

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**

| | |
|---|--|
| AKAPANTHU S. (Thaïlande / <i>Thailand</i>) | LIU S.-X. (Chine / <i>China</i>) |
| BEAULATON J. (France) | LU H.-S. (Chine / <i>China</i>) |
| BECK D. (France) | MANO Y. (Japon / <i>Japan</i>) |
| BOSQUET G. (France) | MAUCHAMP B. (France) |
| COUBLE P. (France) | PERSOONS C.J. (Pays-Bas / <i>Netherlands</i>) |
| DANDIN S.B. (Inde / <i>India</i>) | PRUDHOMME J.-C. (France) |
| DAS B.C. (Inde / <i>India</i>) | REALI G. (Italie / <i>Italy</i>) |
| DATTA R.K. (Inde / <i>India</i>) | SHIMURA K. (Japon / <i>Japan</i>) |
| DOIRA H. (Japon / <i>Japan</i>) | SHIRATA A. (Japon / <i>Japan</i>) |
| FONSECA T.C. (Brésil / <i>Brazil</i>) | SOMASHEKAR T.H. (Inde / <i>India</i>) |
| FOURCHE J. (France) | SONWALKAR T.N. (Inde / <i>India</i>) |
| FREDDI G. (Italie / <i>Italy</i>) | TAKAHASHI R. (Brésil / <i>Brazil</i>) |
| GOLDSMITH M.R. (USA) | TAZIMA Y. (Japon / <i>Japan</i>) |
| HORIE Y. (Japon / <i>Japan</i>) | TRENCZEK T. (Suisse / <i>Switzerland</i>) |
| IATROU K. (Canada) | VAGO C. (France) |
| JOLLY M.S. (Inde / <i>India</i>) | VEY A. (France) |
| KOBAYASHI M. (Japon / <i>Japan</i>) | XIA J.-G. (Chine / <i>China</i>) |
| KRISHNASWAMY S. (Inde / <i>India</i>) | YAMASHITA O. (Japon / <i>Japan</i>) |
| LEA H. Z. (Corée / <i>Korea</i>) | YANAGAWA H. (Japon / <i>Japan</i>) |
| LEGAY J.-M. (France) | |

SOMMAIRE - CONTENTS

| | |
|---|-----|
| Statistiques 1994 / 1994 Statistics | i |
| Articles originaux / Original papers | |
| Breeding of a robust bivoltine line, MU ₇₂₀ , of the silkworm, <i>Bombyx mori</i> L., for the tropics | 203 |
| Sélection d'une lignée bivoltine robuste, MU ₇₂₀ , du ver à soie <i>Bombyx mori</i> L. pour les tropiques | 213 |
| V.G. MARIBASHETTY & G. SREERAMA REDDY | |
| Influence of temperature on the silk producing potential of multivoltine <i>Bombyx mori</i> Linn., race <i>Nistari</i> | 217 |
| Influence de la température sur le potentiel de production de soie du ver à soie polyvoltin <i>Bombyx mori</i> Linn., race <i>Nistari</i> | 223 |
| A.B. MISHRA & V.B. UPADHYAY | |
| Effect of hydrolyzed protein (P-soyatoase) on haemolymph protein profile, larval and pupal characters of the silkworm, <i>Bombyx mori</i> L. (Lepidoptera: Bombycidae) | 227 |
| Effet d'un hydrolysât de protéine (P-soyatoase) sur le profil protéique de l'hémolymph et sur les caractères larvaires et nymphaux du ver à soie (<i>Bombyx mori</i> L.) (Lepidoptera: Bombycidae) | 237 |
| M. KRISHNAN, K.M. SUBBU RATHINAM & S. JANARTHANAN | |
| Index score analysis of commercial characters in various ecoraces of <i>Antheraea mylitta</i> D. | 241 |
| Analyse des caractères commerciaux par ordre de performance chez diverses écoraces d' <i>Antheraea mylitta</i> D. | 245 |
| A.K. SINHA, K.K. SIARMA, B.R.R.P. SINHA, B.N. BRAMCHIARI & K. THANGAVELU | |
| Studies on the characteristics of seed cocoon selection in the tropical tasar silkworm, <i>Antheraea mylitta</i> Drury (Lepidoptera: Saturniidae) | 247 |
| Etudes des critères de sélection des cocons destinés au grainage chez le ver à soie tropical tasar <i>Antheraea mylitta</i> Drury (Lepidoptera: Saturniidae) | 253 |
| O.P. DUBEY, N.G. OJHA, M.K. SINGH & K. THANGAVELU | |
| Studies on the phenotypic variability of seven cultivars of <i>Morus alba</i> L. and three of <i>Morus multicaulis</i> P. (Moraceae) -- Part 1 | 257 |
| Etudes sur la variabilité phénotypique de sept cultivars de <i>Morus alba</i> L. et trois de <i>Morus multicaulis</i> P. (Moraceae) - 1ère partie | 271 |
| L. CAPPELLOZZA, A.T. CORADAZZI & N. TORNADORE | |
| The modification of sex-expression in mulberry, <i>Morus alba</i> Linn. | 277 |
| Modification de l'expression des sexes chez le mûrier <i>Morus alba</i> Linn. | 285 |
| B.K. DAS, C. DAS, N.K. DAS & S.K. MUKHERJEE | |
| Relationship between stomatal chloroplasts number and ploidy levels in mulberry (<i>Morus</i> spp.) | 289 |
| Relation entre le nombre de chloroplastes dans les stomates et le degré de ploïdie chez le mûrier (<i>Morus</i> spp.) | 293 |
| YANG J.-H. & YANG X.-H. | |
| Effect of some growth regulators on the yield and yield attributes of mulberry (<i>Morus alba</i> L.) under rainfed conditions | 297 |
| Effet de certains régulateurs de croissance sur le rendement et les paramètres du rendement chez le mûrier (<i>Morus alba</i> L.) en régime pluvial | 303 |
| P.C. BOSE, S.K. MAJUMDER & R.K. DUTTA | |

| | |
|--|-----|
| Evaluation of <i>in vitro</i> response of mulberry genotypes | 305 |
| Evaluation des réactions <i>in vitro</i> de certains génotypes de mûrier | 319 |
| K. KATHIRAVAN, A. GANAPATHI & A. SHAJAHAN | |

| | |
|---|-----|
| Studies on the seasonal periodicity of chawki mulberry leaves under temperate conditions | 321 |
| Etudes de la périodicité saisonnière des feuilles de mûrier destinées aux jeunes larves en milieu tempéré | 327 |
| B.B. BINDROO & A.K. TIKU | |

| | |
|---|-----|
| Effect of different amendements on the growth and quality of mulberry in salt-affected soil | 331 |
| Effet de différents amendements sur la croissance et la qualité du mûrier en sol salin | 337 |
| P.C. BOSE, S.K. MAJUMDER & R.K. DATTA | |

Notes brèves / Brief notes

| | |
|--|-----|
| Dependence of crossing-over frequency upon ooplasmic factors in the silkworm, <i>Bombyx mori</i> L. | 341 |
| La fréquence de <i>crossing-over</i> dépend de facteurs ovoplasmiques chez le ver à soie <i>Bombyx mori</i> L. | 345 |
| S.S. PALII & V.V. KLIMENKO | |

| | |
|--|-----|
| Food consumption and growth of larvae in <i>Antheraea mylitta</i> Drury (Saturniidae: Lepidoptera) | 347 |
| Consommation de nourriture et croissance larvaire chez <i>Antheraea mylitta</i> Drury (Saturniidae: Lepidoptera) | 351 |
| ARUNA SINGH, A.K. TRIPATHI & D.P. SINHA | |

| | |
|--|-----|
| Occurrence of L-ascorbic acid in the fat body of silkworm pupae (<i>Bombyx mori</i> L.) | 353 |
| Présence d'acide L-ascorbique dans le corps adipeux des chrysalides de ver à soie (<i>Bombyx mori</i> L.) | 357 |
| S.K. MAJUMDER, R.N. DATTA, R. KAR & S.S. SINHA | |

| | |
|--|-----|
| New record of a coccinellid predator on the pink mealybug, <i>Maconellicoccus hirsutus</i> (Green) | 359 |
| Première observation d'un coccinellidé parasite de l'aleurode rose <i>Maconellicoccus hirsutus</i> (Green) | 363 |
| M.V. SANTHA KUMAR, N. CHAKRABORTY, C. ASWANI KUMAR, S.S. BHATTACHARYA & A.K. SAHAKUNDU | |

| | |
|---|-----|
| Correlation and regression studies between cocoon weight and shell weight in two races of <i>Antheraea mylitta</i> Drury on two different food plants | 365 |
| Etudes de corrélation et de régression entre le poids du cocon et le poids de la coque chez deux races d' <i>Antheraea mylitta</i> Drury en fonction de deux plantes nourricières différentes | 371 |
| K.K. SHARMA, A.K. SINITIA, A.K. BANSAL, A.K. GOEL & B.R.R.Pd. SINHA | |

| | |
|--|-----|
| Bibliographie / Bibliography | 373 |
| Sériciculture générale / General sericulture | 375 |
| Mûrier / Mulberry | 378 |
| <i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie / <i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology | 382 |
| Séricigènes non mûriers : élevage, nutrition, pathologie / Non mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology | 387 |
| Vers à soie : génétique / Silkworms: genetics | 389 |
| Vers à soie : physiologie, biochimie / Silkworms: physiology, biochemistry | 393 |
| Vers à soie : oeufs, embryologie / Silkworms: eggs, embryology | 395 |
| Vers à soie : glandes séricigènes / Silkworms: silk glands | 397 |
| Soie / Silk | 398 |

Instructions aux auteurs / Information for contributors

Statistiques 1994 - 1994 Statistics

Tableau I. Production de cocons et de soie grège en 1994

Table I. 1994 cocoon and raw silk production

| Pays <i>Country</i> | Cocons frais <i>Fresh cocoons</i> (tonnes) | Soie grège <i>Raw silk</i> (tonnes) |
|--|--|---|
| Bangladesh | 581 | 48 ⁽¹⁾ |
| Brésil / <i>Brazil</i> | 18 260 | 2 535 |
| Bulgarie / <i>Bulgaria</i> | 65 | 11 |
| Cambodge / <i>Cambodia</i> | 5 | 0.5 |
| Chine / <i>China</i> | 840 000 | 72 500 |
| Colombie / <i>Colombia</i> | 235.4 | 31.7 |
| Corée du Sud / <i>South Korea</i> | 911 | 503 |
| Côte d'Ivoire / <i>Ivory Coast</i> | 4.4 | 0 |
| Egypte / <i>Egypt</i> | 23.5 | 3 |
| France | 1 | 0.6 |
| Grèce / <i>Greece</i> | 31 | - |
| Inde / <i>India</i> ⁽²⁾ | 123 507 | 13 418 |
| Indonésie / <i>Indonesia</i> | 966 | 130 |
| Italie / <i>Italy</i> | 11 | 0 |
| Japon / <i>Japan</i> | 7 724 | 3 901 |
| Maroc / <i>Morocco</i> | 0.9 | - |
| Ouganda / <i>Uganda</i> | 8.7 | 0 |
| Paraguay | 300 | 2 ⁽³⁾ |
| Philippines | 3.3 | 1 |
| Roumanie / <i>Romania</i> | 25 | 10 |
| Syrie / <i>Syria</i> | 178 | - |
| Thaïlande / <i>Thailand</i> ⁽⁴⁾ | 15 440 | 1 654 |
| Tunisie / <i>Tunisia</i> | - | - |
| Turquie / <i>Turkey</i> | 455 | 80 |
| Vietnam | 11 539 | 1 445.5 |

- Non disponible / *Not available.*

(1) Dont 16 tonnes soie filée / *Including 16 tonnes spun silk.*

(2) 1993-1994 (avril à mars) / *1993-1994 (April to March).*

(3) Dupion / *Dupion.*

(4) Polyvoltins + bivoltins / *Multivoltine + bivoltine.*

Tableau II. Exportations et importations de cocons et de soie grège en 1994

Table II. 1994 cocoon and raw silk imports 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) |
| Bangladesh | 0 | 0 | 0 | - |
| Brésil / Brazil | 475.5 | 2 068 | 73.1 | - |
| Bulgarie / Bulgaria | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Cambodge / Cambodia | 0 | 1.3 | 0 | 10 |
| Chine / China | 5 137 | - | - | - |
| Colombie / Colombia | - | 14.2 | - | - |
| Corée du Sud / South Korea | 0 | 0 | 815 | 2 935 |
| Côte d'Ivoire / Ivory Coast | 1.2 | 0 | 0 | 0 |
| Egypte / Egypt | 0 | 0 | 19.1 | 37.7 |
| Espagne / Spain | 0 | 0 | 0 | 2 |
| France | 17 | 118.8 | 14.3 | 559.9 |
| Grèce / Greece | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Inde / India ⁽¹⁾ | 0 | - | - | 4 851 |
| Indonésie / Indonesia | 25 | 600 | 207.3 | 24.6 |
| Italie / Italy | - | 33 | 0.7 | 3 814 |
| Japon / Japan | 0 | 0 | 5 148 | 1 543 |
| Maroc / Morocco | 0 | 0 | 0 | 25-28 |
| Ouganda / Uganda | 3.5 | 0 | 0 | 0 |
| Paraguay | 100 | - | - | 6 |
| Philippines | 0 | - | - | 19.6 |
| Roumanie / Romania | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Syrie / Syria | - | 4 | - | - |
| Taiwan / Taiwan | 0 | 0 | 0 | 269 ⁽²⁾ |
| Thaïlande / Thailand | - | 140 | - | 425 |
| Tunisie / Tunisia | 0 | 0 | 0 | 21.6 |
| Turquie / Turkey | 38 | 2.7 | - | 57.6 |
| Vietnam | - | 1 200 | - | - |

- Non disponible / Not available.

(1) 1993-1994 (avril à mars) / 1993-1994 (April to March).

(2) + 179 tonnes bourre de soie et 81 tonnes fil de soie / + 179 tonnes waddings and 81 tonnes silk yarn.

Tableau III. Prix moyens du kilogramme de cocons en dollars américains en 1994

Table III. Average prices for 1 kg cocoons in US dollars in 1994

| 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) |
| Bangladesh | 2 | xx | xx |
| Brésil / Brazil | 2.3 | 9.85 | 6.98 |
| Bulgarie / Bulgaria | 1.8 | - | - |
| Cambodge / Cambodia | - | xx | xx |
| Chine / China | - | - | xx |
| Colombie / Colombia | 3.2 | xx | xx |
| Corée du Sud / South Korea | 10.09 | xx | 12.12 |
| Côte d'Ivoire / Ivory Coast | 1.3 | 14 | xx |
| Egypte / Egypt | 2.36 | xx | 2.7 |
| France | 15 | xx | 6 |
| Grèce / Greece | 5 | xx | xx |
| Inde / India ⁽¹⁾ | 2.48 | xx | - |
| Indonesie / Indonesia | 2.25 | 4.8 | 5.1 |
| Japon / Japan | 15.37 | xx | 11.15 |
| Maroc / Morocco | - | - | - |
| Ouganda / Uganda | 2.1 | 8.25 | xx |
| Paraguay | 2. | 8.5 | xx |
| Philippines | 2.3 | - | 10 |
| Roumanie / Romania | 1.5 | xx | xx |
| Syrie / Syria | 5 | - | - |
| Thaïlande / Thailand | 3.4 | - | - |
| Tunisie / Tunisia | - | xx | xx |
| Turquie / Turkey | 2 | 7.27 | xx |
| Vietnam | 2.25 | xx | xx |

- Non disponible / Not available.

xx : Pas d'exportation/d'importation de cocons / No cocoon export/import.

(1) 1993-1994 (avril à mars) / 1993-1994 (April to March).

BREEDING OF A ROBUST BIVOLTINE LINE, MU₇₂₀, OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L., FOR THE TROPICS

V.G. MARIBASHETTY* & G. SREERAMA REDDY

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

The concentrated genotypes of the silkworm, Bombyx mori L., for high productivity are known to possess a narrow range of adaptability and as such the fluctuating environmental conditions of tropical climates have an impact on their viability. Hence, tropical sericulture necessitates the synthesis of more flexible genotypes for the expression of optimum productivity and viability traits. With an objective of synthesising silkworm races with suitable genetic constitution, a breeding experiment was initiated to isolate a robust bivoltine line of silkworm Bombyx mori L. by utilising two existing bivoltine races NB4D2 and Kalimpong-A (KA), and a white multivoltine race, C. nichii. By inbreeding the hybrids of the above pure races coupled with recurrent back crossing followed by selection at each and every generation, a hardy bivoltine breed spinning white dumbbell cocoons was isolated. This bivoltine line herein referred as MU₇₂₀ with Japanese racial features has been bred through over 25 generations and revealed significant improvement in regard to viability compared to the control races. The overall performance of the isolated bivoltine line with regard to viability and productivity as well as silk fibre technological characters is discussed, emphasising its superiority over the existing bivoltine races in the field.

Keywords: Silkworm, *Bombyx*, bivoltine breeding, viability, productivity.

INTRODUCTION

Hybridisation coupled with selection as an important tool has been exploited by many breeders in the improvement of livestock for their maximum economic gains. The silkworm, *Bombyx mori* L., is not an exception to this. The silkworm races in recognition of their economic importance have been extensively studied for the desirable traits through inbreeding by breeders. However, continuous inbreeding results in the accumulation of many deleterious genes leading to inbreeding depression, thereby resulting in the deterioration of some of the commercial characters. However, the overall combinations of beneficial traits could be achieved in a reasonable way by employing modern breeding techniques coupled with selection, 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 (Raju, 1992). The improvement of indigenous races could be achieved through hybridisation utilising exotic races (Kovalov, 1970). Further, Harada (1956) opined that new silkworm races can be evolved through hybridisation followed by selection. Although India has several indigenous races, it suffers for want of new silkworm breeds in competing with other sericulturally advanced countries like China and Japan where commendable progress has been achieved in evolving robust and productive races through hybridisation (Yokoyama, 1956). Until the 1970s, Indian sericulture was mostly multivoltine-oriented and bivoltine rearing was restricted only

* Karnataka State Sericulture Research and Development Institute (KSSRDI), Thalaghattapura, Bangalore - 560 062, India.

to the maintenance and multiplication of foreign races imported from other countries (Raju, 1990). During this period, Indian breeders evolved a few bivoltine races like Kalimpong-A, Nan Nung 6D and the new bivoltine series (NB), including NB7, NB18 and NB4D2 races (Narasimhanna *et al.*, 1976). However, these races were mostly used for producing commercial crossbreed cocoons with that of the multivoltine pure Mysore female, but are not fully utilised for the production of pure bivoltine silk in view of their poor adaptability to the fluctuating agro-climatic conditions of the tropics. Hence, there is a necessity to formulate a need-based breeding programme to evolve robust bivoltine races to improve the productivity and viability traits.

MATERIALS AND METHODS

The present studies initiated during the year 1988 involve two bivoltines, NB4D2 and Kalimpong-A (KA), and a white multivoltine race, *C. nichi*, maintained in the germplasm of the Sericulture Section, Department of Studies in Zoology, University of Mysore (Mysore, India).

The breeding plan (Fig. 1) of the present experiment represents the production of progeny from a cross between female NB4D2 × male KA. The F1 was inbred and the F2 hybrid females emerged from the white dumbbell cocoons with Japanese racial characters were outcrossed to *C. nichi* males to obtain the F3 progeny which was further inbred for analysing cocoon shape segregation to oval, slightly constricted and constricted cocoons till the F5 generation. The F5 females emerged from the slightly constricted white cocoons were backcrossed to NB4D2 males. During the course of inbreeding from F6 onwards, careful selection was made to isolate slightly constricted white cocoon with good built and architecture. Further, this new line was inbred coupled with selection until stability for productivity and viability was achieved. The following selection parameters were applied at different stages of development to select the parents at every generation.

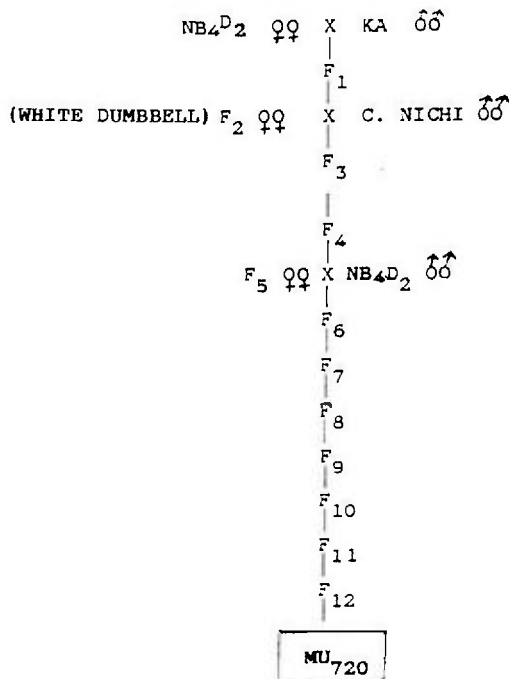


Fig. 1: Breeding plan of the new breed, MU720.
Fig. 1 : Plan de sélection de la nouvelle souche MU720.

Egg stage:

During the course of breeding programme robust and fertilised female moths were placed on egg sheets for oviposition to prepare around 50 layings at every generation. A definite period of 3 hours' mating time of moths was followed at every generation, as suggested by Petkov *et al.* (1979). Only the disease-free layings (DFIs) exhibiting complete hibernation features were selected at every generation. In order to prevent the eggs from entering diapause, they were acid-treated following the methods of Yokoyama (1962) and incubated at 25 ± 1 °C temperature and 60% to 70% relative humidity. On the ninth day of incubation composite layings comprising approximately 1,000 eggs from a group of 12 layings with the highest number of eggs from each of the experimental batches were prepared in three replicates. Further, at every generation the replicate showing the highest percentage of hatching was selected for the next generation in order to improve the percentage of hatching.

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

Tableau I. Valeurs moyennes du rendement pour 10 000 larves (en nombre) de la souche bivoltine isolée et des témoins de la génération F₁ à la génération F₁₂.

| Generations Génération | Control races Races témoins | | | Evolved bivoltine Bivoltin isolé |
|-----------------------------|--------------------------------|---------|----------|-------------------------------------|
| | NB ₄ D ₂ | KA | C. nichi | MU ₇₂₀ |
| F ₁ | 8283 | 8671 | 9428 | 9503 |
| F ₂ | 7849 | 8158 | 8906 | 9125 |
| F ₃ | 7650 | 7908 | 9226 | 9145 |
| F ₄ | 8138 | 7546 | 9052 | 9285 |
| F ₅ | 7793 | 7858 | 8076 | 9398 |
| F ₆ | 7695 | 8061 | 7941 | 9112 |
| F ₇ | 8476 | 8370 | 9249 | 9209 |
| F ₈ | 8523 | 7956 | 9464 | 9261 |
| F ₉ | 7823 | 8158 | 9342 | 9088 |
| F ₁₀ | 7708 | 7835 | 8425 | 8507 |
| F ₁₁ | 8466 | 8241 | 8995 | 9340 [§] |
| F ₁₂ | 8117 | 7866 | 8638 | 9274 [§] |
| F value / Valeur de F | 12.771 | 15.539 | 14.345 | 2.584* |
| Standard error / Ecart type | 139.653 | 137.596 | 151.812 | 55.787 |
| CD at 5% | 409.614 | 403.582 | 445.276 | 159.593 |

* Significant ($P < 0.05$) / Significatif ($P < 0,05$).

§ Insignificant ($P > 0.05$) / Non significatif ($P > 0,05$).

Larval stage:

The hatched 'ants' of the experimental and control batches were mass-reared in three replicates up to the F₆ generation. While fixing the base number of 800 larvae after the third moult, the comparatively more active larvae with a greenish colour and rough texture exhibiting healthy and

uniform growth and medium weight were selected at every generation. Cellular rearing was conducted in 5 replicates from the F₇ generation onwards until isolation of the lines with desirable genotypes.

Pupal/cocoon stage:

Around 2,000 cocoons were used for the measurement of cocoon traits. The individual cocoon weight and shell weight of the good cocoons was recorded and the shell percentage was calculated. On the basis of the data obtained cocoons with intermediary weight, shell weight and cocoon shell percentage and exhibiting uniformity in shape and size were chosen for breeding work at every generation. At the same time, the replicate exhibiting the highest pupation rate and cocoon yield by number/10,000 larvae brushed was retained for the next generation to improve the viability trait.

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

Tableau II. Valeurs moyennes du rendement pour 10 000 larves (en kg) de la souche bivoltine isolée et des témoins de la génération F₁ à la génération F₁₂.

| Generations <i>Génération</i> | Control races <i>Races témoins</i> | | | Evolved bivoltine <i>Bivoltin isolé</i> |
|------------------------------------|---------------------------------------|--------|-----------|--|
| | NB ₄ D ₂ | KA | C. nichii | MU ₇₂₀ |
| F ₁ | 13.850 | 14.179 | 8.871 | 14.517 |
| F ₂ | 11.912 | 12.887 | 7.534 | 13.790 |
| F ₃ | 10.640 | 12.587 | 7.162 | 15.333 |
| F ₄ | 13.291 | 12.083 | 7.086 | 15.400 |
| F ₅ | 10.583 | 12.287 | 6.786 | 14.966 |
| F ₆ | 10.109 | 14.766 | 6.333 | 14.630 |
| F ₇ | 14.527 | 13.729 | 6.152 | 15.050 |
| F ₈ | 13.914 | 11.814 | 8.232 | 15.713 |
| F ₉ | 11.276 | 13.136 | 7.431 | 14.893 |
| F ₁₀ | 10.734 | 12.104 | 6.285 | 15.593 |
| F ₁₁ | 13.520 | 13.563 | 7.988 | 15.283 [§] |
| F ₁₂ | 11.733 | 11.217 | 7.561 | 15.176 [§] |
| F value / <i>Valeur de F</i> | 14.427 | 16.573 | 20.205 | 2.673 [*] |
| Standard error / <i>Ecart type</i> | 0.589 | 0.128 | 0.236 | 0.129 |
| CD at 5% | 1.729 | 1.406 | 0.694 | 0.302 |

* Significant ($P < 0.05$) / *Significatif* ($P < 0,05$).

§ Insignificant ($P > 0.05$) / *Non significatif* ($P > 0,05$).

Moth stage:

Robust male and female moths were selected at every generation and fertilised female moths were allowed to lay eggs under ideal conditions. After the oviposition the females were kept under laboratory conditions until their death to record their longevity. The eggs laid by the moths exhibiting the highest longevity were retained for the next generation.

The rearings were conducted by following the improved rearing technology of silkworm for both chawki and adult rearings suggested by Yokoyama (1963) and Krishnaswami (1978). Observations were made on six important commercial traits such as yield/10,000 larvae brushed by number and weight, single cocoon weight, single shell weight and cocoon shell percentage. The data with regard to isolation of the new bivoltine line (MU720) as well as its control races was analysed by employing statistical model for one-way classification. In addition, to evaluate the post-cocoon parameters 4 kg of cocoons from each of the evolved line and control races were reeled on a Japanese multiend reeling machine at the Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore.

RESULTS

The statistical analyses calculated for the six characters under study of the evolved line and the controls over 12 generations are presented in Tables I to VI.

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

Tableau III. Valeurs moyennes du poids d'un cocon (g) de la souche bivoltine isolée et des témoins de la génération F₁ à la génération F₁₂.

| Generations <i>Génération</i> | Control races <i>Races témoins</i> | | | Evolved bivoltine <i>Bivoltin isolé</i> |
|------------------------------------|---------------------------------------|--------|-----------|--|
| | NB ₄ D ₂ | KA | C. nichii | MU ₇₂₀ |
| F ₁ | 1.722 | 1.785 | 0.975 | 1.527 |
| F ₂ | 1.785 | 1.627 | 0.854 | 1.498 |
| F ₃ | 1.726 | 1.619 | 0.883 | 1.513 |
| F ₄ | 1.756 | 1.704 | 0.882 | 1.622 |
| F ₅ | 1.796 | 1.732 | 0.825 | 1.663 |
| F ₆ | 1.602 | 1.851 | 0.780 | 1.605 |
| F ₇ | 1.786 | 1.660 | 0.858 | 1.634 |
| F ₈ | 1.707 | 1.620 | 0.976 | 1.694 |
| F ₉ | 1.611 | 1.609 | 0.977 | 1.638 |
| F ₁₀ | 1.538 | 1.593 | 0.849 | 1.642 |
| F ₁₁ | 1.694 | 1.628 | 0.901 | 1.674 [§] |
| F ₁₂ | 1.627 | 1.683 | 0.869 | 1.620 [§] |
| F value / <i>Valeur de F</i> | 11.071 | 21.309 | 10.780 | 6.533 ^{**} |
| Standard error / <i>Ecart type</i> | 0.054 | 0.046 | 0.023 | 0.030 |
| CD at 5% | 0.158 | 0.135 | 0.216 | 0.089 |

** Significant ($P < 0.01$) / *Significatif* ($P < 0,01$).

§ Insignificant ($P > 0.05$) / *Non significatif* ($P > 0,05$).

The F₁ hybrids of the cross female NB₄D₂ × male KA (Fig. 1) exhibited a mean cocoon yield of 9503, which showed a little decrease in the F₂ generation (9125 cocoons). The F₂ females outcrossed with C. nichii males showed a mean yield of 9145 cocoons in the F₃ generation. The F₅ females

backcrossed with NB₄D₂ males recorded a mean cocoon yield of 9112 cocoons in the F₆ generation. Further inbreeding, however, resulted in a gradual increase in the cocoon yield by number from F₇ to F₁₂ generation, the difference between the last two generations was observed to be insignificant ($P > 0.05$), showing 9340 and 9274 cocoons in the F₁₁ and F₁₂ generations respectively, contributing to the almost stabilised nature of the said trait in the isolated line MU₇₂₀ (Table I).

Cocoon yield/10,000 larvae by weight:

The data pertaining to the cocoon yield/10,000 larvae by weight (Table II) reveal that the isolated line has insignificant ($P > 0.05$) differences between the F₁₁ (15.283 kg) and F₁₂ (15.176 kg) generations, which indicates that the trait cocoon yield by weight has been almost stabilised in the isolated line, MU₇₂₀.

Single cocoon weight:

The mean values of single cocoon weight depicted in Table III reveal that the isolated line MU₇₂₀, has insignificant ($P > 0.05$) differences between the F₁₁ (1.674 g) and F₁₂ (1.620 g) generations, which indicates an almost stabilised nature of the said trait in the isolated line MU₇₂₀.

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

Tableau IV. Valeurs moyennes du poids d'une coque (g) de la souche bivoltine isolée et des témoins de la génération F₁ à la génération F₁₂.

| Generations <i>Génération</i> | Control races <i>Races témoins</i> | | | Evolved bivoltine <i>Bivoltin isolé</i> |
|------------------------------------|---------------------------------------|--------|-----------|--|
| | NB ₄ D ₂ | KA | C. nichii | MU ₇₂₀ |
| F ₁ | 0.340 | 0.337 | 0.135 | 0.298 |
| F ₂ | 0.312 | 0.305 | 0.121 | 0.311 |
| F ₃ | 0.351 | 0.325 | 0.109 | 0.306 |
| F ₄ | 0.299 | 0.293 | 0.112 | 0.302 |
| F ₅ | 0.297 | 0.319 | 0.102 | 0.299 |
| F ₆ | 0.312 | 0.327 | 0.128 | 0.281 |
| F ₇ | 0.347 | 0.299 | 0.116 | 0.306 |
| F ₈ | 0.295 | 0.323 | 0.119 | 0.302 |
| F ₉ | 0.347 | 0.329 | 0.127 | 0.297 |
| F ₁₀ | 0.308 | 0.330 | 0.129 | 0.288 |
| F ₁₁ | 0.297 | 0.319 | 0.131 | 0.293 [§] |
| F ₁₂ | 0.304 | 0.324 | 0.126 | 0.289 [§] |
| F value / <i>Valeur de F</i> | 13.325 | 53.729 | 11.536 | 4.761 ^{**} |
| Standard error / <i>Ecart type</i> | 0.011 | 0.003 | 0.005 | 0.004 |
| CD at 5% | 0.033 | 0.009 | 0.014 | 0.013 |

** Significant ($P < 0.01$) / *Significatif (P < 0,01)*.

§ Insignificant ($P > 0.05$) / *Non significatif (P > 0,05)*.

Single shell weight:

The data pertaining to single shell weight of the isolated line depicted in Table IV reveal that MU₇₂₀ has insignificant ($P > 0.05$) differences between the F₁₁ (0.293 g) and F₁₂ (0.289 g) generations, leading to stabilisation of this trait in the new line.

Cocoon shell percentage:

The data with regard to cocoon shell percentage of the isolated line presented in Table V reveal that MU₇₂₀ has insignificant ($P > 0.05$) differences between the F₁₁ (17.607%) and F₁₂ (17.463%) generations, indicating a gradual stability of the said trait in the new line.

Table V. Mean values of cocoon shell percentage of the evolved bivoltine line and the controls from F₁ to F₁₂ generations.

Tableau V. Valeurs moyennes de la richesse soyeuse de la souche bivoltine isolée et des témoins de la génération F₁ à la génération F₁₂.

| Generations <i>Génération</i> | Control races <i>Races témoins</i> | | | Evolved bivoltine <i>Bivoltin isolé</i> |
|------------------------------------|---------------------------------------|--------|-----------|--|
| | NB ₄ D ₂ | KA | C. nichii | MU ₇₂₀ |
| F ₁ | 19.744 | 18.879 | 13.846 | 19.515 |
| F ₂ | 17.478 | 18.746 | 14.168 | 20.761 |
| F ₃ | 20.336 | 20.074 | 12.344 | 20.224 |
| F ₄ | 17.021 | 17.194 | 12.698 | 18.618 |
| F ₅ | 16.536 | 18.418 | 12.583 | 17.979 |
| F ₆ | 19.475 | 20.411 | 12.733 | 18.629 |
| F ₇ | 19.428 | 18.741 | 13.066 | 18.727 |
| F ₈ | 17.281 | 18.922 | 12.037 | 17.827 |
| F ₉ | 20.539 | 20.422 | 12.850 | 17.346 |
| F ₁₀ | 20.026 | 21.456 | 12.078 | 17.476 |
| F ₁₁ | 17.532 | 20.270 | 12.490 | 17.607 [§] |
| F ₁₂ | 18.684 | 19.913 | 12.671 | 17.463 [§] |
| F value / <i>Valeur de F</i> | 7.301 | 34.401 | 9.833 | 9.277 ^{**} |
| Standard error / <i>Ecart type</i> | 0.229 | 0.130 | 0.403 | 0.486 |
| CD at 5% | 0.673 | 0.382 | 0.782 | 1.426 |

** Significant ($P < 0.01$) / *Significatif (P < 0,01)*.

§ Insignificant ($P > 0.05$) / *Non significatif (P > 0,05)*.

Pupation rate:

The mean values of pupation rate depicted in Table VI reveal that the isolated line MU₇₂₀ has insignificant ($P > 0.05$) differences between the F₁₁ (89.460%) and F₁₂ (90.463%) generations, which indicates the almost stabilised nature of the said trait.

Table VI. Mean values of pupation rate (%) of the evolved bivoltine line and the controls from F₁ to F₁₂ generations.

Tableau VI. Valeurs moyennes du taux de nymphose (%) de la souche bivoltine isolée et des témoins de la génération F₁ à la génération F₁₂.

| Generations <i>Génération</i> | Control races <i>Races témoins</i> | | | Evolved bivoltine <i>Bivoltin isolé</i> |
|------------------------------------|---------------------------------------|--------|-----------|--|
| | NB ₄ D ₂ | KA | C. nichii | MU ₇₂₀ |
| F ₁ | 76.450 | 78.630 | 92.239 | 90.316 |
| F ₂ | 78.296 | 76.836 | 90.743 | 88.316 |
| F ₃ | 74.693 | 76.666 | 89.217 | 88.393 |
| F ₄ | 75.580 | 71.743 | 91.017 | 89.467 |
| F ₅ | 77.502 | 74.916 | 93.406 | 87.587 |
| F ₆ | 79.816 | 77.670 | 94.010 | 89.768 |
| F ₇ | 73.583 | 72.583 | 91.260 | 85.880 |
| F ₈ | 70.250 | 65.416 | 94.680 | 89.476 |
| F ₉ | 78.166 | 76.216 | 95.217 | 89.520 |
| F ₁₀ | 71.833 | 74.966 | 96.006 | 90.106 |
| F ₁₁ | 72.583 | 79.213 | 94.263 | 89.460 ^s |
| F ₁₂ | 78.480 | 77.583 | 94.608 | 90.463 ^s |
| F value / <i>Valeur de F</i> | 7.883 | 23.599 | 27.866 | 7.802 ^{**} |
| Standard error / <i>Ecart type</i> | 2.006 | 1.372 | 1.209 | 0.643 |
| CD at 5% | 5.883 | 4.025 | 3.548 | 1.886 |

** Significant ($P < 0.01$) / *Significatif* ($P < 0,01$).

§ Insignificant ($P > 0.05$) / *Non significatif* ($P > 0,05$).

In addition, the fibre technological characters of the control races NB₄D₂ and KA and that of the evolved bivoltine line MU₇₂₀ show higher values for average filament length, denier, renditta and evenness than the control races (Table VII).

DISCUSSION

The fluctuating environmental conditions of the tropics, poor quality of mulberry leaves coupled with inferior management in silkworm rearing practices emphasised the need to evolve bivoltine races with more flexible genotypes exhibiting higher viability and moderate productivity.

The ultimate aim of the breeder is primarily to evolve a breed which can give rise to stabilised crops and secondly to improve both the quality and the quantity of the silk (Tazima, 1984). In the silkworm studies carried out for various characters have shown that they could be changed to suit the breeders' choice since selection for one trait has a correlation with genetic changes for other traits (Gamo, 1976; Raju, 1992).

The correlation for some traits in silkworms is negative and for a few it is positive (Tsuchiya and Kurashima, 1960; Suzuki and Ichimaru, 1961; Gamo and Ichiba, 1971; Lekuthai and Butrachand, 1974; Sturnnikov and Sturnnikov, 1986; Raju and Krishnamurthy, 1993). Utilisation of both bivoltines and multivoltines in breeding programmes could provide combinations of genomes leading

to synthesis of robust bivoltine breeds with higher viability and moderate productivity. Inbreeding the hybrids to isolate and stabilise silkworm races which breed true for the desired traits has been well documented by many breeders (Harada, 1952; Hirobe, 1968; Kovalov, 1970; Gamo, 1976). In addition, during the course of breeding the backcrossing method will help in the improvement of cocoon qualities (Tazima, 1964).

Table VII. Mean values of the silk fibre technological characters of MU₇₂₀ and the bivoltine control races.

Tableau VII. Valeurs moyennes des caractères technologiques de la fibre de soie chez MU₇₂₀ et chez les races témoins bivoltines.

| Sl no. | Races | Fibre technological characters | | | | | |
|-------------|--------------------------------|---------------------------------------|------------|-----------------------------------|--------------|----------------|---------------|
| | | Avg. filament length (m) | Denier (D) | Renditta (kg) | Neatness (%) | Evenness (%) | Cleanness (%) |
| N° de série | Races | Caractères technologiques de la fibre | | | | | |
| | | Longueur moyenne de la bave (m) | Denier (D) | Rendement moyen à la bassine (kg) | Netteté (%) | Régularité (%) | Propreté (%) |
| 1 | NB ₄ D ₂ | 941 | 2.490 | 8.010 | 86.500 | 84.500 | 92.000 |
| 2 | KA | 927 | 2.476 | 7.928 | 92.600 | 88.700 | 84.000 |
| 3 | MU ₇₂₀ * | 947 | 2.580 | 7.970 | 92.200 | 89.600 | 86.500 |

* Evolved line / *Lignée isolée.*

In the present breeding programme (Fig. 1) the aim was to isolate a more resistant bivoltine breed that can assure stable cocoon crops with better viability than the existing bivoltines. As there is a negative correlation for the traits productivity and viability, an attempt has been made to increase the viability of the evolved line without sacrificing much of the productivity traits.

The present findings with regard to the new bivoltine breed MU₇₂₀ with Japanese racial characters spinning white dumbbell cocoons were found to be superior in terms of viability traits (cocoon yield by number and pupation rate) over their respective controls, NB₄D₂ and KA (Tables I and VI).

Although there is a slight decrease in cocoon weight, shell weight and cocoon shell percentage (Tables III, IV and V) in the new line MU₇₂₀ as compared to the controls, it exhibits better viability traits with assured cocoon crops. This improvement in the cocoon yield by number and pupation rate contributing to cocoon yield by weight is need of the hour in the tropical bivoltine race breeding programme. In addition, the new breed MU₇₂₀ has recorded better fibre technological characters such as average filament length, denier, renditta and evenness (Table VII).

Hence, in view of the above findings, the newly evolved breed MU₇₂₀ of silkworm, *Bombyx mori* L., could be effectively used for commercial exploitation in the tropics.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to express their sincere thanks to the University of Mysore, Mysore, for the facilities provided and one of the authors (VGM) to the University Grants Commission, New Delhi, for financial support. The authors are also highly indebted to the Director, CSR & TI, Mysore, for the help rendered in analysis 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.
- GAMO T. (1976) Recent concepts and trends in silkworm breeding. *Farming, Japan*, 10(6), 11-12.
- GAMO T., ICHIBA S. (1971) Selection experiment on the fibroin hydrolysing ratio in silkworm cocoons, its effects on the environmental characters. *Japan J. Breed.*, 21(2), 87-92.
- HARADA C. (1972) On the double cross of the silkworm. *Japan J. Breed.*, 22(2), 3.
- HARADA C. (1956) On the relation between commercial characters and their F₁ hybrids in *Bombyx mori*. Proc. Int. Genet. Symp., 252-356.
- HIROBE T. (1968) Evolution, differentiation and breeding of the silkworm. In *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 the Central Silk Board, Bombay, India.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New technology of silkworm rearing. CSR & TI Bulletin No. 2, Central Silk Board, India, 1-23.
- LEKUTHAI P., BUTRACHAND S. (1974) Improvement of bivoltine silkworm races. *Bull. Thai Seric. Res., Thai Cent.*, 2, 48-54.
- MARIBASHETTY V.G. (1991) Evolution of superior bivoltine races of silkworm, *Bombyx mori* L., for tropics. Ph.D. thesis, University of Mysore, Mysore, India.
- NARASIMHANNA M.N., CHANDRASHEKARAI AH, GEETHADEVI R.G., PRABHA G. (1976) Ecogenetic attributes of the newly evolved bivoltine hybrid 'Nandi' in *Bombyx mori* L. Proc. Duna-Dobthansky Symp. Genet., 379-386.
- PETKOV N., GEORGI A., MLADEMOV, NACHEVA J. (1979) Effect of mating length of silkmoths of some inbred silkworm *Bombyx mori* lines on silkworm seed quantity and quality. *Zhivotnov's D. Nanki*, 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.
- RAJU P.J., KRISHNAMURTHY N.B. (1993) Breeding of two bivoltines, MG 511 and MG 512, of silkworm *Bombyx mori* L. for higher viability and silk productivity. *Sericologia*, 33(4), 577-587.
- STURNNIKOV V.A., STURNNIKOV 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.
- TSUCHIYA 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.

SELECTION D'UNE LIGNEE BIVOLTINE ROBUSTE, MU720, DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L. POUR LES TROPIQUES

V.G. MARIBASHETTY* & G. SREERAMA REDDY

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

*On sait que les génotypes concentrés performants du ver à soie *Bombyx mori* possèdent une capacité d'adaptation limitée, c'est pourquoi les conditions environnementales fluctuantes des climats tropicaux ont un impact sur leur viabilité. La sériciculture tropicale requière donc de faire la synthèse de génotypes plus flexibles afin d'obtenir une productivité et une viabilité optimales. Afin de synthétiser des races de vers à soie ayant une constitution génétique appropriée, une expérience de sélection a été mise en place pour isoler une lignée du ver à soie *B. mori* bivoltine robuste en utilisant les races bivoltines existantes NB4D2 et Kalimpong-A (KA) et la race polyvoltine blanche *C. nichii*. L'accouplement consanguin des hybrides de ces races pures, combiné à des rétrocroisements récurrents et une sélection à chaque génération, a permis d'isoler une race bivoltine blanche filant des cocons blancs cintrés. Cette lignée bivoltine, dénommée ci-après MU720, qui présente des caractères raciaux japonais, a été élevée sur plus de 25 générations et donne une amélioration significative pour ce qui concerne la viabilité par rapport aux races témoins. La performance globale de la lignée bivoltine isolée est discutée en termes de viabilité et de productivité ainsi qu'en fonction des caractères technologiques de la fibre et sa supériorité par rapport aux races bivoltines utilisées sur le terrain est démontrée.*

INTRODUCTION

L'hybridation, combinée avec la sélection, est exploitée par de nombreux éleveurs pour améliorer les élevages et générer des augmentations de revenus. Le ver à soie *Bombyx mori* ne fait pas exception à cette règle. Les races de vers à soie, dont l'importance économique est reconnue, ont été étudiées de manière approfondie afin de sélectionner les caractères recherchés par accouplement consanguin. Cependant, un accouplement consanguin continu se traduit par une accumulation de nombreux gènes délétères qui entraîne une dépression consanguine et une détérioration de certains des caractères commerciaux. Il serait néanmoins possible de parvenir à une combinaison satisfaisante des caractères positifs en faisant appel aux techniques modernes d'élevage combinées à la sélection car le sériciculteur dispose d'un grand choix de combinaisons géniques pour manipuler et isoler de nouvelles races de vers à soie présentant les qualités requises pour l'exploitation commerciale (Raju, 1990). L'amélioration des races indigènes peut être obtenue par hybridation avec des races exotiques (Kovalov, 1970). De plus, Harada (1956) est d'avis que de nouvelles races de vers à soie peuvent être isolées par l'hybridation puis par la sélection. Bien que l'Inde dispose de plusieurs races indigènes, ce pays souffre d'un manque de nouvelles races de vers à soie qui lui permettrait de rivaliser avec d'autres pays avancés sur le plan séricicole comme la Chine ou le Japon où des progrès remarquables ont été accomplis et où des races robustes et productives ont été isolées par hybridation (Yokoyama, 1956). Jusque dans les années 1970, la sériciculture indienne était principalement orientée vers les polyvoltins et l'élevage des bivoltins se limitait à la conservation et à la reproduction des races étrangères importées d'autres pays (Raju, 1990). Au cours de cette période, les éleveurs indiens ont isolé quelques races bivoltines comme Kalimpong-A et Nan Nung 6D ainsi que la nouvelle série bivoltine NB qui comprend des races telles que NB7, NB18 et NB4D2 (Narasimhanna et coll., 1976).

* Germplasm Bank (KSSRDI), Mullikorai, Ooty - 643 004, Tamil Nadu, Inde.

Cependant, ces races sont principalement destinées à la production de cocons hybrides commerciaux croisés avec des femelles polyvoltines de la race Pure Mysore mais ne sont pas réellement utilisées pour la production de soie bivoltine pure en raison de leur capacité d'adaptation médiocre aux conditions agroclimatiques fluctuantes des tropiques. Il s'avère donc nécessaire de formuler un programme de sélection basé sur les besoins réels pour mettre au point des races bivoltines robustes afin d'améliorer les caractères liés à la productivité et à la viabilité.

MATERIELS ET METHODES

Cette étude, initiée en 1988, comprend deux races bivoltines, NB₄D₂ et Kalimpong-A (KA) et une race polyvoltine, *C. nichii*, conservées à la banque génétique de la section séricicole du Département d'études en zoologie de l'Université de Mysore (Mysore, Inde).

Le plan de sélection (Fig. 1) de cette expérience représente la production des descendants du croisement femelles NB₄D₂ × mâles KA. Les F₁ ont été accouplés entre eux et les femelles F₂ hybrides issues des cocons blancs cintrés à caractères raciaux japonais ont été croisées à des mâles *C. nichii* non consanguins pour obtenir les descendants F₃ ; ces descendants ont ensuite été croisés entre eux pour analyser la ségrégation de la forme du cocon et isoler des cocons ovales, légèrement cintrés et cintrés jusqu'à la génération F₅. Les femelles F₅ issues des cocons blancs légèrement cintrés ont été rétrocroisées avec des mâles NB₄D₂. A partir de la génération F₆, une sélection rigoureuse a été faite afin d'isoler les cocons blancs légèrement cintrés présentant une constitution et une architecture satisfaisantes. De plus, les individus de cette nouvelle lignée ont été accouplés entre eux et sélectionnés jusqu'à stabilisation de la productivité et de la viabilité. Les paramètres de sélection suivants ont été appliqués aux différents stades du développement pour choisir les parents à chaque génération :

Stade oeuf :

Au cours du programme de sélection, les papillons femelles robustes et féconds ont été mis à pondre sur des cartons de ponte correspondant à environ 50 pontes à chaque génération. Les papillons ont été accouplés à chaque génération pendant une période fixe de 3 heures, selon la méthode suggérée par Petkov et coll. (1979). Seules les pontes saines présentant des caractères complets d'hibernation ont été retenues à chaque génération. Les oeufs ont été traités à l'acide afin d'éviter leur entrée en diapause selon la méthode de Yokoyama (1962) et incubés à une température de 25 ± 1 °C et 60 à 70 % d'humidité relative. Neuf jours après la mise en incubation, des pontes composites comprenant environ 1 000 oeufs pour un groupe de 12 pontes avec le nombre maximal d'oeufs pour chacun des lots expérimentaux ont été préparées en trois réplicats. De plus, à chaque génération, le réplicat présentant le taux d'éclosion le plus élevé a été sélectionné pour la génération suivante afin d'améliorer ce caractère.

Stade larvaire :

Les "fourmis" écloses des lots expérimentaux et témoins ont été élevées en masse en trois réplicats jusqu'à la génération F₆. Après avoir fixé le nombre de base de larves après la 3^e mue à 300, les larves comparativement plus actives de couleur verdâtre et de texture rugueuse présentant une croissance saine et uniforme et un poids moyen ont été sélectionnées à chaque génération. L'élevage en cellules a été réalisé en 5 réplicats à partir de la génération F₇ jusqu'à isolement des lignées présentant les génotypes recherchés.

Stade nymphal/cocon :

Environ 2 000 cocons ont été utilisés pour la mesure des caractères du cocon. Le poids d'un cocon et le poids d'une coque des bons cocons ont été enregistrés et la richesse soyeuse a été calculée. Sur la base des données obtenues, les cocons dont le poids, la coque et la richesse soyeuse étaient intermédiaires et présentant une taille et une forme régulière ont été choisis à chaque génération pour le travail de sélection. Parallèlement, le réplicat donnant le taux de nymphose le plus élevé et le rendement maximal en nombre pour 10 000 larves levées a été retenu pour la génération suivante afin d'améliorer la viabilité.

Stade papillon :

Des papillons mâles et femelles robustes ont été sélectionnés à chaque génération et les papillons femelles fécondés ont été mis à pondre dans des conditions optimales. Après l'oviposition, les femelles ont été conservées en laboratoire jusqu'à leur mort afin d'enregistrer leur longévité. Les oeufs pondus par les papillons présentant la longévité maximale ont été retenus pour la génération suivante.

Les élevages des jeunes larves et des larves matures ont été réalisés suivant la technologie améliorée d'élevage du ver à soie de Yokoyama (1963) et de Krishnaswami (1978). Les observations portent sur six caractères d'intérêt commercial : le rendement en nombre et en poids pour 10 000 larves levées, le poids d'un cocon, le poids d'une coque et la richesse soyeuse. Les données concernant l'isolement de la nouvelle lignée bivoltine (MU720) et celles concernant les races témoins ont été analysées d'après le modèle statistique pour la classification unidimensionnelle. De plus, pour l'évaluation des paramètres post-cocon, 4 kg de cocons pour la lignée isolée et pour les races témoins ont été dévidés sur une machine japonaise multi-bouts au *Central Sericultural Research and Training Institute* de Mysore.

RESULTATS

Les données obtenues après analyse statistique de la lignée isolée et des lignées témoins pour les six caractères considérés sur 12 générations sont présentées dans les tableaux I à VI.

Rendement en cocons pour 10 000 larves levées (nombre) :

Les hybrides F₁ du croisement femelles NB₄D₂ × mâles KA (Fig. 1) présentent un rendement en cocons moyen de 9 503, nombre qui diminue légèrement à la génération F₂ (9 125 cocons). Les femelles F₂ croisées avec des mâles C. nichii présentent un rendement moyen de 9 145 cocons à la génération F₃. Les femelles F₅ rétrocroisées avec des mâles NB₄D₂ donnent un rendement moyen de 9 112 cocons à la génération F₆. Cependant, la poursuite des croisements consanguins se traduit par une augmentation progressive du rendement en cocons de la génération F₇ à la génération F₁₂. La différence entre les deux dernières générations n'est pas significative ($P > 0,05$) avec 9 340 à la génération F₁₁ et 9 274 cocons à la génération F₁₂, ce qui implique une stabilisation presque totale de ce caractère chez la lignée MU720 (Tableau I).

Rendement en cocons pour 10 000 larves levées (poids) :

Les données concernant le rendement en cocons en fonction du poids pour 10 000 larves levées (Tableau II) révèlent que la lignée isolée présente des différences non significatives entre la génération F₁₁ (15,283 kg) et la génération F₁₂ (15,176 kg), ce qui indique que le rendement en cocons en fonction du poids est pratiquement stabilisé chez la lignée MU720.

Poids d'un cocon :

Les valeurs moyennes du poids du cocon présentées dans le tableau III révèlent que les différences ne sont pas significatives ($P > 0,05$) entre la génération F₁₁ (1,674 g) et la génération F₁₂ (1,620 g) chez la lignée isolée MU720, ce qui indique que ce caractère est pratiquement stable chez la lignée isolée MU720.

Poids de la coque :

Les données concernant le poids de la coque chez la lignée isolée (Tableau IV) montrent que MU720 présente des différences non significatives ($P > 0,05$) entre la génération F₁₁ (0,293 g) et la génération F₁₂ (0,289), ce qui implique une stabilisation de ce caractère chez la nouvelle lignée.

Richesse soyeuse :

Les données portant sur la richesse soyeuse chez la lignée isolée (Tableau V) révèlent que MU720 présente des différences non significatives ($P > 0,05$) entre la génération F₁₁ (17,607 %) et la génération F₁₂ (17,463 %), ce qui indique une stabilisation progressive de ce caractère chez la nouvelle lignée.

Taux de nymphose :

Les valeurs moyennes obtenues pour le taux de nymphose (Tableau VI) révèlent que la lignée isolée MU₇₂₀ présente des différences non significatives ($P > 0,05$) entre la génération F₁₁ (89,460 %) et la génération F₁₂ (90,463 %), ce qui indique une stabilisation complète de ce caractère.

En outre, la comparaison des caractères technologiques de la fibre chez les races témoins NB₄D₂ et KA et chez la lignée isolée MU₇₂₀ montre que MU₇₂₀ donne des valeurs supérieures pour la longueur moyenne de la bave, le denier, le rendement à la bassine et la régularité à celles obtenues pour les races témoins (Tableau VII).

DISCUSSION

La fluctuation des conditions environnementales en région tropicale, la qualité médiocre de la feuille de mûrier et l'inadéquation des pratiques d'élevage font ressortir la nécessité d'isoler des races bivoltines robustes avec des génotypes plus adaptables présentant une meilleure viabilité et une productivité modérée.

Le but final de tout éleveur est, en premier lieu, d'isoler une race pouvant donner des récoltes stabilisées et, en deuxième lieu, d'améliorer à la fois la qualité et la quantité de soie (Tazima, 1984). Chez le ver à soie, des études réalisées pour différents caractères ont montré que ceux-ci pouvaient être modifiés et adaptés aux besoins de l'éleveur, la sélection pour un caractère donné étant corrélée avec la modification génétique des autres caractères (Gamo, 1976 ; Raju, 1992).

Chez le ver à soie, la corrélation est négative pour certains caractères et positive pour d'autres (Tsuchiya et Kurashima, 1960 ; Suzuki et Ichimaru, 1961 ; Gamo et Ichiba, 1971 ; Lekuthai et Butrachand, 1974 ; Sturmnikov et Sturmnikov, 1986 ; Raju et Krishnamurthy, 1993). L'utilisation couplée des bivoltins et des polyvoltins dans les programmes d'élevage pourrait permettre une combinaison de génomes aboutissant à une synthèse de souches bivoltines robustes avec une viabilité supérieure et une productivité modérée. Le croisement consanguin des hybrides pour isoler et stabiliser les races de vers à soie qui se reproduisent de manière uniforme pour les caractères recherchés a fait l'objet de nombreux travaux (Harada, 1952 ; Hirobe, 1968 ; Kovalov, 1970 ; Gamo, 1976). En outre, au cours de la sélection, la méthode du rétrocroisement permet d'améliorer les qualités du cocon (Tazima, 1964).

Dans le programme de sélection présenté ici (Fig. 1), le but était d'isoler une race bivoltine plus résistante et permettant d'assurer des récoltes de cocons plus stables et plus viables que celles obtenues avec les bivoltins existants. Comme il y a une corrélation négative entre les caractères liés à la productivité et ceux liés à la viabilité, nous avons tenté d'améliorer la viabilité de la lignée isolée sans trop sacrifier les caractères de productivité.

Les résultats obtenus pour la nouvelle lignée bivoltine MU₇₂₀, qui présente des caractères raciaux japonais et file des cocons blancs cintrés, sont supérieurs en termes de viabilité (rendement en cocons en fonction du nombre et taux de nymphose) à ceux de leurs témoins respectifs NB₄D₂ et KA (Tableaux I à VI).

Bien qu'il y ait une légère diminution du poids du cocon, du poids de la coque et de la richesse soyeuse (Tableaux III, IV et V) chez la nouvelle lignée MU₇₂₀ par rapport aux témoins, elle donne de meilleurs résultats pour les caractères liés à la viabilité, assurant de bonnes récoltes de cocons. Cette amélioration du rendement en cocons en fonction du nombre et du taux de nymphose, facteur d'augmentation du rendement en cocons en fonction du poids, répond à un besoin immédiat dans les programmes de sélection de races bivoltines tropicales. De plus, la nouvelle race MU₇₂₀ donne de meilleurs résultats pour certains caractères technologiques de la fibre comme la longueur de la bave, le denier, le rendement à la bassine et la régularité (Tableau VII).

Au vu de ces résultats, la nouvelle lignée bivoltine isolée MU₇₂₀ du ver à soie *Bombyx mori* L. pourrait être exploitée commercialement dans les zones tropicales.

INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE SILK PRODUCING POTENTIAL OF MULTIVOLTINE *BOMBYX MORI* LINN., RACE *NISTARI*

A.B. MISHRA & V.B. UPADHYAY

Silkworm Laboratory, Department of Zoology, University of Gorakhpur, Gorakhpur - 273 009, India.

The silk producing potential of Bombyx mori, race nistari, has been studied in detail at different temperature regimes on the basis of the per cent shell ratio. Temperature caused most profound effects on the silk producing potential (shell ratio) of B. mori in wet and dry conditions. The wet and dry shell ratios recorded in the present investigation clearly indicate better chances of silk production at 26 °C.

Keywords: *Bombyx mori*, temperature, nutritional efficiency, shell ratio.

INTRODUCTION

The ultimate aim of the sericulture industry is to produce good amounts of standard quality of raw silk. The improved grade of nutrition by dietary management directly influences the quality and silk producing potential of *Bombyx mori* (Sharma *et al.*, 1987). Surprisingly enough, some work has been done on the relationship between the production of silk and nutritional ability of *Bombyx mori* by Legay (1958), Verma and Atwal (1968), Sengupta *et al.* (1972), Koul *et al.* (1979), Badan and Tara (1984), Sharma *et al.* (1986), Singh and Mavi (1987), Karaivanov (1988), Nath *et al.* (1990) and El-Karakasy and Idriss (1990) but they had not paid attention towards the study of certain meteorological factors influencing the silk producing potential of the silkworm. The role of various ecological factors like temperature (Upadhyay and Mishra, 1991), humidity (Mishra and Upadhyay, 1992) and photoperiod (Mishra and Upadhyay, 1993) has been proved to be effective on the nutritive capability of bivoltine mulberry silkworms. From the perusal of the above literature, it may be pointed out that ecological factors like temperature, humidity and photoperiod influencing the nutritional efficiency of *B. mori* may have a notable impact on the quality and quantity of silk production.

Keeping this in view, an attempt has been made to investigate the effect of varying temperature regimes on the silk producing potential, particularly shell ratio, of *B. mori*.

MATERIALS AND METHODS

The eggs of the multivoltine mulberry silkworm, *Bombyx mori*, race *nistari*, were obtained from the silkworm grainage maintained by the Directorate of Sericulture at Gorakhpur Centre. The dried eggs were transferred to the incubator for hatching at $26 \pm 1^\circ\text{C}$ and $75 \pm 5\%$ RH. The eggs during incubation were black-boxed at head pigmentation stage and exposed to diffused light in the morning of the date of hatching which occurred on the 7th and/or 8th day from the day of egg laying.

After two consecutive days of hatching, the silkworm larvae were collected with the help of a feather and reared to maintain a stock culture in the silkworm laboratory at $26 \pm 1^\circ\text{C}$ and $75 \pm 5\%$ RH. Four feedings of small pieces of fresh and clean leaves of *Morus alba* were given to the larvae

and care was taken that food always remained in excess in the rearing trays. The third, fourth and fifth instar larvae were taken for experiment.

After the second moult is over, the larvae attain the third instar stage. Four batches (sufficient number of larvae in each batch) of third instar larvae obtained from the stock culture were taken separately from the rearing trays (25 × 20 × 5 cm) and were transferred chronically to a BOD incubator maintained at one of the five experimental temperatures (18, 22, 26, 30 and 34 °C controlled to ± 1 °C) and 75 ± 5% RH. Fresh and clean mulberry leaves were given for feeding to the experimental larvae.

After completion of the fifth instar, the mature worms cease feeding and are ready for spinning. These mature worms move here and there in the tray to seek a suitable place for mounting. To facilitate mounting, small mountages were provided to the mature worms. For this purpose, the mature worms were picked from the tray and put on 'Mountages'. It was observed that the mature worms began mounting, which was completed within three days. To determine the shell ratio, the weights of 20 cocoons and 20 shells for each batch were recorded separately on the fifth day of the beginning of spinning. For the dry weight recording of the shell ratio, the cocoon and shell were oven-dried at 80 °C for 48 hours. Four replicates of each experiment were made. The data obtained were analysed statistically by one-way analysis of variance (ANOVA) test. The shell ratio percentage was calculated based on at least 20 cocoons taken at random from the good cocoon lot in each batch.

For analysis of the data, the weight of 20 cocoons was taken from each batch. The number of batches in each replicate was 4, therefore, the average weight was calculated for 80 cocoons for each replicate, on which the statistical tests were made. Thus, 320 (80 × 4) cocoons were used for analysis of the data at one regime of temperature in four replicates.

$$\text{Shell ratio \%} = \frac{\text{Weight of cocoon shells}}{\text{Weight of cocoons}} \times 100$$

RESULTS

The silk producing potential of *Bombyx mori* was estimated on the basis of the per cent shell ratio. In the present study both the wet weight and the dry weight shell ratio were recorded. After drying at 80 °C for 48 hours, the reduction in the weight of the whole cocoon was comparatively greater than in the cocoon shell, therefore, the dry weight shell ratio was much higher than the wet weight shell ratio.

The data presented in Tables I and II and Figure 1 indicate that the variation in the rearing temperature influences the shell ratio of *B. mori*. The wet weight shell ratio at 22 and 26 °C was recorded to be 13.75% and 14.03%, respectively, which was considerably higher than the shell ratio recorded at lower (11.47% at 18 °C) and higher (10.99% at 30 °C and 10.45% at 34 °C) regimes of rearing temperature. The one-way ANOVA test showed that the rearing temperature significantly ($P < 0.01$) influenced the dry weight shell ratio of silkworm (Table II).

DISCUSSION

The data given in Tables I and II and Figure 1 indicate that the wet weight and dry weight shell ratio are highest at 26 °C. At lower and higher temperature regimes, the shell ratio percentage in the silkworm declined to the level of 10.45% at 34 °C on a wet weight basis, whereas on a dry weight basis the shell ratio declined to the level of 31.29% at 34 °C.

It is quite clear from the data that a 26 °C temperature is most suitable for the rearing of early instars as well as all instars for heavy production of cocoons by *Bombyx mori*, race *nistari* (Tables I and II). It indicates that temperature variation causes most profound effects on the silk producing potential of *B. mori*, which is in agreement with the observations made by Kremky (1957) in the Gros Var race of *Bombyx mori* that temperature variation has a definite effect on the nature, length, richness

Table I. Wet weight shell ratio (%) in the silkworm cocoon at various temperature regimes.

Tableau I. Poids frais de la coque soyeuse (%) du cocon de ver à soie à différents régimes de température.

| Temperature / Température (°C) | | | | | F |
|--------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---|
| 18 | 22 | 26 | 30 | 34 | n ₁ = 4 n ₂ = 15 |
| 11.47 ± 1.09 | 13.75 ± 1.14 | 14.03 ± 1.95 | 10.99 ± 0.74 | 10.45 ± 0.82 | 7.160 (p < 0.01) |

Each value represents the mean ± standard deviation of four replicates.

The value of each replicate is the average of 80 cocoons obtained from four batches, 20 cocoons in each batch.

Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart type de quatre réplicats.

La valeur de chaque réplicat correspond à la moyenne de 80 cocons issus de quatre lots de 20 cocons.

Table II. Dry weight shell ratio (%) in the silkworm cocoon at various temperature regimes.

Tableau II. Poids sec de la coque soyeuse (%) du cocon de ver à soie à différents régimes de température.

| Temperature / Température (°C) | | | | | F |
|--------------------------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---|
| 18 | 22 | 26 | 30 | 34 | n ₁ = 4 n ₂ = 15 |
| 38.13 ± 2.66 | 45.03 ± 4.45 | 46.42 ± 3.26 | 42.70 ± 11.61 | 31.29 ± 1.47 | 3.334 (p < 0.05) |

Each value represents the mean ± standard deviation of four replicates.

The value of each replicate is the average of 80 cocoons obtained from four batches, 20 cocoons in each batch.

Chaque valeur représente la moyenne ± l'écart type de quatre réplicats.

La valeur de chaque réplicat correspond à la moyenne de 80 cocons issus de quatre lots de 20 cocons.

and strength of the fibre. Kremky (1957) further pointed out that gradual lowering of the rearing temperature during the growth of the silkworm enhanced the production of silk in comparison to the rearing temperature kept steady during the whole time. Benchamin and Nagaraj (1987) observed maximum spinning efficiency around a 23 °C temperature regime and Karaivanov (1988) obtained good quality cocoons in *Bombyx mori* hybrid race Hebur 1 × Hebur 2 and Kinshu × Showa at 24 °C, which suggests that heavy silk production may be achieved between 23 °C and 24 °C temperature. A similar view has been expressed by Singh and Mavi (1987) in the *Bombyx mori* races Yakwei × Hawlak and (B₄₀ × CN) (J112 × J122). During the common regimes of temperature and relative

humidity, except the extremely low temperature with a high humidity or high temperature over 30 °C with high humidity, the harmful effect of raising temperature by 2.7 °C upon the quality of cocoons is almost the same as the beneficial effect of lowering the relative humidity by 10 to 13% in *Bombyx mori* (Ushigome, 1975).

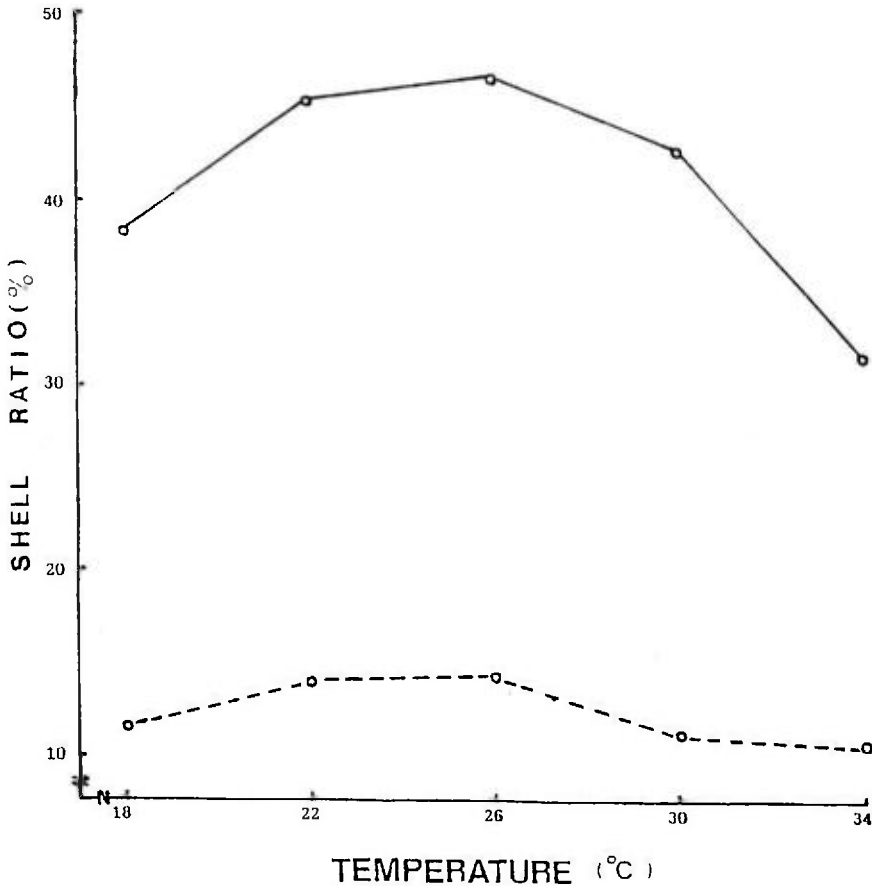


Fig. 1: Effect of temperature on the dry weight and wet weight shell ratio of *Bombyx mori*.

Fig. 1 : Effet de la température sur la richesse soyeuse en poids sec et en poids frais du cocon de *Bombyx mori*.

- Dry weight / Poids sec.
- - -○ Wet weight / Poids frais.

It is our surmise that, similarly to the direct effect of rearing temperature on the silk producing potential of *Bombyx mori*, the nutritional status of silkworm larvae, which may be influenced by variation in the rearing temperature, may have a notable impact on the silk producing potential of

B. mori. On the basis of the views expressed that vitamin C increases the silk yield of *Bombyx mori* (El-Karakasy *et al.*, 1985), the use of ascorbic acid significantly increases the weight of both larvae and pupae, resulting in heavier production of cocoons in the *Bombyx mori* Korean hybrid 155 × 156 (El-Karakasy and Idriss, 1990), supplementary nutrients cause heavy production of silk in *Bombyx mori* (Bajpeyi *et al.*, 1993) and a lower amount of food intake by parasitised larvae ultimately reduces silk production in *Bombyx mori* race nistari (Nath *et al.*, 1990), it may be inferred that the factors influencing the nutritional status of silkworms are also responsible for the qualitative and quantitative production of silk. The high production of silk by the RRL-B race of *B. mori* fed on *Morus alba* Sujanpuri (Koul *et al.*, 1979), heavy production of silk by *Samia cynthia*, race white, fed on castor (*Ricinus communis* L.) (Devaiah *et al.*, 1985) and spinning of heavier cocoons with a higher fibroin content in *Bombyx mori*, race hybrid NB18 × NB7 and crossbreed L × KA fed on tender leaves (Narayanaprakash *et al.*, 1985) shows the importance of suitable food plants for good production of cocoons by silkworm larvae.

Thus, it may be concluded that temperature variation, suitability of the host plant race and nutritional status of silkworm larvae influence the silk producing potential of silkworms.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to the Council of Science and Technology, U.P., Lucknow, for providing financial support and to the Head of the Department of Zoology for providing facilities for the work.

REFERENCES

- BADAN P., TARA J.S. (1984) Comparative weight gain in silkworms (*Bombyx mori*) fed on different varieties of mulberry. *Zoologica Orientalis*, 1(2), 53-54.
- BAJPEYI C.M., SINGH R.N., THANGAVELU K. (1991) Supplementary nutrients to increase silk production. *Indian Silk*, 30(7), 41-42.
- BENCHAMIN K.V., NAGARAJ C.S. (1987) Appropriate Sericulture Techniques. *Silkworm Rearing Techniques*. Edited by M.S. Jolly, International Centre for Training and Research in Tropical Sericulture, Mysore, India, pp. 63-106.
- DEVAIAH M.C., RAJASHEKHARGOUDA R., SUHAS Y., GOVINDAN R. (1985) Growth and silk production in *Samia cynthia ricini* Boisduval fed on four different host plants. *Indian J. Seric.*, 24(1), 33-35.
- EL-KARAKSY I.A., IDRIS M. (1990) Ascorbic acid enhances the silk yield of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Appl. Ent.*, 109, 81-86.
- EL-KARAKSY I.A., KOTBY F.A., MOHANNA N.F. (1985) The effect of ascorbic acid on the silkworm, *Bombyx mori* L. *Alex. J. Agric. Res.*, 30(2), 1023-1030.
- GHOSH S.S. (1987) Appropriate Sericulture Techniques. *Silkworm Reeling Technology*. Edited by M.S. Jolly, International Centre for Training and Research in Tropical Sericulture, Mysore, India, pp. 145-172.
- KARAIVANOV S. (1988) A study on the effect of temperature, feeding allowance and feeding area on the rearing of silkworms in the fourth and fifth instars and on the spinning of cocoons. II. During silkworm feeding in summer and autumn. *Zhivotnov dni Nauki*, 25(7), 91-98.
- KOUL O., TIKKU K., SAXENA B.P., ATAL C.K. (1979) Growth and silk production in *Bombyx mori* L. fed on three different varieties of mulberry. *Indian J. Seric.*, 18, 1-5.
- KREMKY J. (1957) Influence de la température sur la valeur technologique des cocons de la race Gros Var pendant l'élevage des vers à soie du mûrier. *Revue du Ver à Soie*, Tome III, 9(5/6), 183-199.
- LEGAY J.-M. (1958) Recent advances in silkworm nutrition. *Ann. Rev. Ent.*, 3, 17-44.
- MISHRA A.B., UPADHYAY V.B. (1992) Nutritional efficiency of bivoltine, *Bombyx mori* Linn., larvae at higher regimes of relative humidity. *J. Adv. Zool.*, 13(1&2), 16-18.
- MISHRA A.B., UPADHYAY V.B. (1993) Nutritional efficiency of bivoltine, *Bombyx mori* Linn., larvae at different photoperiods. *Proc. 80th Session Indian Science Congress*, Gao, pp. 54-55.

- NATH T.N., BISWAS S.N., SEN S.K., SUBBA RAO G. (1990) Effect of consumption, digestion and utilization of food in larvae of silkworm, *Bombyx mori* Linn., due to parasitism by uzifly, *Tricholyga bombycis* Beck. Indian J. Seric., 29(1), 8-12.
- NARAYANAPRAKASH R., PERIASAMY K., RADHAKRISHNAN S. (1985) Effect of dietary water content on food utilization and silk production in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). Indian J. Seric., 24(1), 12-17.
- SENGUPTA K., SINGH B.D., MUSTAFI J.C. (1972) Nutrition of silkworm, *Bombyx mori* L. 1. Studies on the enrichment of mulberry leaf with various sugars, proteins, amino acids and vitamins for vigorous growth of worms and increased cocoon crop production. Indian J. Seric., 11(1), 11-19.
- SHARMA B., BADANP., TARA J.S. (1986) Comparative consumption, utilization, % pupation and silk production in silkworms (*Bombyx mori*) fed on various varieties of mulberry existing in Jammu division of Jammu and Kashmir State. Sericologia, 26(4), 419-429.
- SHARMA A., SHARMA G.K., PAREEK B.L. (1987) Food utilization studies on mulberry silkworm, *Bombyx mori* Linnaeus. Indian J. Appl. Ent., 1, 5-8.
- SINGH H., MAVI G.S. (1987) Rearing of mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.) during autumn and spring seasons under the Punjab conditions. J. Ent. Res., 10(1), 79-84.
- USHIGOME (1975) Textbook of Tropical Sericulture. Silkworm Mounting. First Edition, Japan Overseas Cooperation Volunteers, Tokyo, Japan, pp. 503-519.
- UPADHYAY V.B., MISHRA A.B. (1991) Nutritional ability of bivoltine silkworm *Bombyx mori* Linn. larvae at higher temperature regimes. J. Adv. Zool., 12(1), 56-59.
- VERMA A.N., ATWAL A.S. (1968) Effect of food and temperature on the development and silk production of *Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera: Bombycidae). Beitr. Ent., 81, 249-258.

INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LE POTENTIEL DE PRODUCTION DE SOIE DU VER A SOIE POLYVOLTIN *BOMBYX MORI* LINN., RACE NISTARI

A.B. MISHRA & V.B. UPADHYAY

Silkworm Laboratory, Department of Zoology, University of Gorakhpur, Gorakhpur - 273 009, Inde.

Le potentiel de production de soie de Bombyx mori, race Nistari, a été étudié en détail à différents régimes de température sur la base de la richesse soyeuse. La température a des effets prononcés sur le potentiel de production de soie (richesse soyeuse) de B. mori aussi bien en poids sec qu'en poids frais. Les richesses soyeuses sèches et fraîches relevées dans cette étude indiquent clairement que la meilleure température pour la production de soie est de 26 °C.

INTRODUCTION

La sériciculture a pour objet de produire de la soie grège de qualité standard en grandes quantités. L'amélioration de la qualité de la nutrition par la gestion de l'alimentation a une influence directe sur la qualité et sur le potentiel de production de soie de *Bombyx mori* (Sharma et coll., 1987). Il est étonnant de noter que, si certains travaux ont été réalisés sur la relation entre la production de soie et la capacité nutritionnelle de *Bombyx mori* par Legay (1958), Verma et Atwal (1968), Sengupta et coll. (1972), Koul et coll. (1979), Badan et Tara (1984), Sharma et coll. (1986), Singh et Mavi (1987), Karaivanov (1988), Nath et coll. (1990) et El-Karaksy et Idriss (1990), aucun ne s'est intéressé à l'influence de certains facteurs météorologiques sur le potentiel de production de soie du ver à soie. Le rôle de divers facteurs écologiques comme la température (Upadhyay et Mishra, 1991), l'humidité (Mishra et Upadhyay, 1992) et la photopériode (Mishra et Upadhyay, 1993) a été avéré dans la capacité nutritive des vers à soie du mûrier bivoltins. La lecture de ces travaux montre que les facteurs écologiques comme la température, l'humidité et la photopériode, qui influencent l'efficacité nutritionnelle de *B. mori*, peuvent avoir un impact marqué sur la qualité et la quantité de production de soie.

Tenant compte de ceci, une étude a été réalisée afin d'observer l'effet de différents régimes de températures sur le potentiel de production de soie, en particulier la richesse soyeuse, de *B. mori*.

MATERIELS ET METHODES

Des oeufs de la race polyvoltine Nistari du ver à soie *Bombyx mori* ont été fournis par le centre de grainage du *Directorate of Sericulture de Gorakhpur Centre*. Pour l'éclosion, les oeufs séchés ont été placés en incubateur à 26 ± 1 °C et 75 ± 5 % d'humidité relative. Au cours de l'incubation, les oeufs ont été placés dans des boîtes noires au stade de pigmentation de la tête et exposés à une lumière diffuse le matin du jour de l'éclosion, 7 à 8 jours après la date de ponte.

Après deux jours d'éclosion consécutifs, les larves de vers à soie ont été prélevées à l'aide d'une plume et élevées sur une culture mère en laboratoire à 26 ± 1 °C et 75 ± 5 % d'humidité relative. Les larves ont été nourries quatre fois par jour avec des feuilles propres et fraîches de *Morus alba* coupées en petits morceaux et on a pris soin d'enlever la nourriture excédentaire dans les litières. Les larves du troisième, quatrième et cinquième âge ont été choisies pour les expériences.

Une fois la deuxième mue terminée, les larves passent au troisième âge. Quatre lots (avec un nombre suffisant de larves dans chaque lot) de larves du troisième âge issues de la culture mère ont été prélevées individuellement dans les litières d'élevage (25 × 20 × 5 cm) et transférées systématiquement dans un incubateur BOD maintenu à l'une des cinq températures expérimentales (18, 22, 26, 30 et 34 °C ± 1 °C) et 75 ± 5 % d'humidité relative. Des feuilles de mûrier fraîches et propres ont été données aux larves expérimentales.

A la fin du cinquième âge, les larves matures cessent de se nourrir et sont prêtes à filer. Ces larves se déplacent dans la litière à la recherche d'un endroit approprié pour le filage. Pour faciliter leur montée, de petits encabanages ont été fournis aux larves matures. A cette fin, les larves matures ont été prélevées dans la litière et placées sur les "Encabanages". Les larves matures commencent alors le filage, qui se termine trois jours plus tard. Afin de déterminer la richesse soyeuse, les poids de 20 cocons et de 20 coques pour chaque lot ont été relevés au cinquième jour du filage. Le poids sec de la richesse soyeuse a été enregistré après séchage au four à 80 °C du cocon et de la coque pendant 48 heures. Quatre réplicats ont été faits pour chaque traitement. Les données obtenues ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA). Le pourcentage de richesse soyeuse a été calculé sur la base d'au moins 20 cocons prélevés au hasard parmi les bons cocons de chaque lot.

Pour l'analyse des données, le poids de 20 cocons a été relevé dans chaque lot. Le nombre de lots dans chaque réplicat étant de quatre, le poids moyen a été calculé pour 80 cocons dans chaque réplicat et a été utilisé pour les tests statistiques. En tout, 320 (80 × 4) cocons ont été utilisés pour l'analyse statistique des résultats à un régime de température donné pour quatre réplicats.

$$\text{Richesse soyeuse} = \frac{\text{Poids des coques}}{\text{Poids des cocons}} \times 100$$

RESULTATS

Le potentiel de production de soie de *Bombyx mori* a été estimé sur la base de la richesse soyeuse. Dans cette étude, la richesse soyeuse a été relevée aussi bien en poids sec qu'en poids frais. Après séchage à 80 °C pendant 48 heures, la réduction du poids du cocon entier est comparativement plus élevée que celle de la coque, la richesse soyeuse est donc nettement plus élevée en poids sec qu'en poids frais.

Les données présentées dans les tableaux I et II et dans la figure 1 indiquent que la variation de la température d'élevage affecte la richesse soyeuse de *B. mori*. La richesse soyeuse en poids frais à 22 et 26 °C est respectivement de 13,75 % et 14,03 %, valeurs nettement supérieures à celles obtenues à des régimes de températures d'élevage inférieur (14,47 % à 18 °C) et supérieur (10,99 % à 30 °C et 10,45 % à 34 °C). L'analyse de variance unidimensionnelle montre que la température d'élevage affecte de manière significative ($P < 0,01$) la richesse soyeuse en poids sec du ver à soie (Tableau II).

DISCUSSION

Les données présentées dans les tableaux I et II et dans la figure 1 indiquent que la richesse soyeuse en poids sec et en poids frais est maximale à 26 °C. A des régimes de températures inférieurs ou supérieurs, la richesse soyeuse du ver à soie tombe à 10,45 % à 34 °C en poids frais et à 31,29 % à 34 °C en poids sec.

La lecture des données montre clairement qu'une température de 26 °C est la plus adaptée à l'élevage aussi bien des premiers âges que de l'ensemble des âges larvaires et permet une bonne production de cocons chez la race Nistari de *Bombyx mori* (Tableaux I et II). Les variations de températures provoquent des effets marqués sur le potentiel de production de soie de *B. mori*; ce qui est conforme aux travaux de Kremky (1957) chez la race Gros Var de *Bombyx mori* qui a observé que les variations de température ont un effet marqué sur la nature, la longueur, la richesse et la force de la fibre. Kremky (1957) a également indiqué qu'une diminution progressive de la température d'élevage au cours de la croissance du ver à soie permettait une production de soie supérieure à celle

obtenue à température uniforme pendant toute la durée de l'élevage. Benchamin et Nagaraj (1987) ont observé que le filage est maximal à une température de 23 °C et Karaivanov (1988) a obtenu des cocons de bonne qualité chez les hybrides Hebur 1 × Hebur 2 et Kinshu × Showa de *Bombyx mori* à 24 °C, ce qui indique qu'il est possible d'obtenir une bonne production de soie avec des températures situées entre 23 et 24 °C. Des résultats similaires ont été obtenus par Singh et Mavi (1987) avec les races Yakwei × Hawlak et (B40 × CN) (J112 × J122) de *Bombyx mori*. Dans des régimes de température et une humidité relative uniformes, excepté à très faible température et humidité élevée ou forte température de plus de 30 °C et humidité élevée, l'effet négatif produit en augmentant la température de 2,7 °C sur la qualité des cocons est pratiquement le même que celui produit en diminuant l'humidité de 10 à 13 % chez *Bombyx mori* (Ushigome, 1975).

Notre hypothèse est que, de même que la température d'élevage a un effet direct sur le potentiel de production de soie de *Bombyx mori*, le statut nutritionnel des larves de ver à soie, qui peut être influencé par les variations de température, peut avoir un impact notable sur le potentiel de production de soie de *B. mori*. Compte tenu du fait que la vitamine C augmente le rendement en soie de *Bombyx mori* (El-Karakasy et coll., 1985), que l'utilisation d'acide ascorbique entraîne une augmentation significative du poids de la larve et de la chrysalide et une production plus importante de cocons chez l'hybride coréen 155 × 156 de *Bombyx mori* (El-Karakasy et Idriss, 1993), que l'addition d'éléments nutritifs favorise la production de soie chez *Bombyx mori* (Bajpeyi et coll., 1993) et qu'une diminution de l'ingestion de nourriture chez les larves infestées se traduit par une diminution de la production de soie chez la race Nistari de *Bombyx mori* (Nath et coll., 1990), on peut en déduire que les facteurs influençant le statut nutritionnel des vers à soie sont également responsables de la qualité et de la quantité de soie produite. La production élevée de soie chez la race RRL-B de *B. mori* nourrie avec des feuilles de mûrier Sujanjuri de *Morus alba* (Koul et coll., 1979), la production importante chez la race blanche de *Samia cynthia ricini* nourrie avec des feuilles de ricin (*Ricinus communis* L.) et le filage de cocons plus lourds présentant un contenu en fibroïne plus élevé chez l'hybride NB₁₈ × NB₇ et chez le croisement L × KA de *Bombyx mori* nourris avec des feuilles tendres (Narayanaprakash et coll., 1985) montrent l'importance de l'utilisation de plantes nourricières appropriées dans la production de cocons par les larves de vers à soie.

On peut donc conclure que les variations de température, le choix de la plante hôte et le statut nutritionnel des larves de vers à soie influencent leur potentiel de production de soie.

EFFECT OF HYDROLYZED PROTEIN (P-SOYATOSE) ON HAEMOLYMPH PROTEIN PROFILE, LARVAL AND PUPAL CHARACTERS OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L. (LEPIDOPTERA: BOMBYCIDAE)

M. KRISHNAN*, K.M. SUBBU RATHINAM & S. JANARTHANAN

Department of Biotechnology, School of Life Sciences, Bharathidasan University,
Tiruchirappalli - 620 024, India.

The effects of hydrolyzed protein (P-soyatose) on larval growth, economic characters and haemolymph protein profile were examined in the larvae of Bombyx mori. The silkworms were fed with mulberry leaves dipped in suspensions of hydrolyzed protein varying from 0.5 to 5.0%. Since hydrolyzed protein concentration of 2.5 to 5.0% deteriorated the silkworm larvae, a narrow range (0.50 to 2.25%) was selected for the present study. At 2.00% concentration, larval weight, cocoon weight, shell ratio, fecundity and haemolymph protein intensity were found to be maximum. At 2.25%, the above parameters were higher than those of the control but were less than those recorded at 2.00% concentration. From the results, it is confirmed that hydrolyzed protein (P-soyatose) is an ideal nutrient for the sericulture industry.

Keywords: Hydrolyzed protein, P-soyatose, haemolymph protein profile, *Bombyx mori*.

INTRODUCTION ¶

Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*, has been, and still is, a matter of concern in sericulture both scientifically and practically (Ito, 1981). Today, artificial diets are common for enhancing the nutrition of silkworms, especially *B. mori*. In most temperate regions, the non-availability of mulberry leaves during autumn and winter prevailing for 5-6 months in a year has led to various attempts towards the formulation of synthetic and semi-synthetic diets. However, in India, since growth of mulberry is continuous and enough leaves are produced all through the year, attempts have been made to enrich mulberry leaves with certain nutritive substances like proteins, amino acids, sugars, minerals and vitamins to promote the larval development and cocoon production in the silkworm (Sengupta *et al.*, 1972). Of the various supplementations, dietary protein has a significant impact on silkworm growth, silk production (Ito and Tanaka, 1962; Ito and Mukaiyama, 1970; Horie *et al.*, 1971; Kamioka *et al.*, 1971; Subba Rao *et al.*, 1989; Zhang *et al.*, 1991), haemolymph proteins (Horie and Watanabe, 1983; Nagata and Kobayashi, 1990) and defence against nuclear polyhedrosis virus infection (Watanabe *et al.*, 1990). The pure nutrients supplemented with a natural product such as soybean protein resulted in better silkworm growth (Ito, 1981) as it contained all the indispensable amino acids (Reinecke, 1985). Some of such amino acids act as a stimulatory substance which enhances the feeding rate in phytophagous insects (Hsiao, 1985). Therefore, the aim of the present investigation was to determine the effect of different regimes of dietary hydrolyzed protein (P-soyatose) on the haemolymph protein profile, larval growth and economic characters.

* Reprint requests.

MATERIALS AND METHODS

Freshly moulted final instar larvae of *Bombyx mori* (crossbreed: L, a multivoltine, × NB₄D₂, a bivoltine) were used for the present study. Dietary hydrolyzed protein (P-soyatox) used as a supplementary diet was obtained from Warkem Company, Bombay. This protein is an enzymic digest of soya protein containing 8.8% total nitrogen. This plant protein hydrolyzate is neutral in pH, and is soluble in water. It contains no pathogenic organisms. Using this powder the protein suspensions were prepared in distilled water at different concentrations (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, ..., 5.0%) to select the effective dose (ED). Fresh chopped mulberry leaves (MR₂ variety) were soaked in each of the selected concentrations of hydrolyzed protein for 10 minutes. These leaves were air-dried and offered as food to the worms. Of the four feedings (Benjamin *et al.*, 1983) only one feeding was given with protein-supplemented mulberry leaves in order to evaluate the minimum supplementation effect. Bioassay was carried out three times for each concentration with fifty animals per replicate. Mortality was recorded daily for each concentration. A control group was maintained and fed with chopped mulberry leaves without supplementation.

From these tests, a narrow range, i.e., 0.50, 0.75, 1.00, ..., 2.25%, of P-soyatox was chosen for conducting the study since concentration above this level resulted in severe worm mortality.

Economic characters:

Larval weight was taken on its fifth day. After completion of rearing, cocoons were harvested on the fifth day of spinning and subjected to cocoon assessment. The moths that emerged from experimental and control groups each with three replicates were allowed to lay eggs after mating and their fecundity was counted separately. ANOVA and regression lines were compared for each concentration of hydrolyzed proteins, larval and cocoon characters, respectively.

Haemolymph proteins:

Electrophoresis was performed to determine the storage proteins daily during the development of fifth instar larvae. Polyacrylamide gel electrophoresis was carried out in the presence of sodium dodecyl sulphate (10% SDS-PAGE), according to the method of Laemmli (1970). Densities of protein bands were measured with a microdensitometer (MD100 Carlzeiss, Germany). Storage proteins (Sp1 and Sp2) were identified tentatively by their positions.

RESULTS

The following observations could be made from the wide-range bioassay soybean protein supplementation studies (a) all the supplemented larvae reduced their larval duration by a day when compared to the control, (b) the maximum impact on larval mortality was at 5.0% supplementation level (100% mortality) followed by 4.50% (60% mortality) (Fig. 1), and (c) in lesser concentration the larval growth increased over that of the control group up to 2.50% level (Fig. 1). Since the results indicated that a concentration less than 2.50% of P-soyatox was effective, it was decided to select a narrow range from 0.5 to 2.25% for the detailed study.

In these experiments the larvae entered into spinning in 6 days whereas it took 7 days for the control group. Among the supplemented diets, the maximum growth was observed between 1.50 and 2.00% levels. The maximum larval weight was noted to be 4.49 g (males) and 4.61 g (females) at 2.00% level. The larval weight slightly decreased to 4.21 g in females fed with 2.25% when compared to the preceding supplementation. In the control group it was 3.29 g in males and 3.37 g in females (Table I). The economic characters were also influenced by the hydrolyzed soybean protein regimes. The maximum cocoon weight recorded was 2.6 g at 2.00% level, while it was 2.00 g in the control. In addition, maximal increases in pupal weight, shell weight and shell ratio were observed at 2.00% supplemented level (Table I). Egg production was higher in the larvae fed with hydrolyzed protein (Table I). For instance, while a female that emerged from the control group laid only 406 eggs, the female that emerged from the 2.00% group laid 532 eggs. Correlation studies showed that hydrolyzed soybean proteins significantly increased the weight of the larva ($P < 0.001$), cocoon ($P < 0.001$), pupa ($P < 0.001$), shell ($P < 0.001$), shell ratio ($P < 0.05$) and fecundity ($P < 0.05$) (Fig. 2).

Fig. 1: Effect of hydrolyzed protein on mortality and weight of fifth instar larvae of *Bombyx mori*.

Fig. 1 : Effet des protéines hydrolysées sur la mortalité et le poids des larves de Bombyx mori au cinquième âge.

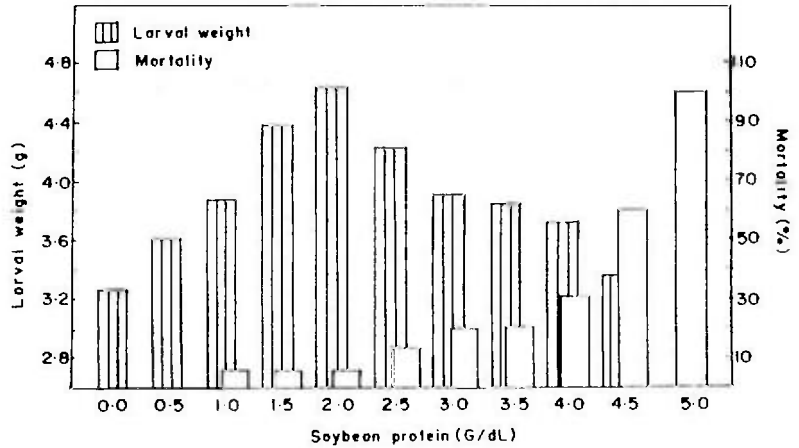
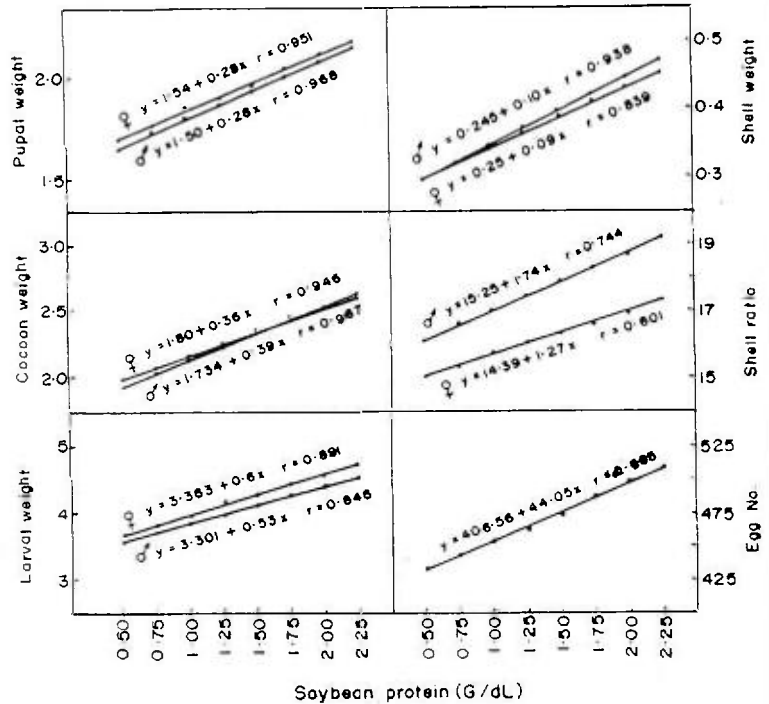


Fig. 2: Regression lines show the relationship between different concentrations of hydrolyzed protein and weight of larva, cocoon, pupa, shell ratio and fecundity of *Bombyx mori*.

Fig. 2 : Les courbes de régression montrent la relation entre les différentes concentrations de protéine hydrolysée et le poids de la larve, le poids du cocon, le poids de la chrysalide, la richesse soyeuse et la fécondité de Bombyx mori.



To find out the total accumulation of haemolymph proteins during the larval period the protein profile was carried out daily during the development of the fifth instar larvae (Fig. 3). SDS-PAGE (10%) showed different intensity of Coomassie blue staining with respect to soybean supplementation. For instance, the larvae fed 2.00% accumulated more storage and 30 K proteins when compared to the other groups. Densitometer scanning revealed that the peak area observed for storage and 30 K proteins on the sixth day in the larvae fed on 2.00% hydrolyzed protein supplementation was more

Table I. Effect of hydrolyzed protein (P-soyatosé) fortification on larval growth, cocoon characters and fecundity of the silkworm, *Bombyx mori*.*Tableau I. Effet de l'addition d'une protéine hydrolysée (la P-soyatosé) sur la croissance larvaire, les caractères du cocon et la fécondité du ver à soie *Bombyx mori*.*

| Content of protein (%) | Larval weight (g) | | Cocoon weight (g) | | Pupal weight (g) | | Shell weight (g) | | Shell ratio (%) | | Eggs/female (No.) |
|--------------------------|--------------------|---------------|--------------------|---------------|-------------------|---------------|-----------------------|---------------|----------------------|------|---------------------|
| | M | F | M | F | M | F | M | F | M | F | |
| Contenu en protéines (%) | Poids larvaire (g) | | Poids du cocon (g) | | Poids nymphal (g) | | Poids de la coque (g) | | Richesse soyeuse (%) | | Oeufs/femelle (No.) |
| | M | F | M | F | M | F | M | F | M | F | |
| 0.00 | 3.29± 0.04 | 3.37± 0.02 | 2.01± 0.02 | 2.02± 0.05 | 1.71± 0.01 | 1.72± 0.05 | 0.30± 0.02 | 0.30± 0.03 | 14.8 | 14.7 | 406± 2.51 |
| 0.50 | 3.40± 0.04 | 3.57± 0.07 | 2.03± 0.06 | 2.01± 0.02 | 1.72± 0.05 | 1.71± 0.07 | 0.31± 0.02 | 0.30± 0.07 | 15.4 | 15.0 | 435± 9.67 |
| 0.75 | 3.86± 0.05 | 3.90± 0.02 | 2.03± 0.05 | 2.08± 0.01 | 1.71± 0.02 | 1.76± 0.03 | 0.32± 0.05 | 0.32± 0.02 | 15.9 | 15.2 | 456± 12.71 |
| 1.00 | 3.80± 0.05 | 3.83± 0.02 | 2.06± 0.05 | 2.10± 0.01 | 1.74± 0.02 | 1.82± 0.03 | 0.32± 0.05 | 0.33± 0.02 | 16.0 | 15.3 | 480± 12.71 |
| 1.25 | 3.76± 0.01 | 3.98± 0.06 | 2.12± 0.02 | 2.20± 0.04 | 1.78± 0.03 | 1.85± 0.03 | 0.34± 0.07 | 0.35± 0.02 | 16.0 | 15.9 | 420± 7.33 |
| 1.50 | 4.37± 0.07 | 4.56± 0.01 | 2.31± 0.02 | 2.27± 0.05 | 1.93± 0.05 | 1.90± 0.02 | 0.38± 0.02 | 0.37± 0.05 | 16.5 | 16.3 | 460± 2.13 |
| 1.75 | 4.40± 0.07 | 4.60± 0.03 | 2.43± 0.07 | 2.42± 0.03 | 1.98± 0.05 | 2.00± 0.07 | 0.45± 0.02 | 0.42± 0.01 | 18.5 | 17.4 | 450± 5.17 |
| 2.00 | 4.49± 0.05 | 4.61± 0.04 | 2.51± 0.05 | 2.68± 0.02 | 2.02± 0.02 | 2.18± 0.07 | 0.48± 0.03 | 0.50± 0.02 | 19.5 | 18.7 | 532± 7.19 |
| 2.25 | 4.21± 0.09 | 4.45± 0.02 | 2.67± 0.02 | 2.54± 0.03 | 2.22± 0.01 | 2.15± 0.02 | 0.45± 0.06 | 0.39± 0.02 | 16.9 | 15.4 | 520± 5.51 |
| CD at 5% | 0.30 | 0.35 | 0.06 | 0.06 | 0.12 | 0.52 | 0.11 | 0.11 | 1.45 | 1.45 | 4.25 |
| CD at 1% | 0.44 | 0.10 | 0.08 | 0.08 | 0.18 | 0.76 | 0.16 | 0.16 | 2.15 | 2.15 | 6.28 |

* Each value represents the average (mean ± standard deviation) of three assays.

* Chaque valeur représente la moyenne ± écart type de trois observations.

M: Male / Mâle. F: Female / Femelle.

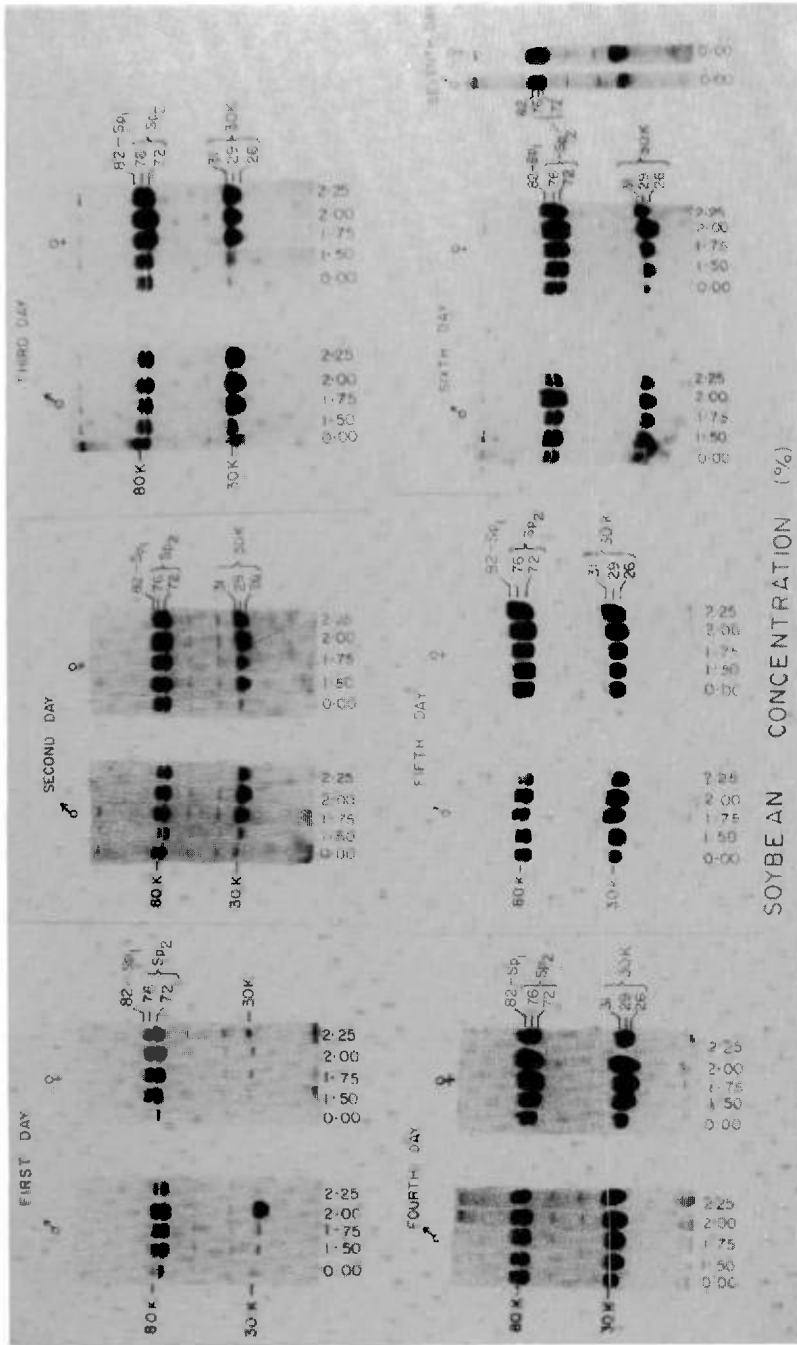


Fig. 3: Effect of hydrolyzed protein on the haemolymph protein profile (10% SDS-PAGE) of the silkworm, *Bombyx mori*.
Fig. 3 : Effet des protéines hydrolysées sur le profil protéique de l'hémolymph (PAGE-SDS à 10 %) du ver à soie *Bombyx mori*.

or less equal to the peak area of storage and 30 K proteins on the seventh day in the control larvae (Fig. 4). Thus the results indicate that the larvae fed on hydrolyzed protein supplemented leaves accumulate enough storage protein for the non-feeding pupal stage within 6 days, whereas the control larvae took 7 days to accumulate the same amount of storage and 30 K proteins. Further, in all the experimental groups, female larvae accumulated more storage proteins than male larvae.

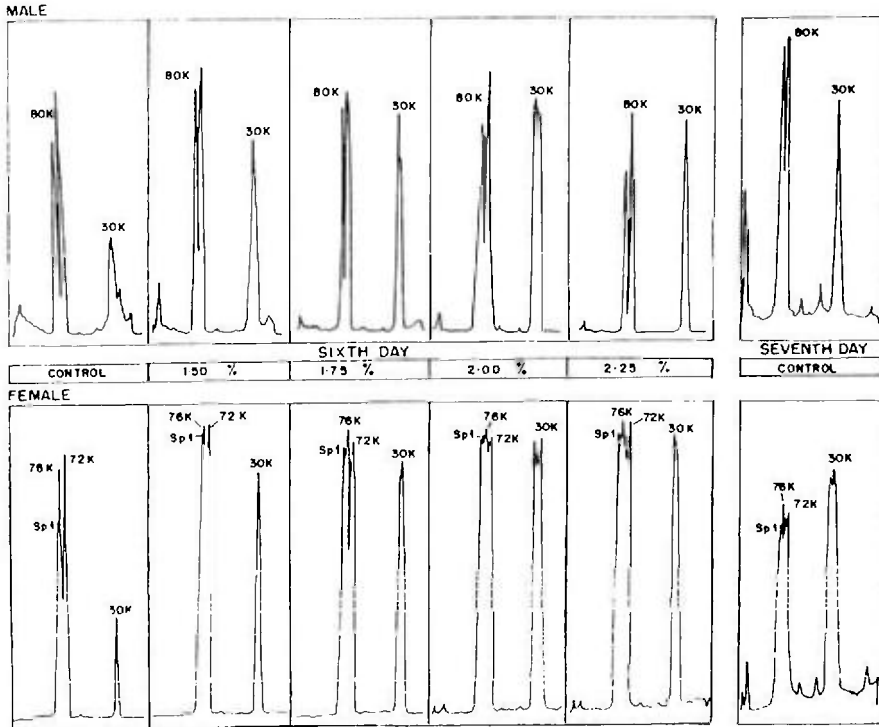


Fig. 4: Densitometric patterns of haemolymph proteins of fifth instar larvae of *Bombyx mori* reared on different concentrations of hydrolyzed proteins.

Fig. 4 : Mesures densitométriques des protéines de l'hémolymph des larves du cinquième âge de *Bombyx mori* nourries avec des protéines hydrolysées à différentes concentrations.

Sp1: Female-specific storage protein 82 K / Protéine de stockage spécifique de la femelle de 82 K.

Sp2: Arylphorin 76 and 72 K / Arylphorine à 76 et 72 K.

30 K: Plasma proteins 31, 29 and 26 K / Protéines du plasma de 31, 29 et 26 K.

DISCUSSION

Silkworms fed with mulberry leaves supplemented with hydrolyzed protein were evaluated for larval and pupal characters. There is an increase in the larval weight and a shortening of the larval

period by one day when compared to the control. This confirms the earlier findings of a positive effect of soybean protein supplementation on silkworm growth (Ito and Arai, 1965; Ito and Mukaiyama, 1970; Horie *et al.*, 1971; Kamioka *et al.*, 1971; Horie and Watanabe, 1983; Subba Rao *et al.*, 1989; Zhang *et al.*, 1991). It is evident that the elevation of dietary protein to an optimal level resulted in the acceleration of larval and cocoon weights. Above the optimal concentration, there was a reduction in larval weight and a gradual increase in the mortality rate. This may be attributed to the following possibilities: one such possibility is that, many chemicals including phagostimulants and nutrients can act as deterrents when present in excess amounts, as reported in several insects (Chapman, 1974; Hsiao, 1985) and another possibility is that soybean protein contains a number of toxic and inhibitory substances, like an antriptytic factor that inhibits growth (Mickelsen and Yang, 1966). The above reasons could have contributed to the growth retardation or refusing reaction due to an excess concentration of soybean protein supplemented to the mulberry leaves. It has also been reported that an excess of defatted soybean protein in the diet of *B. mori* is rather detrimental. In fact, the acceleration of growth is significant when dietary soybean protein is supplemented with food only up to a certain level (Ito *et al.*, 1972; Ito and Arai, 1973) mainly because of the presence of antifeculent compounds in soybean protein (Ito *et al.*, 1975). On the other hand, the indication of the present study about the effectiveness of lower concentrations on various growth and economic characters confirmed that soybean protein supplementation is of high nutritive value for the silkworm (Ito and Arai, 1965; Ito *et al.*, 1975).

In insects like *B. mori* which do not feed during pupal stage, the nutrients (larval diet) stored by the larva during the larval period are important for egg production. Possibly the increased fecundity (532/individual at 2.00% level) as recorded in the present investigation may be due to the increased accumulation of haemolymph proteins due to the diet supplemented with hydrolyzed protein. In acridids, too, intake of extra protein increases the production of eggs (Hill *et al.*, 1965; McCaffery, 1975). Since protein is important for yolk production, increasing the concentration of protein in the diet of the female insect can accelerate the egg production up to a certain concentration (Chapman, 1974). In the present study, too, it has been found that 2.00% concentration of soybean protein is more effective in increasing the fecundity. This corroborates the studies made by Zhang *et al.* (1991) who showed that soybean diet increases egg production as well as egg weight in *B. mori*. During the early stages of ovary development (during V instar) much protein is ingested, which stimulates the corpora allata to secrete a factor leading to increased carbohydrate intake during the period of yolk deposition in the egg (Subba Rao *et al.*, 1989). This could have been another reason for the observed increase in the fecundity rate of hydrolyzed protein-supplemented worms.

In the present study, the haemolymph storage protein (Sp1 female-specific storage protein, Sp2 arylphorin) increased with the increase in the hydrolyzed protein up to 2.00% level. This is in accordance with the findings of Nagata and Kobayashi (1990) who showed that the storage protein concentrations in the larval haemolymph were influenced by dietary protein levels. They also indicated that extremely low concentrations of haemolymph storage proteins occurred when the larvae were reared on a protein-poor diet. According to Horie and Watanabe (1983) the soybean protein increased the protein and amino acid contents in the larval haemolymph of the silkworm, *B. mori*, when compared to other formulated diets. The observed influence of dietary protein on the increase of haemolymph protein has also been reported earlier (Horie *et al.*, 1971; Broadway and Duffey, 1986).

Tojo *et al.* (1978) reported that female-specific storage protein (Sp1) accumulated more in the female larvae prior to pupation and converted as vitellogenin proteins during pupal development. The female larvae accumulated more Sp1 during the larval period and might give more vitellogenin proteins. This may be another reason for the hydrolyzed protein-supplemented females to lay more eggs than the control.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported in part by a grant from the National Sericulture Project, Central Silk Board, Government of India, Bangalore, India.

REFERENCES

- BENCHAMIN K.V., JOLLY M.S., VERMA MEERA (1983) Studies on the quantitative and qualitative aspects of feeding in silkworm rearing. Abst., National Seminar on Silk Research and Development. March 10-13, Bangalore.
- BROADWAY R.M., DUFFEY S.S. (1986) The effect of dietary protein on the growth and digestive physiology of larval *Heliothis zea* and *Spodoptera exiqua*. J. Insect Physiol., 32(8), 673-680.
- CHAPMAN R.F. (1974) The chemical inhibition of feeding by phytophagous insects: a review. Bull. Ent. Res., 64, 339-363.
- HILL L., LUNTZ A.J., STEELE P.A. (1968) The relationship between somatic growth, ovarian growth and feeding activity in the adult desert locust. J. Insect Physiol., 14, 1-20.
- HORIE Y., WATANABE K. (1983) Effect of various kinds of dietary protein and supplementation with limiting amino acids on growth, haemolymph components and uric acid excretion in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Insect Physiol., 29(2), 187-199.
- HORIE Y., WATANABE K., SHINOHARA E. (1971) Effect of diets on body weight, silk gland weight and blood composition in the silkworm. Sansi Kenkyu (Acta Sericologica), 78, 44-50.
- HSIAO T.H. (1985) Feeding behaviour. In Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. G.A. Kerkut and L.I. Gilbert ed., Vol. 9, Pergamon Press, Oxford, pp. 471-512.
- ITO T. (1981) Development of artificial diets and their application in sericulture. Sericologia, 24(4), 298-306.
- ITO T., ARAI N. (1973) Artificial diets for the silkworm, *Bombyx mori*, with special reference to a semisynthetic diet for fifth instar larvae. J. Agric. Chem. Soc. Japan, 47, 397-401.
- ITO T., HORIE Y., NAKASONE S. (1975) Deterrent effect of soybean meal on feeding of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Insect Physiol., 21, 995-1006.
- ITO T., HORIE Y., WATANABE K. (1972) Rearing of silkworm, *Bombyx mori*, on semi-synthetic diets, with special references to effects of dietary levels of some ingredients on larval growth. Bull. Sericult. Exp. Sta. Japan, 25, 219-234.
- ITO T., MUKAIYAMA F. (1970) Relationship between protein content of artificial diet and cocoon quality in the silkworm. Sansi Kenkyu (Acta Sericologica), 77, 76-81.
- ITO T., TANAKA M. (1962) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*. VI. Effects of concentrations of sugar and protein added in artificial diets. Bull. Sericult. Exp. Sta. Japan, 18, 1-34.
- KAMIOKO S., MUKAIYAMA F., TAKEI T., ITO T. (1971) Digestion and utilization of artificial diet by the silkworm, *Bombyx mori*, with special references to the efficiency of diet at varying levels of dietary soybean meal. J. Sericult. Sci. Tokyo, 40, 473-483.
- LAEMMLI U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227, 680-685.
- McCAFFERY A.R. (1975) Food quality and quantity in relation to egg production in *Locusta migratoria migratorioides*. J. Insect Physiol., 21, 1551-1558.
- MICKELSEN O., YANG N.G. (1966) Naturally occurring toxicant in foods. Fed. Proc., 25, 104-123.
- NAGATA M., KOBAYASHI M. (1990) Effects of nutrition on storage protein concentrations in the larval haemolymph of silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 59(6), 469-474.
- REINECKE J.P. (1985) Nutrition: artificial diets. In Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. G.A. Kerkut and L.I. Gilbert ed., Vol. 4, Pergamon Press, Oxford, pp. 391-419.
- SENGUPTA K., SINGH B.D., MUSTAFI J.C. (1972) Nutrition of silkworm, *Bombyx mori* L. I. Studies on the enrichment of mulberry leaf with various sugars, proteins, amino acids and vitamins for vigorous growth of worms and increased cocoon crop production. Indian J. Seric., 11, 11-19.

- SUBBA RAO G., MATHUR S.K., PRAMANIK D.R., ROYCHOUDHURY N. (1989) Effect of enrichment of mulberry leaves with protein on cocoon characters and fecundity in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). *Nutri. Ecol. Ins. and Env.*, 302-317.
- TOJO S., BETCHAKU T., ZICCARDI V.J., WYATT G.R. (1978) Fat body protein granules and storage protein in the silkworm, *Hyalophora cecropia*. *J. Cell Biology*, 78, 823-838.
- WATANABE H., NAGATA M., WANG Y.X (1990) The effect of protein content of an artificial diet on protease and antiviral activities of the gut juice of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Appl. Ent. Zool.*, 25, 150-152.
- ZHANG C., XU J.-L., WU X.-F. (1991) Effect of dietary protein level on the growth, development and production of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Canye Kexue*, 17, 217-222.

EFFET D'UN HYDROLYSAT DE PROTEINE (P-SOYATOSE) SUR LE PROFIL PROTEIQUE DE L'HEMOLYPHE ET SUR LES CARACTERES LARVAIRES ET NYMPHAUX DU VER A SOIE (*BOMBYX MORI* L.) (LEPIDOPTERA : BOMBYCIDAE)

M. KRISHNAN*, K.M. SUBBU RATHINAM & S. JANARTHANAN

Department of Biotechnology, School of Life Sciences, Bharathidasan University,
Tiruchirappalli - 620 024, Inde.

Les effets d'un hydrolysat de protéine (P-soyatose) sur la croissance larvaire, les caractères d'intérêt économique et le profil protéique de l'hémolymphe ont été observés chez les larves de Bombyx mori. Les vers à soie ont été nourris avec des feuilles de mûrier imbibées de suspensions de protéine hydrolysée à des concentrations de 0,5 à 5,0 %. Etant donné que les concentrations de protéine hydrolysée de 2,5 à 5,0 % détériorent les larves de ver à soie, une fourchette plus étroite a été choisie pour cette étude (0,50 à 2,25 %). A la concentration de 2,00 %, le poids larvaire, le poids du cocon, la richesse soyeuse, la fécondité et l'intensité des protéines de l'hémolymphe sont maximaux. A 2,25 %, ces paramètres sont supérieurs à ceux obtenus pour le témoin mais inférieurs à ceux obtenus à la concentration de 2,00 %. Ces résultats permettent de confirmer que la protéine hydrolysée (P-soyatose) est une substance nutritive idéale en sériciculture.

INTRODUCTION

La nutrition du ver à soie *Bombyx mori* a été, et reste, un sujet important en sériciculture, aussi bien au niveau scientifique qu'au niveau technique (Ito, 1981). Aujourd'hui, les aliments artificiels sont couramment utilisés pour améliorer la nutrition des vers à soie, en particulier *B. mori*. Dans les régions les plus tempérées, l'absence de feuilles de mûrier en automne et en hiver, 5 à 6 mois par an, a conduit à plusieurs tentatives de formulations d'aliments synthétiques et semi-synthétiques. Cependant, en Inde, la croissance du mûrier étant continue et les feuilles étant produites en quantités suffisantes tout au long de l'année, on a tenté d'enrichir les feuilles de mûrier avec certaines substances nutritives comme les protéines, les acides aminés, les sucres, les minéraux et les vitamines afin de promouvoir le développement larvaire et la production de cocons chez le ver à soie (Sengupta et coll., 1972). Parmi les différentes supplémentsations, les protéines alimentaires ont un impact significatif sur la croissance du ver à soie, la production de soie (Ito et Tanaka, 1962 ; Ito et Mukaiyama, 1970 ; Horie et coll., 1971 ; Kamioka et coll., 1971 ; Subba Rao et coll., 1989 ; Zhang et coll., 1991), les protéines de l'hémolymphe (Horie et Watanabe, 1983 ; Nagata et Kobayashi, 1990) et la protection contre l'infestation par le virus de la polyédrose nucléaire (Watanabe et coll., 1990). L'addition d'une substance naturelle comme la protéine de soja aux éléments nutritifs purs se traduit par une meilleure croissance du ver à soie (Ito, 1981) car elle contient tous les acides aminés indispensables (Reinecke, 1985). Certains de ces acides aminés servent de substance stimulante qui accélère le taux de nourrissage chez les insectes phytophages (Hsiao, 1985). Cette étude a donc pour objet de déterminer l'effet de la protéine hydrolysée alimentaire (P-soyatose) à différents régimes sur le profil protéique de l'hémolymphe, la croissance larvaire et les caractères d'intérêt économique.

* Demandes de tirés à part.

MATERIELS ET METHODES

Des larves de *Bombyx mori* du dernier âge en sortie de muc (croisement : L, polyvoltin, × NB₄D₂, bivoltin) ont été utilisées dans cette étude. La protéine hydrolysée alimentaire (P-soyatosé) utilisée comme supplément d'aliment a été fournie par Warkem Company (Bombay). Cette protéine est une substance digérée de manière enzymatique de la protéine de soja contenant 8,8 % d'azote total. Cet hydrolysat de protéine végétale a un pH neutre et est soluble dans l'eau. Il ne contient pas d'organisme pathogène. Les suspensions protéiques ont été préparées dans de l'eau distillée à différentes concentrations (0,5, 1,0, 1,5, 2,0, ..., 5,0 %) afin de sélectionner la dose efficace (ED). Des feuilles de mûrier fraîches coupées (variété MR₂) ont été trempées dans chacune des concentrations de protéine hydrolysée pendant 10 minutes. Ces feuilles ont été séchées à l'air et données comme aliment aux larves. Sur les quatre nourrissements (Benjamin, 1983), un seul a été fait avec des feuilles de mûrier enrichies en protéine afin d'évaluer l'effet de la supplémentation minimale. Les tests biologiques ont été réalisés trois fois pour chaque concentration avec 50 animaux par réplicat. La mortalité a été relevée tous les jours pour chaque concentration. Un groupe témoin a été maintenu et nourri avec des feuilles de mûrier sans supplémentation.

Sur la base de ces tests, une fourchette plus étroite, de 0,50 à 2,25 % de P-soyatosé, a été retenue, les concentrations supérieures entraînant une forte mortalité larvaire.

Caractères d'intérêt économique:

Le poids larvaire a été relevé le cinquième jour. Une fois l'élevage terminé, les cocons ont été récoltés cinq jours après le début du filage et soumis à une évaluation. Les papillons émergés des groupes expérimentaux et témoins, comprenant chacun trois réplicats, ont été mis à pondre après l'accouplement et la fécondité a été relevée individuellement. Les analyses de variance et les droites de régression ont été comparées pour chaque concentration de protéine hydrolysée ainsi que pour les caractères du cocon et de la larve.

Protéines de l'hémolymphe:

Une électrophorèse a été réalisée afin de déterminer les protéines de stockage tous les jours au cours du développement des larves du cinquième âge. L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide a été effectuée en présence de dodécyl sulfate de sodium (10 % SDS-PAGE), d'après la méthode de Laemmli (1970). Les densités des bandes protéiques ont été lues sur un micro-densimètre (MD 100 Carlzeiss, Allemagne). Les protéines de stockage (Sp1 et Sp2) ont été identifiées expérimentalement d'après leur position.

RESULTATS

Les tests biologiques de supplémentation avec de la protéine de soja sur une fourchette large de concentration ont permis de faire les observations suivantes : (a) tous les larves traitées ont une période larvaire réduite d'un jour par rapport au témoin, (b) l'impact sur la mortalité est maximal avec la concentration à 0,5 % (100 % de mortalité), devant la concentration à 4,50 % (60 % de mortalité) (Fig. 1) et (c) aux concentrations inférieures, la croissance larvaire augmente par rapport à celle du témoin jusqu'à la concentration de 2,50 % (Fig. 1). Les résultats indiquant qu'une concentration de P-soyatosé inférieure est efficace, il a été décidé de sélectionner une fourchette plus étroite allant de 0,5 à 2,25 % pour l'étude détaillée.

Dans ces expériences, les larves commencent à filer après 6 jours, contre 7 jours chez le groupe témoin. Sur les différentes supplémentations, la croissance est maximale pour les concentrations situées entre 1,50 et 2,00 %. Le poids larvaire maximal est de 4,49 g (mâles) et 4,61 g (femelles) à la concentration de 2,00 %. Le poids larvaire diminue légèrement et est de 4,21 g chez les femelles traitées à 2,25 % par rapport à la concentration précédente. Chez le groupe témoin, il est de 3,29 g chez les mâles et de 3,37 g chez les femelles (Tableau I). Les caractères économiques sont également influencés par les régimes de protéine de soja hydrolysée. Le poids du cocon maximal est de 2,6 g à la concentration de 2,00 %, contre 2,00 g chez le témoin. De plus, le poids nymphal, le poids de la coque et la richesse soyeuse sont maximaux à la concentration de 2,00 % (Tableau I). La production

d'oeufs est plus élevée chez les larves nourries avec de la protéine hydrolysée (Tableau I). Par exemple, tandis qu'une femelle issue du groupe témoin pond seulement 406 oeufs, une femelle issue du groupe à 2,00 % pond 532 oeufs. Les études de corrélation montrent que les protéines de soja hydrolysées augmentent, de manière significative, le poids de la larve ($P < 0,001$), du cocon ($P < 0,001$), de la chrysalide ($P < 0,001$), de la coque ($P < 0,001$), la richesse soyeuse ($P < 0,05$) et la fécondité ($P < 0,05$) (Fig. 2).

Afin de déterminer le taux d'accumulation totale des protéines de l'hémolymphe au cours de la période larvaire, le profil protéique a été effectué tous les jours au cours du développement des larves du cinquième âge (Fig. 3). La SDS-PAGE (10 %) montre la différence d'intensité de la coloration avec le bleu de Coomassie pour ce qui concerne la supplémentation en soja. Par exemple, les larves traitées avec la concentration de 2,00 % accumulent davantage de protéines de stockage et de 30 K que les autres groupes. La lecture au densitomètre révèle que la zone pic observée pour les protéines de stockage et de 30 K au sixième jour chez les larves nourries avec un aliment enrichi avec 2,00 % de protéine hydrolysée est à peu près égale à la zone pic des protéines de stockage et de 30 K au septième jour chez le témoin (Fig. 4). Ces résultats indiquent que les larves nourries avec des feuilles enrichies en protéine hydrolysée accumulent en 6 jours suffisamment de protéines de stockage pour le stade nymphal, durant lequel l'insecte ne se nourrit pas, tandis que les larves témoins mettent sept jours à accumuler la même quantité de protéines de stockage et de 30 K. En outre, chez tous les groupes expérimentaux, les larves femelles accumulent davantage de protéines de stockage que les larves mâles.

DISCUSSION

Les caractères larvaires et nymphaux ont été évalués chez les vers à soie nourris avec des feuilles de mûrier supplémentées avec de la protéine hydrolysée. On observe une augmentation du poids larvaire et une diminution d'une journée de la période larvaire. Ceci confirme des résultats antérieurs faisant état d'un effet positif de la supplémentation en protéines de soja sur la croissance des vers à soie (Ito et Arai, 1965 ; Ito et Mukaiyama, 1970 ; Horie et coll., 1971 ; Kamioka et coll., 1971 ; Horie et Watanabe, 1983 ; Subba Rao et coll., 1989 ; Zhang et coll., 1991). Il est évident que la supplémentation, à un niveau optimal, par une protéine alimentaire se traduit par une augmentation des poids de la larve et du cocon. Au-delà de cette concentration optimale, le poids larvaire diminue et le taux de mortalité augmente progressivement. Ceci peut être dû à plusieurs possibilités : l'une de ces possibilités est que de nombreuses substances chimiques, dont les phagostimulants et les éléments nutritifs, peuvent exercer un effet inhibiteur lorsqu'elles sont présentes en trop grandes quantités, comme cela a été observé chez plusieurs insectes (Chapman, 1974 ; Hsiao, 1985) et l'autre possibilité est que la protéine de soja contienne un certain nombre de substances toxiques et inhibitrices, par exemple un facteur antitryptique, qui inhibent la croissance (Mickelsen et Yang, 1966). Ces éléments pourraient contribuer au retardement de la croissance ou à une réaction de rejet due à une concentration excessive de protéine de soja dans les feuilles de mûrier. Il a également été observé qu'un excès de protéines de soja dégraissées dans l'aliment de *B. mori* a un effet plutôt négatif. En effet, l'accélération de la croissance est significative seulement lorsque les protéines de soja alimentaires additionnées à la nourriture ne dépassent pas une certaine concentration (Ito et coll., 1972 ; Ito et Arai, 1973) principalement du fait de la présence de composés antiappétants dans la protéine de soja (Ito et coll., 1975). Par ailleurs, la mise en évidence, dans cette étude, de l'efficacité de faibles concentrations sur les différents caractères de la croissance et les paramètres économiques confirme que la protéine de soja a une valeur nutritive élevée pour le ver à soie (Ito et Arai, 1965 ; Ito et coll., 1975).

Chez les insectes comme *B. mori* qui ne se nourrissent pas au cours du stade nymphal, les éléments nutritifs (alimentation larvaire) stockés par la larve au cours du stade larvaire sont importants pour la production des oeufs. Il est possible que l'augmentation de la fécondité (532/individu à la concentration de 2,00 %) enregistrée ici soit due à l'augmentation de l'accumulation des protéines de l'hémolymphe après nourrissage sur un aliment enrichi en protéine hydrolysée. Chez les acridés également, l'ingestion de protéines supplémentaires augmente la production d'oeufs (Hill et coll., 1965 ; McCaffery, 1975). Les protéines étant importantes pour la production de vitellus, l'augmentation de la concentration en protéines dans l'aliment de l'insecte femelle peut favoriser la

production des oeufs jusqu'à une certaine concentration (Chapman, 1974). Dans cette étude également, la concentration en protéine de soja de 2,00 % donne la meilleure fécondité. Ceci corrobore les travaux de Zhang et coll. (1991) qui ont démontré que l'alimentation avec du soja augmentait la production et le poids des oeufs chez *B. mori*. Au cours des premiers stades du développement des ovaires (5e âge larvaire), les protéines sont ingérées en grandes quantités, induisant les corps allates à sécréter un facteur entraînant une augmentation de l'ingestion d'hydrates de carbone pendant la période de dépôt du vitellus dans l'oeuf (Subba Rao et coll., 1989). Ceci pourrait également expliquer l'augmentation du taux de fécondité observée chez les larves traitées avec des protéines hydrolysées.

Dans cette étude, les protéines de stockage de l'hémolymph (protéine de stockage Sp1 spécifique de la femelle et Sp2 arylphorine) augmentent à mesure que la concentration en protéine hydrolysée augmente jusqu'à 2,00 %. Ceci est en accord avec les résultats de Nagata et Kobayashi (1990) qui ont montré que la concentration en protéines de stockage dans l'hémolymph de la larve est influencée par la concentration en protéines alimentaires. Ils ont également indiqué que de très faibles concentrations de protéines de stockage étaient présentes dans l'hémolymph lorsque les larves étaient nourries avec un aliment pauvre en protéines. D'après Horie et Watanabe (1983), les protéines de soja augmentent les contenus en protéines et en acides aminés dans l'hémolymph des larves du ver à soie *B. mori* par rapport aux autres aliments artificiels. L'influence des protéines alimentaires sur l'augmentation des protéines de l'hémolymph a également déjà été observée (Horie et coll., 1971 ; Broadway et Duffer, 1986).

Tojo et coll. (1978) ont montré que les protéines de stockage spécifiques de la femelle (Sp1) s'accumulaient en plus grande quantité chez les larves femelles avant la nymphose et se convertissaient en protéines de vitellogénine au cours du développement nymphal. Les larves femelles accumulent davantage de Sp1 au cours de la période larvaire et pourraient produire davantage de protéines de vitellogénine. Ceci pourrait également expliquer pourquoi les femelles enrichies en protéines hydrolysées donnent plus d'oeufs que le témoin.

INDEX SCORE ANALYSIS OF COMMERCIAL CHARACTERS IN VARIOUS ECORACES OF *ANTHRAEA MYLITTA* D.

A.K. SINHA, K.K. SHARMA, B.R.R.P. SINHA, B.N. BRAMCHARI & K. THANGAVELU

Breeding and Genetics Laboratory, Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri, Ranchi - 835303, India.

*Seven acclimatised ecoraces of *Antheraea mylitta* D. were evaluated for some commercial characters, i.e., fecundity, hatching percentage, larval weight, effective rate of rearing, cocoon weight, shell weight, silk ratio and absolute silk yield, during 1992 in order to know the superiority of ecoraces. The values were taken by random selection and the ecoraces were given ranking as per their values of quantitative characters. The basis of score allotted reveals that the ecorace Raily is the best in terms of commercial characters, followed by Daba and Modal.*

Keywords: Ecoraces, analysis, indexing.

INTRODUCTION

The Indian tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury, is distributed in a wide range of environments in the tropical zone. Since it exists in various geographic regions, the species is represented by 34 ecological races/populations (Sinha *et al.*, 1992). Some of these ecoraces show superiority for fecundity, cocoon weight and absolute silk yield, whereas others give better results in terms of effective rate of rearing. It is, therefore, desirable to determine the best among all. Hence, an attempt has been made to analyse such acclimatised ecoraces, i.e., Sarihan, Laria, Daba, Modal, Raily, Bhandara and Sukinda, for different commercial characters so as to determine the best-suited ecorace considering all the characters simultaneously.

MATERIALS AND METHODS

Seven ecoraces of *A. mylitta* were collected from different ecological zones and were acclimatised and maintained in the Germ Plasm Bank at the Central Tasar Research and Training Institute, Ranchi, India. The rearing was conducted in a randomised block design with 5 replications for each ecorace. The data were analysed adopting the method suggested by Arunachalam and Bandhopadhyay (1984) to decide the ranking of the seven ecoraces in respect of fecundity, hatching percentage, effective rate of rearing, cocoon weight, shell weight, silk ratio and absolute silk yield.

RESULTS AND DISCUSSION

The mean values of the different characters of the seven ecoraces are presented in Table I and the analysis of variance (ANOVA) in Table II. Perusal of the data reveals that all ecoraces behaved almost equally in respect of fecundity and larval weight. The range varied from 253.60 to 298.00 and 32.82 g to 38.00 g for fecundity and larval weight, respectively. The highest percentage of hatchability (73.97) was recorded in Modal but it did not show any significant difference with Sarihan and Daba. On the other hand, Bhandara, which had the minimum hatchability percentage (57.78), behaved equally with Daba, Laria, Sukinda and Raily. In the case of the effective rate of rearing Laria gave the best

performance (66.60), followed by Modal (63.20) and Sarihan (58.40) without any significant differences. Similarly, the performances of Bhandara (53.00), Raily (49.80) and Sukinda (42.40) were comparatively low and recorded to be at par with each other. The range value of cocoon weight among the seven ecoraces was estimated at 3.08 g. Laria recorded the highest cocoon weight (12.04 g) and differences from Sukinda (11.80 g), Daba (11.58 g) and Raily (10.94 g) were statistically significant. The value for cocoon weight for Sarihan (8.96 g), which was the lowest, was observed to be at par with Modal (10.28 g). The maximum shell weight was observed for the Laria ecorace (2.40 g) followed by Sukinda (2.24 g) and Raily (2.18 g). All the three were put in the same group of significance. Further, non-significant differences were observed between the races Sarihan (1.52 g), Bhandara (1.68 g) and Modal (1.80 g). While considering their average value of shell weight, Daba (1.90 g) occupied an intermediate position, Laria (20.29 %) got the highest, whereas Bhandara (15.57 %) got the bottom position on account of their values obtained in terms of silk ratio, Laria was followed by Raily (19.89%), Sukinda (18.96%) and Modal (17.53%). In terms of absolute silk yield, which is the ultimate aim of the production of silk, Raily (160.24 g) showed superiority over all other races, which almost behaved equally.

Table I. Test of significance between mean values of eight yield-contributing characters of seven ecoraces of *A. mylitta* D.

Tableau I. Test de signification entre les valeurs moyennes de huit caractères contribuant au rendement chez sept écoraces d'*A. mylitta* D.

| | Fecundity | Hatching % | Larval weight (g) | ERR (%) | Cocoon weight (g) | Shell weight (g) | Silk ratio (%) | Absolute silk yield (g) |
|----------|---------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| | <i>Fécondité</i> | <i>Ecllosion (%)</i> | <i>Poids larvaire (g)</i> | <i>ERR (%)</i> | <i>Poids du cocon (g)</i> | <i>Poids de la coque (g)</i> | <i>Richesse soyeuse (%)</i> | <i>Rendement absolu en soie (g)</i> |
| Sarihan | 259.00 ^a | 71.50 ^{ab} | 32.82 ^a | 58.40 ^{abcd} | 8.96 ^c | 1.52 ^c | 16.99 ^{bc} | 94.72 ^b |
| Daba | 263.20 ^a | 67.08 ^{abcd} | 33.76 ^a | 62.60 ^{abc} | 11.58 ^{abc} | 1.90 ^{bcd} | 16.43 ^c | 118.38 ^b |
| Laria | 297.80 ^a | 58.60 ^d | 36.48 ^a | 66.60 ^a | 12.04 ^a | 2.40 ^a | 20.29 ^a | 89.08 ^b |
| Sukinda | 253.60 ^a | 64.22 ^{bcd} | 36.76 ^a | 42.42 ^c | 11.80 ^{ab} | 2.24 ^{ab} | 18.96 ^{abc} | 90.74 ^b |
| Raily | 294.80 ^a | 64.18 ^{bcd} | 38.00 ^a | 49.80 ^{cde} | 10.94 ^{abcd} | 2.18 ^{abc} | 19.89 ^{ab} | 160.24 ^a |
| Bhandara | 267.00 ^a | 57.78 ^d | 33.62 ^a | 53.00 ^{bcd} | 10.60 ^{bcd} | 1.68 ^{de} | 15.97 ^c | 106.04 ^b |
| Modal | 298.00 ^a | 73.97 ^a | 36.26 ^a | 63.20 ^{ab} | 10.28 ^{cde} | 1.80 ^{de} | 17.53 ^{abc} | 113.12 ^b |

ERR: Effective rate of rearing / *Taux effectif d'élevage.*

Figures with different letters differ significantly (P < 0.05).

Les chiffres suivis d'une lettre différente présentent une différence significative (P < 0,05).

Modal was found to be the best among the seven ecoraces (Table I) in respect of fecundity and hatching percentage, Raily for larval weight and absolute silk yield and Laria for effective rate of rearing, cocoon weight, shell weight and silk ratio. The 'F' test of differences of mean showed the superiority of Raily over all other races, which was further confirmed by the scoring method, as suggested by Arunachalam and Bandhopadhyay (1984). The pooled score allotted to the different ecoraces of *A. mylitta* with regard to the observed commercial characters is presented in Table III, where lower values signified a higher ranking. On the basis of ranks, the ecoraces of *A. mylitta* for the acclimatised ecoraces may be arranged in order such as Raily > Daba > Modal > Bhandara > Sarihan > Sukinda > Laria. This order may further help the breeders in selecting a race for different breeding programmes as all the commercial traits have been considered for the evaluation of the genotype.

Table II. ANOVA for eight yield components in seven ecoraces of the tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D.

Tableau II. Analyse de variance pour huit composants du rendement chez sept écoraces du ver à soie tasar *Antheraea mylitta* D.

| Sources | DF | Fecundity | Hatching % | Larval weight (g) | ERR (%) | Cocoon weight (g) | Shell weight (g) | Silk ratio (%) | Absolute silk yield (g) |
|-----------------------|----|-----------------------|--------------|---------------------|----------|--------------------|-----------------------|----------------------|------------------------------|
| Source | DF | Fécondité | Éclosion (%) | Poids larvaire (g) | ERR (%) | Poids du cocon (g) | Poids de la coque (g) | Richesse soyeuse (%) | Rendement absolu en soie (g) |
| Replications | 4 | 1057.25 | 9.90 | 12.34 | 75.46 | 2.24 | 0.13 | 6.56 | 339.07 |
| Réplicats | | | | | | | | | |
| Between ecoraces | 6 | 1956.71 ^{NS} | 183.86* | 19.19 ^{NS} | 374.45** | 5.68** | 0.52*** | 14.62* | 3050.83*** |
| Entre écoraces | | | | | | | | | |
| Within ecoraces | 24 | 1580.77 | 53.13 | 8.17 | 83.67 | 1.04 | 0.08 | 5.68 | 539.65 |
| Dans une même écorace | | | | | | | | | |
| SE (mean)± | - | 17.79 | 3.26 | 1.28 | 4.09 | 0.45 | 0.13 | 1.07 | 10.39 |
| SE (moyenne) ± | | | | | | | | | |
| CD (5%) | - | - | 9.52 | - | 11.94 | 1.33 | 0.37 | 3.11 | 30.33 |

ERR: Effective rate of rearing / *Taux effectif d'élevage.*

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

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

*** Significant at 0.1% level / *Significatif au seuil de 0,1 %.*

DF: Degrees of freedom / *Degrés de liberté.*

SE: Standard error / *Ecart type.*

NS: Not significant / *Non significatif.*

Table III. Pooled scores allotted to eight different yield-contributing characters of seven ecoraces of the tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D.Tableau III. Données regroupées et rangs obtenus pour huit différents caractères contribuant au rendement chez sept écoraces du ver à soie tasar *Antheraea mylitta* D.

| | Fecundity | Hatching % | Larval weight (g) | ERR (%) | Cocoon weight (g) | Shell weight (g) | Silk ratio (%) | Absolute silk yield (g) | Total | Rank |
|----------|-----------|--------------|--------------------|---------|--------------------|-----------------------|----------------------|------------------------------|-------|------|
| | Fécondité | Eclosion (%) | Poids larvaire (g) | ERR (%) | Poids du cocon (g) | Poids de la coque (g) | Richesse soyeuse (%) | Rendement absolu en soie (g) | Total | Rang |
| Sarihan | 1.00 | 0.833 | 1.00 | 0.50 | 0.583 | 0.90 | 0.833 | 1.00 | 6.649 | 5 |
| Daba | 1.00 | 0.50 | 1.00 | 0.30 | 0.25 | 0.30 | 0.50 | 1.00 | 4.850 | 2 |
| Laria | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 8.000 | 7 |
| Sukinda | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 0.90 | 0.75 | 0.90 | 1.00 | 1.00 | 7.550 | 6 |
| Raily | 1.00 | 0.333 | 1.00 | 0.20 | 0.167 | 0.20 | 0.333 | 0.50 | 3.733 | 1 |
| Bhandara | 1.00 | 0.833 | 1.00 | 0.40 | 0.417 | 0.50 | 0.667 | 1.00 | 5.817 | 4 |
| Modal | 1.00 | 0.667 | 1.00 | 0.40 | 0.333 | 0.40 | 0.667 | 1.00 | 5.467 | 3 |

ERR: Effective rate of rearing / Taux effectif d'élevage.

REFERENCES

- ARUNACHALAM V., BANDHOPADHYAY A. (1984) A method to take decisions jointly on a number of dependent characters. *Indian J. Genet.*, 44(3), 419-424.
- SINHA A.K., SINHA R.K., GOEL A.K., SINHA B.R.R.P. (1992) A review on the breeding and genetics aspect of tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D. Fourth All-India Conference on Cytology and Genetics and Symposium on Genetics of Mulberry and Silkworm, Bangalore, Nov. 5-7, 108-109.

ANALYSE DES CARACTERES COMMERCIAUX PAR ORDRE DE PERFORMANCE CHEZ DIVERSES ECORACES D'*ANTHERAEA MYLITTA* D.

A.K. SINHA, K.K. SHARMA, B.R.R.P. SINHA, B.N. BRAMCHARI & K. THANGAVELU

Breeding and Genetics Laboratory, Central Tasar Research and Training Institute, Piska Nagri, Ranchi - 835303, Inde.

On a évalué les caractères commerciaux chez sept écoraces acclimatées d'Antheraea mylitta D. au cours de l'année 1992 afin de déterminer la supériorité des écoraces. Les caractères considérés sont la fécondité, le pourcentage d'éclosion, le poids larvaire, le taux effectif d'élevage, le poids du cocon, le poids de la coque, la richesse soyeuse et le rendement absolu en soie. Les valeurs ont été relevées par sélection aléatoire et les écoraces ont été classées en fonction des valeurs de leurs caractères quantitatifs. Le classement obtenu révèle que l'écorace Raily est la plus performante pour ce qui concerne les caractères commerciaux, devant Daba et Modal.

INTRODUCTION

Le ver à soie tasar indien *Antheraea mylitta* Drury est réparti sur plusieurs types différents d'environnements de la zone tropicale. Cette espèce habitant des régions géographiques variées, elle est représentée par 34 races/populations écologiques (Sinha et coll., 1992). Certaines de ces écoraces s'avèrent supérieures sur le plan de la fécondité, du poids du cocon, du poids de la coque et du rendement absolu en soie, tandis que d'autres donnent de meilleurs résultats pour ce qui concerne le taux effectif d'élevage. Il convient de déterminer lesquelles sont supérieures. Une étude a donc été réalisée afin d'analyser les différents caractères commerciaux chez des écoraces acclimatées, à savoir Sarihan, Laria, Daba, Modal, Raily, Bhandara et Sukinda, afin de déterminer l'écorace la plus performante pour tous les caractères considérés simultanément.

MATERIELS ET METHODES

Sept écoraces d'*A. mylitta* ont été prélevées dans différentes zones écologiques, elles ont ensuite été acclimatées et maintenues à la banque génétique du *Central Tasar Research and Training Institute* (Ranchi, Inde). L'élevage a été réalisé selon la méthode des blocs aléatoires avec cinq réplicats par écorace. Les données ont été analysées suivant la méthode suggérée par Arunachalam et Bandhopadhyay (1984) afin de définir le classement des sept écoraces pour ce qui concerne la fécondité, le pourcentage d'éclosion, le taux effectif d'élevage, le poids du cocon, le poids de la coque, la richesse soyeuse et le rendement absolu en soie.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les valeurs moyennes obtenues pour les différents caractères des sept écoraces sont présentées dans le tableau I et l'analyse de variance dans le tableau II. La lecture des données révèle que toutes les écoraces donnent des valeurs sensiblement identiques pour ce qui concerne la fécondité et le poids larvaire, la fourchette des valeurs se situant entre 253,60 et 298,00 pour la fécondité et entre 32,82 g et 38,00 g pour le poids larvaire. Le taux d'éclosion maximal (73,97) a été enregistré chez Modal mais

ne présente pas de différence significative par rapport à ceux enregistrés chez Sarihan et Daba. Par ailleurs, Bhandara, qui présente le taux d'éclosion minimal (57,78), donne des valeurs comparables à celles de Daba, Laria, Sukinda et Raily. Pour ce qui concerne le taux effectif d'élevage, Laria (66,60) donne la meilleure performance devant Modal (63,20) et Sarihan (58,40), mais les différences ne sont pas significatives. De même, les performances de Bhandara (53,00), Raily (49,80) et Sukinda (42,40) sont comparativement faibles et égales entre elles. La valeur moyenne du poids du cocon entre les sept écoraces est évaluée à 3,08 g. Laria donne le poids du cocon le plus élevé (12,04 g) et les différences avec Sukinda (11,80 g), Daba (11,58 g) et Raily (10,94 g) sont statistiquement significatives. La valeur du poids du cocon pour Sarihan (8,96 g), qui est la plus faible, est comparable à celle de Modal (10,28 g). Le poids de la coque est maximal chez Laria (2,40 g) devant Sukinda (2,24 g) et Raily (2,18 g) ; ces trois écoraces ont été placées dans le même groupe de signification. De plus, des différences non significatives ont été observées entre Sarihan (1,52 g), Bhandara (1,68 g) et Modal (1,80 g). Si l'on considère les valeurs moyennes pour le poids de la coque, Daba (1,90 g) occupe une position intermédiaire, Laria (20,29 g) occupe la première position tandis que Bhandara (15,57) est placée en dernière position en raison des valeurs obtenues par ces races pour la richesse soyeuse, Laria précède Raily (19,89), Sukinda (18,96) et Modal (17,53). Pour ce qui concerne le rendement absolu en soie, qui est le critère le plus important de la productivité de soie, Raily (160,24) se révèle supérieure à toutes les autres races, qui donnent des résultats comparables entre eux.

Modal est la plus performante des sept écoraces (Tableau I) pour ce qui concerne la fécondité et le taux d'éclosion, Raily la plus performante pour le poids larvaire et le rendement absolu en soie et Laria la plus performante pour le taux effectif d'élevage, le poids du cocon, le poids de la coque et la richesse soyeuse. Le test "F" des différences de la moyenne montre la supériorité de Raily par rapport à toutes les autres races, ce qui a ensuite été confirmé par la méthode de classement suggérée par Arunachalam et Bandhopadhyay (1984). Les données regroupées allouées aux différentes écoraces d'*A. mylitta* pour ce qui concerne les caractères commerciaux observés sont présentées dans le tableau III, dans lequel les valeurs les plus faibles impliquent le classement le plus élevé. Sur la base de ces valeurs, les écoraces d'*A. mylitta* pour les écoraces acclimatées peuvent être classées dans l'ordre suivant : Raily > Daba > Modal > Bhandara > Sarihan > Sukinda > Laria. Ce classement pourra aider les éleveurs à sélectionner la race en fonction du type de programme de sélection car tous les caractères commerciaux ont été pris en considération pour l'évaluation du génotype.

STUDIES ON THE CHARACTERISTICS OF SEED COCOON SELECTION IN THE TROPICAL TASAR SILKWORM, *ANTHRAEA MYLITTA* DRURY (LEPIDOPTERA: SATURNIIDAE)

O.P. DUBEY, N.G. OJHA, M.K. SINGH & K. THANGAVELU

Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi - 835 303, Bihar, India.

Analytical methods were tried to discriminate the sex and to sort out the seed cocoons of the tropical tasar silkworm, Antheraea mylitta D. Four characters, i.e., cocoon weight, volume, weight-volume and weight frequency were considered for the analysis. Measurement of the cocoon weight was proved to be the best and most easily adaptable method. The level of discrimination, based on weight ($P_0 = 11.88$), indicated that the populations weighing more than 11.88 g and less than 11.88 g had 81 and 83% females and males, respectively. Seed cocoons weighing less than 8 g and more than 18 g yielded 0.38% pure males and 4.13% pure females. A 10-16 g weight range seed cocoons should be sorted for more effective grainage operation and seed production thereof.

Keywords: *Antheraea mylitta*, seed cocoons, sex discrimination, seed production.

INTRODUCTION

Quality seed cocoon is the basic biological material for effective grainage operation and production of silkworm eggs. In grainages of the tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D., the seed cocoons are sorted out on the basis of the hardness of the cocoon shell, and the size (volume) of the seed cocoons is often used as a criterion for sexing purposes. This conventional method of sorting seed cocoons poses a number of problems in grainage operation. A significant percentage of male population emerges out in the beginning of the grainage period due to its inherent character of early emergence of development. This results in shortage of male counterparts at the end of the grainage operation and thus wastage of the female counterparts. Further, the grainage operation extends nearly for one month. The thickness of the cocoon shell plays an important role. Healthy pupae with thin shells tend to emerge out early in comparison to pupae with tough shells.

Considering the above facts, it is essential to analyse the various characters of seed cocoons of the diapausing *Daba bivoltine* ecorace of *A. mylitta* so as to determine the criteria for seed cocoon selection.

MATERIALS AND METHODS

Live diapausing seed cocoons of *Daba bivoltine* ecorace of the tropical tasar silkworm, *A. mylitta*, were used as a material for the present investigation. The first analysis was conducted with 200 randomly selected (100 male and 100 female) seed cocoons. The sex was identified by the presence of Ishiwata imaginal buds on pupae. The weight and volume of the seed cocoons were

measured individually. Weight was taken on an electronic monopan balance (Shimadzu, Japan) and expressed in grams. The volume of the cocoon (V) was measured by using the formula,

$$V = \frac{\bar{\Lambda}}{4} \times \text{length} \times \text{width}^2$$

and expressed in cubic centimeters (cc).

The levels of discrimination, i.e., P_0 , V_0 and Z_0 were calculated as per the formula described by Legay (1982). The details of formula and calculation are as follows:

(A) Level of discrimination for cocoon weight (P_0):

$$P_0 = \frac{S_2 \bar{P}_1 + S_1 \bar{P}_2}{S_1 + S_2}$$

where,

S_1 = Standard deviation of male cocoon weight = 1.35

S_2 = Standard deviation of female cocoon weight = 2.30

P_1 = Mean of male cocoon weight = 10.78 g

P_2 = Mean of female cocoon weight = 13.75 g

Thus, $P_0 = 11.88$

(B) Level of discrimination for cocoon volume (V_0):

$$V_0 = \frac{S_2 \bar{V}_1 + S_1 \bar{V}_2}{S_1 + S_2}$$

where,

S_1 = Standard deviation of male cocoon volume = 62.355963

S_2 = Standard deviation of female cocoon volume = 71.983704

\bar{V}_1 = Mean of male cocoon volume = 399.88 cc

\bar{V}_2 = Mean of female cocoon volume = 474.9197 cc

Thus, $V_0 = 434.71091$

(C) Level of discrimination for cocoon-weight volume (Z_0):

It is a discriminant linear function and is expressed as:

$$Z_0 = \lambda_1 P + \lambda_2 V$$

where the variables are calculated by using and processing the formulae,

$$\lambda_1 [\text{Var} (P_m) + \text{Var} (P_f)] + \lambda_2 [\text{Cov} (P, V_m) + \text{Cov} (P, V_f)] = \bar{P}_f - \bar{P}_m$$

$$\lambda_1 [\text{Cov} (P, V_m) + \text{Cov} (P, V_f)] + \lambda_2 [\text{Var} (V_m) + \text{Var} (V_f)] = \bar{V}_f - \bar{V}_m$$

where,

$\text{Var} (P_m)$ = Variance of male cocoon weight = 1.82

$\text{Var} (P_f)$ = Variance of female cocoon weight = 5.272706

$\text{Cov} (P, V_m)$ = Covariance of male cocoon weight-volume = 56.894424

$\text{Cov} (P, V_f)$ = Covariance of female cocoon weight-volume = 112.13414

The other factors are the same as above.

Thus, solving the two equations,

$$\lambda_1 = 0.3986154 \text{ and } \lambda_2 = 0.0008444$$

Now, the levels of discrimination for male and female are:

$$\bar{Z}_m = \lambda_1 \bar{P}_m + \lambda_2 \bar{V}_m = 4.6347335, \text{ and}$$

$$\bar{Z}_f = \lambda_1 \bar{P}_f + \lambda_2 \bar{V}_f = 5.8819833$$

And, the level of discrimination,

$$Z_0 = \frac{S_2 \bar{Z}_1 + S_1 \bar{Z}_2}{S_1 + S_2}$$

where, S_1 and S_2 are standard deviations and are calculated as,

$$\begin{aligned} \text{SD}_m &= \sqrt{\text{Var}(Z_m)} \\ &= \sqrt{\lambda_1^2 \text{Var}(P_m) + \lambda_2^2 \text{Var}(V_m) + 2\lambda_1 \lambda_2 \text{Cov}(P, V_m)} \end{aligned}$$

thus,

$$\text{SD}_m = 0.5746826, \text{ and similarly,}$$

$$\text{SD}_f = 0.9575961, \text{ and}$$

$$Z_0 = 5.102516$$

Now, substituting the values in the discriminant linear function,

$$Z_0 = \lambda_1 P + \lambda_2 V,$$

$$P = 12.800599 - 0.0021183V.$$

For the second set of analysis, a total of 800 (400 male + 400 female) seed cocoons were selected randomly and weighed. The class interval and its frequency distribution were tabulated as per the methods described by Remund and Boller (1976).

RESULTS AND DISCUSSION

Classification of seed cocoons at the level P_0 (cocoon weight = 11.88) yielded 81% females in the upper and 83% males in the lower class (Fig. 1). Similarly, classification at the level V_0 (cocoon volume = 434.71) resulted in 71% females and males in both the upper and lower classes. But, the level Z_0 (weight-volume combined character = 5.10) divided the population into an upper group having 81.63% females and a lower group having 80.39% males. The percentage of seed cocoons misclassified in both sides on the basis of the weight, volume and weight-volume combined character were 18% (17 males + 19 females), 29% (29 males + 29 females) and 19% (18 males and 20 females), respectively (Fig. 1). Thus, it is evident in the tropical tasar silkworm, *A. mylitta*, that seed cocoon weight is better than the weight-volume combined character for sexing or having a population of seed cocoons with the maximum number of a particular sex. Similar classification criteria on the basis of the seed cocoon weight can be applicable for other ecotypes/races of *A. mylitta*. However, the range of cocoon weight value may vary slightly due to rearing conditions, management and meteorological factors of the area. Legay (1982) indicated the superiority of the weight-volume character over the weight character in sexing the pupae in *Bombyx mori*.

Since weight gives good discrimination and is more easily measured than the weight-volume combined character, seed cocoons were further classified on the basis of the weight range and their frequency in a much larger population. The results indicated that weight less than 8 g and more than 18 g yielded pure males (0.38%) and pure females (4.13%), respectively (Table I). A little shift from the lower weight range towards higher side (up to 10 g) and from a higher weight range towards the

Table I. Frequency distribution of cocoon weight in randomly selected diapausing male and female seed cocoons (total number = 800) of *A. mylitta* D.

Tableau I. Répartition de la fréquence du poids de cocons mâles et femelles diapausant destinés au grainage et sélectionnés au hasard (nombre total = 800) chez *A. mylitta* D.

| Cocoon weight range (g) | Frequency percentage | | Composition of population (%) | |
|----------------------------------|--------------------------|---------|---------------------------------|---------|
| | Male | Female | Male | Female |
| Fourchette du poids du cocon (g) | Pourcentage de fréquence | | Composition des populations (%) | |
| | Mâle | Femelle | Mâle | Femelle |
| 7-8 | 0.38 | 0.00 | 100.00 | 0.00 |
| 8-9 | 2.00 | 0.13 | 94.12 | 5.88 |
| 9-10 | 5.13 | 0.38 | 93.18 | 6.82 |
| 10-11 | 7.50 | 1.38 | 84.51 | 15.49 |
| 11-12 | 11.13 | 3.25 | 77.39 | 22.61 |
| 12-13 | 12.63 | 5.00 | 71.63 | 28.37 |
| 13-14 | 7.00 | 8.00 | 46.67 | 53.33 |
| 14-15 | 2.50 | 7.13 | 25.97 | 74.03 |
| 15-16 | 1.25 | 7.75 | 13.89 | 86.11 |
| 16-17 | 0.38 | 8.63 | 4.17 | 95.83 |
| 17-18 | 0.13 | 4.25 | 2.86 | 97.14 |
| 18-19 | 0.00 | 2.75 | 0.00 | 100.00 |
| 19-20 | 0.00 | 1.00 | 0.00 | 100.00 |
| 20-21 | 0.00 | 0.13 | 0.00 | 100.00 |
| 21-22 | 0.00 | 0.25 | 0.00 | 100.00 |

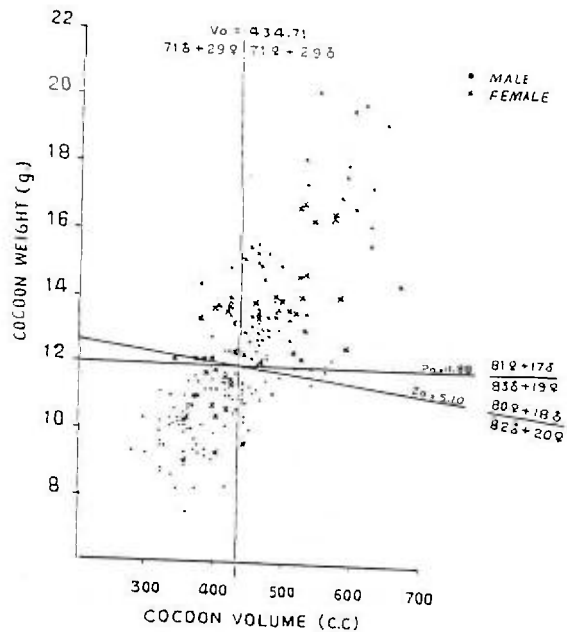


Fig. 1: Distribution of male and female seed cocoons of *A. mylitta* D.

Fig. 1 : Répartition des cocons mâles et femelles d'*A. mylitta* D. destinés au grainage.

lower side (up to 16 g), quite a good percentage of male and female seed cocoons (7.51 and 17.01%) as well as a minimum (0.51%) female and male population was scanned. The middle-class range (10-16 g) resulted in a population with 42.52% males and 32.51% females. Among all the weight ranges, the 13-14 g range indicated the best sex ratio (46.67 males:53.33 females) population (Table I).

The results facilitate two significant grainage operations. This may not only synchronize the total emergence span but may enhance the seed production as well. The seed cocoons weighing less than 10 g (male pupae) may be subjected to lower temperatures (20 °C, preferably for one month in May) so as to postpone their eclosion. Similarly, the seed cocoons weighing more than 18 g may be subjected to environmental conditions, preferably high temperature coupled with a high relative humidity, so as to bring forward the female moth emergence.

REFERENCES

- LEGAY J.-M. (1982) Sex discrimination in a population of cocoons of the silkworm (*Bombyx mori*). *Sericologia*, 22(4), 189-195.
- REMUND U., BOLLER E.F. (1976) Size criteria for adults and for sexing pupae of *Rhagoletis cerasi*. *J. Econ. Entomol.*, 69(2), 136-138.

ETUDES DES CRITERES DE SELECTION DES COCONS DESTINES AU GRAINAGE CHEZ LE VER A SOIE TROPICAL TASAR ANTHERAEA MYLITTA DRURY (LEPIDOPTERA : SATURNIIDAE)

O.P. DUBEY, N.G. OJHA, M.K. SINGH & K. THANGAVELU

Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi - 835 303, Bihar, Inde.

Des méthodes d'analyse ont été testées dans le but de déterminer le sexe et de trier les cocons destinés au grainage du ver à soie tasar, A. mylitta D. Quatre caractères, c'est-à-dire le poids du cocon, le volume, la combinaison poids-volume et la fréquence des poids, ont été retenus pour cette analyse. La pesée du cocon s'avère être la méthode la meilleure et la plus facilement adaptable. Le niveau de discrimination, basé sur le poids ($P_0 = 11,88$), indique que les populations pesant plus de 11,88 g sont composées à 81 % de femelles et celles de moins de 11,88 g sont composées à 83 % de mâles. Les cocons dont le poids est inférieur à 8 g (0,38 %) donnent des mâles purs et ceux dont le poids est supérieur à 18 g (4,13 %) donnent des femelles pures. Les cocons dans une fourchette de poids de 10 à 16 g doivent être triés pour optimiser le grainage et la production de graines.

INTRODUCTION

Les cocons de qualité constituent le matériel biologique de base essentiel aux opérations de grainage et à la production d'oeufs de vers à soie. Pour le grainage du ver à soie tropical tasar *Antheraea mylitta* D., les cocons sont triés sur la base de la robustesse de la coque soyeuse et la taille (volume) des cocons est souvent utilisée comme critère pour le sexage. Cette méthode conventionnelle de tri soulève un certain nombre de problèmes au cours du grainage. Un pourcentage non négligeable d'individus mâles émergent au début de la période de grainage en raison de leur caractère intrinsèque d'émergence précoce. Ceci se traduit par un manque de mâles à la fin du grainage et entraîne un gaspillage de femelles. De plus, le grainage s'étend sur près d'un mois. L'épaisseur de la coque joue un rôle important, les chrysalides saines à coque fine tendant à émerger plus tôt que les chrysalides à coque dure.

Compte tenu de ces remarques, il est essentiel d'analyser les différents caractères des cocons destinés au grainage de l'écorace diapausante bivoltine Daba d'*A. mylitta* afin de déterminer les critères de sélection appropriés.

MATERIELS ET METHODES

Des cocons diapausants vivants destinés au grainage de l'écorace bivoltine Daba du ver à soie tropical tasar *A. mylitta* ont été utilisés comme matériel dans cette étude. La première analyse a été réalisée sur 200 (100 mâles + 100 femelles) cocons choisis au hasard. Le sexe a été identifié sur la base des bourgeons imaginaires d'Ishiwata sur les chrysalides. Le poids et le volume des cocons ont été relevés individuellement. Le poids a été enregistré sur une balance électronique à un plateau (Schimatzu, Japon) et exprimé en grammes. Le volume du cocon a été mesuré d'après la formule suivante :

$$\text{Volume (V)} = \frac{\Lambda}{4} \times \text{longueur} \times \text{largeur}^2$$

et exprimé en centimètres cubes (cc).

Les niveaux de discrimination (P_0 , V_0 et Z_0) ont été calculés d'après la formule décrite par Legay (1982). Les paramètres des formules et des calculs sont les suivants :

(A) Niveau de discrimination pour le poids du cocon (P_0) :

$$P_0 = \frac{S_2 \bar{P}_1 + S_1 \bar{P}_2}{S_1 + S_2}$$

où :

S_1 = écart type du poids du cocon mâle = 1,35
 S_2 = écart type du poids du cocon femelle = 2,30
 \bar{P}_1 = Poids moyen du cocon mâle = 10,78 g
 \bar{P}_2 = Poids moyen du cocon femelle = 13,75 g
 Donc $P_0 = 11,88$

(B) Niveau de discrimination pour le volume du cocon (V_0) :

$$V_0 = \frac{S_2 \bar{V}_1 + S_1 \bar{V}_2}{S_1 + S_2}$$

où :

S_1 = Ecart type du volume du cocon mâle = 62,355963
 S_2 = Ecart type du volume du cocon femelle = 71,983704
 \bar{V}_1 = Volume moyen du cocon mâle = 399,88 cc
 \bar{V}_2 = Volume moyen du cocon femelle = 474,9197 cc
 Donc $V_0 = 434,71091$

(C) Niveau de discrimination pour le rapport poids-volume du cocon (Z_0) :

Il s'agit d'une fonction linéaire exprimée sous la forme :

$$Z_0 = \lambda_1 P + \lambda_2 V$$

où les variables sont calculées d'après les résultats obtenus dans les formules suivantes :

$$\lambda_1 [\text{Var} (P_m) + \text{Var} (P_f)] + \lambda_2 [\text{Cov} (P, V_m) + \text{Cov} (P, V_f)] = \bar{P}_f - \bar{P}_m$$

$$\lambda_1 [\text{Cov} (P, V_m) + \text{Cov} (P, V_f)] + \lambda_2 [\text{Var} (V_m) + \text{Var} (V_f)] = \bar{V}_f - \bar{V}_m$$

où :

$\text{Var} (P_m)$ = Variance du poids du cocon mâle = 1,82
 $\text{Var} (P_f)$ = Variance du poids du cocon femelle = 5,272706
 $\text{Cov} (P, V_m)$ = Covariance du rapport poids-volume du cocon mâle = 56,894424
 $\text{Cov} (P, V_f)$ = Covariance du rapport poids-volume du cocon femelle = 112,14314
 Les autres facteurs sont décrits plus haut.

Ceci permet de résoudre les deux équations :

$$\lambda_1 = 0,3986154 \text{ et } \lambda_2 = 0,0008444$$

Les niveaux de discrimination pour les mâles et les femelles sont donc :

$$\bar{Z}_m = \lambda_1 \bar{P}_m + \lambda_2 \bar{V}_m = 4.6347335, \text{ et}$$

$$\bar{Z}_f = \lambda_1 \bar{P}_f + \lambda_2 \bar{V}_f = 5.8819833$$

et le niveau de discrimination est :

$$Z_0 = \frac{S_2 \bar{Z}_1 + S_1 \bar{Z}_2}{S_1 + S_2}$$

où S_1 et S_2 correspondent aux écarts types et sont calculés comme suit :

$$\begin{aligned} \text{SDm} &= \sqrt{\text{Var}(Z_m)} \\ &= \sqrt{\lambda_1^2 \text{Var}(P_m) + \lambda_2^2 \text{Var}(V_m) + 2\lambda_1\lambda_2 \text{Cov}(P, V_m)} \end{aligned}$$

donc,

$$\text{SDm} = 0.5746826, \text{ and similarly,}$$

$$\text{SDf} = 0.9575961, \text{ and}$$

$$Z_0 = 5.102516$$

Or, si l'on remplace les valeurs de la fonction linéaire de discrimination :

$$Z_0 = \lambda_1 P + \lambda_2 V,$$

$$P = 12.800599 - 0.0021183V.$$

Pour la deuxième série d'analyse, 800 (400 mâles + 400 femelles) cocons destinés au grainage ont été sélectionnés au hasard et pesés. L'intervalle des catégories et la répartition de fréquence ont été déterminés d'après les méthodes décrites par Remund et Boller (1976).

RESULTATS ET DISCUSSION

La classification des cocons destinés au grainage au niveau P_0 (poids du cocon = 11,88) donne 81 % de femelles dans la catégorie supérieure et 83 % de mâles dans la catégorie inférieure (Fig. 1). De même, la classification au niveau V_0 (volume du cocon = 434,71) permet d'obtenir 71 % de femelles et de mâles dans les catégories inférieure et supérieure. Cependant, le niveau Z_0 (caractère combiné poids-volume = 5,10) donne une répartition de la population en un groupe supérieur composé de femelles à 81,63 % et un groupe inférieur composé à 80,39 % de mâles. Les pourcentages de cocons classés du mauvais côté sur la base du poids, du volume et du caractère combiné poids-volume sont respectivement de 18 % (17 mâles + 19 femelles), 29 % (29 mâles et 29 femelles) et 19 % (18 mâles et 20 femelles) (Fig. 1). Il est donc évident que, chez le ver à soie tropical tasar *A. mylitta*, le poids du cocon constitue un meilleur critère que le caractère combiné poids-volume pour sexer une population ou disposer d'une population de cocons avec le nombre maximum pour un sexe donné. Les mêmes critères de classification sur la base du poids du cocon peuvent être appliqués à d'autres écotypes et/ou écoraces d'*A. mylitta*. Cependant, la fourchette de valeur du poids du cocon peut varier légèrement en fonction des conditions d'élevage. Legay (1982) a démontré la supériorité du caractère poids-volume sur le poids dans le sexage des chrysalides de *Bombyx mori*.

Etant donné que le poids permet une bonne discrimination et est plus facile à mesurer que le caractère combiné poids-volume, les cocons destinés au grainage ont ensuite été classés sur la base de la fourchette de poids et de leur fréquence sur une population beaucoup plus large. Les résultats obtenus indiquent qu'un poids inférieur à 8 g donne des mâles purs (0,38 %) et qu'un poids supérieur à 18 g donne des femelles pures (4,13 %) (Tableau I). Un léger décalage de la fourchette de poids inférieure vers la fourchette supérieure (jusqu'à 10 g) et de la fourchette supérieure vers la fourchette inférieure donne un pourcentage satisfaisant de cocons mâles et femelles (7,51 et 17,01) et un minimum (0,51 %) de femelles et de mâles. La fourchette moyenne (10-16 g) donne une population composée à 42,52 % de mâles et à 32,51 % de femelles. Parmi toutes les fourchettes de poids, la fourchette 13-14 g présente le meilleur *sex ratio* (46,67 mâles:53,33 femelles) (Tableau I).

Ces résultats facilitent deux opérations de grainage importantes. Ils permettent non seulement de synchroniser la totalité de la durée de l'émergence mais également d'améliorer la production de graines. Les cocons pesant moins de 10 g (chrysalides mâles) peuvent être soumis à des températures

plus faibles (20 °C, de préférence pendant un mois en mai) afin de différer leur émergence. De même, les cocons pesant plus de 18 g peuvent être exposés aux conditions environnementales, de préférence une forte température combinée avec une humidité relative élevée, afin d'avancer l'émergence des papillons femelles.

STUDIES ON THE PHENOTYPIC VARIABILITY OF SEVEN CULTIVARS OF *MORUS ALBA* L. AND THREE OF *MORUS MULTICAULIS* P. (MORACEAE) — PART 1

L. CAPPELLOZZA¹, A.T. CORADAZZI² & N. TORNADORE²

1. Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione Specializzata per la Bachicoltura, Via dei Colli 28, 35100 Padova, Italy.
2. Department of Biology, Geobotany Section, University of Padua, Via Trieste 75, 35131 Padova, Italy.

The present research aimed to make a careful study of ten mulberry cultivars (cvs) belonging to the varietal collection of the "Specialized Sericultural Section" of Padua. The objective of the work summarized here (part 1) is to identify some morphological features of the cvs, useful to distinguish them.

Keywords: *Morus alba*, *Morus multicaulis*, mulberry cultivars, classification, descriptor.

INTRODUCTION

Unlike other arboreous species, no agreement has yet been reached on a catalogue "descriptor" of the genus *Morus* L. among the various authors.

Nevertheless, over time, different taxonomic and varietal classifications have been proposed, based on the species' morphological and cytological features.

Since it is unnecessary to go into details on the classifications one after the another, we will mention but a few: the oldest being that of Ledebour (1851) based on the papillae and pubescence of the stigmas, and that of Bureau (1873) which considers the shape and length of female inflorescence and syncarp. Brandis (1906) gives taxonomic importance to the length and shape of the syncarp as well as to leaf characteristics.

The most recent ones are based on the shape and number of cystoliths in the leaves (Hotta, 1954) or the type of idioblasts (Katsumata, 1971).

In 1986, Dandin and Jolly proposed a model of "mulberry descriptor" which includes nine groups of main features: phytogeographical information, anatomical and cytological characteristics, multiplication, growth and production, response to different environmental conditions, resistance to diseases and toxicants.

The present research accepts the originality of this classification and aims to make a careful study of ten mulberry cvs belonging to the variety collection of the "Specialized Sericultural Section" of Padua.

Among the ten cvs chosen, one group of five includes the varieties called indigenous, due to their long period of acclimatization in Italy: Cattaneo female, Cattaneo male, Florio, Filippine and Morettiana. Another group includes five Japanese varieties, so called due to their introduction into Italy from Japan more recently: Ichinose, Kairyonezumigaeshi, Kokusò 20, Kokusò 21 and Kokusò rosso. Kokusò rosso is a variety which has been developed from Kokusò 20, a few years after its introduction into Italy. In fact, some plants appeared in which shoot apices showed a characteristic coloration: violet red. Due to the good quality of its leaves, the variety was reproduced and it is regularly employed for silkworm rearing. The word "rosso" means "red" in Italian.

Granted that the analysis carried out was limited, for various reasons, to a specific area of investigation, we would outline that the aim of this research was to single out a method appropriate to most cases, rather than carry out an exhaustive study of the matter.

Furthermore, the research was split into three parts in order to simplify the presentation; the first one deals with some morphological features of the cvs, the second one concerns the anatomical characteristics of the leaf and the third one assembles the information obtained from previous investigations into a catalogue which includes phytogeographical notes and data on reproductive structures.

MATERIALS AND METHODS

The ten mulberry cvs examined in the following study are cultivated in the experimental mulberry garden of the "Specialized Sericultural Section" of Padua. Here we carried out all field observations and collected the vegetal material needed for this research. The investigations were performed on plants reproduced by agamic multiplication (cuttings), of the same age, cultivated under identical climatic conditions and with the same cultural operations.

Description of the morphological characteristics of the cvs:

The following parameters were assessed: phyllotaxy (1), length of internodes (2), length and width of the leaf blade and area of the leaf produced in the springtime and in late summer, by branches which were cut at the base for the spring harvest (3) and leaf morphology (4).

(1) Phyllotaxy: the leaf position on branches was valued, calculating the fraction which states the divergence for each cv (Tonzig and Marré, 1983).

(2) Length of internodes: the length of spring internodes was determined, sampling at least twenty different shoots per cv.

(3) Leaf parameters: measurements were carried out on about 40 leaves of two different types: from spring shoots (first half of June) and from late summer shoots (cut at the base of branches in the springtime and grown again during the summer season), which were examined at the beginning of September. Recorded parameters were: length and width of the blade and leaf area. Once developed, the leaves to be examined were harvested, from the third distal of shoots.

The LAI (leaf area index) FAST CANOVAI (Baldini, 1986) was measured at the Institute of Agronomy and Herbaceous Cultivations, Faculty of Agriculture, Padua University, Italy.

(4) Leaf morphology: was evaluated on about 50 leaves per cv, chosen from different plants.

Determination of water content and dry weight:

Three different samplings were carried out, both on spring and late-summer leaves; in each sampling nine leaves per cv were picked out. The weight of the nine leaves was measured immediately after harvesting; afterwards the material was put into an oven at a temperature of 100 °C, in aluminium boxes until its dry weight became invariable.

Determination of chlorophyll content:

Three samplings on the spring leaves and three on late-summer ones were carried out. In each sampling four leaves per cv were picked out; afterwards, small blade fragments were taken from the leaves, avoiding cuts corresponding to the central and side veins which are slightly thicker and more protuberant. From the whole of the pieces obtained, 100 mg of leaves per cv were weighed and put in 10 ml of N,N-dimethylformamide (Moran, 1982). The extract obtained after three days at a temperature of 4 °C was collected and then analyzed under the double-beam spectrophotometer (model Perkin-Elmer 144).

The reading of the wavelength was registered at:

- 644 nm for chlorophyll *a* (Chl *a*), and
- 645 nm for chlorophyll *b* (Chl *b*).

The absorptivity method was employed in order to evaluate the degree of pigmentation, using the equations proposed by Inskeep and Bloom (1985):

$$\text{Chl } a \text{ (} 12.7 \times A_{664} - 2.79 \times A_{645} \text{)} \times V/W$$

$$\text{Chl } b \text{ (} 20.7 \times A_{645} - 4.62 \times A_{664} \text{)} \times V/W$$

where:

A_{664} , A_{645} are absorbance values related to considered wavelengths,
 V is the volume expressed in millilitres of *N,N*-dimethylformamide, and
 W is the fresh weight expressed in grams.

RESULTS

Morphological features of the cvs:

(1) Phyllotaxy: all the different mulberry cvs examined presented an isolated or alternate phyllotaxy.

The fraction of divergence is the following:

3/7 Morettiana

1/2 Filippine

2/5 all the remaining cvs.

(2) Measurements of the internode length: the data are shown in Table I.

(3) Leaf parameters: data about the leaf length, width and area are shown in Table II. The leaf area is notably greater in late-summer leaves, in which the measures are, on average, about twofold the values recorded in the springtime.

If the cvs are divided into two groups of different geographical origin, the following results are obtained:

| Average area of spring leaves: | Average area of late-summer leaves: |
|---|---|
| - Indigenous cvs: 182.5 cm ² | - Indigenous cvs: 324.3 cm ² |
| - Japanese cvs: 115.5 cm ² | - Japanese cvs: 224.0 cm ² |

(4) The description of the various leaf types per each cv is as follows:

Indigenous group:

(a) Cattaneo female: Leaf with the petiole; cordate or egg-shaped blade with subcordate or rounded off base; large dimensions. Irregularly serrated border with mucronate teeth; not acuminate leaf apex. Three main veins protrude in the lower leaf blade. Heterophylly is not present (Fig. 1).

(b) Cattaneo male: Leaf with the petiole; generally triangular, very seldom cordate blade, without acuminate apex. Subcordate base and irregularly serrated border with mucronate teeth. Three thick veins protruding in the lower blade. The lamina is intact but sometimes it is possible to observe leaves with a little cut in one or both of the blades (Fig. 1).

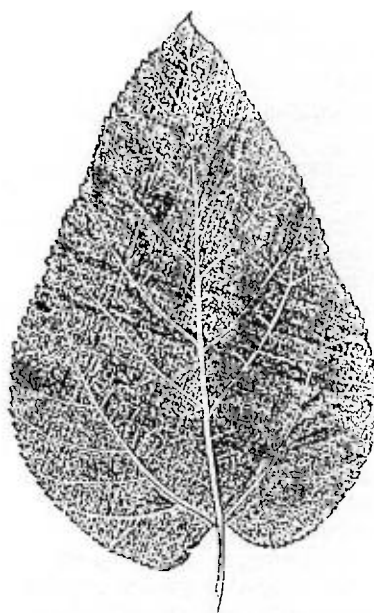
(c) Filippine: Leaf with the petiole; egg-shaped or triangular blade, typically undulated, making it impossible to spread on a plane. The base is rounded off and the half-blades are more or less asymmetrical. The border is irregularly serrated with not very marked teeth, turned to the leaf apex, which is acuminate. The lower blade has three protruding veins. As a rule, the blade is intact, but sometimes two little cuts can be observed in one of the two half-blades. The leaves are rather large (Fig. 1).

(d) Florio: leaf with a very long petiole (around 4 cm), triangular blade, triangular or subcordate base, slightly asymmetrical (Fig. 2a, 2c). Irregularly serrated border, with not acuminate teeth, ending with a mucro. Acuminate and mucronate apex. The higher blade is smooth and the lower one has three main protruding veins. As a rule the blade is intact, but sometimes it is cut in one or both of the sides of the main veins (Fig. 2e, 2b). These cuts make the leaves asymmetrically bilobate or trilobate. Connate leaves stemming from a single petiole were also observed (Fig. 2d).

Cattanco f.



Cattanco m.



Filippine

Fig. 1

Scale 1:4 | Echelle : 1/4e

Florio

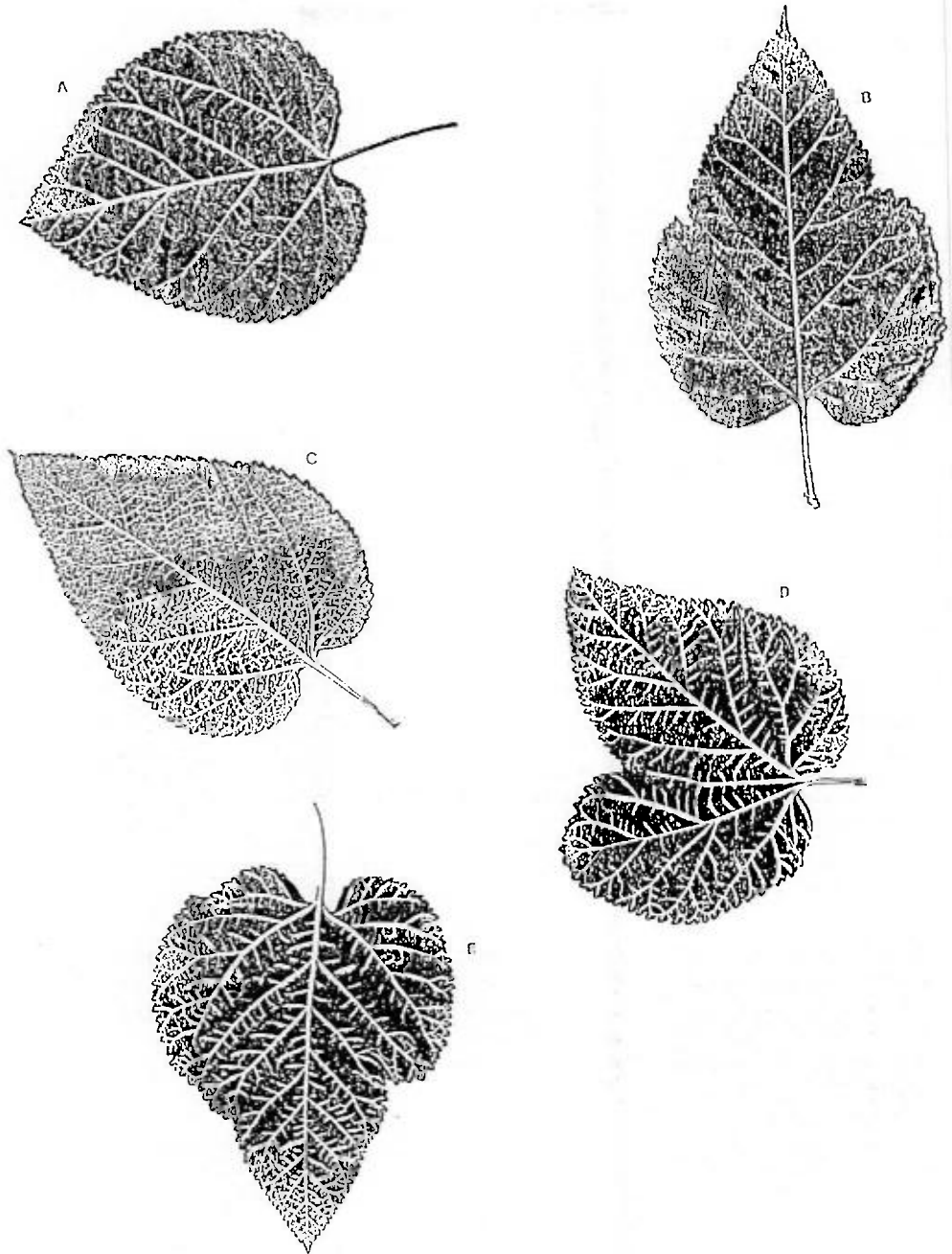


Fig. 2
Scale 1:4 / Echelle : 1/4e

Table I. Comparison among the internode lengths of 10 mulberry cvs (*M. alba* and *M. multicaulis*) in the springtime.

Tableau I. Comparaison des distances internodales de 10 cultivars de mûrier (*M. alba* et *M. multicaulis*) au printemps.

| Cultivars | Internode length (cm) | Significance | |
|---|----------------------------------|----------------------|----------|
| | | P = 0.05 | P = 0.01 |
| <i>Cultivars</i> | <i>Distance internodale (cm)</i> | <i>Signification</i> | |
| | | P = 0,05 | P = 0,01 |
| Group A: Indigenous / Groupe A : Indigènes | | | |
| 1) Cattaneo f. | 4.8 | b | B |
| 2) Cattaneo m. | 4.8 | b | B |
| 3) Philippine | 7.8 | a | A |
| 4) Florio | 4.1 | c | CD |
| 5) Morettiana | 4.1 | c | CD |
| Group B: Japanese / Groupe B : Japonais | | | |
| 1) Ichinose | 2.9 | e | E |
| 2) Kairyonezumigaeshi | 3.3 | de | E |
| 3) Kokusò 20* | 4.6 | b | BC |
| 4) Kokusò 21* | 4.6 | b | BC |
| 5) Kokusò rosso* | 3.5 | d | DE |

Values which have no small letters in common differ significantly for P = 0.05. Values which have no capital letters in common differ significantly for P = 0.01.

Les valeurs qui n'ont pas de minuscules en commun diffèrent de manière significative pour P = 0,05. Les valeurs qui n'ont pas de majuscules en commun diffèrent de manière significative pour P = 0,01.

* *M. multicaulis*.

(e) Morettiana: leaf with the petiole; very variable in shape, which may be cordate or egg-shaped in the intact or slightly cut type and palmate-lobate in those types bearing several cuts of different depths. There is also a great deal of heterophylly in the structures, some of which are symmetrical, others asymmetrical. The border is irregularly serrated, with mucronated teeth and leaf apex. The leaf's base is rounded off or subcordate, and slightly asymmetrical (Fig. 3a, 3b, 3d, 3e and 3f).

Japanese group:

(a) Ichinose: Leaf with the petiole; blade of varying shapes, palmate-lobate in most cases. Subcordate base, more or less regularly serrated border, with mucronated teeth and acuminate apex, not well developed. The lower blade has three main protrudent veins. In Figure 4(a, b, c and d) the various leaf types are shown according to the number of cuts.

(b) Kairyonezumigaeshi: leaf with the petiole and large, generally palmate-lobate blade. Serrated border with mucronated teeth, acuminate not well developed apex; subcordate base. Lower blade with three main protruding veins. The blade is seldom intact or with a little basal cut (Fig. 5d), more often pentalobate (Fig. 5a), or asymmetrically tetralobate (Fig. 5b and 5c) or hexalobate (Fig. 5c), or connate, pentalobate or tripartite (Fig. 5f).

Morettiana

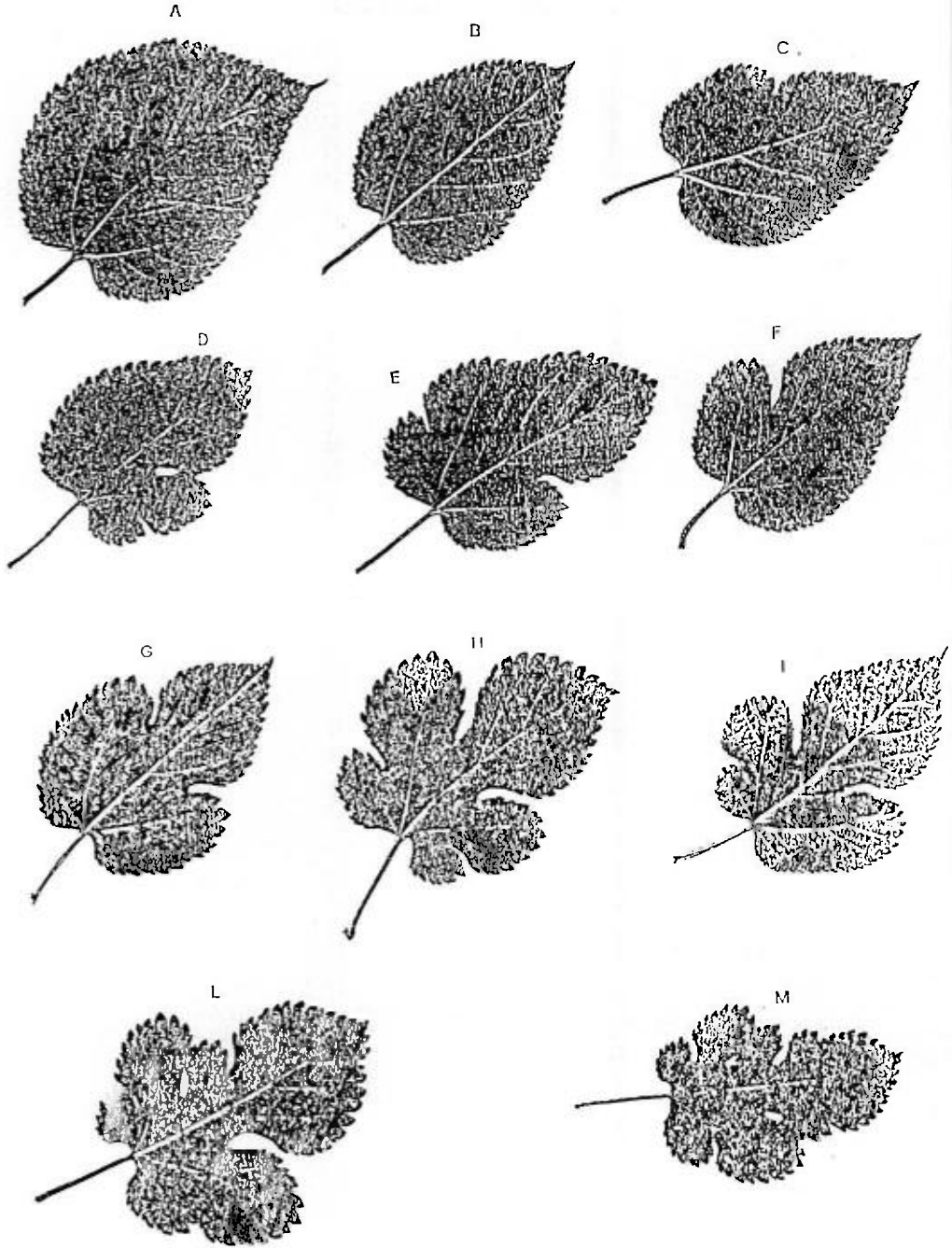


Fig. 3
Scale 1:4 / Echelle : 1/4e

Ichinose

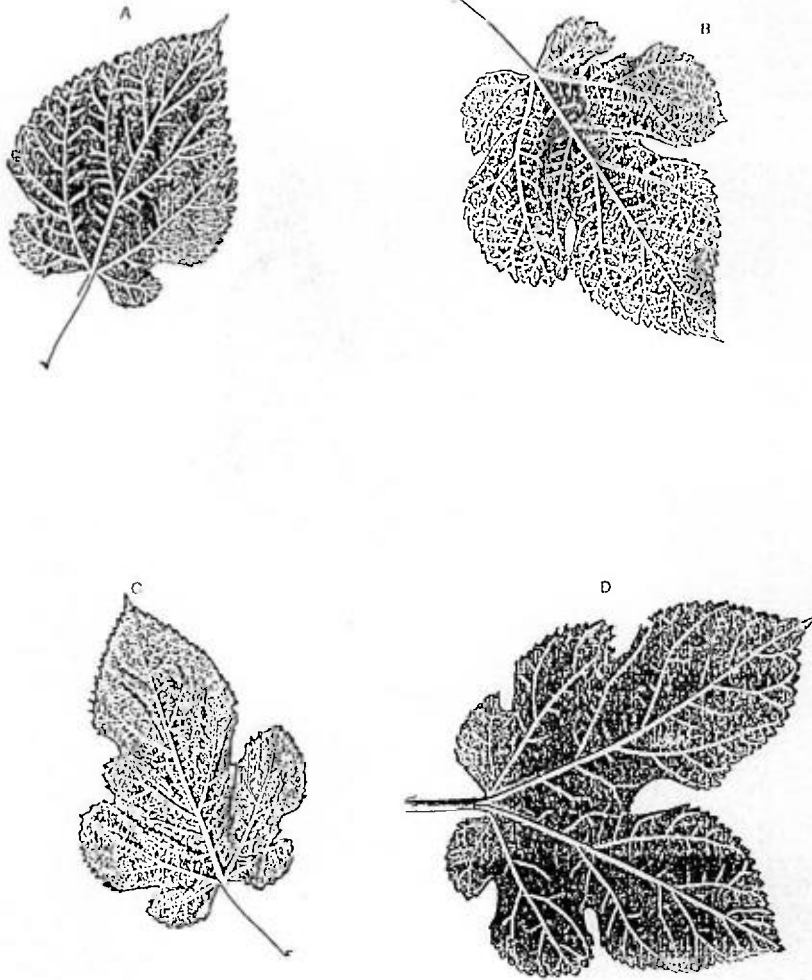
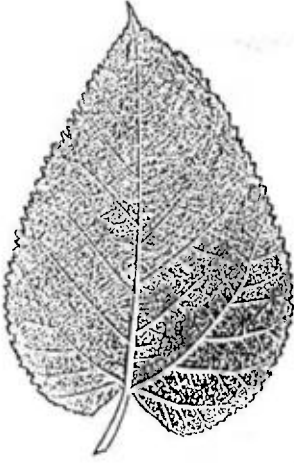
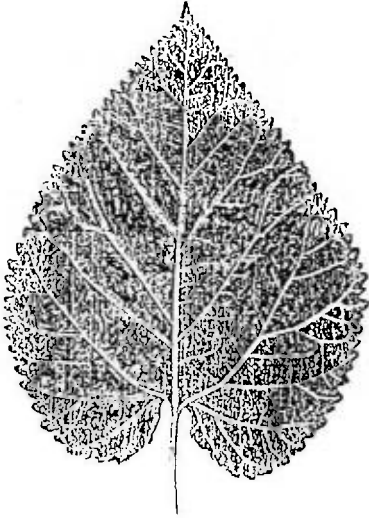


Fig. 4
Scale 1:4 / Echelle : 1/4e

Kokusò 20



Kokusò 21



Kokusò rosso

Fig. 5

Scale 1:4 / Echelle : 1/4e

Table II. Length, width and area of the spring and late-summer leaf.

Tableau II. Longueur, largeur et surface de la feuille de printemps et de fin d'été.

| Cultivars | Spring | | | Late summer | | |
|---|---------------------|----------------------|----------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|
| | Width (cm) | Length (cm) | Area (cm ²) | Width (cm) | Length (cm) | Area (cm ²) |
| Cultivars | Printemps | | | Fin d'été | | |
| | Largeur (cm) | Longueur (cm) | Surface (cm ²) | Largeur (cm) | Longueur (cm) | Surface (cm ²) |
| Group A: Indigenous / Groupe A : Indigènes | | | | | | |
| 1) Cattaneo f. | 16.3 ^{bb} | 24.1 ^{aA} | 274.84 ^{aA} | 26.3 ^{aA} | 32 ^{aA} | 618.87 ^{aA} |
| 2) Cattaneo m. | 15.3 ^{cB} | 18.4 ^{bb} | 209.59 ^{bb} | 16.7 ^{cdCDE} | 20.2 ^{cdCD} | 257.81 ^{bb} |
| 3) Philippine | 17.6 ^{aA} | 22.9 ^{aA} | 262.1 ^{aA} | 22.0 ^{bb} | 29.1 ^{bb} | 419.91 ^{abAB} |
| 4) Florio | 10.0 ^{eE} | 14.3 ^{dC} | 98.07 ^{eE} | 14.8 ^{eDEF} | 18.2 ^{efDE} | 191.57 ^{bb} |
| 5) Morettiana | 8.7 ^{fF} | 10.9 ^{eD} | 67.89 ^{fF} | 12.7 ^{fF} | 14.4 ^{gF} | 133.36 ^{bb} |
| Group B: Japanese / Groupe B : Japonais | | | | | | |
| 1) Ichinose | 8.4 ^{fF} | 11.1 ^{eD} | 59.54 ^{fF} | 14.5 ^{eDEF} | 16.5 ^{fEF} | 150.21 ^{bb} |
| 2) Kairyonezumigacshi | 11.6 ^{dCD} | 16.5 ^{bcBC} | 116.64 ^{dDE} | 16.1 ^{cdC} | 20.8 ^{cdCDE} | 212.13 ^{bb} |
| 3) Kokusò 20* | 12.2 ^{dC} | 16.6 ^{bcBC} | 138.79 ^{cdCD} | 17.4 ^{cdC} | 21.2 ^{cdC} | 276.07 ^{bb} |
| 4) Kokusò 21* | 12.2 ^{dC} | 17.6 ^{bcB} | 147.49 ^{cdC} | 17.2 ^{cdC} | 21 ^{cdCD} | 262.54 ^{bb} |
| 5) Kokusò rosso* | 10.7 ^{eED} | 15.7 ^{cBC} | 115.13 ^{deDE} | 15.5 ^{deCDE} | 19.8 ^{deCDE} | 224.03 ^{bb} |

Values which have no small letters in common differ significantly for P = 0.05. Values which have no capital letters in common differ significantly for P = 0.01.

Les valeurs qui n'ont pas de minuscules en commun diffèrent de manière significative pour P = 0,05. Les valeurs qui n'ont pas de majuscules en commun diffèrent de manière significative pour P = 0,01.

* *M. multicaulis*.

(c) Kokusò 20: Leaf with the petiole; cordate-triangular, more or less asymmetrical blade, irregularly serrated border, with rather large mucronated teeth. Lengthened leaf apex, but less than in the cv Kokusò 21. Rounded off or subcordate base; three main protruding veins. Blade in most cases uncut (Fig. 6).

(d) Kokusò 21: Leaf with the petiole; entire cordate-triangular shaped blade, irregularly serrated border with large and mucronated teeth. The leaf apex develops itself into a long and acuminate tip, called mucro. Lower blade with three protruding main veins. The blade is generally uncut, nevertheless sometimes may have one or two more or less deep cuts in one of the half-blades (leaf bipartite or asymmetrical bilobate) or, more rarely, a cut in each half-blade (trilobate leaf) (Fig. 6).

(e) Kokusò rosso: Leaf with the petiole and triangular blade or cordate in shape. Subcordate base and irregularly serrated border, with rather large teeth, acuminate apex. Lower blade with three protruding veins. Blade generally uncut, sometimes bearing a little cut in one or both the half-blades (Fig. 6).

Determination of water content and dry weight:

These parameters (see Table III) show limited variations among the different cvs and among spring and late-summer leaves. The percentage of hydration is generally high, around 70% of fresh weight. No relationships between the variability of the water content and the leaf area are evident.

Kairyonezumigaeshi

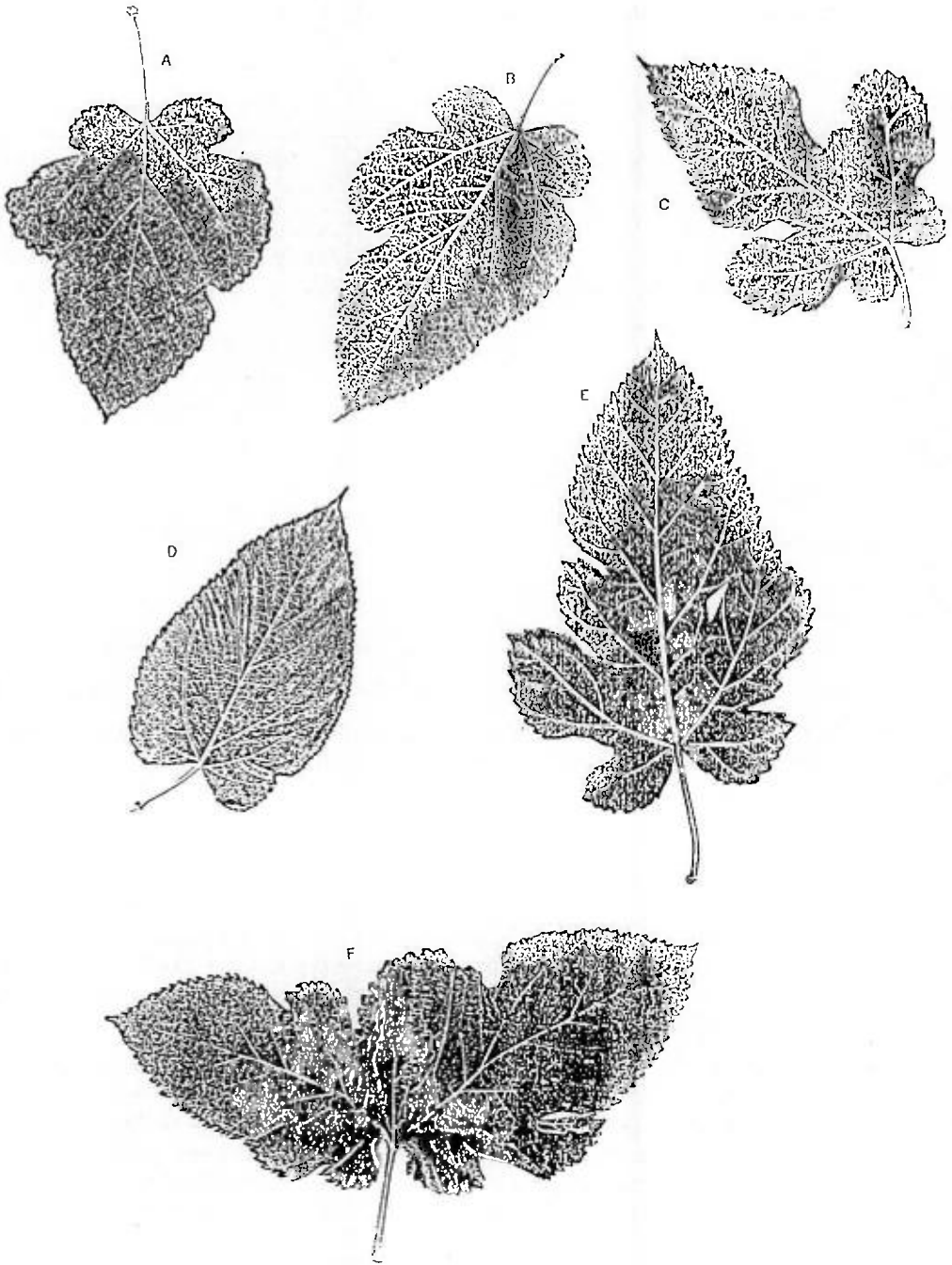


Fig. 6
Scale 1:4 / Echelle : 1/4e

Table III. Dry weight of the leaves of the various cvs.

Tableau III. Poids sec des feuilles des différents cultivars.

| Cultivars | Dry weight percentage | |
|---|--------------------------|-----------------------|
| | Spring leaf | Summer leaf |
| Cultivars | Pourcentage de poids sec | |
| | Feuille de printemps | Feuille d'été |
| Group A: Indigenous / Groupe A : Indigènes | | |
| 1) Cattaneo f. | 29.1 ^{cdB} | 29.1 ^{cdC} |
| 2) Cattaneo m. | 34.6 ^{baA} | 31.7 ^{bcBC} |
| 3) Filippine | 29.8 ^{bcB} | 32.3 ^{baBC} |
| 4) Florio | 26.0 ^{dcC} | 31.8 ^{bcABC} |
| 5) Morettiana | 30.5 ^{bcB} | 32.6 ^{baBC} |
| Group B: Japanese / Groupe B : Japonais | | |
| 1) Ichinose | 17.0 ^{dcC} | 28.7 ^{dcC} |
| 2) Kairyonezumigaeshi | 30.5 ^{bcB} | 32.3 ^{baBC} |
| 3) Kokusò 20* | 31.0 ^{bcB} | 35.9 ^{aaA} |
| 4) Kokusò 21* | 28.8 ^{cdB} | 31.8 ^{bcABC} |
| 5) Kokusò rosso* | 31.9 ^{baB} | 34.5 ^{abAB} |

Values which have no small letters in common differ significantly for $P = 0.05$. Values which have no capital letters in common differ significantly for $P = 0.01$.

Les valeurs qui n'ont pas de minuscules en commun diffèrent de manière significative pour $P = 0,05$. Les valeurs qui n'ont pas de majuscules en commun diffèrent de manière significative pour $P = 0,01$.

* *M. multicaulis*.

Chlorophyll content:

The measurements of the chlorophyll content in spring and late-summer leaves in the different cvs are shown in Table IV. The total content of chlorophyll *a* + *b* of late-summer leaves is very similar to that of spring leaves. However, it is noticeable that the content of chlorophyll *b* is comparatively lower than that of chlorophyll *a* in both types of leaves.

DISCUSSION

The research carried out on the differential features of the cvs of *M. alba* and *M. multicaulis* was very complex, as forecast at the beginning of this study. Some discrepancies were observed between the information collected in this work and that recorded in the past and reported in the literature (Lombardi, 1964b). Such a discrepancy may be due to the confusion existing among the different cvs. For example, the attribution of leaves with the longest mucro to the cv Kokusò 21, rather than to Kokusò 20, contradicts the statement reported by Lombardi (1964b). In the northern Italy climatic belt, where the study was carried out, the differences between the group of indigenous varieties and that of Japanese varieties appeared insignificant; for this reason it could be supposed that the imported varieties became perfectly acclimatized to Italy.

Table IV. Chlorophyll *a* and *b* contents in the spring and late-summer leaves of the different cvs.Tableau IV. Contenus en chlorophylle *a* et *b* des feuilles de printemps et de fin d'été chez les différents cultivars.

| Cultivars | Chl <i>a</i> (mg/g fresh wt.) | | Chl <i>b</i> (mg/g fresh wt.) | | Chl <i>a</i> + <i>b</i> | |
|--|----------------------------------|----------------------|----------------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|
| | Spring leaf | Late summer leaf | Spring leaf | Late summer leaf | Spring leaf | Late summer leaf |
| Cultivars | Chl <i>a</i> (mg/g poids humide) | | Chl <i>b</i> (mg/g poids humide) | | Chl <i>a</i> + <i>b</i> | |
| | Feuille de printemps | Feuille de fin d'été | Feuille de printemps | Feuille de fin d'été | Feuille de printemps | Feuille de fin d'été |
| Group A: Indigenous / Groupe A: Indigènes | | | | | | |
| 1) Cattaneo f. | 2.26 ^{bcdAB} | 2.00 ^{deDE} | 0.95 ^{abAB} | 0.66 ^{deCD} | 3.20 ^{bcAB} | 2.65 ^{deDE} |
| 2) Cattaneo m. | 1.57 ^{cC} | 1.58 ^{fF} | 0.52 ^{cD} | 0.48 ^{fD} | 2.09 ^{cC} | 2.05 ^{fE} |
| 3) Filippine | 1.82 ^{deBC} | 1.59 ^{fF} | 0.72 ^{cdBCD} | 0.51 ^{efD} | 2.54 ^{cdeBC} | 2.11 ^{fE} |
| 4) Florio | 2.33 ^{bcAB} | 2.65 ^{bcB} | 0.83 ^{bcBC} | 0.88 ^{bcAB} | 3.16 ^{bcdAB} | 3.54 ^{bcB} |
| 5) Morettiana | 2.86 ^{aA} | 3.16 ^{aA} | 1.12 ^{aA} | 1.08 ^{aA} | 3.97 ^{aA} | 4.24 ^{aA} |
| Group B: Japanese / Groupe B: Japonais | | | | | | |
| 1) Ichinose | 1.57 ^{cC} | 2.84 ^{bcAB} | 0.52 ^{cD} | 1.1 ^{aA} | 2.09 ^{cC} | 3.94 ^{abAB} |
| 2) Kairyonezumigaeshi | 1.91 ^{cdeBC} | 1.74 ^{efEF} | 0.59 ^{deCD} | 0.54 ^{efCD} | 2.49 ^{deBC} | 2.28 ^{efE} |
| 3) Kokusò 20* | 2.16 ^{bcdBC} | 2.75 ^{bcB} | 0.83 ^{bcBC} | 0.92 ^{bAB} | 3.00 ^{bcdBC} | 3.67 ^{bcAB} |
| 4) Kokusò 21* | 2.41 ^{bAB} | 2.51 ^{cBC} | 0.92 ^{bcAB} | 0.9 ^{bcAB} | 3.33 ^{bAB} | 3.41 ^{cBC} |
| 5) Kokusò rosso* | 1.99 ^{bcdBC} | 2.2 ^{dCD} | 0.78 ^{bcdBCD} | 0.74 ^{cdBC} | 2.77 ^{bcdBC} | 2.94 ^{dCD} |

Values which have no small letters in common differ significantly for $P = 0.05$. Values which have no capital letters in common differ significantly for $P = 0.01$.

Les valeurs qui n'ont pas de minuscules en commun diffèrent de manière significative pour $P = 0,05$. Les valeurs qui n'ont pas de majuscules en commun diffèrent de manière significative pour $P = 0,01$.

* *M. multicaulis*.

In fact, all the mulberries of Japanese origin, and Kokusò in particular, were popular for the large size of their leaves, which reduced their dimension 5-6 years after their importation (which occurred in 1954) and became quite comparable to the leaves of indigenous plants. Nevertheless, it should be outlined that there is a more general experience on the adaptability of the mulberry to different climatic conditions (Lombardi, 1964a). In southern Italy, for example, in apt cultivation conditions (fertilization, irrigation...) the dimensions of the leaves of Japanese returned to the original ones and the leaves of indigenous varieties also show a greater development than in northern Italy.

To conclude, it may be suggested that the mulberry leaf is provided with a noticeable plasticity and, perhaps, the environmental influence has a more important function than genetics in determining leaf dimensions and appearance. This fact makes it more difficult to distinguish the mulberry varieties which show different characteristics depending on the cultivation area.

The type of leaf morphology in each cv does not change with regard to the season (spring or late summer). The increase in the leaf area recorded in the late summer is supposed to be a physiological event, due to the cut made at the branch base. In order to hoard the nourishment needed to overcome

the winter, the plant is stimulated to photosynthesize even more and so produces more leaf surface. In addition, the number of leaves per shoot is lower than in the springtime, due to the fact that there is no side sprouting, so the nourishment can be distributed among less metabolic sinks, which have more nutritious substances for growing.

Conclusively, we can affirm that the research gave some first indications, useful in distinguishing the various cvs, particularly those based on leaf morphology.

The features which were considered for this study, except for the internodal distance, which is more genetic in character, are greatly influenced by climatic and cultural conditions.

Nevertheless, the authors considered these characteristics important to be described at the beginning of a classification work for the following reasons:

(1) Historically the external features were always taken into account by the authors who attempted to classify the mulberry.

(2) It is important to give some standards to the people who actually work in this field (silkworm rearing and plant production) in order for them to recognize the different mulberry varieties. These standards should be simple to identify and, for this reason, they should be "external" features.

These observations should be supported by more thorough knowledge about the anatomy and karyology of the cvs, in order to utilize them for an exhaustive classification for scientific aims.

REFERENCES

- BALDINI E. (1986) Energia radiante e fotosintesi. *In* Arboricoltura generale. Clueb Editrice, Bologna, 169.
- BRANDIS D. (1906) Indian trees. Archibald Constable & Co., London, 612-613.
- BUREAU E. (1873) *Morus*. *In* Prodrromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis sive enumeratio contracta Ordinum, Generum, Specierumque Plantarum. A. De Candoll (Ed.), E. Typis Lahure, Paris, 17, 221-222.
- DANDIN S.B., JOLLY M.S. (1986) Mulberry descriptor. Central Sericultural Research and Training Institute, Central Silk Board, Geetanjali Printers, Bangalore.
- HOTTA T. (1954) Taxonomical study on cultivated mulberry in Japan. Botanical Institute, Faculty of Textile Fibres, Kyoto, Japan, 125.
- INSKEEP W.P., BLOOM P.R. (1985) Extinction coefficient of chlorophyll *a* and *b*, N,N-dimethylformamide and 80% acetone. *Plant Physiol.*, 77, 483-485.
- KATSUMATA F. (1971) Shape of idioblast in mulberry leaves with special references to the classification of mulberry trees. *J. Sericult. Sci. Japan*, 40 (4), 312-322.
- LEDEBOUR C.F. (1851) *Flora Rossica sive enumeratio plantarum in Totius Imperii Rossici*. 3, 643-644. Sumptibus Librariae E. Schweizerbart, Stuttgartiae.
- LOMBARDI P.L. (1964a) Comportamento del gelso Kokusò nel periodo di acclimatazione in Italia. *Annuario della Stazione Bacologica Sperimentale "E. Verson" di Padova*, 52, 387-394.
- LOMBARDI P.L. (1964b) Cultivar di *Morus alba* e *Morus nigra* esistenti nella Stazione Agraria Sperimentale di Ascoli Piceno. *Annuario della Stazione Bacologica "E. Verson" di Padova*, 52, 407-430.
- MORAN R. (1982) Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with N,N-dimethylformamide. *Plant Physiol.*, 69, 1378-1381.
- TONZIG S., MARRÈ E. (1983) *Botanica generale*. 3a ed., Ed. Ambrosiana, Milano, 1, 399-401.

ETUDES SUR LA VARIABILITE PHENOTYPIQUE DE SEPT CULTIVARS DE *MORUS ALBA* L. ET TROIS DE *MORUS MULTICAULIS* P. (MORACEAE) – 1ère PARTIE

L. CAPPELLOZZA¹, A.T. CORADAZZI² & N. TORNADORE²

1. Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione Specializzata per la Bachicoltura, Via dei Colli, 28, 35100 Padova, Italie.
2. Département de Biologie, Section de Géobotanique, Université de Padoue, Via Trieste 75, 35131 Padova, Italie.

L'objet des travaux présentés ici est d'étudier en détail 10 cultivars (cv) de mûrier issus de la collection variétale de la "Section spécialisée en sériciculture" de Padoue. Le but de l'étude résumée ici (1ère partie) est d'identifier certains traits morphologiques de ces cv, ce qui permettrait de faire leur distinction.

INTRODUCTION

Contrairement aux autres espèces d'arbres, aucun catalogue faisant l'unanimité entre les différents auteurs n'a encore été établi pour le genre *Morus* L.

Néanmoins, avec le temps, différentes classifications variétales et taxonomiques ont été proposées basées sur les caractères morphologiques et cytologiques de l'espèce.

Il n'est pas nécessaire de détailler toutes les classifications l'une après l'autre et nous nous limiterons à quelques unes : les plus vieilles sont celle de Ledebour (1851), basée sur les papilles et la pubescence des stigmates, et de Bureau (1873), basée sur la forme et la longueur de l'inflorescence et du syncarpe femelles. Brandis (1906) attache une importance taxinomique à la longueur et à la forme du syncarpe ainsi qu'aux caractéristiques foliaires.

Les classifications les plus récentes sont basées sur la forme et le nombre de cystolithes dans les feuilles (Hotta, 1954) ou le type d'idioblastes (Katsumata, 1971).

En 1986, Dandin et Jolly ont proposé un modèle de "description du mûrier" qui comprend neuf groupes de caractères principaux : les éléments phytogéographiques, les caractéristiques anatomiques et cytologiques, la reproduction, la croissance et la production, la réaction aux différentes conditions environnementales, la résistance aux maladies et aux toxiques.

Les travaux présentés ici acceptent l'originalité de cette classification et ont pour objet de réaliser l'étude approfondie de dix cultivars (cv) de mûriers appartenant à la collection variétale de la "Station spécialisée en sériciculture" de Padoue.

Les dix cv sélectionnés ont été répartis en deux groupes. Le premier groupe de cinq variétés comprend les variétés dites indigènes, en raison de leur acclimatation ancienne à l'Italie : Cattaneo femelle, Cattaneo mâle, Florio, Filippine et Morettiana. Le deuxième groupe comprend cinq variétés japonaises, dénommées ainsi en raison de leur introduction plus récente du Japon en Italie : Ichinose, Kairyonezumigaeshi, Kokusô 20, Kokusô 21 et Kokusô rosso. Kokusô rosso est une variété développée à partir de Kokusô 20 quelques années après son introduction en Italie. Certains plants, chez lesquels l'extrémité de la pousse présente une couleur caractéristique rouge violet, sont apparus spontanément. Etant donné la qualité de ces feuilles, la variété a été reproduite et est couramment utilisée pour l'élevage des vers à soie. Le mot "rosso" signifie "rouge" en italien.

L'analyse réalisée étant limitée, pour diverses raisons, à une zone spécifique d'étude, nous tenons à souligner que le but de cette recherche était de mettre au point une méthode globale appropriée à la plupart des cas, plutôt que de réaliser une étude exhaustive sur ce sujet.

De plus, cette recherche a été divisée en trois parties afin de simplifier la présentation ; la première partie traite des traits morphologiques des cv, la deuxième concerne les caractéristiques anatomiques de la feuille et la troisième rassemble les informations obtenues précédemment dans un catalogue qui reprend les notes phytogéographiques et les données sur les structures de reproduction.

MATERIELS ET METHODES

Les dix cv de mûrier examinés dans l'étude qui suit sont cultivés à la plantation expérimentale de la "Station spécialisée en sériciculture" de Padoue. C'est dans cette plantation que nous avons réalisé toutes les observations sur le terrain et prélevé le matériel végétal nécessaire à cette recherche. Les études ont été faites sur des plants reproduits par multiplication agamique (bouturage) d'un même âge et cultivés dans des conditions climatiques identiques et suivant les mêmes opérations culturales.

Description des caractéristiques morphologiques des cv :

Les paramètres suivants ont été évalués : phyllotaxie (1), longueur des entre-nœuds (2), longueur et largeur de la feuille et surface des feuilles produites au printemps et à la fin de l'été à partir de branches coupées à la base pour la récolte de printemps (3) et la morphologie foliaire (4).

(1) Phyllotaxie : la position des feuilles sur la branche a été évaluée en calculant la fraction qui établit la divergence pour chaque cv (Tonzig et Marré, 1983).

(2) Longueur des entre-nœuds : la longueur des entre-nœuds de printemps a été déterminée sur la base d'au moins vingt pousses différentes par cv.

(3) Les paramètres foliaires : les mesures ont été relevées sur environ 40 feuilles de deux types différents : pousses de printemps (1ère quinzaine de juin), d'une part, et pousses de fin d'été d'autre part (taillées à la base des branches au printemps et repoussant en été) qui ont été examinées au début septembre. Les paramètres enregistrés sont : la longueur et la largeur de la feuille et la surface foliaire. Arrivées à maturité, les feuilles à examiner ont été récoltées à partir du troisième distal des pousses.

L'indice de surface foliaire (LAI) FAST CANOVAI (Baldini, 1986) a été mesuré à l'Institut des cultures agronomiques et herbacées de la Faculté d'Agriculture de l'Université de Padoue.

(4) Morphologie foliaire : elle a été définie à partir d'environ 50 feuilles de différents plants pour chaque cv.

Détermination du contenu en eau et du poids sec :

Trois échantillonnages différents ont été réalisés sur les feuilles de printemps et de fin d'été. Dans chaque échantillon, neuf feuilles par cv ont été choisies. Le poids des neuf feuilles a été mesuré tout de suite après la récolte ; le matériel a ensuite été placé au four à une température de 100 °C dans des boîtes d'aluminium jusqu'à stabilisation du poids sec.

Détermination du contenu en chlorophylle :

Trois échantillonnages ont été réalisés pour les feuilles de printemps et trois pour les feuilles de fin d'été. Dans chaque échantillon, quatre feuilles par cv ont été choisies. De petits fragments ont ensuite été prélevés sur les feuilles en évitant les entailles correspondant aux nervures centrales et latérales qui sont légèrement plus épaisses et protubérantes. Cent mg de feuilles sur le total de fragments prélevés, ont été pesés et placés dans 10 ml de N,N-diméthylformamide (Moran, 1982). L'extrait obtenu après trois jours à une température de 4 °C a été collecté et analysé au spectrophotomètre à double faisceau (modèle Perkin-Elmer 144).

La longueur d'onde enregistrée est de :

- 644 nm pour la chlorophylle *a* (Chl *a*),
- 645 nm pour la chlorophylle *b* (Chl *b*).

La méthode d'absorptivité a été utilisée afin d'évaluer le degré de pigmentation sur la base des équations proposées par Inskeep et Bloom (1985) :

$$\text{Chl } a (12.7 \times A_{664} - 2.79 \times A_{645}) \times V/W$$

$$\text{Chl } b (20.7 \times A_{645} - 4.62 \times A_{664}) \times V/W$$

où :

A 664 et A 645 correspondent aux valeurs d'absorbance en fonction des longueurs d'onde considérées.

V est le volume exprimé en millilitres de N,N-diméthylformamide,

W est le poids frais exprimé en grammes.

RESULTATS

Traits morphologiques des cv :

(1) Phyllotaxie : tous les cv de mûrier examinés présentent une phyllotaxie isolée ou alternée.

La fraction de divergence est la suivante :

3/7 Morettiana

1/2 Filippine

2/5 tous les autres cv.

(2) Mesures de la longueur internodale : les données sont présentées dans le tableau I.

(3) Paramètres foliaires : les données concernant la longueur, la largeur et la surface foliaire sont présentées dans le tableau II. La surface foliaire est nettement plus importante chez les feuilles de fin d'été qui donnent, en moyenne, des valeurs deux fois supérieures à celles enregistrées au printemps.

Si l'on divise les cv en deux groupes d'origine géographique différente, on obtient les résultats suivants :

| Surface moyenne des feuilles de printemps | Surface moyenne des feuilles de fin d'été : |
|---|---|
| - cv indigènes : 182,5 cm ² | - cv indigènes : 324,3 cm ² |
| - cv japonais : 115,5 cm ² | - cv japonais : 224,0 cm ² |

(4) La description des différents types foliaires est la suivante :

Groupe indigène :

(a) Cattaneo femelle : Feuille possédant un pétiole, lame cordiforme ou ovale avec une base subcordiforme ou arrondie ; dimensions importantes. Bordure irrégulièrement dentelée avec des dents mucronées ; pas d'extrémité foliaire acuminée. Les trois nervures principales font saillie sur la lame inférieure de la feuille. Aucune hétérophyllie n'a été observée (Fig. 1).

(b) Cattaneo mâle : Feuille possédant un pétiole, lame généralement triangulaire, très rarement cordiforme, sans extrémité acuminée. Base subcordiforme et bordure irrégulièrement dentelée avec des dents mucronées. Trois nervures épaisses font saillie sur la lame inférieure. Le limbe est intact mais on peut parfois observer des feuilles avec des entailles sur l'une ou les deux demi-lames (Fig. 1).

(c) Filippine : Feuille possédant un pétiole, lame ovale ou triangulaire, typiquement ondulée de telle façon qu'elle ne peut être posée sur une surface plane. La base est arrondie et les demi-lames sont plus ou moins asymétriques. La bordure est irrégulièrement dentelée sans dentelure marquée, tournée vers l'extrémité de la feuille, qui est acuminée. La lame inférieure présente trois nervures saillantes. En général, la feuille est intacte mais on peut parfois observer deux petites entailles sur l'une des deux demi-lames. Les feuilles sont assez grandes (Fig. 1).

(d) Florio : Feuille possédant un très long pétiole (environ 4 cm), lame triangulaire avec une base triangulaire ou subcordiforme, légèrement asymétrique (Fig. 2a, 2c). Bordure irrégulièrement dentelée sans dentelure acuminée et se terminant par un mucron. Extrémité acuminée et mucronée. La lame

supérieure est lisse et la lame inférieure présente trois nervures saillantes. En général, la feuille est intacte mais peut être coupée sur l'un ou les deux côtés des nervures principales (Fig. 2e, 2b). Ces entailles font que les feuilles sont bilobées asymétriquement ou trilobées. On a également observé des feuilles connées, issues d'un seul pétiole (Fig. 2d).

(e) Morettiana : Feuille possédant un pétiole, lame de forme très variable pouvant être cordiforme ou ovale chez le type intact ou légèrement coupée et palmée-lobée chez les spécimens comportant plusieurs entailles de profondeurs différentes. Les structures présentent également de nombreuses hétérophyllies dont certaines sont symétriques et d'autres asymétriques. La bordure est irrégulièrement dentelée avec des dents et l'extrémité foliaire mucronées. La base de la feuille est arrondie ou subcordiforme et légèrement asymétrique (Fig. 3a, 3b, 3d, 3e et 3f).

Groupe japonais :

(a) Ichinose : Feuille possédant un pétiole, lames variables, palmées-lobées dans la plupart des cas. Base subcordiforme, bordure plus ou moins régulièrement dentelée avec des dents mucronées et une extrémité acuminée, peu développée. La lame inférieure comporte trois nervures saillantes. La figure 4 (a, b, c et d) présente les différents types foliaires en fonction du nombre d'entailles.

(b) Kairyonezumigaeshi : Feuille possédant un pétiole et lame de grande taille légèrement palmée-lobée. Bordure dentelée avec une dentelure mucronée, extrémité acuminée peu développée ; base subcordiforme. La lame inférieure comporte trois nervures saillantes. La lame est rarement intacte ou peut présenter une petite entaille basale (Fig. 5d), elle est le plus souvent pentalobée (Fig. 5a) ou asymétriquement tétralobée (Fig. 5b, 5c) ou hexalobée (Fig. 5e) ou connée, pentalobée ou tripartite (Fig. 5f).

(c) Kokusô 20 : Feuille possédant un pétiole ; lame cordiforme-triangulaire plus ou moins asymétrique; bordure irrégulièrement dentelée avec une dentelure mucronée assez marquée. Extrémité foliaire allongée mais moins que chez le cv Kokusô 21. Base arrondie ou subcordiforme ; trois nervures saillantes. Lame intacte dans la plupart des cas (Fig. 6).

(d) Kokusô 21 : Feuille possédant un pétiole, lame entièrement cordiforme et triangulaire, bordure irrégulièrement dentelée avec une dentelure mucronée et marquée. La feuille a une extrémité très longue et acuminée appelée mucron. La lame inférieure présente trois nervures saillantes. La feuille est généralement intacte mais peut parfois comporter une ou deux entailles plus ou moins profondes sur l'une des demi-lames (feuille bipartite ou asymétriquement bilobée) ou, plus rarement, une entaille sur chaque demi-lame (feuille trilobée) (Fig. 6).

(e) Kokusô rosso : Feuille possédant un pétiole et lame triangulaire ou cordiforme. Base subcordiforme et bordure irrégulièrement dentelée avec une dentelure assez marquée, extrémité acuminée. La lame inférieure comporte trois nervures saillantes. Elle est généralement intacte, présentant parfois une petite entaille sur l'une ou les deux demi-lames (Fig. 6).

Détermination du contenu en eau et du poids sec :

Ces paramètres (voir le tableau III) présentent peu de variations entre les différents cv et entre les feuilles de printemps et de fin d'été. Le pourcentage d'hydratation est généralement élevé, environ 70 % du poids frais. Aucune relation entre la variabilité du contenu en eau et la surface foliaire n'a été observée.

Contenu en chlorophylle :

Les valeurs des contenus en chlorophylle des feuilles de printemps et de fin d'été chez les différents cv sont présentés dans le tableau IV. Le contenu total en chlorophylle a + b des feuilles de fin d'été est tout à fait similaire à celui des feuilles de printemps. Cependant, il est évident que le contenu en chlorophylle b est comparativement plus faible que le contenu en chlorophylle a chez les deux types de feuilles.

DISCUSSION

L'étude réalisée sur les traits différentiels des cv de *M. alba* et de *M. multicaulis* est très complexe, comme on l'avait prévu au début de cette étude. Des écarts ont été observés entre les informations obtenues ici et celles enregistrées dans le passé et décrites dans la littérature (Lombardi, 1964b). Un tel écart pourrait être dû à la confusion existant entre les différents cv. Par exemple, l'attribution du mucron le plus long aux feuilles du cv Kokusò 21 plutôt qu'à celles de Kokusò 20 contredit les observations de Lombardi (1964b). Dans la ceinture climatique de l'Italie du nord, où cette étude a été réalisée, les différences entre le groupe des variétés indigènes et celui des variétés japonaises semblent insignifiantes ; pour cette raison, on peut supposer que les variétés importées se sont parfaitement acclimatées à l'Italie.

En fait, tous les mûriers d'origine japonaise, en particulier Kokusò, étaient populaires en raison de la grande taille de leurs feuilles, leurs dimensions ont ensuite diminué 5 ou 6 ans après leur importation (en 1954) pour atteindre une taille comparable à celle des feuilles des plantes indigènes. Néanmoins, il convient de souligner que l'on dispose d'une expérience plus générale sur l'adaptation du mûrier aux différentes conditions climatiques (Lombardi, 1964a). En Italie du sud, par exemple, dans des conditions culturelles appropriées (fumure, irrigation), les feuilles des variétés japonaises sont revenues à leurs dimensions originales et les feuilles des variétés indigènes présentent également une meilleure croissance qu'en Italie du nord.

Pour conclure, on peut suggérer que la feuille de mûrier est pourvue d'une plasticité remarquable et que l'influence de l'environnement pourrait avoir un rôle plus important que la génétique pour ce qui concerne la dimension et l'apparence des feuilles. Il est, de ce fait, plus difficile de distinguer les variétés de mûrier dont les caractéristiques varient suivant la zone de culture.

Le type de morphologie foliaire de chaque cv ne change pas en fonction de la saison (printemps ou fin d'automne). On suppose que l'augmentation de la surface foliaire relevée à la fin de l'été est un phénomène physiologique dû à l'entaille faite à la base de la branche. Afin d'accumuler les nutriments nécessaires pour surmonter l'hiver, la plante est induite à photosynthétiser davantage et, ainsi, à produire davantage de surface foliaire. De plus, le nombre de feuilles par pousse est inférieure à celui obtenu au printemps en raison de l'absence de bourgeonnement latéral et les nutriments peuvent donc être distribués dans des réservoirs moins métaboliques qui disposent d'une plus grande quantité de substances nutritives pour leur croissance.

En conclusion, nous pouvons affirmer que cette étude donne des indications préliminaires qui seront utiles pour distinguer les différents cv, en particulier celles basées sur la morphologie foliaire.

Les traits considérés pour cette étude, à l'exception de la distance internodale, qui est de nature plus génétique, sont fortement influencés par les conditions climatiques et culturelles.

Néanmoins, les auteurs pensent qu'il est important de décrire ces caractéristiques au début d'un travail de classification pour les raisons suivantes :

(1) Historiquement, les traits externes ont toujours été pris en compte par les auteurs qui ont tenté de classer le mûrier.

(2) Il est important de mettre des normes à la disposition de ceux qui travaillent dans ce domaine (sériciculture et reproduction des plantes) afin de leur permettre de reconnaître les différentes variétés de mûrier. Ces normes doivent être facilement identifiables et, pour cette raison, doivent s'appliquer à des caractères externes.

THE MODIFICATION OF SEX-EXPRESSION IN MULBERRY, *MORUS ALBA* LINN.

B.K. DAS*, C. DAS, N.K. DAS & S.K. MUKHERJEE

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

Field trials with 3-time nitrogen application significantly increased female flower formation. The leaf nitrogen content increased proportionately with enhancement of nitrogen supply which has a positive correlation with female sex-expression and auxin content. But no correlation was observed with amino acid contents in the leaves except tryptophan, which was higher in the female catkin. Exogenous application of indole-3-acetic acid (IAA) and cycocel (CCC), a gibberellin antagonist, favoured femaleness of the plants, acting as a feminizing agent increasing the female:male ratio, whereas gibberellic acid (GA₃) reversed the process favouring maleness of the plants. Maleic hydrazide (MH), although acting as an antiauxin favoured femaleness of the plants.

Keywords: Mulberry, sex-expression, indole-3-acetic acid (IAA), gibberellic acid (GA₃), cycocel (CCC), maleic hydrazide (MH).

INTRODUCTION

Sex-expression in mulberry (*Morus* spp.) differs from other flowering plants since a large number of sex-forms are observed in this sericigenous plant, the leaves of which constitute the chief food of silkworms, *Bombyx mori* L. The plants bear male or female flowers in the same plant (monoecious habit) or separate plants (dioecious habit) or bisexuals which differ in the number of functional carpels or stamens, in stamen carpelloidy, in degree of gamopetally and in sexual functionality (Jolly *et al.*, 1986). Mukherjee (1965), while studying the breeding behaviour of some mulberry cultivars, explained the evolution of the dioecious nature by the suppression of either of the reproductive components from the original flowers.

The formation of several sex-types with changes in temperature, photoperiods, C/N ratios, nutrition (Jolly *et al.*, 1986; Minamizawa, 1963) indicates that the sex-expression may be related to the physiological activities of the plants in relation to its environment (Lange, 1961; Heslop-Harrison, 1957; Storey, 1958; Singh *et al.*, 1963).

The fact that 'rich' soils with a heavy nitrogen content, in general, favour the femaleness and 'poor' soils with a limited nitrogen supply produce male flowers in many agricultural crops has already been well established (Heslop-Harrison, 1957; Ghose and Sen, 1975).

Plant growth regulators (PGR), e.g., indole-3-acetic acid and gibberellic acid, act as determining factors in the sex-regulations of many agricultural crops has been well documented (Bisaria and Singh, 1974; De Sarkar and Dutta, 1989; Ghose and Sen, 1975; Peterson and Anhler, 1960). They have demonstrated that exogenous application of auxin or gibberellin antagonist may shift the tendency towards femaleness while gibberellin and antiauxin promote maleness of the plants. Several reports have been generated to study the effect of different chemicals on the sex-expression of mulberry (Das and Mukherjee, 1992; Kumar *et al.*, 1987; Ravindran *et al.*, 1987) but the effect of plant growth regulators on the sex-regulation in mulberry is scanty and still inadequate. Therefore, the present

* Corresponding author: Regional Sericultural Research Station, Kalimpong - 734301, Darjeeling, West Bengal, India.

investigation was undertaken to elucidate the suitable means for the modification of sex as well as to determine the physiological basis, if any, of the sex-expression of mulberry.

MATERIALS AND METHODS

Field trials were conducted in the experimental plots of the Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, where mulberry (*M. alba* var. Mandalaya) plants were grown. The climate of the area was warm, humid, and sub-tropical and the soil is alluvial loam.

Nitrogen nutrition:

Three nitrogen doses were used, i.e., 1N (300 kg N.ha⁻¹), 2N (600 kg N.ha⁻¹) and 3N (900 kg N.ha⁻¹). The nitrogen together with P (180 kg P.ha⁻¹) and K (112 kg K.ha⁻¹) were applied in 4 equal split doses with five replications. All the fruiting plants, both female and hermaphrodite types, were recorded as 'female' and pure male and teratological staminate types as 'males'.

Plant growth regulators:

Four plant growth regulators, i.e., indole-3-acetic acid (IAA) as auxin, maleic hydrazide (NH) as antiauxin, gibberellic acid (GA₃) as gibberellin and cycocel (CCC) as gibberellin antagonist, were used. Two concentrations of IAA (100 and 500 ppm), MH (100 and 500 ppm), GA₃ (50 and 100 ppm) and CCC (500 and 1000 ppm) were sprayed with Triton X-114 as a wetting agent on mulberry (*Morus alba* L. var. Mandalaya) three times at regular weekly intervals by hand atomizer one month prior to the onset of flowering. Control plants received only distilled water mixed with Triton X-114. Five replications with 10 plants in each (3 years old) were maintained.

Nitrogen estimation:

The total nitrogen content of the mature leaves collected from the flowering nodes from five male and five female individuals using the 7th to the 12th leaf from the apex were estimated using Microkjeldhal's method (Jackson, 1962) two months after the nitrogen application.

Detection of amino acids:

Leaves and catkins collected from male and female individuals were dried to a constant weight at 100 °C and powdered. Amino acids were extracted following the standard method (Plummer, 1971). The free and protein-bound amino acids (after acid hydrolysis in sealed glass tubes) from 5 g dried samples were separated by two dimensional paper chromatography on Whatman no. 1 filter paper using butanol:acetic acid:water (12:3:5, v/v) as first solvent and water-saturated phenol-ammonia (0.5%) as second solvent. Spots were visualized with ninhydrin (0.5% w/v in acetone) and identified by comparing the R_f values of authentic amino acids run under identical conditions and estimated accordingly.

Detection and estimation of IAA:

For IAA estimation, 500 g of freshly chopped leaves were transferred to 500 ml Erlenmayer flasks containing 100 ml of phosphate buffer (pH 6.8) with 0.005 M DL-tryptophan as IAA precursor and 5.0 g sucrose. The flasks were incubated in the dark at 26 °C ± 2 for 24 h and the slurry were filtered through Whatman no. 42 filter paper and 50 ml of the filtrate was adjusted to pH 3.0 with 2N HCl and IAA was extracted with peroxide-free ether. The IAA present in the extract was spotted on Whatman paper chromatogram and developed in phenol-saturated water as first and butanol:acetic acid:water (4:1:1) as second solvent. The IAA in the extract was identified by chromatography with authentic IAA and matching the colour reaction with Ehrlich and Salkowski reagent (Bentley, 1950).

Bioassay of IAA:

For quantitative estimation of IAA, the method of Bentley (1950) was followed using wheat coleoptile (*T. aestivum* var. Sonalika) as test material.

Analysis of the data:

The data were analyzed statistically and intercorrelations were computed as per the standard procedure using a PCL computer.

RESULTS

It appeared from Table I that application of nitrogenous fertilizers to the plants modified the sex-ratios. At the 3N stage of nitrogen nutrition, significantly more female flowers were produced than at any other treatment. The number of female flowers increased proportionately with the increase in the nitrogen nutrition. The teratological staminate flowers were affected by the 1N and 2N treatments. However, no significant sex-reversion was observed in the case of the pure male types under low doses, which indicates that sex-reversion is not uniform in the plants, only at high doses the sex-reversion occurred.

Table I. Effect of nitrogen nutrition on the sex-expression, nitrogen and auxin contents of mulberry (table of means).

Tableau I. Effet de la nutrition azotée sur l'expression du sexe et les contenus en azote et en auxine du mûrier (tableau des moyennes).

| Treatments | Male inflorescence | Female inflorescence | Female: male ratio | Nitrogen content (%) | Auxin content* |
|------------------|----------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|--------------------|
| Traitements | Inflorescences mâles | Inflorescences femelles | Ratio femelle: mâle | Contenu en azote (%) | Contenu en auxine* |
| Control / Témoin | 135.857 | 135.286 | 0.997 | 5.390 | 3.047 |
| 1N | 129.143 | 149.571 | 1.160 | 7.524 | 3.853 |
| 2N | 106.857 | 154.429 | 1.495 | 8.663 | 4.536 |
| 3N | 100.000 | 167.286 | 1.676 | 10.996 | 5.899 |
| CD at 5% | 11.31 | 6.04 | 0.21 | 0.62 | 0.41 |

* µg equivalent per gram of fresh tissue / équivalent à µg par gramme de tissu frais.

The nitrogen content in the leaves increased proportionately with nitrogen nutrition. The treated plants had more nitrogen (Table I). The auxin content in the plants considerably increased and the response was maximal when the plants were grown under 3N treatments. The intercorrelation studies revealed that the level of nitrogen was negatively correlated with male inflorescence and positively correlated with female inflorescence, female:male ratio, nitrogen and auxin contents in the leaves. It indicates that with increment of soil nitrogen level, male flower formation got reduced and female flower, nitrogen and auxin contents in the plants increased significantly (Table II).

Table II. Intercorrelation studies.

Tableau II. Etude des corrélations.

| Characters | Male inflorescence | Female inflorescence | Female: male ratio | Nitrogen content* |
|---|----------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|
| Caractères | Inflorescences mâles | Inflorescences femelles | Ratio femelle: mâle | Contenu en azote (%) |
| Female inflorescence / <i>Inflorescences femelles</i> | -0.76116** | | | |
| Female:male ratio / <i>Ratio femelle:mâle</i> | -0.97145** | 0.84676** | | |
| Nitrogen content / <i>Contenu en azote</i> | -0.77023** | 0.89016** | 0.78394** | |
| Auxin content / <i>Contenu en auxine</i> | -0.74743** | 0.80376** | 0.75338** | 0.89484** |

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

Amino acid content:

However, no significant differences were observed with respect to the amino acid content in the male and female plants. Altogether, seventeen amino acids, i.e., glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, serine, threonine, aspartic acid, glutamic acid, phenylalanine, tyrosine, lysine, histidine, arginine, proline, tryptophan and cystine, were detected in the leaves and catkin inflorescence of both sexes of the plants. Only some essential amino acids, i.e., lysine, leucine and isoleucine, were found to be on the higher side in the male plants while the tryptophan content was higher in the female inflorescence (Table III).

Effect of plant growth regulators on sex-reversion:

Results emerged from Table IV clearly showed that homogeneous distribution of the male and female flowers was observed in the control plants. GA₃ at both concentrations promoted maleness of the plants, although at a higher concentration the effect was comparatively less pronounced. CCC, however, exerted the opposite effect where promotion of the femaleness was observed. But, when supplied at higher concentrations, the effect was not so remarkable. IAA, a natural auxin, at both concentrations increased the formation of female flowers. Maleic hydrazide (MH), although an auxin antagonist, increased the femaleness of the plants at a comparatively low concentration. GA₃ was found to be very much effective even at low concentrations. However, in most of the cases, the nitrogen content was increased by plant growth regulators (Table IV). Intercorrelation studies revealed that the female:male ratio was positively correlated with the nitrogen content of the leaves of the plants (Table V).

DISCUSSION

While our experiments clearly indicate that, like in other flowering plants, e.g., *Carica papaya* (Ghose and Sen, 1975), *Cucumis sativa* (Thiedjens, 1928) and *Cannabis sativa* (Mohan Ram and Jaiswal, 1970), there existed a direct influence of high doses of nitrogen nutrition on the sex-expression in mulberry. The number of pistillate flowers increased with the availability of more nitrogen fertilizer in the soil. Our observations are, in a broad sense, akin to those reported by Minima (1938) who noted an elevation of female sex-expression in *Zea mays* under periodic nitrogen nutrition when nitrogen

became more available to plants. The progressive increase in the nitrogen content in the leaves and auxin content in the close vicinity of the reproductive organs under higher nitrogen nutrition showed a direct correlation with the femaleness of the plants. The soil nutritional factors may regulate the IAA concentration in the bud tips, which seems to be proportional to the available nitrogen in the soil. Depressed IAA (auxin) levels are the earliest symptoms of nitrogen deficiency, resulting in the formation of male reproductive organ. It appeared that high auxin in the leaves are probably present in the luxuriantly vegetative plants with abundant supply. The apparent promotive effect on the formation of female reproductive organs, as compared to the control, under heavy nitrogen nutrition may be linked with high auxin levels.

Table III. Amino acid contents ($\mu\text{g}\cdot\text{gm}^{-1}$ fresh tissue) in the catkin inflorescence and leaves of male and female plants of mulberry (*Morus alba* L.).

*Tableau III. Contenu en acides aminés ($\mu\text{g/g}$ de tissu frais) dans les inflorescences de chatons et dans les feuilles des plantes mâles et femelles du mûrier (*Morus alba* L.).*

| Amino acids | Male plant | | Female plant | |
|----------------------------------|-------------|---------|----------------|---------|
| | Catkin | Leaf | Catkin | Leaf |
| Acides aminés | Plante mâle | | Plante femelle | |
| | Chaton | Feuille | Chaton | Feuille |
| Glycine | 1000 | 900 | 1050 | 950 |
| Alanine | 1700 | 1670 | 1750 | 1550 |
| Valine | 2000 | 1900 | 2050 | 1950 |
| Leucine + Isoleucine | 4750 | 4560 | 4200 | 4250 |
| Serine / Sérine | 1000 | 950 | 1000 | 950 |
| Threonine / Thréonine | 850 | 800 | 820 | 850 |
| Aspartic acid / Acide aspartique | 2500 | 2400 | 2550 | 2450 |
| Glutamic acid / Acide glutamique | 1500 | 1550 | 1500 | 1550 |
| Phenylalanine / Phénylalanine | 4000 | 3900 | 4150 | 3850 |
| Tyrosine | 300 | 350 | 320 | 330 |
| Lysine | 1800 | 1750 | 1500 | 1550 |
| Histidine | 1750 | 1650 | 1700 | 1650 |
| Arginine | 1250 | 1200 | 1200 | 1150 |
| Proline | 300 | 300 | 320 | 300 |
| Tryptophan / Tryptophane | 2700 | 2650 | 3200 | 2900 |
| Cysteine / Cystéine | 350 | 350 | 350 | 320 |

Exogenous application of auxin and cycocel further enhanced the mobilization of nitrogenous compounds to the apical meristem, which favours the accumulation of tryptophan, the precursor of auxin. The greater the availability of auxin, the more the formation of female sex-organs in the plants.

The results obtained with the plant growth regulators (PGR) clearly suggest that exogenous application of IAA at both 100 and 500 ppm promotes the female sex-expression through the increment of the endogenous auxin content in the plants, this is in good agreement with the earlier

finding in *Morus alba* L. (Das and Mukherjee, 1986), *Carica papaya* L. (Ghose and Sen, 1975), *Cucumis sativa* (Galun *et al.*, 1965) and *Cannabis sativa* (Heslop-Harrison, 1956).

Table IV. Effect of plant growth regulators on the sex-expression and nitrogen content of mulberry.

Tableau IV. Effet des régulateurs de croissance sur l'expression des sexes et sur le contenu en azote chez le mûrier.

| Treatments | Concentration (ppm) | Male inflorescence | Female inflorescence | Female: male ratio | Nitrogen content (%) |
|------------------|---------------------|----------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|
| Traitements | Concentration (ppm) | Inflorescences mâles | Inflorescences femelles | Ratio femelle: mâle | Contenu en azote (%) |
| Control / Témoin | - | 135.857 | 135.286 | 0.997 | 5.390 |
| GA ₃ | 50 | 158.000 | 109.857 | 0.695 | 5.189 |
| GA ₃ | 100 | 169.714 | 109.429 | 0.652 | 6.070 |
| CCC | 500 | 117.286 | 151.000 | 1.296 | 6.194 |
| CCC | 1000 | 128.000 | 149.857 | 1.171 | 5.799 |
| IAA | 100 | 132.143 | 155.000 | 1.171 | 6.644 |
| IAA | 500 | 129.571 | 158.714 | 1.226 | 6.566 |
| MH | 100 | 128.286 | 145.143 | 1.132 | 5.619 |
| MH | 500 | 149.429 | 161.429 | 1.083 | 6.301 |
| CD at 5% | - | 9.96 | 9.34 | 0.07 | 0.49 |

Table V. Intercorrelation studies.

Tableau V. Etude des corrélations.

| Characters | Male inflorescence | Female inflorescence | Female: male ratio |
|---|----------------------|-------------------------|---------------------|
| Caractères | Inflorescences mâles | Inflorescences femelles | Ratio femelle: mâle |
| Female inflorescence / <i>Inflorescences femelles</i> | -0.52245** | | |
| Female:male ratio / <i>Ratio femelle:mâle</i> | -0.86354** | 0.86732** | |
| Nitrogen content / <i>Contenu en azote</i> | -0.14365 | 0.43328** | 0.35175** |

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

Maleic hydrazide (MH), a well-known antiauxin which reverses the auxin-dependent physiological activities, promotes the femaleness of the plants, which contradicts the findings of Ghose and Sen (1975) where they have demonstrated a striking increase in the male flowers of the plants.

Gibberellin, on the other hand, favours the formation of male flowers, whereas an opposite effect exerted by CCC on GA₃-dependent maleness has been recorded. This is in accordance with the observations of early workers (Heslop-Harrison, 1957; Hemphil *et al.*, 1972; Hashizume, 1969) that CCC reduces the number of male sex organs due to its antagonistic effect on GA₃-induced maleness in plants.

Thus, it may be concluded that sex-expression is controlled by the optimum balance between endogenous auxin and gibberellin. Auxin promotes carpellate growth, whereas maximum staminate growth was favoured by gibberellin in a characteristic manner. The effect of the gibberellin-antagonist (CCC) may not be direct or it may be mediated through its effect on gibberellin formation which ultimately acts as a strong feminizing agent. Increase in auxin or decrease in the activities of gibberellin by CCC might also be responsible for the formation of female flowers. Auxin-gibberellin balance may thus play a decisive role in controlling sex-expression in mulberry plants. Predominance of either auxin or gibberellin in the vicinity of developing buds at the meristematic zone ultimately governs either the maleness or the femaleness of the plants.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their deep sense of gratitude to Prof. S.P. Sen, FNA, Department of Botany, Kalyani University, for kindly providing laboratory facilities. They are grateful to Dr K. Sengupta, former Director, CSR & TI, Berhampore, for giving valuable suggestions during the investigations.

REFERENCES

- BENTLEY J.A. (1950) An examination of the method of auxin assay using the growth of isolated section of *Avena coleoptile* in test solutions. *J. Exp. Bot.*, 201-203.
- BISARIA A.K., SINGH T. (1974) Influence of interactions of day lengths and growth regulators on sex-expression in *Luffa acutangula* Roxb. *Bangladesh J. Bot.*, 3, 37-44.
- DAS B.K., MUKHERJEE S.K. (1986) Promotion of femaleness in *Morus alba* (L.) by multiple application of plant growth regulators. *Geobios*, 13, 272-273.
- DAS B.K., MUKHERJEE S.K. (1992) The modification of sex-expression in mulberry by cucurbitacin B, a potent anti-gibberellin. *Indian J. Seric.*, 32, 173-175.
- DESARKAR D., DUTTA K.B. (1989) Endogenous auxin gibberellin level in *Trichoxanthes anguina* L. and two sex forms of *T. dioca* Roxb. *In Pers. Cytology and Genetics*. Edited by G.K. Manna and U. Sinha, 6, 143-146.
- GALUN E., IZHAR S., ASTMON D. (1965) Determination of relative auxin content in hermaphrodite and andromonoecious *Cucumis sativas*. *Plant Physiol.*, 40, 321-326.
- GHOSE S.P., SEN S.P. (1975) The modification of sex-expression in papaya (*Carica papaya* L.). *J. Hort. Sci.*, 50, 91-96.
- HASHIZUME H. (1969) Auxins and gibberellin-like substances existing in the shoots of conifers and their roles in flower bud formations and flower sex-differentiation. *Bull. Tottori Univ. For.*, 4, 1-46.
- HEMPHIL D.D. (Jr), BAKER L.R., SELL H.M. (1972) Different sex-phenotypes of *Cucumis sativa* L. and *Cucumis melo* L. and their endogenous gibberellin activity. *Euphytica*, 21, 285-289.
- HESLOP-HARRISON J. (1956) Auxin and sexuality in *Cannabis sativa*. *Physiol. Plant*, 9, 588-597.
- HESLOP-HARRISON J. (1957) The experimental modification of sex-expression in flowering plants. *Biol. Rev.*, 32, 38-90.
- JACKSON M.L. (1962) *Soil Chemical Analysis*. Prentice Hall Inc., New York, p. 183.
- JOLLY M.S., DANDIN S.B., RAVINDRAN S., KUMAR R. (1986) Sexual polymorphism in the genus, *Morus* L. *Proc. Indian Acad. Sci. (Plant Sci.)*, 96, 315-320.
- KUMAR R., DANDIN S.B., RAVINDRAN S. (1987) Modification of sex-expression in mulberry (*Morus alba* L.) by silver nitrate. *Indian J. Expt. Biol.*, 23, 288-289.

- LANGE A.H. (1961) Factors affecting sex change in the flowers of *Carica papaya* L. Proc. Am. Soc. Host. Sci., 77, 252-264.
- MINIMA F.G. (1938) On the phenotypical modifications of sexual characters in higher plants under the influence of the conditions of nutritions and other external factors. C.R. Acad. Sci. URSS (Doklady), 21, 298.
- MINAMIZAWA K. (1963) Experimental studies on the sex differentiation in mulberry. Bull. Fac. Agric., Tokyo Noko Digaku, 7, 4-47.
- MOHAN RAM H. Y., JAISWAL V.S. (1970) Induction of female flowers on male plants of *Cannabis sativa* L. by 2-chloroethane phosphoric acid. Experientia, 26, 214-215.
- MUKHERJEE S.K. (1965) On some morphological evidences in floral structures towards the development of unisexuality. Indian J. Seric., 4, 1-7.
- PETERSON C.E., ANHLER L.D. (1960) Induction of staminate flowers on gynocious cucumbers with gibberellin A₃. Science, 131, 1673-1674.
- PLUMMER D.T. (1971) An Introduction to Practical Biochemistry. Tata McGraw Hill Publishing Company Ltd., Bombay and New Delhi.
- RAVINDRAN S., DANDIN S.B., KUMAR R., JOLLY M.S. (1987) Modification of sex-expression in mulberry (*Morus alba* and *Morus indica*) by silver thiosulphate. Cur. Sci., 56, 105.
- SINGH R.N., MAJUMDER P.K., SHARMA D.K. (1963) Seasonal variation in the sex-expression of papaya (*Carica papaya* L.). Indian J. Agric. Sci., 83, 261-267.
- STOREY W.B. (1958) Modifications of sex-expression in papaya. Hort. Adv., 2, 49-60.
- THIEDJENS V.A. (1928) Sex ratios in cucumber flowers as affected by different conditions of soil and light. J. Agric. Res., 36, 721.

MODIFICATION DE L'EXPRESSION DES SEXES CHEZ LE MURIER *MORUS ALBA* LINN.

B.K. DAS*, C. DAS, N.K. DAS & S.K. MUKHERJEE

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

Des tests sur le terrain ont démontré qu'une triple application d'azote permet d'augmenter de manière significative la formation de fleurs femelles. Le contenu en azote de la feuille augmente proportionnellement à l'accroissement de l'apport en azote, qui est positivement corrélé avec l'expression du sexe femelle et du contenu en auxine. Cependant, aucune corrélation n'a été observée avec le contenu en acides aminés dans les feuilles, à l'exception du tryptophane qui est présent en plus grandes quantités dans le chaton femelle. L'application exogène d'acide indol-3-acétique (AIA) et de cycocelle (CCC), un antagoniste de la gibberelline, favorise le caractère femelle des plantes et sert d'agent de féminisation en augmentant le ratio femelles:mâles, tandis que l'acide gibberellique (GA₃) inverse ce processus et favorise le caractère mâle des plantes. L'hydrazide maléique (MH), bien qu'agent anti-auxine, favorise le caractère femelle des plantes.

INTRODUCTION

L'expression du sexe chez le mûrier (*Morus* spp.) diffère de celle des autres plantes florifères car on peut observer un grand nombre de formes sexuelles chez cette plante séricigène, dont les feuilles constituent la nourriture principale du ver à soie *Bombyx mori* L. Les arbres donnent des fleurs mâles et femelles sur un même individu (comportement monoïque) ou sur des individus séparés (comportement dioïque) ou des fleurs bisexuées qui diffèrent quant à leur nombre de carpelles fonctionnels ou d'étamines, quant au degré de gamopétalie ou quant aux fonctions sexuelles (Jolly et coll., 1986). Mukherjee (1965) a expliqué, dans le cadre d'une étude sur le mécanisme de sélection de certains cultivars de mûrier, l'évolution de la nature dioïque par la suppression de l'un des composants de la reproduction chez les fleurs initialement bisexuées.

La formation de différents types sexuels suivant la température, la photopériode, les rapports C/N, la nutrition (Jolly et coll., 1986 ; Minamizawa, 1963) indique que l'expression du sexe peut être liée à des activités physiologiques des plantes en fonction de l'environnement (Lange, 1961 ; Heslop-Harrison, 1957 ; Storey, 1958 ; Singh et coll., 1963).

Les sols dits riches, dont le contenu en azote est élevé, favorisent en général le caractère femelle et les sols dits pauvres, dont le contenu en azote est limité, produisent des fleurs mâles chez de nombreuses cultures (Heslop-Harrison, 1957 ; Ghose et Sen, 1975).

Les régulateurs de croissance des plantes, par exemple l'acide indol-3-acétique et l'acide gibberellique, sont des facteurs déterminants dans la régulation de l'expression des sexes chez de nombreuses cultures (Bisaria et Singh, 1974 ; De Sarkar et Dutta, 1989 ; Ghose et Sen, 1975 ; Peterson et Anhler, 1960). Il a été démontré que l'application exogène d'auxine ou d'antagoniste de la gibberelline pouvait déplacer la tendance vers le caractère femelle, tandis que la gibberelline et l'anti-auxine favorisait le caractère mâle chez les plantes. Plusieurs travaux ont été faits pour étudier l'effet de différentes substances chimiques sur l'expression du sexe chez le mûrier (Das et Mukherjee,

* Auteur auquel doit être adressée la correspondance : Regional Sericultural Research Station, Kalimpong - 734301, Darjeeling, West Bengal, Inde.

1992 ; Kumar et coll., 1987 ; Ravindran et coll., 1987) mais l'effet des régulateurs de croissance des plantes sur la régulation des sexes est peu documenté et mal connu. Cette étude a donc été entreprise afin d'élucider les méthodes appropriées de modification du sexe et de déterminer la base physiologique éventuelle de l'expression du sexe chez le mûrier.

MATERIELS ET METHODES

Des essais sur le terrain ont été réalisés dans les parcelles expérimentales du *Central Sericultural Research and Training Institute* de Berhampore plantées de mûriers (*M. alba* var. Mandalaya). Le climat de cette zone est chaud, humide et de type subtropical, le sol est composée de terre alluviale.

Nutrition en azote :

Trois doses d'azote ont été utilisées : 1 N (300 kg N/ha), 2 N (600 kg N/ha) et 3 N (900 kg N/ha). L'azote, le phosphore (P) (180 kg P/ha) et le potassium (K) (112 kg K/ha) ont été appliqués en 4 doses égales sur 5 réplicats. Tous les plants fruitiers, les femelles et les hermaphrodites, ont été considérés comme "femelles" et les mâles purs et les plants de type staminé tétralogique comme "mâles".

Régulateurs de croissance des plantes :

Quatre régulateurs de croissance ont été utilisés : l'acide indol-3-acétique (AIA) comme auxine, l'hydrazide maléique (MH) comme anti-auxine, l'acide gibberellique (GA₃) comme gibberelline et le cycocelle (CCC) comme antagoniste de la gibberelline. Deux concentrations d'AIA (100 et 500 ppm) de MH (100 et 500 ppm), de GA₃ (50 et 100 ppm) et de CCC (500 et 1000 ppm) ont été vaporisées avec du Triton X-114 comme agent humidificateur sur les plants de mûrier (*Morus alba* L.) trois fois à intervalles hebdomadaires à l'aide d'un atomiseur un mois avant la floraison. Les plants témoins ont reçu de l'eau distillée mélangée au Triton X-114. Cinq réplicats de 10 plants chacun (âgés de 3 ans) ont été maintenus.

Estimation de l'azote :

Le contenu en azote total des feuilles matures prélevées sur les noeuds en fleurs de cinq individus mâles et de cinq individus femelles a été estimé chez les feuilles situées entre la 7^e et la 12^e position à partir du sommet d'après la méthode de Mikrokjeldahl (Jackson, 1962) deux mois après l'application de l'azote.

Détection des acides aminés :

Des feuilles et des chatons prélevés sur les individus mâles et femelles ont été séchés à un poids constant à 100 °C et pulvérisés. Les acides aminés ont été extraits suivant la méthode standard (Plummer, 1971). Les acides aminés libres et protéiques (après hydrolyse dans l'acide dans des éprouvettes scellées) d'échantillons séchés de 5 g ont été séparés par chromatographie sur papier bi-dimensionnelle sur un filtre Whatman n° 1 en utilisant du butanol:acide acétique:eau (12:3:5 v/v) comme premier solvant et du phénol-ammoniaque (0,5 %) comme deuxième solvant. Les taches ont été visualisées avec de la ninhydrine (0,5 % p/v dans l'acétone) et identifiées en comparant les valeurs R_f des acides aminés témoins chromatographiés dans les mêmes conditions ; on a ensuite procédé aux évaluations.

Détection et estimation de l'AIA :

Pour la détection de l'AIA, 500 g de feuilles fraîchement coupées ont été transférés dans des flacons d'Erlenmayer de 500 ml contenant 100 ml de tampon phosphate (pH 6,8) avec 0,005 M DL-tryptophane comme précurseur d'AIA et 5,0 g de saccharose. Les flacons ont été incubés dans l'obscurité à 26 °C ± 2 pendant 24 heures et la bouillie a été filtrée sur un filtre Whatman n° 42, 50 ml du filtrat ont été ajustés à pH 3,0 avec 2 N HCl et l'AIA a été extrait avec de l'éther sans peroxyde. Les extraits contenant l'AIA ont été déposés en taches sur un chromatogramme, développés dans de l'eau saturée de phénol comme premier solvant et dans du butanol:acide acétique:eau (4:1:1) comme deuxième solvant. L'AIA contenu dans l'extrait a été identifié par comparaison avec de l'AIA authentique et en comparant les réactions de coloration avec le réactif d'Ehrlich et Salkowski.

Dosage de l'AIA :

Pour l'estimation quantitative de l'AIA, on a suivi la méthode de Bentley (1950) en utilisant le coléoptile du blé (*T. aestivum* var. Sonalika) comme matériel expérimental.

Analyse des données :

Les données ont été analysées statistiquement et les corrélations ont été calculées suivant le protocole standard sur un ordinateur PCL.

RESULTATS

A la lecture du tableau I, il apparaît que l'application d'engrais azotés sur les plantes modifie le *sex ratio*. Au stade de nutrition azotée 3 N, on observe un nombre nettement plus élevé de fleurs femelles que chez tous les autres traitements. Le nombre de fleurs femelles augmente proportionnellement à la nutrition azotée. Les traitements avec 1 N et 2 N affectent les fleurs staminées tératologiques. Cependant, les traitements à faibles doses n'entraînent aucune inversion des sexes significative chez les mâles purs, ce qui indique que l'inversion des sexes n'est pas uniforme chez les plantes car celle-ci se produit seulement après traitement avec de fortes doses.

Le contenu en azote des feuilles augmente proportionnellement avec la nutrition azotée. Les plants traités contiennent davantage d'azote (Tableau I). Le contenu en auxine dans les plantes augmente fortement, la réaction étant maximale chez les plants traités avec une concentration de 3 N. Les études de corrélation montrent que la teneur en azote est corrélée négativement avec l'inflorescence mâle et positivement avec l'inflorescence femelle, le ratio femelles:mâles et les contenus en azote et en auxine dans les feuilles. Ceci indique que l'augmentation de la teneur en azote du sol entraîne une diminution de la formation de fleurs mâles et une augmentation significative du nombre de fleurs femelles et des contenus en azote et en auxine dans les plantes (Tableau II).

Contenu en acides aminés :

Aucune différence significative n'a été observée pour ce qui concerne le contenu en acides aminés entre les plants mâles et les plants femelles. Au total, dix-sept acides aminés – glycine, alanine, valine, leucine, isoleucine, sérine, thréonine, acide aspartique, acide glutamique, phénylalanine, tyrosine, lysine, histidine, arginine, proline, tryptophane et cystine – ont été détectés dans les feuilles et dans les inflorescences des chatons chez les deux sexes. Seuls les contenus de certains acides aminés essentiels (lysine, leucine et isoleucine) sont plus élevés chez les plants mâles, tandis que le tryptophane est plus élevé chez l'inflorescence femelle (Tableau III).

Effet des régulateurs de croissance sur l'inversion des sexes :

Les résultats présentés dans le tableau IV montrent clairement que les plants témoins présentent une répartition homogène des fleurs mâles et femelles. Le GA₃ aux deux concentrations choisies favorise le caractère mâle chez la plante bien que l'effet soit moins prononcé à la concentration supérieure. Le CCC exerce l'effet inverse et favorise le caractère femelle chez la plante mais l'effet est moins marqué lorsqu'il est appliqué à la concentration supérieure. L'AIA, une auxine naturelle, augmente la formation de fleurs femelles aux deux concentrations. Le MH favorise le caractère femelle chez les plantes à des concentrations comparativement faibles bien que ce soit un antagoniste de l'auxine. Le GA₃ est très efficace, même à faible concentration. Cependant, dans la plupart des cas, les régulateurs de croissance provoquent une augmentation du contenu en azote (Tableau IV). Les études de corrélation révèlent que le ratio femelles:mâles est positivement corrélé avec le contenu en azote des feuilles (Tableau V).

DISCUSSION

Nos expériences indiquent clairement que, comme chez toutes les autres plantes florifères, par exemple *Carica papaya* (Ghose et Sen, 1975), *Cucumis sativa* (Thiedjens, 1928) et *Cannabis sativa* (Mohan et Jaiswal, 1970), il y a, chez le mûrier, une influence directe de la concentration en azote sur

l'expression du sexe. Le nombre de fleurs pistillées augmente proportionnellement à la quantité d'engrais azoté dans le sol. Nos observations sont, au sens large, comparables à celles de Minima (1938) qui a constaté un accroissement de l'expression du sexe femelle chez *Zea mays* traité périodiquement avec des engrais azotés lorsque l'azote devient plus facilement accessible pour la plante. L'augmentation progressive du contenu en azote dans les feuilles et du contenu en auxine à proximité des organes de reproduction après traitement avec de fortes doses d'azote présente une corrélation directe avec le caractère femelle des plants. Les facteurs nutritifs du sol pourraient réguler la concentration en AIA dans les bourgeons, qui semble proportionnelle avec la quantité d'azote dans le sol. La diminution du contenu en AIA (auxine) constitue le premier symptôme de la déficience en azote et entraîne la formation d'organes de reproduction mâles. Il apparaît que des taux élevés d'auxine dans les feuilles sont présents chez les plantes à végétation luxuriante et bénéficiant d'apports importants en azote. L'effet en apparence favorable sur la formation d'organes de reproduction femelles par rapport au témoin lors d'une nutrition élevée en azote semble être lié à un taux élevé en auxine.

L'application exogène d'auxine et de cycocelle améliore également la mobilisation des composés azotés sur le méristème apical, ce qui favorise l'accumulation de tryptophane, précurseur de l'auxine. Le taux de formation d'organes sexuels femelles est proportionnel à la quantité d'auxine disponible.

Les résultats obtenus avec les régulateurs de croissance suggèrent fortement que l'application exogène d'AIA à 100 et 500 ppm favorise l'expression du sexe femelle en augmentant le contenu en auxine endogène dans les plantes ; ceci est conforme aux résultats antérieurs obtenus avec *Morus alba* L. (Das et Mukherjee, 1986), *Carica papaya* L. (Ghose et Sen, 1975), *Cucumis sativa* (Galun et coll., 1965) et *Cannabis sativa* (Heslop-Harrison, 1956).

L'hydrazide maléique (MH), un anti-auxine bien connu qui inverse les activités physiologiques liées à l'auxine, favorise le caractère femelle de la plante ; ceci contredit les résultats de Ghose et Sen (1975) qui ont démontré une augmentation frappante du nombre de fleurs mâles chez les plantes.

En revanche, la gibberelline favorise la formation de fleurs mâles alors que le CCC exerce un effet inverse sur le caractère mâle dépendant du GA₃. Ceci est conforme aux résultats d'autres chercheurs (Heslop-Harrison, 1957 ; Hemphil et coll., 1972 ; Hashizume, 1969) qui ont observé que le CCC entraînait une diminution du nombre d'organes sexuels mâles en raison de son effet antagoniste sur le caractère mâle induit par GA₃ chez les plantes.

On peut donc conclure que l'expression du sexe est gouvernée par un équilibre optimal entre l'auxine endogène et la gibberelline. L'auxine favorise la croissance des carpelles tandis que la gibberelline favorise de manière marquée celle des étamines. L'effet de l'antagoniste de la gibberelline (CCC) peut ne pas être direct ou peut être exercé par son effet sur la formation de gibberelline qui a une action féminisante élevée. L'augmentation du taux d'auxine ou la diminution des activités de la gibberelline par le CCC peuvent également être responsables de la formation de fleurs femelles. Il se peut donc que l'équilibre auxine-gibberelline joue un rôle décisif dans la régulation de l'expression du sexe chez le mûrier. La dominance soit de l'auxine, soit de la gibberelline à proximité des bourgeons en développement au niveau de la zone méristématique gouverne donc soit le caractère mâle, soit le caractère femelle de la plante.

RELATIONSHIP BETWEEN STOMATAL CHLOROPLAST NUMBER AND PLOIDY LEVELS IN MULBERRY (*MORUS* SPP.)

YANG J.-H. & YANG X.-H.

Sericultural Research Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, 198 Shiqiao Road, Hangzhou, Zhejiang 310012, China.

Chloroplast counts were made from the stomatal guard cells in different ploidy levels of mulberry. The chloroplast number increased with the increase in ploidy level. The mean chloroplast number was 9.7 ± 2.1 , 12.7 ± 1.8 and 16.9 ± 2.3 in the diploid, triploid and tetraploid, respectively. There existed a significant positive correlation between stomatal chloroplast number and ploidy level. Meanwhile, the stomatal size increased and stomatal number per mm^2 of leaf decreased with the increase in ploidy level. This could be taken as an auxiliary technique for identification of mulberry ploid.

Keywords: Mulberry, *Morus* L., ploidy, stomatal chloroplast.

INTRODUCTION

It is necessary to determine ploidy levels for studying cytology and polyploid breeding of *Morus* plants. The accurate method for the purpose is directly to test the number of chromosomes, the technique of which, however, is relatively complicated. It would be much better if any simpler technique could be adopted.

As early as 1930, the Japanese scientists Hamada and Bada investigated the number of stomatal chloroplasts in several cultivars of mulberry and were the first to point out that the guard cells of cultivars with a higher chromosome number tended to contain more plastids. Since then, a number of researchers have found the phenomenon existing in such plant species as cotton, sugarbeet, clover, potato, etc. In mulberry, some Indian scientists have found out a technique that can be used as a tool to ascertain ploidy levels and used this technique to screen tetraploids after colchicine treatment.

In recent years, the authors carried out experiments using the stomatal chloroplast-count technique to determine the stomatal size as well as stomatal number per mm^2 of leaf for different ploidy levels of mulberry varieties. The results proved that mulberry plants could be identified much easily and quickly during the growing stage as diploid, triploid or tetraploid by means of chloroplast counts.

MATERIALS AND METHODS

The materials used in the present investigation covered three ploidy levels, i.e., diploidy ($2x$, $2n = 28$), triploidy ($3x$, $2n = 42$) and tetraploidy ($4x$, $2n = 56$), and four varieties in each level, belonging to *Morus multicaulis* L., *Morus alba* L. and *Morus bombycis* K. in taxonomy, respectively. The diploids were: Tongxiangqing, Huansang No. 14 (both cultivars), S75-2 (selected) and Sinichinose (introduced from Japan); the triploids were: Hongdingsan, Wupisang (both natural), Ishihei and Shinso No. 2 (both introduced from Japan); the tetraploids were: Tongxiangqing 4x, Huansang No. 14 4x, S75-2 (the three were induced by colchicine treatment) and Sinichinose 4x (radiation-induced).

The samples were collected from young to moderately mature leaves, avoiding the midrib and large veins, by a perforator between 9:00 and 10:00 am. The small pieces of collected samples were fixed with Carnoy's fixing fluid for 4-8 hr and transferred to 95% ethanol. The ethanol was changed at regular intervals until the leaves became pale in colour, then hydrated in the given order 85, 75, 50 and 35% ethanol each for 5 min. After washing with water, a small piece of the sample leaf was collected on a glass slide with the lower epidermis of the leaf blade being upper surface, mounted in a drop of 1:2 iodine-potassium iodide solution (1 g iodine and 2 g potassium iodide dissolved in 100 ml distilled water), covered and examined under a microscope immediately.

Table I. Chloroplast number in a guard cell, stomatal size and number per mm² of leaves in varieties of various ploidy levels ($\bar{X} \pm SD$).

Tableau I. Nombre de chloroplastes dans une cellule stomatique, taille des stomates et nombre de stomates par mm² de feuille chez des variétés présentant des niveaux de ploïdie différents ($\bar{X} \pm SD$).

| Ploidy | Varieties | Source | Chloroplast number in the cell | Stomatal size (μm) | Stomatal number per mm ² of leaf |
|--------------|---------------------|--------|---|--------------------------|---|
| Ploïdie | Variétés | Source | Nombre de chloroplastes dans la cellule | Taille des stomates (μm) | Nombre de stomates par mm ² de feuille |
| Diploidy | Tongxiangqing | Cu | 9.8 ± 2.9 | 14.9 × 16.3 | 968.8 ± 54.3 |
| Diploïdie | Huangsang No. 14 | Cu | 9.9 ± 2.1 | 14.0 × 15.5 | 1034.6 ± 13.1 |
| 2n=28 | S75-2 | S | 9.6 ± 2.0 | 14.4 × 15.5 | 1016.6 ± 30.2 |
| 2x | Sinichinose | I | 9.6 ± 2.1 | 14.9 × 16.8 | 916.3 ± 54.5 |
| | Mean / Moyenne | | 9.7 ± 2.1 | 14.6 × 16.0 | 983.9 ± 52.9 |
| | Index / Indice | | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| Triploidy | Hongdingsang | N | 12.7 ± 2.3 | 15.7 × 17.7 | 890.0 ± 83.3 |
| Triploïdie | Wupisang | N | 12.9 ± 1.5 | 16.7 × 18.0 | 833.3 ± 20.0 |
| 2n=42 | Ichihai | I | 13.0 ± 1.8 | 15.5 × 18.3 | 877.0 ± 26.2 |
| 3x | Shinso No. 2 | I | 12.0 ± 1.5 | 16.6 × 18.3 | 890.0 ± 22.6 |
| | Mean / Moyenne | | 12.7 ± 1.8 | 16.2 × 18.1 | 872.6 ± 26.9 |
| | Index / Indice | | 130.9 | 125.5 | 88.7 |
| Tetraploidy | Tongxiangqing 4x | CI | 16.5 ± 2.9 | 18.9 × 20.1 | 776.6 ± 67.2 |
| Tétraploïdie | Huangsang No. 14 4x | CI | 17.0 ± 1.9 | 17.7 × 19.8 | 706.8 ± 26.2 |
| 2n=56 | S75-2 4x | | 16.6 ± 2.5 | 20.0 × 22.8 | 815.9 ± 27.3 |
| | Sinichinose 4x | RI | 17.4 ± 2.0 | 21.1 × 24.0 | 715.5 ± 42.1 |
| | Mean / Moyenne | | 16.9 ± 2.3 | 19.4 × 21.7 | 753.7 ± 51.8 |
| | Index / Indice | | 174.2 | 180.0 | 76.6 |

\bar{X} : Mean / Moyenne.

SD: Standard deviation / Ecart type.

Cu: Cultivar. S: Selected / Sélectionnée. I: Introduced / Introduite. N: Natural / Naturelle. CI: Colchicine induced / Induite par traitement à la colchicine. RI: Radiation induced / Induite par irradiation.

Under the microscope with a magnification of 400 times, the number of chloroplasts dyed in a dark-brown colour were counted from guard cells in the stomata on the lower surface of the leaf. In addition, the size of the stomata was measured by means of a micrometer and the number of stomata per mm² of leaf was also counted.

The data were analyzed statistically by one-way analysis of variance to determine the variation in the chloroplast number between and within the entries.

RESULTS AND DISCUSSION

The chloroplast number in a guard cell, stomatal size and number per mm² of leaf counted from 50 stomata and 10 fields of vision of each sample of the 12 varieties at 3 ploidy levels are given in Table I, and the variance analysis on the difference of chloroplast numbers in the guard cells between varieties of various ploidy level is given in Table II.

Table II. Analysis of variance on the difference of chloroplast numbers in the guard cells between varieties of various ploidy levels.

Tableau II. Analyse de variance sur la différence du nombre de chloroplastes dans les cellules des stomates en fonction des variétés et des niveaux de ploïdie.

| Source | DF | SS | MS | F | Note |
|--|----|--------|-------|--------------------|--------------------------|
| Between ploid / <i>Entre les ploïdies</i> | 2 | 103.37 | 51.69 | 295.4** | F _{0.01} =10.92 |
| Between varieties of identical ploidy <i>Entre variétés de même ploïdie</i> | 3 | 0.14 | 0.047 | 0.27 ^{NS} | F _{0.05} =4.76 |
| Error / <i>Ecart</i> | 6 | 1.05 | 0.175 | | |
| Total | 11 | 104.56 | | | |

DF: Degree of freedom / *Degré de liberté.*

NS: No difference / *Aucune différence.*

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

The results showed that there existed a highly significant difference (significant at 1% level) and also significant correlation ($n = 12$, $df = 10$, $r = 0.99^{**}$) between the chloroplast number in a guard cell and the ploidy level. Conversely, there was no significant difference in the chloroplast number in a guard cell between varieties of the same ploidy level. The size of the stomata was bigger and the number of stomata was less in the leaves of higher ploidy level than in those of the lower one. Likewise, in chloroplasts the number tended to be correlated with the ploidy level. In addition, the number of chloroplasts in a guard cell of the stipel and in a palisade cell were also counted, the results of which tended to be similar to those in the guard cell of the leaves. However, it was difficult to count accurately. If the lower epidermis could be stripped from the lower surface of the leaves, the chloroplast dyed in a dark-brown colour would be much clearer under a microscope. If taking the tincture of iodine instead of the iodine-potassium iodide solution as a dye, the technique would be much simpler because the sample material preserved in the fixing fluid or in 70% ethanol could be directly dyed and it would be unnecessary to hydrate. The difference of chloroplast number in guard cells of stomata from different plants of the same variety and from different locations of the same

plant in the same ploidy has not been examined. However, a conclusion has been made in such crops as cotton, etc., that there was no significant difference between different leaves of the same ploidy level. Sikdar *et al.* (1986) observed that the mean of chloroplasts per stoma was 9.40 ± 0.21 for diploid (var. Kanva-2) and 18.60 ± 0.47 for autotetraploid. However, according to the experiment, the mean chloroplast number in guard cells of mulberry was 9.7 ± 2.1 , 12.7 ± 1.8 and 16.9 ± 2.3 in the diploid, triploid and tetraploid, respectively. The number of chloroplasts in a guard cell in the diploid was 76% of that in the triploid and in the triploid 75% of that in the tetraploid. From this, it could be suggested that the number of chloroplasts in a guard cell in a haploid should be about 75% of that in a diploid. Chaudhari and Barrow (1975) found the ratios of chloroplasts in haploids to tetraploids to be 1:2 in cotton, and this difference was comparable to the ratios reported for sugarbeets. These results indicate that the heredity of chloroplast number bears a close relationship with the chromosome number in *Morus* plants and some other species, and that the stomatal chloroplast technique is available for identification of the ploidy level at any stage of growth for mulberry. We used this technique to determine a variety named Wupisang which was triploid and this was confirmed by observation of the chromosome number.

Unlike the method of counting the number of chromosomes, the stomatal chloroplast technique is a method of statistical comparison. It is necessary to observe a number of guard cells and find out the average number of chloroplasts in a cell.

REFERENCES

- CHAUDHURI H.K., BARROW J.R. (1975) Identification of cotton haploid by stomatal chloroplast technique. *Crop Sci.*, 15, 760-763.
- SIKDAR A.K., DWIVEDI N.K., DANDIN S.B., KUMAR R., GIRIDHAR (1986) Stomatal chloroplast count technique as a tool to ascertain different ploidy levels in mulberry. *Indian J. Seric.*, 25(2), 88-90.
- SIKDAR A.K., JOLLY M.S. (1994) Induced polyploidy in mulberry (*Morus* spp.): Induction of tetraploids. *Sericologia*, 34(1), 105-116.
- YANG J.-H. (1990) Polyploid breeding of mulberry. In *Practical Mulberry Breeding*. Sichuan Sci. Tech. Publishing Hsc., 206-218.

RELATION ENTRE LE NOMBRE DE CHLOROPLASTES DANS LES STOMATES ET LE DEGRE DE PLOIDIE CHEZ LE MURIER (*MORUS* SPP.)

YANG J.-H. & YANG X.-H.

Sericultural Research Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, 198 Shiqiao Road,
Hangzhou, Zhejiang 310012, Chine.

Une numération des chloroplastes a été réalisée à partir des cellules stomatiques chez le mûrier à différents degrés de ploïdie. Le nombre de chloroplastes augmente en même temps que le degré de ploïdie. Les nombres moyens de chloroplastes chez les diploïdes, les triploïdes et les tétraploïdes sont respectivement de $9,7 \pm 2,1$, $12,7 \pm 1,8$, et $16,9 \pm 2,3$. Il existe une corrélation significative et positive entre le nombre de chloroplastes stomatiques et le degré de ploïdie. Parallèlement, la taille des stomates augmente et le nombre de stomates par mm^2 de feuille diminue lorsque le niveau de ploïdie augmente. Ceci pourrait servir de technique auxiliaire d'identification de la ploïdie chez le mûrier.

INTRODUCTION

Il est nécessaire de déterminer les degrés de ploïdie dans l'étude de la cytologie et de la polyploïdie des plants de *Morus*. La méthode exacte utilisée dans ce cas consiste à évaluer le nombre de chromosomes, technique néanmoins relativement compliquée. Il conviendrait donc de mettre au point une technique plus simple.

Dès 1930, les scientifiques japonais Hamada et Bada ont étudié le nombre de chloroplastes stomatiques chez plusieurs cultivars de mûrier et ont été les premiers à démontrer que les cellules stomatiques des cultivars présentant un plus grand nombre de chromosomes tendaient à contenir davantage de plastes. Depuis, plusieurs chercheurs ont observé ce phénomène chez d'autres espèces végétales comme le coton, la betterave à sucre, le trèfle, la pomme de terre, etc. Pour ce qui concerne le mûrier, des scientifiques indiens ont mis au point une technique permettant de définir les degrés de ploïdie et ont utilisé cette technique pour sélectionner les tétraploïdes après traitement à la colchicine.

Depuis quelques années, les auteurs effectuent des expériences utilisant la technique de la numération des chloroplastes stomatiques pour déterminer la taille des stomates ainsi que le nombre de stomates par mm^2 pour différents degrés de ploïdie chez différentes variétés de mûrier. Les résultats obtenus ont montré que la numération des chloroplastes permet d'identifier beaucoup plus rapidement et facilement les diploïdes, les triploïdes et les tétraploïdes chez les plants de mûrier au cours de leur développement.

MATERIELS ET METHODES

Les matériels utilisés dans cette étude couvrent trois degrés de ploïdie, à savoir la diploïdie ($2x$, $2n = 28$), la triploïdie ($3x$, $2n = 42$) et la tétraploïdie ($4x$, $2n = 56$), et, pour chaque degré, quatre variétés appartenant à *Morus multicaulis* L., *Morus alba* L. et *Morus bombycis* K. dans la taxonomie. Les diploïdes sont : Tongxiangqing, Huansang N° 14 (cultivars), S75-2 (variété sélectionnée) et Sinichinose (introduite du Japon) ; les triploïdes sont : Hongdingsan, Wupisang (variétés naturelles), Ishihei et Shinsho N° 2 (introduites du Japon) ; les tétraploïdes sont : Tongxiangqing $4x$, Huansang

N° 14 4x, S75.2 (ces trois variétés ont été induites par traitement à la colchicine) et Sinichinose 4x (induite par irradiation).

Les échantillons ont été prélevés sur des feuilles jeunes à moyennement matures, en évitant la nervure centrale et les grandes veines, à l'aide d'une machine à perforer entre 9h00 et 10h00. Les fragments d'échantillons prélevés ont été fixés dans du fixateur de Carnoy pendant 4 à 8 heures et transférés dans de l'éthanol à 95 %. L'éthanol a été changé à intervalles réguliers jusqu'à ce que les feuilles prennent une couleur pâle puis elles ont été hydratées successivement dans de l'éthanol à 85, 75, 50 et 35 % pendant 5 minutes. Après rinçage à l'eau, un fragment de l'échantillon a été prélevé sur une lame en verre avec l'épiderme inférieur de la feuille comme surface supérieure, monté sur une goutte d'une solution d'iode-iodure de potassium 1:2 (1 g d'iode et 2 g d'iodure de potassium dissous dans 100 ml d'eau distillée), recouvert et immédiatement examiné au microscope.

Au microscope de grossissement 400×, le nombre de chloroplastes de coloration marron foncé a été compté à partir des cellules stomatiques dans les stomates de la surface inférieure de la feuille. De plus, la taille des stomates a été mesurée à l'aide d'un micromètre et le nombre de stomates par mm² de feuille a également été déterminé.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le nombre de chloroplastes dans une cellule stomatique, la taille et le nombre de stomates par mm² de feuilles déterminés à partir de 50 stomates et 10 observations pour chaque échantillon des 12 variétés de murier à trois degrés de ploïdie sont présentés dans le tableau I, et l'analyse de variance sur la différence des nombres de chloroplastes dans les cellules stomatiques entre les variétés à différents degrés de ploïdie est présentée dans le tableau II.

Les résultats montrent qu'il existe une différence fortement significative (au seuil de 1 %) et une corrélation significative ($n = 12$, $dl = 10$, $r = 0,99^{**}$) entre le nombre de chloroplastes dans une cellule stomatique et le degré de ploïdie. En revanche, il n'y a pas de différence significative du nombre de chloroplastes dans une cellule stomatique entre variétés de même degré de ploïdie. La taille des stomates est plus importante et le nombre de stomates est plus faible chez les feuilles à degré élevé de ploïdie que chez celles présentant un degré de ploïdie inférieur. Le nombre de chloroplastes dans une cellule stomatique de la stipelle et dans une cellule palissadique a également été déterminé, les résultats obtenus montrent une tendance similaire à celle obtenue pour les cellules stomatiques des feuilles. Cependant, la numération exacte a été difficile. S'il était possible d'ôter l'épiderme inférieur de la surface inférieure de la feuille, la coloration marron foncé des chloroplastes serait beaucoup plus distincte au microscope. Si l'on remplace la coloration avec la solution iode et iodure de potassium par une coloration à l'iode, la technique devient beaucoup plus simple car l'échantillon conservé dans le fixateur ou dans de l'éthanol à 70 % peut alors être coloré directement sans qu'il soit nécessaire de l'hydrater. La différence entre le nombre de chloroplastes dans les cellules des stomates chez différents plants d'une même variété et issus de différents sites à un même degré de ploïdie n'a pas été étudiée. Cependant, l'examen de certaines cultures comme le coton, etc., a permis de conclure qu'il n'y avait pas de différence significative entre différentes feuilles d'un même degré de ploïdie. Sikdar et Barrow (1986) ont observé que la moyenne des chloroplastes par stomate est de $9,40 \pm 0,21$ chez les diploïdes (variété Kanva-2) et de $18,60 \pm 0,47$ chez les tétraploïdes naturels. D'après notre expérience, le nombre de chloroplastes dans les cellules stomatiques du murier chez les diploïdes, les triploïdes et les tétraploïdes est respectivement de $9,7 \pm 2,1$, de $12,7 \pm 1,8$ et de $16,9 \pm 2,3$. Le nombre de chloroplastes dans une cellule stomatique chez un diploïde s'élève à 76 % de celui observé chez un triploïde, et celui d'un triploïde à 75 % de celui observé chez un tétraploïde. Sur la base de ces résultats, on peut penser que le nombre de chloroplastes dans une cellule stomatique chez un haploïde devrait s'élever à environ 75 % de celui d'un diploïde. Chaudhuri et Barrow (1975) ont découvert que, chez le coton, le rapport du nombre de chloroplastes des haploïdes sur celui des diploïdes est de 1:2 et cette différence est comparable aux rapports observés chez la betterave à sucre. Ces résultats indiquent que la transmission héréditaire du nombre de chloroplastes présente une relation étroite avec le nombre de chromosomes chez les plants de *Morus* et chez d'autres espèces et que la technique de la numération des chloroplastes stomatiques permet d'identifier le degré de ploïdie à n'importe quel stade de

croissance du mûrier. Nous avons utilisé cette technique pour déterminer une variété dénommée Wupisang, qui est triploïde ; ce qui a été confirmé par l'observation du nombre de chromosomes.

A la différence de la méthode consistant à compter le nombre de chromosomes, la technique de numération des chloroplastes stomatiques est une méthode de comparaison statistique. Il est nécessaire d'observer un certain nombre de cellules stomatiques pour pouvoir établir le nombre moyen de chloroplastes dans une cellule.

EFFECT OF SOME GROWTH REGULATORS ON THE YIELD AND YIELD ATTRIBUTES OF MULBERRY (*MORUS ALBA* L.) UNDER RAINFED CONDITIONS

P.C. BOSE*, S.K. MAJUMDER** & R.K. DUTTA

Soil Science and Chemistry Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, India.

An investigation was conducted to study the effects of indole-3-acetic acid (IAA), gibberellic acid (GA) and 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) on the yield and yield attributes of mulberry under rainfed conditions. It was observed that the foliar application of all the three growth regulators under study significantly increased the leaf yield and all the six growth attributes, namely, height of the plant, number of shoots per plant, number of leaves per plant, number of nodes per plant, length of leaf-bearing shoot and leaf area. Among these three growth regulators, IAA at 500 ppm concentration gave the best result in relation to yield followed by 50 ppm 2,4-D and 250 ppm GA, i.e., 67.06%, 58.95% and 58.70% increase over the control, respectively.

Keywords: Growth regulators, gibberellic acid (GA), indole-3-acetic acid (IAA), 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D), biochemical parameters, rainfed conditions.

INTRODUCTION

Sericulture has now established itself as an export-oriented sector of the Indian economy. The mulberry plant provides 100% of the leaf which is an essential requirement of silkworm feeding for the production of mulberry silk. The total area under mulberry cultivation in India is approximately 250 000 hectares, of which about 50% is under rainfed conditions. The yield of mulberry per unit area under rainfed conditions is very low.

Since 1980, a tremendous volume of literature has been made available to document various physiological and biochemical effects of plant growth regulators (Purohit, 1983). Exogenously applied growth regulators have been reported to improve the yield of a number of vegetables (Mehta and Saimbhi, 1992; Alam and Islam, 1989). As regards the literature, no attempt so far has been made to improve the growth and productivity of mulberry grown under rainfed conditions by the application of plant growth regulators. As these plant growth regulators have many advantageous effects on various crop plants in improving crop productivity (Fletcher and Osborne, 1965; Giles and Myers, 1966), an attempt was made in the present study to use these growth regulators for controlling mulberry biology and thereby enhancing growth and productivity, particularly under rainfed conditions.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted at the Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, during 1989-91. Kanva-2 mulberry variety was raised with a spacing of 90 cm × 90 cm in red loamy soil with a pH of 7.70 to 8.10, having an electrical conductivity of 0.117 to 0.203 millimhos/cm. The

* Present address and address for correspondence: Central Sericultural Research and Training Institute, 29 B/B, Extension II, Gandhinagar, Jammu - 180 004, India.

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

experiment was laid in a randomised block design with three replications. The plot size was 6.0 m × 6.0 m.

The experiment comprised three growth regulators with three doses each, i.e., gibberellic acid (250, 500 and 1000 ppm), indole-3-acetic acid (100, 250 and 500 ppm) and 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (10, 20 and 50 ppm). The treatments with a water spray as control were sprayed five times in a year on the standing crops, one month before each harvest. Normal fertilization of 100 kg N, 50 kg P₂O₅ and 50 kg K₂O/ha/yr was provided in two split doses. Fifty kg N, 50 kg P₂O₅ and 50 kg K₂O were applied after 20 days of pruning in the first crop and the remaining 50 kg N was applied after the harvest of the second crop. A basal dose of farmyard manure (FYM) @ 10 MT/ha/yr was applied. Five harvests were taken in a year. The plantation was bottom-pruned once during monsoon and leaf-plucking and top-clipping were practised for the rest of the crops.

Observations on different growth parameters, i.e., height of the plant, number of shoots per plant, number of leaves per plant, number of nodes per plant, length of leaf-bearing shoot, leaf area and leaf yield of ten crops, were recorded.

RESULTS AND DISCUSSION

Leaf yield:

Results indicated that all the treatments statistically significantly increased the leaf yield of mulberry over the control (Table I). IAA (500 ppm) increased the leaf yield of mulberry to the maximum extent and there was an increase of 67.06% over the control followed by 58.95% and 58.70% for 2,4-D (50 ppm) and GA (250 ppm), respectively (Table I).

Table I. Effect of growth regulators on the yield of mulberry.

Tableau I. Effet des régulateurs de croissance sur le rendement chez le mûrier.

| Treatments | Leaf yield (kg/ha/yr) |
|--|-------------------------------------|
| Traitements | Rendement en feuilles (kg/ha/an) |
| Control / <i>Témoin</i> | 7254.55 |
| 2,4-D ₁ | 9335.10 |
| 2,4-D ₂ | 9493.70 |
| 2,4-D ₃ | 11531.25 |
| IAA ₁ / <i>AIA</i> ₁ | 7943.15 |
| IAA ₂ / <i>AIA</i> ₂ | 10348.20 |
| IAA ₃ / <i>AIA</i> ₃ | 12119.45 |
| GA ₁ | 11512.95 |
| GA ₂ | 10711.10 |
| GA ₃ | 10320.90 |
| F | ** |
| Standard error / <i>Ecart type</i> | ± 717.45 |
| CD at 5% | 2011.05 |

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

Growth parameters:

The data revealed that all the growth parameters, i.e., height of the plant, number of shoots per plant, number of leaves per plant, number of nodes per plant, length of leaf-bearing shoot and leaf area, statistically significantly improved over the control by the foliar application of the growth regulators (Table II).

Table II. Effect of growth regulators on the growth parameters of mulberry.

Tableau II. Effet des régulateurs de croissance sur les paramètres de croissance du mûrier.

| Treatments | Height of the plant (cm) | Number of shoots /plant | Number of leaves /plant | Number of nodes /plant | Length of leaf-bearing shoot (cm) | Leaf area of 100 leaves (cm ²) |
|--|--------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|-----------------------------------|---|
| Traitements | Hauteur du plant (cm) | Nombre de pousses /plant | Nombre de feuilles /plant | Nombre de noeuds /plant | Longueur de la pousse (cm) | Surface foliaire de 100 feuilles (cm ²) |
| Control / <i>Témoin</i> | 108.53 | 14.02 | 194.08 | 248.62 | 26.57 | 6678.03 |
| 2,4-D ₁ | 117.51 | 15.46 | 200.33 | 273.34 | 28.07 | 6870.94 |
| 2,4-D ₂ | 126.69 | 16.89 | 221.27 | 283.15 | 28.06 | 6998.63 |
| 2,4-D ₃ | 142.56 | 17.43 | 231.81 | 328.20 | 31.95 | 7619.78 |
| IAA ₁ / <i>IAA</i> ₁ | 115.56 | 15.12 | 195.85 | 267.67 | 27.31 | 6856.32 |
| IAA ₂ / <i>IAA</i> ₂ | 125.45 | 17.12 | 219.57 | 303.18 | 29.33 | 7278.12 |
| IAA ₃ / <i>IAA</i> ₃ | 147.20 | 17.51 | 240.38 | 335.18 | 32.47 | 7777.64 |
| GA ₁ | 133.26 | 17.33 | 230.01 | 321.43 | 30.23 | 7500.88 |
| GA ₂ | 130.52 | 17.22 | 229.08 | 317.91 | 29.43 | 7471.23 |
| GA ₃ | 127.34 | 16.83 | 222.22 | 290.45 | 29.16 | 7187.59 |
| F | ** | ** | ** | ** | ** | ** |
| Standard error / <i>Ecart type</i> | ± 2.46 | ± 0.59 | ± 8.62 | ± 12.29 | ± 1.12 | ± 198.50 |
| CD at 5% | 6.94 | 1.67 | 24.35 | 34.72 | 3.36 | 560.59 |

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

The maximum increase in height of the plant was observed with the application of IAA (500 ppm) and was 35.63% over the control, followed by 31.35% and 22.79% with the application of 2,4-D (50 ppm) and GA (250 ppm), respectively (Table II). The maximum increase in the number of shoots per plant was observed with the application of IAA (500 ppm) and was 24.90% over the control, followed by 24.32% and 23.61% with the application of 2,4-D (50 ppm) and GA (250 ppm), respectively (Table II). The maximum increase in the number of leaves per plant was observed with the application of IAA (500 ppm) and was 23.86% over the control, followed by 19.44% and 18.51% with the application of 2,4-D (50 ppm) and GA (250 ppm), respectively (Table II). The maximum increase in the number of nodes per plant was observed with the application of IAA (500 ppm) and was 34.82% over the control, followed by 32.01% and 29.28% with the application of 2,4-D (50 ppm) and GA (250 ppm), respectively (Table II). The maximum increase in the length of leaf-bearing shoot was observed with the application of IAA (500 ppm) and was 22.20% over the control followed by

20.25% and 13.77% with the application of 2,4-D (50 ppm) and GA (250 ppm), respectively (Table II). The maximum increase in the leaf area was observed with the application of IAA (500 ppm) and was 16.47% over the control, followed by 14.10% and 12.32% with the application of 2,4-D (50 ppm) and GA (250 ppm), respectively (Table II).

The significant improvement of the leaf yield and other mulberry growth parameters obtained by the application of 2,4-D is in accordance with the findings of Adlakha and Verma (1965), that obtained by the application of GA is in accordance with the findings of Brown *et al.* (1968) and Rappaport (1957), and that obtained by the application of IAA is in accordance with the findings of Talwar and Bratnagar (1978).

The significant increase in the leaf yield and the improvement of growth parameters of mulberry by the foliar application of 2,4-D, IAA and GA at different concentrations may be due to the increased photosynthetic active radiation penetration in the crop canopy (Dyson, 1965). Moreover, the application of growth regulators stimulates the water uptake (Devlin and Witham, 1986b), promotes the protein and free amino acid contents (Sacher, 1967; Varner and Ho, 1976; Santosh Kumari *et al.*, 1990) and increases the sugar and starch contents (Paleg, 1960; Devlin and Witham, 1986a, 1986b; Yadava and Patil, 1980) which ultimately contributed to the yield and other mulberry growth parameters.

The present experiment indicated that all the three growth regulators under study, namely, 2,4-D, IAA and GA, significantly improved the leaf yield and mulberry growth parameters under rainfed conditions.

REFERENCES

- ADLAKHA P.A., VERMA S.K. (1965) Aftereffects of phytohormone, 2,4-D, naphthalene acetic acid and gibberellic acid treatment of tomato. *Sci. Cult.*, 31(5), 246-248.
- ALAM S.M.M., ISLAM M.T. (1989) Effect of some growth regulators on growth, yield and chemical composition of potato. *Indian J. Agric. Res.*, 23(1), 52-58.
- BROWN M.E., JACKSON R.M., BURLINGHAM S.K. (1968) Effects produced on tomato plants, *Lycopersicon esculentum*, by seed or root treatment with gibberellic acid and indole-3-acetic acid. *J. Expt. Bot.*, 19, 544-552.
- DEVLIN R.M., WITHAM F.H. (1986a) Gibberellins. *In Plant Physiology*. Fourth Edition, PWS Publishers, USA, p. 408.
- DEVLIN R.M., WITHAM F.H. (1986b) Gibberellins. *In Plant Physiology*. Fourth Edition, PWS Publishers, USA. p. 424.
- DYSON P.W. (1965) Effects of gibberellic acid and (2-chloroethyl) trimethyl ammonium chloride on potato growth and development. *J. Sci. Food and Agric.*, 16(9), 542-549.
- FLETCHER R.A., OSBORNE D.J. (1965) Regulation of protein and nucleic acid synthesis by gibberellin during leaf senescence. *Nature*, 207, 1176-1177.
- GILES K.W., MYERS A. (1966) The effects of gibberellic acid and light on RNA, DNA and growth of three basal internodes of dwarf and tall peas. *Phytochemistry*, 5, 193-196.
- MEHTA A.K., SAIMBHI M.S. (1992) Growth regulators in tomato production, a review. *Agricultural Reviews*, 13(1), 21-35.
- PALEG L.G. (1960) Physiological effects of gibberellic acid. I. On carbohydrate metabolism and amylase activity of barley endosperm. *Plant Physiol.*, 35, 293.
- PUROHIT S.S. (1983) Aspects of Physiology and Biochemistry of Plant Hormones. Kalyani Publishers, New Delhi, Ludhiana, p. 6-7.
- RAPPAPORT L. (1957) Effect of gibberellin on growth, flowering and fruiting of earlypak tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Plant Physiol.*, Lancaster, 32, 440-444.
- SACHER J.A. (1967) Control of synthesis of RNA and protein in subcellular fractions of *Rhoeo discolor* senescence. *Expt. Geront.*, 2, 261.
- SANTOSH KUMARI, BHARTI S., KHAN M.I. (1990) Effect of cycocel on growth and metabolism of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Indian J. Agric. Res.*, 24(2), 87-93.

- TALWAR K.K., BRATNAGAR (1978) Effect of growth regulators on dry matter and holocellulose production and mineral uptake of *Pinus caribaca* seedlings. *Indian Forester*, 104(8), 544-553.
- VARNER J.E., HO D.T. (1976) Hormones. *In* Plant Biochemistry. J. Bonner and J.E. Varner Ed., 3rd Edition, Academic Press, New York.
- YADAVA R.B.P., PATIL B.D. (1980) Effect of growth retardants on plant growth, yield and seed carbohydrate of bajra. *For. Res.*, 6, 1975.

EFFET DE CERTAINS REGULATEURS DE CROISSANCE SUR LE RENDEMENT ET LES PARAMETRES DU RENDEMENT CHEZ LE MURIER (*MORUS ALBA* L.) EN REGIME PLUVIAL

P.C. BOSE, S.K. MAJUMDER & R.K. DUTTA

Soil Science and Chemistry Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, Inde.

Une étude a été réalisée afin d'observer les effets de l'acide indol-3-acétique (AIA), de l'acide gibberellique (GA) et de l'acide 2,4-dichlorophenoxy acétique (2,4-D) sur le rendement et les paramètres du rendement chez le mûrier cultivé en régime pluvial. L'application foliaire de ces trois régulateurs de croissance entraîne une augmentation significative du rendement en feuilles et des six paramètres du rendement considérés : hauteur du plant, nombre de pousses par plant, nombre de feuilles par plant, nombre de noeuds par plant, longueur d'une pousse donnant des feuilles et surface foliaire. Parmi ces trois régulateurs de croissance, l'AIA à la concentration de 500 ppm donne le meilleur résultat pour ce qui concerne le rendement, devant le 2,4-D à 50 ppm et le GA à 250 ppm, avec des augmentations respectivement de 67,06 %, 58,95 % et 58,70 % par rapport au témoin.

INTRODUCTION

La sériciculture est maintenant devenue un secteur d'exportation de l'économie indienne. Le mûrier produit 100 % des feuilles indispensables à l'alimentation des vers à soie pour la production de soie mûrier. La surface totale de culture du mûrier en Inde est d'environ 250 000 hectares, dont 50 % en régime pluvial. Le rendement du mûrier par unité de surface est très faible en régime pluvial.

Depuis 1980, une quantité considérable de travaux ont été publiés sur les divers effets physiologiques et biochimiques des régulateurs de croissance des plantes (Purohit, 1983). L'application exogène de régulateurs de croissance améliore le rendement d'un certain nombre de cultures légumières (Mehta et Saimbhi, 1992 ; Alam et Islam, 1989). Cependant, la littérature révèle qu'aucune étude n'a été faite sur l'amélioration de la croissance et de la productivité du mûrier cultivé en régime pluvial par l'application de régulateurs de croissance des plantes. Ces régulateurs de croissance présentant de nombreux effets positifs sur diverses cultures dans l'amélioration de la productivité (Fletcher et Osborne, 1965 ; Giles et Myers, 1966), nous avons utilisé ici ces régulateurs de croissance afin de contrôler la biologie du mûrier et, ainsi, d'améliorer sa croissance et sa productivité, en particulier en régime pluvial.

MATERIELS ET METHODES

Cette étude a été réalisée au *Central Sericultural Research and Training Institute* de Mysore de 1989 à 1991. Des mûriers de la variété Kanva-2 ont été cultivés à espacement de 90 cm × 90 cm en sol argileux rouge de pH 7,70 à 8,10 et de conductivité électrique de 0,117 à 0,203 millimhos/cm. L'expérience a été configurée selon la méthode des blocs aléatoires avec trois réplicats. La taille des parcelles est 6,0 m × 6,0 m.

L'expérience comprend trois régulateurs de croissance à trois concentrations chacun : acide gibberellique (250, 500 et 1000 ppm), acide indol-3-acétique (100, 250 et 500 ppm) et acide 2,4-D dichlorophénoxy acétique (10, 20 et 50 ppm). Les traitements, ainsi qu'un témoin traité à l'eau distillée, ont été vaporisés cinq fois par an sur les cultures sur pied, un mois avant chaque récolte. La fumure habituelle de 100 kg N, 50 kg P₂O₅ et 50 kg K₂O/ha/an a été fournie en deux doses. Cinquante

kg N, 50 kg P₂O₅ et 50 kg K₂O ont été appliqués 20 jours après la taille de la première récolte et les 50 kg N restant ont été appliqués après la récolte de la deuxième récolte. Une dose basale de fumier de 10 MT/ha/an a été appliquée. Cinq récoltes ont été faites chaque année. La plantation a été taillée à la base une fois pendant la mousson et le ramassage des feuilles et l'éêtage ont été pratiqués pour le reste de la culture.

Les observations relevées portent sur les paramètres de croissance suivants : hauteur du plant, nombre de pousses par plant, nombre de feuilles par plant, nombre de noeuds par plant, longueur d'une pousse donnant des feuilles, surface foliaire et rendement en feuilles pour 10 récoltes.

RESULTATS ET DISCUSSION

Rendement en feuilles :

Les résultats indiquent que tous les traitements donnent une augmentation statistiquement significative du rendement en feuilles par rapport au témoin (Tableau I). Le rendement en feuilles du mûrier est maximal avec l'AIA (500 ppm), avec une augmentation de 67,06 % par rapport au témoin, devant 58,95 % pour le 2,4-D (50 ppm) et 58,70 % pour le GA (250 ppm) (Tableau I).

Paramètres de croissance:

Les données obtenues révèlent que tous les paramètres de croissance, c'est-à-dire hauteur du plant, nombre de pousses par plant, nombre de feuilles par plant, nombre de noeuds par plants, longueur d'une pousse donnant des feuilles et surface foliaire, présentent une amélioration statistiquement significative par rapport au témoin après application foliaire des régulateurs de croissance.

La hauteur du plant est maximale avec l'application d'AIA (500 ppm), avec une augmentation de 35,63 % par rapport au témoin, devant 31,35 % pour le 2,4-D (50 ppm) et 22,79 % pour le GA (250 ppm) (Tableau II). Le nombre de pousses par plant est maximal après application d'AIA (500 ppm), avec une augmentation de 24,90 % par rapport au témoin, devant 24,32 % pour le 2,4-D (50 ppm) et 23,61 % pour le GA (250 ppm) (Tableau II). Le nombre de feuilles par plant est maximal après application d'AIA (500 ppm), avec une augmentation de 23,86 % par rapport au témoin, devant 19,44 % pour le 2,4-D (50 ppm) et 18,51 % pour le GA (250 ppm) (Tableau II). Le nombre de noeuds par plant est maximal après application d'AIA (500 ppm), avec une augmentation de 34,82 % par rapport au témoin, devant 32,01 % pour le 2,4-D (50 ppm) et 29,28 % pour le GA (250 ppm) (Tableau II). La longueur d'une pousse donnant des feuilles est maximale après application d'AIA (500 ppm), avec une augmentation de 22,20 % par rapport au témoin, devant 20,25 % pour le 2,4-D (50 ppm) et 13,77 % pour le GA (250 ppm) (Tableau II). La surface foliaire est maximale après application d'AIA (500 ppm), avec une augmentation de 16,47 % par rapport au témoin, devant 14,10 % pour le 2,4-D (50 ppm) et 12,32 % pour le GA (250 ppm) (Tableau II).

L'amélioration significative du rendement en feuilles et des autres paramètres de croissance du mûrier obtenue par application de 2,4-D est en accord avec les résultats d'Adlakha et Verma (1965), celle obtenue par application de GA est en accord avec les travaux de Brown et coll. (1968) et de Rappaport (1957) et celle obtenue par l'application d'AIA est en accord avec les résultats de Talwar et Bratnagar (1978).

L'augmentation significative du rendement en feuilles et l'amélioration des paramètres de croissance du mûrier par application foliaire de 2,4-D, d'AIA et de GA à différentes concentrations pourraient être dues à l'augmentation de la pénétration des rayons actifs de la photosynthèse dans la couche supérieure des feuilles (Dyson, 1965). De plus, l'application des régulateurs de croissance stimule l'ingestion d'eau (Devlin et Witham, 1986b), augmente les contenus en protéines et en acides aminés (Sacher, 1967 ; Varner et Ho, 1976 ; Santosh Kumari et coll., 1990) et les contenus en sucres et en amidon (Paleg, 1960 ; Devlin et Witham, 1986a, 1986b ; Yadava et Patil, 1980) qui contribuent au rendement et aux autres paramètres de croissance du mûrier.

Cette étude indique que les trois régulateurs de croissance considérés, le 2,4-D, l'AIA et le GA, permettent une amélioration significative du rendement en feuilles et des paramètres de croissance du mûrier cultivé en régime pluvial.

EVALUATION OF *IN VITRO* RESPONSE OF MULBERRY GENOTYPES

K. KATHIRAVAN, A. GANAPATHI & A. SHAJAHAN

Department of Biotechnology, School of Life Sciences, Bharathidasan University,
Tiruchirappalli - 620 024, Tamil Nadu, India.

Genotypic responses of nodal segment explants from eight mulberry varieties (BC₂₅₉, C₁, Ichinose, Kijali, Kosen, M₅, MR₂ and S₃₄) on organogenesis were studied. Regeneration frequency and number of multiple shoots per explant varied with the genotype. MR₂, Ichinose and M₅ showed the maximum number of multiple shoot induction per explant, whereas the maximum regeneration frequency was observed in S₃₄, MR₂, M₅ and Ichinose. MS (Murashige and Skoog) medium containing benzylamino purine (BAP) or kinetin (K) induced multiple shoots in nodal explants, but the maximum number of regenerants per explant was induced by the addition of BAP. The efficiency of BAP for shoot multiplication was not improved when it was supplemented with naphthalene acetic acid (NAA) or indole butyric acid (IBA). Regenerated shoots were rooted on MS basal medium with lower levels of IBA but increase in concentration of IBA inhibited root development. The rooted plants were transferred to the field.

Keywords: Mulberry, nodal explant culture, multiple shoot induction, plantlets.

INTRODUCTION

Mulberry (*Morus* sp.) is a woody tree of great economic importance in the sericulture industry because its foliage is used as food for silkworms. Clonal propagation of mulberry using tissue culture techniques has many useful applications in the silk industry (Ravindaran *et al.*, 1988). There are only a few reports on the regeneration of mulberry plants through tissue culture (Patel *et al.*, 1983; Mhatre *et al.*, 1990; Hussain *et al.*, 1992; Jain and Datta, 1992). However, these studies fail to consider the genotypic response of different cultivars. Therefore, in the present study, an attempt has been made to identify the genotypic responses of eight mulberry varieties and also further aimed to establish a protocol for efficient regeneration of plantlets from nodal segment explants.

MATERIALS AND METHODS

Cuttings of eight genotypes (BC₂₅₉, C₁, Ichinose, Kijali, Kosen, M₅, MR₂ and S₃₄) of mulberry were collected from the Tamil Nadu Sericulture Station, Manikandam, Tamil Nadu, India, and subjected to detailed *in vitro* studies with a view to determining the appropriate growth regulator requirements.

To initiate aseptic culture, the nodal segments (0.5-1.0 cm) excised from six-month-old aforesaid cultivars were rinsed in 5% teepol for 3 min., disinfected in a 0.1% (w/v) aqueous HgCl solution for 5 min., thoroughly rinsed in sterile distilled water and cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium containing 3% (w/v) sucrose and 0.7% (w/v) agar with various growth regulators, in test tubes (25 mm × 150 mm) plugged with non-absorbent cotton, wrapped in a layer of cheesecloth. All the media were adjusted to pH 5.8 with 0.1 N NaOH/0.1 N HCl before addition of agar and were

autoclaved at 120 °C for 15 min. The cultures were maintained in a 16 h photoperiod at 25 ± 2 °C with 60% humidity.

The effect of genotypes on shoot multiplication was tested by culturing the nodal segments on MS medium supplemented with 0.25-3.0 mg/l of BAP or K. To assess the influence of auxin (NAA or IBA) in combination with BAP, explants were cultured on the medium containing NAA/IBA with BAP, each at 1.0 mg/l.

Well-developed shoots (5.0-6.0 cm height) from proliferating nodal culture were excised and placed on MS medium containing 0.25-1.0 mg/l of IAA or IBA or NAA for root induction. Plantlets with well-developed roots were taken out from the culture tubes and washed thoroughly in running tap water. They were then transferred to pots containing sterile soil and vermiculite (1:1). A glass jar was inverted over each plantlet to ensure high humidity during the first 15 days after transfer. Subsequently, the plantlets were transferred to the field.

Table I. Regeneration response of shoot bud obtained from nodal segment cultures of different mulberry genotypes.

Tableau I. Réponse de régénération du bourgeon obtenue à partir de culture de segments nodaux de différents génotypes de mûrier.

| Genotypes | Cultures regenerating (%) | Average length of plantlet | Mean shoots per explant | Amount of basal callus (%) |
|-----------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| Génotypes | Régénération des cultures (%) | Longueur moyenne de la plantule | Moyenne de pousses par explant | Quantité de cal basal (%) |
| BC259 | 68 | 4.2 | 3.6 ± 0.7 | 45 ± 4.7 |
| C ₁ | 72 | 2.5 | 3.8 ± 0.6 | 24 ± 3.5 |
| Ichinose | 74 | 1.8 | 4.0 ± 0.5 | 20 ± 3.2 |
| Kijali | 60 | 2.1 | 2.4 ± 0.7 | 26 ± 4.5 |
| Kosen | 62 | 3.0 | 2.8 ± 0.2 | 32 ± 2.0 |
| M ₅ | 82 | 3.2 | 3.9 ± 0.8 | 30 ± 4.5 |
| MR ₂ | 86 | 3.7 | 4.8 ± 9.5 | 39 ± 2.6 |
| S ₃₄ | 92 | 3.9 | 3.2 ± 0.4 | 48 ± 2.5 |

Culture medium: MS medium containing BAP (1.0 mg/l).

Data based on 24 explants per culture and scored after 4 weeks of culture.

Values are mean ± standard error.

Milieu de culture: Milieu MS contenant du BAP (1.0 mg/l).

Données basées sur 24 explants par culture et enregistrées après 4 semaines de culture.

Les valeurs correspondent à la moyenne ± l'écart type.

RESULTS AND DISCUSSION

Regeneration in tissue culture is a genetically controlled trait (Bhojwani *et al.*, 1984; Templeton-Somers and Collins, 1986). In mulberry, the explants from all eight genotypes showed

multiple shoot formation. However, the frequency of shoot regeneration and the number of shoots per explant varied among the genotypes (Table I and Fig. 2). The maximum frequency of regeneration was observed in S34 followed by MR₂, M5 and Ichinose (92%, 86%, 82% and 74%, respectively). The maximum number of shoots per explant were recorded in MR₂ (4-5 shoots per explant) followed by Ichinose and M5 (3-4 shoots per explant).

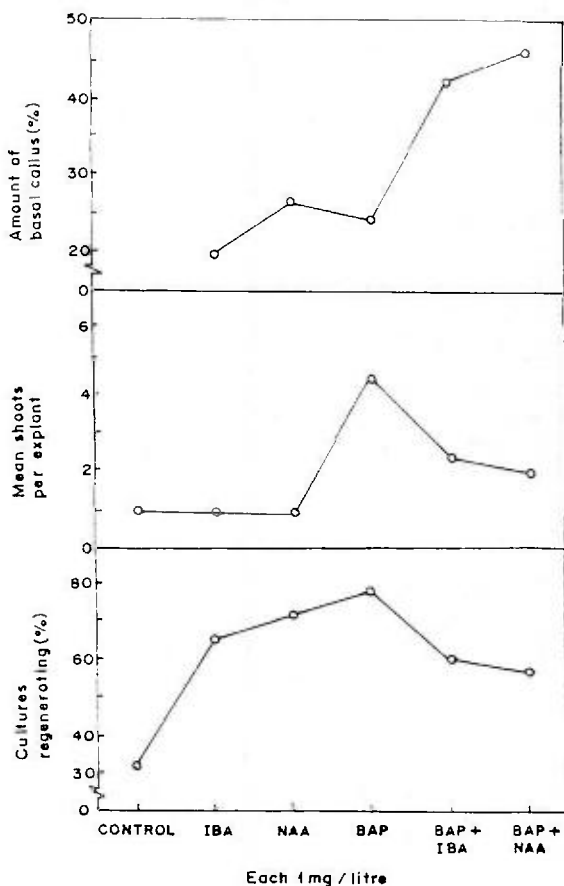


Fig. 1: Effects of IBA or NAA alone or in combination with BAP on shoot multiplication.

Fig. 1 : Effets de l'AIB ou de l'ANA utilisés seuls ou en combinaison avec le BAP sur la multiplication des pousses.

Chattopadhyay *et al.* (1990) reported that auxin and cytokinin combination is essential for multiple shoot formation in mulberry. However, the present study clearly indicates that the efficiency of cytokinin on shoot multiplication was not improved when it was supplemented with auxin. Further, auxin in combination with cytokinin suppressed the multiple shoot induction (Table II and Fig. 1). Among the two cytokinins used (BAP or K), better multiple shoot induction was observed on the medium supplemented with BAP alone (Table III). At 1.0 mg/l BAP level, 4-5 shoots per explant were obtained. Even though higher concentrations of BAP (1.5-2.0 mg/l) induced multiple shoots, the percentage of multiple shoot formation and shoot elongation were declined. This is further corroborated by previous studies in mulberry (Yadav *et al.*, 1990; Hussain *et al.*, 1992).

Table II. Effect of auxins IBA or NAA (1.0 mg/l) alone or in combination with BAP (1.0 mg/l) on shoot regeneration from nodal segments of different mulberry genotypes.

Tableau II. Effet des auxines, acide indole acétique (IBA) ou acide naphthalène acétique (NAA) (1.0 mg/l), utilisées seules ou en combinaison avec le BAP (1.0 mg/l) sur la régénération des pousses à partir de segments nodaux de différents génotypes de mûrier.

| Medium with growth regulators | Cultures regenerating (%) | Mean shoots per explant | Amount of basal callus (%) |
|--|--------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|
| <i>Milieu avec régulateurs de croissance</i> | <i>Régénération des cultures (%)</i> | <i>Moyenne de pousses par explant</i> | <i>Quantité de cal basal (%)</i> |
| MR₂ | | | |
| BM | 32 | 1.0 ± 0.0 | - |
| BM + IBA | 65 | 1.0 ± 0.0 | 20 ± 1.5 |
| BM + NAA | 72 | 1.0 ± 0.2 | 27 ± 3.5 |
| BM + BAP | 79 | 4.6 ± 0.3 | 24 ± 2.5 |
| BM + BAP + IAA | 62 | 2.5 ± 0.2 | 43 ± 5.5 |
| BM + BAP + NAA | 59 | 2.1 ± 0.5 | 47 ± 1.5 |
| BC₂₅₉ | | | |
| BM | 28 | 1.0 ± 0.0 | - |
| BM + IBA | 48 | 1.0 ± 0.0 | 15 ± 6.5 |
| BM + NAA | 66 | 1.2 ± 0.2 | 29 ± 2.5 |
| BM + BAP | 68 | 3.6 ± 0.7 | 29 ± 3.5 |
| BM + BAP + IAA | 52 | 2.3 ± 0.3 | 40 ± 2.5 |
| BM + BAP + NAA | 46 | 2.1 ± 0.5 | 48 ± 1.5 |
| C₁ | | | |
| BM | 30 | 1.2 ± 0.0 | - |
| BM + IBA | 55 | 1.0 ± 0.0 | 22 ± 1.0 |
| BM + NAA | 60 | 1.0 ± 0.2 | 30 ± 2.5 |
| BM + BAP | 72 | 3.8 ± 0.4 | 24 ± 3.5 |
| BM + BAP + IAA | 58 | 3.4 ± 0.5 | 34 ± 1.5 |
| BM + BAP + NAA | 54 | 2.8 ± 0.7 | 46 ± 5.5 |
| Ichinose | | | |
| BM | 36 | 1.0 ± 0.0 | - |
| BM + IBA | 60 | 1.0 ± 0.0 | 20 ± 6.5 |
| BM + NAA | 68 | 1.4 ± 0.2 | 28 ± 4.5 |
| BM + BAP | 74 | 4.0 ± 0.4 | 20 ± 2.5 |
| BM + BAP + IAA | 58 | 3.4 ± 0.5 | 36 ± 1.5 |
| BM + BAP + NAA | 49 | 3.2 ± 0.7 | 48 ± 2.0 |
| Kijali | | | |
| BM | 22 | 1.0 ± 0.0 | - |
| BM + IBA | 32 | 1.0 ± 0.0 | 22 ± 0.0 |
| BM + NAA | 48 | 1.0 ± 0.2 | 30 ± 1.5 |
| BM + BAP | 60 | 2.4 ± 0.7 | 24 ± 3.5 |
| BM + BAP + IAA | 56 | 2.0 ± 0.3 | 38 ± 3.5 |
| BM + BAP + NAA | 50 | 1.6 ± 0.2 | 46 ± 4.5 |

Continued / Suite page suivante

Table II. Continued / *Tableau II. Suite.*

| Medium with growth regulators | Cultures regenerating (%) | Mean shoots per explant | Amount of basal callus (%) |
|--|--------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|
| <i>Milieu avec régulateurs de croissance</i> | <i>Régénération des cultures (%)</i> | <i>Moyenne de pousses par explant</i> | <i>Quantité de cal basal (%)</i> |
| Kosen | | | |
| BM | 26 | 1.0 ± 0.0 | - |
| BM + IBA | 34 | 1.0 ± 0.0 | 30 ± 2.5 |
| BM + NAA | 58 | 1.2 ± 0.2 | 38 ± 4.5 |
| BM + BAP | 62 | 2.8 ± 0.2 | 30 ± 1.5 |
| BM + BAP + IAA | 56 | 2.0 ± 0.3 | 40 ± 3.5 |
| BM + BAP + NAA | 48 | 1.8 ± 0.7 | 58 ± 4.0 |
| M₅ | | | |
| BM | 34 | 1.0 ± 0.0 | - |
| BM + IBA | 56 | 1.0 ± 0.0 | 32 ± 0.5 |
| BM + NAA | 78 | 1.6 ± 0.2 | 38 ± 5.5 |
| BM + BAP | 82 | 3.9 ± 0.8 | 30 ± 2.5 |
| BM + BAP + IAA | 70 | 3.0 ± 0.3 | 42 ± 3.5 |
| BM + BAP + NAA | 62 | 2.4 ± 0.2 | 56 ± 7.5 |
| S₃₄ | | | |
| BM | 38 | 1.0 ± 0.0 | - |
| BM + IBA | 68 | 1.0 ± 0.0 | 30 ± 2.5 |
| BM + NAA | 80 | 1.0 ± 0.4 | 38 ± 1.5 |
| BM + BAP | 92 | 3.2 ± 0.4 | 28 ± 5.5 |
| BM + BAP + IAA | 72 | 2.0 ± 0.5 | 36 ± 7.5 |
| BM + BAP + NAA | 62 | 1.8 ± 0.3 | 48 ± 6.5 |

BM-MS: Basal medium.

Data based on 24 explants per treatment and scored after 4 weeks of culture.

Values are mean ± standard error.

BM-MS: *Milieu basique.*

Données obtenues sur 24 explants par traitement et enregistrées après 4 semaines de culture.

Les valeurs correspondent à la moyenne ± l'écart type.

The regenerated shoots which attained the length of 6.0-8.0 cm were used for root induction after removing the basal callus. Although auxins (IAA, IBA and NAA) enhanced root formation, the maximum rooting was obtained in the IBA treatment (Table IV and Fig. 3). The frequency of rooting per explant varied among the genotypes; the maximum number of roots was observed in MR₂, followed by M₅, Kosen and S₃₄. IBA at 0.5-0.75 mg/l produced thick and long roots and the increase in concentration (1.0 mg/l) resulted in profuse callusing with thin short roots (Fig. 4). Demeke and Hughes (1990) also observed the development of long roots in low auxin levels, while increase in concentration results in the production of greater amounts of callus and short roots in nodal culture of *Phytolacca dodecandra*. The rooted plantlets were later transferred to soil successfully.

A total 437 plantlets were transferred to the pots; 50 plantlets from each genotype. The survival percentage ranged from 62-70%. After 4 weeks the potted plants were transferred to the field and the survival percentage was assessed (80-88%).

Fig. 2: Effect of genotypes on multiple shoot induction on MS medium containing 1 mg/l BAP.

Fig. 2 : Effet du génotype sur l'induction de pousses multiples dans un milieu MS contenant 1 mg/l de BAP.

(a) BC₂₅₉. (b) S₃₄. (c) M₅. (d) MR₂. (e) Ichinose. (f) C₁. (g) Kosen. (h) Kijali.

Fig. 3: Root formation from a shoot growing in rooting medium (MS + IBA 0.5 mg/l) after two weeks of culture.

Fig. 3 : Formation de racines sur une pousse cultivée dans un milieu de racinement (MS + AIB à 0,5 mg/l) après deux semaines de culture.

Fig. 4: Formation of thin roots and callus at the base of the shoot in the medium containing MS + 1.0 mg/l IBA after 30 days of culture.

Fig. 4 : Formation de racelles et de cal à la base d'une pousse en milieu contenant MS + 1,0 mg/l AIB après 30 jours de culture.

Fig. 5: A micropropagated plant, after transplantation in a sand-vermiculite mixture (1:1).

Fig. 5 : Plant reproduit par microbouturage après transplantation dans un mélange sable-vermiculite (1:1).

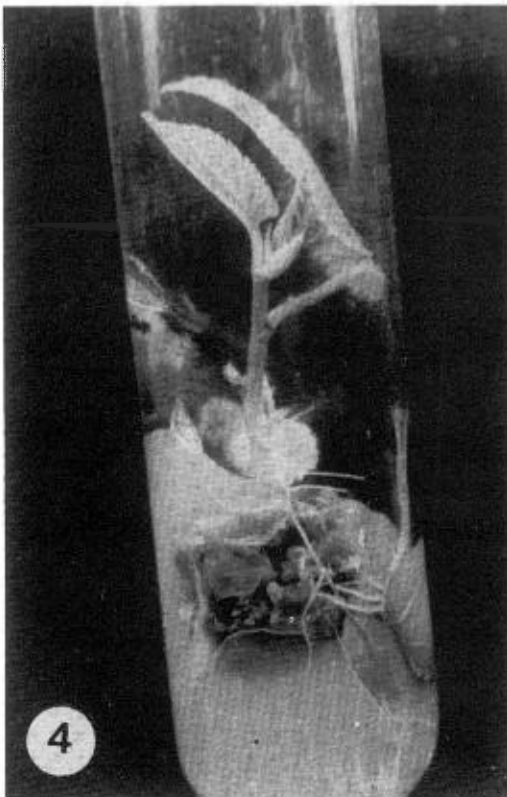
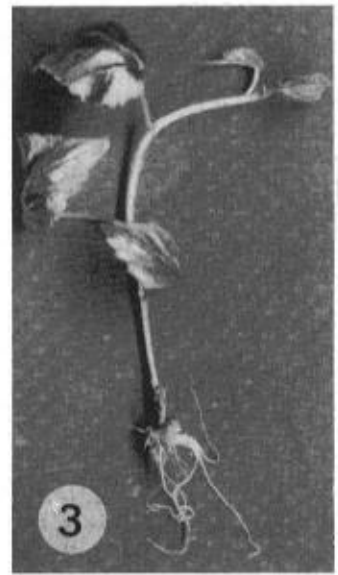
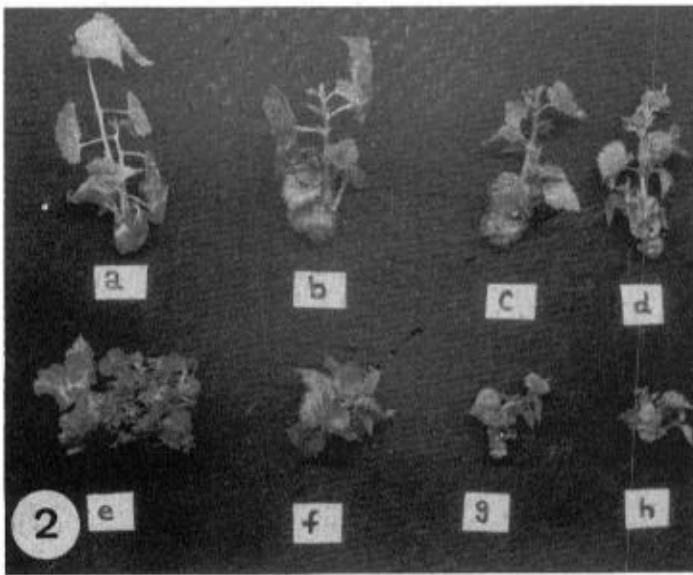


Table III. Effect of BAP and K on nodal segments of different mulberry genotypes.

Tableau III. Effet du BAP et du K sur les segments nodaux de différents génotypes de mûrier.

| Medium with growth regulators (mg/l) | Cultures regenerating (%) | Mean shoots per explant | Average length of the longest shoot (cm) | Amount of basal callus (%) |
|---|--------------------------------------|---------------------------------------|--|----------------------------------|
| <i>Milieu avec régulateurs de croissance (mg/l)</i> | <i>Régénération des cultures (%)</i> | <i>Moyenne de pousses par explant</i> | <i>Longueur moyenne de la pousse la plus longue (cm)</i> | <i>Quantité de cal basal (%)</i> |
| MR₂ | | | | |
| BA 0.25 | 44 | 1.0 ± 0.0 | 6.9 | - |
| 0.50 | 72 | 1.7 ± 0.2 | 6.7 | - |
| 1.00 | 92 | 4.8 ± 0.6 | 5.8 | 20 ± 4.8 |
| 1.50 | 64 | 7.4 ± 0.3 | 4.0 | 43 ± 2.5 |
| 2.00 | 48 | 5.3 ± 0.6 | 3.4 | 40 ± 4.2 |
| 3.00 | 37 | 3.2 ± 0.2 | 2.1 | 37 ± 5.2 |
| K 0.25 | 32 | 1.0 ± 0.0 | 4.2 | - |
| 0.50 | 60 | 1.0 ± 0.2 | 3.9 | - |
| 1.00 | 80 | 1.0 ± 0.0 | 3.4 | 15 ± 1.2 |
| 1.50 | 73 | 1.8 ± 0.5 | 2.9 | 19 ± 2.5 |
| 2.00 | 45 | 1.0 ± 0.0 | 2.5 | 12 ± 1.2 |
| 3.00 | 40 | 1.0 ± 0.0 | 2.4 | 10 ± 1.5 |
| BC₂₅₉ | | | | |
| BA 0.25 | 34 | 1.0 ± 0.0 | - | - |
| 0.50 | 49 | 1.2 ± 0.0 | 3.6 | 32 ± 3.8 |
| 1.00 | 68 | 4.0 ± 0.7 | 4.0 | 45 ± 4.7 |
| 1.50 | 72 | 3.8 ± 0.6 | 4.2 | 52 ± 5.2 |
| 2.00 | 54 | 3.0 ± 0.2 | 5.0 | 30 ± 2.5 |
| 3.00 | 37 | 2.8 ± 0.1 | 4.6 | 28 ± 2.4 |
| K 0.25 | 28 | 1.0 ± 0.0 | 3.8 | - |
| 0.50 | 34 | 1.6 ± 0.2 | 3.0 | - |
| 1.00 | 52 | 2.0 ± 0.2 | 3.4 | 15 ± 5.6 |
| 1.50 | 43 | 1.2 ± 0.5 | 2.8 | 10 ± 1.8 |
| 2.00 | 48 | 1.0 ± 0.0 | 2.6 | 12 ± 1.2 |
| 3.00 | 34 | 1.0 ± 0.3 | 1.0 | 10 ± 1.4 |
| C₁ | | | | |
| BA 0.25 | 54 | 1.0 ± 0.0 | - | - |
| 0.50 | 62 | 3.2 ± 0.8 | 2.4 | 20 ± 3.8 |
| 1.00 | 74 | 4.2 ± 0.7 | 3.5 | 24 ± 3.5 |
| 1.50 | 78 | 3.8 ± 0.2 | 4.4 | 28 ± 2.3 |
| 2.00 | 64 | 3.6 ± 0.8 | 2.8 | 24 ± 3.2 |
| 3.00 | 52 | 1.0 ± 0.5 | 2.6 | 22 ± 1.4 |
| K 0.25 | 48 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 | - |
| 0.50 | 56 | 1.0 ± 1.8 | 2.0 | 20 ± 2.4 |
| 1.00 | 70 | 3.2 ± 0.2 | 3.2 | 24 ± 3.4 |

Continued / Suite page suivante

Table III. Continued / *Tableau III. Suite.*

| Medium with growth regulators (mg/l) | Cultures regenerating (%) | Mean shoots per explant | Average length of the longest shoot (cm) | Amount of basal callus (%) |
|---|--------------------------------------|---------------------------------------|--|----------------------------------|
| <i>Milieu avec régulateurs de croissance (mg/l)</i> | <i>Régénération des cultures (%)</i> | <i>Moyenne de pousses par explant</i> | <i>Longueur moyenne de la pousse la plus longue (cm)</i> | <i>Quantité de cal basal (%)</i> |
| C₁ | | | | |
| K 1.50 | 64 | 2.8 ± 0.4 | 2.6 | 20 ± 1.4 |
| 2.00 | 54 | 2.0 ± 0.5 | 2.0 | 15 ± 3.2 |
| 3.00 | 50 | 1.0 ± 0.3 | 1.0 | 10 ± 1.4 |
| Ichinose | | | | |
| BA 0.25 | 62 | 1.0 ± 0.0 | 5.8 | - |
| 0.50 | 68 | 1.0 ± 0.2 | 6.2 | - |
| 1.00 | 90 | 4.6 ± 0.3 | 5.4 | 40 ± 3.2 |
| 1.50 | 82 | 4.4 ± 0.2 | 4.6 | 34 ± 2.3 |
| 2.00 | 70 | 3.6 ± 0.8 | 4.0 | 30 ± 1.2 |
| 3.00 | 50 | 2.8 ± 0.2 | 4.0 | 35 ± 5.6 |
| K 0.25 | 52 | 1.0 ± 0.0 | 3.2 | - |
| 0.50 | 64 | 1.0 ± 0.2 | 3.8 | 24 ± 2.3 |
| 1.00 | 78 | 1.0 ± 0.0 | 3.6 | 36 ± 1.2 |
| 1.50 | 64 | 1.2 ± 0.2 | 3.6 | 36 ± 2.5 |
| 2.00 | 48 | 1.0 ± 0.0 | 2.8 | 24 ± 1.2 |
| 3.00 | 52 | 1.0 ± 0.0 | - | - |
| Kijall | | | | |
| BA 0.25 | 50 | 1.0 ± 0.0 | - | - |
| 0.50 | 58 | 3.2 ± 0.3 | 4.6 | 20 ± 3.8 |
| 1.00 | 65 | 4.2 ± 0.6 | 4.8 | 26 ± 4.5 |
| 1.50 | 62 | 3.4 ± 0.6 | 4.7 | 22 ± 5.2 |
| 2.00 | 64 | 3.0 ± 0.4 | 3.4 | 28 ± 2.5 |
| 3.00 | 60 | 1.0 ± 0.1 | 2.0 | 30 ± 2.4 |
| K 0.25 | 48 | 1.0 ± 0.0 | 3.2 | - |
| 0.50 | 62 | 1.8 ± 0.2 | 3.6 | - |
| 1.00 | 50 | 2.0 ± 0.2 | 2.0 | 15 ± 5.6 |
| 1.50 | 48 | 2.4 ± 0.6 | 2.6 | 10 ± 1.8 |
| 2.00 | 46 | 1.8 ± 0.0 | 2.0 | 12 ± 1.2 |
| 3.00 | 40 | 1.0 ± 0.3 | 1.0 | 10 ± 1.4 |
| Kosen | | | | |
| BA 0.25 | 54 | 1.0 ± 0.0 | - | - |
| 0.50 | 64 | 3.4 ± 0.4 | 4.8 | - |
| 1.00 | 68 | 4.4 ± 0.5 | 5.0 | 32 ± 2.0 |
| 1.50 | 66 | 4.2 ± 0.4 | 4.2 | 36 ± 2.3 |
| 2.00 | 60 | 3.8 ± 0.6 | 3.0 | 28 ± 3.2 |
| 3.00 | 54 | 2.0 ± 0.2 | 2.4 | 30 ± 1.4 |
| K 0.25 | 58 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 | - |
| 0.50 | 62 | 1.0 ± 1.8 | 3.4 | - |
| 1.00 | 64 | 1.4 ± 0.2 | 3.2 | 25 ± 3.4 |

Continued / *Suite page suivante*

Table III. Continued / *Tableau III. Suite.*

| Medium with growth regulators (mg/l) | Cultures regenerating (%) | Mean shoots per explant | Average length of the longest shoot (cm) | Amount of basal callus (%) |
|---|--------------------------------------|---------------------------------------|--|----------------------------------|
| <i>Milieu avec régulateurs de croissance (mg/l)</i> | <i>Régénération des cultures (%)</i> | <i>Moyenne de pousses par explant</i> | <i>Longueur moyenne de la pousse la plus longue (cm)</i> | <i>Quantité de cal basal (%)</i> |
| Kosen | | | | |
| K 1.50 | 58 | 1.8 ± 0.4 | 3.0 | 15 ± 1.4 |
| 2.00 | 56 | 1.0 ± 0.5 | 2.4 | 14 ± 3.2 |
| 3.00 | 50 | 1.0 ± 0.3 | 2.0 | 10 ± 1.4 |
| M₅ | | | | |
| BA 0.25 | 70 | 1.0 ± 0.0 | 3.8 | - |
| 0.50 | 78 | 1.0 ± 0.2 | 4.2 | 30 ± 2.0 |
| 1.00 | 82 | 2.6 ± 0.3 | 5.2 | 48 ± 3.2 |
| 1.50 | 86 | 4.4 ± 0.2 | 4.6 | 32 ± 2.3 |
| 2.00 | 80 | 3.8 ± 0.8 | 4.0 | 29 ± 1.2 |
| 3.00 | 64 | 2.4 ± 0.2 | 3.6 | 20 ± 5.6 |
| K 0.25 | 64 | 1.0 ± 0.0 | 2.6 | - |
| 0.50 | 82 | 1.0 ± 0.2 | 2.8 | 28 ± 2.3 |
| 1.00 | 76 | 1.0 ± 0.0 | 3.6 | 30 ± 1.2 |
| 1.50 | 70 | 1.8 ± 0.2 | 3.6 | 39 ± 2.5 |
| 2.00 | 64 | 1.6 ± 0.5 | 3.0 | 26 ± 1.2 |
| 3.00 | 48 | 1.0 ± 0.6 | 2.0 | 20 ± 2.0 |
| S₃₄ | | | | |
| BA 0.25 | 50 | 1.0 ± 0.0 | 2.2 | 20 ± 3.2 |
| 0.50 | 66 | 2.2 ± 0.6 | 3.2 | 34 ± 3.8 |
| 1.00 | 90 | 3.2 ± 0.4 | 3.9 | 48 ± 4.5 |
| 1.50 | 86 | 4.0 ± 0.8 | 2.4 | 30 ± 5.2 |
| 2.00 | 62 | 2.4 ± 0.4 | 2.0 | 24 ± 2.5 |
| 3.00 | 48 | 2.0 ± 0.6 | 2.1 | 20 ± 2.3 |
| K 0.25 | 64 | 1.0 ± 0.0 | 3.4 | - |
| 0.50 | 80 | 1.0 ± 0.2 | 3.0 | 20 ± 5.2 |
| 1.00 | 85 | 2.4 ± 0.6 | 3.2 | 28 ± 3.8 |
| 1.50 | 82 | 1.8 ± 0.2 | 2.4 | 20 ± 1.8 |
| 2.00 | 78 | 1.0 ± 0.0 | 2.6 | 16 ± 2.1 |
| 3.00 | 60 | 1.0 ± 2.0 | 1.0 | 10 ± 1.4 |

BM: MS basal medium.

Data based on 24 explants per treatment and scored after 4 weeks of culture.

Values are mean ± standard error.

BM : Milieu basique MS.

Données obtenues sur 24 explants par traitement et enregistrées après 4 semaines de culture.

Les valeurs correspondent à la moyenne ± l'écart type.

Table IV. Influence of auxins on *in vitro* rooting after 30 days in culture.Tableau IV. Influence des auxines sur le racinement *in vitro* après 30 jours de culture.

| Auxins | MR ₂ | | | BC ₂₅₉ | | | C ₁ | | | Ichinose | | |
|-----------|------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------------|
| | % of response | Average no. of roots | Average root length | % of response | Average no. of roots | Average root length | % of response | Average no. of roots | Average root length | % of response | Average no. of roots | Average root length |
| Auxines | Pourcentage de réponse | Nombre moyen de racines | Longueur moyenne des racines | Pourcentage de réponse | Nombre moyen de racines | Longueur moyenne des racines | Pourcentage de réponse | Nombre moyen de racines | Longueur moyenne des racines | Pourcentage de réponse | Nombre moyen de racines | Longueur moyenne des racines |
| IAA / AIA | | | | | | | | | | | | |
| 0.25 | 58 | 1.3 ± 0.2 | 1.9 ± 0.3 | 40 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.4 | 30 | 1.0 ± 0.6 | 1.5 ± 0.5 | 25 | 1.4 ± 0.4 | 1.0 ± 0.0 |
| 0.50 | 67 | 2.3 ± 0.5 | 2.2 ± 0.2 | 46 | 2.2 ± 0.4 | 1.5 ± 0.6 | 34 | 1.2 ± 0.4 | 1.6 ± 0.4 | 30 | 1.9 ± 0.3 | 1.3 ± 0.3 |
| 0.75 | 72 | 2.7 ± 0.3 | 2.4 ± 0.4 | 50 | 2.7 ± 0.4 | 1.9 ± 0.2 | 40 | 2.2 ± 0.4 | 1.2 ± 0.2 | 32 | 2.4 ± 0.3 | 1.9 ± 0.5 |
| 1.00 | 78 | 3.8 ± 0.4 | 3.6 ± 0.6 | 52 | 3.0 ± 0.3 | 2.0 ± 0.0 | 46 | 2.4 ± 0.4 | 2.8 ± 0.6 | 38 | 3.1 ± 0.0 | 2.2 ± 9.5 |
| IBA / AIB | | | | | | | | | | | | |
| 0.25 | 74 | 3.4 ± 0.2 | 2.7 ± 0.6 | 54 | 2.0 ± 0.3 | 2.4 ± 0.3 | 44 | 1.0 ± 0.0 | 2.0 ± 0.3 | 38 | 1.0 ± 0.0 | 2.0 ± 0.3 |
| 0.50 | 80 | 4.8 ± 0.5 | 6.3 ± 0.4 | 60 | 3.0 ± 0.5 | 3.0 ± 0.2 | 50 | 3.0 ± 0.4 | 4.0 ± 0.2 | 40 | 3.4 ± 0.5 | 3.0 ± 0.7 |
| 0.75 | 92 | 5.1 ± 0.2 | 9.8 ± 0.6 | 65 | 3.4 ± 0.2 | 6.7 ± 0.6 | 54 | 3.4 ± 0.2 | 8.0 ± 0.2 | 44 | 3.8 ± 0.5 | 6.4 ± 0.6 |
| 1.00 | 86 | 4.3 ± 0.3 | 4.1 ± 0.2 | 62 | 2.8 ± 0.6 | 3.8 ± 0.5 | 52 | 2.0 ± 0.3 | 4.5 ± 0.4 | 41 | 3.2 ± 0.6 | 3.2 ± 0.1 |
| NAA / ANA | | | | | | | | | | | | |
| 0.25 | - | - | - | 10 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.1 | - | - | - | - | - | - |
| 0.50 | 25 | 1.0 ± 0.1 | 1.0 ± 0.0 | 22 | 1.2 ± 0.8 | 1.3 ± 0.3 | - | - | - | 12 | 1.0 ± 0.2 | 1.2 ± 0.1 |
| 0.75 | 38 | 1.4 ± 0.2 | 2.1 ± 0.5 | 32 | 1.8 ± 0.5 | 2.0 ± 0.1 | 20 | 1.0 ± 0.0 | 1.0 ± 0.0 | 18 | 1.6 ± 0.6 | 1.3 ± 0.4 |
| 1.00 | 52 | 2.1 ± 0.1 | 2.4 ± 0.3 | 28 | 2.4 ± 0.4 | 2.1 ± 0.3 | 32 | 1.8 ± 0.3 | 2.4 ± 0.4 | 22 | 2.9 ± 0.3 | 2.5 ± 0.7 |

Continued / Suite page suivante

Table IV. Continued / *Tableau IV. Suite.*

| Auxins | Kijali | | | Kosen | | | M ₅ | | | S ₃₄ | | |
|------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|
| | % of response | Average no. of roots | Average root length | % of response | Average no. of roots | Average root length | % of response | Average no. of roots | Average root length | % of response | Average no. of roots | Average root length |
| <i>Auxines</i> | <i>Pourcentage de réponse</i> | <i>Nombre moyen de racines</i> | <i>Longueur moyenne des racines</i> | <i>Pourcentage de réponse</i> | <i>Nombre moyen de racines</i> | <i>Longueur moyenne des racines</i> | <i>Pourcentage de réponse</i> | <i>Nombre moyen de racines</i> | <i>Longueur moyenne des racines</i> | <i>Pourcentage de réponse</i> | <i>Nombre moyen de racines</i> | <i>Longueur moyenne des racines</i> |
| IAA / AIA | | | | | | | | | | | | |
| 0.25 | 40 | 1.0±0.0 | 1.2±0.2 | 60 | 1.0±0.0 | 1.0±0.4 | 52 | 1.0±0.0 | 1.0±0.2 | 34 | 1.0±0.2 | 1.6±0.6 |
| 0.50 | 42 | 1.2±0.2 | 1.6±0.4 | 64 | 2.4±0.2 | 1.4±0.6 | 58 | 2.4±0.4 | 1.6±0.4 | 30 | 1.8±0.6 | 1.8±0.2 |
| 0.75 | 42 | 2.4±0.4 | 2.6±0.7 | 72 | 3.2±0.6 | 2.4±0.7 | 62 | 3.0±0.2 | 2.6±0.6 | 34 | 2.3±0.3 | 2.4±0.4 |
| 1.00 | 48 | 2.4±0.4 | 2.4±0.7 | 76 | 3.4±0.4 | 2.8±0.6 | 66 | 3.2±0.2 | 3.0±0.4 | 38 | 3.6±0.4 | 3.8±0.3 |
| IBA / AIB | | | | | | | | | | | | |
| 0.25 | 48 | 2.0±0.2 | 3.4±0.7 | 70 | 2.2±0.4 | 3.8±0.4 | 68 | 2.8±0.3 | 2.0±0.2 | 48 | 2.0±0.0 | 2.0±0.2 |
| 0.50 | 64 | 2.6±0.6 | 4.4±0.4 | 82 | 3.4±0.6 | 3.2±0.2 | 74 | 4.7±0.6 | 4.8±0.4 | 54 | 3.8±0.6 | 5.3±0.3 |
| 0.75 | 74 | 3.4±0.4 | 7.4±0.9 | 90 | 4.8±0.6 | 7.6±0.3 | 88 | 5.0±0.5 | 8.6±0.6 | 60 | 4.0±0.4 | 9.4±0.4 |
| 1.00 | 68 | 2.8±0.3 | 3.8±0.2 | 88 | 4.4±0.1 | 4.0±0.3 | 80 | 4.6±0.2 | 4.8±0.1 | 58 | 4.0±0.0 | 4.8±0.5 |
| NAA / ANA | | | | | | | | | | | | |
| 0.25 | - | - | - | - | - | - | 20 | 1.0±0.2 | 1.0±0.3 | - | - | - |
| 0.50 | 15 | 1.0±0.0 | 1.0±0.0 | 25 | 1.0±0.0 | 1.0±0.2 | 32 | 1.6±0.6 | 1.8±0.4 | 10 | 1.0±0.1 | 1.0±0.0 |
| 0.75 | 28 | 1.2±0.2 | 1.8±0.0 | 30 | 1.2±0.2 | 1.8±0.2 | 38 | 2.2±0.3 | 2.4±0.5 | 16 | 1.6±0.4 | 2.1±0.2 |
| 1.00 | 30 | 2.6±0.6 | 2.0±0.2 | 42 | 2.2±0.4 | 2.8±0.3 | 50 | 2.6±0.4 | 3.1±0.1 | 30 | 2.8±0.6 | 3.0±0.1 |

Data are based on 24 explants per treatment / *Les données sont basées sur 24 explants par traitement.*

Values are mean ± standard error / *Les valeurs correspondent à la moyenne ± l'écart type.*

In the light of these studies, it is concluded that there are variations in *in vitro* differentiation among the eight mulberry genotypes. MR₂, Ichinose and M₅ showed the maximum number of multiple shoot induction capacity, whereas the maximum regeneration response was observed in S₃₄, MR₂, M₅ and Ichinose. Auxin in combination with cytokinin is not essential for multiple shoot induction; in fact, it suppresses the multiple shoot formation and enhances callus induction. Lower levels of IBA induced good root development. These observations will go a long way in mulberry improvement programmes.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Mr Rajappa, Deputy Director, Tamil Nadu Sericulture Station, Tiruchirapalli, for providing the plant materials and the Central Silk Board (National Sericulture Project), Bangalore, for financial assistance.

REFERENCES

- BHOJWANI S.S., MULLINS K., COHEN D. (1984) Intervarietal variation for *in vitro* plant regeneration in the genus *Trifolium*. *Euphytica*, 33, 915-921.
- CHATTAPADHYAY S., SOUMITRA CHATTAPADHYAY, DATTA R.K. (1990) Quick *in vitro* production of mulberry (*Morus alba*) plantlets for commercial purposes. *Indian J. Exp. Biol.*, 28, 522-525.
- DEMEKE T., HUGHES H.G. (1990) Micropropagation of *Phytolacca dodecandra* through shoot tip and nodal cultures. *Pl. Cell Reports*, 9, 390-392.
- HUSSAIN M., RAHMAN, S.M., ZUMAN A., JOARDER O.I., ISLAM R. (1992) Micropropagation of *Morus laevigata* Wall. from mature trees. *Pl. Cell Reports*, 11, 522-524.
- JAIN A.K., DATTA R.K. (1992) Shoot organogenesis and plant regeneration in mulberry (*Morus bombycis* Koidz): Factors influencing morphogenetic potential in callus cultures. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 29, 43-50.
- MHATRE M., BAPAT V.A., RAO P.S. (1985) Regeneration of plants from the cultures of leaves and axillary buds in mulberry (*Morus indica* L.). *Pl. Cell Reports*, 4, 78-80.
- MURASHIGE T., SKOOG F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiol. Plant*, 15, 473-497.
- OKA S., OHYAMA K. (1986) Mulberry (*Morus alba* L.) *In Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Y.P.S Bajaj ed., Vol. 1, pp. 384-392, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- PATEL G.K., BAPAT V.A., RAO P.S. (1983) *In vitro* culture of organ explants of *Morus indica*; plant regeneration and fruit formation in axillary bud culture. *Z. Pflanzenphysiol.*, Ed., III S, 465-468.
- RAVINDARAN S., DANDIN S.B., JAIN A.K. (1988) Application of plant cell tissue and organ culture in mulberry improvement programmes. *Indian Silk*, 37-39.
- TEMPLETON-SOMERS K.M., COLLINS W.W. (1986) Heritability of regeneration in tissue of sweet potato (*Ipomea batatas*). *Theor. Appl. Genet.*, 71, 835-841.
- YADAV V., LAL M., JAISWAL V.S. (1990) Micropropagation of *Morus nigra* L. from shoot tip and nodal explants of mature trees. *Scientia Hort.*, 44, 61-67.

EVALUATION DES REACTIONS *IN VITRO* DE CERTAINS GENOTYPES DE MURIER

K. KATHIRAVAN, A. GANAPATHI & A. SHAJAHAN

Department of Biotechnology, School of Life Sciences, Bharathidasan University,
Tiruchirappalli - 620 024, Tamil Nadu, Inde.

Les réactions génotypiques d'explants de segments nodaux issus de huit variétés de mûrier (BC259, C1, Ichinose, Kijali, Kosen, M5, MR2 et S34) ont été étudiées au moment de l'organogénèse. La fréquence de régénération et le nombre de pousses multiples par explant varient en fonction du génotype. MR2, Ichinose et M5 donnent le nombre maximal d'inductions de pousses multiples par explant, tandis que S34, MR2, M5 et Ichinose donnent la fréquence de régénération maximale. Le milieu MS (Murashige et Skoog) contenant de la purine benzylaminée (BAP) ou de la kinétine (K) induit des pousses multiples chez les explants nodaux mais le nombre maximal de régénérations par explant est obtenu par addition de BAP. L'addition d'acide naphthalène-acétique (ANA) ou d'acide indol-butérique (AIB) n'améliore pas l'efficacité de la BAP dans la reproduction des pousses. Les pousses régénérées ont été mises à raciner sur un milieu MS de base contenant de faibles concentrations d'AIB mais l'augmentation de la concentration en AIB inhibe le développement des racines. Les plants racinés ont été transférés sur le terrain.

INTRODUCTION

Le mûrier (*Morus* sp.) est une plante ligneuse de grande importance sur le plan économique dans l'industrie séricicole car son feuillage est utilisé comme nourriture pour les vers à soie. La reproduction du mûrier par clonage utilisant les techniques de culture tissulaire a de nombreuses applications dans l'industrie de la soie (Ravindaran et coll., 1988). Il n'existe qu'un petit nombre d'études sur la régénération des plants de mûrier par culture tissulaire (Patel et coll., 1983 ; Mhatre et coll., 1990 ; Hussain et coll., 1992 ; Jain et Datta, 1992). De plus, celles-ci n'abordent pas les réactions génotypiques des différents cultivars. Aussi, cette étude vise-t-elle à identifier les réponses génotypiques de huit variétés de mûrier et également à établir un protocole de régénération efficace des plantules issues d'explants de segments nodaux.

MATERIELS ET METHODES

Des boutures de huit génotypes (BC259, C1, Ichinose, Kijali, Kosen, M5, MR2 et S34) de mûrier ont été prélevées à la *Tamil Nadu Sericulture Station* (Manikandam, Tamil Nadu, Inde) et soumises à des études *in vitro* approfondies afin de déterminer les besoins exacts en régulateurs de croissance.

Afin de mettre en place une culture aseptique, des segments nodaux (0,5-1,0 cm) prélevés sur des plants âgés de six mois des cultivars énoncés ci-dessus ont été rincés dans du teepol à 5 % pendant 3 minutes, désinfectés dans une solution HgCl aqueuse à 0,1% (p/v) pendant 5 minutes, rincés soigneusement dans de l'eau distillée stérile et cultivés sur un milieu MS (Murashige et Skoog, 1962) contenant du saccharose à 3 % (p/v) et de l'agar à 0,7 % (p/v) ainsi que divers régulateurs de croissance dans des éprouvettes (25 mm × 150 mm) bouchées avec du coton non absorbant et enveloppées dans une couche de gaze. Tous les milieux ont été ajustés à un pH de 5,8 avec 0,1 N NaOH/0,1 N HCl

avant addition d'agar et ont été stérilisés à l'autoclave à 120 °C pendant 15 minutes. Les cultures ont été placées sous une photopériode de 16 h à 25 ± 2 °C avec 60 % d'humidité.

L'effet des génotypes sur la multiplication des pousses a été testé par culture des segments nodaux sur milieu MS additionné de 0,25 à 3,0 mg/l de BAP ou de K. L'évaluation de l'influence des auxines (ANA ou AIB) combinées avec la BAP a été réalisée par culture des explants sur un milieu contenant 1,0 mg/l d'ANA ou d'AIB avec de la BAP.

Des pousses bien développées (5,0 à 6,0 cm de hauteur) issues des cultures nodales ont été sectionnées et placées sur un milieu MS contenant 0,25 à 1,0 mg/l d'AIA, d'AIB ou d'ANA pour l'induction des racines. Des plantules présentant des racines bien développées ont été prélevées dans les éprouvettes de culture et lavées soigneusement à l'eau courante. Elles ont ensuite été transférées dans des pots contenant de la terre stérile et de la vermiculite (1:1). Chaque plantule a été recouverte d'un bocal en verre afin d'assurer une humidité élevée pendant les quinze jours suivant le transfert. Les plantules ont ensuite été transplantées sur le terrain.

RESULTATS ET DISCUSSION

La régénération dans les cultures tissulaires est un caractère contrôlé génétiquement (Bhojwani et coll., 1984 ; Templeton-Somers et Collins, 1986). Chez le mûrier, les explants des huit génotypes présentent tous la formation de pousses multiples. Cependant, la fréquence de régénération des pousses et le nombre de pousses par explant varient en fonction du génotype (Tableau I et Fig. 2). La fréquence de régénération est maximale chez S34, devant MR₂, M₅ et Ichinose (respectivement 92 %, 86 %, 82 % et 74 %). Le nombre de pousses par explant est maximal chez MR₂ (4 à 5 pousses par explant) devant Ichinose et M₅ (3 à 4 pousses par explant).

Chattapadhyay et coll. (1990) ont observé que la combinaison de l'auxine et de la cytokinine était indispensable à la formation de pousses multiples chez le mûrier. Cependant, l'étude présentée ici montre clairement que l'addition d'auxine n'améliore pas l'efficacité de la cytokinine sur la reproduction des racines. De plus, l'auxine combinée à la cytokinine arrête l'induction de pousses multiples (Tableau II et Fig. 1). Sur les deux cytokinines utilisées (BAP ou K), le milieu additionné de BAP seule donne une meilleure induction de pousses multiples (Tableau III). A la concentration de 1,0 mg/l, la BAP donne 4 à 5 pousses par explant. Bien que des concentrations supérieures de BAP (1,5 à 2,0 mg/l) induisent des pousses multiples, le pourcentage de formation et d'allongement des pousses diminue ; ceci est corroboré par des études antérieures sur le mûrier (Yadav et coll., 1990 ; Hussain et coll., 1992).

Les pousses régénérées atteignant une longueur de 6,0 à 8,0 cm ont été utilisées pour l'induction des racines après suppression du cal basal. Bien que les auxines (AIA, AIB et ANA) accélèrent la formation des racines, on obtient un racinement maximal avec le traitement à l'AIB (Tableau IV et Fig. 3). La fréquence de racinement par explant est fonction du génotype : le nombre de racines est maximal chez MR₂, devant M₅, Kosen et S34. L'AIB à 0,5-0,75 mg/l donne des racines épaisses et longues et l'augmentation de la concentration (1,0 mg/l) se traduit par une formation abondante de cal avec des racines fines et courtes (Fig. 4). Demeke et Hughes (1990) ont également observé que les auxines faiblement concentrées donnaient des racines longues, tandis que l'augmentation de la concentration entraînait la production de quantités plus importantes de cal et de racines courtes dans les cultures nodales de *Phytolacca dodecandra*. Les plantules racinées ont ensuite été transférées dans la terre avec succès.

Au total, 347 plantules ont été transférées dans des pots, avec 50 plantules par génotype. Le pourcentage de survie varie de 62 à 70 %. Après 4 semaines, les plants mis en pots ont été transférés dans la terre et le pourcentage de survie a été évalué (80 à 88 %).

A la lumière de cette étude, on en conclut qu'il existe des variations dans la différenciation *in vitro* entre les huit génotypes de mûrier. MR₂, Ichinose et M₅ présentent le nombre maximal d'induction de racines multiples, tandis que S34, MR₂, M₅ et Ichinose donnent la régénération maximale. L'auxine combinée avec la cytokinine n'est pas indispensable pour l'induction de pousses multiples. En fait, elle arrête la formation de pousses multiples et accélère la formation du cal. De faibles concentrations d'AIB induisent un bon racinement. Ces observations seront très utiles pour les programmes d'amélioration du mûrier.

STUDIES ON THE SEASONAL PERIODICITY OF CHAWKI MULBERRY LEAVES UNDER TEMPERATE CONDITIONS

B.B. BINDROO* & A.K. TIKU

Moriculture Section, Division of Sericulture (Mirgund Campus), S.K. University of Agricultural Sciences and Technology, Post Bag No. 23, G.P.O. Srinagar - 190 001, Kashmir, India.

An experiment with dwarf-trained mulberry plants subjected to various periodic pruning treatments in the temperate conditions of Kashmir from 15th March to 15th August with 15 ± 1 days intervals revealed that the treatments took a range of 7-26 days in their effects for inducing complete vegetative bud sprouting. A minimum of 8-11 days and a maximum of 23-26 days were observed to be taken by the plants pruned on 1st July and 15th August, respectively, for their complete bud sprouting. The sprouting period in the different treatments lasted within a range of 2-13 days. The readiness of leaves for feeding young-age silkworms ranged from 41-56 days after the date of pruning and the leaves remained available regularly from 10th May to 10th October. In purview of this, the conduct of late-autumn rearing not later than 15th September is possible in Kashmir, during which period leaves can be had from the mulberry plants pruned during the second fortnight of July.

Keywords: Mulberry, periodic pruning, silkworm, chawki leaf, late-autumn rearing.

INTRODUCTION

The free-growing type of mulberry culture has proved disadvantageous to the rearers as the size of leaves becomes small and the amount of leaves harvested decreases with a lot of labour involvement (Yokoyama, 1962). Consequently, recently, the idea of harvesting large quantities of good mulberry leaves as food for silkworms was found necessary by adopting different training methods to grow mulberry as low bush, middle-stemmed and high-stemmed plants (Anonymous, 1975). Moreover, different pruning and leaf plucking methods (Ullal and Narasimhanna, 1981) pave the way for harvesting leaves at different times, which is indispensable for conducting commercial rearings of silkworms 6-7 times a year in tropical regions and 3-4 times a year in temperate regions such as Japan. The consideration of having separate mulberry gardens for young silkworm larvae (chawki) and grown larvae was realised with the view that the health of young-age worms appreciably affects the overall growth of later age worms and cocoon production (Chandrasakharaiah *et al.*, 1983). Feeding worms with unsuitable leaves often results in disease (Krishnaswami *et al.*, 1973) outbreak in later stages.

Therefore, specific requirements of leaves of different maturity during different instars of silkworms are recommended (Krishnaswami, 1978) and feeding of coarse leaves during the last two instars is advocated. However, there are opinions (Askari and Sharan, 1983; Benchamin *et al.*, 1983; Tayade, 1983; Radha and Sridhar, 1983) that the larvae fed only on tender mulberry leaves give good quality cocoons. A low moisture content in the leaves used for rearing young silkworms and feeding of coarse leaves earlier to 5th instar larvae has proved disadvantageous (Benchamin *et al.*, 1983). It is, therefore, practically important to provide young-age silkworms with quality tender leaves.

* Present address: Deputy Director and in charge, Regional Sericultural Research Station, CSB Complex, Miran Sahib, Jammu - 181101, India.

Keeping this in view, the present study on pruning mulberry trees periodically for obtaining a recurring supply of tender mulberry leaves at any phase of the growing season for rearing early-age worms in the valley of Kashmir was undertaken.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted on four-year-old mulberry plants of the variety Goshorami (*Morus multicaulis* Poir). The dwarf-trained plantation was subjected to eleven periodic treatments (Table I) from 15th March to 15th August with 15 ± 1 days interval. There were twenty trees in each treatment with a plant-to-plant and row-to-row spacing of 6 ft. (1.82 m) each. Pruning in all the trees in each of the treatments was carried out by cutting the shoots at their bases arising from the crown. The plants were maintained under the same cultural conditions as those followed for mulberry in the valley. The observations on the dates of first bud sprouting until complete bud sprouting were recorded and the sprouting period for each treatment was calculated (Table I). The total number of days taken for production of tender leaves after various dates of pruning treatments was computed by fixing the dates of feed readiness for chawki worms on the days the treatments had attained one month's growth after their complete bud sprouting (Table I). Further, taking these dates as the base points, four well-defined and precise developmental stages at one month's intervals in each treatment were fixed (Table II) for assessing the extent of growth parameters such as the number of branches/plant, mean branch length, number of leaves/branch and leaf weight/plant. With the periodic growth of the plants, five trees for each developmental stage within a pruning treatment were assessed. Accordingly, a schedule was prepared to harvest not only the leaves for chawki silkworms but also for the grown larvae round the growing season of the valley (Tables I and II).

RESULTS AND DISCUSSION

From the results (Table I) it is observed that plants after different pruning treatments took 7-23 days for the commencement of vegetative bud sprouting and the sprouting process continued up to 11-26 days. Consequently, the sprouting period in different treatments ranged from 2-13 days (Table I). Plants pruned on 1st July took a smaller number of days, i.e., 8-11, for complete bud sprouting while the maximum number of days, i.e., 23-26, for this process was exhibited by the plants pruned on 15th August. In most of the other treatments the sprouting process lasted for only 2-4 days.

The measures for the number of branches/plant, mean branch length, number of leaves/branch and leaf yield at different growth periods, as presented in Table II, revealed a great magnitude of variation in the extent of these characters as a consequence of linear growth manifestation within a treatment. The effects of pruning at different periods of growth and the expression of these characters at different developmental stages were observed to be straightforward (Table II). For example, the number of branches/plant warranted a decreasing tendency with the advancement of pruning dates but this tendency increased with the advancement of developmental stages within a treatment. Similarly, the number of leaves/branch and the mean branch lengths within a treatment at different developmental stages increased.

On the dates of feed readiness to chawki worms (Table I) in all the pruning treatments, it was uniformly observed that 8-12 leaves within a mean branch length of 22.73 cm to 37.10 cm, except for plants pruned on 1st June and 15th August, were produced (Table II). This observation is supported by the common generalisation of the sericultural management that the 6th and 7th leaves, 2-3 nodes from apex below, depending on the climatic and rearing conditions, are the best suited leaves for feeding chawki worms. Linear growth development of the branches exhibited with a corresponding increase in the number of leaves taking place with the periodic development of the plants within a treatment (Table II) is an important attribute towards improving the currently adopted practice of silkworm rearing in the Valley of Kashmir. The young-age worms (chawki) can be fed from the 41st to the 56th day from the date of pruning (Table I) and the availability of good quality tender leaves can

be had regularly during the growing season from 10th May to 10th October, thereby giving scope for conducting late-autumn rearing also in the Valley of Kashmir. However, from the observation on various growth parameters of the plant (Table II), it would be worthwhile to mention that when conducting the late-autumn rearing successfully in this ecozone of the country, care should be taken to commence the late-autumn rearing not later than 15th September and the chawki leaf for these rearings can be had from the mulberry plants pruned on 15th July to 1st August so that the plants are able to overcome the ensuing winter with a negligible frost damage to the branches. The observations are, therefore, significant in the sense that they will be helpful in the management of chawki mulberry gardens and the organisation of Chawki Rearing Centres during the autumn season also in the Kashmir Valley.

Table I. Data on pruning, sprouting, sprouting period and days taken for feed readiness in mulberry.

Tableau I. Données sur la taille, le bourgeonnement, la durée du bourgeonnement et le nombre de jours nécessaires pour que les feuilles deviennent consommables chez le mûrier.

| Pruning treatments | Date of pruning | Date of bud sprouting | | Sprouting period | Feed readiness for chawki | |
|-----------------------|-------------------|------------------------|-------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------|
| | | From ⁽¹⁾ | To ⁽¹⁾ | | Days* | Date ^{(1)**} |
| Traitements (tailles) | Date de la taille | Date de bourgeonnement | | Durée du bourgeonnement | Maturité de la feuille | |
| | | Du ⁽¹⁾ | Au ⁽¹⁾ | | Jours* | Date ^{(1)**} |
| T ₁ | 15/03 | 05/04 | 10/04 | 6 | 56 | 10/05 |
| T ₂ | 01/04 | 08/04 | 20/04 | 13 | 49 | 20/05 |
| T ₃ | 15/04 | 25/04 | 01/05 | 7 | 46 | 31/05 |
| T ₄ | 01/05 | 08/05 | 15/05 | 8 | 44 | 14/06 |
| T ₅ | 15/05 | 25/05 | 27/05 | 3 | 42 | 26/06 |
| T ₆ | 01/06 | 11/06 | 12/06 | 2 | 41 | 12/07 |
| T ₇ | 15/06 | 25/06 | 28/06 | 4 | 43 | 28/07 |
| T ₈ | 01/07 | 09/07 | 12/07 | 4 | 41 | 11/08 |
| T ₉ | 15/07 | 28/07 | 30/07 | 3 | 45 | 29/08 |
| T ₁₀ | 01/08 | 14/08 | 16/08 | 3 | 45 | 15/09 |
| T ₁₁ | 15/08 | 07/09 | 10/09 | 4 | 56 | 10/10 |

(1) day/month / *jour/mois*.

* After date of pruning / *Après le jour de la taille*.

** One month after complete bud sprouting / *Un mois après la fin du bourgeonnement*.

Table II. Various parameters after 11 pruning treatments at four periodic developmental stages of mulberry growth.

Tableau II. Divers paramètres après 11 tailles à quatre stades périodiques de la croissance chez le mûrier.

| Pruning treatments | Growth period | | No. of branches /plant Mean \pm SE | Branch length (cm) Mean \pm SE | No. of leaves /branch Mean \pm SE | Leaf weight (kg/pl) |
|-----------------------|-----------------------|---------------------|---|---|---|-----------------------------|
| | Stage | Date ⁽¹⁾ | | | | |
| Traitements (tailles) | Période de croissance | | Nombre de branches /plant Moyenne \pm SE | Longueur de la branche (cm) Moyenne \pm SE | Nombre de feuilles /branche Moyenne \pm SE | Poids de la feuille (kg/pl) |
| | Stade | Date ⁽¹⁾ | | | | |
| T ₁ | I | 10/05 | 12.50 \pm 0.63 | 24.31 \pm 0.88 | 8.14 \pm 0.27 | 0.069 |
| | II | 09/06 | 18.50 \pm 0.44 | 52.35 \pm 1.12 | 13.09 \pm 2.16 | 0.273 |
| | III | 09/07 | 19.31 \pm 0.53 | 89.73 \pm 0.11 | 16.13 \pm 1.12 | 0.463 |
| | IV | 08/08 | 19.87 \pm 0.63 | 131.33 \pm 0.93 | 21.43 \pm 0.43 | 0.801 |
| T ₂ | I | 20/05 | 15.25 \pm 0.76 | 24.33 \pm 0.47 | 8.45 \pm 0.14 | 0.087 |
| | II | 19/06 | 18.25 \pm 0.89 | 81.36 \pm 0.95 | 17.04 \pm 0.30 | 0.346 |
| | III | 19/07 | 18.25 \pm 0.79 | 86.14 \pm 0.92 | 18.33 \pm 0.41 | 0.524 |
| | IV | 18/08 | 18.50 \pm 0.82 | 86.37 \pm 1.07 | 19.33 \pm 0.74 | 0.688 |
| T ₃ | I | 31/05 | 16.30 \pm 0.75 | 33.55 \pm 0.83 | 10.16 \pm 0.45 | 0.112 |
| | II | 30/06 | 18.55 \pm 0.89 | 88.99 \pm 1.60 | 15.80 \pm 0.48 | 0.382 |
| | III | 30/07 | 18.55 \pm 0.90 | 90.13 \pm 1.64 | 16.87 \pm 0.47 | 0.496 |
| | IV | 29/08 | 16.69 \pm 0.85 | 116.11 \pm 0.42 | 28.55 \pm 2.13 | 0.977 |
| T ₄ | I | 14/06 | 18.85 \pm 0.37 | 22.73 \pm 0.15 | 8.04 \pm 0.13 | 0.093 |
| | II | 14/07 | 19.35 \pm 0.44 | 75.83 \pm 2.40 | 20.07 \pm 0.78 | 0.456 |
| | III | 13/08 | 19.35 \pm 0.44 | 78.70 \pm 1.98 | 20.87 \pm 0.82 | 0.885 |
| | IV | 12/09 | 19.75 \pm 0.83 | 126.47 \pm 6.92 | 21.06 \pm 0.86 | 1.080 |
| T ₅ | I | 26/06 | 16.75 \pm 0.82 | 28.32 \pm 0.79 | 8.95 \pm 0.23 | 0.094 |
| | II | 26/07 | 20.25 \pm 1.22 | 71.00 \pm 3.25 | 13.70 \pm 0.54 | 0.359 |
| | III | 25/08 | 20.25 \pm 1.22 | 76.54 \pm 3.41 | 15.86 \pm 0.53 | 0.677 |
| | IV | 24/09 | 20.30 \pm 1.14 | 99.29 \pm 8.73 | 17.25 \pm 0.59 | 0.858 |
| T ₆ | I | 12/07 | 14.15 \pm 0.71 | 51.79 \pm 1.97 | 10.93 \pm 0.33 | 0.090 |
| | II | 11/08 | 14.25 \pm 0.69 | 38.52 \pm 1.94 | 13.58 \pm 0.59 | 0.247 |
| | III | 10/09 | 14.25 \pm 0.58 | 82.72 \pm 3.54 | 15.51 \pm 0.60 | 0.918 |
| | IV | 10/10 | 14.80 \pm 0.65 | 84.20 \pm 3.19 | 18.86 \pm 0.71 | 0.692 |
| T ₇ | I | 28/07 | 14.30 \pm 0.70 | 33.41 \pm 1.35 | 9.44 \pm 0.31 | 0.083 |
| | II | 27/08 | 14.75 \pm 0.85 | 72.64 \pm 2.99 | 16.05 \pm 0.67 | 0.299 |
| | III | 28/09 | 15.25 \pm 0.96 | 86.54 \pm 4.14 | 15.62 \pm 0.59 | 0.535 |
| | IV | 26/10 | 15.27 \pm 0.67 | 88.71 \pm 3.14 | 16.15 \pm 0.71 | 0.603 |

Continued / Suite page suivante

Table II. Continued / *Tableau II. Suite.*

| Pruning treatments | Growth period | | No. of branches /plant Mean \pm SE | Branch length (cm) Mean \pm SE | No. of leaves /branch Mean \pm SE | Leaf weight (kg/pl) |
|------------------------------|------------------------------|---------------------------|--|--|--|------------------------------------|
| | Stage | Date ⁽¹⁾ | | | | |
| <i>Traitements (tailles)</i> | <i>Période de croissance</i> | | <i>Nombre de branches /plant</i> Moyenne \pm SE | <i>Longueur de la branche (cm)</i> Moyenne \pm SE | <i>Nombre de feuilles /branche</i> Moyenne \pm SE | <i>Poids de la feuille (kg/pl)</i> |
| | <i>Stade</i> | <i>Date⁽¹⁾</i> | | | | |
| T ₈ | I | 11/08 | 12.85 \pm 0.55 | 37.10 \pm 2.09 | 8.05 \pm 0.32 | 0.069 |
| | II | 10/09 | 13.15 \pm 0.61 | 59.21 \pm 3.46 | 11.51 \pm 0.71 | 0.212 |
| | III | 10/10 | 13.20 \pm 0.63 | 71.60 \pm 4.61 | 13.15 \pm 0.41 | 0.400 |
| | IV* | 09/11 | - | - | - | - |
| T ₉ | I | 29/08 | 12.55 \pm 0.58 | 25.16 \pm 1.33 | 7.90 \pm 0.25 | 0.064 |
| | II | 28/09 | 12.65 \pm 0.50 | 36.20 \pm 1.91 | 14.29 \pm 0.84 | 0.238 |
| | III | 28/10 | 13.45 \pm 0.64 | 48.89 \pm 2.22 | 14.77 \pm 0.67 | 0.411 |
| | IV* | 27/11 | - | - | - | - |
| T ₁₀ | I | 15/09 | 12.57 \pm 0.68 | 28.12 \pm 2.18 | 9.48 \pm 0.37 | 0.065 |
| | II | 15/10 | 13.15 \pm 0.69 | 32.09 \pm 2.52 | 10.87 \pm 0.55 | 0.201 |
| | III* | 14/11 | - | - | - | - |
| T ₁₁ | I | 10/10 | 7.80 \pm 1.58 | 8.74 \pm 0.90 | 11.81 \pm 1.34 | 0.056 |
| | II** | 30/10 | 8.33 \pm 1.54 | 8.43 \pm 0.92 | 10.57 \pm 1.02 | 0.138 |

(1) day/month / jour/mois.

* Not recorded because of active growth cessation due to the onset of low temperature.

** Recorded only after 20 days from the date of the 1st stage of the growth period.

* *Données non relevées en raison de la cessation de la croissance due à l'apparition de basses température.*

** *Données relevées seulement 20 jours après la date du 1er stade de la période de croissance.*

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to Dr A.R. Trag, Chief Scientist, Division of Sericulture, SKUAST, Kashmir, for providing facilities.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1975) Textbook of Tropical Sericulture. Japan Overseas Corporation Volunteers. Tokyo, Japan.
- ASKARI S., SHARAN A.K. (1982) Studies on the effect of feeding leaves of varying maturity on the developmental stages of *Bombyx mori*. J. Adv. Sool., 3(2), 90-94.
- BENCHAMIN K.V., JOLLY M.S., VERMA M. (1983) Studies on the qualitative and quantitative aspects of feeding in silkworm rearing. Abst., Nat. Sem. Res. Dev., pp. 76, Bangalore, India.
- CHANDRASAKHARIAH, JOLLY M.S., SRINIVASABABU C.K. (1983) Impact of chawki rearing on bivoltine in the field. Abst., Nat. Sem. Res. Dev., pp. 36, Bangalore, India.

- KRISHNASWAMI S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYANA S.K., KUMARAJ (1973) Manual of Sericulture 2. Silkworm rearing. FAO Pub., Rome.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New technology of silkworm rearing. Bull. No. 2, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India.
- RADHA N.V., SRIDHAR P. (1983) Silkworm productivity as influenced by different varieties of mulberries. Abst., Nat. Sem. Silk. Res. Dev., pp. 127, Bangalore, India.
- TAYADE D.S. (1983) Effect of quality of mulberry leaves on economic characters of silkworm. Abst., Nat. Sem. Silk. Res. Dev., pp. 124, Bangalore, India.
- ULLAL S.R., NARASIMHANNA M.N. (1981) Handbook of Practical Sericulture. Central Silk Board, Bombay, India.
- YOKOYAMA T. (1962) Synthesized Science of Sericulture. Central Silk Board, Bombay, India.

ETUDES DE LA PERIODICITE SAISONNIERE DES FEUILLES DE MURIER DESTINEES AUX JEUNES LARVES EN MILIEU TEMPERE

B.B. BINDROO* & A.K. TIKU

Moriculture Section, Division of Sericulture (Mirgund Campus), S.K. University of Agricultural Sciences and Technology, Post Bag No. 23, G.P.O. Srinagar - 190 001, Kashmir, Inde.

Une expérience a été réalisée avec des plants de mûrier en taille basse soumis à des périodicités de taille différentes dans les conditions tempérées du Cachemire du 15 mars au 15 août à intervalles de 15 ± 1 jours. Cette expérience révèle que les différents traitements mettent entre 7 et 26 jours pour induire un bourgeonnement végétatif complet. Un minimum de 8 à 11 jours et un maximum de 23 à 26 jours sont nécessaires pour que les plants taillés respectivement le 1^{er} juillet et le 15 août donnent un bourgeonnement végétatif complet. La période de bourgeonnement chez les différents traitements dure entre 2 et 13 jours. Le délai nécessaire pour que les feuilles soient consommables par les larves des premiers âges varie de 41 à 56 jours après la date de la taille et les feuilles sont utilisables régulièrement du 10 mai au 10 octobre. Au vu de ces résultats, les élevages d'automne sont possibles jusqu'au 15 septembre dans le Cachemire, période à laquelle on dispose des feuilles issues des plants de mûrier taillés durant la deuxième quinzaine de juillet.

INTRODUCTION

La culture du mûrier sans taille s'est révélée désavantageuse pour les éleveurs car la taille et la quantité des feuilles récoltées diminuent, nécessitant une main d'oeuvre importante (Yokoyama, 1962). C'est pourquoi on a récemment procédé à l'adoption de différentes méthodes de taille pour cultiver le mûrier en taille basse, en arbuste et en arbre pour obtenir d'importantes quantités de feuilles de mûrier (Anonyme, 1975). De plus, l'adoption de méthodes différentes de taille et de ramassage des feuilles (Ullal et Narasimhanna, 1981) permet de récolter les feuilles à différents moments, ce qui est indispensable pour la conduite des élevages commerciaux de vers à soie 6 à 7 fois par an dans les régions tropicales et 3 à 4 fois par an dans les zones tempérées comme le Japon. L'idée de mettre en place des plantations de mûrier séparées pour les larves des premiers âges (chawki) et les larves matures provient du fait que l'on s'est rendu compte que la santé des jeunes larves affecte la totalité de la croissance des larves des âges ultérieurs et la production de cocons (Chandrasakharaiah et coll., 1983). Le nourrissage des larves avec des feuilles inappropriées entraîne souvent l'apparition de maladies (Krishnaswami et coll., 1973) aux stades ultérieurs.

Aussi, on recommande d'utiliser des feuilles de différents niveaux de maturité pour répondre aux besoins spécifiques des vers à soie en fonction de leur âge (Krishnaswami, 1978) et il est conseillé d'utiliser les feuilles dures pour le nourrissage des larves des deux derniers âges. Cependant, certains sont d'avis (Askari et Sharan, 1983 ; Benchamin et coll., 1983 ; Tayade, 1983 ; Radha et Sridhar, 1983) que les larves nourries uniquement avec des feuilles tendres donnent des cocons de bonne qualité. Un contenu faible en eau chez les feuilles destinées aux jeunes larves et le nourrissage avec des feuilles matures avant le cinquième âge s'est avéré défavorable (Benchamin et coll., 1983). Du

* Adresse actuelle : Deputy Director and in charge, Regional Sericultural Research Station, CSB Complex, Miransahib, Jammu - 181 101, Inde.

point de vue pratique, il est donc important de fournir des feuilles tendres et de bonne qualité aux larves des premiers âges.

Prenant ces remarques en considération, on a entrepris une étude sur la taille périodique des plants de mûrier afin de disposer d'un approvisionnement régulier en feuilles de mûrier tendres pour les larves des premiers âges pendant toute la durée de l'élevage dans la vallée du Cachemire.

MATERIELS ET METHODES

L'expérience a été réalisée sur des plants de mûrier âgés de quatre ans de la variété Goshocrami (*Morus multicaulis* Poir). La plantation en taille basse a été soumise à onze traitements périodiques (Tableau I) du 15 mars au 15 avril à intervalles de 15 ± 1 jours. Chaque traitement comporte vingt arbres à espacement de 1,82 m entre chaque plant et entre chaque rangée. La taille des arbres de chacun des traitements a été réalisée en coupant les pousses à la base au niveau de la couronne. Les plants ont été cultivés selon les méthodes pratiquées dans la vallée du Cachemire. Les observations sur les dates du premier bourgeonnement jusqu'à l'achèvement du bourgeonnement ont été relevées et la période de bourgeonnement a été calculée pour chaque traitement (Tableau I). Le nombre total de jours nécessaires à la production de feuilles tendres en fonction des différentes dates de taille a été déterminé en considérant les jours où les traitements ont atteint un mois de croissance après la fin de leur bourgeonnement comme date à laquelle les feuilles sont consommables par les jeunes larves (Tableau I). De plus, considérant ces dates comme points de référence, quatre stades du développement distincts à un mois d'intervalle ont été fixés (Tableau II) pour évaluer les valeurs des paramètres de croissance comme le nombre de branches par plant, la longueur moyenne d'une branche, le nombre de feuilles par branches et le poids des feuilles par plant. Pour la croissance périodique des plants, on a évalué cinq arbres pour chacun des stades du développement à l'intérieur d'un type de taille. De fait, un planning a été préparé afin de récolter non seulement les feuilles destinées aux jeunes larves mais également celles destinées aux larves matures pendant toute la saison de culture de la vallée du Cachemire (Tableaux I et II).

RESULTATS ET DISCUSSION

A la lecture des résultats (Tableau I), il apparaît que le bourgeonnement végétatif a lieu entre 7 et 23 jours après la taille et que le processus de bourgeonnement se poursuit entre 11 et 26 jours. La période de bourgeonnement varie donc de 2 à 13 jours chez les différents traitements (Tableau I). Le bourgeonnement dure moins longtemps, soit entre 8 et 11 jours, chez les plants taillés le 1er juillet, contre 23 à 26 jours chez les plants taillés le 15 août (durée maximale). Chez la plupart des autres traitements, le processus de bourgeonnement dure seulement entre 2 et 4 jours.

Les mesures concernant le nombre de branches par plant, la longueur moyenne d'une branche, le nombre de feuilles par branche et le rendement en feuilles à différentes périodes de croissance (Tableau II) font apparaître une forte amplitude de variation entre ces caractères en conséquence de la croissance linéaire à l'intérieur d'un traitement. Les effets de la taille à différentes périodes de croissance et l'expression de ces caractères à différents stades du développement sont évidents (Tableau II). Par exemple, plus les plants sont taillés tardivement plus le nombre de branches par plant est faible mais la tendance s'inverse lorsque la taille est réalisée plus tard au cours du développement à l'intérieur d'un même traitement. De même, on observe une augmentation du nombre de feuilles par branche et de la longueur moyenne d'une branche à l'intérieur d'un traitement à différents stades du développement.

Aux dates auxquelles les feuilles deviennent consommables par les jeunes larves (Tableau I), tous les traitements donnent entre 8 et 12 feuilles avec une longueur moyenne de la branche entre 22,73 cm et 37,10 cm, sauf pour les plants taillés le 1er juin et le 15 août (Tableau II). Cette observation est étayée par le fait généralement admis en sériciculture que les 6e et 7e feuilles, 2 à 3 noeuds en partant du sommet suivant les conditions du climat et de l'élevage, sont les feuilles les plus appropriées au nourrissage des jeunes larves. Le développement linéaire de la croissance des branches observé parallèlement à l'augmentation du nombre de feuilles en fonction du développement périodique des

plants à l'intérieur d'un traitement (Tableau II) est un caractère important dans l'amélioration de la méthode utilisée actuellement pour l'élevage du ver à soie dans la vallée du Cachemire. Les jeunes larves (chawki) peuvent être nourries de 41 à 56 jours après la date de la taille (Tableau I) et les feuilles restent de bonne qualité et disponibles pendant toute la durée de l'élevage du 10 mai au 10 octobre, ce qui permet de réaliser des élevages jusqu'à la fin de l'automne dans la vallée du Cachemire. Cependant, à la lecture des données des différents paramètres de croissance des plantes (Tableau II), il faut souligner que, pour mener à bien des élevages de fin d'automne dans cette région écologique du pays, l'élevage ne doit pas commencer après le 15 septembre, les feuilles pour jeunes larves pouvant être obtenues à partir de plants taillés entre le 15 juillet et le 1er août ; de ce fait, les plants peuvent surmonter l'hiver suivant sans que le froid occasionne de dommages sensibles aux branches. Ces observations sont donc significatives dans la mesure où elles permettront d'améliorer la gestion des plantations de mûrier destinées à l'élevage des jeunes larves et l'organisation des centres d'élevages des jeunes larves en automne dans la vallée du Cachemire.

EFFECT OF DIFFERENT AMENDMENTS ON THE GROWTH AND QUALITY OF MULBERRY IN SALT-AFFECTED SOIL

P.C. BOSE*, S.K. MAJUMDER & R.K. DATTA

Soil Science and Chemistry Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, India.

*An experiment was conducted to study the effect of different levels of various amendments on the growth parameters and leaf quality of *Morus alba* L., variety K₂, in salt-affected soil. The experiment comprised four amendments with two doses each, i.e., farmyard manure (20 and 40 MT/ha), pressmud (20 and 40 MT/ha), gypsum (4 and 8 MT/ha) and sulphur (2 and 4 MT/ha). Analysis of the data revealed that all the amendments increased all of the growth parameters significantly, the maximum being for sulphur @ 4 MT/ha which gave 21.80%, 35.35%, 30.27%, 24.94%, 27.19% and 23.22% increase over the control for the height of the plant, number of shoots/plant, length of leaf-bearing shoot, number of nodes/plant and leaf area, respectively. All the amendments improved all the quality parameters of mulberry leaves but only two parameters, i.e., reducing sugar and crude fibre, were statistically significant. The reducing sugar percentage increased significantly over the control whereas the crude fibre percentage decreased significantly over the control, which speaks in favour of qualitative improvement of mulberry leaf.*

Keywords: Farmyard manure, pressmud, gypsum, sulphur, soil amendments, salt-affected soil.

INTRODUCTION

Mulberry is a hardy plant capable of thriving under a variety of soil conditions. The ideal pH for the optimum growth is slightly acidic, i.e., 6.5 to 6.8, though it can grow in a soil of pH as high as 9.0, but the growth, yield and quality will not be up to the expected mark. Mulberry being a leaf crop, maximisation of yield could be achieved not only through agronomic inputs but also by applying certain amendments which improve the properties of the soil and make it favourable for mulberry cultivation.

If the soil is a salt-affected one, it should be corrected with the proper amendments for the maximisation of growth and yield and for the improvement of mulberry quality. A lot of work has been done on the effect of reclamatory materials of salt-affected soil on various agricultural crops (Dadhwal and Katiyar, 1989; Sawhney and Baddesha, 1989; Kapur and Kanwar, 1989), but no study has so far been carried out to know the effect of these amendments on mulberry growth and quality in a salt-affected soil, except the work done by Bose *et al.* (1992) where only the yield of mulberry has been taken into consideration as well as the effect of on the physiochemical properties of the soil of the mulberry garden. Therefore, an attempt was made in this study to determine the impact of these reclamatory materials on the growth and quality parameters of mulberry leaves.

* Present address and address for correspondence: Central Sericultural Research and Training Institute, 29 B/B, Extension II, Gandhinagar, Jammu - 180 004, India.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted at the Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, during 1987-89. The soil of the experimental field was a red loamy, salt-affected soil, for which pH, electrical conductivity and exchangeable sodium percentage, nitrogen, available P, available K, organic carbon and texture were 8.55, 0.251 millimhos/cm, 17.34, 0.27%, 5.68 kg/ha, 312.13 kg/ha, 0.30% and sandy loam clay, respectively. The experiment was laid in a randomised block design with three replications. The experiment was conducted with K₂ variety. The plot size was 6 m × 6 m with a plant spacing of 0.9 m × 0.9 m.

The experiment consisted of four treatments with two doses each, i.e., farmyard manure (20 and 40 MT/ha), pressmud (20 and 40 MT/ha), gypsum (4 and 8 MT/ha) and sulphur (2 and 4 MT/ha). The amendments were applied once in the month of June, i.e., at the onset of monsoon after the bottom-pruning, and mixed thoroughly. Irrigation was given at an interval of seven days. Nitrogen, phosphorus and potassium were applied @ 300 kg/ha/year, 120 kg/ha/year and 120 kg/ha/year, respectively, in five split doses. Five harvests were taken in a year by following the shoot harvest method and the plantation was bottom-pruned every time.

Observations on the different growth parameters, i.e., height of the plant, number of shoots/plant, number of leaves/plant, length of leaf-bearing shoot, number of nodes/plant and leaf area, were recorded. Quality parameters of the leaves, i.e., moisture, total mineral, crude fibre, reducing sugar, non-reducing sugar, total sugar, starch, carbohydrate, soluble protein, crude protein and total free amino acid, were estimated at the age of seventy days, adopting the standard chemical analytical method of AOAC (1984) for total mineral, crude fibre and moisture, the method of Lowry *et al.* (1951) for soluble protein, Microkjeldahl method (Jackson, 1962) for crude protein. Reducing sugar, non-reducing sugar, starch, carbohydrate and total free amino acid were determined by the methods of Plummer (1971).

RESULTS AND DISCUSSION

The data revealed that all the growth parameters, i.e., height of the plant, number of shoots per plant, number of leaves per plant, length of leaf-bearing shoot, number of nodes per plant and leaf area, statistically significantly increased over the control by the application of the amendments (Table I). The maximum increase over the control was observed with the application of higher doses of sulphur and was 21.80%, 35.35%, 30.27%, 24.94%, 27.19% and 23.22% for height of the plant, number of shoots per plant, number of leaves per plant, length of leaf-bearing shoot, number of nodes per plant and leaf area, respectively.

Further the application of the amendments improved all the quality parameters, i.e., moisture, total mineral, crude fibre, reducing sugar, non-reducing sugar, starch, carbohydrate, total free amino acid, soluble protein and crude protein, over the control (Table II). Of these, the improvement of two parameters, i.e., reducing sugar and crude fibre, over the control was statistically significant (Table II). The maximum improvement of the quality of mulberry leaves was observed with the application of higher doses of sulphur, with 3.90%, 28.06%, 20.16%, 19.44%, 12.97% increase for moisture, starch, carbohydrate, free amino acid and crude protein, respectively, and with 37.87% decrease for crude fibre over the control.

The maximum increase in total mineral, non-reducing sugar, total sugar, soluble protein and reducing sugar was observed with higher doses of farmyard manure, pressmud and gypsum, respectively, and was 11.18%, 8.22%, 10.93%, 32.47% and 33.01% over the control, respectively.

The improvement of growth and quality parameters of mulberry by the application of farmyard manure may be due to its contribution in supplying additional plant nutrients, improvements of soil physical conditions and biological process in soils (Dahiya and Singh, 1979; Singh and Dahiya, 1979).

The improvement of growth and quality of mulberry by the application of pressmud may be attributed to the fact that pressmud, being the by-product of sugar factory, is a good source of plant nutrients, containing 43.20% organic carbon, 3.08% total nitrogen and 0.62% total phosphorus (Narwal *et al.*, 1990). In addition to supplying nutrients to mulberry, pressmud being organic and

acidic (pH 5.62) in nature, brought about marked changes in the soil properties (Table III), which is similar to the results reported by Kapur and Kanwar (1989).

Table I. Effect of amendments on the growth and yield of mulberry.

Tableau I. Effet d'amendements sur la croissance et le rendement du mûrier.

| Amendments | Height of the plant (cm) | Number of shoots /plant | Number of leaves /plant | Length of leaf-bearing shoot (cm) | Number of nodes /plant | Leaf area of 100 leaves (cm ²) | Leaf yield (kg/ha/yr) |
|------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------------|--|---|----------------------------------|
| Amendements | Hauteur du plant (cm) | Nombre de rameaux /plant | Nombre de feuilles /plant | Longueur d'un rameau (cm) | Nombre de noeuds /plant (cm ²) | Surface foliaire de 100 feuilles (cm ²) | Rendement en feuilles (kg/ha/an) |
| Control / Témoin | 102.42 | 23.28 | 348.80 | 44.30 | 368.28 | 8109.46 | 24630.38 |
| FYM ₁ | 108.97 | 26.46 | 361.26 | 47.98 | 378.13 | 8498.16 | 27599.50 |
| FYM ₂ | 110.77 | 28.41 | 375.44 | 50.20 | 396.44 | 8763.04 | 29967.86 |
| P ₁ | 109.50 | 27.95 | 373.55 | 46.62 | 400.84 | 8493.63 | 28273.42 |
| P ₂ | 118.08 | 29.02 | 405.53 | 51.45 | 440.39 | 8968.27 | 32484.97 |
| G ₁ | 115.65 | 27.97 | 406.66 | 50.42 | 419.06 | 9079.81 | 32556.88 |
| G ₂ | 119.46 | 29.33 | 438.15 | 51.74 | 452.73 | 9626.55 | 35066.43 |
| S ₁ | 118.64 | 29.06 | 402.88 | 52.81 | 424.42 | 9233.46 | 34034.18 |
| S ₂ | 124.75 | 31.51 | 454.39 | 55.35 | 468.44 | 9992.82 | 39256.68 |
| F | ** | ** | ** | ** | ** | ** | ** |
| SE | ± 2.105 | ± 0.5245 | ± 11.634 | ± 1.365 | ± 9.896 | ± 128.956 | ± 746.337 |
| CD at 5% | 6.024 | 1.573 | 34.882 | 4.092 | 29.670 | 386.627 | 2237.60 |

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

FYM: Farmyard manure / Fumier de ferme.

P: Pressmud / Tourteau de sucrerie.

G: Gypsum / Gypse.

S: Sulphur / Soufre.

SE: Standard error / Ecart type.

The improved growth and quality of mulberry by the application of gypsum may be attributed to the increased solubility of soil calcium carbonate, with a resultant decrease in the soil pH and ESP of the soil and increase (Table III) in the availability of nutrients (Singh and Abrol, 1988).

Sulphur gave a significant improvement in the growth and quality of mulberry which might be due to its acidifying nature which improved the soil properties by reducing the ESP and pH of the soil to a significant level (Table III). Further, nitrogen and sulphur are closely related with each other because both these elements are required for protein synthesis and their contents in plant tissues are always maintained at a constant ratio (Dijkshoorn *et al.*, 1960; Whitehead, 1964). In addition, sulphur has a synergistic effect in the uptake of nutrients (Iswari *et al.*, 1987; Stewart and Porter, 1969) which makes both the macro- and the micronutrients more available to the plants.

Table II. Effect of amendments on the biochemical composition of mulberry.

Tableau II. Effet d'amendements sur la composition biochimique du mûrier.

| Amendments | Moisture (%) | Mineral (%) | Reducing sugar (%) | Non-reducing sugar (%) | Total sugar (%) | Starch (%) | Total carbohydrate (%) | Water soluble protein (%) | Total free amino acid (mg/mg) | Crude fibre (%) | Crude protein (%) |
|------------------|--------------|--------------|-----------------------|---------------------------|-------------------|------------|--------------------------------|---------------------------|-------------------------------------|-------------------|----------------------|
| Amendements | Eau (%) | Minéraux (%) | Sucres réducteurs (%) | Sucres non réducteurs (%) | Sucres totaux (%) | Amidon (%) | Hydrates de carbone totaux (%) | Protéines solubles (%) | Acides aminés libres totaux (mg/mg) | Fibres brutes (%) | Protéines brutes (%) |
| Control | 68.63 | 9.03 | 1.06 | 8.27 | 9.33 | 11.65 | 20.98 | 7.02 | 1.08 | 13.20 | 18.80 |
| Témoin | (56.0143) | | | | | | | | | | |
| FYM ₁ | 68.91 | 9.40 | 1.28 | 8.66 | 9.94 | 12.87 | 22.82 | 8.38 | 1.11 | 11.60 | 19.71 |
| | (56.2113) | | | | | | | | | | |
| FYM ₂ | 70.47 | 10.04 | 1.40 | 8.95 | 10.35 | 13.31 | 23.66 | 8.89 | 1.21 | 9.13 | 20.64 |
| | (57.1390) | | | | | | | | | | |
| P ₁ | 70.18 | 9.73 | 1.14 | 8.78 | 9.92 | 13.06 | 22.98 | 8.80 | 1.14 | 11.63 | 19.91 |
| | (56.9610) | | | | | | | | | | |
| P ₂ | 70.49 | 10.04 | 1.20 | 8.91 | 10.12 | 13.33 | 23.46 | 9.30 | 1.22 | 11.30 | 20.18 |
| | (57.1350) | | | | | | | | | | |
| G ₁ | 69.56 | 9.66 | 1.32 | 8.46 | 9.78 | 12.60 | 22.38 | 7.29 | 1.23 | 12.80 | 19.99 |
| | (56.5567) | | | | | | | | | | |
| G ₂ | 70.34 | 10.02 | 1.41 | 8.81 | 10.22 | 13.76 | 23.99 | 8.62 | 1.26 | 10.43 | 20.46 |
| | (57.0553) | | | | | | | | | | |
| S ₁ | 69.55 | 9.70 | 1.24 | 8.59 | 9.83 | 13.57 | 23.39 | 8.54 | 1.27 | 10.30 | 20.41 |
| | (56.5740) | | | | | | | | | | |
| S ₂ | 71.31 | 10.03 | 1.34 | 8.94 | 10.28 | 14.92 | 25.21 | 8.65 | 1.29 | 8.20 | 21.24 |
| | (57.6270) | | | | | | | | | | |
| F | NS | NS | ** | NS | NS | NS | NS | NS | NS | ** | NS |
| SE | - | - | ± 0.0560 | - | - | - | - | - | - | ± 0.4399 | - |
| CD at 5% | - | - | 0.1683 | - | - | - | - | - | - | 1.3190 | - |

Values in parentheses represent the angular transformed values / Les valeurs entre parenthèses représentent les transformées angulaires.

SE: Standard error / Ecart type.

FYM: Farmyard manure / Fumier de ferme.

G: Gypsum / Gypse.

NS: Not significant / Non significatif.

P: Pressmud / Tourteau de sucrerie.

S: Sulphur / Soufre.

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

Plants take sulphur mainly as SO_4^{2-} . The elemental sulphur added to the soil is subjected to microbial transformation into SO_4^{2-} before it is taken up by mulberry. It is conceivable from the study that a microorganism (*Thiobacillus* sp.) transformed the elemental sulphur to sulphate in an amount adequate to improve the growth and quality of mulberry significantly, which is in accordance with the results of Arora *et al.* (1991).

Table III. Effect of amendments on the chemical properties of the soil.

Tableau III. Effet d'amendements sur les propriétés chimiques du sol.

| Amendments | Soil reaction (pH) | Electrical conductivity (dSm^{-1}) | Exchangeable sodium percentage (ESP) |
|-------------------------|-----------------------------|---|--|
| <i>Amendements</i> | <i>Réaction du sol (pH)</i> | <i>Conductivité électrique (dSm^{-1})</i> | <i>Pourcentage de sodium échangeable (ESP)</i> |
| Control / <i>Témoin</i> | 8.55 | 0.251 | 17.34 |
| FYM ₁ | 8.05 | 0.451 | 14.52 |
| FYM ₂ | 7.80 | 0.701 | 12.77 |
| P ₁ | 7.85 | 0.851 | 13.92 |
| P ₂ | 7.60 | 1.151 | 10.55 |
| G ₁ | 7.70 | 0.591 | 14.56 |
| G ₂ | 7.45 | 0.921 | 12.38 |
| S ₁ | 7.20 | 0.671 | 11.15 |
| S ₂ | 5.85 | 0.991 | 8.11 |

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

FYM: Farmyard manure / *Fumier de ferme.*

P: Pressmud / *Tourteau de sucrerie.*

G: Gypsum / *Gypse.*

S: Sulphur / *Soufre.*

Of the three secondary plant nutrients, i.e., calcium, magnesium and sulphur, present in soils, sulphur is involved in the synthesis of proteins and chlorophyll (Tripathi and Singh, 1992). Sulphur is a constituent of amino acids like cysteine, methionine and cystine and, as such, of proteins. Vitamins (thiamine and biotin), lipoic acid and acetyl co-enzyme A contain sulphur. It is involved in the synthesis of glucosides. Moreover, sulphur is involved in dark reaction and CO_2 metabolism (Dey, 1990). Eventually, these are the reasons for the improvement of the biochemical composition of mulberry leaves through the application of sulphur.

REFERENCES

AOAC (1984) Official Methods of Analysis. Published by Association of Official Analytical Chemists, Inc., USA, pp. 152, 153, 160.

- ARORA B.R., HUNDAL H.S., SEKHON G.S. (1991) Efficiency of different sulphur carriers to peanut, maize and wheat on an alkaline soil. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 39(3), 591-592.
- BOSE P.C., MAJUMDER S.K., DUTTA R.K. (1992) Effect of amendments on chemical properties of alkali soil of mulberry garden and its yield. *Indian J. Seric.*, 31(2), 147-150.
- DADHWAL K.S., KATIYAR V.S. (1989) Effect of farmyard manure on growth, yield and chemical composition of *bhabar* in a mine soil. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 37(2), 412-415.
- DAHIYA S.S., SINGH R. (1979) *Plant and Soil*, 56, 391.
- DEY G.C. (1990) *Fundamentals of Agronomy*. Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, p. 158.
- DIJKSHOORN W., LARUP J.E., VAN BURG R.E.J. (1960) *Plant and Soil*, 13, 227.
- ISWARI, SINGH R.S., TIWAR U.S. (1987) Effect of nitrogen and sulphur on yield and nutrient uptake by wheat. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 35, 152-154.
- JACKSON M.L. (1962) *Soil Chemical Analysis*. Prentice Hall Inc., New York, p. 183.
- KAPUR M.L., KANWAR R.S. (1989) Effect of sulphitation and carbonation pressmud cakes and farmyard manure on the accumulation and movement of nitrogen, phosphorus and potassium. *J. Indian Soil Sci.*, 37, 56-60.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265.
- NARWAL R.P., GUPTA A.P., ANTIL R.S. (1990) Efficiency of triple superphosphate and mussoorie rock phosphate mixture incubated with sulfitation process pressmud. *J. Indian Soc. Sci.*, 38, 51-55.
- PLUMMER D.T. (1971) *An Introduction to Practical Biochemistry*. Tata McGraw Hill Publishing Co. Ltd., Bombay and New Delhi.
- SAWHNEY J.S., BADDESHA H.S. (1989) Effect of gypsum on properties of saline sodic soil and crop yield. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 37(2), 418-420.
- SINGH R., DAHIYA S.S. (1979) *Plant and Soil*, 56, 403.
- SINGH S.B., ABROL I.P. (1958) Long-term effect of gypsum application and rice-wheat cropping on changes in soil properties and crop yield. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 36, 316-319.
- STEWART B.A., PORTER L.K. (1969) *Agron. J.*, 61, 267.
- TRIPATHI D., SINGH K. (1992) Vertical distribution of sulphur in representative soil groups of Himachal Pradesh. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 40(3), 447-453.
- WHITEHEAD D.C. (1964) *Soil Fertil. Harpenden*, 27, 1.

EFFET DE DIFFERENTS AMENDEMENTS SUR LA CROISSANCE ET LA QUALITE DU MURIER EN SOL SALIN

P.C. BOSE*, S.K. MAJUMDER & R.K. DATTA

Soil Science and Chemistry Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute,
Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, Inde.

*Une expérience a été réalisée afin d'étudier l'effet d'amendements à différentes doses sur les paramètres de croissance et sur la qualité des feuilles de *Morus alba* L., variété K₂, cultivé en sol salin. L'expérience comprend quatre amendements de deux doses chacun : fumier de ferme (20 et 40 tonnes/ha), tourteau de sucrerie (20 et 40 tonnes/ha), gypse (4 et 8 tonnes/ha) et soufre (2 et 4 tonnes/ha). L'analyse des données révèle que tous les amendements entraînent une amélioration significative des paramètres de croissance, cette amélioration étant maximale pour le soufre à raison de 4 tonnes/ha qui donne, par rapport au témoin, une augmentation de 21,80 %, 35,35 %, 30,27 %, 24,94 %, 27,19 %, 23,22 % respectivement pour la hauteur du plant, le nombre de pousses par plant, le nombre de feuilles par plant, la longueur d'une pousse donnant des feuilles, le nombre de noeuds par plant et la surface foliaire. Tous les différents types d'amendement améliorent les paramètres qualitatifs de la feuille de mûrier mais cette amélioration est significative pour seulement deux paramètres, les sucres réducteurs et les fibres brutes. Par rapport au témoin, le pourcentage de sucres réducteurs augmente de manière significative, tandis que le pourcentage de fibres brutes diminue de manière significative, ce qui démontre l'amélioration qualitative de la feuille de mûrier.*

INTRODUCTION

Le mûrier est une plante robuste, capable de prospérer dans des milieux très divers. Le pH idéal pour une croissance optimale du mûrier est légèrement acide, entre 6,5 et 6,8, bien que le mûrier puisse également être cultivé dans des sols dont le pH atteint 9,0, mais la croissance, le rendement et la qualité ne seront pas au niveau escompté. Le mûrier étant cultivé pour ses feuilles, il serait possible de maximaliser le rendement non seulement par des apports agronomiques mais également par l'application de certains amendements qui améliorent les propriétés du sol et le rendent favorable à la culture du mûrier.

Si le sol est salin, il doit être corrigé à l'aide d'amendements appropriés afin de maximaliser la croissance, le rendement et la qualité du mûrier. De nombreux travaux ont été réalisés sur l'effet de matières recyclées en sol salin sur diverses cultures (Dadhwal et Katiyar, 1989 ; Sawhney et Baddesha, 1989 ; Kapur et Kanwar, 1989) mais aucune étude n'a été réalisée sur l'effet de ces amendements sur la croissance et la qualité du mûrier cultivé en sol salin, à l'exception de celle de Bose et coll. (1992) qui concerne uniquement l'effet sur le rendement ainsi que sur les propriétés physico-chimiques du sol des plantations de mûrier. Cette étude vise donc à déterminer l'impact de ces matières recyclées sur les paramètres de croissance et de qualité des feuilles de mûrier.

* Adresse actuelle et correspondance : Central Sericultural Research and Training Institute, 29 B/B, Extension II, Gandhi Nagar, Jammu - 180 004, Inde.

MATERIELS ET METHODES

L'expérience a été réalisée au *Central Sericultural Research and Training Institute* de Mysore de 1987 à 1989. Le sol de la plantation expérimentale est de type argileux rouge. C'est un sol salin dont les caractéristiques sont les suivantes : pH 8,55, conductivité électrique 0,251 millimhoms/cm, pourcentage de sodium échangeable 17,34, azote 0,027 %, P disponible 5,68 kg/ha, K disponible 312,13 kg/ha, carbone organique 0,30 % et texture grasse, argileuse et sableuse. L'expérience a été effectuée selon la méthode des blocs aléatoires avec trois réplicats. La variété utilisée est K2. La taille des parcelles est de 6 m × 6 m avec un espacement entre les plants de 0,9 m × 0,9 m.

L'expérience comprend quatre traitements de deux doses chacun : fumier de ferme (20 et 40 tonnes/ha), tourteau de sucrerie (20 et 40 tonnes/ha), gypse (4 et 8 tonnes/ha) et soufre (2 et 4 tonnes/ha). Les amendements ont été appliqués une fois en juin, c'est-à-dire au début de la mousson et après la taille basale, et mélangés soigneusement. L'irrigation a été fournie à sept jours d'intervalle. L'azote, le phosphore et le potassium ont été appliqués à raison de 300 kg/ha/an, 120 kg/ha/an et 120 kg/ha/an, respectivement, en cinq doses égales. Cinq récoltes par an ont été faites suivant la méthode de récolte des rameaux et la plantation a été taillée à la base à chaque fois.

Les observations portent sur plusieurs paramètres de croissance : la hauteur du plant, le nombre de pousses par plant, le nombre de feuilles par plant, la longueur d'une pousse donnant des feuilles, le nombre de noeuds par plant et la surface foliaire. Les paramètres qualitatifs des feuilles, à savoir l'eau, les minéraux totaux, les fibres brutes, les sucres réducteurs, les sucres non réducteurs, les sucres totaux, l'amidon, les hydrates de carbone, les protéines solubles, les protéines brutes et les acides aminés libres totaux, ont été évalués à partir de plants âgés de 70 jours, suivant les méthodes d'analyse chimique standard de l'AOAC (1984) pour les minéraux totaux, les fibres brutes et l'eau, suivant la méthode de Lowry et coll. (1951) pour les protéines solubles et suivant la méthode de Microkjeldahl (Jackson, 1962) pour les protéines brutes. Les sucres réducteurs, les sucres non réducteurs, l'amidon, les hydrates de carbone et les acides aminés libres ont été déterminés d'après les méthodes de Plummer (1971).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données révèlent que tous les paramètres de croissance, c'est-à-dire hauteur du plant, nombre de pousses par plant, longueur d'une pousse donnant des feuilles, nombre de noeuds par plant et surface foliaire, présentent une amélioration significative par rapport au témoin après application des amendements (Tableau I). L'augmentation par rapport au témoin est maximale avec l'application de la dose supérieure de soufre, soit 21,80 %, 35,35 %, 30,27 %, 24,94 %, 27,19 % et 23,22 % respectivement pour la hauteur du plant, le nombre de pousses par plant, le nombre de feuilles par plant, la longueur d'une pousse donnant des feuilles, le nombre de noeuds par plant et la surface foliaire.

De plus, l'application d'amendements améliore tous les paramètres qualitatifs, c'est-à-dire l'eau, les minéraux totaux, les fibres brutes, les sucres réducteurs, les sucres non réducteurs, l'amidon, les hydrates de carbone, les acides aminés libres totaux, les protéines solubles et les protéines brutes (Tableau II). L'amélioration par rapport au témoin est statistiquement significative pour deux de ces paramètres, les sucres réducteurs et les fibres brutes (Tableau II). L'amélioration de la qualité de la feuille de mûrier par rapport au témoin est maximale après application de la dose supérieure de soufre, avec 3,90 %, 28,06 %, 20,16 %, 19,44 % et 12,97 % d'augmentation respectivement pour l'eau, l'amidon, les hydrates de carbone, les acides aminés libres et les protéines brutes et 37,87 % de diminution pour les fibres brutes.

Les minéraux totaux, les sucres non réducteurs, les sucres totaux, les protéines solubles et les sucres réducteurs présentent les augmentations maximales par rapport au témoin après application de fortes doses de fumier de ferme, de tourteau de sucrerie et de gypse, soit respectivement 11,18 %, 8,22 %, 10,93 %, 32,47 % et 33,01 %.

L'amélioration des paramètres de croissance et de qualité du mûrier après application de fumier de ferme peut être due au fait que ce mode d'amendement contribue à l'apport en nutriments

supplémentaires chez la plante, à l'amélioration des conditions physiques du sol et des processus biologiques dans le terrain (Dahiya et Singh, 1979 ; Singh et Dahiya, 1979).

L'amélioration des paramètres de croissance et de qualité du mûrier après application de tourteau de sucrerie peut être attribuée au fait que ce tourteau, produit dérivé des sucreries, constitue une source d'éléments nutritifs pour les plantes car il contient 43,20 % de carbone organique, 3,08 % d'azote total et 0,62 % de phosphore total (Narwal et coll., 1990). Outre son apport en éléments nutritifs chez le mûrier, le tourteau de sucrerie, qui est de nature organique et acide (pH 5,62), provoque des modifications importantes dans les propriétés du sol (Tableau III) ; ces résultats ont également été observés par Kapur et Kanwar (1989).

L'amélioration de la croissance et de la qualité du mûrier après application de gypse peut être attribuée à l'augmentation de la solubilité du carbonate de calcium dans le sol, qui se traduit par une diminution du pH et du pourcentage de sodium échangeable et par une augmentation (Tableau III) de la quantité d'éléments nutritifs (Singh et Abrol, 1988).

Le soufre entraîne une amélioration significative de la croissance et de la qualité du mûrier qui pourrait être due à sa nature acidifiante qui bonifie les propriétés du sol en réduisant de manière significative le pourcentage de sodium échangeable et le pH du sol (Tableau III). De plus, l'azote et le soufre sont étroitement liés car ces deux éléments sont nécessaires à la synthèse des protéines et leurs contenus dans les tissus des végétaux sont toujours maintenus à un degré constant (Dijkshoorn et coll., 1960 ; Whitehead, 1964). En outre, le soufre a un effet synergique sur l'ingestion des éléments nutritifs (Iswari et coll., 1987 ; Stewart et Porter, 1969) qui rend les micronutriments et les macronutriments plus accessibles aux plantes.

Les plantes ingèrent le soufre principalement sous la forme de SO_4^{2-} . Le soufre élémentaire additionné dans le sol est soumis à une transformation microbienne en SO_4^{2-} avant d'être ingéré par le mûrier. On peut donc penser, d'après cette étude, qu'un micro-organisme (*Thiobacillus* sp.) transforme le soufre élémentaire en sulfate en quantités suffisantes pour améliorer la croissance et la qualité du mûrier ; ceci est en accord avec les résultats d'Arora et coll. (1991).

Des trois éléments nutritifs secondaires des végétaux (calcium, magnésium et soufre) présents dans le sol, le soufre est impliqué dans la synthèse des protéines et de la chlorophylle (Tripathi et Singh, 1992). Le soufre est un composant de certains acides aminés comme la cystéine, la méthionine et la cystine et, donc, des protéines. Les vitamines (thiamine et biotine), l'acide lipoïque et la coenzyme A acétyle contiennent du soufre. Celui-ci est impliqué dans la synthèse des glucosides et également dans les réactions à l'obscurité et dans le métabolisme du CO_2 (Dey, 1990). Ces phénomènes permettent d'expliquer l'amélioration de la composition biochimique des feuilles de mûrier après application de soufre.

DEPENDENCE OF CROSSING-OVER FREQUENCY UPON OOPLASMIC FACTORS IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

S.S. PALII*¹ & V.V. KLIMENKO²

1. Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Republic of Moldova, Academiei Str. 1, Kishinev, 277028, Moldova.
2. Institute of Sericulture, Ukrainian Academy of Agricultural Sciences, Merefa 312060, Kharkov Region, Ukraine.

The dependence of crossing-over frequency upon ooplasmic factors has been studied in the silkworm, Bombyx mori. The strains B₁ and B₂, possessing different systems of crossover control mechanisms, are proposed as a part of a genetic model for investigating the mechanisms of ooplasmic control of recombination.

Keywords: Crossing-over frequency, ooplasmic factors, *Bombyx mori* L., genetic model.

INTRODUCTION

It is well known that some characters in the silkworm are maternally inherited as for example voltinism, mosaicism, etc. (Tazima, 1964). Worldwide exploited, although theoretically not understood, hybrid vigour is experimentally shown to be under the influence of cytoplasmic factors in the silkworm (Umeya, 1930). The ability for thermic parthenogenesis depends on the level of individual heterozygosity (Altukhov and Klimenko, 1978) and is suggestively influenced by the direction of crossing of the two components of a hybrid (Klimenko, 1988).

MATERIALS AND METHODS

The experimental material comprised two strains, B₁ and B₂ (the equivalents of J-112 and C-108, respectively), accepted as control strains in many countries. The strains were reared in the same conditions and crossed with the marker line *re pe* (Tazima, 1978) to obtain F₁-hybrid males and then to calculate the crossover frequencies between the markers in F₂. The results are presented in Fig. 1 (N stands for number of egg layings and n for number of eggs).

The recombination frequency (rf) values and their sample errors presented here were estimated by counting crossover and non-crossover progeny (alternative characters) according to the formula (Lakin, 1973):

$$\bar{rf} \pm \sqrt{\frac{\bar{rf}\% (100 - \bar{rf})\%}{n}}$$

* Author to whom correspondence should be addressed.

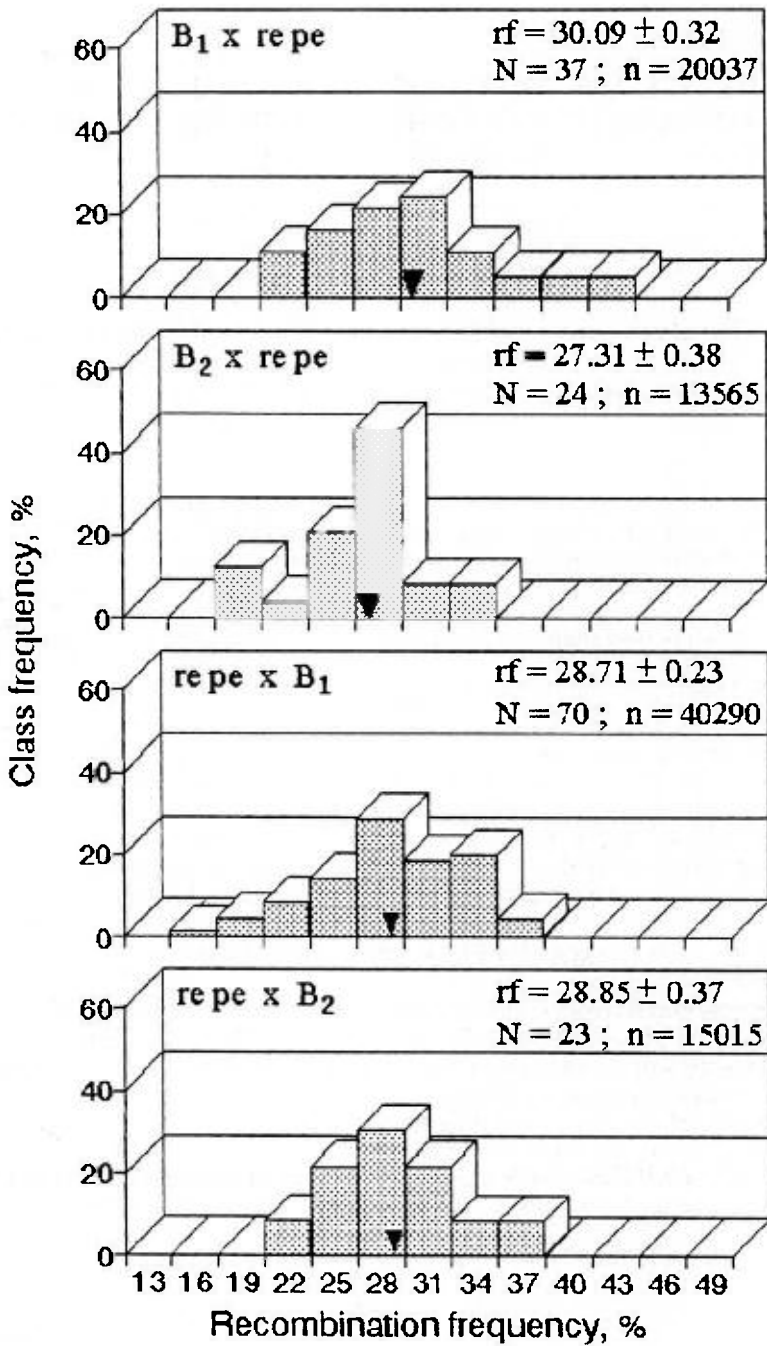


Fig. 1: Dependence of recombination frequency upon the direction of crossing (see text).

Fig. 1 : Fréquence de recombinaison en fonction de la direction du croisement (voir texte).

RESULTS AND DISCUSSION

It can be seen that the cytoplasm (*re pe*) equally interacts with the genotypes *re pe* × B₁ and *re pe* × B₂ as far as recombination frequency is concerned ($rf_1 = 28.71 \pm 0.23\%$, number of egg layings N = 70, number of eggs n = 40290; $rf_2 = 28.85 \pm 0.37\%$, N = 23, n = 15015), $rf = 28.72 \pm 0.36\%$ (N = 24, n = 16152) for *re pe* × (B₁ × B₂) perfectly agreeing with such an interpretation. Ooplasm (B₁) in interaction with the genotype *re pe* × B₁ (combinatorically equivalent to B₁ × *re pe*) gives a higher $rf = 30.09 \pm 0.32\%$ (N = 37, n = 20037) and ooplasm (B₂) with the genotype *re pe* × B₂ (= B₂ × *re pe*) somewhat inhibits crossovers, $rf = 27.31 \pm 0.38\%$ (N = 24, n = 13565).

All the crosses above were studied in the summer season and two of them were also estimated in the spring of the same year. The estimates are as follows:

$$rf(B_1 \times re\ pe) = 30.12 \pm 0.26 \quad (N = 68, n = 31745)$$

$$rf(B_2 \times re\ pe) = 28.76 \pm 0.19 \quad (N = 104, n = 55071)$$

i.e., the difference between them is lower than in summer. Slightly more puzzling are the values of rf in the spring crosses:

$$rf[(B_1 \times B_2) \times re\ pe] = 29.03 \pm 0.26 \quad (N = 76, n = 31147)$$

$$rf[(B_2 \times B_1) \times re\ pe] = 28.68 \pm 0.24 \quad (N = 64, n = 34389)$$

which cannot be considered as different. It may mean that the ooplasm (B₁ × B₂) and (B₂ × B₁) are almost equivalent to each other and not reduced to (B₁) and (B₂) ooplasm, respectively, as generally supposed for freshly laid eggs in mating female B₁ × male B₂ and female B₂ × male B₁, respectively. Ooplasm (B₁ × B₂) and (B₂ × B₁) would rather look like the "mean" of (B₁) and (B₂) ooplasm, the result of their interaction upon rf being closer to the mean of rf for (B₁) and rf for (B₂), i.e.:

$$rf(B_1 \times B_2) \approx rf(B_2 \times B_1) = \frac{rf(B_1) + rf(B_2)}{2}$$

where $rf(B_1)$ and $rf(B_2)$ are taken as the means of summer and spring values.

In the spite of the absence of knowledge in understanding the mechanisms of ooplasmic control of recombination, valuable information could be first obtained in this field through gonad transplantation experiments. Before that, however, a genetic model including extreme variants of rf effects has to be developed. Some strains bred in B₁ and B₂ might be part of such a model because they seem to possess different systems of crossover control mechanisms, which is also confirmed by their reaction to some exogenic influences (Palii and Klimenko, in press).

REFERENCES

- ALTUKHOV Yu. P., KLIMENKO V. V. (1978) A positive correlation between the level of individual heterozygosity and ability for complete thermic parthenogenesis. Dokl. Akad. Nauk SSR, 239(2), 460-462.
- KLIMENKO V. V. (1988) Parthenogenetic development of the silkworm. 380 pp., Doctoral Thesis, Leningrad.
- LAKIN G. F. (1973) Biometry. 344 pp., Vysshaya shkola, Moscow (in Russian).
- PALII S. S., KLIMENKO V. V. (1995) Cross-over frequencies in the silkworm, *Bombyx mori* L., are under the influence of stresses experienced in early ontogenesis. Sericologia, in press.
- TAZIMA Y. (1964) The genetics of the silkworm. 253 pp., Logos Press, London.
- TAZIMA Y. (Ed.) (1978) The silkworm: An important laboratory tool. 307 pp., Kodansha, Tokyo.
- UMEYA Y. (1930) Studies on the vigor of silkworms, *Bombyx mori* L. Genetics, 25, 189-204.

LA FREQUENCE DE *CROSSING-OVER* DEPEND DE FACTEURS OVOPLASMIQUES CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI* L.

S.S. PALII*¹ & V.V. KLIMENKO²

1. Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Republic of Moldova, Academici Str. 1, Kishinev, 277028, Moldova.
2. Institute of Sericulture, Ukrainian Academy of Agricultural Sciences, Merefca 312060, Kharkov Region, Ukraine.

On a étudié la dépendance de la fréquence des crossing-over vis-à-vis des facteurs ovoplasmiques chez le ver à soie Bombyx mori. Les souches B₁ et B₂, qui possèdent des systèmes différents de contrôle des mécanismes de crossing-over, sont proposées comme modèles génétiques partiels de l'étude des mécanismes du contrôle ovoplasmique de la recombinaison.

INTRODUCTION

Il est bien connu que certains caractères chez le ver à soie sont transmis par la mère, comme par exemple le voltinisme, le mosaïcisme, etc. (Tazima, 1964). Des expériences ont démontré que la vigueur hybride, exploitée partout dans le monde bien que mal connue sur le plan théorique, est influencée par les facteurs cytoplasmiques chez le ver à soie (Umeya, 1930). La faculté de parthénogenèse thermique dépend du degré d'hétérozygotie individuelle (Altukhov et Klimenko, 1978), ce qui pourrait suggérer qu'elle est influencée par la direction du croisement des deux composants d'un hybride (Klimenko, 1988).

MATERIELS ET METHODES

Le matériel expérimental comprend deux souches, B₁ et B₂ (équivalents de J-112 et C-108 respectivement) qui sont considérées comme souches témoins dans de nombreux pays. Les souches ont été élevées dans des conditions identiques et croisées avec une lignée marqueur *re pe* (Tazima, 1978) pour obtenir des mâles hybrides F₁ et calculer la fréquence de *crossing-over* entre les marqueurs chez F₂. Les résultats sont présentés dans la figure 1 (N indique le nombre de pontes et n le nombre d'oeufs).

Les valeurs de la fréquence de recombinaison (rf) et les écarts types correspondants présentés ici ont été évalués en comptant les descendants présentant un *crossing-over* ou non (caractères alternés) d'après la formule suivante (Lakin, 1973) :

$$\bar{r} \pm \sqrt{\frac{\bar{r}\% (100 - \bar{r})\%}{n}}$$

* Auteur auquel doit être adressée la correspondance.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le cytoplasme (*re pe*) interagit indifféremment avec les génotypes $re\ pe \times B_1$ et $re\ pe \times B_2$ pour ce qui concerne la fréquence de recombinaison (*rf*) ($rf_1 = 28,71 \pm 0,23\%$, nombre de pontes $N = 70$, nombre d'oeufs $n = 40290$; $rf_2 = 28,85 \pm 0,37\%$, $N = 23$, $n = 15015$), le fait que $rf = 28,72 \pm 0,36\%$ ($N = 24$, $n = 16152$) pour $re\ pe \times (B_1 \times B_2)$ concorde tout à fait avec cette interprétation. L'ovoplasme (B_1) en interaction avec le génotype $re\ pe \times B_1$ (sur le plan combinatoire équivalent à $B_1 \times re\ pe$) donne une valeur plus élevée pour $rf = 30,09 \pm 0,32\%$ ($N = 37$, $n = 20037$) et l'ovoplasme (B_2) en interaction avec le génotype $re\ pe \times B_2 (= B_2 \times re\ pe)$ inhibe dans une certaine mesure les *crossing-over* $rf = 27,31 \pm 0,38\%$ ($N = 24$, $n = 13565$).

Tous ces croisements ont été étudiés en été et deux d'entre eux ont également été évalués au cours du printemps de la même année. Les estimations sont les suivantes :

$$\begin{aligned} rf(B_1 \times re\ pe) &= 30.12 \pm 0.26 (N = 68, n = 31745) \\ rf(B_2 \times re\ pe) &= 28.76 \pm 0.19 (N = 104, n = 55071) \end{aligned}$$

c'est-à-dire que la différence entre eux est plus faible qu'en été. Plus surprenantes sont les valeurs de *rf* obtenues chez les croisements de printemps :

$$\begin{aligned} rf[(B_1 \times B_2) \times re\ pe] &= 29.03 \pm 0.26 (N = 76, n = 31147) \\ rf[(B_2 \times B_1) \times re\ pe] &= 28.68 \pm 0.24 (N = 64, n = 34389) \end{aligned}$$

qu'on ne peut considérer comme différentes. Cela peut impliquer que les ovoplasmes ($B_1 \times B_2$) et ($B_2 \times B_1$) sont presque équivalents entre eux et ne se limitent pas respectivement aux ovoplasmes (B_1) et (B_2) comme on le suppose généralement pour les oeufs nouvellement pondus chez les croisements femelle $B_1 \times$ mâle B_2 et femelle $B_2 \times$ mâle B_1 respectivement. Il semblerait plutôt que les ovoplasmes ($B_1 \times B_2$) et ($B_2 \times B_1$) correspondent à la "moyenne" des ovoplasmes (B_1) et (B_2), le résultat de leur action sur *rf* étant plus proche de la moyenne de *rf* pour (B_1) et de *rf* pour (B_2), c'est-à-dire :

$$rf(B_1 \times B_2) = rf(B_2 \times B_1) \approx \frac{rf(B_1) + rf(B_2)}{2}$$

où *rf* (B_1) et *rf*(B_2) sont considérés comme les moyennes des valeurs été et printemps.

Bien que les mécanismes de contrôle ovoplasmique de la recombinaison ne soient pas encore compris, des expériences de transplantation des gonades pourrait permettre d'obtenir des renseignements importants pour la première fois dans ce domaine. Avant cela, il faudra néanmoins mettre au point un modèle génétique comprenant des variantes extrêmes des effets *rf*. Certaines souches isolées chez B_1 et B_2 pourraient faire partie de ce modèle car elles possèdent des systèmes différents pour les mécanismes de contrôle du *crossing-over*, ce qui est également confirmé par leur réaction à certaines influences exogènes (Palii et Klimentko, sous presse).

FOOD CONSUMPTION AND GROWTH OF LARVAE IN *ANTHRAEA MYLITTA* DRURY (SATURNIIDAE: LEPIDOPTERA)

ARUNA SINGH, A.K. TRIPATHI & D.P. SINHA

Department of Zoology, Magadh University, Gaya - 824 234, India.

In Antheraea mylitta, the first instar larva grows 72.5 times (7150%) at the end of the fifth instar. The larval weight is almost doubled in each instar in 5 days, but the growth rate decreases with time. Food consumption increases with age in all the five instars. There is a significant and positive relationship between food consumption and feeding duration, and between growth and food consumption/g body wt./day. The pattern of weight increase (percentage of change on the initial weight) is identical in all larval instars, being the lowest on day 1 and becoming progressively higher every day. The pattern of growth (%) is also identical in all larval instars, being the highest on day 1 and decreasing every day thereafter.

Keywords: *Antheraea mylitta*, food consumption, larval growth.

The present communication reports on food consumption, increase in body weight, and the rate of growth in the five larval instars of the tasar silk insect (*Antheraea mylitta*) reared in the laboratory on mature leaves of pruned Arjuna (*Terminalia arjuna*) trees (Tripathi *et al.*, 1988). Cocoons of *A. mylitta* were procured from the Tasar Depot, Chaibasa (Bihar), in January. All grainage operations were carried out according to standard techniques (Krishnaswamy *et al.*, 1973; Jolly, 1983). First instar larvae hatching out of eggs in July were allowed to feed on Arjuna leaves. Twenty freshly hatched and collectively weighed first instar larvae were mounted on a fresh, preweighed Arjuna twig inserted in 4 bottles, each half-filled with water. A preweighed twig in the fifth bottle was used as a control to ascertain the weight loss of the twig due to transpiration. After every 24 hours, the twigs and the larvae were weighed again and the weight of food consumed by 20 larvae in 24 hours was determined. Recording of the weight of larvae and food consumption was made every 24 hours during the stadial duration of all the five larval instars. From these values, data on the larval weight, daily food consumption and weight increase were calculated.

The first instar larva grows 72.5 times (7150%) to attain a weight of 29 g at the end of the fifth instar. The gross body weight of the larva increases progressively every day in each instar, but the growth rate decreases with time from day 1 to day 5 (Fig. 1). The weight of the larva is almost doubled in each instar in 5 days, the mean ratio of increase being 1.92. Food consumption increases with age in all instars (Fig. 1). There is a significant and positive relationship between food consumption and feeding duration (Fig. 2). Food consumption/g body wt./day increases in the second instar. It is not less in the third instar, but it comes down in the fourth and fifth instars to the same level as that of the first instar (Fig. 1). There is no significant difference in the percentage of weight increase on the initial weight over a period of 5 days in the first three larval instars, but it is significantly lower in the fourth and fifth instar larvae. The pattern of weight increase on the initial weight (%) is identical in all instars, being the lowest on day 1 and becoming progressively higher every day onwards (Fig. 1). There is also no significant difference in the extent of growth (13-15%) in all the five instars during the 5-day period. The pattern of growth is also identical in all instars, being the highest on day 1 and decreasing every day thereafter.

Fig. 1: Food consumption, percentage of weight change on the initial weight, and growth (%) in five larval instars of *A. mylitta* during a period of five days in each instar.

Fig. 1 : Consommation de nourriture, pourcentage d'augmentation du poids par rapport au poids initial et croissance (%) aux cinq âges larvaires d'A. mylitta sur une période de cinq jours à chacun des stades.

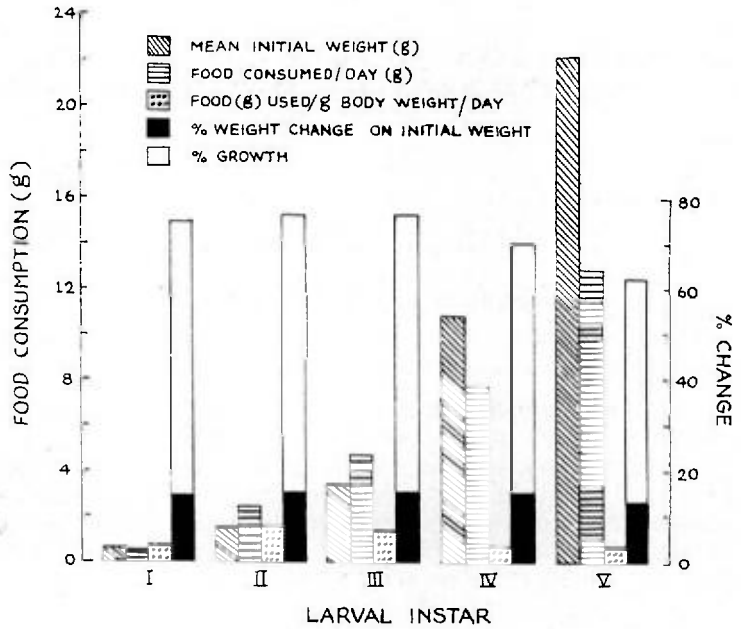
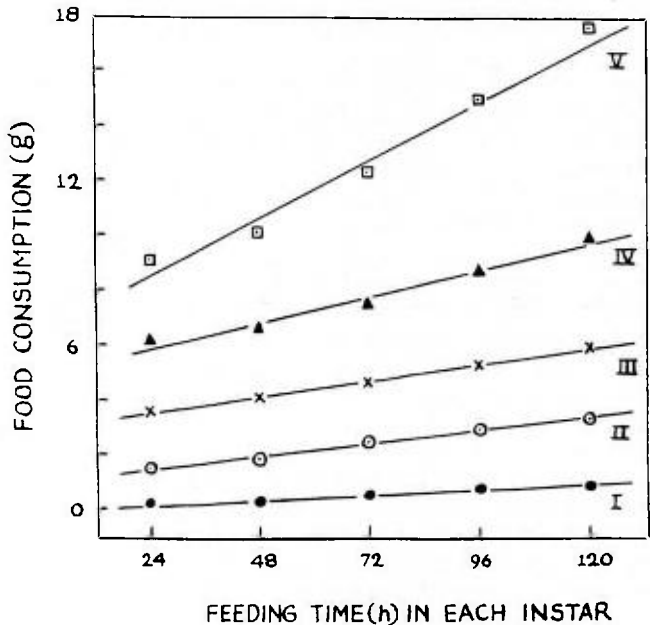


Fig. 2: Relationship between time (h) and food consumption (g) during a period of five days in five larval instars (I-V) of *A. mylitta*.

Fig. 2 : Relation entre la durée du nourrissage (h) et la consommation de nourriture (g) sur une période de cinq jours au cours des cinq âges larvaires (I à V) d'A. mylitta.



Earlier investigations on insects have led to the conclusion that (1) there is a significant relationship between length of feeding time and food consumption and growth (Singhal, 1976), (2) larvae grow faster and more efficiently in their younger stages (Scriber and Feeny, 1979), (3) growth is proportional to food consumption (Capinera, 1978; Singhal, 1978; King *et al.*, 1981), (4) food consumption increases in direct proportion to larval size (Capinera, 1978; Braham and Wiltler, 1978), and (5) there is a decline in food consumption and tissue growth with the increase in body weight (Vots *et al.*, 1978). All these features are exhibited by the larvae of *Antheraea mylitta*. The larval weight increases 10.7 times (0.40-4.29 g) in the first 15 days of the larval life, but it increases only 4 times (7.13-29.05 g) during the following 14 days. Food consumption increases in successive instars, but food consumption/g body wt./day decreases during the fourth and fifth instars. The rate of growth is maintained at 13-15% every 5 days throughout the larval life. The growth pattern, characterised by rapid initial growth followed by a decrease with increase in size, is a normal phenomenon in nature and fits in well with the statement that "living tissue progressively loses the power to reproduce itself at the rate at which it was formed" (Medawar, 1945).

REFERENCES

- BRAHAM R.R., WITLER J.A. (1978) Consumption of foliage of juvenile and mature red oak trees by late instar gypsy moth larvae. *J. Econ. Entom.*, 71, 425-426.
- CAPINERA J.L. (1978) Variegated cutworm consumption of sugarbeet foliage and development of sugarbeet. *J. Econ. Entom.*, 71, 978-980.
- JOLLY M.S. (1983) Organisation of industrial bivoltine grainage for tropics. Seri. Project No. 3, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore.
- KING P.D., MERCER C.F., MEEKINGS J.S. (1981) Ecology of black beetle, *Heteronychus arator*: Influence of plant species on larval consumption, utilization and growth. *Entomol. Exp. Appl.*, 29, 109-116.
- KRISHNASWAMY S., NARASIMHANNA M.N., SURYA NARAYAN S.K., KUMAR R. (1973) Silkworm Rearing. Sericulture Manual 2. FAO Agric. Services Bull., 15/2, 51-53.
- MEDAWAR P.B. (1945) Size, Shape and Age. *In* Essays on Growth and Form. Ed. W.E. Le Gros Clark and P.B. Medawar, pp. 157-187, Clarendon Press, Oxford.
- SCRIBER J.M., FEENY P. (1979) Growth of herbivorous caterpillars in relation to feeding. *Ecologia*, 60, 829-850.
- SINGHAL R.N. (1976) Food energy budget of the ladybird beetle, *Coccinella septempunctata* L. (Coccinellidae). *Int. J. Ecol. Environ. Sci.*, 2, 97-106.
- SINGHAL R.N. (1978) The rates of consumption and utilization of food in *Poeciloceros pictus* Fabr. *Indian J. Ecol.*, 5, 214-221.
- TRIPATHI A.K., SINHA D.P., SINGH S.B. (1988) A comparative study of rearing *Antheraea mylitta* (Saturniidae: Lepidoptera) larvae on nine species of host plants. *Environment and Ecology*, 6, 331-334.
- VOTS L.K., SINGH J.S., YADAV P.S. (1978) Food energy budgets of *Pieris brassicae* larvae, a pest of cruciferous agro-ecosystems. *Agro-ecosystem*, 3, 303-312.

CONSOMMATION DE NOURRITURE ET CROISSANCE LARVAIRE CHEZ *ANTHERAEA MYLITTA* DRURY (SATURNIIDAE : LEPIDOPTERA)

ARUNA SINGH, A.K. TRIPATHI & D.P. SINHA

Department of Zoology, Magadh University, Gaya - 824 234, Inde.

Chez Antheraea mylitta, la taille larvaire est multipliée par 72,5 (7 150 %) entre le premier âge et la fin du cinquième âge. Le poids larvaire est multiplié par 2 à chaque âge en 5 jours, mais le taux de croissance diminue avec l'âge. La consommation de nourriture augmente à mesure que la larve vieillit à tous les âges. Il y a une relation significative et positive entre la consommation de nourriture et la durée du nourrissage et entre la croissance et la consommation de nourriture/g/jour. Le profil d'augmentation du poids (pourcentage de modification par rapport au poids initial) est identique à tous les âges : il est minimal le premier jour et augmente progressivement tous les jours. Le profil de croissance (%) est également identique à tous les âges larvaires : il est maximal le premier jour et diminue ensuite quotidiennement.

Cette communication décrit la consommation de nourriture, l'augmentation du poids et le taux de croissance aux cinq âges larvaires de l'insecte séricigène tasar (*Antheraea mylitta*) élevé en laboratoire sur des feuilles matures de badamiers (*Terminalia arjuna*) taillés (Tripathi et coll., 1988). Les cocons d'*A. mylitta* ont été fournis par le *Tasar Depot* (Chaibasa, Bihar) en janvier. Toutes les opérations de grainage ont été réalisées selon les techniques standard (Krishnaswamy et coll., 1973 ; Jolly, 1983). Les larves du premier âge écloses en juillet ont été laissées sur des feuilles de badamier. Vingt larves du premier âge en sortie d'éclosion et pesées collectivement ont été déposées sur des rameaux de badamier frais, préalablement pesés, placés dans quatre bouteilles chacune remplie à moitié d'eau. Un rameau, préalablement pesé et placé dans une cinquième bouteille, a servi de témoin afin de déterminer la perte de poids due à la transpiration chez le rameau. Les rameaux et les larves ont été de nouveau pesés toutes les 24 heures et le poids de la nourriture consommée par 20 larves en 24 heures a été déterminé. Le poids des larves et de la nourriture consommée a été relevé toutes les 24 heures sur toute la durée du stade larvaire et à tous les âges. Les données concernant le poids larvaire, la consommation journalière de nourriture et l'augmentation du poids ont été calculées sur la base des valeurs relevées.

Le poids larvaire est multiplié par 72,5 (7 150 %) entre le premier âge et la fin du dernier âge, où la larve atteint un poids de 29 g. Le poids larvaire brut augmente graduellement tous les jours à chaque âge mais le taux de croissance diminue à mesure que la larve vieillit entre le premier et le cinquième jour (Fig. 1). Le poids larvaire est pratiquement multiplié par deux à chaque âge en cinq jours, le taux moyen d'augmentation étant de 1,92. La consommation de nourriture augmente à mesure que la larve vieillit à tous les âges. Il y a une relation significative et positive entre la consommation de nourriture et la durée du nourrissage (Fig. 2). La consommation de nourriture/g/jour augmente au deuxième âge. Elle ne diminue pas au troisième âge mais, aux quatrième et cinquième âges, revient au même niveau que celle du premier âge (Fig. 1). Le pourcentage d'augmentation de poids ne présente pas de différence significative sur une période de 5 jours aux trois premiers âges mais il est nettement plus faible chez les larves des quatrième et cinquième âges. Le profil d'augmentation du poids par rapport au poids initial (%) est identique à tous les âges : il est minimal au premier jour et augmente ensuite

progressivement (Fig. 1). Le taux de croissance (de 13 à 15 %) ne présente pas non plus de différence significative entre les différents âges sur les cinq jours. Le profil de croissance est également identique à tous les âges : il est maximal le premier jour et diminue ensuite tous les jours.

Des études antérieures réalisées sur d'autres insectes ont abouti à la conclusion que (1) il y a une relation significative entre la durée de la période de nourrissage, la consommation de nourriture et la croissance (Singhal, 1976), (2) les larves grossissent plus vite et de manière plus efficace aux premiers âges (Scriber et Feeny, 1979), (3) la croissance est proportionnelle à la consommation de nourriture (Capinera, 1978 ; Singhal, 1978 ; King et coll., 1981), (4) l'augmentation de la consommation de nourriture est directement proportionnelle à la taille de la larve (Capinera, 1978 ; Braham et Wiltner, 1978) et (5) la consommation de nourriture et la croissance des tissus diminuent à mesure que le poids augmente (Vots et coll., 1978). Toutes ces caractéristiques sont présentes chez les larves d'*Antheraea mylitta*. Le poids larvaire est multiplié par 10,7 (de 0,40 à 4,29 g) au cours des 15 premiers jours du stade larvaire et par seulement 4 (de 7,13 à 29,05 g) au cours des 14 jours suivants. La consommation de nourriture augmente d'un âge à l'autre mais la consommation de nourriture/g/jour diminue au cours des quatrième et cinquième âges. Le taux de croissance se maintient entre 13 et 15 % tous les cinq jours pendant toute la durée du stade larvaire. Le profil de croissance, qui se caractérise par une croissance initiale rapide suivie d'une diminution à mesure que la taille augmente, est un phénomène couramment observé dans la nature et illustre bien l'observation selon laquelle "le tissu vivant perd progressivement la capacité de se reproduire à la vitesse à laquelle il a été formé" (Medawar, 1945).

OCCURRENCE OF L-ASCORBIC ACID IN THE FAT BODY OF SILKWORM PUPAE (*BOMBYX MORI* L.)

S.K. MAJUMDER, R.N. DATTA, R. KAR & S.S. SINHA

Section of Soil Science and Chemistry, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, West Bengal, India.

Occurrence of L-ascorbic acid in the fat body of silkworm pupae was confirmed by thin-layer chromatography (TLC) followed by absorption spectrophotometry (AS). Thus this study has established a controversial issue.

Keywords: L-ascorbic acid, silkworm, fat body.

INTRODUCTION

Ascorbic acid was not recognized as an insect nutrient for many years (Day, 1949), until reports revealed that it acts both as a phagostimulant and a nutrient in both the locust and the silkworm (Dadd, 1957; Ito, 1961; Vanderzant and Richardson, 1963). It promotes the growth of the silkworm and most likely is not synthesized in the silkworm (Ito and Arai, 1965; Dutta Gupta *et al.*, 1972; Ito, 1978; Horie and Watanabe, 1980). Gamo and Seki (1954) reported that it is synthesized in the fat body of the silkworm by the dehydrogenation of mannose. However, a conclusive finding regarding the occurrence of L-ascorbic acid in the fat body of the silkworm is missing.

The present work was undertaken to ascertain the occurrence of L-ascorbic acid in the fat body of pupae (*Bombyx mori* L.).

MATERIALS AND METHODS

Homogenates were made from the fat bodies of 5-day-old pupae (Nistari silkworm race), collected from the Entomology Section of the Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, West Bengal, India.

Homogenization was carried out in 0.03 M phosphate buffer at pH 6.8 with a hand homogenizer for 5 min. and ascorbic acid in the homogenate was determined following the methods of Roe and Kuetner (1943), thin-layer chromatography (TLC, Stahl, 1969) and absorption spectrophotometry (AS).

RESULTS AND DISCUSSION

It was observed that incubation of the homogenate with 2,4-dinitro phenyl hydrazine (DNPH) at 40 °C for 3 hours gave a scarlet precipitate of 2,4-dinitro phenyl hydrazone of L-ascorbic acid (a DNPH derivative of L-ascorbic acid) which, according to Dutta Gupta *et al.* (1972), is a DNPH derivative of sugars and has been erroneously estimated as ascorbic acid.

We performed thin-layer chromatography (TLC) of the DNPH derivative of L-ascorbic acid (Stahl, 1969). It was found that the DNPH derivative yielded clear scarlet spot on the chromatogram

Fig. 1: Detection of a DNPH derivative of L-ascorbic acid in pupae (*Bombyx mori* L.) by thin-layer chromatography using silica gel G (layer thickness 0.10 mm) and chlorophorm:ethylacetate (50:50) as developing solvent.

(Detection through the eye).
 1. Fat body extract of pupae.
 2. Authentic L-ascorbic acid.
 'a', 'c' and 'd' spots refer to yellow sugar derivatives.
 'b' spot refers to the DNPH derivative of L-ascorbic acid.

Fig. 1 : Détection d'un dérivé DNPH d'acide L-ascorbique dans les chrysalides de *Bombyx mori* L. par chromatographie en couche mince utilisant un gel G de silice (épaisseur de la couche : 0,10 mm) et du chlorophorme:acétate (50:50) comme solvant de développement.

(Détection visuelle).
 1. Extrait de corps adipeux de chrysalide.
 2. Acide L-ascorbique authentique.
 Les taches a, c et d indiquent les dérivés de sucre jaune.
 La tache b indique le dérivé DNPH d'acide L-ascorbique.

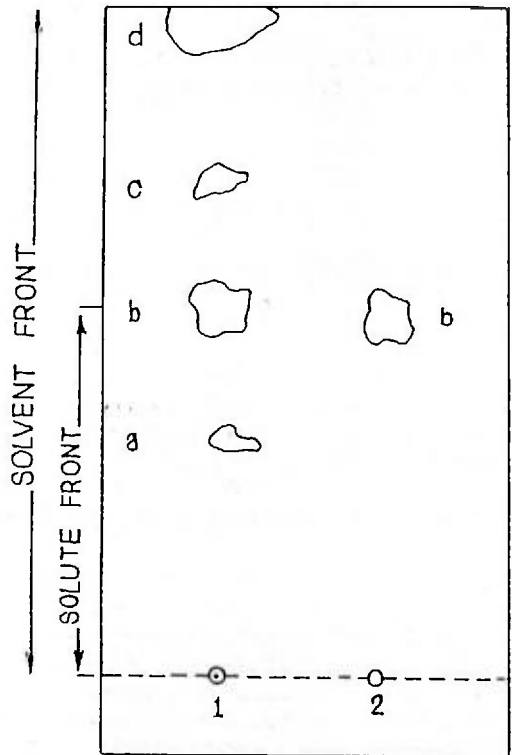
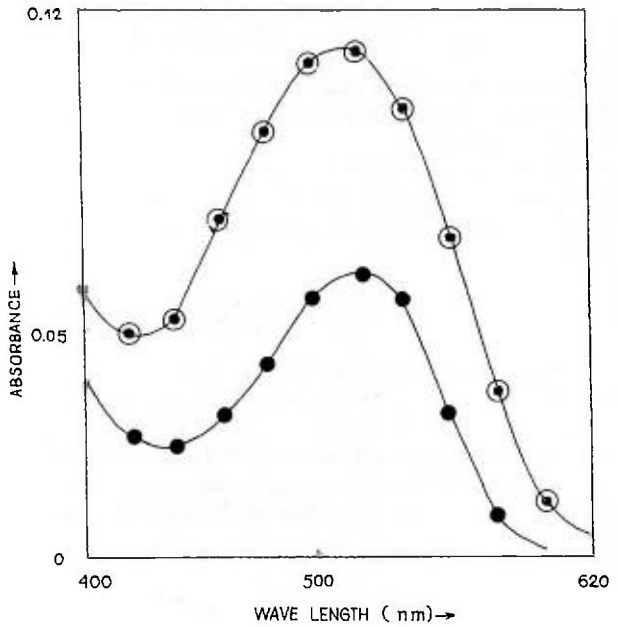


Fig. 2: Absorption spectra of 2,4-dinitro phenyl hydrazone of L-ascorbic acid in 85% H₂SO₄ after thin-layer chromatography on silica gel G.

Fig. 2 : Spectres d'absorption du 2,4-dinitro phényl hydrazone d'acide L-ascorbique dans du H₂SO₄ à 85% après chromatographie en couche mince sur un gel G de silice.

○—○—○ Authentic L-ascorbic acid.
 Acide L-ascorbique authentique.
 ●—●—● Occurrence of L-ascorbic acid in the fat body of pupae.
 Présence d'acide L-ascorbique dans le corps adipeux.



and was fully separated from various yellow sugar derivatives which mostly ran along the solvent front. The scarlet spot appeared to be the same as that prepared from authentic L-ascorbic acid (Fig. 1). Further, the scarlet spot was cut from the chromatogram and eluted with acetone (E. Merck, chromatography grade). After removal of the solvent it was dissolved in 85% sulphuric acid (E. Merck, pure grade) and its absorption maximum was determined. Its absorption maximum was found to be at 520 nm, which is exactly similar to that obtained from the authentic sample (Fig. 2).

The results apparently indicate the occurrence of L-ascorbic acid in the fat body of silkworm pupae which so long remained as a controversy. Hence, it is inferred that either ascorbic acid is synthesized in the fat body of silkworm pupae by the dehydrogenation of mannose (Gamo and Seki, 1954) or due to the presence of some symbiotic bacteria in it (Pierre, 1962) or it is a fortuitous component derived from the mulberry leaves eaten by the silkworm in the larval stage which was found to contain 2.597 µg L-ascorbic acid per newly moulted 3rd instar larvae (Ito and Arai, 1965). This aspect, however, needs to be studied further to arrive at a definite conclusion.

REFERENCES

- DADD R.H. (1957) Ascorbic acid and carotene in the nutrition of the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk). *Nature*, 179, 427-428.
- DAY M.F. (1949) The distribution of ascorbic acid in the tissues of insects. *Aust. J. Sci. Res.*, Ser. B2, 19-30.
- DUTTA GUPTA S., RAY CHAUDHURI C., CHATTERJEE I.B. (1972) Incapability of L-ascorbic acid synthesis by insects. *Arch. Biochem. Biophys.*, 152, 889-890.
- GAMO T., SEKI H. (1954) Research Reports. Fac. Textile Sericult., Shinshu Univ., 4, 29-38.
- HORIE Y., WATANABE H. (1980) Recent advances in sericulture. *Ann. Rev. Entomol.*, 25, 49.
- ITO T. (1961) Effect of dietary ascorbic acid on the silkworm, *Bombyx mori* L. *Nature*, 192, 951-952.
- ITO T., ARAI N. (1965) Nutrition of silkworm, *Bombyx mori* L. IX. Further studies on the nutritive effects of ascorbic acid. *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, 20, 1-19.
- ITO T. (1978) Silkworm nutrition. *In The Silkworm: An Important Laboratory Tool*. Edited by Y. Tazima, Kodansha Ltd., Tokyo, pp. 121-157.
- PIERRE L.L. (1962) Synthesis of ascorbic acid by the normal fat body of the cockroach, *Leucophaea maderae* (F.), and by its symbionts. *Nature*, 193, 904-905.
- ROE J.H., KUETHER C.A. (1943) Determination of ascorbic acid in whole blood, plasma or urine. *J. Biol. Chem.*, 147, 399.
- STAHL E. (1969) *Thin-Layer Chromatography: A Laboratory Handbook*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 305-306.
- VANDERZANT E.S., RICHARDSON C.D. (1963) Ascorbic acid in the nutrition of plant feeding insects. *Science*, 140, 989-991.

PRESENCE D'ACIDE L-ASCORBIQUE DANS LE CORPS ADIPEUX DES CHRYSALIDES DE VER A SOIE (*BOMBYX MORI* L.)

S.K. MAJUMDER, R.N. DATTA, R. KAR & S.S. SINHA

Section of Soil Science and Chemistry, Central Sericultural Research and Training Institute,
Berhampore - 742 101, West Bengal, Inde.

La présence d'acide L-ascorbique dans le corps adipeux des chrysalides de ver à soie a été confirmée par chromatographie en couche mince (TLC), puis par spectrophotométrie d'absorption (AS). Cette étude soulève donc une polémique.

INTRODUCTION

Pendant de nombreuses années, l'acide ascorbique n'a pas été considéré comme un élément nutritif des insectes (Day, 1949) jusqu'à ce que des travaux démontrent qu'il servait à la fois de phagostimulant et d'élément nutritif aussi bien chez le criquet que chez le ver à soie (Dadd, 1957 ; Ito, 1961 ; Vanderzant et Richardson, 1963). Il facilite la croissance du ver à soie et n'est vraisemblablement pas synthétisé chez cet insecte (Ito et Arai, 1965 ; Dutta Gupta et coll., 1972 ; Ito, 1978 ; Horie et Watanabe, 1980). Gamo et Seki (1954) ont observé qu'il était synthétisé dans le corps adipeux du ver à soie par déshydrogénation du mannose. Cependant, nous manquons de résultats concluants sur la présence d'acide ascorbique dans le corps adipeux du ver à soie.

Cette étude a été entreprise afin de déterminer la présence éventuelle d'acide ascorbique dans le corps adipeux des chrysalides (*Bombyx mori* L.).

MATERIELS ET METHODES

Des homogénats ont été réalisés à partir de corps adipeux de chrysalides âgées de 5 jours (race Nistari), fournies par la Section d'entomologie du *Central Sericultural Research and Training Institute* de Berhampore (Bengale occidentale, Inde).

L'homogénéisation a été réalisée dans un tampon phosphate 0,03 M à pH 6,8 avec un homogénéisateur manuel pendant 5 minutes et l'acide ascorbique contenu dans l'homogénat a été déterminé suivant les méthodes de Roe et Kuether (1943), par chromatographie en couche fine (TLC, Stahl, 1969) et spectrophotométrie d'absorption (AS).

RESULTATS ET DISCUSSION

L'incubation de l'homogénat avec du 2,4-dinitro phényl hydrazine (DNPH) à 40 °C pendant 3 heures donne un précipitat de couleur écarlate de 2,4-dinitro phényl hydrazone d'acide L-ascorbique (dérivé DNPH d'acide L-ascorbique) qui, d'après Dutta Gupta et coll. (1972), est un dérivé DNPH des sucres et a été considéré, à tort, comme de l'acide ascorbique.

Nous avons réalisé une chromatographie en couche fine (TLC) du dérivé DNPH d'acide L-ascorbique (Stahl, 1969). Le dérivé DNPH donne une tache écarlate distincte sur le chromatogramme qui est clairement séparée des divers dérivés jaunes du sucre qui, pour la plupart, coulent en avant du solvant. La tache écarlate semble être identique à celle préparée à partir d'acide

L-ascorbique authentique (Fig. 1). La tache écarlate a été ensuite découpée du chromatogramme et élue dans de l'acétone (E. Merck, grade chromatographie). Une fois le solvant ôté, elle a été dissoute dans de l'acide sulfurique à 85 % (E. Merck, grade pur) et sa maximale d'absorption a été déterminée. Sa maximale d'absorption est de 520 nm, chiffre identique à celui obtenu pour l'échantillon authentique (Fig. 1).

Ces résultats semblent indiquer la présence d'acide L-ascorbique dans le corps adipeux des chrysalides de ver à soie, question qui est restée longtemps une controverse. On en conclut donc que l'acide ascorbique est soit synthétisé dans le corps adipeux des chrysalides de ver à soie par déshydrogénation du mannose (Gamo et Seki, 1954), soit dû à la présence de bactéries symbiotiques dans cet organe (Pierre, 1962), soit il s'agit un composant fortuit, dérivé des feuilles de mûrier consommées par le ver à soie au stade larvaire, qui contient 2,597 µg d'acide L-ascorbique par larve du 3^e âge en sortie de mue (Ito et Arai, 1965). Cet aspect demande néanmoins d'être approfondi pour arriver à une conclusion définitive.

NEW RECORD OF A COCCINELLID PREDATOR ON THE PINK MEALYBUG, *MACONELLYCOCCUS HIRSUTUS* (GREEN)

M.V. SANTHA KUMAR, N. CHAKRABORTY, C. ASWANI KUMAR,
S.S. BHATTACHARYA & A.K. SAHAKUNDU

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

Keywords: Mealybug, biological control, predator, Coccinellidae.

The pink mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae), is one of the major insect pests causing damage to mulberry plants, fall of leaf production, leading to heavy economic loss in silk industry, particularly in West Bengal, India. Apart from the economic aspect, the attack of the mealybug results in gross morphoanatomical changes that manifest as Tukra disease in mulberry (Misra, 1919). The pest prefers the apical region of the host plant for drawing nourishment (Raichoudhury, 1958). Nymphs and adults usually remain congregated in large numbers and suck up the sap from the tip of the shoot, leaves and petioles by thrusting their long, filamentous stylet fascicle under the deep cortical layer. Such attacks arrest the vertical growth of the internodes, causing crinkling and crumpling of leaves, and the affected region also develops deep green colour and swelling. Besides, reduction of leaf area, yellowing of leaves, premature leaf fall due to the impaired function of the petiole are the other symptoms of Tukra disease (Ghosh, 1972). The silk industry in West Bengal is thus adversely affected due to inadequate supply of healthy mulberry leaves.

The attempt to control the mealybug with different insecticides has proved of little effect as the pest flourishes in cracks and crevices of bark, at the petiole bases and the undersurface of crumpled leaves. Moreover, the mealybug has developed some adaptations by the formation of some waxy filamentous ovisac and waxy coating during late nymphal and adult stages. In addition, the residual effects of insecticides might prove fatal to silkworms and also upset the ecobalance. Thus, biological control, as already proved as a "living weapon", has the potential to control the mealybug.

In view of the harmful effects caused by the mealybug to mulberry plants, an extensive survey was conducted in the mulberry fields of Murshidabad and Birbhum districts of West Bengal, India, during March-July, 1992, when the mealybug population was at its peak. The screening of infested shoots revealed some grubs (Fig. 1) and adult beetles of a predator (Fig. 2) feeding on *M. hirsutus* during all its developmental stages. These grubs were reared in the biological control laboratory of this Institute for adult emergence and were identified as *Scymnus nubilus* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae). This report is the first of its kind which evinces that this native natural predator feeds on *M. hirsutus*.

According to earlier workers, *S. nubilus* is polyphagous in nature and is known to be the predator of a number of insect pests of different agricultural crops in India (Table I). It has also been observed that it can withstand the adverse temperature (45 °C) and relative humidity (100%) conditions prevailing during the summer and rainy seasons in West Bengal.

S. nubilus completes its life cycle in 21.42 days. The elliptical eggs are bright yellow in colour. The grubs developed through four instars covered with waxy filamentous structures followed by prepupal and pupal stages. Both grubs and adults feed on all life stages of the mealybug. The adult beetles are small (1.1 × 0.75 mm) and black in colour.

Table I. List of other hosts of *S. nubilus*.

Tableau I. Liste des autres hôtes de *S. nubilus*.

| Serial no. | Host | Crop | State | Reference |
|-------------|---|-----------------------------------|-------------------------------|---|
| N° de série | Hôte | Culture | Etat | Référence |
| 1 | <i>Pseudococcus saccharifolli</i> (Green) | Sugarcane <i>Canne à sucre</i> | Bihar India / Inde | Mohammad Ali 1963 |
| 2 | <i>Thrips tabaci</i> Lind. | Onion <i>Oignon</i> | Rajasthan India / Inde | Saxena 1975 |
| 3 | <i>Contarinia sorghicola</i> Coq. | Jowar | Karnataka India / Inde | Thontadarya <i>et al.</i> / <i>et coll.</i> 1979 |
| 4 | <i>Therioaphis maculata</i> | Lucerne <i>Luzerne</i> | Uttar Pradesh India / Inde | Faruqui <i>et al.</i> / <i>et coll.</i> 1986 |

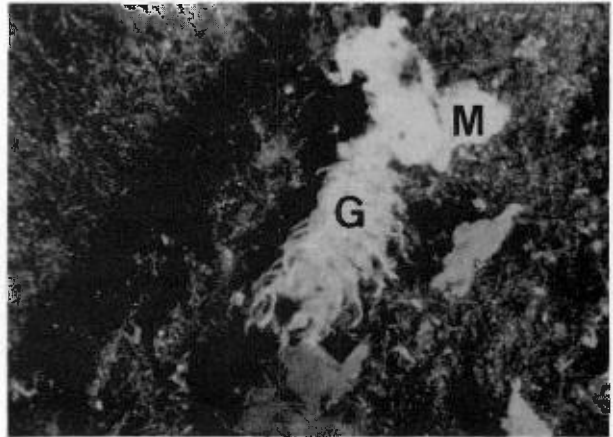


Fig. 1: *S. nubilus* grub feeding on mealybug eggmass.

Fig. 1 : Asticot de *S. nubilus* se nourrissant d'oeufs d'aleurode.

M: Mealybug / Aleurode.
G: Grub / Asticot.

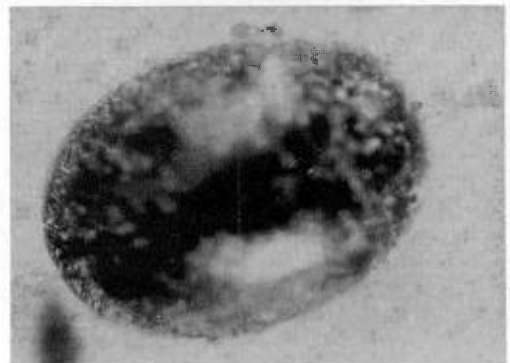


Fig. 2: *S. nubilus* adult.

Fig. 2 : Adulte de *S. nubilus*.

As the predator can withstand the local adverse climatic conditions and is capable of consuming mealybugs at all developmental stages, the population of *S. nubilus* can be augmented in the laboratory and released in the field for the successful control of *M. hirsutus* as well as Tukra.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to the Director, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, for providing facilities and to the International Institute of Entomology, London, for identifying the predator.

REFERENCES

- FARUQUI S.A., PANDEY K.C., PATIL B.D. (1986) Field population studies and natural control of spotted alfalfa aphid. *Indian J. Ecol.*, 13(1), 120-122.
- GHOSH S.K. (1972) Morpho-histological changes in some economic plants due to the infestation of mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae). *Indian J. Agric. Sci.*, 42(4), 329-334.
- MISRA C.S. (1919) Tukra disease of mulberry. *Proc. 3rd Ent. Mtg., Pusa*, pp. 610-618.
- MOHAMMAD ALI S. (1963) A preliminary note on the natural enemies of sugarcane mealybug, *Pseudococcus saccharifolii* (Green) in Bihar, India. *Indian J. Sugarcane Res.*, 7 pt., 131-132.
- RAICHOUDHURY (1958) A short note on the study of "Tukra disease" of mulberry (*Morus* sp.) caused by *Phenacoccus hirsutus* Gr. (Coccidae). *J. Silkworm*, T. 4, 10, 315-318.
- SAXENA R.C. (1975) Integrated approach for the control of *Thrips tabaci* Lind. *Indian J. Agric. Sci.*, 45(9), 434-436.
- THONTADARYA T.S., RAO K.J., AWAKNAVAR T. (1979) Addition to the list of insects that predate the sorghum ear head midge, *Contarinia sorghicola* (Coq.). *Curr. Res.*, 8(4), 64-65.

PREMIERE OBSERVATION D'UN COCCINELLIDE PARASITE DE L'ALEURODE ROSE *MACONELLYCOCCUS HIRSUTUS* (GREEN)

M.V. SANTHA KUMAR, N. CHAKRABORTY, C. ASWANI KUMAR,
S.S. BHATTACHARYA & A.K. SAHAKUNDU

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

L'aleurode rose *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera : Pseudococcidae) est l'un des principaux insectes parasites du mûrier ; il occasionne des dommages aux plants et une diminution de la production de feuilles entraînant des pertes importantes du point de vue économique en sériciculture, particulièrement dans le Bengale occidental (Inde). Outre cet aspect économique, l'infestation par l'aleurode entraîne des graves modifications morpho-anatomiques qui se manifestent par la maladie de Tukra chez le mûrier (Misra, 1919). Ce parasite préfère la région apicale de la plante hôte, d'où il tire sa nourriture (Raichoudhury, 1958). Les nymphes et les adultes restent assemblés en grappes et sucent la sève par l'extrémité de la pousse, des feuilles et des pétioles en introduisant leur long fascicule styloforme filamenteux dans la couche corticale. Ce type d'infestation arrête la croissance verticale des entre-nœuds et entraîne un recroquevillement des feuilles ; la région infestée devient vert foncé et hypertrophiée. La diminution de la surface foliaire, le jaunissement des feuilles et la chute prématurée des feuilles due à l'endommagement du pétiole constituent les autres symptômes de la maladie de Tukra (Ghosh, 1972). L'industrie de la soie dans le Bengale occidental souffre ainsi d'un manque d'approvisionnement en feuilles de mûrier saines.

La lutte contre l'aleurode par des insecticides s'est révélée peu efficace car ce parasite vit dans les gerçures et les crevasses de l'écorce, à la base du pétiole et sur la surface inférieure des feuilles recroquevillées. L'aleurode a développé également une forme d'adaptation par la formation d'un ovisac filamenteux cireux et d'une enveloppe cireuse à la fin du stade nymphal et au stade adulte. En outre, les effets résiduels des insecticides pourraient être fatals aux vers à soie et perturber l'équilibre écologique. Les moyens biologiques, dont on a déjà démontré qu'il s'agissait d'une "arme vivante", constituent donc un mode potentiel de lutte contre l'aleurode.

Etant donné les effets négatifs produits par l'aleurode sur les mûriers, une étude extensive a été réalisée dans les plantations des districts de Murshidabad et de Birbhum (Bengale occidental, Inde) de mars à juillet 1992, lorsque la population d'aleurodes était à son maximum. L'observation des pousses infestées a révélé des asticots (Fig. 1) et des coléoptères adultes (Fig. 2) se nourrissant de *M. hirsutus* à tous les stades de son développement. Ces asticots ont été élevés au laboratoire de lutte biologique de cet Institut jusqu'à émergence des adultes et ont été identifiés comme étant *Scymnus nubilus* Mulsant (Coleoptera : Coccinellidae). Cette étude est la première à avoir démontré que ce prédateur naturel indigène se nourrit de *M. hirsutus*.

D'après des travaux antérieurs, *S. nubilus* est polyphage et prédateur d'un certain nombre d'insectes parasites de cultures en Inde (Table I). Il a également été observé qu'il pouvait supporter les conditions extrêmes de température (45 °C) et d'humidité relative (100 %) régnant en été et à la saison pluvieuse dans le Bengale occidental.

S. nubilus termine son cycle en 21,42 jours. Les oeufs, de forme elliptique, sont de couleur jaune vif. Les asticots passent par quatre âges larvaires, stade au cours duquel ils sont recouverts d'une structure filamenteuse cireuse, avant d'atteindre les stades pré-nymphal et nymphal. Les asticots et

les adultes se nourrissent de l'aleurode quel que soit son stade. Les coléoptères adultes sont petits ($1,1 \times 0,75$ mm) et de couleur noire.

Ce prédateur étant capable de supporter les conditions climatiques locales difficiles et de consommer l'aleurode à tous les stades de son développement, il est possible d'accroître la population de *S. nubilus* en laboratoire et de la relâcher sur le terrain pour une lutte efficace contre *M. hirsutus* et contre la maladie de Tukra.

CORRELATION AND REGRESSION STUDIES BETWEEN COCOON WEIGHT AND SHELL WEIGHT IN TWO RACES OF *ANTHRAEA MYLITTA* DRURY ON TWO DIFFERENT FOOD PLANTS

K.K. SHARMA, A.K. SINHA, A.K. BANSAL, A.K. GOEL & B.R.R. Pd. SINHA

Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi - 835 303, Bihar, India.

Keywords: *Antheraea mylitta*, cocoon weight, shell weight, correlation.

The tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury, is polyphagous. The qualitative and quantitative characters of the cocoon greatly vary and much depend upon the type of food plants. *Terminalia tomentosa* (Asan) and *T. arjuna* (Arjun) are the two primary food plants of the tropical tasar silkworm. The cocoons of Asan-fed stocks are fairly heavier than those raised on Arjun. The regression line describes the relationship between the two series. Hence this study was initiated to determine the extent of relation in two ecoraces, i.e., Sukinda and Sarihan, between cocoon weight and shell weight of male and female cocoons on two different types of food plants.

These two ecoraces were reared on two primary food plants, i.e., Asan and Arjun, at the Field Laboratory of the Central Tasar Research and Training Institute (Ranchi, India). The male and female cocoons of both ecoraces fed on Asan and Arjun were assessed after completion of cocoon harvest.

1. SUKINDA

a) Male cocoons:

It is evident from Table I and Figure 1 that Asan-fed male cocoons of the Sukinda ecorace are comparatively heavier than Arjun-fed male cocoons. The shell weight of Asan-fed cocoons is significantly higher than that of Arjun-fed cocoons. The correlation coefficient ($r = 0.6269^{xx}$) is significant at 1% level. The regression equation of the two variables is $y = 0.22295x - 0.60298$.

The silk content (SR %) of male cocoons of Asan-fed silkworms (19.07%) recorded higher than the SR % of male cocoons of the Arjun-fed population (11.1%).

b) Female cocoons:

It is evident from Table I and Figure 2 that Asan-fed female cocoons and shell weights are significantly higher than those of Arjun-fed silkworms. The correlation coefficient ($r = 0.63315^{xx}$) is significant at 1% level. The regression equation of the two variables (cocoon weight and shell weight) is $y = 0.1911x - 0.8048$.

The SR % of female cocoons of Asan-fed stocks (14.43%) is considerably higher than that of Arjun-fed stocks (12.26%).

Table I. Correlation and regression studies between the cocoon weight and shell weight of male and female cocoons of the Sukinda race of *A. mylitta* D. fed on *T. tomentosa* (Asan) and *T. arjuna* (Arjun).

Tableau I. Etudes de corrélation et de régression entre le poids du cocon et le poids de la coque des cocons mâles et femelles de la race Sukinda d'*A. mylitta* D. nourris avec *T. tomentosa* (Asan) et *T. arjuna* (Arjun).

| Parameters | Cocoon wt. (male) | | Shell wt. (male) | | Cocoon wt. (female) | | Shell wt. (female) | |
|----------------|------------------------|-------|--------------------------|-------|--------------------------|--------|-----------------------------|-------|
| | Asan | Arjun | Asan | Arjun | Asan | Arjun | Asan | Arjun |
| Paramètres | Poids du cocon (mâle) | | Poids de la coque (mâle) | | Poids du cocon (femelle) | | Poids de la coque (femelle) | |
| | Asan | Arjun | Asan | Arjun | Asan | Arjun | Asan | Arjun |
| Mean / Moyenne | 10.165 | 9.051 | 1.939 | 1.078 | 16.279 | 12.437 | 2.358 | 1.525 |
| SE | 0.459 | 0.360 | 0.118 | 0.032 | 0.341 | 0.413 | 0.211 | 0.143 |
| SR % | 19.07 | 11.91 | - | - | 14.48 | 12.26 | - | - |
| t (cal.) | 1.91 ^{NS} | | 7.047** | | 7.175** | | 3.35** | |
| Correlation | r = 0.62687** | | | | r = 0.63315** | | | |
| Regression | y = 0.22295x - 0.60298 | | | | y = 0.191102x - 0.80486 | | | |

SE: Standard error / *Ecart type*. SR: Silk ratio / *Richesse soyeuse*. NS: Not significant / *Non significatif*.

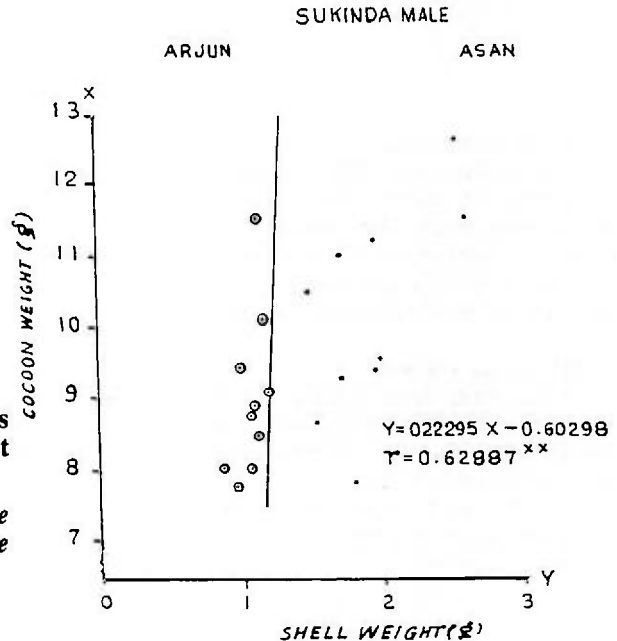


Fig. 1: Regression of y on the x axis between cocoon weight and shell weight (Sukinda males).

Fig. 1 : Régression de y sur l'axe x entre le poids du cocon et le poids de la coque (mâles Sukinda).

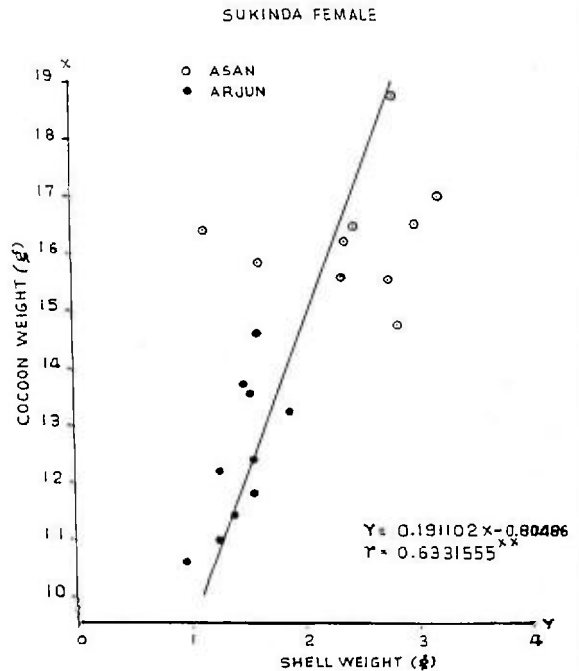


Fig. 2: Regression of y on the x axis between cocoon weight and shell weight (Sukinda females).

Fig. 2 : Régression de y sur l'axe x entre le poids du cocon et le poids de la coque (femelles Sukinda).

2. SARIHAN

a) Male cocoons:

It is quite obvious from Table II and Figure 3 that male cocoons of Sarihan ecorace followed the trend of Sukinda male cocoons. The shell weight of Asan-fed stocks is significantly higher than that of Arjun-fed stocks. The correlation coefficient ($r = 0.8964^{xx}$) is significant at 1% level. The regression equations of the two variables (cocoon weight and shell weight) is $y = 0.274x - 1.173$.

The SR % of male cocoons of Asan-fed stocks (17.36%) recorded higher than the SR % of male cocoons of Arjun-fed stocks (14.33%).

b) Female cocoons:

It is evident from Table II and Figure 4 that the female cocoon weight and shell weight of the Sarihan ecorace followed the same pattern as the Sukinda female cocoon weight and shell weight. Both female cocoon weight and shell weight of Asan-fed stocks are significantly higher than those of Arjun-fed stocks. The correlation coefficient ($r = 0.7288^{xx}$) is significant at 1% level. The regression equation of the two variables (cocoon weight and shell weight) is $y = 0.15136x - 0.8400$. The comparative study determines that the SR % of Sarihan female cocoons of Asan-fed stocks is moderately higher (10.02%) than that of Arjun-fed stocks, which is 9.33%.

Table II. Correlation and regression studies between the cocoon weight and shell weight of male and female cocoons of the Sarihan race of *A. mylitta* D. fed on *T. tomentosa* (Asan) and *T. arjuna* (Arjun).

Tableau II. Etudes de corrélation et de régression entre le poids du cocon et le poids de la coque des cocons mâles et femelles de la race Sarihan d'*A. mylitta* D. nourris avec *T. tomentosa* (Asan) et *T. arjuna* (Arjun).

| Parameters | Cocoon wt. (male) | | Shell wt. (male) | | Cocoon wt. (female) | | Shell wt. (female) | |
|----------------|-----------------------|--------|--------------------------|-------|--------------------------|--------|-----------------------------|-------|
| | Asan | Arjun | Asan | Arjun | Asan | Arjun | Asan | Arjun |
| Paramètres | Poids du cocon (mâle) | | Poids de la coque (mâle) | | Poids du cocon (femelle) | | Poids de la coque (femelle) | |
| | Asan | Arjun | Asan | Arjun | Asan | Arjun | Asan | Arjun |
| Mean / Moyenne | 10.320 | 10.068 | 1.792 | 1.443 | 16.890 | 13.860 | 1.693 | 1.294 |
| SE | 0.446 | 0.346 | 0.120 | 0.094 | 0.346 | 0.556 | 0.148 | 0.095 |
| SR % | 17.36 | 14.33 | - | - | 10.02 | 9.33 | - | - |
| t (cal.) | 0.445 ^{NS} | | 2.296* | | 4.624* | | 2.278* | |
| Correlation | $r = 0.8964^{**}$ | | | | $r = 0.7288^{**}$ | | | |
| Regression | $y = 0.2737x - 1.173$ | | | | $y = 0.151357x - 0.8400$ | | | |

SE: Standard error / *Ecart type*. SR: Silk ratio / *Richesse soyeuse*. NS: Not significant / *Non significatif*.

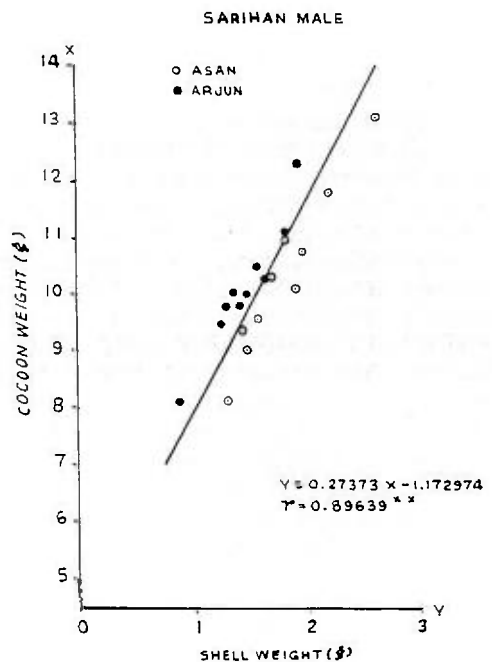


Fig. 3: Regression of y on the x axis between cocoon weight and shell weight (Sarihan males).

Fig. 3 : Régression de y sur l'axe x entre le poids du cocon et le poids de la coque (mâles Sarihan).

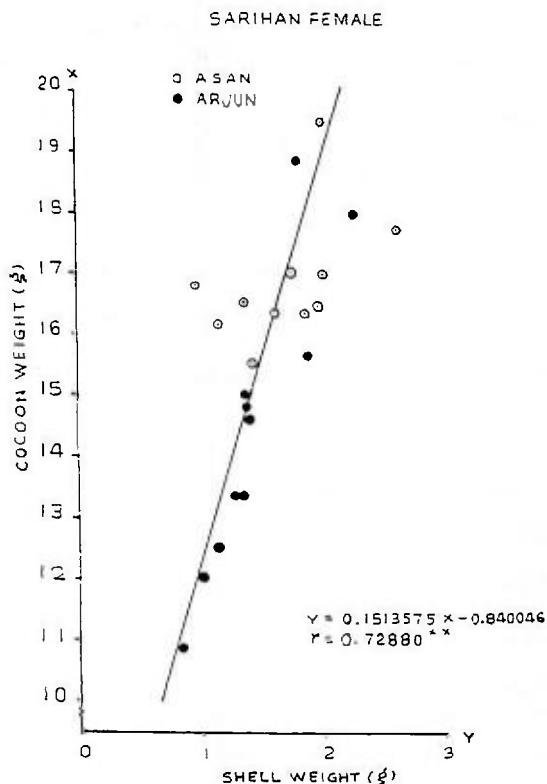


Fig. 4: Regression of y on the x axis between cocoon weight and shell weight (Sarihan females).

Fig. 4 : Régression de y sur l'axe x entre le poids du cocon et le poids de la coque (femelles Sarihan).

REFERENCES

- CHANDRASHEKHAR M., THANGAVELU K. (1986) Muga silkworm food plants and their propagation methods. In Lectures on Sericulture. Suremya Publisher, Bangalore, pp. 129-130.
- DEVAIAH M.C., DAYASHANAR K.N. (1983) Effect of different host plants on the economic traits of Eri silkworm, *Samia cynthia ricini* Boisduval. Nat. Seminar on Silk Research and Development, March 10-13, Bangalore, p. 152.
- YADAV G.S., ISA M.D., THANGAVELU K. (1985) Studies on the taxonomy and floral biology of Som (*Machilus bombycina* King). Sericologia, 25(1), 63-10.
- YADAV G.S., GOSWAMI B.C. (1989) Correlation and regression studies between cocoon weight and shell weight of Muga silkworm on two different types of food. Sericologia, 29(2), 219-223.
- RADHA N.V., SRIDHAR P. (1983) Silkworm productivity as influenced by different species of mulberry. Nat. Seminar on Silk Research and Development, March 10-13, Bangalore, p. 124.

ETUDES DE CORRELATION ET DE REGRESSION ENTRE LE POIDS DU COCON ET LE POIDS DE LA COQUE CHEZ DEUX RACES D'*ANTHERAEA MYLITTA* DRURY EN FONCTION DE DEUX PLANTES NOURRICIERES DIFFERENTES

K.K. SHARMA, A.K. SINHA, A.K. BANSAL, A.K. GOEL & B.R.R.Pd. SINHA

Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi - 835 303, Bihar, Inde.

Le ver à soie tropical tasar *Antheraea mylitta* Drury est polyphage. Les caractères qualitatifs et quantitatifs du cocon varient fortement en fonction du type de plante nourricière. *Terminalia tomentosa* (Asan) et *T. arjuna* (Arjun) sont les deux plantes nourricières primaires du ver à soie tropical. Les cocons des lots nourris sur Asan sont sensiblement plus lourds que ceux des lots élevés sur Arjun. La droite de régression illustre la relation entre les deux séries. Cette étude a donc été initiée afin de déterminer le degré de relation entre le poids du cocon et le poids de la coque des cocons mâles et femelles sur deux types de plantes nourricières chez deux écoraces, Sukinda et Sarihan.

Ces deux écoraces ont été élevées sur deux plantes nourricières primaires (Asan et Arjun) à la plantation expérimentale du *Central Tasar Research and Training Institute* de Nagri (Ranchi, Inde). Les cocons mâles et femelles des deux écoraces nourries sur Asan et Arjun ont été évalués après la récolte.

1. SUKINDA

a) Cocons mâles :

Le tableau I et la figure 1 montrent clairement que les cocons mâles de l'écorace Sukinda élevés sur Asan sont comparativement plus lourds que ceux élevés sur Arjun. Le poids de la coque des cocons élevés sur Asan est nettement plus élevé que celui des cocons élevés sur Arjun. Le coefficient de corrélation ($r = 0,6269^{xx}$) est significatif au seuil de 1 %. L'équation de régression des deux variables est : $y = 0,22295x - 0,60298$.

La richesse soyeuse des cocons mâles des vers à soie nourris sur Asan (19,07 %) est plus élevée que celles des cocons mâles de la population nourrie sur Arjun (11,1 %).

b) Cocons femelles :

Le tableau I et la figure II montrent clairement que le poids du cocon et le poids de la coque des femelles élevées sur Asan sont nettement plus élevés que ceux des femelles élevées sur Arjun. Le coefficient de corrélation ($r = 0,63315^{xx}$) est significatif au seuil de 1 %. L'équation de régression des deux variables (poids du cocon et poids de la coque) est : $y = 0,1911x - 0,8048$.

La richesse soyeuse des cocons femelles des lots nourris sur Asan (14,43 %) est nettement plus élevée que celle des lots nourris sur Arjun (12,26 %).

2. SARIHAN

a) Cocons mâles :

A la lecture du tableau II et de la figure III, il est évident que les cocons mâles de l'écorace Sarihan suivent la tendance obtenue pour les cocons mâles Sukinda. Le poids de la coque des lots nourris sur

Asan est nettement plus élevé que celui des lots nourris sur Arjun. Le coefficient de corrélation ($r = 0,8964^{xx}$) est significatif au seuil de 1 %. L'équation de régression des deux variables (poids du cocon et poids de la coque) est : $y = 0,274x - 1,173$.

La richesse soyeuse des cocons mâles des lots nourris sur Asan (17,36 %) est supérieure à celle des cocons mâles des lots nourris sur Arjun (14,33 %).

b) Cocons femelles :

À la lecture du tableau II et de la figure IV, il est évident que le poids du cocon et le poids de la coque des femelles de l'écorace Sarihan suivent le même profil que celui obtenu pour le poids du cocon et le poids de la coque des femelles Sukinda. Le poids du cocon et le poids de la coque des femelles nourries sur Asan sont nettement supérieurs à ceux des lots nourris sur Arjun. Le coefficient de corrélation ($r = 0,7288^{xx}$) est significatif au seuil de 1 %. L'équation de régression des deux variables (poids du cocon et poids de la coque) est : $y = 0,15136x - 0,8400$. L'étude comparative montre que la richesse soyeuse des cocons femelles Sarihan des lots nourris sur Asan est modérément supérieure (10,02 %) à celle des lots nourris sur Arjun, qui est de 9,33 %.

BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAPHY

| | |
|---|-----|
| Sériciculture générale | 375 |
| General sericulture | |
| Mûrier | 378 |
| Mulberry | |
| <i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie | 382 |
| <i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology | |
| Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie | 387 |
| Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology | |
| Vers à soie : génétique | 389 |
| Silkworms: genetics | |
| Vers à soie : physiologie, biochimie | 393 |
| Silkworms: physiology, biochemistry | |
| Vers à soie : oeufs, embryologie | 395 |
| Silkworms: eggs, embryology | |
| Vers à soie : glandes séricigènes | 397 |
| Silkworms: silk glands | |
| Soie | 398 |
| 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 abstract.

Sériciculture générale

General sericulture

Manual silk reeling project.

Projet de dévidage manuel de la soie.

ANONYME

1994 Aird News, Vol. 12(12), 3-4. (E)

Subsidiary project on cottage basins and multi-end silk reeling machinery.

Projet subsidiaire pour les bassines artisanales et les machines multi-bouts de dévidage de la soie.

ANONYME

1994 Aird News, Vol. 12(12), 4. (E)

Sulla via della seta : l'impero perduto. / On the silk road: the lost empire.

Sur la route de la soie : l'empire perdu.

ANONYME

1994 La Seta, Vol. 46(1), 60-61. (I)

Il museo didattico della seta. / The educational museum of silk.

Le musée pédagogique de la soie.

ANONYME

1993 La Seta, Vol. 45(2), 66-67. (I)

Changing non-traditional silk export markets of India.

Les changements des marchés non traditionnels d'exportation de la soie indienne.

ARUN KUMAR K.S.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(3), 41-45. (E)

Silkworm rearing management in rainy season.

Gestion de l'élevage des vers à soie à la saison des pluies.

BENCHAMIN K.V.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(2), 11-13. (E)

Le fabbriche magnifiche : la seta in provincia di Cueno tra seicento e ottocento. / The magnificent factories: silk in Cueno Province between the 17th and 19th century.

Les fabriques magnifiques : la soie dans la province de Cueno entre le 17^e et le 19^e siècle.

CHIERICI P.

Facoltà di Architettura, Politecnico di Torino, Dipartimento di Casa-città, Viale Matteotti, 39, 10125 Torino, Italy.

1993 La Seta, Vol. 45(2), 64-65. (I)

Filandieri inventori del primo ottocento. / The inventive reelers of the early 19th century.

Les filateurs inventifs du début du 19^e siècle.

CRIPPA F.

1993 *La Seta*, Vol. 45(3), 63-67. (I)

Attività seriche nell'immagine artistica. / The sericultural activity in the pictorial art.

L'activité séricicole dans l'art pictural.

CRIPPA F.

1994 *La Seta*, Vol. 46(1), 62-64. (I)

Coochbehar : a new muga silkbelt.

Coochbehar : une nouvelle région de la soie muga.

DEBNATH M.

P3 Basic Seed Farm, NSP, Jalpaiguri, West Bengal, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(2), 39-40. (E)

Nutritional effect of mulberry (*Morus alba*) leaves as sole ration of adult rabbits.

Valeur nutritive des feuilles de mûriers (*Morus alba*) comme seul aliment chez le lapin adulte.

DESHMUKH S.V., PATHAK N.N., TAKALIKAR D.A., DIGRASKAR D.A.

Marathwada Agricultural University, College of Veterinary and Animal Science, Parbhani, India.

1993 *World Rabbit Sciences (France)*, Vol. 1(2), 67-69. (E,f)

Factor analysis of the chinese raw silk export in the late Ch'ing dynasty (1868-1911).

Analyse des facteurs de l'exportation de la soie grège chinoise pendant la dernière dynastie Ch'ing (1868-1911).

GU G., HAMAZAKI M., UYAMA M.

Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University, 310 029 Hangzhou, China.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(2), 110-116. (J,e)

Assessment of mulberry leaf yield and estimation of brushing capacity.

Evaluation du rendement en feuilles de mûriers et estimation de la capacité de levée.

HIMANTHARAJ M.T., RAJENDIRAN P.M., RAJAN R.K.

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

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(3), 25-26. (E)

Role of sanitation in sericulture.

Rôle de l'hygiène en sériculture.

NAYAK B.K. *et al.*

OST & SCS Ltd., Bhubaneswar, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(2), 19-22, 24. (E)

Present state and trends of development in Bulgarian sericulture.

Situation actuelle et tendances du développement de la sériculture bulgare.

PETKOV N., TSENOV P.

Sericultural Experiment Station, Mito Orozov Str. No. 24, Vratza 3000, Bulgaria.

1993 *Agricultural Science*, Vol. 31(1-4), 64-73. (Bg,e,r)

Factors influencing cocoon productivity.

Les facteurs influençant la productivité des cocons.

RADHA T.M.

Institute for Social and Economic Change, Bangalore, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(3), 6-9, 19. (E)

Bivoltine for better returns.

Les bivoltins pour un meilleur rapport.

ROY S.C., CHATTERJEE S., ROY B.C.

Research Extension Centre, Saktipur, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(2), 36. (E)

Silkworm pupae as human food.

Les chrysalides de vers à soie pour l'alimentation de l'homme.

ROYCHOUDHURY N., JOSHI K.C.

Tropical Forest Research Institute, Jabalpur, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(3), 10. (E)

Silk - The global scenario.

Soie : le scénario global.

SOMAYAJI B.S.

Central Silk Technological Research Institute, CSB Complex, BTM Layout, Madivala, Bangalore 560 068, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(2), 41-43. (E)

Mulberry tree cultivation in Bangladesh.

Culture du mûrier au Bangladesh.

SUSHEELAMMA B.N., BENCHAMIN K.V.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(2), 39-40. (E)

L'immagine della Cina e del Giappone in Italia attraverso l'introduzione di pratiche sericole estremo orientali in Europa (1825-1870). Parte 3. / The image of China and Japan in Italy through introduction of Far East sericultural practices in Europe (1825-1870). Part 3.

L'image de la Chine et du Japon en Italie à travers l'introduction des pratiques séricoles d'Extrême Orient en Europe (1825-1870). Partie 3.

ZANIER C.

Dipartimento di Storia Moderna e Contemporanea, Università di Pisa, Italy.

1994 La Seta, Vol. 46(1), 46-48. (I)

L'immagine della Cina e del Giappone in Italia attraverso l'introduzione di pratiche sericole estremo orientali in Europa (1825-1870). Parte 2. / The image of China and Japan in Italy through introduction of Far East sericultural practices in Europe (1825-1870). Part 2.

L'image de la Chine et du Japon en Italie à travers l'introduction des pratiques séricoles d'Extrême Orient en Europe (1825-1870). Partie 2.

ZANIER C.

Dipartimento di Storia Moderna e Contemporanea, Università di Pisa, Italy.

1994 La Seta, Vol. 46(1), 53-59. (I)

L'immagine della Cina e del Giappone in Italia attraverso l'introduzione di pratiche sericole estremo orientali in Europa (1825-1870). Parte 1. / The image of China and Japan in Italy through introduction of Far East sericultural practices in Europe (1825-1870). Part 1.

L'image de la Chine et du Japon en Italie à travers l'introduction des pratiques séricoles d'Extrême Orient en Europe (1825-1870). Partie 1.

ZANIER C.

Dipartimento di Storia Moderna e Contemporanea, Università di Pisa, Italy.

1993 La Seta, Vol. 45(3), 54-62. (I)

Mûrier

Mulberry

Drip irrigation for mulberry cultivation.

Irrigation au goutte à goutte pour la culture du mûrier.

ANANTHKRISHNA K.H., SARPESHKAR A.M., MURALIDHARA H.R.

University of Agricultural Sciences, G.K.V.K. Campus, Bangalore 560 065, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(3), 17-19. (E)

Utilisation de biopesticides contre les ravageurs des cultures : le point sur *Bacillus thuringiensis*.

Use of biopesticides against pest cultures: a review on *Bacillus thuringiensis*.

CHAUFAUX J.

INRA, Station de Recherches de Lutte biologique, Domaine de La Minière, 78285 Guyancourt Cedex, France.

1995 Insectes, Vol. 97, 2-6. (F)

***In vitro* culture and plant regeneration of calluses derived from mulberry cotyledons.**

Culture *in vitro* et régénération végétale des cals dérivés des cotylédons de mûriers.

CHEN A.Y. *et al.*

1995 Canye Kexue, Vol. 21(2), 120-121. (C)

The cause of leaf chlorosis of mulberry in calcareous soils and its improvement.

La cause de la chlorose des feuilles de mûriers sur les sols calcaires et son amélioration.

CHEN X.S., SU G.X., SHI Q.L.

Suzhou Sericultural College, Jiangsu, China.

1994 Plant Physiology Communications (China), Vol. 30(2), 88-91. (C)

Mulberry cultivation: package of practices for sub-tropical conditions.

Culture du mûrier : l'ensemble des pratiques pour les conditions subtropicales.

FOTEDAR R.K., DHAR A., BINDROO B.B.

Central Sericultural Research and Training Institute, Pampore, Jammu (J & K), India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(3), 21-24. (E)

Formation of multiple bud bodies and plant regeneration in the mulberry, *Morus alba*.

Formation de corps à bourgeons multiples et régénération végétale chez le mûrier *Morus alba*.

HAYASHI K., OKA S.

Sericultural Experiment Station of Miyagi Prefecture, Watari, Miyagi 989-23, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(2), 117-123. (J,e)

Use of sex pheromone of the mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker, in a mulberry field.
Utilisation d'une phéromone sexuelle de la pyrale du mûrier *Glyphodes pyloalis* Walker dans une mûraie.

IKEGAMI T.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.
1995 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 3, 1-15. (J)

Detection of sticked Diflubenuron from mulberry leaves, by high performance liquid chromatography.

Détection HPLC du Diflubenuron fixé sur des feuilles de mûriers.

KOBAYASHI N.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.
1995 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 3, 35-42. (J)

Studies on the main factors influencing differentiation of adventitious buds from mulberry leaves.

Etudes des principaux facteurs influençant la différenciation des bourgeons adventifs à partir des feuilles de mûriers.

KONG L.W., TAN Z.D., BIAN Y.S., SHENG S.X., LIU J.F.

Shandong Sericultural Research Institute, Yantai 264002, China.

1995 Canye Kexue, Vol. 21(2), 67-71. (C,e)

Differences in size of lesions on leaves infected with *Myrothecium roridum* Tode ex Fries in mulberry cultivars.

Différences dans la taille des lésions sur les feuilles infestées par *Myrothecium roridum* Tode ex Fries chez les cultivars de mûriers.

MURAKAMI R., SHIRATA A., YOSHIDA S., SEGAWA H., TAKAHASHI K.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci., Vol. 12, 31-46. (J,e)

Selection of new mulberry varieties suitable for mulberry harvester.

Sélection de nouvelles variétés de mûriers adaptées pour la récolte.

OKA K., KOJIMA S., HIRATA A.

Gunma-ken, Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1992 Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture, Vol. 9, 35-42. (J)

Assessing optimal nutrient regime in the industrial mulberry plantations. I. Effect of fertilizer rate on some agronomic soil characteristics in mulberry plantations.

Etablissement d'un amendement optimal dans les mûraies industrielles. I. Effet du taux d'engrais sur quelques caractéristiques agronomiques du sol dans les mûraies.

PETKOV Z.

Sericultural Experiment Station, Mito Orozov Str. No. 24, Vratza 3000, Bulgaria.

1993 Agricultural Science, Vol. 31(1-4), 89-94. (Bg,e,r)

***Fusarium* in mulberry.**

Fusarium chez le mûrier.

PHILIP T., GOVINDAIAH.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(3), 27-29. (E)

Studies on the transpiration characteristics of mulberry plants. 1. Water requirement and evapotranspiration coefficient of potted mulberry plants.

Etudes sur les caractéristiques de transpiration des mûriers. 1. Besoins en eau et coefficient d'évapotranspiration des mûriers en pots.

RAMA KANT, NAOI T.

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

1995 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 12, 1-12. (J,e)

Effect of chemical weed control on nutrient uptake by common mulberry (*Morus australis*) and associated weeds.

Effect de la lutte chimique contre les mauvaises herbes sur la prise des nutriments par le mûrier commun (*Morus australis*) et les mauvaises herbes associées.

SHIVAKUMAR H.R., PRADHIBHA N.C., MUNIYAPPA T.V.

1994 *Indian J. Agron.*, Vol. 39(2), 277-281. (E)

Mulberry leaf yield and nitrogen application.

Rendement en feuilles de mûriers et application d'azote.

SRIDHARA S., SHIVAKUMAR H.R., DORESWAMY C.

University of Agricultural Sciences, G.K.V.K. Campus, Bangalore 560 065, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(2), 23-24. (E)

Importance of zinc nutrition in mulberry.

Importance du zinc dans la nutrition chez le mûrier.

SUBBASWAMY M.R., MUNIRATHNAM REDDY M., HIMANTHARAJ M.T., SINHA A.K.

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

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(2), 10. (E)

Studies on amount of fertilization in machine harvest mulberry field of once a year and two-year rotation of mulberry harvest.

Etudes du taux de fertilisation dans les mûraies récoltées mécaniquement avec une rotation de récolte de une ou deux fois par an.

TAKEI F.

Gunma-ken, Agricultural Research Center, Maebashi, Japan.

1992 *Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture*, Vol. 9, 81-84. (J)

Sprouting of winter buds, growth of branches and yield of mulberry fields in 1994.

Germination des bourgeons hivernaux, croissance des branches et rendement des mûraies en 1994.

TOMITA K.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1995 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent.*, Vol. 3, 65-71. (J)

Comparative study on growing of the new species mulberry trees.

Etude comparative de la croissance de nouvelles espèces de mûriers.

TOMITA K., YONEDA M., AZUMI F., MEZAWA H.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1995 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent.*, Vol. 3, 24-34. (J)

Sprouting of winter buds of mulberry fields in various places in the Ibaraki prefecture.

Germination des bourgeons hivernaux dans les mûraies de divers lieux de la préfecture d'Ibaraki.

TOMITA K., YONEDA M., MEZAWA H., ARIGA T., OHYAMA H.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1995 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent.*, Vol. 3, 72-75. (J)

Studies on a new bacterial branch-withering disease of mulberry.

Etudes sur une nouvelle maladie bactérienne de la flétrissure des branches du mûrier.

WANG W.B., KUAI Y.Z., XU Z.G.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 73-76. (C,e)

Adventitious bud formation and plant regeneration from mulberry cotyledons.

Formation des bourgeons adventifs et régénération végétale à partir des cotylédons de mûriers.

WANG Y. *et al.*

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 122-123. (C)

The key factors of rapid propagation in mulberry through stem tip culture in vitro.

Les facteurs clés pour la propagation rapide du mûrier par culture in vitro.

WEI J.F., BAO S.F., GE Y.X.

Institute of Agro-physics, Plant Physiology and Biochemistry, Hebei Provincial Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang, China.

1993 *Acta Agriculturae Boreali-Sinica (China)*, Vol. 8(suppl.), 65-69. (C,e)

Differences in the formation of lesions on the leaves infected with *Anthraco*se fungi in mulberry cultivars.

Différences dans la formation des lésions sur les feuilles infestées par le champignon *Anthraco*se chez les cultivars de mûriers.

YOSHIDA S., YOSHIDA S., SHIRATA A.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.*, Vol. 12, 13-30. (J,e)

***Bombyx mori* : élevage, nutrition, pathologie**

***Bombyx mori*: rearing, feeding, pathology**

New productive bivoltine hybrids.

De nouveaux hybrides bivoltins productifs.

BASAVARAJA H.K. *et al.*

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

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(2), 5-9. (E)

Le conseguenze dell'Insegar nell'allavamento del baco da seta. / Consequences of Insegar on silkworm rearing.

Les conséquences de l'Insegar sur l'élevage du ver à soie.

CAPPELLOZZA L.

Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione Specializzata per la Seta, Padova, Italy.

1994 *La Seta*, Vol. 46(1), 26-29. (I)

Selection of the artificial diet for aseptic rearing of young silkworm with orthogon design.

Selection de l'aliment artificiel pour un élevage aseptique des jeunes vers à soie avec une conception orthogonale.

CHEN R.Y. *et al.*

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 124-127. (C)

Application effect of disinfectant for silkworm Yangcanhuan.

Effet de l'application de désinfectant sur le ver à soie Yangcanhuan.

CHEN Y.

Institute of Sericulture, Sichuan Provincial Academy of Agricultural Sciences, Nanchong, China.

1993 *Southwest China Journal of Agricultural Sciences (China)*, Vol. 5(1), 59-63 (C,e)

A study on the effects of light condition upon the artificially-dieted silkworms.

Une étude des effets des conditions de luminosité sur les vers à soie élevés sur aliment artificiel.

CHOI C.H., LEE C.H., KIM J.S.

Department of Agronomy, Chinju National University, Chinju, Korea Republic.

1994 *Journal of Agricultural Technology Research Institute - Chinju University (Korea Republic)*, Vol. 7, 33-41. (K,e)

A study on the effects of artificial diet and mulberry leaf diet on young silkworm.

Etude des effets de l'aliment artificiel et des feuilles de mûriers sur les jeunes vers à soie.

CHOI C.H., MOON B.W., HA N.G.

Department of Agronomy, Chinju National University, Chinju, Korea Republic.

1994 *Journal of Agricultural Technology Research Institute - Chinju University (Korea Republic)*, Vol. 7, 67-73. (K,e)

Breeding of the high yielding silkworm races 'Shoho' (N02 x C02) and 'Ohwashi' (N150 x C150).
Elevage des races de vers à soie à haut rendement "Shoho" (N02 x C02) et "Ohwashi" (N150 x C150).
EGUCHI R., SHIMAZAKI A., ICHIBA M., SHIBUKAWA A.
National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 Bull. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci., Vol. 12,47-93. (J,e)

Comparative studies on microsporidias pathogenic to silkworm (*Bombyx mori*).

Etudes comparatives des microsporidies pathogènes du ver à soie (*Bombyx mori*).

GUO X.J., HUANG K.W., SHEN Z.Y., XU L.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 Canye Kexue, Vol. 21(2), 95-101. (C,e)

Polyhedra formation in the midgut tissues of the silkworm, *Bombyx mori*, infected with a nuclear polyhedrosis virus.

Formation de polyèdres dans les tissus de l'intestin moyen du ver à soie *Bombyx mori* infesté par un virus de la polyédrose nucléaire.

HAYASAKA S., INOUE H.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(3), 244-229. (J,e)

Rotary moutage for quality cocoons.

Encabannage rotatif pour la qualité des cocons.

HIMANTHARAJ M.T., MEENAL A., RAJAN R.K., MUROGA A., KAMBLE C.K.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(2), 25-27. (E)

Effects of chloric chemicals substitute for bleaching powder by way of the disinfectant of rooms and tools for silkworm rearing.

Effets des substituts chimiques chlorés à la chaux par le biais de la désinfection des pièces et des outils d'élevages de vers à soie.

IKEGAMI T.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1995 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 3, 58-64. (J)

Establishment of standard rearing conditions for aseptic rearing of original silkworm strains on an artificial diet throughout the entire larval instars.

Etablissement des conditions d'élevage standard pour un élevage aseptique des souches originelles de vers à soie sur aliment artificiel à tous les âges larvaires.

IMAMURA T., CHEN R., ZHANG Y., YUHKI T.

Division of Res. of Aseptic Rearing System of Silkworms on an Artificial Diet, Nikko Marketing Co. Ltd., Kyoto 601, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(2), 173-178. (J,e)

Establishment of rearing techniques for the silkworm race 'Sei.Ki x 2.1' with middle size cocoon filament.

Mise au point de techniques d'élevages pour la race de vers à soie "Sei.Ki x 2.1" donnant des cocons avec un filament de titre moyen.

KANUMA N., SAITOH T., KOBAYASHI H.

Gunma-ken, Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1992 Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture, Vol. 9, 51-56. (J)

Establishment of use and development of rational rearing house in collective mulberry field.

3. Studies of rearing condition and care during mounting in slidehouse.

Mise au point de l'utilisation et du développement de magnaneries fonctionnelles dans les mûraies collectives. 3. Etudes des conditions d'élevage et des soins au cours de la montée dans la "magnanerie mobile".

KOBAYASHI H., SAITOH T., YOMODA M.

Gunma-ken, Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1992 Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture, Vol. 9, 15-18. (J)

Establishment of use and development of rational rearing house in collective mulberry field.

4. Diffusion and inactivation of nuclear polyhedrosis virus on silkworm outside rearing house.

Mise au point de l'utilisation et du développement de magnaneries fonctionnelles dans les mûraies collectives. 4. Diffusion et inactivation du virus de la polyédrose nucléaire chez le ver à soie en dehors de la magnanerie.

KOBAYASHI H., YOMODA M., KANUMA N.

Gunma-ken, Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1992 Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture, Vol. 9, 19-22. (J)

Inspection of silkworms damaged by insecticide made from *Bacillus thuringiensis* using antibodies.

Inspection des vers à soie touchés par un insecticide conçu à partir de *Bacillus thuringiensis* en utilisant des anticorps.

KOBAYASHI N.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sejiko, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1995 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 3, 76-77. (J)

Establishment of use and development of rational rearing house in collective mulberry field.

5. Improvement and utilize technique of disinfecting equipment for rational rearing house.

Mise au point de l'utilisation et du développement de magnaneries fonctionnelles dans les mûraies collectives. 5. Amélioration et technique d'utilisation de l'équipement de désinfection dans les magnaneries fonctionnelles.

KOYAMA C., ITO H., ONO K.

Gunma-ken, Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1992 Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture, Vol. 9, 23-26. (J)

Development of rearing chamber for artificial diet rearing of young silkworm, *Bombyx mori*.

Développement de pièces d'élevage pour l'éducation des jeunes vers à soie *Bombyx mori* sur aliment artificiel.

LEE S.P., YANG S.R., LEE S.U., KIM N.S., LEE D.H., HONG S.J., MOON J.K., LEE E.S.

Sericultural Experiment Station, Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1994 RDA Journal of Agricultural Science (Korea Republic), Vol. 32(6), 712-715. (K,e)

Surface-enhanced Raman spectroscopy of *Bombyx mori* virus adsorbed on colloidal silver.

Spectroscopie Raman de surface d'un virus de *Bombyx mori* adsorbé sur de l'argent colloïdal.

LIU X.M., HUANG T.Q., BAO P., WU T.Q., TANG P.F.

1994 Shengwu Wuli Xuebao, Vol. 10(1), 29-34. (C)

Foods habits of *Trogoderma variabile* Ballion (Coleoptera: Dermestidae) and damage to cocoons and raw silk.

Habitudes alimentaires de *Trogoderma variabile* Ballion (Coleoptera: Dermestidae) et dégâts causés aux cocons et à la soie grège.

NAKAMOTO N.

Yokohama Center for Quality Control and Consumer Service, Japan.

1993 Research Reports of the Raw Silk Testing (Japan), Vol. 44, 77-88. (J)

Rearing method in 4th instar larvae of polyphagous silkworm strains and common silkworm strains by using various kind of the low-cost artificial diet.

Méthode d'élevage des souches polyphages et des souches communes de vers à soie au 4e âge larvaire par l'utilisation de diverses sortes d'aliments artificiels à bas prix.

NAKANISHI H.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1995 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 3, 51-57. (J)

Isolation and characterization of temperature sensitive mutants of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus and their multiplication in a cell line and larvae of *Bombyx mori*.

Isolement et caractérisation de mutants du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* sensibles à la température et leur multiplication dans une lignée cellulaire et dans les larves de *Bombyx mori*.

NOGUCHI Y.

Saitama-ken Sericultural Experiment Station, Ishihara Kumagaya, Saitama 360, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(3), 230-236. (J,e)

Comparative study of hybrid silkworm in 1994.

Etude comparative des vers à soie hybrides en 1994.

NOGUCHI Y.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sejiko, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1995 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 3, 81-83. (J)

Comparative study of hybrid silkworm in 1993.

Etude comparative des vers à soie hybrides en 1993.

NOGUCHI Y.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sejiko, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1995 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 3, 78-80. (J)

Breeding of Sekwangjam, a fine silk yielding silkworm variety for spring rearing season.

Sélection de Sekwangjam, une variété de ver à soie donnant un fil fin, pour l'élevage de printemps.

RYU K.S. *et al.*

Sericultural Experiment Station, Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1994 RDA Journal of Agricultural Science (Korea Republic), Vol. 36(2), 716-721. (K,e)

Establishment of use and development of rational rearing house in collective mulberry field.

1. Developments of facile rearing establishment in mulberry fields "Slide House".

Mise au point de l'utilisation et du développement de magnaneries fonctionnelles dans les mûraies collectives. 1. Développements d'élevages dans les "magnaneries mobiles".

SAITOH T.

Gunma-ken, Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1992 Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture, Vol. 9, 5-8. (J)

Establishment of use and development of rational rearing house in collective mulberry field.

7. Techniques to produce 4 ton cocoon with rational rearing house.

Mise au point de l'utilisation et du développement de magnanerie rationnelles dans les mûraies collectives. 7. Les techniques pour produire 4 tonnes de cocons dans une magnanerie fonctionnelle.

SAITOH T.

Gunma-ken, Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1992 Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture, Vol. 9, 31-34. (J)

Revolving stand for silkworm rearing.

Un tourniquet pour l'élevage des vers à soie.

SHIVAKUMAR G.R., HIMANTHARAJ M.T., MAGADUM S.B., DATTA R.K.

Central Sericultural Res. and Training Inst., Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(3), 31-33. (E)

Studies on inbed transmission of silkworm pebrine disease.

Etudes de la transmission de la pébrine dans les litières chez le ver à soie.
WANG H.L.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 128-129. (C)

Detection of antibacterial substances in insect gut.

Détection des substances antibactériennes dans l'intestin d'insectes.

YASUI H., SHIRATA A.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(3), 246-253. (J,e)

Establishment of use and development of rational rearing house in collective mulberry field. 2. Mechanized technique to rearing of silkworms with rational rearing house in the mulberry field.

Mise au point de l'utilisation et du développement de magnaneries fonctionnelles dans les mûraies collectives. 2. Technique mécanique d'élevage des vers à soie avec une magnanerie fonctionnelle dans la mûraie.

YOMODA M., SAITOH T., KOBAYASHI H., KANUMA N.

Gunma-ken, Sericultural Experiment Station, Maebashi, Japan.

1992 *Gunma Journal of Agricultural Research, Series B, Sericulture*, Vol. 9, 9-14. (J)

Studies on the effect of an imidazole compound-Fuminli on increasing silk yield of *Bombyx mori*.

Etudes sur l'effet d'un composé imidazole de Fuminli sur l'augmentation du rendement en soie chez *Bombyx mori*.

YU Z.C. et al.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 130-131. (C)

Effect of refinement degree of the defatted soybean meal in artificial diet on young silkworm.

Effet du degré de raffinage de la farine de soja dégraissée dans l'aliment artificiel des jeunes vers à soie.

ZHANG C.X., WU Y.L., MATSUBARA F.

Institute of Applied Entomology, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 82-85. (C,e)

Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie

Non mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology

Field tests on attractiveness of synthetic sex pheromone of the mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker.

L'attraction d'une phéromone sexuelle synthétique de la pyrale du mûrier *Glyphodes pyloalis* Walker testée sur le terrain.

IKEGAMI T.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.
1995 Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent., Vol. 3, 16-23. (J)

Establishment of a cell line of cynthia silk moth, *Samia cynthia pryeri*.

Etablissement d'une lignée cellulaire du papillon *Samia cynthia pryeri*.

INOUE H., IMANISHI S.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(3), 270-272. (E)

A new method to control wasps in tasar culture.

Une nouvelle méthode de lutte contre les guêpes dans les élevages du tasar.

JAIPAL REDDY K., SINGH M.K., KRISHNA MURTHY T.S., MARUTHI RAM G.

Regional Tasar Research Station, Bhandara, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(3), 34-35, 38. (E)

Seasonal and food plant-determined differences in productivity and reproductive success of the Indian tasar silk moth, *Antheraea mylitta* (Saturniidae).

Différences saisonnières et déterminées par l'alimentation dans la productivité et la reproduction du papillon de soie tasar indien, *Antheraea mylitta* (Saturniidae).

MISHRA C.S.K., NAYAK B.K., DASH A.K., DASH M.C.

Orissa University of Agriculture and Technology, Bhubaneswar, India.

1993 Journal of the Lepidopterists' Society (USA), Vol. 47(2), 162-164. (E)

Muga - New strides.

Muga : un nouvel essor.

SENGUPTA A.K., SRIVASTAVA A.K.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(2), 28-32. (E)

Effect of an imidazole on the moltinism and cocoon quality of *Antheraea yamamai*.

Effet d'un imidazole sur la mue et la qualité du cocon d'*Antheraea yamamai*.

YE G.Y. *et al.*

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 132-133. (C)

The bactericidal effect of antibacterial peptide from Chinese oak silkworm to the pathogen of bacterial ulcer and yellow shoot disease in citrus.

L'effet bactéricide du peptide antibactérien du ver à soie du chêne chinois sur le pathogène de l'ulcère bactérien et la maladie des pousses jaunes chez le citronnier.

ZHANG Q.J., ZHANG J.M., HUANG Z.R., TAN S.C., GUO Z.Y.

South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 77-81. (C,e)

Vers à soie : génétique

Silkworms: genetics

Identification of random amplified polymorphic DNA linked to the densovirus type-1 susceptibility gene of the silkworm, *Bombyx mori*.

Identification de l'ADN polymorphique amplifié aléatoirement lié au gène de sensibilité de type 1 au virus de la densovirus chez le ver à soie *Bombyx mori*.

ABE H., SHIMADA T., TSUJI T., YOKOYAMA T., OSHIKI T., KOBAYASHI M.
1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(3), 262-264. (J)

Genetical studies on the "non-molting k" mutant in the silkworm, *Bombyx mori*.

Etudes génétiques sur le mutant "non-muant k" du ver à soie *Bombyx mori*.

BANNŌ Y., KAWAGUCHI Y., KOGA K., DOIRA H.

Faculty of Agriculture, Kyushu University, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka-ken 812, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(3), 219-223. (E)

Mobile elements of lepidopteran genomes.

Éléments mobiles des génomes des Lépidoptères.

EICKBUSH T.H.

Department of Biology, University of Rochester, Rochester, NY 14627, USA.

1995 in "Molecular model systems in the Lepidoptera" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 77-105. (E)

Chorion genes: molecular models of evolution.

Les gènes du chorion : modèles moléculaires de l'évolution.

EICKBUSH T.H., IZZO J.A.

Department of Biology, University of Rochester, Rochester, NY 14627, USA.

1995 in "Molecular model systems in the Lepidoptera" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 217-247.(E)

Genetics of the silkworm: revisiting an ancient model system.

Génétique du ver à soie : révision d'un ancien système modèle.

GOLDSMITH M.R.

Department of Zoology, University of Rhode Island, Kingston, RI 02881, USA.

1995 in "Molecular model systems in the Lepidoptera" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 21-76. (E)

Interference of *BmNPV* replication by the viruses altered by serial undiluted passage in cell culture.

Interférence de la réplication du *BmNPV* par les virus altérés grâce à une série de passages non dilués en cultures de cellules.

HASHIMOTO Y., YANASE T., MATSUMOTO T.

Faculty of Textile Science, Kyoto Institute of Technology, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(2), 150-155. (J,e)

Cloning and sequencing of *Attacus ricini* nuclear polyhedrosis virus polyhedrin gene.

Clonage et séquençage du gène de la polyédrine du virus de la polyédrose nucléaire chez *Attacus ricini*.

HU J.X., DING H.Z.

Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai, China.

1993 *Acta Genetica Sinica (China)*, Vol. 20(4), 300-304. (C,e)

Engineered baculoviruses: molecular tools for lepidopteran developmental biology and physiology and potential agents for insect pest control.

Les baculovirus construits : des outils moléculaires pour l'étude de la biologie et de la physiologie du développement des Lépidoptères et des agents potentiels pour la lutte contre les parasites des insectes.

IATROU K.

Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Calgary, 3330 Hospital Drive N.W., Calgary, Alberta T2N 4N1, Canada.

1995 in "*Molecular model systems in the Lepidoptera*" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 397-425.(E)

Chorion genes: an overview of their structure, function, and transcriptional regulation.

Les gènes du chorion : étude globale de leur structure, leur fonction et leur régulation transcriptionnelle.

KAFATOS F.C., TZERTZINIS G., SPOEREL N.A., NGUYEN H.T.

European Molecular Biology Laboratory, Meyerhofstrasse 1, 69117 Heidelberg, Germany.

1995 in "*Molecular model systems in the Lepidoptera*" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 181-215.(E)

Specific amplification of DNA from reference strains of *Nosema bombycis*.

Amplification spécifique de l'ADN de souches de référence de *Nosema bombycis*.

KAWAKAMI Y., INOUE T., UCHIDA Y., HATAKEYAMA Y., IWANO H., ISHIHARA R.

Laboratory of Applied Entomology, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa 252, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(2), 165-172. (E)

Combining ability analysis and cross selection in nine silkworm varieties.

Analyse de la capacité combinatoire et sélection croisée chez neuf variétés de vers à soie.

LIU Q.X., SUN J.C., ZHANG W.Y.

Department of Forestry, Shandong Agricultural University, Taian, China.

1994 *Journal of Shandong Agricultural University (China)*, Vol. 25(2), 207-212. (C,e)

Transovarian transmission of a foreign gene in the silkworm, *Bombyx mori*, by *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus.

Transmission transovarienne d'un gène étranger chez le ver à soie *Bombyx mori* par le virus de la polyédrose nucléaire d'*Autographa californica*.

MORI H. et al.

Department of Applied Biology, Faculty of Textile Science, Kyoto Institute of Technology, Kyoto 606, Japan.

1995 *Biotechnology*, Vol. 13(9), 1005-1007. (E)

Effects of selection on cocoon filament length in divergently selected lines of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effets de la sélection sur la longueur du filament du cocon dans des lignées sélectionnées de façon divergente chez le ver à soie *Bombyx mori*.

NAGARAJU J., PAVAN KUMAR T.

Seribiotech Research Laboratory, No. 8, West of Chord Road, Mahalakshmpuram Post, II Stage, Bangalore 560 086, India.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(2), 103-109. (E)

Lepidopteran phylogeny and applications to comparative studies of development.

Phylogénie des Lépidoptères et applications aux études comparatives du développement.

RÉGIER J.C., FRIEDLANDER T., LECLERC R.F., MITTER C., WIEGMANN B.M.

Center for Agricultural Biotechnology, University of Maryland Biotechnology Institute, College Park, MD 20742, USA.

1995 in "*Molecular model systems in the Lepidoptera*" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 107-137.(E)

Hormonal regulation of gene expression during lepidopteran development.

Régulation hormonale de l'expression des gènes au cours du développement chez les Lépidoptères.

RIDDIFORD L.M.

Department of Zoology, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA.

1995 in "*Molecular model systems in the Lepidoptera*" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 293-322.(E)

RFLP patterns detected by the transposons mag and k1.4, in silkworm races.

RFLP détectés par les transposons mag et k1.4 chez les races de vers à soie.

TAMURA T. et al.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1993 *Gamma Field Symposia No. 32, 15-16 July 1993, Inst. of Radiation Breeding, NIAR, MAFF, Ohmiya-machi, Ibaraki-ken, Japan.*

Molecular genetics of moth olfaction: a model for cellular identity and temporal assembly of the nervous system.

Génétique moléculaire de l'olfaction du papillon : un modèle pour l'identité cellulaire et assemblage temporel du système nerveux.

VOGT R.G.

Department of Biological Sciences, University of South Carolina, Columbia, SC 29208, USA.

1995 in "*Molecular model systems in the Lepidoptera*" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 341-367.(E)

Restriction electrophoresis patterns of mtDNA from *Antheraea yamamai* Guerin and *A. pernyi* Guerin.

Profil électrophorétique de restriction de l'ADNmt d'*Antheraea yamamai* Guerin et *A. pernyi* Guerin.

WANG B., CHEN Y.L.

Institute of Cell Biology, Xiamen University, Xiamen 361105, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 111-113. (C,e)

Epilogue: Lepidopterans as model systems - questions and prospects.

Épilogue : les Lépidoptères comme systèmes modèles - questions et perspectives.

WILKINS A.S., GOLDSMITH M.R.

Company of Biologists, Ltd., Austin Bldg, University of Cambridge, New Museum Site, Pembroke Street, Cambridge CB2 3ED, U.K.

1995 in "*Molecular model systems in the Lepidoptera*" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 427-433.(E)

A brief history of Lepidoptera as model systems.

Un bref historique des Lépidoptères comme systèmes modèles.

WILLIS J.H., WILKINS A.S., GOLDSMITH M.R.

Department of Zoology, University of Georgia, Athens, GA 30602, USA.

1995 in "Molecular model systems in the Lepidoptera" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 1-20. (E)

Extraction, cloning and sequencing of DNA from *Nosema bombycis*.

Extraction, clonage et séquençage de l'ADN de *Nosema bombycis*.

ZHANG X.Y., LU K.M., ZHUANG C.X., HU W.M., XU X.Y., HUANG Z.R., CHEN H.S.

South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 91-95. (C,e)

Production of the useful protein in the silkworm using the *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus as an expression vector.

Production de protéines utiles chez le ver à soie par utilisation du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* comme vecteur d'expression.

ZHANG Y.Q.

1994 *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Jinzhzan*, Vol. 21(5), 406-410. (C)

The cloning of DNA polymerase gene in *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus genome.

Clonage du gène de l'ADN polymérase dans le génome du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori*.

ZHANG Z.F., HE J.L., WU X.F.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 86-90. (C,e)

Isolation of DNA fragments from larvae and pupae of dayflying moth and their transinjection into oak silkworms.

Isolement de fragments d'ADN des larves et des pupes de papillons diurnes et leur transinjection chez les vers à soie du chêne.

ZHU Y.M.

Liaoning Provincial Institute of Sericulture, Dandong, China.

1994 *Liaoning Agricultural Sciences (China)*, Vol. 1, 46-48. (C)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms: physiology, biochemistry

Comparison on hemolymph esterase isozyme of silkworm (*Bombyx mori*) strains with different sex.

Comparaison des isozymes de l'estérase de l'hémolymphe des souches de vers à soie (*Bombyx mori*) de sexe différent.

CAI H.Y., ZHANG X.Y.

Institute of Silkworm and Mulberry, Hebei Provincial Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Chengde, China.

1993 *Acta Agriculturae Boreali-Sinica (China)*, Vol. 8(3), 23-27. (C,e)

Primary report on the superoxide dismutase in larval blood of *Bombyx mori*.

Premier rapport sur la superoxyde-dismutase dans le sang des larves chez *Bombyx mori*.

DUAN J.L., LU C.Z., KOGA K., KAWAGUCHI Y., BANNO Y.

Anhui Agricultural University, Hefei 230061, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 102-105. (C,e)

Report on extracting oil from silkworm pupae.

Rapport sur l'extraction d'huile de chrysalides de vers à soie.

LI Z.J. *et al.*

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 134. (C)

Studies on morphology and histology of fluoride poisoned embryo cell cultures of silkworm (*Bombyx mori*).

Etudes de la morphologie et de l'histologie des cultures de cellules d'embryons de vers à soie (*Bombyx mori*) contaminées par du fluorure.

LÜ S.L., GU G.D., XU J.L., MATSUMOTO T., HASHIMOTO Y., ENDO Y.

Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 106-110. (C,e)

Statistical analysis of body movement and shape of *Bombyx mori* in spinning behaviour.

Analyse statistique du mouvement et de la forme du corps de *Bombyx mori* au cours du filage.

MIURA M., MORIKAWA H., SUGIURA A.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, 3-15-1 Tokida, Ueda 386, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(3), 237-245. (E)

Molecular biology of the immune response.

Biologie moléculaire de la réponse immunitaire.

MULNIX A.B., DUNN P.E.

Department of Biology, Earlham College, Richmond, IN 47374-4095, USA.

1995 in "Molecular model systems in the Lepidoptera" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 369-395.(E)

Purification and characterization of digestive amylase from the tasar silkworm, *Antheraea mylitta* (Lepidoptera: Saturniidae).

Purification et caractérisation de l'amylase digestive du ver à soie tasar *Antheraea mylitta* (Lepidoptera : Saturniidae).

NAGARAJU J., ABRAHAM E.G.

1995 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 110B, 201-209. (E)

Flight behavior of adult of *Anthrenus verbasci* Linneus.

Le comportement en vol de l'adulte d'*Anthrenus verbasci* Linneus.

NAKAMOTO N.

Yokohama Center for Quality Control and Consumer Service, Japan.

1993 *Research Reports of the Raw Silk Testing (Japan)*, Vol. 44, 89-96. (J)

Effects of 20-hydroxyecdysone treatment on larval maturity in *Bombyx mori*.

Effets du traitement avec la 20-hydroxyecdysone sur la maturité larvaire chez *Bombyx mori*.

NOGUCHI Y.

Sericultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, Sekijo, Makabe, Ibaraki 308-01, Japan.

1995 *Bull. Seric. Res. Inst. Ibaraki Agric. Cent.*, Vol. 3, 43-50. (J)

Trehalase activity in thoracic musculature of the tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury, during different developmental stages.

Activité de la tréhalase dans la musculature thoracique du ver à soie tasar *Antheraea mylitta* Drury au cours des différents stades du développement.

SHIVAKUMAR H.R., PRATHIBHA N.C., MUNIYAPPA T.V.

1994 *Indian J. Exp. Biol.*, Vol. 32(12), 895-897. (E)

Developmental changes in urea concentration in the hemolymph of Daizo (T), an original strain of the silkworm, *Bombyx mori* reared on an artificial diet and on fresh mulberry leaves.

Changements au cours du développement dans la concentration d'urée de l'hémolymphe de Daizo (T), une souche originale du ver à soie *Bombyx mori* élevée sur milieu artificiel et avec des feuilles fraîches de mûriers.

SUMIDA M., YOSHIO H., TANAKA Y., MATSUBARA F.

1995 *Comp. Biochem. Physiol.*, 110A, 33-38. (E)

Difficulty in inducing extra larval ecdysis in the silkworm, *Bombyx mori*, by repeated administration of ecdysone.

Difficulté d'induction d'une ecdysis larvaire surnuméraire chez le ver à soie *Bombyx mori* par administration répétée d'ecdysone.

TAKEDA S., MADE SAMUDRA I., SHIOTSUKI T., TANAKA Y.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(2), 156-164. (E)

Lepidoptera as model systems for studies of hormone action on the central nervous system.

Les Lépidoptères comme systèmes modèles pour les études de l'action des hormones sur le système nerveux central.

TRUMAN J.W.

Department of Zoology, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA.

1995 in "*Molecular model systems in the Lepidoptera*" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 323-339.(E)

Vers à soie : oeufs, embryologie

Silkworms: eggs, embryology

Fixed minimum duration of chilling critical to the termination of diapause, and effects of longer chilling on hatching mode in eggs of *Bombyx mori*.

Durée minimum critique de réfrigération pour lever la diapause et effets d'une réfrigération plus longue sur le mode d'éclosion des oeufs chez *Bombyx mori*.

KAI H., KAWASHIRI K., NAKASHIMA S., AZUMA M.

Faculty of Agriculture, Tottori University, Koyama, Tottori 680, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(2), 132-141. (E,j)

Morphology of embryos and constitution of yolk proteins in an embryonic lethal mutant, Df(14)N1, of *Bombyx mori*.

Morphologie des embryons et constitution des protéines du vitellus chez un mutant léthal embryonnaire Df(14)N1 de *Bombyx mori*.

KAWAGUCHI Y., KURODA N., BANNO Y., KOGA K., DOIRA H.

Laboratory of Sericultural Science, Hakozaki 6-10-1, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(3), 265-269. (E)

Features of embryo and fate of yolk proteins in the Set mutant in *Bombyx mori*.

Caractères de l'embryon et devenir des protéines du vitellus du mutant Set chez *Bombyx mori*.

KAWAKAMI K., KAWAGUCHI Y., BANNO Y., KOGA K., DOIRA H.

Laboratory of Sericultural Science, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Hakozaki 6-10-1, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(2), 191-195. (E)

A summary of lepidopteran embryogenesis and experimental embryology.

Un résumé de l'embryogénèse et de l'embryologie expérimentale chez les Lépidoptères.

NAGY L.M.

Laboratory of Molecular biology, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI 02115, USA.

1995 in "*Molecular model systems in the Lepidoptera*" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 139-164.(E)

Studies on occasional artificial hatching of hibernating eggs, *Bombyx mori* L. (2) The artificial hatching on pre-hibernation of hibernating eggs.

Etudes sur l'éclosion artificielle occasionnelle des oeufs hibernants de *Bombyx mori*. (2) L'éclosion artificielle sur la pré-hibernation des oeufs hibernants.

RYU K.S., LEE S.P.

Sericultural Experiment Station, Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1994 *RDA Journal of Agricultural Science (Korea Republic)*, Vol. 36(1), 665-669. (K,e)

Pathogenicity of oval infection with *Nosema* sp. to silkworm, *Bombyx mori*.

Pathogénicité de l'infection des oeufs du ver à soie *Bombyx mori* par des *Nosema*.

TANG P.F., ZHAO P.

Institute of Sericulture, Sichuan Provincial Academy of Agricultural Sciences, Nanchong, China.

1992 *Southwest China Journal of Agricultural Sciences (China)*, Vol. 5(4), 78-82. (C,e)

Roles of homeotic genes in the *Bombyx* body plan.

Rôles des gènes homéotiques dans le plan d'organisation du *Bombyx*.

UENO K., NAGATA T., SUZUKI Y.

Department of Development Biology, National Institute of Basic Biology, Okazaki 444, Japan.

1995 in "*Molecular model systems in the Lepidoptera*" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S, Cambridge University Press, 165-180.(E)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms: silkglands

Regulation of the silk protein genes and the homeobox genes in silk gland development.

Régulation des gènes des protéines de la soie et des gènes homéotiques dans le développement de la glande séricigène.

HUI C.C., SUZUKI Y.

Department of Developmental Biology, National Institute for Basic Biology, Okazaki 444, Japan.

1995 in "*Molecular model systems in the Lepidoptera*" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 249-271.(E)

Comparison of sericin characteristics between silk glands and cocoon filaments.

Comparaison des caractéristiques de la séricine entre les glandes séricigènes et les filaments des cocons.

LIANG J.Z., ARAI M., HIRABAYASHI K.

Faculty of Technology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Nakamachi, Koganei, 184 Tokyo, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(3), 209-213. (J,e)

***Nephila clavipes* dragline silk: approaches to a recombinantly produced silk protein.**

La soie de la toile de *Nephila clavipes* : approches pour la production d'une protéine de soie recombinée.

MELLO C.M., ARCIDIACONO S., BECKWITT R., PRINCE J., SENEGAL K., KAPLAN D.L.

Biotechnology Division, Natick Research, Development and Engineering Center, U.S. Army, Natick, MA 01760, USA.

1994 *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, Vol. 330, 37-42. (E)

Control of transcription of *Bombyx mori* RNA polymerase III.

Contrôle de la transcription de l'ARN polymérase III de *Bombyx mori*.

SPRAGUE K.U.

Institute of Molecular Biology, University of Oregon, Eugene, OR 97403, USA.

1995 in "*Molecular model systems in the Lepidoptera*" Edited by Goldsmith M.R. & Wilkins A.S., Cambridge University Press, 273-291.(E)

Soie

Silk

Studies on the separate reeling system of dropped-end cocoon.

Etudes du système de dévidage séparé des cocons à bout perdu.

CHANG S.J., CHOI S.R.

Sericultural Experiment Station, Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1994 RDA Journal of Agricultural Science (Korea Republic), Vol. 36(1), 670-670. (K,e)

Comparative evaluation of the various methods of degumming silk.

Evaluation comparative des diverses méthodes de décreusage de la soie.

CHOPRA S., GULRAJANI M.L.

1994 Indian J. Fibre Text. Res., Vol. 19(2), 76-83. (E)

A study on the silk dyeing with natural indigo.

Une étude de la teinture de la soie avec de l'indigo naturel.

CHUNG I.M., LEE K.G., LEE Y.W., WOO S.O.

Sericultural Experiment Station, Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.

1994 RDA Journal of Agricultural Science (Korea Republic), Vol. 36(1), 680-683. (K,e)

Simultaneous dyeing of silk and nylon or silk and polyester with disperse azo dyes.

Teinture simultanée de la soie et du nylon ou de la soie et du polyester avec des colorants azoïques dispersés.

DOHMYOU M., SHIMIZU Y., KIMURA M., TAKAGISHI T.

Shiga Prefectural Junior College, 1900 Hassaka-cho, Hikone, Shiga 552, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(2), 184-190. (E)

Performance properties of silk fabrics flameproofed with organic phosphorous agent.

Propriétés des tissus de soie ignifugés avec un agent organique phosphoré.

KAKO T., KATAYAMA A.

Himeji College, Himeji, Hyogo 670, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(2), 124-131. (J,e)

Changes in the mechanical properties and hue of wild silk fibers by adhesion of sericin B.

Changements des propriétés mécaniques et de la teinte des fibres de soie sauvage par adhésion de séricine B.

KAWAHARA Y., ASAKURA M., IKEDA Y., NAKAJIMA S.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(3), 273-274. (J)

Structural analysis of silk fibers treated with a mixture of glyoxal and urethane compounds.
 Analyse structurelle des fibres de soie traitées avec un mélange de composés d'uréthane et de glyoxal.
 KAWAHARA Y., FURUTA H., SHIOYA M., KIKUTANI T., TAKAKU A.
 Tokyo Metropolitan Textile Research Institute, 3-15-5 Honjo, Sumida-ku, Tokyo 130, Japan.
 1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(2), 196-198. (E)

Kimono: an exquisite apparel of Japan.
 Le kimono : un vêtement raffiné du Japon
 KIRSUR M.V., VENKATESH H.L., HARIRAJ G.
 Central Silk Board, United Mansions, 2nd Floor, 39, Mahatma Gandhi Road, Bangalore 560 001, India.
 1995 *Indian Silk*, Vol. 34(2), 33-35. (E)

Studies on dyeability of sericin-fixed silk fibre.
 Etudes des propriétés tinctoriales de la fibre de soie fixée à la séricine.
 LEE Y.W., LEE K.G., CHUNG I.M., SONG K.E.
 Sericultural Experiment Station, Rural Development Administration, Suwon, Korea Republic.
 1994 *RDA Journal of Agricultural Science (Korea Republic)*, Vol. 36(1), 676-679. (K,e)

Studies on sericin-fixing mechanism of silk.
 Etudes sur le mécanisme de fixation de la séricine de la soie.
 LIU G.F., WANG X.L.
 1992 *Fangzhi Xuebao*, Vol. 13(12), 553-556. (C)

Study on the catalytic activity of silk sericin-manganese (II) complex.
 Etude de l'activité catalytique du complexe séricine de soie - manganèse (II).
 LIU Z.H., HONG J., SHAO S.X., WEI D.Q.
 1994 *Hecheng Huaxue*, Vol. 2(3), 268-271. (C)

Comparative studies on the physical properties of silk threads from cocoons of Japanese local and improved varieties of the silkworm.
 Etudes comparatives des propriétés physiques des fils de cocons de vers à soie de variétés japonaises locales et améliorées.
 LU Q., IIZUKA E.
 Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda, Nagano 386, Japan.
 1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(3), 214-218. (J,e)

Sericare, Detergente per lavaggio di manufatti in seta. / Sericare, a detergent for washing silk fabrics.
 Sericare, un détergent pour le lavage de tissus en soie.
 MASSAFRA M.R., BERETTA S.
 Stazione Sperimentale per la Seta, Via G. Colombo, 81, 20133 Milano, Italy.
 1994 *La Seta*, Vol. 46(1), 5-8. (I)

Effect of soap solution on macromolecular parameters of silk fiber using small-angle X-ray scattering technique.
 Effet d'une solution de savon sur les paramètres macromoléculaires de la fibre de soie par utilisation de la technique de dispersion de rayons X à angle faible.
 MISRA T., PANDA P., PATEL T., KHUNTIA S., BHAT N.V.
 1994 *Indian J. Fibre Text. Res.*, Vol. 19(2), 99-101. (E)

Character of size time series of hybrid silk.
 Caractère des séries chronologiques du titre de la soie hybride.
 MORIKA H., SHIMAZAKI A.
 1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(2), 254-261. (J)

A method of morphometry for voids in Saturniidae cocoon filaments using image processing techniques.

Une méthode de morphométrie pour les vides dans les filaments des cocons de Saturniidae par utilisation des techniques de traitement de l'image.

NARUMI T., KOBAYASHI M.

Department of Home Economics, Tokyo Gakugei University, 4-1-1 Nukuikita-machi, Koganei-shi, Tokyo 184, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(3), 203-208. (E)

Panchavati : creativity in colours.

Panchavati : la créativité dans les coloris.

RAJESH KUMAR SINHA, KIRSUR M.V.

C.S.B., United Mansions, 2nd Floor, 39, Mahatma Gandhi Road, Bangalore 560 001, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(2), 15-17. (E)

Mechanised cocoon deflossing.

Déblazage mécanisé des cocons.

SATISH VERMA, JOHN M., MATHUR V.B., DATTA R.K.

Central Sericultural Res. and Training Inst., Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(2), 14. (E)

Caratterizzazione di sete gregge prodotte da diversi sistemi di trattura. / Characterization of raw silk produced by different reeling systems.

Caractérisation des soies grèges produites par divers systèmes de tirages.

SVILOKOS A.B., MASSAFRA M.R., COLONNA G.M., MENGLI L.

Stazione Sperimentale per la Seta, Via G. Colombo, 81, 20133 Milano, Italy.

1993 *La Seta*, Vol. 45(3), 7-9. (I)

Measurement of dissociation tension with automatic reeling machine and study on the relationships of tension to the cocoon cooking and reeling.

Mesure de la tension de dissociation avec une machine de dévidage automatique et étude des relations entre la tension, la cuite et le dévidage du cocon.

TAJIMA F., KINOSHITA H., WATASE H.

Faculty of Education, Yokohama National University, Hodogaya-ku, Yokohama 240, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(2), 142-149. (J,e)

Development of bulky hybrid silk.

Développement de la soie hybride en masse.

TAKABAYASHI C., HIKOBE K., MIYAZAKI E.

Filature Engineering Research Team, National Institute of Sericultural and Entomological Science, Okaya City, Nagano 394, Japan

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(2), 179-183. (J,e)

Modificazione chimica della seta : aspetti scientifici e applicazioni tecnologiche. / Chemical modification of silk: scientific aspect and technological application.

Modification chimique de la soie : aspect scientifique et application technologique.

TSUKADA M., SHIOZAKI H., FREDDI G.

Stazione Sperimentale per la Seta, Via G. Colombo, 81, 20133 Milano, Italy.

1993 *La Seta*, Vol. 45(3), 10-23. (I)

Research on the suitability of infrared heating for silkworm cocoon drying.

Recherche sur l'utilisation de la chaleur des infra-rouges pour le séchage des cocons de vers à soie.

ZHEN C., CHEN L.S., CHEN L., LIN W., YU B.Q., HUANG L.S., MEI B.O., WEN Z.G.

Department of Chemistry for Light Industry, Guangzhou University, Guangzhou 510091, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(2), 114-117. (C,e)

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

1) Les articles présentés doivent concerner soit des travaux originaux soit des synthèses. Ils doivent être rédigés en français ou en anglais. Ils doivent avoir trait à la sériciculture qui inclut les vers à soie, les plantes nourricières, la filature de la soie quelle que soit la nature des recherches (fondamentales ou appliquées) et des sujets (biochimie, écologie, économie, virologie, génétique, etc.).

2) Les articles doivent être soumis à : **Dr G. CHAVANCY**. Les articles soumis au Rédacteur doivent être inédits et ne doivent pas être présentés pour publication chez un autre éditeur. Les articles acceptés pour publication dans *SERICOLOGIA* ne pourront être publiés ailleurs sous la même forme sans le consentement écrit de l'éditeur.

3) Les manuscrits et illustrations doivent être soumis en double exemplaire, l'auteur conservant une copie. Dans le cas d'une co-rédaction, les auteurs doivent indiquer le nom de celui qui recevra les épreuves.

4) Les manuscrits doivent être dactylographiés avec un double interligne et des marges importantes. Les auteurs sont priés de rédiger des communications aussi concises que possible. Les renvois de bas de page sont à éviter et les caractères en italique ne doivent pas être utilisés pour la mise en relief.

5) L'article doit être présenté de la façon suivante:

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.

- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.

- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.

- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.

- Remerciements.

- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harvard system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4^{ème} édit. 1963), le volume et les première et dernières pages de l'article.

Pour les livres, il est nécessaire d'indiquer le nom de l'auteur et ses initiales, la date de publication, le titre, l'édition, le nombre de pages, le nom de l'éditeur et le lieu d'édition.

Dans le texte, les références doivent être indiquées sous la forme suivante : Dupont (1964) ou (Dupont, 1964). Lorsque la référence comprend plus de deux auteurs, par exemple Dupont, Durand et Martin, l'article doit être cité comme Dupont et coll. sauf si cela peut prêter à confusion. Si l'on cite des articles d'un même auteur publiés la même année, ils doivent être distingués par les lettres a, b, etc.

La référence à un article sous presse doit signifier que l'article a été accepté pour publication et elle doit s'écrire de la façon suivante :

SETOYAMA K. (1962) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* Sous presse.

6) Illustrations. Le manuscrit sera accompagné de toutes les illustrations nécessaires mais celles-ci ne doivent pas être insérées dans le texte. Toutes les photographies, graphiques et diagrammes doivent être numérotés consécutivement en chiffres arabes, dans l'ordre de citation du texte.

Les photographies sur papier brillant, ou les épreuves positives (pas de négatifs ou de diapositives) doivent être envoyées si possible sans montage et en nombre limité.

Les cartes, graphiques ou diagrammes doivent être dessinés nettement à l'encre noire sur le papier ou du carton blanc de bonne qualité. Les inscriptions apparaissant sur les illustrations doivent être complètes et de taille suffisante pour permettre une réduction importante si nécessaire.

Les illustrations ne doivent pas dépasser le format 14 × 19 cm. Au dos de chaque illustration doivent être indiqués le nom de l'auteur, le n° de la figure (en chiffres arabes) et l'orientation de l'illustration si nécessaire.

Les légendes des figures doivent être dactylographiées sur une feuille séparée et non pas au dos de l'original et elles doivent être suffisamment explicites pour éviter que l'on se reporte au texte.

7) Tableaux. Ils doivent être numérotés en chiffres romains et dactylographiés sur des feuilles séparées. Les titres doivent être suffisamment clairs sans qu'il soit nécessaire de se reporter au texte. Tous les tableaux et figures doivent être cités dans le texte.

8) Seules les abréviations normalisées sont autorisées. Lorsque des abréviations particulières sont utilisées, le nom devra d'abord être donné en entier suivi de l'abréviation entre parenthèses.

9) Le nom latin de toutes les espèces étudiées doit être indiqué.

10) Les corrections des épreuves doivent se limiter aux fautes de frappe. Toutes modifications importantes de l'article seront facturées à l'auteur.

11) Un bon de commande de tirés-à-part est fourni en même temps que les épreuves. Les auteurs peuvent ainsi commander des tirés-à-part en renvoyant les épreuves. Il est à noter que 25 tirés-à-part sont envoyés gratuitement par l'éditeur.

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 × 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.

* * *