

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

SOMMAIRE - CONTENTS

Informations CSI / ISC Announcements	v
Actualités / News	vi
Articles originaux / Original papers	
Growth and instability of mulberry cocoon production in India	605
Croissance et instabilité de la production de cocons mûrier en Inde	615
P. KUMARESAN, K.S. ARUN KUMAR, K.V. BENCHAMIN & R.K. DATTA	
Genetic studies on the <i>oe</i> translucent mutant in the silkworm, <i>Bombyx mori</i>	621
Etudes génétiques sur le mutant translucide <i>oe</i> du ver à soie <i>Bombyx mori</i>	625
QIN J.	
Genetic studies on the second recessive chocolate gene in the silkworm, <i>Bombyx mori</i> L.	
II: Linkage analysis of <i>ch-2</i>	629
Etudes génétiques du deuxième gène récessif chocolat chez le ver à soie <i>Bombyx mori</i> L. II: Analyse de liaison de <i>ch-2</i>	633
QIN J.	
Genetic studies on chocolate-2 in the silkworm, <i>Bombyx mori</i> L. III: Locus of <i>ch-2</i> and revision of gene arrangement in the eighteenth linkage group	635
Etudes génétiques du gène chocolat 2 chez le ver à soie <i>Bombyx mori</i> L. III: Locus de <i>ch-2</i> et révision de la disposition des gènes dans le dix-huitième groupe de liaison	639
QIN J.	
Discriminant function, a useful technique for selection in the silkworm, <i>Bombyx mori</i> L.	641
La fonction discriminante, une technique utile pour la sélection du ver à soie <i>Bombyx mori</i> L.	653
S.K. BHARGAVA	
Growth and development of the mulberry silkworm, <i>Bombyx mori</i> L., on feed supplemented with alanine and glutamine	657
Croissance et développement du ver à soie du mûrier <i>Bombyx mori</i> L. nourri avec un aliment enrichi en alanine et en glutamine	665
MD. A. RAHMAN KHAN & B.N. SAHA	
Comparative studies on food utilisation efficiency in some silkworm strains under different feeding levels	667
Etude comparative de l'efficacité d'utilisation de la nourriture chez certaines souches de ver à soie en fonction de différents niveaux de nourrissage	677
G.B. SINGH & O. NINAGI	
Comparative studies on the pathogenicity of <i>Nosema bombycis</i> Naegeli and <i>Nosema</i> sp. (Microsporida: Nosematidae) to <i>Bombyx mori</i> L. (Lepidoptera: Bombycidae) due to secondary contamination	681
Etude comparative de la pathogénicité de <i>Nosema bombycis</i> Naegeli et de <i>Nosema</i> sp. (Microsporida: Nosematidae) pour <i>Bombyx mori</i> L. (Lepidoptera: Bombycidae) par infestation secondaire	687
M. GEETHA BAI & L. MAHADEVAPPA	
Growth and yield of mulberry (<i>Morus alba</i> L.) as influenced by a commercial plant growth regulator	691
Effet sur la croissance et le rendement du mûrier (<i>Morus alba</i> L.) d'un régulateur de croissance des plantes commercialisé	699
A.K. MISRA, B.K. DAS & M.M. AHSAN	
Evaluation of gas-exchange parameters in some mulberry genotypes	703
Evaluation des paramètres liés aux échanges gazeux chez certains génotypes de mûrier	709
B.K. DAS, S. CHATTOPADHYAY, A.K. MISRA, C. DAS & M.M. AHSAN	

Foliar treatment effect of urea and micronutrients on mulberry (<i>Morus</i> sp.) and silkworm (<i>Bombyx mori</i> L.)	713
Effet du traitement foliaire avec de l'urée et des oligo-éléments sur le mûrier (<i>Morus</i> sp.) et le ver à soie (<i>Bombyx mori</i> L.)	721
A.A. SARKER & N. ABSAR	

Purification and characterization of six proteins from the leaves of BM-3 mulberry variety . .	725
Purification et caractérisation de six protéines extraites de feuilles de mûrier de la variété de mûrier BM-3	733
N. ABSAR, M. ABDUS SATTER & A. AZIZ SARKER	

Population dynamics of <i>Cervaphis quercus</i> Takahashi (Homoptera: Aphididae) on <i>Quercus serrata</i> Thunberg (Fagaceae) in relation to density-dependent and independent factors	737
Dynamique des populations de <i>Cervaphis quercus</i> Takahashi (Homoptera : Aphididae) sur <i>Quercus serrata</i> Thunberg (Fagaceae) en fonction des facteurs liés ou non à la densité	743
K. SHANTIBALA, R. VARATHARAJAN & T.K. SINGH	

Notes brèves / Brief notes

Comparative study of ingestion pattern in polyvoltine and bivoltine silkworm races at different feeding levels	747
Etude comparative de l'ingestion chez des variétés polyvoltine et bivoltine de ver à soie en fonction de différents niveaux de nourrissage	753
A. MEENAL & O. NINAGI	

Application of Diflubenzuron to control the uzi fly, <i>Exorista sorbillans</i> (= <i>E. bombycis</i>) (Diptera: Tachinidae)	755
Application de Diflubenzuron pour lutter contre la mouche uzi <i>Exorista sorbillans</i> (= <i>E. bombycis</i>) (Diptera : Tachinidae)	759
H.P. PUTTARAJU & L.H. SHIVASHANKARAPPA	

Effect of Diflubenzuron on the reproduction of the uzi fly, <i>Exorista sorbillans</i> (= <i>E. bombycis</i>) (Diptera: Tachinidae)	763
Effet du Diflubenzuron sur la reproduction de la mouche uzi <i>Exorista sorbillans</i> (= <i>E. bombycis</i>) (Diptera : Tachinidae)	767
L.H. SHIVASHANKARAPPA & H.P. PUTTARAJU	

Leaf margin burning of mulberry caused by <i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) de Vries .	769
Roussissement des bordures foliaires de mûrier provoqué par <i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) de Vries	771
K.P. SINGH	

<i>Colasposoma semicostatum</i> Jacoby (Coleoptera: Chrysomelidae), a new pest of <i>Shorea robusta</i> Roxburghii	773
Un nouveau parasite de <i>Shorea robusta</i> Roxburghii : <i>Colasposoma semicostatum</i> Jacoby (Coleoptera : Chrysomelidae)	775
P.K. MISHRA & J. JAYASWAL	

Bibliographie / Bibliography	777
Sériciculture générale / General sericulture	778
Mûrier / Mulberry	781
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie / <i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology	786
Séricigènes non mûriers : élevage, nutrition, pathologie / Non mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology	790
Vers à soie : génétique / Silkworms: genetics	792
Vers à soie : physiologie, biochimie / Silkworms: physiology, biochemistry	796
Vers à soie : glandes séricigènes / Silkworms: silk glands	801
Soie / Silk	802

Instructions aux auteurs / Information for contributors

INFORMATIONS CSI

A l'invitation du gouvernement brésilien, le **XVII^e Congrès de la CSI** se tiendra en avril 1997 à Londrina, Etat du Paraná, Brésil. Cette décision a été prise au dernier Comité exécutif de la CSI qui s'est tenu à Lyon-La Mulatière le 14 novembre 1995.

Le Comité exécutif a également décidé d'attribuer l'organisation de la prochaine conférence à la France. **La XV^e Conférence de la CSI** aura donc lieu à Paris à la fin de 1996.

Au nom des Etats membres et des Membres associés, le Secrétaire général présente ses plus vifs remerciements aux autorités brésiliennes et françaises de leur soutien actif à la Commission séricicole internationale.

ISC ANNOUNCEMENTS

At the invitation of the Brazilian government, the **XVIIth ISC Congress** will be held in April 1997 in Londrina, State of Paraná, Brazil. This decision was made by the ISC Executive Committee held in Lyon-La Mulatière on 14th November 1995.

The Executive Committee has also decided to entrust France with the organisation of the next conference. **The XVth ISC Conference** will therefore convene in Paris at the end of 1996.

On behalf of **Member States** and Associate Members, the Secretary-General extends his warmest thanks to the Brazilian and French authorities for their active support to the International Sericultural Commission.

CHINE

Un symposium international sur la science séricicole intitulé "La science séricicole face au XXI^e siècle" sera organisé à Hangzhou du 7 au 10 octobre 1996 par l'Université d'Agriculture du Zhejiang.

Le programme scientifique est provisoirement réparti dans six sessions :

1. Physiologie, culture, sélection et pathologie du mûrier.
2. Physiologie et pathologie du ver à soie.
3. Chimie et biotechnologie.
4. Génétique, sélection et production de graines de ver à soie.
5. Traitement des cocons.
6. Economie et marché.

Comité d'organisation :

Mr Peihua Jin & Dr Yungen Miao, Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029, P.R. China.

Tel.: +86 571 6990197 / +86 571 6041733 ext. 2349, Fax: +86 571 6990197 / +86 571 6049815.

CHINA

An international symposium on the sericultural science entitled 'Sericultural Science Facing the 21st Century' will be organised in Hangzhou from 7-10 October 1996 by Zhejiang Agricultural University.

The scientific programme is tentatively classified as follows:

1. Physiology, Cultivation and Breeding, Pathology of Mulberry Trees.
2. Physiology and Pathology of the Silkworm.
3. Sericultural Chemistry and Biotechnology.
4. Genetics, Breeding and Egg Production of the Silkworm.
5. Silkworm Cocoon Processing.
6. Sericultural Economics and Silk Trade.

Organising Committee:

EGYPTE

La Faculté d'Agriculture de l'Université du Caire organise sa "Première conférence internationale sur la sériciculture" au cours du mois de novembre 1996.

Cette conférence sera consacrée aux développements récents de l'étude des vers à soie, de l'industrie et de la gestion de la sériciculture.

Président de la Conférence :

Prof. Dr M.A. Eid, Department of Economic Entomology and Pesticides, Faculty of Agriculture, Cairo University, Gamaa Street, Giza, Egypt.

Tel. and Fax: +20 2 5715540.

EGYPT

The Faculty of Agriculture of Cairo University is organising its 'First International Conference on Sericulture' during November 1996.

This conference will concentrate on the recent developments of the study of silkworms, silk industry and sericulture management.

Chairman of the Conference :

GROWTH AND INSTABILITY OF MULBERRY COCOON PRODUCTION IN INDIA

P. KUMARESAN, K.S. ARUN KUMAR, K.V. BENCHAMIN & R.K. DATTA

International Centre for Training and Research in Tropical Sericulture, Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, India.

The primary aim of the study is to examine the growth and magnitude of mulberry cocoon production in India. The decomposition methodology of Hazell (1982) is the chosen economic framework to identify the components and sources of instability in cocoon production. The area under mulberry has registered a significant growth in all the States although productivity has been declining in the States of Jammu and Kashmir, West Bengal and non-traditional States. The increase in cocoon production was primarily area-led in nature for all the States and the contribution of the yield towards production growth was negligible. The decomposition method showed that the major cocoon-producing States did not contribute much to the instability of cocoon production, and the instability was primarily due to the minor cocoon-producing non-traditional States. In these States, the instability was mainly induced by fluctuations in area as well as yield.

Keywords: Growth rate, instability, production, productivity, variance, variance decomposition, mean yield, mean area, covariance, pure effects, interaction effects.

INTRODUCTION

India is the second largest producer of silk in the world next only to China, accounting for 15 per cent of silk production. In India, sericulture provides employment for about 1 million families, contributing to the vital growth of the rural economy and earned a valuable foreign exchange of Rs. 4,410 million in the year 1990-91. Considering the importance of this industry, a sum of Rs. 8,607 million has been allotted in the Eighth Five-Year Plan (1992-93 to 1996-97) for the development of sericulture. It is a general phenomenon in agriculture that increase in the area and production of crops leads to interstate disparity and production instability in the long run. Therefore, an understanding of the fluctuations in cocoon production will throw light on the stability of the Indian silk industry. The present paper has therefore attempted a hitherto untouched economic analysis of the growth and instability in mulberry cocoon production in India.

MATERIALS AND METHODS

Database and economic framework:

The basic data on mulberry area and cocoon production were collected from various reports published by the Central Silk Board, India. The major cocoon-producing traditional States, namely, Karnataka, Andhra Pradesh, Tamil Nadu, Jammu and Kashmir and West Bengal, were considered individually and the remaining minor cocoon-producing, non-traditional States* (defined as NTS) were accounted under one group and the third, being the country as a whole.

* Non-traditional States are minor cocoon-producing States and include Assam, Arunachal Pradesh, Bihar, Gujarat, Himachal Pradesh, Kerala, Madhya Pradesh, Maharashtra, Manipur, Mizoram, Meghalaya, Nagaland, Orissa, Punjab, Rajasthan, Sikkim, Tripura and Uttar Pradesh. In the majority of these States, sericulture is of recent origin.

The method of analysis is built up on the lines of the work done by Hazell (1982). The growth of production was broken down into two even periods — 1971-72 to 1980-81 and 1981-82 to 1990-91.

The year-to-year fluctuations in mulberry area and cocoon yield for each State are mainly due to the long-term trend and random variations. Hence, the area and yield data for the five traditional States, NTS and India were detrended, where the long-term trend existed, by means of the following functional formula:

$$Y = a + bT + e$$

where,

Y = area ('000 ha)/yield (mt/ha)

T = trend variable; 1971-72 = 1

a , b and c are the regression coefficients, and

e = disturbance term.

Where the variable did not exhibit a significant trend, the original series was used for the analysis. In cases where the trend was significant, the residuals were computed and centred on the mean for each period and formed the primary data for analysis.

Analytical framework:

The variance decomposition procedure used in the study is briefly given below.

The production variances and covariances are decomposed to isolate the sources of changes between the two periods. If 'Q' denotes production, 'A' the area under plantation, 'Y' the yield, and 'i' and 'j' the States,

then the total production for the country is,

$$Q = (A_i, Y_i)$$

the mean is,

$$E(Q) = E(A_i, Y_i) \dots \dots \dots (1)$$

the variance is,

$$V(Q) = \text{cov} (A_i, Y_i, A_j, Y_j) \dots \dots \dots (2)$$

the variance can be decomposed as,

$$V(Q) = V(A_i, Y_i) + \text{Cov} (A_i, Y_i, A_j, Y_j) \dots \dots \dots (3)$$

(Sum of crop (Sum of interstate
variances covariances)
within
the State)

each of the components can be expanded as,

$$E(A_i, Y_i) = \bar{A}_i \bar{Y}_i + \text{Cov} (A_j, Y_j) \dots \dots \dots (4)$$

$$V(A_i, Y_i) = \bar{A}_i^2 V(Y_i) + \bar{Y}_i^2 V(A_i) + 2 \bar{A}_i \bar{Y}_i \text{Cov} (A_i, Y_i) - \text{Cov} (A_i, Y_i)^2 + R \dots (5)$$

where $\bar{A}$ and $\bar{Y}$ denote mean areas and yields and R is a residual term.

The decomposition analysis portions the changes in $V(Q)$ and $E(Q)$ between the first and second periods into constituent parts. Using equation (4), average productions in the first and second periods are,

$$E(Q_1) = \bar{A}_1 \bar{Y}_1 + \text{Cov} (A_1, Y_1) \dots \dots \dots (6)$$

$$E(Q_2) = \bar{A}_2 \bar{Y}_2 + \text{Cov} (A_2, Y_2) \dots \dots \dots (7)$$

Each variable in the second period can be expressed as its counterpart in the first period, plus changes between the two. Equation (7) can, therefore, be written as,

$$E(Q_2) = (\bar{A}_1 + \Delta\bar{A})(\bar{Y}_1 + \Delta\bar{Y}) + \text{Cov}(A_1, Y_1) + \Delta\text{Cov}(A, Y) \dots \dots \dots (8)$$

The change in average production is then obtained from,

$$E(Q) = E(Q_2) - E(Q_1) = \bar{A}_1 \Delta\bar{Y} + \bar{Y}_1 \Delta\bar{A} + \Delta\bar{A} \Delta\bar{Y} + \Delta\text{Cov}(A, Y) \dots \dots \dots (9)$$

There are four sources of change in $E(Q)$. Two parts, $\bar{A}_1 \Delta\bar{Y}$ and $\bar{Y}_1 \Delta\bar{A}$, arise from changes in the mean yield and the mean area. These are the pure effects. The term, $\Delta\bar{A} \Delta\bar{Y}$, is an interaction effect between changes in the mean yield and the mean area. $\Delta\text{Cov}(A, Y)$ arises from changes in the covariability of area and yields.

Using equation (5) the changes in the production variances and covariances can be decomposed into the following ten component parts: change in mean yield, change in mean area, change in yield variances and covariances, change in area-yield covariances, interaction between changes in mean yields and mean areas, interaction between changes in mean areas and yield variances, interaction between changes in mean yield and area variances, interaction between changes in mean areas and yields and changes in area-yield covariance, and changes in residues (for detail, Hazell, 1982).

The first five sources of change are pure effects and are of immense importance from the variability point of view. The next four are interaction effects which occur because of simultaneous changes in all the constituent parts and the last term is a higher order term which is small and of little importance.

RESULTS AND DISCUSSION

Growth of area, production and productivity:

The growth of area, production and productivity in cocoon production during the period between 1971-72 and 1990-91 was studied by fitting trend equations and computing the compound growth rate. The results are presented in Table I. The area under mulberry in India has grown at the rate of 6.04 per cent, which is equivalent to 10,600 ha per year. Cocoon production has also increased significantly at the rate of 7.00 per cent, whereas the growth of productivity was marginal and was only 0.91 per cent. All the States recorded a significant increase in the area under mulberry during the two decades ending 1990-91. In the case of cocoon production, all the States except Jammu and Kashmir (-2.24 per cent) fared well. While considering the productivity, it can be observed that in Karnataka, Andhra Pradesh and Tamil Nadu, the yield increase was significant at the rate of 1.20 per cent, 7.93 per cent and 11.04 per cent, respectively, whereas Jammu and Kashmir with -13.03 per cent and NTS with -5.11 per cent recorded a decline in productivity.

Table II shows the changes in average area, average productivity and average production between the two periods considered for the study. It is evident that all the States recorded a significant increase in the area in the second period over the first period. However, only three States, i.e., Karnataka, Andhra Pradesh and Tamil Nadu, registered an increase in cocoon yield during the second period over the first period. This phenomenon throws up the fact that, in West Bengal and NTS, production growth was primarily due to the increase in area. Jammu and Kashmir with -23.86 per cent registered a production decline in the second period over the first period. In the case of interperiod variations in production, West Bengal with -80.09 per cent and Jammu and Kashmir with -22.95 per cent registered negative variations in production.

Components of growth in production:

Table III shows the changes in average production due to different components. It can be inferred from the table that growth in average production from the first to the second period was mainly because

Table I. Trends in area under mulberry and cocoon production and productivity (1971-72 to 1990-91).

Tableau I. Evolution de la surface de culture du mûrier et de la production et de la productivité en cocons (1971-72 à 1990-91).

State	Trend equation	R ²	Compound growth rate
<i>Etat</i>	<i>Equation de la tendance</i>	<i>R²</i>	<i>Taux de croissance composé</i>
I. Area / Surface			
1. Karnataka	89.64 + 2.90 t (0.08*)	0.99	2.46
2. Andhra Pradesh	-13.62 + 3.71 t (0.29*)	0.90	24.95
3. Tamil Nadu	-3.95 + 2.06 t (0.10*)	0.96	16.59
4. Jammu & Kashmir	-0.15 + 0.08 t (0.01*)	0.75	12.41
5. West Bengal / <i>Bengale occidentale</i>	4.26 + 0.61 t (0.02*)	0.98	6.28
6. NTS	-4.69 + 1.20 t (0.21*)	0.65	17.15
7. India / <i>Inde</i>	71.48 + 10.60 t (0.54*)	0.96	6.04
II. Production			
1. Karnataka	23.54 + 1.45 t (0.14*)	0.86	3.69
2. Andhra Pradesh	-6.88 + 1.59 t (0.14*)	0.88	34.86
3. Tamil Nadu	-1.76 + 0.68 t (0.05*)	0.90	29.47
4. Jammu & Kashmir	1.14 - 0.02 t (0.001*)	0.52	-2.24
5. West Bengal / <i>Bengale occidentale</i>	2.81 + 0.43 t (0.04*)	0.87	6.58
6. NTS	-0.13 + 0.08 t (0.01*)	0.75	11.16
7. India / <i>Inde</i>	18.72 + 4.21 t (0.26*)	0.93	7.00
III. Productivity / Productivité			
1. Karnataka	0.28 + 0.004 t (0.001*)	0.46	1.20
2. Andhra Pradesh	0.13 + 0.017 t (0.004*)	0.54	7.93
3. Tamil Nadu	0.08 + 0.02 t (0.004*)	0.48	11.04
4. Jammu & Kashmir	5.14 - 0.27 t (0.02*)	0.88	-13.03
5. West Bengal / <i>Bengale occidentale</i>	0.68 + 0.005 t (0.001 ^{NS})	0.003	-5.11
6. NTS	0.19 - 0.007 t (0.001*)	0.54	-5.27
7. India / <i>Inde</i>	0.31 + 0.003 t (0.0007*)	0.49	0.91

Figures in parentheses indicate the calculated 't' values.

* 't' values are significant at the 1.00 per cent probability level.

Les chiffres entre parenthèses indiquent les valeurs "t" estimées.

* Les valeurs "t" sont significatives au seuil de probabilité de 1 %.

NS: Non significant / Non significatif.

NTS: Non traditional States / Etats non traditionnels en matière de sériciculture.

of the changes in area (81.96 per cent). The increase in production due to the changes in productivity was only 9.37 per cent. It is pertinent to note that only Andhra Pradesh with 39.25 per cent, Karnataka with 21.65 per cent, and Tamil Nadu with 19.60 per cent were the major contributors for the growth of

Table II. Changes in production and production variance in mulberry cocoon-producing States of India (1971-72 to 1990-91).

Tableau II. Variation de la production dans les Etats producteurs de cocons en Inde (1971-72 à 1990-91).

States	Area ('000 ha)			Yield (kg/ha)			Production ('000 tonnes)			Production variance		
	Period I	Period II	% change	Period I	Period II	% change	Period I	Period II	% change	Period I	Period II	% change
<i>Etats</i>	<i>Surface (milliers d'ha)</i>			<i>Rendement (kg/ha)</i>			<i>Production (milliers de tonnes)</i>			<i>Variance de la production</i>		
	<i>Période 1</i>	<i>Période 2</i>	<i>Variation (%)</i>	<i>Période 1</i>	<i>Période 2</i>	<i>Variation (%)</i>	<i>Période 1</i>	<i>Période 2</i>	<i>Variation (%)</i>	<i>Période 1</i>	<i>Période 2</i>	<i>Variation (%)</i>
Karnataka	105.78	134.48	27.13	303.96	335.10	10.24	32.15	45.37	41.13	5.40	15.69	190.77
Andhra Pradesh	6.01	45.25	652.88	237.44	380.71	60.34	1.88	17.79	846.77	8.16	13.77	68.60
Tamil Nadu	6.52	28.82	342.04	171.40	318.67	85.92	1.60	9.07	467.60	0.98	2.24	128.35
Jammu & Kashmir	0.36	1.05	191.67	3221.82	954.78	-70.37	1.05	0.80	-23.86	0.01	0.01	-22.95
West Bengal	7.67	13.69	78.56	681.69	696.14	2.12	5.16	9.54	84.84	1.56	0.31	-80.09
NTS	2.88	13.03	352.79	147.96	101.71	-31.26	0.30	1.09	261.65	0.06	0.08	24.01
India / Inde	129.16	236.30	82.95	325.32	351.25	7.94	42.14	83.66	98.54	31.25	50.61	61.91

NTS: Non traditional States / Etats non traditionnels en matière de sériciculture.

Table III. Sources of change in cocoon production in India (1971-72 to 1990-91).

Tableau III. Sources de variation de la production de cocons en Inde (1971-72 à 1990-91).

Components/States <i>Composants/Etats</i>	Karnataka	%	Andhra Pradesh	%	Tamil Nadu	%	Jammu & Kashmir	%	West Bengal	%	NTS	%	India <i>Inde</i>	%
Change in mean area <i>Variation de la surface moyenne</i>	8.72	20.51	9.32	21.91	3.82	8.99	2.75	6.47	4.11	9.65	1.50	3.53	34.86	81.96
Change in mean yield <i>Variation du rendement moyen</i>	0.34	0.79	0.94	2.21	0.95	2.24	-0.89	-2.09	-0.40	-0.94	-0.14	-0.34	3.99	9.37
Interaction between changes in mean area and mean yield <i>Interaction entre les variations de la surface moyenne et du rendement moyen</i>	0.09	0.21	6.14	14.45	3.25	7.65	-2.10	-4.94	-0.31	-0.74	-0.51	-1.20	3.31	7.78
Changes in area and yield covariance <i>Variation de la covariance de la surface et du rendement</i>	0.06	0.13	0.29	0.68	0.31	0.72	0.08	0.19	0.04	0.09	0.01	0.03	0.38	0.89
Total changes / <i>Variations totales</i>	9.21	21.65	16.69	39.25	8.34	19.60	-0.16	-0.37	3.43	8.06	0.86	2.03	42.53	100.00

NTS: Non traditional States / *Etats non traditionnels en matière de sériciculture.*

Table IV. Components of changes in variance of cocoon production (in percentage) in India (1971-72 to 1990-91).

Tableau IV. Composants de la variation de la variance de la production de cocons (en pourcentage) en Inde (1971-72 à 1990-91).

Components/States Composants/Etats	Karnataka	Andhra Pradesh	Tamil Nadu	Jammu & Kashmir	West Bengal	NTS	India Inde
Change in mean yield <i>Variation du rendement moyen</i>	-0.04	1.44	0.07	-0.10	0.00	-0.02	2.65
Change in mean area <i>Variation de la surface moyenne</i>	1.25	9.41	4.04	0.12	3.03	4.00	19.37
Change in yield variance <i>Variance du rendement</i>	-2.24	-0.20	-0.29	-0.01	-0.49	0.00	-2.40
Change in area variance <i>Variance de la surface</i>	1.02	0.85	0.25	3.95	4.07	20.09	31.34
Interaction between changes in mean area and mean yield <i>Interaction entre les variations de la surface moyenne et du rendement moyen</i>	0.00	-1.53	-0.67	0.03	0.01	0.04	-0.10
Changes in area and yield covariance <i>Covariance de la surface et du rendement</i>	1.40	0.35	0.29	8.07	0.15	22.01	33.09
Interaction between changes in mean area and yield variance <i>Interaction entre les variances de la surface moyenne et du rendement</i>	-1.15	-11.14	-5.37	-0.09	-1.08	-0.09	-5.64
Interaction between changes in mean yield and area variance <i>Interaction entre les variances du rendement moyen et de la surface</i>	0.00	0.42	-0.23	-0.45	2.01	-0.17	10.16
Interaction between changes in area-yield changes in area-yield covariance <i>Interaction entre les variations de surface-rendement de la covariance surface-rendement</i>	0.40	2.94	1.51	0.05	1.10	0.01	4.69
Changes in residuals <i>Variations des restes</i>	-0.66	3.12	-3.72	3.55	1.10	14.07	6.83
Changes in variance of production <i>Variance de la production</i>	-0.02	5.66	-4.12	15.12	9.90	59.93	100.00

NTS: Non traditional States / *Etats non traditionnels en matière de sériciculture.*

cocoon production of the country and these changes were primarily area-led. In Jammu and Kashmir, the increase in the area under mulberry (6.47 per cent) was offset by the reduction in productivity (-2.09 per cent) and the interaction between changes in mean area and mean yield (-4.94 per cent), resulting in very meagre changes in the total cocoon production of the State (-0.37 per cent). The interaction between changes in mean area and mean yield have contributed to the increase in production substantially only in Andhra Pradesh with 14.45 per cent and Tamil Nadu with 7.65 per cent. The production increase due to the changes in area and yield covariances was found to be negligible for all the States.

Instability of production:

As discussed above in the methodology, instability of cocoon production was decomposed into ten components to find out the nature and magnitude of fluctuations in production across the States and the country. The results of the analysis are presented in Table IV. The major cocoon-producing traditional States did not contribute much to the instability in cocoon production. The major contributors to the overall (at country level) instability in cocoon production were changes in area and yield covariances, accounting for 33.09 per cent, followed by changes in area variance with 31.34 per cent and change in mean area with 19.37 per cent.

Andhra Pradesh, where production increased substantially in the second period over the first period, contributed only 5.66 per cent to the instability in production. In Andhra Pradesh, the major component for instability, change in mean area with 9.41 per cent, was offset by the favourable interaction with the yield (-11.14 per cent). In Karnataka, the largest cocoon producer in the country, and Tamil Nadu (third largest producer), production was highly stable and there was no marked sign of instability. In Jammu and Kashmir, where the production was declining, the instability (15.12 per cent) was due to the fluctuations in the yield (3.95 per cent), and changes in area and yield covariances (8.07 per cent). It can be inferred from Table IV that West Bengal contributed to the instability in cocoon production to the extent of 9.90 per cent, which was primarily due to fluctuations in area and change in mean area. It is interesting to note that in the NTS, where sericulture is of recent origin, cocoon production was highly unstable and contributed to 59.93 percent of instability to India's production. The foremost reason for the instability in these States was changes in area variance, which implied that the area under the crop was subject to a greater amount of fluctuations from year to year. Further, the changes in area were not correlated with the changes in the yield, which contributed to the instability in cocoon production to the extent of 22.01 per cent.

CONCLUSION

The primary aim of the study was to examine the growth and magnitude of instability in mulberry cocoon production in India. The decomposition methodology of Hazell formed the economic framework to identify the components and source of instability in cocoon production. The conclusions drawn from the results of this study are given below.

The area under mulberry has registered a significant growth in all the States, although productivity has been declining in the States of Jammu and Kashmir, West Bengal and NTS in the reference period. The productivity of NTS (101.71 kg/ha) was not impressive and was far below the national average of 351.25 kg/ha in the last decade. The yield levels of the NTS need greater attention in order to make them contribute in a more meaningful way to the growth of cocoon production.

The increase in cocoon production was primarily area-led in nature for all the States and the contribution of the yield towards the growth of production was negligible. Hence better yielding local specific mulberry varieties and silkworm races need to be developed and popularised in place of low yielding varieties, as well as measures to strengthen the infrastructure.

The decomposition method showed that the major cocoon-producing States did not contribute much to the instability of cocoon production, and the instability was primarily due to the minor cocoon-producing non-traditional States. In these States, the instability was mainly induced by fluctuations in area as well as yield. This would call for strengthening local specific research, infrastructural facilities and an extension system to increase and stabilise cocoon production in the NTS.

REFERENCES

- HAZELL P.B.R. (1982) Instability in Indian food grain production. Research Report no. 30, IFPRI, Washington, D.C.
- HAZELL P.B.R. (1984) Sources of increased stability in Indian and US cereal production. *American J. Agricultural Economics*, 66(3), August.
- LALITH ACHOTH *et al.* (1986) Output growth stability of natural rubber production in India. *Margin*, January, 1986.
- MEHRA SHAGUNTALA (1981) Instability in Indian agriculture in the context of the new technology. IFPRI Research Paper, 25, July.
- RAY S.K. (1983) An empirical investigation of the natural causes for growth and instability in Indian agriculture: 1950-80. *Indian J. Agricultural Economics*, 38(4).

CROISSANCE ET INSTABILITE DE LA PRODUCTION DE COCONS MURIER EN INDE

P. KUMARESAN, K.S. ARUN KUMAR, K.V. BENCHAMIN & R.K. DATTA

International Centre for Training and Research in Tropical Sericulture, Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570 008, Inde.

Cette étude a pour objet principal d'étudier la croissance et le volume de la production de cocons de mûrier en Inde. La méthodologie de décomposition de Hazell (1982) forme le cadre économique sélectionné afin d'identifier les composantes et les sources d'instabilité de la production de cocons. La surface de culture du mûrier enregistre une augmentation significative dans tous les Etats bien que la productivité diminue dans les Etats de Jammu-et-Cachemire, du Bengale occidental ainsi que dans les Etats non traditionnels en matière de sériciculture. L'augmentation de la production de cocons est principalement liée à la surface pour tous les Etats et la contribution du rendement à la croissance de la production est négligeable. La méthode de décomposition montre que les principaux Etats producteurs de cocons contribuent peu à l'instabilité de la production de cocons et que cette instabilité est principalement due aux Etats non traditionnels dont la production de cocons est secondaire. Dans ces Etats, l'instabilité est essentiellement induite par les fluctuations de la surface et du rendement.

INTRODUCTION

L'Inde est le deuxième producteur mondial de soie après la Chine, avec 15 % de la production totale. En Inde, la sériciculture emploie environ 1 million de familles ; elle contribue ainsi à la croissance indispensable de l'économie en zone rurale et a rapporté 4 410 millions de roupies en devises pour l'année 1990-91. Etant donné l'importance de cette industrie, un budget de 8 607 millions de roupies a été alloué au développement de la sériciculture dans le cadre du huitième plan quinquennal (1992-93 à 1996-97). Il est couramment constaté qu'en agriculture une augmentation de la surface et de la production des cultures conduit à des disparités entre les Etats et, à terme, à une instabilité de la production. La compréhension des fluctuations de la production de cocons permettra donc d'élucider l'instabilité de l'industrie de la soie en Inde. Cet article présente pour la première fois l'analyse économique des causes de la croissance et de l'instabilité de la production de cocons de mûrier en Inde.

MATERIELS ET METHODES

Base de données et cadre économique :

Les données de base concernant la surface de mûrier et la production de cocons ont été tirées de divers rapports publiés par le *Central Silk Board* (Inde). Les principaux Etats traditionnels de production de cocons (Karnataka, Andhra Pradesh, Tamil Nadu, Jammu-et-Cachemire et Bengale occidental) ont été considérés individuellement tandis que les Etats dont la production est secondaire (Etats non traditionnels)* ont été placés dans un même groupe, le troisième groupe est le pays dans son ensemble.

* Les Etats non traditionnels sont les Etats dont la production de cocons est mineure. Ceux-ci sont : l'Assam, l'Arunachalam Pradesh, le Bihar, le Gujarat, le Himachal Pradesh, le Kerala, le Madhya Pradesh, le Maharashtra, le Manipur, le Mizoram, le Meghalaya, le Nagaland, l'Orissa, le Pendjab, le Rajasthan, le Sikkim, le Tripura et l'Uttar Pradesh. Dans la plupart de ces Etats, la sériciculture est d'origine récente.

La méthode d'analyse est construite sur le modèle proposé par Hazell (1982). La croissance de la production a été scindée en deux périodes égales : 1971-72 à 1980-81 et 1981-82 à 1990-91.

Les fluctuations annuelles de la surface de mûrier et du rendement en cocons pour chaque Etat sont principalement dues aux tendances à long terme et à des variations aléatoires. Lorsqu'il y a tendance à long terme, celle-ci est corrigée pour les données concernant la surface et le rendement pour les cinq Etats traditionnels, les Etats non traditionnels et l'Inde d'après la formule fonctionnelle suivante :

$$Y = a + bT + e$$

où :

Y = surface (en milliers d'ha)/rendement (tonnes/ha),

T = la variable tendance ; 1971-72 = 1,

a, b et c sont les coefficients de régression,

e = terme de perturbation.

Lorsque la variable ne présente pas de tendance significative, la série d'origine est utilisée pour l'analyse. Dans les cas où la tendance est significative, les restes ont été comptabilisés et centrés sur la moyenne pour chaque période ; ces restes constituent les données primaires de l'analyse.

Cadre analytique :

Le protocole de décomposition de la variance utilisé ici est présenté brièvement ci-après.

Les variances et covariances de la production sont décomposées afin d'isoler les sources de variation entre les deux périodes. Si "Q" représente la production, "A" la surface cultivée, "Y" le rendement, et "i" et "j" les Etats,

alors la production totale du pays est :

$$Q = (A_i, Y_i)$$

la moyenne est :

$$E(Q) = E(A_i, Y_i) \dots \dots \dots (1)$$

la variance est,

$$V(Q) = \text{cov} (A_i, Y_i, A_j, Y_j) \dots \dots \dots (2)$$

la variance peut se décomposer comme suit :

$$V(Q) = V(A_i, Y_i) + \text{Cov}(A_i, Y_i, A_j, Y_j) \dots \dots \dots (3)$$

(Somme des variances dans l'Etat) (Somme des covariances entre les Etats)

chacun de ces composants peut être développé ainsi :

$$E(A_i, Y_i) = \bar{A}_i \bar{Y}_i + \text{Cov}(A_j, Y_i) \dots \dots \dots (4)$$

$$V(A_i, Y_i) = \bar{A}_i^2 V(Y_i) + \bar{Y}_i^2 V(A_i) + 2 \bar{A}_i \bar{Y}_i \text{Cov}(A_i, Y_i) - \text{Cov}(A_i, Y_i)^2 + R \dots (5)$$

où $\bar{A}$ et $\bar{Y}$ représentent les moyennes des surfaces et des rendements et R est un terme résiduel.

L'analyse de décomposition permet de fractionner les variations en V(Q) et en E(Q) entre la première et la deuxième période en parties composantes. Sur la base de l'équation (4), les productions moyennes de la première et de la deuxième période sont :

$$E(Q_1) = \bar{A}_1 \bar{Y}_1 + \text{Cov}(A_1, Y_1) \dots \dots \dots (6)$$

$$E(Q_2) = \bar{A}_2 \bar{Y}_2 + \text{Cov}(A_2, Y_2) \dots \dots \dots (7)$$

Chaque variable de la deuxième période peut s'exprimer sous la forme de son analogue de la première période plus les variations entre les deux périodes. L'équation (7) peut donc s'écrire :

$$E(Q_2) = (\bar{A}_1 + \Delta\bar{A})(\bar{Y}_1 + \Delta\bar{Y}) + \text{Cov}(A_1, Y_1) + \Delta\text{Cov}(A, Y) \dots \dots \dots (8)$$

On obtient ainsi la variation de la production moyenne d'après :

$$E(Q) = E(Q_2) - E(Q_1) = \bar{A}_1 \Delta\bar{Y} + \bar{Y}_1 \Delta\bar{A} + \Delta\bar{A} \Delta\bar{Y} + \Delta\text{Cov}(A, Y) \dots \dots \dots (9)$$

Il existe quatre sources de variations chez $E(Q)$. Les deux composantes $\bar{A}_1 \Delta\bar{Y}$ et $\bar{Y}_1 \Delta\bar{A}$ résultent des variations du rendement moyen et de la surface moyenne. Celles-ci sont les effets purs. Le terme $\Delta\bar{A} \Delta\bar{Y}$ représente l'effet de l'interaction entre les variations du rendement moyen et celles de la surface moyenne. $\Delta\text{Cov}(A, Y)$ résulte des variations de la covariabilité de la surface et des rendements.

Sur la base de l'équation (5), les variations des variances et covariances de la production peuvent se décomposer en dix parties composantes : variations du rendement moyen, variation de la surface moyenne, variation des variances et covariances du rendement, variation des covariances surface-rendement, interaction entre les variations des rendements moyens et des surfaces moyennes, interaction entre les variations des surfaces moyennes et les variances du rendement, interaction entre les variations du rendement moyen et les variances de la surface, interaction entre les variations des surfaces et des rendements moyens et les variations de la covariance surface-rendement et, enfin, variations des restes (voir Hazell, 1982).

Les cinq premières sources de variations sont les effets purs et ont une importance capitale sur le plan de la variabilité. Les quatre sources suivantes sont les effets des interactions dus aux variations simultanées des parties constituantes et la dernière est un terme d'ordre supérieur qui est faible et a peu d'importance.

RESULTATS ET DISCUSSION

Croissance de la surface, de la production et de la productivité :

La croissance de la surface, de la production et de la productivité en cocons au cours de la période allant de 1971-72 à 1990-91 a été étudiée en ajustant les équations de tendance et en calculant le taux de croissance composé. Les résultats sont présentés dans le tableau I. La surface de mûrier en Inde a augmenté de 6,04 %, ce qui correspond à 10 600 ha par an. La production de cocons a également augmenté de manière significative, avec un taux de 7,00 %, tandis que la croissance de la productivité reste faible avec un taux de 0,91 %. Tous les Etats enregistrent une augmentation significative de la surface de mûrier au cours des deux décennies se terminant en 1990-91. Pour ce qui concerne la production de cocons, tous les Etats, à l'exception du Jammu-et-Cachemire (-2,24 %), donnent des résultats satisfaisants. Si l'on considère la productivité, on observe que l'augmentation du rendement est significative dans le Karnataka, l'Andhra Pradesh et le Tamil Nadu avec des taux respectifs de 1,20 %, 7,93 % et 11,04 % ; tandis que le Jammu-et-Cachemire (-13,03 %) et les Etats non traditionnels (-5,11 %) enregistrent un déclin de la productivité.

Le tableau II présente les variations de la surface moyenne, de la productivité moyenne et de la production moyenne entre les deux périodes considérées dans cette étude. Il est évident que tous les Etats enregistrent une augmentation significative de la surface cultivée au cours de la deuxième période par rapport à la première. Cependant, seuls trois Etats (Karnataka, Andhra Pradesh et Tamil Nadu) enregistrent une augmentation du rendement en cocons pour la deuxième période par rapport à la première. Ce phénomène démontre que la croissance de la production dans le Bengale occidental et dans les Etats non traditionnels est principalement due à l'augmentation de la surface cultivée. Avec un taux de -23,86 %, le Jammu-et-Cachemire enregistre un déclin de la production pour la deuxième période par rapport à la première. Pour ce qui concerne les variations de production entre les périodes, le Bengale occidental (-80,09 %) et le Jammu-et-Cachemire (-22,95 %) enregistrent des variations négatives de la production.

Composantes de la croissance de production :

Le tableau III présente les variations de la production moyenne dues aux différentes composantes. On peut déduire de ces résultats que la croissance de la production moyenne de la première à la deuxième période est principalement due aux variations de la surface (81,96 %). L'augmentation de la production due aux variations de la productivité est de 9,37 % seulement. Il convient de noter que l'Andhra Pradesh avec 39,25 %, le Karnataka avec 21,65 % et le Tamil Nadu avec 19,60 % sont les principaux Etats contribuant à la croissance de la production de cocons du pays et que ces variations sont surtout dues à la surface. Dans le Jammu-et-Cachemire, l'augmentation de la surface de mûriers (6,47 %) est neutralisée par la diminution de la productivité (-2,9 %) et l'interaction entre les variations de la surface moyenne et du rendement moyen (-4,94 %) ; ce qui se traduit par des variations extrêmement faibles de la production totale de cocons de cet Etat (-0,37 %). L'effet de l'interaction entre les variations de la surface moyenne et du rendement moyen sur l'augmentation de la production n'est important que dans l'Andhra Pradesh avec 14,45 % et le Tamil Nadu avec 7,65 %. L'augmentation de la production due aux variations des covariances surface et rendement est négligeable pour tous les Etats.

Instabilité de la production :

Comme nous l'avons vu dans la méthodologie, l'instabilité de la production de cocons a été décomposée en dix facteurs afin de déterminer la nature et l'importance des fluctuations de la production dans les Etats et dans le pays. Les résultats de l'analyse sont présentés dans le tableau IV. Les principaux Etats traditionnellement producteurs de cocons contribuent peu à l'instabilité de la production de cocons. Les principaux facteurs contribuant à l'instabilité globale (sur l'ensemble du pays) de la production de cocons sont les variations des covariances de surface et de rendement qui représentent 33,09 %, devant les variations de la variance de la surface avec 31,34 % et les variations de la surface moyenne avec 19,37 %.

L'Andhra Pradesh, où la production augmente de manière substantielle de la première à la deuxième période, contribue pour seulement 5,66 % à l'instabilité de la production. Dans l'Andhra Pradesh, la principale composante de l'instabilité (variations de la surface moyenne avec 9,41 %), est neutralisée par l'interaction favorable avec le rendement (-11,14 %). Dans le Karnataka, le premier Etat producteur du pays, et le Tamil Nadu (troisième producteur), la production est fortement stable et on ne constate aucun signe marqué d'instabilité. Dans le Jammu-et-Cachemire, où la production diminue, l'instabilité (15,12 %) est due aux fluctuations du rendement (3,95 %) et aux variations des covariances de la surface et du rendement (8,07 %). On peut déduire du tableau IV que le Bengale occidental contribue à hauteur de 9,90 % à l'instabilité de la production de cocons ; ceci est principalement dû aux fluctuations de la surface et aux variations de la surface moyenne. Il est intéressant de noter que, chez les Etats non traditionnels où la sériciculture est d'origine récente, la production de cocons est fortement instable et contribue pour 59,93 % à l'instabilité de la production en Inde. L'instabilité dans ces Etats est avant tout causée par les variations de la variance de surface ; ceci implique que la surface cultivée est soumise à des fluctuations croissantes d'une année à l'autre. De plus, les variations de la surface ne sont pas corrélées avec les variations du rendement qui contribuent pour 22,01 % à l'instabilité de la production de cocons.

CONCLUSION

Cette étude a été réalisée afin d'examiner la croissance et l'amplitude de l'instabilité de la production de cocons mûrier en Inde. La méthodologie de décomposition de Hazell constitue le cadre économique permettant d'identifier les composantes et les sources d'instabilité de la production de cocon. Les conclusions tirées de ces résultats sont les suivantes :

La surface de culture du mûrier enregistre une augmentation significative dans tous les Etats, bien que la productivité diminue dans les Etats du Jammu-et-Cachemir, du Bengale occidental et dans les Etats non traditionnels au cours de la période de référence. La productivité des Etats non traditionnels (101,71 kg/ha) n'est pas impressionnante et reste bien en deçà de la moyenne nationale de 351,25 % pour la dernière décennie. Les niveaux de rendements des Etats non traditionnels

demande une plus grande attention si l'on souhaite les faire contribuer de manière plus significative à la croissance de la production de cocons.

L'augmentation de la production de cocons est principalement liée à la surface de mûrier pour tous les Etats et la contribution du rendement à la croissance de la production est négligeable. Il est donc nécessaire d'isoler des variétés de mûrier et des races de vers à soie locales plus performantes utilisables sur le terrain à la place des variétés à faible rendement et de développer des mesures afin de renforcer les infrastructures.

La méthode de décomposition montre que les principaux Etats producteurs de cocons contribuent peu à l'instabilité de la production de cocons et que cette instabilité est surtout due aux Etats non traditionnels dont la production de cocons est secondaire. Dans ces Etats, l'instabilité est induite surtout par les fluctuations de la surface et du rendement ; ceci nécessite un renforcement des recherches spécifiques locales, des infrastructures et un système de formation afin d'augmenter et de stabiliser la production de cocons dans les Etats non traditionnels.

GENETIC STUDIES ON THE *oe* TRANSLUCENT MUTANT IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI*

QIN J.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang, 212018,
P.R. China.

*A translucent mutant was found as a spontaneous occurrence in a European race '410'. It is controlled by a single recessive gene. This mutant was named translucent E-410 (gene symbol: *oe*). Linkage tests showed that *oe* was linked with white egg 2 (*w-2*), which is known to be located on the 10th linkage group. It may perhaps be a new member of the *w-3* allelic group.*

Keywords: *Bombyx mori*, genetics, translucent mutant.

INTRODUCTION

In general, the integument of silkworm larvae contains urate crystals, which are white in color. The so-called oily silkworm results from a decrease of urate crystals in the integument, which appears like a piece of oil-soaked white paper, being translucent. The less urate crystals it contains, the more translucent the integument is. Oily silkworm is a special morphological character in silkworm genetics. More than 42 mutations are known that result in an oily character (JSSC, 1986). Nevertheless, different oily mutants do not have the same transparency. Moreover, some oily silkworms have a certain lethality. All but one of the oily mutations are recessive.

In 1984, an oily mutant was discovered among varieties of European strains. Subsequently, its mode of inheritance was analyzed and it was shown that this mutant is a new one, controlled by an oily gene belonging to the 10th linkage group.

The results of these studies are reported as follows.

MATERIALS AND METHODS

Oily silkworm:

A univoltine variety of European strain named '410', conserved at the Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, was used. Its eggs are brown with a slate tint. Eggshells are colorless, being identical with those of normal. The larval integument becomes translucent after the third instar. Transparency is moderate, being less translucent than *or* oily and similar to that of *oc* oily. Other characters are normal. Its viability is fairly high. The oily mutation of '410' is represented with the symbol, *oe*. F₁ progeny of the mutation *oe* crossed with *oc* and *or* showed no oily character. In the F₂, segregation occurred in a ratio of 9:7 of normal to oily mutant.

Wild type:

A Chinese bivoltine strain named 'C108', conserved at the Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, was used. It has a normal (+, non-oily) integument. After crossing between *oe* and the normal strain, segregation of the oily character was investigated in their F₁, F₂, RF₁ (backcross to recessive marker), and DF₁ (backcross to dominant) progeny.

Linkage analysis:

Markers *p*³ (2), *Ze* (3), *L* (4), *E*^{ca} (6), *st* (8), *w-2* (10), *K* (11), *ch* (13), *Se* (15), *cts* (16), *mln* (18), *nb* (19), *rb* (21), *sp* (23) and *Ym* (?) representing each linkage group were used for linkage analysis of the *oe* mutation by crossing *oe* with marker individually. In cross combinations with dominant markers, F₁ females were backcrossed to *oe* males and the segregation ratio was observed in the RF₁s whereas in the case of recessive markers, segregation ratios were analyzed in their F₂ progeny. In cross combinations with the pseudomaternal genes, *Se* or *sp*, observation was made on the basis of individual egg batches deposited by F₂ or RF₁ female moths.

RESULTS**Inheritance of *oe* oily:**

oe oily silkworms were crossed with normal ones, and the segregation was observed in their F₁, F₂, RF₁ and DF₁ progeny. The results are shown in Table I. These results clearly indicate that the *oe* oily mutant is controlled by a single recessive gene, *oe*, and that the original mutant was homozygous, *oe/oe*. Thus, all offspring in the F₁ generation were wild type, and the segregation ratio was close to 3:1 in the F₂ and 1:1 in the backcross generation.

Table I. Inheritance of *oe* oily silkworms.**Tableau I. Transmission héréditaire du caractère *oe* huileux.**

Hybridization pattern	Number of normal silkworms	Number of oily silkworms	Ratio of normal to oily	χ^2
<i>Plan d'hybridation</i>	<i>Nombre de vers à soie normaux</i>	<i>Nombre de vers à soie huileux</i>	<i>Proportion normaux: huileux</i>	χ^2
<i>oe</i> F × N M	642	0	1:0	-
N F × <i>oe</i> M	553	0	1:0	-
(<i>oe</i> F × N M) F ₂	417	131	3:1	0.340
(N F × <i>oe</i> M) F ₂	512	164	3:1	0.197
(<i>oe</i> × N) F ₁ × <i>oe</i>	367	389	1:1	0.640
(<i>oe</i> × N) F ₁ × N	725	0	1:0	-

F: Female / *Femelle*. M: Male / *Mâle*. N: Normal.

Figures in the table are from the sum of two layings.

Les chiffres indiqués dans le tableau correspondent à la somme de deux pontes.

Linkage analysis of *oe* mutation:

In order to determine the linkage group to which *oe* belongs, crosses were made between the *oe* strain and 8 strains with dominant markers and 8 strains with recessive markers. For all of these combinations, examination of segregation ratios was carried out in their offspring at an appropriate generation. The results are given in Table II.

Eight crosses with the following dominant markers were carried out: p^3 (normal marking, 2), *Ze* (zebra marking, 3), *L* (multilunar marking, 4), E^{ca} (extra crescent, 6), *K* (knobbed, 11), *Se* (white side egg, 15), *Nd* (naked pupa, 25), and *Ym* (yellow molting, 26?). All showed a 1:1:1:1 segregation ratio, as expected from an RF₁ cross. The results showed that *oe* is independent from these linkage groups.

Seven crosses with recessive markers gave nearly 9:3:3:1 ratios (as expected from the F₂ segregation). These were *st* (stony, 8), *ch* (recessive chocolate, 13), *cts* (check and tail spots, 16), *mln* (melanism, 18), *nb* (narrow breast, 19), *rb* (red haemolymph, 21), and *sp* (spindle-shaped eggs, 23). From these results, it was concluded that *oe* is also independent from these 7 linkage groups.

In contrast, in the remaining combination of *oe* with *w-2* (white egg 2, 10), the F₁ eggs were normal and black, and the F₁ silkworms did not show the oily character; segregation occurred in the F₂ as follows: $+^{oe}+^{w-2}:+^{oe}w-2:oe+^{w-2}:oe w-2 = 572:252:262:0$. In this case no double recessive, oily and white-2, individuals appeared and the ratio was close to 1:2:1. This indicates that *oe* and *w-2* are not independent but are located on the same chromosome.

Table II. Linkage analysis of gene *oe*.

Tableau II. Analyse de liaison du gène *oe*.

Marker gene and linkage group	Crosses	Number of observed segregants				Relation between <i>oe</i> and marker gene	χ^2
		$+^{oe}$	<i>oe</i>	$+^{oe}$	<i>oe</i>		
Gène marqueur et groupe de liaison	Croisements	Nombre de ségrégants observés				Relation entre <i>oe</i> et le gène marqueur	χ^2
		$+^{oe}$	<i>oe</i>	$+^{oe}$	<i>oe</i>		
p^3 (2)	$(+p^3,oe/+) \times (+/+,oe/oe)$	p^3 198	p 203	p^3 212	p 208	ind.	0.539
<i>Ze</i> (3)	$(+/Ze,oe/+) \times (+/+,oe/oe)$	<i>Ze</i> 245	+264	<i>Ze</i> 211	+209	ind.	5.364
<i>L</i> (4)	$(+/L,oe/+) \times (+/+,oe/oe)$	<i>L</i> 196	+203	<i>L</i> 190	+214	ind.	1.585
E^{ca} (6)	$(E^{ca}/+,oe/+) \times (+/+,oe/oe)$	E^{ca} 244	+274	E^{ca} 257	+220	ind.	6.002
<i>st</i> (8)	$(+/st,oe/+)^*$	+835	<i>st</i> 264	+292	<i>st</i> 36	ind.	-
<i>K</i> (11)	$(+/K,oe/+) \times (+/+,oe/oe)$	<i>K</i> 206	+189	<i>K</i> 211	+178	ind.	3.561
<i>ch</i> (13)	$(+/ch,oe/+)^*$	+908	<i>ch</i> 259	+308	<i>ch</i> 131	ind.	7.012
<i>Se</i> (15)	$(+/Se,oe/+) \times (+/+,oe/oe)$	<i>Se</i> 53	+47	<i>Se</i> 45	+49	ind.	0.722
<i>cts</i> (16)	$(+/cts,oe/+)^*$	+337	<i>cts</i> 94	+115	<i>cts</i> 38	ind.	6.717
<i>mln</i> (18)	$(+/mln,oe/+)^*$	+945	<i>mln</i> 335	+310	<i>mln</i> 102	ind.	1.340
<i>nb</i> (19)	$(+/nb,oe/+)^*$	+423	<i>nb</i> 151	+145	<i>nb</i> 43	ind.	1.017
<i>rb</i> (21)	$(r/rb,oe/+)^*$	+305	<i>rb</i> 95	+106	<i>rb</i> 36	ind.	0.754
<i>sp</i> (23)	$(+/sp,oe/+)^*$	+107	<i>sp</i> 32	+40	<i>sp</i> 13	ind.	0.975
<i>Nd</i> (25)	$(+/Nd,oe/+) \times (+/+,oe/oe)$	<i>Nd</i> 156	+123	<i>Nd</i> 145	+134	ind.	4.338
<i>Ym</i> (?)	$(+/Ym,oe/+) \times (+/+,oe/oe)$	<i>Ym</i> 203	+187	<i>Ym</i> 232	+244	ind.	7.640
<i>w-2</i> (10)	$(+/w-2,oe/+)^*$	+572	<i>w-2</i> 262	+252	<i>w-2</i> 0	1	3.323

* self-crossed / *autocroisé*.

st: medial lethal gene / *gène léthal intermédiaire*.

Ind.: independent / *indépendant*.

l: linked / *lié*.

DISCUSSION

A number of genes controlling oily traits are known on chromosome 10. According to the 'Report of the Committee on Genetic Nomenclature in the Silkworm' published by the Japanese Society of Sericultural Science (1986), there are 8 oily genes on the 10th linkage group with loci all within 10 cM to 19.6 cM. The 8 oily genes are white egg-3 ($w-3$), Chinese 106 translucent ($w-3^{106}$), brown egg-3 ($w-3^b$), Matamukashi translucent ($w-3^m$), melamine-induced oily and white egg ($w-3^{mi}$), white egg translucent ($w-3^{oe}$) and Aojuku white egg translucent ($w-3^{ol}$). Except for the Matamukashi translucent, the other 7 oily mutants are all accompanied by mutations in egg color. The Matamukashi translucent causes a slightly translucent integument, which is difficult to discriminate in the fifth instar larvae from normal; whereas the oily character is obvious in young silkworm stages. The mutant larvae are weak, making it difficult to raise them up to spinning, and giving 20% lethality. Moreover, many pupae die before emergence, moths are inefficient in copulation, and lay many non-fertilized eggs (Tanaka, 1952). On the other hand, the translucent mutant of 410 is not accompanied by any mutation in egg color, it is strong, and it has no lethality. Its transparency is moderate, mature larvae are obviously different from those of the normal, and moths are normal in copulating and laying eggs. Hence, it has significant morphological difference from the other 8 translucent genes that belong to the 10th linkage group. This suggests that it is a new oily mutant. Although an allelism test has not been carried out yet with similar mutations such as $w-3^b$ or $w-3^{106}$, it may be a new member of the $w-3$ allelic group. Thus, it has been named translucent E-410, with gene symbol *oe*. At present, the precise map position of *oe* is under investigation.

REFERENCES

- CHIKUSHI H. (1972) Genes and genetical stocks of silkworm. Tokyo, 73-108.
 JSSC (Japanese Society of Sericultural Science) (1986) Report of the committee on genetic nomenclature in the silkworm. J. Sericult. Sci. Japan, 55, 95-111.
 TANAKA Y. (1952) Silkworm genetics. Tokyo, 83-90.

ETUDES GENETIQUES SUR LE MUTANT TRANSLUCIDE *oe* DU VER A SOIE *BOMBYX MORI*

QIN J.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang, 212018,
R.P. Chine.

*On a observé un mutant translucide présent spontanément chez la race européenne "410". Ce mutant est gouverné par un seul gène récessif ; il a été appelé translucide E-410 (symbole génique : *oe*). Les tests de liaison montrent qu'*oe* est lié avec le gène de l'oeuf blanc 2 (*w-2*), dont on sait qu'il se situe sur le 10e groupe de liaison. Il pourrait s'agir d'un nouveau membre du groupe allélique *w-3*.*

INTRODUCTION

En général, le tégument des larves de ver à soie contient des cristaux d'urate qui sont de couleur blanche. Le ver à soie présentant le caractère appelé "huileux" résulte d'une diminution des cristaux d'urate dans le tégument qui prend alors l'aspect d'une feuille de papier blanche trempée dans l'huile, d'où cette apparence translucide. Moins le tégument contient de cristaux d'urate, plus il est translucide. Le caractère "huileux" est un caractère morphologique particulier en génétique du ver à soie. On a mis en évidence plus de 42 mutations entraînant le caractère "huileux" (JSSC, 1986). Néanmoins, les différents mutants "huileux" ne présentent pas tous la même transparence. De plus, plusieurs vers à soie "huileux" présentent une certaine mortalité. A une exception près, toutes les mutations "huileuses" sont récessives.

En 1984, un mutant "huileux" a été découvert chez des variétés de souches européennes. Par la suite, son mode de transmission héréditaire a été analysé et on a démontré qu'il s'agissait d'une nouvelle mutation, gouvernée par un gène "huileux" appartenant au 10e groupe de liaison.

Les résultats de ces études sont présentés ici.

MATERIELS ET METHODES

Ver à soie "huileux" :

On a utilisé une variété monovoltine de souche européenne appelée "410", conservée à l'Institut de recherches séricicoles de l'Académie des sciences agricoles de Chine. Ses oeufs sont marron avec une teinte ardoise. Les coquilles des oeufs sont incolores et identiques à celles des vers à soie normaux. Le tégument larvaire devient translucide après le troisième âge. Le degré de transparence est modéré : il est moins transparent que le gène "huileux" *or* et similaire à celui du gène *oc*. Les autres caractères sont normaux. Sa viabilité est assez élevée. La mutation "huileuse" de "410" est représentée par le symbole *oe*. Les descendants F₁ du croisement de la mutation *oe* avec *oc* et *or* ne possèdent pas le caractère "huileux". Chez les F₂, la ségrégation entre vers normaux et vers mutants est dans un rapport de 9 à 7.

Type sauvage :

On a utilisé une souche bivoltine chinoise dénommée "C108", conservée à l'Institut de recherches séricicoles de l'Académie des sciences agricoles de Chine. Cette souche a un tégument normal

(+, non "huileux"). Après croisement de *oe* avec la souche normale, la ségrégation du caractère "huileux" a été étudiée chez les descendants F₁, F₂, RF₁ (rétrocroisement avec le marqueur récessif) et DF₁ (rétrocroisement avec le marqueur dominant).

Analyse de liaison :

Les marqueurs *p*³ (2), *Ze* (3), *L* (4), *E*^{ca} (6), *st* (8), *w-2* (10), *K* (11), *ch* (13), *Se* (15), *cts* (16), *mln* (18), *nb* (19), *rb* (21), *sp* (23) et *Ym* (?), représentant chacun des groupes de liaison, ont été utilisés pour l'analyse de liaison de la mutation *oe* en croisant *oe* avec chaque marqueur individuellement. Dans les combinaisons avec des marqueurs dominants, les femelles F₁ ont été rétrocroisées avec des mâles *oe* et le taux de ségrégation a été observé à la génération RF₁, tandis que, dans le cas des marqueurs récessifs, les taux de ségrégations ont été analysés chez les descendants F₂. Chez les combinaisons de croisement présentant les gènes pseudomaternels *Se* ou *sp*, les observations ont été faites sur la base des pontes individuelles déposées par chaque papillon femelle F₂ ou RF₁.

RESULTATS

Transmission du gène "huileux" *oe* :

Les vers à soie "huileux" *oe* ont été croisés avec des vers à soie normaux et la ségrégation a été observée chez les descendants F₁, F₂, RF₁ et DF₁. Les résultats sont présentés dans le tableau I. Ces résultats indiquent clairement que le mutant "huileux" *oe* est gouverné par un seul gène récessif (*oe*) et que le mutant originel est homozygote (*oe/oe*). Tous les descendants de la génération F₁ sont donc de type sauvage et le taux de ségrégation est proche de 3:1 chez F₂ et de 1:1 dans le rétrocroisement.

Analyse de liaison de la mutation *oe* :

Afin de déterminer le groupe de liaison auquel appartient *oe*, des croisements ont été réalisés entre la souche *oe* et 8 souches à marqueurs dominants, d'une part, et 8 souches à marqueurs récessifs, d'autre part. Pour toutes ces combinaisons, les taux de ségrégation ont été examinés chez les descendants à la génération voulue. Les résultats sont présentés dans le tableau II.

On a effectué huit croisements avec les marqueurs dominants suivants : *p*³ (normal, 2), *Ze* (zébré, 3), *L* (multilunaire, 4) *E*^{ca} (croissant supplémentaire, 6), *K* (bosselé, 11), *Se* (oeuf blanc, 15), *Nd* (chrysalide nue, 25) et *Ym* (mue jaune, 26 ?). Tous présentent un taux de ségrégation de 1:1:1:1, comme on peut s'y attendre chez un croisement RF₁. Les résultats montrent que *oe* est indépendant de ces groupes de liaison.

Sept croisements avec des marqueurs récessifs donnent des taux proches de 9:3:3:1 (taux de ségrégation attendu pour F₂). Ceux-ci sont : *st* (pierreux, 8), *ch* (chocolat récessif, 13), *cts* (taches sur les joues et la queue, 16), *mln* (mélanisme, 18), *nb* (poitrine étroite, 19), *rb* (hémolymph rouge, 21) et *sp* (oeufs fuselés, 23). Les résultats obtenus permettent de conclure que *oe* est également indépendant de ces sept groupes de liaison.

En revanche, chez la combinaison *oe* avec *w-2* (oeuf blanc 2, 10), les oeufs F₁ sont normaux et noirs et les vers à soie F₁ ne présentent pas le caractère "huileux" ; la ségrégation se produit chez les F₂ de la façon suivante : +^{oe} +^{w-2} : +^{oe} *w-2* : *oe* +^{w-2} : *oe w-2* = 572:252:262:0. Dans ce cas, aucun individu double récessif, "huileux" et blanc 2, n'apparaît et le taux de ségrégation est proche de 1:2:1 ; ceci indique que *oe* et *w-2* ne sont pas indépendants et qu'ils sont situés sur le même chromosome.

DISCUSSION

On sait qu'un certain nombre de gènes gouvernant le caractère "huileux" sont situés sur le chromosome 10. D'après le *Report of the Committee on Genetic Nomenclature in the Silkworm* publié par la *Japanese Society of Sericultural Science* (1986), il existe 8 gènes "huileux" sur le 10e groupe de liaison dont tous les locus sont situés entre 10 cM et 19.6 cM. Les huit gènes "huileux" sont : oeuf blanc 3 (*w-3*), translucide 106 chinois (*w-3*¹⁰⁶), oeuf marron 3 (*w-3*^b), translucide de Matamukashi (*w-3*^m), "huileux" et oeuf blanc induits par la mélamine (*w-3*^{mln}), oeuf blanc translucide (*w-3*^{oe}) et oeuf blanc translucide d'Aojuku (*w-3*^o). A l'exception du translucide de Matamukashi, les sept mutants s'accompagnent tous d'une mutation de la couleur de l'oeuf. Le translucide de Matamukashi

donné un tégument légèrement transparent qu'il est difficile de distinguer de celui des larves normales au cinquième âge ; tandis que le caractère "huileux" est évident chez les larves des premiers stades. Les larves mutantes sont peu vigoureuses, ce qui les rend difficiles à élever jusqu'au filage du fait d'un taux de létalité de 20 %. De plus, beaucoup de chrysalides meurent avant l'éclosion, les papillons ne sont pas aptes à l'accouplement et pondent de nombreux oeufs non fécondés (Tanaka, 1952). Par ailleurs, le mutant translucide de 410 ne présente aucune mutation de la couleur de l'oeuf, il est vigoureux et n'a pas de létalité. Sa transparence est modérée, les larves matures sont clairement différentes de la normale et les papillons présentent un comportement d'accouplement et de ponte normal. Il y a donc une différence morphologique significative par rapport aux huit autres gènes de la transparence qui appartiennent au 10^e groupe de liaison. Ceci suggère qu'il s'agit d'un nouveau mutant "huileux". Bien que les tests d'allélisme n'aient pas encore été réalisés avec des mutations similaires comme $w-3^b$ ou $w-3^{106}$, ce pourrait être un nouveau membre du groupe allélique $w-3$. Il a donc été dénommé translucide E-410 et représenté par le symbole génique oe . La position exacte d' oe sur la carte est actuellement à l'étude.

GENETIC STUDIES ON THE SECOND RECESSIVE CHOCOLATE GENE IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L. II: LINKAGE ANALYSIS OF *ch-2**

QIN J.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang, 212018, P.R. China.

ch-2 is a recessive chocolate gene found after the discovery of ch. It is independently inherited relative to markers such as p^M (2), Zc (3), L (4), pc (5), E^{el} (6), q (7), st (8), Ia (9), w-2 (10), ms (12), cf (13), U (14), Se (15), cts (16), Bm (17), nb (19), rb (21), or (22), sp (23), Nd (25) and Ym. Segregation in the F₂ from a cross of ch-2 with mln was $+^{ch-2}+^{ch-2};ch-2+^{mln};+^{ch-2}mln:ch-2mln = 523:284:231:0 \approx 2:1:1:0$; and from ch-2 with elp was $+^{ch-2}+^{elp};ch-2+^{elp};+^{ch-2}elp:ch-2elp = 219:97:68:0 = 2:1:1:0$. The data show obviously that ch-2 belongs to the mln and elp linkage group, i.e., ch-2 is located on the 18th chromosome.

Keywords: *Bombyx mori* L., mutation, linkage group.

INTRODUCTION

In a previous report (Qin, 1985), it was shown that a new independently isolated gene with a recessive chocolate phenotype was different from chocolate (*ch*) discovered in 1984 from the European univoltine variety 'Bao Huang'. In *ch-2/ch-2* homozygotes, the bodies of the newly hatched larvae were dark russet and the heads, black. After feeding, the chocolate colour disappeared gradually. *ch-2* is recessive. In the experiments reported here, the author has analyzed the linkage group to which *ch-2* belongs, studied the relationship between *ch-2* and *Ia*, and observed the influence of *ch-2* on body markings of mature or fifth instar silkworms.

MATERIALS AND METHODS

In the spring of 1985, *ch-2* moths were crossed with those of different markers and the F₁s were raised in autumn of 1985. Segregation in the F₂ or RF₁ (backcross to recessive) was surveyed in the spring of 1986 so as to determine whether *ch-2* was linked with the markers or not. In cross combination with recessive markers, the F₁s were self-crossed, and segregation ratios were observed in their F₂ progeny; whereas, in the case of dominant markers, F₁ females were backcrossed to *ch-2* males. In the test cross with dominant chocolate, *Ia*, the F₁s were self-crossed. In cross combinations with the pseudomaternal markers, *Se*, *sp* and *elp*, observations were made on the basis of individual egg batches deposited by F₂ or RF₁ female moths.

Markers:

The markers employed for each linkage group were: *p^M* (2), *Ze* (3), *L* (4), *pe* (5), *Ze* (3), *L* (4), *pe* (5), *E^{el}* (6), *q* (7), *st* (8), *Ia* (9), *w-2* (10), *cf* (13), *U* (14), *Se* (15), *cts* (16), *Bm* (17), *mln* (18), *elp* (18), *nb* (19), *rb* (21), *or* (22), *sp* (23), *Nd* (25) and *Ym*.

* In a previous report (Qin, 1985), the second recessive chocolate gene was named *ch₂*. In accordance with the 'Report of the Committee on Genetic Nomenclature in the Silkworm' (JSSC, 1986), *ch₂* is now renamed *ch-2*.

RESULTS AND DISCUSSION

After *ch-2* was crossed with each marker, segregation in F₂ or RF₁ was surveyed for preliminary determination of the linkage group to which *ch-2* belongs. The results are shown in Table I. After *ch-2* was crossed with stocks bearing the dominant markers, *p^M* (moricaud silkworm), *Ze* (zebra marking), *L* (multilunar marking), *E^{EL}* (extra crescents and extra legs), *U* (ursa silkworm), *Se* (white side egg), *Bm* (black moth), *Nd* (naked pupa) and *Ym* (yellow molting), the F₁ females were backcrossed to homozygous *ch-2* males which led to a segregation ratio close to 1:1:1:1. This showed that *ch-2* was inherited independently from these markers. χ^2 values also supported this conclusion.

Table I. Linkage analysis of gene *ch-2*.Tableau I. Analyse de liaison du gène *ch-2*.

Marker gene and linkage group	Crosses	Segregation (from 2 layings)		Relation between <i>ch-2</i> and marker gene		χ^2
		<i>+^{ch-2}</i>	<i>ch-2</i>			
Gène marqueur et groupe de liaison	Croisements	Ségrégation (pour 2 pontes)		Relation entre <i>ch-2</i> et le gène marqueur		χ^2
		<i>+^{ch-2}</i>	<i>ch-2</i>			
<i>p^M</i> (2)	(<i>+p^M, ch-2/+</i>) × (<i>+/+, ch-2/ch-2</i>)	<i>p^M</i> 148	+133	<i>p^M</i> 134	+136	ind. 1.051
<i>Ze</i> (3)	(<i>+Ze, ch-2/+</i>) × (<i>+/+, ch-2/ch-2</i>)	<i>Ze</i> 144	+137	<i>Ze</i> 130	+140	ind. 0.760
<i>L</i> (4)	(<i>+L, ch-2/+</i>) × (<i>+/+, ch-2/ch-2</i>)	<i>L</i> 190	+191	<i>L</i> 162	+163	ind. 3.639
<i>pe</i> (5)	(<i>+pe, ch-2/+</i>)*	+294	<i>pe</i> 36	+78	<i>pe</i> 14	ind. -
<i>E^{EL}</i> (6)	(<i>+E^{EL}, ch-2/+</i>) × (<i>+/+, ch-2/ch-2</i>)	<i>E^{EL}</i> 188	+201	<i>E^{EL}</i> 163	+178	ind. 4.236
<i>q</i> (7)	(<i>+q, ch-2/+</i>)*	+336	<i>q</i> 116	+118	<i>q</i> 38	ind. 0.294
<i>st</i> (8)	(<i>+st, ch-2/+</i>)*	+216	<i>st</i> 80	+83	<i>st</i> 20	ind. 2.545
<i>la</i> (9)	(<i>+la, ch-2/+</i>)*	<i>la</i> 385	+128	+33	<i>la</i> 0	ind. 7.041
<i>w-2</i> (10)	(<i>+w-2, ch-2/+</i>)*	+194	<i>w-2</i> 38	+55	<i>w-2</i> 7	ind. -
<i>ms</i> (12)	(<i>+ms, ch-2/+</i>)*	+269	<i>ms</i> 70	+108	<i>ms</i> 21	ind. 8.010
<i>cf</i> (13)	(<i>+cf, ch-2/+</i>)*	+141	<i>cf</i> 42	+30	<i>cf</i> 18	ind. 5.953
<i>U</i> (14)	(<i>+U, ch-2/+</i>) × (<i>+/+, ch-2/ch-2</i>)	<i>U</i> 212	+226	<i>U</i> 180	+181	ind. 7.914
<i>Se</i> (15)	(<i>+SE, ch-2/+</i>) × (<i>+/+, ch-2/ch-2</i>)	<i>Se</i> 53	+28	<i>Se</i> 44	+38	ind. 7.880
<i>cts</i> (16)	(<i>+cts, ch-2/+</i>)*	+356	<i>cts</i> 128	+124	<i>cts</i> 43	ind. 0.734
<i>Bm</i> (17)	(<i>+Bm, ch-2/+</i>) × (<i>+/+, ch-2/ch-2</i>)	<i>Bm</i> 126	+125	<i>Bm</i> 95	+88	ind. 7.098
<i>nb</i> (19)	(<i>+nb, ch-2/+</i>)*	+255	<i>nb</i> 82	+98	<i>nb</i> 31	ind. 1.938
<i>rb</i> (21)	(<i>+rb, ch-2/+</i>)*	+296	<i>rb</i> 83	+116	<i>rb</i> 38	ind. 6.161
<i>or</i> (22)	(<i>+or, ch-2/+</i>)*	+256	<i>or</i> 83	+96	<i>or</i> 33	ind. 1.713
<i>sp</i> (23)	(<i>+sp, ch-2/+</i>)*	+85	<i>sp</i> 32	+29	<i>sp</i> 4	ind. 3.648
<i>Nd</i> (25)	(<i>+Nd, ch-2/+</i>) × (<i>+/+, ch-2/ch-2</i>)	<i>Nd</i> 91	+54	<i>Nd</i> 138	+152	ind. -
<i>Ym</i> (?)	(<i>+Ym, ch-2/+</i>) × (<i>+/+, ch-2/ch-2</i>)	<i>Ym</i> 219	+202	<i>Ym</i> 200	+205	ind. 1.071
<i>mln</i> (18)	(<i>+mln, ch-2/+</i>)*	+523	<i>mln</i> 231	+284	<i>mln</i> 0	1 5.479
<i>elp</i> (18)	(<i>+elp, ch-2/+</i>)*	+219	<i>elp</i> 68	+97	<i>elp</i> 0	1 7.826

* self-crossed / autocroisé.

ind.: independent / indépendant.

l: linked / lié.

After *ch-2* was crossed with the recessive markers, *pe* (pink eyes and white eggs), *q* (quail mark), *st* (stony), *w-2* (white egg 2), *ms* (multistar mark), *cf* (crayfish pupa), *cts* (check and tail spots), *nb* (narrow breast), *rb* (red hemolymph), *or* (translucent) and *sp* (spindle-shaped egg), segregation values in the F₂ were all close to 9:3:3:1, again showing that *ch-2* and these genes were inherited independently.

The marker, *Ia*, is a dominant chocolate mutation in which newly hatched larvae are russet in body but black in head. The newly hatched *ch-2* larvae are dark russet, having an obvious difference from *Ia* chocolate. Data in Table I show that the segregation of *Ia* chocolate to the normal and black and the *ch-2* chocolate is 385:128:33, which is close to 12:3:1. Segregation of mutations occurred in the following way:

P ₁	<i>Ia/Ia</i> ; + ^{<i>ch-2</i>} /+ ^{<i>ch-2</i>} × + ^{<i>Ia</i>} /+ ^{<i>Ia</i>} ; <i>ch-2/ch-2</i>			
F ₁	<i>Ia</i> /+ ^{<i>Ia</i>} ; + ^{<i>ch-2</i>} / <i>ch-2</i>			
F ₂	<i>Ia/Ia</i> ; + ^{<i>ch-2</i>} /-	<i>Ia</i> /-; <i>ch-2/ch-2</i>	+ ^{<i>Ia</i>} /+ ^{<i>Ia</i>} ; + ^{<i>ch-2</i>} /-	+ ^{<i>Ia</i>} /+ ^{<i>Ia</i>} ; <i>ch-2/ch-2</i>
	9	3	3	1
	12		3	1

This indicates that *Ia* and *ch-2* are inherited independently. Moreover, *Ia* is epistatic to *ch-2*, so that the genotype is *Ia*/-; *ch-2/ch-2*, the character of *ch-2* is not distinguishable. Hence, a segregation ratio of 12:3:1 appeared in the F₂ progeny.

In Table 1, *se*, *sp* and *elp* are three pseudomaternial mutations in which the egg character is determined by the genotype of the female. In the experiments reported here, chocolate and black newly hatched silkworms of the RF₁s or F₂s were reared separately, and observations were made on the color and shape of the eggs deposited by both chocolate and black female moths.

Segregation in the F₂ of *ch-2* crossed with *mln* (melanism) was +^{*ch-2*}/-; +^{*mln*}/-;*ch-2*/-; *mln/mln*; +^{*mln*}/+^{*mln*}; *ch-2/ch-2*; *ch-2/ch-2*; *mln/mln* = 523:231:284:0 ≈ 2:1:1:0, showing that *ch-2* was linked with *mln* which is on the 18th linkage group. In addition, *ch-2* crossed with *elp* (ellipsoid egg) gave the following results: +^{*ch-2*}/-; +^{*elp*}/-; +^{*ch-2*}/-; *elp/elp*; +^{*elp*}/-; *ch-2/ch-2*; *ch-2/ch-2*; *elp/elp* = 219:68:97:0 ≈ 2:1:1:0, again showing that *ch-2* is on the 18th linkage group.

While conducting linkage analysis, the effect of *ch-2* on the black markings of fifth instar larvae was also observed. Among the markers observed, namely, moricaud marking (*ch-2*, *p*^M), normal marking (*ch-2*, *p*^N), ura silkmark (*ch-2*, *U*), zebra marking (*ch-2*, *Ze*) and multilunar marking (*ch-2*, *L*), it was discovered that *ch-2* had no influence on the pigmentation of these markings, which appeared normal. On the contrary, the coexistence of *ch* with them can change the black pigmentation in these markings into deep red. On this point, there is an obvious difference between *ch-2* and *ch*.

REFERENCES

- JIANG T.Q. (1948) Inheritance in Silkworms. Taihua Press, Kunming, pp. 5-61.
 JSSC (Japanese Society of Sericultural Science) (1986) Report of the Committee on Genetic Nomenclature in the Silkworm. J. Sericult. Sci. Japan, 55, 95-111.
 QIN J. (1985) Genetic studies on the chocolate-2 in the silkworm, *Bombyx mori*. Sci. Seric. China, 11, 103-106.

ETUDES GENETIQUES DU DEUXIEME GENE RECESSIF CHOCOLAT CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI* L. II : ANALYSE DE LIAISON DE *ch-2**

QIN J.

Sericultural Research and Training Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences,
Zhenjiang, 212018, R.P. Chine.

ch-2 est un gène récessif chocolat mis en évidence après la découverte de ch. Il est hérité indépendamment relativement à certains marqueurs comme p^M (2), Zc (3), L (4), pe (5), E^{el} (6), q (7), st (8), Ia (9), w-2 (10), ms (12), cf (13), U (14), Se (15), cts (16), Bm (17), nb (19), rb (21), or (22), sp (23), Nd (25) et Ym. La ségrégation à la génération F₂ d'un croisement de ch-2 avec mln donne $+^{ch-2} + : ch-2 +^{mln} +^{ch-2} mln : ch-2 mln = 523:284:231:0 \approx 2:1:1:0$ et celle de ch-2 avec clp donne $+^{ch-2} +^{elp} : ch-2 +^{clp} +^{ch-2} clp : ch-2 clp = 219:97:68:0 \approx 2:1:1:0$. Les données montrent que ch-2 appartient au groupe de liaison mln et clp, c'est-à-dire que ch-2 est situé sur le 18e chromosome.

INTRODUCTION

Dans un article précédent (Qin, 1985), il a été démontré qu'un nouveau gène isolé indépendamment avec un phénotype récessif chocolat est différent du gène chocolat (*ch*) découvert en 1984 chez la variété monovoltine européenne "Bao Huang". Chez les homozygotes *ch-2/ch-2*, le corps des larves sorties d'éclosion est roux foncé et la tête est noire. Après nourrissage, la couleur chocolat disparaît progressivement. *ch-2* est récessif. Dans les expériences décrites ici, l'auteur analyse le groupe de liaison auquel appartient *ch-2*, étudie la relation entre *ch-2* et *Ia* et observe l'influence de *ch-2* sur les marquages du corps des larves du cinquième âge.

MATERIELS ET METHODES

Au cours du printemps 1985, des papillons *ch-2* ont été croisés avec ceux de différents marqueurs et les F₁ ont été élevés à l'automne 1985. La ségrégation chez les F₂ ou les RF₁ (rétrocroisement avec le récessif) a été étudiée au printemps 1986 afin de déterminer si *ch-2* était ou non lié aux marqueurs. Pour la combinaison de croisement avec les marqueurs récessifs, les F₁ ont été croisés entre eux et les taux de ségrégations ont été observés chez les descendants F₂, tandis que pour les marqueurs dominants les femelles F₁ ont été rétrocroisées avec des mâles *ch-2*. Pour le test de croisement avec le gène chocolat dominant *Ia*, les F₁ ont été croisés entre eux. Pour les combinaisons de croisement avec les marqueurs pseudomaternels *Se*, *sp* et *elp*, les observations ont été faites sur la base des pontes déposées individuellement par les femelles F₂ ou RF₁.

Marqueurs :

Les marqueurs utilisés pour chaque groupe de liaison sont : p^M (2), Ze (3), L (4), pe (5), Ze (3), L (4), pe (5), E^{el} (6), q (7), st (8), Ia (9), w-2 (10), cf (13), U (14), Se (15), cts (16), Bm (17), mln (18), *elp* (18), nb (19), rb (21), or (22), sp (23), Nd (25) et Ym.

* Dans un article précédent (Qin, 1985), le symbole du deuxième gène récessif chocolat était *ch₂*. Conformément au Report of the Committee on Genetic Nomenclature in the Silkworm (JSSC, 1986), *ch₂* a été modifié et est maintenant dénommé *ch-2*.

RESULTATS ET DISCUSSION

Après croisement de *ch-2* avec chacun des marqueurs, la ségrégation chez les F₂ ou les RF₁ a été observée afin de procéder à la détermination préliminaire du groupe de liaison auquel appartient *ch-2*. Les résultats sont présentés dans le tableau I. Après croisement de *ch-2* avec les souches mères portant les marqueurs dominants *p^M* (ver à soie moricaud), *Ze* (marquage zébré), *L* (marquage en multilunules), *E^{EL}* (croissants et pattes supplémentaires), *U* (ver à soie type ours), *Se* (oeuf blanc), *Bm* (papillon noir), *Nd* (chrysalide nue) et *Ym* (mue jaune), les femelles F₁ ont été croisées avec des mâles *ch-2* homozygotes, entraînant un taux de ségrégation proche de 1:1:1:1. Ceci montre que *ch-2* est transmis indépendamment de ces marqueurs. Les valeurs χ^2 obtenues confirment cette conclusion.

Le croisement de *ch-2* avec les marqueurs *pe* (yeux roses et oeufs blancs), *q* (marquage type caille), *st* (pierreux), *w-2* (oeuf blanc 2), *ms* (marquages en étoiles), *cf* (chrysalide écrevisse), *cts* (taches sur les joues et la queue), *nb* (poitrine étroite), *rb* (hémolymph rouge), *or* (translucide) et *sp* (oeuf fuselé) donne des valeurs de ségrégation à la génération F₂ proches de 9:3:3:1; ce qui montre que *ch-2* et ces gènes sont également transmis indépendamment.

Le marqueur *la* est une mutation chocolat dominante chez laquelle les larves sorties d'éclosion présentent un corps de couleur rousse et une tête de couleur noire. Les larves *ch-2* nouvellement écloses sont roux foncé et sont donc clairement distinctes des larves chocolat *la*. Les données du tableau I montrent que la ségrégation du gène chocolat *la* par rapport aux larves normales et noires et par rapport au gène chocolat *ch-2* est de 385:128:33, taux proche de 12:3:1. La ségrégation des mutations se fait de la manière suivante :

P ₁	<i>la/la</i> ; + ^{<i>ch-2</i>} / ₋ × + ^{<i>la</i>} / ₋ ; <i>ch-2/ch-2</i>			
F ₁	<i>la/+^{<i>la</i>}</i> ; + ^{<i>ch-2</i>} / <i>ch-2</i>			
F ₂	<i>la/la</i> ; + ^{<i>ch-2</i>} / ₋	<i>la/-</i> ; <i>ch-2/ch-2</i>	<i>+^{<i>la</i>}/₋</i> ; + ^{<i>ch-2</i>} / ₋	<i>+^{<i>la</i>}/₋</i> ; <i>ch-2/ch-2</i>
	9	3	3	1
	12		3	1

Ceci indique que les gènes *la* et *ch-2* sont transmis indépendamment. De plus, *la* est épistatique de *ch-2*, de sorte que, lorsque le génotype est *la/-*; *ch-2/ch-2*, le caractère de *ch-2* n'est pas distinguable. On obtient donc un taux de ségrégation de 12:3:1 à la génération F₂.

Dans le tableau I, *se*, *sp* et *elp* sont trois mutations pseudomaternelles dans lesquelles le caractère de l'oeuf est déterminé par le génotype de la femelle. Dans les expériences décrites ici, les larves sorties d'éclosion de type chocolat et noires des RF₁ et des F₂ ont été élevées séparément et les observations ont été faites sur la couleur et la forme des oeufs pondus par les papillons femelles chocolat et les papillons femelles noires.

La ségrégation à la génération F₂ de *ch-2* croisé avec *mln* (mélanisme) est +^{*ch-2*}/₋; +^{*mln*}/₋; *ch-2/-*; *mln/mln*; +^{*mln*}/₋; *ch-2/ch-2*; *mln/mln* = 523:231:284:0 ≈ 2:1:1:0, ce qui montre que *ch-2* est lié à *mln* qui se situe sur le 18e groupe de liaison. De plus, le croisement de *ch-2* avec *elp* (oeuf ellipsoïde) donne les résultats suivants : +^{*ch-2*}/₋; +^{*elp*}/₋; +^{*ch-2*}/₋; *elp/elp*; +^{*elp*}/₋; *ch-2/ch-2*; *ch-2/ch-2*; *elp* = 219:68:97:0 ≈ 2:1:1:0, ce qui montre que *ch-2* se situe effectivement sur le 18e groupe de liaison.

Au cours de l'analyse de liaison, on a également observé l'effet de *ch-2* sur les marquages noirs des larves du cinquième âge. Parmi les marqueurs considérés, moricaud (*ch-2*, *p^M*), marquage normal (*ch-2*, *p^N*), ver à soie ours (*ch-2*, *U*), marquage zébré (*ch-2*, *Ze*) et marquage en multilunules (*ch-2*, *L*), on a découvert que *ch-2* n'a aucune influence sur la pigmentation de ces marquages, qui semblent normaux. En revanche, la coexistence de *ch* avec ceux-ci peut entraîner une transformation de la pigmentation noire en rouge foncé. Sur ce point, il y a une différence évidente entre *ch-2* et *ch*.

GENETIC STUDIES ON CHOCOLATE-2 IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI*

III: LOCUS OF *ch-2* AND REVISION OF GENE ARRANGEMENT IN THE EIGHTEENTH LINKAGE GROUP

QIN J.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018,
China.

*Precise localization of *ch-2* has been determined by using a three-point cross. The loci of genes in the eighteenth linkage group in the silkworm were revised to *ch-2* (18-0.0), *Obs* (18-6.2), *elp* (18-16.1), and *mln* (18-41.5).*

Keywords: *Bombyx mori*, chocolate-2, genetics, locus of gene, linkage map.

INTRODUCTION

A normal newly hatched silkworm larva is black, but some mutant genes can cause the newly hatched larvae to become reddish brown (cocoa), which is known as chocolate newly hatched silkworm (hereafter called 'chocolate'). Three kinds of chocolate mutants had been found and the fourth mutant, chocolate-2 (*ch-2*), was found in 1984 by the author. It has been shown that *ch-2* is a recessive gene and is located on the eighteenth linkage group (Qin, 1985, 1987). The precise localization of *ch-2* is performed in the experiments reported here and the locus of *ch-2* on the eighteenth linkage group has been determined. The following are the main results.

MATERIALS AND METHODS

The test was carried out during the spring of 1985 by crossing the double recessive individuals of *mln* (melanism) and *elp* (ellipsoid egg) with those of *ch-2*. Triple recessive individuals were obtained until the F₅ generation. During the autumn of 1986, a three-point test was carried out whereby black newly hatched silkworm-melanism-ellipsoid egg (*+elp mln*) individuals were crossed to chocolate-non-melanism-normal-shaped egg individuals. F₁ males were then backcrossed with triple recessive females (*ch-2 elp mln*), and their RF₁ progeny were raised during the summer rearing season in 1987 by single batch rearing. Fourteen batches were collected and the black and chocolate newly hatched larvae were reared separately. After emergence of the moths, oviposition was carried out after separating the melanism and normal moths. The number of segregants of each phenotype was recorded to obtain the recombination values between the three pairs of genes.

RESULTS AND DISCUSSION

F₁ males from a cross between individuals carrying chocolate-non-melanism-normal-shaped egg with those carrying black-melanism-ellipsoid egg were backcrossed with triple recessive individuals (i.e., male *ch-2++/+elp mln* × female *ch-2 elp mln/ch-2 elp mln*). Segregation in the RF₁ is shown in Table I. In all, 954 moths were collected from 14 egg batches. The phenotypes, *+elp mln* and *ch-2++*,

are non-recombinants, whereas the four phenotypes, *ch-2+mln*, *+elp+*, *+++*, and *ch-2 elp mln*, are single recombinants, and *++mln* and *ch-2 elp+* are double recombinants. The recombination values were calculated according to the segregation of egg-laying character of the moth since *elp* is a pseudomaternale gene, and are shown in Table II.

Table I. Phenotypes segregated in the progeny of (*ch-2++* × *+mln elp*) F₁ males backcrossed with triple recessive females.

Tableau I. Phénotypes ségrégués chez les descendants F₁ mâles de (*ch-2++* × *+mln elp*) rétrocroisés avec des femelles triples récessives.

Batch no. N° du lot	<i>+elp mln</i>	<i>ch-2++</i>	<i>ch-2+ mln</i>	<i>+elp+</i>	<i>++mln</i>	<i>ch-2 elp+</i>	<i>+++</i>	<i>ch-2 elp mln</i>	Total
872 S ₀ 21	25	16	4	5	3	4	6	6	69
2	14	19	4	4	2	2	7	4	56
3	17	25	8	8	0	1	3	2	61
4	23	33	3	15	0	7	3	4	93
5	21	20	8	4	1	4	7	4	70
6	19	17	8	4	0	1	5	1	55
7	16	21	12	8	1	5	2	5	70
8	19	30	7	5	4	0	8	3	75
9	33	14	8	14	4	0	7	2	106
10	10	10	3	4	4	0	3	4	35
11	33	16	19	4	2	0	4	3	72
12	27	23	11	7	3	1	7	1	80
13	15	17	7	6	0	0	1	1	17
14	16	22	8	8	0	0	2	6	62
Total	288	313	106	93	18	25	65	46	951

Because the recombination value between *mln* and *ch-2* is the highest (32.5%), *elp* is located between *ch-2* and *mln*. But, as shown in Table II, although the recombination value between *ch-2* and *mln* is 32.5%, the sum of the recombination values between *mln* and *ch-2*, namely, *elp-mln* (25.4%) and *ch-2-elp* (16.1%), is 41.5%, which is markedly larger than 32.5%. This is due to the influence of double exchanges. This must be accounted for by adding twice the single exchange between *ch-2* and *mln*, which was not included in the original estimation of the recombination value between *ch-2* and *mln*. In our experiment, the double exchange ratio was 4.5%; therefore, the recombination value between two outermost markers must be equal to the total of the inner recombination values minus twice the double exchange value. Based on this reasoning, the recombination value between *ch-2* and *mln* should be: 25.4% + 16.1% - 2 × 4.5% = 32.5%, which is consistent with the results from our experiments. Therefore, the arrangement of *ch-2*, *elp* and *mln* is in the order of *ch-2-elp-mln*, and the map distance between *ch-2* and *elp* is 16.1 cM, that between *elp* and *mln* is 25.4 cM, and between *ch-2* and *mln* is 41.5 cM (Fig. 1).

Table II. Calculation of recombination values.

Tableau II. Calcul des valeurs de recombinaison.

Phenotype	Number obtained	Percentage	Recombination occurred between		
			<i>elp-mln</i>	<i>ch-2 mln</i>	<i>ch-2 elp</i>
Phénotype	Nombre obtenu	Pourcentage	Recombinaison entre		
			elp-mln	ch-2 mln	ch-2 elp
<i>+elp mln</i> <i>ch-2++</i>	288 } 313 }	63.0			
<i>ch-2+ mln</i> <i>+ elp +</i>	106 } 93 }	20.9	+	+	
<i>+mln</i> <i>ch-2 elp +</i>	18 } 25 }	4.5	+		+
<i>+++</i> <i>ch-2 elp mln</i>	65 } 46 }	11.6		+	+
Total	954	100	25.4	32.5	16.1

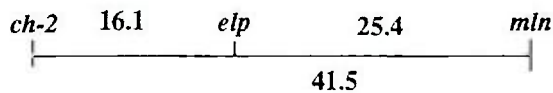
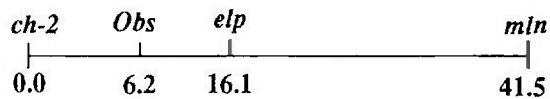
Fig. 1: The arrangement of *ch-2*, *elp* and *mln*.Fig. 1 : Disposition de *ch-2*, *elp* et *mln*.

Fig. 2: The 18th linkage group in the silkworm.

Fig. 2 : Dix-huitième groupe de liaison chez le ver à soie.

According to the 'Report of the Committee on Genetic Nomenclature in the Silkworm' (JSSC, 1986), besides *ch-2*, there are three mutant genes, namely, *Obs* (dominant obese translucent), *elp* and *mln* in the eighteenth linkage group, the loci of these genes are *Obs*, 0.0; *elp*, 9.9; and *mln*, 35.3. The results obtained here place an additional locus, *ch-2*, on the eighteenth linkage group, bringing the total to 4 genes. Given the recombination values obtained here and the map distance between *Obs* and *elp*, and *Obs* and *mln* of 9.9 cM and 35.3 cM (Yoshimura *et al.*, 1984), *ch-2* should be located to the left of *Obs*. Thus, the order of arrangement and loci of genes in the eighteenth linkage group in the silkworm should be revised as shown in Figure 2 with *ch-2* as base point (0.0), followed by *Obs* (6.2), *elp* (16.1) and *mln* (41.5). This arrangement is consistent with the map distances obtained here between *ch-2* and *mln*, *ch-2* and *elp*, and also with the map distances between *Obs*, *mln* and *elp*.

REFERENCES

- JSSC (Japanese Society of Sericultural Science) (1986) Report of the Committee on Genetic Nomenclature in the Silkworm. J. Sericult. Sci. Japan, 55, 95-111.
 LIU Z.-D. (1979) Genetics (Vol. I). People's Education Press, China, pp. 134-157.
 QIN J. (1985) A preliminary study on inheritance of the 2nd recessive chocolate gene in the silkworm. Sci. Seric. China, 11, 103-106.
 QIN J. (1987) Genetic studies on the 2nd recessive chocolate gene in silkworms II. Sci. Seric. China, 13, 113-115.
 TANAKA Y. (1952) Silkworm Genetics. Tokyo, pp. 181-192.
 YOSHIMURA R., DOIRA H., SHINKURA K. (1984) Genetical studies of the "dominant obese translucent" mutation in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 53, 348-351.

ETUDES GENETIQUES DU GENE CHOCOLAT 2 CHEZ LE VER A SOIE *BOMBYX MORI*. III : LOCUS DE *ch-2* ET REVISION DE LA DISPOSITION DES GENES DANS LE DIX-HUITIEME GROUPE DE LIAISON

QIN J.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Zhenjiang 212018,
Chine.

La position précise de ch-2 a été déterminée à l'aide d'un croisement en trois points. Après révision, les locus des gènes du dix-huitième groupe de liaison chez le ver à soie ont été arrangés de la façon suivante : ch-2 (18-0.0), Obs (18-6.2), elp (18-16.1) et mln (18-41.5).

INTRODUCTION

La larve de ver à soie nouvellement éclos est normalement noire ; cependant, certains gènes mutants peuvent rendre cette larve marron rougeâtre (cacao), appelée "ver à soie couleur chocolat en sortie d'éclosion" (que nous appellerons ici "chocolat"). Trois types de mutants chocolat ont été découverts et le quatrième mutant, chocolat 2 (*ch-2*) a été mis en évidence en 1984 par l'auteur. Il a été démontré que *ch-2* est un gène récessif situé sur le dix-huitième groupe de liaison (Qin, 1985, 1987). *ch-2* a été localisé et le locus de *ch-2* sur le dix-huitième groupe de liaison a été déterminé. Les principaux résultats sont décrits dans cette étude.

MATERIELS ET METHODES

Les tests ont été réalisés au printemps 1985 en croisant des individus doubles récessifs pour *mln* (mélanisme) et *elp* (oeuf ellipsoïde) avec des *ch-2*. On a obtenu des individus triples récessifs jusqu'à la cinquième génération. En automne 1985, on a réalisé un test en trois points consistant à croiser des individus de type noir en sortie d'éclosion mélanisés à oeuf ellipsoïde (*+elp mln*) avec des individus type chocolat non mélanisés à oeuf normal. Les mâles F₁ ont ensuite été rétrocroisés avec des femelles triples récessives (*ch-2 elp mln*) et les descendants RF₁ ont été élevés en été 1987 en lots individuels. Quatorze lots ont été prélevés et les larves noires et chocolat en sortie d'éclosion ont été élevées séparément. Après émergence des papillons, l'oviposition a été effectuée en séparant les papillons mélanisés des papillons normaux. Le nombre de ségrégants de chaque génotype a été enregistré afin d'obtenir les valeurs de recombinaison entre les trois paires de gènes.

RESULTATS ET DISCUSSION

Des mâles F₁ issus d'un croisement entre individus portant le gène chocolat-non mélanisme-oeuf normal avec ceux portant les gènes noir-mélanisme-oeuf ellipsoïde ont été rétrocroisés avec des individus triples récessifs (mâle *ch-2++/+elp mln* × femelle *ch-2 elp mln/ch-2 elp mln*). La ségrégation à la génération RF₁ est présentée dans le tableau I. En tout, 954 papillons ont été prélevés dans les 14 lots d'oeufs. Les phénotypes *+elp mln* et *ch-2++* sont des non recombinants, tandis que les quatre

phénotypes *ch-2+mln*, *+elp+*, *+++* et *ch-2 elp mln* sont des recombinants simples et *++mln* et *ch-2 elp+* sont des recombinants doubles. *elp* étant un gène pseudomaternel, les valeurs de recombinaison ont été calculées d'après la ségrégation du caractère de ponte des oeufs du papillon ; ces valeurs sont présentées dans le tableau II.

La valeur de recombinaison maximale est la valeur obtenue entre *mln* et *ch-2* (32,5 %), *elp* est donc situé entre *ch-2* et *mln*. Cependant, comme le montre le tableau II, bien que la valeur de recombinaison entre *ch-2* et *mln* soit de 32,5 %, la somme des valeurs de recombinaison entre *mln* et *ch-2*, c'est-à-dire *elp-mln* (25,4 %) et *ch-2-elp* (16,1 %), est de 41,5 %, chiffre nettement supérieur à 32,5 %. Ceci est dû à l'influence des doubles échanges et peut correspondre à deux fois l'addition de l'échange simple entre *ch-2* et *mln*. Dans notre expérience, le taux de double échange est de 4,5 % ; la valeur de recombinaison entre les deux marqueurs extrêmes doit être égale au total des valeurs de recombinaison internes moins deux fois la valeur du double échange. Sur la base de ce raisonnement, la valeur de recombinaison entre *ch-2* et *mln* devrait être : $25,4 \% + 16,1 \% - 2 \times 4,5 \%$; ce qui est cohérent avec les résultats de nos expériences. L'ordre des gènes *ch-2*, *elp* et *mln* est donc *ch-2-elp-mln*. La distance cartographique entre *ch-2* et *elp* est de 16,1 cM, celle entre *elp* et *mln* est de 25,4 cM et celle entre *ch-2* et *mln* est de 41,5 cM (Fig. 1).

D'après le *Report of the Committee on Genetic Nomenclature in the Silkworm* (JSSC, 1986), il y a, outre *ch-2*, trois gènes mutants sur le dix-huitième groupe de liaison : *Obs* (translucide obèse dominant), *elp* et *mln* ; les locus de ces gènes sont : *Obs* 0,0, *elp* 9,9 et *mln* 35,3. Les résultats obtenus ici placent un locus supplémentaire (*ch-2*) sur le dix-huitième groupe de liaison, donnant un total de quatre gènes. Etant donné les valeurs de recombinaison obtenues ici et la distance cartographique entre *Obs* et *elp* (9,9 cM) et entre *Obs* et *mln* (35,3 cM) (Yoshimura et coll., 1984), *ch-2* devrait se situer à gauche d'*Obs*. L'ordre d'arrangement des locus des gènes du dix-huitième groupe de liaison chez le ver à soie devrait donc être modifié, comme le montre la figure 2, avec *ch-2* comme point de base (0,0), suivi d'*Obs* (6,2), *elp* (16,1) et *mln* (41,5). Cet arrangement est cohérent par rapport aux distances cartographiques obtenues ici entre *ch-2* et *mln* et entre *ch-2* et *elp*, et également par rapport aux distances entre *Obs*, *mln* et *elp*.

DISCRIMINANT FUNCTION, A USEFUL TECHNIQUE FOR SELECTION IN THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

S.K. BHARGAVA*

Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Coonoor - 643 101, India.

Selection indices were constructed and studied among forty-five silkworm hybrids, based on the effective rate of rearing (ERR), cocoon weight, shell weight, shell ratio, defective cocoon percentage, raw silk percentage, reelability and filament length. The selection index for raw silk percentage based on shell weight, shell ratio, filament length and raw silk percentage gave the relative efficiency of 162.46% against single characters. Combination of ERR, cocoon weight, shell weight, shell ratio, filament length and raw silk percentage also showed a relative efficiency of 158.18% for raw silk percentage. Thus, ERR, cocoon weight, shell weight, shell ratio, filament length and raw silk percentage are proved to be important characters for the improvement of raw silk percentage in silkworm breeding programmes.

Keywords: *Bombyx mori* L., genetic advance, relative efficiency, selection index, raw silk percentage.

INTRODUCTION

The economic value of a silkworm race depends upon the raw silk percentage, which is a complex character and is contributed by more than one character (Thiagarajan *et al.*, 1993a). The breeders of the sericulturally advanced countries always give priority to improve the raw silk percentage of a race. Obviously, the studies of the cumulative effect of these characters on the manifestation of the raw silk percentage are essential in constructing a selection index to effect a multiple trait selection programme. In spite of application of selection index using discriminant function analysis in plant and livestock breeding programmes (Smith, 1936; Hazel, 1943; Hazel and Lush, 1942; Siddig, 1967; Miller *et al.*, 1978; Arunachalam and Bandyopadhyay, 1984), there is little information available in the silkworm. A few attempts have been made on two to three selection traits (Iyengar *et al.*, 1983; Grekov, 1989; Jeong, 1989; Bhargava *et al.*, 1993b; Mano *et al.*, 1993; Thiagarajan *et al.*, 1993a, 1993b). Many workers (Saio, 1959; Kobayashi, 1962; Kurasawa, 1968; Zhou, 1983; Bhargava *et al.*, 1992) noted that shell weight and shell ratio are repeatable, therefore these should be considered for selection in early generation. Some workers (Gamo and Hirabayashi, 1983; Iyengar *et al.*, 1983; Abadzhieva and Malinova, 1989; Nacheva, 1989; Petkov, 1989; Bhargava *et al.*, 1992) have emphasized improvement of shell weight, shell ratio, filament length and raw silk percentage as they are largely governed by additive genes. But none has reported actual genetic gain from selection with different combinations of traits in the silkworm. Therefore, selection indices were constructed and studied for their relative efficiency in the present paper, which will be helpful in selection.

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

MATERIALS AND METHODS

This study involved forty-five *F₁* silkworm (*Bombyx mori* L.) hybrids raised from five new breeding lines (690, 890, 990, 1090A and 1090B), four exotic races (N₄, SPJ1, JC2P and 14M) and five inbred races (NB₁₈, NB₄D₂, Kalimpong-A and SH₂). The experiment was conducted during May-June 1992 at the Regional Sericultural Research Station, Coonoor, located in the Nilgiri Hills of the Western Ghats, India. The hatched silkworms were reared under standard rearing conditions (temperature 23-28 °C; relative humidity 70-90% and 12/12 h dark/light ratio), as per the method described in an earlier paper (Bhargava *et al.*, 1993a). The silkworms were reared in wooden trays (60 × 90 cm) placed in rearing stands, the positions of the trays were changed 3-4 times a day to reduce the effect of environmental factors. For each hybrid a minimum of 10 layings was brushed *en masse* and after the third moult the larvae were distributed into five replications. Leaves of 'MR2' mulberry variety were fed to silkworms and about 250 kg leaves were utilized to rear 10,000 larvae.

Observations were made on seven silk yield attributes. These are (i) effective rate of rearing (ERR), i.e., a measure of survival expressed in percentage — ERR was estimated from the number of cocoons formed by 500 larvae in each replication; (ii) cocoon weight (g); (iii) shell weight (g) — the mean weight of 25 male and 25 female cocoons and cocoon shells for each replication was considered as the weight of a cocoon and cocoon shell; (iv) shell ratio (%); (v) defective cocoons (%); (vi) reelability (%); (vii) filament length (m); and (viii) raw silk percentage. The cocoons were reeled on a Japanese multiend reeling machine to get the data on reelability, filament length and raw silk percentage by the standard technique described by Sonwalkar (1985).

Calculation of phenotypic and genotypic variances as well as covariances was made according to the formulae given by Panse and Sukhatme (1957). Selection indices were constructed according to the method of Smith (1936) as presented by Brim *et al.* (1951). Selection indices were constructed by pooling variances and covariances. The total expected genetic advance from selection for a particular index was calculated from the equation formulae given by Robinson *et al.* (1951).

RESULTS AND DISCUSSION

The genetic advance and relative efficiency of each selection index are presented in Table I. Selection indices with more than 100% relative efficiency in selection of raw silk percentage are listed in Table II. From the results presented in Table I, it is seen that the single character as a selection index gave a relative efficiency below 100% (raw silk percentage with 100% relative efficiency), indicating the importance of selecting more than one character. As many as 81 selection indices showed above 100% relative efficiency. A maximum of 23 selection indices were made by using six character combinations to achieve above 100% relative efficiency. Only one selection index showed above 100% relative efficiency (154.72%) by using all the eight characters. However, it is worth mentioning here that the maximum relative efficiency (165.46%) could be achieved by constructing a selection index from as little as four characters. These are shell weight, shell ratio, filament length and raw silk percentage. The next best selection index with a relative efficiency of 158.18% was constructed from six characters, i.e., ERR, cocoon weight, shell weight, shell ratio, filament length and raw silk percentage. From the results presented in Table II it is seen that inclusion of two more characters, i.e., defective cocoon percentage and reelability (serial number 3) in the selection index with six characters (ERR + cocoon weight + shell weight + shell ratio + filament length + raw silk percentage) reduced the relative efficiency (154.72%). In fact, relative efficiency was found to be less in the selection index constructed by including two more characters, i.e., ERR and cocoon weight (serial number 2, Table II) compared to shell weight + shell ratio + filament length + raw silk percentage (serial number 1, Table II). Although the addition of one to seven characters in the index increased the efficiency as compared to single character, an ideal index is that which should have a minimum number of characters with a maximum possible relative efficiency.

Table I. Genetic advance and relative efficiency of selection indices in the silkworm, *Bombyx mori* L.Tableau I. Progression génétique et efficacité relative d'indices de sélection chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

Sl no.	Selection indices	Genetic advance	Relative efficiency (%)
N° de série	Indices de sélection	Progression génétique	Efficacité relative (%)
1	ERR	0.216	1.466
2	CW	7.59	51.53
3	SW	11.47	77.87
4	SR	13.65	92.67
5	DC	3.03	20.57
6	REEL	0.185	1.256
7	FL	13.97	94.84
8	ERR + CW	5.33	36.19
9	ERR + SW	6.40	43.45
10	ERR + SR	13.37	90.77
11	ERR + DC	1.59	10.79
12	ERR + REEL	0.373	2.53
13	ERR + FL	16.57	112.49
14	ERR + RS	15.39	104.48
15	CW + SW	9.54	64.77
16	CW + SR	10.30	69.93
17	CW + DC	2.06	13.99
18	CW + REEL	1.01	6.86
19	CW + FL	13.15	89.28
20	CW + RS	12.67	86.02
21	SW + SR	12.50	84.86
22	SW + DC	5.23	35.51
23	SW + REEL	1.39	9.44
24	SW + FL	11.79	79.84
25	SW + RS	18.39	124.85
26	SR + DC	10.19	69.18
27	SR + REEL	4.37	29.67
28	SR + FL	19.65	133.40
29	SR + RS	19.37	131.50
30	DC + REEL	0.222	1.51
31	DC + FL	6.13	41.62
32	DC + RS	5.77	39.17
33	REEL + FL	6.45	43.79
34	REEL + RS	6.13	41.62
35	FL + RS	18.13	123.08
36	ERR + CW + SW	4.37	29.67
37	ERR + CW + SR	10.50	71.28
38	ERR + CW + DC	0.419	2.84
39	ERR + CW + REEL	0.404	2.74
40	ERR + CW + FL	8.886	60.33
41	ERR + CW + RS	8.613	58.47

Continued / Suite page suivante

Table I (continued) / *Tableau I (suite)*.

SI no.	Selection indices	Genetic advance	Relative efficiency (%)
<i>N° de série</i>	<i>Indices de sélection</i>	<i>Progression génétique</i>	<i>Efficacité relative (%)</i>
42	ERR + SW + SR	13.505	91.69
43	ERR + SW + DC	0.547	3.71
44	ERR + SW + REEL	0.209	1.42
45	ERR + SW + FL	15.385	104.45
46	ERR + SW + RS	14.010	95.11
47	ERR + SR + DC	6.55	44.47
48	ERR + SR + REEL	2.010	13.65
49	ERR + SR + FL	15.817	107.38
50	ERR + SR + RS	15.813	107.35
51	ERR + DC + REEL	0.102	0.692
52	ERR + DC + FL	7.115	48.30
53	ERR + DC + RS	5.006	33.99
54	ERR + REEL + FL	0.393	2.67
55	ERR + REEL + RS	2.647	17.97
56	ERR + FL + RS	16.15	109.64
57	CW + SW + SR	9.33	63.34
58	CW + SW + DC	1.66	11.27
59	CW + SW + REEL	0.257	1.74
60	CW + SW + FL	18.54	125.87
61	CW + SW + RS	20.13	136.66
62	CW + SR + DC	15.73	106.79
63	CW + SR + REEL	7.77	52.75
64	CW + SR + FL	19.73	133.95
65	CW + SR + RS	20.30	137.82
66	CW + DC + REEL	3.71	25.19
67	CW + DC + FL	7.56	51.32
68	CW + DC + RS	7.16	48.61
69	CW + REEL + FL	3.50	23.76
70	CW + REEL + RS	3.73	25.32
71	CW + FL + RS	19.37	131.50
72	SW + SR + DC	8.89	60.35
73	SW + SR + REEL	5.15	34.96
74	SW + SR + FL	20.06	136.19
75	SW + SR + RS	20.33	138.02
76	SW + DC + REEL	7.13	48.41
77	SW + DC + FL	9.09	61.71
78	SW + DC + RS	9.07	61.58
79	SW + REEL + FL	6.63	45.01
80	SW + REEL + RS	6.16	41.82
81	SW + FL + RS	19.58	132.93
82	SR + DC + REEL	3.33	22.61
83	SR + DC + FL	10.67	72.44
84	SR + DC + RS	10.39	70.54
85	SR + REEL + FL	10.50	71.28
86	SR + REEL + RS	10.65	72.30
87	SR + FL + RS	20.59	139.79

Continued / *Suite page suivante*

Table I (continued) / *Tableau I (suite)*.

SI no.	Selection indices	Genetic advance	Relative efficiency (%)
<i>N° de série</i>	<i>Indices de sélection</i>	<i>Progression génétique</i>	<i>Efficacité relative (%)</i>
88	DC + REEL + FL	5.30	35.98
89	DC + REEL + RS	6.25	42.43
90	DC + FL + RS	5.77	39.17
91	REEL + FL + RS	4.36	29.60
92	ERR + CW + SW + SR	17.45	118.47
93	ERR + CW + SW + DC	7.06	47.93
94	ERR + CW + SW + REEL	3.79	25.73
95	ERR + CW + SW + FL	17.67	119.96
96	ERR + CW + SW + RS	12.06	81.88
97	ERR + CW + SR + DC	7.47	50.71
98	ERR + CW + SR + REEL	4.59	31.16
99	ERR + CW + SR + FL	19.49	132.32
100	ERR + CW + SR + RS	19.33	131.23
101	ERR + SW + SR + DC	13.39	90.90
102	ERR + SW + SR + REEL	10.69	72.57
103	ERR + SW + SR + FL	20.91	141.96
104	ERR + SW + SR + RS	21.07	143.04
105	ERR + SR + DC + REEL	3.07	20.84
106	ERR + SR + DC + FL	10.55	71.62
107	ERR + SR + DC + RS	10.70	72.64
108	ERR + SR + REEL + FL	8.69	59.00
109	ERR + SR + REEL + RS	8.55	58.05
110	ERR + SR + FL + RS	17.34	117.72
111	ERR + DC + REEL + FL	5.09	34.56
112	ERR + DC + REEL + RS	6.11	41.48
113	ERR + DC + FL + RS	6.16	41.82
114	ERR + REEL + FL + RS	10.67	72.44
115	CW + SW + SR + DC	11.30	76.72
116	CW + SW + SR + REEL	10.58	71.83
117	CW + SW + SR + FL	20.57	139.65
118	CW + SW + SR + RS	20.60	139.85
119	CW + SW + DC + REEL	6.30	42.77
120	CW + SW + DC + FL	7.88	53.50
121	CW + SW + DC + RS	7.51	50.99
122	CW + SW + REEL + FL	16.66	113.10
123	CW + SW + REEL + RS	15.03	102.04
124	CW + SW + FL + RS	20.69	140.46
125	CW + SR + DC + REEL	3.90	26.48
126	CW + SR + DC + FL	17.30	117.45
127	CW + SR + DC + RS	17.17	116.57
128	CW + SR + REEL + FL	13.33	90.50
129	CW + SR + REEL + RS	13.05	88.60
130	CW + SR + FL + RS	20.09	136.39
131	CW + DC + REEL + FL	6.67	45.28
132	CW + DC + REEL + RS	7.35	49.90
133	CW + DC + FL + RS	12.16	82.55

Continued / *Suite page suivante*

Table I (continued) / *Tableau I (suite)*.

SI no.	Selection indices	Genetic advance	Relative efficiency (%)
<i>N° de série</i>	<i>Indices de sélection</i>	<i>Progression génétique</i>	<i>Efficacité relative (%)</i>
134	CW + REEL + FL + RS	8.35	56.69
135	SW + SR + DC + REEL	4.39	29.80
136	SW + SR + DC + FL	15.07	102.31
137	SW + SR + DC + RS	14.31	97.15
138	SW + SR + REEL + FL	15.13	102.72
139	SW + SR + REEL + RS	14.99	101.77
140	SW + SR + FL + RS	23.93	162.46
141	SW + DC + REEL + FL	6.67	45.28
142	SW + DC + REEL + RS	5.35	36.32
143	SW + DC + FL + RS	15.95	108.28
144	SW + REEL + FL + RS	15.09	102.45
145	SR + DC + REEL + FL	11.47	77.87
146	SR + DC + REEL + RS	10.39	70.54
147	SR + REEL + FL + RS	19.73	133.95
148	DC + REEL + FL + RS	16.58	112.56
149	ERR + CW + SW + SR + DC	15.10	102.51
150	ERR + CW + SW + SR + REEL	14.03	95.25
151	ERR + CW + SW + SR + FL	20.99	142.50
152	ERR + CW + SW + SR + RS	21.15	143.59
153	ERR + CW + SW + DC + REEL	5.95	40.39
154	ERR + CW + SW + DC + FL	8.16	55.40
155	ERR + CW + SW + DC + RS	7.80	52.95
156	ERR + CW + SW + REEL + FL	10.81	73.39
157	ERR + CW + SW + REEL + RS	10.93	74.20
158	ERR + CW + SW + FL + RS	20.47	138.97
159	ERR + CW + SR + DC + REEL	5.13	34.83
160	ERR + CW + SR + DC + FL	18.25	123.90
161	ERR + CW + SR + DC + RS	18.16	123.29
162	ERR + CW + SR + REEL + FL	15.91	108.01
163	ERR + CW + SR + REEL + RS	18.36	124.65
164	ERR + CW + SR + FL + RS	21.57	146.44
165	ERR + CW + DC + REEL + FL	6.77	45.96
166	ERR + CW + DC + REEL + RS	7.93	53.84
167	ERR + CW + DC + FL + RS	13.39	90.90
168	ERR + CW + REEL + FL + RS	9.51	64.56
169	ERR + SW + SR + DC + REEL	5.05	34.28
170	ERR + SW + SR + DC + FL	17.58	119.35
171	ERR + SW + SR + DC + RS	17.11	116.16
172	ERR + SW + SR + REEL + FL	15.33	104.08
173	ERR + SW + SR + REEL + RS	15.09	102.45
174	ERR + SW + DC + REEL + FL	5.97	40.53
175	ERR + SW + DC + REEL + RS	6.53	44.33
176	ERR + SW + REEL + FL + RS	16.17	109.78
177	ERR + SR + DC + REEL + FL	13.79	93.62
178	ERR + SR + DC + REEL + RS	11.95	81.13
179	ERR + SR + REEL + FL + RS	19.30	131.03

Continued / *Suite page suivante*

Table I (continued) / *Tableau I (suite)*.

Sl no.	Selection indices	Genetic advance	Relative efficiency (%)
<i>N° de série</i>	<i>Indices de sélection</i>	<i>Progression génétique</i>	<i>Efficacité relative (%)</i>
180	ERR + DC + REEL + FL + RS	8.57	58.18
181	CW + SW + SR + DC + REEL	4.16	28.24
182	CW + SW + SR + DC + FL	17.55	119.15
183	CW + SW + SR + DC + RS	17.29	117.38
184	CW + SW + SR + REEL + FL	13.94	94.64
185	CW + SW + SR + REEL + RS	13.61	92.40
186	CW + SW + SR + FL + RS	20.99	142.50
187	CW + SW + DC + REEL + FL	8.39	56.96
188	CW + SW + DC + REEL + RS	8.57	58.18
189	CW + SW + DC + FL + RS	13.33	90.50
190	CW + SW + REEL + FL + RS	12.05	81.81
191	CW + SR + DC + REEL + FL	10.66	72.37
192	CW + SR + DC + REEL + RS	10.03	68.09
193	CW + SR + DC + FL + RS	17.59	119.42
194	CW + SR + REEL + FL + RS	13.37	90.77
195	CW + DC + REEL + FL + RS	9.99	67.82
196	SW + SR + DC + REEL + FL	11.33	76.92
197	SW + SR + DC + REEL + RS	10.96	74.41
198	SW + SR + DC + FL + RS	19.17	130.15
199	SW + SR + REEL + FL + RS	16.39	111.27
200	SR + DC + REEL + FL + RS	18.85	127.97
201	ERR + CW + SW + SR + DC + REEL	9.37	63.61
202	ERR + CW + SW + SR + DC + FL	18.05	122.54
203	ERR + CW + SW + SR + DC + RS	18.37	124.71
204	ERR + CW + SW + SR + REEL + FL	14.33	97.29
205	ERR + CW + SW + SR + REEL + RS	13.91	94.43
206	ERR + CW + SW + SR + FL + RS	23.30	158.18
207	ERR + CW + SW + DC + REEL + FL	7.57	51.39
208	ERR + CW + SW + DC + REEL + RS	7.63	51.80
209	ERR + CW + SW + REEL + FL + RS	13.15	89.28
210	ERR + CW + SR + DC + REEL + FL	11.39	77.33
211	ERR + CW + SR + DC + REEL + RS	10.55	71.62
212	ERR + CW + SR + REEL + FL + RS	18.03	122.41
213	ERR + CW + DC + REEL + FL + RS	9.13	61.98
214	ERR + SW + SR + DC + REEL + FL	10.70	72.64
215	ERR + SW + SR + DC + REEL + RS	9.81	66.60
216	ERR + SW + SR + DC + FL + RS	19.83	134.63
217	ERR + SW + SR + REEL + FL + RS	19.04	129.62
218	ERR + SR + DC + REEL + FL + RS	18.99	128.92
219	CW + SW + SR + DC + REEL + FL	11.37	77.19
220	CW + SW + SR + DC + REEL + RS	11.58	78.62
221	CW + SW + DC + REEL + FL + RS	11.76	79.84
222	CW + SR + DC + REEL + FL + RS	15.35	104.21
223	SW + SR + DC + REEL + FL + RS	17.66	119.89
224	ERR + CW + SW + SR + DC + REEL + FL	16.30	110.66
225	ERR + CW + SW + SR + DC + REEL + RS	17.05	115.75

Continued / *Suite page suivante*

Table I (continued) / *Tableau I (suite).*

SI no.	Selection indices	Genetic advance	Relative efficiency (%)
<i>N° de série</i>	<i>Indices de sélection</i>	<i>Progression génétique</i>	<i>Efficacité relative (%)</i>
226	ERR + CW + SW + SR + REEL + FL + RS	20.30	137.82
227	ERR + CW + SW + DC + REEL + FL + RS	11.53	78.28
228	ERR + CW + SR + DC + REEL + FL + RS	14.33	97.29
229	ERR + SW + SR + DC + REEL + FL + RS	17.95	121.86
230	CW + SW + SR + DC + REEL + FL + RS	19.57	132.86
231	ERR + CW + SW + SR + DC + REEL + FL + RS	22.79	154.72
232	RS	14.73	100.00

ERR: Effective rate of rearing. CW: Cocoon weight. SW: Shell weight. SR: Shell ratio. DC: Defective cocoon percentage. REEL: Reelability. FL: Filament length. RS: Raw silk percentage.

ERR : Taux effectif d'élevage. CW : Poids du cocon. SW : Poids de la coque. SR : Richesse soyeuse. DC : Pourcentage de cocons défectueux. REEL : Dévidabilité. FL : Longueur de la bave. RS : Pourcentage de soie grège.

Table II. Selection indices with a high relative efficiency in selection of the raw silk percentage.

Tableau II. Indices de sélection présentant une efficacité relative élevée pour le pourcentage de soie grège.

SI no.	Selection indices	Number of characters considered for selection	Relative efficiency percentage
<i>N° de série</i>	<i>Indices de sélection</i>	<i>Nombre de caractères considérés pour la sélection</i>	<i>Pourcentage d'efficacité relative</i>
1	SW + SR + FL + RS	4	162.46
2	ERR + CW + SW + SR + FL + RS	6	158.18
3	ERR + CW + SW + SR + DC + REEL + FL + RS	8	154.72
4	ERR + CW + SR + FL + RS	5	146.44
5	ERR + CW + SW + SR + RS	5	143.59
6	ERR + SW + SR + RS	4	143.04
7	ERR + CW + SW + SR + FL	5	142.50
8	CW + SW + SR + FL + RS	5	142.50

Continued / *Suite page suivante*

Table II (continued) / *Tableau II (suite)*.

SI no.	Selection indices	Number of characters considered for selection	Relative efficiency percentage
<i>N° de série</i>	<i>Indices de sélection</i>	<i>Nombre de caractères considérés pour la sélection</i>	<i>Pourcentage d'efficacité relative</i>
9	ERR + SW + SR + FL	4	141.96
10	CW + SW + FL + RS	4	140.46
11	CW + SW + SR + RS	4	139.85
12	SR + FL + RS	3	139.79
13	CW + SW + SR + FL	4	139.65
14	ERR + CW + SW + FL + RS	5	138.97
15	SW + SR + RS	3	138.02
16	CW + SR + RS	3	137.82
17	ERR + CW + SW + SR + REEL + FL + RS	7	137.82
18	CW + SW + RS	3	136.66
19	CW + SR + FL + RS	4	136.39
20	SW + SR + FL	3	136.19
21	ERR + SW + SR + DC + FL + RS	6	134.63
22	CW + SR + FL	3	133.95
23	SR + REEL + FL + RS	4	133.95
24	SR + FL	2	133.40
25	SW + FL + RS	3	132.93
26	CW + SW + SR + DC + REEL + FL + RS	7	132.86
27	ERR + CW + SR + FL	4	132.32
28	SR + RS	2	131.50
29	CW + FL + RS	3	131.50
30	ERR + CW + SR + RS	4	131.23
31	ERR + SR + REEL + FL + RS	5	131.03
32	SW + SR + DC + FL + RS	5	130.15
33	ERR + SW + SR + REEL + FL + RS	6	129.62
34	ERR + SR + DC + REEL + FL + RS	6	128.92
35	SR + DC + REEL + FL + RS	5	127.97
36	CW + SW + FL	3	125.87
37	SW + RS	2	124.85
38	ERR + CW + SW + SR + DC + RS	6	124.71
39	ERR + CW + SR + REEL + RS	5	124.65
40	ERR + CW + SR + DC + FL	5	123.90
41	ERR + CW + SR + DC + RS	5	123.29
42	FL + RS	2	123.08
43	ERR + CW + SW + SR + DC + FL	6	122.54
44	ERR + CW + SR + REEL + FL + RS	6	122.41
45	ERR + SW + SR + DC + REEL + FL + RS	7	121.86
46	ERR + CW + SW + FL	4	119.96
47	SW + SR + DC + REEL + FL + RS	6	119.89
48	CW + SR + DC + FL + RS	5	119.42
49	ERR + SW + SR + DC + FL	5	119.35
50	CW + SW + SR + DC + FL	5	119.15

Continued / *Suite page suivante*

Table II (continued) / *Tableau II (suite)*.

SI no.	Selection indices	Number of characters considered for selection	Relative efficiency percentage
<i>N° de série</i>	<i>Indices de sélection</i>	<i>Nombre de caractères considérés pour la sélection</i>	<i>Pourcentage d'efficacité relative</i>
51	ERR + CW + SW + SR	4	118.47
52	ERR + SR + FL + RS	4	117.72
53	CW + SR + DC + FL	4	117.45
54	CW + SW + SR + DC + RS	5	117.38
55	CW + SR + DC + RS	4	116.57
56	ERR + SW + SR + DC + RS	5	116.16
57	ERR + CW + SW + SR + DC + REEL + RS	7	115.75
58	CW + SW + REEL + FL	4	113.10
59	DC + REEL + FL + RS	4	112.56
60	ERR + FL	2	112.49
61	SW + SR + REEL + FL + RS	5	111.27
62	ERR + CW + SW + SR + DC + REEL + FL	7	110.66
63	ERR + SW + REEL + FL + RS	5	109.78
64	ERR + FL + RS	3	109.64
65	SW + DC + FL + RS	4	108.28
66	ERR + CW + SR + REEL + FL	5	108.01
67	ERR + SR + FL	3	107.38
68	ERR + SR + RS	3	107.35
69	CW + SR + DC	3	106.79
70	ERR + RS	2	104.48
71	ERR + SW + FL	3	104.45
72	CW + SR + DC + REEL + FL + RS	6	104.21
73	ERR + SW + SR + REEL + FL	5	104.08
74	SW + SR + REEL + FL	4	102.72
75	ERR + CW + SW + SR + DC	5	102.51
76	SW + REEL + FL + RS	4	102.45
77	ERR + SW + SR + REEL + RS	5	102.45
78	SW + SR + DC + FL	4	102.31
79	CW + SW + REEL + RS	4	102.04
80	SW + SR + REEL + RS	4	101.77
81	RS	1	100.00

ERR: Effective rate of rearing. CW: Cocoon weight. SW: Shell weight. SR: Shell ratio. DC: Defective cocoon percentage. REEL: Reelability. FL: Filament length. RS: Raw silk percentage.

ERR : Taux effectif d'élevage. CW : Poids du cocon. SW : Poids de la coque. SR : Richesse soyeuse. DC : Pourcentage de cocons défectueux. REEL : Dévidabilité. FL : Longueur de la bave. RS : Pourcentage de soie grège.

Since more than one character contribute to the raw silk percentage in the entire growth phase of the silkworm, all those characters that determine the economic value of a race should be included in breeding programmes. It is fair to make the decision jointly on a number of characters so that none

of them is ignored. The interrelationship between multiple traits has been reported in the silkworm by Minagawa and Otsuka (1975). Further, Falconer (1989) has emphasized the importance of all the traits and predicted their joint response to selection on all or any subset of characters. Recently, Grekov (1989) has reported that selection should be based chiefly on the weight of the silk covering but cocoon weight and filament length should also be taken into account. From these remarks, it is thus imperative to use, in breeding programmes, that selection index which has the greatest relative efficiency obtained from the maximum genetic advance calculated.

In multiple trait selection programmes it is desirable to look on all the traits affecting raw silk percentage. However, the effect of these characters when selected individually and jointly with other characters can be seen in this study. The selection index constructed from shell weight + shell ratio + filament length + raw silk percentage with the maximum relative efficiency (162.46%) followed by the selection index (ERR + cocoon weight + shell weight + shell ratio + filament length + raw silk percentage) with 158.18% relative efficiency can be used for improving the raw silk percentage.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author is grateful to Dr R.K. Datta, Director, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India, and to Dr Y. Mano, JICA expert on silkworm breeding, for their valuable suggestions and guidance in the present study. Thanks are also due to Shri V. Thiagarajan, Joint Director, Regional Sericultural Research Station, Coonoor, India, for his co-operation in conducting this study.

REFERENCES

- ABADZHIEVA R., MALINOVA K. (1989) Mode of inheritance and heterosis effect in some silkworm (*Bombyx mori*) crosses. *Genet. Sel.*, 22, 435-440.
- ARUNACHALAM V., BANDYOPADHYAY A. (1984) A method to make decisions jointly on a number of dependent characters. *Indian J. Genet.*, 44, 419-424.
- BHARGAVA S.K., THIAGARAJAN V., RAMESHBABU M., NAGARAJ B. (1992) Combining ability and genetic analysis of quantitative traits in silkworm (*Bombyx mori* L.). *J. Genet. Breed.*, 46, 327-330.
- BHARGAVA S.K., THIAGARAJAN V., RAMESHBABU M., NAGARAJ B. (1993a) Heritability of quantitative characters in silkworm (*Bombyx mori* L.). *Indian J. Agric. Sci.*, 63, 358-362.
- BHARGAVA S.K., THIAGARAJAN V., RAMESHBABU M., NAGARAJ B. (1993b) Evaluation of bivoltine races of silkworm with sex-limited expression of larval markings and cocoon colours. *Indian J. Seric.*, 32, 234-237.
- BRIM C.A., JOHNSON H.W., COCKERHAM C.C. (1951) Multiple selection criteria in soybean. *Agron. J.*, 51, 42-46.
- FALCONER D.S. (1989) An introduction to quantitative genetics. Third Edition, Longman Publ., London.
- GAMO T., HIRABAYASHI T. (1983) Genetic analysis of growth rate, pupation rate and some quantitative characters by diallel cross in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Japan J. Breed.*, 33, 178-190.
- GREKOV D. (1989) Selection — genetic evaluation of some white cocoon races of the silkworm (*Bombyx mori* L.). I. Variability and correlations of quantitative traits. *Zhivotnov'dni Nauki*, 26, 70-73.
- HAZEL L.N. (1943) The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetics*, 28, 476-490.
- HAZEL L.N., LUSH J.L. (1942) The efficiency of three methods of selection. *J. Hered.*, 33, 393-399.
- IYENGAR M.N.S., JOLLY M.S., DATTA R.K., SUBRAMANIAN R.K. (1983) Relative silk productivity of different silkworm breeds and its use as breeding index. In National Seminar on Silk Research and Development. Bangalore, India, March 10-13.
- JEONG W.B. (1989) Heritability, genetic correlation and path coefficient analysis of economic characters in the silkworm, *Bombyx mori*. *Korean J. Sericult. Sci.*, 31, 90-101.

- KOBAYASHI E. (1962) A selection experiment in the progeny of a cross between two different strains of the silkworm with special regard to the effect of selection in F₂. J. Sericult. Sci. Japan, 31, 108.
- KURASAWA H. (1968) Selection of the quantitative cocoon characters in the silkworm. 2: Changes of quantitative cocoon characters with selection of the weight of cocoon layer and the cocoon layer ratio. J. Sericult. Sci. Japan, 37, 51.
- MANO Y., NIRMAL KUMAR S., BASAVARAJ H.K., MALREDDY N., DATTA R.K. (1993) A new method to select promising silkworm breeds/combinations. Indian Silk, 31, 53.
- MILLER J.D., JAMES N.I., LYRENE P.M. (1978) Selection indices in sugarcane. Crop Sci., 17, 369-372.
- MINAGAWA I., OTSUKA Y. (1975) Relationship of actual performance of double cross hybrids and predicted value based on the mean value of the single crosses concerned in the silkworm, *Bombyx mori* L. Japan J. Breed., 25, 251-257.
- NACHEVA I. (1980) Possibilities for predicting the effectiveness of selection by intracocoon concordance of silk fibre weight in *Bombyx mori*. Genet. Sel., 13, 206-211.
- NACHEVA I. (1989) Correlations following use of partial backcrossing in silkworm breeding. Genet. Sel., 22, 530-535.
- PANSE V.G., SUKHATME P.V. (1957) Statistical methods for agricultural workers. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, 381 pp.
- PETKOV N. (1978) Contribution to the question of establishing correlations between some basic selection characters in the silkworm (*Bombyx mori*). 1: Correlations between the traits determining productivity in F₁ and cocoon yield in F₂. Animal Sci., 15, 102-105.
- ROBINSON H.F., COMSTOCK R.E., HARVEY P.H. (1951) Genotypic and phenotypic correlation in corn and their implications in selection. Agron. J., 43, 282-287.
- SAJO K. (1959) The selection index of F₂ populations of silkworm. Japan J. Breed., 8, 223-226.
- SIDDIG M.A. (1967) Evaluation of several selection procedures for predicting yield performance of progenies in two populations of cotton (*Gossypium barbadense* L.). Euphytica, 16, 377-384.
- SMITH H.F. (1936) A discriminant function for plant selection. Ann. Eugen., 7, 240-250.
- SONWALKAR T.N. (1985) Silk reeling and handicrafts. Sericologia, 25, 183-205.
- THIAGARAJAN V., BHARGAVA S.K., RAMESHBABU M., NAGARAJ B. (1993a) Differences in seasonal performance of twenty-six strains of silkworm, *Bombyx mori* (Bombycidae). J. Lepidoptera Soc. Amer., 47, 331-337.
- THIAGARAJAN V., BHARGAVA S.K., RAMESHBABU M., NAGARAJ B. (1993b) Performance of bivoltine breeds of silkworm (*Bombyx mori*) under high altitude conditions. Sericologia, 33, 559-565.
- ZHOU K. (1983) On historical experience in selection and breeding of the mulberry silkworm races in China. J. Sericult. Sci. China, 9, 240-246.

LA FONCTION DISCRIMINANTE, UNE TECHNIQUE UTILE POUR LA SÉLECTION DU VER À SOIE, *BOMBYX MORI* L.

S.K. BHARGAVA*

Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Coonoor - 643 101, Inde.

Des indices de sélection ont été élaborés sur la base du taux effective d'élevage, du poids du cocon, du poids de la coque, de la richesse soyeuse, du pourcentage de cocons défectueux, du pourcentage de soie grège, de la dévidabilité et de la longueur de la bave et étudiés chez quarante-cinq hybrides de ver à soie. L'indice de sélection pour le pourcentage de soie grège, basé sur le poids de la coque, la richesse soyeuse, la longueur de la bave et le pourcentage de soie grège, donne une efficacité relative de 162,46 % par rapport à celle obtenue avec un seul caractère. La combinaison du taux effectif d'élevage, du poids du cocon, du poids de la coque, de la richesse soyeuse, de la longueur de la bave et du pourcentage de soie grège présente une efficacité relative de 158,18 % pour le pourcentage de soie grège. Le taux effectif d'élevage, le poids du cocon, le poids de la coque, la richesse soyeuse, la longueur de la bave et le pourcentage de soie grège s'avèrent donc être des caractères importants pour l'amélioration du pourcentage de soie grège dans les programmes de sélection du ver à soie.

INTRODUCTION

La valeur économique d'une race de ver à soie dépend du pourcentage de soie, caractère complexe qui est fonction de plus d'un caractère (Thiagarajan et coll., 1993a). Les sélectionneurs des pays avancés en matière de sériciculture considèrent comme prioritaire l'amélioration du pourcentage de soie grège d'une race donnée. Il est évident que les travaux sur l'effet du cumul de ces caractères sur l'expression du pourcentage de soie grège sont essentiels à l'élaboration d'un indice de sélection dans un programme de sélection à caractères multiples. Malgré l'application d'un indice de sélection utilisant l'analyse des fonctions discriminantes dans les programmes de sélection du bétail et des plantes (Smith, 1936 ; Hazel, 1943 ; Hazel et Lush, 1942 ; Siddig, 1967 ; Miller et coll., 1978 ; Arunachalam et Bandyopadhyay, 1984), on dispose de très peu d'informations pour le ver à soie. Quelques études ont été réalisées pour deux ou trois caractères de sélection (Iyengar et coll., 1983 ; Grekov, 1989 ; Jeong, 1989 ; Bhargava et coll., 1993b ; Mano et coll., 1993 ; Thiagarajan et coll., 1993a, 1993b). Plusieurs chercheurs (Saio, 1959 ; Kobayashi, 1962 ; Kurasawa, 1968 ; Zhou, 1983 ; Bhargava et coll., 1992) ont observé que le poids de la coque et la richesse soyeuse peuvent être répétés et que ces caractères devraient donc être pris en compte dans la sélection sur la première génération. Certains chercheurs (Gamo et Hirabayashi, 1983 ; Iyengar et coll., 1983 ; Abadzhieva et Malinova, 1989 ; Nacheva, 1989 ; Petkov, 1989 ; Bhargava et coll., 1992) se sont plus particulièrement intéressés à l'amélioration du poids de la coque, de la richesse soyeuse, de la longueur de la bave et du pourcentage de soie grège car ces caractères sont fortement gouvernés par des gènes additifs. Cependant, aucune étude n'a décrit le gain génétique obtenu par une sélection basée sur différentes combinaisons de caractères chez le ver à soie. Des indices de sélection ont donc été élaborés et leur

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

efficacité relative a été étudiée ; les résultats sont décrits dans cet article, ce qui sera utile pour la sélection.

MATERIELS ET METHODES

Cette étude a été réalisée sur quarante-cinq hybrides F₁ de ver à soie (*Bombyx mori* L.) issus de cinq lignées nouvellement sélectionnées (690, 890, 990, 1090A et 1090B), de quatre races exotiques (N4, SPJ1, JC2P et 14M) et de cinq races consanguines (NB7, NB18, NB4D2, Kalimpong-A et SH2). Les expériences ont été réalisées en mai-juin 1992 à la *Regional Sericultural Research Station* de Coonoor située dans les monts Nilgiri des Ghats occidentaux (Inde). Les vers à soie éclos ont été élevés dans des conditions standard (température : 23 à 28 °C ; humidité relative : 70 à 90 % et alternance jour/nuit : 12h/12h), selon la méthode décrite dans un article précédent (Bhargava et coll., 1993a). Les vers à soie ont été élevés sur des claies en bois (60 × 90 cm) placées sur des étagères d'élevage, la position des claies a été changée 3 à 4 fois par jour pour diminuer les effets des facteurs environnementaux. Pour chaque hybride, un minimum de 10 pontes a été levé en masse et les larves ont été réparties en cinq réplicats après la troisième mue. Les vers à soie ont été alimentés avec des feuilles de la variété de mûrier "MR2", à raison d'environ 250 kg de feuilles pour 10 000 larves.

Les observations concernent sept paramètres du rendement en soie. Ceux-ci sont : 1) le taux effectif d'élevage – mesure de la survie exprimée en pourcentage ; le taux effectif d'élevage est estimé à partir du nombre de cocons formés par 500 larves dans chaque réplicat – 2) le poids du cocon (g), 3) le poids de la coque (g) – les poids moyens du cocon et de la coque correspondent au poids de 25 cocons mâles, de 25 cocons femelle et des coques soyeuses pour chaque réplicat – 4) la richesse soyeuse (%), 5) le pourcentage de cocons défectueux, 6) la dévidabilité (%), 7) la longueur de la bave et 8) le pourcentage de soie grège. Les cocons ont été dévidés sur une dévideuse multi-bouts japonaise pour obtenir les données sur la dévidabilité, la longueur de la bave et le pourcentage de soie grège, suivant la technique standard décrite par Sonwalkar (1985).

Le calcul des variances phénotypiques et génotypiques et des covariances a été réalisé d'après les formules proposées par Panse et Sukhatme (1957). Les indices de sélection, élaborés selon la méthode de Smith (1936) présentée par Brim et coll. (1951), ont été mis au point en regroupant les variances et les covariances. L'avance génétique estimée totale pour la sélection d'un indice donné a été déterminée à l'aide des équations proposées par Robinson et coll. (1951).

RESULTATS ET DISCUSSION

L'avance génétique et l'efficacité relative de chaque indice de sélection sont présentées dans le tableau I. Les indices de sélection donnant une efficacité de plus de 100 % dans la sélection du pourcentage de soie grège sont présentés dans le tableau II. Les résultats présentés dans le tableau I montrent que l'utilisation d'un seul caractère comme indice de sélection donne une efficacité relative inférieure à 100 % (pourcentage de soie grège avec une efficacité relative de 100 %), ce qui démontre l'importance de la sélection de plus d'un caractère. Au moins 81 indices de sélection présentent une efficacité relative supérieure à 100 %. Un maximum de 23 indices de sélection, donnant une efficacité relative supérieure à 100 %, ont été élaborés à partir de la combinaison de six caractères. Un seul indice de sélection élaboré à partir des huit caractères donne une efficacité relative de plus de 100 % (154,72 %). Cependant, il convient de noter que l'efficacité relative maximale (162,46 %) a été obtenue avec un indice ne comprenant pas plus de quatre caractères ; ceux-ci sont le poids de la coque, la richesse soyeuse, la longueur de la bave et le pourcentage de soie grège. L'indice de sélection donnant la seconde meilleure efficacité relative (158,18 %) est basé sur six caractères : le taux effectif d'élevage, le poids du cocon, le poids de la coque, la richesse soyeuse, la longueur de la bave et le pourcentage de soie grège. Les résultats présentés dans le tableau II montre que l'inclusion de deux caractères supplémentaires (pourcentage de cocons défectueux et dévidabilité, indice n° 3), dans l'indice comprenant six caractères (taux effectif d'élevage + poids du cocon + poids de la coque + richesse soyeuse + longueur de la bave + pourcentage de soie grège) diminue l'efficacité relative (154,72 %). En fait, l'indice de sélection basé sur l'inclusion de deux caractères supplémentaires, taux

effectif d'élevage et poids du cocon (indice n° 2, tableau II) donne une efficacité relative inférieure à celle obtenue pour l'indice poids de la coque + richesse soyeuse + longueur de la bave + pourcentage de soie grège (indice n° 1, tableau II). Bien que l'addition d'un à sept caractères dans un indice entraîne une augmentation de l'efficacité par rapport à celle obtenue avec un seul caractère, l'indice idéal devrait néanmoins être composé du nombre minimal de caractère pour une efficacité relative maximale.

Etant donné que plusieurs caractères, et non pas un seul, contribuent au pourcentage de soie grège pendant la phase de croissance du ver à soie, tous les caractères déterminants pour la valeur économique d'une race devraient être pris en compte dans un programme de sélection. Il convient de procéder à un choix simultané d'un certain nombre de caractères afin qu'aucun ne soit laissé de côté. L'interdépendance des caractères multiples a été observée chez le ver à soie par Minagawa et Otsuka (1975). Falconer (1989) a démontré l'importance de l'ensemble des caractères et estimé leur réponse combinée à la sélection de l'ensemble ou d'une partie des caractères. Grekov (1989) a observé que la sélection doit être basée principalement sur le poids de la coque de soie mais que le poids du cocon et la longueur de la bave devraient également être pris en compte. Il ressort de ce qui précède qu'il est impératif de choisir, pour un programme de lignage, l'indice de sélection présentant l'efficacité relative la plus élevée obtenue d'après le gain génétique maximal estimé.

Dans un programme de sélection utilisant des caractères multiples il est souhaitable de considérer tous les caractères affectant le pourcentage de soie grège. Cette étude montre clairement l'effet de ces caractères, sélectionnés individuellement ou en combinaison avec d'autres caractères. L'indice de sélection poids de la coque + richesse soyeuse + longueur de la bave + pourcentage de soie grège, dont l'efficacité relative est maximale (162,46%), ainsi que l'indice de sélection taux effectif d'élevage + poids du cocon + poids de la coque + richesse soyeuse + longueur de la bave + pourcentage de soie grège, dont l'efficacité relative vient en deuxième position (158,18 %), peuvent être utilisés pour améliorer le pourcentage de soie grège.

GROWTH AND DEVELOPMENT OF THE MULBERRY SILKWORM, *BOMBYX MORI* L., ON FEED SUPPLEMENTED WITH ALANINE AND GLUTAMINE

MD. A. RAHMAN KHAN & B.N. SAHA

Department of Zoology, Rajshahi University, Rajshahi 6205, Bangladesh.

*The present investigation reports the effect of supplementation of the amino acids, alanine and glutamine, at 10, 100 and 1000 ppm on the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. Alanine at 10 ppm and glutamine at 10 and 100 ppm enhanced the growth of larvae, pupae and adults, reduced the duration of larval and pupal periods, enhanced the cocoon characters and increased the reproductive potential of *B. mori*.*

Keywords: *Bombyx mori* L., alanine, glutamine, growth, development.

INTRODUCTION

Amino acids, in the form of proteins, perform a multitude of structural, hormonal and catalytic functions essential to life. Besides their roles in proteins, these acids and their derivatives participate in intracellular functions as diverse as nerve transmission, regulation of cell growth, and the biosynthesis of various compounds (Rodwell, 1993).

Amino acids take part in the biosynthesis of silk proteins as well as in the growth of silkglands (Ito, 1972). It has been observed that 10 amino acids, i.e., arginine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan and valine, are essential for silkworm nutrition (Arai and Ito, 1964; Ito and Arai, 1965). The omission of any one of them does not allow growth at all, even on the improved diet. The amino acid requirements in *Bombyx mori* L. have been reviewed by a number of researchers (Ito and Inokuchi, 1972; Bose and Majumder, 1989; Bose *et al.*, 1989).

Nutrition plays a very important role in silkworms, like in other forms of life. Being monophagous, *B. mori* derives almost all the nutrients essential for its growth from the mulberry leaves (*Morus* spp.). The present study was aimed at determining the effect of supplementation of alanine and glutamine on the growth and development of *B. mori*.

MATERIALS AND METHODS

The experimental race, Nistari, of *B. mori* was collected from the Germplasm Bank of the Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, as eggs. Three concentrations of both alanine and glutamine, i.e. 10, 100 and 1000 ppm, were prepared by dissolving the required amounts of the amino acids in distilled water. Mulberry leaves were dipped in these solutions, dried in the air and supplied to the larvae on the first day of their third instar and onwards. An identical batch of controls was reared on leaves dipped in distilled water only. Three replicates, each with 100 larvae, were raised for each concentration. For rearing the silkworms, the methods by Krishnaswami (1978) were followed.

The mature larvae were weighed prior to spinning when they attained the maximum weight. Ripe larvae were transferred to mountages for spinning. Cocoons, after their formation, were weighed, and

Table I. Effect of alanine and glutamine on the weight (mg) of *Bombyx mori* L. (N = 30).Tableau I. Effet de l'alanine et de la glutamine sur le poids (mg) de *Bombyx mori* L. (N = 30).

Concentration (ppm)	Larvae / Larves		Pupae / Chrysalides		Adults / Adultes	
	Alanine m $\pm$ SD ¹	Glutamine m $\pm$ SD	Alanine m $\pm$ SD	Glutamine m $\pm$ SD	Alanine m $\pm$ SD	Glutamine m $\pm$ SD
0 (Control / Témoin)	1385.43 $\pm$ 78.93	1415.53 $\pm$ 97.20	503.67 $\pm$ 74.84 (723.67 $\pm$ 56.89)	462.07 $\pm$ 27.12 (650.77 $\pm$ 38.45)	246.83 $\pm$ 26.45 (521.00 $\pm$ 18.93)	234.22 $\pm$ 10.51 (530.44 $\pm$ 40.44)
10	1426.67 $\pm$ 99.33	1476.27 $\pm$ 90.21	598.86 $\pm$ 59.81 (746.83 $\pm$ 25.32)	480.26 $\pm$ 10.53 (691.47 $\pm$ 16.86)	253.50 $\pm$ 22.77 (540.11 $\pm$ 29.71)	253.93 $\pm$ 17.55 (546.67 $\pm$ 33.49)
100	1183.23 $\pm$ 79.98	1595.30 $\pm$ 77.49	495.67 $\pm$ 24.18 (635.78 $\pm$ 21.57)	550.69 $\pm$ 27.09 (800.90 $\pm$ 40.65)	193.25 $\pm$ 18.93 (459.17 $\pm$ 15.61)	284.25 $\pm$ 18.93 (569.55 $\pm$ 19.53)
1000	1169.03 $\pm$ 60.05	1399.73 $\pm$ 78.83	447.38 $\pm$ 39.28 (620.22 $\pm$ 26.90)	426.67 $\pm$ 30.14 (603.67 $\pm$ 24.70)	188.78 $\pm$ 10.18 (404.83 $\pm$ 26.27)	198.33 $\pm$ 12.58 (450.00 $\pm$ 38.01)
F ratio Rapport de F	6.52**	6.81**	4.26** (9.49)*	18.09* (21.12)*	8.68** (14.01)*	43.16* (6.46)**

1. Mean $\pm$ standard deviation / Moyenne $\pm$ écart type.

** p < 0.05; * p < 0.001.

Figures in parentheses show the corresponding values in females / Les chiffres entre parenthèses donnent les valeurs correspondantes chez les femelles.

then cut open to isolate the pupae. The shell weight was noted and the pupae were weighed. The shell ratio (%) was computed by the following formula:

$$\text{Shell ratio (\%)} = \frac{\text{Shell weight}}{\text{Cocoon weight}} \times 100$$

The larval period was carefully recorded. Moths were similarly weighed and measured for their length and wingspan. The pupal period was also noted. Male and female moths were allowed to mate, and the females were observed for their oviposition and fertility. The experiments were conducted at $28.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ and $75.0 \pm 8.0\%$ relative humidity.

RESULTS AND DISCUSSION

The data on the effect of feeding alanine and glutamine on the growth of *B. mori* larvae, pupae and adults are summarised in Table I. Alanine at 10 ppm and glutamine at 10 and 100 ppm enhanced the growth of the silkworm. The larval and pupal periods of the treated larvae were significantly decreased following amino acid supplementation when compared with the corresponding parameters of the untreated controls (Table II).

Table II. Effect of alanine and glutamine supplementation on the developmental period (days) of *Bombyx mori* L.

Tableau II. Effet de l'addition d'alanine et de glutamine sur la durée du développement (jours) de Bombyx mori L.

Concentration (ppm)	Larval period / <i>Durée larvaire</i>				Pupal period / <i>Durée nymphale</i>			
	Alanine $m \pm SD^1$	No. <i>Nombre</i>	Glutamine $m \pm SD$	No. <i>Nombre</i>	Alanine $m \pm SD$	No. <i>Nombre</i>	Glutamine $m \pm SD$	No. <i>Nombre</i>
0 (C)	20.96 ± 0.95	278	21.58 ± 1.23	282	10.88 ± 0.83	273	11.54 ± 0.52	276
10	19.30 ± 1.27	281	19.67 ± 1.15	285	9.83 ± 0.42	272	10.76 ± 1.02	281
100	22.40 ± 0.78	275	19.45 ± 1.27	288	11.94 ± 0.34	268	10.57 ± 0.58	286
1000	22.63 ± 1.35	262	22.48 ± 1.23	277	12.20 ± 0.31	251	12.47 ± 0.51	268
F ratio <i>Rapport de F</i>	8.66**		5.08**		5.91**		4.92**	

C: Control / *Témoin*.

1. Mean $\pm$ standard deviation / *Moyenne $\pm$ écart type*.

** $p < 0.05$.

The results of the present investigation show that feeding of alanine at 10 ppm significantly increased the cocoon and shell weight and shell ratio, and glutamine at 10 and 100 ppm enhanced the cocoon and shell weight in *B. mori* (Table III). Again, the fecundity and fertility of *B. mori* females obtained from alanine- and glutamine-fed larvae were significantly increased when compared with those of controls at lower concentrations (Table IV). These results suggest that feeding of low

Table III. Effect of alanine and glutamine supplementation on the cocoon characters of *Bombyx mori* L. (N = 30).Tableau III. Effet de l'addition d'alanine et de glutamine sur les caractères du cocon de *Bombyx mori* L. (N = 30).

Concentration (ppm)	Cocoon weight (mg) <i>Poids du cocon (mg)</i>		Shell weight (mg) <i>Poids de la coque (mg)</i>		Shell ratio (%) <i>Richesse soyeuse (%)</i>	
	Alanine m ± SD ¹	Glutamine m ± SD	Alanine m ± SD	Glutamine m ± SD	Alanine m ± SD	Glutamine m ± SD
0 (Control / <i>Témoin</i>)	580.33 ± 81.84 (812.35 ± 65.03)	500.00 ± 25.51 (695.67 ± 22.29)	76.67 ± 8.33 (95.00 ± 6.00)	70.33 ± 10.02 (92.00 ± 13.75)	13.21 ± 1.04 (11.69 ± 0.28)	14.07 ± 2.88 (13.22 ± 1.93)
10	704.44 ± 71.24 (858.50 ± 20.07)	556.73 ± 20.73 (765.77 ± 51.16)	106.00 ± 11.35 (111.67 ± 15.04)	73.33 ± 13.01 (98.30 ± 11.37)	15.04 ± 0.09 (13.01 ± 1.51)	13.17 ± 1.88 (12.83 ± 0.67)
100	570.33 ± 27.29 (730.78 ± 16.28)	621.03 ± 16.08 (899.23 ± 33.47)	74.67 ± 5.51 (88.66 ± 8.50)	94.68 ± 7.57 (115.00 ± 12.77)	13.09 ± 0.80 (12.13 ± 1.08)	15.24 ± 1.34 (12.78 ± 1.50)
1000	510.72 ± 33.41 (702.22 ± 19.34)	540.59 ± 10.61 (766.47 ± 24.51)	63.33 ± 5.86 (81.67 ± 7.63)	60.33 ± 12.02 (76.00 ± 13.23)	12.40 ± 2.02 (11.63 ± 1.39)	11.16 ± 1.74 (9.79 ± 1.98)
F ratio <i>Rapport de F</i>	5.86** (11.85)*	21.14* (17.96)*	15.11* (5.02)**	5.84** (4.81)**	5.33** (5.01)**	5.81** (7.59)**

1. Mean ± standard deviation / *Moyenne ± écart type.*

** p < 0.05; * p < 0.001.

Figures in parentheses show the corresponding values in females / *Les chiffres entre parenthèses donnent les valeurs correspondantes chez les femelles.*

concentrations of both amino acids improves the reproductive potential, whereas feeding on high concentrations of these acids adversely affects this parameter in *B. mori*.

Table IV. Effect of alanine and glutamine supplementation on fecundity and fertility of *Bombyx mori* L.

Tableau IV. Effet de l'addition d'alanine et de glutamine sur la fécondité et la fertilité de *Bombyx mori* L.

Concentration (ppm)	Fecundity		Fertility (%)			
	Alanine $m \pm SD^1$	Glutamine $m \pm SD$	Alanine $m \pm SD$	Number of eggs	Glutamine $m \pm SD$	Number of eggs
Concentration (ppm)	Fécondité		Fertilité (%)			
	Alanine $m \pm SD^1$	Glutamine $m \pm SD$	Alanine $m \pm SD$	Nombre d'oeufs	Glutamine $m \pm SD$	Nombre d'oeufs
0 (Control / Témoin)	362.02 $\pm$ 47.52	359.67 $\pm$ 51.59	92.87 $\pm$ 3.67	6516	88.62 $\pm$ 6.77	6474
10	439.66 $\pm$ 36.77	383.33 $\pm$ 72.61	94.34 $\pm$ 2.18	7914	91.85 $\pm$ 3.05	6900
100	306.67 $\pm$ 16.26	391.66 $\pm$ 85.19	89.95 $\pm$ 6.13	5520	93.19 $\pm$ 1.91	7050
1000	278.06 $\pm$ 20.66	331.67 $\pm$ 58.22	83.03 $\pm$ 3.03	5005	78.69 $\pm$ 3.90	5970
F ratio Rapport de F	14.10*	4.69**	4.96**		6.95**	

1. Mean $\pm$ standard deviation / Moyenne $\pm$ écart type.

** p < 0.05; * p < 0.001.

Mean of 18 observations / Moyenne de 18 observations.

Ito and Arai (1965) recorded that a single omission of aspartate or glutamate from the complete diet produced a slight effect, whereas a double deletion strongly suppressed growth in the silkworm. The silkworm requires either aspartate or glutamate, as has finally been shown by Ito and Arai (1966). They play a very important role in amino acid metabolism, including transamination (Koide *et al.*, 1955; Fukuda, 1956; Gilmour, 1961) and respiration (Ito *et al.*, 1958) in the silkworm. Ito and Inokuchi (1981) also noted that aspartic and glutamic acids are essential for silkworm growth. Recently, Kabila *et al.* (1994) recorded enhanced larval growth and cocoon characters, and reduced larval duration in *B. mori* reared on feed supplemented with neutralised aspartic acid.

A number of workers recorded beneficial effects of amino acid supplementation on the economic characters of silkworms (Firu *et al.*, 1978; Watanabe and Horie, 1980; Kitano, 1981; Krishnappa, 1987; Eid *et al.*, 1989).

Supplementation with amino acids enhanced silk protein synthesis via activation of enzymatic activity (Koide *et al.*, 1955; Shimura *et al.*, 1956; Heller and Jozewska, 1959; Faulkner and Bheemswar, 1960; Li and Zhu, 1985). The existence of RNA is essential for fibroin synthesis (Takeyama *et al.*, 1958) and the production of silk is proportional to its amount in the silk glands (Kuliyev *et al.*, 1976; Shigematsu *et al.*, 1978). The production of translation components was

observed by Chavancy and Fournier (1979) to be co-ordinated and adjusted to the protein synthesis activity in *B. mori* larvae. It has been recorded that the silk proteins in the silkworm were synthesised from precursor-absorbed amino acids (Fukuda and Kameyama, 1960). It has also been observed that the amino acid composition of silk fibroin in *B. mori* depends on the quality of food (Samokhvalova and Potapova, 1969). The enhanced cocoon and shell weight, and shell ratio observed in the present investigation may be explained in the light of these observations.

The results obtained in the present investigation are in close conformity with those stated earlier. It is interesting to note that although higher concentrations of both alanine and glutamine had deleterious effects on *B. mori*, the latter had lesser adverse effects. It may be suggested that amino acids may be used at low concentrations for an improved growth of *B. mori* and enhanced commercial characters.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to extend sincere thanks to the Chairman, Department of Zoology, Rajshahi University, for providing necessary laboratory facilities, and to the Director, Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, Bangladesh, for supplying the seed eggs.

REFERENCES

- ARAI N., ITO T. (1964) Amino acid requirements of silkworm, *Bombyx mori* L. J. Sericult. Sci. Japan, 33, 107-110.
- BOSE P.C., MAJUMDER S.K. (1989) Amino acid requirements in silkworm, *Bombyx mori* L. Indian Silk, 28(4), 41-43.
- BOSE P.C., MAJUMDER S.K., SENGUPTA K. (1989) Role of amino acids in silkworm nutrition and their occurrence in haemolymph, silk glands and silk cocoons — A review. Indian J. Seric., 28(1), 17-31.
- CHAVANCY G., FOURNIER A. (1979) Effect of starvation on tRNA synthesis, amino acid pool, tRNA charging levels and aminoacyl-tRNA synthetase activities in the posterior silk gland of *Bombyx mori*. Biochimie, 61(2), 229-243.
- EID M.A.A., EL-NAKKADY A.N., SALCH M.A. (1989) Effect of supplementary amino acids on silk secretion by larvae of *Philosamia ricini* (Boisd.). Indian J. Seric., 28(2), 224-232.
- FAULKNER P., BHEEMSWAR B. (1960) Studies on the biosynthesis of protein in the silkworm, *B. mori*. Biochem. J., 76, 77.
- FIRU D., SPATARU C., LIE O., WEBER F. (1978) Investigations on the influence of amino acids and nutrients. Agron. Timisoara Lutr. Stunt Ser. Med. Vet., 11, 495-505.
- FUKUDA T. (1956) Conversion of phenylalanine into tyrosine in the silkworm larva (*Bombyx mori*). Nature, 177, 429-430.
- FUKUDA T., KAMEYAMA T. (1960) Biochemical studies on the formation of silk protein in the silkworm larvae. J. Sericult. Sci. Japan, 24, 120.
- GILMOUR D. (1961) The Biochemistry of Insects. Academic Press, New York.
- HELLER J., JOZEWSKA M. (1959) Studies on the biosynthesis of silk fibroin. Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol., 7, 104.
- ITO T. (1972) Amino acid nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*. Proc. Jap. Acad., 48, 613-617.
- ITO T., ARAI N. (1965) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*. VIII: Amino acid requirements and nutritive effects of various proteins. Bull. Sericult. Exp. Sta. Japan, 19, 345-373.
- ITO T., ARAI N. (1966) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*. IX: Requirements for aspartic and glutamic acids. J. Insect Physiol., 12, 861-869.
- ITO T., INOKUCHI T. (1972) Nutrition and metabolism of amino acids in silkworm, *Bombyx mori* L. In Insect and Mite Nutrition. J.R. Rodriguez, ed., pp. 517-529. North Holland, Amsterdam.
- ITO T., INOKUCHI T. (1981) Nutritive effect of D-amino acids on the silkworm, *Bombyx mori*. J. Insect Physiol., 27(7), 447-453.

- ITO T., HORIE Y., ISHIKAWA S. (1958) Oxidative enzymes of the midgut of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Insect Physiol., 2, 313-323.
- KABILA V., SUBBURATHINAM K.M., CHETTY J.S. (1994) Growth and economic characters of silkworm, *Bombyx mori* L., on feed enriched with neutralised aspartic acid. Indian J. Seric., 33(1), 80-81.
- KITANO T. (1981) Sericin hydrolyzate treatment of mulberry leaves for silkworm feeding. Japan Tokyo, Koho., 17, 885-889.
- KOIDE F., HAGAYAMA H., SHIMURA K. (1955) Transaminases in the silkworm tissues. J. Agric. Soc. Japan, 29, 987-990.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New Technology of Silkworm Rearing. Central Silk Board, India.
- KRISHNAPPA J.B. (1987) Influence of amino acids supplementation on growth and development of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. P.G. Degree Thesis, Univ. of Agricultural Sciences, Bangalore, India.
- KULLYEV P., KARAEV K., GAUZE G. (1976) Properties of the cell-free protein synthesizing system from the fibroin region of the silkworm, *B. mori*, silk gland. Mol. Biol., 10(6), 1355-1360.
- LI Y., ZHU O.X. (1985) Mechanism of silk increase in silkworm by 15 N-urea administration. Science of Sericulture (Canye Kexue), 9(4), 209-213.
- RODWELL V.W. (1993) Amino acids. In Harper's Biochemistry. 23rd edition, R.K. Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes and V.W. Rodwell eds., pp. 23-32, Prentice Hall International, Inc.
- SAMOKHVALOVA G., POTAPOVA O. (1969) Amino acid composition of the fibroin of the silk of the Chinese silkworm (*B. mori*) when caterpillars feed on *Scorzonera hispanica* and *Morus alba*. Biol. Nauk., 12(1), 45-48.
- SHIMURA K., NAGAYAMA H., TKUSHI A. (1956) Aminomalonic acid decarboxylase, a new enzyme. Nature, 177, 935.
- SHIGEMATSU H., KURATA K., TAKESHITA H. (1978) Nucleic acid accumulation in silk gland of *B. mori* in relation to silk protein. Comp. Biochem. Physiol., 61(B), 237-242.
- TAKAYAMA S., ITO H., MIURA Y. (1958) Fibroin synthesis and ribonucleic acid metabolism in the silk gland. Acta Biochem. Biophys., 30(2), 233-243.
- WATANABE K., HORIE Y. (1980) Effect of dietary levels of essential amino acids on the growth of the silk glands, component of haemolymph and uric acid excretion in the silkworm, *B. mori*. Nippon Shanshigaku Zasshi, 49(3), 177-185.

CROISSANCE ET DEVELOPPEMENT DU VER A SOIE DU MURIER *BOMBYX MORI* L. NOURRI AVEC UN ALIMENT ENRICHI EN ALANINE ET EN GLUTAMINE

MD. A. RAHMAN KHAN & B.N. SAHA

Department of Zoology, Rajshahi University, Rajshahi 6205, Bangladesh.

Cette étude décrit l'effet de l'addition des acides aminés alanine et glutamine à 10, 100 et 1000 ppm d'aliment sur le ver à soie *Bombyx mori* L. L'alanine à 10 ppm et la glutamine à 10 et 100 ppm favorisent la croissance des larves, des chrysalides et des adultes, entraînent une réduction de la durée des périodes larvaire et nymphale et améliorent les caractères du cocon et le potentiel de reproduction de *B. mori*.

INTRODUCTION

Les acides aminés accomplissent, sous la forme de protéines, une multitude de fonctions structurales, hormonales et catalytiques essentielles à la vie. Outre leur rôle chez les protéines, ces acides et leurs dérivés participent à certaines fonctions intracellulaires couvrant aussi bien la transmission nerveuse, la régulation de la croissance des cellules que la biosynthèse de divers composés (Rodwell, 1993).

Les acides aminés interviennent dans la biosynthèse des protéines de la soie ainsi que dans la croissance des glandes séricigènes (Ito, 1972). Il a été observé que 10 acides aminés (l'arginine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, le tryptophane et la valine) sont indispensables à la nutrition du ver à soie (Arai et Ito, 1964 ; Ito et Arai, 1965). L'absence d'un seul de ces composants inhibe totalement la croissance, même avec un aliment amélioré. Les besoins en acides aminés de *Bombyx mori* L. ont été décrits par plusieurs chercheurs (Ito et Inokuchi, 1972 ; Bose et Majumder, 1989 ; Bose et coll., 1989).

La nutrition joue un rôle primordial chez le ver à soie comme chez les autres formes de vie. Insecte monophage, *B. mori* tire la plupart des nutriments essentiels à sa croissance des feuilles de mûrier (*Morus* spp.). Cette étude vise à déterminer l'effet de l'addition d'alanine et de glutamine sur la croissance et le développement de *B. mori*.

MATERIELS ET METHODES

La race Nistari de *B. mori* utilisée dans ces expériences provient d'œufs issus de la banque génétique du *Bangladesh Sericulture Research and Training Institute* de Rajshahi. Trois concentrations d'alanine et de glutamine, soit 10, 100 et 1000 ppm ont été préparées par dilution des quantités requises d'acides aminés dans de l'eau distillée. Les feuilles de mûrier ont été trempées dans ces solutions, séchées à l'air et données aux vers à soie à partir du premier jour du troisième âge. Un lot de témoins identiques a été élevé sur des feuilles trempées dans de l'eau distillée. Trois réplicats de 100 larves ont été élevés pour chaque concentration. Pour l'élevage des vers à soie, on a suivi les méthodes de Krishnaswami (1978).

Les larves matures ont été pesées avant le filage au moment où elles atteignent leur poids maximal. Elles ont ensuite été transférées sur des encabanages en vue du filage. Une fois formés, les cocons ont été pesés et ouverts pour prélever les chrysalides. Le poids de la coque a été relevé et les nymphes, pesées. La richesse soyeuse (%) a été calculée d'après la formule suivante :

$$\text{Richesse soyeuse (\%)} = \frac{\text{Poids de la coque}}{\text{Poids du cocon}} \times 100$$

La durée larvaire a été soigneusement notée. Les papillons ont été pesés et leur longueur et leur envergure ont été mesurées. La durée de la période nymphale a également été relevée. Les papillons mâles et femelles ont été accouplés et l'oviposition et la fertilité des femelles ont été observées. Les expériences ont été réalisées à $28,0 \pm 1,0$ °C et $75,0 \pm 8,0\%$ d'humidité relative.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données concernant l'effet de l'addition d'alanine et de glutamine sur la croissance des larves, des chrysalides et des adultes de *B. mori* sont résumées dans le tableau I. L'alanine à 10 ppm et la glutamine à 10 et 100 ppm favorisent la croissance du ver à soie. Les périodes larvaire et nymphale des larves traitées par addition d'acides aminés diminuent de manière significative par rapport aux paramètres correspondants des témoins non traités (Tableau II).

Les résultats de cette étude montrent que l'addition d'alanine à 10 ppm entraîne une augmentation significative des poids du cocon et de la coque et de la richesse soyeuse et que la glutamine à 10 et 100 ppm améliore les poids du cocon et de la coque chez *B. mori* (Tableau III). En outre, la fécondité et la fertilité des femelles *B. mori* issues des lots traités avec de faibles concentrations d'alanine et de glutamine augmentent de manière significative par rapport à celles des lots témoins (Tableau IV). Ces résultats suggèrent que le nourrissage avec de faibles concentrations de ces deux acides aminés améliore le potentiel de reproduction tandis que le nourrissage avec des concentrations élevées a un effet négatif sur ce paramètre chez *B. mori*.

Ito et Arai (1965) ont observé que l'absence soit d'aspartate, soit de glutamate dans l'aliment complet produit un léger effet, tandis que l'absence simultanée des deux éléments inhibe fortement la croissance chez le ver à soie. Le ver à soie a besoin soit d'aspartate, soit de glutamate, comme l'ont démontré Ito et Arai (1966). Ces éléments jouent un rôle très important dans le métabolisme des acides aminés, y compris dans la transamination (Koide et coll., 1955 ; Fukuda, 1956 ; Gilmour, 1961) et la respiration (Ito et coll., 1958) chez le ver à soie. Ito et Inokuchi (1981) ont également observé que l'acide aspartique et l'acide glutamique sont essentiels à la croissance du ver à soie. Récemment, Kabila et coll. (1994) ont noté une amélioration de la croissance larvaire et des caractères du cocon et une réduction de la durée larvaire chez *B. mori* nourri avec un aliment enrichi en acide aspartique neutralisé.

Certains chercheurs ont observé que l'addition d'acides aminés a des effets bénéfiques sur les caractères économiques du ver à soie (Firu et coll., 1978 ; Watanabe et Horie, 1980 ; Kitano, 1981 ; Krishnappa, 1987 ; Eid et coll., 1989).

L'addition d'acides aminés favorise la synthèse des protéines de la soie en déclenchant l'activité enzymatique (Koide et coll., 1955 ; Shimura et coll., 1956 ; Heller et Jozewska, 1959 ; Faulkner et Bhacmswar, 1960 ; Li et Zhu, 1985). L'existence de l'ARN est essentielle à la synthèse de la fibroïne (Takeyama et coll., 1958) et la production de soie est proportionnelle à sa quantité dans les glandes séricigènes (Kullyev et coll., 1976 ; Shigematsu et coll., 1978). Chavancy et Fournier (1979) ont observé que la production de composants traductionnels est coordonnée et ajustée à l'activité de synthèse des protéines chez les larves de *B. mori*. Chez cet insecte, les protéines de la soie sont synthétisées à partir d'acides aminés précurseurs absorbés (Fukuda et Kameyama, 1960). En outre, la composition en acides aminés de la fibroïne de soie de *B. mori* dépend de la qualité de la nourriture (Samokhvalova et Potapova, 1969). L'amélioration des poids du cocon et de la coque et de la richesse soyeuse observée ici peut s'expliquer à la lumière de ces observations.

Les résultats obtenus dans cette étude corroborent fortement ceux obtenus par d'autres chercheurs. Il est intéressant de noter que, bien que des concentrations élevées d'alanine et de glutamine aient des effets nuisibles sur *B. mori*, la glutamine donne des effets moins nocifs. Nous suggérons que les acides aminés peuvent être utilisés à faibles concentrations pour améliorer la croissance de *B. mori* et ses caractères commerciaux.

COMPARATIVE STUDIES ON FOOD UTILISATION EFFICIENCY IN SOME SILKWORM STRAINS UNDER DIFFERENT FEEDING LEVELS

G.B. SINGH* & O. NINAGI

Sericultural Technology Research Team, National Institute of Sericultural and Entomological
Sciences, 1-10-1 Agata, Matsumoto 390, Japan.

Food utilisation efficiency at different feeding levels was studied in Shin-asagiri, C145 × N140, C146 × N137 and Daizo races in the fifth instar. The parameters studied were: amount of ingestion and digestion, percentage of ingestibility and digestibility and efficiency of conversion of ingested (ECI) and digested (ECD) food into body matter, cocoon shell weight and pupae. The parameters studied clearly indicate that ingestion, digestion and utilisation of food are mostly dependent upon the feeding level and genotype of the hybrid. Amount of ingestion and digestion and ECI and ECD to cocoon shell were higher in bivoltine hybrids than in the Daizo race. The less fed batches registered maximum ingestibility with minimum digestibility and better efficiency of conversion of ingested and digested food into body matter, cocoon shell and pupae, which may be due to some physiological adaptations to nutritional stress conditions.

Keywords: Ingestion, digestion, rearing parameters, utilisation of food.

INTRODUCTION

Growth expresses a composite result of various physiological activities of an organism, by which matter accumulates as a result of balance between assimilation and dissimilation in which complicated phenomena are involved (Ueda, 1982). Food consumption, ingestion and utilisation patterns and their sex-specific differences observed at the fifth instar in a variety of insects belonging to different races have been reported (Bailey, 1976; Biren *et al.*, 1987; Yamamoto and Fujimata, 1960; Joshi, 1984). Nutritional studies in the silkworm have been carried out with respect to moulting (Takeuchi, 1961), cocoon productivity (Takano and Arai, 1978), silk production (Muthukrishnan *et al.*, 1979), economic characters (Sumioka *et al.*, 1982a, 1982b), silk proteins (Fukuda, 1960), body weight gain (Ueda and Suzuki, 1967), feeding levels (Tzenov, 1993) evaluation of mulberry varieties (Periasamy and Radhakrishnan, 1985; Sarkar, 1993). The present communication deals with food utilisation efficiency in different Japanese bivoltine hybrids and Daizo races under different feeding levels.

MATERIALS AND METHODS

Four Japanese silkworm races, i.e. Shin-asagiri, C146 × N137, C145 × N140 and Daizo, were utilised for the present study. The Ichinose mulberry variety was fed to silkworms from brushing to cocooning. The experiment was conducted from the beginning to the end of the fifth instar because this is the stage when the silkworm consumes more than 87% of the total feed. Just after the fourth ecdysis, larvae of all four races were divided into three groups, a healthy lot of 50 larvae was

* Present address: Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570008, India.

maintained in five replications in each race. A medium batch was fed with the standard quantum of feed (Tazima, 1972). In addition, 25% excess and 25% less feed was provided to excess and less fed batches, respectively. The amount of ingestion and digestion was calculated for individual larvae and the percentage of ingestibility and digestibility and efficiency of conversion of ingested (ECI) and digested (ECD) food into body matter, cocoon shell and pupae were studied according to the methods described by Waldbauer (1968), Horie *et al.* (1976) and Horie and Watanabe (1983).

The results obtained are presented in the form of a bar graph from number 1 to number 10, and Tables I and II show the data of cocoon characters and the statistical analysis.

RESULTS

In general, the amount of leaves ingested and digested (Fig. 1 and 2) were higher in Shin-asagiri, C145 $\times$ N137 and C146 $\times$ N137 races than in Daizo at all three feeding levels. However, these parameters were higher in Shin-asagiri race as compared to all other races at all feeding levels. The batches fed with excess amount of feed showed higher amounts of ingestion and digestion, followed by medium and less fed batches in all the four races.

Fig. 1: Amount of leaves ingested (g) by different silkworm races.

Fig. 1 : Quantité de feuilles ingérées (g) par différentes races de vers à soie.

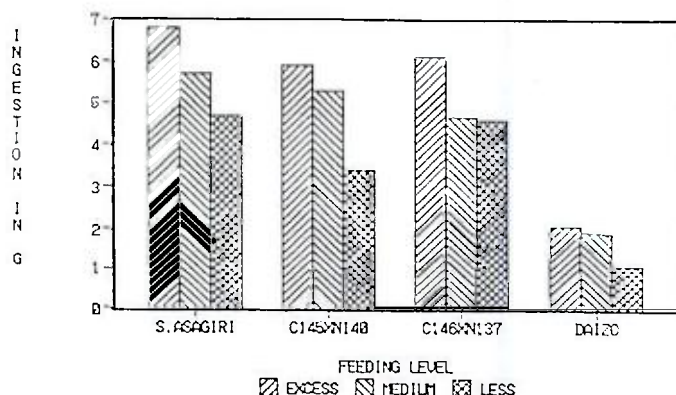
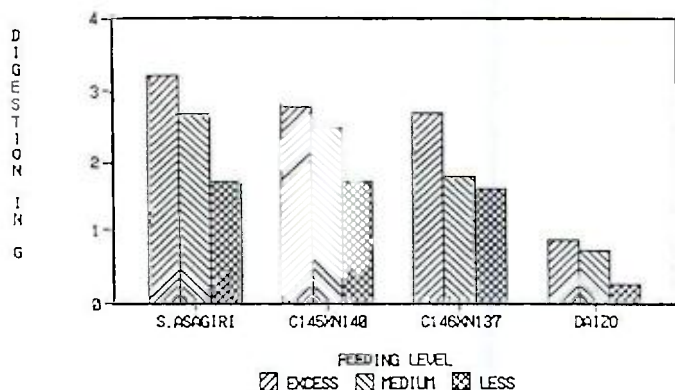


Fig. 2: Amount of leaves digested (g) by different silkworm races.

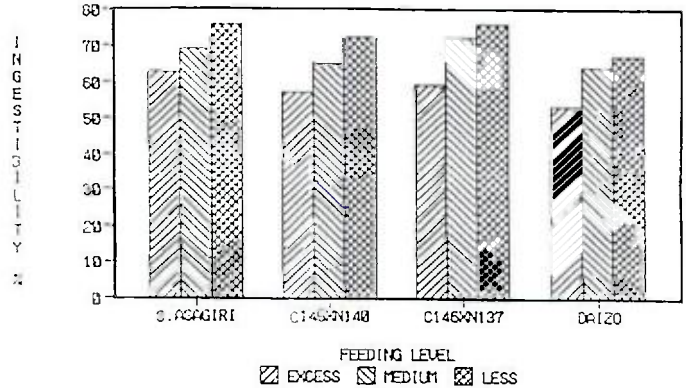
Fig. 2 : Quantité de feuilles digérées (g) par différentes races de vers à soie.



The percentage of ingestibility (Fig. 3) was higher in less fed batches in all the races. Racewise, Daizo showed the lowest percentage of ingestibility as compared to the other races at all feeding levels. The ingestibility percentage varied from 63-76% in Shin-asagiri race, and from 57-59% and 72-76% in C145 × N137 and C146 × N137 races, respectively, due to different feeding levels. In Daizo, it was 53.64% and 67% in excess, medium and less fed batches.

Fig. 3: Ingestibility percentage of different silkworm races.

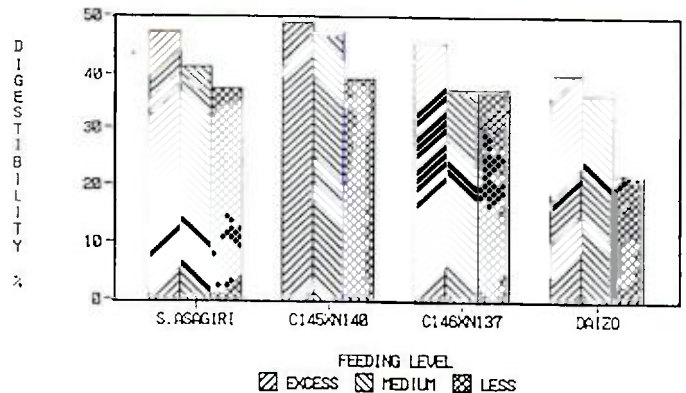
Fig. 3 : Taux d'ingestion de différentes races de vers à soie.



The percentage of ingestibility (Fig. 4) was lower in less fed batches in all the races. However, racewise, Daizo shows the minimum percentage of ingestibility as compared to the other races at all feeding levels. In excess fed batches, digestibility was more than 45% but only 40% in Daizo. However, in less fed batches, the percentage of digestibility was 22% in Daizo and 37 to 39% in the other races.

Fig. 4: Digestibility percentage of different silkworm races.

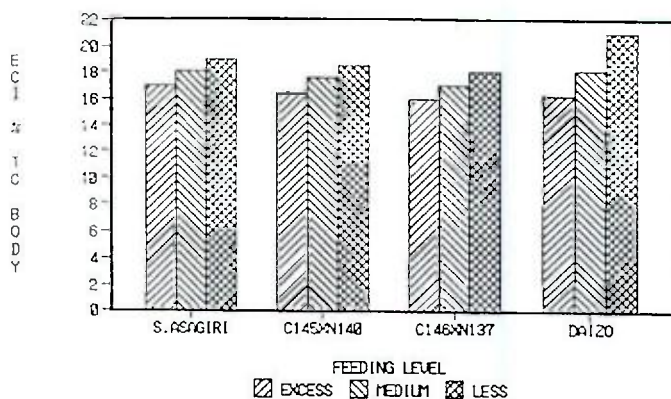
Fig. 4 : Taux de digestion de différentes races de vers à soie.



The percentage of efficiency of conversion of ingested food (ECI) into body matter (Fig. 5) was higher in less fed batches compared to medium and excess fed lots in all the races. Variation in ECI to body matter due to different feeding levels was 17 to 19% in Shin-asagiri, C145 × N140 and C146 × N137 races and 16 to 21% in Daizo.

Fig. 5: Percentage of ECI to body matter of different silkworm races.

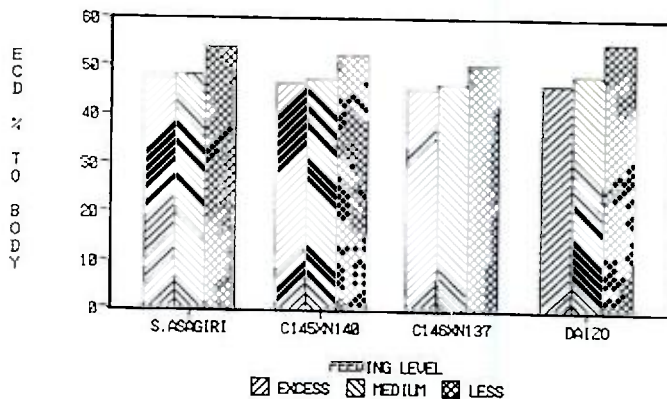
Fig. 5 : Pourcentage d'ECI en matière corporelle chez différentes races de vers à soie.



The percentage of efficiency of conversion of digested food (ECD) to body matter (Fig. 6) was higher in less fed batches in all the races. The percentage of ECD to body matter did not show any significant variation because of excess and medium feeding, similarly ECD to body matter did not vary much due to different races.

Fig. 6: Percentage of ECD to body matter of different silkworm races.

Fig. 6 : Pourcentage d'ECD en matière corporelle chez différentes races de vers à soie.



The percentage of ECI to cocoon shell (Fig. 7) was highest in less fed batches in all the races and it was 8.5, 10.6, 9.6 and 5.4, and ECI to cocoon shell was least in excess fed batches, it was 6.5, 6.9, 9.0 and 4.7 in Shin-asagiri, C145 × N140, C146 × N137 and Daizo races, respectively.

The percentage of ECD to cocoon shell (Fig. 8) was 14.2, 16.3 and 22.9 in Shin-asagiri, 14.6, 17.6 and 20.5 in C145 × N140, 20.3, 25.2 and 26.6 in C146 × N137 and 12.5, 12.8 and 20.8 in Daizo due to excess, medium and less feeding, respectively. It is obvious that less fed batches recorded the highest percentage of ECD to cocoon shell in all the races, and racewise Daizo showed the minimum and C146 × N137 the maximum ECD to cocoon shell.

Fig. 7: Percentage of ECI to cocoon shell of different silkworm races.

Fig. 7 : Pourcentage d'ECI en coque soyeuse chez différentes races de vers à soie.

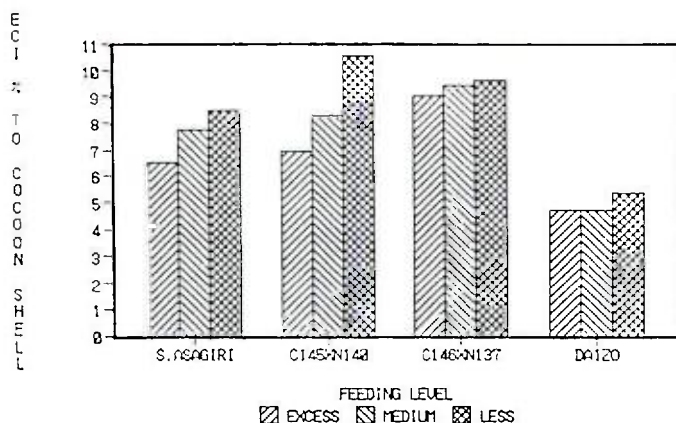
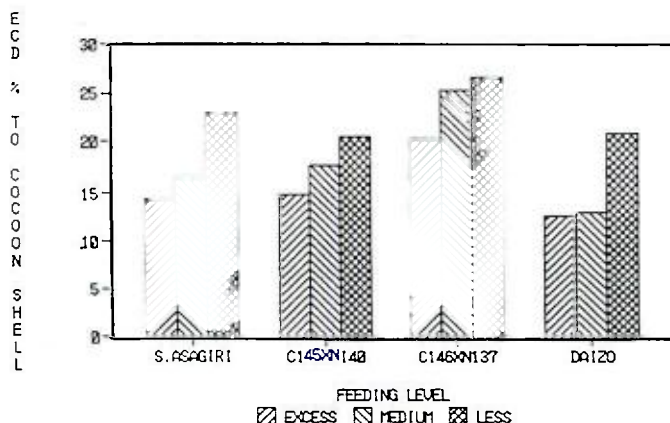


Fig. 8: Percentage of ECD to cocoon shell of different silkworm races.

Fig. 8 : Pourcentage d'ECD en coque soyeuse chez différentes races de vers à soie.



The percentage of ECI to pupae (Fig. 9) was higher in less fed batches and lower in excess fed batches in all the races studied. The percentage of ECD to pupae was higher in Daizo than in the other races at all feeding levels. Irrespective of the races, less fed batches showed the maximum ECD to pupae, followed by the medium and excess fed batches.

In Table I, the larval duration and cocoon characters of all the four races at different feeding levels are given, and Table II shows the statistical analysis of the data given in Table I. It is clear from the results that the larval duration was prolonged due to the cut in the feed and that cocoon and shell weights reduced significantly due to the reduced level of feeding. No significant difference was recorded in cocoon and shell weights between excess and moderate feed in any of the races considered for the study. However, the cocoon characters were significantly influenced by the different genotypes.

The percentage of shell ratio also varied significantly due to different feeding levels and different genotypes, except in the Shin-asagiri batch wherein no significant difference was observed in the shell weight due to the cut in the feed.

Fig. 9: Percentage of ECI to pupa of different silkworm races.

Fig. 9 : Pourcentage d'ECI en chrysalide chez différentes races de vers à soie.

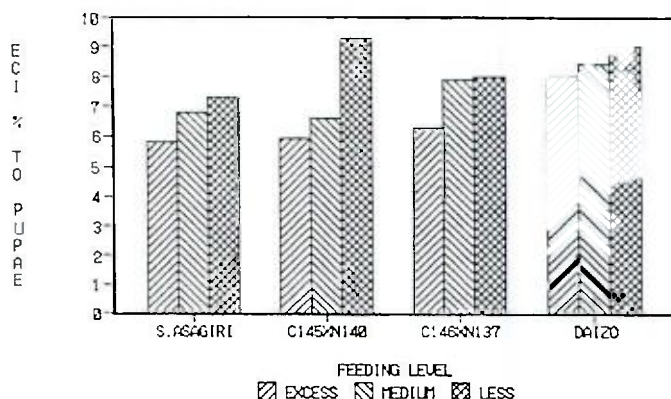
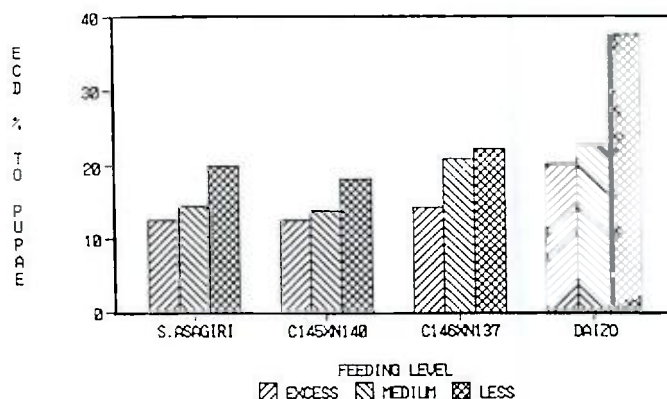


Fig. 10: Percentage of ECD to pupa of different silkworm races.

Fig. 10 : Pourcentage d'ECD en chrysalide chez différentes races de vers à soie.



DISCUSSION

The present study clearly demonstrates that food utilisation and efficiency of conversion of ingested and digested food into body matter, cocoon shell and pupa are mostly dependent upon the feeding amount and also that the percentage of ingestibility was higher in the less fed batches and the percentage of digestibility was higher in the excess fed batches of all the races. These results are in agreement with those of Tzenov (1993), Remadevi *et al.* (1982), Pant *et al.* (1986), Sarkar (1993) and Periasamy *et al.* (1984).

The amount of leaves ingested and digested is significantly lower in polyvoltine races (Periasamy and Radhakrishnan, 1985), and the same trend was observed in the present study for Daizo which is very similar to the polyvoltine races of the tropics.

The efficiency of conversion of ingested and digested food is the chief factor in the commercial characters of the cocoons. ECI and ECD depend on many factors like genotypes (Yamamoto and Gamo, 1976; Horie and Watanabe, 1983; Periasamy *et al.*, 1984; Remadevi *et al.*, 1992), amount of

feed (Tzenov, 1993), mulberry variety and ploidy (Sarkar, 1993), different developmental stages (Pant *et al.*, 1986). Presently ECI and ECD depend on feeding levels and genotypes.

According to Sumioka *et al.* (1982a, 1982b) and Hidashi *et al.* (1982), a cut in the feeding amount of larvae during the fifth instar decreases the amount of ingestion and digestion. However, the efficiency of conversion of ingested and digested food into body matter, cocoon shell and pupae is higher in less fed batches, and this may be due to the fact that less choice of feed leads to some physiological adaptations to overcome nutritional stress conditions (Nath *et al.*, 1990; Tzenov, 1993). Similar observations were made in the present study.

Table I. Larval duration and cocoon characters of different silkworm races under different feeding levels.

Tableau I. Durée larvaire et caractères du cocon chez différentes races de ver à soie en fonction du volume de nourriture.

Races	Feeding levels	Larval duration 5th instar (days:hours)	Single cocoon wt. (g)	Single shell wt. (g)	Shell ratio (%)
Races	Volume de nourriture	Durée larvaire 5e âge (jours:heures)	Poids d'un cocon (g)	Poids d'une coque (g)	Richesse soyeuse (%)
S. asagiri	Excess / Excédentaire	7:12	2.12	0.47	22.2
	Medium / Intermédiaire	7:12	2.13	0.48	22.5
	Less / Insuffisant	8:00	1.84	0.41	22.2
C145 × N140	Excess / Excédentaire	7:12	1.93	0.45	23.3
	Medium / Intermédiaire	7:12	1.92	0.45	23.4
	Less / Insuffisant	8:00	1.61	0.36	22.5
C146 × N137	Excess / Excédentaire	7:12	2.00	0.48	24.0
	Medium / Intermédiaire	7:12	2.00	0.47	24.0
	Less / Insuffisant	8:00	1.70	0.38	22.3
Daizo	Excess / Excédentaire	7:00	0.89	0.11	12.3
	Medium / Intermédiaire	7:00	0.84	0.11	13.1
	Less / Insuffisant	8:00	0.67	0.07	10.4

Among the races studied, the least ECI and ECD percentages to cocoon shell were recorded in the Daizo race at all feeding levels and the highest in the C146 × N137 race; this is reflected in the observations on cocoon and shell weights and shell ratio percentage. ECI and ECD to pupae were maximum in the Daizo race compared to all other races studied. In addition to the genotypes, this may be the reason for a low shell ratio in the Daizo race because most of the ingested and digested food goes to the formation of pupae rather than to the formation of cocoon shell. Shin-asagiri is a

polyphagous race, perhaps this may be the reason for the higher amount of ingestion and digestion as compared to the other races but it is not reflected in terms of cocoon characters.

Table II. Statistical analysis of the data presented in Table I.

Tableau II. Analyse statistique des données présentées dans le tableau I.

Source	Standard error	CD at 5%	CD at 1%	Significance
Source	Ecart type	Seuil à 5 %	Seuil à 1 %	Signification
ANOVA for single cocoon weight / Analyse de variance pour le poids du cocon				
Races (A)	0.0531	0.155	0.210	**
Feeding level (B) / Niveau de nourrissage (B)	0.0460	0.134	0.182	**
A × B	0.0921	0.268	0.364	NS
ANOVA for single shell weight / Analyse de variance pour le poids de la coque				
Races (A)	0.0065	0.019	0.026	**
Feeding level (B) / Niveau de nourrissage (B)	0.0056	0.016	0.022	**
A × B	0.0113	0.033	0.045	NS
ANOVA for shell ratio percentages / Analyse de variance pour la richesse soyeuse				
Races (A)	0.8301	2.423	3.283	**
Feeding level (B) / Niveau de nourrissage (B)	0.7189	2.098	2.843	*
A × B	1.4378	4.196	5.687	NS

REFERENCES

- BAILEY C.C. (1976) A quantitative study of consumption and utilisation of various diets in the Bertha army worm, *Mamestra configurata* (Lep.: Noct.). Can. Ent., 108, 1319-1326.
- BIREN R., PRASAD B., NIGAM M.P. (1987) Consumption and utilization of food by oak-tasar silkworm, *Antheraea proylei* Jolly (Lepidoptera: Saturniidae). Sericologia, 27(1), 11-19.
- FUKUDA T. (1960) The correlation between the mulberry leaves taken by the silkworm silk protein in silk gland and silk filament. Bull. Sericult. Exp. Sta., 15(10), 605-610.
- HIDASHI S., SHIGERU K., NARMI T. (1982) Feed efficiency and expression of several characters of the silkworm, *Bombyx mori*, under the restricted feeding. J. Sericult. Sci. Japan, 51(5), 415-419.
- HORIE Y., INOKUCHI T., WATANABE K., NAKASONE S., YANAGAWA H. (1976) Quantitative study on food utilisation by the silkworm, *Bombyx mori*, through its life cycle. I: Economy of dry matter energy and carbon. Bull. Sericult. Exp. Sta. Tokyo, 26(6), 411-442.
- HORIE Y., WATANABE K. (1983) Daily utilisation and consumption of dry matter in food by the silkworm, *Bombyx mori*. Appl. Ent. Zool., 18(1), 70-80.
- JOSHI K.L. (1984) Sex-specific consumption and utilisation of food by eri silkworm, *Philosamia ricini* Hutt. (Lep.: Saturniidae). Sericologia, 24(1), 21-27.

- MUTHUKRISHNAN J., MADHAVAN S., NAVARATHINAJOTHI V. (1979) Effect of restriction of feeding, duration of food utilisation, emergence and silk production in *Bombyx mori*. Zool. Ital., 12.
- NATH T., NATH S., SHAMSUDDIN M., RAO G. (1990) Effect of food deprivation on dry matter utilisation, shell and cocoon weight and fecundity of multivoltine silkworms, *Bombyx mori*, race Nistari. Indian J. Seric., 29(2), 174-181.
- PANT R., RAMANNA D., SARKAR A. (1986) Consumption and utilization of feed in *Philosamia ricini* larva during development. Sericologia, 26(1), 49-54.
- PERIASAMY K., NARAYANAPRAKASH R., RADHAKRISHNAN S. (1984) Food utilization in exotic and indigenous races of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). Sericologia, 24(1), 43-50.
- PERIASAMY K., RADHAKRISHNAN S. (1985) A quantitative study of food utilization and silk production in *Bombyx mori* L. for evaluation of superior varieties of mulberry. Sericologia 25(4), 491-500.
- REMADEVI O.K., MAGADUM S.B., SHIVASHANKAR N., BENCHAMIN K.V. (1992) Evaluation of the food utilisation efficiency in some polyvoltine breeds of silkworm, *Bombyx mori* L. Sericologia, 32(1), 61-66.
- SARKAR A. (1993) Effects of feeding different races of silkworm (*Bombyx mori* L.) with mulberry (*Morus indica* L.) leaves varying in ploidy level. Sericologia, 33(1), 25-34.
- SUMIOKA H., KURODA S., YOSHITAKE N. (1982a) Relationship among food ingestion, food digestion and body weight gain in the silkworm, *Bombyx mori*, larvae under restricted feeding by indexes. J. Sericult. Sci. Japan, 51(1), 51-56.
- SUMIOKA H., KURODA S., YOSHITAKE N. (1982b) Feed efficiency and expression of several characters of the silkworm, *Bombyx mori*, under the restricted feeding. J. Sericult. Sci. Japan, 51(5), 415-419.
- TAKANO K., ARAI N. (1978) Studies on food value on the basis of feeding and cocoon productivity in the silkworm, *Bombyx mori*. I: Treatment of food intake and cocoon productivity. J. Sericult. Sci. Japan, 47(2), 134-142.
- TAKEUCHI Y. (1961) Studies on the effect of nutrition on the moulting in silkworm, *Bombyx mori*. II: Analysis of various factors concerning the judgement of nutritive value of mulberry leaf by the means of moulting ratio of the silkworm fed with the leaf concerned. Bull. Sericult. Exp. Sta., 17(1), 87-89.
- TAZIMA Y. (1972) Handbook of Silkworm Rearing. Translated by Central Silk Board, Bombay (1977).
- TZENOV P. (1993) Study on the food utilization in genetic sex-limited breeds for egg and larval traits of the silkworm, *Bombyx mori* L., at moderate, reduced and excess feeding amounts. Sericologia, 33(2), 247-256.
- UEDA S., SUZUKI K. (1967) Studies on the silkworm, *Bombyx mori*. I: Chronological changes of the amount of food ingested, body weight and water content of the body and their mutual relationship. Bull. Sericult. Exp. Sta., 22, 33-74.
- WALDBAUER G.P. (1968) Consumption and utilisation of food by insects. In: Advances in Insect Physiology. Eds. J.W.L. Treherene, V.B. Wigglesworth, Academic Press, New York.
- YAMAMOTO T., GAMO T. (1976) Studies on the breeding in relation to the improvement of the food utilisation in the silkworm, *Bombyx mori*. I: Mutual relation among the amount of food ingested, the amount of food digested and several quantitative characters in the silkworm reared on the artificial diet. J. Sericult. Sci., Japan, 45(1), 81-86.
- YAMAMOTO T., FUJIMATA T. (1960) Interstrain difference in food efficiency of the silkworm, *Bombyx mori*, reared on artificial diet. J. Sericult. Sci. Japan, 51(4), 312-315.

ETUDE COMPARATIVE DE L'EFFICACITE D'UTILISATION DE LA NOURRITURE CHEZ CERTAINES SOUCHES DE VER A SOIE EN FONCTION DE DIFFERENTS NIVEAUX DE NOURRISSAGE

G.B. SINGH* & O. NINAGI

Sericultural Technology Research Team, National Institute of Sericultural and Entomological Sciences, 1-10-1 Agata, Matsumoto 390, Japon.

On a étudié l'efficacité d'utilisation de la nourriture en fonction de différents niveaux de nourrissage chez des larves du cinquième âge des races Shin-asagiri, C145 × N140, C146 × N137 et Daizo. Les paramètres considérés sont : les quantités d'ingestion et de digestion, les pourcentages d'ingestion et de digestion et l'efficacité de conversion de la nourriture ingérée (ECI) et digérée (ECD) en matière corporelle, en poids de la coque soyeuse et en chrysalide. Les paramètres étudiés indiquent clairement que l'ingestion, la digestion et l'utilisation de la nourriture dépendent principalement du niveau de nourrissage et du génotype de l'hybride. Les quantités d'ingestion et de digestion ainsi que l'ECI et l'ECD en coque soyeuse sont plus élevées chez les hybrides bivoltins que chez la race Daizo. Les lots les moins nourris enregistrent un taux d'ingestion maximal accompagné d'un taux de digestion minimal et d'une meilleure efficacité de conversion de la nourriture ingérée et digérée en matière corporelle, en coque soyeuse et chrysalide ; ceci pourrait être dû à certaines adaptations physiologiques au stress du manque de nourriture.

INTRODUCTION

La croissance exprime le résultat combiné de diverses activités physiologiques de l'organisme par lesquelles la matière s'accumule sous l'effet de l'équilibre entre l'assimilation et le catabolisme, fonctions qui font intervenir des phénomènes complexes (Ueda, 1982). Les profils de consommation, d'ingestion et d'utilisation de la nourriture et les différences spécifiques entre les sexes ont été observés au cinquième âge chez plusieurs insectes appartenant à différentes races (Bailey, 1976 ; Biren et coll., 1987 ; Yamamoto et Fujimata, 1960 ; Joshi, 1984). Chez le ver à soie, on a réalisé des études nutritionnelles portant sur la mue (Takeuchi, 1961), la productivité en cocons (Takano et Arai, 1978), la production de soie (Muthukrishnan et coll., 1979), les caractères d'intérêt économique (Sumioka et coll., 1982a, 1982b), les protéines de la soie (Fukuda, 1960), le gain de poids larvaire (Ueda et Suzuki, 1967), les niveaux de nourrissage (Tzenov, 1993) et l'évaluation des variétés de mûrier (Periasamy et Radhakrishnan, 1985 ; Sarkar, 1993). L'étude présentée ici traite de l'efficacité d'utilisation de la nourriture chez différents hybrides bivoltins japonais et chez la race Daizo en fonction de différents niveaux de nourrissage.

MATERIELS ET METHODES

Quatre races de ver à soie japonaises (Shin-asagiri, C146 × N137, C145 × N140 et Daizo) ont été utilisées pour cette étude. La variété de mûrier Ichinose a été donnée comme nourriture aux vers

* Adresse actuelle : Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570008, Inde.

à soie de la levée au filage. L'expérience a été réalisée du début à la fin du cinquième âge car c'est l'âge auquel le ver à soie consomme plus de 87 % de sa nourriture totale. En sortie de quatrième ecdysis, des larves des quatre races ont été réparties en trois groupes, un lot sain de 50 larves a été maintenu en cinq réplicats pour chacune des races. Le groupe intermédiaire a été nourri avec le taux standard de nourriture (Tazima, 1972). Deux autres groupes, excédentaire et insuffisant, ont été nourris avec respectivement 25 % de nourriture en plus et 25 % de nourriture en moins. La quantité de nourriture ingérée et digérée a été calculée pour chaque larve ; les pourcentages d'ingestion et de digestion et l'efficacité de conversion de la nourriture ingérée (ECI) et digérée (ECD) en matière corporelle, en coque soyeuse et en chrysalide ont été déterminés d'après les méthodes décrites par Waldbauer (1968), Horie et coll. (1976) et Horie et Watanabe (1983).

Les résultats obtenus sont présentés sous la forme d'histogrammes numérotés de 1 à 10 et les tableaux I et II indiquent les données concernant les caractères du cocon et l'analyse statistique.

RESULTATS

Dans l'ensemble, les quantités de feuilles ingérées et digérées (Fig. 1 et 2) sont plus élevées chez Shin-asagiri, C145 × N137 et C146 × N137 que chez Daizo, quel que soit le niveau de nourrissage. Cependant, les valeurs obtenues pour ces paramètres sont plus élevées chez la race Shin-asagiri que chez les autres races à tous les niveaux de nourrissage. Les lots nourris avec une quantité excédentaire de nourriture présentent des valeurs supérieures d'ingestion et de digestion chez les quatre races étudiées, devant les lots nourris avec des quantités intermédiaire et insuffisante.

Le taux d'ingestion (Fig. 3) est plus élevé chez les lots moins nourris pour toutes les races. Pour ce qui concerne les races, Daizo présente le taux d'ingestion le plus faible à tous les niveaux de nourrissage. Le taux d'ingestion varie de 63 à 76 % chez la race Shin-asagiri, de 57 à 59 % chez C145 × N137 et de 72 à 76 % chez C146 × N137, suivant le niveau de nourrissage. Chez Daizo, ce taux est de 53,64 % et de 67 % chez les lots nourris en quantités excédentaire, intermédiaire et insuffisante.

Le taux d'ingestion (Fig. 4) est plus faible chez les lots nourris en quantité insuffisante pour toutes les races. Cependant, pour ce qui concerne les races, Daizo présente le taux d'ingestion le plus faible à tous les niveaux de nourrissage. Chez les lots nourris en quantité excédentaire, le taux de digestion est supérieur à 45 %, contre 40 % seulement chez Daizo. Le taux de digestion est de 22 % chez Daizo et de 37 à 39 % chez les autres races.

L'efficacité de conversion de la nourriture ingérée (ECI) en matière corporelle (Fig. 5) est supérieur chez les lots nourris en quantité insuffisante à celui des autres lots, quelle que soit la race. Le taux d'ECI en matière corporelle varie de 17 à 19 % chez Shin-asagiri, C145 × N140 et C146 × N137 et de 16 à 21 % chez Daizo, en fonction des niveaux de nourrissage.

L'efficacité de conversion de la nourriture digérée (ECD) en matière corporelle (Fig. 6) est supérieure chez les lots les moins nourris, quelle que soit la race. Le pourcentage d'ECD en matière corporelle ne fait apparaître aucune variation significative entre les lots nourris en quantités excédentaire et intermédiaire et entre les races.

Le pourcentage d'ECI en coque soyeuse (Fig. 7) est maximal chez les lots les moins nourris, quelle que soit la race, avec des valeurs de 8,5, 10,6, 9,6 et 5,4, et minimal chez les lots nourris en quantité excédentaire, avec des valeurs de 6,5, 6,9, 9,0 et 4,7 respectivement pour Shin-asagiri, C145 × N140, C146 × N137 et Daizo.

Le pourcentage d'ECD en coque soyeuse (Fig. 8) est respectivement de 14,2, 16,3 et 22,9 pour Shin-asagiri, 14,6, 17,6 et 20,5 pour C145 × N140, de 20,3, 25,2 et 26,6 chez C146 × N137 et de 12,5, 12,8 et 20,8 pour Daizo chez les lots nourris en quantités excédentaire, intermédiaire et insuffisante. Il est évident que les lots nourris en quantité insuffisante enregistrent le pourcentage d'ECD en coque soyeuse le plus élevé chez toutes les races et que ce paramètre est minimal pour Daizo et maximal pour C146 × N137.

Le pourcentage d'ECI en chrysalide (Fig. 10) est maximal, pour toutes les races, chez les lots nourris en quantité insuffisante et minimal chez les lots nourris en quantité excédentaire. Le pourcentage d'ECD en chrysalide est plus élevé chez Daizo que chez les autres races à tous les niveaux

de nourrissage. Quelle que soit la race, les lots les moins nourris présentent les valeurs les plus faibles pour l'ECD en chrysalide, devant les lots nourris en quantités intermédiaire et excédentaire.

Le tableau I présente la durée larvaire et les caractères du cocon chez les quatre races en fonction des différents niveaux de nourrissage et le tableau II présente l'analyse statistique des données du tableau I. Ces résultats montrent clairement que la diminution du nourrissage entraîne une augmentation de la durée larvaire et une réduction des poids de la coque et du cocon. Aucune différence significative n'a été observée pour les poids du cocon et de la coque entre les lots nourris en quantité excédentaire et ceux nourris en quantité intermédiaire chez les races étudiées. Cependant, les caractères du cocon sont fortement influencés par le génotype.

La richesse soyeuse varie de manière significative entre les différents niveaux de nourrissage et les différents génotypes, sauf chez Shin-asagiri qui ne donne aucune variation significative du poids de la coque entre les niveaux de nourrissage.

DISCUSSION

Cette étude montre clairement que l'utilisation de la nourriture et l'efficacité de conversion de la nourriture ingérée et digérée en matière corporelle, en coque soyeuse et en chrysalide dépendent fortement de la quantité de nourriture et que le taux d'ingestion est plus élevé chez les lots les moins nourris tandis que le taux de digestion est plus élevé chez les lots nourris en quantité excédentaire. Ces résultats corroborent ceux de Tzenov (1993), Remadevi et coll. (1982), Pant et coll. (1986), Sarkar (1993) et Periasamy et coll. (1984).

La quantité de feuilles ingérées et digérées est nettement plus faible chez les races polyvoltines (Periasamy et Radhakrishnan, 1985) ; la même tendance a été observée ici chez Daizo, qui est tout à fait semblable aux races polyvoltines des tropiques.

L'efficacité de conversion de la nourriture ingérée et digérée est un facteur déterminant pour les caractères commerciaux du cocon. L'ECI et l'ECD dépendent de nombreux facteurs comme le génotype (Yamamoto et Gamo, 1976 ; Horie et Watanabe, 1983 ; Periasamy et coll., 1984 ; Remadevi et coll., 1992), la quantité de nourriture (Tzenov, 1993), la variété et le degré de ploidie du mûrier (Sarkar, 1993) et le stade du développement (Pant et coll., 1986). Dans cette étude, l'ECI et l'ECD dépendent également du niveau de nourrissage et du génotype.

D'après Sumioka et coll. (1982a, 1982b) et Hidashi et coll. (1982), la diminution de la quantité de nourriture donnée aux larves du cinquième âge entraîne une diminution des taux d'ingestion et de digestion. Cependant, l'efficacité de conversion de la nourriture ingérée et digérée en matière corporelle, en coque soyeuse et en chrysalide est plus élevée chez les lots les moins nourris ; ceci pourrait être dû au fait que le manque de nourriture entraîne des adaptations physiologiques pour surmonter le stress nutritionnel (Nath et coll., 1990 ; Tzenov, 1993). Des observations similaires ont été faites dans cette étude.

Parmi les races étudiées, les pourcentages d'ECI et d'ECD en coque soyeuse sont minimaux chez la race Daizo pour tous les niveaux de nourrissage et maximaux chez C146 × N137 ; ceci se reflète dans les observations concernant les poids du cocon et de la coque et dans la richesse soyeuse. L'ECI et l'ECD en chrysalide sont maximaux chez Daizo. Outre le génotype, ceci pourrait expliquer la faible richesse soyeuse chez Daizo car la plus grande partie de la nourriture ingérée et digérée est utilisée pour la formation de la chrysalide plutôt que pour la formation de la coque soyeuse. Shin-asagiri est une race polyphage ; ce qui pourrait expliquer pourquoi elle présente des taux d'ingestion et de digestion plus élevés que les autres races, mais cela n'affecte pas les caractères du cocon.

COMPARATIVE STUDIES ON THE PATHOGENICITY OF *NOSEMA BOMBYCIS* NAEGELI AND *NOSEMA* SP. (MICROSPORIDA: NOSEMATIDAE) TO *BOMBYX MORI* L. (LEPIDOPTERA: BOMBYCIDAE) DUE TO SECONDARY CONTAMINATION

M. GEETHA BAI & L. MAHADEVAPPA

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura,
Bangalore 560062, India.

Pathogenicity of Nosema sp. to Bombyx mori of a popular bivoltine race, NB4D2, due to secondary contamination was studied and compared with that of N. bombycis infection. Details of larval, pupal and moth infection and quality of cocoons spun, when infection was induced in all the five larval instars are presented. Nosema sp. was found to cause considerable damage to B. mori.

Keywords: *Nosema bombycis*, *Nosema* sp., *Bombyx mori*.

INTRODUCTION

The pebrine disease, caused by the microsporidian pathogen, *Nosema bombycis*, is well known in India, since it causes heavy losses to the sericulture industry. Three microsporidians (*Nosema* spp.) were isolated from *B. mori* in India (Ananthalakshmi *et al.*, 1994). A large number of protozoans other than *N. bombycis* have been isolated from *B. mori* in Japan (Tanaka *et al.*, 1972; Fujiwara, 1980, 1984a, 1984b, 1985; Fujiwara *et al.*, 1985). Abe (1978) isolated *Leptomonas* sp. and Aratake and Kayamura (1984) isolated *Trypanosoma* (Protomonadina: Trypanosomidae) from *B. mori* in Japan. Yun and Lim (1984) isolated a new microsporidian, *K79*, from *B. mori* in Korea.

Nosema sp. was isolated from *B. mori* moths obtained from the Government grainage at Bilidevalaya, Karnataka State. Pathogenicity of *Nosema* sp. to *B. mori* of a popular bivoltine race, NB4D2, was studied and compared with that caused by *N. bombycis*.

MATERIALS AND METHODS

The clear suspensions of *Nosema* sp. and *N. bombycis* used in this study were obtained from tissue homogenates of infected *B. mori* by the triangulation method (Cole, 1970). To determine the size of *Nosema* sp., 100 spores from infected *B. mori* larvae were measured. The spore count of the suspension used in this study was 5×10^5 spores/ml. The susceptibility of *B. mori* to *Nosema* sp. and *N. bombycis* was studied by infecting the larvae in all five instars.

To test the susceptibility of first instar larvae, nine layings were brushed in separate trays, one laying in each tray, and fed with fresh, chopped mulberry leaves. The second feeding given was an infected one. The effective feeding consisted of 2 g of chopped mulberry leaves contaminated with 1 ml of the test suspension. The infective feeding was followed by normal feeding and rearing. Larvae from three layings were infected with *Nosema* sp., three with *N. bombycis* separately, and the remaining three batches were maintained as controls. This procedure was followed in the case of first instar larvae since young larvae are too delicate to handle for counting. To test the susceptibility of

second instar larvae, one hundred larvae out of second moult were isolated in trays (25 × 36 cm) and fed with fresh, chopped mulberry leaves. There were nine such batches. During the second feeding, 100 silkworms in a batch were fed with 3 g of chopped mulberry leaves contaminated with 1 ml of *Nosema* sp. spore suspension and this was replicated three times. Similarly, 100 silkworms were fed with 3 g of chopped mulberry leaves contaminated with 1 ml of *N. bombycis* spore suspension and was replicated three times. Three batches of uninfected larvae, with 100 larvae in each batch, were reared as controls. As the larvae grew, they were transferred to large trays (60 × 90 cm) to maintain sufficient spacing, and rearing was continued. The same method was followed to infect third, fourth and fifth instar silkworms; 2, 4 and 5 ml of spore suspension and 5, 12 and 15 g of mulberry leaves, respectively, were used.

After spinning, cocoon quality and quantity were assessed. All dead larvae and pupae were examined microscopically for pathogens. After emergence moths were homogenised and examined for pathogens, and the results were recorded. To determine the various tissues infected with *Nosema* sp., infected silkworms were dissected and various tissues examined microscopically for spores of the pathogens.

RESULTS AND DISCUSSION

Spores of *Nosema* sp. varied from *N. bombycis* in their shape, size and pathogenicity. *Nosema* sp. spores were cylindrical in shape, while those of *N. bombycis* were oval (Fig. 1). *Nosema* sp. spores measured $5.2 \pm 0.32 \mu\text{m}$ in length and $2.34 \pm 1.7 \mu\text{m}$ in breadth; whereas spores of *N. bombycis* measured $3.6 \pm 0.2 \mu\text{m}$ in length and $2.04 \pm 0.3 \mu\text{m}$ in breadth.

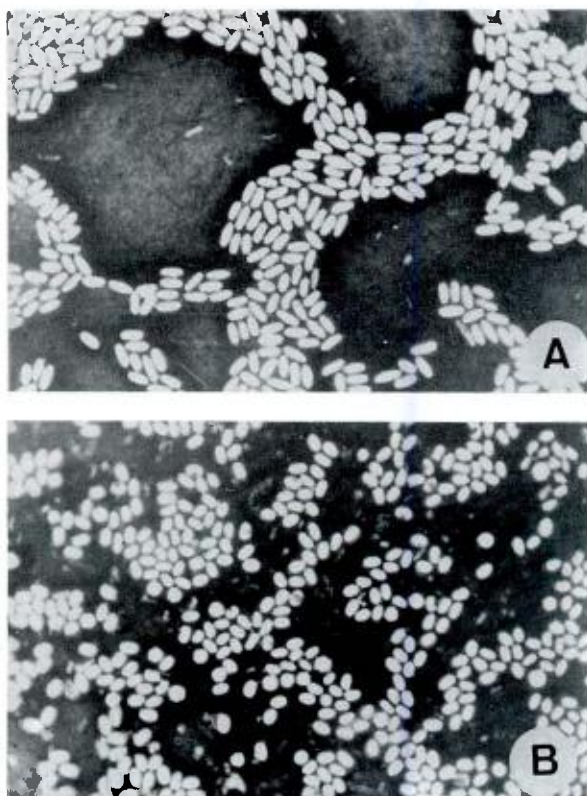


Fig. 1: Spores of *Nosema* sp. and *Nosema bombycis*.

Fig. 1 : Spores de *Nosema* sp. et de *Nosema bombycis*.

100 ×.

A: *Nosema* sp.

B: *Nosema bombycis*.

Susceptibility of silkworms:

Silkworms of the bivoltine race NB₄D₂ are susceptible to *Nosema* sp. and *N. bombycis*, when fed with contaminated mulberry leaves during all five larval instars. The larval mortality of larvae infected during the first instar with *Nosema* sp. was higher (64.0%) than that of *N. bombycis*-infected larvae (47.9%) (Fig. 2). A similar trend was observed in the case of fourth instar infected larvae, where the larval mortality due to *Nosema* sp. was 30.7% and that due to *N. bombycis* was 26.7%. However, in the case of the second, third and fifth instar larvae, the mortality due to *N. bombycis* infection was greater than that caused by *Nosema* sp. The larval mortality due to *Nosema* sp. decreased with the increase in the age of larvae. In the case of *N. bombycis* infection, the larval mortality was highest in second instar infected larvae, followed by first, fourth and fifth instars. Statistical analysis of the data indicates that there was a significant difference in the larval mortality during different instars ($P = 0.05$), but there was no significant difference in the overall larval mortality ($P = 0.05$) due to *Nosema* sp. and *N. bombycis*.

Silkworms infected with *Nosema* sp. have less appetite and feed seldom. Normal development of the larvae is affected, as a result of which they remain small in size compared to healthy larvae. Unequal larvae were seen in the rearing trays due to differential development. Diseased silkworms became weak and shrunk. They settled at the bottom layers in the rearing bed and died in a day or two.

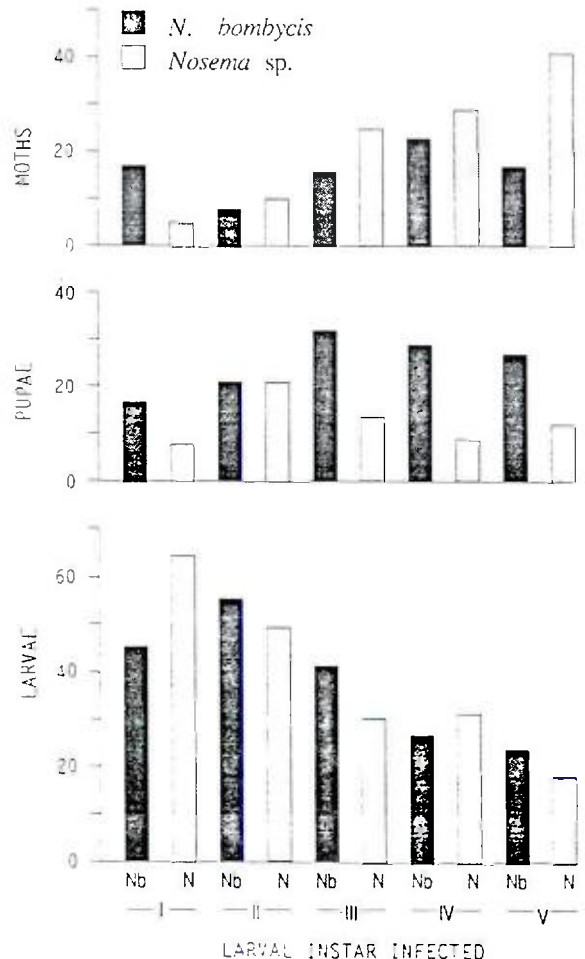


Fig. 2: Infection of larvae, pupae and moths of *Bombyx mori* by *Nosema* sp. and *Nosema bombycis*, secondarily infected during the five larval stages.

Fig. 2 : Réaction des larves, des chrysalides et des papillons de *Bombyx mori* à l'infestation secondaire par *Nosema* sp. et *Nosema bombycis* au cours des cinq âges larvaires.

Effect of infection on cocoons and pupae:

Silkworms from the batches infected with *Nosema* sp. and *N. bombycis* spun fewer good cocoons compared to the uninfected controls and the difference was significant ($P = 0.01$) (Fig. 3). Diseased silkworms spun flimsy cocoons, unfit for reeling. Good cocoons spun by silkworms in *Nosema* sp.-infected batches increased gradually with the increase in the age at which infection was induced in the larvae, except in the case of fourth instar larvae, where the figure decreased marginally. In the case of *N. bombycis*-infected batches, the trend in production of good cocoons was irregular. However, there was no significant difference in overall production of good cocoons in batches infected with *Nosema* sp. and *N. bombycis* ($P = 0.05$). The abdomen of pupae infected with *Nosema* sp. was soft and swollen, as in the case of *N. bombycis* infection.

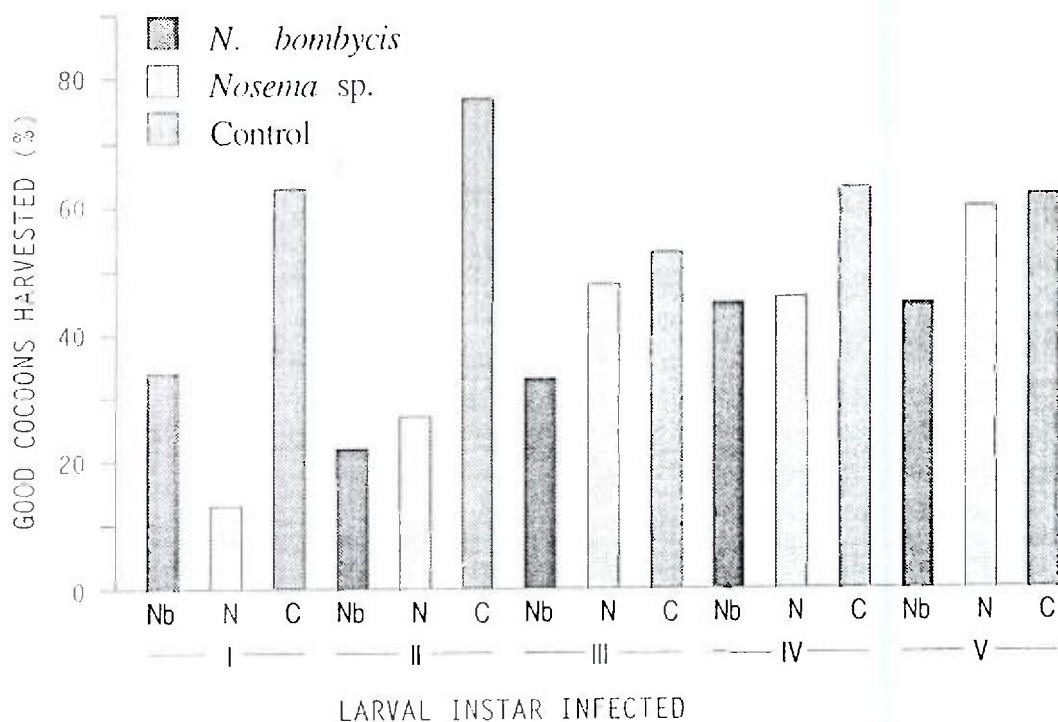


Fig. 3: Cocoon yield of *Bombyx mori* secondarily infected with *Nosema* sp. and *Nosema bombycis* during the five larval stages.

Fig. 3 : Rendement en cocons de *Bombyx mori* après infestation secondaire par *Nosema* sp. et *Nosema bombycis* au cours des cinq âges larvaires.

Moth infection:

Moth infection in *Nosema* sp.-infected batches increased gradually with the increase in the age at which infection was induced in the larvae. *Nosema* sp. infection is passed on to moth stage, through pupal stage, when infection takes place in larval stages, as in the case of *N. bombycis* infection. Moth infection in *N. bombycis*-infected batches was irregular. The overall difference in moth infection due to *Nosema* sp. and *N. bombycis* was not significant ($P = 0.01$).

Occurrence of *Nosema* sp. in *B. mori*:

Nosema sp. spores were found in silk glands, digestive tract, Malpighian tubules, fat bodies, muscles, haemolymph and tissues of the nervous system of silkworms. Spores were also found on silk fibres of cocoons spun by infected silkworms. Therefore, *Nosema* sp. spores can also disseminate in the environment through the movement of cocoons in infected lots, from one place to another.

Considering the extent of infection and mortality of *B. mori* due to secondary contamination by *Nosema* sp., detailed investigations of this pathogen on the mode of infection, dissemination and viability of spores in the environment, susceptibility of different common races of *B. mori*, popular hybrids, associated insects such as parasitoids and predators of *B. mori*, insect pests infesting mulberry gardens, histological, biochemical and immunological studies, geographical distribution, easier methods of detection, prevention and control measures are necessary.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Director, KSSRDI, for facilities provided. Technical assistance of Mr M. Dinesh and other supporting staff of the Silkworm Protection Section is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- ABE Y. (1978) The life-cycle of *Leptomonas* sp., a protozoan parasite of silkworm, *Bombyx mori* L. J. Sericult. Sci. Japan, 47, 421-426.
- ANANTHALAKSHMI K.V.V., FUJIWARA T., DATTA R.K. (1994) First report on the isolation of three microsporidians (*Nosema* spp.) from the silkworm, *Bombyx mori* L., in India. Indian J. Seric., 33, 146-148.
- ARATAKE Y., KAYAMURA T. (1984) Occurrence and its control of the disease caused by *Trypanosoma* in the silkworm, *Bombyx mori*. Tech. Bull. Sericult. Exp. Sta., 122, 117-124.
- COLE R.J. (1970) The application of the 'triangulation' method to the purification of the *Nosema* spores from infected tissues. J. Invert. Path., 15, 193-195.
- FUJIWARA T. (1980) Three microsporidians (*Nosema* spp.) from the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 49, 229-236.
- FUJIWARA T. (1984a) A *Pleistophora*-like microsporidian isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 53, 398-402.
- FUJIWARA T. (1984b) *Thelohania* sp. (Microsporida: Thelohaniidae) isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 53, 459-560.
- FUJIWARA T. (1985) Microsporidia from silkworm moths in egg production sericulture. J. Sericult. Sci. Japan, 54, 108-111.
- FUJIWARA T., KAGAWA T., ANDOU H. (1985) *Nosema bombycis*-like microsporidians isolated from silkworm moths in egg production sericulture. J. Sericult. Sci. Japan, 54, 117-121.
- TANAKA S., SHIMIZU T., KOBAYASHI M., ISHIHARA R. (1972) A new microsporidian pathogenic to the silkworm, *Bombyx mori*. J. Sericult. Sci. Japan, 48, 142-146.
- YUN J.S., LIM J.S. (1984) Pathological studies on the new microsporidia, K79, isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. Seric. J. Korea, 26, 1-6.

ETUDE COMPARATIVE DE LA PATHOGENICITE DE *NOSEMA BOMBYCIS* NAEGELI ET DE *NOSEMA* SP. (MICROSPORIDA : NOSEMATIDAE) POUR *BOMBYX MORI* L. (LEPIDOPTERA : BOMBYCIDAE) PAR INFESTATION SECONDAIRE

M. GEETHA BAI & L. MAHADEVAPPA

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura,
Bangalore 560062, Inde.

La pathogénicité de Nosema sp. pour NB4D2, race bivoltine commune de Bombyx mori, par infestation secondaire a été étudiée et comparée à celle de Nosema bombycis. Cet article présente les résultats de l'infestation des larves, des chrysalides et des papillons et de la qualité des cocons après induction de l'infestation aux cinq âges larvaires. Nosema sp. entraîne des dommages considérables chez B. mori.

INTRODUCTION

La pébrine, provoquée par l'agent pathogène microsporidien *Nosema bombycis*, est bien connue en Inde où elle occasionne des pertes importantes dans l'industrie séricicole. Trois microsporidiens (*Nosema* spp.) ont été observés chez *B. mori* en Inde (Ananthalakshmi et coll., 1994). Un grand nombre de protozoaires autres que *N. bombycis* ont été isolés chez *B. mori* au Japon (Tanaka et coll., 1972 ; Fujiwara, 1980, 1984a, 1984b, 1985 ; Fujiwara et coll., 1985). Abe (1978) a isolé *Leptomonas* sp. et Aratake et Kayamura (1984) ont isolé *Trypanosoma* (Protomonadina : Trypanosomidae) chez *B. mori* au Japon. Yun et Lim (1984) ont isolé un nouveau microsporidien, K79, chez *B. mori* en Corée.

Nosema sp. a été isolé chez des papillons de *B. mori* provenant de la station de grainage d'Etat de Bilidevalaya, Etat du Karnataka. La pathogénicité de *Nosema* sp. pour une race bivoltine couramment utilisée (NB4D2) de *B. mori* a été étudiée et comparée à celle causée par *N. bombycis*.

MATERIELS ET METHODES

Les suspensions claires de *Nosema* sp. et de *N. bombycis* utilisées dans cette étude ont été obtenues à partir de broyats de tissus infestés de *B. mori*, selon la méthode triangulaire (Cole, 1970). La taille de *Nosema* sp. a été déterminée d'après la mesure de cent spores de larves infestées de *B. mori*. La concentration des spores de la suspension utilisée ici est de 5×10^5 /ml. La sensibilité de *B. mori* à *Nosema* sp. et à *N. bombycis* a été étudiée par induction de l'infestation à tous les âges larvaires.

Pour tester la sensibilité des larves du premier âge, neuf pontes ont été levées sur des litières séparées, soit une ponte par litière, et nourries avec des feuilles de mûrier fraîches hachées. Le deuxième nourrissage a été réalisé avec des feuilles infestées. Ce nourrissage est composé de 2 g de feuilles de mûrier hachées contaminées avec 1 ml de la suspension de spores. Après ce nourrissage infectieux, les larves ont été nourries et élevées normalement. Trois pontes ont été infestées avec *Nosema* sp., trois pontes avec *N. bombycis* et les trois pontes restantes ont été utilisées comme témoins. Cette procédure n'a été utilisée que pour les larves du premier âge, celles-ci étant trop délicates à

manipuler et à compter. Pour tester la sensibilité des larves du deuxième âge, neuf lots comprenant chacun cent larves en sortie de deuxième mue ont été placés sur des litières (25 × 36 cm) et nourries avec des feuilles de mûrier fraîches hachées. Au cours du deuxième nourrissage, cent larves de l'un des lots ont été nourries avec 3 g de feuilles de mûrier hachées contaminées avec 1 ml de la suspension de spores de *Nosema* sp ; cette expérience a été répétée trois fois. Cent autres larves ont été nourries avec 3 g de feuilles de mûrier hachées contaminées avec 1 ml de la suspension de spore de *N. bombycis* ; cette expérience a été répétée trois fois. Trois lots de larves non infestées, avec cent larves par lot, ont été élevés comme témoins. Les larves ont été transférées dans des litières plus grandes (60 × 90 cm), à mesure de leur croissance, afin de maintenir un espace suffisant et l'élevage a été poursuivi. Les larves des troisième, quatrième et cinquième âges ont été infestées de la même manière, mais avec des doses respectives de 2, 4 et 5 ml de suspension pour 5, 12 et 15 g de feuilles de mûrier.

Après le filage, la qualité et la quantité des cocons ont été évaluées. Toutes les larves et les chrysalides mortes ont été examinées au microscope afin d'observer les agents pathogènes. Après émergence, les papillons ont été broyés et examinés au microscope ; les résultats ont été relevés. Pour déterminer les différents tissus infestés par *Nosema* sp., des larves contaminées ont été disséquées et les tissus ont été examinés au microscope afin d'observer la présence éventuelle de spores des agents pathogènes.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les spores de *Nosema* sp. diffèrent de ceux de *N. bombycis* par leur forme, leur taille et leur pathogénicité. Les spores de *Nosema* sp. sont de forme cylindrique, tandis que ceux de *N. bombycis* sont ovales (Fig. 1). Les spores de *Nosema* sp. mesurent $5,2 \pm 0,32 \mu\text{m}$ de long et $2,34 \pm 1,7 \mu\text{m}$ de large, tandis que ceux de *N. bombycis* mesurent $3,6 \pm 0,2 \mu\text{m}$ de long et $2,04 \pm 0,3 \mu\text{m}$ de large.

Sensibilité des vers à soie :

Les larves de la race bivoltine NB4D2 sont sensibles à *Nosema* sp. et à *N. bombycis* à tous les âges larvaires lorsqu'elles sont nourries avec des feuilles de mûrier contaminées. La mortalité larvaire des larves infestées au cours du premier âge avec *Nosema* sp. est supérieure (64,0 %) à celle des larves infestées avec *N. bombycis* (47,9 %) (Fig. 2). On observe la même tendance pour les larves du quatrième âge pour lesquelles la mortalité larvaire due à *Nosema* sp. est de 30,7 % et celle due à *N. bombycis*, de 26,7 %. Cependant, chez les larves des deuxième, troisième et cinquième âges, la mortalité due à l'infestation par *N. bombycis* est plus importante que celle causée par *Nosema* sp. La mortalité larvaire due à *Nosema* sp. diminue à mesure que les larves vieillissent. Dans le cas de l'infestation par *N. bombycis*, la mortalité est maximale pour la contamination au deuxième âge, devant la contamination aux premier, troisième, quatrième et cinquième âges. L'analyse statistique des données révèle une différence significative pour ce qui concerne la mortalité larvaire entre les différents âges ($P = 0,05$) ; cependant, il n'y pas de différence significative entre la mortalité globale ($P = 0,05$) due à *Nosema* sp. et celle due à *N. bombycis*.

Les vers à soie infestés avec *Nosema* sp. ont moins d'appétit et se nourrissent peu. Le développement normal des larves est affecté, ce qui entraîne une diminution de leur taille par rapport à celle des larves saines. Les larves présentent une croissance irrégulière, d'où des différences de taille dans une même litière d'élevage. Les vers à soie infestés perdent leur vigueur et se contractent ; ils se blottissent dans les couches inférieures de la litière et meurent en l'espace d'un à deux jours.

Effet de l'infestation sur les cocons et les chrysalides :

Le nombre de bons cocons filés par les vers à soie des lots infestés par *Nosema* sp. et *N. bombycis* est inférieur à celui obtenu chez les témoins non infestés et la différence est significative ($P = 0,01$) (Fig. 3). Les vers à soie infestés filent des cocons mous, impropres au dévidage. Le nombre de bons cocons filés par les vers à soie des lots infestés avec *Nosema* sp. augmente en fonction de l'âge auquel les larves ont été infestées, sauf dans le cas de l'infestation au quatrième âge pour laquelle le chiffre obtenu diminue légèrement. Chez les lots infestés avec *N. bombycis*, la production de bons cocons

est irrégulière. Cependant, il n'y a aucune différence significative entre les lots infestés avec *Nosema* sp. et ceux infestés par *N. bombycis* ($P = 0,05$). L'abdomen des chrysalides infestées avec *Nosema* sp. est mou et enflé, comme dans le cas de l'infestation par *N. bombycis*.

Infestation des papillons :

L'infestation des papillons issus des lots contaminés avec *Nosema* sp. augmente en fonction de l'âge des larves auquel l'infestation a été induite. L'infestation par *Nosema* sp. est transmise au stade papillon par l'intermédiaire du stade chrysalide lorsque l'infestation est induite à l'un des stades larvaires, comme dans le cas de *N. bombycis*. L'infestation des papillons chez les lots infestés par *N. bombycis* est irrégulière. La différence globale d'infestation des papillons due à *Nosema* sp. et à *N. bombycis* n'est pas significative ($P = 0,01$).

Présence de *Nosema* sp. chez *B. mori* :

On observe des spores de *Nosema* sp. dans les glandes séricigènes, le tube digestif, les tubes malphigiens, le corps adipeux, l'hémolymph et les tissus du système nerveux des vers à soie. Les spores sont également présentes dans les fibres de soie des cocons filés par les vers à soie infestés. Les spores de *Nosema* sp. peuvent donc se propager dans l'environnement par le déplacement des cocons dans les lots infestés.

Etant donné l'étendue de l'infestation et de la mortalité de *B. mori* après contamination secondaire par *Nosema* sp., des études approfondies sont nécessaires sur le mode d'infestation de cet agent pathogène, la propagation et la viabilité de ses spores dans l'environnement, la sensibilité de différentes races communes et d'hybrides de *B. mori* et celle des insectes associés comme les parasitoïdes et les prédateurs de *B. mori* et les insectes parasites infestant les champs de mûrier, ainsi que l'histologie, la biochimie et l'immunologie de cet agent pathogène, sa répartition géographique et la mise au point de méthodes de détection de prévention et de lutte simplifiées.

GROWTH AND YIELD OF MULBERRY (*MORUS ALBA* L.) AS INFLUENCED BY A COMMERCIAL PLANT GROWTH REGULATOR

A.K. MISRA, B.K. DAS* & M.M. AHSAN

Regional Sericultural Research Station, Kalimpong - 734 301, Darjeeling, West Bengal, India.

Foliar application of Biozyme Crop⁺, a commercial plant growth regulator (PGR), is very effective to favour physiological processes which contribute the yield efficiency of mulberry plants. Application of Biozyme Crop⁺ at 888 ml.ha⁻¹.crop⁻¹ concentration (T₂ treatment) was found to be optimum in causing improvement in the general growth pattern and leaf yield over the control, while T₄ (444 ml.ha⁻¹.crop⁻¹) and T₃ (1,332 ml.ha⁻¹.crop⁻¹) treatments could not exert their effects on the different yield components proportionately. Biochemical analysis with respect to chlorophyll and total minerals revealed that the highest increase was recorded in T₂ whereas the protein, reducing, non-reducing and total sugars were higher in T₃ than in T₁ and T₂ treatments. Application of Biozyme Crop⁺ also raises the possibility of increasing profits by way of leaf yield where T₂ treatment fetched a higher return of Rs. 5,424.49 per ha than that of the control.

Keywords: Mulberry, Biozyme Crop⁺, leaf yield, biochemical analysis.

INTRODUCTION

Plant productivity, to a large extent, depends upon the interaction between the genetic potential of the plants and the environment in which they grow (Mcnon and Srivastava, 1984; Leopold and Kriedman, 1979; Ramadas and Reddy, 1988). The environment normally influences the physiological processes by controlling the yield attributes of the plants. The concept of increasing crop productivity by the use of nutrients appears to have reached a plateau but improvement of the photosynthetic performance seems to have considerable scope for increasing crop yield (Ramadas and Reddy, 1988; Das and Sen, 1988; Venkatarami *et al.*, 1987).

The idea of using photosynthetic improvers in order to increase growth and development of crop plants is not new. In the recent past, significant progress has been achieved in the area of bio-regulation with the discovery of wide-spectrum growth stimulants like plant growth regulators (PGR). Much information has been accumulated in the use of photosynthetic improvers on various physiological processes for increasing the productivity of crop plants, e.g., tea (Maley and Kapur, 1987), rice (Prasad *et al.*, 1991; Debata and Murty, 1981), wheat (Tomar *et al.*, 1991), soybean (Sharma *et al.*, 1987) and different vegetables (Menon and Srivastava, 1984). But knowledge of the use of photosynthetic improvers in boosting up the leaf productivity in mulberry is very scanty. Therefore, an attempt was made to study the potential of Biozyme Crop⁺, a biologically derived plant growth regulator with cytokinin and auxin precursor (a BAS product), and to determine the optimum doses which may be helpful in increasing the leaf productivity of mulberry, the sole food of the silkworm (*Bombyx mori* L.).

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

MATERIALS AND METHODS

The investigation was carried out at the Regional Sericultural Research Station, Kalimpong, from 1990-92. Applications of Biozyme Crop⁺ were made on BC259 mulberry variety. The treatment consisted of three concentrations, i.e., 444 ml.ha⁻¹.crop⁻¹ (T₁), 888 ml.ha⁻¹.crop⁻¹ (T₂) and 1,332 ml.ha⁻¹.crop⁻¹ (T₃) including one control as water spray. Each treatment consisted of five replicates of 20 bushes (8 years old) laid out in randomized block design.

Biozyme Crop⁺ mixed in 0.042% tcepol, a wetting agent, was sprayed in the morning hours with a knap-sack sprayer fitted with an atomizer. The plants received two foliar sprays before each harvest. In all the cases, the recommended plucking system was adopted to harvest the leaves three times per year. Growth parameters and leaf yield were recorded for two years. The assessment of desirable traits, i.e., plant height, leaf and branch number per plant, leaf area and fresh weight of 100 leaves and leaf yield per hectare, were recorded. The leaf area was measured according to the method adopted by Satpathy *et al.* (1992).

Biochemical analysis of fresh leaf samples:

Fresh leaves were collected separately from all treatments for the extraction of chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total chlorophyll, following the method of Arnon (1949). To estimate chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total chlorophyll contents, specific absorption coefficients were used as given by MacKinney (1941) in Spekol spectrophotometer. Constituents such as total minerals, reducing, non-reducing and total sugars were estimated according to AOAC (1960) from powdered leaf samples dried at 60 °C (Fotedar *et al.*, 1989). The nitrogen content was determined by Mikrokjeldahl's method and the crude protein was calculated by multiplying the estimated value of nitrogen content by 6.25.

Observations on the different growth parameters and the results obtained from the chemical analysis were analysed statistically using standard statistical methods.

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of Biozyme Crop⁺ on yield attributes:

The data presented in Table I showed a positive effect of Biozyme Crop⁺ on the general growth pattern of mulberry. The plant shoot height, branch and leaf number per plant were found to be influenced by the treatments, being significantly highest in T₂ treatment ($P > 0.05$). The increase in the shoot length is dependent on water uptake and cell elongation, which are the primary mechanisms responsible for extensive growth of plants. The increase in the number of shoot initials and leaf primordia due to Biozyme Crop⁺ spray may be explained by the fact that kinetin and indole precursors present in this growth formulation always favour the formation of new shoot initials and leaf primordia. Our present findings with mulberry are in strong agreement with the earlier observations where the tiller numbers of rice (Prasad *et al.*, 1991; Debata and Murty, 1981), wheat (Tomar, 1991) and vegetables (Menon and Srivastava, 1984; Srivastava and Menon, 1987) were increased due to the application of PGRs. Similar results were also recorded in brinjal (Sukla and Prabhakar, 1986), tea (Malcy and Kapur, 1987) and groundnut (Kaushik and Jain, 1991).

Effect of Biozyme Crop⁺ on leaf yield:

Mulberry responded well to the Biozyme Crop⁺ application. The fresh weight of 100 leaves was significantly increased by 16.79% in T₂ treatment over the control whereas differences were observed in T₁ and T₃ treatments where only marginal increases of 7.81% and 11.71% were recorded over the water spray application which served as control. When the leaf yield per unit area was taken into consideration it was observed that the increase was to the tune of 26.46% in T₂ over the control. At T₃ concentration only 18.72% increase was recorded whereas in T₁ treatment the crop showed only a marginal increase of 14.90% over the control. The reduction in the leaf yield at low concentration of Biozyme Crop⁺ may probably be due to the dilution effect as the higher the ratio of solvent, the lower will be the concentration of Biozyme Crop⁺ and it might not be able to express its full potential on the physiological activity of crop plants, which ultimately is responsible for the yield (Loknath et Shivashankara, 1986). The high concentration may be toxic and might have not been effective in

translocation of the nutrients as per the growth needs of the crop. Our observation with Biozyme Crop⁺ supports the results of Mishra *et al.* (1988) where a marginal increase in leaf productivity in mulberry has been recorded with higher doses of Cytozyme Crop⁺. Ayyappan *et al.* (1987) also recorded the same results in tea where a low yield was observed at high concentration of triacontanol.

Table I. Effect of different doses of Biozyme Crop⁺ on the yield attributes and leaf yield of mulberry.

Tableau I. Effet de différentes doses du Biozyme Crop⁺ sur les composants du rendement et sur le rendement en feuilles du mûrier.

Treatments	Doses (ml.ha ⁻¹ .crop ⁻¹)	Plant height (cm)	Branch number per plant	Leaf number per plant	Area of 100 leaves (m ²)	Weight of 100 leaves (kg)	Leaf yield (kg.ha ⁻¹ .yr ⁻¹)
Traitements	Doses (ml/ha/récolte)	Hauteur du plant (cm)	Nombre de branches par plant	Nombre de feuilles par plant	Surface de 100 feuilles (m ²)	Poids de 100 feuilles (kg)	Rendement en feuilles (kg/ha/an)
T ₀	C	194.744	4.731	125.070	2.708	0.256	26,091.89
T ₁	444	204.152	5.006	132.713	2.755	0.276	29,980.83
T ₂	888	218.115	5.709	139.757	2.942	0.299	32,995.98
T ₃	1,332	208.762	5.487	132.246	2.222	0.286	30,977.34
Harvest / Récolte							
April-May / Avril-mai	-	158.340	4.204	153.465	3.014	0.463	16,302.07
June-July / Juin-juil.	-	218.506	5.749	117.425	3.065	0.213	6,503.93
Aug.-Sept. / Août-sept.	-	242.507	5.710	126.417	2.365	0.222	7,205.51
CD (P = 0.05) / Intervalle de confiance (P = 0.05)							
Traitement (T) / <i>Treatment (T)</i>		6.421	0.274	NS	NS	NS	539.218
Harvest (H) / <i>Récolte (H)</i>		5.561	0.237	10.869	0.550	0.025	466.976
T × H		11.122	NS	NS	NS	NS	NS

C: Control (water spray) / *Témoin (vaporisation d'eau)*.

NS: Not significant / *Non significatif*.

Effect of Biozyme Crop⁺ on different chemical constituents:

Chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total chlorophyll showed a greater value per unit fresh weight of leaves in T₂ than in the other two treatments (Table II). It can be seen that about 20.55% in total chlorophyll was registered in the plants that received the Biozyme spray at 888 ml.ha⁻¹.crop⁻¹. However, the extent of increase of chlorophyll *a* and chlorophyll *b* was not similar. A non-significant increase in the chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total chlorophyll was observed in all the treatments over the control. In general, enhancement of the chlorophyll *a* content was greater than that of chlorophyll *b*. The effect of kinetin and indole precursors, the two main components of Biozyme Crop⁺ might have contributed to more absorption and translocation of photosynthates, resulting in a greater uptake of nutrients and maintaining better harmony between photosynthates and

Table II. Chemical analysis of mulberry leaves under different treatments of Biozyme Crop⁺.Tableau II. Analyse chimique des feuilles de mûrier en fonction de la dose de Biozyme Crop⁺.

Treatments	Dry matter (%)	Chl a (mg.g ⁻¹ fresh wt.)	Chl b (mg.g ⁻¹ fresh wt.)	Total chlorophyll (mg.g ⁻¹ fresh wt.)	Chl a/ chl b ratio	Protein (%)	Minerals (%)	Reducing sugar (%)	Non reducing sugar (%)	Total sugar (%)
Traitements	Matières sèches (%)	Chl a (mg/g poids frais)	Chl b (mg/g poids frais)	Chlorophylle totale (mg/g poids frais)	Rapport chl a/ chl b	Protéines (%)	Minéraux (%)	Sucres réducteurs (%)	Sucres non réducteurs (%)	Sucres totaux (%)
T ₀	23.682	1.975	1.324	3.299	1.490	22.784	11.200	5.224	9.000	14.224
T ₁	24.373	2.327	1.227	3.544	1.896	23.538	13.200	5.432	8.116	13.548
T ₂	24.988	2.624	1.353	3.977	1.939	23.736	14.000	5.762	7.622	13.384
T ₃	25.515	2.401	1.203	3.631	1.952	26.002	12.800	9.342	7.872	17.214
SEM ±	0.400	0.072	0.018	0.076	0.058	0.454	0.588	0.516	0.253	0.521
CD (P = 0.05)	NS	NS	NS	NS	0.109	1.690	NS	1.757	NS	2.645

T₀: Control (water spray) / Témoin (vaporisation d'eau).T₁: 444 ml.ha⁻¹.crop⁻¹ / 444 ml/ha/récolte.T₂: 888 ml.ha⁻¹.crop⁻¹ / 888 ml/ha/récolte.T₃: 1,332 ml.ha⁻¹.crop⁻¹ / 1,332 ml/ha/récolte.

SEM: Standard error of the mean / Ecart type de la moyenne.

NS: Not significant / Non significatif.

translocations, which might have resulted in a higher crop yield. The greater the chlorophyll content, the higher is the rate of photosynthesis which enhances the leaf yield by increasing the leaf area index (Watson, 1952). The increase in leaf area by Biozyme Crop⁺ also supports this contention. The enhancement of dry weight (%) by Biozyme application is mostly due to the greater accumulation of carbon compounds through photosynthesis (Table II). Greater intake of CO₂ through stomatal opening in the leaves by kinetin application has been reported by Meidner (1987) in barley leaves. This is accompanied by reduced photorespiration (a catabolic process by which the plant releases CO₂ in the presence of light at the cost of photosynthesis). That plant growth regulators reduce the photorespiratory activity in several plants has been well established (Menon and Srivastava, 1984).

The data presented in Table II showed that Biozyme improved the protein content of the leaves, the maximum being obtained in T₃ treatment whereas the mineral percentage was higher in T₂ treatment. Total sugar also showed an increasing trend but the content of reducing sugar remained more or less unaffected by Biozyme application. Sharma *et al.* (1987) showed a favourable response of Biozyme Crop⁺ on protein and free amino acid, oil yield and soybean plants as compared to Paras,

Table III. Assessment of cost:benefits of mulberry leaf yield under different treatments of Biozyme Crop⁺.

Tableau III. Evaluation des coûts et bénéfices du rendement en feuilles en fonction de différents traitements avec le Biozyme Crop⁺.

Treatment	Leaf yield (kg.ha ⁻¹ .yr ⁻¹)	Increase of leaf yield (kg) over control	Per cent increase over control	Cost of leaf per kg (Re)	Cost of leaf (Rs)	Additional expenditure over control (Rs)	Net monetary return (Rs)
Traitement	Rendement en feuilles (kg/ha/an)	Augmentation du rendement (kg) par rapport au témoin	Pourcentage d'augmentation par rapport au témoin	Prix d'un kg de feuilles (Re)	Prix des feuilles (Rs)	Dépenses liées au traitement (Rs)	Revenu net (Rs)
T ₀	26,091.89	-	-	1.00	-	-	-
T ₁	29,980.83	3,888.94	14.904	1.00	3,888.94	876.66	3,012.28
T ₂	32,995.98	6,904.09	26.460	1.00	6,904.09	1,479.60	5,424.49
T ₃	30,977.34	4,885.45	18.724	1.00	4,885.45	2,080.28	2,805.17

Details of protocol:

Cost of Biozyme Crop⁺: Rs. 451.98 per litre.
 Requirement of chemical: 1.332 l, 2.664 l and 3.996 l per ha per year.
 Frequency of application before each harvest: two.
 Man-days required: 2 man-days/spray.
 Labour wages: Rs 22.81/labour/day.
 Cost of leaves per kg: Re 1.00

Base de calcul :

Coût du Biozyme Crop⁺ : Rs. 451,98 par litre.
 Quantités de produit nécessaires : 1,332 l, 2,664 l et 3,996 l par ha/an.
 Fréquence d'application avant chaque récolte : deux fois.
 Journées de travail : deux/traitement.
 Salaire : Rs 22,81/application/jour.
 Prix d'un kg de feuilles : Re. 1,00.

Dhanuman and Atonic (all are TRIA- products, a long, straight chain, primary alcohol containing C-24 to C-30 carbon compound, marketed by Godrej Soap). Kadam *et al.* (1988) also recorded an improvement in the soluble protein content and increase in nitrate reductase activity in rice by foliar application of Vipul (also a triacontanol-based product, i.e., 1-hydroxytriacontane, marketed by Godrej Soap).

Cost-benefit ratio:

It can be seen from Table III that Biozyme Crop⁺ application @ 888 ml.ha⁻¹.crop⁻¹ (T₂ treatment) gave the highest leaf yield as compared to the control and other treatments. It gave 6,904 kg more leaf yield over the control. The cost of chemicals and labour comes to Rs. 1,479.60 (i.e., cost of the chemical Rs. 1,205.88 + labour cost Rs. 273.72). This shows that by investing a sum of Rs. 1,479.60, we get 6,904.00 kg more leaf yield and if we take the cost of kg leaves as Re. 1.00, a sum of Rs. 6,904.00 can be obtained in the form of leaves. Therefore, the net return will be Rs. 5,424.49 or we may say that the cost-benefit ratio due to Biozyme Crop⁺ application will be 1:4.67.

Thus it may be concluded that foliar application of Biozyme Crop⁺ @ 888 ml.ha⁻¹.crop⁻¹ can be rewarding since it increases the quality of leaf production of mulberry and fetched a higher monetary return than that of the untreated control.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thankfully acknowledge the Assistant Director, Plant Physiology Section, and Deputy Director, Agronomy Section, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, for rendering necessary help in biochemical analysis and to Sri Asit Kumar Saha for his assistance during the preparation of the manuscript.

REFERENCES

- AOAC (1960) Methods of analysis. In Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 9th edition, p. 77, pp. 87-160. Publ. by Association of Agricultural Chemists, Washington D.C.
- ARNON D.I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol., 24, 1-15.
- AYYAPPAN P., RAJKUMAR R., KRISHNAMOORTHY K.K. (1987) Effect of Vipul on clonal and seedling teas. The Planters' Chronicle, Crop Productivity, 11, 314-418.
- DAS B.K., SEN S.P. (1988) Effect of plant growth substances on photosynthesis and photorespiration of source and sink organs. In Proc. Int. Cong. Plant Physiol., Feb. 15-20, p. 117.
- DEBATA A., MURTY K.S. (1981) Effect of growth regulating substance on leaf senescence in rice. Indian J. Expt. Biol., 19, 986.
- FOTEDAR R.K., AHSAN M.M., DHAR K.L., BHAKUNI B.S. (1989) Evaluation and utilization of genetic variability in mulberry. Indian J. Seric., 28, 150-158.
- KADAM N.D., PATIL N.D., CHOUGULE B.A., KADAM S.S. (1988) Effect of foliar application of Vipul on yield, soluble proteins and nitrate reductase activity in spinach. Indian J. Plant Physiol., 31, 123-125.
- KAUSHIK M.K., JAIN C.L. (1991) Effect of growth regulators, soil conditions and phosphorus on production and nutrient uptake of summer groundnut (*Arachis hypogea*). Indian J. Agron., 36, 405-407.
- LEOPOLD A.C., KRIEDMAN P.E. (1988) In Plant Growth and Development. TMH Edition, New Delhi.
- LOKNATH R., SHIVASHANKARA K. (1986) Effect of foliar application of micronutrients on the growth, yield and quality of mulberry (*Morus alba* L.). Indian J. Seric., 25, 1-5.
- MACKINNEY G. (1941) Absorption of light by chlorophyll solution. J. Biol. Chem., 140, 315-322.

- MALEY S.R., KAPUR P. (1987) Increasing productivity in tea (*Comellia sinensis* L.). In Crop Productivity. H.C. Srivastava, S. Bhaskaran and K.K.G. Menon Editors, Oxford & IBH Publishing Co. Ltd., New Delhi, Bombay, Calcutta, pp. 209-214.
- MEIDNER H. (1967) Effect of kintin on stomatal opening and the rate of intake of CO₂ in mature primary leaves of barley. J. Expt. Bot., 18, 556-561.
- MENON K.K.G., SRIVASTAVA H.C. (1984) Increasing plant productivity through improved photosynthesis. Proc. Nat. Acad. Sci. (Plant Science), 93, 359-378.
- MISHRA R.K., CHAUDHURI P.C., GHOSE A. (1988) Prospects of commercial growth promoters and micronutrients formulation in mulberry. Newsletter, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, 3, p. 8.
- PRASAD M., PRASAD R., SHARMA S.N., SINGH S. (1991) Effect of triacontanol on rice growth and yield. Indian J. Agron., 36, 75-77.
- RAMADAS V.S.S., REDDY A.R. (1988) Photosynthetic productivity in field crops, a review. Plant Physiology and Biochemistry, 15, 1-17.
- SHARMA R., SINGH G., GANESHAN K.P., KAUL G., RAHEJA R.K. (1987) Yield improvement in soybean by foliar application of some commercial growth regulators. Indian Agric., 34, 79-82.
- SATPATHY B., SHIVNATH, RAO K.M., GHOSE P.L., NAIR B.P. (1992) An easy and rapid method of leaf area estimation in white mulberry. Indian J. Agric. Sci., 62, 489-491.
- SRIVASTAVA H.C., MENON K.K.G. (1987) Mixtalol, a new growth regulator for increasing crop productivity. In Crop Productivity. H.C. Srivastava, S. Bhaskaran and K.K.G. Menon Editors, Oxford & IBH Publishing Co. Ltd., New Delhi, Bombay, Calcutta, pp. 43-55.
- SUKLA V., PRABHAKAR B.S. (1986) Effect of mixtalol on production potential of brinjal. Indian J. Horticulture, 105-107.
- TOMAR V.P.S., SINGH G.D., KESHWAS G.L. (1991) Effect of plant growth chemicals on morpho-physiological characters of late sown wheat. Indian J. Agron., 36, 7-11.
- VENKATARAMIS., SRIVASTAVA S., MENON K.K.G. (1987) Effect of mixtalol on physiological aspects of plant growth. Plant Physiology and Biochemistry, 14, 28-35.
- WATSON D.J. (1952) The physiological basis of variation in yield. Adv. Agron., 4, 101-145.

EFFET SUR LA CROISSANCE ET LE RENDEMENT DU MURIER (*MORUS ALBA* L.) D'UN REGULATEUR DE CROISSANCE DES PLANTES COMMERCIALISE

A.K. MISRA, B.K. DAS & M.M. AHSAN

Regional Sericultural Research Station, Kalimpong - 734301, Darjeeling, West Bengal, Inde.

L'application foliaire de Biozyme Crop⁺, un régulateur de croissance des plantes commercialisé, favorise nettement les processus physiologiques contribuant au rendement des plants de mûrier. L'application de Biozyme Crop⁺ à la concentration de 888 ml/ha/récolte donne une amélioration optimale de la croissance générale et du rendement en feuilles ; en revanche, les traitements T₁ (444 ml/ha/récolte) et T₃ (1 332 ml/ha/récolte) n'ont pas d'effets proportionnellement significatifs sur les différents composants du rendement. L'analyse biochimique révèle que l'augmentation des contenus en chlorophylle et en minéraux totaux est maximale avec le traitement T₂, tandis que les contenus en protéines, en sucres réducteurs, en sucres non réducteurs et en sucres totaux sont supérieurs chez le traitement T₃ à ceux obtenus avec les traitements T₁ et T₂. L'application de Biozyme Crop⁺ offre également la possibilité d'accroître les revenus liés au rendement, le traitement T₂ donnant un gain supérieur de 5 424,49 roupies par hectare par rapport au témoin.

INTRODUCTION

La productivité des plantes dépend, dans une large mesure, de l'interaction entre leur potentiel génétique et l'environnement dans lequel elles sont cultivées (Menon et Srivastava, 1984 ; Leopold et Kriedman, 1979 ; Ramadas et Reddy, 1988). L'environnement influence normalement les processus physiologiques en contrôlant les composants du rendement des plantes. Il semble que le concept de l'augmentation de la productivité d'une culture par l'apport de nutriments ait atteint un palier mais l'amélioration des performances de la photosynthèse pourrait élargir les possibilités d'accroissement du rendement chez une culture donnée (Ramadas et Reddy, 1988 ; Das et Sen, 1988 ; Venkatarami et coll., 1987).

L'idée d'utiliser des stimulants de photosynthèse afin d'augmenter la croissance et le développement des plantes cultivées n'est pas nouvelle. Ces dernières années, des progrès significatifs ont été accomplis dans le domaine de la régulation biologique avec la découverte des accélérateurs de croissance à large spectre comme les régulateurs de croissance. De nombreuses informations ont été recueillies sur l'utilisation des stimulants de photosynthèse et leur effet sur divers processus physiologiques afin d'accroître la productivité des plantes cultivées, comme le thé (Maley et Kapur, 1987), le riz (Prasad et coll., 1991 ; Debata et Murty, 1981), le blé (Tomar et coll., 1991), le soja (Sharma et coll., 1987) et différents légumes (Menon et Srivastava, 1984). Cependant, les effets des stimulants de photosynthèse sur l'amélioration de la productivité foliaire chez le mûrier sont peu connus. Nous avons donc entrepris une étude sur le potentiel de Biozyme Crop⁺, un régulateur de croissance des plantes dérivé biologiquement de précurseurs de cytokinine et d'auxine (produit BAS), afin de déterminer les doses optimales pour augmenter la productivité du mûrier, seule nourriture du ver à soie (*Bombyx mori* L.).

MATERIELS ET METHODES

Les expériences ont été réalisées à la *Regional Sericultural Research Station* de Kalimpong de 1990 à 1992. Le Biozyme Crop⁺ a été testé sur la variété de mûrier BC259. Les traitements comportent trois concentrations, 444 ml/ha/récolte (T₁), 888 ml/ha/récolte (T₂) et 1 332 ml/ha/récolte (T₃), ainsi qu'un témoin traité à l'eau. Chaque traitement comprend cinq réplicats de 20 arbustes (âgés de 8 ans) répartis selon la méthode des blocs aléatoires.

Le Biozyme Crop⁺, mélangé à 0,042 % de teepol, un agent humidifiant, a été vaporisé le matin à l'aide d'un pulvérisateur à dos. Les plants ont reçu deux vaporisations foliaires avant chaque récolte. Dans tous les cas, les feuilles ont été cueillies manuellement, selon la méthode standard, trois fois par an. Les paramètres de croissance et le rendement en feuilles ont été relevés sur deux années. Les caractères recherchés, hauteur du plant, nombre de feuilles et de branches par plant, surface foliaire et poids frais de 100 feuilles, et rendement en feuilles par hectare ont été évalués. La surface foliaire a été mesurée d'après la méthode adoptée par Satpathy et coll. (1992).

Analyse biochimique des échantillons de feuilles fraîches :

Des feuilles fraîches ont été prélevées individuellement sur chaque traitement afin d'en extraire la chlorophylle *a*, la chlorophylle *b* et la chlorophylle totale suivant la méthode d'Arnon (1949). Pour évaluer les teneurs en chlorophylle *a*, en chlorophylle *b* et en chlorophylle totale, les coefficients d'absorption spécifiques donnés par MacKinney (1941) ont été utilisés dans un spectrophotomètre Spekol. Les composants comme les minéraux totaux, les sucres réducteurs, les sucres non réducteurs et les sucres totaux ont été évalués selon la méthode de l'AOAC (1960) à partir d'échantillons de feuilles pulvérisées séchées à 60 °C (Fotedar et coll., 1989). Le contenu en azote a été déterminé d'après la méthode de Mikrokjeldahl et la teneur en protéines brutes a été calculée en multipliant par 6,25 la valeur mesurée pour le contenu en azote.

Les observations sur les différents paramètres de croissance et les résultats obtenus par l'analyse biochimique ont été analysés selon les méthodes statistiques standard.

RESULTATS ET DISCUSSION

Effet du Biozyme Crop⁺ sur les attributs du rendement :

Les données présentées dans le tableau I montrent que le Biozyme Crop⁺ a un effet positif sur les courbes de croissance générales du mûrier. Les traitements ont une influence sur la hauteur du plant et le nombre de branches et de feuilles par plant, avec une augmentation maximale et significative pour le traitement T₂ ($P > 0,05$). L'augmentation de la longueur de la pousse dépend de l'apport en eau et de l'allongement des cellules qui sont les principaux mécanismes responsables de la croissance des plantes. L'augmentation du nombre d'initiales de pousses et de primordiums foliaires après traitement au Biozyme Crop⁺ peut s'expliquer par le fait que la kinétine et l'indole, précurseurs présents dans la formule, favorisent toujours la formation de nouvelles initiales de pousses et de nouveaux primordiums foliaires. Les résultats obtenus ici sur le mûrier corroborent fortement les observations faites précédemment démontrant que le nombre de tiges chez le riz (Prasad et coll., 1991 ; Debata et Murty, 1981), chez le blé (Tomar, 1991) et chez les légumes (Menon et Srivastava, 1984 ; Srivastava et Menon, 1987) augmente après application de régulateurs de croissance des plantes. Des résultats similaires ont été obtenus chez l'aubergine (Sukla et Prabhakar, 1986), le thé (Maley et Kapur, 1987) et l'arachide (Kaushik et Jain, 1991).

Effet du Biozyme Crop⁺ sur le rendement en feuilles :

Le mûrier réagit bien à l'application de Biozyme Crop⁺. Le poids frais de 100 feuilles présente une augmentation significative par rapport au témoin de 16,79 % chez le traitement T₂ tandis que des différences apparaissent chez les traitements T₁ et T₃ qui donnent des augmentations marginales de 7,81 % et de 11,71 % par rapport au lot témoin traité à l'eau. Pour ce qui concerne le rendement en feuilles par unité de surface, l'augmentation est de l'ordre de 26,46 % chez T₂ par rapport au témoin. A la concentration T₃, l'augmentation ne dépasse pas 18,72 % et, à la concentration T₃, on observe une augmentation marginale de 14,90 % par rapport au témoin. La diminution du rendement en feuilles

observée chez les lots traités avec une concentration faible de Biozyme Crop⁺ pourrait être due à l'effet de dilution car le fait que le taux de solvant soit élevé entraîne une réduction de la concentration de Biozyme Crop⁺ et inhibe la pleine expression de son potentiel sur l'activité physiologique qui gouverne le rendement chez les plantes cultivées (Loknath et Shivashankara, 1986). La concentration forte pourrait être toxique et inefficace pour la translocation des nutriments nécessaires à la croissance du mûrier. Les résultats que nous avons obtenus avec le Biozyme Crop⁺ confirment ceux de Mishra et coll. (1988) qui ont observé une augmentation faible de la productivité de feuilles chez le mûrier après application de Cytozyme Crop⁺. Ayyappan et coll. (1987) ont obtenu des résultats identiques chez le thé chez lequel ils ont observé un rendement faible après application d'une concentration élevée de triacontanol.

Effet du Biozyme Crop⁺ sur différents composants chimiques :

La chlorophylle *a*, la chlorophylle *b* et la chlorophylle totale donnent des valeurs supérieures par unité de poids frais de feuilles chez T₂ à celles obtenues pour les deux autres traitements (Tableau II). La vaporisation de Biozyme à 888 ml/ha/récolte donne une augmentation d'environ 20,55% de la chlorophylle totale. Cependant, l'amplitude d'augmentation de la chlorophylle *a* et de la chlorophylle *b* est différente. Une augmentation non significative par rapport au témoin des teneurs en chlorophylle *a*, en chlorophylle *b* et en chlorophylle totale a été observée chez tous les traitements. De manière générale, l'augmentation de la teneur en chlorophylle *a* est supérieure à celle obtenue pour la chlorophylle *b*. Il se peut que l'effet de la kinétine et de l'indole, précurseurs et composants majeurs du Biozyme Crop⁺, ait contribué à l'augmentation de l'absorption et de la translocation des photosynthats, se traduisant par une ingestion plus élevée de nutriments et le maintien d'un meilleur équilibre entre les photosynthats et la translocation, d'où une augmentation du rendement. La teneur en chlorophylle est directement proportionnelle au taux de photosynthèse qui favorise le rendement en feuilles en augmentant l'indice de la surface foliaire (Watson, 1952). L'augmentation de la surface foliaire obtenue après application de Biozyme Crop⁺ corrobore cette affirmation. L'augmentation du poids sec (en %) après application de Biozyme est principalement due à une accumulation importante de composés carboniques par photosynthèse (Tableau II). Meidner (1987) a observé que l'entrée de CO₂ par les ouvertures des stomates est plus importante chez les feuilles d'orge après application de kinétine ; ceci s'accompagne d'une réduction de la photorespiration (processus catabolique par lequel la plante libère le CO₂ sous l'effet de la lumière aux dépens de la photosynthèse). Il a été démontré que les régulateurs de croissance des plantes diminuent la photorespiration chez plusieurs plantes (Menon et Srivastava, 1984).

Les données présentées dans le tableau II montrent que le Biozyme améliore le contenu en protéines des plantes, l'effet maximal étant obtenu avec le traitement T₃ alors que le pourcentage en minéraux est supérieur avec le traitement T₂. Les sucres totaux présentent également une tendance à l'augmentation mais l'application de Biozyme n'a pratiquement pas d'effet sur la teneur en sucres réducteurs. Sharma et coll. (1987) ont démontré l'action positive du Biozyme Crop⁺ sur les teneurs en protéines et en acides aminés libres et sur le rendement en huile des plants de soja par rapport au Paras, au Dhanuman et à l'Atonic (produits à base de triacontanol formés d'un alcool primaire à longue chaîne droite contenant les composés carboniques C₂₄ à C₃₀ et commercialisés par Godrej Soap). Kadam et coll. (1988) ont également observé une amélioration du contenu en protéines solubles et une augmentation de l'activité nitrate réductase chez le riz après application foliaire de Vipul (produit à base de triacontanol composé de 1-hydroxytriacontane et commercialisé par Godrej Soap).

Analyse des coûts et rendements :

Le tableau III montre que l'application de Biozyme Crop⁺ à raison de 888 ml/ha/récolte (traitement T₂) donne le rendement en feuilles le plus élevé par rapport au témoin et aux autres traitements, soit une augmentation de 6 904 kg par rapport au témoin. Le coût des produits chimiques et de la main d'œuvre s'élève à 1 479,60 roupies (1 205,88 roupies pour les produits chimiques et 273,72 roupies pour la main d'œuvre). Ceci montre qu'en investissant une somme de 1 479,60 roupies, on obtient une augmentation de 6 904 kg du rendement en feuilles. Si l'on considère qu'un kg de feuilles représente 1 roupie, on obtient un revenu total de 6 904 roupies. Le profit net sera de 5 424,49 roupies, l'indice de rendement sera donc de 1:4,67.

On peut en conclure que l'application foliaire de Biozyme Crop⁺ à raison de 888 ml/ha/récolte est rentable puisqu'elle entraîne une augmentation de la qualité de la production foliaire chez le mûrier et des revenus financiers supérieurs par rapport au témoin non traité.

EVALUATION OF GAS-EXCHANGE PARAMETERS IN SOME MULBERRY GENOTYPES

B.K. DAS^{*2}, S. CHATTOPADHYAY², A.K. MISRA¹, C. DAS² & M.M. AHSAN¹

1. Regional Sericultural Research Station, Kalimpong - 734 301, Darjeeling, West Bengal, India.
2. Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, Murshidabad, West Bengal, India.

*It is still elusive what gas-exchange parameter(s) might be a suitable indicator(s) in a mulberry breeding programme for better yield potential or physiologically which variety is the most efficient for a particular environmental condition. Therefore, an experiment was conducted to characterize the exchange in important gas-exchange parameters, i.e., stomatal conductance, stomatal resistance, net photosynthesis rate, intercellular CO₂ concentration and physiological water use efficiency (PWUE) in the third, fifth and seventh leaves from the top of five different mulberry genotypes, namely, *Morus indica* (local), BC₂59, China White, Tr-10 and Kosen, recommended for the temperate regions of India. Among the tested genotypes, the net photosynthesis rate was positively correlated with stomatal resistance. On the other hand, no such correlations were found between the gas-exchange parameters with the intercellular CO₂ concentration. The PWUE did not vary with the maturity of the leaves (except Kosen) in a particular species while the net photosynthesis rate varied considerably. It appeared that Tr-10 was photosynthetically most active while stomatal resistance and PWUE were minimum. Thus, Tr-10 may be the superior genotype for the rainfed intermittent water stress conditions of temperate hills.*

Keywords: Mulberry genotypes, stomatal conductance, stomatal resistance, physiological water use efficiency (PWUE).

INTRODUCTION

Mulberry, the sole food plant of the silkworm (*Bombyx mori*), is still cultivated as a rainfed crop, particularly in the temperate regions of India. Inadequate water supply and depleting ground water level are the major constraints for further spread of the silk industry in the temperate parts of eastern India. On the other hand, the importance of plant water for the maintenance of turgidity required for plant growth and/or survival is widely recognized (Levit, 1972; Aspinall and Paleg, 1981). Among them stomatal conductance and photosynthesis have long been recognized as important gas-exchange parameters which determine the leaf yield of a crop subjected to intermittent water stress during its life time (Ludlow, 1980). It would greatly aid the plant breeding process if a physiologically based indicator could be found, so that the breeders could use it as a selection tool in a large segregating population or to screen potential parental lines in future (Blum, 1985; Winter *et al.*, 1988). Hence, a study was undertaken to characterize the cultivar variations of different gas-exchange parameters, i.e., stomatal conductance, stomatal resistance, net photosynthesis rate, intercellular CO₂ concentration and physiological water use efficiency (PWUE), in five temperate mulberry genotypes.

* Corresponding author.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials:

Five mulberry genotypes (BC₂59, China White, Tr-10, *M. indica* and Kosen) were planted in 1990 at the experimental field of the Regional Sericultural Research Station, Kalimpong. For plantation pits (45 cm × 45 cm × 45 cm) were used with the optimum spacing of Krishnaswami (1979) under natural rainfed conditions.

Gas-exchange measurements:

Gas-exchange measurements were made using a LI-COR 6200 portable photosynthesis system (LI-COR Inc., Lincoln, Nebraska, USA) with a 250 ml leaf cuvette. The middle portion of the third, fifth and seventh leaves from the top of the main shoot were used for each set of measurements. The photosynthetic photon flux density (PPFD) levels at the site of measurements were 1700 to 1990 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ with an air temperature and relative humidity of $32 \pm 1^\circ\text{C}$ and 54-58%, respectively. All measurements were taken simultaneously between 12:00 and 13:00 h. The PWUE was defined as the ratio of net photosynthesis rate to stomatal conductance.

RESULTS AND DISCUSSION

Net photosynthesis rate and intercellular CO₂ concentration:

Photosynthetic rates differed significantly among the five tested genotypes (Table I). The rate of photosynthesis was maximum in the fifth leaves of Tr-10 while the rate in Kosen was the least, being

Table I. Net photosynthesis rate and internal CO₂ concentration of some temperate mulberry varieties.

Tableau I. Taux de photosynthèse nette et concentration interne en CO₂ de certaines variétés de mûrier tempérées.

Mulberry varieties <i>Variétés de mûrier</i>	Leaf position / <i>Position de la feuille</i>		
	3rd / <i>3e</i>	5th / <i>5e</i>	7th / <i>7e</i>
Net photosynthesis rate ($\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) / <i>Taux de photosynthèse nette</i> ($\mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{s}$) :			
<i>M. indica</i>	4.13 $\pm$ 0.23	4.98 $\pm$ 0.25	5.93 $\pm$ 0.24
BC ₂ 59	5.41 $\pm$ 0.24	7.51 $\pm$ 0.39	6.23 $\pm$ 0.23
Tr-10	9.99 $\pm$ 1.14	12.09 $\pm$ 1.96	6.90 $\pm$ 0.44
Kosen	3.02 $\pm$ 0.14	3.65 $\pm$ 0.16	9.48 $\pm$ 0.48
China White	9.09 $\pm$ 0.35	7.89 $\pm$ 0.46	4.14 $\pm$ 0.17
Intercellular CO ₂ concentration (ppm) / <i>Concentration intercellulaire en CO₂</i> (ppm) :			
<i>M. indica</i>	238.90 $\pm$ 7.3	226.10 $\pm$ 6.3	244.50 $\pm$ 10.4
BC ₂ 59	237.90 $\pm$ 10.0	229.90 $\pm$ 12.7	242.10 $\pm$ 8.3
Tr-10	235.40 $\pm$ 12.1	247.70 $\pm$ 23.1	250.80 $\pm$ 11.5
Kosen	197.20 $\pm$ 5.9	195.70 $\pm$ 3.7	235.70 $\pm$ 14.6
China White	221.10 $\pm$ 9.5	228.90 $\pm$ 15.6	229.50 $\pm$ 4.7

Each value is the mean of three individual measurements with three replications $\pm$ standard error.

Chaque valeur représente la moyenne de trois mesures individuelles de trois réplicats $\pm$ écart type.

3.3 fold lower than in Tr-10. A similar type of genotypic variation of photosynthetic activity in different bean genotypes was reported by Chaisompongpan *et al.* (1990). However, no such trend was observed in respect of leaf positions. On the other hand, although the intercellular CO₂ concentration was also maximum in Tr-10 and minimum in Kosen, no significant variation of CO₂ level was recorded in most of the genotypes.

Stomatal conductance and stomatal resistance to CO₂:

Tr-10 had the maximum rate of stomatal conductance in the fifth position of leaf, which was 8.0 fold greater than that of Kosen (Table II). A strong negative correlation was found between the stomatal conductance and stomatal resistance in all the mulberry genotypes. Genotypic variation of stomatal conductance and diffusive resistance of different crops have been reported by several workers (Boyer, 1970; Quarrie and Jones, 1979). Stomatal conductance and stomatal resistance may be used as promising physiological screening parameters for advanced lines in mulberry.

Table II. Stomatal conductance and stomatal resistance of some temperate mulberry varieties.

Tableau II. Conductance et résistance des stomates de certaines variétés de mûrier tempérées.

Mulberry varieties Variétés de mûrier	Leaf position / Position de la feuille		
	3rd / 3e	5th / 5e	7th / 7e
Stomatal conductance (mol H ₂ O.m ⁻² .s ⁻¹) / Conductance des stomates (mol H ₂ O/m ² /s) :			
<i>M. indica</i>	0.108 ± 0.004	0.126 ± 0.003	0.159 ± 0.009
BC ₂ 59	0.159 ± 0.005	0.203 ± 0.009	0.171 ± 0.007
Tr-10	0.451 ± 0.009	0.544 ± 0.038	0.288 ± 0.015
Kosen	0.041 ± 0.015	0.068 ± 0.001	0.166 ± 0.009
China White	0.231 ± 0.004	0.211 ± 0.015	0.171 ± 0.007
Stomatal resistance (s.cm ⁻¹) / Résistance des stomates (s/cm) :			
<i>M. indica</i>	3.16 ± 0.13	2.76 ± 0.06	2.21 ± 0.13
BC ₂ 59	2.19 ± 0.07	1.73 ± 0.07	2.04 ± 0.08
Tr-10	0.77 ± 0.01	0.65 ± 0.04	1.22 ± 0.06
Kosen	8.48 ± 0.33	5.11 ± 0.05	2.12 ± 0.11
China White	1.51 ± 0.02	1.66 ± 0.11	3.71 ± 0.08

Each value is the mean of three individual measurements with three replications ± standard error.

Chaque valeur représente la moyenne de trois mesures individuelles de trois réplicats ± écart type.

Physiological water use efficiency (PWUE):

The PWUE was defined in these experiments as the ratio of net photosynthesis rate to stomatal conductance rather than the transpiration rate as considered by Farquhar and Sharkey (1982). The PWUE was found maximum in Kosen while it was minimum in Tr-10 (Table III). Significant genotypic differences were observed for PWUE in mulberry. It has been previously reported in wheat that the genotypes having a higher water use efficiency (WUE) showed more susceptibility to water deficit (Farquhar and Richards, 1984). In these experiments, with the change of leaf position the

PWUE did not alter significantly, as observed in the case of net photosynthesis (Table I) and stomatal conductance and PWUE in the fifth and seventh leaf positions of the tested genotypes, except China White.

Table III. Physiological water use efficiency (PWUE) of some temperate mulberry varieties.

Tableau III. Efficacité d'utilisation de l'eau physiologique (PWUE) de certaines variétés de mûrier tempérées.

Mulberry varieties <i>Variétés de mûrier</i>	Leaf position / <i>Position de la feuille</i>		
	3rd / <i>3e</i>	5th / <i>5e</i>	7th / <i>7e</i>
PWUE ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$):			
<i>M. indica</i>	38.29 $\pm$ 0.72	39.41 $\pm$ 1.19	37.41 $\pm$ 0.97
BC ₂ 59	33.98 $\pm$ 0.60	35.25 $\pm$ 1.06	38.66 $\pm$ 0.42
Tr-10	22.09 $\pm$ 1.03	22.18 $\pm$ 0.87	23.97 $\pm$ 0.52
Kosen	73.95 $\pm$ 6.39	53.68 $\pm$ 2.01	57.28 $\pm$ 1.05
China White	39.29 $\pm$ 1.08	37.42 $\pm$ 0.90	44.06 $\pm$ 1.14

Each value is the mean of three individual measurements with three replications $\pm$ standard error.

Chaque valeur représente la moyenne de trois mesures individuelles de trois réplicats $\pm$ écart type.

It has been reported that intermittent water deficit in rainfed conditions can reduce the photosynthesis by the closure of stomata (Kramer, 1983; Irigoyen *et al.*, 1992). Our results suggested that in respect of gas-exchange parameters, Tr-10 was the best choice for intermittent water-stressed and rainfed cultivation of temperate mulberry species. Secondly, the net photosynthesis rate and PWUE did not work as physiological screening parameters for selection of suitable genotypes in rainfed conditions because they could not show any genotypic differences. Stomatal conductance and resistance showed a distinct variation not only among the tested genotypes but also within the different leaves of a genotype. Thus, the latter parameters are suitable for screening mulberry genotypes in temperate rainfed conditions.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their deep sense of gratitude to Prof. S.P. Sen, FNA, Department of Botany, Kalyani University, for his helpful suggestions and perusal of the manuscript. They are also grateful to Dr N. Ghosh Hazra, Project Manager, Darjeeling Tea Research Centre, Kurseong, for generously providing the laboratory facilities and Sri S.E. Kabir, SRA, for helping in LI-COR Photosynthesizer. Thanks are due to Sri Asit Kumar Saha for typing the manuscript.

REFERENCES

ASPINALL D., PALEG L.G. (1981) The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants. Academic Press, New York.

- BOYER J.S. (1970) Differing sensitivity of photosynthesis to low leaf water potential in corn and sorghum. *Plant Physiol.*, 46, 236-239.
- BLUM A. (1985) Breeding crop varieties for stress environment. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.*, 2, 199-238.
- CHAISSOMPONGPAN N., LI P.H., DAVIS D.W., MARKHART A.H. (1990) Photosynthetic responses to heat stress in common bean genotypes differing in heat acclimation potential. *Crop Sci.*, 30, 100-104.
- FARQUHAR G.D., SHARKEY T.D. (1982) Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 33, 317-345.
- FARQUHAR G.D., RICHARDS R.A. (1984) Isotopic compositions of plant carbon: correlation with water use efficiency of wheat genotypes. *Aus. J. Plant Physiol.*, 11, 539-552.
- IRIGOYEN J.J., EMERICH D.W., SANCHES DIAZ M. (1992) Alfalfa senescence induced by drought stress: lipid peroxidation and ethylene evolution. *Physiol. Plant*, 84, 67-72.
- KRAMER P.I. (1983) *Water Relations of Plants*. Academic Press, New York, pp. 360-364.
- KRISHNASWAMI S. (1978) Mulberry cultivation in South India. *Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India, Bull. no. 1*.
- LEVIT J. (1972) *Responses of Plants to Environmental Stress*. Academic Press, New York.
- LUDLOW M.M. (1980) Adaptive significance of stomatal resistance to water stress. *In* *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*. pp. 123-128. N.C. Turner and P.J. Kramer Editors. Wiley International, New York.
- QUARRIE S.A., JONES H.G. (1979) Genotypic variation in leaf water potential, stomatal conductance and abscisic acid concentration in spring wheat subjected to artificial drought stress. *Ann. Bot.*, 44(3), 323-332.
- WINTER S.R., MUSICK J.T., PORTER K.B. (1988) Evaluation of screening techniques for breeding drought-resistant winter wheat. *Crop Sci.*, 28, 512-516.

EVALUATION DES PARAMETRES LIES AUX ECHANGES GAZEUX CHEZ CERTAINS GENOTYPES DE MURIER

B.K. DAS^{*2}, S. CHATTOPADHYAY², A.K. MISRA¹, C. DAS² & M.M. AHSAN¹

1. Regional Sericultural Research Station, Kalimpong - 734 301, Darjeeling, West Bengal, Inde.
2. Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742 101, Murshidabad, West Bengal, Inde.

*On connaît encore mal les paramètres liés aux échanges gazeux susceptibles de servir d'indicateur(s) dans un programme de sélection du mûrier visant à obtenir un meilleur potentiel de rendement ou quelle variété est la plus appropriée à un milieu donné. Une expérience a donc été réalisée afin de caractériser les échanges pour les paramètres importants liés aux échanges gazeux, c'est-à-dire la conductance et la résistance des stomates, le taux net de photosynthèse, la concentration intracellulaire en CO₂ et l'efficacité d'utilisation physiologique de l'eau, en utilisant les feuilles en 3e, 5e et 7e position chez cinq génotypes différents de mûrier recommandés pour les régions tempérées d'Inde : *M. indica* (variété locale), BC259, China White, Tr-10 et Kosen. Le taux net de photosynthèse est corrélé positivement avec la conductance des stomates et plus ou moins négativement avec la résistance des stomates chez les génotypes testés. Par ailleurs, aucune corrélation n'a été observée entre les paramètres d'échanges gazeux et la concentration intracellulaire en CO₂. L'efficacité d'utilisation physiologique de l'eau ne varie pas en fonction de la maturité des feuilles (sauf chez Kosen) pour une espèce donnée, tandis que la variation du taux net de photosynthèse est très élevée. La photosynthèse est maximale tandis que la résistance des stomates et l'efficacité d'utilisation physiologique de l'eau sont minimales chez Tr-10, qui peut ainsi être considéré comme un génotype supérieur adapté aux conditions de stress du manque d'eau des zones montagneuses tempérées.*

INTRODUCTION

Le mûrier, seule plante hôte du ver à soie (*Bombyx mori*), est encore cultivé sans irrigation, particulièrement dans les régions tempérées d'Inde. Un apport insuffisant en eau et la diminution du niveau des nappes d'eau souterraines sont les principaux obstacles au développement de l'industrie de la soie dans les zones tempérées de l'est de l'Inde. Par ailleurs, il est reconnu que l'eau est indispensable au maintien de la turgescence nécessaire à la croissance et/ou la survie des plantes (Levit, 1972 ; Aspinall et Paleg, 1981). Il est également reconnu que la conductance des stomates et la photosynthèse sont des paramètres d'échanges gazeux importants qui déterminent le rendement en feuilles d'une culture soumise à un stress intermittent du manque d'eau (Ludlow, 1980). L'obtention d'un indice physiologique serait très utile pour la sélection des plantes car cela permettrait aux sélectionneurs de disposer d'un outil de ségrégation sur une population importante ou pour déterminer des lignées parentales potentielles (Blum, 1985 ; Winter et coll., 1988). Une étude a donc été réalisée afin de caractériser les variations entre cultivars des différents paramètres liés aux échanges gazeux, à savoir la conductance des stomates, la résistance des stomates, le taux net de photosynthèse, la concentration intracellulaire en CO₂ et l'efficacité d'utilisation physiologique de l'eau, chez cinq génotypes tempérés de mûrier.

* Auteur auquel doit être adressée la correspondance.

MATERIELS ET METHODES

Plantes utilisées :

Cinq géotypes de mûrier (BC259, China White, Tr-10, *M. indica* et Kosen) ont été plantés en 1990 dans le champ expérimental de la *Regional Sericultural Research Station* de Kalimpong. Les plants ont été disposés dans des trous de 45 cm × 45 cm × 45 cm espacés de manière optimale, selon la méthode recommandée par Krishnaswami (1979) pour la culture en régime pluvial.

Mesures des échanges gazeux :

Les mesures des échanges gazeux ont été réalisées à l'aide d'un système de photosynthèse portable LI-COR 6200 (LI-COR Inc., Lincoln, Nebraska, Etats-Unis) comportant une cuvette pour feuilles de 250 ml. La partie médiane des feuilles en 3e, 5e et 7e position à partir de l'extrémité supérieure de la tige principale a été utilisée pour chaque série de mesure. Les niveaux de densité de flux de photons photosynthétiques sur le site expérimental sont de 1700 à 1900 $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$ pour une température de $32 \pm 1^\circ\text{C}$ et une humidité relative de 54 à 58 %. Toutes les mesures ont été réalisées simultanément entre 12h00 et 13h00. L'efficacité d'utilisation physiologique de l'eau correspond au rapport du taux net de photosynthèse sur la conductance des stomates.

RESULTATS ET DISCUSSION

Taux net de photosynthèse et concentration intracellulaire en CO_2 :

Les taux de photosynthèse diffèrent de manière significative entre les cinq géotypes testés (Tableau I). Le taux de photosynthèse est maximal chez les feuilles en 5e position de la variété Tr-10 et minimal chez Kosen qui donne une valeur inférieure d'un facteur 3,3 à celle obtenue chez Tr-10. Une variation similaire de la photosynthèse a été observée entre les géotypes de haricot par Chaisompongpan et coll. (1990). Cependant, aucune variation n'a été observée pour ce qui concerne la position de la feuille. Par ailleurs, bien que la concentration intracellulaire en CO_2 soit maximale chez Tr-10 et minimale chez Kosen, aucune différence significative de la teneur en CO_2 n'a été enregistrée entre les géotypes.

Conductance et résistance des stomates au CO_2 :

Tr-10 présente le taux maximal de conductance des stomates sur les feuilles en 5e position, avec une valeur huit fois supérieure à celle obtenue pour Kosen (Tableau II). On observe une corrélation fortement négative entre la conductance et la résistance des stomates chez tous les géotypes. Plusieurs chercheurs ont observé une variation de la conductance des stomates et de la résistance diffuse entre les géotypes de différentes plantes cultivées (Boyer, 1970 ; Quarrie et Jones, 1979). La conductance et la résistance des stomates constituent des paramètres physiologiques prometteurs pour la sélection de lignées améliorées de mûrier.

Efficacité d'utilisation physiologique de l'eau :

L'efficacité d'utilisation physiologique de l'eau correspond ici au rapport du taux net de photosynthèse sur la conductance des stomates plutôt qu'au taux de transpiration défini par Farquhar et Sharkey (1982). L'efficacité d'utilisation physiologique de l'eau est maximale chez Kosen et minimale chez Tr-10 (Tableau III). Les différences observées chez le mûrier sont significatives pour ce paramètre. Il a été précédemment observé chez le blé que les géotypes présentant une efficacité d'utilisation de l'eau supérieure sont plus sensibles au manque d'eau (Farquhar et Richards, 1984). Dans les expériences présentées ici, l'efficacité d'utilisation physiologique de l'eau ne varie pas de manière significative entre les différentes positions des feuilles, comme on peut le constater pour le taux net de photosynthèse (Tableau I), la conductance des stomates et l'efficacité d'utilisation physiologique de l'eau pour les feuilles en 5e et 7e positions chez les géotypes testés, excepté China White.

Il a été observé que le manque intermittent d'eau en régime pluvial peut réduire la photosynthèse en entraînant la fermeture des stomates (Kramer, 1983 ; Irigoyen et coll., 1992). Les résultats que nous avons obtenus pour les paramètres liés aux échanges gazeux suggèrent que Tr-10 constitue le génotype le plus adapté aux conditions de manque d'eau et au régime pluvial. En revanche, le taux net de photosynthèse et l'efficacité d'utilisation de l'eau ne peuvent pas être utilisés comme indices physiologiques de sélection car ils ne révèlent aucune différence significative. La conductance et la résistance des stomates font apparaître une variation distincte non seulement entre les génotypes testés mais également entre les feuilles d'un même génotype ; ces deux paramètres peuvent donc être utilisés comme indices de sélection de génotypes de mûrier appropriés aux zones tempérées sans irrigation.

FOLIAR TREATMENT EFFECT OF UREA AND MICRONUTRIENTS ON MULBERRY (*MORUS* SP.) AND SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.)

A.A. SARKER¹ & N. ABSAR²

1. Serichemistry Section, Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi 6100, Bangladesh.
2. Department of Biochemistry, Rajshahi University, Rajshahi 6205, Bangladesh.

Foliar application of 0.5% urea, 2% FeSO₄, 2% ZnSO₄, 2% H₃BO₄ and 2% MnSO₄ solutions significantly ($P < 0.01$) increased nitrogen, iron, zinc, boron and manganese contents of mulberry leaves, respectively. However, the balanced amount of all these nutrients in mulberry leaves was found in treatment TF₆ (0.5% urea + 2% solution of FeSO₄, ZnSO₄, H₃BO₄ and MnSO₄). The leaf yield of mulberry was significantly ($P < 0.05$) improved in treatment TF₆ over the control treatment, TF₀, in all the seasons studied. The larval weight, single cocoon weight, single shell weight, cocoon yield/100 larvae and filament length of the races, BSRI-8513 and BV(J), were found to be highest on feeding the mulberry leaves under the foliar treatment, TF₆. The cocoon yield was increased by 23.23% and 17.36% in treatment TF₆ for BSRI-8513 and BV(J) races, respectively, over the control treatment, TF₀.

Keywords: Foliar spray, urea, micronutrient, mulberry, leaf yield, leaf quality, silkworm, larval weight, cocoon characters.

INTRODUCTION

Foliar fertilization is a very efficient technique of supplementary fertilization. It is used under a variety of conditions and on different types of crops and has been successfully established as an economical and convenient agriculture practice in the advance countries of the West (Singhvi and Bose, 1990). It has been proved true as a procedure to overcome nutrient deficiencies most rapidly and to limit damages to plants caused by recognised or hidden nutrient deficiencies (Qaiyyum and Bari, 1990). Foliar fertilization evidently activates plant metabolism/assimilation, thus contributing to overcome stress situations and it promotes root nutrient absorption (Singhvi and Bose, 1990; Singh, 1991). The absorption of the nutrients occurs through leaf stomata as well as leaf cuticle (Anonymous, 1975). Once the cuticle is penetrated, further absorption of the nutrients through the outer epidermal cell wall probably takes place mostly through a fine thread-like submicroscopic structure called ectodermata (Noggle and Fritz, 1977).

The supply of urea to the leaf is more effective than its supply to the soil. In general, the application of urea to leaves has given approximately equal response to that of the fertilizer applied to the soil (Anonymous, 1975). Phosphorus can be utilized by plants as a fertilizer sprayed on mulberry leaves but potassium, on the other hand, causes some injuries to the leaves (Qaiyyum and Bari, 1990). Foliar application of urea in mulberry plants has been reported to increase the total leaf yield (Fotedar and Chakraborty, 1985). The mulberry leaf yield and its nutritional quality were reported to have improved by foliar application of a number of micronutrients (Vishwanath, 1979; Ray and Gupta, 1974; Lokanath and Shivashankar, 1986). Viswanath and Krishnamurthy (1982-83) did not find any detrimental effect on larval development and cocoon characters with the foliar spray of micronutrients.

Ito and Nimanura (1966) and Horie *et al.* (1967) observed that K, Mg and Fe are essential for the silkworm and Mn and Co accelerate growth. From the viewpoint of silkworm nutrition, it is seen that Mg, Fe, B and Mn have potential to enhance the larval development and cocoon yield (Lokanath *et al.*, 1986).

The present investigation was undertaken to study the effects of foliar spray of urea and four different micronutrients on the leaf yield and quality of mulberry and cocoon characters of the silkworm, *Bombyx mori* L.

MATERIALS AND METHODS

Five-year-old low-cut mulberry plants (variety BM-1) raised at the Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi, were selected for the study. The chemical fertilizers at the rate of 300 kg N, 150 kg P₂O₅ and 100 kg K₂O/ha/yr in four split doses were applied to the mulberry field. Organic manure at the rate of 20 mt/ha was also used once in a year. Normal cultural operations were carried out as and when needed. All the plots were irrigated twice a month, depending on rainfall conditions. The foliar treatments were as follows:

TF ₀ (control):	Foliar spray of water
TF ₁ :	Foliar spray of boron (B) as 2% H ₃ BO ₄
TF ₂ :	Foliar spray of zinc (Zn) as 2% ZnSO ₄
TF ₃ :	Foliar spray of iron (Fe) as 2% FeSO ₄
TF ₄ :	Foliar spray of manganese (Mn) as 2% MnSO ₄
TF ₅ :	Foliar spray of 0.5% urea
TF ₆ :	TF ₁ + TF ₂ + TF ₃ + TF ₄ + TF ₅ (combined)

Urea, boron, zinc, iron and manganese were used in foliar spray at the rate of 5 kg, 2 kg, 2.50 kg, 2.50 kg and 1.25 kg/ha/crop, respectively.

The foliar treatments were provided twice after four weeks of pruning the mulberry plants. Tender (up to the 5th position from the largest top glossy leaf), medium (6th-12th position) and coarse leaves (down to bottom, excluding over mature leaves) were collected from all the experimental plots three weeks after the foliar treatments in three replications. The number of leaves in each sample was 50. The experiment was conducted in four silkworm rearing seasons, i.e., S₁ (February-March 1992), S₂ (May-June 1992), S₃ (August-September 1992) and S₄ (November-December 1992). The collected leaf samples were processed and the nitrogen content was determined by the Kjeldahl method. The micronutrients Zn, Fe and B were determined by atomic absorption spectrophotometer (Bradfield and Spancer, 1965). Manganese was determined by the periodate method (Piper, 1969). The leaf yield of mulberry was recorded in the four different seasons.

The silkworm races, BSRI-85/3 (improved multivoltine) and BV(J) (evolved bivoltine), were reared to study the quality of mulberry leaves produced under foliar treatments of urea and micronutrients. Three disease-free layings were brushed for each treatment and, after the second moult, the larvae were separated into three replications of 200 larvae for each treatment. The rearing was conducted following the method of Krishnaswami (1978). The temperature and relative humidity in the rearing room were 28.10 ± 4.30 °C and 68.30 ± 5.20%, 30.40 ± 4.00 °C and 74.20 ± 6.60%, 29.50 ± 1.0 °C and 85.40 ± 4.60%, 24.10 ± 3.50 °C and 68.80 ± 5.20%, respectively, during S₁, S₂, S₃ and S₄ seasons. The weight of mature larvae, single cocoon weight, single shell weight, cocoon yield/100 larvae and filament length were estimated following the standard techniques as applied for assessment of silk cocoons.

RESULTS AND DISCUSSION

The initial levels of major and micronutrients in the soil of the experimental plots were studied, and are presented in Table I. The major and micronutrients of the soil of all plots were found to be more or less similar. The leaf yield of mulberry was found to be highest in treatment TF₆ (foliar

treatment of urea + iron + zinc + boron + manganese) in all seasons studied (Table II). The higher leaf yield of mulberry in seasons S₂ and S₃ might be due to sufficient photoperiod and rainfall in those seasons.

Tableau I. Initial soil nutrient status of the experimental plots.

Tableau I. Teneurs initiales en nutriments des parcelles expérimentales.

Nutrient <i>Nutriment</i> (ppm)	Experimental plot / <i>Parcelle expérimentale</i>						
	TF ₀	TF ₁	TF ₂	TF ₃	TF ₄	TF ₅	TF ₆
Nitrogen / <i>Azote</i>	710	702	715	700	709	712	707
Phosphorus / <i>Phosphore</i>	24	30	26	28	25	29	31
Potassium	103	105	101	106	102	100	104
Iron / <i>Fer</i>	135	130	140	132	136	134	131
Zinc	70	73	72	75	71	74	76
Boron / <i>Bore</i>	42	41	43	40	45	46	44
Manganese / <i>Manganèse</i>	53	50	51	55	52	56	52

Table II. Leaf yield (kg/1000 m²) of mulberry under different foliar treatments of urea and micronutrients (pooled data of 4 seasons).

Tableau II. Rendement en feuilles (kg/1000 m²) du mûrier en fonction de différents traitements foliaires à base d'urée et d'oligo-éléments (données moyennes de 4 saisons).

Treatment <i>Traitement</i>	Season / <i>Saison</i>				Total
	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	
TF ₀	670 ^c	711 ^c	730 ^c	652 ^c	2763 ^c
TF ₁	675 ^c	713 ^c	737 ^c	653 ^c	2778 ^c
TF ₂	673 ^c	711 ^c	733 ^c	657 ^c	2774 ^c
TF ₃	678 ^c	716 ^c	731 ^c	655 ^c	2780 ^c
TF ₄	676 ^c	714 ^c	738 ^c	651 ^c	2779 ^c
TF ₅	694 ^b	736 ^b	748 ^b	685 ^b	2863 ^b
TF ₆	707 ^a	751 ^a	760 ^a	700 ^a	2918 ^a

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

Les chiffres suivis d'une même lettre ne présentent pas de différence significative au seuil de 5 % d'après le test de Duncan.

The mean measurements of nitrogen, iron, zinc, boron and manganese contents in mulberry leaves under different foliar treatments are presented in Table III. The mean nitrogen (32.25 mg/g), iron (216.17 ppm), zinc (29.33 ppm), boron (8.10 ppm) and manganese (62.25 ppm) contents of mulberry leaves were found to be highest in treatments TF₅, TF₃, TF₂, TF₁ and TF₄, respectively, followed by the treatment, TF₆ (nitrogen 30.25 mg/g, iron 210.25 ppm, zinc 25.83 ppm, boron 7.00 ppm and manganese 55.75 ppm, respectively). All the nutrient elements increased significantly ($P < 0.01$) due to the foliar application of the respective nutrient elements over the control treatment (TF₀). However, mulberry leaves under the foliar treatment TF₆ showed a balanced/effective amount of all the nutrient elements. The mean nitrogen and zinc contents of mulberry leaves decreased while iron, boron and manganese contents in mulberry leaves increased significantly with the increase in the maturity of the leaves (Table IV).

Table III. Mean nutrient element content of mulberry leaves under foliar treatment of urea and micronutrients.

Tableau III. Contenu moyen des feuilles de mûrier en éléments nutritifs après traitement foliaire avec de l'urée et des oligo-éléments.

Treatment <i>Traitement</i>	N (mg/g)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	B (ppm)	Mn (ppm)
TF ₀	28.83 ^{bc}	192.25 ^c	21.75 ^c	5.97 ^c	53.67 ^c
TF ₁	27.50 ^c	188.83 ^d	20.08 ^{cd}	8.10 ^a	51.50 ^{cd}
TF ₂	27.42 ^c	187.75 ^d	29.33 ^a	5.76 ^c	50.83 ^d
TF ₃	26.83 ^{cd}	216.17 ^a	19.33 ^{cd}	5.70 ^c	50.33 ^d
TF ₄	26.92 ^{cd}	187.50 ^d	19.58 ^{cd}	5.67 ^c	62.25 ^a
TF ₅	32.25 ^a	190.83 ^{cd}	18.92 ^d	5.62 ^c	49.75 ^d
TF ₆	30.25 ^{ab}	210.25 ^b	25.83 ^b	7.00 ^b	55.75 ^b

Figure(s) followed by the same letter(s) are not significantly different at 1% level as per Duncan's new multiple range test.

Les chiffres suivis d'une ou plusieurs lettre(s) identique(s) ne présentent pas de différence significative au seuil de 1 % d'après le test de Duncan.

The mean larval weight and cocoon characters of BSRI-85/3 and BV(J) races reared on mulberry leaves under different foliar treatments over four seasons are shown in Table V. The highest larval weight, single cocoon weight, single shell weight, cocoon yield/100 larvae and filament length (36.08 g, 1.30 g, 0.23 g, 107.88 g and 767.58 m for BSRI-85/3, and 44.78 g, 1.43 g, 0.32 g, 119.67 g and 1021.58 m for BV(J), respectively) were observed on feeding mulberry leaves in the combined treatment TF₆ followed by the treatment, TF₅. Significant improvement of the cocoon yield was observed in all the seasons due to the combined treatment of urea and micronutrients (Table VI).

Micronutrients are present in plants in minute amounts ranging from the thousandth to the hundred thousandth of a per cent and perform essential functions in vital processes. The lack of micronutrients is responsible for some plant diseases and often causes crops to perish (Misra, 1991). In the present studies, urea and four micronutrients (iron, zinc, boron and manganese) were foliarly applied to mulberry individually and in combined treatments. Nitrogen, iron, zinc, boron and manganese contents of mulberry leaves were increased significantly due to foliar application of urea and micronutrients. However, the balanced amount of all these nutrients was available in the combined

treatment of 0.5% urea + 2% FeSO₄ + 2% ZnSO₄ + 2% H₃BO₄ + 2% MnSO₄ solutions (Table III). Bose (1987) and Misra (1991) reported that application of appropriate micronutrients ensures higher yield of better quality mulberry leaves.

Table IV. Mean nitrogen, iron, zinc, boron and manganese contents of mulberry leaves at different maturity levels under different foliar treatments over four seasons.

Tableau IV. Contenus moyens en azote, fer, zinc, bore et manganèse des feuilles de mûrier en fonction de leur maturité et du traitement foliaire sur quatre saisons.

Treatment	Nitrogen (mg/g)	Iron (ppm)	Zinc (ppm)	Boron (ppm)	Manganese (ppm)
<i>Traitement</i>	<i>Azote</i> (mg/g)	<i>Fer</i> (ppm)	<i>Zinc</i> (ppm)	<i>Bore</i> (ppm)	<i>Manganèse</i> (ppm)
Tender leaf / Feuilles tendres :					
TF ₀	32	154	25	3.95	43
TF ₁	31	151	23	6.20	41
TF ₂	30	151	32	3.77	41
TF ₃	30	170	22	3.62	40
TF ₄	30	152	22	3.72	49
TF ₅	28	150	22	3.60	40
TF ₆	33	165	29	5.12	44
Mean / Moyenne	31	156	25	4.28	43
Medium leaf / Feuilles intermédiaires :					
TF ₀	29	185	21	6.17	52
TF ₁	28	181	20	8.35	50
TF ₂	28	180	29	5.97	49
TF ₃	27	222	19	5.85	48
TF ₄	27	179	19	5.90	61
TF ₅	33	187	18	5.80	48
TF ₆	31	214	25	7.42	54
Mean / Moyenne	29	193	22	6.49	52
Coarse leaf / Feuilles dures :					
TF ₀	25	237	19	7.80	66
TF ₁	24	234	17	9.75	63
TF ₂	24	232	27	7.55	62
TF ₃	23	256	17	7.62	63
TF ₄	23	231	18	7.42	77
TF ₅	29	235	16	7.47	61
TF ₆	27	251	23	8.47	69
Mean / Moyenne	25	239	20	8.01	66
CD at 1%	1.57	24	3	0.60	7
CD at 5%	2.60	40	5	0.99	12

Table V. Mean larval weight and cocoon characters of two silkworm races fed on mulberry leaves grown under foliar treatments of urea and micronutrients over four seasons.

Tableau V. Poids larvaire et caractères du cocon moyens de deux races de vers à soie alimentées avec des feuilles de mûriers traitées avec de l'urée et des oligo-éléments sur quatre saisons.

Treatment	Weight of 10 mature larvae (g)	Single cocoon weight (g)	Single shell weight (g)	Cocoon yield/100 larvae (g)	Filament length (m/cocoon)
<i>Traitement</i>	<i>Poids de 10 larves matures (g)</i>	<i>Poids d'un cocon (g)</i>	<i>Poids d'une coque (g)</i>	<i>Rendement en cocons/ 100 larves (g)</i>	<i>Longueur de la bave (m/cocon)</i>
Silkworm race: BSRI-85/3 / Race BSRI-85/3 :					
TF ₀	28.25 ^c	1.24 ^c	0.18 ^c	87.54 ^c	680.25 ^f
TF ₁	28.77 ^{bc}	1.26 ^{bc}	0.20 ^{bc}	90.56 ^{bc}	712.92 ^{de}
TF ₂	29.02 ^{bc}	1.25 ^{bc}	0.19 ^{bc}	91.75 ^{bc}	725.58 ^{bcd}
TF ₃	28.58 ^c	1.26 ^{bc}	0.20 ^{bc}	89.54 ^{bc}	709.08 ^{de}
TF ₄	29.12 ^{bc}	1.25 ^{bc}	0.20 ^{bc}	92.47 ^{bc}	734.50 ^{bc}
TF ₅	31.44 ^b	1.27 ^b	0.21 ^{ab}	94.77 ^b	743.83 ^b
TF ₆	36.08 ^a	1.30 ^a	0.23 ^a	107.88 ^a	767.58 ^a
Silkworm race: BV(J) / Race BJ(J) :					
TF ₀	35.76 ^b	1.33 ^c	0.26 ^c	101.97 ^b	917.83 ^f
TF ₁	36.41 ^b	1.35 ^{bc}	0.28 ^{bc}	103.68 ^b	951.75 ^{de}
TF ₂	37.50 ^b	1.36 ^{bc}	0.28 ^{bc}	105.82 ^b	962.91 ^{cd}
TF ₃	36.57 ^b	1.35 ^{bc}	0.27 ^{bc}	104.47 ^b	944.25 ^{de}
TF ₄	37.69 ^b	1.37 ^{bc}	0.29 ^b	106.59 ^b	975.41 ^{bc}
TF ₅	39.62 ^b	1.39 ^{ab}	0.29 ^b	107.88 ^b	990.08 ^b
TF ₆	44.78 ^a	1.43 ^a	0.32 ^a	119.67 ^a	1021.58 ^a

Figure(s) followed by the same letter(s) are not significantly different at 1% level as per Duncan's new multiple range test.

Les chiffres suivis d'une ou plusieurs lettre(s) identique(s) ne présentent pas de différence significative au seuil de 1 % d'après le test de Duncan.

The nitrogen taken by the plants is soon converted into complex biochemical products like proteins, nucleic acid, alkaloids, vitamins, chlorophyll, etc. Protein accumulation in the mulberry leaf is accelerated by the application of nitrogen fertilizers. It is reported that urea plays an important role in nitrogen metabolism of the silkworm (Inokuchi and Yamada, 1986). Moreover, the response to foliar application of nutrients is quick as these nutrients are rapidly absorbed by the foliage and translocated to different plant parts where they take part in metabolism. In the present studies, the leaf yield of mulberry was significantly improved in the combined foliar treatment (TF₆) over the control treatment (TF₀). Foliar spray of urea has also been reported to increase the leaf yield of mulberry (Qaiyum *et al.*, 1991).

Table VI. Cocoon yield of two silkworm races fed on mulberry leaves under foliar treatments of urea and micronutrients during four seasons.

Tableau VI. Rendement en cocons de deux races de vers à soie nourries avec des feuilles de mûrier traitées avec de l'urée et des oligo-éléments en fonction de quatre saisons.

Treatment Traitement	Season / Saison			
	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄
Silkworm race: BSRI-85/3 / Race BSRI-85/3 :				
TF ₀	105.50	75.00	68.60	101.07
TF ₁	108.32	78.93	71.63	103.36
TF ₂	110.41	79.67	72.46	104.45
TF ₃	108.73	76.00	70.71	102.71
TF ₄	112.33	78.33	72.91	106.33
TF ₅	113.51	80.00	74.75	110.83
TF ₆	127.38	92.67	87.87	123.59
CD at 1%	17.80	18.73	20.67	18.96
CD at 5%	10.79	11.35	12.53	11.49
Silkworm race: BV(J) / Race BJ(J) :				
TF ₀	128.31	78.50	75.00	126.06
TF ₁	129.87	80.11	76.93	127.81
TF ₂	131.90	82.33	79.63	129.43
TF ₃	129.81	81.61	77.81	128.65
TF ₄	132.06	83.22	80.57	130.50
TF ₅	133.16	84.34	81.40	132.63
TF ₆	147.68	95.60	90.11	145.31
CD at 1%	21.61	19.14	17.65	20.99
CD at 5%	13.10	11.60	10.60	12.72

It was found that larval growth and cocoon characters of BSRI-85/3 and BV(J) races of the silkworm, *Bombyx mori*, (Table V) were improved significantly after they were fed with mulberry leaves grown under foliar treatments. However, the highest larval weight, single cocoon weight, single shell weight, cocoon yield/100 larvae and filament length obtained in the combined treatment of urea and four micronutrients might be due to the accumulation of higher amounts of different nutrient elements in mulberry leaves on which the silkworms were raised. Takagishi *et al.* (1985) reported that the effect of nitrogen supply increased the cocoon weight and percentage of cocoon shell weight. Mulberry leaves sprayed with micronutrients did not have any detrimental effect on the larval development and cocoon characters of the silkworm (Viswanath and Krishnamurthy, 1982-83). In the present studies, the cocoon yield/100 larvae of BSRI-85/3 and BV(J) races were increased by 23.23% and 17.36%, respectively, over the control treatment due to foliar application of 0.5% urea + 2% FeSO₄ + 2% ZnSO₄ + 2% H₃BO₄ + 2% MnSO₄ to mulberry. Lokanath *et al.* (1986) also observed the potentiality to enhance the larval development and cocoon yield on foliar treatment of Mg and micronutrients to mulberry.

It is, therefore, concluded that the combined foliar treatment with urea and different micronutrients has beneficial effects on the leaf yield and quality of mulberry, which subsequently results in significant improvement of cocoon production.

REFERENCES

- ANONYMOUS (1975) Textbook of Tropical Sericulture. Japan Overseas Cooperation Volunteers, Tokyo, Japan, pp. 114-116.
- BOSE P.C. (1987) Role of micronutrients in mulberry garden. *Indian Silk*, 25(3), 22.
- BRADFIELD E.G., SPANCER D. (1965) *J. Sci. Food. Agr.*, 16, 33-38.
- FOTEDAR R.K., CHAKRABARTY S. (1985) Comparative studies on foliar and soil application of nitrogen on the leaf yield of mulberry. *Indian J. Seric.*, 25(2), 58-63.
- HORIE Y., WATANABE K., ITO T. (1967) Nutrition of the silkworm, *B. mori*. XVIII: Quantitative requirements for potassium, phosphorus, magnesium and zinc. *Bull. Sericult. Exp. Sta.*, 22(2), 181-193.
- INOKUCHI T., YAMADA M. (1986) Regulation of nitrogen metabolism on the insect. *Chemistry and Biology*, 24(12), 826-829.
- ITO T., NIMANURA M. (1966) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori* L.: its specific nutrient requirements and its nutrition in relation to the mineral nutrition of its host plant mulberry, *Morus indica* L. *Indian J. Exp. Biol.*, 4, 31-36.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New technology of silkworm rearing. Bulletin no. 2, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, India.
- LOKANATH R., SHIVASHANKAR K. (1986) Effect of foliar application of micronutrients and magnesium on the growth, yield and quality of mulberry (*Morus alba* L.). *Indian J. Seric.*, 25(1), 1-5.
- LOKANATH R., SHIVASHANKAR K., KASHIVISWANATHAN K. (1986) Effect of foliar application of magnesium and micronutrients to mulberry on the quality and production of cocoons. *Indian J. Seric.*, 25(1), 40-41.
- MISRA A.K. (1991) Molybdenum nutrition in mulberry. *Indian Silk*, 30(4), 51-52.
- NOGGLE G.R., FRITZ G.J. (1977) *Introductory Plant Physiology*. Prentice Hall of India Private Ltd., New Delhi, pp. 264-265.
- PIPER C.S., *Soil and Plant Analysis*. Hans Publisher, Bombay, India, 74 pp.
- QAIYYUM M.A., BARI M.A. (1990) Foliar nutrition in mulberry. *Indian Silk*, 28(11), 26.
- QAIYYUM M.A., QUADER MA., BARI M.A. (1991) Effect of foliar spray of urea on the mulberry leaf yield and its nutritive quality. *Pakistan J. Agric. Res.*, 12(3), 188-192.
- RAY D., GUPTA B.K. (1974) Effect of micro-nutrients on the yield and chemical composition of mulberry leaf. Annual Report, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, pp. 81-82.
- SINGH K. (1991) Manuring and fertilizers for mulberry cultivation. *Indian Silk*, 30(8), 35, 36, 38.
- SINGHVI N.R., BOSE P.C. (1990) Using foliar fertilization to increase the productivity of mulberry. *Indian Silk*, 28(12), 27-28.
- TAKAGISHI H., SHIRATA K., KAWANCHI I., WATANABE K., HORIE Y. (1985) Effects of fertilization on leaf quality of mulberry. *Bull. Sericult. Exp. Sta. Japan*, 30(1), 65-79.
- VISHWANATH A.P. (1979) Effect of foliar spray of micro-nutrients on the yield and quality of mulberry (*Morus alba* L.). M.Sc. thesis, University of Agricultural Science, Bangalore, India.
- VISWANATH A.P., KRISHNAMURTHY K. (1982-83) Effect of foliar spray of micronutrients on the larval development and cocoon characters of silkworm, *Bombyx mori* L. *Indian J. Seric.*, 21-22, 1-6.

EFFET DU TRAITEMENT FOLIAIRE AVEC DE L'UREE ET DES OLIGO-ELEMENTS SUR LE MURIER (*MORUS* SP.) ET LE VER A SOIE (*BOMBYX MORI* L.)

A.A. SARKER¹ & N. ABSAR²

1. Serichemistry Section, Bangladesh Sericulture Research and Training Institute, Rajshahi 6100, Bangladesh.

2. Department of Biochemistry, Rajshahi University, Rajshahi 6205, Bangladesh.

L'application foliaire de solutions contenant de l'urée à 0,5 %, du FeSO₄ à 2 %, du H₃BO₄ à 2 % et du MnSO₄ à 2 % entraîne des augmentations significatives ($P < 0,01$) des contenus en azote, en fer, en zinc, en bore et en manganèse des feuilles de mûrier. On obtient la quantité optimale de tous ces oligo-éléments dans les feuilles de mûrier du traitement TF₆ (urée à 0,5 % + solution de FeSO₄, ZnSO₄, H₃BO₄ et MnSO₄ à 2 %). Le rendement en feuilles augmente de manière significative ($P < 0,05$) avec le traitement TF₆ par rapport au traitement témoin TF₀ pour toutes les saisons étudiées. Le poids larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque, le rendement en cocons pour 100 larves et la longueur de la bave des races BSRI-85/3 et BV(J) sont maximales après nourrissage avec les feuilles de mûrier du traitement TF₆. Le rendement en cocons augmente de 23,23 % et 17,36 % avec le traitement TF₆ chez les races BSRI-85/3 et BV(J) par rapport au traitement témoin TF₀.

INTRODUCTION

L'application d'engrais sur les feuilles constitue une excellente technique d'amendement complémentaire. Utilisée dans différents milieux et sur différents types de cultures, c'est une méthode agricole peu onéreuse et facile, couramment employée dans les pays occidentaux avancés (Singhvi et Bose, 1990). Elle permet d'éliminer rapidement les carences en oligo-éléments et de limiter les dommages causés aux végétaux par des carences connues ou non déterminées (Qaiyyum et Bari, 1990). Il est évident que l'application foliaire d'engrais active le métabolisme et/ou l'assimilation par les plantes, leur permettant ainsi de surmonter les situations de stress et favorisant l'absorption des nutriments par les racines (Singhvi et Bose, 1990 ; Singh, 1991). L'absorption des nutriments se fait par les stomates et la cuticule des feuilles (Anonyme, 1975). Une fois la cuticule pénétrée, l'absorption des nutriments par les parois cellulaires de l'épiderme externe se fait probablement par une structure fine et submicroscopique ressemblant à un fil, appelée ectoderme (Noggle et Fritz, 1977).

L'apport d'urée est plus efficace s'il est effectué sur la feuille que dans le sol. En général, l'application d'urée sur les feuilles donne une réaction à peu près comparable à celle obtenue après traitement du sol (Anonyme, 1975). Le phosphore peut être utilisé par les plantes s'il est vaporisé sur les feuilles de mûrier ; par contre, le potassium occasionne des dommages sur les feuilles (Qaiyyum et Bari, 1990). L'application foliaire d'urée sur les plants de mûrier entraîne une augmentation du rendement total en feuilles (Fotedar et Chakraborty, 1985). Un certain nombre d'oligo-éléments appliqués en traitement foliaire améliorent la qualité nutritionnelle et le rendement en feuilles chez le mûrier (Vishwanath, 1979 ; Ray et Gupta, 1974 ; Lokanath et Shivashankar, 1986). Viswanath et Krishnamurthy (1982-83) n'ont observé aucun effet néfaste sur le développement larvaire et les caractères du cocon après vaporisation foliaire d'oligo-éléments. Ito et Nimanura (1966) et Horie et coll. (1967) ont observé que le K, le Mg et le Fe sont indispensables au ver à soie et que le Mg et le Co accélèrent sa croissance. Du point de vue de la nutrition des vers à soie, le Mg, le Fe, le B et le Mn peuvent favoriser le développement larvaire et le rendement en cocons (Lokanath et coll., 1986).

Cette étude a été entreprise afin d'observer les effets de la vaporisation foliaire d'urée et de quatre oligo-éléments sur la qualité et le rendement en feuilles chez le mûrier et sur les caractères du cocon chez le ver à soie *Bombyx mori* L.

MATERIELS ET METHODES

Des plants de mûrier en taille basse et âgés de 5 ans (variété BM-1) cultivés au *Bangladesh Sericulture Research and Training Institute* de Rajshahi ont été choisis pour cette étude. Les engrais chimiques à raison de 300 kg N, 150 kg P₂O₅ et 100 kg K₂O/ha/an ont été appliqués en quatre doses égales dans la mûraie. Du fumier organique à raison de 20 t/ha a également été appliqué une fois par an. Les opérations culturales usuelles ont été effectuées suivant les besoins. Toutes les parcelles ont été irriguées deux fois par mois en fonction de la pluviosité. Les traitements foliaires sont les suivants :

- TF₀ (témoin) : Vaporisation foliaire d'eau
- TF₁ : Vaporisation foliaire de bore (B) sous forme de H₃BO₄ à 2 %
- TF₂ : Vaporisation foliaire de zinc (Zn) sous forme de ZnSO₄ à 2 %
- TF₃ : Vaporisation foliaire de fer (Fe) sous forme de FeSO₄ à 2 %
- TF₄ : Vaporisation foliaire de manganèse (Mn) sous forme de MnSO₄ à 2 %
- TF₅ : Vaporisation foliaire d'urée à 0,5 %
- TF₆ : TF₁ + TF₂ + TF₃ + TF₄ + TF₅ (combiné)

L'urée, le bore, le zinc, le fer et le manganèse ont été appliqués en traitement foliaire à raison de 5 kg, 2 kg, 2,50 kg, 2,50 kg et 1,25 kg/ha/récolte, respectivement.

Les traitements foliaires ont été réalisés deux fois quatre semaines après la taille des plants de mûrier. Des feuilles tendres (jusqu'à la 5e position en partant de la feuille supérieure la plus grande), intermédiaires (6e à 9e position) et dures (jusqu'en bas sans tenir compte des feuilles trop âgées) ont été prélevées dans les parcelles expérimentales trois semaines après les traitements foliaires répartis en trois réplicats. Le nombre de feuilles est de 50 par échantillon. L'expérience a été réalisée sur quatre saisons d'élevage du ver à soie : S₁ (février à mars 1992), S₂ (mai à juin 1992), S₃ (août à septembre 1992) et S₄ (novembre à décembre 1992). Les échantillons de feuilles prélevées ont été examinés et le contenu en azote a été déterminé d'après la méthode de Kjeldahl. Les contenus en oligo-éléments Zn, Fe et B ont été déterminés au spectrophotomètre à absorption atomique (Bradfield et Spenser, 1965). Le contenu en manganèse a été déterminé d'après la méthode du periodate (Piper, 1969). Le rendement en feuilles a été enregistré pour les quatre saisons d'élevage.

Les vers à soie des races BSRI-85/3 (polyvoltin amélioré) et BV(J) (bivoltin évolué) ont été élevés afin d'évaluer la qualité des feuilles de mûrier obtenues après traitement foliaire d'urée et d'oligo-éléments. Trois pontes saines ont été levées pour chaque traitement et, après la deuxième mue, les larves ont été réparties en trois réplicats de 200 larves pour chaque traitement. L'élevage a été réalisé suivant la méthode de Krishnaswami (1978). La température et l'humidité relative de la pièce d'élevage étaient de 28,10 ± 4,30 °C et 68,30 ± 5,20 % pour S₁, de 30,40 ± 4,00 °C et 74,20 ± 6,60 % pour S₂, de 29,50 ± 1,0 °C et 85,40 ± 4,60 % pour S₃ et de 24,10 ± 3,50 °C et 68,80 ± 5,20 % pour S₄. Le poids d'une larve mature, le poids du cocon, le poids de la coque, le rendement en cocons pour 100 larves et la longueur de la bave ont été évalués suivant les techniques standard appliquées pour l'évaluation des cocons de soie.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les teneurs initiales en nutriments et en oligo-éléments dans le sol des parcelles expérimentales ont été déterminées et sont présentées dans le tableau I. Les nutriments et les oligo-éléments du sol sont présents en quantités à peu près égales dans toutes les parcelles. Le rendement en feuilles du mûrier est maximal avec le traitement TF₆ (traitement foliaire urée + fer + zinc + bore + manganèse) pour toutes les saisons étudiées (Tableau II). Le rendement supérieur en feuilles obtenu pour les

saisons S₂ et S₃ pourrait être dû à une photopériode et à une pluviosité adéquates au cours de ces saisons.

Les mesures moyennes des contenus en azote, en fer, en zinc, en bore et en manganèse des feuilles de mûrier en fonction des différents traitements sont présentées dans le tableau III. Les traitements TF₅, TF₃, TF₂, TF₁ et TF₄ présentent respectivement les contenus moyens maximaux en azote (32,25 mg/g), en fer (216,17 ppm), en zinc (29,33 ppm), en bore (8,10 ppm) et en manganèse (62,25 ppm) dans les feuilles de mûrier, devant le traitement TF₆ (azote : 30,25 mg/g, fer : 210,25 ppm, zinc : 25,83 ppm, bore : 7,00 ppm et manganèse 55,76 ppm). Tous les éléments nutritifs appliqués en traitement foliaire présentent une augmentation significative ($P < 0,01$) par rapport au témoin (TF₀). Cependant, les feuilles de mûrier du traitement TF₆ présentent une teneur équilibrée/effective pour tous les éléments nutritifs. Les contenus moyens en azote et en zinc diminuent tandis que les teneurs en fer, en bore et en manganèse augmentent de manière significative à mesure que les feuilles vieillissent (Tableau IV).

Le poids larvaire moyen et les caractères du cocon des races BSRI-85/3 et BV(J) élevées sur des feuilles de mûrier soumises à différents traitements et pour les quatre saisons considérées sont présentés dans le tableau V. Le traitement combiné TF₆ donne les valeurs moyennes maximales pour le poids larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque, le rendement en cocons pour 100 larves et la longueur de la bave (respectivement 36,08 g, 1,30 g, 0,23 g, 107,88 g et 767, 58 m pour BSRI-85/3 et 44,78 g, 1,43 g, 0,32 g, 119,67 g et 1 021,58 m pour BV(J)), devant le traitement TF₅. On observe une amélioration significative du rendement en cocons pour toutes les saisons chez les lots issus du traitement combiné urée + oligo-éléments (Tableau VI).

Les oligo-éléments sont présents dans les plantes en quantités infimes allant du 100 millième au 10 millionième et réalisent les fonctions indispensables aux processus vitaux. Le manque d'oligo-éléments est responsable de certaines maladies des plantes et entraîne souvent la mort des cultures (Misra, 1991). Dans cette étude, de l'urée et quatre oligo-éléments (fer, zinc, bore et manganèse) ont été appliqués sur les feuilles de mûrier séparément et en traitements combinés. Les contenus en azote, en fer, en zinc, en bore et en manganèse des feuilles de mûrier augmentent de manière significative après application foliaire. Le traitement combiné urée 0,5 % + FeSO₄ 2 % + ZnSO₄ 2 % + bore H₃BO₄ 2 % + MnSO₄ 2 % donne la teneur optimale pour tous ces nutriments (Tableau III). Bose (1987) et Misra (1991) ont observé que l'application d'oligo-éléments adaptés assure un meilleur rendement et une meilleure qualité des feuilles de mûrier.

L'azote ingéré par les plantes est rapidement converti en substances biochimiques complexes comme les protéines, l'acide nucléique, les alcaloïdes, les vitamines, la chlorophylle, etc. L'accumulation de protéines dans la feuille de mûrier s'accélère au contact des engrais azotés. L'urée joue un rôle important dans le métabolisme de l'azote chez le ver à soie (Inokuchi et Yamada, 1986). En outre, la réaction de la plante à l'application foliaire de nutriments est presque instantanée car ces nutriments sont rapidement absorbés par le feuillage et transloqués dans différentes parties de la plante où ils interviennent dans le métabolisme. Dans cette étude, le rendement en feuilles du mûrier s'améliore de manière significative chez le traitement foliaire combiné (TF₆) par rapport au témoin (TF₀). Qaiyyum et coll. (1991) ont également observé que la vaporisation d'urée sur les feuilles entraîne une augmentation du rendement en feuilles chez le mûrier.

La croissance larvaire et les caractères du cocon des races du ver à soie *Bombyx mori* BSRI-85/3 et BV(J) augmentent de manière significative après nourrissage avec des feuilles de mûrier traitées. L'obtention des valeurs maximales pour le poids larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque, le rendement en cocons pour 100 larves et la longueur de la bave pour le traitement combinant l'urée et les quatre oligo-éléments pourrait être due à l'accumulation en quantités plus importantes des différents éléments nutritifs dans les feuilles de mûrier sur lesquelles ont été élevés les vers à soie. Takagishi et coll. (1985) ont observé que l'apport d'azote entraîne une augmentation du poids de la coque et de la richesse soyeuse. La vaporisation d'oligo-éléments sur les feuilles de mûrier n'a aucun effet néfaste sur le développement larvaire et sur les caractères du cocon chez le ver à soie (Viswanath et Krishnamurthy, 1982-83). Dans cette étude, le rendement en cocons pour 100 larves augmente de 23,23 % pour la race BSRI-85/3 et 17,36 % pour la race BV(J) par rapport au témoin après l'application foliaire urée 0,5 % + FeSO₄ 2 % + ZnSO₄ 2 % + H₃BO₄ 2 % + MnSO₄ 2 %. Lokanath et coll. (1986)

ont également observé qu'il était possible d'améliorer le développement larvaire et le rendement en cocons par traitement des feuilles de mûrier avec du Mg et des oligo-éléments.

On en conclut que le traitement combiné d'urée et de différents oligo-éléments a des effets positifs sur le rendement en feuilles et sur leur qualité ; ce qui se traduit par une amélioration significative de la production de cocons.

PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF SIX PROTEINS FROM THE LEAVES OF BM-3 MULBERRY VARIETY

N. ABSAR*, M. ABDUS SATTER & A. AZIZ SARKER

Department of Biochemistry, University of Rajshahi, Rajshahi 6205, Bangladesh.

Proteins from the leaves of bush-form BM-3 mulberry variety were purified. The method was accomplished by gel filtration of 100% ammonium sulfate saturated crude extract on Sephadex G-75 followed by ion exchange chromatography on DEAE-cellulose. All the six proteins were found to be homogeneous as judged by polyacrylamide gel electrophoresis. The molecular weights of the proteins were estimated to be 204,170, 190,540, 177,820, 79,430, 79,400, and 47,860 by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. The proteins agglutinated specifically albino rat and sheep red blood cells. The agglutination of rat red blood cells by F-1a and F-1b was inhibited by D-galactose, whereas those by F-2a and F-2b were inhibited by D-mannose. D-glucosamine was also found to be effective in inhibiting the agglutination of F-1a and F-2b. The proteins gave absorption maxima around 276-280 nm and minima around 242-245 nm. The proteins are glycoproteins in nature, having a neutral sugar content of 1.4-11.0%.

Keywords: Mulberry leaf proteins, molecular weight, agglutination, glycoprotein.

INTRODUCTION

Organic material of almost every kind in nature may serve as food for insects. Proteins provide the chief structural elements of the muscle, glands and other tissues. The amino acids resulting from protein digestion are among the most important raw materials for growth of insects. McGinnis and Kasting (1972) reported that all insects require protein for their optimum growth, development and reproduction. It was also reported that leaves containing less protein were found nutritionally inadequate for the growth of *Prodenia eridana*, resulting in a long larval duration and low body weight gain (Soo Hoo and Frankel, 1966).

Silk is a protein fibre consisting of fibroin and sericin. These proteins are synthesized by the silkworm, *Bombyx mori* L., in two silk glands from the mulberry leaf it feeds on during its larval period of twenty to thirty days (Ullal and Narasimhanna, 1981). It is known that about 70% of the silk produced by the silkworm is directly derived from the proteins of mulberry leaves (Fukuda, 1960). The mulberry leaf contains 3-5% protein per 100 g fresh leaves. The main parts of proteins of mulberry leaves are glycocoll, alanine, valine, leucine, aspartic acid, glutamic acid, phenylalanine, proline, oxyproline, cysteine, cystine, etc. (Anonymous, 1975).

Hirano (1982) separated protein subunits from twenty-day-old leaves of 17 mulberry varieties by SDS-urea PAGE and reported that the varieties had the same leaf protein profile. This paper describes the purification and characterization of six proteins from mulberry leaves. The mulberry variety, BM-3, was selected in the present study as it was found to be relatively superior over the other varieties cultivated in Bangladesh with respect to nutrients. This work may be helpful in studying the role of different mulberry leaf proteins in silkworm nutrition.

* To whom all correspondences should be made.

MATERIALS AND METHODS

Leaves of BM-3 mulberry (*Morus* sp.) variety, raised under bush form, were collected from the Bangladesh Sericultural Research and Training Institute, Rajshahi. Sephadex G-75, DEAE-cellulose and molecular weight markers were from Sigma Chemical Co., USA.

Preparation of crude extract:

Tender leaves of BM-3 mulberry variety raised under bush form were cut into small pieces and finally crushed into paste using a homogenizer. The temperature was maintained at 4 °C by putting ice in the outer chamber of the homogenizer. It was then mixed uniformly with precooled distilled water (2 ml/g) and kept for 3 hours at 4 °C and stirred occasionally. The suspension was then filtered through a double layer of cheesecloth in the cold room. The filtrate was clarified further by centrifugation at 8000 rpm, 4 °C for 15 minutes. The clear supernatant was then saturated to 100% by adding solid ammonium sulfate and stirred slowly. The precipitate was dissolved in a minimum volume of distilled water and dialyzed against distilled water overnight at 4 °C. After centrifugation the clear supernatant was used as crude extract and kept in deep freeze for experimental purpose.

Purification of protein:

The crude extract was dialyzed against distilled water for 12 hr and against 5 mM phosphate buffer saline, pH 7.8 at 4 °C for 24 hr. After centrifugation the clear supernatant was loaded onto Sephadex G-75, previously equilibrated with the same buffer and the proteins were eluted from the column with the same buffer. The protein fractions obtained after gel filtration were pooled, dialyzed against 10 mM Tris-HCl, pH 8.4 at 4 °C and were applied to a DEAE-cellulose column previously equilibrated with the same buffer. The proteins were eluted from the column by stepwise elution with the same buffer containing NaCl.

Sodium dodecyl sulfate (SDS) polyacrylamide gel electrophoresis:

A protein solution containing 0.5 to 1.0 mg/ml was made up to contain 0.1% SDS and 0.1 M sodium phosphate, pH 7.2; and then 25-50 µl were layered onto polyacrylamide gels (10% acrylamide, 0.2% dimethyl-bis acrylamide). The electrophoresis was carried out as described by Weber and Osborn (1969). Gels were electrophoresed at 3 mA per tube and the length of the gel was 5.8 cm. The electrophoresis was carried out at room temperature using 0.1 M sodium phosphate buffer, pH 7.2, containing 0.1% SDS. The gels were stained with 0.1% Coomassie brilliant blue R-250 and destained by 7% acetic acid.

Hemagglutination activity:

Hemagglutination activities of the proteins were studied by using albino rat and sheep red blood cells (final concentration, 2%) following the procedure reported by Lin *et al.* (1981). Hemagglutination inhibition studies were performed in a similar way using rat red blood cells in the presence of various sugars.

Carbohydrate assay:

Total carbohydrate content was determined by the phenol-H₂SO₄ method (Dubois *et al.*, 1956) with glucose as standard sugar. Two ml of protein solution (0.5 mg/ml) was mixed with 1 ml of 5% phenol and then 5 ml of concentrated H₂SO₄ was added rapidly. The tube was allowed to stand for 10 minutes. The tube was stirred gently and then incubated at 25-30 °C for 20 minutes in the dark. The absorbance was then measured at 490 nm.

The presence of sugar in the protein was also detected by periodic acid-Shiff's (PAS) method. The proteins were electrophoresed on polyacrylamide disc gel at room temperature, pH 8.4, on 7.5% gel as described by Onstein (1964). The gels were stained with PAS-reagent following the procedure described by Zaccharius *et al.* (1969) and destained by 7% acetic acid.

Protein concentration:

Protein concentration was determined by the method of Lowry *et al.* (1951) using bovine serum albumin as a standard.

RESULTS AND DISCUSSION

The protein showed one minor peak, F-1, and a major peak, F-2 (Fig. 1). These fractions, F-1 and F-2, as indicated by solid bars were pooled and purified further by ion exchange chromatography on DEAE-cellulose. As given in Figure 2, the components of F-1 fraction were separated into four sharp peaks at different NaCl concentrations. The first peak, F-1a, was eluted with 10 mM Tris-HCl buffer, pH 8.4, containing 0.06 M NaCl whereas the other peaks, F-1b, F-1c, and F-1d, were eluted with the buffer containing 0.12 M, 0.25 M, and 0.50 M NaCl, respectively. Again, the F-2 fraction was eluted similarly from the DEAE-cellulose column and was found to be separated into four fractions by the same buffer at different NaCl concentrations (Fig. 3). The fraction, F-2a, was eluted with the buffer containing 0.06 M NaCl while F-2b, F-2c and F-2d were eluted from the column with the buffer containing 0.25 M, 0.50 M and 1.0 M NaCl, respectively.

All these fractions, F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a and F-2b contained pure protein as they gave single bands on polyacrylamide gel electrophoresis (Figure not shown). Further, F-2c and F-2d contained mixtures of proteins as they gave more than one band (Figure not shown). These two fractions could not be purified further as they contained mostly colored materials and a small amount of low molecular weight protein.

Fig. 1: Gel chromatography of 100% saturated crude extract on Sephadex G-75 column at 4 °C.

Column (1.8 × 120 cm) was eluted with phosphate buffer saline, pH 7.8, at a flow rate of 15 ml/hr.

Fig. 1 : Chromatographie sur gel de Sephadex G-75 d'un extrait brut saturé à 100 % à 4 °C.

La colonne (1,8 × 120 cm) a été éluée avec une solution tampon phosphate, pH 7,8, à une vitesse d'écoulement de 15 ml/h.

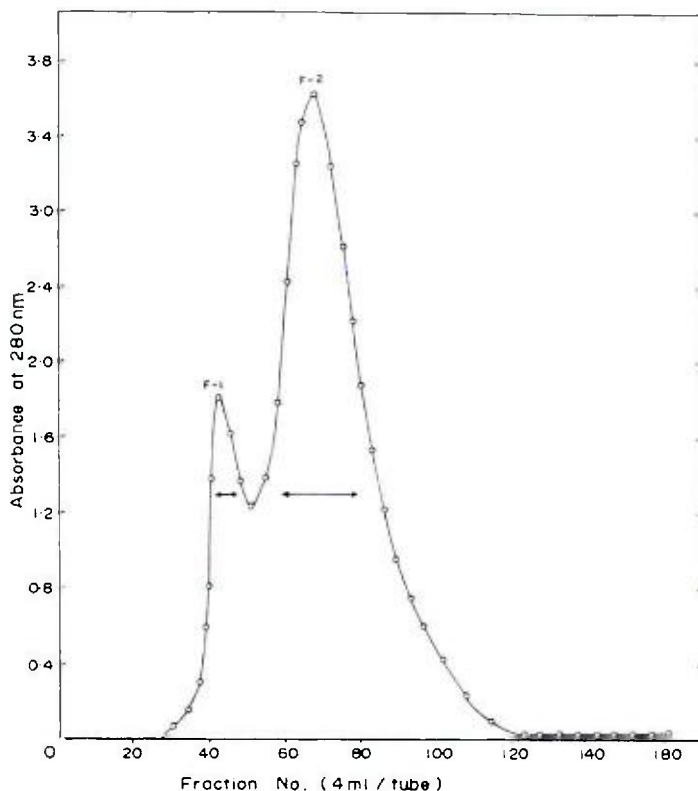


Fig. 2: Stepwise ion exchange chromatography of F-1 fraction on DEAE-cellulose column at 4 °C.

Column (2.22 × 22 cm) was eluted with 10 mM Tris-HCl, pH 8.4, containing NaCl at a flow rate of 35 ml/hr.

Fig. 2 : Chromatographie graduelle en échange d'ions de la fraction F-1 sur une colonne de DEAE-cellulose à 4 °C.

La colonne (2,22 × 22 cm) a été éluée à une vitesse d'écoulement de 35 ml/h avec le tampon 10 mM Tris-HCl, pH 8,4, contenant du NaCl.

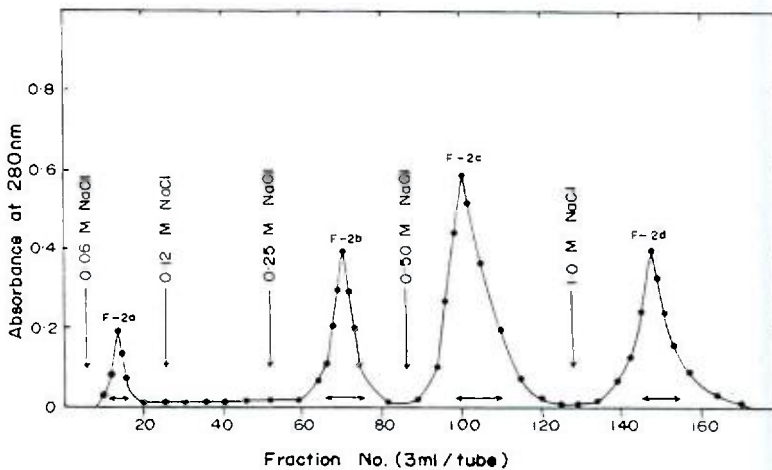
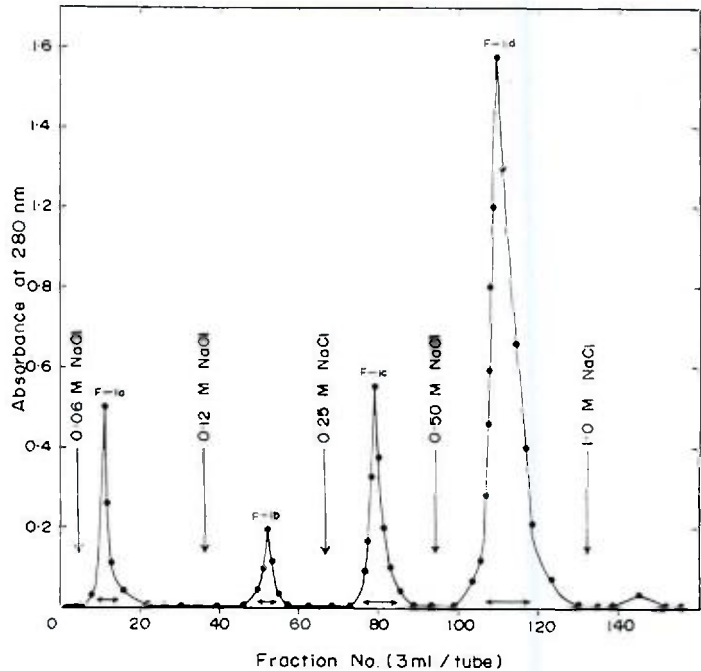


Fig. 3: Stepwise ion exchange chromatography of F-2 fraction on DEAE-cellulose column at 4 °C.

Column (2.22 × 22 cm) was eluted with 10 mM Tris-HCl, pH 8.4, containing NaCl at a flow rate of 35 ml/hr.

Fig. 3 : Chromatographie graduelle en échange d'ions de la fraction F-2 sur une colonne de DEAE-cellulose à 4 °C.

La colonne (2,22 × 22 cm) a été éluée à une vitesse d'écoulement de 35 ml/h avec le tampon 10 mM Tris-HCl, pH 8,4, contenant du NaCl.

Characterization of protein:

The molecular weights of the proteins were determined by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis using lysozyme from hen egg white (Mr 14,600), trypsin from bovine pancreas (Mr 23,000), bovine serum albumin (Mr 66,000), β -galactosidase from *Escherichia coli* (Mr 116,000) and β -amylase from sweet potato (Mr 200,000) as reference proteins. The proteins, F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a and F-2b, gave single bands whereas F-2c and F-2d gave more than one band on SDS-polyacrylamide gel (Fig. 4). The molecular weights of the proteins F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a and F-2b were estimated to be 204,170, 190,540, 177,820, 79,430, 79,400 and 47,860, respectively.

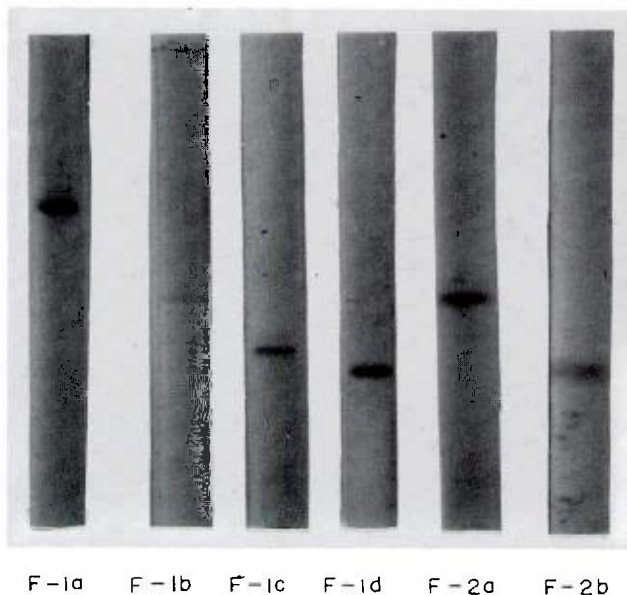


Fig. 4: SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of the proteins on 10% gel at pH 7.2.

Fig. 4 : Electrophorèse des protéines sur gel polyacrylamide-SDS à 10 %, pH 7,2.

The proteins agglutinated specifically albino rat and sheep red blood cells. The agglutination was found to be more pronounced in the case of rat red blood cells than in that of sheep blood cells since a lesser degree of sheep red blood cells was agglutinated in comparison with the rat red blood cells when protein concentration remained constant. The agglutination of rat blood cells by F-1a and F-1b was found to be specifically inhibited by D-galactose and that of F-2a and F-2b was inhibited by D-mannose (Table I). Further, agglutination by F-1a and F-2b was also found to be inhibited by another sugar, D-glucosamine. The agglutination by F-1c and F-1d was not inhibited by any of the four sugars tested. Further study is needed to determine the sugar specificity of F-1c and F-1d.

The protein gave a yellow orange color with phenol-sulfuric acid, indicating that the proteins were attached with sugar, i.e., the proteins are glycoproteins. The presence of sugar in the proteins was also confirmed from the finding that all the six proteins gave a pinkish red band on polyacrylamide gel, when the gels were stained after electrophoresis with PAS-reagent, as reported by Zaccharius *et al.* (1969) (Fig. 5). The neutral sugar contents of F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a and F-2b were estimated to be 3.4%, 2.6%, 4.4%, 1.4%, 4.6% and 11.0%, respectively. It is not clearly understood at this moment why F-2b protein contained such a higher percentage of sugar. One cause may be the presence

of a small amount of coloring material in this protein fraction, giving a higher value in colorimetric estimation.

Table I. Inhibition of hemagglutination activity in the presence of saccharides.

Tableau I. Inhibition de l'activité d'hémagglutination en présence de saccharides.

Protein / Protéine	Saccharide	Concentration (mM)	Inhibition
F-1a	D-glucose	110	NI
	D-galactose	28	I
	D-mannose	110	NI
	D-glucosamine	15	I
F-1b	D-glucose	110	NI
	D-galactose	28	I
	D-mannose	110	NI
	D-glucosamine	110	NI
F-2a	D-glucose	110	NI
	D-galactose	110	NI
	D-mannose	15	I
	D-glucosamine	110	NI
F-2b	D-glucose	110	NI
	D-galactose	110	NI
	D-mannose	20	I
	D-glucosamine	15	I

NI: No inhibition / Pas d'inhibition. I: Inhibition.

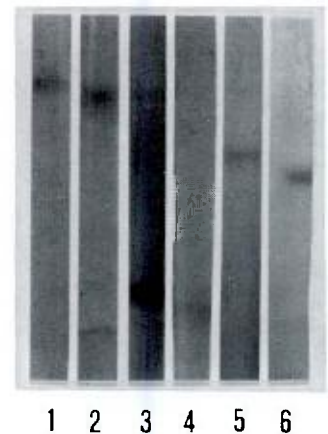
Fig. 5: Polyacrylamide gel electrophoresis of the proteins on 7.5% gel at pH 8.5.

The gels were stained with periodic acid Schiff's reagent as described by Zaccharius *et al.* (1969).

Fig. 5 : Electrophorèse des protéines sur gel de polyacrylamide à 7,5 %, pH 8,5.

Les gels ont été colorés avec le réactif à l'acide périodique de Schiff, selon la méthode décrite par Zaccharius *et coll.* (1969).

1: F-1a. 2: F-1b. 3: F-1c. 4: F-1d. 5: F-2a. 6: F-2b.



The proteins, F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a, and F-2b, gave absorption maxima at 280, 278, 280, 279, 276 and 279 nm, and absorption minima at 245, 243, 245, 244, 242 and 242 nm, respectively (Figure not shown). Again, absorption of 1.0 at 280 nm/ml for F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a and F-2b was found to be equal to 1.0, 0.6, 0.7, 1.35, 1.3 and 0.54 mg of protein by drying the protein solution under vacuum. Very similar results were also obtained when protein concentrations were measured by the Folin-Lowry method (Table II).

Table II. Optical density (OD)-concentration (in mg) relationship of the proteins.

Tableau II. Relation entre les mesures densitométriques (DO) et la concentration (en mg) en protéines.

Proteins	OD of protein at 280 nm	mg of protein /ml by dry basis	mg of protein/ml by Lowry's method
<i>Protéines</i>	<i>DO des protéines à 280 nm</i>	<i>mg de protéines/ml (pesée poids sec)</i>	<i>mg de protéines/ml selon la méthode de Lowry</i>
F-1a	1.0	1.00	0.85
F-1b	1.0	0.60	0.52
F-1c	1.0	0.70	0.64
F-1d	1.0	1.35	1.18
F-2a	1.0	1.30	1.08
F-2b	1.0	0.54	0.50

CONCLUSION

Mulberry leaf proteins are purified for the first time. As the proteins are glycoproteins in nature, these proteins may be used in the typing of blood groups, for purification of glyco-conjugates, for the study of simple and complex carbohydrates in solutions and on cell surfaces, etc. In addition, this work would be useful to sericologists, biochemists and geneticists, for investigation a variety of problems both fundamental and applied. These include: (i) studying the biological values of different mulberry leaf proteins, (ii) studying the role of proteins in silkworm nutrition by supplementing the proteins with artificial diet, (iii) studying the role of different mulberry leaf proteins in producing silk protein by knowing their amino acid composition, (iv) studying the gene homology between different varieties of mulberry leaves, and (v) site-directed mutagenesis of protein gene may pave the way for the development of methods for the nutritional improvement of poorly characterized mulberry leaf proteins.

REFERENCES

ANONYMOUS (1975) Textbook on Tropical Sericulture. Japan Overseas Corporation, Tokyo, pp. 154-166.

- DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., REBERS P.A., SMITH F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350-356.
- FUKUDA T. (1960) Biochemical studies on the formation of silk protein. XI: The direct and indirect formation of silk protein during the growth of silkworm larvae. *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 24(4), 396-401.
- HIRANO H. (1982) Varietal differences of leaf protein profiles in mulberry. *Phytochemistry*, 21(7), 1513-1518.
- McGINNIS A.J., KASTING R. (1972) Quantitative nutrition and evaluation of protein in foods of phytophagous insects. In *Insect and Mite Nutrition*. Ed. by J.G. Rodriguez, University of Kentucky, pp. 57-71.
- LIN J.-N., LEE T.-C., HU S.-T., TUNG T.-C. (1981) Isolation of four isotoxic proteins and one agglutinin from jequiriti bean (*Abrus precatorius*). *Toxicon.*, 19, 41-51.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FASRA A.L., RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 183, 265-275.
- ONSTEIN L. (1965) Disc electrophoresis. I: Background and theory. *Ann. New York Acad. Sci.*, 121, 321-349.
- SOO HOO C.F., FRANKEL G. (1966) The consumption, digestion and utilization of food plants by a polyphagous insect, *Prodenia eridania*. *J. Insect Physiol.*, 12, 711-730.
- ULLAL S.R., NARASIMHANNA M.N. (1981) *Handbook of Practical Sericulture*. Central Silk Board, India, 2nd edition, 11 pp.
- WEBER K., OSBORN M. (1969) The reliability of molecular weight determination by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 244, 4406-4412.
- ZACCHARIUS R.M., ZELL T.F., MORRISON J.H., WOODLOCK J.J. (1969) Glycoprotein staining following electrophoresis on polyacrylamide gel. *Anal. Biochem.*, 30, 148-152.

PURIFICATION ET CARACTERISATION DE SIX PROTEINES EXTRAITES DE FEUILLES DE LA VARIETE DE MURIER BM-3

N. ABSAR*, M. ABDUS SATTER & A. AZIZ SARKER

Department of Biochemistry, University of Rajshahi, Rajshahi 6205, Bangladesh.

Des protéines de feuilles de la variété de mûrier BM-3 cultivée en arbuste ont été purifiées. La méthode a été réalisée par filtration sur gel d'un extrait brut de sulfate d'ammonium saturé à 100 % sur Sephadex G-75 puis par chromatographie d'échange d'ions sur DEAE-cellulose. L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide révèle que les six protéines sont homogènes. Les poids moléculaires des protéines sont estimés à 204 170, 190 540, 177 820, 79 430, 79 400 et 47 860 d'après l'électrophorèse sur gel SDS-polyacrylamide. Les protéines agglutinent spécifiquement des cellules sanguines de rat albinos et de mouton. L'agglutination des cellules sanguines rouges de rat par F-1a et F-1b est inhibée par la D-galactose, tandis que celle obtenue par F-2a et F-2b est inhibée par la D-mannose. La D-glucosamine inhibe l'agglutination de F-1a et F-2b. Les protéines présentent des maxima d'absorption d'environ 276 à 280 nm et des minima d'absorption d'environ 242 à 245 nm. Les protéines sont de nature glycoprotéique, avec une teneur en sucres neutres de 1,4 à 11,0 %.

INTRODUCTION

Pratiquement tous les éléments de type organique existant dans la nature peuvent être utilisés comme nourriture par les insectes. Les protéines fournissent les principaux éléments structurels des muscles, des glandes et autres tissus. Les acides aminés dérivés de la digestion des protéines sont parmi les plus importants éléments bruts nécessaires à la croissance des insectes. McGinnis et Kasting (1972) ont observé que tous les insectes ont besoin de protéines pour une croissance, un développement et une reproduction optimale. Il a également été observé que les feuilles contenant moins de protéines sont inadéquates du point de vue nutritionnel à la croissance de *Prodenia eridana* car elles entraînent une prolongation de la vie larvaire et une diminution du gain de poids (Soo Hoo et Frankel, 1966).

La soie est une fibre protéique composée de fibroïne et de séricine. Ces protéines sont synthétisées dans deux glandes séricigènes par le ver à soie *Bombyx mori* L. à partir de la feuille de mûrier dont il se nourrit au cours de son stade larvaire, qui dure de 20 à 30 jours (Ullal et Narasimhanna, 1981). On sait qu'environ 70 % de la soie produite par le ver à soie est directement dérivée des protéines des feuilles de mûrier (Fukuda, 1960). La feuille de mûrier contient 3 à 5 % de protéines pour 100 g de feuilles fraîches. Les principaux composants des protéines de feuilles de mûrier sont la glycine, l'alanine, la valine, la leucine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, la phénylalanine, la proline, l'hydroxyproline, la cystéine, la cystine, etc. (Anonyme, 1975).

Hirano (1982) a séparé les composants des protéines chez des feuilles de 20 jours de 17 variétés de mûrier par PAGE-SDS urée et a observé que ces variétés présentaient toutes le même profil protéique. Cet article décrit la purification et la caractérisation de six protéines de feuilles de mûrier. La variété de mûrier BM-3 a été sélectionnée car elle est relativement supérieure du point de vue

* Auteur auquel doit être adressée la correspondance.

nutritif aux autres variétés cultivées au Bangladesh. Ces travaux pourront faciliter l'étude du rôle des différentes protéines foliaires dans la nutrition des vers à soie.

MATERIELS ET METHODES

Des feuilles de la variété de mûrier BM-3 (*Morus sp.*) cultivée en taille basse ont été prélevées au *Bangladesh Sericultural Research and Training Institute*, Rajshahi. Le Sephadex G-75, la DEAE-cellulose et les marqueurs de poids moléculaire proviennent de Sigma Chemical Co., Etats-Unis.

Préparation de l'extrait brut :

Des feuilles tendres de la variété de mûrier BM-3 cultivée en taille basse ont été coupées en petits morceaux puis homogénéisées au broyeur. La température a été maintenue à 4 °C en mettant de la glace dans le compartiment externe du broyeur. La préparation a ensuite été mélangée uniformément à de l'eau distillée prérefrigérée (2 ml/g), conservée pendant 3 heures à 4 °C et remuée de temps en temps. La suspension a ensuite été filtrée à travers une couche double de gaze dans la chambre froide. Le filtrat a été éclairci par centrifugation à 8 000 tours/minute à 4 °C pendant 15 minutes. Le surnageant obtenu a été saturé à 100 % en ajoutant du sulfate d'ammonium solide et mélangé doucement. Le précipiat a été dissous dans un volume minimal d'eau distillée et dialysé contre de l'eau distillée pendant une nuit à 4 °C. Après centrifugation, le surnageant éclairci a été utilisé comme extrait brut et conservé dans un congélateur pour les expériences.

Purification des protéines :

L'extrait brut a été dialysé contre de l'eau distillée pendant 12 h et contre une solution saline de tampon phosphate à 5 mM, pH 7,8, à 4 °C pendant 24 h. Après centrifugation, le surnageant éclairci a été chargé sur Sephadex G-75 préalablement équilibré avec le même tampon et les protéines ont été éluées de la colonne avec le même tampon. Les fractions protéiques obtenues après filtration sur gel ont été regroupées, dialysées contre 10 mM Tris-HCl, pH 8,4, à 4 °C et appliquées sur une colonne DEAE-cellulose préalablement équilibrée avec le même tampon. Les protéines ont été éluées de la colonne par élution graduelle avec le même tampon additionné de NaCl.

Electrophorèse sur gel de polyacrylamide sulfate dodécyl sodium (SDS) :

Une solution protéique contenant 0,5 à 1,0 mg/ml a été ajustée pour contenir 0,1 % SDS et 0,1 M phosphate de sodium, pH 7,2, puis 25 à 50 µl ont été étalés en couches sur les gels de polyacrylamide (10 % acrylamide, 0,2 % diméthyl-bis acrylamide). L'électrophorèse a été réalisée selon le protocole décrit par Weber et Osborn (1969). Les gels ont été soumis à une électrophorèse à 3 mA par tube, longueur du gel : 5,8 cm. L'électrophorèse a été réalisée à température ambiante en utilisant un tampon phosphate de sodium 0,1 M, pH 7,2, contenant 0,1 % SDS. Les gels ont été colorés avec 0,1 % de bleu brillant de Coomassie R-250 et décolorés dans de l'acide acétique à 7 %.

Activité d'hémagglutination :

Les activités d'hémagglutination des protéines ont été étudiées avec des cellules sanguines de rat albinos et de mouton (concentration finale : 2 %) suivant le protocole décrit par Lin et coll. (1981). L'étude de l'inhibition de l'hémagglutination a été réalisée de la même façon avec des cellules sanguines de rat en présence de divers sucres.

Dosage des hydrates de carbone :

La teneur totale en hydrates de carbone a été déterminée par la méthode du phénol-H₂SO₄ (Dubois et coll., 1956) avec du glucose comme sucre standard. Deux ml de solution protéique (0,5 mg/ml) ont été mélangés à 1 ml de phénol à 5 % et 5 ml d'H₂SO₄ concentré ont été ajoutés rapidement. Le tube a été placé verticalement pendant 10 minutes. Il a ensuite été remué doucement et incubé entre 25 et 30 °C pendant 20 minutes dans l'obscurité. L'absorbance a ensuite été mesurée à 490 nm.

La présence de sucres dans les protéines a également été détectée par le réactif acide de Schiff (PAS). Les protéines ont été soumises à électrophorèse sur gel circulaire de polyacrylamide à température ambiante, pH 8,4, sur un gel à 7,5 % selon le protocole décrit par Onstein (1964). Les gels ont été colorés avec le réactif PAS suivant la procédure décrite par Zaccharius et coll. (1969) et décolorés dans de l'acide acétique à 7 %.

Concentration en protéines :

La concentration en protéines a été déterminée d'après la méthode de Lowry et coll. (1951) avec de la sérulalbumine bovine comme standard.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les protéines s'éluent selon un pic mineur F-1 et un pic majeur F-2 (Fig. 1). Ces fractions F-1 et F-2, indiquées par les traits pleins, ont été regroupées et purifiées par chromatographie d'échanges d'ions sur une colonne DEAE-cellulose. Comme le montre la figure 2, les composants de la fraction F-1 ont été séparés en quatre pics à différentes concentrations de NaCl. Le premier pic (F-1a) a été élué dans un tampon 10 mM Tris-HCl, pH 8,4, contenant 0,06 M NaCl, tandis que les autres pics (F-1b, F-1c et F-1d) ont été élués dans des tampons contenant respectivement 0,12 M, 0,25 M et 0,50 M NaCl. La fraction F-2 a été également éluée sur la colonne de DEAE-cellulose et on observe qu'elle se divise en quatre fractions avec le même tampon à différentes concentrations de NaCl (Fig. 3). La fraction F-2a a été éluée avec le tampon contenant 0,06 M NaCl tandis que les fractions F-2b, F-2c et F-2d ont été éluées de la colonne avec des tampons contenant respectivement 0,25 M, 0,50 M et 1,0 M NaCl.

Toutes ces fractions (F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a et F-2b) contiennent des protéines pures car elles donnent des bandes simples par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (Figure non présentée). Les fractions F-2c et F-2d contiennent des mélanges de protéines car elles donnent plus d'une bande (Figure non présentée). Ces deux fractions n'ont pas pu être purifiées davantage car elles contiennent essentiellement du matériel coloré et peu de protéines d'un poids moléculaire faible.

Caractérisation des protéines :

Les poids moléculaires des protéines ont été déterminés par électrophorèse sur gel polyacrylamide-SDS avec du lysozyme de blanc d'oeuf de poule (Mr 14 600), de la trypsine de pancréas bovin (Mr 23 000), de la sérulalbumine bovine (Mr 66 000), de la β -galactosidase d'*Escherichia coli* (Mr 116 000) et de la β -amylase de patate douce (Mr 200 000) comme protéines de référence. Les protéines F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a et F-2b donnent des bandes simples tandis que F-2c et F-2d donnent plus d'une bande sur gel polyacrylamide-SDS (Fig. 4). Les poids moléculaires des protéines F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a et F-2b sont estimés respectivement à 204 170, 190 540, 177 820, 79 430, 79 400 et 47 860.

Les protéines agglutinent spécifiquement des cellules sanguines de rat albinos et de mouton. L'agglutination est plus marquée pour les cellules sanguines de rat que pour celles de mouton puisque les cellules sanguines de mouton sont agglutinées en quantités plus faibles que les cellules sanguines de rat lorsque la concentration en protéines reste constante. L'agglutination des cellules sanguines de rat par F-1a et F-1b est inhibée spécifiquement par le D-galactose et l'agglutination par F-2a et F-2b est inhibée par le D-mannose (Tableau I). L'agglutination par F-1a et F-2b est inhibée par un autre sucre, la D-glucosamine. L'agglutination par F-1c et F-1d n'est inhibée par aucun des quatre sucres testés. Des études complémentaires sont nécessaires pour déterminer la spécificité aux sucres de F-1c et F-1d.

Les protéines prennent une couleur jaune-orange en présence de phénol-acide sulfurique ; ce qui indique que les protéines sont attachées avec du sucre, c'est-à-dire qu'il s'agit de glycoprotéines. La présence de sucres dans les protéines est également confirmée par l'obtention d'une bande rouge-rosâtre pour toutes les protéines sur gel de polyacrylamide lorsque les gels sont colorés après électrophorèse avec un réactif PAS, comme l'ont observé Zaccharius et coll. (1969) (Fig. 5). Les contenus en sucres neutres de F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a et F-2b ont été estimés respectivement à

3,4 %, 2,6 %, 4,4 %, 1,4 %, 4,6 % et 11,0 %. A ce stade, il est difficile d'expliquer pourquoi la protéine F-2b contient un pourcentage si élevé de sucres. L'une des causes pourrait être la présence d'une petite quantité de colorant dans cette fraction de la protéine entraînant une valeur supérieure dans l'évaluation colorimétrique.

Les protéines F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a et F-2b donnent respectivement des maxima d'absorption de 280, 278, 280, 279, 276 et 279 nm et des minima d'absorption de 245, 243, 245, 244, 242 et 242 nm (Figure non présentée). L'absorption de 1,0 à 280 nm obtenue pour F-1a, F-1b, F-1c, F-1d, F-2a et F-2b est égale à 1,0, 0,6, 0,7, 1,35, 1,3 et 0,54 mg/ml de protéines, valeurs obtenues en séchant la solution protéique sous vide. Des résultats tout à fait similaires sont obtenus lorsque les concentrations protéiques sont mesurées d'après la méthode Folin-Lowry (Tableau II).

CONCLUSION

Des protéines de feuilles de mûrier sont purifiées pour la première fois. Ces protéines étant des glycoprotéines, elles peuvent être utilisées dans la caractérisation des groupes sanguins ou pour purifier les glycoconjugués, étudier les hydrates de carbones simples et complexes dans des solutions ou à la surface des cellules, etc. De plus, ces résultats pourront être utilisés par les sériciculteurs, les biochimistes et les généticiens car ils concernent un grand nombre de problèmes aussi bien au niveau appliqué qu'au niveau fondamental. Ceux-ci comprennent : 1) l'étude des valeurs biologiques de différentes protéines de feuilles de mûrier, 2) l'étude du rôle des protéines dans la nutrition du ver à soie en additionnant les protéines aux aliments artificiels, 3) l'étude du rôle de différentes protéines de feuilles de mûrier dans la production de protéines de soie en déterminant leur composition en acides aminés, 4) l'étude de l'homologie des gènes entre feuilles de mûrier de différentes variétés et 5) la mutagenèse liée au site du gène des protéines pourrait permettre l'élaboration de méthodes d'amélioration nutritionnelle des protéines de feuilles de mûrier mal caractérisées.

POPULATION DYNAMICS OF *CERVAPHIS QUERCUS* TAKAHASHI (HOMOPTERA: APHIDIDAE) ON *QUERCUS SERRATA* THUNBERG (FAGACEAE) IN RELATION TO DENSITY-DEPENDENT AND INDEPENDENT FACTORS

K. SHANTIBALA, R. VARATHARAJAN & T.K. SINGH

Department of Life Sciences, Manipur University, Imphal - 795003, India.

The population fluctuation of Cervaphis quercus has been studied for three years (1989-91) on Quercus serrata at the Tasar Research Station, Manipur (northeast India). The density of this aphid species was correlated with the abundance of predators like coccinellids, syrphids and neuropteran insects and also with certain abiotic factors such as mean temperature, relative humidity and total rainfall. Significant positive correlation was obtained between the aphid host and the predators whereas comparatively weak positive correlation was seen with C. quercus and density-independent factors.

Keywords: *Cervaphis quercus*, *Quercus serrata*, population, aphidophagous predators.

INTRODUCTION

The oak plant, *Quercus serrata* Thunberg, is the primary host of *Antheraea proylei* Jolly, which grows abundantly as a mixed population between the altitudes of 750 m and 2000 m MSL in northeast India (Tikoo, 1988). Many species of insects use *Q. serrata* as food plant in India (Feeny, 1970) and among them, aphids form a significant group in view of the fact that as many as eight species of aphids have been reported to feed on *Q. serrata* (Singh, 1992), of which the oak aphid, *Cervaphis quercus* Takahashi, is considered as the dominant species, infesting both the abaxial and adaxial sides of young leaves as well as apical shoots of *Q. serrata* (Singh *et al.*, 1991). *C. quercus* is a monophagous species, whose occurrence in India has been reported from the oak-growing areas of northeastern regions like Manipur, Meghalaya and Nagaland. The alate males and alate oviparous morphs of this aphid have been described recently (Shantibala *et al.*, in press). The available literature on *C. quercus* is scanty except for the taxonomic information (Hille Ris Lambers, 1956; Mandal *et al.*, 1986). Considering its association with the single plant host, *Q. serrata*, an attempt has been made here on the seasonal abundance of *C. quercus* in relation to certain biotic and abiotic factors.

MATERIALS AND METHODS

In order to study the population trend of *Cervaphis quercus* on *Q. serrata*, leaf samples were collected periodically at the interval of 15 days from the oak fields of the Regional Tasar Research Station, Manipur. Samples were collected at random at the rate of one per plant and a total of 10 samples were examined every time by keeping the sample size 10 cm length of young twigs. The method followed here was similar to that of the delayed counting method proposed by Irwin and Yeager (1980). The study was carried out over a period of three years, i.e., January 1989 to December 1991, and the data were gathered continuously for the above period with the exception of the pruning period. Pruning of the oak plants is part of the cultural practice, done every year preferably during December and the plants usually recover in February or early March. While collecting the data on the

density of *C. quercus*, care was taken to count all the morphic individuals of the aphid, besides the abundance of associated insects such as coccinellids, syrphids and neuropterans in that aphid colony. In order to correlate the incidence of the aphid species with that of various abiotic factors, meteorological data of the oak field environment were also gathered for the duration concerned and these data were analysed statistically.

RESULTS

The three years' data on the incidence and occurrence of *C. quercus* revealed that the infestation of the aphid usually commences in February/March, coinciding with the sprouting of young leaves soon after pruning. The population of the aphid is maintained till November with the peak abundance in May (Fig. 1). However, this trend showed slight variation during 1989 because of high precipitation in July 1989, which perhaps reduced the incidence of *C. quercus* to a great extent. During the month of maximum occurrence, i.e., in May, an average of 295 aphids including all the morphs of the aphid was observed per sample size of 10 cm twig. The consolidate data on the composition of different morphs for the three consecutive years (1989-91) showed that the percentage of nymphs was dominant (93%) in terms of numerical abundance in comparison to apterous (6.5%) and alate (0.5%) morphs of *C. quercus*. Besides, the sexual forms of both male and female alates were also collected from the field during May to October. The female sexual form outnumbered the male (6 females:1 male) but the density of the former was negligible.

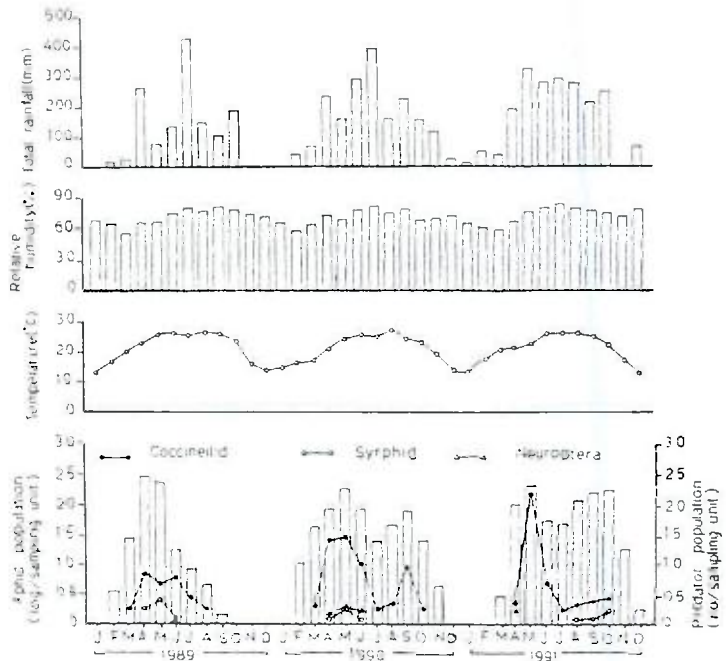


Fig. 1: Population fluctuation of *Cervaphis quercus* in relation to biotic and abiotic factors.

Fig. 1 : Fluctuations des populations de Cervaphis quercus en fonction des facteurs biotiques et abiotiques.

Although the occurrence of the density of different forms of the aphid exhibited variations during the period of observation (1989-1991), the incidence pattern of nymphs, alate and apterous forms

showed an almost similar trend in all three years. The simple correlation between the density of total aphids with that of the density-independent factors revealed a positive correlation with temperature and rainfall, individually, whereas with relative humidity the population showed no significant relation (Table I).

Table I. Correlation of aphid density with biotic and abiotic factors.

Tableau I. Corrélation entre la densité des aphididés et les facteurs biotiques et abiotiques.

Period	Biotic factors			Abiotic factors		
	Coccinellids	Syrphids	Neuroptera	Temperature	Rainfall	Humidity
Période	Facteurs biotiques			Facteurs abiotiques		
	Coccinellidés	Syrphidés	Neuroptères	Température	Précipitations	Humidité
1989-1991	0.68	0.68	0.40	0.43	0.44	0.09*

* Non significant at the 5% level / Non significatif au seuil de 5 %.

In addition to these factors, the natural enemies too play a role in the regulation of *C. quercus*. During the period between 1989 and 1991, as many as 15 species of aphidophagous predators were encountered in the colonies of *C. quercus* (Fig. 2) and their density as well as period of occurrence almost coincided with the abundance of aphid population (Fig. 1). Among them, 11 were coccinellids, 3 were syrphids and one was a neuropteran predator. The seasonal occurrence of various aphidophagous predators of *C. quercus* has been provided in Fig. 2. Although most of its natural enemies have been observed during April to June, a few predators like *O. quadripunctata* and *H. dimidiata* were observed for a longer duration than the rest. The correlation based on the density of both the prey and the predators showed significant positive correlations between them (Table I).

DISCUSSION

Aphids, being one of the soft-bodied insects, are vulnerable to both biotic and abiotic interferences (Dixon, 1985). In certain situations, the abiotic factors take the upper hand in the natural regulation of aphids as instances like *Myzus persicae* on potato (Lal and Verma, 1986; Raj and Verma, 1989) and *Lipaphis erysimi* on mustard (Bakhetia *et al.*, 1986; Singh *et al.*, 1989; Sachan and Gangwar, 1990; Ahuja, 1990; Roy and Pande, 1991), but invariably the populations of aphids are regulated by a combined influence of density-dependent and independent factors, which can be seen in any thoroughly studied system dealing with the interactions of both biotic and abiotic parameters with that of the aphid species. For instance, such an interplay is observed among the bean aphid (Davies, 1972; Hijam and Singh, 1989; Faleiro *et al.*, 1990), the rose aphid (Agarwala and Raychaudhuri, 1981; Rana and Bisht, 1989) and the *Prunus* aphid (Varatharajan *et al.*, in press), etc.

The results pertaining to *C. quercus* in the present investigation revealed that both these factors influence the maintenance of aphid abundance. However, the statistical analysis showed a high positive correlation ($P < 0.05$) between aphids and predators, reflecting that the increase in the population of the predator was proportional to that of the aphid density. Such a host-dependent increase in the population of the predator has also been observed in different species of

aphid-aphidophagous systems (Saha and Agarwala, 1986; Agarwala *et al.*, 1988). The increase in the numerical abundance of the latter is obviously expected to bring down the aphid infestation to a lesser degree (Makhnoor and Verma, 1989; Rana and Bisht, 1989), which has also been observed in the three years of observation (Fig. 1). While analysing the effect of density-independent factors such as temperature, relative humidity and rainfall, the data showed weak positive correlation with that of aphid population (Table I). Generally it appears from the literature that high humidity has no adverse effect on the aphid density whereas a rise in temperature and rainfall and a decrease in humidity are not favourable for the colonisation of aphids (Gupta and Yadava, 1990; Sinha *et al.*, 1990; Ahuja, 1990). Hence, one would expect a negative correlation between the number of aphids and temperature/rainfall, but a negative correlation was obtained in this case (Table I). Since the average temperature in the present study ranged from 16 to 26 °C for various months, the population build-up of this species was perhaps not affected much and particularly during April to June the aphid density attained maximum during which the temperature was found to be 24 ± 1 °C (Fig. 1).

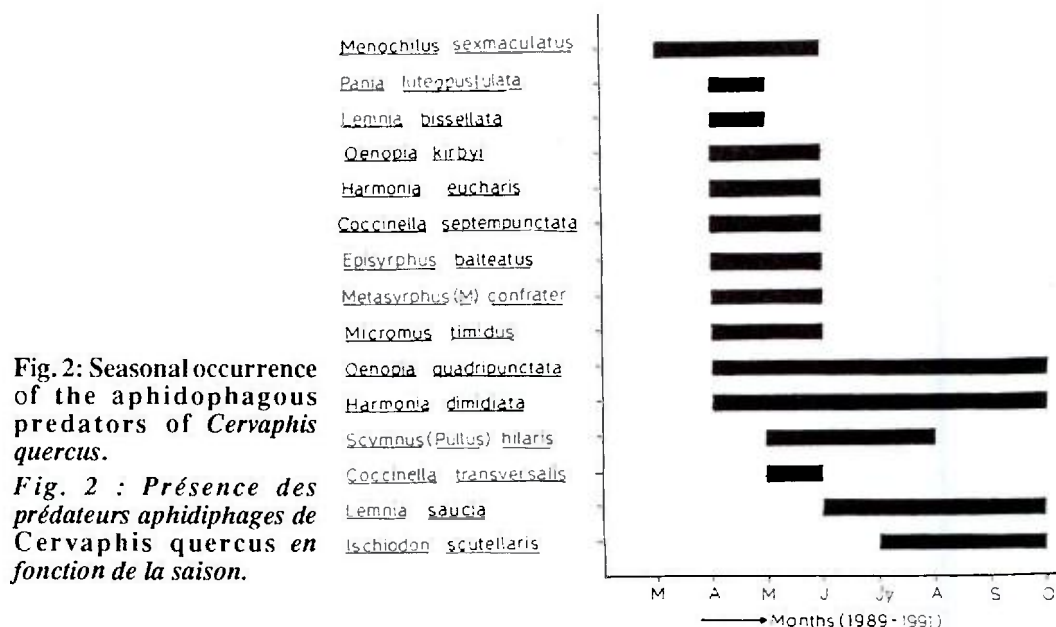


Fig. 2: Seasonal occurrence of the aphidophagous predators of *Cervaphis quercus*.

Fig. 2 : Présence des prédateurs aphidiphages de *Cervaphis quercus* en fonction de la saison.

Similarly, the positive correlation between the number of *C. quercus* and total rainfall revealed that to some extent rainfall influences the colonisation of oak aphids. Such a positive relation may be explained by means of the number of rainy days/month as well as the intensity of precipitation/day. The meteorological data gathered from the study site for the years 1989 to 1991 indicated that the rainfall, particularly during the periods of high precipitation, was spread over a span of 20 to 25 days/month with an average of 12.6 mm rain/rainy day. This low intensity of rainfall with other conducive climatic factors enables the flush growth of *Q. serrata*, which in turn attracts and hosts the aphid, *C. quercus*. When the aphid colony gradually increases in density, the aphidophagous insects arrive at the site and regulate their prey density on *Q. serrata*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to the Head, Department of Life Sciences, Manipur University, for working facilities and to CSIR, New Delhi, for financing the work partly.

REFERENCES

- AGARWALA B.K., RAYCHAUDHURI D.N. (1981) Parasites and predators of aphids (Homoptera: Aphididae) in Northeastern India. IV. Entomon., 6(3), 209-211.
- AGARWALA B.K., BHAUMIK A.K., DAS S. (1988) Bionomics of the aphidophagous cecidomyiid, *Monobremia rishikeshensis* Grover (Diptera), in India. J. Biol. Control, 2(2), 89-91.
- AHUJA D.B. (1990) Population dynamics of mustard aphid, *Lipaphis erysimi* (Kalt), on Indian mustard, *Brassica juncea*. Indian J. Plant Protection, 8, 233-235.
- BAKHETIA D.R.C., BRAR K.S., SEKHON B.S.S. (1986) Seasonal incidence of *Lipaphis erysimi* (Kalt) on the *Brassica* species in Punjab. Aphidology in India, 29-36.
- DAVIES J.C. (1972) Studies of the ecology of *Aphis craccivora* Koch (Hem., Aphididae), the vector of rosette disease of groundnuts in Uganda. Bull. Ent. Res., 62, 169-181.
- DIXON A.F.G. (1985) Aphid ecology: life cycle polymorphism and population regulation. Ann. Rev. Ecol. Syst., 8, 329-353.
- FALEIRO J.R., SINGH K.M., SINGH R.N. (1990) Influence of abiotic factors on the population build-up of important insect pests of cowpea, *Vigna unguiculata* (L) Walp, and their biotic agents recorded at Delhi. Indian J. Ent., 52(4), 675-680.
- FEENY P. (1970) Seasonal changes in oak leaf tanins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. Ecology, 51, 565-581.
- GUPTA B.M., YADAVA C.P.S. (1990) Seasonal incidence of aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), on cumin in semi-arid Rajasthan. Indian J. Ent., 52(3), 465-469.
- HIJAM B.S., SINGH T.K. (1989) Seasonal incidence of *Aphis craccivora* Koch on cowpea, *Vigna unguiculata* (L) Walp, in Manipur. J. Aphidology, 3(1&2), 68-72.
- HILLE RIS LAMBERS D. (1956) A revision of the genus *Cervaphis* v.d. Goot, 1917 (Homopt., Aphid.). Ent. Ber., 16, 130-136.
- IRWIN M.E., YEARGEN K.V. (1980) Sampling phytophagous thrips on soybean. In Sampling Methods in Soybean Entomology. Ed. M. Kogan and D.C. Herzog, Springer Verlag, New York, 250 pp.
- LAL K., VERMA K.D. (1986) Population build-up of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) on potato in Shillong. Aphidology in India, 51-53.
- MAKHMOOR H.D., VERMA A.K. (1989) The intrinsic rate of natural increase of *Metasyrphus confrater*, a predator of cabbage aphid. Proc. Indian Nat. Sci. Acad., 1355(2), 79-84.
- MANDAL A.K., SAHA S., CHAKRABARTI S. (1986) Oak-inhabiting aphids (Homoptera: Aphididae) of western and northwest Himalaya. Rec. Zoo. Sur. India, 3&4, 1-18.
- RAJ B.J., VERMA K.D. (1989) Population fluctuation of *Myzus persicae* (Sulzer) on potato crop in Maharashtra. J. Aphidology, 3(1&2), 64-67.
- RANA D.S., BISHT R.S. (1989) Population dynamics of *Macrosiphum rosaeiformis* Das in Garhwar (U.P.). J. Aphidology, 3(1&2), 82-85.
- ROY D.C., PANDE Y.D. (1991) Biology and seasonal incidence of *Lipaphis erysimi* Kalt. (Aphididae: Homoptera) on cabbage in Tripura. Bioved, 2(1), 37-42.
- SACHAN J.N., GANGWAR S.K. (1990) Seasonal incidence of insect pests of cabbage, cauliflower and knol-khol. Indian J. Ent., 52(1), 111-124.
- SAHA J.L., AGARWALA B.K. (1986) Population trends of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) and its natural enemies on egg plant, *Solanum melongena* Linn. Aphidology in India, 13-18.
- SHANTIBALA K., SINGH T.K., AGARWALA B.K. Description of hitherto unknown morphs of *Cervaphis quercus* Takahashi (Homoptera: Aphididae) from Northeast India. Entomon., in press.
- SINHA R.P., YAZDANI S.S., VERMA G.D. (1990) Population dynamics of mustard aphid, *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Homoptera: Aphididae), in relation to ecological parameters. Indian J. Ent., 52(3), 387-392.

- SINGH N.N., PRASAD M.N., RAI V.N. (1989) Population fluctuation of *Lipaphis erysimi* (Kalt.) in relation to abiotic factors. *J. Aphidology*, 3(1&2), 102-108.
- SINGH K.C., DEVI K.S., SINGH L.S., SINGH T.K. (1991) Insect pests of oak sap-sucking aphids of northeastern India. *Indian Silk*, Jan., 22-25.
- SINGH T.K. (1992) Technical Report of the CSIR Project on Biosystematics and Bioecology of Aphids and their Natural Enemy Complex on Fagaceous Plants in Manipur. 13 pp.
- TIKOO B.L. (1988) Oak Tasar Culture. Central Silk Board, Regional Tasar Research Station, Imphal, 13 pp.
- VARATHARAJAN R., SINGH T.K., SHANTIBALA K. Preliminary observations on the abundance of *Hyalopterous pruni* (Geoff.) (Homoptera: Aphididae) in relation to certain biotic and abiotic factors. *J. Aphidology*, in press.

DYNAMIQUE DES POPULATIONS DE *CERVAPHIS QUERCUS* TAKAHASHI (HOMOPTERA : APHIDIDAE) SUR *QUERCUS SERRATA* THUNBERG (FAGACEAE) EN FONCTION DES FACTEURS LIES OU NON A LA DENSITE

K. SHANTIBALA, R. VARATHARAJAN & T.K. SINGH

Department of Life Sciences, Manipur University, Imphal - 795003, Inde.

Les fluctuations de population de Cervaphis quercus sur Quercus serrata ont été étudiées sur une période de 3 ans (1989 à 1991) à la Tasar Research Station de Manipur (nord-est de l'Inde). La densité de cet aphididé est corrélée à l'abondance de prédateurs comme les coccinellidés, les syrphidés et les neuroptères ainsi qu'à certains facteurs abiotiques comme la température et l'humidité relative moyennes et la pluviosité totale. On observe une corrélation significative et positive entre l'hôte aphididé et ses prédateurs mais une corrélation positive comparativement faible entre C. quercus et les facteurs indépendants de la densité.

INTRODUCTION

Le chêne *Quercus serrata* est l'hôte primaire d'*Antheraea proylei* Jolly et pousse en abondance dans des forêts à population mélangée entre 750 m et 2 000 m d'altitude dans le nord-est de l'Inde (Tikoo, 1988). En Inde, de nombreuses espèces utilisent *Q. serrata* comme plante nourricière (Fecny, 1970) ; parmi celles-ci, les aphididés constituent un groupe important, avec au moins huit espèces identifiées sur *Q. serrata* (Singh, 1992). Parmi ces aphididés du chêne, *Cervaphis quercus* Takahashi est considéré comme l'espèce dominante car elle infeste les parties dorsales et ventrales des jeunes feuilles ainsi que les pousses apicales de *Q. serrata* (Singh et coll., 1991). *C. quercus* est une espèce monophage dont la présence en Inde a été observée dans les zones à populations de chênes du nord-est de l'Inde comme le Manipur, le Meghalaya et le Nagaland. Les mâles ailés et les formes ovipares ailées de cet aphididé ont été décrits récemment (Shantibala et coll., sous presse). On dispose de peu de documentation sur *Q. serrata* à l'exception de certains travaux taxonomiques (Hille Ris Lambers, 1956 ; Mandal, 1986). Etant donné que la seule plante hôte de *C. quercus* est *Q. serrata*, nous avons étudié l'abondance saisonnière de cet insecte en fonction de certains facteurs biotiques et abiotiques.

MATERIELS ET METHODES

Afin d'étudier l'évolution des populations de *Cervaphis quercus* sur *Q. serrata*, des échantillons de feuilles ont été prélevés périodiquement à intervalles de 15 jours dans les plantations de chênes de la *Regional Tasar Research Station* de Manipur. Les échantillons, comprenant une jeune tige de 10 cm de long, ont été prélevés au hasard à raison d'un échantillon par plant et dix échantillons au total ont été examinés chaque fois. La méthode suivie ici est similaire à celle du comptage retardé proposée par Irwin et Yeargen (1980). L'étude a été réalisée sur une période de 3 ans allant de janvier 1989 à décembre 1991. Les données ont été relevées sans interruption pendant toute la durée de cette période à l'exception du moment de la taille. La taille des chênes fait partie de la méthode culturale, elle est réalisée tous les ans (de préférence en décembre) et les plants se rétablissent en février ou début mars. Lors de la collecte des données sur la densité de *C. quercus*, nous avons veillé à compter, outre les insectes associés comme les coccinellidés, les syrphidés et les neuroptères de la colonie, tous les

individus correspondant aux divers stades morphologiques de cet aphididé. Afin de corrélérer l'incidence de cette espèce d'aphididé avec les divers facteurs abiotiques, les données météorologiques de l'environnement de la plantation de chênes ont également été relevées pendant la période considérée et soumises à analyse statistique.

RESULTATS

Les données obtenues sur trois ans concernant l'incidence et la présence de *C. quercus* révèlent que l'infestation par cet aphididé commence généralement en février/mars et coïncide donc avec le bourgeonnement des jeunes feuilles, peu après la taille. La population se maintient jusqu'en novembre, avec un pic en mai (Fig. 1). Cependant, cette tendance a présenté une légère variation en 1989 en raison du taux élevé des précipitations en juillet 1989, qui a probablement entraîné une forte réduction de l'incidence de *C. quercus*. Pendant le mois de mai, époque où sa présence est la plus importante, on a observé une moyenne de 295 aphididés, comprenant toutes les différentes formes, par échantillon de 10 cm de tige. Les données consolidées sur la composition des différents morphotypes pour les trois années considérées (1989-1991) montrent que le pourcentage de nymphes est dominant (93 %) sur le plan numérique par rapport aux formes aptères (6,5 %) et ailées (0,5 %) de *C. quercus*. En outre, des formes sexuelles ailées mâles et femelles ont également été prélevées sur le terrain de mai à octobre. La forme sexuelle femelle dépasse en nombre la forme sexuelle mâle (6 femelles pour 1 mâle) mais la densité reste négligeable.

Bien que la densité des différentes formes de l'aphididé présente des variations au cours de la période d'observation (1989 à 1991), les courbes d'incidence des formes nymphales, aptères et ailées donnent des tendances presque similaires pour les trois années. La corrélation simple entre la densité totale d'aphididés et les facteurs indépendants de la densité fait apparaître une corrélation positive avec la température, d'une part, et l'humidité, d'autre part, tandis que le taux de population ne présente aucune relation significative avec l'humidité relative (Tableau I).

Outre ces facteurs, les ennemis naturels jouent un rôle dans la régulation de *C. quercus*. Au cours de la période allant de 1989 à 1991, on a rencontré jusqu'à 15 espèces de prédateurs aphidiphages dans les colonies de *C. quercus* (Fig. 2), leur densité et leur période de présence coïncidant à peu près avec l'abondance des populations d'aphididés (Fig. 1). Parmi celles-ci, onze sont des coccinellidés, trois des syrphidés et une est un prédateur neuroptère. La présence saisonnière des divers prédateurs aphidiphages de *C. quercus* est donnée dans la figure 2. Bien que la plupart de ses ennemis naturels soient présents d'avril à juin, quelques prédateurs comme *O. quadripunctata* et *H. dimidiata* sont présents sur une durée plus longue. La corrélation entre la densité de la proie et celle des prédateurs est forte et positive (Tableau I).

DISCUSSION

Les aphididés étant des insectes à corps mou, ils sont vulnérables aux interférences biotiques et abiotiques (Dixon, 1985). Dans certaines situations, les facteurs abiotiques jouent un rôle capital dans la régulation naturelle des aphididés comme, par exemple, *Myzus persicae* chez la pomme de terre (Lal et Verma, 1986 ; Raj et Verma, 1989) et *Lipaphis erysimi* chez la moutarde (Bakhetia et coll., 1986 ; Singh et coll., 1989 ; Sachan et Gangwar, 1990 ; Ahuja, 1990 ; Roy et Pande, 1991). Cependant, les populations d'aphididés sont systématiquement régulées par l'influence combinée des facteurs liés à la densité et par les facteurs indépendants de la densité, comme on peut l'observer chez tout système étudié de manière approfondie traitant des interactions des paramètres biotiques et abiotiques avec les espèces d'aphididés. Par exemple, ce type d'interdépendance a été observé chez l'aphididé du haricot (Davies, 1972 ; Hijam et Singh, 1989 ; Falcão et coll., 1990), chez l'aphididé de la rose (Agarwala et Raychaudhuri, 1981 ; Rana et Bisht, 1989) et chez l'aphididé du prunier (Varatharajan et coll., sous presse), etc.

L'étude présentée ici concernant *C. quercus* révèle que ces deux types de facteurs influencent le maintien de l'abondance de l'aphididé. Cependant, l'analyse statistique fait apparaître une corrélation fortement positive ($P < 0,05$) entre les aphididés et les prédateurs, montrant que l'augmentation de la population des prédateurs est directement proportionnelle à la densité d'aphididés. Ce type

d'augmentation de la population de prédateur, qui est fonction de la présence de l'hôte a été observé chez différents systèmes aphididés-aphidiphages (Saha et Agarwala, 1986 ; Agarwala et coll., 1988). On peut donc s'attendre à ce que l'augmentation du nombre de prédateurs entraîne une diminution de l'infestation par l'aphididé (Makhmoor et Verma, 1989 ; Rana et Bisht, 1989), comme nous l'avons constaté au cours de ces trois années d'observations (Fig. 1). Les données obtenues par l'analyse de l'effet des facteurs indépendants de la densité comme la température, l'humidité relative et la pluviosité révèlent une corrélation avec la population d'aphididés (Tableau I). En règle générale, une humidité relative élevée n'a aucun effet négatif sur la densité d'aphididés, tandis qu'une augmentation de la température et de la pluviosité et une diminution de l'humidité ne sont pas propices à la colonisation par les aphididés (Gupta et Yadava, 1990 ; Sinha et coll., 1990 ; Ahuja, 1990). On pourrait donc escompter une corrélation négative entre le nombre d'aphididés et la température et/ou l'humidité ; cependant, on obtient une corrélation faiblement positive dans ce cas (Tableau I). La température moyenne observée ici variant de 16 à 26 °C suivant les mois, il se peut que le développement de la population n'ait pas été réellement affecté, en particulier entre avril et juin, époque à laquelle la densité des aphididés a atteint son maximum et où la température moyenne était de 24 ± 1 °C (Fig. 1).

De même, la corrélation positive entre le nombre de *C. quercus* et la pluviosité totale révèle que la pluie influence, dans une certaine mesure, la colonisation par l'aphididé du chêne. Cette relation positive pourrait s'expliquer par le nombre de jours de pluie par mois et par l'intensité des précipitations journalières. Les données météorologiques relevées sur le site d'étude de 1989 à 1991 indiquent que la pluviosité, en particulier pendant les périodes de fortes précipitations, s'étend sur une durée de 20 à 25 jours par mois avec un taux moyen de précipitations de 12,6 mm par jour. Cette faible intensité de la pluviosité combinée avec d'autres facteurs climatiques favorables permet un développement rapide de *Q. serrata* qui, à son tour, attire son parasite, l'aphididé *C. quercus*. L'intensité de la colonie d'aphididés augmentant progressivement, les insectes aphidiphages arrivent sur le site et régulent la densité de leur proie sur *Q. serrata*.

COMPARATIVE STUDY OF INGESTION PATTERN IN POLYVOLTINE AND BIVOLTINE SILKWORM RACES AT DIFFERENT FEEDING LEVELS

A. MEENAL¹ & O. NINAGI²

1. Rearing Technology Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute, Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570008, India.

2. National Institute of Sericultural and Entomological Sciences, Matsumoto Branch, 1-10-1 Agata, Matsumoto 390, Japan.

Interstrain differences in the amount of food ingested at different feeding levels in a bivoltine and a polyvoltine breed were studied. The food ingested was significantly less in the polyvoltine breed. In both races, ingestion was less at the less feeding level. Accordingly, the body weight of larvae and cocoon characters were declined. The percentage of leaf dryage affected the ingestion pattern of bivoltine silkworms.

Keywords: Ingestion, feeding level, bivoltine breed, polyvoltine breed.

INTRODUCTION

In the silkworm, *Bombyx mori*, different breeds show variation in their food consumption, utilisation and conversion efficiencies. Interstrain differences in the feed efficiency of temperate silkworm breeds (Yamamoto and Fujimaki, 1982) and tropical breeds (Benjamin and Jolly, 1986; Remadevi *et al.*, 1992) have been reported. The relationship among food ingestion and digestion, body weight gain and feed efficiency under restricted feeding was reported by Sumioka *et al.* (1982a, 1982b) and Ueda and Suzuki (1967). In this study the interstrain differences in ingestion between a Japanese bivoltine hybrid and an Indian polyvoltine breed are analysed at different feeding levels.

MATERIALS AND METHODS

A popular Japanese bivoltine breed, N137 × C146, and an Indian polyvoltine breed, Moria, were used for the study. In each breed, three groups of 100 fifth instar larvae were used for the experiment. They were subjected to different feeding levels, i.e., excess, medium and less. Weighed amounts of mulberry leaves were given twice a day and a parallel sample was kept separately for dryage calculation. Leftover leaves and faeces were quantitatively collected, dried, and the amount of food ingested, digested and converted was calculated (Horie *et al.*, 1976; Horie and Watanabe, 1983). The body weight of larvae was also noted daily. The experiment was repeated three times in the spring, summer and autumn seasons.

RESULTS

The data obtained were calculated to one box, i.e., 20,000 larvae. The amount of food ingested varied depending on the race, feeding level and season (Tables I and II). The polyvoltine race, Moria, consumed less food than the bivoltine (Fig. 1). In both races, ingestion was less at the less feeding level. Accordingly, the fifth instar larval duration was prolonged in the less feeding level and the weight of mature larvae was less than at the other feeding levels. Cocoon characters like cocoon weight

Table I. Seasonal differences among the rearing parameters (hybrid: N137 $\times$ C146).Tableau I. Variations des paramètres d'élevage en fonction des saisons (hybride : N137 $\times$ C146).

Parameter	Spring			Summer			Autumn		
	Excess	Medium	Less	Excess	Medium	Less	Excess	Medium	Less
	<i>Printemps</i>			<i>Eté</i>			<i>Automne</i>		
<i>Paramètre</i>	<i>Excessif</i>	<i>Moyen</i>	<i>Réduit</i>	<i>Excessif</i>	<i>Moyen</i>	<i>Réduit</i>	<i>Excessif</i>	<i>Moyen</i>	<i>Réduit</i>
Larval duration (days) / <i>Durée larvaire (jours)</i> :									
a) Total	23.00	24.29	25.00	21.29	21.29	23.00	23.00	23.00	25.29
b) V instar / <i>5e âge</i>	5.71	6.00	6.29	6.29	6.29	7.00	7.00	7.00	8.29
Mature larva wt. (g) / <i>Poids d'une larve mature (g)</i>	5.08	4.96	4.65	4.46	4.19	3.91	4.90	4.40	3.81
Cocoon weight (g) / <i>Poids du cocon (g)</i>	2.39	2.33	2.18	1.79	1.70	1.68	2.08	1.80	1.50
Shell weight (cg) / <i>Poids de la coque (cg)</i>	50.60	49.70	47.90	40.10	37.60	37.50	49.50	41.90	34.10
Cocoon shell % / <i>Richesse soyeuse (%)</i>	21.17	21.33	21.97	22.40	22.11	22.32	23.79	23.27	22.73
Amount of food ingested in 5th instar (kg/100 larvae) / <i>Quantité de nourriture ingérée au 5e âge (kg/100 larves)</i>	1.69	1.68	1.53	1.52	1.40	1.31	1.61	1.43	1.37

Table II. Seasonal differences among the rearing parameters (variety: Moria).

Tableau II. Variations des paramètres d'élevage en fonction des saisons (variété : Moria).

Parameter	Spring			Summer			Autumn		
	Excess	Medium	Less	Excess	Medium	Less	Excess	Medium	Less
<i>Paramètre</i>	<i>Printemps</i>			<i>Été</i>			<i>Automne</i>		
	<i>Excessif</i>	<i>Moyen</i>	<i>Réduit</i>	<i>Excessif</i>	<i>Moyen</i>	<i>Réduit</i>	<i>Excessif</i>	<i>Moyen</i>	<i>Réduit</i>
Larval duration (days) / <i>Durée larvaire (jours)</i> :									
a) Total	21.25	21.25	22.00	20.00	20.00	21.00	21.00	22.00	23.00
b) V instar / <i>5e âge</i>	4.71	4.71	5.00	5.71	5.71	6.00	6.00	7.00	7.00
Mature larva wt. (g) / <i>Poids d'une larve mature (g)</i>	2.48	2.39	2.12	2.47	2.24	1.94	2.16	2.07	1.77
Cocoon weight (g) / <i>Poids du cocon (g)</i>	1.22	1.15	0.99	0.97	0.92	0.83	1.04	0.98	0.83
Shell weight (cg) / <i>Poids de la coque (cg)</i>	14.00	13.70	11.50	12.90	12.20	10.40	13.20	12.40	10.20
Cocoon shell % / <i>Richesse soyeuse (%)</i>	11.47	11.91	11.62	13.29	13.26	12.53	12.69	12.65	12.29
Amount of food ingested in 5th instar (kg/100 larvae) / <i>Quantité de nourriture ingérée au 5e âge (kg/100 larves)</i>	0.68	0.66	0.57	0.67	0.64	0.57	0.63	0.58	0.51

and shell weight were also declined in the less feeding level. However, there was not much difference in the shell ratio percentage. The efficiency of conversion of ingested food into cocoon shell was high

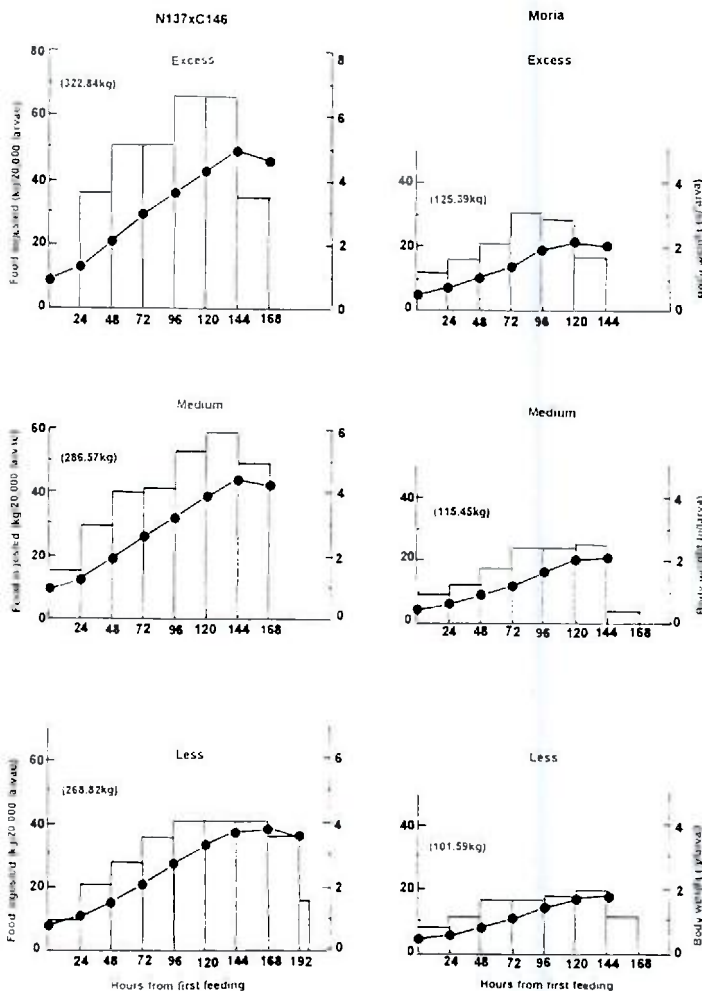


Fig. 1: Ingestion amount in the fifth instar at different feeding levels.

Figures in parentheses indicate the total amount of leaves ingested.

Fig. 1 : Quantités ingérées au cinquième âge en fonction des différents taux de nourrissage.

Les chiffres entre parenthèses indiquent la quantité totale de feuilles ingérées.

in the less feeding level in the bivoltine and it was the reverse in the polyvoltine (Table III). Among the seasons, the rearing parameters, cocoon characters, amount of food ingested and efficiency of conversion of ingested food (ECI) were observed to be less during summer. It was also observed that the ingestion pattern of the bivoltine was influenced by driage of leaves as they were not able to consume leaves with less water content, and this created a log phase in the ingestion curve, whereas the ingestion pattern of Moria was not altered (Fig. 2).

Table III. Efficiency of conversion of ingested food into cocoon shell (in %).

Tableau III. Efficacité de conversion de la nourriture ingérée en coque soyeuse (en %).

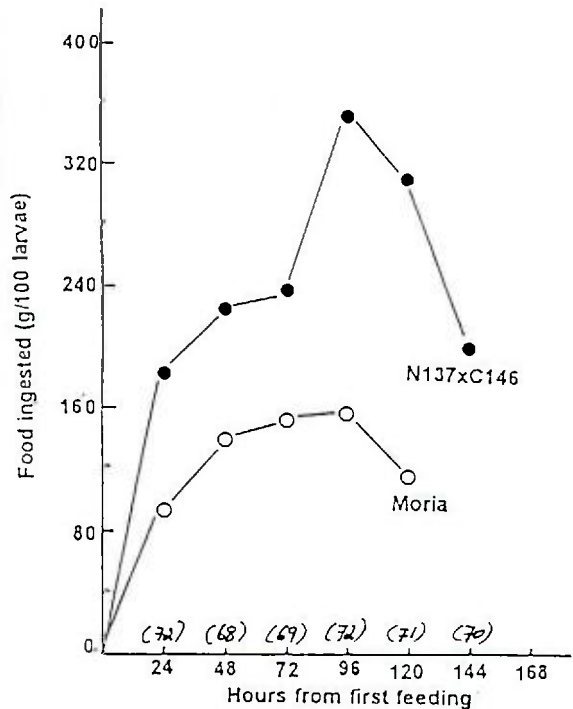
Race	Spring			Summer			Autumn		
	Excess	Medium	Less	Excess	Medium	Less	Excess	Medium	Less
Race	Printemps			Eté			Automne		
	Excessif	Moyen	Réduit	Excessif	Moyen	Réduit	Excessif	Moyen	Réduit
N137 × C146	2.99	2.97	3.13	2.65	2.65	2.86	3.07	2.92	2.49
Moria	2.07	2.08	2.01	1.91	1.89	1.84	2.11	2.14	2.01

Fig. 2: Effect of leaf driage on ingestion.

Figures in parentheses indicate the moisture percentage of leaves.

Fig. 2 : Effet du taux de dessiccation des feuilles sur l'ingestion.

Les chiffres entre parenthèses indiquent le pourcentage d'humidité des feuilles.



DISCUSSION

In India, more than 85% of the silk comes from the low-yielding polyvoltine or polyvoltine × bivoltine hybrids and is inferior in raw silk quality. Now efforts are being carried out to popularise bivoltine hybrids in the field. Because of the tropical conditions, bivoltine rearing at the farmers' level

still remains difficult. Basically, the bivoltine and polyvoltine breeds differ in many aspects and it is necessary to analyse them in detail and formulate a suitable rearing standard as per the needs of bivoltine breeds. The present study clearly indicated that the amount of food ingested is higher in bivoltine than in polyvoltine breeds. The shortage of food affected the body weight of larvae and the quantitative characters. In addition, the bivoltine larvae are very sensitive to drying of leaves. These observations indicate that bivoltine larvae should be supplied with surplus amounts of good quality mulberry leaves. The present work was carried out at the National Institute of Sericultural and Entomological Sciences, Matsumoto, Japan, a temperate country where the temperature is not very high during the summer. Even that small variations in temperature affected the rearing parameters. This emphasises that, in a tropical country like India, bivoltine rearing requires much care, especially during the summer.

REFERENCES

- BENCHAMIN K.V., JOLLY M.S. (1986) Studies on ingestion, digestion and conversion efficiency in polyvoltine and bivoltine silkworm breeds (*Bombyx mori* L.). Proc. Oriental Entomology Symposium, 2, 195-206.
- HORIE Y., INOKUCHI T., WATANABE K., NAKASONE S., YANAGAWA H. (1976) Quantitative study of food utilisation by the silkworm *Bombyx mori* through its life cycle. I. Economy of dry matter energy and carbon. Bull. Sericult. Exp. Sta. (Tokyo, 26(6), 411-442.
- HORIE Y., WATANABE K. (1983) Daily utilisation and consumption of dry matter in food by the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Appl. Ent. Zool., 18, 70-80.
- REMADEVI O.K., MAGADUM S.B., SHIVASHANKAR N., BENCHAMIN K.V. (1992) Evaluation of the food utilisation efficiency in some polyvoltine breeds of silkworm, *Bombyx mori* L. Sericologia, 32(1), 61-66.
- SUMIOKA H., KURODA S., YOSHITAKE N. (1982a) Relationships among food ingestion, food digestion and body weight gain in the silkworm larvae, *Bombyx mori*, under the restricted feeding by indexes. J. Sericult. Sci. Japan, 51(1), 51-56.
- SUMIOKA H., KURODA S., YOSHITAKE N. (1982b) Feed efficiency and expression of several characters of the silkworm, *Bombyx mori*, under the restricted feeding. J. Sericult. Sci. Japan, 51(5), 415-419.
- UEDA S., SUZUKI K. (1967) Studies on the growth of the silkworm, *Bombyx mori* L. 1. Chronological changes of the amount of food ingested and digested, body weight and water content of body and their mutual relationships. Bull. Sericult. Exp. Sta., 22(1), 65-67.
- YAMAMOTO T., FUJIMAKI T. (1982) Interstrain differences in food efficiency of the silkworm, *Bombyx mori*, reared on artificial diet. J. Sericult. Sci. Japan, 51(4), 312-315.

ETUDE COMPARATIVE DE L'INGESTION CHEZ DES VARIETES POLYVOLTINE ET BIVOLTINE DE VER A SOIE EN FONCTION DE DIFFERENTS NIVEAUX DE NOURRISSAGE

A. MEENAL¹ & O. NINAGI²

1. Rearing Technology Laboratory, Central Sericultural Research and Training Institute,
Manandavadi Road, Srirampura, Mysore - 570008, Inde.
2. National Institute of Sericultural and Entomological Sciences, Matsumoto Branch, 1-10-1
Agata, Matsumoto, Matsumoto 390, Japon.

On a étudié les différences entre souches de la quantité de nourriture ingérée en fonction de différents niveaux de nourrissage chez une race bivoltine et une race polyvoltine. La quantité de nourriture ingérée est nettement inférieure chez la race polyvoltine. Chez les deux races, le taux d'ingestion est inférieur pour le niveau le plus faible de nourrissage. Le poids de la larve et les caractères du cocon diminuent également. Le taux de dessiccation des feuilles affecte l'ingestion des vers à soie bivoltins.

INTRODUCTION

Chez le ver à soie *Bombyx mori*, la consommation et l'efficacité d'utilisation et de conversion de la nourriture varient d'une race à l'autre. On a observé des différences entre souches de l'efficacité d'utilisation de la nourriture chez les races tempérées (Yamamoto et Fujimaki, 1982) et chez les races tropicales (Benchamin et Jolly, 1986 ; Remadevi et coll., 1992). La relation entre l'ingestion et la digestion de la nourriture, le gain de poids et l'efficacité d'utilisation de la nourriture lors d'un stress nutritionnel a été observée par Sumioka et coll. (1982a, 1982b) et Ueda et Suzuki (1967). Dans l'étude présentée ici, nous avons analysé les différences d'ingestion entre un hybride bivoltin japonais et une race polyvoltine indienne en fonction de différents niveaux de nourrissage.

MATERIELS ET METHODES

Un hybride bivoltin japonais courant (N137 × C146) et une race polyvoltine indienne (Moria) ont été choisis pour cette étude. Pour chaque variété, trois groupes de 100 larves du cinquième âge ont été utilisés et soumis à différents niveaux de nourrissage : excédentaire, intermédiaire et insuffisant. Des quantités déterminées de feuilles de mûrier ont été données deux fois par jour et un échantillon a été maintenu séparément pour le calcul du taux de dessiccation. Les feuilles non consommées et les fèces ont été prélevées et séchées et les quantités de nourriture ingérée, digérée et convertie ont été calculées (Horie et coll., 1976 ; Horie et Watanabe, 1983). Le poids des larves a également été relevé tous les jours. L'expérience a été répétée trois fois au printemps, en été et en automne.

RESULTATS

Les données obtenues ont été calculées sur la base d'une boîte, c'est-à-dire 20 000 larves. La souche polyvoltine Moria consomme moins de nourriture que l'hybride bivoltin (Fig. 1). Chez les deux variétés, le taux d'ingestion et le poids des larves matures est inférieur chez les lots les moins

nourris. Pour ce qui concerne les caractères du cocon, le poids du cocon et le poids de la coque sont également plus faibles chez les lots les moins nourris. Cependant, il n'y a pas de différence significative pour la richesse soyeuse. L'efficacité de conversion de la nourriture ingérée en coque soyeuse est élevée chez les lots les moins nourris pour la variété bivoltine et faible pour la variété polyvoltine (Tableau III). Pour ce qui concerne les saisons, les paramètres d'élevage, les caractères du cocon, la quantité de nourriture ingérée et l'efficacité de conversion de la nourriture ingérée (ECI) sont plus faibles en été. Le taux de dessiccation des feuilles affecte l'ingestion des larves de la variété bivoltine car elles ne sont pas capables de consommer les feuilles dont la teneur en eau est faible ; ceci provoque une phase log dans la droite d'ingestion, tandis que l'ingestion de *Moria* ne subit aucune modification (Fig. 2).

DISCUSSION

En Inde, plus de 85 % de la soie est produite par des polyvoltins ou des hybrides polyvoltins × bivoltins peu performants qui donnent une soie grège de qualité inférieure. Des efforts sont faits afin de répandre l'utilisation des hybrides bivoltins sur le terrain. En raison des conditions climatiques, l'élevage des bivoltins chez les fermiers reste difficile. De fait, les races bivoltines et polyvoltines diffèrent sur de nombreux plans qu'il est nécessaire d'analyser en détail afin de formuler une méthode d'élevage adaptée aux besoins des races bivoltines. Cette étude montre clairement que la quantité de nourriture ingérée est plus élevée chez les races bivoltines que chez les races polyvoltines. Le manque de nourriture affecte le poids des larves et les caractères quantitatifs. De plus, les larves bivoltines sont très sensibles au manque d'eau dans les feuilles. Ces observations indiquent que les larves bivoltines doivent être nourries avec des quantités élevées de feuilles de mûrier de bonne qualité. Ces travaux ont été réalisés au *National Institute of Sericultural and Entomological Sciences* de Matsumoto au Japon, pays tempéré où la température n'est pas très élevée en été. Des variations, même faibles, de température affectent les paramètres d'élevage. Ceci confirme que, dans un pays comme l'Inde, l'élevage des bivoltins demande des soins particuliers, particulièrement en été.

APPLICATION OF DIFLUBENZURON TO CONTROL THE UZI FLY, *EXORISTA SORBILLANS* (= *E. BOMBYCIS*) (DIPTERA: TACHINIDAE)

H.P. PUTTARAJU & L.H. SHIVASHANKARAPPA

Department of Sericulture, Jnana Bharathi, Bangalore University, Bangalore 560 056, India.

The effect of Diflubenzuron on the reproduction of the uzi fly, Exorista sorbillans, a serious endoparasitoid of the silkworm, Bombyx mori L., has been studied. Application of Diflubenzuron to dry soil in which the uzi maggots pupate has proved to be very effective. A concentration of 0.5% Diflubenzuron is enough to achieve 100% sterility in both males and females.

Keywords: *Exorista sorbillans*, *Bombyx mori*, post-parasitic maggot, pupa, genitalia, sterility, Diflubenzuron.

INTRODUCTION

Eradication of insect populations through sterilization has gained importance under the concepts of pest management (Kumar *et al.*, 1985). This approach was mainly based on the principle of introduction of sexually sterile but otherwise vigorous males into natural populations (Knippling, 1955).

Successful induction of sterility in insects depends on factors like the sterilant used, the method of application and age and stage of the insect treated. In an earlier paper (Shivashankarappa and Puttaraju, 1995) we have emphasized the possibility of using Diflubenzuron as a 'sterilant'. In the paper at issue, we have made an attempt to develop a suitable method of application of Diflubenzuron to control the uzi fly.

MATERIALS AND METHODS

Since uzi maggots preferentially pupate in the soil, commercially available Diflubenzuron [1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea] was thoroughly mixed with the required quantity of soil (total 1000 g) to give final concentrations of 0.5, 1.0, 1.5, 5.0, 10.0 and 15.0% of Diflubenzuron in the soil samples. The mixtures were transferred to different trays and one hundred post-parasitic maggots were allowed to pupate in each of these trays. They were subsequently kept separately inside wire-mesh cages of 35 cm² to metamorphose into adults. The control batches were treated in the same way but without adding the chemical. After eclosion, the teneral male and female flies were separated on the basis of genitalia and reared separately in order to ensure virginity. The flies were fed with an 8 per cent glucose solution soaked on cotton.

Twenty-four hours after emergence, 10 treated male and female flies were confined in a separate cage with an equal number of fresh one-day-old virgin untreated flies of opposite sex for mating. Although the flies started mating immediately, they were allowed to mate freely for more than 24 hr. A control batch was allowed to mate in a separate cage. About one hundred 5th instar silkworm larvae (*Bombyx mori*) were placed in these cages for oviposition. Host larvae were renewed every day till all the flies had laid their eggs.

The percentage of mortality and survival rate of maggots were calculated by counting the number of maggots that died and the number of maggots that pupated. Similarly, for pupal and adult mortality, the percentage of mortality and survival was also recorded, as had been done for maggots.

The fecundity rate was calculated by counting the number of eggs laid on each host at 24 hr intervals until the flies died.

The number and percentage of egg hatchability were determined by counting the number of black scars that appeared on the body of the silkworms 48 hr after oviposition.

RESULTS

The effects of Diflubenzuron (DFB) on mortality, longevity, fecundity, fertility and sterility are presented in Table I.

Maggots treated with 5% DFB exhibited a higher mortality rate (20%) than those treated with 0.5% (11%). However, the maggot mortality rate did not increase beyond 20%, even when the DFB concentration was increased from 5 to 15%. Further, it was observed that the body colour of the treated dead maggots remained light creamy for 3 days and then changed to black with the body becoming hard. The highest pupal mortality rate (21%) was seen when maggots were treated with 1.0%, whereas 13% mortality was seen with 0.5%. Pupal mortality rates of 17, 18, 19 and 14% were recorded with treatments of 1.5, 5, 10 and 15% DFB, respectively. As shown in Table I, the adults exhibited not only different ranges of mortality but also some morphological abnormalities, i.e., reduced body size, crippled and folded wings, deformed antennae, twisted legs and deformed body structures.

A maximum total mortality of 90% was observed in treatments with 15% DFB, whereas a minimum total mortality of 35% was observed with 0.5% DFB. Further, the total mortality rate increased and the survival rate decreased as and when the DFB concentration increased. With regard to longevity of adults there was no significant variation from that of the control flies when lower concentrations were used (0.5, 1.0 and 1.5%). However, a drastic effect on the longevity was seen with the higher concentrations (5, 10 and 15%), reducing the longevity to 4 days against 8 days in the control.

DFB concentrations of less than 0.5% seemed to be ineffective as they did not induce any effect on the fecundity rate of untreated females crossed with treated males and reciprocal crossings. On the other hand, high DFB concentrations (15%) caused a severe effect on the fecundity by reducing the number of eggs laid to zero in treated females crossed with untreated males. However, the fecundity rate was not changed much from that of the control when untreated females were crossed with males treated with 1.0, 1.5, 5, 10 and 15% DFB. Interestingly, none of the eggs obtained from flies treated with DFB concentrations above 0.5% showed hatchability. This holds for both crossings, untreated male $\times$ treated female and treated male $\times$ untreated female, and indicates complete sterility.

DISCUSSION

The present study has demonstrated that a concentration of 5% Diflubenzuron in soil is sufficient to induce a total mortality of 83%, and 100% sterility. This observation contradicts the findings of Jolly and Kumar (1985) and of Kumar *et al.* (1985) who stated that more than 5% Diflubenzuron is required. A concentration of 0.5% Diflubenzuron in soil is enough to achieve 100% sterility and 35% mortality. Therefore, it may be pointed out that the chemical is effective even at a low concentration. Of the 65% flies emerged at this concentration (0.5%) showed normal behaviour, longevity and fecundity with normal vigour. However, the eggs laid by the females crossed with treated males exhibited 100% sterility, as in the reciprocal crossing. These observations lead us to suggest to use 0.5% Diflubenzuron instead of 10% or more as suggested by Jolly and Kumar (1985), which concentration causes stomach poison and chitin inhibition. It is also evident from the present study that 14% of the maggots treated with concentrations higher than 15% Diflubenzuron failed to metamorphose into pupae and 14% of the remaining pupae failed to metamorphose into adults. In addition, of those that pupated the pupal duration was prolonged by 2 days and the emerging adults died at the time of emergence because their body parts were attached to the inside of the puparium.

Table I. Effects of Diflubenzuron (DFB) (mixed in sterilized soil) on the rate of mortality, longevity, fecundity, fertility and sterility of the uzi fly, *Exorista sorbillans*.

Tableau I. Effets du Diflubenzuron (DFB) (mélangé à de la terre stérile) sur les taux de mortalité, de longévité, de fécondité, de fertilité et de stérilité de la mouche uzi *Exorista sorbillans*.

Treatment	Concentration (%)	Number of maggots treated	Maggot mortality (%)	Pupation rate		Adult mortality (%)	Survival (%)	Total mortality (%)	Nature of cross	Fecundity rate per fly	Average %	
				Pupation (%)	Pupal mortality (%)						Hatching	Sterility
Traitement	Concentration (%)	Nombre d'asticots traités	Mortalité des asticots (%)	Taux de pupaison		Mortalité des adultes (%)	Taux de survie	Mortalité totale (%)	Nature du croisement	Taux de fécondité par mouche	Moyenne (%)	
				Pupaison (%)	Mortalité pupale (%)						Eclosion	Stérilité
DFB	0.5	100	11	89	13	11	65	35	UF × TM	128	0	100
									TF × UM	122	0	100
	1.0	100	15	85	21	13	51	49	UF × TM	111	0	100
									TF × UM	71	0	100
	1.5	100	17	83	17	14	50	50	UF × TM	95	0	100
									TF × UM	70	0	100
	5	100	20	80	18	45	17	83	UF × TM	83	0	100
									TF × UM	36	0	100
	10	100	19	81	19	47	15	85	UF × TM	79	0	100
									TF × UM	17	0	100
	15	100	14	86	14	62	10	90	UF × TM	78	0	100
									TF × UM	0	0	100
Control / Témoin		100	0	100	14	0	86	14	UF × TM	137	69.7	30.3

U: Untreated. T: Treated. F: Female. M: Male / U : Non traité. T : Traité. F : Femelle. M : Mâle.

with the dried haemolymph which leaked out from the pupal body. Deformed-bodied flies were also common among the dead ones, due to the imbalance in the synthesis and deposition of chitin in the endocuticle during metamorphosis (Post and Vincent, 1973; Ishaaya and Cassida, 1974; Reed and Bass, 1980).

The results of the present study indicate that the method of application of Diflubenzuron (mixed with sterilized soil) is very simple and effective. In this way sufficient provisions for pupation are provided and at the same time the effect on maggots and pupal stages is increased, probably by a better contact as compared to uneconomical direct spray of the chemical advocated by Kumar *et al.* (1985) and Jolly and Kumar (1985). Further, the present method of application needs no frequent observation as all emerged flies are incapable to lay fertile eggs.

REFERENCES

- ISHAAYA I., CASSIDA J.E. (1974) Dietary TH-6040 alters composition and enzyme activity of house fly larval cuticle. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 4, 484-490.
- JOLLY M.S., KUMAR P. (1985) A three-pronged approach to control uzi fly. *Indian Silk*, 23(10&11), 5-9.
- KNIPLING E.I. (1955) Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. *J. Econ. Entomol.*, 48, 459-462.
- KUMAR P., REDDY V.V., RAMADEVI O.K., JOLLY M.S., DATTA R.K. (1985) Ovicidal activity of Diflubenzuron on the eggs of uzi fly, *Tricholyga bombycis* Beck (Diptera: Tachinidae). *Indian J. Seric.*, 24, 58-61.
- POST I.C., VINCENT W.R. (1973) A new insecticide inhibits chitin synthesis. *Naturwissenschaften*, 60, 431-432.
- REED T., BASS M.H. (1980) Larval and post-larval effects of Diflubenzuron on the soybean looper. *J. Econ. Entomol.*, 73(2), 332-338.
- SHIVASHANKARAPPA L.H., PUTTARAJU H.P. (1995) Effect of Diflubenzuron on the reproduction of the uzi fly, *Exorista sorbillans* (= *E. bombycis*) (Diptera: Tachinidae). *Sericologia*, 35(4), 763-766.

APPLICATION DE DIFLUBENZURON POUR LUTTER CONTRE LA MOUCHE UZI *EXORISTA SORBILLANS* (= *E. BOMBYCIS*) (DIPTERA : TACHINIDAE)

H.P. PUTTARAJU & L.H. SHIVASHANKARAPPA

Department of Sericulture, Jnana Bharathi, Bangalore University, Bangalore 560 056, Inde.

On a étudié l'effet du Diflubenzuron sur la reproduction de la mouche uzi, Exorista sorbillans, un endoparasitoïde majeur du ver à soie Bombyx mori L. L'application de Diflubenzuron sur le sol sec dans lequel les asticots uzi se transforment en pupes est tout à fait efficace. Une concentration de Diflubenzuron de 0,5 % suffit pour obtenir une stérilité de 100 % aussi bien chez les mâles que chez les femelles.

INTRODUCTION

L'importance de l'éradication des populations d'insectes par la stérilisation a été montrée par les recherches sur les systèmes de gestions des parasites (Kumar et coll., 1985). Cette approche est essentiellement basée sur le principe de l'introduction, dans les populations naturelles, de mâles sexuellement vigoureux mais stériles (Knipling, 1955).

La réussite de l'induction de la stérilité chez les insectes dépend de facteurs comme l'agent stérilisant utilisé, la méthode d'application et l'âge et le stade de l'insecte traité. Dans un autre article (Shivashankarappa et Puttaraju, 1995), nous démontrons la possibilité d'utiliser le Diflubenzuron comme agent stérilisant. Dans l'article présenté ici, nous tentons de mettre au point une méthode appropriée d'application du Diflubenzuron dans le cadre de la lutte contre la mouche uzi.

MATERIELS ET METHODES

Les asticots de la mouche uzi réalisent leur pupaison de préférence dans le sol. Un insecticide commercialisé, le Diflubenzuron [1-(4-chlorophényl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urée], a donc été mélangé soigneusement avec la quantité requise de terre (total : 1 000 g) pour obtenir des concentrations finales de 0,5, 1,0, 1,5, 5,0, 10,0 et 15,0 % de Diflubenzuron dans les échantillons. Les mélanges ont été transférés dans différentes litières et cent asticots ont été déposés dans chaque litière jusqu'à la pupaison. Ils ont ensuite été conservés séparément dans des cages en toile métallique de 35 cm² jusqu'à leur métamorphose en adultes. Les lots témoins ont été traités de la même façon mais sans addition d'insecticide. Les mouches mâles et femelles sorties d'émergence ont été élevées séparément afin d'éviter les accouplements. Les mouches ont été nourries avec une solution de glucose à 8 % imbibée sur du coton.

Vingt-quatre heures après l'émergence, dix mouches mâles et femelles traitées ont été placées dans une cage séparée avec le même nombre de mouches du sexe opposé, non traitées et âgées d'un jour pour les accouplements. Les mouches ont commencé à s'accoupler immédiatement et sur une durée de plus de 24 heures. Un lot témoin a été accouplé dans une cage séparée. Une centaine de larves de vers à soie du 5e âge (*Bombyx mori*) a été placée dans ces cages pour l'oviposition. Les larves hôtes ont été renouvelées tous les jours jusqu'à ce que toutes les mouches aient pondu leurs oeufs.

Le pourcentage de mortalité et le taux de survie des asticots ont été calculés en comptant le nombre d'asticots morts et le nombre d'asticots se transformant en pupes. Le pourcentage de mortalité et de survie pour les pupes et les adultes a également été déterminé, comme pour les asticots.

Le taux de fécondité a été calculé en comptant le nombre d'oeufs pondus sur chaque hôte à intervalles de 24 h jusqu'à ce toutes les femelles meurent.

Le nombre et le pourcentage d'oeufs éclos ont été déterminés en comptant le nombre de cicatrices noires apparaissant sur le corps des vers à soie 48 h après l'oviposition.

RESULTATS

Les effets du Diflubenzuron (DFB) sur la mortalité, la longévité, la fécondité, la fertilité et la stérilité sont présentés dans le tableau I.

Les asticots traités avec du DFB à 5 % présentent un taux de mortalité plus élevé (20 %) que ceux traités avec une concentration à 0,5 % (11 %). Cependant, le taux de mortalité des asticots ne dépasse jamais 20 %, même lorsque la concentration en DFB augmente de 5 à 15 %. De plus, le corps des asticots traités morts reste d'une couleur crème claire pendant 3 jours puis devient noir et durcit. On obtient le taux de mortalité pupal le plus élevé (21 %) chez les asticots traités à la concentration de 1,0 % et un taux de mortalité de 13 % à la concentration de 0,5 %. On enregistre des taux de mortalité pupale de 17, 18, 19 et 14 % respectivement chez les lots traités avec des concentrations de DFB de 1,5, 5, 10 et 15 %. Comme le montre le tableau I, les adultes présentent non seulement des fourchettes de mortalité différentes mais également des anomalies physiologiques : diminution de la taille, ailes mutilées et froissées, antennes déformées, pattes tordues et structures corporelles difformes.

On observe une mortalité totale maximale de 90 % chez les lots traités avec 15 % de DFB et une mortalité totale minimale de 35 % chez les lots traités avec 0,5 % de DFB. De plus, le taux de mortalité totale augmente et le taux de survie diminue lorsque la concentration en DFB augmente. Pour ce qui concerne la longévité des adultes, on ne constate aucune variation significative par rapport aux mouches témoins pour les concentrations faibles (0,5, 1,0 et 1,5 %). Cependant, l'effet sur la longévité est fortement marqué pour les concentrations élevées (5, 10 et 15 %), avec une longévité de 4 jours contre 8 jours chez les témoins.

Les concentrations en DFB inférieures à 0,5 % semblent être inefficaces car elles n'induisent aucun effet sur le taux de fécondité des femelles non traitées croisées avec des mâles traités ou sur celui des croisements réciproques. Par ailleurs, les concentrations élevées en DFB (15 %) provoquent un effet prononcé sur la fécondité, avec un nombre d'oeufs pondus réduit à zéro chez les femelles traitées croisées avec des mâles non traités. Cependant, le taux de fécondité diffère peu de celui du témoin chez les femelles non traitées croisées avec des mâles traités avec 1,0, 1,5, 10 et 15 % de DFB. Il est intéressant de noter qu'on n'observe aucune éclosion pour les oeufs issus des mouches traitées avec des concentrations de DFB supérieures à 0,5 %, quel que soit le croisement considéré (mâle non traité × femelle traitée et mâle traité × femelle non traitée) ; ce qui indique une stérilité totale.

DISCUSSION

Cette étude démontre qu'une concentration de Diflubenzuron supérieure à 5 % dans le sol suffit pour induire une mortalité totale de 83 % et une stérilité de 100 %. Cette observation contredit les résultats de Jolly et Kumar (1985) et de Kumar et coll. (1985) indiquant qu'une concentration de Diflubenzuron supérieure à 5 % est nécessaire. Une concentration de Diflubenzuron de 0,5 % dans le sol suffit pour obtenir une stérilité de 100 % et une mortalité de 35 %. On peut donc estimer que cet insecticide est efficace même à faible concentration. Soixante-cinq % des mouches émergées à cette concentration (0,5 %) présentent un comportement, une longévité, une fécondité et une vigueur normaux. Cependant, les oeufs pondus par les femelles croisées avec des mâles traités présentent une stérilité de 100 %, de même que dans le croisement réciproque. Ces observations nous conduisent à préconiser l'utilisation de Diflubenzuron à 0,5 %, plutôt qu'à 10 % ou plus comme l'ont suggéré Jolly et Kumar (1985), cette concentration entraînant un empoisonnement de l'estomac et une inhibition

de la chitine. Cette étude montre également que 14 % des asticots traités avec des concentrations de Diflubenzuron supérieures à 15 % n'entrent pas en pupaison et que 14 % des pupes restantes ne se métamorphosent pas en adultes. De plus, chez les asticots entrés en pupaison, la durée pupale est prolongée de 2 jours et les adultes meurent au moment de l'émergence car leur corps reste accroché aux parois du puparium, l'hémolymphe séchée s'écoulant du corps de la pupa. Un certain nombre de mouches mortes présentent également des difformités dues au déséquilibre entre la synthèse et la déposition de la chitine dans l'endocuticule au cours de la métamorphose (Post et Vincent, 1973 ; Ishaaya et Cassida, 1974 ; Reed et Bass, 1980).

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que la méthode d'application du Diflubenzuron (mélangé avec du sol stérile) est très simple et tout à fait efficace qui permet de fournir suffisamment de produit pour la pupaison et, parallèlement, d'augmenter l'effet sur les stades asticot et pupa ; ceci, probablement en raison d'un meilleur contact que celui obtenu par la méthode onéreuse de vaporisation directe de l'insecticide préconisée par Kumar et coll. (1985) et Jolly et Kumar (1985). De plus, la méthode d'application décrite ici ne nécessite pas d'observations répétées car toutes les mouches émergées sont incapables de pondre des oeufs fertiles.

EFFECT OF DIFLUBENZURON ON THE REPRODUCTION OF THE UZI FLY, *EXORISTA SORBILLANS* (= *E. BOMBYCIS*) (DIPTERA: TACHINIDAE)

L.H. SHIVASHANKARAPPA & H.P. PUTTARAJU

Department of Sericulture, Jnana Bharathi, Bangalore University, Bangalore 560 056, India.

*The effect of Diflubenzuron (Dimilin) on the reproduction of the Indian uzi fly, *Exorista sorbillans* Wiedemann, was studied. The results showed that the female flies fed with 0.02, 0.04, 0.06 and 0.1% Diflubenzuron with 8% glucose solution exhibited 100 per cent 'sterility'. The male flies, on the other hand, exhibited partial 'sterility' at all concentrations tested, with a maximum of 96% sterility at 0.1% without having any adverse effects on vigour, longevity and sexual competitiveness. When treated female flies were mated with untreated male flies, fecundity was decreased and none of the eggs laid were hatched. In reciprocal matings the rate of egg laying was normal, but the sterility rate was found to depend on the concentration.*

Keywords: *Exorista sorbillans*, *Bombyx mori*, maggots, pupa, sterility, Dimilin, Diflubenzuron.

INTRODUCTION

The Indian uzi fly, *Exorista sorbillans* Wiedemann, an endoparasitoid of the silkworm, *Bombyx mori* L., is known to cause considerable damage to the silk industry. Various approaches to contain this pest have been proposed (Siddappaji and Channa Basavanna, 1990), but these are not commonly applied in practise. Use of toxic chemicals to control the uzi fly has limited possibility, because the exposed stages of the pest are limited. Moreover, there is a risk of such applied chemicals being toxic to the silkworm. A few earlier studies (Kumar *et al.*, 1985; Jolly and Kumar, 1985) have considered Diflubenzuron as a chitin inhibitor and hence an effective agent to control the uzi fly. However, systematic evaluation of its feeding effect on the uzi fly has not been made so far. Therefore, an attempt has been made to study the effects of Diflubenzuron on fecundity and hatchability of eggs of the uzi fly, *Exorista sorbillans*.

MATERIALS AND METHODS

The maggots of the uzi fly were collected from the cocoon market at Ramanagaram, Karnataka (India), and were brought to the laboratory for further rearing. The maggots were allowed to metamorphose into pupae and then to adults in wire-mesh cages (35 × 35 × 35 cm) under laboratory conditions of 23-25 °C temperature and 75-80% humidity.

Diflubenzuron 25% WP [1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea] was prepared at concentrations of 0.02, 0.04, 0.06 and 0.1% and was administered along with 8% glucose solution soaked in cotton separately to male and female flies. An aqueous solution of the required percentage of Diflubenzuron was prepared on the weight of Diflubenzuron with the required volume of 8% glucose solution. As and when the cotton ball dried up during the 24 hours of the feeding period, another cotton ball containing Diflubenzuron + glucose of known concentration was replaced in the respective treatment batch. After 24 hours, about ten Diflubenzuron-fed male flies of each concentration were collected and allowed to mate with the same number of one-day-old untreated

virgin females. A reciprocal cross, i.e., treated females mated with untreated males, was also maintained. Mated female flies were allowed to oviposit on 5th instar healthy silkworm larvae. The data in respect of fecundity were calculated by counting the individual eggs laid on each host larval body during the period of 24 hours. The percentage of hatchability was determined from the black scars that appeared on the host body after the second day of oviposition.

RESULTS

The results obtained from the crossings of either sex of the flies treated with different concentrations of Diflubenzuron with untreated flies of the opposite sex are presented in Table I. The data indicate that in all the concentrations tested oviposition of the untreated female mated with a treated male (see Table I) was normal. The number of eggs laid ranged from 124 to 132. However, the number of eggs laid by the treated females mated with untreated males was much lower and it ranged from 91 to 96. The untreated pair mating yielded a fecundity of 129. The fecundity of treated females was inversely proportional to the concentration of Diflubenzuron. When the concentration of chemicals increased, the fecundity decreased accordingly but this reduction was not significant.

Table I. Effect of Diflubenzuron on fecundity and fertility of *Exorista sorbillans*.

Tableau I. Effet du Diflubenzuron sur la fécondité et la fertilité d'*Exorista sorbillans*.

Concentration of Diflubenzuron (%)	Crosses	Number of flies tested	Average fecundity (no.)	Average hatchability (%)
<i>Concentration de Diflubenzuron (%)</i>	<i>Croisements</i>	<i>Nombre de mouches testées</i>	<i>Fécondité moyenne (nombre)</i>	<i>Taux moyen d'éclosion (%)</i>
0.02	UF × TM	10	132	35.20
	TF × UM	10	96	00.00
0.04	UF × TM	10	125	29.80
	TF × UM	10	95	00.00
0.06	UF × TM	10	124	9.70
	TF × UM	10	93	00.00
0.1	UF × TM	10	131	4.10
	TF × UM	10	91	00.00
Control / <i>Témoin</i>	UF × UM	10	129	84.78

U: Untreated / *Non traité*. T: Treated / *Traité*. F: Female / *Femelle*. M: Male / *Mâle*.

Observations on the hatchability of the eggs revealed that hatchability reduced gradually when untreated females were crossed with treated males with increasing concentrations of Diflubenzuron,

i.e., 0.02, 0.04, 0.06 and 0.1%. The rate of reduction was found to depend on the concentration of Diflubenzuron. The hatchability decreased from 35.20% at 0.02% Diflubenzuron to 4.10% at 0.1% Diflubenzuron concentration. On the other hand, in all the concentrations tested, complete inhibition of egg hatching was seen in the eggs obtained from the crossings of treated females with untreated males. The hatchability in the control was 84.78%.

The average percentage of sterility calculated on the percentage of fecundity and hatchability was 64.8%, 70.2%, 90.3% and 95.9% at 0.02, 0.04, 0.06 and 0.1%, respectively, 15.22% sterility was recorded in the control. On the other hand, 100% sterility was recorded for all concentrations tested when treated females were crossed with untreated males.

DISCUSSION

Several reports (Miller, 1974; Ables *et al.*, 1975; Moore and Toft, 1975; Wright and Harris, 1976; Ivic and Wright, 1978; DeMilo *et al.*, 1978; Thakur and Ashok Kumar, 1984) are available on the effects of Diflubenzuron on fecundity, hatchability and mortality in several insects. The present report is of interest as it indicates that Diflubenzuron can be used to produce sterile insects by feeding. It is evident from the present study that Diflubenzuron does not affect the longevity and vigour of the treated flies. The fecundity reduced by about 30% and fertility was nil when treated females were crossed with untreated males. Further, the eggs laid during the extended period of 3-6 days exhibited complete sterility. This indicates the effectiveness of Diflubenzuron as an ovicide. However, the effect of Diflubenzuron was comparatively lower when treated males were crossed with untreated females. A similar observation has also been made by DeMilo *et al.* (1978) in the fall army worm and house fly. This may be attributed to the fact that spermatozoa in male flies have already reached complete development and therefore the effect of Diflubenzuron was comparatively less in treated male flies. Further, it can be inferred that the effect of Diflubenzuron on fertility is presumably due to the occurrence of dominant lethality in sperms and in the oocyte nuclei, which prevents the embryo from hatching. It also leads us to presume that the sterility in the uzi fly is due to the uptake of unmetabolised Diflubenzuron into the egg along with extra ovarian proteins that interfere in the morphogenetic movements and cell functions of developing embryos, as suggested by Ivic and Wright (1978) for the stable fly and house fly. In the light of these observations, it is suggested that Diflubenzuron could be used as an effective 'sterilant' to evolve a 'sterile insect technique' to control this economically important pest. The practical use of Diflubenzuron is described and discussed in detail in another communiqué (Puttaraju and Shivashankarappa, 1995).

REFERENCES

- ABLES J.R., ROBERT P., MERLESHEPARD (1975) Response of the house fly and its parasitoids to Dimilin (TH-6040). *J. Econ. Entomol.*, 68(1), 622-624.
- DEMILO A.B., OSTROMECKY D.M., SHENCHING CHAN REDFERN R.E., FYE R.L. (1978) Heterocyclic analogues of Diflubenzuron as growth and reproduction inhibitors of the fall army worm and house fly. *J. Agric. Food Chem.*, 26(1), 164-166.
- IVIE G.W., WRIGHT J.E. (1978) Fate of Diflubenzuron in the stable fly and house fly. *J. Agric. Food Chem.*, 26, 99-94.
- JOLLY M.S., KUMAR P. (1985) A three-pronged approach to control uzi fly. *Indian Silk*, 23(10 & 11), 5-9.
- KUMAR P., REDDY V.V., RAMADEVIO K., JOLLY M.S., DATTA R.K. (1985) Ovicidal activity of Diflubenzuron on the eggs of uzi fly, *Tricholyga bombycis* Beck (Diptera: Tachinidae). *Indian J. Seric.*, 24, 58-61.
- MILLER R.W. (1974) TH-6040 as a feed additive in control of the face fly and house fly. *J. Econ. Entomol.*, 67, 697.
- MOORE R.F., TOFT H.M. (1975) Bollweevils: Chemosterilization of both sexes with Busulfanplus Thompson-Hayward TH-6040. *J. Econ. Entomol.*, 68(1), 96-98.
- PUTTARAJU H.P., SHIVASHANKARAPPA L.H. (1995) Application of Diflubenzuron to control the uzi fly, *Exorista sorbillans* (= *E. bombycis*) (Diptera: Tachinidae). *Sericologia*, 35(4), 755-758.

- SIDDAPPAJI C., CHANNA BASAVANNA G.P. (1990) The Indian uzi fly, *Exorista bombycis*, a parasitoid of the mulberry silkworm. Indian J. Seric., 29(1), 119-137.
- THAKUR T.N., ASHOK KUMAR (1984) Effect of Diflubenzuron and penfluron on the reproductive potential of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel (Diptera: Tephritidae) influence of age at the time of treatment on sterility. Entomon., 9(1), 19-24.
- WRIGHT J.E., HARRIS R.L. (1976) Ovicidal activity of Thompson-Hayward TH-6040 in the stable fly and horn fly after surface contact by adults. J. Econ. Entomol., 69, 728-730.

EFFET DU DIFLUBENZURON SUR LA REPRODUCTION DE LA MOUCHE UZI *EXORISTA SORBILLANS* (= *E. BOMBYCIS*) (DIPTERA : TACHINIDAE)

L.H. SHIVASHANKARAPPA & H.P. PUTTARAJU

Department of Sericulture, Jnana Bharathi, Bangalore University, Bangalore 560 056, Inde.

On a étudié l'effet du Diflubenzuron (Dimilin) sur la reproduction de la mouche uzi indienne Exorista sorbillans Wiedemann. Les résultats obtenus montrent que les mouches femelles nourries avec des solutions de glucose à 8 % additionnées de 0,02, 0,04, 0,06 et 0,1 % de Diflubenzuron présentent une stérilité de 100 %. Les mouches mâles présentent une stérilité partielle à toutes les concentrations testées, avec une stérilité maximale de 96 % à la concentration de 0,1 % sans que cela ait d'effet négatif sur la vigueur, la longévité et la compétitivité sexuelle. La fécondité est faible et aucun oeuf n'écloît chez les mouches femelles traitées accouplées avec des mouches mâles non traitées. Chez les croisements réciproques, le taux de ponte est normal mais le taux de stérilité est fonction de la concentration.

INTRODUCTION

On sait que la mouche uzi indienne *Exorista sorbillans* Wiedemann, endoparasitoïde du ver à soie *Bombyx mori* L., occasionne des dommages considérables à l'industrie de la soie. On a proposé différentes méthodes de prévention contre ce parasite (Siddappaji et Channa Basavanna, 1990) mais aucune n'est réellement appliquée. L'utilisation de substances chimiques toxiques pour lutter contre la mouche uzi offre des possibilités limitées car les stades d'exposition de ce parasite sont eux-mêmes limités. De plus, ces produits présentent un risque de toxicité pour le ver à soie. Dans un certain nombre d'études (Kumar et coll., 1985 ; Jolly et Kumar, 1985), le Diflubenzuron a été considéré comme un inhibiteur de synthèse de la chitine et, par conséquent, comme un agent efficace de lutte contre la mouche uzi. Cependant, son effet sur la mouche uzi n'a pas encore été évalué de manière systématique. Cette étude vise donc à déterminer les effets du Diflubenzuron sur la fécondité et le taux d'éclosion des oeufs de la mouche uzi *Exorista sorbillans*.

MATERIELS ET METHODES

Les asticots de la mouche uzi proviennent du marché aux cocons de Ramanagaram, Karnataka (Inde). Ils ont été transférés en laboratoire où ils ont été élevés. Les asticots ont été déposés dans des cages en toile métallique (35 × 35 × 35 cm) pour permettre la métamorphose en pupes puis en adultes en laboratoire à une température de 23-25 °C et une humidité de 75 à 80 %.

Le Diflubenzuron (équivalent à 25 % de dimilin) [1-(4-chlorophényl)-3-(2,6-difluorobenzoyl)urée] a été dilué à des concentrations de 0,02, 0,04, 0,06 et 0,1 % et administré individuellement aux mouches mâles et aux mouches femelles en leur fournissant un coton imbibé d'une solution de glucose à 8 %. Une solution aqueuse du pourcentage requis a été préparée sur la base du poids de Diflubenzuron avec le volume requis de solution de glucose à 8 %. Pendant toute la durée du traitement (24 heures) les boules de coton séchées ont été remplacées par de nouvelles boules fraîches contenant du Diflubenzuron + glucose à une concentration déterminée dans les lots respectifs. Après 24 heures, environ dix mouches mâles nourries avec du Diflubenzuron ont été prélevées pour chaque concentration et accouplées avec le même nombre de mouches femelles vierges non traitées âgées d'un jour. On a également maintenu un croisement réciproque, c'est-à-dire des femelles traitées

accouplées avec des mâles non traités. Les mouches femelles traitées ont été mises à pondre sur des larves de vers à soie saines du cinquième âge. Les données concernant la fécondité ont été calculées en comptant le nombre d'oeufs pondus sur chaque larve hôte en 24 heures. Le pourcentage d'éclosion a été déterminé d'après le nombre de cicatrices noires sur le corps de l'hôte deux jours après l'oviposition.

RESULTATS

Les résultats obtenus à partir des croisements des mouches des deux sexes traitées avec différentes concentrations de Diflubenzuron avec des mouches non traitées du sexe opposé sont présentés dans le tableau I. Les données indiquent que, pour toutes les concentrations testées, l'oviposition des femelles non traitées croisées avec des mâles traités est normale (voir tableau I). Le nombre d'oeufs pondus varie de 124 à 132. Cependant, le nombre d'oeufs pondus par les femelles traitées accouplées à des mâles non traités est nettement plus faible et se situe entre 91 et 96. Les accouplements entre animaux non traités donnent une fécondité de 129. La fécondité des femelles traitées est inversement proportionnelle à la concentration de Diflubenzuron : lorsque la concentration du produit chimique augmente, la fécondité diminue mais cette diminution n'est pas significative.

Les observations sur le taux d'éclosion des oeufs révèlent que celui-ci diminue lorsque les femelles non traitées sont croisées avec des mâles traités à des concentrations croissantes de Diflubenzuron (0,02, 0,04, 0,06 et 0,1 %). Le taux de réduction est fonction de la concentration en Diflubenzuron. Le taux d'éclosion tombe de 35,20 % à la concentration de 0,01 % à 4,10 % à la concentration de 0,1 %. Par ailleurs, pour toutes les concentrations testées, on observe une inhibition totale de l'éclosion des oeufs issus des croisements entre femelles traitées et mâles non traités. Le taux d'éclosion est de 84,78 % chez le témoin.

Les pourcentages moyens de stérilité, calculés d'après les pourcentages de fécondité et d'éclosion, sont respectivement de 64,8 %, 70,2 %, 90,3 % et 95,9 pour les concentrations de 0,02, 0,04, 0,06 et 0,1 % contre 15,22 % chez le témoin. En outre, on enregistre une stérilité de 100 % pour toutes les concentrations testées chez les femelles traitées croisées avec des mâles non traités.

DISCUSSION

Il existe de nombreuses études (Miller, 1974 ; Ables et coll., 1975 ; Moore et Toft, 1975 ; Wright et Harris, 1976 ; Ivie et Wright, 1978 ; DeMilo et coll., 1978 ; Thakur et Ashok Kumar, 1984) sur les effets du Diflubenzuron sur la fécondité, l'éclosion et la mortalité chez les insectes. L'intérêt de l'étude présentée ici réside dans le fait qu'elle indique que le Diflubenzuron peut être utilisé par voie orale pour produire des insectes stériles. Il est clairement démontré ici que le Diflubenzuron n'affecte pas la longévité et la vigueur des mouches traitées. La fécondité diminue d'environ 30 % et la fertilité est nulle chez les femelles traitées croisées avec des mâles non traités. De plus, les oeufs pondus sur une période de 3 à 6 jours présentent une stérilité totale. Ceci indique que le Diflubenzuron constitue un ovicide efficace. Cependant, l'effet du Diflubenzuron est comparativement faible pour les mâles traités croisés avec des femelles non traitées. DeMilo et coll. (1978) ont fait une observation similaire chez la chenille de la leucanie et la mouche domestique. Ceci pourrait être attribué au fait que les spermatozoïdes chez les mouches mâles ayant déjà terminé leur développement, l'effet du Diflubenzuron sur les mâles traités est comparativement plus faible. De plus, on peut supposer que l'effet du Diflubenzuron sur la fertilité est dû à la présence d'une létalité dominante dans le sperme et le noyau des ovocytes qui arrête l'éclosion de l'embryon. Cela nous conduit également à penser que la stérilité de la mouche uzi est due à l'ingestion de Diflubenzuron non métabolisé dans l'oeuf simultanément à d'autres protéines ovariennes qui interfèrent avec les mouvements morphogénétiques et les fonctions cellulaires des embryons en cours de développement, comme cela a été suggéré par Ivie et Wright (1978) pour la mouche d'étable et la mouche commune. Ces observations montrent qu'il est possible d'utiliser le Diflubenzuron dans le cadre d'une technique de stérilisation des insectes pour lutter contre les insectes nuisibles du point de vue économique. L'utilisation pratique du Diflubenzuron est décrite et discutée en détail dans un autre communiqué (Puttaraju et Shivashankarappa, 1995).

LEAF MARGIN BURNING OF MULBERRY CAUSED BY *CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES* (FRESEN.) DE VRIES

K.P. SINGH*

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

Keywords: Leaf margin burning, mulberry, *Cladosporium cladosporioides*, variety S₁₆₃₅.

During November 1991-March 1992, moderate to heavy white spots on the tips of leaf margins, caused by *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries, were observed at Berhampore, West Bengal. Berhampore having a humid subtropical climate, offers an ideal ground for occurrence of small white pustules. Mulberry is a highly biomass-producing tree species and the only food plant of the silkworm, *Bombyx mori* Linn., grown in the field in most of West Bengal. The symptoms appeared on variety S₁₆₃₅ as white spots, later turning light brown to dark brown as the infection advanced. Under high humidity and in severe cases, the spots elongated along the veins, resulting in dark brown patches. After one month of infection it was also observed that the infected margins showed a burnt appearance and ultimately the leaf tissues were damaged.

The fungus was isolated on potato dextrose agar. The pathogenicity tests were made following Koch's postulate on one-month-old pruned plants with mycelial bits of one-week-old culture. Symptoms were observed to occur after 48 hours of inoculation. Further, the fungus has been confirmed at the Herbarium Cryptogamic Indiae Orientalis Section at IARI, New Delhi. Therefore, the variety S₁₆₃₅ constitutes a new host record for *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author's sincere thanks are due to Dr A.K. Sarbhoy, Mycology and Plant Pathology Division, IARI, New Delhi, for identification and to the Director, Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore, for providing facilities.

REFERENCES

- JAMULUDDIN (1974) *Cladosporium* rot of fruits of *Phyllanthus emblica*. Proc. Nat. Acad. Sci., India, 48, 62.
KEYWORTH W.G. (1951) A Petri dish moist chamber. Trans. Br. Mycol. Soc., 34, 291-292.
KUMAR ANIL T.B., SHESHADRI V.S. (1975) *Cladosporium* leaf spot of sunflower. Curr. Sci., 44, 722.
RIZWI M.A. (1978) A new leaf spot disease of pigeon pea. Indian Phytopath., 31, 235.
SHARMA N., KHAN A.M. (1978) Fruit rots of cape gooseberry. Indian Phytopath., 31, 513-514.

* Present address: Scientist, WO/PID/CSIR, Hillside Road, New Delhi - 110 012, India.

ROUSSISSEMENT DES BORDURES FOLIAIRES DE MURIER PROVOQUE PAR *CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES* (FRESEN.) DE VRIES

K.P. SINGH*

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

De novembre 1991 à mars 1992, des taches blanches moyennement à fortement marquées provoquées par *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries ont été observées sur les extrémités des bordures foliaires de mûrier à Berhampore (Bengale occidentale). La région de Berhampore, dont le climat est de type subtropical humide, constitue un terrain idéal pour l'infestation par de petites pustules blanches. Le mûrier, arbre produisant de larges quantités de biomasse, est la seule nourriture du ver à soie *Bombyx mori* Linn. Il est cultivé dans la majeure partie du Bengale occidental. Les symptômes sont apparus sur la variété S1635 sous la forme de taches blanches devenant marron clair à marron foncé, suivant le degré d'infestation. Lorsque l'humidité est élevée et dans les cas les plus sévères, les taches s'allongent le long des nervures, faisant apparaître des plaques marron foncé. Après un mois d'infestation, les bordures infestées ont une apparence de roussissement et les tissus foliaires sont endommagés.

Le champignon responsable a été isolé sur agar et dextrose de pomme de terre. Les tests de pathogénicité ont été réalisés d'après le postulat de Koch sur des plants taillés âgés d'un mois en utilisant des fragments mycéliens issus d'une culture d'une semaine. Les symptômes apparaissent 48 heures après l'inoculation. L'identité de ce champignon a été confirmée par l'*Herbarium Cryptogamic Indiae Orientalis* Section de l'IARI à New Delhi. La variété S1635 de mûrier constitue un nouvel hôte de *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries.

* Adresse actuelle : Scientist, WOI/PID/CSIR, Hillside Road, New Delhi - 110 012, Inde.

**COLASPOSOMA SEMICOSTATUM JACOBY (COLEOPTERA:
CHRYSOMELIDAE), A NEW PEST OF SHOREA ROBUSTA
ROXBURGHII**

P.K. MISHRA & J. JAYASWAL

Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, "Vinod Villa" West End Park, Hehal,
Ranchi - 834 005, India.

Keywords: New pest, metallic beetle, sal.

Tasar culture is an age-old occupation of aboriginals of central India starting from the Western Ghats to the Vindhya Hills region, touching the fringes of West Bengal and Uttar Pradesh. Tasar silk is produced by *Antheraea mylitta* Drury, which is polyphagous in nature, in central India, especially in Madhya Pradesh, where large quantities of cocoons are collected from the forest from sal trees.

While carrying out pest complex studies of sal, *Shorea robusta*, in Chotanagpur plateau of Bihar it was observed that *Colasposoma semicostatum* Jacoby was causing extensive damage to the leaves of *S. robusta*. The extent of the damage to foliage was recorded to the tune of more than 15%.

Colasposoma semicostatum is a species of metallic beetles, widely distributed in the Chotanagpur area of Bihar. The adult beetles were found feeding on leaves, leaving only the median and side veins. On severe attacks of the pest, the apical shoots and buds were also damaged by these beetles. The beetles usually appeared during June soon after pre-monsoonal showers and were present on sal plants till late October. The peak period of their presence was recorded from July to mid-September, with an average population of 170 to 180 beetles per twig. Its preadult stages were found in soil, feeding on the secondary and tertiary sal roots.

These beetles are metallic green in colour with a bluish tinge on the dorsal side. The beetles measured 4.5 mm in length and 4 mm in breadth. The head was strongly and closely punctured; the labrum, fulvous; the antennae, extending beyond the middle of elytra; the thorax, strongly transverse — more than twice as long as broad; the elytra, slightly depressed below the base; the body beneath, greenish aeneous; the anterior legs, elongated, their forward strongly thickened and unarmed; the knees of all legs were metallic green. The beetle has been reported to be distributed throughout Sikkim and other parts of India (Jacoby, 1908).

It has already been reported to be a serious pest of *Cassia fistula*, *Pinus roxburghii*, *Tectona grandis* (Beeson, 1941; Browne, 1968; Mathur and Singh, 1954-61) and of *Terminalia arjuna* and *Terminalia tomentosa* (Mishra *et al.*, 1994).

However, this is the first report on *C. costatum* to be a pest of *S. robusta*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to Dr M.L. Thakur, Division of Entomology, Forest Research Institute, Dehradun, India, for taxonomic identification of the pest.

REFERENCES

BEESON C.F.C. (1941) The Ecology and Control of the Forest Insect Pests of India and the Adjacent Countries. Vasant Press, Dehradun, India.

- BROWNE F.G. (1968) Pests and Diseases of Forest Plantation Trees, an Annotated List of the Principal Species Occurring in the British Commonwealth. Carendon Press, Oxford.
- JACOBY M. (1908) The Fauna of British India, Including Ceylon and Burma (Coleoptera: Chrysomelidae Vol. I). Taylor and Francis, London, p. 443.
- MATHUR R.N., SINGH B. (1954-61) A list of insect pests of forest plants in India and adjacent countries. Forest Bulletin, Dehradun (N.S.) (Ento.), 171, parts 1-10.
- MISHRA P.K., SINGH R.N., JAYASWAL J., THANGAVELU K. (1994) *Colasposoma semicostatum* Jacoby (Coleoptera: Chrysomelidae), a new pest of *Terminalia arjuna* Bedd. and *Terminalia tomentosa* W. & A. J. Adv. Zool. 15, 59.

**UN NOUVEAU PARASITE DE *SHOREA ROBUSTA*
ROXBURGHII : *COLASPOSOMA SEMICOSTATUM* JACOBY
(COLEOPTERA : CHRYSOMELIDAE)**

P.K. MISHRA & J. JAYASWAL

Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, "Vinod Villa", West End Park, Hehal,
Ranchi - 834 005, Inde.

La culture tasar est une pratique traditionnelle séculaire des indigènes d'Inde centrale et s'étend des Ghats occidentaux aux monts Vindhya jusqu'aux confins du Bengale occidental et de l'Uttar Pradesh. La soie tasar est produite par *Antheraea mylitta* Drury, insecte polyphage d'Inde centrale, particulièrement dans le Madhya Pradesh où l'on récolte de grandes quantités de cocons dans les forêts de sals (*Shorea robusta*).

Au cours d'une étude sur le complexe parasitaire de *Shorea robusta*, réalisée dans la région du plateau de Chotanagpur dans le Bihar, on a observé que *Colasposoma semicostatum* Jacoby occasionnait des dommages importants aux feuilles de *S. robusta*, les dommages s'étendant sur environ 15 % de la surface foliaire.

Colasposoma semicostatum est une espèce de coléoptère métallique largement répandue dans la région de Chotanagpur (Bihar). Les coléoptères adultes se nourrissent de feuilles, laissant seulement les nervures médianes et latérales. En cas d'infestation sévère, les coléoptères attaquent également les pousses et les bourgeons apicaux. Ils apparaissent généralement en juin tout de suite après les averses précédant la mousson et sont présents sur les plants de sal jusqu'à la fin octobre. Aux stades pré-adultes, cet insecte vit dans le sol et se nourrit des racines secondaires et tertiaires de sal.

Ce coléoptère est de couleur vert métallique tirant sur le bleu sur la partie dorsale. Il mesure 4,5 mm de long et 4 mm de large. La tête est fortement et étroitement piquée; le labre est de couleur fauve; les antennes s'étendent jusqu'à plus de la moitié des élytres; le thorax est nettement transverse et deux fois plus long que large; les élytres sont légèrement affaissés par rapport à la base; la partie ventrale du corps est de couleur bronze verdâtre; les pattes antérieures sont allongées, fortement charnues et inermes à l'avant; les genoux sont vert métallique. Ce coléoptère a été observé sur l'ensemble de l'Etat du Sikkim et dans d'autres régions d'Inde (Jacoby, 1908).

C. semicostatum est un parasite sévère de *Cassia fistula*, *Pinus roxburghii*, *Tectona grandis* (Beeson, 1941; Browne, 1968; Mathur et Singh, 1954-61) et de *Terminalia arjuna* et *Terminalia tomentosa* (Mishra et coll., 1994).

Cependant, ce rapport est le premier à décrire l'infestation de *S. robusta* par *C. costatum*.

BIBLIOGRAPHIE - BIBLIOGRAPHY

Sériciculture générale	778
General sericulture	
Mûrier	781
Mulberry	
<i>Bombyx mori</i> : élevage, nutrition, pathologie	786
<i>Bombyx mori</i> : rearing, feeding, pathology	
Séricigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie	790
Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology	
Vers à soie : génétique	792
Silkworms: genetics	
Vers à soie : physiologie, biochimie	796
Silkworms: physiology, biochemistry	
Vers à soie : glandes séricigènes	801
Silkworms: silk glands	
Soie	802
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) Portugais / <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

Riches out of rags.

Les richesses issues des haillons.

ANONYME

1996 Indian Silk, Vol. 34(9), 16. (E)

Sericulture in Thailand.

Sériciculture in Thaïlande.

ANONYME

1995 Indian Silk, Vol. 34(7), 45-47. (E)

La Soie en Occident.

Silk in the West.

ANQUETIL J.

1995 Flammarion Editeur, Paris, 200 p. (F)

Study on adoption behaviour of sericulturists and their characteristics in Kolar district of Karnataka.

Etude du comportement d'adoption des sériciculteurs et leurs caractéristiques dans le district de Kolar au Karnataka.

CHIKKANNA *et al.*

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

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 10-14. (E)

On-farm trials of new technologies.

Essais de nouvelles technologies dans les fermes.

DATTA R.K.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(6), 13-18. (E)

Pasteur et le ver à soie.

Pasteur and the silkworm.

D'AGUILAR J.

1995 Insectes, N° 99, 19-21. (F)

Silk production in Valencia Country (Spain) during 18th century: geographical distribution and evolution. / La producción de seda en el País Valenciano durante el siglo 18 : distribution geografica y evolucion.

La production de soie dans la région de Valence (Espagne) au cours du 18e siècle.

FRANCH BENAVENT R.

Valencia Univ., Facultad de Geografia e Historia, Spain.

1994 *Noticiario de Historia Agraria*, N 8, 67-98. (S)

Mizoram: sericulture through co-operatives.

Mizoram : la sériciculture en coopératives.

HANDIQUE P.K.

Department of Sericulture, Government of Mizoram, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(6), 31-34. (E)

Analysis on situation of silkworm disease epidemic in Shaanxi.

Analyse des maladies du ver à soie au Shaanxi.

NIU H., WANG J.

Shaanxi Sericultural Service, Xian 710 003, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 243-247. (C,e)

Sericulture among tribals of B.R. Hills.

La sériciculture dans les tribus de B.R. Hills.

RAJU P.J., MAHADEVAPPA, RAGHURAMAN R., DANDIN S.B.

KSSRDI Sub-station, B.R. Hills, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(6), 10-12. (E)

Comparative production of biogas from mulberry silkworm excreta and other substrates.

Comparaison de la production de gaz organique provenant des excréments du ver à soie du mûrier et d'autres substrats.

SIMANNA D., REDDY D.N.R.

Department of Sericulture, University of Agricultural Sciences, GKVK Campus, Bangalore 560 065, India.

1995 *Mysore J. Agric. Sci.*, Vol. 29(4), 327-331. (E)

Season and region specific silkworm breeds.

Souches de vers à soie spécifiques aux régions et aux saisons.

SITARAMA IYENGAR M.N.

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

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(7), 17-21. (E)

Socio-economic conditions of women sericulturists and their access to sericulture technology.

Conditions socio-économiques des femmes sériculteurs et leur accès à la technologie séricole.

SUBRAMANIAM R.K. et al.

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

1995 *Indian J. Seric.*, Vol. 34(1), 50-53. (E)

Economic efficiency of a silkworm farm aiming at output of 500 kg of cocoons per year.

Efficacité économique d'une ferme d'élevage de vers à soie visant une production de 500 kg de cocons par an.

TZENOV P., PETKOV Z.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1995 *Agricultural Economics and Management*, Vol. 40(4), 129-131. (Bg,r,e)

Possibilities studied to use silkworm feeding litter as a compost.

Etude des possibilités d'utilisation des litières de nourrissage de vers à soie comme compost.

TZENOV P., PETKOV Z., PETKOV N.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1994 Journal of Animal Science, Vol. 31(7-8), 152-155. (Bg,r,e)

Prospects of muga culture in West Garo Hills.

Perspective de la culture du muga dans les West Garo Hills.

VERMA A.K., SINGH S.S

MSDP P4 Unit, Tura, Maghalaya, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(8), 33-34. (E)

A study of occupational asthma and specific IgE in sericulture workers.

Une étude de l'asthme lié à la profession et de l'IgE spécifique chez les sériciculteurs.

WANG X., ZHENG S., ZHANG H., YAN Y.

1994 Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao, Vol. 16(5), 323-327. (C)

Mûrier

Mulberry

Prune for productivity.

Tailler pour la productivité.

ANIL DHAR, BINDROO B.B., FOTEDAR R.K.

Regional Sericultural Research Station, Miran Sahib, Jammu, India.

1996 Indian Silk, Vol. 34(9), 12-13. (E)

Integrated nitrogen management in mulberry.

Gestion intégrée de l'azote chez le mûrier.

ANILKUMAR A.S., TAJUDDIN E.

Kerala Agriculture University, Vellanikkara, India.

1996 Indian Silk, Vol. 34(9), 17-19. (E)

Cock-chaffer beetle: a rare mulberry pest.

Le hanneton : un parasite rare du mûrier.

BHAT D.V., VEDAVYAS K.

Central Sericultural Research and Training Institute, Hassan, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(7), 29. (E)

Propagation of mulberry under sub-tropical conditions.

Propagation du mûrier dans des conditions sub-tropicales.

BINDROO B.B., FOTEDAR R.K., ANIL DHAR

Regional Sericultural Research Station, Miran Sahib, Jammu, India.

1996 Indian Silk, Vol. 34(9), 11-15. (E)

Fertilizers in mulberry cultivation.

Les engrais dans la culture du mûrier.

BONGALE U.D.

1994 Pushpaseri Publication, Thalaghattapura, Bangalore 560 062, India. 134 p. (E)

Studies on the effect of soil amendments on productivity of mulberry in sodic soils and its economics.

Etudes sur l'effet des amendements du sol sur la productivité du mûrier en sols sodiques et son économie.

BOSE P.C., MAJUMDAR S.K.

Regional Sericultural Research Station, Jammu 180 004, India.

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 76-78. (E)

Efficiency plant retrieval from alginate-encapsulated vegetative buds of mature mulberry trees.
Récupération de l'efficacité végétale à partir de bourgeons végétatifs de mûriers matures capsulés à l'alginate.

CHAND P.K., PATTANIK S.K., SAHOO.

Plant Tissue and Cell Culture Facility, Utkal University, Bhubaneswar, Orissa, India.

1995 Scientia Horticulturae (Netherlands), Vol. 61(3-4), 227-239. (E)

A preliminary report on endurance of mulberry explants to sodium chloride.

Un rapport préliminaire sur la tolérance des explants de mûrier au chlorure de sodium.

CHEN A. *et al.*

1995 Canye Kexue, Vol. 21(4), 256-257. (C)

Growth regulators for mulberry.

Régulateurs de croissance pour le mûrier.

DAS C., SETUA M., SENGUPTA T., SEN S.K., QUADRI S.M.H., SARATCHANDRA B.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(7), 23-24. (E)

Effect of vesicular arbuscular mycorrhizal inoculation on growth and development of mulberry (*Morus* spp.) saplings.

Effect de l'inoculation de micorhize arbusculaire vésiculaire sur la croissance et le développement de jeunes mûriers (*Morus* spp.).

DAS P.K., KATIYAR R.S., HANUMANTHA GOWDA M., FATHIMA P.S., CHOUDHURY P.C.

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

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 15-17. (E)

Efficacy of fungicides in controlling mulberry leaf rust caused by *Ceratium fici*.

Efficacité des fongicides dans la lutte contre la rouille des feuilles chez le mûrier causée par *Ceratium fici*.

GUNASEKHAR V., GOVINDAIAH, HIMANTHARAJ M.T.

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

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 60-62. (E)

Microbial interruption in *in vitro* culture of mulberry in different seasons (Bangladesh).

Interruption microbienne dans la culture *in vitro* du mûrier à différentes saisons (Bangladesh).

ISLAM R., ZAMAN A., ISLAM S., BARMAN A.C., JOARDER O.I.

1994 Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh), Vol. 5, 15-17. (E)

Relationship between growth substance and induction of somatic embryogenesis in mulberry.

Relation entre la substance de croissance et l'induction de l'embryogenèse somatique chez le mûrier.

KATAGIRI K., THINH N.T.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(5), 469-471. (E)

Study on relationship between resistance of different mulberry varieties to mulberry yellow dwarf disease and peroxidase content.

Etude sur la relation entre la résistance de différentes variétés de mûriers à la maladie du nanisme jaune et le titre en peroxydase.

LEI G., JIN Y., LI Z., TAN S.

Human Research Institute of Silkworm and Mulberry Sciences, Lixian 415500, China.

1995 Canye Kexue, Vol. 21(4), 219-222. (C,e)

Anti-HIV flavonoids from *Morus alba*.

Les flavonoïdes anti-VIH de *Morus alba*.

LUO S., NEMEC J., NING B.

1995 Yunnan Zhiwu Yanjiu, Vol. 17(1), 89-95. (C)

Non-peptide bombesin receptor antagonists, kuwanon G and H, isolated from mulberry.

Les antagonistes non peptidiques, kuwanon G et H, de récepteurs de bombésine, isolés à partir du mûrier.

MIHARA S. *et al.*

1995 Biochem. Biophys. Res. Commun., Vol. 213, 594-599. (E)

***Mimastra cyanura* Hope: a serious pest of mulberry in Jammu.**

Mimastra cyanura Hope : un sérieux parasite du mûrier au Jammu.

MUKHERJEE S., DHAR A., SADRUDDIN, MUKHERJEE P.

Regional Sericultural Research Station, Jammu, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(8), 11-12. (E)

Role of some leaf characters in the taxonomy of *Morus alba* L. in BSRTI (Bangladesh Sericultural Research and Training Institute Rajshahi).

Rôle de quelques caractères des feuilles dans la taxonomie de *Morus alba* L. au BSRTI.

NADERUZZAMAN A.T.M., ROY A.K., ZAHAN S.K., AHAD A.

1994 Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh), Vol. 5, 47-50. (E)

State and trends for development of mulberry growing in Bulgaria.

Situation et tendances du développement de la moriculture en Bulgarie.

PETKOK Z., TZENOV P.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1995 Agricultural Science and Production, Vol. 33(1), 10-13. (Bg,r,e)

Powdery mildew of mulberry.

Le mildiou poudreux du mûrier.

PHILIP T.

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

1996 Indian Silk, Vol. 34(9), 21-23. (E)

Studies on the variance and correlation analysis among major nutritional composition of mulberry leaves influenced by different doses of NPK fertilizers (Bangladesh).

Etude sur la variance et analyse de la corrélation entre les composants nutritionnels principaux des feuilles de mûrier, influencée par différentes doses d'engrais NPK (Bangladesh).

RAHMAN M.M., ABSAR N., QADER M.A.

1994 Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh), Vol. 5, 31-36. (E)

Association of characters of leaf production in germplasm mulberry varieties.

Association des caractères de production de la feuille chez des variétés de mûriers d'une banque génétique.

RAHMAN M.S., SARKAR A., CHOTURVEDI H.K.

1994 Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh), Vol. 5, 9-13. (e)

Mechanization of mulberry cultivation in Japan.

Mécanisation de la culture du mûrier au Japon.

RAMA KANT

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

1996 Indian Silk, Vol. 34(9), 39-41. (E)

Machine for crushing shoots.

Une machine à broyer les branches.

SATISH VERMA.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(6), 27-28. (E)

Propagation of mulberry (*Morus alba* L.) through young shoots in West Bengal.

Propagation du mûrier (*Morus alba* L.) par de jeunes pousses au Bengale occidental.

SATPATHY B., PUROHIT K.M., GHOSH J.K., GHOSH P.L.

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

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 42-45. (E)

Effect of VA-mycorrhizal fungi on the incidence of major mulberry diseases.

Effect des VA-micorhizes sur l'incidence des principales maladies du mûrier.

SHARMA D.D. *et al.*

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

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 34-37. (E)

Effect of Sebufos 10G against *Meloidogyne incognita* in mulberry.

Effet de Sebufos 10G contre *Meloidogyne incognita* chez le mûrier.

SHARMA D.D., GOVINDAIAH.

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

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 6-9. (E)

Medicine values of mulberry.

Valeurs médicinales du mûrier.

SHIVAKUMAR G.R., ANANTHA RAMAN K.V., MAGADUM S.B., DATTA R.K.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(7), 15-16. (E)

Termites in mulberry plantation.

Les termites dans les mûraies.

SIDDE GOWDA D.K., MANJUNATH D., PRADIP KUMAR, DATTA R.K.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(6), 29-30. (E)

***Diaphania* sp. infests mulberry in South India.**

Diaphania sp. infeste les mûriers dans le sud de l'Inde.

SIDDEGOWDA D.K. *et al.*

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(8), 6-8. (E)

Response of mulberry to biofertilizer and vipul.

Réponse du mûrier aux engrais biologiques et au vipul.

SREENIVASULU REDDY P., CHANDRASEKHAR M., SURYANARAYANA N.

Regional Sericultural Research Station, Central Silk Board, Anantapur, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(8), 9-10. (E)

***Pseudocercospora mori*: mulberry leaf spot fungus.**

Pseudocercospora mori : un champignon tachant les feuilles de mûrier.

SUBRATA BISWAS, PAVANKUMAR T.

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

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(8), 19-20. (E)

Distribution of the larvae of mulberry pyralid moth (*Diaphania pyloalis* Walker) and its injury characteristics.

Distribution des larves de la pyrale du mûrier (*Diaphania pyloalis* Walker) et caractéristiques des lésions causées.

TANG N. *et al.*

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 258-259. (C)

Exploration and collection of mulberry germplasm in Yunnan Province.

Exploration et collection de la banque génétique du mûrier de la Province du Yunnan.

WU Z., XIA M., CHEN X., SHI B., JIANG J., LUO K., CHAI J., CHU Y.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 209-213. (C,e)

A preliminary report on the application of RAPD in systematics of *Morus* L.

Un rapport préliminaire sur l'application des RAPD dans la systématique de *Morus* L.

XIANG Z., ZHANG S., YU M., KE Y.

Key Sericultural Laboratory of Agricultural Ministry, Southwest Agricultural University, Chongqing 630716, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 203-208. (C,e)

Identification of moracins C and N induced by UV-irradiation in mulberry leaves.

Identification des moracines C et N induites dans les feuilles de mûriers par irradiation aux UV.

YASUI H., YAZAWA M.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(5), 463-466. (E)

Effects of aminoacids on cloning of mulberry microshoots: observations, analysis and consequences.

Effets des acides aminés sur le microbouturage du mûrier: observations, analyses et conséquences.

ZAMAN A., ISLAM R., ISLAM S., BARMAN A.C., JOARDER O.I.

1994 *Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh)*, Vol. 5, 1-4. (E)

Influence of cadmium and lead polluted soil on mulberry growth.

Influence de la pollution du sol par le cadmium et le plomb sur la croissance du mûrier.

ZHOU W.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 265-266. (C)

Study of the superoxide dismutase from mulberry *Morus alba* Linnaeus leaves.

Etude de la superoxyde dismutase des feuilles du mûrier *Morus alba* Linnaeus.

ZHU X., BAO H.

Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 214-218. (C,e)

***Bombyx mori* : élevage, nutrition, pathologie**

***Bombyx mori*: rearing, feeding, pathology**

Effects of trehazolin, a potent trehalase inhibitor, on *Bombyx mori* and plant pathogenic fungi.
Effets de la trehazoline, un inhibiteur puissant de la tréhalase, sur *Bombyx mori* et les champignons pathogènes des végétaux.

ANDO O., KIFUME M., NAKAJIMA M.

1995 *Biosci., Biotechnolo., Biochem.*, Vol. 59(4), 711-712. (E)

Effect of zinc on the nutritional indices, economic characters of cocoon and quality of silk of *Bombyx mori* L.

Effet du zinc sur la valeur nutritionnelle, les caractères économiques et la qualité de la soie chez *Bombyx mori* L.

BALAMANI R., PRINCE S.P.M., SUBBURAM W., SUBBURAM V.

Department of Enviromental Sciences, Bharathiar University, Coimbatore 641 046, India.

1995 *Indian J. Seric.*, Vol. 34(1), 69-71. (E)

LABEX: an effective bed disinfectant.

LABEX : un désinfectant efficace pour les litières.

BHATTACHARYA J., KRISHNAN N., CHANDRA A.K., SEN S.K., SARATCHANDRA B.

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

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(8), 35-36. (E)

Loose egg production technology.

Technologie de production des oeufs détachés.

BIRAM SAHEB N.M., VIJAYA KUMAR, MISRI A.K., KHAROO V.K., SUBRAMANYA REDDY C.

SSTL, Kadathi, India.

1996 *Indian Silk*, Vol. 34(9), 24-29. (E)

Breeding of a basic silkworm variety HEK with hyperlaying-eggs.

Sélection d'une variété basique de vers à soie HEK donnant des oeufs en très grande quantité.

CHEN K., YAO Q., LIN C.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 234-237. (C,e)

Comparisons of artificial-feed-bred cocoons at each instar period.

Comparaisons des cocons élevés sur aliment artificiel à chaque âge larvaire.

CHOI C.H., MOON B.W., HA N.G.

Chinju National University, Department of Agriculture, Chinju, Korea Republic.

1995 Journal of Agricultural Technology Research Institute - Chinju National University (Korea Republic), Vol. 8, 176-183. (Ko)

Application of linear programming technique to plan optimum production of layings in a commercial grainage.

Application d'une technique de programmation linéaire pour planifier une production optimale des pontes dans une station de grainage commerciale.

FRANCIS C.R., KUMARESAN P., BENCHAMIN K.V.

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

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 28-33. (E)

Effect of ethyl-methane sulphonate (EMS) on the productivity of silk butterfly (*Bombyx mori* L.).

Effet de l'éthyl-méthane sulfonate (EMS) sur la productivité du papillon de soie (*Bombyx mori* L.).

GREKOV D., PETKOV N., MALINOVA K.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1994 Journal of Animal Science, Vol. 31(7-8), 160-163. (Bgr,e)

Cocoon harvester for rotary mountage.

Un récolteur de cocons pour encabannage rotatif.

HIMANTHARAJ M.T., RAJAN R.K., MUROGA A., KAMBLE C.K.

Central Seric. Research and Training Inst., Manandavadi Road, Srirampura, Mysore 570 008, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(8), 24. (E)

Management of basic seed farms: a new approach.

Gestion des stations de grainage : une nouvelle approche.

JAMMY T.R.

National Sericulture Project, CSB, Jagadapur, M.P., India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(6), 19-21. (E)

Breeding of a new silkworm variety Xiaxie 1.

Sélection d'une nouvelle variété de ver à soie Xiaxie 1.

LI B., PAN S., LIAO Q., XIAO L., YU B., YANG C., YU A.

Sericultural Research Inst., Guangdong Academy of Agricultural Sci., Guangzhou 510642, China.

1995 Canye Kexue, Vol. 21(4), 228-233. (C,e)

Utilization of hybrids of mulberry in the production of silkworm (*Bombyx mori* L.) cocoons.

Utilizacao de hibridos de amoreira na producao de casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.).

Utilisation d'hybrides de mûriers dans la production des cocons de vers à soie (*Bombyx mori* L.)

MENDONCA G.A. de.

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, Brazil.

1994 Piracicaba Ed., SP (Brazil), 59 p. (Pt)

Effect of nematode infected mulberry plants on the growth and silk production of *Bombyx mori* L.

Effet des plants de mûriers infestés par un nématode sur la croissance et la production de soie chez *Bombyx mori* L.

PAUL A., SINHA BABU S.P., SUKUL N.C.

Department of Zoology, Visva-Bharathi University, Santiniketan 731 235, India.

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 18-21. (E)

Comparative evaluation of traditional and new multi-hybrids of silkworm (*Bombyx mori* L.) across seasons.

Evaluation comparative des polyhybrides traditionnels et nouveaux de vers à soie (*Bombyx mori* L.) au cours des saisons.

RAJU P.J., KRISHNAMURTHY N.B.

Karnataka State Sericulture Research and Development Institute Sub-station, B.R. Hills, 571 441, India.

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 38-41. (E)

Quarantine procedures in sericulture.

Procédures de quarantaine en sériciculture.

SAMSON M.V.

Silkworm Seed Technology Laboratory, Bangalore, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(7), 12-14. (E)

Relative incidence of the silkworm viral diseases in agroclimatic zones of northern Karnataka (India).

Incidence relative des maladies virales du ver à soie dans les zones agroclimatiques du nord du Karnataka (Inde).

SAVANURMATH C.J. *et al.*

1994 Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh), Vol. 5, 51-55. (E)

Care during shoot rearing.

Les soins apportés pendant l'élevage aux rameaux.

SINGH G.B.

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

1996 Indian Silk, Vol. 34(9), 31-34. (E)

Synergic action of acid treatment and surface sterilization.

Action synergique du traitement acide et stérilisation de la surface.

SINGH G.P., VINEET KUMAR, MATHUR V.B., KAMBLE C.K.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(7), 25-26. (E)

Selection strategies in relation to correlation and heritability in the silkworm *Bombyx mori*.

Stratégies de sélection en relation avec la corrélation et l'héritabilité chez le ver à soie *Bombyx mori*.

SINGH T., CHANDRASHEKHARAJAH, SAMSON M.V.

1994 Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh), Vol. 5, 37-41. (E)

Rearing the silkworm larvae on a newly developed artificial diet, pellet diet.

Elevage des vers à soie sur un aliment artificiel nouvellement développé, un aliment en grains.

SUDO M., HIRATA Y., FUJIWARA Y., HORIE Y.

Institute of Silkworm Genetics and Breeding, 1053 Ikura, Ami-machi, Ibaraki-ken 300-03, Japan.

1995 Reports of the Silk Science Research Institute, Vol. 43, 23-34. (J,e)

Disease management for successful silkworm crops.

Gestion des maladies pour réussir les élevages de vers à soie.

SURESH KUMAR N., BASAVARAJA H.K.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(8), 13-17. (E)

Study on the daily ingestion, digestion and utilization of dry matter in food in pure breeds of the silkworm, *Bombyx mori* L.

Etude de l'ingestion quotidienne, de la digestion et de l'utilisation de matière sèche de l'aliment chez des souches pures du ver à soie *Bombyx mori* L.

TZENOV P.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1995 Bulgarian Journal of Agricultural Science, Vol. 1, 189-196. (E)

A study of the microflora of forage for feeding the mulberry silk butterfly.

Une étude de la microflore des fourrages pour l'alimentation des vers à soie du mûrier.

TZENOV P., BOZHKOVA A.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1994 Veterinary Science, Vol. 28(4), 36-42. (Bg,e)

Study of the inheritance in F1 of absorption and digestion of common nitrogen in silkworm (*Bombyx mori* L.).

Etude de l'hérédité de l'absorption et de la digestion de l'azote chez des F1 du ver à soie (*Bombyx mori* L.).

TZENOV P., PETKOV N.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1995 Journal of Animal Science, Vol. 32(1-2), 116-118. (Bg,r,e)

Possibilities for feeding improvement of silkworm (*Bombyx mori* L.) during late spring season.

Possibilités d'amélioration de l'alimentation du ver à soie (*Bombyx mori* L.) à la fin du printemps.

TZENOV P., PETKOV Z., PETKOV M.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1994 Journal of Animal Science, Vol. 31(7-8), 147-151. (Bg,r,e)

VSSPC: grainage with a difference.

VSSPC : un grainage différent.

VATHSALA T.V.

Central Silk Board, BTM Layout, Madivala, Bangalore 560 068, India.

1995 Indian Silk, Vol. 34(6), 23-25. (E)

A simple device for silkworm egg transportation.

Un matériel simple pour le transport des oeufs de vers à soie.

VINEET KUMAR, SINGH G.P., KAMBLE C.K.

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

1995 Indian Silk, Vol. 34(7), 27-28. (E)

Sérigigènes non-mûriers : élevage, nutrition, pathologie

Non-mulberry silkworms: rearing, feeding, pathology

Le *Bombyx eri* : *Philosamia ricini*.

The *Bombyx eri*: *Philosamia ricini*.

BUISSON C.

Station de Recherche de Lutte biologique INRA, La Minière, 78280 Guyancourt, France.

1995 *Insectes*, N 99, 13-14. (F)

Influence of population density on feed intake by the caterpillars of Chinese oak egg moth. / Uplyw shchyl'nastsi papulyatsyi na''yadanne kormu vusenyami kitajskada dubovaga shawkaprada.

Influence de la densité de population sur la prise de nourriture des chenilles du ver à soie du chêne chinois.

GAWRYL'CHYK Z.S.

Vitsebski Dzyarzhawny Pedagogichnu Instytut, Vitsebsk, Belarus.

1994 *Vesti Akadehmii Navuk Belarusi, Seryya Biyalagichnykh Navuk (Belarus)*, N 3, 113-115. (R)

Effect of host plants on some biochemical parameters of eri silkworm, *Philosamia ricini* during its development.

Effet des plantes hôtes sur quelques paramètres biochimiques du ver à soie eri *Philosamia ricini* au cours de son développement.

GOGOI R., YADA R.N.S.

1995 *Indian J. Exp. Biol.*, Vol. 33(5), 372-374. (E)

Determination of quality of *Machilus bombycina* for rearing *Antheraea assama* Westwood.

Détermination de la qualité de *Machilus bombycina* pour l'élevage d'*Antheraea assama* Westwood.

HAZARIKA R.L., SEN P., BHATTACHARYA S., DEKA P.C., BARUAH J.N.

Department of Agricultural Biotechnology, Assam Agricultural University, Jorhat 785 013, India.

1995 *Indian J. Seric.*, Vol. 34(1), 74-75. (E)

Stem borer in primary tasar food plants.

Le térébrant de la tige chez les principales plantes hôtes du tasar.

JAIPAL REDDY K., MARUTHI RAM G., SINGH M.K., SINGH R.N.

Regional Tasar Research Station, Bhandara, Osmania University, Hyderabad, India.

1996 *Indian Silk*, Vol. 34(9), 35-38. (E)

New endoparasite of *A. mylitta* D.

Un nouvel endoparasite d'*A. mylitta* D.

KOLE S., CHATTERJEE H.

Basic Seed Multiplication and Training Centre, Central Tasar Research and Training Institute, Patelnagar, West Bengal, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(7), 35-40. (E)

Studies on the efficacy of sodium hydroxyde as prophylactic agent against polyhedrosis in tasar silkworm, *Antheraea mylitta*.

Etudes de l'efficacité de la soude utilisée comme agent prophylactique contre la polyédrose chez le ver à soie tasar *Antheraea mylitta*.

KUMAR P., GRIYAGHEY U.P.

1995 *Entomol.*, Vol. 20(1), 53-54. (E)

The rate of embryo formation from eggs in the ovary of oak silkworm through freezing and heating treatment.

Le taux de formation d'embryons obtenu à partir d'oeufs des ovaires du ver à soie du chêne après traitement au froid et à la chaleur.

LÜ J. *et al.*

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 261-262. (C)

Tasar chawki rearing under nylon net.

Elevage des jeunes tasars sous un filet en nylon.

MATHUR S.K., BAJPEYI C.M., SINHA B.P.R.Pd., SINHA S.S.

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

1996 *Indian Silk*, Vol. 34(9), 42. (E)

Do leaf tannins affect non-mulberry silkworm ?

Les tannins des feuilles affectent-ils les vers à soie non mûriers ?

PANDEY R.K.

Poorvanchal Sericulture Development Project, CSB, Varanasi, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(8), 21-23. (E)

Seasonal variation in oak leaf quality of *Quercus serrata* and its impact on oak tasar silkworm rearing.

Variation saisonnière de la qualité des feuilles du chêne *Quercus serrata* et son impact sur l'élevage du ver à soie tasar du chêne.

PANDEY R.K.

Purvanchal Sericulture Development Project, Varanasi 221 002, India.

1995 *Indian J. Seric.*, Vol. 34(1), 79-81. (E)

Rooting behaviour in cuttings of som (*Machillus bombycina* King) (Laurales: Lauraceae).

Comportement d'enracinement des boutures de som (*Machillus bombycina* King) (Laurales : Lauraceae).

RAJA RAM, SAMSON M.V.

Regional Muga Research Station, Boko 781 123, Assam, India.

1995 *Indian J. Seric.*, Vol. 34(1), 54-56. (E)

***Blepharipa zebina* Walker (Tachinidae: Diptera), a new host record for hymenopteran parasitoids *Brachymeria lasus* Walker and *Theronia maskeliya* Cameron.**

Blepharipa zebina Walker (Tachinidae : Diptera), un nouvel hôte pour les hyménoptères parasites *Brachymeria lasus* Walker et *Theronia maskeliya* Cameron.

SINGH R.N., MANDAL K.C., THANGAVELU K.

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

1995 *Indian J. Seric.*, Vol. 34(1), 72-73. (E)

The morphological structure of glow spots of tussah silkworm and its relation to silkworm's constitution.

La structure morphologique des points rouges du ver à soie tussah et sa relation avec la constitution du ver à soie.

ZHOU H.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 263-264. (C)

Vers à soie : génétique

Silkworms: genetics

Postreductional meiosis revealed in males of the mutant with chromosomal aberration 'T(23;25)Nd' of the silkworm, *Bombyx mori*.

Méiose postréductionnelle chez les mâles du mutant de *Bombyx mori* présentant l'aberration chromosomique "T(23;25)Nd".

BANNO Y., KAWAGUCHI Y., KOGA K., DOIRA H.

Faculty of Agriculture, Kyushu University, 6-10-1 Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(5), 410-414. (E)

Expression of foreign genes in *Bombyx mori* using baculovirus vectors.

Expression de gènes étrangers chez *Bombyx mori* par utilisation de vecteurs baculovirus.

CHoudary P.V., KAMITA S.G., MAEDA S.

1995 *Methods Mol. Biol.*, Vol. 39, 242-264. (E)

cDNA cloning and gene expression of lebecin, a novel member of antibacterial peptides from the silkworm, *Bombyx mori*.

Clonage de l'ADNc et expression du gène de la lébocine, un nouveau membre des peptides antibactériens du ver à soie *Bombyx mori*.

CHOWDHURY S. *et al.*

1995 *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 214, 271-278. (E)

Structural and evolutionary features of ribosomal RNAs and rDNA of *Bombyx mori*.

Caractères d'évolution et de la structure des ARNs ribosomiques et de l'ADNr de *Bombyx mori*.

FURISAWA H.

Graduate School of Science, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(5), 401-409. (J, e)

Control of expression of silk protein genes.

Contrôle de l'expression des gènes des protéines de la soie.

GRZELAK K.

1995 *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 110B, 671-681. (E)

Physical mapping of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus strain D1: identification of novel interspersed homologous regions.

Cartographie physique de la souche D1 du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* : identification de nouvelles régions homologues entremêlées.

HASIMOTO Y. *et al.*

1994 *Appl. Entomol. Zool.*, Vol. 29(3), 442-448. (E)

Transient expression of beta-galactosidase in *Bombyx mori* cells (Bm-N) under the regulation of fibroin gene promoter.

Expression transitoire de la bêta-galactosidase dans les cellules de *Bombyx mori* (Bm-N) sous la régulation du promoteur du gène de la fibroïne.

HUA G., QIAN B., WA X.F.

1994 *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao*, Vol. 26(5), 549-553. (C)

Production of the arrowhead proteinase inhibitor in the silkworm larvae.

Production de l'inhibiteur de la protéinase chez le ver à soie.

JI P., ZHANG Z., HE J., MI Y., WU X.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 223-227. (C,e)

Baculovirus-mediated production of the human growth hormone in larvae of the silkworm, *Bombyx mori*.

Production d'hormone de croissance humaine chez le ver à soie *Bombyx mori* par l'intermédiaire du baculovirus.

KADONO-OKUDA K. *et al.*

Laboratory of Biological Defense, National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 213(2), 389-396. (E)

Replication of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus in a fat body cell line of *Mythimma convecta*.

Replication du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori* dans une lignée de cellules du corps adipeux de *Mythimma convecta*.

KHURAD A.M., RAINA S.K., RATHOD M.K., ADOLKAR V.V.

Department of Zoology, Entomology Division, Nagpur University, Nagpur 440 010, India.

1995 *Indian J. Seric.*, Vol. 34(1), 57-59. (E)

Heritability, genetic and phenotypic correlation studies on fitness and quantitative traits of bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L.

Héritabilité, études des corrélations phénotypiques et génétiques des caractères quantitatifs et ceux liés à la santé du ver à soie bivoltin *Bombyx mori* L.

KSHAMA GIRIDHAR, NIRMAL KUMAR S., JULA, NAIR S., DATTA R.K.

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

1995 *Indian J. Seric.*, Vol. 34(1), 22-27. (E)

Tasar development through BSMTCs.

Développement du tasar par les BSMTC.

MAURYA K.R., SINGH U.N.

Basic Seed Multiplication and Training Centre, Boirdadar, Raigarh, Madhya Pradesh, India.

1995 *Indian Silk*, Vol. 34(7), 31-32. (E)

The fat body cell-free system for tissue-specific transcription of plasma protein gene of *Bombyx mori*.

Le système acellulaire de corps adipeux pour la transcription spécifique du gène de la protéine du plasma de *Bombyx mori*.

MINE E., SAKURAI H., IZUMI S., TOMINO S.

Department of Biology, Tokyo Metropolitan University, Minamiohsawa, Hachioji-shi, Tokyo 192-03, Japan.

1995 *Nucleic Acids Research*, Vol. 23(14), 2648-2653. (E)

Silkworm TFIIA requires additional class III factors for commitment to transcription complex assembly on a 5S RNA gene.

Le facteur TFIIA du ver à soie nécessite des facteurs additionnels de classe III pour l'engagement dans l'assemblage du complexe de transcription sur un gène d'ARN 5S.

MITH T.P.L., YOUNG L.S., BENDER L.B., SPRAGUE K.U.

Institute of Molecular Biology, Univeristy of Oregon, Eugene, OR 97403, USA.

1995 *Nucleic Acids Research*, Vol. 23(7), 1244-1251. (E)

Baculovirus mediated high-level expression of luciferase in silkworm cells and larvae.

Expression à haut niveau de la luciférase dans les cellules et les larves du ver à soie, obtenue par l'utilisation de baculovirus.

PALHAN V.B., SUMATHY S., GOPINATHAN K.P.

Department of Microbiology and Cell Biology, Indian Institute of Science, Bangalore 560 012, India.

1995 *BioTechniques*, Vol. 19(1), 97-104. (E)

Linkage map of random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) in the silkworm, *Bombyx mori*.

Carte de liaison des ADN polymorphiques amplifiés aléatoirement (RAPD) chez le ver à soie *Bombyx mori*.

PROMBOON A., SHIMADA T., FUJIWARA H., KOBAYASHI M.

1995 *Genetical Research*, Vol. 66, 1-7. (E)

A genetic linkage map for the domesticated silkworm, *Bombyx mori*, based on restriction fragment length polymorphisms.

Une carte des liaisons génétiques pour le ver à soie domestiqué *Bombyx mori*, basée sur le polymorphisme de taille des fragments de restriction.

SHI J., HECKEL D.G., GOLDSMITH M.R.

Department of Zoology, University of Rhode Island, Kingston, RI 02881-0816, USA.

1995 *Genet. Res., Camb.*, Vol. 66, 109-126. (E)

Studies on heterotic expression in silk productivity in some hybrids of *Bombyx mori*.

Etudes de l'expression de l'hétérosis dans la productivité en soie chez quelques hybrides de *Bombyx mori*.

SINGH G.T., RAO S., SENAPATI M.D.

1994 *Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh)*, Vol. 5, 81-83. (E)

Preliminary experiments on the breeding procedure for synthesizing a high temperature resistant commercial strain of the silkworm, *Bombyx mori*.

Expériences préliminaires sur la procédure de sélection pour obtenir une souche commerciale résistante aux hautes températures chez le ver à soie *Bombyx mori*.

TAZIMA Y., OHNUMA A.

Institute of Silkworm Genetics and Breeding, 1053 Ikura, Ami-machi, Ibaraki-ken 300-03, Japan.

1995 *Reports of the Silk Science Research Institute*, Vol. 43, 1-16. (J,e)

Phenotypic correlations between the traits characterizing the food ingestion, digestion and utilization and the most important quantitative breeding traits in the silkworm (*Bombyx mori* L.).

Corrélations phénotypiques entre les traits caractérisants l'ingestion, la digestion et l'utilisation d'aliment et les caractères quantitatifs de sélection les plus importants chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.).

TZENOV P., NATCHEVA Y., PETKOV N.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1994 Genetics and Breeding, Vol. 27(1-2), 50-53. (E)

Effect of some environmental conditions during the different stages of metamorphosis of the silkworm (*Bombyx mori* L.) on the phenotypic expression of the genes, responsible for voltinism.

Effet de quelques conditions environnementales au cours des différents stades de la métamorphose chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.) sur l'expression phénotypique des gènes responsables du voltinisme.

TZENOV P., PETKOV N., MLADENOV G.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1994 Genetics and Breeding, Vol. 27(1-2), 44-49. (E)

Cloning and sequencing of the partial hr5 region and p26 gene of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus.

Clonage et séquençage de la région hr5 partielle et du gène p26 du virus de la polyédrose nucléaire chez *Bombyx mori*.

ZAHNG Y., WU X., LI Z., LI D.

1994 Bingdu Xuebao, Vol. 10(3), 271-277. (C)

Vers à soie : physiologie, biochimie

Silkworms: physiology, biochemistry

Trehazolin, a slow, tight binding inhibitor of silkworm trehalase.

La tréhalosine, un inhibiteur fortement liant et lent de la tréhalase du ver à soie.

ANDO O., NAKAJIMA M., KIFUNE M., FANG H., TANZAWA K.

1995 *Biochim. Biophys. Acta*, Vol. 1244, 295-302. (E)

A new method for preparing DNA of *Nosema bombycis* spores.

Une nouvelle méthode de préparation de l'ADN des spores de *Nosema bombycis*.

CHAO G. *et al.*

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 260. (C)

Induction of activity of protein kinase C and A by bacterial lipopolysaccharide in isolated hemocytes from the silkworm, *Bombyx mori*.

Induction de l'activité des protéine kinases C et A par un lipopolysaccharide bactérien dans des hémocytes isolés provenant du ver à soie *Bombyx mori*.

CHOI H.K. *et al.*

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(5), 450-456. (E)

Developmental changes in the prothoracicotropic hormone content of the *Bombyx mori* brain-retrocerebral complex and hemolymph: analysis by immunogold electron microscopy, quantitative image analysis, and time-resolved fluorimmunoassay.

Variations au cours du développement du titre en hormone prothoracicotrope du complexe rétrocébron-cerveau et de l'hémolymph de *Bombyx mori* : analyse par microscopie électronique "immunogold", analyse quantitative d'images et dosage fluoroimmunologique.

DAI J.D., MIZOGUCHI A., SATAKE S., ISHIZAKI H., GILBERT L.I.

1995 *Developmental Biology*, Vol. 171, 212-223. (E)

Changes of protein and nucleic acid synthesis in the developing colleterial glands of the silkworm, *Bombyx mori*.

Changements dans la synthèse des acides nucléiques et des protéines dans les glandes collétériales du ver à soie *Bombyx mori* au cours du développement.

FUJII H., KAWAGUCHI Y.

1994 *Gakugei Zasshi - Kyushu Daigaku Nogakubu*, Vol. 49(1/2), 61-66. (J)

Effect of some hormones and steroid on growth and development of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. (Bombycidae: Lepidoptera race - G1).

Effet de quelques hormones et stéroïdes sur la croissance et le développement du ver à soie du mûrier *Bombyx mori* L. (Bombycidae : Lepidoptera race - G1).

GHATAK S.S., RAFIQUZZAMAN M.D.

1994 *Environ. Ecol.*, Vol. 12(3), 374-378. (E)

Effect of ethyl-methane sulphonate (EMS) on biology of mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.).

Effet de l'éthyl-méthane sulfonate (EMS) sur la biologie du ver à soie du mûrier (*Bombyx mori* L.).

GREKOV D., PETKOV N., MALINOVA K.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1994 *Journal of Animal Science*, Vol. 31(7-8), 164-165. (Bg,r,e)

Selective separation of exosporal protein and comparative analysis of total sporal proteins of microsporidias pathogenic to silkworm *Bombyx mori*.

Séparation sélective de la protéine externe et analyse comparative des protéines totales de la spore des microsporidies pathogènes du ver à soie *Bombyx mori*.

GUO X., HUANG K.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjian 212018, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(4), 238-242. (C,e)

Accumulation of BmSP1 mRNA in imaginal wing discs of *Bombyx mori* during intermolts.

Accumulation de l'ARNm de BmSP1 dans les disques alaires imaginaux de *Bombyx mori* entre les mues.

HACHOUF S., CHAREYRE P., BESSON M.T., FOURCHE J., BOSQUET G.

Laboratoire de Biologie du Développement des Insectes, Université Claude Bernard - Lyon I, 43 boulevard du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France.

1995 *Invertebr. Reprod. Dev.*, Vol. 27, 77-83. (E)

A novel antibacterial peptide family isolated from the silkworm, *Bombyx mori*.

Une nouvelle famille de peptides antibactériens isolée à partir du ver à soie *Bombyx mori*.

HARA S., YAMAKAWA M.

1995 *Biochemical Journal*, Vol. 310(Part 2), 651-656. (E)

Estimation of DNA at different developmental stages of silkworm, *Bombyx mori* L., races (Bangladesh).

Estimation de l'ADN à différents stades du développement chez des races du ver à soie *Bombyx mori* L. (Bangladesh).

ISLAM S., HAQUE R., QADER M.A., ZAMAN A., HAQUE T., BARMAN A.C.

1994 *Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh)*, Vol. 5, 43-46. (E)

Molecular cloning of insect pro-phenol oxidase: a copper-containing protein homologous to arthropod hemocyanin.

Clonage moléculaire de la pro-phénol oxydase d'insecte : une protéine contenant du cuivre homologue à l'hémocyanine des arthropodes.

KAWABATA T., YASUHARA Y., OCHIAI M., MATSUURA S., ASHIDA M.

Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

1995 *Biochemistry*, Vol. 92, 7774-7778. (E)

Occurrence of 3-epi-22deoxy-20-hydroxyecdysone and its phosphoric ester in diapause eggs of the silkworm, *Bombyx mori*.

Présence de la 3-épi-22-désoxy-20-hydroxyecdysone et de son ester phosphorique dans les oeufs diapausants du ver à soie *Bombyx mori*.

MAMIYA Y., SONOBE H., YOSHIDA K., HARA N., FUJIMOTO Y.

1995 *Experientia*, Vol. 51, 363-367. (E)

Attachment and growth of cultured fibroblast cells on silk protein matrices.

Fixation et croissance de fibroblastes en culture sur des matrices de protéines de soie.

MINOURA N., AIBA S., GOTOH Y., TSUKADA M., IMAI Y.

1995 *J. of Biomedical Material Research*, Vol. 29, 1215-1221. (E)

Purification of a chito oligosaccharidolytic beta-N-acetylglucosaminidase from *Bombyx mori* larvae during metamorphosis and the nucleotide sequence of its DNA.

Purification d'une bêta-N-acétylglucosaminidase chito oligosaccharidolytique à partir de larves de *Bombyx mori* au cours de la métamorphose et détermination de la séquence nucléotidique de son ADN.

NAGAMATSU Y., YANAGISAWA I., KIMOTO M., OKAMOTO E., KOGA D.

1995 *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 59(2), 219-225. (E)

Occurrence and distribution of aldolase isoenzymes during embryonic and post-embryonic development of the silkworm, *Bombyx mori*.

Présence et distribution d'isozymes de l'aldolase au cours du développement embryonnaire et post-embryonnaire chez le ver à soie *Bombyx mori*.

NAGAOKA S., SUGIMOTO Y., YARA M., KOGA K.

1995 *Insect Bioch. Mol. Biol.*, Vol. 25, 819-825. (E)

Histopathological changes in the midgut associated with *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* infection (India).

Changements histopathologiques dans l'intestin moyen associés à l'infection de *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* (Inde).

NAHAR A., SADIDHARN T.O.

1994 *Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh)*, Vol. 5, 93-94. (E)

Differential mating capacity of male moths in six races of silkworm *Bombyx mori* L. (India).

Différences dans la capacité d'accouplement des papillons mâles chez six races du ver à soie *Bombyx mori* L. (Inde).

SAHA A.K., RAHMAN M.S., DAS R.R.

University of Rajshahi, Rajshahi, Bangladesh.

1994 *Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh)*, Vol. 5, 51-55. (E)

Strain difference in response to synthetic sex pheromone, Bombykol, in male moths of *Bombyx mori*.

Différence de réponse à la phéromone sexuelle synthétique, le Bombykol, chez les papillons mâles de *Bombyx mori*, selon les souches.

SHIROTA T., WAKAMURA S., YASUDA T., MOCHIZUKI F., INOUE H.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 64(5), 446-449. (J,e)

Effect of phytoecdysteroids on larval maturation and economic parameters of the silkworm, *Bombyx mori* L.

Effet des phytoecdystéroïdes sur la maturation larvaire et les paramètres économiques du ver à soie *Bombyx mori* L.

SHIVAKUMAR G.R. et al.

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

1995 *Indian J. Seric.*, Vol. 34(1), 46-49. (E)

Effect of exogenous succinate and sodium azide on the endogenous respiratory rate of fat body of cold and warm adapted eri silkworm, *Philosamia ricini*.

Effet de succinate et d'azoture de sodium exogènes sur la respiration endogène du corps adipeux du ver à soie eri *Philosamia ricini* adapté au froid et au chaud.

SINGH G.B., SINGH M.K.

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

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 63-65. (E)

Acetylcholine content and acetylcholinesterase activity in the moths of *Antheraea mylitta* D.

Titre en acétylcholine et activité de l'acétylcholinestérase chez les papillons d'*Antheraea mylitta* D.

SRIVASTAVA P.P., VARUN KULSHRESTHA, THANGAVELU K.

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

1995 Indian J. Seric., Vol. 34(1), 66-68. (E)

Studies on the technology of artificial diet rearing for parental strains of the silkworm. (3) Effects of 20-hydroxyecdysone administration at the last stage of the fifth larval instar on egg production.

Etudes sur la technologie de l'élevage sur aliment artificiel des souches parentales du ver à soie. (3) Effets de l'administration de la 20-hydroxyecdysone au dernier stade du cinquième âge sur la production d'oeufs.

TANAKA Y., SUDO M.

Institute of Silkworm Genetics and Breeding, 1053 Iikura, Ami-machi, Ibaraki-ken 300-03, Japan.

1995 Reports of the Silk Science Research Institute, Vol. 43, 35-40. (J,e)

Ecdysis control sheds another layer.

Un fait nouveau dans le contrôle de l'ecdysis.

TRUMAN J.W.

Department of Zoology, University of Washington, P.O. Box 351800, Seattle, WA 98195-1800, USA.

1996 Science, Vol. 271(5245), 40-41. (E)

Nitrogen balance study at silkworm butterfly (*Bombyx mori* L.) during the early and late spring season.

Etude de l'équilibre en azote chez le papillon du ver à soie (*Bombyx mori* L.) au début et à la fin du printemps.

TZENOV P., PETKOV Z.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1994 Journal of Animal Science, Vol. 31(7-8), 156-159. (Bg,r,e)

Absorption and distribution of lead and zinc by silkworm *Bombyx mori* L. reared on polluted with heavy metals mulberry leaves.

Absorption et distribution du plomb et du zinc chez le ver à soie *Bombyx mori* élevé sur des feuilles de mûriers polluées avec des métaux lourds.

TZENOV P., PETKOV Z., PETKOV N.

Sericultural Experiment Station, 24 Mito Orozov Street, 3000 Vratza, Bulgaria.

1995 Bulgarian Journal of Agricultural Science, Vol. 1, 197-200. (E)

Identification of a hemocyte membrane protein of the silkworm, *Bombyx mori*, which specifically binds to bacterial lipopolysaccharide.

Identification d'une protéine de la membrane des hémocytes du ver à soie *Bombyx mori*, qui se lie spécifiquement au lipopolysaccharide bactérien.

XU J. *et al.*

Department of Medical Entomology, National Institute of Health, Shinjuku, Tokyo 162, Japan.

1995 Insect Biochem. Molec. Biol., Vol. 25(8), 921-928. (E)

***Bombyx mori* cecropin B, an antibacterial protein: structure regulation of the gene expression and antibacterial spectra.**

La cécropine B de *Bombyx mori*, une protéine anti-bactérienne : régulation structurelle de l'expression du gène et spectre anti-bactérien.

YAMAKA M., KADONO-OKUDA K., TANIAI K., KATO Y.

National Institute of Sericultural and Entomological Science, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 *Indian J. Seric.*, Vol. 34(1), 1-5. (E)

N-terminal amino acid sequence of cocoonase in the silkworm, *Bombyx mori*.

Séquence des acides aminés N-terminaux de la coconase chez le ver à soie *Bombyx mori*.

YAMAZAKI Y., KOGAWA K., KANEKATSU R.

Laboratory of Biological Science, Katakura Industry and Co., 4-5-25 Chuou, Matsumoto 390, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn.*, Vol. 64(5), 467-468. (E)

Correlations between ecdysteroid titer and silk gene expression in the last instar larvae of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae).

Corrélations entre le titre en ecdystéroïde et l'expression du gène de la soie au dernier âge larvaire chez *Galleria mellonella* (Lepidoptera : Pyralidae).

YANG C., KRISHNAN M., ZUROVEC M., SEHNAL F., SCHELLER K.

1995 *Eur. J. Entomol.*, Vol. 92(1), 229-234. (E)

A preliminary report on experiments in the silkworm (*Bombyx mori* L.) on board a recoverable satellite.

Rapport préliminaire sur les expérimentations chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.) à bord d'un satellite récupérable.

ZHUANG D.H., GUI Z.Z., JIANG Y.L., SHI Z.Z., LI D.D.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 *Canye Kexue*, Vol. 21(3), 135-138. (C,e)

Identification of ecdysis-triggering hormone from an epitracheal endocrine system.

Identification de l'hormone déclenchant l'ecdysis à partir d'un système endocrine épitrachéen.

ZITNAN D., KINGAN T.G., HERMESMAN J.L., ADAMS M.E.

Department of Entomology and Agricultural Experiment Station, 5419 Boyce Hall, University of California, Riverside, CA 92521, USA.

1996 *Science*, Vol. 271(5245), 88-91. (E)

Vers à soie : glandes séricigènes

Silkworms: silkglands

Production of a chimeric fibroin light-chain polypeptide in a fibroin secretion-deficient naked pupa mutant of the silkworm, *Bombyx mori*.

Production d'un polypeptide chimérique de la chaîne légère de la fibroïne chez le mutant "naked pupa" déficient pour la sécrétion de fibroïne chez le ver à soie *Bombyx mori*.

MORI K., TANAKA K., KIKUCHI Y., WAGA M., WAGA S., MIZUNO S.

Laboratory of Molecular Biology, Faculty of Agriculture, Tohoku University, 1-1 Tsutsumidori-Amamiyamachi Aoba-ku, Sendai 981, Japan.

1995 *J. Mol. Biol.*, Vol. 251, 217-228. (E)

Construction, cloning and expression of synthetic genes encoding spider dragline silk.

Construction, clonage et expression des gènes synthétiques codant pour la soie de la toile d'araignée.

PRINCE J.T., MAC GRATH K.P., DI GIROLAMO C.M., KAPLAN D.L.

Biotechnology Division, Natick Research, Development, and Engineering Center, US Army, Natick, MA 01760-5020, USA.

1995 *Biochemistry*, Vol. 34, 10879-10885. (E)

Amino acid contents in posterior silkgland of *Bombyx mori* (Bombycidae: Lepidoptera) influenced by quality of mulberry leaves (Bangladesh).

Teneur en acides aminés de la glande séricigène postérieure de *Bombyx mori* (Bombycidae : Lepidoptera) selon la qualité des feuilles de mûriers (Bangladesh).

QADER M.A., HAQUE R., ABSAR N.

1994 *Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh)*, Vol. 5, 63-68. (E)

Soie

Silk

Trial production and characteristics of woven fabrics for jacket made of "neo-spun silk" by using cocoon floss.

Essai de production et caractéristiques de tissus pour vestes fabriqués en "neo-spun silk" obtenue à partir de la blaze des cocons.

AOKI A., HAISHIMA F.

Silk Science Research Institute, 3-25-1, Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan.

1995 Reports of the Silk Science Research Institute, Vol. 43, 55-70. (J)

Evaluation of NEO-SPUN SILK knitting.

Evaluation du tricotage de la NSS.

AOKI A., HAISHIMA F.

Silk Science Research Institute, 3-25-1, Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan.

1995 Reports of the Silk Science Research Institute, Vol. 43, 47-54. (J)

Silk sericin.

La séricine de la soie.

BOSE P.C., SINGHVI N.R., BOSE G., MUKHERJEE P., SENGUPTA K.

1994 Indian Rev. Life Sci., Vol. 14, 205-222. (E)

Contributing water properties on reelability of mulberry silk cocoons (India).

Propriétés de l'eau contribuant à la dévidabilité des cocons de soie du mûrier (Inde).

DORESWAMY C., NAGESHCHANDRA B.K.

1994 Bulletin of Sericultural Research (Bangladesh), Vol. 5, 19-23. (E)

Studies on fibroin fine structure using SEM.

Etudes de la structure fine de la fibroïne par SEM.

FENG Z., LI M.

1994 Zhejiang Sichou Gongxueyuan Xuebao, Vol. 11(2), 8-12. (C,e)

Relation between moisture sorption property and hydrophilic aminoacid residues in silk modified with n-butyl isocyanate.

Relation entre la propriété de sorption de l'humidité et les résidus d'acides aminés hydrophiles dans la soie modifiée avec du n-butyl isocyanate.

FUKUDA M., MIYAGAWA M., KAWAI H.

1995 Sen'i Gakkaishi, Vol. 51(2), 72-78. (J,e)

Interaction of natural silk with carboxymethyl cellulose.

Interaction de la soie naturelle avec la cellulose carboxyméthylée.

ISLAMOV B.H., KHAFAZOV M.M., ARIPOV O.R., MUKHAMEDOV G.I.

1994 Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved., Tekhnol. Tekst. Prom-sti, Vol. 1, 62-64. (R)

Studies on physical properties of mixed membranes of silk sericin and syndiotactic polyvinyl alcohol, and their ability to immobilize an enzyme.

Etudes des propriétés physiques des membranes mixtes de sérécine de soie et d'alcool polyvinyl syndiotactique et de leur capacité à immobiliser une enzyme.

IWAMOTO K., NOGUCHI T., TERAMOTO A., IIZUKA E.

Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda, Nagano 386, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(5), 427-434. (J,e)

Analysis of swelling behavior of silk fibers by small-angle X-ray scattering.

Analyse du gonflement des fibres de soie par dispersion aux rayons X à angle faible.

KAWAHARA Y., SHIOYA M., KIKUTANI T., TAKAKU A.

1994 *Sen'i Gakkaishi*, Vol. 50(5), 199-207. (J)

Studies on the improvement of reeling method in silk/nylon compound yarn.

Etudes sur l'amélioration de la méthode de tirage des fils mélangés soie et nylon.

KIM Y.D., KIM N.J.

Rural Development Administration, National Seric. and Entomol. Res. Inst., Suwon, Korea Republic.

1995 *RDA Journal of Agricultural Science (Korea Republic)*, Vol. 37(1), 615-618. (K,e)

Structural features in the cocoon shell Kazal inhibitor like protein.

Structure d'une protéine analogue à l'inhibiteur de Kazal dans la coque soyeuse.

KURIOKA A., HIRANO H.

Silk Science Research Institute, 3-25-1, Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan.

1995 *Reports of the Silk Science Research Institute*, Vol. 43, 17-21. (J,e)

Preparation of curled and shrunk silk yarn by doubling-twisting and neutral salts.

Préparation du fil de soie rétréci et torsadé par doublage-moulinage et des sels neutres.

LEE Y.W., LEE K.G., CHUNG I.M., SONG K.E.

Rural Development Administration, National Seric. and Entomol. Res. Inst., Suwon, Korea Republic.

1995 *RDA Journal of Agricultural Science (Korea Republic)*, Vol. 37(1), 619-623. (K,e)

Polvere da gasatura della seta schappe. / Wastes from singeing of spun silk yarn.

Déchets du flambage du fil de soie schappe.

MASSAFRA M.R., BERETTA S., MAIFRENI T.

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

1995 *La Seta*, Vol. 47(1), 5-9. (I)

Seta degradata: una rassegna degli studi recenti sulla sua natura e conservazione. / Degraded silk: a review of recent studies of its nature and preservation.

La soie dégradée : une revue des récentes études sur sa nature et sa conservation.

MILANESCHI A.

Viale di Villa Pamphili, 14, 00152 Roma, Italy.

1995 *La Seta*, Vol. 47(1), 10-20. (I)

Synthetic spider dragline silk.

Soie synthétique de la toile d'araignée.

PRINCE J.T., MAC GRATH K.P., DI GIROLAMO C.M., KAPLAN D.L.

Biotechnol. Div., Natick Res., Dev., & Engineering Center, US Army, Natick, MA 07160-5020, USA.

1995 *Polum. Mater. Sci. Eng.*, Vol. 72, 80-81. (E)

Development of super hybrid silk.

Développement d'une soie hybride.

SHIMIZU S., KATSUNO M.

Silk Science Research Institute, Shinjuku, Tokyo 169, Japan.

1995 *J. Seric. Sci. Jpn*, Vol. 64(5), 457-462. (J,e)

Managing method of image processing data on single cocoon reeling test.

Méthode de gestion de traitement de l'image sur un test de dévidage individuel de cocon.

SHIMIZU S., KOBAYASHI M., KUROKAWA T., HAYASHI K.

Silk Science Research Institute, 3-25-1, Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan.

1995 Reports of the Silk Science Research Institute, Vol. 43, 41-46. (J)

Molecular orientation and two-component nature of the crystalline fraction of spider dragline silk.

Orientation moléculaire et nature des deux composants de la fraction cristalline de la soie de la toile d'araignée.

SIMMONS A.H., MICHAL C.A., JELINSKI L.W.

Center for Advanced Technology in Biotechnology, 130 Biotechnology Building, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA.

1996 Science, Vol. 271(5245), 84-87. (E)

Microcrystalline parameters in annealed bivoltine silk fibers using wide angle X-ray scattering.

Paramètres microcristallins dans les fibres de soie détrempées, de vers à soie bivoltins, par dispersion au rayons X à grand angle.

SOMASHEKAR R., GOPALKRISHNE URS R.

1995 Polymer, Vol. 36(10), 2007-2011. (E)

Putting a new spin on spider silk.

Nouvelle orientation pour la soie d'araignée.

TIRRELL D.A.

Department of Polymer Science and Engineering, University of Massachusetts, Amherst, MA 01003, USA.

1996 Science, Vol. 271(5245), 39-40. (E)

Comparison of chemical and physical properties of the byssus of *Mytilus edulis* with those of silk fibroin fibers.

Comparaison des propriétés chimiques et physiques du byssus de *Mytilus edulis* avec celles des fibres de la fibroïne de soie.

TSUKADA M., GOTOH Y., YASUI H., FREDDI G., USUKI H.

National Institute of Sericultural and Entomological Sci., 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(5), 435-445. (E)

The development of floss silk preparing machine of model ZC91.

Le développement de la machine à déblazer, modèle ZC91.

XU H., HUANG H.

Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China.

1995 Canye Kexue, Vol. 21(4), 248-250. (C,e)

Relationship between adhesive properties and structure of sericin in cocoon filaments.

Relation entre les propriétés d'adhésion et la structure de la sérécine dans les filaments du cocon.

ZHU L.J., ARAI M., HIRABAYASHI K.

Department of Molecular Biotechnology, Faculty of Technology, Tokyo University of Agriculture and Technology, 2-24-16 Nakamachi, Koganei-shi, Tokyo 184, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(5), 420-426. (E)

Gelation of silk sericin and physical properties of the gel.

Gélification de la sérécine de la soie et propriétés physiques du gel.

ZHU L.J., ARAI M., HIRABAYASHI K.

Department of Molecular Biotechnology, Faculty of Technology, Tokyo University of Agriculture and Technology, 2-24-16 Nakamachi, Koganei-shi, Tokyo 184, Japan.

1995 J. Seric. Sci. Jpn, Vol. 64(5), 415-419. (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 (4ème 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. Sei. 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.
