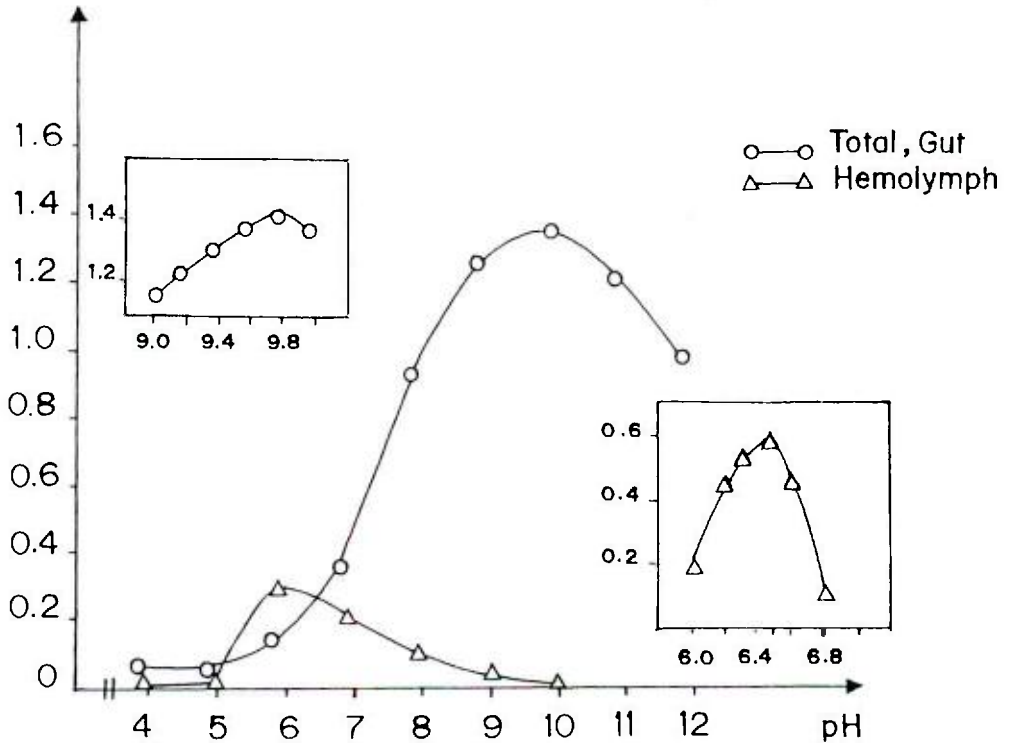


Fig. 1 : The effect of pH on the activity of amylase enzymes from hemolymph (Δ), total and gut enzymes (o) of the polyvoltine silkworms.

The hemolymph optimum is slightly acidic (6.5) but the peak activity of total and digestive amylases was at a strong alkaline condition (9.8).

Fig. 1 : Effet du pH sur l'activité des amylases de l'hémolymph (Δ), des enzymes totales et de l'intestin (o) des vers à soie polyvoltins.

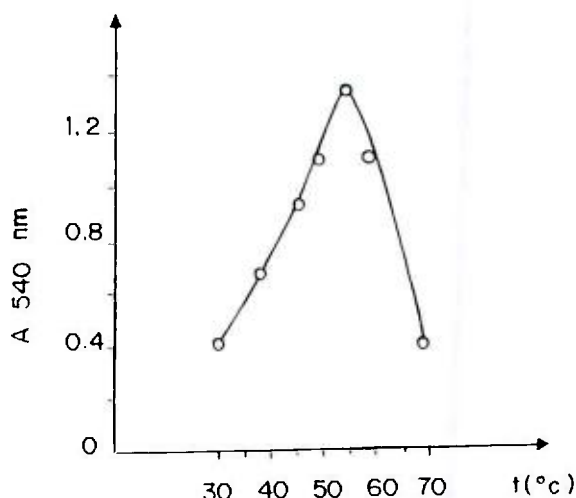
Le pic de l'hémolymph est légèrement acide (6,5) mais l'activité pic des amylases totales et digestives est en conditions fortement alcalines (9,8).

The pattern of total enzyme activity during larval development :

A cyclical expression of the total amylase activity observed in four polyvoltine strains during larval development agreed with one another and with the feeding behavior, i.e. being low before and after moulting (Fig. 3). This was also reported in the Nistari strain of India but the study was confined to the 4th and 5th stages only (Abraham *et al.*, 1992). It should be noted that, except for the 1st instar, the fully expressed levels of amylases at the peak feeding period of each instar were almost equal. Hence, measurement of the enzyme activity can be conducted at any of these stages.

Fig. 2 : The effect of different temperatures on the activity of total amylases from the polyvoltine strains of silkworms.

Fig. 2 : Effet de différentes températures sur l'activité des amylases totales chez les souches de vers à soie polyvoltins.



The total amylase activity assayed includes the enzyme from gut, hemolymph and possibly from other tissues, if any. However, as had been noted, the main sources were the first two (Kanekatsu, 1980a, 1980b). Thus, the previous limitation of studies on the digestive amylases of the young silkworm because of the small size (Tanaka and Kusano, 1980 ; Bunno *et al.*, 1984 ; Abraham *et al.*, 1992) can be avoided.

Table I. Mean square of total amylase activity in the presence of some ions and combinations.

Tableau I. Carrés moyens de l'activité amylase totale en présence de certains ions et de leurs combinaisons.

SOV	Mg ²⁺	Cl ⁻	Ca ²⁺	Ca ²⁺ Mg ²⁺	Ca ²⁺ Cl ⁻	Mg ²⁺ Cl ⁻	Ca ²⁺ Mg ²⁺ Cl ⁻
Concentration	0.007 ^{ns}	0.0042 ^{ns}	0.128 ^{**}	0.088 ^{**}	0.038 [*]	0.013 ^{ns}	0.022 [*]
Error / Ecart	0.006	0.057	0.008	0.014	0.013	0.05	0.002

SOV : Source of variation / Source de variation.

NS : Not significant / Non significatif.

* 0.05 level / Seuil de 0,05. ** 0.01 level / Seuil de 0,01.

The cyclical pattern of enzymes during larval development conformed with the feeding pattern and obviously suggests its role as the major digestive enzyme during 1st to 5th instar. The result also suggests that, with respect to the carbohydrate content in leaves, polyvoltine larvae could be fed with mixed leaves regardless of their ages from 2nd instar onwards. The role of water content in mulberry leaves *vis-à-vis* the requirement of the silkworm remains to be studied. The cyclical changes of the

amylase activity during development implied that there are at least two kinds of physiological processes as suggested by Tanaka and Kusano (1980), the progress process and the maintenance process. During feeding, the progress process functions in addition to the maintenance one. On the contrary, the enzyme activity is kept at the minimum when feeding ceases, for example, during moulting and pupation.

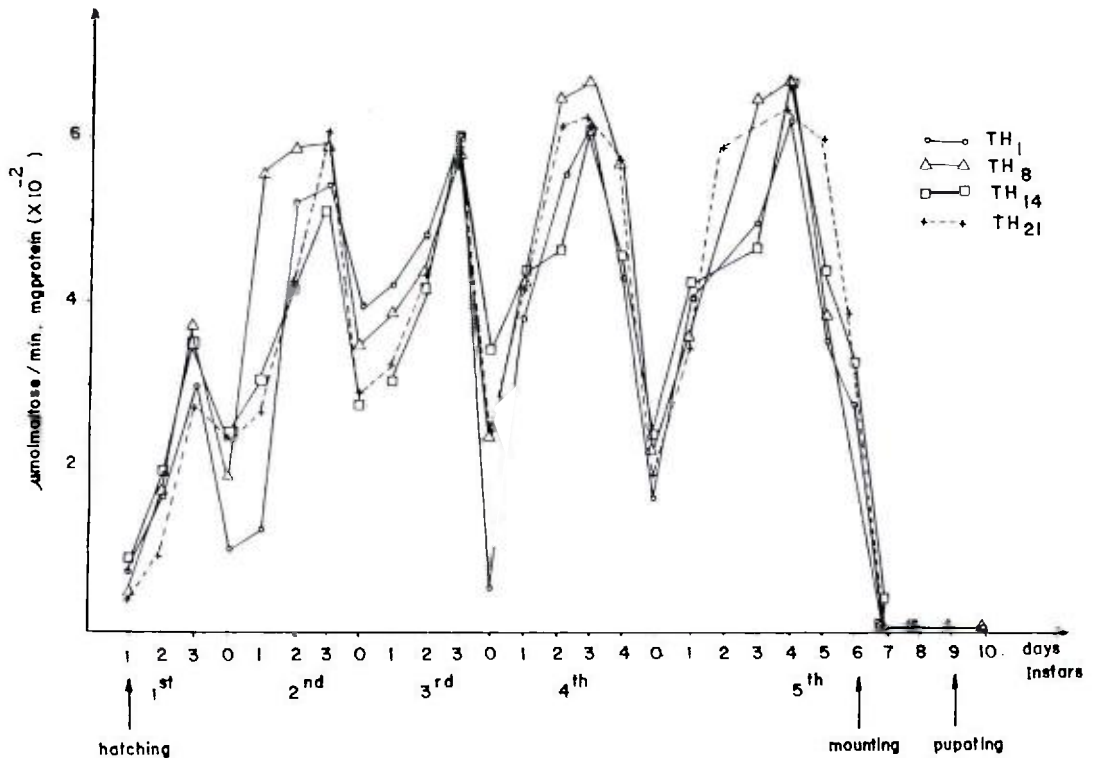


Fig. 3 : Patterns of the total amylase activity during larval development in four polyvoltine strains.

Each point represents a mean of ten individuals. The activity was measured in $\mu\text{mol maltose/min. mg protein}$.

Fig. 3 : Evolution de l'activité amylase totale au cours du développement larvaire chez quatre souches polyvoltines.

Chaque point constitue la moyenne de 10 individus. L'activité a été mesurée en $\mu\text{mol maltose/min. mg protéines}$.

Amylase activity in the Thai local strains :

The amylase activities between 24 strains ranged from $7.366 \times 10^{-2} \mu\text{mol/min. mg protein}$ in TH₁₄ to $2.841 \times 10^{-2} \mu\text{mol/min. mg protein}$ in TH₇. Statistically, the activity range can be classified into 8 overlapping groups (Table II). This is endorsed by the variations reported by Hirata (1974) in the *ae* strains of silkworms. Hirata also pointed to the relationship between the enzyme activity and the quantitative characters of the yield in his work. However, this cannot be envisaged in the present

work because of the low-yield nature of the Thai local race. Thus, the amylases in these polyvoltines may contribute to the hardy character of the race as pointed out in the study of the Indian varieties (Chatterjee *et al.*, 1992). However, there may be several other factors responsible for the hardness, for example, the resistance to diseases. The strains with high amylase activity detected in the present work (group A) are thus valuable for the future breeding program.

Table II. Groups of amylase activity (μmol maltose/min. mg protein) at the peak feeding period of the fifth instar larvae of the 24 polyvoltine strains.*

Tableau II. Groupes d'activité amylase (μmol maltose/min. mg protéines) à la période pic de nourrissage des larves du cinquième âge de 24 souches polyvoltines.*

Strains	Mean activity $\times 10^{-2}$	Group	Strain	Mean activity $\times 10^{-2}$	Group
<i>Souches</i>	<i>Activité moyenne</i> $\times 10^{-2}$	<i>Groupe</i>	<i>Souche</i>	<i>Activité moyenne</i> $\times 10^{-2}$	<i>Groupe</i>
TH ₁₄	7.366	A	TH ₃	4.924	EF
TH ₈	6.673	AB	TH ₁₁	4.901	EF
TH ₂₁	6.518	ABC	TH ₆	4.889	EF
TH ₁	6.419	ABC	TH ₂₃	4.845	EF
TH ₉	6.374	ABC	TH ₄	4.770	EF
TH ₂₂	6.158	BCD	TH ₁₈	4.666	EFG
TH ₁₅	6.154	BCD	TH ₂₄	4.638	EFG
TH ₁₃	5.491	CDE	TH ₂	4.246	FG
TH ₁₉	5.477	CDE	TH ₂₀	4.233	FG
TH ₅	5.393	CDEF	TH ₁₆	4.205	FG
TH ₁₀	5.040	DEF	TH ₁₇	3.612	HG
TH ₁₂	4.952	EF	TH ₇	2.841	H

At 0.01 level / Au seuil de 0,01.

* By Duncan's multiple range test / D'après le test de Duncan.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work is part of the project No. 88B-1-08-143 supported by the National Science and Technology Development Agency of Thailand.

REFERENCES

- ABRAHAM E.G., NAGARAGU J., DATTA R.K. (1992) Biochemical studies of amylases in the silkworm, *Bombyx mori* L. : Comparative analysis in diapausing and non diapausing strains. Insect Biochem. Molec. Biol., 22, 867-873.
- ANONYMOUS (1991) Report on marketing and economic review of development on silk production in the northeast project. Dept. of Agriculture Extension Thailand, 115 pp.

- ASAKAWA H., HANANO K. (1989) Polymorphism of digestive amylase isozymes in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 58, 332-326.
- BERNFELD P. (1955) Method in Enzymology. Academic Press, New York, Chapter 1, 149-158.
- BUNNO Y., KAWAGUCHI Y., DOIRA H. (1984) Sexual dimorphism and developmental changes in hemolymph amylase of *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 53, 335-340.
- CHATTERJEE S.N., RAO C.G.P., CHATTERJEE C.H., ASWATA S.K. (1992) Genetic variability of amylase activity in the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L., and its significance. Sericologia, 32(4), 671-685.
- HARA W., FUJI H., SAKAGUCHI B. (1984) Activity and polymorphism of digestive juice amylase in various strains of *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 53, 496-500.
- HIRATA Y. (1974) Relations between the amylase activity of the larval digestive juice and several quantitative characters in *ae* strains of silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 43, 384-390.
- HORIE Y. (1959) Physiological studies on the alimentary canal of the silkworm, *Bombyx mori*. II. Carbohydrases in the digestive fluid in the midgut tissues. Bull. Seric. Exp. Stn. Japan, 15, 365-368.
- ITO T., MUKAIYAMA F., TANAKA M. (1962) Some properties of amylases of digestive juice and blood of larvae in the silkworm, *Bombyx mori* L. J. Sericult. Sci. Japan, 31, 228-234.
- KANEKATSU R. (1973) Purification and some properties of amylase in the digestive juice of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 42, 285-292.
- KANEKATSU R. (1978) Studies on further properties for an alkaline amylase in the digestive juice of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Fac. Text. and Technol., 76, 1-21.
- KANEKATSU R. (1980a) Purification of silkworm digestive amylase and the distribution of enzyme in larval tissues of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 42, 117-123.
- KANEKATSU R. (1980b) Immunohistochemical study on the production site of digestive amylase in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 49, 124-132.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.J. (1951) Protein measurements with Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-270.
- MATSUMURA S. (1934) *In* Silkworm Genetics Illustrated. Yokoyama T. ed. (1959), Herald Mfg. Co., Ltd., Tokyo, 185 pp.
- SCHRAMM Y., LOYTER A. (1966) Methods in Enzymology. Academic Press, New York, Chapter 3, 533-537.
- TANAKA Y., KUSANO T. (1980) The hemolymph amylase activity during development of the silkworm, *Bombyx mori* L. J. Sericult. Sci. Japan, 49(2), 95-99.

AMYLASES CHEZ LE VER A SOIE POLYVOLTIN (*BOMBYX MORI* L.) : VARIATION D'ACTIVITE CHEZ LES RACES THAILANDAISES LOCALES

A. PROMBOON¹, A. ENKAKUL¹, L. GNERNSIRI² & P. SAKSOONG²

1. Department of Biochemistry, 2. Department of Genetics, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thaïlande.

Cette étude présente le spectre des activités amylase totales au cours du développement larvaire et certaines propriétés des enzymes chez des souches polyvoltines de Thaïlande. Parmi les 24 souches étudiées, des variations de l'activité des enzymes totales ont été relevées au jour de nourrissage maximal du cinquième âge larvaire. Huit groupes imbriqués ont été différenciés afin de sélectionner les souches à forte activité amylase pouvant être utilisées comme matériel de base dans les futurs travaux de sélection pour les zones à faible pluviosité.

INTRODUCTION

Les différences entre les feuilles de mûriers jeunes et âgées sont principalement liées au contenu en eau et à la quantité d'hydrates de carbone et de fibres. Dans des conditions optimales, les feuilles tendres sont données comme aliment aux larves des premiers âges, tandis que les feuilles matures sont utilisées pour celles des derniers âges. Cependant, à la saison sèche, le développement des pousses est ralenti en raison de la faible teneur en humidité du sol et il devient difficile d'obtenir des feuilles de la qualité recherchée. Au cours de la période sèche, les fermiers des zones soumises à ce régime pluvial dépendent principalement de l'élevage des vers à soie polyvoltins (DOAE, 1991). Les souches polyvoltines se développent mieux que les souches bivoltines commerciales dans ces conditions et ne nécessitent aucune précaution particulière. Une telle tolérance à un environnement défavorable et aux maladies (DOAE, 1991) intéresse les sélectionneurs. Le mûrier étant la seule source de nourriture du ver à soie, certaines des enzymes doivent aider les souches polyvoltines de vers à soie à digérer les feuilles de qualité médiocre et à extraire les éléments nutritifs nécessaires à leur développement.

Les chercheurs s'intéressent aux amylases des vers à soie depuis 1934 (Matsumura, 1934) et un certain nombre d'études concernant les propriétés, les activités et le polymorphisme des isozymes amylases ont été réalisées (Hara et coll., 1984 ; Askawa et Hanano, 1989). Les enzymes facilitent la digestion de l'amidon contenu dans la plante nourricière (Tanaka et Kusano, 1980). Cependant, ces études se limitaient aux souches élevées en zone tempérée et ce n'est que très récemment que les souches orientales ont été étudiées (Abraham et coll., 1992 ; Chatterjee et coll., 1992). Aucune étude sur les activités amylase n'a encore été réalisée chez les souches polyvoltines communément utilisées en Thaïlande qui sont, en dépit de leur faible rendement, élevées par environ 80 % des fermiers dans le nord-est du pays. Les caractères de résistance de ces souches sont extrêmement importants pour les programmes de sélection visant à mettre au point des parents pour la production d'oeufs à l'échelle commerciale.

Vingt-quatre souches de vers à soie polyvoltins ont été sélectionnées afin de déterminer leurs activités amylase et cette étude présente les propriétés et le spectre d'activité de cette enzyme à différents âges larvaires.

MATERIELS ET METHODES

Matériels :

Les vers à soie ont été nourris quatre fois par jour avec des feuilles coupées de mûriers irrigués. Le prélèvement des larves destinées à l'extraction de l'enzyme a été réalisé à 11h00, c'est-à-dire avant le deuxième nourrissage de la journée.

Spectre des activités amylase au cours du développement larvaire :

Les enzymes totales (dénommées ci-après total) ont été extraites de larves entières de l'éclosion à la montée. Le spectre du développement de l'activité amylase a été obtenu à partir de l'étude de quatre souches polyvoltines, avec trois réplicats pour chaque échantillon. L'extraction a été réalisée par broyage des larves entières dans un tampon phosphate 0,02 M, pH 7,5 (1:1 w/v) à 4 °C en présence de 1 mM Ca^{2+} et l'extrait a été centrifugé à 10 000 Xg dans une centrifugeuse réfrigérée pendant 10 minutes. Le surnageant a été conservé dans la glace ou à -20 °C jusqu'à utilisation.

Conditions optimales pour l'activité amylase :

On a étudié les effets du pH (4 à 12), de la température (30 °C à 70 °C) et de la présence de certains ions à diverses concentrations (1-10 mM pour Ca^{2+} et Mg^{2+} et 10-100 mM pour Cl^-) ainsi que leurs combinaisons. Tous les dosages ont été faits avec les enzymes totales sauf pour l'effet du pH qui a été déterminé séparément pour l'hémolymphe, l'intestin et les enzymes totales.

L'hémolymphe a été obtenue à partir de larves du quatrième jour du cinquième âge larvaire. Une incision a été faite sur la dernière patte abdominale et les échantillons ont été déposés dans des tubes réfrigérés et conservés à -20 °C jusqu'à utilisation. Le suc intestinal a été prélevé par broyage de l'ensemble du tube digestif. Le protocole d'extraction suivi est le même que celui utilisé pour les enzymes totales. Tous les dosages ont été réalisés avec trois réplicats.

Activité amylase chez les souches polyvoltines :

Etant donné que l'on ne connaît pas les variations à l'intérieur d'une même souche, 10 individus du cinquième âge larvaire ont été prélevés au moment du nourrissage maximal (3e à 5e jour) et les enzymes totales ont été dosées suivant la méthode décrite plus haut.

Méthodes :

L'activité amylase a été dosée suivant les méthodes de Bernfeld (1955) et de Schramm et Loyter (1966). Le mélange de réaction comprend 0,5 ml d'amidon soluble à 1 % dans un tampon de chlorure d'ammonium de 49 ml à pH 10,0 contenant 10 mM Cl^- et 0,01 ml de l'extrait d'enzymes. L'incubation est réalisée à 30 °C pendant 10 minutes. La réaction est arrêtée par une solution d'acide dinitrosalicylique (DNS) 1,0 ml (4 °C) et ébullition dans l'eau pendant 5 minutes. Pour le témoin, la réaction enzymatique est arrêtée en ajoutant la solution DNS avant l'addition d'enzymes. La quantité de maltose libéré est dosée par absorption à 540 nm. La concentration protéique a été déterminée suivant la méthode de Folin et Lowry (Lowry et coll., 1951).

RESULTATS ET DISCUSSION

Propriétés enzymatiques : pH et température

L'intestin et l'amylase totale des souches polyvoltines présentent une activité maximale à pH 9,8 et l'enzyme de l'hémolymphe donne une activité maximale à pH 6,5 (Fig. 1). Les amylase totales peuvent donc être utilisées pour représenter l'enzyme de l'intestin lorsqu'elles sont dosées à pH 10,0, l'activité de l'amylase de l'hémolymphe à ce pH étant pratiquement nulle. Les enzymes totales présentent une activité dans une fourchette assez large de température de 30 °C à 70 °C avec un pic à 55 °C (Fig. 2). Ces deux propriétés sont conformes aux observations faites sur les variétés tempérées (Horie, 1959 ; Ito et coll., 1962 ; Kanekatsu, 1973).

Propriétés enzymatiques : effets des ions

L'augmentation des concentrations en Ca^{2+} de 1 mM à 10 mM, soit seul, soit en combinaison avec Mg^{2+} et/ou Cl^- , entraîne une interférence avec les activités amylase (Tableau I), tandis que Mg^{2+} et Cl^- seuls ne produisent aucun effet significatif (Tableau I). Ce résultat est en désaccord avec les travaux précédents faisant état du rôle stabilisant des cations divalents (Kanekatsu, 1978) et du rôle d'activation du Cl^- (Ito et coll., 1962) sur les amylases digestives.

Spectre de l'activité des enzymes totales au cours du développement larvaire :

Les expressions cycliques de l'activité des enzymes totales observées chez les quatre souches polyvoltines au cours du développement larvaire sont conformes entre elles et avec le comportement de nourrissage, c'est-à-dire faibles avant et après la mue (Fig. 3). Ceci a également été observé chez la souche Nistari d'Inde mais l'étude se limitait aux 4e et 5e âges (Abraham et coll., 1992). Il faut noter que, à l'exception du 1er âge, les niveaux d'amylases s'exprimant entièrement au moment de période pic de nourrissage de chaque âge sont pratiquement égaux. Le dosage de l'activité enzymatique peut donc être fait à n'importe lequel de ces âges.

L'activité amylase totale dosée comprend l'enzyme de l'intestin, de l'hémolymphe et, le cas échéant, d'autres tissus. Cependant, comme on l'a noté, les deux premières sources sont les sources principales (Kanekatsu, 1980a, 1980b). On peut donc contourner les difficultés rencontrées au cours de l'étude des amylases digestives des jeunes larves dues à leur petite taille (Tanaka et Kusano, 1980 ; Bunno et coll., 1984 ; Abraham et coll., 1992).

Le spectre cyclique des enzymes au cours du développement larvaire est conforme au spectre de nourrissage, ce qui suggère évidemment que l'enzyme digestive principale joue un rôle majeur du 1er au 5e âge. Ce résultat suggère également que, pour ce qui concerne la teneur en hydrates de carbone des feuilles, les larves polyvoltines peuvent être nourries avec des feuilles d'âges mélangés dès le 2e âge. Le rôle de la teneur en eau des feuilles de mûrier par rapport aux besoins des vers à soie reste à étudier. Les modifications cycliques de l'activité amylase au cours du développement impliquent la présence d'au moins deux types de processus physiologiques, comme l'ont suggéré Tanaka et Kusano (1980) : le processus de croissance et le processus de conservation. Au cours du nourrissage, le processus de croissance s'ajoute au processus de conservation, tandis que l'activité enzymatique est maintenue au minimum lorsque le nourrissage s'arrête, par exemple pendant la mue et la pupaison.

Activité amylase des souches locales thaïlandaise :

Les activités amylase varient entre les 24 souches de $7,366 \times 10^{-2}$ $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg}$ protéines chez TH14 à $2,841 \times 10^{-2}$ $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg}$ protéines chez TH7. Statistiquement, la fourchette d'activité peut être divisée en 8 groupes imbriqués (Tableau II). Ceci est confirmé par les variations observées par Hirata (1974) chez les souches *ae* de vers à soie. Dans ses travaux, Hirata a également mis en évidence la relation entre l'activité enzymatique et les caractères quantitatifs du rendement. Cependant, cette relation ne s'applique pas ici étant donné la qualité médiocre du rendement des races locales thaïlandaises. Les amylases de ces polyvoltins peuvent donc contribuer à la robustesse de ces races comme on l'a observé dans l'étude des races indiennes (Chatterjee et coll., 1992). Cependant, plusieurs facteurs pourraient être responsables de la robustesse, par exemple la résistance aux maladies. Les souches à forte activité amylase détectées dans cette étude (groupe A) présentent donc un intérêt capital pour le futur programme de sélection.

EFFECT OF COLD STORAGE OF MULTIVOLTINE AND MULTI $\times$ BIVOLTINE SILKWORM EGGS, *BOMBYX MORI* L. (LEPIDOPTERA : BOMBYCIDAE), AT LOW TEMPERATURE ON HATCHING PERFORMANCE

A. MANJULA* & H.K. HURKADLI

Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore - 560 062, India.

Multivoltine (Pure Mysore race) and multi $\times$ bivoltine silkworm eggs were used for the present studies. The silkworm eggs after different days of oviposition (from first to eighth day) were subjected to cold storage at 5 °C for different durations and released at an interval of 2 to 60 days. The effective method for utilization of excess layings prepared has been investigated. The results are discussed based on the hatching performance and stage of development of the embryo.

Keywords : *Bombyx mori*, multivoltine, multi $\times$ bivoltine, cold storage, hatching performance.

INTRODUCTION

Multivoltine silkworms complete many generations in a year. The eggs laid do not diapause and hatch on the tenth day of oviposition. In the summer months, due to the prevailing high temperature in the tropics, the eggs hatch on the ninth day (Narasimhanna, 1988). During the rainy season, the demand for commercial layings increases over 95 % of commercial layings are that of multi $\times$ bivoltine hybrids. These eggs because of non-hibernating characters cannot be cold stored for more than 20 days (Anonymous, 1956). They are to be preserved at low temperature between 36 hours to 48 hours after laying, whereas bivoltine silkworm eggs can be cold stored from one month to ten months, adopting the different chilling and hibernation schedules (Anonymous, 1972), thus enabling programmed rearing. The present study was undertaken to identify the effective method of utilization of excess layings prepared and to study the effect of cold storing (low temperature) of multivoltine and multi $\times$ bivoltine eggs beyond 20 days on hatching performance.

MATERIALS AND METHODS

The multivoltine (Pure Mysore) and bivoltine race seed cocoons were raised, processed and preserved at the temperature of 23 °C to 25 °C and relative humidity of 70 %. For the preparation of pure and crossbreed silkworm eggs, the emerged male and female moths were allowed to pair for 3.5 hours. The depaired female moths were allowed to oviposit on the sheets in semi-dark conditions. Ten to thirty disease-free silkworm layings after different days of oviposition from first to eighth day as shown in Table I were subjected to cold storage at 5 °C and released (with intermediate care at 15 °C) at an interval of two days up to 60 days. These layings were incubated at the temperature of 24 °C $\pm$ 1 °C and relative humidity of 70 % $\pm$ 5 %, with 16 hours of light and 8 hours of darkness. The eggs were black-boxed by using black paper covers when they attained the head pigmentation

* To whom correspondence should be sent. Present address : Silkworm Seed Technology Laboratory, Central Silk Board, Carmelaram Post, Kodathi, Bangalore - 560 035, India.

stage and were exposed to light on the second day of black-boxing. The hatched eggs, unhatched eggs, dead eggs and unfertilized eggs were evaluated. This study was conducted six times for two years and was followed by a large-scale evaluation. The results were subjected to statistical analysis using 'F' test and CD level at 5 % and 1 %.

Table I. Age of eggs subjected to cold storage.

Tableau I. Age des oeufs soumis à la réfrigération.

Number of samples	Duration from oviposition to cold storage	
	Days	Hours
	<i>Période écoulée entre l'oviposition et la réfrigération</i>	
<i>Numéro de l'échantillon</i>	<i>Jours</i>	<i>Heures</i>
I		0
II	1	24
III	2	48
IV	3	72
V	4	96
VI	5	120
VII	6	144
VIII	7	168

The eggs were kept in 24 ± 1 °C, relative humidity 70 ± 5 % after oviposition.

Après l'oviposition, les oeufs ont été conservés à 24 ± 1 °C, humidité relative 70 ± 5 %.

RESULTS

The effect of cold storage of multivoltine (Pure Mysore) and multi × bivoltine silkworm eggs from first day to eighth day of oviposition is indicated in Tables II and III. The multivoltine layings cold stored at 5 °C on the first and second day of oviposition and released up to 16 and 18 days respectively showed more than 90 % hatching (Table II). The period of cold storage is reduced drastically from 8 to 2 days for 90 % hatching beyond 2 days of oviposition.

Similarly, the multi × bivoltine layings cold stored at 5 °C on the first and second day of oviposition showed more than 90 % hatching up to 16 and 22 days respectively (Table III). This period of cold storage from third to seventh day of oviposition showed 90 % hatching ranging from 4 to 10 days only.

Table II. Effect of low temperature (5 °C) on the hatching percentage of multivoltine silkworm eggs.

Tableau II. Effet du froid (5 °C) sur le pourcentage d'éclosion des oeufs de vers à soie polyvoltins.

Day of release from cold storage	Day of cold storage after oviposition at 5 °C / Hatching percentage								Control
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
<i>Jour de l'arrêt de la réfrigération</i>	<i>Jour de réfrigération à 5 °C après oviposition / Taux d'éclosion</i>								<i>Témoin</i>
	<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>	<i>IV</i>	<i>V</i>	<i>VI</i>	<i>VII</i>	<i>VIII</i>	
2	94.10 ± 1.05	94.18 ± 0.62	93.98 ± 0.63	90.36 ± 0.79	94.20 ± 0.25	91.80 ± 2.47	90.93 ± 0.96	94.72 ± 0.65	95.56 ± 1.13
4	93.32 ± 0.76	94.18 ± 0.67	92.51 ± 0.28	90.27 ± 1.97	92.02 ± 1.46	88.42 ± 0.93	87.93 ± 0.87	95.06 ± 0.98	
6	92.89 ± 0.73	95.60 ± 0.91	91.54 ± 0.98	90.41 ± 2.04	94.46 ± 1.66	86.76 ± 1.50	85.83 ± 0.75	97.36 ± 0.71	
8	95.62 ± 0.32	95.34 ± 0.62	90.74 ± 1.23	87.56 ± 2.37	91.14 ± 1.15	84.98 ± 3.30	82.73 ±* 1.47	89.78 ±* 0.70	
10	92.24 ± 0.77	94.22 ± 0.82	88.96 ± 1.75	81.68 ± 2.54	90.90 ± 1.40	80.26 ± 3.86	70.60 ±*** 4.63	80.58 ±*** 2.67	
12	92.44 ± 0.72	93.48 ± 0.56	81.30 ±* 1.99	83.42 ± 3.57	84.92 ± 2.04	74.90 ± 6.96	79.00 ±*** 4.22	44.40 ±*** 4.57	
14	89.68 ± 1.70	93.46 ± 0.66	81.40 ±* 2.70	82.15 ± 3.57	71.98 ±* 5.38	62.40 ±*** 10.60	78.23 ±*** 6.30		
16	92.56 ± 0.73	92.14 ± 0.79	75.58 ±*** 3.76	67.54 ±*** 7.56	66.82 ±*** 7.72	53.58 ±*** 11.79	77.13 ±*** 7.17		
18	87.20 ±* 2.31	90.32 ± 0.49	57.08 ±*** 9.97	65.66 ±*** 7.03	64.47 ±*** 12.57	61.97 ±*** 8.61			
20	86.48 ±* 2.69	88.84 ±* 1.38	50.98 ±*** 8.52	62.44 ±*** 7.03	58.17 ±*** 14.93	56.05 ±*** 8.24			
22	84.10 ±*** 6.72	87.44 ±*** 0.96							
'F' test Test "F"	S	S	S	S	S	S	S	S	
CD at 5 %	6.97	6.02	12.31	15.31	16.03	22.76	11.32	5.25	
CD at 1 %	9.29	7.93	16.45	20.46	21.45	30.45	15.27	7.11	

Mean ± SE / Moyenne ± écart type.

DISCUSSION

The results of the present study indicate that the Pure Mysore race silkworm eggs, on the first day of oviposition, can be cold stored at 5 °C for 16 days and for 18 days on the second day of oviposition without affecting the hatching percentage. An earlier report (Datta *et al.*, 1972) also indicates that the embryos of non-diapausing eggs incubated for 36 hours at 25 °C are resistant to low

Table III. Effect of low temperature (5 °C) on the hatching percentage of multi × bivoltine silkworm eggs.

Tableau III. Effet du froid (5 °C) sur le pourcentage d'éclosion des oeufs de vers à soie poly × bivoltins.

Day of release from cold storage	Day of cold storage after oviposition at 5 °C / Hatching percentage							Control
	I	II	III	IV	V	VI	VII	
<i>Jour de l'arrêt de la réfrigération</i>	<i>Jour de réfrigération à 5 °C après oviposition / Taux d'éclosion</i>							<i>Témoin</i>
	<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>	<i>IV</i>	<i>V</i>	<i>VI</i>	<i>VII</i>	
2	95.68 ± 0.94	94.77 ± 1.16	95.10 ± 1.36	93.22 ± 1.51	93.07 ± 2.47	93.86 ± 1.29	94.10 ± 1.45	96.83 ± 0.49
4	92.60 ± 1.19	94.95 ± 0.92	94.63 ± 1.09	90.96 ± 2.51	91.07 ± 2.91	75.99 ± 0.99	90.82 ± 1.63	
6	96.13 ± 0.29	94.35 ± 1.37	93.05 ± 0.20	86.54 ± 4.99	86.62 ± 3.78	91.92 ± 1.87	91.10 ± 2.38	
8	95.20 ± 0.74	95.20 ± 1.21	89.40 ± 2.12	87.10 ± 3.67	84.80 ± 4.02	92.66 ± 1.83	89.17 ± 3.01	
10	94.65 ± 1.40	93.91 ± 1.35	91.25 ± 2.19	86.62 ± 4.98	85.71 ± 3.91	83.62 ± 3.29	85.80 ±** 3.56	
12	94.85 ± 1.25	95.58 ± 1.17	81.80 ± 6.83	85.88 ± 4.86	84.02 ± 2.46	79.20 ± 5.56	83.57 ±** 3.33	
14	94.55 ± 0.70	95.83 ± 1.06	90.88 ± 2.41	84.28 ± 5.87	80.55 ±* 6.75	73.32 ± 7.67	87.80 ±** 3.54	
16	94.68 ± 1.06	95.88 ± 0.90	87.83 ± 0.90	83.32 ± 5.03	71.86 ±** 6.88	80.26 ± 4.72	83.07 ±** 6.37	
18	91.88 ±** 2.17	93.23 ± 1.59	81.75 ± 3.29	84.38 ± 5.44	73.00 ±** 2.34	72.10 ± 3.97		
20	90.38 ±** 2.93	93.53 ± 1.52	65.00 ±** 4.06	73.62 ±* 4.45	68.97 ±** 8.83	72.66 ± 5.80		
22	92.73 ± 1.14	93.58 ± 2.01	74.08 ±* 8.08	74.42 ±** 4.82	74.17 ±** 4.39			
24	90.93 ±** 1.00	90.48 ±** 1.78	83.50 2.64	54.21 ±** 3.58	79.22 ±** 3.41			
26	89.35 ±** 2.98	94.15 ± 1.28	75.00 ±* 8.95					
28	88.00 ±** 2.98	94.15 ± 1.28	70.10 ±* 14.46					
30	90.93 ±** 1.00	97.83 ±** 1.12	84.15 ± 1.89					
32	88.63 ±** 1.77	88.65 ±** 1.17	84.15 ± 3.07					
'F' test Test "F"	S	S	S	S	S	NS	S	
CD at 5 %	4.46	4.63	17.01	2.32	13.77	25.19	7.92	
CD at 1 %	5.88	6.11	22.64	16.42	18.37	33.65	10.77	

Mean ± SE / Moyenne ± écart type.

temperature (5 °C to 10 °C) when compared to the embryos of later developmental stages. The Hei-B stage is more suitable for long-term cold preservation. Silkworm eggs at 40 hours of oviposition (Higashi, 1972) can be cold stored for 30 days and at 48 hours (Narasimhanna, 1988) of oviposition for 15 days. However, this cold preservation at low temperature varies for the crossbreed silkworm eggs, they can be preserved on the first day of oviposition for 16 days and on the second day of oviposition for 22 days, this duration is longer than for pure races. On the fifth day of oviposition for up to 4 days, the duration is shorter compared to the pure race (10 days). It has been reported earlier (Govindan and Narayanaswamy, 1986) that multivoltine silkworm eggs at eye spot stage can be cold stored for one day without causing deterioration in the economic traits. But the results of the present experiment indicate that multivoltine eggs can be cold stored for two days.

By preserving the multivoltine and multi × bivoltine non-diapausing silkworm eggs at low temperature for the stipulated period and released for incubation, more than 90 % hatching can be achieved. Cold storing the eggs beyond this specific period leads to a decrease in the hatched larvae percentage.

From the results of this experiment, the effective period of cold storage at 5 °C for multivoltine and multi × bivoltine silkworm eggs is shown in Table IV.

Table IV. Effective period of cold storage (in days) at 5 °C for Pure Mysore (multivoltine) and crossbreed (multi × bivoltine) silkworm eggs.

Tableau IV. Période optimale de réfrigération (en jours) à 5 °C pour les oeufs de vers à soie Pure Mysore (polyvoltins) et hybrides (poly × bivoltins).

Day of cold storage	Effective period of cold storage	
	Pure Mysore	Pure Mysore × bivoltine cross
<i>Jour de la réfrigération</i>	<i>Période optimale de réfrigération</i>	
	<i>Pure Mysore</i>	<i>Pure Mysore × croisement bivoltin</i>
1st day of oviposition / 1er jour de l'oviposition	16	16
2nd day of oviposition / 2e jour après oviposition	18	22
5th day of oviposition / 5e jour après oviposition	10	4
Blue egg stage / Stade de l'oeuf bleu	8	8
	VIII day 8e jour	VII day 7e jour

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Dr S.B. Dandin, Director, KSSDI, Dr R. Raghuraman, Divisional Chief, for encouragement, facilities and for critically going through the manuscript, Mr M.N. Ananthraman for statistical analysis, Mr S. Veereshy and Mr C.M. Venkatesh for technical assistance in carrying out this project.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1956) Instructions for refrigeration of silkworm eggs, cocoons and male moths. Publ. by Department of Sericulture, Government of Karnataka, India, 1-8.
- ANONYMOUS (1972) Handbook of silkworm rearing. FAO Manual 1, Fuji Publishing Co., Ltd., Tokyo, Japan.
- DATTA R.K., SENGUPTA K., BISWAS S.N. (1972) Studies on the preservation of multivoltine silkworm eggs at low temperatures. Indian J. Seric., 11, 20-27.
- GOVINDAN R., NARANAYASWAMY T.K. (1986) Influence of refrigeration of eggs of multivoltine silkworm, *Bombyx mori* L., at eye spot stage on rearing performance. Sericologia, 26(2), 151-155.
- HIGASHI Y. (1971) A preliminary test on cooling storage of polyvoltine silkworm eggs. Bulletin of the Thai Sericultural Research and Training Centre. No. 1.
- NARASIMHANNA M.N. (1988) Manual on egg production. Publ. by Central Silk Board, Govt. of India, 119.

EFFET DE LA CONSERVATION A BASSE TEMPERATURE DES OEUF POLYVOLTINS ET POLY $\times$ BIVOLTINS DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L. (LEPIDOPTERA : BOMBYCIDAE) SUR L'ECLOSION

A. MANJULA & H.K. HURKADLI

Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore - 560 062, Inde.

Des oeufs de vers à soie polyvoltins (Pure Mysore) et poly $\times$ bivoltins ont été utilisés dans cette étude. Ces oeufs, à différents stades après l'oviposition (du 1er au 8e jour), ont été stockés à basse température (5 °C) selon des durées plus au moins longues de 2 à 60 jours. On a étudié la meilleure méthode d'utilisation des excédents de pontes. Les résultats sont discutés sur la base de la performance d'éclosion et du stade de développement de l'embryon.

INTRODUCTION

Les vers à soie polyvoltins donnent plusieurs générations par an. Les oeufs pondus ne diapaussent pas et éclosent 10 jours après l'oviposition. En été, du fait de la température élevée des régions tropicales, les oeufs pondus éclosent dès le neuvième jour (Narasimhanna, 1988). Au cours de la saison pluvieuse, la demande de pontes destinées à l'exploitation commerciale augmente, 95 % des pontes commerciales étant composées d'hybrides poly $\times$ bivoltins. Ces oeufs n'ayant pas la faculté d'hiberner, il n'est pas possible de les stocker plus de 20 jours (Anonyme, 1956). Ils doivent être conservés à basse température entre 36 heures et 48 heures après la ponte, alors que les oeufs bivoltins peuvent être réfrigérés pendant une durée de 1 à 10 mois, suivant les différents plans de réfrigération et d'hibernation (Anonyme, 1972), ce qui permet de programmer les élevages. Cette étude a été réalisée afin d'identifier une méthode efficace d'utilisation des excédents de pontes préparées et d'étudier l'effet du stockage à basse température des oeufs polyvoltins et poly $\times$ bivoltins au-delà de 20 jours sur la performance d'éclosion.

MATERIELS ET METHODES

Des cocons de grainage polyvoltins (Pure Mysore) et bivoltins ont été élevés, traités et conservés à une température de 23 °C à 25 °C et à une humidité relative de 70 %. Pour la préparation des oeufs Pure Mysore et hybrides, les papillons émergés mâles et femelles ont été accouplés pendant 3,5 heures. Les femelles désaccouplées ont été mises à pondre sur des cartes en semi-obscurité. Dix à trente pontes saines de vers à soie à différents stades après l'oviposition, entre le 1er et le 8e jour (Tableau I), ont été stockées au froid à 5 °C et libérées (après un passage à 15 °C) à intervalles de deux à 60 jours. Ces pontes ont été incubées à la température de 24 ± 1 °C et à une humidité relative de 70 ± 5 %, pour 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité. Les oeufs sont placés dans l'obscurité et recouverts de papier noir lorsqu'ils atteignent le stade de pigmentation céphalique et sont exposés à la lumière deux jours après la mise en obscurité. Les oeufs éclos, non éclos, morts et non fécondés ont été comptés. Cette expérience a été répétée six fois sur deux ans et a été suivie d'une évaluation à grande échelle. Les résultats ont été soumis à analyse statistique suivant le test "F" et l'intervalle de confiance aux seuils de 5 % et 1 %.

RESULTATS

L'effet de la conservation au froid des oeufs de vers à soie polyvoltins (Pure Mysore) et poly × bivoltins du 1^{er} au 8^e jour après l'oviposition est présenté dans les tableaux II et III. Les pontes de polyvoltins stockées à 5 °C le premier et le deuxième jour après l'oviposition et conservées au froid pendant 16 et 18 jours respectivement présentent un taux d'éclosion de plus de 90 % (Tableau II). La durée de conservation au froid diminue radicalement et passe de 8 à 2 jours pour un taux d'éclosion de 90 % pour un stockage au froid au-delà de 2 jours après la ponte.

De même, les pontes poly × bivoltine stockées à 5 °C le premier et le deuxième jour après l'oviposition présentent un taux d'éclosion de plus de 90 % jusqu'à 16 et 22 jours respectivement (Tableau III). La mise au froid entre 3 et 7 jours après l'oviposition donne un taux d'éclosion de 90 % si la durée de conservation se situe entre 4 et 10 jours.

DISCUSSION

Les résultats présentés ici indiquent que l'on peut stocker au froid les oeufs de la race de vers à soie Pure Mysore le premier jour de l'oviposition pour une durée de 16 jours et le deuxième jour pour une durée de 18 jours sans affecter le taux d'éclosion. Des études antérieures (Datta et coll., 1972) montrent également que les embryons des oeufs non diapausants incubés pendant 36 heures à 25 °C résistent mieux aux basses températures (5 à 10 °C) que les oeufs aux stades ultérieurs du développement. Le stade Hei-B est mieux adapté à la conservation au froid à long terme. Les oeufs de vers à soie 40 heures après l'oviposition (Higashi, 1972) peuvent être stockés au froid pendant 30 jours et, 48 heures après l'oviposition, pendant 15 jours (Narasimhanna, 1988). Cependant, la durée de conservation au froid varie pour les oeufs de vers à soie hybrides. Ils peuvent être conservés pendant 16 jours après mise au froid le premier jour de l'oviposition et pendant 22 jours après mise au froid au deuxième jour de l'oviposition, cette durée est plus longue que pour les races pures. Par contre, la durée de conservation (4 jours) est plus courte que celle des races pures (10 jours) s'ils sont mis au froid au cinquième jour de l'oviposition. On a observé (Govindan et Narayanaswamy, 1986) que les oeufs de vers à soie polyvoltins au stade du masque pouvaient être stockés au froid pendant une journée sans que cela occasionne de détérioration des caractères économiques. Les résultats des expériences présentées ici indiquent que les oeufs polyvoltins à ce stade peuvent être stockés pendant deux jours.

Le stockage au froid des oeufs de vers à soie polyvoltins et poly × bivoltins donne un taux d'éclosion de plus de 90 % si l'on suit la durée de stockage indiquée. La conservation au froid des oeufs au-delà de cette durée entraîne une diminution de pourcentage de larves écloses.

La durée optimale de conservation à 5 °C des oeufs de vers à soie polyvoltins et poly × bivoltins est présentée dans le tableau IV sur la base des résultats de cette expérience.

VALEUR NUTRITIVE DE QUELQUES CLONES DE MURIER (*MORUS ALBA* L.)

T.C. FONSECA², J.E. DE ALMEIDA¹, F. OKAMOTO¹ & E.A. DA CUNHA³

1. Centro Estadual de Pesquisa Aplicada em Sericicultura, CEPAS, CP 16, CEP 17540 000, Gália, SP, Brésil.
2. Divisão de Nutrição Animal e Pastagens, D4, Rua Heitor Penteado 56, CP 60, CEP 13460-000 Nova Odessa, SP, Brésil.
3. Divisão de Zootecnia Diversificada, D3, Rua Heitor Penteado 56, CP 60, CEP 13460-000, Nova Odessa, SP, Brésil.

Les teneurs en matières sèches (MS) et en protéines brutes (PB) des feuilles de 10 clones de mûrier ont été mesurées à deux moments de la journée (7h00 et 15h00) et sur trois saisons (printemps, été et automne). On a observé que la MS varie en fonction de l'heure de la récolte mais pas entre les clones. La PB présente une variabilité entre les clones et les saisons.

Mots-clés : Mûrier, teneur en matières sèches (MS), teneur en protéines brutes (PB).

INTRODUCTION

L'Institut de Zootecnie suit actuellement un programme d'amélioration du mûrier à des fins séricicoles dont l'objectif principal est de sélectionner des clones prometteurs pour ce qui concerne l'implantation, la productivité et la valeur nutritive. Plusieurs travaux ont montré l'importance de la qualité des feuilles de mûrier pour l'élevage du ver à soie (Abdullaev et coll., 1964 ; De Bastiani, 1967 ; Bianchidi, 1955, Fonseca et coll., 1981). Une valeur nutritive élevée du mûrier augmente la résistance des vers à soie ainsi que la production et la qualité des cocons.

Le travail présenté ici a pour but de comparer la productivité de quelques clones et de déterminer les teneurs en matières sèches (MS) et en protéines brutes (PB) chez les feuilles de mûrier pour les études sur l'alimentation chez le ver à soie.

MATERIELS ET METHODES

On a étudié la teneur en matières sèches (MS) et en protéines brutes (PB) des feuilles en fonction de trois saisons de production (printemps, été et automne) sur une année et de 2 moments de la journée (7h00 et 15h00) chez 10 clones provenant du programme d'amélioration du mûrier de l'Institut de Zootecnie, São Paulo, Brésil.

On a récolté 500 g de feuilles par plante sur 4 plants de chaque clone choisis au hasard dans le champ de mûrier, soit un total de 2,0 kg de feuilles fraîches par clone. Après séchage à 65 °C pour obtenir la matière sèche, ces échantillons ont été utilisés pour déterminer la teneur en protéines brutes selon la méthode de Kjeltahol (AOAC, 1970).

Les arbres ont été plantés à espacements de 1,30 × 0,60 cm. Les mûriers sont taillés au ras du sol annuellement en hiver (juillet) ; pendant la période de production, trois tailles sont effectuées après

90 jours de végétation environ. Après chaque taille, on applique un engrais chimique composé de N:P:K (20:5:15) à raison de 30 g/plant.

Les clones utilisés sont : IZ3/2, IZ13/6, IZ15/7, IZ19/13, IZ56/4, IZ57/2, IZ30 et IZ40. Les variétés Calabresa et Miura ont servi de témoins.

Les clones IZ30 et IZ40 ont été obtenus par croisement naturel dans la collection de variétés de l'ancienne station de sériciculture de Limeira, São Paulo (Fonseca et coll., 1985b).

Les clones IZ3/2, IZ13/6, IZ15/7, IZ19/13, IZ56/7 et IZ57/2 sont issus des croisements suivants (Fonseca et coll., 1985c) :

Croisement	Parents	
	Femelle	Mâle
3	Contadini	× Catania Paulista
13	Fernão Dias	× Kokuso 27
15	Calabresa	× Nezumigaesi
19	Talo Roxo	× Kokuso 27
56	Formosa	× Catania Paulista
57	Formosa	× Kokuso 27

Tous ces clones sont les résultats de la sélection des descendance pour la capacité de racinement et la productivité des feuilles.

Les clones Calabresa et Miura sont couramment utilisés par les agriculteurs des Etats de São Paulo et du Parana et constituent une référence pour estimer les résultats des programmes d'amélioration du mûrier au Brésil (Fonseca et coll., 1985a).

L'analyse de variance adoptée est celle des blocs divisés (split-plot) (Steel et Torrie, 1980) où les clones constituent les parcelles et les horaires les sous-parcelles, selon le tableau général suivant :

Sources de variation (SV)	Degrés de liberté (DL)
Clones (C)	C-1
Variation résiduelle a (VRa)	C (R-1)
Parcelles	(C × R - 1)
Horaires (H)	H-1
C × H	(C-1) (H-1)
Variation résiduelle b (VRb)	C (H-1) (R-1)
Sous-parcelles (total)	C × R × H - 1

La même procédure a été répétée au cours des trois saisons et les données ont été réunies dans une analyse conjointe.

RESULTATS ET DISCUSSION

Matières sèches :

D'après ce que l'on peut observer dans l'analyse de variance des tableaux I et II, la teneur en matières sèches (MS) ne varie entre les clones qu'en automne, ce qui indique qu'ils se ressemblent pour ce qui concerne la teneur en eau des feuilles aussi bien pendant la journée que pendant la plus grande partie de l'année.

Tableau I. Analyse des teneurs en matières sèches.

Table I. Analysis of dry matter contents.

Source de variation	Degré de liberté	Carrés moyens		
		Printemps	Été	Automne
Source of variation	Degree of freedom	Mean squares		
		Spring	Summer	Autumn
Clones (C)	9	18,4847	21,8069	346,4500**
Variation résiduelle a <i>Residual variation a</i>	30	38,9208	91,2375	117,6583
Parcelles / Plots	(39)			
Heures / Hours (H)	1	1,5125	400,6125**	1960,2000**
H × C	9	8,7625	28,0403	36,0611
Variation résiduelle b <i>Residual variation b</i>	30	13,4708	21,6875	54,3083
Total	79			

** Significatif au seuil de 1 % / Significant at 1 % level.

On observe également qu'il y a un effet significatif pour le facteur horaire et pour l'interaction de l'horaire et de la saison, ce qui indique que la teneur en eau des feuilles est plus faible en été, qui est la saison la plus chaude, et en automne, époque où la pluie est peut-être moins fréquente et où les plants sont dans une phase végétative plus avancée.

Au printemps, il n'y a pas de différence significative entre les teneurs en matières sèches des feuilles récoltées le matin et l'après-midi.

Le tableau III présente les moyennes des teneurs des 10 clones en fonction des heures et des saisons. On peut observer que la variation obtenue entre le matin et l'après-midi est plus grande que celle détectée entre les saisons, ce qui confère à l'heure de récolte une importance supérieure à celle qu'on lui attribue habituellement. La documentation existante confirme la petite variation dans la teneur en matières sèches rencontrée en fonction des saisons : 25,90 % pour le printemps, 28,55 % pour l'été et 26,89 % pour l'automne (Takahashi et Kronka, 1989).

Tableau II. Analyse conjointe des teneurs en matières sèches sur les trois saisons (printemps, été, automne).

Table II. Joint analysis of the dry matter contents over three seasons (spring, summer, autumn).

Source de variation	Degré de liberté	Carrés moyens	Probabilité
<i>Source of variation</i>	<i>Degree of freedom</i>	<i>Mean squares</i>	<i>Probability</i>
Saisons / Seasons (S)	2	215,72	0,063
Clones (C)	9	45,76	0,795
S × C	18	21,51	0,998
Variation résiduelle a <i>Residual variation a</i>	90	82,61	
Parcelles / Plots	119		
Heures / Hours (H)	1	1430,82**	0,000
S × H	2	465,71**	0,000
C × H	9	13,59	0,901
Variation résiduelle b <i>Residual variation b</i>	108	29,79	
Total	239		
	Moyenne / Mean (%)	28,25	
	CV(a) (%)	32,17	
	CV(b) (%)	19,32	

CV : Coefficient de variation / *Variation coefficient.*

** Significatif au seuil de 1 % / *Significant at 1 % level.*

Il convient de relever ici que l'on n'a pas pris en considération l'humidité du terrain ou de l'air au moment de la récolte malgré l'importance de ce facteur dans ces études. Compte tenu du fait que la teneur en matières sèches peut être affectée par l'environnement, on peut en déduire que l'heure de la récolte est importante pour ce caractère et, également, que les clones considérés se ressemblent dans la mesure où il n'y a pas d'interaction significative entre les clones et les facteurs environnementaux.

Protéines brutes :

Le tableau IV présente les teneurs en protéines brutes dans les matières sèches (65 °C) chez les feuilles des 10 clones de mûriers récoltées sur trois saisons. Les teneurs moyennes varient de 24,089 % pour le clone IZ3/2 à 28,816 % pour le clone IZ30.

Tableau III. Moyennes des teneurs en matières sèches de 10 clones de mûrier en fonction de 2 moments de la journée et 3 saisons.

Table III. Means of dry matter contents in 10 mulberry clones in relation to 2 different times of the day and 3 seasons.

Heure Time	Printemps Spring (%)	Été Summer (%)	Automne Autumn (%)	Moyenne Mean (%)
7:00	26,225 ^a	26,800 ^a	24,400 ^a	25,808 ^a
15:00	26,500 ^a	31,275 ^b	34,300 ^b	30,692 ^b
Moyenne / Mean	26,363 ^a	29,038 ^b	29,350 ^b	28,250

Les moyennes suivies de la même lettre sur une colonne ne diffèrent pas entre elles par le test Tukey.
Means followed by the same letter do not differ from one another according to Tukey test.

Tableau IV. Teneurs moyennes en protéines brutes (PB) dans les feuilles de 10 clones de mûriers récoltées au cours de trois saisons.

Table IV. Mean crude protein contents (PB) in the leaves of 10 mulberry clones harvested during three seasons.

Clones Clones	Printemps Spring (%)	Été Summer (%)	Automne Autumn (%)	Moyenne Mean (%)
IZ30	30,549	29,024	26,876	28,816
Calabresa	25,975	28,469	30,654	28,366
Miura	27,896	28,281	27,266	27,814
IZ40	28,296	29,298	24,922	27,505
IZ15/7	26,412	26,914	28,477	27,268
IZ13/6	27,454	28,907	24,766	27,042
IZ57/2	26,554	27,190	24,247	25,997
IZ56/4	26,320	28,632	21,401	25,451
IZ19/13	24,859	24,960	22,852	24,224
IZ3/2	24,689	24,375	23,205	24,089
Moyenne / Mean	26,900	27,605	25,467	26,657

Les analyses montrent que la teneur en PB est plus forte en été (27,605 %) qu'au printemps et à l'automne (respectivement 26,900 % et 25,467 %) (Tableau IV). On a observé une différence significative entre les 10 clones étudiés seulement pour l'automne (Tableau VI). Les résultats obtenus sont relativement élevés puisque la documentation existante fait état de valeurs de 23,52 %, 19,73 % et 21,03 % en PB pour 8 clones récoltés respectivement au printemps, en été et en automne (Fonseca et Fonseca, 1986).

Tableau V. Analyse conjointe des teneurs en protéines brutes dans les feuilles de mûriers.

Table V. Joint analysis of the crude protein contents in mulberry leaves.

Source de variation	Degré de liberté	Carrés moyens	Probabilité
<i>Source of variation</i>	<i>Degree of freedom</i>	<i>Mean squares</i>	<i>Probability</i>
Saisons / Seasons (S)	2	94,97**	0,002
Clones (C)	9	65,51**	0,0001
S × C	18	23,26	0,066
Variation résiduelle a <i>Residual variation a</i>	90	14,40	
Parcelles / Plots	119		
Heures / Hours (H)	1	17,47	0,108
S × H	2	11,60	0,185
C × H	9	6,29	0,509
Variation résiduelle b <i>Residual variation b</i>	108	6,82	
Total	239		
Moyenne / Mean (%)		26,657	
CV(a) (%)		14,24	
CV(b) (%)		9,80	

CV : Coefficient de variation / *Variation coefficient*.

** Significatif au seuil de 1 % / *Significant at 1 % level*.

Dans les études de fertilisation, on a relevé des variations de PB de 19,82 % en été dans des parcelles non fertilisées jusqu'à 27,88 % au printemps dans les parcelles ayant reçu des engrais organiques (fumier de poulet) (Takahashi, 1989). Il est évident que la teneur en PB chez les feuilles de mûrier est fortement influencée par la fertilité du terrain et par la période végétative. En outre, il est intéressant de noter que certains clones tendent à avoir des teneurs élevées en PB en automne, comme IZ15/7 et Calabresa, tandis que IZ30 et IZ40 subissent une réduction à la fin de la période végétative, ce qui suggère que ces derniers devront être plus précoces avec une tendance à un

jaunissement plus rapide entraînant une perte de valeur nutritive en automne. Cependant, le clone Miura a présenté une bonne stabilité de la teneur en PB pendant toute la période végétative (Tableau IV), malgré le fait que l'interaction clone $\times$ saison ne soit pas statistiquement significative avec une probabilité légèrement supérieure à 0,05 (Tableau V).

Tableau VI. Analyse des pourcentages de la PB sur 3 saisons et 2 heures de récolte (7h00 et 15h00).

Table VI. Analysis of crude protein percentages over 3 seasons and 2 harvest times (7:00 am and 3:00 pm).

Source de variation	Degré de liberté	Carrés moyens		
		Printemps	Eté	Automne
Source of variation	Degree of freedom	Mean squares		
		Spring	Summer	Autumn
Clones (C)	9	24,1493	23,9218	63,9520**
Variation résiduelle a <i>Residual variation a</i>	30	18,9475	12,2783	11,9797
Parcelles / Plots	(39)			
Heures / Hours	1	9,5842	29,4516*	1,6445
H $\times$ C	9	4,7513	8,0791	12,6532
Variation résiduelle b <i>Residual variation b</i>	39	6,5330	5,9499	6,3076
Total	79			
		(%)	(%)	(%)
Moyenne à 7h00 / Mean at 7.00 am		27,246	28,212	25,323
Moyenne à 15h00 / Mean at 3.00 pm		26,554	26,998	25,611
Moyenne / Mean		26,900	27,605	25,467

* Significatif au seuil de 5 % / Significant at 5 % level.

** Significatif au seuil de 1 % / Significant at 1 % level.

Pour ce qui concerne l'effet de l'heure de récolte, on observe qu'il n'y a d'influence sensible qu'en été sur la teneur en PB chez les feuilles, ce qui suggère que la teneur en protéines brutes des feuilles peut subir un changement pendant la période de photosynthèse (Tableau VI).

REFERENCES

ABDULLAEV I.K., GASANOV D.O., IMAMKULVER S.D. (1964) Hybrid mulberry in Azerbaijan and its importance in breeding. Azerb. elmi-tedgigot ipercolor dust eserlen. Trans. Azerbaijan Sci. Silk Prod. Russia, 5, 132-153.

- AOAC (1970) Association of Official Methods of Analysis. 12e ed., Washington, DC, 1094.
- BASTIANI D. (1967) Prove comparative di alimentazione e di allevamento de baco da seta (*Bombyx mori* L.) (Comparative feeding and breeding trial with the silkworm, *Bombyx mori* L.). Agricoltura della Venezie, 21, 200-214.
- BIANCHEDI A. (1955) The new kokuso varieties of Japanese mulberry. G. Agric. Domin., Italy, 39, 582 pp.
- FONSECA T.C., VENCovsky R. (1981) Estimaco de parmetros visando  seleco de hbridos artificiais de amoreira (*Morus alba* L.). B. indst. anim., Nova Odessa, SP, Brsil, 38(1), 85-105.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., PAOLIERI L. (1985a) Caracterizaco algumas variedades de amoreira. Zootecnia, Nova Odessa, SP, Brsil, 23(2), 111-129.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., PAOLIERI L. (1985b) Hbridos naturais de amoreira. B. indst. anim., Nova Odessa, SP, Brsil, 42(1), 71-77.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., PAOLIERI L. (1985c) Melhoramento da amoreira por meio da hibridaco artficial. B. indst. anim., Nova Odessa, SP, Brsil, 42(2), 265-276.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C. (1986) Cultura da Amoreira e Criaco do bicho-da-seda. So Paulo, Brsil, Ed. Nobel, 246 pp.
- STEEL R.D.G., TORRIE J.H. (1980) Principles and procedures of statistics. New York, McGraw Hill, 481 pp.
- TAKAHASHI R., KRONKA R.N. (1989) Efeitos dos diferentes tipos de adubao sobre a produo de amoreira. B. indst. anim., Nova Odessa, SP, Brsil, 46(1), 157-164.

NUTRITIVE VALUE OF SOME MULBERRY CLONES (*MORUS ALBA* L.)

T.C. FONSECA², J.E. DE ALMEIDA¹, F. OKAMOTO¹ & E.A. DA CUNHA³

1. Central Estadual de Pesquisa Aplicada em Sericicultura, CEPAS, CP 16, CEP 17540 000, Gália, SP, Brazil.
2. Divisão de Nutrição Animal e Pastagens, D4, Rua Heitor Penteado 56, CP 60, CEP 13460-000 Nova Odessa, SP, Brazil.
3. Divisão de Zootecnia Diversificada, D3, Rua Heitor Penteado 56, CP 60, CEP 13460-000, Nova Odessa, SP, Brazil.

The dry matter and crude protein contents in the leaves of 10 mulberry clones were measured at two different times of the day (7.00 am and 3.00 pm) and in three seasons (spring, summer and autumn). The dry matter content was found to vary according to the time of harvesting but not between clones. The crude protein content shows variability between both the clones and the seasons.

INTRODUCTION

The Institute of Zootechnics is currently following a mulberry improvement programme for sericultural purposes, the chief aim of which is to select promising clones as regards their establishment, productivity and nutritive value. Several studies have shown the importance of the quality of mulberry leaves in silkworm rearing (Abduallev *et al.*, 1964 ; De Bastiani, 1967 ; Bianchidi, 1955 ; Fonseca *et al.*, 1981). A high nutritive value in the mulberry increases the resistance of silkworms as well as cocoon production and quality.

The aim of the present work is to compare the productivity of a few mulberry clones and to determine the dry matter and crude protein contents in the mulberry leaves for studies on silkworm feeding.

MATERIALS AND METHODS

The dry matter and crude protein contents of the leaves were studied according to three rearing seasons (spring, summer and autumn) in a year and at two hours of the day (7.00 am and 3.00 pm) in 10 clones obtained from the mulberry improvement programme of the Institute of Zootechnics, São Paulo, Brazil.

Five hundred grammes of leaves per plant were collected from 4 randomly chosen plants of each clone in the mulberry field, viz. a total of 2.0 kg of fresh leaves per clone. After drying at 65 °C to obtain the dry matter, these samples were used to determine the crude protein content according to Kjeltahol's method (AOAC, 1970).

The trees were planted at 1.30 × 0.60 cm spacing. The mulberries were pruned down to the ground every year in winter (July). During the rearing period, three prunings were performed after about 90 days' vegetation. After each pruning, a chemical fertiliser composed of N:P:K (20:5:15) was applied at the rate of 30 g/plant.

The clones used were : IZ3/2, IZ13/6, IZ15/7, IZ19/13, IZ56/4, IZ57/2, IZ30 and IZ40. Varieties Calabresa and Miura were taken as controls.

Clones IZ30 and IZ40 were obtained by natural crossing in the collection of the varieties of the former sericultural station of Limeira, São Paulo (Fonseca *et al.*, 1985b).

Clones IZ3/2, IZ13/6, IZ15/7, IZ19/13, IZ56/7 and IZ57/2 result from the following crosses (Fonseca *et al.*, 1985c),

Crosses	Parents	
	Female	Male
3	Contadini	× Catania Paulista
13	Fernão Dias	× Kokuso 27
15	Calabresa	× Nezumigaesi
19	Talo Roxo	× Kokuso 27
56	Formosa	× Catania Paulista
57	Formosa	× Kokuso 27

All these clones were obtained by screening the progenies for rooting ability and leaf productivity.

The clones Calabresa and Miura are popular among the farmers of São Paulo and Parana States and are used as a reference when estimating the results of the mulberry improvement programmes in Brazil (Fonseca *et al.*, 1985a).

The analysis of variance chosen is the split-plot method (Steel and Torrie, 1980) where the clones represent the plots and the hours the sub-plots, according to the following general table,

Sources of variation (SV)	Degrees of freedom (DF)
Clones (C)	C-1
Residual variation a (RVa)	C (R-1)
Plots	(C × R - 1)
Hours (H)	H-1
C × H	(C-1) (H-1)
Residual variation b (RVb)	C (H-1) (R-1)
Sub-plots	C × R × H - 1

The same procedure was replicated during each of the three seasons and the data were pooled in a joint analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

Dry matter :

The analysis of variance presented in Tables I and II shows that the dry matter content varied between clones only in autumn, which indicates that they are similar in the moisture content of the leaves both during the day and during most of the year.

A significant effect was also observed as regards the hour factor as well as the hour $\times$ season interaction, which indicates that the moisture content of the leaves is lower in summer – the hottest season – and in autumn, when rain is perhaps less frequent and when the plants have reached a more advanced vegetative phase.

In spring, there was no significant difference between the dry matter contents of the leaves collected in the morning and in the afternoon.

Table III presents the means of the contents of the 10 clones according to hours and seasons. The magnitude of the variation between mornings and afternoons was found to be larger than that detected between seasons, which gives the time of harvest more importance than what it is normally attributed. A perusal of the existing literature confirms this small variation in the dry matter content according to seasons : 25.90 % for spring, 28.55 % for summer and 26.89 % for autumn (Takahashi and Kronka, 1989).

It should be noted that the moisture contents of the soil and air at the time of harvesting were not taken into account, despite the significance of this factor in the present work. Because the dry matter content can be affected by the environment, it can be inferred that the time of harvesting is more important for this character, and also that the clones considered are similar insofar as there is no significant interaction between clones and environmental factors.

Crude protein :

Table IV presents the crude protein contents in the dry matter (65 °C) of the leaves of the 10 mulberry clones collected in three seasons. The average contents ranged from 24.089 % for clone IZ3/2 to 28.816 % for clone IZ30.

Analyses show that the crude protein content was higher in summer (27.605 %) than in spring and autumn (26.900 % and 25.647 %, respectively) (Table IV). A significant difference between the 10 clones studied was observed only for autumn (Table IV). The results obtained are relatively high since from the existing literature the crude protein contents for 8 clones harvested in spring, summer and autumn are reported to be 23.52 %, 19.73 % and 21.03 %, respectively (Fonseca and Fonseca, 1986).

In studies on fertilisation, the crude protein contents was observed to vary from 19.82 % in summer in unfertilised plots up to 27.88 % in spring in the plots amended with organic fertilisers (chicken manure) (Takahashi, 1989). It is evident that the crude protein contents in mulberry leaves is strongly influenced by the soil fertility and the vegetative period. Furthermore, it is interesting to note that certain clones, such as IZ15/7 and Calabresa, tend to have high crude protein contents in autumn, while IZ30 and IZ40 undergo a reduction at the end of the vegetative period, which suggests that the latter will be comparatively precocious with a tendency to earlier yellowing leading to a loss in the nutritive value in autumn. However, clone Miura showed a good stability of the crude protein content throughout the vegetative period (Table IV), although the clone $\times$ season interaction was not statistically significant with a probability slightly over 0.05 (Table IV).

As regards the effect of the time of harvesting, an appreciable influence on the crude protein content of the leaves was observed only in summer, which suggests that the crude protein content of the leaves can undergo a change during the photosynthesis period (Table VI).

RESPONSE OF MULBERRY (*MORUS INDICA* VAR. KANVA-2) TO INOCULATION WITH THE NITROGEN-FIXING BACTERIUM, *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

B.R. DAYAKAR YADAV* & T.D. NAGENDRA KUMAR

Moriculture Division, Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore - 560 062, India.

The response of mulberry (Morus indica var. Kanva-2) to inoculation with Azospirillum brasilense (strain SL-33) was studied in pots containing unsterilised soil and different nitrogen levels. Two trials carried out during two consecutive years showed an increase in leaf yield and nitrogen uptake. Inoculation increased the yield up to 13 % over the uninoculated control. The treatment without nitrogen did not show any significant increase in the parameters analysed. Plants inoculated and amended with nitrogen at 20 kg ha⁻¹ and 30 kg ha⁻¹ increase the leaf yield up to 5.2 % and 13.2 % respectively over their uninoculated controls. The dilution plate counts of the inoculated strain showed a two-fold increase in the population of Azospirillum after 90 days after pruning over the uninoculated ones.

Keywords : *Azospirillum brasilense*, *Morus indica* var. Kanva-2, inoculation, N-fertilisers.

INTRODUCTION

The beneficial effects of *Azospirillum* inoculation on gramineous plants like maize, sorghum, rice, pearl millet, *Setaria italica*, *Eleusine coracana*, wheat, panicum (Subba Rao *et al.*, 1979 ; Boddey and Dobereiner, 1982 ; Fages *et al.*, 1990), in winter legume crops, *Pisum sativum* L., *Cicer arietinum* L., *Vicia sativa* L., *Hedysarum coronarium* L. (Okon *et al.*, 1987) and in *Brassica juncea* L. (Saha *et al.*, 1985) have been demonstrated. Also, on various other plant roots of *Polygonum*, *Carex*, *Arisaemia* spp. (Nioh, 1983), it not only secretes growth substances (Tien *et al.*, 1979) but also fixes nitrogen (Cohen *et al.*, 1980). Therefore it was considered worthwhile to find out the effects of *Azospirillum* inoculation on the yield of mulberry which is an important ingredient in raising silkworms. The present study embodies the results of pot culture experiment with mulberry (*Morus indica* var. Kanva-2) to the response of a carrier-based *Azospirillum brasilense* (SL-33) inoculum.

MATERIALS AND METHODS

The experiments were conducted during 1984 and 1985 at Karnataka State Sericulture Development Institute (KSSDI) (Bangalore, India) (12°58' N, 77°35' E, 914 m altitude).

Experimental details :

A. brasilense (SL-33) was obtained from IARI (New Delhi) and was grown on a sodium malate medium with NH₄Cl (Okon *et al.*, 1977) for 72 hr and was mixed with a sterilised carrier (soil : farmyard manure (FYM) in 1:1 ratio), and incubated at room temperature (26 °C-28 °C) for a week.

* Present address : Deputy Director, Silkworm and Mulberry Germplasm Station, Thally Road, Hosur - 635 109, TN, India.

The inoculum, which contained 10^8 bacterial cells/g, was used to treat the mulberry roots at 10 kg ha^{-1} applied twice in a year. The first dose was applied in June and the second in November. An aqueous slurry of the inoculum was prepared in which the roots of the saplings of mulberry were dipped for 20 min. and later sown in 50 cm diam. pots containing 20 kg unsterilised soil of pH 7.2, a subsequent inoculation was performed by placing the above inoculum near the root zone. The plants which were not inoculated served as controls.

Treatments :

Seven treatments were chosen, they are : T_1 = uninoculated and no nitrogen ; T_2 = inoculated with *A. brasilense* ; T_3 and T_5 = uninoculated but with 20 kg and 30 kg N ha^{-1} , respectively ; T_4 and T_6 = inoculated and amended with 20 kg and 30 kg N ha^{-1} , respectively ; T_7 = 60 kg N ha^{-1} . Each treatment carried four replicates arranged in randomised block design. Urea was used as basal fertiliser nitrogen at 20 kg and 30 kg N ha^{-1} and with or without bacterial inoculation.

Harvesting :

The harvesting of leaves was done five times over a period of one year at approximately 8-10 weeks' intervals. After the harvest the fresh weight of leaves at each harvest served as an index of the effect of the bacterial inoculum. The micro-Kjedhal method (Vogel, 1958) was used for nitrogen estimation and results were expressed in milligram nitrogen yield 100 g^{-1} dry leaf weight.

Dilution plate count of *A. brasilense* :

Dilution plate counts of the bacterium associated with rhizosphere soil and roots of mulberry plants were done from each treatment randomly selected and pulled out by hand. Roots and rhizosphere soil from the same pot were collected, and serial dilutions were prepared for *A. brasilense* count. For identification purposes, a parallel serial dilution of pure culture was prepared as a countercheck.

RESULTS

Leaf yield :

1st trial : Analysis of the 5 harvests data from the experiment revealed that the leaf yield of mulberry var. Kanva-2 varied significantly. The leaf yield increased significantly after addition of nitrogen fertiliser, i.e. an increase of 6 kg with 20 N ha^{-1} and 11 kg with 30 kg N ha^{-1} over their uninoculated controls (Table I). The two inoculated treatments (T_4 and T_5) were equally effective in terms of increased leaf yield. The response between uninoculated and no nitrogen with that of *A. brasilense* and no nitrogen was non significant (Table I).

2nd trial : The results of the second trial crop inoculated and amended with nitrogen at 20 kg and 30 kg N ha^{-1} showed an increase in leaf yield in comparison with the respective controls (Table I). A maximum mean leaf yield increase of 3.2 kg and 16.3 kg with inoculation and amended with 20 kg and 30 kg N ha^{-1} respectively was repeated during the 2nd trial.

Total plant nitrogen :

1st trial : The nitrogen in the above ground plant biomass showed a significant increase after the addition of 30 kg N ha^{-1} . With a mere inoculation alone, an increase in the mean nitrogen yield of 55.4 mg $\text{N } 100 \text{ g}^{-1}$ was recorded, and with 20 kg N ha^{-1} it showed 38 mg $\text{N } 100 \text{ g}^{-1}$ over its respective controls, while, at a higher level of nitrogen, i.e. 30 kg N ha^{-1} , it showed 27 mg $\text{N } 100 \text{ g}^{-1}$ against the uninoculated control.

2nd trial : A maximum N in the above ground plant biomass was observed in the second trial. The total nitrogen increased following inoculation and addition of N (Table I). There was a significant increase in the nitrogen yield at all levels - i.e. with inoculation alone, the increase was 61 mg, with 20 kg N ha^{-1} , it was 72 mg, and, at 30 kg N ha^{-1} application, it was 69 mg N for every 100 g dry leaf weight over the respective controls.

Table I. Leaf yield and nitrogen yield of mulberry inoculated with *Azospirillum brasilense* (SL-33) strain.Tableau I. Rendement en feuilles et en azote chez le mûrier inoculé avec la souche SL-33 d'*Azospirillum brasilense*.

Treatment	Trial I		Trial II	
	Leaf yield (in kg)	Nitrogen yield (mg 100/g)	Leaf yield (in kg)	Nitrogen yield (mg 100/g)
Traitement	1er test		2e test	
	Rendement en feuilles (kg)	Rendement en azote (mg 100/g)	Rendement en feuilles (kg)	Rendement en azote (mg 100/g)
T ₁ (Control / Témoin)	28.70 + 2.475	340.8 + 34.776	23.70 + 0.864	231.4 + 33.421
T ₂ (<i>Azospirillum</i>)	29.95 + 2.647	395.4 + 41.314	23.00 + 0.891	292.2 + 29.593
T test / Test t	NS	6.510**	NS	10.251**
T ₃ 20 kg N/ha	108.45 + 6.08	433.0 + 43.95	85.40 + 2.824	379.8 + 23.971
T ₄ 20 kg N/ha + <i>Azospirillum</i>	114.40 + 7.11	471.4 + 34.32	88.70 + 3.198	451.6 + 24.343
T test / Test t	3.469*	NS	2.847*	13.789**
T ₅ 20 kg N/ha	116.65 + 6.455	515.8 + 43.95	107.10 + 5.553	672.4 + 53.30
T ₆ 20 kg N/ha + <i>Azospirillum</i>	127.80 + 8.620	542.0 + 55.65	123.40 + 5.220	741.8 + 35.461
T test / Test t	6.085*	3.513*	10.516*	9.800**
T ₇ 60 kg N/ha	118.48 + 8.714	542.8 + 54.132	125.80 + 6.311	745.6 + 73.076

* Table value at 1 % : 2.50 / Valeur du tableau au seuil de 1 % : 2,50.

** Table value at 5 % : 1.71 / Valeur du tableau au seuil de 5 % : 1,71.

Each value is the mean of five harvests from four replicates / Chaque valeur correspond à la moyenne de cinq récoltes issues de quatre réplicats.

During the experiment as well as under field trials, a marginal difference in the leaf yield was recorded at higher levels of nitrogen fertiliser application, i.e. beyond 30 kg N ha⁻¹ and above. This can be attributed to the optimum N uptake level (30 kg ha⁻¹) and at higher levels, a progressive decline in the growth-yield curve was observed. The same trend has also been observed in *M. alba* var. KNG (Fotadar *et al.*, 1988), further work on this aspect is required.

The strain used in the present studies showed response to inoculation, with an increased yield. The dilution plate counts of *A. brasilense* in the pre-planting soil samples carried 10³ and 10² per g dry weight during the two trials, respectively. The dilution plate count made at 90 days after pruning revealed that the counts of the inoculated plant rhizosphere soils showed 3.4 × 10⁶ cells/g dry soil and 1.7 × 10⁶ cells/g dry root over the uninoculated control with 2.0 × 10⁶ cells/g dry soil and 1.0 × 10⁶ cells/g dry root. Similarly, with the addition of 20 kg N ha⁻¹, the bacterial count was 3.0 × 10⁶ cells/g dry soil and 1.2 × 10⁶ cells/g dry root against 2.0 × 10⁶ cells/g dry soil and 0.4 × 10⁶ cells/g dry root; while in the 30 kg N ha⁻¹ the *A. brasilense* count was 3.4 × 10⁶ cells/g dry soil and 1.5 × 10⁶

cells/g dry root against 2.0×10^6 cells/g dry soil and 0.7×10^6 cells/g dry root in uninoculated ones (Table II).

Table II. Mean population of *Azospirillum brasilense* associated with the rhizospheric soil ($\times 10^6$ /g dry soil) and roots ($\times 10^6$ /g dry roots) of mulberry variety Kanva-2*.

Tableau II. Population moyenne d'*Azospirillum brasilense* associée au sol de la rhizosphère ($\times 10^6$ /g sol sec) et aux racines ($\times 10^6$ /g racines sèches) de la variété de mûrier Kanva-2*.

Nitrogen applied (kg N/ha)	<i>Azospirillum brasilense</i> (SL-33)	Uninoculated control
Quantité d'azote (kg N/ha)	<i>Azospirillum brasilense</i> (SL-33)	Témoin non inoculé
Rhizospheric soil / Sol de la rhizosphère :		
0	3.4	2.0
20	3.0	2.0
30	3.4	2.0
Macerated roots / Racines macérées :		
0	1.7	1.0
20	1.2	0.4
30	1.5	0.7

* Mean of 2 trials / Moyenne des deux tests.

DISCUSSION

The results from the two trials conducted in pots, where mulberry had been grown under uniform environmental and soil conditions, indicated a higher success rate and more increases with the *A. brasilense* strain SL-33. From the comprehensive data from the two trials, an increase in yield amounting to 13.2 % leaf and 20.8 % nitrogen yield was recorded due to the combined effect of the inoculum with reduced levels of nitrogen fertiliser application rather than to inoculation alone. In a few treatments, i.e. T₁ and T₂, no increases or small reductions in yield were observed. Such non significant effects and a small reduction in leaf and nitrogen yields were observed in earlier studies also (Boddey and Dobereiner, 1982 ; Boutone *et al.*, 1979 ; Ruschel *et al.*, 1982).

Inoculation of *Azospirillum* often causes increases in plant dry matter with decreases or no increase in N concentrations (Millet and Feldman, 1984). These responses have also been attributed to effects of plant growth substances rather than N-fixation (BNF) (Zimmer and Bothe, 1988). In the present study application of nitrogen and bacterial inoculum increased both the leaf biomass and the N yield significantly (Table I). In other experiments, increased plant N yield with *Azospirillum* inoculum indicated effects of inoculation on N₂ fixation or more nitrogen assimilation by plants (Kapulnik *et al.*, 1981 ; Baldani *et al.*, 1983 ; Pacovsky *et al.*, 1985 ; Pereira *et al.*, 1988).

A. brasilense inoculation increased significantly the plant N uptake up to 15.9 % over the uninoculated control with 20 kg N ha⁻¹ ; while in 30 kg N ha⁻¹ it was up to 9.4 % the uninoculated ones. Such positive responses by *Azospirillum* in other crop plants are well documented, in terms of increased nitrogen input from BNF (Cohen *et al.*, 1980), development and branching of roots (Umali-Garcia *et al.*, 1980 ; Okon and Kapulnik, 1986), production of plant growth hormones (Tien *et al.*, 1979).

From the above, it is evident that the increase in leaf yield and nitrogen in treatments with inoculum as well as with nitrogen-supplemented ones is the result of the addition of nitrogen and possible substances liberated by *A. brasilense* near the rhizosphere zone of the inoculated mulberry roots. Further studies in the plant bacteria interaction should provide a better understanding of the increased N uptake mechanism in mulberry plants.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Prof. N.S. Subba Rao (ex-Head, Microbiology Division, IARI, New Delhi) for his guidance and the Director of the Institute for the facilities.

REFERENCES

- BODDEY R.M., DOBEREINER J. (1982) *In* Non-symbiotic N₂ fixation and organic matter in the tropics. Trans. 12th Intern. Cong. of Soil, 8-16 Feb. 1982, New Delhi (India), pp. 28-47.
- BALDANI V.L.D., BALDANI J.I., DOBEREINER J. (1983) Effects of *Azospirillum* inoculation on root infection and nitrogen incorporation in wheat. Can. J. Microbiol., 29, 924-929.
- BOUTONE J.H., SMITH R.L., SCHANK S.C., BURTON G.W., TYLER M.E., LITTEL R.C., GALLABER N.R., QUEENSBERRY K.H. (1979) Response of pear millet inbreds and hybrids to inoculation with *Azospirillum brasilense*. Crop Sci., 19, 12-16.
- COHENE., OHON Y., KIGEL J., NUR I., HENIS Y. (1980) Increases in dry weight and total nitrogen in *Zea mays* and *Setaria italica* associated with nitrogen fixing *Azospirillum* spp. Plant Physiol., 66, 746-749.
- FAGES J., ARSAC J.-F., LAMOTHE C., MULARD D. (1990) Growth enhancement of maize (*Zea mays*) through *Azospirillum lipoferum* inoculation : Effect of plant genotype and bacterial concentration. Agronomic (France), 10(8), 649-654.
- FOTADAR R.K., CHAKRABORTY S., DARZI G.M., DHAR K.L., AHSAN M.M. (1988) Effect of N₂ levels on the growth and yield of mulberry. Indian J. Seric., 27(1), 7-15.
- KAPULNIK Y., KIGEL J., OKON Y., NUR I., HENIS Y. (1981) Effect of *Azospirillum* inoculation on some growth parameters and N content of wheat, sorghum, and panicum. Plant and Soil, 61, 65-70.
- MILLET E., FELDMAN M. (1984) Yield responses of a common spring wheat cultivar to inoculation with *Azospirillum brasilense* at various levels of nitrogen fertilisation. Plant and Soil, 80, 255-260.
- NIOH ICHIO (1983) Some characteristics of nitrogen fixing bacteria isolated from cultivated and uncultivated sites. Soil Sci. Plant Nutr., 29(1), 15-23.
- OKON Y., ALBRECHT S.L., BURRIS R.H. (1977) Methods for growing *Spirillum lipoferum* and for counting it in pure culture and association with plants. Appl. Envir. Microbiol., 33, 85-88.
- OKON Y., KAPULNIK Y. (1986) Development and function of *Azospirillum* inoculated roots. Plant and Soil, 90, 3-16.
- OKON Y., KAPULNIK Y., SARIG S. (1987) *In* Biological nitrogen fixation - Recent developments. Ed. N.S. Subba Rao, Oxford and IBH Publ. Comp., New Delhi, India, pp. 173-195.
- PACOVSKY R.D., PAUL E.A., BETHLENFALVAY G.S. (1985) Nutrition of sorghum plants fertilized with nitrogen or inoculated with *Azospirillum brasilense*. Plant and Soil, 85, 145-148.
- PEREIRA A.R., CALVALCANTE V.A., BALDANI J.I., DOBEREINER J. (1988) Field inoculation of sorghum and rice with *Azospirillum* spp. and *Herbaspirillum seropedicae*. Plant and Soil, 110, 269-274.
- RUSCHEL A.P., VOSE P.B., MATSUI E., VICTORIA R.L., TSAI SAITO S.M. (1982) Field evaluation of N₂ fixation and N utilisation by Phaseolus bean varieties determined by ¹⁵N isotope dilution. Plant and Soil, 65, 297-307.

- SAHA K.C., SANNIGRAHI S., MANDAL L.N. (1985) Effect of inoculation of *Azospirillum lipoferum* on nitrogen fixation in rhizosphere soil, their association with root yield and nitrogen uptake by mustard (*Brassica juncea*). *Plant and soil*, 87, 273-280.
- SUBBA RAO N.S., TILAK K.V.B.R., SINGH C.S., LASHMI KUMARI (1979) Response of a new economic species of graminaceous plants to inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Curr. Sci.*, 48(3), 133.
- TIEN T.M., GASKINS M.H., HUBBEL D.H. (1979) Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Appl. Envir. Microbiol.*, 37, 1016-1024.
- UMALI-GARCIA M., HUBBEL D.H., GASKINS M.H., DAZZO F.B. (1980) Association of *Azospirillum* with grass roots. *Appl. Envir. Microbiol.*, 39, 219-226.
- VOGEL A.I. (1958) *In* Elementary practical organic chemistry. Part III: Quantitative organic analysis. Publ. ELBS and Longman Gr., Ltd., p. 652.
- ZIMMER W., BOTHE H. (1988) The phytohormonal interaction between *Azospirillum* and wheat. *Plant and Soil*, 110, 239-247.

REPONSE DU MURIER (*MORUS INDICA* VAR. KANVA-2) A L'INOCULATION AVEC LA BACTERIE FIXATRICE D'AZOTE, *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

B.R. DAYAKAR YADAV & T.G. NAGENDRA KUMAR

Moriculture Division, Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore - 560 062, Inde.

La réponse du mûrier (Morus indica var. Kanva-2) à l'inoculation d'Azospirillum brasilense (souche SL-33) a été étudiée sur des plants en pots contenant de la terre non stérilisée et différentes doses d'azote. Deux tests, réalisés sur deux années consécutives, ont fait apparaître une augmentation du rendement en feuilles et de l'assimilation d'azote. L'inoculation entraîne jusqu'à 13 % d'augmentation du rendement par rapport au témoin non inoculé. Le traitement sans azote ne donne aucune augmentation significative des paramètres analysés. L'apport d'azote à raison de 20 kg/ha et 30 kg/ha entraîne une augmentation du rendement de 5,2 % et 13,2 % respectivement chez les plants inoculés par rapport aux témoins non inoculés. La numération par dilution de plaques de la souche inoculée révèle une multiplication par deux de la population d'Azospirillum 90 jours après la taille par rapport au témoin non traité.

INTRODUCTION

On a démontré les effets positifs de l'inoculation d'*Azospirillum* sur les plantes graminées comme le maïs, le sorgho, le riz, le millet perlé, *Setaria italica*, *Eleusine coracana*, le blé et *Panicum* (Subba Rao et coll., 1979 ; Boddey et Dobereiner, 1982 ; Fages et coll., 1990), sur les cultures de légumineuses hivernales, *Pisum sativum* L., *Cicer arietinum* L., *Vicia sativa* L., *Hedysarum coronarium* L. (Okon et coll., 1987) et sur *Brassica juncea* (Saha et coll., 1985) ainsi que sur les racines de *Polygonum*, *Carex* et *Arisaema* spp. (Nioh, 1983). L'*Azospirillum* sécrète non seulement des substances de croissance (Tien et coll., 1979) mais fixe également l'azote (Cohen et coll., 1980). On a donc jugé utile de déterminer les effets de l'inoculation avec l'*Azospirillum* sur le rendement du mûrier qui est une composante majeure de l'élevage des vers à soie. Cette étude présente les résultats d'une expérience sur la réponse de cultures de mûrier (*Morus indica* var. Kanva-2) en pot à un inoculum d'*Azospirillum brasilense* (SL-33) mélangé à un support.

MATERIELS ET METHODES

Les expériences ont été réalisées entre 1984 et 1985 au Karnataka State Sericulture Development Institute (Bangalore, Inde) (latitude : 12°58' N, longitude : 77°35' E, altitude : 914 m).

Détails expérimentaux :

La souche SL-33 d'*Azospirillum brasilense* a été fournie par IARI (New Delhi, Inde) et cultivée sur un milieu de malate de sodium avec du NH_4Cl (Okon et coll., 1977) pendant 72 heures puis mélangée à un support stérilisé (sol : fumier à raison de 1:1) et incubée à température ambiante (26-28 °C) pendant une semaine. L'inoculum, contenant 10^8 cellules bactériennes/g, a été utilisé pour traiter les racines de mûrier à raison de 10 kg/ha appliqué deux fois par an. La première dose a été appliquée en juin et la deuxième en novembre. On a préparé une solution aqueuse d'inoculum dans

laquelle les racines des plantules de mûriers ont été trempées pendant 20 minutes avant d'être plantées dans des pots de 50 cm de diamètre contenant 20 kg de sol non stérilisé à pH 7,2. Une deuxième inoculation a été réalisée en plaçant l'inoculum près de la zone des racines. Les plants qui n'ont pas été inoculés ont servi de témoins.

Traitements :

Sept traitements ont été sélectionnés. Ce sont : T₁ = sans inoculation et sans azote, T₂ = inoculé avec *A. brasiliense*, T₃ et T₅ = sans inoculation mais avec 20 kg et 30 kg d'azote/ha respectivement, T₄ et T₆ = inoculation et apport de 20 kg et 30 kg d'azote/ha respectivement, T₇ = 60 kg d'azote/ha. Chaque traitement est composé de quatre réplicats arrangés selon la méthode des blocs aléatoires. L'urée a été utilisée comme engrais azoté de base à raison de 20 kg et 30 kg d'azote/ha avec ou sans inoculation bactérienne.

Récolte :

La récolte des feuilles a été faite cinq fois sur une période d'un an à intervalles d'environ 8 à 10 semaines. Après chaque récolte, le poids frais des feuilles a servi comme indice de l'effet de l'inoculum bactérien. La méthode de micro-Kjedhal (Vogel, 1958) a été utilisée pour l'estimation de l'azote ; les résultats sont exprimés en milligramme d'azote pour 100 g poids sec des feuilles.

Numération par dilution des plaques d'*A. brasiliense* :

La numération par dilution des plaques bactériennes associées au sol de la rhizosphère et aux racines des plants de mûriers a été faite pour chaque traitement, après sélection au hasard et arrachage à la main. Les racines et la terre de la rhizosphère d'un même pot ont été prélevées et des dilutions en série ont été préparées pour la numération d'*A. brasiliense*. Pour faciliter l'identification, une dilution en série d'une culture pure, utilisée comme contre-témoin, a été préparée parallèlement.

RESULTATS

Rendement en feuilles :

1er test : L'analyse des données des cinq récoltes révèle que le rendement en feuilles de mûrier de la variété Kanva-2 varie de manière significative. Le rendement en feuilles augmente fortement après addition d'engrais azoté avec une augmentation de 6 kg pour 20 kg N/ha et de 11 kg avec 30 kg N/ha par rapport aux témoins non inoculés (Tableau I). Les deux traitements inoculés (T₄ et T₆) présentent tous deux une augmentation du rendement en feuilles. La différence de réponse entre les groupes non inoculés et sans azote et les groupes traités avec *A. brasiliense* et sans azote est non significative (Tableau I).

2ème test : Les résultats de la deuxième récolte expérimentale inoculée et traitée avec de l'azote à raison de 20 kg et 30 kg N/ha font apparaître une augmentation du rendement en feuilles par rapport aux témoins respectifs (Tableau I). L'augmentation maximale de 3,2 kg et 16,3 kg du rendement en feuilles moyen obtenue après inoculation et traitement avec respectivement 20 kg et 30 kg N/ha a été à nouveau obtenue au cours du 2ème test.

Azote total des plants :

1er test : L'azote contenu dans la biomasse végétale située au-dessus du sol augmente de manière significative après addition de 30 kg N/ha. On enregistre une augmentation du rendement moyen en azote de 55,4 mg N/100 g chez les groupes traités seulement par inoculation et de 38 mg N/100 g pour les groupes traités avec 20 kg N/ha par rapport aux témoins respectifs tandis qu'avec une dose supérieure d'azote, soit 30 kg N/ha, le rendement est de 27 mg N/100 g par rapport au témoin non inoculé.

2ème test : Une quantité maximale d'azote dans la biomasse végétale située au-dessus du sol a été relevée au cours du 2ème test. L'azote total augmente après inoculation et addition d'azote (Tableau I). On observe une augmentation significative du rendement en azote dans tous les cas : l'inoculation seule entraîne une augmentation de 61 mg, l'application de 20 kg N/ha une augmentation

de 72 mg et l'application de 30 kg N/ha une augmentation de 69 mg d'azote pour 100 g de poids sec de feuilles par rapport aux témoins respectifs.

Au cours de notre expérience, ainsi que lors de tests sur le terrain, on enregistre une différence mineure du rendement en feuilles après application d'engrais azotés à hautes doses, c'est-à-dire à partir de 30 kg N/ha. Ceci pourrait être attribué au fait qu'il existe un niveau optimal d'absorption d'azote (30 kg/ha), au-delà duquel on observe un déclin progressif de la courbe de croissance du rendement. La même tendance a également été observée chez *Morus alba* var. KING (Fotadar et coll., 1988). D'autres études sur cet aspect sont nécessaires.

La souche utilisée dans cette étude fait apparaître une réaction à l'inoculation qui se traduit par un accroissement du rendement. La numération par dilution des plaques d'*A. brasilense* dans les échantillons de terre avant la plantation fait apparaître une population de 10^3 et 10^2 par gramme de poids sec respectivement pour le 1er et le 2ème test. La numération par dilution des plaques effectuée 90 jours après la taille révèle que la population dans la terre de la rhizosphère des plantes inoculées est de $3,4 \times 10^6$ cellules/g de terre sèche et de $1,7 \times 10^6$ cellules/g de racines sèches, alors que, chez le témoin non inoculé, elle s'élève à $2,0 \times 10^6$ cellules/g de terre sèche et $1,0 \times 10^6$ cellules/g de racine sèche. De même, après addition de 20 kg N/ha, la numération bactérienne donne $3,0 \times 10^6$ cellules/g de terre sèche et $1,2 \times 10^6$ cellules/g de racine sèche contre $2,0 \times 10^6$ cellules/g de terre sèche et $0,4 \times 10^6$ cellules/g de racine sèche, tandis qu'avec 30 kg N/ha, la population d'*A. brasilense* est de $3,4 \times 10^6$ cellules/g de terre sèche et $1,5 \times 10^6$ cellules/g de racine sèche contre $2,0 \times 10^6$ cellules/g de terre sèche et $0,7 \times 10^6$ cellules/g de racine sèche chez les plants non inoculés (Tableau II).

DISCUSSION

Les résultats des deux tests réalisés sur des pots dans lesquels des plants de mûriers ont été cultivés dans des conditions identiques pour ce qui concerne l'environnement et la terre font apparaître un taux de réussite élevé et une augmentation du rendement après traitement avec la souche SL-33 d'*A. brasilense*. Les données groupées des deux tests révèlent une augmentation de 13,2 % pour le rendement en feuilles et de 20,8 % pour le rendement en azote due à l'effet combiné de l'inoculum avec les doses réduites d'engrais azotés plus qu'à l'inoculation seule. Chez quelques traitements, T₁ et T₂, aucune augmentation ou diminution du rendement n'a été observée. De tels effets non significatifs et une légère réduction des rendements en feuilles et en azote ont déjà été observés (Boddey et Dobereiner, 1982 ; Bouton et coll., 1979 ; Ruschel et coll., 1982).

L'inoculation avec *Azospirillum* entraîne souvent une augmentation des matières sèches des plantes accompagnée d'une diminution ou d'une absence d'augmentation des concentrations en azote (Millet et Feldman, 1984). Ces réponses ont également été attribuées aux effets des substances de croissance des plantes plutôt qu'à la fixation de l'azote (BNF) (Zimmer et Bothe, 1988). Dans la présente étude, l'application d'azote et d'inoculum bactérien provoque une augmentation significative à la fois de la biomasse foliaire et du rendement en azote (Tableau I). Dans d'autres expériences, l'augmentation du rendement en azote des plantes après inoculation avec *Azospirillum* suggère que l'inoculation affecte la fixation de N₂ ou favorise l'assimilation d'azote par les plantes (Kapulnik et coll., 1981 ; Baldani et coll., 1983 ; Pacovsky et coll., 1985 ; Pereira et coll., 1988).

L'inoculation avec *A. brasilense* donne une augmentation significative de l'assimilation d'azote par la plante jusqu'à 15,9 % supérieure à celle du témoin non inoculé avec 20 kg N/ha et de 9,4 % par rapport au témoin non inoculé avec 30 kg N/ha. Ces réponses positives à *Azospirillum* sont bien connues chez d'autres cultures, en termes d'augmentation de l'assimilation d'azote à partir du BNF (Cohen et coll., 1980), de développement et de ramification des racines (Umali-Garcia et coll., 1980 ; Okon et Kapulnik, 1986), de production d'hormones de croissance des plantes (Tien et coll., 1979).

De la discussion qui précède, il est évident que l'augmentation du rendement en feuilles et en azote chez les lots traités à l'inoculum ainsi que ceux additionnés d'azote est le résultat de l'addition d'azote et de substances éventuellement libérées par *A. brasilense* dans la rhizosphère près des racines de mûriers inoculées. D'autres études sur l'interaction plante-bactérie devraient permettre de mieux comprendre le processus d'augmentation de l'assimilation d'azote chez les plants de mûrier.

FLOWER INDUCTION IN LONG-TERM CULTURE FROM INTERNODAL CALLUS IN *MORUS ALBA* L.

P. NARAYAN, S.P. CHAKRABORTI & K. SENGUPTA

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, India.

*Nodular callus obtained from pretreated internodal segments in mulberry (*Morus alba* L.) produced shoot buds in short-term culture. Two-year-old light green nodular calli of the same culture induced development of a high percentage of female flowers (35 per gram of callus) along with a few shoot buds in Murashige and Skoog (MS) medium containing 0.5 mg/l 6-benzylaminopurine (BAP). A solitary flower was found to develop on the surface of the callus. Flowers in group formed catkin with a long peduncle. Carpels were healthy with bifid stigma. Perianths were fleshy and coloured on maturity.*

Keywords : Mulberry, callus, long term, flower.

Abbreviations used :

MS : Murashige and Skoog's medium,

BAP : 6-benzylaminopurine,

NAA : α -naphthaleneacetic acid,

2,4-D : 2,4-dichlorophenoxyacetic acid.

INTRODUCTION

Organ determination is thought of as a major developmental event in which a group of precursor cells becomes committed to the formation of a specific vegetative or floral organ. Some of the best evidence for this phenomenon was obtained years ago in experiments with fern leaf primordia isolated *in vitro* (Steeves, 1962, 1966). William *et al.* (1969) succeeded in producing flowers from excised tobacco stem segments. Tran Thanh Van (1973) has also indicated the formation of flowers from the superficial tissue of small explants of *Nicotiana glauca* L. The recent work of Ball (1980) offers an excellent example in which the morphogenetic capacity of minute fragments of a meristem was tested. Hicks (1982) reported complete differentiation of pistil after culturing carpel primordia.

Here we report induction of female flowers from the internodal callus of a monoecious mulberry from long-term culture.

MATERIALS AND METHODS

Internodal segments of a monoecious mulberry (*Morus alba* L.) variety S₁ were aseptically excised and pretreated in MS liquid medium (Murashige and Skoog, 1962) containing 0.5 mg/l BAP in 250 ml Erlenmeyer flasks. The flasks were kept on a gyratory shaker for 36 hrs at 25 $\pm$ 2 °C. Following treatments, the segments were inoculated on a semisolid MS medium supplemented with 1.0 mg/l 2,4-D and 0.5 mg/l BAP initiated light green friable callus. Five- to six-week-old calli were subcultured on the MS medium with BAP (0.5 to 2.0 mg/l) produces light green nodular callus first and then shoot buds after 4-5 weeks of subculture (Narayan *et al.*, 1989). The nodular calli were further maintained on MS media containing 0.5 mg/l BAP through monthly passage of culture. For this study, two-year-old light green nodular calli were obtained from the same stock. 1 g of callus tissue was

transferred to a 20 ml semisolid MS medium supplemented with BAP (0.1, 0.5, 1.0 mg/l) and NAA (0.05, 0.5 mg/l) alone or in combination. After every 30 days subculturing was done. The cultures were maintained at 25 ± 2 °C with 16 hours' illumination at 3000 lux. The progress of cultures were monitored at intervals over the first two weeks using a dissecting microscope. The number of flowers was counted from each culture after every 30 days of growth. The experiment was repeated three times and for each treatment 10 cultures were raised.

For histological analysis calli were fixed at intervals over the first 2 weeks and at the end of 4 weeks. The fixative was standard formalin-acetic acid-alcobol, followed by dehydration in a tertiary butanol series and casting in paraffin wax. Sections were made at 12 µm and stained with Heidenhain's haematoxylin using a counterstain of aniline blue.

RESULTS

After 30 days of growth some of the shoot buds developed on the callus surface of 2-year-old culture changed their shape and colour. They were globular or bulbous and transformed from green to white colour (Fig. 1). After 45 days the globular structure cut off 4 perianths from its base and centrally located carpel (Fig. 2). The perianths were white to transparent in colour. During the subsequent 3-4 days the whole structure differentiated into a female flower with a sub-globular ovary with short style and bifid stigma (Fig. 3), on maturity the perianth became fleshy and pink in colour. Most of the flowers remained on the surface of the callus. Development of the long peduncle consisting of several flowers was also observed in a relatively low frequency (1-2 per culture) (Fig. 4). Histological study indicated the development of an embryo sac from the ovary of a carpel in the flower bud (Fig. 5).

Table I. Effect of different concentrations of BAP and NAA on the induction of flowers from internodal calli of *M. alba* var. *S₁*.

Tableau I. Effet de différentes concentrations de BAP et d'ANA sur l'induction de fleurs à partir de cals internodaux de M. alba var. S₁.

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	% of culture showing flowering	No. of flowers per g of callus
BAP (mg/l)	ANA (mg/l)	Pourcentage de cultures présentant une floraison	Nombre de fleurs par g de cal
0	0	0	0
0.10	0	50	15
0.50	0	80	35
1.00	0	0	0
0	0.05	0	0
0	0.50	0	0
0.10	0.05	40	15
0.10	0.50	20	10
0.50	0.05	60	20
1.00	0.05	0	0
1.00	0.50	0	0

Fig. 1 : Induction of flower buds (Fb) and shoot buds (arrow) from callus ($\times 1.3$).

Fig. 1 : Induction de bourgeons floraux (Fb) et de bourgeons de pousses (flèche) à partir du cal (grossissement : 1,3).

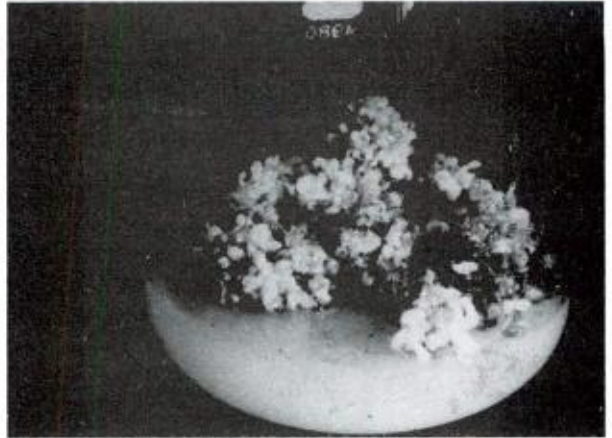


Fig. 2 : Closed flowers (arrow) with perianths covering the carpel ($\times 1.0$).

Fig. 2 : Fleurs fermées (flèche) dont les périanthes recouvrent le carpelle (grossissement : 1,0).



Fig. 3 : Matured flowers (arrow) with succulent perianth (p), bifurcate stigma (s) and ovary (o) ($\times 1.0$).

Fig. 3 : Fleurs matures (flèche) comportant un périanthe charnu (p), un stigmate bifide (s) et un ovaire (o) (grossissement : 1,0).

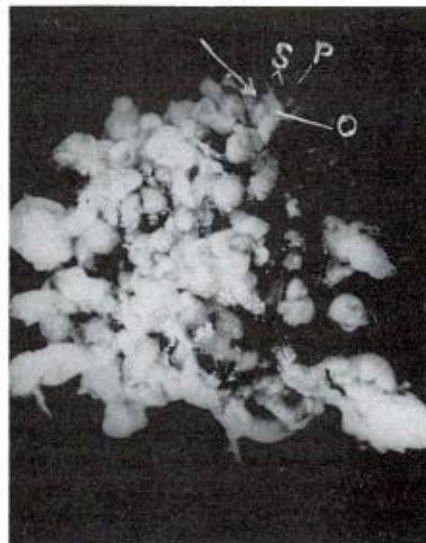




Fig. 4 : Flowers (F) arranged on the peduncle (p) ($\times 2.0$).

Fig. 4 : Fleurs (F) disposées sur le pédoncule (p) (grossissement : 2,0).

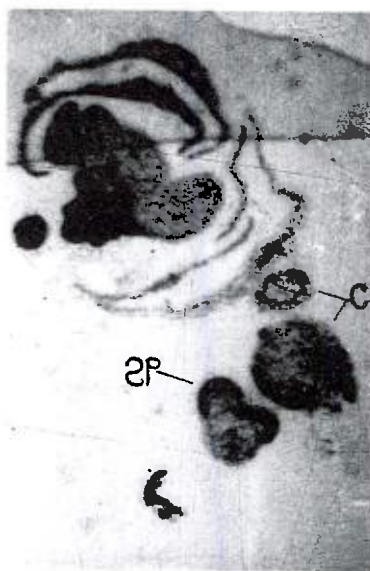


Fig. 5 : Section showing the shoot bud (Sb) and development of the carpel (c) ($\times 400$).

Fig. 5 : Coupe montrant le bourgeon de pousse (Sb) et le développement du carpelle

The maximum number of flowers, 35 per g of callus were initiated from the culture containing 0.5 mg/l BAP (Table I), while increasing and decreasing the concentration of BAP above and below 0.5 mg/l the flower was inhibited (Table I). In the medium without BAP flower formation was not observed. NAA did not influence at all flower initiation.

DISCUSSION

It is generally considered that a floral stimulus florigen is required for flowering to occur in plants and much indirect evidence has been presented for the presence of the florigen (Chailakhyan, 1964 ; Lang, 1965). Such type of stimulus might have been developed in this culture. A possible argument can be drawn in favour of this study that in long-term culture, some of the older tissues which always remained associated with the newly formed tissue synthesized the floral stimulus and transported the same to the vegetative bud for conversion into flower bud. However, only female flowers were produced in spite of their monoecious nature. Hicks (1982) from his study was of the opinion that cytokinin in the medium had an effect on the determination of a particular organ as well as sex conversion. Chailakhyan and Khryanin (1978) reported the development of a high proportion of female plants with the administration of 6-BAP on de-rooted cuttings of *Cannabis sativa* L. The same hormone produced female flowers in *Mercurialis annua* L. when stem nodes were grown in culture (Champault, 1973).

In this study, the prolonged culture of internodal callus in cytokinin (6-BAP) mediated medium might have received the feminizing effect and as a result only female flowers were developed from the monoecious mulberry species.

REFERENCES

- BALL E.A. (1980) Regeneration from portions of the shoot apex of *Trachymene coerulea*. R.C. Grah. Ann. Bot., 45, 103.
- CHAILAKHYAN M.K.H. (1964) Florigens, gibberellins and anthesins. In Régulateurs naturels de la croissance végétale. Colloque international, Centre national de la recherche scientifique. Gif-sur-Yvette, France, p. 389.
- CHAILAKHYAN M.K.H., KHRYANIN V.N. (1978) The role of roots in sex expression in hemp plants. Planta, 138, 185.
- CHAMPAULT A. (1973) Effets de quelques régulateurs de *Mercurialis annua* L. (2n = 16) cultivés *in vitro*. Bull. Soc. Bot. France, 120, 87.
- HICKS G.S. (1982) Development of tobacco carpel primordia *in vitro*. Ann. Bot., 50, 191.
- LANG A. (1965) Physiology of flower initiation. In Encyclopedia of Plant Physiology (W. Ruhlord ed.), p. 1380.
- MURASHIGE T., SKOOG F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco culture. Physiol. Plant, 15, 473.
- NARAYAN P., CHAKRABORTI S., RAO G.S. (1989) Regeneration of plantlets from the callus of stem segments of mature plants of *Morus alba* L.. Proc. Indian Nat. Sci. Acad., B55 (5 & 6), 469.
- STEEVES T.A. (1962) Morphogenesis in isolated fern leaves. In Regeneration - 20th Growth Symposium (D. Rudnick ed.), p. 272.
- STEEVES T.A. (1966) On the determination of leaf primordia in ferns. In Trends in Plant Morphogenesis (E. Cutter ed.), P. 329.
- TRAN THANH VAN M. (1973) Direct flower neoformation from superficial tissue of small explants of *Nicotiana tabacum* L. Planta, 115, 87.
- WILLIAM L.W., SKOOG F. (1969) Flower formation in excised tobacco stem segments. I. Methodology and effects of plant hormones. Plant Physiol., 44, 1402.

INDUCTION DE FLEURS A PARTIR DE CALS INTERNODAUX CHEZ *MORUS ALBA* L. DANS DES CULTURES DE LONGUE DUREE

P. NARAYAN, S.P. CHAKRABORTI & K. SENGUPTA

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, Inde.

Un cal nodulaire obtenu à partir de segments internodaux prétraités de mûriers (Morus alba L.) produit des bourgeons dans une culture de courte durée. Des cals nodulaires vert clair âgés de deux ans issus de la même culture induisent le développement d'un pourcentage élevé de fleurs femelles (35 par gramme de cal) ainsi que quelques bourgeons de pousse dans un milieu MS contenant 0,5 mg/l de BAP. Une fleur isolée a été observée sur la surface du cal. Les fleurs groupées forment des chatons avec un long pédoncule. Les carpelles sont sains et comportent un stigmate bifide. Les périanthes sont turgescents et se colorent à maturité.

Abréviations utilisées :

MS : Milieu de Murashige et Skoog,

BAP : 6-benzylaminopurine,

ANA : acide α -naphthalène acétique,

2,4-D : acide 2,4-dichlorophénoxyacétique.

INTRODUCTION

La détermination des organes, phase au cours de laquelle un groupe de cellules précurseurs se spécialise dans la formation d'un organe floral ou végétatif spécifique, est considérée comme un événement majeur du développement. Les preuves les plus indiscutables de ce phénomène ont été réunies il y a de nombreuses années lors d'expériences sur les primordiums foliaires de la fougère isolés *in vitro* (Steeves, 1962, 1966). William et coll. (1969) sont parvenus à produire des feuilles à partir de segments de tiges de tabac coupées. Tran Thanh Van (1973) a également observé la formation de fleurs à partir du tissu superficiel de petits explants de *Nicotiana tobacum* L. Les travaux plus récents de Ball (1980), démontrant la capacité morphogénétique de fragments infimes d'un méristème, constituent un excellent exemple. Hicks (1982) a observé une différenciation complète du pistil après culture des primordiums du carpelle.

MATERIELS ET METHODES

Des segments internodaux de la variété S₁ de mûrier (*Morus alba* L.) monoïque ont été sectionnés en condition aseptique et prétraités dans un milieu liquide MS (Murashige et Skoog, 1962) contenant 0,5 mg/l BAP dans des fioles d'Erlenmeyer de 250 ml. Les fioles ont été maintenues dans un agitateur rotatif pendant 36 heures à 25 ± 2 °C. Suivant les traitements, les segments ont été inoculés sur un milieu semi-solide MS additionné de cal friable vert clair initié avec 1,0 mg/l 2,4-D et 0,5 mg/l BAP. Les cals de 5 à 6 semaines sous-cultivés en milieu MS contenant du BAP (0,5 à 2,0 mg/l) produisent d'abord un cal nodulaire vert clair puis des bourgeons de pousses après 4 à 5 semaines de sous-culture (Narayan et coll., 1989). Les cals nodulaires ont ensuite été conservés dans des milieux MS contenant 0,5 mg/l de BAP par passage mensuel en culture. Pour cette étude, des cals nodulaires vert clair ont

été obtenus à partir d'un même stock. Un gramme de tissu de cal a été transféré dans 20 ml d'un milieu semi-solide MS additionné de BAP (0,1, 0,5 et 1,0 mg/l) et d'ANA (0,05 et 0,5 mg/l) séparément ou en combinaison. Après 30 jours, la sous-culture est terminée. Les cultures ont ensuite été conservées à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ sous une photopériode de 16 heures à 3000 lux. Le développement des cultures a été vérifié de manière intermittente au cours de deux premières semaines à l'aide d'un microscope. Le nombre de fleurs a été compté sur chaque culture tous les 30 jours. L'expérience a été répétée trois fois et, pour chaque traitement, 10 cultures ont été réalisées.

Pour l'analyse histologique, les cals ont été fixés de manière intermittente au cours des deux premières semaines et au bout de 4 semaines. Ils ont été fixés dans de l'acide acétique-alcool-formol standard, puis déshydratés dans une série de butanols tertiaires et coulés dans de la paraffine solide. Des coupes de 12 μm ont été réalisées et colorées avec de l'hématoxyline de Heidenhain en utilisant du bleu d'aniline comme contre-colorant.

RESULTATS

Après 30 jours de croissance, certains bourgeons de pousses développés à la surface du cal obtenu après deux ans de culture subissent une modification de leur forme et de leur couleur. Ils deviennent globulaires ou bulbeux et leur couleur vire du vert au blanc (Fig. 1). Après 45 jours, 4 périanthes se détachent de la structure globulaire au niveau des carpelles basaux et centraux (Fig. 2). Les périanthes sont de couleur blanche ou transparents. Au cours des 3 à 4 jours suivants, la totalité de la structure se différencie en une fleur femelle comportant un ovaire sub-globulaire avec un style et un stigmate bifide (Fig. 3) ; à maturité, le périanthe devient turgescant et prend une couleur rose. On observe le développement d'un pédoncule long composé de plusieurs fleurs à une fréquence relativement faible (1 à 2 par culture) (Fig. 4). L'étude histologique a permis de mettre en évidence le développement d'un sac embryonnaire à partir de l'ovaire d'un carpelle dans le bourgeon floral (Fig. 5).

Le nombre maximal de fleurs, soit 35 par g de cal, a été obtenu à partir de la culture contenant 0,5 mg/l BAP (Tableau I), une augmentation ou diminution de la concentration de BAP au-delà et en deçà de 0,5 mg/l entraîne une inhibition de la fleur (Tableau I). On n'observe aucune formation florale dans le milieu exempt de BAP. L'ANA n'a aucune influence sur l'initiation de la fleur.

DISCUSSION

Il est généralement admis qu'un florigène agissant comme stimulant floral est indispensable à la floraison des végétaux et de nombreuses démonstrations indirectes ont été faites de la présence d'un florigène (Chailakhyan, 1964 ; Lang, 1965). Il est possible qu'un stimulant de ce type se soit développé dans notre culture. Un argument possible est que, chez les cultures à long terme, certains des tissus les plus anciens qui restent toujours associés aux tissus nouvellement formés synthétisent le stimulant floral et le transportent vers le bourgeon végétatif pour permettre sa conversion en bourgeon floral. Cependant, seules des fleurs femelles ont pu être produites, malgré leur nature monoïque. Hicks (1982) estime que la cytokinine contenue dans le milieu affecte la détermination d'un organe donné ainsi que la conversion des sexes. Chailakhyan et Khryanin (1978) ont observé le développement d'une proportion élevée de plants femelles après administration de 6-BAP sur des boutures déracinées de *Cannabis sativa* L. Cette même hormone produit des fleurs femelles chez *Mercurialis annua* L. lorsque les noeuds des tiges sont mis en culture (Champault, 1973).

Dans cette étude, il se peut que la culture prolongée du cal internodal dans un milieu adouci avec de la cytokinine (6-BAP) ait subi un effet féminisant, entraînant le développement de fleurs femelles exclusivement chez cette espèce de mûrier monoïque.

DEVELOPMENT OF POWDERY MILDEW DISEASE IN MULBERRY AND ITS CONTROL

SUBRATA BISWAS, S.K. MANDAL & P.K. CHINYA*

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, India.

Powdery mildew developed well in all 10 high yielding mulberry varieties, namely C1726, C776, C763, Tr4, Tr10, S1635, C1730, C1729, S1 (Mandalaya) and S799, of Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore (West Bengal, India), during the period September '90 to January '91. Among the varieties, both S799 and C1729 were found comparatively resistant slow mildewing. The age of shoots and the prevailing atmospheric temperature, relative humidity and rainfall markedly influenced the disease development. The intensity and infection rate of the disease were negatively correlated, the infection rate at the beginning was highest, while the disease intensity at the beginning was minimum. Micronutrients (Zn, Cu, B, Mg, Mn and Fe) had no significant effect on mildew development but salinity in soil by CaCl_2 was in favour of mildew. Kinetin at concentrations of 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M was effective to minimize the disease intensity when sprayed one day after inoculation but spray before inoculation had no effect, suggesting that the inhibitory effect of kinetin on the fungal pathogenesis was direct rather through the host. 'Bavistin' (a.i. Carbendazim) at a concentration range of 0.10-0.15 % a. i.g. was found most effective to reduce the disease.

Keywords : Mulberry, *Phyllactinia corylea*, disease development, micronutrients, salts, kinetin, fungicidal control.

INTRODUCTION

Phyllactinia corylea (Pers.) Karst, the mulberry powdery mildew fungus, has been reported to cause considerable crop losses (Suryanarayan and Ganesh, 1969 ; Noamani *et al.*, 1970) and to occur during September to March in tropical regions (Krishna Prasad and Siddaramaiah, 1979) and from spring to autumn in temperate regions (Itoi *et al.*, 1964). However, literature concerning the fungal response on different mulberry varieties is scanty (Govindaiah *et al.*, 1990) and although a number of reports have appeared (Ramakrishnan and Sudan, 1954 ; Iyenger, 1975 ; Siddaramaiah *et al.*, 1978), our knowledge about the disease control is poor and not applicable. Since, considered as a whole, earlier studies of the disease control indicate that the fungicide, 'Morestan' whose active ingredient (a. i.g.) is 6-methylquinoxaline-2,3-dithiol-cyclic carbonate is the best for controlling the disease, which is not easily available on the market and a strong radiomimetic agent, causing chromosomal aberrations (Zutshi and Kaul, 1975). Therefore, the present investigation was made to understand the development of the disease in different mulberry varieties and at different nutritional statuses, to elucidate the role of kinetin in the fungal pathogenesis and to evaluate a suitable fungicide for the control of the disease.

* Present address : Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, India.

MATERIALS AND METHODS

Disease development in mulberry varieties :

One-year-old potted plants (pot's size : 15" in diameter) of 10 high yielding mulberry varieties, namely C1726, C776, C763, Tr4, Tr10, S1635, C1730, C1729, S₁ (Mandalaya) and S799, of Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore (India), with five replications were considered for this experiment. The plants were pruned on 15th June 1990 and kept at a vacant place of the research farm where the probable presence of conidiospores of *P. corylea* in the air was high. The fertilizer schedule was 300 kg nitrogen, 180 kg phosphate and 120 kg potash/ha/year in four equal split doses and the amounts were calculated considering the surface area of the pots' soil. Irrigation to the potted plants was given as and when necessary depending upon the soil moisture content. Appearance of mildew colonies on all the varieties was first examined on the 1st week of August 1990. Thereafter, progress of the disease was appraised regularly at monthly intervals up to the 1st week of January 1991.

Effect of micronutrients :

The experiment was conducted separately in two different seasons in 15" earthen pots each filled up with the soil of the research farm. Analysis of the soil has revealed that the available nutrient status of these elements was zinc (Zn) (1.64 ppm), copper (Cu) (3.48 ppm), iron (Fe) (24.29 ppm) and manganese (Mn) (15.63 ppm). The critical limit of the elements in the soil is Zn 0.8 ppm, Cu 0.2 ppm, Fe 2.0 ppm and Mn 15.0 ppm (Motvedet *et al.*, 1972). The content of boron (B) whose critical limit is 0.5 ppm and both the content and the critical limit of magnesium (Mg) in the soil are not known.

These six micronutrients, namely zinc, copper, iron, manganese, boron and magnesium, were applied at the rate of 2.5 kg/ha in the form of ZnSO₄, FeSO₄, MnSO₄, Borax and MgSO₄, respectively, in the soils of the pots, containing 1.5-month-old shoot plants of S₁ variety. This amounts to ZnSO₄ 59.88 mg, CuSO₄ 91.51 mg, FeSO₄ 65.96 mg, MnSO₄ 66.66 mg, Borax 112.79 mg and MgSO₄ 120.04 mg per pot, calculated on a surface area basis. A check was maintained where no micronutrient was added. Five replications were kept for each set of experiment. Nitrogen, phosphate and potash in the form of urea, single super phosphate and muriate of potash were added at the rate of 75, 45 and 30 kg/ha, respectively. The plants were inoculated after 10 days of treatment by dusting conidia with the aid of a 'Camel' hair brush from the fully covered mildew-infected leaves maintained separately in a greenhouse (Jhooty and McKeen, 1965) and the data were recorded after 30 days of inoculation.

Effect of salts :

The experiment was carried out separately in two different seasons. The soils of the potted plants (var. S₁) were supplemented with two chloride salts (NaCl and CaCl₂), separately, at the rate of 20 kg/ha along with NPK (nitrogen 75 kg, phosphate 45 kg and potash 30 kg/ha). The amount of test materials (194.1 mg/pot) was calculated on a surface area basis. A check was maintained where no salt was added. Five replications were kept for each set. Plants were inoculated when the shoot age was 2 months, following the method of Jhooty and McKeen (1965), and the disease was scored after one month of inoculation.

Effect of kinetin :

Two-month-old shoot plants (var. S₁) of earthen pots were sprayed with five different concentrations (10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M and 10^{-4} M) of kinetin, separately, one day before and one day after inoculation. Five replications were kept for each set of experiment and for each replication a 20 ml solution was sprayed. A check with 5 replications was maintained where no spray was given. The disease was estimated after one month of inoculation.

Effect of fungicides :

A field experiment was conducted with one-year-old S₁ variety of mulberry when the disease was prevailing. The experiment was laid out in a randomized block design with pots measuring 10' × 10', replicated three times. The fertilizer schedule (nitrogen 300 kg, phosphate 180 kg and potash 120 kg/ha/year) maintained as per the recommendation, and irrigation was given once in a

month. Five fungicides, viz. 'Bavistin' (a.i.g. Carbendazim), 'Sulfex' (wetttable sulphur), 'Dithane M-45' (mancozeb), 'Hinosan' (edephos-o-ethyl ss-diphenyl phosphorothioate) and 'Calixin' (tridemorph) at 4 different concentrations (0.01 %, 0.05 %, 0.10 %, 0.15 % a.i.g.) were sprayed after the appearance of the disease on lower leaves, i.e. between 35 and 40 days after pruning, at the rate of 500 ml solution/plot. A check was maintained where no spray was given. The disease was measured after 30 days of spraying.

Disease scoring :

The disease was scored visually on a 0-7 scale (Krishna *et al.*, 1987) and the scale was used to compute the disease index as follows :

$$PDI = \frac{\text{Sum of all numerical ratings}}{\text{Number of leaves scored} \times \text{Maximum disease category}} \times 100$$

The apparent infection rate (r per unit area per day) was calculated by the formula of Van Der Plank (1963),

$$r = \frac{2.303}{t_2 - t_1} \log \frac{X_2 (1 - X_1)}{X_1 (1 - X_2)}$$

where X_1 and X_2 were the proportion of disease severities at times t_1 and t_2 , respectively.

The per cent disease control was calculated by using the following formula,

$$\text{Disease control \%} = \frac{\% \text{ disease intensity in check} - \% \text{ disease intensity in treatment}}{\% \text{ disease intensity in check}} \times 100$$

The 0-7 scale used indicates :

- 0 = free,
- 1 = traces of mildew specks,
- 2 = 1-10 % leaf area covered with mildew specks,
- 3 = 11-20 % leaf area covered with mildew specks,
- 4 = 21-30 % leaf area covered with mildew specks,
- 5 = 31-50 % leaf area covered with mildew specks,
- 6 = 51-75 % leaf area covered with mildew specks,
- 7 = 76-100 % leaf area covered with mildew specks.

RESULTS

Disease development of mulberry varieties :

The development of powdery mildew disease in all mulberry varieties (viz. C1726, C776, C763, Tr4, Tr10, S1635, C1730, C1729, S1 and S799) was negligible on the 1st week of August 1990, thereafter it increased significantly up to the last date of observation, i.e. 1st week of January 1991 (Table I). The apparent infection rate (r/unit/day) of the disease was maximum in the month of August, i.e. at the beginning of infection and low in the following months. The report of statistical analysis revealed that the intensity (PDI) and infection rate of the disease were negatively correlated ($R^2 = -0.47$). Intensity of powdery mildew was significantly less in the varieties like C763, Tr10, S1635, C1720 and S799. Among the varieties, the minimum infection rate was observed in S799 followed by C1729.

In order to study the role of meteorological conditions on the disease development, prevailing atmospheric temperature, relative humidity (at 10 hr and 17 hr) and rainfall were recorded during the experimental period and the data were correlated with the PDI measured on the 1st week of the

Table I. Powdery mildew disease development in different mulberry varieties in different months.*

Tableau I. Développement de l'oïdium chez diverses variétés de mûriers en fonction de la période.*

Variety	Disease intensity (PDI) and apparent infection rate (r/unit/day)						Total average of each column
	1st week Aug. '90	1st week Sept.	1st week Oct.	1st week Nov.	1st week Dec.	1st week Jan. '91	
Variété	Intensité de la maladie (PDI) et taux d'infection apparent (r/unité/jour)						Moyenne totale de chaque colonne
	1ère sem. Août 90	1ère sem. Sept.	1ère sem. Oct.	1ère sem. Nov.	1ère sem. Déc.	1ère sem. Jan. 91	
C1726	1.27 (0.118)	30.32 (0.035)	55.06 (0.054)	96.26 (-0.021)	76.77 (0.024)	87.31 (-)	56.16 (0.042)
C776	1.70 (0.109)	31.17 (0.019)	44.74 (0.068)	86.24 (-0.014)	80.65 (0.023)	89.33 (-)	55.64 (0.041)
C763	0.96 (0.115)	23.31 (0.028)	41.64 (0.050)	76.01 (0.020)	85.06 (0.009)	88.19 (-)	52.53 (0.050)
Tr4	1.83 (0.103)	28.74 (0.014)	37.86 (0.061)	78.95 (0.005)	81.13 (0.025)	90.21 (-)	53.12 (0.042)
Tr10	2.32 (0.091)	26.70 (0.021)	40.61 (0.043)	71.27 (0.014)	78.98 (0.061)	95.90 (-)	52.60 (0.046)
S1635	0.79 (0.119)	22.10 (0.026)	38.26 (0.043)	69.40 (0.003)	71.05 (0.046)	90.80 (-)	48.73 (0.047)
C1730	0.93 (0.134)	34.36 (0.004)	37.37 (0.051)	73.20 (0.025)	85.36 (0.014)	89.96 (-)	53.53 (0.046)
C1729	3.13 (0.087)	30.83 (0.001)	31.75 (0.043)	62.71 (0.021)	75.71 (0.016)	83.61 (-)	47.94 (0.034)
S1 (Mandalaya)	2.32 (0.111)	39.62 (0.010)	47.25 (0.037)	73.29 (0.016)	81.67 (0.042)	93.97 (-)	56.35 (0.043)
S799	7.08 (0.067)	36.39 (0.003)	38.04 (0.026)	57.45 (0.005)	61.00 (0.050)	87.42 (-)	47.90 (0.030)

CD for PDI at 5 % : Season 4.04 ; Variety 5.22 ; Interaction 12.78

Intervalle de confiance pour un PDI au seuil de 5 % : Saison 4,04 ; Variété : 5,22 ; Interaction 12,78.

* PDI : average of five replicates. Figures presented in parentheses indicate infection rates in the corresponding months. Negative infection rate was assessed due to comparatively more defoliation of highly infected lower leaves in December. A slight retardation of mulberry growth and less defoliation were observed on 1st week of November 1990, maximum retardation and moderate defoliation on 1st week of December 1990, cessation of growth and maximum defoliation on 1st week of January 1991.

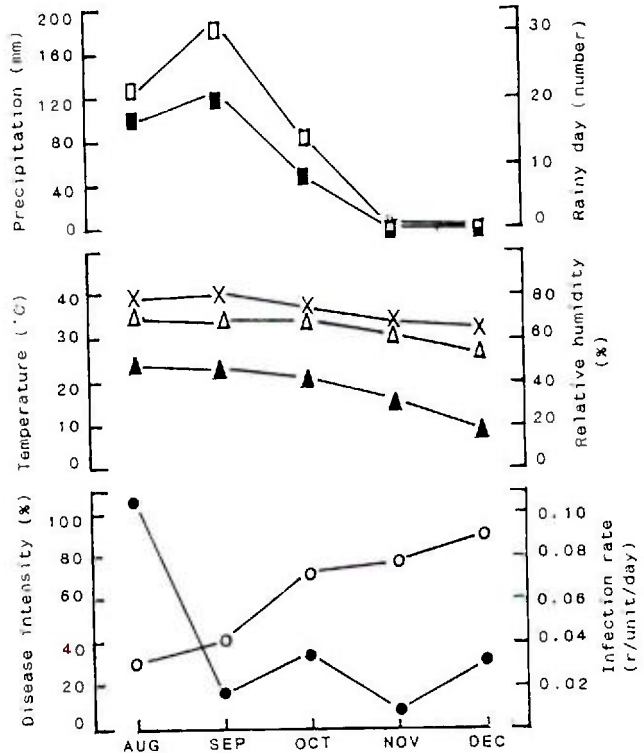
* PDI : moyenne de cinq réplicats. Les chiffres entre parenthèses indiquent les taux d'infestation au cours des mois correspondants. Le taux d'infestation négatif a été enregistré en raison d'une défoliation plus importante des feuilles inférieures fortement infestées en décembre. On a observé un léger retardement de la croissance des mûriers et une réduction de la défoliation au cours de la 1ère semaine de novembre 1990, un retardement maximal et une défoliation modérée au cours de la 1ère semaine de décembre 1990, un arrêt de la croissance et une défoliation maximale au cours de la première semaine de janvier 1991.

following month (Fig. 1). The correlation studies showed that all the abiotic factors such as temperature, relative humidity and rainfall significantly influenced disease intensity ($R^2 = 0.93$) and infection rate ($R^2 = 0.85$).

Fig. 1 : Meteorological condition and its correlation with powdery mildew development in mulberry in the year 1990.

Fig. 1 : Les conditions météorologiques et leur corrélation avec le développement de l'oïdium chez le mûrier en 1990.

- Disease intensity.
- Intensité de la maladie.
- Infection rate / Taux d'infestation.
- × Relative humidity / Humidité relative.
- Precipitation / Précipitations.
- △ Maximum temperature.
- △ Température maximale.
- ▲ Minimum temperature.
- ▲ Température minimale.
- Rainy days / Jours de pluie.



Effect of micronutrients :

The results in Table II indicate that none of the micronutrients (viz. Zn, Cu, Mn, Mg, B and Fe) had a significant effect on the development of powdery mildew in mulberry, although PDI in the plants of Mg supplemented pots was slightly lower than that of the control.

Effect of salts :

It was found that when CaCl_2 was added to the NPK supplemented soil the intensity of powdery mildew disease increased significantly (Table III). However, the disease intensity in the case of NaCl application was as per control and lower than in CaCl_2 treated plants.

Effect of kinetin :

Kinetin was effective to minimize disease intensity when spray was given one day after inoculation but it had no significant effect when sprayed one day before inoculation (Table IV). Furthermore, the disease intensity was significantly less for concentrations 10^{-4} M, 10^{-5} M and 10^{-6} M when sprayed one day after inoculation.

Table II. Effect of micronutrients on the development of powdery mildew in mulberry.

Tableau II. Effet des oligo-éléments sur le développement de l'oïdium chez le mûrier.

Treatment (micronutrient)	Disease intensity (PDI)*	
	October 1990	January 1991
<i>Traitement (oligo-élément)</i>	<i>Intensité de la maladie (PDI)*</i>	
	<i>Octobre 1990</i>	<i>Janvier 1991</i>
Mg	47.25	46.75
Fe	55.33	53.46
Mn	52.98	56.21
Zn	49.83	50.22
B	51.75	53.39
Cu	48.26	49.93
Control / Témoin	51.51	51.14

* Average of five replicates / Moyenne de cinq réplicats.

Table III. Effect of salts on the development of powdery mildew in mulberry.

Tableau III. Effet des sels sur le développement de l'oïdium chez le mûrier.

Treatment (salt)	Disease intensity (PDI)*	
	October 1990	January 1991
<i>Traitement (sel)</i>	<i>Intensité de la maladie (PDI)*</i>	
	<i>Octobre 1990</i>	<i>Janvier 1991</i>
CaCl ₂	56.64	63.63
NaCl	55.53	51.32
Control / Témoin	49.11	51.59

CD at 5 % : Salt 5.26 ; Season : not significant ; Interaction : not significant.

Intervalle de confiance au seuil de 5 % : Sel : 5,26 ; Saison : non significatif ; Interaction : non significatif.

* Average of five replicates / Moyenne de cinq réplicats.

Table IV. Effect of kinetin on the development of powdery mildew in mulberry.

Tableau IV. Effet de la kinétine sur le développement de l'oïdium chez le mûrier.

Treatment (Concentration of kinetin)	Disease intensity (PDI)*	
	Spray before inoculation	Spray after inoculation
<i>Traitement (Concentration en kinétine)</i>	<i>Intensité de la maladie (PDI)*</i>	
	<i>Vaporisation avant l'inoculation</i>	<i>Vaporisation après l'inoculation</i>
10 ⁻⁴ M	54.22	35.30
10 ⁻⁵ M	59.00	38.40
10 ⁻⁶ M	51.59	41.54
10 ⁻⁷ M	58.49	46.52
10 ⁻⁸ M	61.83	53.77
Control (without spray) <i>Témoin (sans vaporisation)</i>	59.92	59.28

CD at 5 % : Treatment : 6.78 ; Spray : 3.92 ; Interaction : not significant.

Intervalle de confiance au seuil de 5 % : Traitement : 5.26 ; Vaporisation : 3.92 ; Interaction : non significatif.

* Average of five replicates / Moyenne de cinq réplicats.

Effect of fungicides :

Treatment with 'Bavistin' at 0.15 % showed the least disease intensity (PDI = 8.39), providing 75.5 % disease control (Fig. 2). The analyzed data on the disease index showed that 'Hinosan', 'Sulfex' and 'Bavistin' at 0.10 % and each of the fungicides at 0.15 % dose reduced the per cent disease index significantly. Also, the per cent disease index for 'Bavistin' was significantly less than that for other fungicides with 0.10 % and 0.15 % doses.

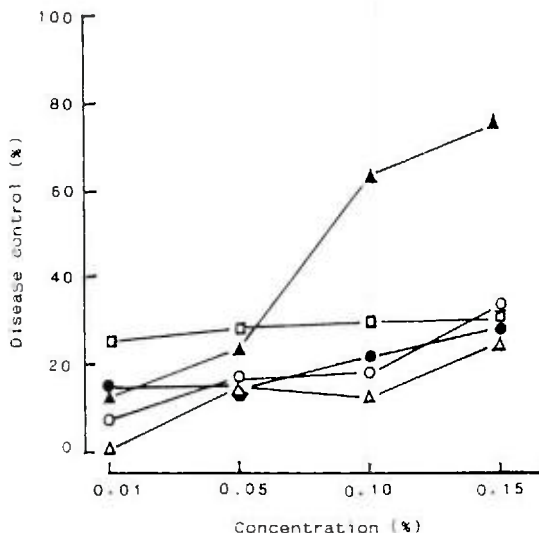
DISCUSSION

The results presented in this paper show that in all mulberry varieties, powdery mildew develops well during the period September to January. However, some of the varieties, namely C763, Tr10, S1635, C1729 and S799, show comparatively resistant to the disease of which S799 and C1729 are resistant slow mildewing. The minimum apparent infection rate (r/unit/day) of S799 has suggested that the variety is the most resistant slow mildewing. Shamer (1973), with wheat powdery mildew, showed that reduced infectibility acts as a factor in slow mildewing. Forche (1981) and Scholze (1984) on barley showed smaller mildew colonies on resistant varieties and concluded that slow rate of mycelial increase can be regarded as resistance. Govindaiah *et al.* (1990) have reported, from Mysore, that the variety Mandalaya (S1) is resistant to the disease but in the present investigation the variety has been found comparatively susceptible to powdery mildew under West Bengal agro-climatic conditions. However, this contrasting result is not unnatural, since resistance in some plants are controlled by certain genes which are strongly influenced by several environmental factors, such as temperature, intensity, duration and quality of light, moisture levels, nutrients levels and agricultural and industrial chemicals (Bell, 1981).

Fig. 2 : Effect of fungicides on mulberry powdery mildew.

Fig. 2 : Effet des fongicides sur l'oïdium du mûrier.

- Calixin
- Hinosan
- Sulfex
- ▲ Bavistin
- △ Dithane M-45



It is evident from the present study that the development of the disease is influenced by the prevailing atmospheric temperature, relative humidity and rainfall. Apart from the abiotic factors, the age of shoots also plays a significant role in the disease development. The disease intensity gradually increases with the age of shoots and even in the case of the most resistant slow mildewing variety (S799) the disease intensity recorded on the 1st week of January 1991 is very high. This result is in agreement with the findings of Jones and Hayes (1971) who, with oat powdery mildew, showed that resistance levels in leaves frequently declined with age.

The intensity and infection rate of the disease are negatively correlated. The infection rate at the beginning is highest, while the disease intensity at the beginning is lowest. The highest infection rate at the beginning and its subsequent falling may be on account of the production of fungitoxic compounds by the interaction of the host and the parasite. Since, in case of compatible host-parasite interaction (susceptible), fungitoxic compounds are formed when the necrosis is prominent (Stormberg and Corden, 1977). However, the high disease intensity in November, December and January recorded in this investigation may also be attributed to the retardation and later, cessation of mulberry growth. Since, during the winter months, resistant growing leaves (Bell, 1980) are few and the topmost leaves become mature so that the disease progresses to the leaves nearest to the apical buds.

Micronutrients are known to affect a large number of biochemical reactions in plants and it is evident that applications of copper (Olsen, 1939), zinc (Thomlinson and Webb, 1958), magnesium (Colquhoun, 1940) and boron (Eaton, 1930) salts develop systemic anti-mildew activity in many cereals and vegetables. But in the present investigation, none of the micronutrients (Zn, Cu, B, Fe, Mn and Mg) is effective to minimize powdery mildew in mulberry. This indicates that the addition of micronutrient(s) is not effective to develop systemic resistance in mulberry on soil containing that above critical limit. However, addition of CaCl_2 in the soil enhances the disease intensity significantly. This increase in disease intensity may be owing to the predominance of calcium chloride salinity and then, eventually decrease the resistance.

The role of cytokinin in fungal pathogenesis, caused by biotrophs and hemibiotrophs, has been suggested to create 'green islands' and to accumulate translocation of metabolites at infection sites, which therefore act as metabolic sinks and resist fungal pathogenesis (Manderhar and Angra, 1987). However, the evidence from the present study reveals that, in mulberry, kinetin at concentrations of 10^{-4} M, 10^{-5} M and 10^{-6} M is effective to minimize disease intensity when sprayed one day after inoculation but spray before inoculation has no effect on disease development. This suggests that the

inhibitory effect of kinetin on fungal development is direct rather than through the host. A similar observation was also made by Liu and Bushnell (1986) while studying with barley powdery mildew, showing that kinetin inhibits appressorium formation apart from the host on nitrocellulose membrane.

The fungicide, 'Bavistin', at 0.10-0.15 % (a. ig.) is the most effective to control the disease. This may be on account of increased permeation of carbendazim into the cells and greater interaction of the fungicide with the pathogen in the host cells grown on alkaline soils of the farm (Grover, 1986 ; Anonymous, 1987-88). Moreover, 'Bavistin' has no residual toxicity (Siddaramaiah and Krishna Prasad, 1978) so that it does not affect the silkworm's health and can effectively be used in mulberry fields. However, it should be remembered that 'Bavistin' does not control the target pathogen in the soils having a pH less than 6 (Grover, 1986).

ACKNOWLEDGEMENTS

Our grateful thanks are due to Mr B.P. Nair, SRO (Stat.), Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore (West Bengal, India), for statistical analysis of the data.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1987-88) Annual Research and Administrative Report. Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, West Bengal, p. 259.
- BELL A.A. (1980) The time sequence of defence. pp. 53-73. *In* Plant disease : An Advanced Treatise. Vol. V. How plants defend themselves. Horsfall J.G. and Cowling E.B. (Ed.). Academic Press, New York, p. 534.
- BELL A.A. (1981) Biochemical mechanism of disease resistance. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 32, 21-81.
- COLQUHOUN T.T. (1940) Effect of manganese on powdery mildew on wheat. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.*, 6, 54.
- EATON F.M. (1930) The effect of boron on powdery and leaf blotch of barley. *Phytopathology*, 20, 967.
- FORCHE S. (1981) Number and size of colonies of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* as criterion of resistance in spring barley varieties. *Z. Pflkrankh. Pflschutz*, 88, 435-441.
- GOVINDAIAH, SHARMA D.D., SENGUPTA K., GUNASEKHAR V., SURYANARAYAN N., MADHAVA RAO Y.R. (1990) Screening of mulberry varieties against major fungal diseases. *Indian J. Seric.*, 28, 207-213.
- GROVER R.K. (1986) Chemicals for the control of plant disease in India, an overview. *Indian Phytopath.*, 39, 1-13.
- ITOI S., NAKAYAMA K., KUBOMURA Y. (1964) The spread of mulberry powdery mildew and the control of the first outbreak in spring by eradicating perithecia. *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, 18, 545-558.
- IYENGER M.N.S. (1975) Effect of feeding mulberry leaves spread with Morestan on the survival and growth of silkworms, *Bombyx mori*. *Indian J. Seric.*, 14, 1-15.
- JHOOTY J.S., MCKEEN W.E. (1965) Studies on powdery mildew of strawberry caused by *Sphaerotheca macularis*. *Phytopathology*, 55, 281-285.
- JONES I.T., HAYES J.D. (1971) The effect of sowing date on adult plant resistance to *Erysiphe graminis* f. sp. *avenae* in oats. *Ann. Appl. Biol.*, 68, 31-39.
- KRISHNA A., MISHRA S.P., SINGH H. (1987) Thickness of cuticle and epidermis in relation to slow powdery mildewing in pea. *Indian Phytopath.*, 40, 218-221.
- KRISHNA PRASAD K.S., SIDDARAMAIAH A.L. (1979) Studies on the development of powdery mildew disease of mulberry in Karnataka. *Indian J. Seric.*, 18, 9-13.
- LIU Z., BUSHNELL W.R. (1986) Effects of cytokinins on fungus development and host response in powdery mildew of barley. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 29, 41-52.
- MANDERHAR C.L., ANGRA R. (1987) Involvement of cytokinins in fungal pathogenesis. *Res. Bull. Punjab Univ. Sci.*, 38, 35-50.
- MOTVEDET J.J., GIORDANO P.M., LINDSAY W.L. (1972) Micronutrients in agriculture. *Soil Science Society of America*, pp. 289-313.

- NOAMANI M.K.R., MUKHERJII P.K., KRISHNASWAMI S. (1970) Studies on the effect of feeding multivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.) larvae with mildew affected mulberry leaves. Indian J. Seric., 9, 49-52.
- OLSEN C. (1939) The employment for water culture experiments of distilled water containing traces of copper. Cr. Trav. Lab. Carlsberg Ser. Chim., 23, 27.
- RAMAKRISHNAN T.S., SUDAN N.V. (1954) *Phyllactinia corylea* in India. Indian Phytopath., 7, 61-68.
- SCHOLZE P. (1984) The rate of mycelial increase in mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) as a quantitative measure of assessing differences in susceptibility. Archiv. Phytopath. Pflshutz, 20, 67-78.
- SHARNER G. (1973) Reduced infectivity and inoculum production as factors of slow mildewing in Knox wheat. Phytopathology, 63, 1307-1311.
- SIDDARAMAIAH A.L., KRISHNA PRASAD K.S. (1978) Laboratory evaluation of fungicides against *Cercospora moricola* Cooke. Indian J. Seric., 17, 33-36.
- SIDDARAMAIAH A.L., KRISHNA PRASAD K.S., PADANAGUR G.M. (1978) Field evaluation of fungicides in the control of mulberry powdery mildew. Indian J. Seric., 17, 37-41.
- STORMBERG E.L., CORDEN M.E. (1977) Fungitoxicity of xylem extracts from tomato plants resistant or susceptible to *Fusarium* Wilt. Phytopathology, 67, 693-697.
- SURYANARAYAN N., GANESH S.K. (1969) Preliminary observations on the effect of feeding silkworm with mildew affected leaves. Silkworm Information Bull., 1, 62-67.
- THOMLINSON J.A., WEBB M.J.W. (1958) Control of turnip and cabbage mildew (*Erysiphe polygoni* D.C.) by zinc. Nature, 181, 1352-1353.
- VAN DER PLANK J.E. (1963) Plant diseases : Epidemics and control. Academic Press, New York/London, p. 349.
- ZUTSHI U., KAUL B.L. (1975) Studies on the cytogenetics activities of some common fungicides in higher plants. Cytobios., 12, 61-67.

LE DEVELOPPEMENT DE L'OIDIUM CHEZ LE MURIER ET SON CONTROLE

SUBRATA BISWAS, S.K. MANDAL & P.K. CHINYA *

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, Inde.

L'oïdium s'est très bien développé chez les 10 variétés de mûriers performantes, à savoir : C1726, C776, C763, Tr4, Tr10, S1635, C1730, C1729, S1 (Mandalaya) et S799, du Central Sericultural Research and Training Institute de Berhampore (Bengale occidentale, Inde) de septembre 1990 à janvier 1991. Parmi ces variétés, S799 et C1729 se révèlent comparativement résistantes, l'oïdium se développant lentement chez ces variétés. L'âge des pousses, la température atmosphérique, l'humidité relative et la pluviosité influencent fortement le développement de la maladie. L'intensité et le taux d'infestation de la maladie sont corrélés négativement : au début, le taux d'infestation est maximal tandis que l'intensité de la maladie est minimale. Les oligo-éléments (Zn, Cu, B, Mg, Mn et Fe) n'ont pas d'effet significatif sur le développement de l'oïdium mais la salinité du sol en CaCl_2 favorise son développement. La kinétine dans des concentrations de 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M permet de minimiser l'intensité de la maladie lorsque ce produit est vaporisé un jour après l'inoculation mais n'a aucun effet lorsqu'il est vaporisé avant l'inoculation, ce qui suggère que l'effet inhibiteur de la kinétine sur la pathogenèse fongique se fait de manière directe plutôt qu'à travers l'hôte. La "Bavistine" (matière active (m.a.) : carbendazim) dans des fourchettes de concentrations de 0,10 à 0,15 % est le fongicide le plus efficace pour réduire la maladie.

INTRODUCTION

Phyllactinia corylea (Pers.) Karst, le champignon responsable de l'oïdium du mûrier, occasionne des pertes de cultures considérables (Suryanarayan et Ganesh, 1969 ; Noamani et coll., 1970) et est présent de septembre à mars dans les régions tropicales (Krishna Prasad et Siddaramaiah, 1979) et du printemps à l'automne dans les régions tempérées (Ito et coll., 1964). Cependant, on dispose de peu d'informations concernant la réaction du champignon sur différentes variétés de mûrier (Govindaiah et coll., 1990) et malgré la publication d'un certain nombre d'articles (Ramakrishnan et Sudan, 1954 ; Iyenger, 1975 ; Siddaramaiah et coll., 1978), notre connaissance de la lutte contre la maladie reste vague et peu applicable. D'après des études antérieures, le fongicide "Morestan", dont la matière active (m.a.) est le 6-méthylquinoxaline-2,3- carbonate dithiol-cyclique, est le plus approprié à la lutte contre la maladie mais il est difficile à se procurer sur le marché et il constitue un agent radiomimétique provoquant des aberrations chromosomiques (Zutshi et Kaul, 1975). Cette étude a donc été réalisée afin de comprendre le développement de la maladie chez différentes variétés de mûriers et en fonction de différents régimes nutritionnels, de déterminer le rôle de la kinétine dans la pathogenèse fongique et de trouver un fongicide adapté à la lutte contre la maladie.

* Adresse actuelle : Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, Inde.

MATERIELS ET METHODES

Développement de la maladie chez les variétés de mûriers :

Des plants en pots âgés de 1 an (taille des pots : 15" de diamètre) de 10 variétés de mûriers performantes, C1726, C776, C763, Tr4, Tr10, S1635, C1730, C1729, S1 (Mandalaya) et S799, du Central Sericultural Research Institute de Berhampore, répartis en cinq réplicats, ont été utilisés pour cette expérience. Les plants ont été taillés le 15 juin 1990 et maintenus dans un endroit non utilisé de la ferme expérimentale où la probabilité de présence de conidiospores de *P. corylea* dans l'air est élevée. Le programme de fertilisation est constitué de 30 kg d'azote, 180 kg de phosphate et 120 kg de potasse/ha/an répartis en 4 doses égales ; les quantités ont été calculées en tenant compte de la surface occupée par la terre des pots. L'irrigation des plants en pots a été réalisée suivant les besoins en fonction de la teneur en eau du sol. L'apparition des colonies d'oidium sur toutes les variétés a été observée pour la première fois au cours de la première semaine d'août 1990. Par la suite, la progression de la maladie a été évaluée régulièrement tous les mois jusqu'à la première semaine de janvier 1991.

Effet des oligo-éléments :

Cette expérience a été conduite séparément, au cours de deux saisons différentes sur des pots de 15" de diamètre remplis avec de la terre provenant de la ferme expérimentale. L'analyse du sol révèle qu'il contient 1,64 ppm de zinc (Zn), 3,48 ppm de cuivre (Cu), 24,29 ppm de fer (Fe) et 15,63 ppm de manganèse (Mn). La limite critique de ces éléments dans le sol est de 0,8 ppm Zn, 0,2 ppm Cu, 2,0 ppm Fe et 15,0 ppm Mn (Motvedet et coll., 1972). Le contenu en bore (B) dont la limite critique est de 0,5 ppm et le contenu et la limite critique en magnésium (Mg) dans le sol ne sont pas connus.

Ces six oligo-éléments (zinc, cuivre, fer, manganèse, bore et magnésium) ont été appliqués à raison de 2,5 kg/ha sous forme de $ZnSO_4$, $FeSO_4$, $MnSO_4$, Borax et $MgSO_4$, respectivement, dans la terre des pots contenant des plants ramifiés âgés de 1,5 mois de la variété S1. Les quantités appliquées s'élèvent à 59,88 mg $ZnSO_4$, 91,51 mg $CuSO_4$, 65,96 $FeSO_4$, 66,66 mg $MnSO_4$, 112,79 mg Borax et 120,04 $MgSO_4$ par pot, ces quantités ayant été calculées en fonction de la surface. On a également maintenu un témoin dans lequel aucun oligo-élément n'a été ajouté. Chaque lot expérimental est composé de cinq réplicats. L'azote, le phosphate et la potasse sous la forme d'urée, de superphosphate simple et de muriate de potasse ont été ajoutés à raison de 75, 45 et 30 kg/ha respectivement. Les plants ont été inoculés après 10 jours de traitement en répandant, à l'aide d'une brosse à cheveux, des conidies prélevées sur des feuilles de mûriers entièrement infestées d'oidium et maintenues séparément dans une serre (Jhooty et McKeen, 1965). Les données ont été relevées 30 jours après l'inoculation.

Effet des sels :

Cette expérience a été réalisée séparément au cours de deux saisons différentes. La terre des plants en pot (var. S1) a été additionnée de deux sels de chlore ($NaCl$ et $CaCl_2$) séparément à raison de 20 kg/ha et de NPK (azote, phosphate, potasse : 75, 45 et 30 kg/ha). La quantité des matériels expérimentaux (194,1 mg/pot) a été calculée en fonction de la surface. On a également maintenu un témoin dans lequel aucun sel n'a été ajouté. Chaque lot expérimental est composé de cinq réplicats. Les plants ont été inoculés lorsque les pousses ont atteint l'âge de 2 mois, suivant la méthode de Jhooty et McKeen (1965), et la maladie a été évaluée un mois après l'inoculation.

Effet de la kinétine :

Des plants en pots ramifiés âgés de deux mois (S1) ont été traités séparément par vaporisation de cinq concentrations différentes (10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M et 10^{-4} M) de kinétine un jour avant et un jour après l'inoculation. Cinq réplicats ont été maintenus pour chaque lot expérimental et 20 ml de solution ont été appliqués sur chaque réplicat. Un témoin comportant 5 réplicats et non traité a également été maintenu. La maladie a été évaluée un mois après l'inoculation.

Effet des fongicides :

Une expérience sur le terrain a été réalisée avec des mûriers de la variété S₁ âgés de 1 an, au moment où la maladie est maximale selon la méthode des blocs aléatoires dans des parcelles mesurant 10' × 10' répétées trois fois. Le schéma de fertilisation (azote, phosphate, potasse : 300, 180 et 120 kg/ha/an) a suivi les méthodes recommandées et l'irrigation a été effectuée une fois par mois. Cinq fongicides, "Bavistine" (m.a. carbendazim), "Sulfex" (sulfure en poudre), "Dithane M-45" (Mancozeb), "Hinosan" (phosphorodithioate edphenphos-o-éthyl ss-diphényl) et "Calixin" (tridémorphe) à 4 concentrations différentes (0,01 %, 0,05 %, 0,10 % et 0,15 % a.i.g.) ont été vaporisés après l'apparition de la maladie sur les feuilles inférieures, c'est-à-dire entre 35 et 40 jours après la taille, à raison de 500 ml de solution par parcelle. Un témoin non traité a également été maintenu. La maladie a été évaluée 30 jours après la vaporisation.

Estimation de la maladie :

La maladie a été estimée visuellement sur une échelle de 0 à 7 (Krishna et coll., 1987). Cette échelle a été utilisée pour déterminer l'indice de la maladie (PDI) comme suit :

$$PDI = \frac{\text{Somme des évaluations numériques}}{\text{Nombre de feuilles évaluées} \times \text{catégorie de maladie maximale}} \times 100$$

Le taux d'infestation apparente (r par surface unitaire par jour) a été calculé selon la formule de Van Der Plank (1963) :

$$r = \frac{2.303}{t_2 - t_1} \log \frac{X_2 (1 - X_1)}{X_1 (1 - X_2)}$$

où X_1 et X_2 correspondent à l'étendue de la maladie observée aux temps t_1 et t_2 respectivement.

Le pourcentage d'inhibition de la maladie a été calculé d'après la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de la maladie} = \frac{\text{PDI chez le témoin} - \text{PDI chez le lot traité}}{\text{PDI chez le témoin}} \times 100$$

L'échelle utilisée indique :

0 : sain,

1 : traces de taches d'oïdium,

2 : de 1 à 10 % de la surface foliaire couverts de taches d'oïdium,

3 : de 11 à 20 % de la surface foliaire couverts de taches d'oïdium,

4 : de 21 à 30 % de la surface foliaire couverts de taches d'oïdium,

5 : de 31 à 50 % de la surface foliaire couverts de taches d'oïdium,

6 : de 51 à 75 % de la surface foliaire couverts de taches d'oïdium,

7 : de 76 à 100 % de la surface foliaire couverts de taches d'oïdium.

RESULTATS

Développement de la maladie sur les variétés de mûriers :

Le développement de l'oïdium chez toutes les variétés de mûrier (C₁₇₂₆, C₇₇₆, C₇₆₃, Tr₄, Tr₁₀, S₁₆₃₅, C₁₇₃₀, C₁₇₂₉, S₁ et S₇₉₉) a été négligeable au cours de la première semaine d'août 1990. Il a augmenté de manière significative par la suite jusqu'au dernier jour d'observation (première semaine de janvier 1991) (Tableau I). Le taux d'infestation apparente (r /unité/jour) de la maladie est maximal au mois d'août, c'est-à-dire au début de l'infestation, et faible au cours des mois suivants. L'analyse statistique révèle que l'intensité (PDI) et le taux d'infestation de la maladie sont corrélés négativement.

($R^2 = -0,47$). L'intensité de l'oïdium est significativement inférieure chez les variétés C763, Tr10, S1635, C1720 et S799. Parmi ces variétés, le taux d'infestation minimale a été observé chez S799 suivi de C1729.

Afin d'étudier le rôle des conditions météorologiques sur le développement de la maladie, la température atmosphérique, l'humidité relative (à 10h00 et à 17h00) et la pluviométrie ont été enregistrées au cours de la période expérimentale et les données obtenues ont été mises en corrélation avec le PDI mesuré pendant la première semaine du mois suivant et avec le taux apparent d'infestation du mois correspondant (Fig. 1). Les études de corrélation montrent que tous les facteurs abiotiques (température, humidité relative et pluviosité) influent fortement sur l'intensité de la maladie ($R^2 = 0,93$) et sur le taux d'infestation ($R^2 = 0,85$).

Effet des oligo-éléments :

Les résultats donnés dans le tableau II indiquent qu'aucun des oligo-éléments (Zn, Cu, Mn, Mg, B et Fe) n'a d'effet significatif sur le développement de l'oïdium chez le mûrier, bien que le PDI des plants dont les pots ont été additionnés de Mg soit légèrement inférieur à celui du témoin.

Effet des sels :

Lorsque le CaCl_2 est ajouté à une terre enrichie en NPK, l'intensité de l'oïdium augmente de manière significative (Tableau III). Cependant, l'intensité de la maladie après application de NaCl_2 est comparable à celle obtenue chez le témoin et inférieure à celle des plants traités au CaCl_2 .

Effet de la kinétine :

La kinétine permet de minimiser l'intensité de la maladie lorsque les plants sont traités un jour après l'inoculation mais n'a pas d'effet significatif lorsque les plants sont traités un jour avant l'inoculation (Tableau IV). De plus, l'intensité de la maladie est significativement inférieure pour les concentrations de 10^{-4} M, 10^{-5} M et 10^{-6} M lorsqu'elles sont vaporisées un jour après l'inoculation.

Effet des fongicides :

Le traitement avec de la "Bavistine" à 0,15 % donne l'intensité de maladie la plus faible (PDI = 8,39), soit une inhibition de la maladie de 75,5 % (Fig. 2). Les données analysées pour l'indice de maladie montrent que l'"Hinosan", le "Sulfex" et la "Bavistine" à 10 % et tous les fongicides à 15 % entraînent une diminution significative de l'indice de maladie. De plus, l'indice de maladie obtenu avec la "Bavistine" est nettement inférieur à celui obtenu pour les autres fongicides à 0,10 % et 0,15 %.

DISCUSSION

Les résultats présentés dans cet article montrent que, chez toutes les variétés de mûrier, l'oïdium se développe rapidement entre septembre et janvier. Cependant, certaines de ces variétés (C763, Tr10, S1635, C1729 et S799) se révèlent relativement résistantes à la maladie et, chez S799 et C1729, le développement de l'oïdium est ralenti. Le taux d'infestation apparent minimal (r/unité/jour) obtenu pour S799 suggère que cette variété est la plus résistante à l'oïdium. Sharner (1973), dans une étude sur l'oïdium du blé, a démontré qu'une capacité d'infestation réduite servait de facteur de ralentissement du développement de l'oïdium. Forche (1981) et Scholze (1984), dans des études sur l'orge, ont observé de petites colonies d'oïdium sur des variétés résistantes et en ont conclu qu'un faible taux d'augmentation mycélienne peut être considéré comme une forme de résistance. Govindaiah et coll. (1990) ont observé, à Mysore, que la variété Mandalaya (S_1) est résistante à la maladie mais, dans la présente étude, cette variété s'avère comparativement sensible à l'oïdium dans les conditions agroclimatiques du Bengale occidental. Cependant, ces résultats contradictoires ne sont pas surprenants étant donné que la résistance chez certaines plantes est régulée par des gènes qui sont fortement influencés par plusieurs facteurs environnementaux comme la température, l'intensité, la durée et la qualité de la lumière, la teneur en eau, les contenus en oligo-éléments et les substances agricoles et industrielles utilisées (Bell, 1981).

Cette étude montre clairement que le développement de la maladie est affecté par la température atmosphérique, l'humidité relative et la pluviosité. Outre les facteurs abiotiques, l'âge des pousses joue également un rôle significatif dans le développement de la maladie. L'intensité de la maladie

augmente progressivement à mesure que les pousses vieillissent et, même chez la variété la plus résistante (S799), l'intensité de la maladie enregistrée au cours de la première semaine de janvier 1991 est très élevée. Ce résultat corrobore les observations de Jones et Hayes (1971) qui, dans une étude sur l'oïdium de l'avoine, ont découvert que les niveaux de résistances des feuilles diminuaient fréquemment avec l'âge.

L'intensité et le taux d'infestation de la maladie sont corrélés négativement : au début, le taux d'infestation est maximal tandis que l'intensité de la maladie est minimale. Le taux d'infestation maximal au début et sa diminution par la suite pourraient être attribués à la production de composés fongitoxiques par l'interaction de l'hôte et du parasite, étant donné que, lors d'interactions hôtes-parasites compatibles (sensibles), des composés fongitoxiques se forment lorsque la nécrose est marquée (Stormberg et Corden, 1977). Cependant, l'intensité de maladie élevée en novembre, décembre et janvier enregistrée dans cette étude pourrait également être attribuée au retardement et, plus tard, à la cessation de la croissance du mûrier. Étant donné qu'il y a peu de croissance de feuilles résistantes au cours des mois d'hiver (Bell, 1980) et que les feuilles supérieures sont arrivées à maturité, la maladie progresse jusqu'aux feuilles les plus proches des bourgeons apicaux.

On sait que les oligo-éléments affectent un grand nombre de réactions biochimiques chez les végétaux et il est évident que l'application de cuivre (Olsen, 1939), de zinc (Thomlinson et Webb, 1958), de magnésium (Colquhoun, 1940) et de bore (Eaton, 1930) provoque une activité anti-oïdium systémique chez de nombreuses cultures céréalières et potagères. Cependant, dans cette étude, aucun des oligo-éléments (Zn, Cu, B, Fe Mn et Mg) n'a d'effet sur l'oïdium du mûrier. Ceci indique que l'addition d'oligo-élément(s) ne permet pas de développer une résistance systémique chez le mûrier dans de la terre contenant des quantités dépassant la limite critique. Cependant, l'addition de CaCl_2 augmente l'intensité de la maladie de manière significative. Cette augmentation de l'intensité de la maladie pourrait être due à la salinité du chlorure de calcium qui, à terme, provoque une diminution de la résistance.

On a suggéré que le rôle des cytokinines dans la pathogenèse fongique, causée par des biotrophes et des hémibiotrophes, était de créer des "îlots verts" et d'accumuler la translocation de métabolites aux sites d'infestation qui servent ainsi de trappes métaboliques et résistent à la pathogenèse fongique (Manderhar et Angra, 1987). Cependant, les résultats obtenus ici montrent que, chez le mûrier, la kinéline dans des concentrations de 10^{-4} M, 10^{-5} M et 10^{-6} M permet de diminuer l'intensité de la maladie lorsqu'elle est vaporisée un jour après l'inoculation, bien que la vaporisation avant l'inoculation n'ait aucun effet sur le développement de la maladie. Ceci suggère que l'effet inhibiteur de la kinéline sur le développement fongique se fait de manière directe plutôt qu'à travers l'hôte. Une observation similaire a été faite par Liu et Bushnell (1986), lors d'études sur l'oïdium de l'orge qui démontraient que la kinéline inhibait la formation d'appressoriums à l'extérieur de l'hôte sur une membrane de nitrocellulose.

Le fongicide "Bavistine", dans des concentrations de 0,10 à 0,15 % (a.i.g.) est le plus efficace. Ceci pourrait être dû à l'infiltration accrue du carbendazim dans les cellules et à une plus grande interaction du fongicide avec le pathogène dans les cellules de l'hôte cultivé dans le sol alcalin de la ferme (Grover, 1986, Anonyme, 1987-88). De plus, la "Bavistine" n'a pas de toxicité résiduelle (Sridaramaiah et Krishna Prasad, 1978) et, n'affectant pas la santé du ver à soie, elle peut être utilisée de manière efficace dans les mûraies. Il convient néanmoins de rappeler que la "Bavistine" ne permet pas d'éliminer le pathogène-cible dans les champs dont le pH est inférieur à 6 (Grover, 1986).

INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS ON THE DEVELOPMENT OF LEAF RUST AND POWDERY MILDEW DISEASES OF MULBERRY

R.S. TEOTIA, K.M. RAO & S.K. MANDAL

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, India.

Development of leaf rust and powdery mildew diseases was studied in relation to foliar application of five growth regulators, viz. Paras photosynth, Planofix, Miraculan, GA₃ and kinetin at three different concentrations. All the growth regulators influenced the development of disease negatively. However, the host-pathogen complex and concentration in particular were observed to be deciding factors of effectiveness. Development of leaf rust was maximally inhibited in GA₃ (51.21 %) closely followed by kinetin (46.53 %) at high concentrations whereas reduction in powdery mildew was noted to be maximum in Paras (57.01 %) closely followed by kinetin (52.20 %), GA₃ (47.94 %) and Planofix (47.94 %) at the low concentrations used in this study. Miraculan stimulated marginally both diseases at high concentrations.

Keywords : Growth regulators, leaf rust, powdery mildew, disease development.

INTRODUCTION

Growth of mulberry (*Morus alba* L.) is greatly affected by various diseases caused by fungi, bacteria, viruses and nematodes. Among them, leaf rust and powdery mildew cause tremendous loss in terms of quality and quantity of foliage production and hence adversely affect silkworm rearing during winter months (Chanturia, 1968 ; Sullia and Padma, 1987 ; Wang, 1980). Growth regulators are well known to influence the physiology of plants and therefore modify the susceptibility/resistance of the host to pathogens (Mahadevan, 1984). Many growth regulating substances have been reported to influence the vegetative and reproductive development of mulberry by earlier workers (Anonymous, 1990-91 ; Gzarnolcowsky, 1966 ; Ogure *et al.*, 1980 ; Okabe, 1984 ; Pylnov, 1961 ; Yashiro, 1980). However, information lacks on their effects in relation to development of various diseases of mulberry. Therefore, an attempt has been made to find the role of growth regulators in the development of leaf rust (*Aecidium mori* Bercay) and powdery mildew (*Phyllactinia corylea* (Pers) Karst) diseases.

MATERIALS AND METHODS

Experiments to study the influence of growth regulators on the development of leaf rust and powdery mildew disease were carried out in two different sets of one-year-old plants of the mulberry variety 'S' (Mandalaya) raised in 15" diameter earthen pots. Plants were supplied recommended doses of NPK fertilizers (300:180:120 kg/ha/yr) in the form of urea (N), single super phosphate (P) and muriate of potash (K) after converting them on an area basis into pot dosages as single basal dose a fortnight after pruning in December 1990. Plants were sprayed with three concentrations (low, medium and high) of Paras photosynth (Mixtalol), Planofix (with cytokinin base), Miraculan (triacontanol, a long-chain aliphatic alcohol), GA₃ and kinetin, as per the schedule shown in Tables I

and II, twice at an interval of 25 days. The first spray was done 30 days after pruning. Each treatment was replicated five times. The controls were sprayed with distilled water.

Observations on the incidence of leaf rust and powdery mildew diseases were recorded 25 days after the second spray under natural conditions. Three branches were screened visually at random from each replication and the data on the infection percentage were recorded using 0-5 scale (Govindaiah *et al.*, 1989). The per cent disease index was calculated by using the formula :

$$\text{Per cent disease index (PDI)} = \frac{\text{Sum of all numerical ratings}}{\text{Number of leaves examined} \times \text{Maximum infection score}} \times 100$$

Table I. Influence of growth regulators on the development of leaf rust disease of mulberry.

Tableau I. Influence des régulateurs de croissance sur le développement de la rouille du mûrier.

Treatments	Concentration (in ppm)	Infection % of leaves	PDI	Increase (+) or decrease (-) over control
<i>Traitements</i>	<i>Concentration (en ppm)</i>	<i>Pourcentage d'infestation des feuilles</i>	<i>PDI</i>	<i>Augmentation (+) ou diminution (-) par rapport au témoin</i>
Paras	1250	54.05	18.61	- 2.10
	2500	54.67	18.87	- 0.78
	5000	53.38	17.33	- 8.87
Planofix	250	53.66	16.78	- 11.78
	500	63.31	19.86	- 4.42
	1000	58.33	17.51	- 7.95
Miraculan	500	44.95	10.71	- 43.69
	1000	53.55	16.78	- 11.77
	2000	59.38	19.91	+ 4.48
GA ₃	5	51.10	16.35	- 14.04
	10	44.19	11.70	- 38.49
	20	37.31	9.28	- 51.21
Kinetin	5	45.95	12.45	-34.54
	10	50.32	13.28	- 30.18
	20	39.11	10.17	- 46.53
Control / Témoin	DW	57.67	19.02	
CD at 5 %		14.59	4.32	

PDI : Per cent disease index / *Indice de la maladie en pourcentage.*

DW : Distilled water / *Eau distillée.*

Table II. Influence of growth regulators on the development of powdery mildew disease of mulberry.

Tableau II. Influence des régulateurs de croissance sur le développement de l'oïdium du mûrier.

Treatments	Concentration (in ppm)	Mean infection % of leaves	Mean PDI*	Increase (+) or decrease (-) over control
<i>Traitements</i>	<i>Concentration (en ppm)</i>	<i>Pourcentage moyen d'infestation des feuilles</i>	<i>PDI moyen*</i>	<i>Augmentation (+) ou diminution (-) par rapport au témoin</i>
Paras	1250	34.04	9.54	- 57.81
	2500	47.41	14.61	- 35.38
	5000	60.82	20.93	- 7.43
Planofix	250	39.80	11.77	- 47.94
	500	56.12	18.39	- 18.66
	1000	55.87	16.79	- 25.74
Miraculan	500	40.15	12.65	- 44.05
	1000	40.20	13.06	- 42.24
	2000	66.89	23.07	+ 2.03
GA ₃	5	42.66	12.31	- 45.56
	10	47.77	14.72	- 34.90
	20	41.81	11.77	- 47.94
Kinetin	5	33.36	10.79	- 52.28
	10	44.30	14.42	- 36.22
	20	48.19	14.87	- 34.23
Control / Témoin	DW	66.06	22.61	
CD at 5 %		15.94	6.95	

PDI : Per cent disease index / *Indice de la maladie en pourcentage.*

DW : Distilled water / *Eau distillée.*

RESULTS AND DISCUSSION

It is evident from the results incorporated in Tables I and II that foliar sprays of growth regulators inhibited the development of leaf rust and powdery mildew diseases in all the treatment excepting a few instances of stimulation over the control. The results presented in Table I revealed that gradual increase in concentrations of GA₃ and kinetin decreased the infection percentage and PDI of leaf rust significantly. However, a reverse trend was observed in Planofix and Miraculan treatments. Paras photosynth did not put any significant effect and responded at par with the control. A maximum inhibition of 51.21 % in disease intensities of leaf rust was noted in the plants treated with GA₃

(20 ppm), closely followed by 46.53 % and 43.69 in kinetin (20 ppm) and Miraculan (500 ppm) treatments, respectively. Besides, a marginal stimulation was observed in Planofix and Miraculan treatments at 500 and 2 000 ppm concentrations, respectively.

Unlike leaf rust, lower concentrations of all the growth regulators were observed to be most effective to arrest the development of powdery mildew disease (Table II). GA₃ put similar effects in high doses and in low concentrations. Growth regulators like Paras photosynth and kinetin at low doses (500 and 5 ppm) showed significantly lower rates of infection (34.04 and 33.36 %) and disease intensity (9.54 and 12.28 %) over the control and the other treatments, whereas Miraculan responded at par with the control in high doses.

In general, development of both diseases was influenced negatively by all the growth regulators. However, effects varied depending upon the concentrations and host-pathogen systems. Lilly (1936) observed that auxins are always toxic to fungi at high concentrations, if not toxic they behave as well in check as in the treatments. Similarly, Siebs (1950) too observed inhibition in the development of *Podospora leucotricha* under IAA treatments at 0.5×10^{-9} M concentration. Our findings are in conformity with them. Dekkar (1963) observed that kinetin at 9×10^{-5} M concentration inhibited the development of powdery mildew and rust diseases of cereal crop, vegetables, fruit trees and ornamental plants. In our studies too, development of both powdery mildew and leaf rust was negatively influenced by kinetin treatments. Besides, development of leaf rust was significantly inhibited by GA₃ at high doses and powdery mildew by Paras photosynth followed by GA₃ and planofix at low doses. The difference in the effectiveness of different growth regulators and concentrations in particular on the development of leaf rust and powdery mildew diseases may be attributed to the relative capacity of pathogens to tolerate different levels of growth hormones (Pohl and Rother, 1953).

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are grateful to Dr K. Sengupta, Director, CSR & TI, Berhampore (West Bengal, India), for guidance and encouragement and to Mr B.P. Nair for statistical analysis of data.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1990-91) Research and Administrative Annual Report. Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, India.
- CHANTURIA N.N. (1968) Biochemical characteristics of mulberry leaves damaged by powdery mildew. *Soobsuch Akad. Nauk. Gruz.*, 52(3), 799-804.
- DEKKAR J. (1963) Effect of kinetin on powdery mildew. *Nature*, 197, 1027-1028.
- GOVINDAIAH, SHARMA D.D., SENGUPTA K., GUNASEKHAR V., SURYANARAYANA N., MADHAV RAO Y.R. (1989) Screening of mulberry varieties against major fungal diseases. *Indian J. Seric.*, 28(2), 207-213.
- GZARNOLOWISKI H. (1966) The influence of gibberellic acid on the growth of mulberry (*Morus alba* L.) seedlings. *Zeszytyn Nauk. Univ. Niccolata Kopernika Torunir Biol.*, 8, 285-294.
- LILLY V.G. (1936) Growth substances for fungi. *Proc. West Virginia Acad. Sci.*, 10, 95-103.
- MAHADEVANA. (1984) Growth regulators, microorganisms and diseased plants. Oxford and IBM Publishing Co., New Delhi, pp. 466.
- OGURE H., NARASHIMA N., NAGANUMA K., MATSUSHIMA M. (1980) Effects of ethrol and gibberellins on sex expression in mulberry (*Morus* sp.). *J. Sericult. Sci. Japan*, 49(4), 355-341.
- OKABE T. (1984) Relationship between spray of growth regulator to the mulberry seedlings, flowering and fruiting. *J. Sericult. Sci. Japan*, 53(1), 21-26.
- POHL R. ROTHER W. (1953) Sporen Keimung und Myzelwachstum von Phycomyces Blakes Leeanus unter dem Einfluss von Wuchs und Hemmstoffin der höheren Pflanzen. *Biol. Z.*, 72, 364-372.

- PYLONOV I.V. (1961) Effect of gibberellin on the growth of the mulberry tree, *Morus alba* L. Vet. Akad. Nauk. Ser. Biol., 1, 46-50.
- SIEBS E. (1958) Ergebnisse zu Problemen des Mehltaus unter Mehltaresistenz des Apfels. I. Mehltan. Phytol. Z., 34, 86-102.
- SULLIA S.B., PADMA S.D. (1987) Acceptance of mildew infected mulberry leaves by silkworm (*Bombyx mori*) and its effects on cocoon characteristics. Sericologia, 27(4), 693-696.
- WANG H. (1980) Rust of mulberry (*Aecidium mori*). Nat. Sci. Coun. Mon., 8(7), 604-615.
- YASHIRO M. (1980) Effect of cytokinin treatments on the sprouting of the dormant buds in the mulberry tree. Bull. Fac. Agric. Kagoshima Univ., 0(30), 11-16.

INFLUENCE DES REGULATEURS DE CROISSANCE SUR LE DEVELOPPEMENT DE LA ROUILLE FOLIAIRE ET DE L'OIDIUM CHEZ LE MURIER

R.S. TEOTIA, K.M. RAO & S.K. MANDAL

Central Sericultural Research and Training Institute, Behrampore - 742 101, West Bengal, Inde.

Le développement de la rouille foliaire et de l'oïdium chez le mûrier a été étudié après application foliaire de cinq régulateurs de croissance, le Paras photosynth, le Planofix, le Miraculan, le GA₃ et la kinétine à trois concentrations différentes. Tous les régulateurs de croissance affectent négativement le développement de la maladie. Cependant, le complexe hôte-pathogène et, en particulier, la concentration sont des facteurs déterminants d'efficacité. L'inhibition du développement de la rouille foliaire est maximale avec le GA₃ (51,21 %) devant la kinétine (46,53 %) à forte concentration, tandis que la diminution de l'oïdium est maximale avec le Paras (57,01 %) devant la kinétine (52,20 %), le GA₃ (47,94 %) et le Planofix (47,94 %) à faible concentration. Le Miraculan à forte concentration stimule légèrement les deux maladies.

INTRODUCTION

La croissance du mûrier (*Morus alba* L.) est fortement affectée par diverses maladies dues à des champignons, des bactéries, des virus et des nématodes. Parmi celles-ci, la rouille foliaire et l'oïdium entraînent des pertes considérables en termes de qualité et de quantité de production foliaire et affectent ainsi les élevages de vers à soie durant les mois d'hiver (Chanturia, 1968 ; Sullia et Padma, 1987 ; Wang, 1980). On sait que les régulateurs de croissance influencent la physiologie des végétaux et modifient la sensibilité et/ou la résistance de l'hôte aux agents pathogènes (Mahadevan, 1984). Des chercheurs ont démontré que de nombreuses substances régulant la croissance affectent le développement végétatif et la reproduction du mûrier (Anonyme, 1990-91 ; Gzarnolowsky, 1966 ; Ogure et coll., 1980 ; Okabe, 1984 ; Pylnov, 1961 ; Yashiro, 1980). Cependant, on dispose de peu d'informations sur leurs effets par rapport au développement de diverses maladies du mûrier. Une étude a donc été réalisée afin de déterminer le rôle des régulateurs de croissance dans le développement de la rouille foliaire (*Aecidium mori* Bercay) et de l'oïdium (*Phyllactinia corylea* (Pers) Karst).

MATERIELS ET METHODES

Les expériences sur l'influence des régulateurs de croissance sur le développement de la rouille foliaire et de l'oïdium ont été réalisées sur deux lots de plants âgés de 1 an de la variété de mûrier "S₁" (Mandalaya) cultivés dans des pots en terre de 15" de diamètre. On a donné aux plants les doses recommandées d'engrais NPK (300:180:120 kg/ha/an) sous forme d'urée (N), de superphosphate simple (P) et de muriate de potasse (K) convertis en doses pour pots en fonction de la surface à raison d'une seule dose, quinze jours après la taille, en décembre 1990. Les plants ont été traités deux fois à 25 jours d'intervalle par vaporisation de trois concentrations (faible, moyenne et forte) de Paras photosynth (Mixtalol), de Planofix (à base de cytokinine), Miraculan (triacétanol, alcool aliphatique à chaîne longue), de GA₃ (acide gibberellique et de kinétine selon le plan présenté dans les tableaux I et II. La première vaporisation a été appliquée 30 jours après la taille. Chaque expérimentation a été répétée cinq fois. Les témoins ont été traités à l'eau distillée.

Les observations sur l'incidence de la rouille foliaire et de l'oïdium ont été relevées 25 jours après la deuxième vaporisation dans des conditions naturelles. Trois branches ont été sélectionnées visuellement au hasard sur chacun des réplicats et les données concernant le pourcentage d'infestation ont été enregistrées en utilisant une échelle de 0 à 5 (Govindaiah et coll., 1989). L'indice de la maladie en pourcentage a été déterminé d'après la formule suivante :

$$\text{Indice de la maladie en pourcentage} = \frac{\text{Somme de tous les taux numériques}}{\text{Nombre de feuilles examinées} \times \text{Degré maximal d'infestation}} \times 100$$

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats présentés dans les tableaux I et II montrent clairement que la vaporisation foliaire de régulateurs de croissance inhibe le développement de la rouille foliaire et de l'oïdium chez tous les lots traités, hormis quelques cas de stimulation de la maladie par rapport au témoin. Les résultats présentés dans le tableau I révèlent qu'une augmentation progressive des concentrations en GA₃ et en kinéline entraîne une diminution significative du pourcentage d'infestation et de l'indice de maladie de la rouille foliaire. Cependant, on observe une tendance inverse pour les traitements à base de Planofix et de Miraculan. Le Paras photosynth n'a pas d'effet significatif et donne un résultat semblable à celui obtenu chez les témoins. Une inhibition maximale de 51,21 % d'intensité de la maladie pour la rouille foliaire a été relevée chez les plants traités avec du GA₃ (20 ppm), devant la kinéline (20 ppm) et le Miraculan (500 ppm) qui donnent respectivement des inhibitions de 46,53 % et 43,69 %. En outre, une légère stimulation a été observée chez les lots traités avec du Planofix à 500 ppm et du Miraculan à 2000 ppm.

Contrairement aux résultats obtenus pour la rouille foliaire, tous les régulateurs de croissance à faible concentration permettent de ralentir le développement de l'oïdium chez le mûrier (Tableau II). Le GA₃ à haute dose donne les mêmes résultats qu'à faible dose. Les régulateurs de croissance tels que le Paras photosynth et la kinéline à faible dose (500 et 5 ppm) donnent un taux d'infestation (34,04 % et 33,36 %) et une intensité de maladie (9,54 % et 12,28 %) nettement inférieurs à ceux obtenus chez les témoins et les lots traités, tandis que le Miraculan à haute dose donne des réactions comparables à celles obtenues pour les témoins.

En général, le développement des deux maladies est affecté négativement par tous les régulateurs de croissance. Cependant, les effets varient en fonction de la concentration et des systèmes hôte-agent pathogène. Lilly (1936) a observé que les auxines à fortes concentrations sont toujours toxiques pour les champignons ; dans le cas contraire, elles donnent les mêmes résultats chez les témoins et chez les lots traités. Siebs (1950) a également observé une inhibition du développement de *Podospora leucotricha* après traitement avec de l'AIA à $0,5 \times 10^{-9}$ M ; nos résultats sont en accord avec ces observations. Dekkar (1963) a observé que la kinéline à 9×10^{-5} M inhibe le développement de l'oïdium et de la rouille chez les cultures céréalières, potagères, fruitières et horticoles. Dans notre étude, le développement de l'oïdium et de la rouille est influencé négativement par les traitements à base de kinéline. En outre, le développement de la rouille foliaire est nettement inhibé par le GA₃ à fortes doses et celui de l'oïdium par le Paras photosynth, devant le GA₃ et le Planofix à faibles doses. Les différences d'efficacité des régulateurs de croissance et, en particulier de leurs concentrations, sur le développement de la rouille foliaire et de l'oïdium pourraient être attribuées à la capacité relative des agents pathogènes à tolérer différents niveaux d'hormones de croissance (Pohl et Rother, 1953).

COHERITABLE FOLIAR VARIATIONS IN *TERMINALIA* SPECIES

P.K. SRIVASTAV, SHOVA BECK, A.A. SIDDIQUI, K. THANGAVELU & B.N. BRAMCHARI

Plant Breeding and Genetics, Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri, Ranchi - 835 303, India.

*Covariance, coheritability, cogenetic advance and correlations of nine foliar characters in 39 genotypes of Terminalia arjuna and T. tomentosa were studied. While, positive/negative coincidence of area, length, breadth and stomatal frequency with each other was greatly influenced by the environment, the coincidence of leaf weight with area, length, breadth, L/B and $L \times B$ was not influenced by the environment. $L \times B$ exhibited the highest cogenetic advance with all the foliar characters. The coheritability of leaf area, weight, length, L/B ratio, $L \times B$ and stomatal frequency with each other was found to be higher than their corresponding heritability alone. The magnitude of genotypic correlation was always higher than its corresponding phenotypic correlation. Leaf area, length, breadth, $L \times B$, weight and stomatal length had a positive correlation with each other. The coheritability as well as correlation studies indicate that leaf area, length, $L \times B$, weight and stomatal frequency should be considered as effective parameters of selection in *T. arjuna* and *T. tomentosa* for tasar culture.*

Keywords : Covariance, coheritability, correlation, *Terminalia* species.

INTRODUCTION

Coheritability refers to the coinheritance of different pairs of characters and indicates the genetic progress which would result from the joint selection for these characters. The correlation between two characters may be due to either genetic factors or environmental factors. As yield-contributing factors play a vital role in boosting the yield, it is necessary to distinguish the causes of correlation between pairs of characters in any breeding programme. The present study was therefore undertaken to ascertain the nature and magnitude of interrelationship and coheritability among the important foliar characters of 39 genotypes of *Terminalia arjuna* and *T. tomentosa* from Piska Nagri Farm (Ranchi, Bihar, India).

Terminalia arjuna and *T. tomentosa* serve as the best multi-purpose tree species (MPTs) to breed tasar silkworms (*Antheraea mylitta* D.) in India. Besides, they are extensively utilised in timber, pharmaceutical, tannin and leather industries (Srivastav, 1991).

MATERIALS AND METHODS

The material comprised 39 genotypes of primary tasar food plants (*T. arjuna* Bedd. and *T. tomentosa* W. & A.) classified into five groups on the basis of shape, area, apex and texture of leaves, viz. *arjuna*, *angustifolia*, *alata*, *coriacea* and *crenulata*. These genotypes were selected from the germplasm maintained at Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri Farm (Ranchi, India).

Each genotype in these groups was evaluated in three replications for various foliar characters, viz. leaf area, leaf length, leaf breadth, L/B ratio, L × B, leaf weight, stomatal frequency per unit area, stomatal length and stomatal breadth.

Coheritability was calculated by the formula advocated by Nei (1960) as hereunder :

Coheritability = genotypic covariance/ phenotypic covariance

$$\text{Genotypic covariance } (\sigma_{gij}) = \frac{\text{MSPv} - \text{MSPe}}{r}; \quad \text{Phenotypic covariance } (\sigma_{pij}) = \sigma_{gij} + \sigma_{eij}$$

where,

MSPv = mean sum of products due to variety/genotype

MSPe = mean sum of products due to error

r = number of replications

σ_{eij} = error covariance

Heritability (H) in the broad sense was calculated according to Lush (1949), quoted by Allard (1960).

$$H = \sigma^2_g / \sigma^2_{ph}$$

Where, σ^2_g = genotypic variance and σ^2_{ph} = phenotypic variance.

The phenotypic and genotypic coefficients of correlation between pairs of characters were obtained from the variance and covariance components following Miller *et al.* (1958).

RESULTS AND DISCUSSION

Coheritability has been considered as a general genetic parameter to raise the efficiency of selection since it permits the study of changes in pairs of characters (Nei, 1960 ; Mourgues, 1965, 1966 ; Legay and Mourgues, 1966). Recently, Singh (1974), Mehan *et al.* (1982) and Siddiqui *et al.* (1989) have worked on coheritability estimates of different pairs of economic characters in kagni-3, rice and tasar silkworms, respectively. Srivastav and Goyal (1991) have more recently studied coheritability and correlation of fruit characters in *Terminalia* species which revealed pleiotropism or linkage between various characters like weight, length and breadth of wings of fruits. Their studies further confirmed that the length of the fruit is significantly and positively correlated with fruit weight and breadth of wings as compared to a non-significant positive correlation between fruit weight and breadth of wings and a negative correlation of germination with other fruit characters. Such studies are of paramount importance for raising nursery of *Terminalia arjuna* and *T. tomentosa* for raising man-made forests for tasar culture. However, study of various foliar characters in *Terminalia* species should be given more importance in tasar rearing since tasar silkworms (*Antheraea mylitta* D.) feed on leaves and production of silk per unit area as well as quality of the silk exclusively depend on leaf yield and quality of the leaves due to gene to gene relationship between silkworms and their food plants.

The present investigations revealed that while positive/negative coincidence of foliar characters like area, length, breadth and stomatal frequency was greatly influenced by the environment as their phenotypic covariance was always higher than their corresponding genotypic covariance for all the above pairs of characters, the coincidence of leaf weight with area, length, breadth, L/B and L × B was not influenced by the environment.

The cogenetic advance of leaf area with L × B was highest, followed by weight, length, breadth and stomatal frequency. In general, L × B exhibited the highest cogenetic advance with all foliar characters, viz. area, weight, length, stomatal frequency, breadth and L/B ratio in descending order (Table I).

Table I. Estimates of cogenetic advance 5 % matrix (CA), phenotypic (P), genotypic (G) and error (E) covariances for foliar characters.

Tableau I. Estimations des covariances (matrice 5 %) de la progression cogénétique (CA), phénotypique (P), génotypique (G) et de l'écart (E) pour les caractères foliaires.

Characters		Length (L)	Breadth (B)	L/B ratio ratio	L × B	Weight of single leaf	Stomatal frequency	Stomatal length	Stomatal breadth
Caractères		Longueur (L)	Largeur (l)	Rapport L/l	L × l	Poids d'une feuille	Fréquence des stomates	Longueur des stomates	Largeur des stomates
1. Area 1. Surface	P	863.9605	484.9675	-17.6500	24029.8281	706.4802	-461.1289	11.6226	-8.1389
	G	784.4379	452.888	-19.0446	72157.7480	716.1763	-448.5095	11.5577	-8.1373
	E	238.5676	96.2363	9.1838	5616.2432	-29.0883	-037.8583	0.1948	-0.0048
	CA	54.9767	47.3645	9.3385	794.4540	55.5056	43.0757	6.9837	5.8758
2. Length 2. Longueur	P		20.9967	-0.3092	1063.2445	30.1454	-18.6145	0.5542	-0.3649
	G		19.0709	-0.4912	940.7003	30.5661	-17.7987	0.5443	-0.3643
	E		5.7775	0.5460	367.6379	-1.2619	-2.4476	0.0297	-0.0017
	CA		8.5736	1.8917	59.4295	11.4682	8.4982	1.5062	1.2425
3. Breadth 3. Largeur	P			-0.6925	623.9868	18.4467	-12.0071	0.3160	-0.1803
	G			-0.6696	577.1197	18.6277	-11.9479	0.3169	-0.1826
	E			-0.0839	140.6011	-0.5428	-0.1777	-0.0026	-0.0068
	CA			1.6515	47.5933	8.9344	7.1029	1.1613	0.8857
4. L/B ratio 4. Rapport L/l	P				-26.9889	-0.8980	0.8750	-0.0104	0.0038
	G				-28.0605	-0.9035	0.9659	-0.0121	0.0047
	E				3.2146	0.0167	0.2726	0.0051	-0.0027
	CA				11.1268	1.9842	2.1271	0.2444	0.1567

Table I. Continued / *Tableau I. Suite.*

Characters		Length (L)	Breadth (B)	L/B ratio ratio	L × B	Weight of single leaf	Stomatal frequency	Stomatal length	Stomatal breadth
<i>Caractères</i>		<i>Longueur (L)</i>	<i>Largeur (l)</i>	<i>Rapport L/l</i>	<i>L × l</i>	<i>Poids d'une feuille</i>	<i>Fréquence des stomates</i>	<i>Longueur des stomates</i>	<i>Largeur des stomates</i>
5. L × B	P					894.1346	-564.3318	16.0360	-9.2950
5. l × L	G					901.6621	-560.9023	15.9146	-9.2937
	E					22.5826	-10.2886	0.3644	-0.0039
	CA					62.1169	48.6393	8.1868	6.2796
6. Single leaf weight / <i>Poids d'une feuille</i>	P						-15.8318	0.3574	-0.3468
	G						-15.9941	0.3543	-0.3473
	E						0.4869	0.0094	0.0014
	CA						8.2806	1.2208	1.2148
7. Stomatal frequency	P							-0.5457	0.3016
	G							-0.5333	0.3203
7. <i>Fréquence des stomates</i>	E							-0.0371	0.0560
	CA							1.4873	1.2014
8. Stomatal length	P								0.0012
	G								0.0006
8. <i>Longueur des stomates</i>	E								0.0016
	CA								0.0384

Table II. Estimates of coheritability of different pairs of foliar characters and their heritability.

Tableau II. Estimation de la cohéritabilité de différentes paires de caractères foliaires et de leur héritabilité.

Characters	Coheritability								Heritability
	Length (L)	Breadth (B)	L/B ratio	L × B	Weight	Stomatal frequency	Stomatal length	Stomatal breadth	
Caractères	Cohéritabilité								Héritabilité
	Longueur (L)	Largeur (l)	Rapport L/l	L × l	Poids	Fréquence des stomates	Longueur des stomates	Largeur des stomates	
1. Area / Surface	0.9080	0.9339	1.0790	0.9221	1.0137	0.9726	0.9944	0.9998	0.9076
2. Length / Longueur		0.9083	1.5885	0.8847	1.0140	0.9562	0.9822	0.9985	0.8357
3. Breadth / Largeur			0.9599	0.9249	1.0098	0.9951	1.0027	1.0125	0.9275
4. L/B ratio / Rapport L/l				1.0397	1.0062	1.1039	1.1623	1.2411	0.7715
5. L × B / L × l					1.0084	0.9939	0.9924	0.9999	0.9002
6. Single leaf weight / Poids d'une feuille						1.0103	0.9912	1.0014	0.9902
7. Stomatal frequency							0.9773	1.0619	0.9149
7. Fréquence des stomates									
8. Stomatal length								0.5411	0.9084
8. Longueur des stomates									
9. Stomatal breadth									0.8667
9. Largeur des stomates									

Table III. Phenotypic and genotypic (in parentheses) correlation coefficients between various foliar characters.

Tableau III. Coefficients de corrélations phénotypiques et génotypiques (entre parenthèses) entre divers caractères foliaires.

Characters	Area (L)	Length (B)	Breadth ratio	L/B	L × B	Weight	Stomatal frequency	Stomatal length	Stomatal breadth
Caractères	Surface	Longueur (L)	Largeur (l)	Rapport L/l	L × l	Poids	Fréquence des stomates	Longueur des stomates	Largeur des stomates
1. Area	1.00	0.9553*** (0.9960)	0.9616*** (0.9787)	-0.3553** (0.4582)	0.9805*** (1.0003)	0.8255*** (0.8828)	-0.3842*** (-0.4101)	0.5425*** (0.5942)	-0.6000*** (-0.6764)
1. Surface		1.00	0.8954*** (0.9238)	-0.1339 ^{NS} (-0.2649)	0.9332*** (0.9519)	0.7577*** (0.8445)	-0.3336** (-0.3648)	0.5564*** (0.6272)	-0.5786*** (-0.6788)
2. Length			1.00	-0.5415*** (-0.6145)	0.9820*** (0.9939)	0.8313*** (0.8760)	-0.3858*** (-0.4168)	0.5690*** (0.6216)	-9.5127*** (-0.5790)
2. Longueur				1.00	-0.4312*** (-0.5380)	-0.4109*** (-0.4730)	0.2855*** (0.3751)	-0.1904 ^{NS} (-0.2644)	0.1084 ^{NS} (0.1646)
3. Breadth					1.00	0.8793*** (0.8857)	-0.3732*** (-0.4087)	0.5942*** (0.6521)	-0.5439*** (-0.6156)
3. Largeur						1.00	-0.2998*** (-0.3182)	0.3793*** (0.3964)	-0.5812*** (-0.6782)
4. L/B ratio							1.00	-0.4129*** (-0.4426)	0.3604*** (0.4297)
4. Rapport L/l								1.00	0.0796 ^{NS} (0.0485)
5. L × B									1.00
5. L × l									
6. Single leaf weight									
6. Poids d'une feuille									
7. Stomatal frequency									
7. Fréquence des stomates									
8. Stomatal length									
8. Longueur des stomates									
9. Stomatal breadth									
9. Largeur des stomates									

* Highly significant at 5 % level / Fortement significatif au seuil de 5 %.

** Highly significant at 1 % level / Fortement significatif au seuil de 1 %.

*** Highly significant at 0.1 % level / Fortement significatif au seuil de 0,1 %.

NS : Non significant / Non significatif.

The coheritability of leaf area, weight, length, L/B ratio, $L \times B$ and stomatal frequency with different pairs of foliar characters was found to be higher than their corresponding heritability alone. Therefore, it may be concluded that these characters may be considered as the effective parameters for selection. The coheritability of leaf breadth with all the characters except $L \times B$ was higher than its heritability alone. Likewise, coheritability of stomatal length with all the characters except stomatal breadth was higher than its heritability alone while the coheritability of stomatal breadth with all the characters except stomatal length was higher than its heritability alone (Table II), hence stomatal length and stomatal breadth should not be considered as effective parameters for selection.

The magnitude of coheritability of all nine foliar characters with each other, barring stomatal length with stomatal breadth, was very high, which indicates that all the nine foliar characters are closely associated in inheritance. As 35 out of 36 pairs of these nine foliar characters have been found to be closely associated, such association may be due to either linkage or pleiotropism. Nei (1960) and Siddiqui *et al.* (1989) have also reported similar results in rice and tasar silkworms.

The correlations among the nine foliar characters have been presented in Table III. There were substantial differences between phenotypic and corresponding genetic correlations in all pairs of characters due to environmental interactions. Further, the magnitude of genotypic correlations was always higher than that of their corresponding phenotypic correlations, barring non significant correlation between stomatal length and stomatal breadth. This suggests that there is a strong inherent association between various characters. Similar conclusions were also drawn by Singh and Singh (1969) and Srivastav *et al.* (1972). Significant positive correlations were observed between leaf area and leaf length, leaf breadth, $L \times B$, weight of leaves and stomatal breadth. Significant negative correlation of leaf area was noticed with L/B ratio, stomatal frequency and stomatal breadth. While length of leaf was found to be significantly highly correlated with leaf breadth, $L \times B$, leaf weight and stomatal length. While breadth of leaf was found to be significantly highly correlated with $L \times B$, leaf weight and stomatal length, its significant negative correlation was observed with L/B ratio, stomatal frequency and stomatal breadth. L/B ratio had a significant positive correlation with stomatal frequency and negative significant correlations with $L \times B$ and leaf weight. While $L \times B$ had highly significant positive correlations with leaf weight and stomatal length, it had negative significant correlations with stomatal frequency and stomatal breadth. The leaf weight was found to be significantly highly correlated with stomatal length and significantly highly correlated with stomatal frequency and stomatal breadth. The stomatal frequency exhibited a significant correlation with stomatal breadth and significant negative correlation with stomatal length.

A perusal of these interrelationships indicated that leaf area, leaf length, leaf breadth, $L \times B$, leaf weight and stomatal length had significant positive correlation with each other. Therefore, these characters should be given proper emphasis during selection programmes. Further, negative significant correlation of stomatal frequency with these characters is also desirable since it will help in evolution of draught-resistant and moisture-retaining genotypes of food plants for tasar culture.

When the above results are tallied with coheritability studies it may be concluded that leaf area, leaf length, $L \times B$, leaf weight and stomatal frequency should be considered as effective parameters for selection of superior genotypes of *Terminalia* species for tasar culture.

REFERENCES

- ALLARD R.W. (1960) Principles of plant breeding. John Wiley and Sons, New York.
 LEGAY J.-M., MOURGUES C. (1966) *Compte Rendu Acad. Sci., France, Série D*, 262, 1979.
 LUSH J.L. (1949) Animal Breeding Plans. The Collegiate Press, Ames, Iowa, ed. 3.
 MEHAN D.K., SINGH G., SAINI S.S. (1982) Coheritable variation in rice. *Indian J. Genet.*, 42, 296-301.
 MILLER P.A., WILLIAMS V.C., ROBINSON H.F., COMSTOCK R.E. (1958) Estimates of genotypic and environmental variances and covariances in upland cotton and their implications in selection. *Agron. J.*, 5, 126-131.
 MOURGUES C.E. (1965) Thèse de 3e cycle no. 153, Lyon.
 MOURGUES C.E. (1966) *Compte Rendu Acad. Sci., France, Série D*, 262, 1882.

- NEI M. (1960) Studies on the application of biometrical genetics to plant breeding. Memoirs of the College of Agriculture, Kyoto Univ., no. 82.
- SIDDIQUI A.A., SENGUPTA A.K., DASMAHAPATRA D.P., SENGUPTA K. (1989) Coheritability and correlation of different quantitative characters of *Antheraea mylitta* D. Sericologia, 29(2), 211-214.
- SINGH K.B., SINGH S. (1969) Genetic variability and interrelationship studies on yield and quantitative characters in lentils (*Lens culinaris* Medic.). Indian J. Ag. Sci., 39, 737-741.
- SRIVASTAV P.K. (1991) *Terminalia* : The wonder tree of India. Indian Silk, 29(10), 15-19.
- SRIVASTAV P.K., GOYAL A.K. (1991) Coheritability and correlation of fruit characters in *Terminalia* species. Sericologia, (submitted.).
- SRIVASTAV J.P., SINGH H.N., SINGH S.P. (1972) Genetic studies in yield component in pea (*Pisum sativum* L. arvense poir.). Indian J. Ag. Sci., 42, 1001-1004.

VARIATIONS FOLIAIRES COHERITABLES CHEZ L'ESPECE *TERMINALIA*

P.K. SRIVASTAV, SHOVA BECK, A.A. SIDDIQUI, K. THANGAVELU &
B.N. BRAMCHARI

Plant Breeding and Genetics, Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri,
Ranchi - 835 303, Inde.

On a étudié la covariance, la cohéritabilité, la progression cogénétique et les corrélations de neuf caractères foliaires chez 39 génotypes de *Terminalia arjuna* et *Terminalia tomentosa*. Tandis que la corrélation positive/négative entre la surface, la longueur, la largeur et la fréquence des stomates est fortement influencée par l'environnement, la corrélation entre le poids des feuilles et la surface, la longueur, la largeur, le rapport longueur/largeur et la valeur longueur $\times$ largeur n'est pas affectée par l'environnement. Le rapport longueur $\times$ largeur présente la progression cogénétique maximale avec tous les caractères foliaires. La cohéritabilité entre la surface foliaire, le poids des feuilles, la longueur, le rapport longueur/largeur, la valeur longueur $\times$ largeur et la fréquence des stomates est supérieure à l'héritabilité seule correspondant à ces caractères. L'amplitude de la corrélation génotypique est toujours plus élevée que celle de la corrélation phénotypique correspondante. La surface foliaire, la largeur, la longueur, la valeur longueur $\times$ largeur, le poids et la longueur des stomates sont positivement corrélés entre eux. Les études de cohéritabilité et de corrélation indiquent que la surface foliaire, la longueur, la valeur longueur $\times$ largeur, le poids et la fréquence des stomates peuvent être considérés comme des paramètres fiables de sélection chez *T. arjuna* et *T. tomentosa* pour l'élevage tasar.

INTRODUCTION

La cohéritabilité se rapporte à la cohérité de différentes paires de caractères et indique la progression génétique qui résulterait de la sélection conjointe de ces caractères. La corrélation entre deux caractères peut être due soit à un facteur génétique ou environnemental, soit aux effets combinés de ces facteurs. Les facteurs qui contribuent au rendement jouant un rôle primordial dans l'amélioration du rendement, il est indispensable de distinguer les causes de corrélation entre les paires de caractères dans tout programme de sélection. Cette étude a donc été entreprise afin de déterminer la nature et l'amplitude de la corrélation et de la cohéritabilité entre les principaux caractères foliaires chez 39 génotypes de *Terminalia arjuna* et *Terminalia tomentosa* maintenus à la ferme de Piska Nagri (Ranchi, Inde).

Terminalia arjuna et *Terminalia tomentosa* constituent les meilleures espèces d'arbres à usages multiples pour l'élevage des vers à soie tasar (*Antheraea mylitta* D.) en Inde. En outre, elles sont également utilisées de manière extensive dans l'industrie du bois, l'industrie pharmaceutique, le tannage et la maroquinerie (Srivastav, 1991).

MATERIELS ET METHODES

Les matériels sont composés de 39 génotypes de plantes nourricières tasar primaires (*T. arjuna* Bedd. et *T. tomentosa* W. & A.) classées en cinq groupes en fonction de la forme, de la surface, de l'apex et de la texture des feuilles, à savoir : *arjuna*, *angustifolia*, *alata*, *coriacea* et *crenulata*. Ces

génotypes ont été sélectionnés dans la banque génétique de la ferme de Piska Nagri du Central Tasar Research and Training Institute (Ranchi, Inde).

Divers caractères foliaires, soit : la surface foliaire, la longueur de la feuille, la largeur de la feuille, le rapport longueur/largeur, la valeur longueur $\times$ largeur, la fréquence des stomates par unité de surface, la longueur des stomates et la largeur des stomates, ont été évalués pour chacun des génotypes de ces groupes.

La cohéritabilité a été calculée d'après la formule proposée par Nei (1960) ci-dessous :

Cohéritabilité = covariance génotypique/covariance phénotypique

$$\text{Covariance génotypique } (\sigma_{g_i g_j}) = \frac{\text{MSP}_v - \text{MSP}_e}{r}; \quad \text{Covariance phénotypique } (\sigma_{p_i p_j}) = \sigma_{g_i g_j} + \sigma_{e_i e_j}$$

où,

MSP_v = somme moyenne des produits dûs à la variété/au génotype

MSP_e = somme moyenne des produits dûs à l'écart

r = nombre de réplicats

$\sigma_{e_i e_j}$ = covariance de l'écart

L'héritabilité (H) au sens large a été calculée d'après Lush (1949), cité par Allard (1960) :

$$H = \sigma^2_g / \sigma^2_{ph}$$

où σ^2_g = variance génotypique et σ^2_{ph} = variance phénotypique.

Les coefficients de corrélation phénotypique et génotypique entre paires de caractères ont été obtenus sur la base des composantes de la variance et de la covariance d'après Miller et coll. (1958).

RESULTATS ET DISCUSSION

La cohéritabilité est considérée comme un paramètre génétique général pour améliorer l'efficacité de la sélection car elle permet d'étudier les modifications des paires de caractères (Nei, 1960; Mourgues, 1965, 1966; Legay and Mourgues, 1966). Singh (1974), Mehan et coll. (1982) et Siddiqui et coll. (1989) ont travaillé sur les estimations de cohéritabilité de différentes paires de caractères économiques respectivement chez Kagni-3, le riz et le ver à soie tasar. Srivastav et Goyal (1991) ont plus récemment étudié la cohéritabilité et la corrélation des caractères du fruit chez les espèces de *Terminalia* et ont observé un pléiotropisme ou une liaison entre divers caractères tels que le poids, la longueur et la largeur des ailes du fruit. Leurs études ont en outre confirmé que la longueur du fruit est en corrélation significative et positive avec le poids du fruit et la largeur des ailes, alors que le poids du fruit et la largeur des ailes sont en corrélation positive non significative et que le pourcentage de germination est en corrélation négative avec les autres caractères du fruit. De telles études ont une importance capitale pour la culture en pépinière de *Terminalia arjuna* et de *T. tomentosa* et pour obtenir des forêts pour l'élevage tasar. Cependant, il serait nécessaire d'accorder plus d'importance à l'étude des divers caractères foliaires chez les espèces de *Terminalia* dans l'élevage tasar puisque les vers à soie tasar (*Antheraea mylitta* D.) se nourrissent avec les feuilles de ces arbres et que la production de soie par unité de surface ainsi que la qualité de la soie dépendent exclusivement du rendement en feuilles et de la qualité des feuilles du fait de la relation génétique entre les vers à soie et leurs plantes nourricières.

Les études présentées ici révèlent, d'une part, que la corrélation positive/négative entre des caractères foliaires comme la surface, la longueur, la largeur et la fréquence des stomates est fortement influencée par l'environnement, la covariance phénotypique étant toujours plus élevée que la

covariance génotypique correspondante pour toutes ces paires de caractères et, d'autre part, que la corrélation entre le poids de la feuille et la surface, la longueur, la largeur, le rapport longueur/largeur et la valeur longueur $\times$ largeur n'est pas affectée par l'environnement.

La progression cogénétique de la surface foliaire avec la valeur longueur $\times$ largeur est maximale, devant le poids, la longueur, la largeur et la fréquence des stomates. De manière générale, la valeur longueur $\times$ largeur présente la progression cogénétique la plus forte avec tous les caractères foliaires, à savoir dans l'ordre décroissant : la surface, le poids, la longueur, la fréquence des stomates, la largeur et le rapport longueur/largeur (Tableau I).

La cohéritabilité de la surface foliaire, du poids, de la longueur, du rapport longueur/largeur, de la valeur longueur $\times$ largeur et de la fréquence des stomates avec différentes paires de caractères foliaires est plus élevée que l'héritabilité correspondante seule ; on peut donc conclure que ces caractères constituent des paramètres fiables pour la sélection. La cohéritabilité de la largeur foliaire avec tous les caractères, à l'exception de la valeur longueur $\times$ largeur, est plus élevée que l'héritabilité correspondant aux caractères seuls. De même, la cohéritabilité de la longueur des stomates avec tous les caractères, sauf la largeur des stomates, est plus élevée que l'héritabilité correspondante des caractères individuels, tandis que la cohéritabilité de la largeur des stomates avec tous les caractères, sauf la longueur des stomates, est plus élevée que l'héritabilité correspondante seule (Tableau II). La longueur et la largeur des stomates ne doivent donc pas être considérés comme des paramètres fiables pour la sélection.

L'amplitude de la cohéritabilité des neuf caractères foliaires entre eux, hormis la longueur des stomates avec la largeur des stomates, est très forte, ce qui indique qu'ils sont étroitement associés sur le plan héréditaire. Etant donné que 35 des 36 paires de ces neuf caractères sont étroitement associées, ces associations pourraient être dues soit à une liaison, soit à un pléiotropisme. Nei (1960) et Siddiqui et coll. (1989) ont obtenu des résultats similaires chez le riz et le ver à soie tassar.

Les corrélations entre les neuf caractères foliaires sont présentées dans le tableau III. On observe des différences importantes entre les corrélations génotypiques et phénotypiques chez toutes les paires de caractères dues à des interactions environnementales. De plus, l'amplitude des corrélations génotypiques est toujours plus élevée que celle des corrélations phénotypiques, à l'exception d'une corrélation non significative entre la longueur et la largeur des stomates. Ceci suggère qu'il y a une association intrinsèque importante entre divers caractères. Singh et Singh (1969) et Srivastav et coll. (1972) ont abouti à des conclusions identiques. Des corrélations significatives et positives ont été relevées entre la surface foliaire et la longueur de la feuille, la largeur de la feuille, la valeur longueur $\times$ largeur, le poids des feuilles et la largeur des stomates. On a observé une corrélation significative et négative entre la surface foliaire et le rapport longueur/largeur, la fréquence et la largeur des stomates. Alors que la longueur de la feuille est fortement et significativement corrélée avec la largeur de la feuille, la valeur longueur $\times$ largeur, le poids des feuilles et la longueur des stomates, elle est corrélée négativement et significativement avec le rapport longueur/largeur, la fréquence des stomates et la largeur des stomates. Alors que la largeur de la feuille est fortement et significativement corrélée avec la valeur longueur $\times$ largeur, le poids de la feuille et la longueur des stomates, elle présente une corrélation significative et négative avec le rapport longueur/largeur, la fréquence et la largeur des stomates. Le rapport longueur/largeur est corrélée positivement et significativement avec la valeur longueur $\times$ largeur et le poids de la feuille. Tandis que la valeur longueur $\times$ largeur présente une corrélation fortement positive et significative avec le poids des feuilles et la longueur des stomates, elle est corrélée négativement et significativement avec la fréquence et la largeur des stomates. Le poids des feuilles est corrélé fortement et de manière significative et positive avec la longueur des stomates et négativement avec la fréquence et la largeur des stomates. La fréquence des stomates présente une corrélation significative avec la largeur des stomates et une corrélation significative et négative avec la longueur des stomates.

La lecture de ces corrélations indique que la surface foliaire, la longueur de la feuille, la largeur de la feuille, la valeur longueur $\times$ largeur, le poids de la feuille et la longueur des stomates sont corrélés de manière positive et significative. Ces caractères devraient donc être pris en considération lors des programmes de sélection. De plus, une corrélation significative et négative entre la fréquence des

stomates et ces caractères est également souhaitable puisqu'elle facilitera la mise au point de génotypes de plantes nourricières pour la culture tasar résistant à la sécheresse et retenant l'humidité.

Si l'on compare ces résultats avec les études de cohéritabilité, on peut conclure que la surface foliaire, la longueur de la feuille, la valeur longueur $\times$ largeur, le poids de la feuille et la fréquence des stomates peuvent être considérés comme des paramètres fiables pour la sélection de génotypes supérieurs d'espèces de *Terminalia*.

EFFECT OF NUTRITIONAL QUALITY OF FOLIAGE OF FOUR OAK SPECIES ON OAK TASAR SILKWORM REARING

R.K. PANDEY*, M.K.R. NOAMANI & P.K. DAS

Regional Tasar Research Station, Mantripukhri, Imphal - 795 002, Manipur, India.

Keywords : Oak leaf quality, constituents, *Antheraea proylei*.

In India, the success of oak tasar silkworm, *Antheraea proylei*, rearing shows remarkable variation in different months of the year (Pandey *et al.*, 1989 ; Singh *et al.*, 1990 ; Chaoba Singh *et al.*, 1991). Yet, the role of leaf quality has not been worked out so far. Nevertheless, oak leaf constituents such as moisture, crude fibres, minerals, sugars, nitrogen and crude proteins have been broadly estimated for certain *Quercus* species (Jolly *et al.*, 1974 ; Sinha *et al.*, 1986 ; Pandey and Goel, 1991). In order to establish a relationship between leaf quality and larval weight, the oak tasar silkworm, *Antheraea proylei*, was reared comparatively on current and ageing shoots of four *Quercus* species and correlations between different foliar constituents and larval weight of different ages were worked out in the present work.

Leaves of *Quercus serrata* Thunb., *Q. griffithii* Hook fil. and Thoms., *Q. dealbata* Hook fil. Thoms. and *Q. incana* Roxb. were collected from Imphal. Sprouting of new leaves occurs in these species during the spring season by March. In subsequent seasons, new shoots appear again in addition to the ageing shoots of the spring season. The second flush of new growth was considered current shoots and shoots of previous growth were considered ageing shoots. Current shoots were identified by the parrot green colour of leaves and stem. These were collected from the apical region of marked trees. Ageing shoots had dark green leaves and brown colour of stem bark. The leaves were dried at 90 °C and chemical constituents such as moisture, protein, fiber, fat, ash, carbohydrate were estimated according to AOAC (1984) methods. Rearing of the oak tasar silkworm, *Antheraea proylei*, was conducted by brushing on 10th September on current and ageing shoots completely indoors on cut shoots supported with water. Growth of larvae was compared by measurements of the larval body weight during each moulting on a dry weight basis. Statistical analysis of the data was conducted according to Snedecor and Cochran (1967).

The data for the chemical composition of current and ageing shoots of the four *Quercus* species are presented in Table I. The moisture and protein contents of the current shoots were higher than that of ageing shoots collected during September. By contrast, fibres were higher in ageing shoots. However, carbohydrates were not higher in current than in ageing shoots. The fat content was higher in ageing shoots except in *Q. serrata*. The ash content was higher in current shoots of *Q. serrata* and *Q. incana*. Table II shows the larval weight of *A. proylei* on the current and ageing shoots under similar rearing conditions during the autumn season. The maximum body weight was recorded on current shoots of *Q. serrata*, followed by *Q. incana* and *Q. griffithii*. The larval growth was retarded even on

* Now at, Purvanchal Sericulture Development Project, Central Silk Board, 12A, Kasturba Nagar, Sriga, Varanasi - 221010, Uttar Pradesh, India.

current shoots of *Q. dealbata*. On ageing shoots of *Q. serrata*, *Q. griffithii* and *Q. dealbata*, the larval weight during the first instar was reduced to nearly half that of current shoots. The first instar larvae completely failed to survive when brushed on ageing shoots of *Q. incana*. The larval weight of the second, third and fourth moult on ageing shoots was much less than that of current shoots, showing thereby that the development of oak tasar larvae was extremely retarded on ageing shoots.

Table I. Biochemical composition of four host plant (*Quercus*) leaves.

Tableau I. Composition biochimique des feuilles de quatre plantes hôtes (*Quercus*).

Shoot description	% Composition					
	Moisture	Fat	Protein	Fibre	Ash	Carbohydrate
Description des pousses	Composition en %					
	Humidité	Matières grasses	Protéines	Fibres	Minéraux	Hydrates de carbone
<i>Quercus serrata</i> Thunb.						
Current / Récentes	64.75 ± 0.89	5.19 ± 0.62	7.67 ± 1.07	4.27 ± 0.51	5.54	12.58
Ageing / Vieillissantes	52.00 ± 0.22	2.21 ± 0.72	6.60 ± 0.89	12.00 ± 0.43	3.78	23.41
<i>Q. griffithii</i> Hook fil. and Thoms.						
Current / Récentes	57.00 ± 1.31	1.93 ± 1.20	7.05 ± 0.84	6.21 ± 0.21	4.03	24.88
Ageing / Vieillissantes	50.80 ± 0.57	2.13 ± 0.09	4.9 ± 0.66	10.76 ± 0.34	7.44	25.02
<i>Q. dealbata</i> Hook fil. and Thoms.						
Current / Récentes	66.80 ± 0.11	2.41 ± 0.45	6.01 ± 1.2	4.89 ± 0.22	2.5	19.83
Ageing / Vieillissantes	48.90 ± 1.62	2.99 ± 1.44	4.52 ± 1.80	12.35 ± 0.10	3.41	26.45
<i>Q. incana</i> Roxb.						
Current / Récentes	61.90 ± 1.53	2.62 ± 0.18	6.27 ± 0.09	6.96 ± 0.08	1.47	20.78
Ageing / Vieillissantes	48.60 ± 1.42	4.48 ± 0.15	4.83 ± 0.19	17.28 ± 0.33	1.09	23.72

Values are X ± standard deviation (n = 3) / Les valeurs représentent la moyenne ± l'écart type (n = 3).

A. proylei has a higher larval weight on current than on ageing shoots. The current shoot is higher in protein content than the ageing shoot. Positive correlations between 0.92 and 0.98 are obtained only with protein and larval weight. Thus, the higher body weight of oak tasar larvae on current shoot in this study is entirely due to the higher protein content of the leaves. Leaf protein is a major determinant of nutrient quality for many lepidopteran larvae (Slansky and Feeny, 1977; McNeill and Southwood, 1978; Mattson, 1980; Lawson *et al.*, 1984). In this study, the influence of leaf protein content on the larval weight not only emphasizes the importance of this critical component in the nutritional ecology of *A. proylei*, but also reveals that *A. proylei* is adapted to grow only on current shoots of certain *Quercus* species.

Table II. Effect of leaf quality on the larval biomass.

Tableau II. Effet de la qualité des feuilles sur la biomasse larvaire.

Species/ shoot	Body weight per larva (mg dry weight) at moult			
	I	II	III	IV
Espèce/ pousse	Poids d'une larve (mg de poids sec) à la mue			
	I	II	III	IV
<i>Quercus serrata</i> Thunb.				
Current shoot / Pousse récente	7.28 ± 1.46	27.46 ± 1.32	112.00 ± 2.13	561.67 ± 1.47
Ageing shoot / Pousse vieillissante	4.30 ± 1.71	10.91 ± 2.41	68.91 ± 1.49	156.33 ± 1.28
<i>Q. griffithii</i> Hook fil. and Thoms.				
Current shoot / Pousse récente	6.64 ± 2.18	27.2 ± 1.70	100.3 ± 1.78	537.67 ± 1.06
Ageing shoot / Pousse vieillissante	2.56 ± 0.98	16.9 ± 0.83	89.33 ± 1.53	104.67 ± 1.39
<i>Q. dealbata</i> Hook fil. and Thoms.				
Current shoot / Pousse récente	4.42 ± 1.24	16.67 ± 1.89	67.00 ± 1.36	369.33 ± 1.98
Ageing shoot / Pousse vieillissante	2.35 ± 1.66	16.33 ± 2.37	28.33 ± 2.10	81.33 ± 1.43
<i>Q. incana</i> Roxb.				
Current shoot / Pousse récente	7.46 ± 2.07	25.4 ± 0.88	101.67 ± 1.86	554.00 ± 1.06
Ageing shoot / Pousse vieillissante	NS	13.81 ± 0.38	46.67 ± 1.19	101.67 ± 2.38

Comparisons are within the same period (Autumn 1990) of rearing / Les comparaisons ont été faites sur une même période d'élevage (automne 1990).

Values are $\bar{X} \pm$ standard deviation ($n = 3$) / Les valeurs représentent la moyenne $\pm$ l'écart type ($n = 3$).

NS : None survived / Aucune larve n'a survécu.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr K. Thangavelu, Director, Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, for helpful discussion on the work reported here.

REFERENCES

- AOAC (1984) Official Methods of Analysis. 14th ed., Association of Agricultural Chemists, Arlington, VA.
- CHAOBA SINGH K., TIKKO B.L., SINGH T.K. (1991) Rearing of the oak tasar silkworm, *Antheraea proylei*, in relation to altitude and climate. *Sericologia*, 31(2), 261-270.
- JOLLY M.S., SEN S.K., AHSAN M.M. (1974) *Tasar Culture*. Ambika Publishers, Bombay, 266 p.
- LAWSON D.L., MERRITT R.W., MARTIN M.M., MARTIN J.S., KUKOR J.J. (1984) The nutritional ecology of larvae of *Alsophila pometaria* and *Anisota senatoria* feeding on early and late-season oak foliage. *Entomol. Exp. Appl.*, 35, 105-114.
- MATTSON W.J. (1980) Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 11, 119-161.

- McNEILL S., SOUTHWOOD T.R.E. (1978) The role of nitrogen in the development of insect-host plant relationships. In Biochemical Aspects of Plant and Animal Coevolution, J. Harborne (ed.), London Academic Press, 77-98.
- PANDEY R.K., GOEL R.K. (1991) Constituents of the young and old leaves of primary food plants of oak tasar silkworm, *Antheraea proylei* J. Indian J. Seric., 30(1), 70-71.
- PANDEY R.K., RATH P.C., GOEL R.K. (1989) Oak tasar silkworm rearing in India. Indian Silk, 28(2), 13-14.
- SINGH K., BHAT M.M., SINGH H., MOHAN R., JOSHI D.C. (1990) Oak tasar culture in India with special reference to Uttar Pradesh. Indian Silk, 28(10), 27-29.
- SINHA A.K., CHAUDHARY S.K., BRAHMACHARI B.N., SENGUPTA K. (1986) Foliar constituents of the food plants of temperate tasar silkworm, *Antheraea proylei* J. Indian J. Seric., 25, 41-43.
- SLANSKY F.R., FEENY P. (1977) Stabilization of the rate of nitrogen accumulation by larvae of the cabbage butterfly on wild and cultivated food plants. Ecol. Monogr., 47, 209-228.
- SNEDECOR G.W., COCHRAN W.G. (1967) Statistical Methods. 6th ed., Iowa State Univ. Press, USA.

EFFET DE LA QUALITE NUTRITIVE DES FEUILLES DE QUATRE ESPECES DE CHÊNES SUR L'ELEVAGE DU VER A SOIE TASAR DU CHENE

R.K. PANDEY*, M.K.R. NOAMANI & P.K. DAS

Regional Tassar Research Station, Mantripukhri, Imphal - 795 002, Manipur, Inde.

En Inde, les performances de l'élevage du ver à soie tassar du chêne *Antheraea proylei* présentent des variations importantes suivant l'époque de l'année (Pandey et coll., 1989 ; Singh et coll., 1990 ; Chaoba Singh et coll., 1991). Cependant, le rôle de la qualité des feuilles n'a pas encore été étudié, bien que les composants de la feuille de chêne, comme l'humidité, les fibres brutes, les minéraux, les sucres, l'azote et les protéines brutes, aient été évalués pour certaines espèces de *Quercus* (Jolly et coll., 1974 ; Sinha et coll., 1986 ; Pandey et Goel, 1991). Afin d'établir une relation entre la qualité de la feuille et le poids larvaire, des vers à soie tassar *Antheraea proylei* ont été élevés comparativement sur des feuilles récentes et vieillissantes de quatre espèces de *Quercus*. Des corrélations entre les différents composants foliaires et le poids larvaire à différents âges ont été déterminées.

Des feuilles de *Quercus serrata* Thunb., *Q. griffithii* Hook fil. and Thoms., *Q. dealbata* Hook fil. Thoms. et *Q. incana* Roxb. ont été prélevées à Imphal. Le débouillage des nouvelles feuilles a lieu en mars (printemps) chez ces espèces. Aux saisons suivantes, de nouvelles pousses apparaissent, s'ajoutant aux pousses vieillissantes de printemps. Les pousses provenant de la deuxième croissance ont été considérées comme pousses récentes et les pousses de la croissance de printemps comme pousses vieillissantes. Les pousses récentes ont été identifiées à la couleur vert vif des feuilles et de la tige. Elles ont été prélevées sur la zone apicale des arbres marqués. Chez les pousses vieillissantes, les feuilles sont vert foncé et l'écorce de la tige est marron. Les feuilles ont été séchées à 90 °C et les composants chimiques, comme l'humidité, les protéines, les fibres, les matières grasses, les cendres, les hydrates de carbone, ont été évalués selon la méthode de l'AOAC (1984). L'élevage du ver à soie tassar *Antheraea proylei* a été réalisé en magnanerie par levée le 10 septembre sur les pousses récentes et vieillissantes coupées placées dans de l'eau. La croissance des larves a été comparée en relevant le poids larvaire à chaque mue sur la base du poids sec. L'analyse statistique des données a été réalisée selon Snedecor et Cochran (1967).

Les données concernant la composition chimique des feuilles récentes et vieillissantes des quatre espèces de *Quercus* sont présentées dans le tableau I. Les teneurs en humidité et en protéines des pousses récentes sont plus élevées que celles des pousses vieillissantes ramassées en septembre. A l'inverse, le contenu en fibres est plus élevé chez les pousses vieillissantes. Cependant, la teneur en hydrates de carbone n'est pas plus importante chez les pousses récentes que chez les pousses vieillissantes, sauf chez *Q. serrata*. Le contenu en cendres est plus élevé chez les pousses récentes de *Q. serrata* et *Q. incana*. Le tableau II donne le poids larvaire d'*A. proylei* élevé dans des conditions similaires sur des pousses récentes et vieillissantes en automne. Le poids larvaire maximal a été obtenu avec les pousses récentes de *Q. serrata*, devant *Q. incana* et *Q. griffithii*. La croissance larvaire est retardée même sur les pousses récentes de *Q. dealbata*. Le poids larvaire au premier âge obtenu sur les pousses vieillissantes de *Q. serrata*, *Q. griffithii* et *Q. dealbata* est pratiquement divisé par deux

* Nouvelle adresse : Purvanchal Sericulture Development Project, Central Silk Board, 12A, Kasturba Nagar, Sriga Varanasi - 221010, Uttar Pradesh, Inde.

par rapport à celui obtenu avec les pousses récentes. Aucune des larves du premier âge n'a survécu après levée sur des pousses vieillissantes de *Q. incana*. Le poids larvaire observé après la deuxième, la troisième et la quatrième mue sur les pousses vieillissantes est très nettement inférieur à celui observé sur les pousses récentes, ce qui montre que le développement des larves tassar du chêne a été fortement retardé sur les pousses vieillissantes.

A. proylei présente un poids larvaire plus élevé sur les pousses récentes que sur les pousses vieillissantes. La pousse récente a un contenu en protéines plus important que la pousse vieillissante. On obtient des corrélations positives variant de 0,92 à 0,98 uniquement entre les protéines et le poids larvaire. Le poids supérieur obtenu dans cette étude pour les larves tassar élevées sur des pousses récentes est donc entièrement dû au fait que le contenu en protéines des feuilles est plus élevé. Le contenu en protéines foliaires constituent un facteur décisif de la qualité nutritive pour de nombreuses larves lépidoptères (Slansky et Feeny, 1977, McNeill et Southwood, 1978 ; Mattson, 1980 ; Lawson et coll., 1984). Dans cette étude, l'influence du contenu en protéines foliaires sur le poids larvaire révèle non seulement l'importance de ce composant dans l'écologie nutritive d'*A. proylei* mais également qu'*Antheraea proylei* a la faculté de se développer exclusivement sur les pousses récentes de certaines espèces de *Quercus*.

OSMUNDALIN : ANTIFEEDANT OF A LEPIDOPTEROUS INSECT, *BOMBYX MORI*, FROM THE ROYAL FERN (*OSMUNDA JAPONICA*)

T. SHIMIZU & M. YAZAWA*

Department of Insect Physiology and Behavior, National Institute of Sericulture and Entomological Science, Ohwashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

An antifeedant for the acceptability of the royal fern, Osmunda japonica, by the silkworm, Bombyx mori, was isolated and identified. Retention time (Rt) of the antifeedant containing glucose was isolated from high performance liquid chromatography (HPLC)-refractive index detector (RID) with a Zorbax ODS column at 6.88 min. From feeding experiments with a simple artificial diet containing the fraction, it was found that the substance is an antifeedant to Bombyx mori. The substance was identified as osmundalin.

Keywords : *Bombyx mori*, royal fern, *Osmunda japonica*, antifeedant, glucoside osmundalin.

INTRODUCTION

Semiochemicals such as glucosinolates are involved in host-plant recognition and interference with the feeding behavior (antifeedants) against both specialist and generalist herbivores. These secondary metabolites are also targets for the genetic modification of crop plants for pest resistance (Dawson *et al.*, 1989).

Responses of the glucoside receptor in the lateral sensilla styloconica (Ss) have been reported in the larvae of *Mamestra brassicae* (Wieczorek, 1976). In *Bombyx mori*, it is well known that the neurons in Ss on the maxilla function as chemosensory organs (see : Hirao *et al.*, 1992). Accordingly, we can study easily antifeedants in the plants, based on our present knowledge of *Bombyx mori*. Here, we report an antifeedant from the royal fern which was detected from a series of feeding experiments of *Bombyx mori*.

MATERIALS AND METHODS

Plants :

Leaves of the royal fern, *Osmunda japonica*, freshly picked in the field were used. They were lyophilized and the dried material was powdered.

Insects :

Larvae of *Bombyx mori* (J 137 × C 146) were reared on an artificial diet (Yakuruto Co., Japan) until the final instar, and then a simple artificial test diet was offered to newly molted last instar larvae ($N = 10$, in each concentration).

* To whom correspondence should be addressed.

Extraction of glucosides :

One gram dried powder samples of the royal fern, *Osmunda japonica*, were extracted with ethylether, and then extracted with 2 ml of 70 % EtOH. After filtration, 20 µl crude extracts were injected on Zorbax ODS column.

High performance liquid chromatography (HPLC) with a refractive index detector (RID) :

The mobile phase was 0.07 M phosphate buffer (pH 7.0)-methanol (95:5), and the flow rate was 1 ml/min. A 250 × 4.6 mm ID Zorbax ODS column (Dupont) was used. HPLC (Shimadzu, 6A) with a refractive index (RI) detector (ERC-7520, Erma Optical Works, Ltd.) was used. The fraction with a retention time of 6.88 and 7.51 min was collected.

Feeding test :

The eluted HPLC fraction was dried with a rotary evaporator under vacuum and then added to an artificial diet which consisted of agar (1 g), water 30 ml containing 10^{-1} M sucrose and 5×10^{-2} M inositol. The concentrations of test diet were prepared at 1.2, 12 and 120 ppm with agar and water containing two carbohydrates. A simple artificial diet was offered to newly molted final instar larvae during a 72 hr feeding period, and the result of consumption was observed by taking a picture. Feeding tests were replicated.

RESULTS**Fractionation by HPLC-RI :**

Figure 1 shows the HPLC-RID pattern of samples from the royal fern. A large peak 2 and a small peak * which showed 6.88 and 7.51 min retention times were collected. Rt with Shim-pack (CLC-NH₂) eluted with 70 % acetonitrile is 4.82 and 5.06 (Shimizu *et al.*, 1993). The amount of the compound causing the small peak * is ca. 10 % of that causing the large peak 2.

Fig. 1 : HPLC elution pattern of the extracts from the royal fern.

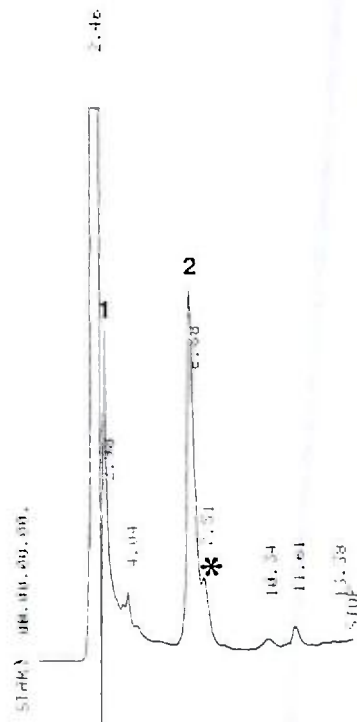
Large and small peaks of Rt 6.88 and 7.51 min were collected.

* : the small peak is 10 % of that of the large peak, osmundalin.

Fig. 1 : Profil d'éluion HPLC des extraits d'osmonde royale.

On a isolé des pics grands et petits présentant des temps de rétention de 6,88 et 7,51 min.

* : le petit pic représente 10 % du grand pic, l'osmundaline.



Antifeedant activity :

As shown in Fig. 2, ten larvae in each group consumed 13.9 g of artificial diets in the control the same as artificial diets containing below 12 ppm, but at a 120 ppm containing diet, they revealed typical feeding deterrency (2.8 g) in the feeding test after a 72 hr feeding period.

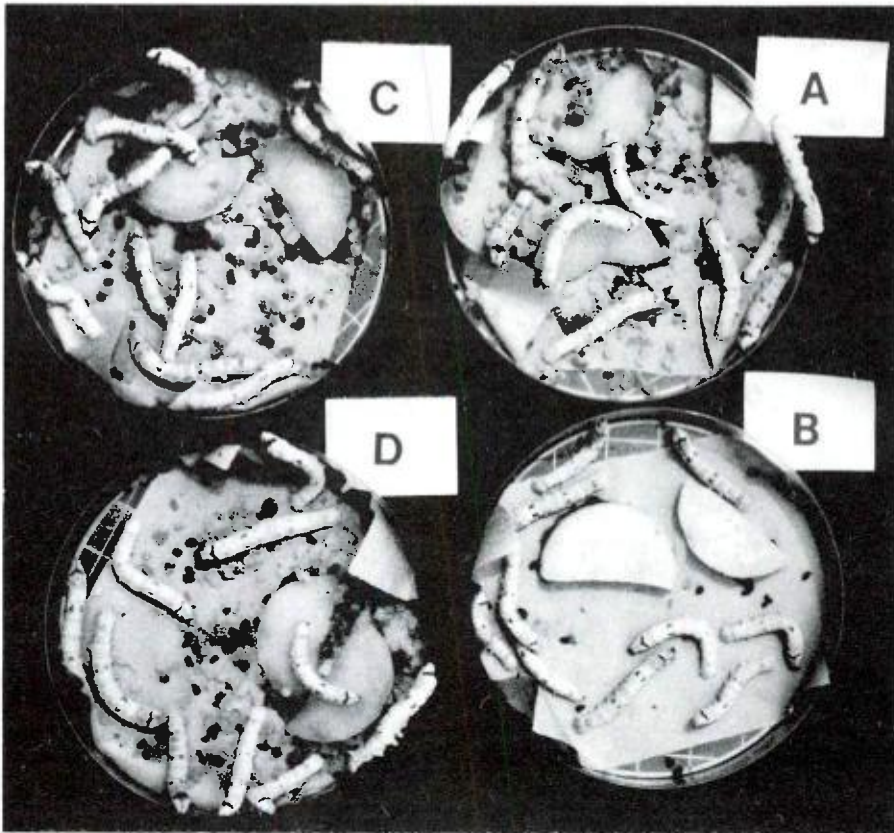


Fig. 2 : A photograph of food consumption after a 72 hr feeding period on an artificial diet.

The dried fraction of peak 2 (osmundalin) containing peak * in figure 1 was added to an artificial diet. The concentrations of test diets were prepared at 1.2, 12 and 120 ppm with water containing two carbohydrates. A : control, B : 120 ppm added diet, C : 12 ppm added diet, D : 1.2 ppm added diet.

Fig. 2 : Photographie de la consommation de nourriture après une période d'alimentation sur milieu artificiel de 72 heures.

*La fraction séchée du pic 2 (osmondaline) contenant le pic * dans la figure 1 a été ajoutée à un aliment artificiel. Les aliments expérimentaux ont été préparés avec des concentrations de 1,2, 12 et 120 ppm dans de l'eau contenant deux hydrates de carbone.*

A : témoin, B : 120 ppm ajoutés à l'aliment, C : 12 ppm ajoutés. D : 1,2 ppm ajoutés.

DISCUSSION

From the feeding test, it was shown that peak 2 containing peak * is antifeedant. Previous studies show this compound(s) elicits the impulses of R-receptor cell from Ss-medial of *Bombyx mori*, but not from Ss-medial and lateral of *Spodoptera litura* (Shimizu *et al.*, 1993). Therefore, this compound(s) is a selective antifeedant. Probably there is no possibility that the small peak * is an antifeedant, because of the concentration of 12 ppm, its peak is 10 % of a peak 2 which showed feeding deterrence at 120 ppm. Such a potent antifeedant which exhibits feeding inhibition at 12 ppm has not been identified. A feeding test in the present experiments was also provided in a very poor artificial diet, lacking most of the attractive molecules. The potent antifeedant effect of osmundalin might be provided by such a simple artificial diet. Therefore, we must next investigate the antifeedant effect in a diet containing the attractive molecules.

Characterization of the compounds of peak 2 resulted in the following characteristics : 1) heat stable, 2) glucosides with a beta-bond structure, 3) glucoside is glucose, 4) 210 nm UV absorbance, 5) soluble in water and ethanol (Shimizu *et al.*, 1993). Already Numata *et al.* (1983, 1984) have reported the presence of a feeding inhibitor, osmundalactone, for the larvae of the yellow butterfly, *Eurema hecabe mandarina* de L'Orza, in a flowering fern, *Osmunda japonica* Thumb. There is an osmundalin, a glucoside of (4R-5S)-osmundalactone, isolated from *Osmunda japonica* (Hollenbeak and Kuehne, 1974). Furthermore, Numata *et al.* (1990) found that osmundalin has an antifeedant activity. Most recently we identified that large peak 2 is osmundalin (Fig. 3) from the analysis with NMR (Shimizu *et al.*, unpublished data). Therefore, osmundalin is a specific antifeedant for at least two lepidopterous insects, *Bombyx mori* (present experiments) and *Eurema hecabe mandarina* (Numata *et al.*, 1990).

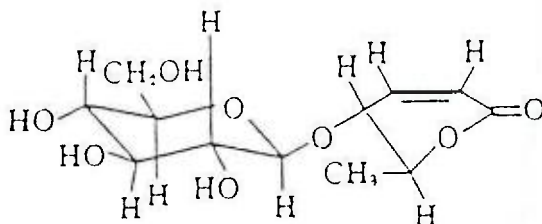


Fig. 3 : Chemical structure of osmundalin.

Fig. 3 : Structure chimique de l'osmondaline.

The concentration of osmundalin in the royal fern is ca. 13 mg/dry weight (g). This compound is absent in the mulberry, sprouting broccoli, taro and castor-oil plant leaves (Shimizu *et al.*, 1993). This compound is species-specific. For genetic modification to produce this compound in crop plants for pest resistance, we must next investigate the metabolism of this compound, especially aglycone, in the royal fern.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Prof. James L. Frazier, Pennsylvania State University, for critical reading of the manuscript. The authors also wish to thank Dr A. Numata, Osaka University of Pharm. Sci., for his help in NMR analysis.

REFERENCES

- DAWSON G.W., HALLAHAN D.L., MUDD A.A., PATEL M.M., PICKETT J.A., WADHAMS L.J., WALLSGROVE R.M. (1989) Secondary plant metabolites as targets for genetic modification of crop plant pest resistance. *Pestic. Sci.*, 27, 191-201.
- HIRAO T., ARAI N., SHIMIZU T., YAZAWA M. (1992) Sensilla styloconica on the maxillary lobe of *Bombyx mori* and *Spodoptera litura*. *Sericologia*, 32(4), 559-563.
- HOLLENBEAK K.H., KUEHNE M.E. (1974) The isolation and structure determination of the fern glucoside osmundalin and the synthesis of its aglycone osmundalactone. *Tetrahedron*, 30, 2307-2316.
- NUMATA A., HOKIMOTO K., TAKEMURA T., FUKUI S. (1983) Feeding inhibitors for the larvae of the yellow butterfly, *Eurema hecabe mandarina* de L'Orza (Lepidoptera : Pieridae), in a flowering fern, *Osmunda japonica* Thunb. *Appl. Ent. Zool.*, 18, 129-131.
- NUMATA A., HOKIMOTO K., TAKEMURA T., KATSUNO T., YAMAMOTO K. (1984) Plant constituents biologically active to insects. V. Antifeedants for the larvae of the yellow butterfly, *Eurema hecabe mandarina*, in *Osmunda japonica*. *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 2815-2820.
- NUMATA A., TAKAHASHI C., FUJIKI R., KITANO E., KITAJIMA A., TAKEMURA T. (1990) Plant constituents biologically active to insects. VI. Antifeedants for larvae of the yellow butterfly, *Eurema hecabe mandarina*, in *Osmunda japonica* (2). *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 2826-2865.
- SHIMIZU T., YAZAWA M., ARAI N., HIRAO T. (1993) Responses of maxillary styloconica in *Bombyx mori* to glucoside from *Osmunda japonica*, a non host plant. *J. Chemical Ecol.*, 19, 2501-2512.
- WIECZOREK H. (1976) The glucoside receptor of the larvae of *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera : Noctuidae). *J. Comp. Physiol.*, 106, 153-176.

L'OSMONDALINE : ANTIAPPÉTANT D'UN LEPIDOPTERE, *BOMBYX MORI*, EXTRAIT DE L'OSMONDE ROYALE (*OSMUNDA JAPONICA*)

T. SHIMIZU & M. YAZAWA *

Department of Insect Physiology and Behavior, National Institute of Sericulture and Entomological Science, Ohwashi 1-2, Tsukuba, Ibaraki 305, Japon.

*Un composé alimentaire inhibant l'acceptation de l'osmonde royale *Osmunda japonica* par le ver à soie *Bombyx mori* a été identifié et isolé. Le temps de rétention (Rt) de l'antiappétant, qui contient du glucose, a été déterminé à 6,88 minutes sur chromatographie liquide à haute performance (HPLC)-détecteur d'indice de réfraction (RID) sur une colonne Zorbax ODS. Les expériences de nourrissage sur un aliment artificiel simple contenant cette fraction ont permis de démontrer que la substance isolée est un antiappétant pour *Bombyx mori*. La substance a été identifiée comme étant l'osmondaline.*

INTRODUCTION

Les substances sémiochimiques comme les glucosinolates interviennent dans la reconnaissance hôte-plante et interfèrent avec le comportement alimentaire (antiappétants) tant chez les herbivores spécialisés que chez les herbivores généraux. Ces métabolites secondaires constituent également des cibles de modification génétique des plantes cultivées pour la résistance aux parasites (Dawson et coll., 1989).

Les réponses du récepteur de glucosides dans les sensilles styloconiques (Ss) latérales ont été observées chez les larves de *Mamestra brassicae* (Wieczorek, 1976). Chez *Bombyx mori*, on sait que les neurones des Ss des mandibules servent d'organes chimiosensoriels (voir : Hirao et coll., 1992). Il est donc facile d'étudier les antiappétants contenus dans les plantes sur la base de notre connaissance actuelle de *Bombyx mori*. Nous décrivons ici l'observation d'antiappétants issus de l'osmonde royale qui ont été détectés après une série d'expériences de nourrissage sur *Bombyx mori*.

MATERIELS ET METHODES

Plantes :

On a utilisé des feuilles fraîchement ramassées dans des champs d'osmonde royale (*Osmunda japonica*). Elles ont été lyophilisées et le matériel séché a été pulvérisé.

Insectes :

Des larves de *Bombyx mori* (J 137 × C 146) ont été élevées sur un aliment artificiel (Yakuruto Co. Japon) jusqu'au dernier âge, puis les larves du dernier âge en sortie de mue ont été soumises à une expérience de nourrissage basée sur un aliment artificiel simple ($N = 10$ pour chaque concentration).

* Auteur à contacter pour toute correspondance.

Extractions des glucosides :

Un gramme d'échantillon en poudre séché d'osmonde royale (*Osmunda japonica*) a été extrait avec de l'éthyléther puis à nouveau extrait avec 2 ml d'éthanol à 70 %. Après filtrage, 20 µl d'extraits purs ont été injectés sur une colonne Zorbax ODS.

Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) avec un détecteur d'indice de réfraction (RID) :

La phase mobile est composée d'un tampon phosphate 0,07 M (pH 7,0)-méthanol (95:5) et le débit d'écoulement est de 1 ml/minute. On a utilisé une colonne ID Zorbax ODS (Dupont) de 250 × 4,6 mm ainsi qu'une HPLC (Shimadzu, 6A) combinée avec un détecteur d'indice de réfraction (ERC-7520, Erma Optical Works Ltd.). La fraction ayant un temps de rétention de 6,88 et 7,51 minutes a été prélevée.

Test de nourrissage :

La fraction HPLC éluée a été séchée dans un évaporateur rotatif sous vide et ajoutée à un aliment artificiel composé d'agar (1 g), de 30 ml d'eau contenant 10^{-1} M de sucrose et 5×10^{-2} M d'inositol. Les concentrations de l'aliment expérimental ont été préparées à 1,2, 12 et 120 ppm avec de l'agar et de l'eau contenant deux hydrates de carbone. Un aliment artificiel simple a été donné aux larves du dernier âge en sortie de mue pendant 72 heures. Les résultats de consommation ont été relevés en réalisant une photographie. Les tests de nourrissage ont été répétés.

RESULTATS**Fractionnement par HPLC-RID :**

La figure 1 présente le profil HPLC-RID des échantillons extraits de l'osmonde royale. Un pic élevé 2 et un petit pic *, présentant des temps de rétention de 6,88 et 7,51 minutes, ont été prélevés. Le R_t obtenu avec Shim-pack (CLC-NH₂) élué avec de l'acétonitrile à 70 % est de 4,82 et 5,06 minutes (Shimizu et coll., 1993). La quantité du composé responsable du petit pic * représente environ 10 % de celui responsable du pic élevé 2.

Activité antiappétante :

Comme le montre la figure 2, dix larves de chaque groupe ont consommé 13,9 g d'aliment artificiel chez le témoin, soit la même quantité que les lots nourris avec l'aliment artificiel contenant moins de 12 ppm. Cependant, à 120 ppm, on constate une inhibition alimentaire caractéristique (2,8 g) chez le groupe expérimental après 72 heures de nourrissage.

DISCUSSION

Le test de nourrissage montre que le pic 2 contenant le pic * est un antiappétant. Des études antérieures ont démontré que ce(s) composé(s) élicite(nt) les impulsions de la cellule du récepteur R des Ss médianes de *Bombyx mori*, mais pas des Ss médianes et latérales de *Spodoptera litura* (Shimizu et coll., 1993). Ce(s) composé(s) est (sont) donc un antiappétant sélectif. Il est fort probable que le petit pic * ne constitue pas un antiappétant car, à la concentration de 12 ppm, son pic représente 10 % du pic 2 qui provoque une inhibition alimentaire à 120 ppm. On n'a pas identifié d'antiappétant assez puissant pour provoquer une inhibition à 12 ppm. Le test de nourrissage décrit ici a également été combiné avec un aliment artificiel très médiocre auquel manquait la plupart des molécules attractives. L'effet inhibiteur puissant de l'osmondaline pourrait être provoqué par le manque de richesse de cet aliment artificiel. Il est donc nécessaire d'étudier l'effet inhibiteur dans un aliment artificiel contenant les molécules attractives.

Les composés du pic 2 présentent les caractéristiques suivantes : 1) stabilité thermique, 2) glucosides à structure liée beta, 3) le glucoside est du glucose, 4) absorption à 210 nm UV, 5) solubilité dans l'eau et l'éthanol (Shimizu et coll., 1993). Numata et coll. (1983, 1984) ont déjà observé la présence d'un antiappétant, l'osmondolactone, pour les larves du papillon jaune *Eurema hecabe*

mandarina de L'Orza chez une fougère florifère *Osmunda japonica* Thumb. Il existe une osmondaline, glucoside de (4R-5S)-osmondalactone, isolée à partir d'*Osmunda japonica* (Hollenbeak et Kuchne, 1974). De plus, Numata et coll. (1990) ont observé que l'osmondaline a une activité inhibitrice. Très récemment, nous avons pu déterminer que le pic élevé 2 était de l'osmondaline (Fig. 3) d'après l'analyse en NMR (Shimizu et coll., données non publiées). L'osmondaline est donc un antiappétant pour au moins deux lépidoptères, *Bombyx mori* (expériences présentées dans cet article) et *Eurema hecabe mandarina* (Numata et coll., 1990).

La concentration d'osmondaline dans l'osmonde royale est d'environ 13 mg/g poids sec. Ce composé est absent des feuilles de mûrier, de brocoli, de taro et de ricin (Shimizu et coll., 1993) ; il est spécifique de son espèce. Afin de déterminer les modifications génétiques qui permettraient de produire ce composé chez les plantes cultivées et d'induire une résistance aux parasites, il est nécessaire d'étudier le métabolisme de ce composé, en particulier l'aglycone, chez l'osmonde royale.

BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAPHY

Sériciculture générale	707
General sericulture	
Mûrier	713
Mulberry	
<i>B. mori</i> : élevage, nutrition, pathologie	721
<i>B. mori</i> : rearing, feeding, pathology	
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie	727
Non-mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology	
Vers à soie : génétique	731
Silkworms : genetics	
Vers à soie : physiologie, biochimie	733
Silkworms : physiology, biochemistry	
Vers à soie : œufs, embryologie	737
Silkworms : eggs, embryology	
Vers à soie : glandes séricigènes	739
Silkworms : silk glands	
Soie	741
Silk	

INDICATIFS DES LANGUES UTILISEES - LANGUAGE SYMBOLS USED

(Bg) Bulgare / <i>Bulgarian</i> .	(C) Chinois / <i>Chinese</i> .
(D) Allemand / <i>German</i> .	(E) Anglais / <i>English</i> .
(F) Français / <i>French</i> .	(J) Japonais / <i>Japanese</i> .
(I) Italien / <i>Italian</i> .	(Pl) Polonais / <i>Polish</i> .
(K) Coréen / <i>Korean</i> .	(R) Russe / <i>Russian</i> .
(Pt) Portuguais / <i>Portuguese</i> .	(S) Espagnol / <i>Spanish</i> .
(Ro) Roumain / <i>Rumanian</i> .	

Les lettres minuscules correspondantes sont utilisées pour indiquer la langue du résumé.
The corresponding small letters indicate the language of the summary.

Sériciculture générale

General sericulture

Marketing in tasar industry.

Marché pour l'industrie du tasar.

ALOK SAHAY, THANGAVELU K.

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(5), 51-53. (E)

To raise the sericultural efficiency by emphasizing the disinfection and disease prevention.

Accroître l'efficacité de la sériciculture par l'augmentation de la désinfection et de la prévention des maladies.

ANGUAN D.

1993 Bulletin of Sericulture, Vol. 24(2), 21. (C)

Techno-economic aspects of mulberry cultivation and silkworm rearing.

Aspects technico-économiques de la moriculture et de l'élevage du ver à soie.

BENCHAMIN K.V.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(8), 3-9. (E)

Sericulture in Bangladesh.

Sériciculture au Bangladesh.

BENCHAMIN K.V.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(6), 17-21. (E)

Recycling technology of sericultural waste as compost.

Technologie de recyclage des déchets séricicoles en terreau.

CHOUDHURY P.C., DAS P.K., GHOSH A., MISHRA R.K., DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(7), 28-30. (E)

The worm, the cocoon and the silk.

Le ver, le cocon et la soie.

DAMODAR REDDY K., BAJPEYI C.M., THANGAVELU K.

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(5), 6-8. (E)

Extension management in sericulture.

Gestion de la vulgarisation en sériciculture.

DAS K.K., GHOSH S., NAGINA R.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(7), 45-47. (E)

Improvement of bivoltine rearing performance at farmers' level.

Amélioration des performances de l'élevage bivoltin au niveau des fermiers.

DAS S., ROY S., CHATTERJEE S., ROY B., SHAMSUDDIN M.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(5), 31. (E)

The Dongyi people : the first silkworm domesticator and raw silk utilizer.

Les habitants de Dongyi : les premiers à avoir domestiqué le ver à soie et utilisé la soie grège.

DEGONG H.

Shandong Sericultural Research Institute, China.

1993 J. Zhejiang Inst. of Silk Textiles, Vol. 10(3), 59-63. (C,e)

The Wujiang sericulture folk custom.

La tradition séricicole des habitants du Wujiang.

DEHUA Z.

The Town Government of Shengze, Wujiang, Jiangsu, China.

1993 J. Zhejiang Inst. of Silk Textiles, Vol. 10(3), 33-39. (C,e)

La sericoltura in Vietnam. / Sericulture in Vietnam.

La sériciculture au Vietnam.

FARAGO S.

Stazione sperimentale per la Seta, Via G. Colombo, 81, 20133 Milano, Italia.

1993 La Seta, Vol. XLV(2), 42-43. (I)

Mulberry forest and Fushang tree.

Forêt de mûriers et l'arbre Fushang.

FENG Z.

China National Silk Museum, China.

1993 J. Zhejiang Inst. of Silk Textiles, Vol. 10(3), 21-25. (C,e)

Silkworm rearing performance under different rearing houses in Tamil Nadu.

Rendement des élevages de vers à soie dans différentes magnaneries au Tamil Nadu.

GANGWAR S.K., SOMASUNDARAM P., NAGARAJA.

Regional Sericultural Research Station, Post Hehal, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(7), 37-38. (E)

Discussion on executing overall quality management in egg-raising station of farmer's parent cocoon.

Discussion sur l'application d'une gestion recherchant avant tout la qualité dans une station de grainage de vers à soie parentaux.

GENGSHENG Z. *et al.*

1993 Bulletin of Sericulture, Vol. 24(2), 25-26. (C)

Problems in adoption of recommended sericulture practices.

Problèmes rencontrés dans l'application des méthodes de sériciculture recommandées.

GOPALA M., KRISHNA K.S.

Vemagal, Kolar District, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(4), 53. (E)

Decision making in sericulture.

La prise de décision dans la sériciculture.

GOPALAPPA D.V.

Institute for Social and Economic Change, Nagarabhavi, Bangalore 560 072, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(6), 6-12. (E)

Towards popularising bivoltine.

Vers la popularisation des bivoltins.

GREGORY J., GREGORY S.

Institute for Social and Economic Change, Nagarabhavi, Bangalore 560 072, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(7), 3-6. (E)

The materialization factors in the modern world's raw silk market and the relation between demand and supply.

Les facteurs de matérialisation dans le marché mondial moderne de la soie grège et la relation entre l'offre et la demande.

GU G., HAMAZAKI M., UYAMA M.

1993 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 62(5), 349-357. (J)

Study of raw silk export trade in China of the early opening of ports (1842-1867).

Etude des exportations de soie grège en Chine au cours des premières années d'ouverture des ports (1842-1867).

GU G., HAMAZAKI M., UYAMA M.

1993 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 62(5), 358-366. (J)

Several views upon brief history of mulberry culture in moriculture in China.

Plusieurs aspects de la moriculture au travers d'un bref historique de la culture du mûrier en Chine.

HUA D.G. *et al.*

1993 Canye Kexue, Vol. 19(3), 167-169. (C)

Comparisons between sericulture tools appearing in Japanese and Chinese classics.

Comparaisons des outils de sériciculture apparaissant dans les classiques japonais et chinois.

ITO T.

Kanto Junior College, Tatebayashi, Gumma 374, Japan.

1993 J. Zhejiang Inst. of Silk Textiles, Vol. 10(3), 9-13. (C,e)

Establishment of new system to divide sericultural farm household. 3. Stable rearing method for new system of cocoon production.

Etablissement d'un nouveau système de partage du personnel séricicole. 3. Méthode d'élevage stable pour un nouveau système de production de cocons.

KOGAWARA K., IIOKA K., NAKANISHI H., OZAKI M., NOGUCHI Y.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308 01, Japan.

1993 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 1, 20-28. (J)

Establishment of new system to divide sericultural farm household. 2. Storing techniques of mulberry young shoots under low temperature.

Etablissement d'un nouveau système de partage du personnel séricicole. 2. Techniques de stockage des jeunes pousses de mûriers à basse température.

KOGAWARA K., IIOKA K., NAKANISHI H., OZAKI M., NOGUCHI Y.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308 01, Japan.

1993 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 1, 17-19. (J)

Establishment of new system to divide sericultural farm household between mulberry cultivation group and silkworm rearing group for cocoon production. Experiment plan and main results.

Etablissement d'un nouveau système de partage du personnel séricicole en deux groupes, un pour la moriculture, l'autre pour l'élevage des vers à soie pour la production de cocons. Plan d'expérimentation et principaux résultats.

KOJYO K., TOMITA K.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308 01, Japan.

1993 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 1, 1-5. (J)

The Jili silk and Nanxun silkworm culture.

La soie Jili et l'élevage du ver à soie à Nanxun.

LIYUAN L.

The Second Middle School, Huzhou, China.

1993 J. Zhejiang Inst. of Silk Textiles, Vol. 10(3), 40-46. (C,e)

Sericulture in Nagaland.

Sériciculture dans le Nagaland.

NOAMANI M.K.R.

Regional Tasar Research Station, Mantripukhri, Impahl 795 002, Manipur, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(3), 14-17. (E)

Grouping of the sericultural regions based on the factor prospering or declining sericulture and that based on the types of the sericultural vicissitude. Case study of Gunma Prefecture.

Regroupement des régions séricicoles en fonction de leur prospérité ou de leur déclin, basé sur les types de vicissitude séricicole. Etude du cas de la Préfecture de Gunma.

NOHMI M.

Faculty of Agriculture, Tottori University, Tottori-city, Tottori-prefecture, Japan.

1993 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 62(3), 216-222. (J,e)

Spiders : friends of sericulturists.

Les araignées : des amies des sériculteurs.

PRADID KUMAR, MANJUNATH D., SAMPATH KUMAR K.N., DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(6), 31-33. (E)

Chinese contributions to silk culture.

Contributions chinoises à la sériciculture.

QICHENG Z.

China Textile University, China.

1993 J. Zhejiang Inst. of Silk Textiles, Vol. 10(3), 7-8. (C,e)

Mulberry sericulture in Nagaland : problems and prospects.

Sériciculture mûrier au Nagaland : problèmes et perspectives.

RAJ NARAIN, PRASAD D.N.

Basic Seed Farm, Central Silk Board, Jahgra, Dehradun, Uttar Pradesh, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(5), 19-22. (E)

Importance of water in sericulture.

Importance de l'eau dans la sériciculture.

RAJENDIRAN P.M., HIMANTHARAJ M.T., MEENAL A., RAJAN R.K. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(4), 46-47. (E)

Grainages in India.

Grainages en Inde.

RAJESH KUMAR SINHA, VATHSALA T.V.

Central Silk Board, NSSP, United Mansions, 2nd Floor, 39, Mahatma Gandhi Road, Bangalore 560 001, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(7), 7-12. (E)

Relation between Hakata Sash and Chinese ancient weaving technology.

Relation entre Hakata Sash et l'ancienne technologie de tissage chinoise.

SADAE T.

Fukuoka Center of Industrial Technology, Japan.

1993 J. Zhejiang Inst. of Silk Textiles, Vol. 10(3), 64-68. (C,e)

Japanese system of mulberry breeding : local trial.

Le système japonais de sélection des mûriers : essai local.

SARKAR A., FUJITA H.

Central Seric. Research and Training Inst., Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(8), 11-14. (E)

Cost-return analysis of sericulture in Kashmir.

Analyse de la rentabilité de la sériciculture au Kashmir.

SHAH A.M.

Department of Management Studies, University of Kashmir, Srinagar, Jammu & Kashmir, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(5), 47-50. (E)

Preliminary studies on the commencement of Chinese silk weaving, including sericulture.

Etudes préliminaires sur le commencement du tissage de la soie chinoise, incluant la sériciculture.

SHI W.

Pinglu County Museum, Shanxi, China.

1993 J. Zhejiang Inst. of Silk Textiles, Vol. 10(3), 26-32. (C,e)

Sericultural labour management.

Organisation du travail en sériciculture.

SUBRAMANIAM R.K., KALAPPA H.K.

Central Silk Board, NSSP, United Mansions, 2nd Floor, 39, Mahatma Gandhi Road, Bangalore 560 001, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(8), 23-26. (E)

Trainers training programme - An effective tool for technical manpower generation.

Programme de formation des éducateurs - Un outil efficace pour générer la main d'oeuvre technique.

SUNDARESWARAN P., JOSEPH I., GOVINDAIAH, SUBBARAYAPPA C.T.

Central Seric. Research and Training Inst., Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(6), 26-29. (E)

Potato and maize as intercorps with mulberry.

Pommes de terre et maïs en cultures intercalées avec le mûrier.

SWAPAN KUMAR MANDAL.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bangal, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(6), 15-16. (E)

Silk culture and cultural silk.

Culture de la soie et soie culturelle.

TAO Y.

Sichuan Silk Industrial Research Institute, China.

1993 J. Zhejiang Inst. of Silk Textiles, Vol. 10(3), 14-20. (C,e)

Lacunae in Indian sericulture.

Les lacunes de la sériciculture en Inde.

THANGAVELU K.

National Silkworm Seed Project, Bangalore 560 001, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(4), 13-19. (E)

Establishment of new system to divide sericultural farm household. 1. Cultivating and harvesting method of high productive mulberry field for new system of cocoon production.

Etablissement d'un nouveau système de partage du personnel séricicole. 1. Méthode de culture et de récolte d'une mûraie à haut rendement pour un nouveau système de production de cocons.

TOMITA K., YONEDA M., AZUMI F., MEZAWA H., IIDA Y.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308 01, Japan.

1993 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 1, 6-16. (J)

Future of bivoltine sericulture in tropical countries.

L'avenir de la sériciculture bivoltine dans les pays tropicaux.

VIJAY PRAKASH SHARMA.

Regional Sericultural Research Station, Majra, Dehradun 248 171, Uttar Pradesh, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(5), 23-29. (E)

On the silk culture of Sichuan.

La sériciculture au Sichuan.

WANMING Z.

Sichuan Silk Corporation, China.

1993 J. Zhejiang Inst. of Silk Textiles, Vol. 10(3), 55-58. (C,e)

Preliminary discussion on the change of autumn rearing system from 3 times to 2 times.

Discussion préliminaire sur le changement du système d'élevage d'automne de trois à deux fois.

XUEMING Z.

1993 Bulletin of Sericulture, Vol. 24(2), 38-39. (C)

Silkworm rearing and cultural life in ancient China.

Elevage du ver à soie et vie culturelle dans la Chine ancienne.

YOULONG J.

Sericultural Research Institute, Zhejiang Academy of Agric. Sciences, Shi-Qiao Road, Hangzhou, Zhejiang Province, China.

1993 J. Zhejiang Inst. of Silk Textiles, Vol. 10(3), 1-6. (C,e)

Our opinion on the cocoon management system of Zhejiang Province and how to adapt to the socialist market economic.

Notre opinion sur le système de gestion des cocons dans la province du Zhejiang et comment l'adapter à l'économie de marché socialiste.

ZHIYUN Z. et al.

1993 Bulletin of Sericulture, Vol. 24(2), 22-24. (C)

The current situation of summer-autumn silkworm races in Zhejiang Province and some suggestions.

La situation actuelle des races de vers à soie d'été-automne dans la province du Zhejiang et quelques suggestions.

ZIXIU W. et al.

1993 Bulletin of Sericulture, Vol. 24(2), 8-10. (C)

Mûrier

Mulberry

Observation on the mating behaviour of the mulberry sucker, *Anomoneura mori* (Homoptera : Psyllidae).

Observation du comportement du suceur du mûrier *Anomoneura mori* (Homoptera : Psyllidae) lors de l'accouplement.

ARAI Y.

Research Division of Saitama Prefectural Chichibu Agric. & Forestry Promotion Center, Chichibu, Saitama 368, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(4), 297-302. (J,e)

Bio-technology : a new strategy for sustainable moriculture.

Biotechnologie : une nouvelle stratégie pour une moriculture viable.

CHAKRAVORTY D., SURYANARAYANA V.

National Sericulture Project, Central Silk Board, Akola 444 005, Maharashtra, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(6), 23-25. (E)

Studies on protoplast culture of mulberry suspension cells.

Etudes sur les cultures de protoplastes de cellules de mûriers en suspension.

CHEN A.Y., WANG Y., NI G.F.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Science, Zhenjiang 212 018, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(3), 135-138. (C,e)

Study on integrated character fuzzy evaluation of mulberry varieties.

Etude sur l'évaluation des caractères flous des variétés du mûrier.

FAN K.

Shandong Provincial Institute of Sericulture, Jinan, China.

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(3), 173-175. (C)

Studies on effect of Luyebao on increasing mulberry yield.

Etudes des effets de Luyebao sur l'augmentation du rendement du mûrier.

GONG L., REN D.J., DING J.F., XU J.Z., WANG Y. *et al.*

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212 018, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(3), 129-134. (C,e)

Efficacy of different doses of carbofuran on *Meloidogyne incognita*, infesting mulberry.

Efficacité du carbofurane à différentes doses sur *Meloidogyne incognita* qui infeste le mûrier.

GOVINDAIAH, DANDIN S.B., SHARMA D.D., DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 99-101. (E)

Identification of races of *Meloidogyne incognita*, infesting mulberry.

Identification des races de *Meloidogyne incognita* infestant le mûrier.

GOVINDAIAH, SHARMA D.D., BAJPAI A.K., DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 91-93. (E)

Dynamic participation of primary metabolites in the biosynthesis of chalconoracine and beta-sitosterol in *Morus alba* cell cultures.

Participation dynamique des métabolites fondamentaux dans la biosynthèse de la chalconoracine et du beta-sitostérol dans les cultures de cellules de *Morus alba*.

HANO Y., AYUKAWA A., NOMURA T.

Toho University, Funabashi, Chiba, Japan.

1992 *Naturwissenschaften*, Vol. 79(4), 180-182. (E)

Vegetative propagation of *Terminalia arjuna* Bedd. through auxins treated stem cuttings.

Propagation végétative de *Terminalia arjuna* Bedd. par des boutures traitées avec des auxines.

ISA Md., SRIVASTAVA D.P., GOEL A.K., THANGAVELU K.

Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi 835 303, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 115-116. (E)

Test of controlling the mulberry plaster disease with copper-ammonia combination agent.

Test de lutte contre la maladie du plâtre du mûrier avec un mélange cuivre et ammoniac.

JINSHONG X.

1993 *Bulletin of Sericulture*, Vol. 24(2), 47. (C)

The reasons for the occurrence of mulberry whitefly and agent screening test.

Les raisons de la présence de la mouche blanche du mûrier et test d'un agent sélectif.

JINSONG X., et al.

1993 *Bulletin of Sericulture*, Vol. 24(2), 45. (C)

Phenotypical characteristics and anodal peroxidase isozyme banding pattern of mulberry collected at the northwest of India.

Caractéristiques phénotypiques et spectre des bandes anodiques des isozymes de la peroxydase de mûriers provenant du nord-ouest de l'Inde.

KATAGIRI K., SAKAMOTO M.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 62(3), 228-230. (J)

Ex vitro rooting and acclimatization of mulberry shoots.

Racinement ex vitro et acclimatation des pousses de mûrier.

KATASE M.

Chiba Sericulture Center, Togane, Chiba 283, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 62(5), 420-427. (J,e)

Freezing preservation of the mulberry dwarf mycoplasma-like organisms in liquid nitrogen.

Conservation dans l'azote liquide des organismes analogues au mycoplasme du nanisme du mûrier.

KAWAKITA H.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 62(3), 238-242. (J)

On occurrence of yellow net vein disease on mulberry.

La présence de la maladie de la veine jaune chez le mûrier.

KOUL A., DEVI S.P., SINGH D.

Sericultural Substation, Jamnu, India.

1991 *Indian Phytopathology*, Vol. 44(1), 106-107. (E)

Studies on *in vitro* pollen germination and pollen tube elongation in *Heteropanax fragrans* L. (Araliaceae).

Etudes sur la germination *in vitro* du pollen et sur l'allongement du tube pollinique chez *Heteropanax fragrans* L. (Araliaceae).

KUMAR R., GARGI, PRASAD D.N.

Regional Sericultural Research Station, Jorhat 785 002, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 87-90. (E,f)

***In vitro* toxic effect of culture filtrate of *Trichoderma* species against *Fusarium pallidorozeum* causing leaf-blight in mulberry.**

Effet toxique *in vitro* du filtrat de cultures de l'espèce *Trichoderma* sur *Fusarium pallidorozeum* responsable de la flétrissure des feuilles chez le mûrier.

LATHA J., GOVINDAIAH, DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 121-123. (E)

***In vitro* flower-bud formation from immature leaf cultures in mulberry.**

Formation *in vitro* des bourgeons de fleurs à partir de cultures de feuilles de mûriers non matures.

MACHII H., YAMANOUCHI H.

National Institute of Agrobiological Resources, 2-1-2 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 62(5), 428-430. (J,e)

Twig blight and a new leaf spot disease of mulberry.

Flétrissure des brindilles et une nouvelle maladie de la tache chez le mûrier.

MANDAL S.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(3), 51-52. (E)

Effects of water, temperature and air pollution on mulberry.

Effets de l'eau, de la température et de la pollution de l'air sur le mûrier.

MANDAL S.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(3), 21-22. (E)

Non-infectious disease of mulberry.

Maladie non infectieuse du mûrier.

MANDAL S.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(5), 32-36. (E)

Towards understanding tukra and its management.

Vers la compréhension du tukra et son contrôle.

MANJUNATH D., PRADIP KUMAR, RAM KISHORE, SATHYA PRASAD K., *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(3), 6-9. (E)

Discussion on the damage losses and controlling index of mulberry looper, *Hemerophila atrilineata* Butler.

Discussion sur les dommages causés par *Hemerophila atrilineata* Butler sur le mûrier et les indices de lutte.

MINGER Z., *et al.*

1993 *Bulletin of Sericulture*, Vol. 24(2), 48-49. (C)

Methods of fertilizer application in mulberry gardens.

Méthodes d'utilisation des engrais dans les champs de mûriers.

MUNIRATHNAM REDDY M., SINHA A.K., SUBBASWAMY M.R.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(6), 13-14. (E)

Long-term storage of mulberry winter buds by cryopreservation.

Stockage à long terme des bourgeons hivernaux de mûriers par cryo-conservation.

NIINO T., KOYAMA A., SHIRATA K., OHUCHI S., SUZUKI M., SAKAI A.

National Institute of Agrobiological Resources, Shinjo, Yamagata 996, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(5), 431-434. (E)

Precautions to minimise mulberry diseases in rainy season.

Précautions à prendre pour diminuer les maladies des mûriers pendant la saison des pluies.

PHILIP T., GOVINDAIAH.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(3), 10-13. (E)

Effect of certain leaf extracts on hatching and mortality of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, infesting mulberry.

Effet de certains extraits de feuilles sur l'éclosion et la mortalité du nématode de la racine du mûrier *Meloidogyne incognita*.

PHILIP T., GOVINDAIAH, BAJPAI A.K., DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 37-41. (E,f)

Primary research on *Diaphana pyloalis* Walker's type of space distribution and sampling technique.

Recherche fondamentale sur la distribution dans l'espace et la technique d'échantillonnage de *Diaphana pyloalis* Walker.

QIAN X.M.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(3), 180-182. (C)

Relationship between leaf age and adventitious bud formation in immature leaf of mulberry.

Relation entre l'âge des feuilles et la formation des bourgeons adventifs chez les feuilles immatures de mûrier.

SAITO H.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(5), 435-436. (J)

Japanese system of mulberry breeding : crossing methodology.

Le système japonais de reproduction du mûrier : méthodologie du croisement.

SARKAR A., FUJITA H.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-10-1 Agata, Matsumoto 390, Japan.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(4), 5-8. (E)

Japanese system of mulberry breeding : second selection.

Le système japonais de sélection des mûriers : deuxième sélection.

SARKAR A., FUJITA H.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-10-1 Agata, Matsumoto, Japan.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(7), 23-27. (E)

Japanese system of mulberry breeding : first selection.

Le système japonais de culture du mûrier : première sélection.

SARKAR A., FUJITA H.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(5), 9-18. (E)

Occurence and management of *Episomus fugulus* Boheman : a serious pest of mulberry.

Présence et gestion d'*Episomus fugulus* Boheman, un parasite important du mûrier.

SARKAR J., BANERJEE K., SARKAR S., NANDI S.

Regional Sericultural Research Station, Mothabari, Malda, West Bengal, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(4), 20. (E)

To develop the good quality, large-yield and high efficiency moriculture in Zhejiang Province relying on the progress of science and technology.

Développer une moriculture très efficace, à un haut rendement et de bonne qualité dans la province du Zhejiang en s'appuyant sur les progrès de la science et de la technologie

SHOUKANG L.

1993 *Bulletin of Sericulture*, Vol. 24(2), 1-4. (C)

Post-infectional biochemical and physiological changes in mulberry.

Changements biochimiques et physiologiques post-infectieux chez le mûrier.

SHREE M.P., NATARAJA S.

Department of Sericulture, Bangalore University, Bangalore, Karnataka, India.

1993 *Current Science (India)*, Vol. 65(4), 337-341. (I,e)

***Pythium* damping off : a deadly disease of mulberry.**

Décomposition due à *Pythium* : une maladie mortelle du mûrier.

SINGH K.P., KABIR N.E.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(6), 45-47. (E)

Leaf CO₂ assimilation area and dry matter production in mulberry under water deficits.

Zone d'assimilation du CO₂ de la feuille et production de matière sèche chez le mûrier en période de manque d'eau.

SREENIVASULU REDDY P.

Regional Sericultral Research Station, P.B. No. 50, Ananthapur 515 001, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 119-120. (E)

Relation between chlorosis due to iron deficiency and activity of superoxide dismutase and membrane lipid peroxidation in mulberry leaves.

Relation entre la chlorose due à l'insuffisance de fer, l'activité de la superoxyde dismutase et la peroxydation des lipides membranaires dans les feuilles de mûriers.

SU G.X., CHEN X.S., SHI Q.L., YAO S.M.

Suzhou Sericultural College, Suzhou 215 151, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 198-202. (C,e)

Nutrient depletion in mulberry gardens.

Réduction des substances nutritives dans les mûraies.

SUBBASWAMY M.R., MUNIRATHNAM REDDY M., SINHA A.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(4), 21-22. (E)

Occurrence and control of Sucar jujuba Chu in mulberry field.

Présence et lutte contre Sucar jujuba Chu dans les mûraies.

SUN X.G.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 246-248. (C)**Conservation of soil and rain water in rainfed mulberry gardens.**

Conservation du sol et de l'eau dans les mûraies irriguées par la pluie.

SUSHEELAMMA B.N., KUMAR J.S.

Central Seric. Research and Training Inst., Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(7), 31-33. (E)**Lateral bud-burst and shoot growth in horizontally trained stems of low-pruned mulberry plants (*Morus alba* L.).**Ecllosion des bourgeons latéraux et croissance des pousses sur des tiges de mûrier en taille basse conduites horizontalement (*Morus alba* L.).

SUZUKI T.

Faculty of Textile Science, Kyoto Kogei-Sen-i University, Matsugasaki, Kyoto 606, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(4), 265-271. (J,e)**Bacterial leaf blight disease of mulberry.**

La maladie de la flétrissure bactérienne des feuilles de mûriers.

TEOTIA R.S., MANDAL S.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(6), 41-44. (E)**Studies on the pathogen of mulberry black spot and its disease cycle and control.**

Etudes sur le cycle de la maladie et lutte contre le pathogène de la tache noire du mûrier.

TIAN L.D., LI X.M.

Sericultural Research Inst., Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212 018, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 193-197. (C,e)**Relation between damage of trunk by *Xylotrechus chinensis* and loss of mulberry leaves.**Relation entre les dégâts causés sur les troncs par *Xylotrechus chinensis* et les chutes des feuilles de mûriers.

WANG S.G.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(3), 176-178. (C)**Plant regeneration from leaf mesophyll protoplast of *Morus alba*.**Régénération de plants à partir de protoplastes du mésophylle de la feuille de *Morus alba*.

WEI Z., XU Z., XU N.

Academia Sinica, Shanghai, China.

1992 *Plant Physiology Communication*, Vol. 28(4), 248-249. (C,e)**Studies on biological characters and control of *Diplosis mori* Yokoyama.**Etudes des caractères biologiques et lutte contre *Diplosis mori* Yokoyama.

XIA Y., CAI G.X., FAN L., ZHOU C.X., LI W.B., CHANG Z.Y., BAO C.Z.

Yancheng Sericultural Extension Station, Yancheng 224 700, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(3), 139-143. (C,e)**A kind of mulberry field pest in Qufu Aera yellowish Brown stink-bug, *Halyomorpha picus* Fabricius.**Un parasite des champs de mûriers dans la région de Qufu, la punaise des bois brun jaunâtre, *Halyomorpha picus* Fabricius.

XIUCAI L.

1993 *Bulletin of Sericulture*, Vol. 24(1), 58. (C)

Influence of Lacl3 water culture on growth of mulberry tree and its physiological effect.
Influence de Lacl3 sur la croissance des mûriers en culture hors sol et ses effets physiologiques.
XU L.C. *et al.*

1993 Canye Kexue, Vol. 19(4), 249-250. (C)

Why do some cuttings fail to root ?
Pourquoi certaines boutures ne font-elles pas de racines ?
YADAV G.S., GOSWAMI B.C.

National Sericultural Project, Central Silk Board, Brindavan Colony, Jagdalpur 494 001, Madhya Pradesh, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(4), 37-44. (E)

Grafting in Som - A new approach under intermittent mist conditions.
Greffage du Som - Une approche nouvelle pour des conditions de brumes intermittentes.
YADAV G.S., GOSWAMY B.C.

National Sericulture Project, Jagdalpur 499 401, Madhya Pradesh, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(3), 44-46. (E)

A system test method of *Diplosis mori* Yokoyama.
Une méthode pour tester systématiquement *Diplosis mori* Yokoyama.
YE X.H.

1993 Canye Kexue, Vol. 19(3), 179. (C)

Selective breeding of a new mulberry variety 707.
Reproduction sélective d'une nouvelle variété de mûriers 707.
ZHANG C.H. *et al.*

1993 Canye Kexue, Vol. 19(4), 242-243. (C)

B. mori : élevage, nutrition, pathologie

B. mori : rearing, feeding, pathology

Infection of a susceptible/nonsusceptible mosaic silkworm, *Bombyx mori*, with denonucleosis virus type-2 is not lethal.

L'infection du ver à soie *Bombyx mori* à mosaïque sensible ou non par le virus de type 2 de la denonucléose n'est pas mortelle.

ABE H., KOBAYASHI K., SHIMIDA T., YOKOYAMA T., MAEDA S., HAMANO K. *et al.*
Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo 183, Japan.
1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(5), 367-375. (J,e)

Detection of denonucleosis virus in the silkworm, *Bombyx mori*, from fecals specimens by a polymerase chain reaction.

Détection du virus de la denonucléose chez le ver à soie *Bombyx mori* dans les matières fécales par PCR.

ABE H., SHIMIDA T., KOBAYASHI K., MAEDA S., YOKOYAMA T., OSHIKI T. *et al.*
Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo 183, Japan.
1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(5), 376-381. (J,e)

Studies on the nutritional efficiency in silkworm, *Bombyx mori* L.

Etudes sur l'efficacité nutritionnelle chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

ANANTHA RAMAN K.V., BENCHAMIN K.V., MAGADUM S.B., REMADEVI O.K., DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 43-49. (E,f)

Monitoring of the appearance of the cytoplasmic polyhedrosis virus in the feces of the silkworm larvae associated with viral contamination of the rearing bed.

Surveillance de l'apparition du virus de la polyédrose cytoplasmique dans les matières fécales des larves de vers à soie associée à la contamination virale des claies.

ARAKAWA A.

Fukushima Sericultural Experiment Station, Yanagawa-machi, Date-gun, Fukushima 960-07, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(4), 319-324. (J,e)

Amplification and identification of cry II genes from *Bacillus thuringiensis* by PCR procedure.

Amplification et identification des gènes cry II de *Bacillus thuringiensis* par PCR.

ASANO S., BANDO H., IIZUKA T.

Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(3), 223-227. (J,e)

Identification of cry II genes in *Bacillus thuringiensis* isolates by the use of oligo-nucleotide DNA primers.

Identification des gènes cry II chez des isolats de *Bacillus thuringiensis* par utilisation d'amorces d'oligo-nucléotides.

ASANO S., BANDO H., KIKUTA H., IIZUKA T.

Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(3), 210-215. (J,e)

To prodicate the hybrid combination vigor by the method of comprehensive qualitative judgement.

Obtention d'une combinaison hybride vigoureuse par la méthode de jugement qualitatif global.

BOXIONG Z. *et al.*

1993 *Bulletin of Sericulture*, Vol. 24(2), 34-37. (C)

Effect of molting hormone feeding in 5th instar on the cocoon yield, quality and farmer's income.
Effet du nourrissage avec une hormone de mue au cinquième âge larvaire sur le rendement et la qualité du cocon et sur le revenu du fermier.

CAIGIN L. *et al.*

1993 *Bulletin of Sericulture*, Vol. 24(2), 27-28. (C)

A study on technical crux to raise capacity of cocoon drying.

Etude technique pour l'augmentation de la capacité des étouffoirs.

CHEN J.X.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 238-241. (C)

Impact of chawki rearing on crop performance.

Impact de l'élevage "chawki" sur le rendement de la récolte.

CHIKKANNA, SINGHVI N.R., KULKARNI V.S., SUBRAMANIAM R.K. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(7), 34-36. (E)

Trials on the control of *Dendrolimus spectabilis* with high concentrated spore of *Beauveria bassiana* cultured by nymph protein of oak silkworm.

Essai de lutte contre *Dendrolimus spectabilis* par une forte concentration de spores de *Beauveria bassiana* cultivées sur protéines de la nymphe du ver à soie du chêne.

CUI L., CHEN Y.

Jinzhou Municipality Station of Forest Pests Control, Liaoning, China.

1991 *Forest Science and Technology (China)*, Vol. 7, 22-25. (C)

Effects of using juvenile hormone mixed with molting hormone on silkworm development and silk production.

Effets de l'utilisation d'une hormone juvénile mélangée à une hormone de mue sur le développement du ver à soie et la production de soie.

CUI W.Z. *et al.*

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 236-238. (C)

Studies on the dietary efficiency of the silkworm, *Bombyx mori* L. I : On the physiological factors of the leaf-silk ratio.

Etudes sur l'efficacité du régime alimentaire du ver à soie *Bombyx mori* L. I : Les facteurs physiologiques du rapport feuille - soie.

DING N.

Huzhou Institute of Sericulture, Zhejiang, China.

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(4), 193-199. (C,e)

Selective methodology and its efficiency for improving resistance to nuclear polyhedrosis virus.
Méthodologie sélective et son efficacité pour l'amélioration de la résistance au virus de la polyédrose nucléaire.

DUAN J.

Anhui Agricultural College, Hefei, China.

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(2), 80-83. (C,e)

Breeding of virus resistant silkworm and the heredity.

Sélection de vers à soie résistants au virus et hérédité.

EGUCHI R.

1993 *Kagaku to Seibutsu*, Vol. 31(1), 9-10. (E)

Penitrem A, as a convulsive factor against silkworm, from *Penicillium simplicissimum* AK40.

Penitrem A extrait de *Penicillium simplicissimum* AK40, un facteur convulsif contre le ver à soie.

HAYASHI H., ASABU Y., MURAO S., NAKAYAMA M., ARAI M.

1993 *Chem. Express*, Vol. 8(3), 177-180. (E)

Breeding of the silkworm varieties for summer and autumn rearing and their hybrids.

Sélection des variétés de vers à soie et de leurs hybrides pour les élevages d'été et d'automne.

HE Y., SIMA Y.

Suzhou Institute of Sericulture, Jiangsu, China.

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(4), 200-207. (C,e)

Breeding of Bunongjam, a high silk yielding silkworm variety for spring rearing season.

Sélection de Bunongjam, une variété de ver à soie à haut rendement pour l'élevage de printemps.

HONG K.W., HWANG S.J., RYU K.S., CHOI S.R., KIM K.Y., LEE S.P.

Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1992 *Research Reports of the Rural Development Administration*, Vol. 34(1), 30-35. (K,e)

Study on control over bacterial septicaemia of silkworm, *Bombyx mori* with Ke Can Jun.

Etude sur la lutte contre la septicémie bactérienne chez le ver à soie *Bombyx mori* avec le Ke Can Jun.

HUANG K.W.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 234-236. (C)

Thermal inhibition of viral disease in the silkworm, *Bombyx mori* L.

Inhibition thermique d'une maladie virale chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

KOBAYASHI M., CHAEYCHOMSRI S.

Laboratory of Sericultural Science, School of Agriculture, Nagoya University, Chikusa, Nagoya 464-01, Japan.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 1-7. (E)

Studies on the efficiency of selection for improving technological characters of cocoon filament of *Bombyx mori* L.

Etudes sur l'efficacité de la sélection pour l'amélioration des caractères technologiques du filament du cocon de *Bombyx mori* L.

LIU Q.

Chinese Academy of Agricultural Sciences, Institute of Sericulture, Zhenjiang, Jiangsu, China.

1991 *Canye Kexue*, Vol. 17(2), 75-79. (C,e)

Breeding of a fluoride-resisting variety 86A.86B X 54A.

Sélection d'une variété résistante au fluorure, 86A.86B X 54A.

LIU Q.X. et al.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 232-234. (C)

Studies of fluoride toxicity in cultured silkworm embryo cells.

Etudes de la toxicité du fluorure dans les cultures de cellules embryonnaires de vers à soie.

LÜ S.L., GU G.D., XU J.L., MATSUMOTO T., HASHIMOTO Y.

Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310 029, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 217-221. (C,e)

Control of the number of cocoons transferred in three-steps to a cocoon supplier.

Contrôle du nombre de cocons transférés en trois temps à un délivreur de cocons.

LUN B., YAPING Y., SHIMAZAKI A.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda 386, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(5), 397-404. (J,e)

Study manufacture and application of a new kind of anti-bacterium agent 'Canjunqing' for silkworm.

Etude de la production et de l'application d'un nouvel agent anti-bactérien "Canjunqing" pour le ver à soie.

MIAOCHUN Y. *et al.*

1993 *Bulletin of Sericulture*, Vol. 24(2), 11-16. (C)

Purification and partial characterization of antiviral protein in silkworm, *Bombyx mori*.

Purification et caractérisation partielle de la protéine antivirale chez le ver à soie *Bombyx mori*.

NAGARAJA SETHURAMAN B., NAGARAJU J., DATTA R.K.

Seribiotech Research Laboratory, N 8, West of Chord Road, Bangalore 560 086, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 63-67. (E,f)

Yield gaps - A major prodigium in sericulture.

Ecart de rendements - Un problème majeur en sériciculture.

NAGARAJU J., RAMA MOHAN RAO P., DATTA R.K.

Seri-Bio-Technology Laboratory, Bangalore 560 001, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(4), 11-12. (E)

Localization of DNV infection in the midgut of the silkworm, *Bombyx mori*.

Localisation de l'infestation par le virus de la denonnucléose dans l'intestin moyen du ver à soie *Bombyx mori*.

NAKAGAKI M., TSUDA H., KAJIURA Z., TAKEI R.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda 386, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(5), 405-411. (J,e)

Comparative toxicity and infectivity titer of *Bacillus thuringiensis* strains to silkworm, *Bombyx mori* L.

Toxicité comparative et titre d'infectiosité de différentes souches de *Bacillus thuringiensis* sur le ver à soie *Bombyx mori* L.

NATARAJU B., BAIG M., BALAVENKATA SUBBBAIAH M., VENKATA REDDY S. *et al.*

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 103-105. (E)

Some modern strategies against Uzi menace.

Des stratégies modernes pour la lutte contre la menace de la mouche Uzi.

NIRAJAN KUMAR, THANGAVELU K.

Centra Sericultural Research and Training Institute, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(6), 34-36. (E)

Japanese uzy fly and its management.

La mouche japonaise uzy et sa gestion.

PATIL G.M., KULKARNI K.A., LINGAPPA S.

Department of Agricultural Entomology, University of Agricultural Sciences, Dharwad, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(3), 23-26. (E)

In vitro flowering and fertilization for mulberry breeding.

Floraison et fécondation *in vitro* pour la sélection du mûrier.

PRATAP NARAYAN, RAGHUNATH M.K., CHAKRABORTI S.P., SEN S.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(8), 27-28. (E)

Detection of pebrine by a simple staining technique.

Détection de la pébrine par une technique simple de coloration.

PROMOD KUMAR SINGH.

Regional Muga Research Station, Boko, Kamrup, Assam, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(4), 48-49. (E)

Studies and popularization of cubic disinfection pool.

Etudes et popularisation d'un bac de désinfection cubique.

PUCAN L. *et al.*

1993 *Bulletin of Sericulture*, Vol. 24(2), 17-20. (C)

***Aspergillus flavipes* - a serious disease in grainages.**

Aspergillus flavipes : une maladie sérieuse dans les stations de grainages.

PUZARI K.C., HAZARIKA L.K.

Mycology Research Section, Assam Agricultural University, Jorhat, Assam, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(8), 33-34. (E)

Studies on the seasonal incidence of the mealy bug (*Maconellicoccus hirsutus* Green) causing 'Tukra' on mulberry in West Bengal.

Etudes sur l'incidence saisonnière de l'aleurode (*Maconellicoccus hirsutus* Green) responsable de la "Tukra" du mûrier dans le Bengale Occidental.

RAO A.A., TEOTIA R.S., CHAUBAN S.S., CHAKRABORTY S., SUBBA RAO G.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 111-113. (E)

Role of population density in bivoltine rearing.

Rôle de la densité de population dans l'élevage bivoltin.

ROYCHOUDHURY N., GHOSH M.K., RITA BASU, SHASUDDIN M.

Forest Entomology Division, T.R.F.I., Jabalpur, Madhya Pradesh, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(4), 9-10. (E)

Comparison of *Fusarium lateritium* and *Fusarium roseum* 'Graminearum' growth rate due to some nitrogenous sources.

Comparaison du taux de croissance de *Fusarium lateritium* et *Fusarium roseum* "Graminearum" en fonction des sources d'azote.

SAITO H., FUKAZAWA H., YANAGISAWA K., CHINO S.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 62(4), 335-338. (J)

Bleaching powder : an effective disinfectant in sericulture.

La poudre à blanchir : un désinfectant efficace en sériciculture.

SASIDHARAN T.O., SAMSON M.V.

Silkworm Seed Technology Laboratory, Kodathi, Bangalore, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(8), 20-22. (E)

Effects of new antiseptics on an artificial diet for silkworms available on the market.

Effets de nouveaux antiseptiques sur un aliment artificiel pour les vers à soie disponible sur le marché.

SEOL K.Y.

Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1992 Research Reports of the Rural Development Administration, Vol. 34(2), 49-52. (K,e)

A simple device to maintain temperature and humidity in rearing house.

Un moyen simple pour maintenir la température et l'humidité dans les magnaneries.

SHIVAKUMAR G.R., MADHAVA RAO Y.R., HIMANTHARAJ M.T., DATTA R.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(8), 45-46. (E)

Faecal examination for pebrine detection.

Examen des matières fécales pour la détection de pébrine.

SHUKLA R.M., BANSAL S.K., SAXENA N.N., THANGAVELU K.

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(4), 45. (E)

Economically viable mountage.

Encabanage économiquement viable.

TAKIZAWA H., VIJAYALAKSHMI RAO, VEMANANDA REDDY G.

Silkworm Seed Technology Laboratory, Carmelram Post, Bangalore 35, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(3), 32-33. (E)

Improved local variety is also suitable for better cocoon production.

La variété locale améliorée donne une meilleure production de cocons.

TIKADER A.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(3), 34-36. (E)

Effect of feeding fungus infected mulberry leaves on the commercial characters of silkworm (*Bombyx mori* L.).

Effet du nourrissage avec des feuilles de mûriers infestées par un champignon sur les caractères commerciaux du ver à soie (*Bombyx mori* L.).

UMESH KUMAR N.N., SHARMA D.D., SHREE M.P.

Department of Sericulture, Bangalore University, Bangalore 560 009, India.

1993 Indian J. Seric., Vol. 32(1), 107-109. (E)

Transportation boxes for silkworm eggs.

Boîtes de transport pour les oeufs de vers à soie.

VINEET KUMAR, MATHUR V.B., RAJAN R.K., DATTA R.K.

Central Seric. Research and Training Inst., Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(3), 30-31. (E)

Comparative test of the specific property of the races 'Quinshong' 'Hoa yu' in different areas.

Test comparatif des propriétés spécifiques des races "Quinshong" et "Hoa Yu" en différents lieux.

ZHANGE W. *et al.*

1993 Bulletin of Sericulture, Vol. 24(2), 40-43. (C)

Studies on practicality of long time preserved eggs of silkworm, *Bombyx mori*.

Etudes sur la manipulation des oeufs de vers à soie *Bombyx mori* conservés pendant des temps longs.

ZHU J., XU S.Q., CHEN C.I., DAI Y.J.

Suzhou Sericultural College, Suzhou 215 151, China.

1993 Canye Kexue, Vol. 19(3), 144-148. (C,e)

Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology

Outdoor chawki rearing of *A. mylitta* D. on dwarf bushes of *T. arjuna*.

Elevage en plein air des jeunes larves d'*A. mylitta* D. sur des buissons nains de *T. arjuna*.

ALAM M.O., SWAIN S.K., SIT S.C., SURESH M.R.

Regional Extension Center, C.T.R. & T.I., P.O. Bangriposi 757 032, District Majurbanj, Orissa, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(6), 37-40. (E)

Concept of photoperiodism in tasar silkworm.

Concept du photopériodisme chez le ver à soie tasar.

ALOK SAHAY, THANGAVELU K.

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(3), 18-20. (E)

Scientific inference to the traditional muga rearing.

Inférence scientifique sur l'élevage traditionnel du muga.

BHATTACHARYA A., SAIKIA S., GOSWAMI D.

Central Silk Board, MSDP, Meghalaya, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(8), 35-41. (E)

Muga : causes of variation in rearing performance.

Muga : les causes des variations de rendement des élevages.

GOSWAMI D.

Muga Seed Development Project, P-4 Unit, Nongpoh, Meghalaya, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(5), 37-38. (E)

Cricula - a wild silkworm of Kishanganj.

Cricula, un ver à soie sauvage de Kishanganj.

GUPTA B.K., CHATTERJEE K.K., HEMBRAM I.

National Sericulture Project, Kishanganj, Bihar, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(7), 48. (E)

Effect of coupling duration on fecundity and hatchability of *Antheraea proylei* J. eggs.

Effets de la durée de l'accouplement sur la fécondité et l'éclosion des œufs d'*Antheraea proylei* J.

MAURYA K.R., MISHRA P.N.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(3), 49-50. (E)

Sex association in double cocoons of the tasar silkworm, *Antheraea pernyi* G.

Association des sexes dans les cocons doubles du ver à soie tasar *Antheraea pernyi* G.

MAYA L.A.

Department of General Entomology and Zoology, Ukrainian Agricultural Academy, Kiev, Ukraine.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 117-118. (E)

Insects pests of muga silkworms and their management.

Les insectes parasites des vers à soie muga et leur gestion.

NEGI B.K., SIDDIQUI A.A., SENGUPTA A.K.

Regional Muga Research Station, Boko 781 123, Assam, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(3), 37-38. (E)

Strategies in egg protection in tasar culture.

Stratégies pour la protection des oeufs dans l'élevage du tasar.

NIRAJAN KUMAR, THANGAVELU K.

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(4), 29-31. (E)

Genetic reserves of *Antheraea mylitta* Drury.

Réserves génétiques d'*Antheraea mylitta* Drury.

SENGUPTA A.K., AJIT KUMAR SIHNA, SENGUPTA K.

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(5), 39-46. (E)

Preliminary report on stereoscopic rearing of *Antheraea yamamai*.

Etude préliminaire sur l'élevage stéréoscopique d'*Antheraea yamamai*.

SHEN X.X. *et al.*

1993 Canye Kexue, Vol. 19(3), 174-175. (C)

Hybrid performance of tasar in field.

Rendement d'un hybride tasar sur le terrain.

SIDDIQUI A.A., SENGUPTA A.K.

Regional Muga Research Station, Boko 781 123, Assam, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(3), 39-42. (E)

Changing role of insecticides in tasar culture.

Changement du rôle des insecticides dans l'élevage du tasar.

SINGH R.N., BAJPAI C.M., KULSHRESTHA V., THANGAVELU K.

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(3), 47-48. (E)

An ecological approach to control insects in tasar culture.

Une approche écologique de lutte contre les insectes dans l'élevage du tasar.

SINGH R.N., BAJPAYEE C.M., THANGAVELU K.

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(3), 4-5. (E)

Neem to control pests of tasar.

Le margousier pour lutter contre les nuisibles du tasar.

SINGH R.N., KARNAN P., KULSHRESTHA V., SINHA S.S.

Central Tasar Research and Training Institute, Post Hehal, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(8), 42-44. (E)

Studies on the biology of *Blepharipa zebina* Walker (Diptera : Tachinidae), a parasitoid of *Antheraea mylitta* Drury.

Etudes sur la biologie de *Blepharipa zebina* Walker (Diptera : Tachinidae), un parasite d'*Antheraea mylitta* Drury.

SINGH R.N., MANDAL K.C., SINHA S.S.

Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 Indian J. Seric., Vol. 32(1), 15-19. (E,f)

Insect pests of oak and their impact on oak tasar culture.

Les insectes nuisibles au chêne et leur impact sur l'élevage du tasar du chêne.

SUDHAKARA RAO P., PRASAD B.

P2 Basic Seed Farm, Horsley Hills, Andhra Pradesh, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(6), 48-50. (E)

Seed production trend in tropical tasar.

La tendance du grainage chez le tasar tropical.

THANGAVELU K., SINGH K.N., BHAT M.M.

Central Tasar Research and Training Institute, Post Hehal, Ranchi 834 005, Bihar, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(8), 29-32. (E)

Effects of defoliation on growth of *Quercus actuissima* Carr.

Effets de la défoliation sur la croissance de *Quercus actuissima* Carr.

WEN D.Z. *et al.*

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 251-252. (C)

Effect of environmental conditions on natural susceptibility of chinese oak silkworm to nuclear polyhedrosis virus.

Effet de l'environnement sur la sensibilité naturelle du ver à soie du chêne chinois au virus de la polyédrose nucléaire.

ZHOU H.M., YONG Z.Q.

Yunyang Sericultural Experiment Station of Henan Province, Yunyang 474 676, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 208-212. (C,e)

Vers à soie : génétique

Silkworms : genetics

Genetic variability in mulberry silkworm, *Bombyx mori* L., breeds with low silk yield.

Variabilité génétique des races de *Bombyx mori* L. qui produisent peu de soie.

CHATTERJEE S.N., RAMA MOHANA RAO P., JAYASWAL K.P., SINGH R., DATTA R.K.
Central Sericultural Research and Training Institute, Silkworm Breeding Laboratory,
Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 69-86. (E,f)

Structural and functional analysis of chorion genes sequences of the silkworm, *Bombyx mori*.

Analyse structurelle et fonctionnelle des séquences des gènes du chorion du papillon *Bombyx mori*.
FOTAKI M.E.

1989 *University of Calgary, AB Canada.*

A cytoplasmic actin gene from the silkworm, *Bombyx mori* is expressed in tissues of endodermal origin and previtellogenic cells of transgenic *Drosophila*.

L'actine cytoplasmique du ver à soie *Bombyx mori* est exprimé dans les tissus d'origine endodermique et dans les cellules prévitellogéniques de la *Drosophile* transgénique.

HORARD B., BELLO B., ABRAHAM E.G., COULON-BUBLEX M., GAREL A., MOUNIER N.
Centre de Génétique Moléculaire et Cellulaire, Université C. Bernard, Villeurbanne, France.

1993 *Insect Molecular Biology*, Vol. 2(3), 179-183. (E)

Expression of the characteristics of the giant egg gene in the dominant trimolter of *Bombyx mori*.

Expression des caractéristiques du gène "oeuf géant" chez le ver trimuant dominant de *Bombyx mori*.
KAWAGUCHI Y., ONO S., BANNO Y., KOGA K., FUJII H.

Faculty of Agriculture, Kyushu University, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(4), 292-296. (J,e)

Studies on the genetic effect of cocoon filament neatness.

Etudes de l'effet génétique sur la netteté du filament du cocon.

KERONG H. *et al.*

1993 *Bulletin of Sericulture*, Vol. 24(2), 31-33. (C)

Transposable elements in commercially useful insects. I. Southern hybridization study of silkworms and honeybees using *Drosophila* probes.

Éléments transposables chez des insectes d'intérêt commercial. I. Etude par hybridation Southern de vers à soie et d'abeilles en utilisant des sondes de *Drosophile*.

KIMURA K., OKUMURA T., NINAKI O., KIDWELL M.G., SUZUKI K.

Apiculture Laboratory, Department of Animal Genetics, National Institute of Animal Industry,
Tsukuba Norin Danchi PO Box 5, Ibaraki 305, Japan.

1993 *Jpn J. Genet.*, Vol. 68, 63-71. (E)

Three copies of the early gene 6F6 are interspersed in and around the late chorion gene cluster of *Bombyx mori*.

Trois copies du gène précoce 6F6 sont insérées dans et autour du cluster du gène du chorion tardif chez *Bombyx mori*.

LECANIDOU R., RODAKIS G.C

Department of Biochemistry, Cellular and Molecular Biology and Genetics, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01, Greece.

1992 *J. Mol. Evol.*, Vol. 34, 304-314. (E)

Muscle actin genes in insects.

Les gènes de l'actine musculaire chez les insectes.

MOUNIER N., SPARROW J.C.

Centre de Génétique Moléculaire et Cellulaire, Université Lyon I, 43 boulevard du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France.

1993 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 105B(2), 231-238. (E)

The possible evolutionary significance of repeat elements near and within an early chorion gene in the late chorion locus of *Bombyx mori*.

La signification évolutionniste possible des éléments répétés près et à l'intérieur d'un gène précoce du chorion dans le locus du gène tardif du chorion chez *Bombyx mori*.

RODAKIS G.C., LECANIDOU R.

Department of Biochemistry, Cellular and Molecular Biology and Genetics, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01, Greece.

1992 *J. Mol. Evol.*, Vol. 34, 315-323. (E)

Genetical identification of mutant characters in silkworm stocks. VI. Oily skin character in mutant stocks.

Identification génétique des caractères mutants dans les souches vers à soie. VI. Caractère "peau huileuse".

SHIMIZU K., FUJIMORI H., SORITA S.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 62(3), 183-186. (J,e)

Polymorphic cDNAs encode for the methionine-rich storage protein from *Manduca sexta*.

Des ADNc polymorphiques codent pour la protéine de réserve riche en méthionine de *Manduca sexta*.

WANG X.Y., FROHLICH D.R., WELLS M.A.

Department of Biochemistry and Center for Insect Science, BioSciences West, University of Arizona, Tucson, Arizona, U.S.A.

1993 *Insect Molecular Biology*, Vol. 2(1), 13-20. (E)

The gene determining the polygonal pattern size (Pgd) is independant of the gene determining the egg size (Esd).

Le gène déterminant la taille des motifs polygonaux (Pgd) est indépendant du gène déterminant la taille des oeufs (Esd).

YAMAMURA Y., SAHARA K., KAWAMURA N., IIZUKA T.

Laboratory of Applied Molecular Entomology, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 62(3), 195-199. (J,e)

Replication of AcNPV and foreign gene expression of recombinant AcNPV in silkworm pupa.

Réplication du AcNPV et expression d'un gène étranger à partir du AcNPV recombinant dans la chrysalide du ver à soie.

ZHANG Z.F., HE J.L., ZHOU N.M., HUA G., WU X.F.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212 018, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 203-207. (C,e)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms : physiology, biochemistry

Hemolymph proteins during larval development of *Bombyx mori* : 'Proteins of young larvae'.
Protéines de l'hémolymph au cours du développement larvaire de *Bombyx mori* : "Protéines des jeunes larves".

BANNO Y., TOCHIHARA S., KAWAGUCHI Y., DOIRA H.

Faculty of Agriculture, Kyushu University, Higashi-Ku, Fukuoka 812, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(3), 187-194. (J,e)

Role of the integument in insect immunity : Epicuticular abrasion and induction of cecropin synthesis in cuticular epithelial cells.

Rôle du tégument dans l'immunité des insectes : abrasion épicuticulaire et induction de la synthèse de la cécropine dans les cellules épithéliales cuticulaires.

BREY P.T., LEE W.J., YAMAKAWA M., KOIZUMI Y., PERROT S., ASHIDA M. *et al.*

Biochemistry Laboratory, Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

1993 *Proc. Natl Acad. Sci.*, Vol. 90, 6275-6279. (E)

Site-directed mutations in a highly conserved region of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin affect inhibition of short circuit current across *Bombyx mori* midguts.

Les mutations ciblées dans une partie hautement préservée de l'endotoxine-delta de *Bacillus thuringiensis* affectent l'inhibition du circuit court de transfert à travers les intestins moyens de *Bombyx mori*.

CHEN X.J., LEE M.K., DEAN D.H.

Department of Biochemistry, Ohio State University, Columbus, OH 43210-1292, USA.

1993 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 90, 9041-9045. (E)

Effect of fenoxycarb application on the pupal-adult development of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effet de l'application de fénoxycarbe sur le développement crysalide- adulte chez le ver à soie *Bombyx mori*.

DEDÓS S.G., ASAHINA M., FUGO H.

Department of Environmental Science and Resources, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu-shi, Tokyo 183, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(4), 276-285. (J,e)

Studies on effect of insect hormones on growth and development of silkworm and their interrelation.

Etudes sur l'effet des hormones d'insectes sur la croissance et le développement du ver à soie et leur interaction.

GUI Z.Z., ZHUANG D.H., XIANG M.H.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212 018, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(4), 213-216. (C,e)

A neuroendocrine factor essential for cuticular melanization in the tobacco horworm, *Manduca sexta*.

Un facteur neuroendocrinien essentiel pour la mélanisation cuticulaire du Sphinx du tabac *Manduca sexta*.

HIRUMA K., NORMAN A., RIDDIFORD L.M.

Department of Zoology, University of Washington, Seattle, WA 98195, U.S.A.

1993 *J. Insect Physiol.*, Vol. 39(4), 353-360. (E)

Change of progesterone-like content in silkworm, *Bombyx mori*.

Variation du contenu en simili-progesterone chez le ver à soie *Bombyx mori*.

HUA G. *et al.*

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(3), 172-173. (C)

Induction of antibacterial protein synthesis by soluble peptidoglycan in isolated fat body from larvae of the silkworm, *Bombyx mori*.

Induction de la synthèse de protéine antibactérienne par du peptidoglycane soluble dans le corps adipeux isolé des larves du ver à soie *Bombyx mori*.

IKETANI M., MORISHIMA I.

Laboratory of Metabolic Biochemistry, Faculty of Agriculture, Tottori University, Tottori 680, Japan.

1993 *Insect Biochem. Molec. Biol.*, Vol. 23(8), 913-917. (E)

A method for measuring the spinning speed of silkworms.

Une méthode pour mesurer la vitesse de filage des vers à soie.

MIURA M., TAKAHASHI E., SUGIYAMA H., MORIKAWA H.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, 3-15-1 Tokida, Ueda 386, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(5), 382-391. (J,e)

Effect of age at mating on the ovoposition, fertility and longevity of female silkmoth, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae).

Effet de l'âge d'accouplement sur l'oviposition, la fertilité et la longévité de la femelle du ver à soie *Bombyx mori* L.

PAUL D.C., KISHOR KUMAR C.M., SEN S.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore 742 101, West Bengal, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 21-25. (E,f)

Studies on ricinine in silkworm feces.

Etudes sur la ricinine dans les matières fécales des vers à soie.

RONG T.Y., HE T.Y., HE J.L., HUANG Z.R.

South China Agricultural University, Guangzhou 510 642, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(3), 162-166. (C,e)

Chemistry, structure and mode of action of ecdysteroids in silkworm, *Bombyx mori* L.

Chimie, structure et mode d'actions des ecdystéroïdes chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

ROYCHOUDHURY N., RITA BASU, SHAMSUDDIN M.

Forest Entomology Division, T.F.R.I., Jabalpur 482 021, Madhya Pradesh, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(3), 43. (E)

Studies on free amino acids, proteins, carbohydrates and phosphorus compounds in the tissue extracts of moths of temperate tasar silkworm, *Antheraea proylei* J.

Etudes sur les acides aminés libres, les protéines, les hydrates de carbone et les composés phosphorés dans les extraits de tissus des papillons d'*Antheraea proylei* J.

SINHA U.S.P., SINHA A.K.

Central Tasar Research and Training Institute, Central Silk Board, Nagri, Ranchi 835 303, Bihar, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 95-97. (E)

Photoperiodic and circadian control of adult eclosion in *Bombyx mori* L.

Contrôle photopériodique et circadien de l'émergence chez *Bombyx mori* L.

SIVARAMI REDDY N., PAVAN KUMAR T., MURALI MOHAN P., SASIRA BABU K.
Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura,
Mysore 570 008, India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 51-61. (E,f)

mRNAs of wing epidermis of the oak silkworm *Antheraea polyphemus* and other silkmoths during pupal development.

ARNms de l'épiderme des ailes du papillon du ver à soie du chêne *Antheraea polyphemus* et d'autres papillons de vers à soie au cours du développement de la chrysalide.

SRIDHARA S.

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Texas Tech University, Health Sciences Center,
Lubbock, TX 79430, U.S.A.

1993 *Insect Biochem. Molec. Biol.*, Vol. 23(5), 631-641. (E)

Further analysis of the cuticular proteins of the oak silkworm and other insects.

Nouvelles analyses des protéines cuticulaires du papillon du ver à soie du chêne et d'autres insectes.

SRIDHARA S.

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Texas Tech University Health Sciences Center,
3601 Fourth Street, Lubbock, TX 79430, USA.

1994 *Insect Biochem. Molec. Biol.*, Vol. 24(1), 1-12. (E)

Differential sensitivity of three bivoltine races of silkworm, *Bombyx mori* L. to gamma radiation.

Sensibilité différentielle au rayonnement gamma de trois races bivoltines du ver à soie *Bombyx mori* L.

SUBRAMANYA G., VIJAYAN V.A., KRISHNAMURTHY N.B.

Sericulture Section, Departement of Studies in Zoology, University of Mysore, Mysore 570 006,
India.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 9-13. (E,f)

Developmental changes in urea in the haemolymph (determined by a urease-indophenol method) in hybrid strains of the silkworm, *Bombyx mori* and the effect of starvation in the 5th instar larvae, fed an artificial diet, on urea level in subsequent dypt.

Variations de l'urée dans l'hémolymphe d'hybrides du ver à soie *Bombyx mori* (déterminées par la méthode uréase-indophénol) et les effets du jeûne des larves du 5^e âge, élevées sur milieu artificiel, sur le taux d'urée dans leur développement futur.

SUMIDA M., HAGA K., TANAKA Y., SHIMABUKURO J., ICHIDA M., MATSUBARA F.

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Kyoto 606, Japan.

1993 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 105A(3), 563-570. (E)

Effect of fluoride on activity of (Ca +, Mg +)-ATPase in larval midguts of silkworm, *Bombyx mori*.

Effet du fluorure sur l'activité de l'ATPase-(Ca +, Mg +) dans l'intestin moyen de la larve du ver à soie *Bombyx mori*.

ZANG R.C., LU S.L., XU J.L., ZHAO Y.F., LING B.B.

Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310 029, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(3), 155-161. (C,e)

Metabolic fate of ecdysteroids in larval *Bombyx mori* and *Heliothis virescens*.

Sort métabolique des ecdystéroïdes chez les larves de *Bombyx mori* et d'*Heliothis virescens*.

ZHANG M., KUBO I.

Division of Entomology and Parasitology, College of Natural Resources, University of California,
Berkeley, CA 94720, U.S.A.

1993 *Insect Biochem. Molec. Biol.*, Vol. 23(7), 831-843. (E)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworms : eggs, embryology

To raise the separation rate of abnormal eggs through lowering the humidity of eggs drying room.

Augmenter le taux d'élimination des oeufs anormaux par la baisse de l'humidité dans le séchoir à graines.

BINRONG Z.

1993 Bulletin of Sericulture, Vol. 24(2), 44. (C)

Vitellin and egg-specific protein as metal-binding proteins of the silkworm, *Bombyx mori*.

Vitelline et protéine spécifique de l'oeuf, protéines fixatrices de métaux chez le ver à soie *Bombyx mori*.

NIIMI T., YOSHIMI T., YAMASHITA O.

Laboratory of Sericultural Science, School of Agriculture, Nagoya University, Chikusa, Nagoya 464-01, Japan.

1993 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 62(4), 310-318. (E)

Factors influencing the diapause : a brief account.

Les facteurs influençant la diapause : un bref exposé.

SINGH G.P., VINOD B., MATHUR, KAMBLE C.K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(4), 32-33. (E)

Assay of the ionchannel in eggs of silkworm, *Bombyx mori*, at the early stage of development.

Mesure du canal ionique dans les oeufs de vers à soie *Bombyx mori* au stade précoce de développement.

TOSHIMA Y.

1993 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 62(4), 329-331. (J)

Relationship between the maturity of mother moths and the amount of laid eggs.

Relations entre la maturité des papillons femelles et la quantité d'oeufs pondus.

WEIXING F. *et al.*

1993 Bulletin of Sericulture, Vol. 24(2), 29-30. (C)

Silkworm voltinism.

Le voltinisme du ver à soie.

YADAV P.R.

Silkworm Seed Technology Laboratory, Kodathi, Bangalore 560 001, India.

1993 Indian Silk, Vol. 32(4), 26-28. (E)

Scanning electron micrographs of embryo development of silkworm, *Bombyx mori*.

Micrographies électroniques à balayage du développement embryonnaire du ver à soie *Bombyx mori*.

YU S.Y. *et al.*

1993 Canye Kexue, Vol. 19(4), 222-228. (C)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms : silk glands

Molecular cloning of a POU domain-containing factor involved in the regulation of the *Bombyx* sericin-1 gene.

Clonage moléculaire d'un facteur contenant le domaine POU impliqué dans la régulation du gène de la séricine-1 chez *Bombyx*.

FUKUTA M., MATSUNO K., HUI C.C., NAGATA T., TAKIYA S., SUZUKI Y. *et al.*

Natl Inst. for Basic Biol. and Graduate Univ. for Advanced Studies, Myodaiji, Okazaki 444, Japan.
1993 *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 268(26), 19471-19475. (E)

Isolation and characterization of DNA polymerase epsilon from the silk glands of *Bombyx mori*.
Isolement et caractérisation de l'ADN polymérase-epsilon des glandes séricigènes de *Bombyx mori*.

SOMASHEKARAPPA NIRANJANAKUMARI, GOPINATHAN K.P.

Microbiology and Cell Biology Department and Centre for Genetic Engineering, Indian Institute of Science, Bangalore 560 012, India.

1993 *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 268(21), 15557-15564. (E)

Fibroinase from silk gland in the fourth molt stage in the silkworm, *Bombyx mori*.

Fibroïnase de la glande séricigène au stade de la quatrième mue chez le ver à soie *Bombyx mori*.

SUMIDA M., TAKIMOTO S., MATSUBARA F.

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Kyoto 606, Japan.

1993 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 105B(2), 247-251. (E)

Occurrence of fibroinase in degenerating silk gland in the pharate adult of the silkworm, *Bombyx mori*.

Présence de fibroïnase dans la glande séricigène en dégénérescence chez le pré-imago du ver à soie *Bombyx mori*.

SUMIDA M., TAKIMOTO S., UKAI M., MATSUBARA F.

Department of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki, Kyoto 606, Japan.

1993 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 105B(2), 234-245. (E)

Immunological identification of the major disulfide-linked light component of silk fibroin.

Identification immunologique du principal composant léger de la fibroïne de soie lié par des ponts disulfures.

TANAKA K., MORI K., MIZUNO S.

Laboratory of Molecular Biology, Department of Applied Biology, Faculty of Agriculture, 1-1 Tsusumidori-Amamiyamchi, Aoba-ku, Sendai 981, Japan.

1993 *J. Biochem.*, Vol. 114, 1-4. (E)

Studies on relation between cell numbers of posterior silk gland and cocoon quality characters of silkworm, *Bombyx mori*.

Etudes de la relation entre le nombre de cellules de la glande séricigène postérieure et les caractères qualitatifs des cocons de vers à soie *Bombyx mori*.

ZHONG B.X., WU Y.C., ZHU F., ZHAO Q.M., WANG X.L.

Department of Sericultural Science, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310 029, China.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(3), 149-155. (C,e)

Soie

Silk

Method for the preparation of a polymer with high water absorption capacity containing sericin.
Méthode de préparation d'un polymère à haute capacité d'absorption d'eau contenant de la sérécine.

AKIYAMA D., OKAZAKI M., HIRABAYASHI K.

Faculty of Technology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Nakamachi, Konagei, Tokyo 184, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(5), 392-396. (J,e)

Degumming of silk yarn and fabrics.

Décreusage du fil de soie et des étoffes.

ASHUTOSH KUMAR YADAV.

Bihar Institute of Silk and Textiles, Nathnagar, Bhagalpur, Bihar, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(4), 50-52. (E)

Relation between pH and development of fungi in stored fibroin gel.

Relation entre le pH et le développement de champignons dans le gel de fibroïne stocké.

AYUB Z.H., ARAI M., HIRABAYASHI K.

Department of Molecular Biotechnology, Faculty of Technology, Tokyo University of Agriculture and Technology, 2-24-16 Nakamachi, Tokyo 184, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(4), 325-328. (E)

On the control for cocoon transferred in two-steps to a cocoon supplier.

Contrôle des cocons transférés en deux temps à un délivreur de cocons.

BAI L., YANG Y., SHIMAZAKI A.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda 386, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(4), 303-309. (J,e)

Comparison of the electronic methods of raw silk testing and grading with those of the current methods. II : The effectiveness and convenience of raw silk inspection process by uster tester III.

Comparaison entre les méthodes électroniques et les méthodes habituelles de test et de gradation de la soie grège. II : L'efficacité et le côté pratique du procédé d'examen de la soie grège par le testeur uster III.

CHOE B.H., KIM H.S., CHAE D.S., HONG S.K., CHOI K.S.

National Academic Science of Korea, Seoul, Korea Republic.

1992 *Korean Journal of Sericultural Science*, Vol. 34(1), 72-80. (K,e)

Comparison of the electronic methods of raw silk testing and grading with those of the current methods. I : Difference in inspection results and grading to the electronic methods.

Comparaison entre les méthodes électroniques et les méthodes habituelles de test et de gradation de la soie grège. I : Différence entre les résultats de l'inspection et ceux des méthodes électroniques.

CHOE B.H., KIM H.S., CHAE D.S., HONG S.K., CHOI K.S.

National Academic Science of Korea, Seoul, Korea Republic.

1992 *Korean Journal of Sericultural Science*, Vol. 34(1), 57-71. (K,e)

A study on silk dyeing with extraction of larch and pine.

Etude de la teinture de la soie avec des extraits de mélèze et de pin.

CHUNG I.M., LEE Y.W., LEE K.G., SON W.K

Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1992 *Research Reports of the Rural Development Administration*, Vol. 34-2, 61-64. (K,e)

Degumming of silk.

Décreusage de la soie.

GULRAJANI M.L.

1992 *Rev. Prog. Color. Relat. Top.*, Vol. 22, 79-89. (E)

Effects of organic solvents used for the dry cleaning process on the changes of fiber length and hand values of silk fabrics.

Effets des solvants organiques utilisés dans le processus de nettoyage à sec sur les changements de la longueur de la fibre et les valeurs du toucher des tissus de soie.

HAGIWARA M.

Faculty of Education, Shinsyu University, Nagano City, Nagano 380, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(5), 412-419. (J,e)

Characteristical change of silk thread embedded *in vivo*.

Changement caractéristique du fil de soie enrobé *in vivo*.

HIRABAYASHI K., AKIYAMA D., LIANG C.X., NOISHIKI Y.

Dept of Biotechnology, Faculty of Technology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Konagei, Tokyo 184, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(3), 231-233. (J)

Studies on the physical properties of indian non-mulberry silks: I. *Antheraea proylei* J.

Etudes sur les propriétés physiques des soies indiennes non-mûrier: I. *Antheraea proylei* J.

IIZUKA E., KAWANO R., KITANI Y., OKACHI Y., SHIMIZU M., FUKUDA A.

Department of Functional Polymer Science, Faculty of Textile Science and Technology Shinshu University, Ueda, Nagano 386, Japan.

1993 *Indian J. Seric.*, Vol. 32(1), 27-36. (E,f)

Physical properties of silk thread from cocoons of a Chinese tussah variety 'Blue-No. 6' as compared with those of silk thread of a Japanese variety.

Propriétés physiques du fil de soie des cocons de la variété chinoise de tussah "Blue-N 6" comparées à celles du fil de soie de la variété japonaise.

IIZUKA E., OKACHI Y., KITANI Y., SHIMIZU M., FUKUDA A., SUN Y.

Inst. of High Polymer Res., Fac. of Text. Sci. and Techno., Shinshu Univ., Ueda, Nagano 386, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(3), 243-245. (J)

Physical properties of methacrylamide and/or glycidylmethacrylate-grafted silk fabrics.

Propriétés physiques des tissus de soie greffées avec du méthacrylamide et/ou du glycidylméthacrylate.

KAKO T., KATAYAMA A.

Himeji Junior College, Himeji 670, Japan.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(3), 200-209. (J,e)

Immobilization of glucose oxidase in wild silk fiber (*Antheraea pernyi*) treated with an alkaline solution.

Immobilisation de la glucose-oxydase sur la fibre de soie sauvage (*Antheraea pernyi*) traitée avec une solution alcaline.

KAWAHARA Y.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(4), 272-275. (J,e)

Evaluation of structural change of micro-voids in wild silk fiber (*Antheraea pernyi*) treated with ethanol.

Evaluation des variations de la structure des microcavités de la fibre de soie sauvage (*Antheraea pernyi*) traitée avec de l'éthanol.

KAWAHARA Y.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(3), 234-237. (J)

Studies on partial degumming of raw silk sericin.

Etudes sur le décreusage partiel de la soie grège.

LEE Y.W., LEE K.G., SONG K.E., CHUNG I.M., KIM Y.D., NAHM J.H.

Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1992 *Research Reports of the Rural Development Administration*, Vol. 34(1), 53-57. (K,e)

Single cocoon reeling characteristics of F1 field cocoons of new Skuat silkworm hybrids.

Caractéristiques de dévidage de cocons individuels issus de nouveaux hybrides F1 Skuat de vers à soie.

MALIK G.N., TRAG A.R., MALIK FAROOQ, TASNEEM KAUSER, SINGH T.P.

Division of Sericulture, Mirgund, S.K. University of Agricultural Sciences and Technology, Srinagar 190 001, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(6), 51-52. (E)

Export of silk commodities and its indian trade classification.

Exportation des produits en soie et classification dans le commerce indien.

NATARAJA N.

Central Silk Board, United Mansions, 2nd Floor, 39, Mahatma Gandhi Road, Bangalore 560 001, India.

1993 *Indian Silk*, Vol. 32(8), 47-53. (E)

Effect of gamma-rays on some technologic properties of cocoon and filament of the silkworm *Bombyx mori* L.

Effet des rayons gamma sur quelques propriétés technologiques du cocon et du filament du ver à soie *Bombyx mori* L.

NGUEN THI THANH BINH, PETKOV N., MALINOVA K.

Experimental Station of Sericulture, Mito Orozov Str. no 24, Vratza 3000, Bulgaria.

1993 *Animal Science*, Vol. 30(4), 91. (E)

Typical correlative analysis of physique and cocoon quality characters to silk quality characters of F1 hybrid of silkworm, *Bombyx mori*.

Analyse corrélatrice typique entre les caractères physiques et qualitatifs des cocons et les caractères qualitatifs de la soie des hybrides F1 de *Bombyx mori*.

PAN S.Y. et al.

1993 *Canye Kexue*, Vol. 19(3), 170-171. (C)

Pad-batch treatment of silk with epoxy compound.

Traitement de la soie avec un composé d'époxy.

SHIOZAKI H., TSUKADKA M., NISHINA K., IKEZUMI K.

1993 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 62(4), 332-334. (J)

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

1) Papers should be in French or in English and be original contributions or reviews in the field of sericulture including silkworm, host plant, silk reeling, whatever the nature of studies (basic or applied) and topics (biochemistry, ecology, economy, virology, genetics, etc.).

2) Papers should be submitted to : **Dr G. CHAVANCY**. Submission of a paper to the Editor implies that it has not previously been published, that it is not under consideration for publication elsewhere and that, if accepted in *SERICOLOGIA*, it will not be published elsewhere in the same form without the written consent of the Editor.

3) Manuscripts and illustrations should be submitted in duplicate and the author should retain one copy. In the case of multiple ownership, the authors indicate who is to receive the proofs.

4) Manuscripts should be typewritten with double spacing and wide margin. Authors are requested to keep their communication as concise as possible. Footnotes should be avoided and italics should not be used for emphasis.

5) The typescript should contain the following features:

- Title followed by the author's name and full address.
- Abstract which should be a brief summary of the contents and conclusions of the paper and should refer to any new information. It should not exceed 200 words and may be divided into numbered sections.
- Keywords. A short list of keywords provided for rapid scanning of the contents of the paper and used for compiling the index.

- Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion should be given for papers presenting original results. For review, authors may choose the convenient presentation.

- Acknowledgements.

- References. The 'Harvard system' is to be followed. References should be detailed in the following order: author's names and initials, date (in parentheses), the title of the article, the name of the journal as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals (4th edit., 1963), the volume and the first and last pages of the article.

For books, the author's names, date of publication, title, edition, number of pages, reference, publisher's name and the place of publication should be given.

In the text, references should be given as Dupont (1964) or (Dupont, 1964). When a citation includes more than two authors, e. g. Dupont, Durand and Martin, the paper should be cited in the text as Dupont *et al.*, provided this is not ambiguous. If papers by the same author(s) in the same year are cited they should be distinguished by the letters a, b, etc.

References to a paper "In press" means that it has been accepted for publication and given as follows:

SETOYAMA K. (1982) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* In press.

6) Illustrations. All necessary illustrations should accompany the manuscript but should not be inserted in the text. All photographs, graphs and diagrams should be numbered consecutively in arabic numerals in the order in which they are referred to in the text.

Glossy photographs or positive prints (not X-ray, negatives or slides) should be sent, unmounted wherever possible, and should be restricted to the minimum necessary.

Charts, graphs or diagrams should be drawn boldly in black ink on good quality white paper or card. Lettering to appear on the illustration should be given in full and should be of sufficient size to allow for considerable reduction where necessary.

Illustrations should not be larger than 14 x 19 cm. On the back of each illustration should be indicated the author's name, the figure number (in arabic numerals) and the top of illustration, when it is not clear.

Legends to figures should be typed on a separate sheet and not on the back of the original, and should give sufficient data to make the illustration comprehensible without reference to the text.

7) Tables. They should be numbered in roman numerals, typed on separate sheets and should have a title which will make the meaning clear without reference to the text. All tables and figures would be referred to in the text.

8) Only standard abbreviations should be used. Where specialized abbreviations are used, the name should firstly be given in full with the abbreviation indicated in parentheses.

9) The Latin names should be given for all species used in investigation.

10) Corrections to proofs should be restricted to printer's errors only. Other than these, substantial alterations will be charged to the author.

11) A reprint order form will be supplied with the proofs, and authors may order such reprints as they require when the proofs are returned. Please note that 25 free reprints are sent by the Editor.

* * *

Directeur Gérant : Dr Henri BOUVIER

Dépôt légal : 4e trimestre 1993