

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

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

SOMMAIRE - CONTENTS

Revue / Review

- Young age rearing of silkworm, *Bombyx mori* L., a review 199
 Etude sur l'élevage des jeunes vers à soie, *Bombyx mori* L. 215
 G. P. SINGH, V. B. MATHUR, C. K. KAMBLE & R. K. DATTA

Articles scientifiques / Scientific papers

- Breeding of dominant trimolter 953 with sex-limited marking 225
 Lignage du trimuant dominant 953 à marquage limité au sexe 233
 HE YIYUAN & HE SIMEI

- Genetic control of non-specific esterases in mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.) silk glands during ontogenesis 237
 Contrôle génétique des estérases non spécifiques dans les glandes séricigènes du ver à soie du mûrier (*Bombyx mori* L.) pendant l'ontogenèse 243
 T. STOIKOVA, P. POPOV, D. GREKOV, M. PANAYOTOV

- Effect of constant temperatures and photoperiods on the adult longevity and progeny production in gregarious parasitoids of the uzi fly, *Exorista bombycis* (Louis) 247
 Effet des températures et des photopériodes constantes sur la longévité adulte et la production de descendance chez les parasitoïdes grégaires de la mouche uzi, *Exorista bombycis* (Louis) 257
 M. R. NIRMALA & G. VEERANA

- Effects of gamma-irradiation on adult longevity and reproductive potential of the uzi fly *Exorista bombycis* (Louis) an endoparasitoid of the silkworm, *Bombyx mori* L. 261
 Effets de l'irradiation gamma sur la longévité adulte et la reproduction de la mouche uzi *Exorista bombycis* (Louis), un endoparasitoïde du ver à soie, *Bombyx mori* L. 267
 M. SARWAR JAHAN, S. MAHFUZAR RAHMAN, M. MAHUB HASAN & M. SAIFUL ISLAM

- Utilisation des méthodes d'analyses multivariées dans le groupement des matériels génétiques du mûrier, *Morus* Sp. 271
 Use of multivariate analysis methods in clustering of mulberry *Morus* Sp. genetic materials 279
 I. P. OTSUK, J. E. DE ALMEIDA, T.C. FONSECA

Rapports techniques / Technical reports

- Fluoride accumulation in mulberry silkworm system near industry pollution sources in Northern Zhejiang, China 283
 Accumulation de fluorure chez le ver à soie mûrier près de sources de pollution industrielle dans le Nord du Zhejiang en Chine 293
 LU S.-G., CHEN Y.-Y., FEI J.-M & ZHANG Z. -D.

- Effect of zinc chloride on the bio-chemical changes in the fat body and haemolymph of the bivoltine silkworm, *Bombyx mori* L. 299
 Effet du chlorure de zinc sur les changements biochimiques dans le corps gras et l'hémolymph du ver à soie bivoltin *Bombyx mori* L. 305
 I. I. HUGAR, R. B. NIRWANI & B. B. KALIWAL

Studies on the combining ability of the new multivoltine race MU953 with tropical bivoltine races	309
Etudes sur l'aptitude à la combinaison de la nouvelle race polyvoltine MU953 avec des races bivoltines tropicales	
G. V. KALPANA & G. SREERAMA REDDY	317

Impact of different types of mountages on cocoon and reeling parameters in silkworm <i>Bombyx mori</i> L.	321
Impact de différents types d'encabanages sur les paramètres du cocon et de filage	
chez le ver à soie, <i>Bombyx mori</i> L.	327
G. P. SINGH, M. T. HIMANTHARAJ, C. K. KAMBLE & R. K. DATTA	

Improvement in muga silkworm seed technology: the box type mountage, a new model for cocooning of muga silkworm <i>Antheraea assama</i> westwood	331
Amélioration de la technologie de grainage du ver à soie muga : l'encabanage en boîte, un nouveau modèle pour le coconage du ver à soie muga, <i>Antheraea assama</i> westwood	
A. K. SAHU, B. B. SINGHA, G. RAJKHOWA & P. K. DAS	343

Effet de quatre clones de mûrier (<i>Morus</i> spp) a trois stades de développement sur les caractéristiques du cocon du ver à soie (<i>Bombyx mori</i> L.)	347
Effects of four clones of mulberry (<i>Morus</i> spp) at three development stages on the silkworm (<i>Bombyx mori</i> L.) cocoon characters	
A. J. PORTO, F. OKAMOTO & J. E. ALMEIDA	353

Varietal and seasonal occurrence of powdery mildew (<i>Phyllactinia corylea</i> Pers. Karst.) disease of mulberry in Tamil Nadu	357
Présence en fonction des variétés et des saisons de la maladie du mildiou poudreux (<i>Phyllactinia corylea</i> Pers. Karst.) du mûrier au Tamil Nadu	
S. K. GANGWAR & K. THANGAVELU	363

Screening of mulberry germplasm accessions for salt tolerance	367
Evaluation de germoplasmes de mûriers par rapport à la tolérance au sel	
B. G. PRAKASH, U. D. BONGALE & S. B. DANDIN	373

Notes brèves / Brief notes

Orientation of cocooning in the silkworm <i>Bombyx mori</i> L. in the gravitational field	377
Orientation du coconage du ver à soie <i>Bombyx mori</i> L., dans le champ gravitationnel	
V. M. LITVIN	383

Seasonal variations in the carbohydrate content during different larval stages of tasar silkworm, <i>Antheraea mylitta</i> Drury	385
Variations saisonnières de la teneur en hydrates de carbone chez le ver à soie tasar <i>Antheraea mylitta</i> Drury au cours des différents stades larvaires	
U. S. P. SINHA, A. K. SINHA, B. N. BRAHMACHARI & S. S. SINHA	389

Observations on development of mulberry gall midge, <i>Diplosis moricola</i> and its occurrence forecast	391
Observations sur le développement de la galle du puceron du mûrier, <i>Diplosis moricola</i> et prédiction de son apparition	
MINGER ZHEN	397

YOUNG AGE REARING OF SILKWORM, *BOMBYX MORI* L., A REVIEW

G. P. SINGH, V. B. MATHUR, C. K. KAMBLE & R. K. DATTA

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore - 570 008, India.

Keyword: Chawki rearing.

INTRODUCTION

Sericulture activities are broadly classified into two; the agrobased sector and the industrial sector. The agrobased part involves two distinct phases of activities i.e. mulberry cultivation and silkworm rearing. Silkworm rearing is again differentiated into two: young age or chawki rearing from 1st instar to 2nd instar. The 3rd instar although an intermediate stage, is considered as young age, as its climatic and nutritional requirements are closer to the young age worms. Rearing of 4th and 5th instars comes under late age. Young age silkworm rearing is a vital aspect of the sericulture industry for the development of healthy larvae and for harvesting successful cocoon crop. It is considered to be the best when the incubation and rearing of young silkworms up to the second moult are performed in a chawki rearing centre under the guidance of a skilled technician providing nutritious food and optimum environmental conditions. There are many interlinked factors which are responsible for the success of silkworm rearing. The chawki rearing technique is the most important. Generally the term 'chawki' refers to the first two instars in silkworm rearing in India. The scientific method of young age rearing is an important component in the new technology of silkworm rearing advocated by the Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore during the nineteen seventies. The systematic way of conducting chawki rearing as the first step towards successful silkworm crop is not a new concept. Even the sericulturists of the old generation were aware of the importance of young age silkworm rearing, as it was considered a skilled job and attended by a few selected rearers (Benjamin and Nagaraj, 1987; Ullal and Narsimhanna, 1987). Chawki rearing needs scientific conditions which can contain the outbreak of silkworm disease avoiding crop failures during late age rearing (Bedford, 1944 and Jolly, 1986).

IMPORTANCE OF YOUNG AGE (CHAWKI) REARING

The importance of young age silkworm rearing to raise healthy stock has been fully appreciated. The important aspects of chawki rearing management are a suitable separate rearing house, a well maintained mulberry garden with assured irrigation facility and adequate agro inputs besides well trained manpower at workers and managerial levels. Practically the entire quantity of eggs used for raising cocoon crops are first reared in fully equipped young age rearing centres/co-operative centres specially organised for this purpose under expert technical supervision (Krishnaswami, 1986). In sericulturally developed countries like Japan, China and Korea about 90% of the farmers receive chawki reared larvae whereas in India it is only 10-15% (Krishnaswami *et al.*, 1973; Tazima, 1978; ESCAP, 1993). Both nutritional and ecological requirements during young and late age of silkworm are different. Young age worms require high temperature, high humidity, tender and succulent

Table I. Growth index (body size, weight and silk gland) in *Bombyx mori* L.**Tableau I. Indice de croissance (taille et poids du corps et de la glande séricigène) chez *Bombyx mori* L.**

Stage	Body size value increase	Body weight (mg) value increase	Silk gland weight (mg) value increase
Age	Valeur d'augmentation de la taille	Valeur d'augmentation du poids (mg)	Valeur d'augmentation du poids de la glande séricigène (mg)
To start / Au commencement	0.042	0.400	0.016
Ist instar / 1er âge	0.549	4.700	0.320
IIInd instar / 2ème âge	2.284	32.000	1.600
IIIrd instar / 3ème âge	11.774	161.000	8.000

mulberry leaves. Of the total leaf requirement only 6.33 percent is utilised during the chawki stage, where 400 times increase in silkworm body weight, 300 times in body size and 500 times in silk gland weight are achieved (Yokoyama, 1962 and Text Book of Tropical Sericultural, 1975) Table I.

The insecticides, disinfectants, injurious gases, etc. affect the larvae more in early instar than in late instars. The success of chawki rearing technology depends upon the perfect understanding of the requirements of young age silkworms and their physiology, where manipulation of nutritional and environmental conditions suited to maximum growth and the care to raise robust and healthy batch of young age silkworms is the aim (Benchamin and Nagaraj, 1987; Ullal and Narsimhanna, 1987). By adopting the perfect chawki rearing procedure, maximum potential can be exploited.

BRUSHING OF SILKWORMS

The process of transferring newly hatched larvae from egg to rearing bed is called brushing. For this, either a soft brush or feather is employed. On the expected day of hatching the eggs are exposed to light at 6.00 a. m. and good hatching can be obtained by 9.00-10.00 a.m (Tanaka, 1964; Krishnaswami *et al.*, 1973; Ullal and Narisimhanna, 1987; Datta *et al.*, 1996) but delayed brushing should be avoided. If hatching is irregular, it is better to take two days brushing separately in time. Newly hatched worms can also be refrigerated if hatching is partial at 7-10° C and 80% relative humidity for one day (Krishnaswami *et al.*, 1973; Ullal and Narasimhanna, 1987; Jolly, 1987).

Brushing methods:

The brushing method depends on the type of egg production method, i.e. sheet eggs or loose eggs.

a) Brushing of sheet eggs:

On the day of hatching, the egg sheets should be removed from black boxing, wrapping paper is opened and spread uniformly in one layer in a tray with paraffin paper as seat. After 2 hours of exposure to light (ESCAP, 1993; Datta *et al.*, 1996) when hatching is obtained, the egg sheets with the tray are removed from the light source and chopped mulberry leaves of 0.5 cm sq. are sprinkled on the newly hatched larvae on the egg sheet. After about 30 minutes when all the larvae gather on the leaves they are transferred to the rearing bed, giving suitable spacing and the first feeding is given to the larvae.

The rearing bed is covered with another sheet of paraffin paper to complete the operation of brushing. One must avoid direct tapping of worms or direct brushing of larvae to rearing bed. The use of chop sticks or feathers for spreading the rearing bed or making the rearing bed is advised (Krishnaswami *et al.*, 1973; Tazima, 1978; Ullal and Narasimhanna, 1987; Jolly, 1987).

b) Brushing of loose eggs:

Loose eggs are packed in an egg case containing 50 Dfls or about 20,000 eggs in each. The brushing method of loose eggs is more or less similar as reported by Tanaka (1964), Tazima (1978), Krishnaswami *et al.*, (1973) and Benchamin and Nagaraj (1987). Benchamin (1987) stated that after removing the loose eggs from the black box, they are kept in the rearing tray provided with paraffin paper sheet and then the eggs are spread in the box by gently shaking or taping. The cover cloth/paper needs to be cut, through sides without damaging the eggs and kept turned up with the eggs or larvae sticking to it and exposed to required light for obtaining uniform hatching for 2-4 hours. A thin layer of bed disinfectant needs to be applied if required on the newly hatched worms. Light cotton or a nylon net with proper mesh size has to be spread on the worms and the first feeding to the newly hatched larvae has to be given above the net. A wet sponge pad has to be provided around the bed and the bed must be covered with a sheet of paraffin paper and left undisturbed for 1 or 2 hours. Before the 2nd feed, all the larvae, which are now on the top of the net with the feed, are transferred to a rearing tray with a paraffin paper sheet. The second feeding and proper bed spacing are given. Then wet sponge pads are provided and the whole bed is covered with another paraffin paper. The brushing operation is thus completed with the 2nd feed and proper bed spacing.

EFFECT OF ECOLOGICAL FACTORS ON YOUNG AGE WORMS

The ecological factors, chiefly temperature, humidity, light and air of the surroundings have a significant influence on the bionomics of insects. Likewise in silkworm growth, development and its physiological activities are controlled by climatic conditions directly and indirectly (Suzuki, 1957; Tazima, 1978; Jolly, 1986).

(a) Temperature:

Silkworm being a poikilotherm, its body temperature changes according to the environmental temperature. Kogure (1933) reported that infant silkworms require comparatively higher temperature. The amount of mulberry leaf ingestion, digestion and metabolic rate is very high in the young silkworms due to the high temperature provided to them (Fuzi, 1936b). The temperature range of 20-28° C is harmless for the growth of the silkworm. Average temperature of 25 °C during the chawki stage is favourable for the healthy growth (Text Book of Tropical Sericulture, 1975). Jolly (1986) and Ullal and Narsimhanna (1987) reported that the early instar larvae are resistant to high temperature (26 - 28° C) and it also is favourable for healthy growth of silkworms. Optimum required temperature instarwise is given below (ESCAP, 1993; AICAF, 1995; Datta *et al.*, 1996) Table II.

Tanaka (1964) reported the temperature during young age affects the cocoon characters considerably which is illustrated below (Table III and IV).

Silkworm being a poikilotherm insect, the surrounding environmental conditions play a vital role in the determination of the rate of development, mortality, fecundity and voltinism. Therefore, regulation of temperature and humidity in the rearing house are helpful in getting successful cocoon crop (Krishnaswami, 1988; Sekharappa and Gururaj, 1989; Benchamin, 1992).

Table II. Optimum required temperature during chawki rearing.

Tableau II. Température optimale requise pendant l'élevage chawki.

Instar / Age	I	II	III
Température (° C)	27-28	27-28	26

Table III. Relationship between rearing temperature (° C) (I and II instar) and cocoon characters.

Tableau III. Relation entre la température d'élevage (° C) (Age I et II) et les caractères du cocon.

Character / Caractère	Temperature (° C)		
	23°C	25°C	28°C
Cocoon weight (g) / Poids du cocon (g)	1.76	1.80	1.96
Shell weight (g) / Poids de la coque (g)	0.32	0.33	0.37
Silk ratio (%) / Richesse soyeuse (%)	18.6	18.5	19.1
Yield / 10000 larvae (kg)	15.11	15.77	19.10
Rendement / 10000 larves (kg)			

Table IV. Relationship between rearing temperature (during I, II and III instar) and larval loss/cocoon quality.

Tableau IV. Relation entre la température d'élevage (pendant les âges I, II et III) et la perte de larves / qualité du cocon.

Instar and Temperature °C			Larval loss	Cocoon wt.	Shell wt.
I	II	III	(%)	(g)	(g)
Age et température °C			Larves perdues	Poids du cocon	Poids de la coque
I	II	III	(%)	(g)	(g)
28	28	28	5.5	2.13	0.443
25	25	25	7.2	2.01	0.419
28	28	25	5.1	2.09	0.437
25	25	28	7.4	2.05	0.426

(Tanaka, 1964)

If silkworms are reared under such temperature it is absolutely necessary that they are fed with rich nutritive leaves in sufficient quantity. If the leaf quality and quantity are insufficient it is necessary to lower the temperature by one degree in each instar. Regarding the rearing temperature of each stadium, it is better that the temperature in the former period is higher than in the latter period. In case sufficient amount of nutritive mulberry leaves are not given to the silkworm, high temperature will harm the physiology of silkworms leading to weakness and poor quality cocoons.

b) Relative humidity:

Humidity plays a vital role in silkworm rearing. High humidity during young age rearing results in a significant decrease of larval duration (Usigome, 1933). Sharada and Bhat (1957) observed remarkable improvement of larval body weight, increase of digestibility and food conversion efficiency under high humidity. Krishnaswami *et al.*, (1979) and Benchamin (1987) reported that low humidity throughout larval phase prolonged larval duration significantly and brought down the value of larval and cocoon characters increasing the missing percentage. High humidity (90%) during young age and low humidity during late age gave good results. It is reported that young age worms are resistant to high humidity (85%-90%) while grown larvae are weak against high humidity (Ayuzawa *et al.*, 1972 and Text Book of Tropical Sericulture, 1975). As temperature and humidity are predisposing factors for various diseases, it is required to ensure that bed humidity is kept between 80%-90%, beyond which the silkworms become automatically susceptible to the diseases like grasserie, muscardine etc. (Krishnaswami, 1986). Humidity affects directly the physiological functions of silkworm and indirectly the drying of leaves in bed (Benchamin and Nagaraj, 1987). It has been clearly confirmed that the early instar larvae are more resistant to high humidity (85-90%) and it supports better survival rate, maximum growth and cocoon characters as illustrated in tables V and VI (Tanaka, 1964; AICAF, 1995; Datta *et al.*, 1996).

The humidity requirement during the feeding and moulting stages in silkworms are different. Comparatively high humidity has to be maintained during feeding and low humidity is preferable during moulting as illustrated in table VII.

Table V. Optimum requirement of relative humidity during chawki rearing.

Tableau V. Humidité relative optimale requise pendant l'élevage chawki

Instar / Age	I	II	III
Relative humidity / Humidité relative (%)	85-90	85-90	80

Table VI. Effect of relative humidity in early instars on larval mortality and cocoon quality.

Tableau VI. Effet de l'humidité relative aux premiers âges sur la mortalité larvaire et la qualité du cocon.

Humidity (R. H %) I- III instar	Index of larval loss	Cocoon weight	Shell weight
<i>Humidité (H. R%) Âges I - III</i>	<i>Indice de larves perdues</i>	<i>Poids du cocon</i>	<i>Poids de la coque</i>
60	204	100*	100*
70	204	97	95
80	133	102	105
90	100*	103	116

* Base data for comparison as 100 / 100 donnée de base de comparaison.

Table VII. Humidity during feeding and moulting on larval loss in silkworm *Bombyx mori* during early instars.

Tableau VII. Rapport entre l'humidité pendant le nourrissage et la mue et la perte de larves chez le ver à soie Bombyx mori aux premiers âges.

Instar	Humidity (R. H. %)		Larval loss (%)
	eating	moulting	
Age	Humidité (H. R. %)		Perte de larves (%)
	nourrissage	mue	
I - II	90	90	23.45
	90	60	13.26

Sengupta (1989) and Datta (1992) reported that to get successful bivoltine silkworm crop, regulation of temperature and humidity is necessary for young age silkworm which can be achieved through the use of paraffin paper and wet news paper strips, foam pads, etc.

c) Air current:

The composition of air and its circulation in the rearing room are important as far as silkworm growth, regulation of room temperature and humidity. Nakamura (1934) reported that less than 1-2% carbondioxide in the silkworm rearing room would not have any harmful effect on silkworm. However, Wakana (1935) observed that more than 1% carbondioxide in a rearing room is harmful. The safe limit for silkworm rearing is 1-2% of CO₂, 1% of formaldehyde gas, 0.02% of sulphur dioxide and 0.1% ammonia in the air in rearing room (Tazima, 1978; Benchamin and Nagaraj, 1987).

d) Light:

Light plays an important role in silkworm rearing as silkworms prefer dim light of 15 to 30 lux and hence bright light or darkness should be avoided. Rearing of young age larvae under bright light results in heavier cocoon production and shell weight as compared to dark conditions (Yokoyama, 1962; Krishnaswami *et al.*, 1973; Benchamin and Nagaraj, 1987; Ullal and Narsimhana, 1987). Kasturi Bai and Ananthanarayana (1980) found that food consumption in silkworms was maximum in 12 hours light and 12 hours dark conditions. A photoperiod of 16 hours light and 8 hours dark is considered ideal for young age silkworm rearing.

FEEDING

It was an earlier view that the worms should be fed 10 to 12 times a day, so that they could be assured of wholesome feed of fresh leaves. Bhatikar and Narsimhana (1982) reported that in USSR farmers give 10 to 12 feedings per day during young age rearing. Traditionally farmers used to provide frequent feedings (up to 8 times a day) in young age to maintain the freshness of the leaf (Iyengar *et al.*, 1988).

Table VIII. Size and total requirement of leaves during young age of worms.**Tableau VIII. Taille et besoin total en feuilles aux premiers âges des vers.**

Instar	Size (cm ²)		Size (cm ²) during preparation of moult	Quantity (kg)		
	from	to		Multivoltine	Multivol. ×	Bivol.
Age	Taille (cm ²)		Taille pendant la préparation de la mue (cm ²)	Quantité		
	de	à		Polyvoltin	Polyvol. ×	Bivol.
I	0.5	2.00	1.00	2.00	3.50	4.00
II	2.00	4.00	1.5	6.00	8.00	13.00
III	4.00	4 pieces of leaf 4 morceaux de feuilles	2.00	30.00	40.00	65.00

Contrary to the above information which pertains to the feeding frequency during the chawki stage, Krishnaswami (1986) reported that young age silkworms must be fed three or four times per day. However, seasonal variations greatly influence the feeding frequency. Oaquera (1988) studied that 2, 3 or 4 feedings during young age have no significant effects as judged by growth and cocoon characters. Therefore adopting 2 feedings during young age followed by 3 to 4 feedings at a later age during the rainy season and other related rearing days is beneficial. Further he recommended 3 feedings during young age followed by 4 feedings per day at a later age during summer and other related rearing days where temperature is high (27-31 °C) associated with low relative humidity (50-60%). Akapanthu and Sookcharoen (1973) and Vindhya *et al.*, (1987) reported that 3 feedings per day during young age rearing was found better as the larval loss up to the 3rd instar was minimum and rearing parameters and cocoon characters were superior than control (4 feedings per day). Srinawat *et al.*, (1987) have analysed that two feedings per day and mulberry leaves covered with wet cloth in the rearing bed is statistically superior. Further Akapanthu and Sookcharoen (1973) and Vindhya *et al.*, (1987) mentioned that chopped leaf feeding is good for chawki rearing as compared to shootlet and whole leaf feeding. The missing percentage in young age larvae is more (12%) in case of shootlet and whole leaf feeding when compared to chopped leaf feeding (8.1 to 8.8%). The recommended chopped leaf size and requirement of mulberry leaf is given in table VIII (Krishnaswami, 1973; Jolly, 1987; Datta, 1992).

SELECTION OF MULBERRY VARIETIES AND LEAVES FOR YOUNG AGE SILKWORM

Recently V1 mulberry variety was found best suited for young age silkworm rearing followed by S36, S54 and S34 in India.

Mulberry leaves for young age silkworm must be soft and rich in water content (above 80%), protein and carbohydrates. The top tender leaves meet these requirements. In individual leaf feeding the largest glossy leaf and 4 to 5 leaves below it are preferred. In case of shootlet feeding, the small lateral branches with 5 - 6 leaves are preferred (Text Book of Tropical Sericulture, 1975; AICAF, 1995).

Silkworms do not feed well on leaves withered more than 10% (Benchamin, 1987). The consumption by the worms changes in accordance with the moisture content in the leaves. Therefore, it is important to supply fresh leaves and control quick withering of leaves both while storing and also in rearing bed. Under tropical conditions leaf drying is faster. Leaves plucked in the morning are better than that in the evening, because withering (loss of moisture contents) is low in morning hours due to low temperature and high relative humidity. When large quantities of leaves are required the harvested leaves should be transported immediately to the rearing house in baskets covered either with wet gunny cloth or polythene sheets.

NUTRITIONAL REQUIREMENT OF SILKWORM

Proteins and amino acids:

Proteins are indispensable for the normal growth of silkworm. The proteins are mainly composed of 20 amino acids. Although most of the amino acids can be synthesised in the silkworm body (Ito, 1972). There are about 10 amino acids (arginine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan and valine) whose rate of synthesis is far behind from meeting the demand of the organism and they are called essential amino acids (Arai and Ito, 1964; Inokuchi *et al.*, 1967). In addition, amino acids such as proline, aspartic or glutamic acids are also required. Lack of any one of these in the food affects the growth and development of the larvae (Ito and Arai, 1965, 1966, 1967; Horie *et al.*, 1970; Sengupta *et al.*, 1972; Nihmura, 1973). In the silkworm trans-amination of these essential amino acids is very active and formation of glycine takes place (Koide *et al.*, 1965).

Carbohydrates:

Carbohydrate is the main source of energy for all vital activities in the organism. On the basis of studies on nutrition, carbohydrates are classified into three groups of high, moderate and poor nutritive value. Glucose, fructose, sucrose, cellobiose, maltose, melezitose, raffinose and sorbitol are known to possess high nutritive value. Mannose, melibiose, lactose, trehalose are grouped under moderately nutritive value. While xylose, galactose, mannitol are considered to be of poor nutritive value (Sengupta *et al.*, 1972). Cellulose cannot be used by silkworm and starch is of a low utilisation ratio or even cannot be utilised completely by some silkworm varieties (Ito, 1960). It is considered that the requirement for carbohydrates might be satisfied by any of the carbohydrates of high nutritive value (Tazima, 1978). Some sugars possess a gustatory stimulation effect on the larval feeding of silkworm (Ito, 1960). Sucrose stimulates feeding most, followed by fructose and raffinose. Arbinose, rhamnose, galactose, maltose, milizitose are more or less stimulating. Glucose is a weak stimulant of the silkworm in comparison with sucrose at the same concentration (Legay, 1961; Ito and Arai, 1967; Sengupta *et al.*, 1972).

Lipids:

Lipids include fatty acids, triglycerides, glycerol, phospholipids, cholesterol and so on. Cholesterol cannot be synthesised by the silkworm larvae, and it is an indispensable nutrient to the silkworm (Ito, 1960). B-sitosterol, cholesterol and stigmosterol have a good nurturing effect, promote food intake and growth in silkworm larvae (Hamamura *et al.*, 1961; Ito *et al.*, 1964; Sengupta *et al.*, 1972). Linotic acids are essential fatty acids for the synthesis of steroid hormones in the silkworm and promote feeding of the silkworm (Lin *et al.*, 1971).

Vitamins:

The vitamins in the B group which are essential for the silkworm are biotin, cholin, inositol, niacin, pantothenic acid, pyridoxin, riboflavin and thiamin (Horie and Ito, 1963; Horie *et al.*, 1966; Sengupta *et al.*, 1972). Abundance of vitamin C in mulberry leaf and importance of this vitamin in the nutrition of the silkworm was studied by Gamo (1941). Ascorbic acid was reported to possess a gustatory stimulating activity to some degree (Ito, 1961). It has been reported that B carotene and tocopheral are slightly effective in increasing the number of eggs laid by the moth and B caroten also has some growth promoting effect (Kuwata *et al.*, 1968).

Inorganic salts:

The inorganic salts take part actively in all kinds of metabolic and neural activities in silkworm during development (Ito, 1960). The important inorganic salts include potassium, phosphorus, magnesium, calcium, zinc, manganese and ferrous etc. Both calcium silicate and potassium phosphate increase the food intake in silkworm (Sengupta *et al.*, 1972).

ARTIFICIAL DIET FOR YOUNG AGE SILKWORM

Most of the studies on silkworm nutrition and feed improvement were carried out in Japan using artificial diet as feed. The use of artificial diet at commercial scale is also now popular in Japan, China and South Korea especially to raise young age silkworms. Ito (1961) succeeded in raising the silkworms on a semisynthetic diet. This diet contained 50% of dried pulverised mulberry leaves as the basal ingredient. Subsequently attempts were made to replace the same by other sources of proteins. Mukaiyama and Ito (1962) studied the amount of food consumed, the amount of food digested and digestibility of the silkworm reared on artificial diet. Further, Ito and Arai (1967) formulated a diet containing amino acids as a sole source of nitrogen. The first practical artificial diet was formulated by Horie *et al.*, 1973). Constant efforts were made to improve the composition of the artificial diet (Ito *et al.*, 1972, Nihmura, 1973). Based on the available information on artificial

diet of the silkworm, three semisynthetic diets were formulated such as 'starter' (1st instar), 'grower' (2nd to 4th instar) and 'producer' (5th instar) (Ito *et al.*, 1974). The adaptability to artificial diet seems to be inherited as a single dominant character (Tazima, 1978). Shimogiri and Urano (1988) showed the effect of artificial diet on the body weight and on the digestibility of the silkworm. Kanda *et al.*, (1988) showed the response of silkworm larvae to the low cost artificial diet designed by the linear programming method and found that Japanese strains are more adapted and grow well on the artificial diet.

Furthermore, it is important to take every step to protect the diet from decomposition. The commonly used antiseptic substances in the diet are ascorbic acid and propionic acid. Antibiotics such as chloromycetin, auromycin and gentamycin are often used in the diet. The addition of such compound in large amount some times has an adverse effect on the silkworm. Decomposed diet should never be fed to the larvae, since this may lead to mass death.

SPACING OR BED AREA

Spacing in the rearing bed plays a vital role during the silkworm rearing and reflects on cocoon production. Different spacing schedules are required for cross breeds and bivoltine hybrids. For rearing 100 Dfls, 360 and 480 sq. ft. bed area is the optimum requirement for cross breeds and bivoltine hybrids respectively up to the end of the Vth age. However, $\frac{1}{4}$ spacing is required up to the end of IIIrd age as detailed in table IX (Benchamin, 1987).

Table IX. Instarwise optimum requirement of bed area up to IIIrd instar.

Tableau IX. Besoin optimal en espace dans la litière en fonction de l'âge larvaire jusqu'au IIIème âge.

Instar	Multivol. × Bivol.			Bivol. × Bivol.		
	From	To	No. of larvae per sqft.	From	To	No. of larvae per sqft.
Age	Polyvol. × Bivol.			Bivol. × Bivol.		
	De	A	No. de larves par pied carré	De	A	No. de larves par pied carré
I	3.75	15.00	2666	4.375	17.50	2286
II	15.00	45.00	888	17.50	52.50	762
III	45.00	90.00	444	52.50	120.00	333

REARING METHODS FOR YOUNG AGE

Different methods of young age rearing are in practice. All methods aim to prevent diage of mulberry leaves fed by maintaining proper temperature and humidity in the rearing bed. To avoid frequent feedings as well as to maintain proper microclimate for young age rearing different types of rearing methods like box rearing (Tanaka, 1964), rearing by covering with wet cloth, by scattering clay soil in closed room, by water proof paper, with zinc box etc. are practised in the sericulture belt of temperate and tropical countries. In mechanically advanced countries like Japan, young age rearing is done in a separate controlled room where the desired temperature and humidity can be maintained. Samokhvalova and Inov (1977) reported that rearing of silkworm larvae on open waxed paper bags provides a favourable microclimate and improve productivity, further this method is economic. Xv Xinyi (1965) has studied on young age silkworm rearing with polythene film cover. Xia Yuru (1966) has reported the economics of dry proof young age rearing but not the rearing performance. Young age worms grow faster in paraffin paper covering in comparison to open and wet newspaper cover by about one day (Akapanthu and Namprasith, 1973). Sookcharoen and Ngamprasith (1973) have analysed that though the paraffin paper is effective to keep chopped leaves in fresh condition in the rearing bed, it is not available everywhere. Wan Jiaji (1981) has worked on the box net rearing method for young age silkworms. Jolly (1986) has observed that paraffin paper should not repeatedly be used to avoid pathogen attack. In India young age worms are covered both below and above with paraffin paper in addition to wet foam pads (Iyanger *et al.*, 1988). It has also been observed that blue polythene sheets can be used in place of paraffin paper to maintain a better microclimate in rearing bed. Further it is more economic than paraffin paper as it can be used repeatedly after thorough washing and disinfection (Datta, 1992; Rajan *et al.*, 1995). Most common methods which are used for young age rearing of silkworm are as follows.

1. Box rearing:

The box rearing method was evaluated by Tanaka (1964) and AICAF (1995). This method is practised when temperature and humidity are less. Wooden trays of 4' × 3' × 2' and 4'' depth are used. Trays during the eating period are arranged one above the other to a convenient height on a chawki rearing stand like a box. Arranging the trays in this method can increase the rearing bed temperature and humidity. Thirty to forty minutes before feeding and during the moulting period the paraffin paper cover and wet old newspapers are removed and the trays are arranged in a criss cross pattern for allowing the rearing bed to dry. This method is ideal for chawki rearing centres as minimum space is required for large rearing.

2. Stand rearing:

When optimum temperature and humidity are available or temperature is high in the rearing house young age rearing is done like late age rearing in trays on a stand. Paraffin paper is used as seat and cover or by wrapping in paraffin paper. Stand rearing requires more space for rearing and is not suitable for large scale rearing (Wu pang - Chuan and Chen Da - Chuang, 1988; AICAF, 1995).

3. Chamber rearing:

Chamber or gumma rearing method of young age worms (inside isolation chamber) has also been evolved for better maintenance of microenvironment for young age worms (Krishnaswami *et al.*, 1973 and Text Book of Tropical Sericulture, 1975). Chamber rearing is useful when temperature and humidity are very less. Chambers are made of plywood sheets with wooden frame of size 6' × 4' × 5' with double door and provided with heater and humidifier inside. It is possible to maintain optimum temperature and humidity by providing thermostat and humidistat. Rearing is done inside the chamber by piling up the trays on a chawki rearing stand or on a small rearing stand as stated above. Maintenance of temperature and humidity is easy inside the chamber because of the restricted area. The chamber is also provided with ventilators on the upper and lower side through which aeration

inside the chamber is achieved. A chamber made of above size can accommodate 300 Dfls till the second moult. Sekharappa *et al.* (1995) have also worked on young age silkworm rearing in isolation chamber, and found that the variability in temperature and humidity inside the chamber will be always less than outside. Further the maintenance of temperature and humidity through manipulation is more efficient inside the chamber than the room.

PRESERVATION OF MULBERRY LEAF

Preservation of leaf by adopting the plucking method in as fresh a state as possible till it is fed to worms and consumed by them is a very essential requirement to ensure successful crop. This applies with greater emphasis for the chawki rearing stage as well. Leaves should be preserved in such a place, where the humidity is maintained close to 100 percent (R.H) by repeated sprinkling or spraying of water on the gunny cloth or cloth surface of container (Krishnaswami, 1986). Ullal and Narsimhanna (1987) have recommended that mulberry leaves should be preserved in moist, cool and clean places. The tender leaves meant for young age silkworms can be preserved in earthenware pots, which should be covered with wet cloth. The pot should be kept on a wet and moist bed. A convenient method is to store leaves in a wooden chamber covered with wet gunny cloth. A large quantity of leaves can be stored on a clean floor covered with gunny cloth. Leaves need to be arranged in loose layers with adequate air pockets and covered with wet gunny cloth. In summer, sprinkling of water on the leaves and frequent spraying of water over gunny cloth is required (Benchamin and Nagaraj, 1987; Ullal and Narsimhanna, 1987). Vindhya *et al.*, (1987) tried three methods of leaf preservation i.e covering the leaves with wet gunny cloth, sprinkling of water on leaves and soaking the leaves in water. They found that moisture percentage is increased 4 to 6% when leaves were preserved with sprinkling of water and soaking in water, and also stated that mulberry leaves can be preserved for 24 hours without much deterioration in feeding, by sprinkling of water. Vineet Kumar *et al.*, (1994) adopted various methods for preservation of the mulberry leaves for chawki rearing i.e gunny cloth, polythene sheet, gunny cloth with porous polythene on either side (PGP) and porous polythene sheet with gunny cloth on either side (GPG) and found that leaf driage was minimum in the PGP method and the cocoon characters were also found superior. Prior to preservation of the mulberry leaves, the bags are made completely wet by dipping in water. The wet gunny cloth layer releases the moisture to the leaves inside the bag, through the porous polythene sheet layer brings down the temperature and increase the relative humidity inside the bag. The gunny cloth does not dry quickly as the evaporation rate is reduced due to the polythene sheet barrier on both sides and hence it keeps the leaves fresh for a longer period.

By reviewing all the above described literature of various scientific workers on chawki rearing of silkworm, it has been observed that there is a need for further analysis to find out a more suitable technique for chawki rearing suited to the different agroclimatic conditions of the country. Further, a detailed study is needed on (1) feeding methods (chopped leaf, entire leaf and shootlet) (2) frequency of feeding etc. (2, 3, 4 feedings per day) (3) manipulation of temperature and humidity (4) Chawki rearing methods like Gumma (inside isolation chamber) rearing, box rearing, paraffin paper bag, piling of trays and (5) Chawki leaf preservation methods are important areas of study. One to five techniques are to be evolved specifically for a full package of chawki rearing which will help to increase quality cocoon and raw silk production in the country. This would specially help to exploit the potential of high yielding varieties of silkworm races i.e. bivoltines which yield superior quality of silk for exporting and transacting in the international market to earn foreign exchange which will uplift the economics of the country.

REFERENCES

- AICAF (1995) Sericulture in the tropics. Pub. by Association for International co-operation of Agriculture and Forestry, Japan, 150.

- AKAPANTHU S., NGAMPRASITH T. (1972) Effect of covering of young silkworm with some kinds of paper on the growth and sound pupa ratio. Bull. Thai Seric. Res. and Trg. Center, 3, 41-42.
- AKAPANTHU S., SOOKCHAROEN W. (1973) Relation between number of daily feedings and growth of silkworms in young stage. Bull. Thai. Seric. Res. and Trg Center, 3, 40.
- ARAI N., ITO T. (1964) Amino acid requirement of the silkworm, *Bombyx mori* L., J. Seric. Sci. Japan, 33, 107.
- AYUZAWA C., SEKIDO I., YAMAKAWA K., SAKURAI V., KURARA W., YAGINUMA Y., TOKORO Y. (1972) Hand Book of silkworm rearing. Fuzi publishing Co., Tokyo, Japan, p 105-134.
- BEDFORD E. C. G. (1944) Continuous rearing of silkworm. J. Ent. Soc. S. Afr. 7, 68-72.
- BENCHAMIN K. V. (1987) A hand book of sericulture extension workers . C.S.R.&T.I, Mysore, Central Silk Board, India p 144.
- BENCHAMIN K. V. (1992) Chawki silkworm rearing - an evaluation. Indian Silk. 31(3), 18-20.
- BENCHAMIN K. V., NAGARAJ C. S. (1987) Silkworm rearing techniques. In appropriate sericulture techniques (ed.) M. S. Jolly. I. C. T. R. E. T. S., Mysore, 63-106.
- BHATIKAR A. P., NARASIMHANNA M. N. (1982) Sericulture in U.S.S.R. Indian delegations. Technical report, Central Silk Board, India, 16.
- DATTA R. K. (1992) Guidelines for bivoltine rearing. Published by Central Silk Board, Bangalore, India p18.
- DATTA R. K., BASAVARAJ H. K., MANO Y. (1996) Manual on bivoltine rearing, race maintenance and multiplication. Pub. by Central Sericulture Research and Training Institute, Mysore, India, 65.
- ESCAP (1993) Techniques of silkworm rearing in the tropics. Pub. by United Nations, New York, 88.
- FUZI (1936b) In: Text Book of tropical sericulture. Published by Japan Overseas Co-operation volunteers, Japan, 1st Ed. 1973, 430.
- GAMO T. (1941) J. Seric. Sci. Japan, 12, 65.
- HAMAMURA Y., HAYASHIYA K., NAITO K. (1961) Food selection by silkworm larvae, *Bombyx mori*, Nature, 190(4779), 879-880.
- HORIE Y., INOKUCHI T. WATANABE K., (1970) Effect of dietary amino acids balanced on growth and cocoon quality in the silkworm *Bombyx mori* L., Bull. Seric. Exp. Sta., 24, (3), 345-362.
- HORIE Y., INOKUCHI T. WATANABE K., NAKASOME S., YANAGAWA H. (1973) Tech. Bull. Seric. Exp. Sta. (Japanese), 96, 41.
- HORIE Y., ITO T. (1963) Vitamin requirements of the silkworm, Nature, 197 (4862), 98.
- HORIE Y., WATANABE K., ITO T. (1966) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*, further studies on the requirements of B vitamins, Bull. Seric. Exp. Sta., 20(4), 393-407.
- INOKUCHI T., HORIE Y., ITO T. (1967) *ibid*, 22, 195.
- ITO T., (1960) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*, nutritive effects of soybean oil for the larva, Bull. Seric. Exp. Sta., 16(5), 311-341.
- ITO T. (1961) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*, Effects of ascorbic acid. Bull. Seric. Exp. Sta., 17(1), 119-133.
- ITO T. (1972) Proc. Japan Acad., 48, 613.
- ITO T., ARAI N. (1965) Nutrition of the silkworm *Bombyx mori*, Amino acid requirement and nutritive effects of various proteins. Bull. Seric. Exp. Sta., 19(4), 345-369.
- ITO T., ARAI N. (1966) Nutrition of the silkworm, *Bombyx mori*. Requirements for aspartic and glutamic acids, J. Insect Physiol., 12(7), 861-870.
- ITO T., ARAI N. (1967) Nutritive effects of alanine, cystine, glycine, serine and tyrosine on the silkworm, *Bombyx mori*, J. Insect Physiol. 13(12) 1813-1824.
- ITO T., HORIE Y., WATANABE K. (1972) Bull. Seric. exp. Sta. 25, 219.
- ITO T., HORIE Y. WATANABE K., TAKAMIYA K., FURUGAMA M., MIOBIYASHI M., YAMOMOTO K., NAGASHIMA M. (1974) *ibid*, 48, 403

- ITO T., KAWASHINA K., NAKAHARA M., NAKANISHI K., TERAHARA A. (1964) J. Insect Physiol., 11, 225.
- IYANGER M. N. S., NAGARAJ C. S., TAND REDDY S. (1988) Silkworm rearing practices in tropics. Lead paper - 3, International Congress on tropical sericulture, practices, Central Silk Board, India, 1-12.
- JOLLY M. S. (1986) Pebrine and its control. Bulletin No. 5. C. S. R. & T. I., Mysore, 29.
- JOLLY M. S. (1987) Chawki rearing concept, organisation and management. Indian Silk 25(9), 32-37.
- KANDA T., TAMURA T., INOUE H. (1988) Feeding response of the silkworm larva to the LP - 1 artificial diet designed by a linear programming method and its inheritance, J. Seric. Sci. Japan, 56(6), 489-494.
- KASTURI BAI A. R., ANANTHA NARAYANA S. R. (1980) Feeding activity rhythm in 2 different races of silkworm *Bombyx mori* L. Paper presented at the ESCAP symposium on sericulture, Bangalore, India, 11-18.
- KOIDE F., SHISHIDO T., NAGAYAMA H., SHIMURA K. (1965) J. Agr. Chem. Soc. Japan, 30, 283.
- KOGURE M. (1933) The influence of light and temperature on certain characters of silkworm *Bombyx mori* L. J. Dept Agr. Kyushu Imp. Univ., 4, 1-93.
- KRISHNASWAMI (1986) New technology of silkworm rearing published by Central Silk Board, Bangalore 23.
- KRISHNASWAMI S. (1986) Improved methods of rearing young (Chawki) silkworms, Central Silk Board, Bangalore, 24.
- KRISHNASWAMI S. (1988) Concept and precautions to be taken in young age (chawki silkworm) rearing. International Congress on Tropical Sericulture Practices, Bangalore, Feb. 18-23.
- KRISHNASWAMI S., NARASIMHANNA M. N., SURYANARAYANA S. K., KUMARAJA S. (1973) Manual on sericulture - 2, Silkworm rearing, F. A. O, Rome, 42-43.
- KRISHNASWAMI S., SINGH K., RAGHURAMAN, GEETHA DEVI R. G. (1979) Studies on the effect of humidity during different larval stages on the cocoon crop and quality, Annual Report, C.S.R.&T.I., Mysore 53-54.
- KUWATA K., YAMAMOTO E., HAMAMURA Y. (1968) The effect of B carotene and tocopherol on the growth and egg formation of silkworm, *Bombyx mori*, J. Seric. Sci. Japan, 37(6), 63-65.
- LEGAY J. M. (1961) Recent advances in silkworm nutrition, Annual review of entomology, 3, 75-86.
- LIN K., YAMADA H., KATO M. (1971) Mem. Fac. Sci., Kyoto Univ., ser. Biol., 4, 108.
- MUKAIYAMA F. ITO T. (1962) J. Seric Sci. Japan, 31, 398.
- NAKAMURA (1934) In: Sericology by Tanaka, Y. (1964). Published by Central Silk Board, India, 216.
- NIHMURA M. (1973) J. Agr. Chem. Soc. Japan, 47, 241.
- OAQUERA H. S. (1988) The growth and cocoon yield performance of silkworm multivoltine hybrid (*Bombyx mori* L.) as affected by feeding frequencies. Dissertation submitted to C. S. R. & T. I., Mysore, 100.
- RAJAN R. K., HIMANTHARAJ M. T., VINDHYA G. S., SINGH G. B., MATHUR V. B. VINEET KUMAR, KAMBLE C. K. (1995) Studies on the use of blue polythene sheet in place of paraffin paper during young age rearing, Bull. Seric. Res. 6, 105-108.
- SAMOKHVALOVA G. V., INOV V. M. (1977) Rearing Chinese silkworm (*Bombyx mori* L.) larvae in open waxed paper bags. Vestn. Mosk. Univ. Ser. XVI Biol., 2, 46-49.
- SEKHARAPPA B. M., GURURAJ C. S. (1989) Management of silkworm rearing during summer. Indian Silk 27(12), 16.
- SEKHARAPPA B. M., MUNIRAJU E., GURURAJ C. S. (1995) Use of an isolation chamber for rearing young age (chawki) silkworms in the tropics, Sericologia, 35(5), 525-534.
- SENGUPTA K. (1989) A guide for bivoltine sericulture., Published by C. S. R. & T. I., Mysore, 22.
- SENGUPTA K., SINGH B. D., MUSTAFI J. C. (1972) Nutrition of silkworm, *Bombyx mori* L. Studies on enrichment of mulberry with various sugars, proteins, aminoacids and vitamins for vigorous growth of silkworms and increase cocoon crop production. Indian J. Seric, 11(1), 11-19.

- SHARADA K., BHAT J. V. (1957) Influence of humidity of feed utilisation by the silkworm, *Bombyx mori*, L. J. Indian Inst. Sci. 39(3), 220-223.
- SHIMOGORI Y., URANO M. (1988) Measurements of digestibility of foodstuffs for artificial diets of the silkworm, *Bombyx mori*, J. Seric. Sci. Japan, 57(5), 388-392.
- SOOKCHAROEN W., NGAMPASITH T. (1973) A test to keep chopped mulberry leaves from weathering, Bull. Thai. Seric. Res. & Training Centre, 3, 51-52.
- SRINAWAT D., TENGRATANA PRASERT S., CHAIEE S., TENGRATANA PRASERT P., SWANGPOL S. (1987) Studies on some materials to control appropriate micro-environmental conditions for young age silkworm, XVth Sericultural Congress, Sericologia, 27(3), 411-414.
- SUZUKI C. (1957) Micrometeorological studies on silkworm rearing seats, Bull. Seric. Exp. Sta. Japan, 14 (11), 561-565.
- TANAKA Y. (1964) Sericology: Published by Central Silk Board, Bangalore, India, 20-35.
- TAZIMA Y. (1978) The silkworm - an important laboratory tool, Kodansha Ltd., Japan, 337.
- ULLAL S. R., NARASIMHANNA M. N. (1987) Hand book of practical sericulture. Published by Central Silk Board, Bangalore, India, 213.
- USIGOME (1933) In: Sericology by Tanaka Y., 1964. Published by Central Silk Board, Bangalore, India, 215.
- VINDHYA G. S., HARIYANNA, KUMAR B., GANGADHAR (1987) Frequency of feedings during young age rearing, Annual Report, C.S.R.&T.I., Mysore, 38.
- VINEET KUMAR, HIMANTHARAJ M. T., RAJAN R. K., MATHUR V. B., KAMBLE C. K., DATTA R. K. (1994) Simple leaf preservation for young age silkworm rearing, Indian Silk, 32(9), 20-22.
- VINEET KUMAR, HIMANTHARAJ M. T., RAJAN R. K., SINGH G. P., MATHUR V. B., KAMBLE C. K., DATTA R. K. (1994) Studies on the effect of mulberry leaf preservation and its impact on cocoon crop and cocoon quality in silkworm, *Bombyx mori* Linn. Uttar Pradesh J. Zool., 14(1), 65-69.
- WAKANA T. (1935) J. Seric. Sci. J. Seric. Sci. Japan (6): 74 as quoted in 'The silkworm- an important laboratory tool' Ed. by Tazima, Published by Kodansha Ltd., Japan, 337.
- WAN JIAJI (1981) Research on the box net rearing methods for young age silkworms (ch.), J. Seric. Sci. China, 7(1) 41-43.
- WU PANG - CHUAN & CHEN DA - CHUANG (1988) Silkworm rearing. Pub. by Oxford and IBH publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi, 83.
- XIA YURU (1966) Economic effect and technical discussion on the dry proof rearing of young age silkworm and 5th instar branch rearing on the ground in spring (ch.), J. Seric. Sci. China, 4(1), 25-28.
- XV XINYI (1965) Study on rearing with polythene film cover at young age of silkworm (ch.), J. Seric. Sci. China, 3(1), 35-41.
- YOKOYAMA T. (1962) Synthesised Science of Sericulture, published by Central Silk Board, Bangalore, India, 210-223.
- (1975) Text Book of tropical sericulture, Japan Overseas Co-operation Volunteers, 4-2-24, Hiroo, Sibuya - Ku, Tokyo, Japan, 594.

ETUDE SUR L'ELEVAGE DES JEUNES VERS A SOIE, *BOMBYX MORI* L.

G. P. SINGH, V. B. MATHUR, C. K. KAMBLE & R. K. DATTA

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore - 570 008, Inde.

INTRODUCTION

Les activités sérícolas se classent globalement en deux : le secteur basé sur l'agriculture et le secteur industriel. Le secteur basé sur l'agriculture comprend deux phases d'activité distinctes : la culture du mûrier et l'élevage du ver à soie. L'élevage du ver à soie se divise à son tour en deux : l'élevage des jeunes vers ou élevage « chawki » du 1er au 2ème âges. Le 3ème âge bien que stade intermédiaire, est considéré comme jeune, parce que ses besoins climatiques et nutritionnels sont plus proches de ceux des vers du premier âge. L'élevage des 4ème et 5ème âges relève de l'élevage tardif. L'élevage du jeune ver à soie est un aspect vital de l'industrie séricole pour le développement de larves saines et pour l'obtention d'une bonne récolte de cocons. On estime qu'il vaut mieux que l'incubation et l'élevage des jeunes vers jusqu'à la deuxième mue soient effectués dans un centre d'élevage « chawki » sous l'encadrement d'un technicien qualifié fournissant des feuilles nutritives et des conditions environnementales optimales. Il existe de nombreux facteurs interdépendants favorables au succès de l'élevage de vers à soie. La technique de l'élevage « chawki » est le plus important. En général, le terme « chawki » se rapporte aux deux premiers âges de l'élevage du ver à soie en Inde. La méthode scientifique d'élevage du premier âge est un aspect important de la nouvelle technologie de l'élevage du ver à soie recommandée par le Central Sericultural Research and Training Institute de Mysore pendant les années soixante dix. Le recours à l'élevage « chawki » de manière systématique comme la première mesure pour obtenir une récolte fructueuse de vers à soie n'est pas un concept nouveau. Même, les sériculteurs de l'ancienne génération étaient conscients de l'importance de l'élevage des jeunes vers puisque ce travail était considéré comme qualifié et était effectué par quelques éleveurs sélectionnés (Benjamin et Nagaraj, 1987 ; Ullal et Narsimhanna, 1987). L'élevage « chawki » demande des conditions scientifiques pouvant freiner l'éruption des maladies du ver à soie et empêcher les mauvaises récoltes pendant l'élevage du dernier âge (Bedford 1944 et Jolly, 1986).

IMPORTANCE DE L'ELEVAGE DES JEUNES VERS (CHAWKI)

On est parfaitement conscient de l'importance de l'élevage du jeune ver à soie pour obtenir des animaux sains. Il est important d'avoir pour la technique de l'élevage « chawki » une magnanerie séparée adaptée, une mûraie bien tenue avec un système d'irrigation sûr et des suppléments agricoles adaptés et une main d'oeuvre bien formée aux niveaux ouvrier et managérial. De manière pratique, la quantité totale d'oeufs nécessaire à l'obtention de récoltes de cocons est d'abord élevée dans des centres d'élevage/coopératives du premier âge entièrement équipés et spécialement organisés dans ce but, sous supervision technique experte (Krishnaswami, 1986). Dans les pays développés sur le plan séricole comme le Japon, la Chine et la Corée environ 90 % des éleveurs reçoivent des larves « chawki » élevées tandis qu'en Inde cela concerne seulement 10-15 % des éleveurs (Krishnaswami et coll.; 1973 ; Tazima, 1978 ; ESCAP, 1993).

Les besoins nutritionnels et écologiques du premier et du dernier âge sont différents. Les vers du premier âge ont besoin d'une température élevée, d'une humidité élevée, de feuilles de mûrier tendres et succulentes. On utilise seulement 6,33 % du besoin total en feuilles pendant le stade « chawki », durant lequel le ver à soie multiplie son poids par 400, sa taille par 300 et le poids de sa glande séricigène par 500 (Yokoyama, 1962 et Text Book of Tropical Sericultural, 1975) Tableau I.

Les insecticides, les désinfectants, les gaz nuisibles, etc... ont plus d'effet sur les larves aux premiers âges qu'au dernier âge. Le succès de la technologie de l'élevage chawki dépend de la compréhension parfaite des besoins des vers du premier âge et de leur physiologie et le but est d'obtenir des conditions nutritionnelles et environnementales permettant une croissance maximale et un lot de vers à soie sains et robustes (Benchamin et Nagaraj, 1987 ; Ullal et Narsimhanna, 1987). On peut tirer parti du potentiel maximum en appliquant parfaitement la technique d'élevage « chawki ».

LA LEVÉE DES VERS A SOIE

L'opération de transfert des larves nouvellement écloses de la litière des oeufs à la litière d'élevage s'appelle la levée. Pour cela on utilise une brosse souple ou une plume. Le jour où l'éclosion est prévue, les oeufs sont exposés à la lumière à 6 heures du matin et dès 9-10 heures du matin on peut obtenir une bonne éclosion (Tanaka, 1964 ; Krishnaswami et coll., 1973 ; Ullal et Narismhanna, 1987, Datta et coll., 1996), mais il faut éviter d'effectuer une levée retardée. Si l'éclosion est irrégulière, il vaut mieux effectuer la levée en deux jours. Les vers nouvellement éclos peuvent aussi être réfrigérés, si l'éclosion est partielle, à 7-10° C et 80 % d'humidité relative pendant un jour (Krishnaswami et coll., 1973 ; Ullal et Narasimhanna, Jolly, 1987).

Méthodes de levée :

La méthode de levée dépend du type de méthode de production des oeufs, oeufs sur feuilles ou oeufs en vrac.

a) Levée des oeufs sur feuilles :

Le jour de l'éclosion, les feuilles d'oeufs doivent être retirées de la boîte noire, le papier d'emballage doit être ouvert et étalé de manière uniforme en une couche sur un plateau tapissé de papier de paraffine. Après deux heures d'exposition à la lumière (ESCAP, 1993 ; Datta et coll., 1996), quand l'éclosion est obtenue, les feuilles d'oeufs et le plateau sont retirés de la lumière et des feuilles de mûrier hachées de 0,5 cm carré sont saupoudrées sur les larves nouvellement écloses sur la feuille d'oeufs. Après environ 30 minutes lorsque toutes les larves se rassemblent sur les feuilles, on les transfère dans la litière d'élevage, en leur donnant assez d'espace et on leur donne leur premier nourrissage. La litière est recouverte avec une autre feuille de papier de paraffine et cela termine l'opération de levée. Il faut éviter le contact direct avec les vers ou la levée directement des larves à la litière. L'utilisation de baguettes ou de plumes pour étaler la litière ou faire la litière est conseillée (Krishnaswami et coll., 1973 ; Tazima, 1978 ; Ullal et Narasimhanna, 1987 ; Jolly, 1987).

b) Levée des oeufs en vrac :

Les oeufs en vrac sont conditionnés dans des boîtes d'oeufs contenant chacune 50 pontes saines ou environ 20 000 oeufs. La méthode de levée des oeufs en vrac est plus ou moins similaire à celle rapportée par Tanaka (1964), Tazima (1978), Krishnaswami et coll., (1973) et Benchamin et Nagaraj (1987). Benchamin (1987) a spécifié qu'après avoir retiré les oeufs en vrac de la boîte noire, il faut les mettre sur un plateau d'élevage tapissé d'une feuille de papier de paraffine, et les étaler dans la boîte en la secouant ou en la tapant légèrement. Le papier/toile qui les recouvre doit être coupé sur les côtés sans abîmer les oeufs et retourné avec les oeufs ou les larves qui y adhèrent et exposé à la lumière nécessaire pour obtenir une éclosion uniforme pendant 2-4 heures. Une fine couche de désinfectant de litière doit être appliquée si nécessaire sur les vers nouvellement éclos. Un coton léger ou un filet de nylon avec une maille de taille appropriée doivent être étalés sur les vers et le premier nourrissage des larves nouvellement écloses doit être donné au-dessus du filet. Il faut mettre un

coussinet d'éponge mouillée autour de la litière et recouvrir la litière avec une feuille de papier de paraffine et ne pas la déranger pendant 1 ou 2 heures. Il faut transférer toutes les larves, qui se trouvent alors en-haut du filet avec leur nourriture, dans un plateau d'élevage tapissé d'une feuille de papier de paraffine avant le deuxième nourrissage. On leur donne alors le deuxième nourrissage et suffisamment d'espace de litière. Puis il faut mettre un coussinet d'éponge mouillée et recouvrir la litière entière avec un autre papier de paraffine. L'opération de levée se termine ainsi avec le deuxième nourrissage et l'espace de litière approprié.

EFFET DES FACTEURS ECOLOGIQUES SUR LES JEUNES VERS A SOIE

Les facteurs écologiques, principalement la température, l'humidité, la lumière et l'air environnants ont une influence significative sur la bionomie des insectes. De même, pendant la croissance du ver à soie, son développement et ses activités physiologiques dépendent des conditions climatiques directes et indirectes (Suzuki, 1957 ; Tazima, 1978 ; Jolly, 1986).

(a) Température :

Le ver à soie étant un poikilotherme, la température de son corps change en fonction de la température de l'environnement. Kogure (1933) a observé que les jeunes vers à soie ont besoin comparativement d'une température plus élevée. La quantité d'ingestion, de digestion de feuilles de mûrier et le taux métabolique sont très élevés chez les jeunes vers à soie à cause de la température élevée dont ils disposent (Fuji, 1936b). Une température comprise entre 20-28 °C est sans dommage pour la croissance du ver à soie. Une température moyenne de 25 °C pendant le stade « chawki » est favorable à une croissance saine (Text Book of Tropical Sericulture, 1975). Jolly (1986) et Ullal et Narsimhanna (1987) ont signalé que les larves des premiers âges sont résistantes à une température élevée (26 - 28 °C) qui favorise la croissance saine des vers à soie. La température optimale requise en fonction des âges est présentée dans le Tableau II (ESCAP, 1993 ; AICAF, 1995 ; Datta et coll., 1996) Tableau II.

Tanaka (1964) a observé que la température au premier âge a un effet considérable sur les caractères des cocons comme l'illustrent les tableaux III et IV.

Le ver à soie étant un insecte poikilotherme, les conditions environnementales jouent un rôle vital dans la détermination du taux de développement, de mortalité, de fécondité et du nombre de mues. Ainsi, la régulation de la température et de l'humidité dans la magnanerie permettent d'assurer une bonne récolte de cocons (Krishnaswami, 1988 ; Sekharappa et Gururaj, 1989 ; Benchamin, 1992).

Si les vers sont élevés à une telle température, il est absolument nécessaire qu'ils soient nourris avec des feuilles nutritives et riches en quantité suffisante. Si la qualité et la quantité de la feuille sont insuffisantes, il est nécessaire de baisser la température d'un degré pour chaque âge. En ce qui concerne la température à chaque étape, il vaut mieux que la température de la période précédente soit plus élevée que celle de la période qui suit. Lorsque la quantité de feuilles données au ver à soie n'est pas suffisante, une température élevée est néfaste à la physiologie des vers à soie, et entraînera une faiblesse et des cocons de basse qualité.

b) Humidité relative :

L'humidité joue un rôle vital dans l'élevage du ver à soie. Une humidité élevée au premier âge entraîne une baisse significative de la durée larvaire (Usigome, 1933). Sharada et Bhat (1957) ont observé une amélioration remarquable du poids larvaire, une augmentation de la digestibilité et de l'efficacité de conversion de la nourriture quand l'humidité est élevée. Krishnaswami et coll. (1979) et Benchamin (1987) ont signalé qu'une humidité faible pendant tout le stade larvaire prolonge la durée larvaire de manière significative, fait baisser la valeur des caractères des cocons et des larves, et augmente le pourcentage de perte. Une humidité élevée (90 %) pendant le premier âge et une faible humidité au dernier âge donne de bons résultats. Il a été rapporté que les vers au premier âge sont résistants à une humidité élevée (85 % - 90 %) tandis qu'une humidité élevée affaiblit les larves adultes.

(Azuzawa et coll., 1972 et Text Book of Tropical Sericulture, 1975). La température et l'humidité étant des facteurs qui prédisposent à des maladies variées, il faut s'assurer que l'humidité de la litière est maintenue entre 80 % - 90%, au-delà les vers deviennent automatiquement sensibles aux maladies comme la grasserie, la muscardine etc... (Krishnaswami, 1986). L'humidité a des effets directs sur les fonctions physiologiques du ver à soie et indirects sur le séchage des feuilles dans la litière (Benchamin et Nagaraj, 1987). Il a été clairement confirmé que les larves au premier âge sont plus résistantes à une humidité élevée (85 - 90 %), et qu'elles ont un taux de survie meilleur, une croissance et des caractères de cocons maximum, comme l'illustrent les tableaux V et VI (Tanaka, 1964 ; AICAF, 1995 ; Datta et coll., 1996).

Le besoin en humidité pendant les étapes du nourrissage et de la mue sont différents chez les vers à soie. Une humidité comparativement élevée doit être maintenue pendant le nourrissage et une humidité faible est préférable pendant la mue comme l'illustre le tableau VII.

Sengupta (1989) et Datta (1992) ont signalé que pour obtenir une bonne récolte de vers à soie bivoltins, il est nécessaire de réguler la température et l'humidité pour le ver à soie au premier âge, cela peut se faire en utilisant du papier de paraffine et des bandes de papier mouillé, des coussinets de mousse, etc...

c) Circulation de l'air :

La composition de l'air et sa circulation dans la pièce d'élevage sont importants pour la croissance du ver, la régulation de la température de la pièce et l'humidité. Nakamura (1934) a signalé qu'un niveau de gaz carbonique inférieur à 1-2 % dans la pièce d'élevage n'a pas d'effet nocif sur le ver. Cependant, Wanaka (1935) a observé qu'un niveau de gaz carbonique supérieur à 1 % dans une pièce d'élevage est nocif. La limite sans danger pour l'élevage du ver à soie est de 1 - 2 % de CO₂, 1 % de gaz formaldéhyde, 0,02 % d'anhydride sulfureux et 0,1 % d'ammoniac dans l'air de la pièce d'élevage (Tazima, 1978 ; Benchamin et Nagaraj, 1987).

d) Lumière :

La lumière joue un rôle important dans l'élevage du ver à soie, les vers préférant une lumière tamisée de 15 à 30 lux, il faut ainsi éviter une lumière forte ou l'obscurité. L'élevage des larves au premier âge sous lumière forte entraîne une production de cocons plus élevée et un poids de coque plus lourd par rapport à l'obscurité (Yokoyama, 1962 ; Krishnaswami et coll., 1973 ; Benchamin et Nagaraj, 1987 ; Ullal et Narsimhanna, 1987). Kasturi Bai et Ananthanarayana (1980) ont observé que la consommation de nourriture chez les vers à soie est maximale lorsqu'on leur donne 12 heures de lumière puis 12 heures d'obscurité. Une photopériode de 16 heures de lumière et de 8 heures d'obscurité est idéale pour l'élevage des jeunes vers.

NOURRISSAGE

On pensait auparavant qu'il fallait nourrir les vers 10 à 12 fois par jour, de manière à les assurer d'une nourriture saine à partir de feuilles fraîches. Bhatikar et Narsimhana (1982) ont relevé que les éleveurs en URSS donnent 10 à 12 nourrissages par jour pendant l'élevage du premier âge. De manière traditionnelle, les éleveurs avaient l'habitude de nourrir fréquemment le premier âge (jusqu'à 8 fois par jour) afin de conserver la fraîcheur de la feuille (Iyengar et coll., 1988).

Contrairement à l'information ci-dessus qui appartient à la fréquence du nourrissage pendant l'étape « chawki », Krishnaswami (1986) a rapporté qu'il fallait nourrir les vers trois à quatre fois par jour. Cependant, les variations saisonnières influencent grandement la fréquence du nourrissage. Oaquera (1988) a observé que 2, 3 ou 4 nourrissages au premier âge n'ont pas d'effets significatifs d'après la croissance et les caractères des cocons. Ainsi, il est bénéfique de donner 2 nourrissages pendant le premier âge suivis par 3 à 4 nourrissages à un âge plus avancé pendant la saison des pluies et les autres jours d'élevage. De plus il a recommandé 3 nourrissages pendant le premier âge suivis par 4 nourrissages par jour à un âge plus avancé pendant l'été et les jours d'élevage concernés

lorsqu'une température élevée (27 - 31 °C) est associée à une humidité relative faible (50 - 60 %). Akapanthu et Sookcharoen (1973) et Vindhya et coll., (1987) ont observé que 3 nourrissages par jour pendant l'élevage du premier âge est optimal puisque la perte larvaire jusqu'au 3^{ème} âge est minimale et que les paramètres d'élevage et les caractères du cocon sont supérieurs à ceux du témoin (4 nourrissages par jour). Srinawat et coll., (1987) ont signalé que deux nourrissages par jour avec des feuilles de mûrier recouvertes par un tissu humide dans la litière sont supérieurs sur le plan statistique. De plus Akapanthu et Sookcharoen (1973) et Vindhya et coll., (1987) ont mentionné que le nourrissage avec de la feuille hachée est meilleur pour l'élevage « chawki » par comparaison au nourrissage avec des rameaux et des feuilles entières. Le taux de perte chez les larves au premier âge est supérieur (12 %) dans le cas de nourrissage avec des rameaux et avec des feuilles entières par comparaison au nourrissage avec des feuilles hachées (8,1 à 8,8 %). La taille de la feuille hachée et le besoin en feuilles de mûrier sont présentés dans le tableau VIII (Krishnaswami, 1973 ; Jolly, 1987 ; Datta, 1992).

SELECTION DE VARIETES ET DE FEUILLES DE MURIER POUR LE VER A SOIE AU PREMIER AGE

Récemment, on a trouvé que la variété de mûrier V1 est la meilleure pour l'élevage des jeunes vers suivis par S36, S54, et S34 en Inde.

Les feuilles de mûrier pour le jeune ver doivent être tendres et riches en eau (supérieur à 80 %), en protéines et en hydrates de carbone. Les feuilles supérieures tendres répondent à ces exigences. Pour le nourrissage à la feuille individuelle, la feuille brillante de la plus grande taille et 4 ou 5 feuilles en-dessous sont préférables. Dans le cas de nourrissage aux rameaux, les petites branches latérales avec 5 - 6 feuilles sont préférables (Text Book of Tropical Sericulture, 1975 ; AICAF, 1995).

Les vers à soie ne parviennent pas à bien se nourrir sur les feuilles flétries à plus de 10 % (Benchamin, 1987). La consommation des vers change en fonction de la teneur en humidité des feuilles. Ainsi, il est important de fournir des feuilles fraîches et de contrôler rapidement le flétrissement des feuilles à la fois pendant le stockage et aussi dans la litière. Sous des conditions tropicales, la feuille sèche plus vite. Les feuilles cueillies le matin sont meilleures que celles cueillies le soir, parce que le flétrissement (la perte de la teneur en humidité) est faible le matin à cause de la température basse et de l'humidité relativement élevée. Quand il faut des quantités de feuilles importantes, les feuilles récoltées doivent être transportées immédiatement dans la magnanerie dans des paniers recouverts soit avec de la toile de jute mouillée soit avec des films de polyéthylène.

BESOINS NUTRITIONNELS DU VER A SOIE

Protéines et acides aminés :

Les protéines sont indispensables pour la croissance normale du ver à soie. Les protéines sont principalement composées de 20 acides aminés. Bien que la plupart des acides aminés peuvent être synthétisés dans le corps du ver à soie (Ito, 1972), il y a environ 10 acides aminés (l'arginine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, le tryptophane et la valine) dont le taux de synthèse est loin de répondre à la demande de l'organisme ; ils s'appellent les acides aminés essentiels (Arai et Ito, 1964 ; Inokuchi et coll., 1967). De plus, les acides aminés tels que la proline, les acides aspartique ou glutamique sont aussi nécessaires. Le manque de l'un d'eux dans la nourriture a des effets sur la croissance et le développement des larves (Ito et Arai, 1965, 1966, 1967 ; Horie et coll., 1970 ; Sengupta et coll., 1972 ; Nihmura, 1973). Chez le ver à soie la trans-amination de ces acides aminés essentiels est très active et permet la formation de glycine (Koide et coll., 1965).

Hydrates de carbone :

Les hydrates de carbone sont la principale source d'énergie pour toutes les activités vitales de l'organisme. D'après des études sur la nutrition, les hydrates de carbone se classent en trois groupes, de valeur nutritive élevée, modérée et pauvre. On sait que le glucose, le fructose, le sucrose, le celbiose, le maltose, le mélézitose, le raffinose et le sorbitol possèdent une valeur nutritive élevée. Le mannose, le mélbiose, le lactose, le tréhalose ont une valeur nutritive modérée. Tandis qu'on estime que le xylose, le galactose, le mannitole ont une faible valeur nutritive (Sengupta et coll., 1972). La cellulose ne peut pas être utilisée par le ver à soie et l'amidon a un faible ratio d'utilisation et peut même ne pas être utilisé complètement par des variétés de ver à soie (Ito, 1960). On considère que le besoin en hydrates de carbone peut être satisfait par n'importe quel hydrate de carbone à haute valeur nutritive (Tazima, 1978). Certains sucres possèdent un effet de stimulation gustative sur le nourrissage larvaire du ver à soie (Ito, 1960). Le sucrose stimule le plus le nourrissage, suivi par le fructose et le raffinose. L'arabinose, le rhamnose, le galactose, le maltose, le milizitose sont plus ou moins stimulants. Le glucose est un faible stimulant pour le ver à soie par comparaison avec le sucrose à la même concentration (Legay, 1961 ; Ito et Arai, 1967 ; Sengupta et coll., 1972).

Les lipides :

Les lipides comprennent les acides gras, les triglycérides, le glycérol, les phospholipides, le cholestérol et ainsi de suite. Le cholestérol ne peut pas être synthétisé par les larves du ver à soie, et est un nutriment indispensable au ver à soie (Ito, 1960). Le b-sitostérol, le cholestérol et le stigmostérol ont un bon effet nutritif et favorisent l'absorption de nourriture et la croissance des larves de ver à soie (Hamamura et coll., 1961 ; Ito et coll., 1964 ; Sengupta et coll., 1972). Les acides linotiques sont des acides gras essentiels pour la synthèse des hormones stéroïdes chez le ver à soie et ils favorisent l'alimentation du ver à soie (Lin et coll., 1971).

Vitamines :

Les vitamines du groupe B essentielles au ver à soie sont la biotine, la choline, l'inositol, la niacine, l'acide pantothénique, la pyridoxine, la riboflavine et la thiamine (Horie et Ito, 1963 ; Horie et coll., 1966 ; Sengupta et coll., 1972). L'abondance de vitamine C dans la feuille de mûrier et l'importance de cette vitamine dans la nutrition du ver à soie ont été étudiées par Gamo (1941). On a signalé que l'acide ascorbique possède une activité stimulatrice gustative à un certain degré (Ito, 1961). On a observé que le b carotène et le tocophérol sont légèrement plus efficaces pour augmenter le nombre d'œufs pondus par le papillon et que le b carotène a un effet promoteur de croissance (Kuwata et coll., 1968).

Sels inorganiques :

Les sels inorganiques participent activement à toutes sortes d'activités métaboliques et neurales chez le ver à soie pendant le développement (Ito, 1960). Les sels inorganiques importants comprennent le potassium, le phosphore, le magnésium, le calcium, le zinc, le manganèse et les ferreux etc. Le silicate de calcium et le phosphate de potassium augmentent l'absorption de la nourriture chez le ver à soie (Sengupta et coll., 1972).

MILIEU ARTIFICIEL POUR LES JEUNES VERS A SOIE

La plupart des études sur la nutrition du ver à soie et l'amélioration du nourrissage ont été réalisées au Japon en utilisant le milieu artificiel comme nourriture. L'utilisation du milieu artificiel à l'échelle commerciale est maintenant aussi populaire au Japon, en Chine et en Corée du Sud surtout pour élever les jeunes vers à soie. Ito (1961) a réussi à élever des vers à soie avec un régime semi-synthétique. Ce régime contenait 50 % de feuilles de mûrier séchées et pulvérisées comme ingrédient de base. Par la suite, des efforts ont été entrepris pour le remplacer par d'autres sources de protéines. Mukaiyama et Ito (1962) ont étudié la quantité d'alimentation consommée, la quantité de nourriture digérée et la

digestibilité chez le ver à soie élevé sur milieu artificiel. De plus, Ito et Arai (1967) ont formulé un régime contenant des acides aminés comme seule source d'azote. Le premier milieu artificiel d'utilisation pratique a été formulé par Horie et coll., (1973). Des efforts constants ont été faits pour améliorer la composition du milieu artificiel (Ito et coll., 1972, Nihmura, 1973). Sur la base des informations disponibles sur le milieu artificiel du ver à soie, trois régimes semi-synthétiques ont été conçus, « début » (1er âge), « croissance » (deuxième à quatrième âge) et « producteur » (5ème âge) (Ito et coll., 1974). L'adaptabilité au milieu artificiel semble s'hériter comme un caractère dominant unique (Tazima, 1978). Shimogiri et Urano (1988) ont présenté l'effet du milieu artificiel sur le poids et la digestibilité du ver à soie. Kandal et coll., (1988) ont observé la réponse des larves de ver à soie au milieu artificiel bon marché conçu par la méthode de programmation linéaire et observé que les souches japonaises sont mieux adaptées et grandissent bien sur milieu artificiel.

De plus, il est important de prendre toutes les mesures pour empêcher la décomposition du milieu. Les substances antiseptiques couramment utilisées dans le milieu sont l'acide ascorbique et l'acide propionique. Les antibiotiques telles que la chloromycétine, l'aureomycine et la gentamycine sont souvent utilisées dans le milieu. L'ajout de tels composés en grande quantité a parfois un effet défavorable sur le ver à soie. Il ne faut jamais nourrir les larves avec un milieu décomposé, car cela peut entraîner une mortalité en masse.

ESPACEMENT OU SURFACE DE LITIÈRE

L'espacement dans la litière joue un rôle vital pendant l'élevage du ver à soie et se répercute sur la production de cocons. Différentes organisations de l'espacement sont nécessaires pour les lignées croisées et pour les hybrides bivoltins. Pour élever 100 pontes saines le besoin optimal en espace de litière est de 360 pieds carrés pour les lignées croisées et de 480 pour les hybrides bivoltins jusqu'à la fin du Vème âge. Cependant, un espacement d'1/4 est requis jusqu'à la fin du IIIème âge comme il est précisé dans le tableau IX (Benchamin, 1987).

METHODES D'ELEVAGE POUR LES JEUNES VERS

Différentes méthodes d'élevage sont employées. Toutes les méthodes ont pour but la prévention du séchage des feuilles de mûrier, par le maintien d'une température et d'une humidité correctes dans la litière. Pour éviter des nourrissages fréquents tout comme pour maintenir un microclimat adapté à l'élevage du premier âge, différents types de méthodes d'élevage, comme l'élevage en boîte (Tanaka, 1964), l'élevage recouvert de tissu mouillé, l'élevage au sol dans une pièce fermée, avec du papier imperméable, avec une boîte en zinc etc., sont employés dans les régions séricicoles de pays tempérés et tropicaux. Dans les pays avancés sur le plan mécanique comme le Japon, l'élevage des premiers âges se fait dans une pièce séparée surveillée où la température et l'humidité désirées peuvent être maintenues. Samokhvalova et Inov (1977) ont rapporté que l'élevage de larves de vers à soie sur des sacs en papier sulfurisés ouverts fournit un microclimat favorable et améliore la productivité, de plus cette méthode est économique. Xv Xinyi (1965) a fait des études sur l'élevage de jeunes vers à soie avec une enveloppe de film polyéthylène. Xia Yuru (1966) a étudié le coût d'élevage du premier âge sur papier sec mais pas la performance de l'élevage. Les jeunes vers croissent plus vite d'environ un jour quand ils sont recouverts de papier de paraffine que lorsqu'ils sont recouverts de papier journal mouillé non fermé (Akapanthu et Namprasith, 1973). Sookcharoen et Namprasith (1973) ont observé que bien que le papier de paraffine soit efficace pour garder les feuilles hachées en bonne condition dans la litière, il n'est pas disponible partout. Wan Jiaji (1981) a étudié la méthode d'élevage en boîte avec un filet pour les vers à soie au premier âge. Jolly (1986) a observé que le papier de paraffine ne doit pas être utilisé de manière répétée pour éviter l'attaque par des pathogènes. En Inde, les vers à soie du premier âge sont recouverts en dessous et par-dessus avec du papier de paraffine et des éponges mouillées (Iyanger et coll., 1988). On a aussi observé que des films de polyéthylène bleu peuvent être utilisés à la place du papier de paraffine pour maintenir un meilleur microclimat dans la litière. De

plus, cela est plus économique que le papier de paraffine car on peut utiliser ces films de manière répétée après nettoyage minutieux et désinfection (Datta, 1992; Raja et coll., 1995). Les méthodes les plus courantes qui sont utilisées pour l'élevage du jeune ver à soie sont les suivantes.

1. Elevage en boîte :

La méthode d'élevage en boîte a été évaluée par Tanaka (1964) et AICAF (1995). Cette méthode est employée quand la température et l'humidité sont faibles. Des plateaux en bois 4' x 3' x 2' (121 x 91 x 61 cm) et 4'' (10 cm) de profondeur sont utilisés. Les plateaux sont disposés, pendant la période de nourrissage, l'un sur l'autre à une hauteur adaptée sur un chassis d'élevage chawki comme une boîte. Disposer les plateaux de cette manière peut améliorer la température et l'humidité de la litière. Trente ou quarante minutes avant le nourrissage et pendant la période de mue le fond de papier de paraffine et les vieux journaux mouillés sont retirés et les plateaux sont disposés en enchevêtrement pour permettre à la litière de sécher. Cette méthode est idéale pour les centres d'élevage « chawki » parce qu'elle requiert un minimum d'espace pour un grand élevage.

2. Elevage sur support :

Quand la température et l'humidité optimales sont disponibles ou que la température est élevée dans la pièce d'élevage, on procède à l'élevage du premier âge comme à celui du dernier âge, dans des plateaux sur un support. On met du papier de paraffine au fond et dessus ou on les enveloppe dans du papier de paraffine. L'élevage sur support demande plus d'espace et ne convient pas à l'élevage à grande échelle (Wu pang - Chuna et Chen Da - Chunag, 1988 ; AICAF, 1995).

3. Elevage en box :

La méthode d'élevage en box ou méthode gumma des jeunes vers à soie (à l'intérieur d'un box d'isolation) a aussi été conçue pour le maintien d'un meilleur microenvironnement pour les vers aux premiers âges (Krishnaswami et coll., 1973 et Text Book of Tropical Sericulture, 1975). L'élevage en box est utile quand la température et l'humidité sont très inférieures. Les box sont faits de planches de contre-plaqué avec un cadre en bois de 6' x 4' x 5' (182 cm x 122 x 152 cm) et une double porte et contiennent un chauffage et un humidificateur à l'intérieur. Il est possible de maintenir une température et une humidité optimales en utilisant un thermostat et un humidistat. L'élevage se fait à l'intérieur du box en empilant les plateaux sur un étal d'élevage « chawki » ou sur un petit étal d'élevage comme il est mentionné plus haut. Le maintien de la température et de l'humidité à l'intérieur du box est facile grâce à l'espace restreint. Le box contient aussi des ventilateurs sur les côtés en haut et en bas, ce qui permet l'aération à l'intérieur du box. Un box de cette taille peut contenir 300 pontes saines jusqu'à la deuxième mue. Sekharapa et coll., (1995) ont aussi travaillé sur l'élevage du jeune ver à soie en box isolé, et observé que la variabilité de la température et de l'humidité à l'intérieur du box est toujours inférieure à celle de l'extérieur. De plus la manipulation de la température et de l'humidité est plus efficace à l'intérieur du box que dans la pièce.

CONSERVATION DE LA FEUILLE DE MURIER

Une des exigences essentielles pour s'assurer d'une récolte réussie consiste à conserver les feuilles dans un état aussi frais que possible après la cueillette jusqu'à ce qu'elle soient données et consommées par les vers. Cela est d'autant plus vrai pour l'élevage « chawki ». Les feuilles doivent être conservées dans un endroit où l'humidité est maintenue à 100 pour cent (H. R.) et la toile de jute ou le tissu recouvrant le récipient doivent être arrosés ou vaporisés de manière répétée (Krishnaswami, 1986). Ullal et Narsimhanna (1987) ont recommandé la conservation des feuilles de mûrier dans des endroits humides, frais et propres. Les feuilles tendres destinées aux vers des premiers âges peuvent être conservées dans des pots en terre cuite, qui doivent être recouverts d'un tissu mouillé. Le pot doit être maintenu sur un fond mouillé et humide. Une méthode pratique consiste à stocker les feuilles dans un box en bois recouvert de toile de jute mouillée. On peut stocker une grande quantité de feuilles sur

un sol propre et les recouvrir avec de la toile de jute mouillée. Les feuilles doivent être disposées en couches aérées avec des poches d'air appropriées et recouvertes de toile de jute mouillée. En été, il faut arroser les feuilles et vaporiser fréquemment de l'eau par dessus la toile de jute (Benchamin et Nagaraj, 1987 ; Ullal et Narsimhanna, 1987). Vindhya et coll., (1987) ont essayé trois méthodes de conservation des feuilles, le recouvrement des feuilles avec une toile de jute mouillée, l'arrosage des feuilles, et le trempage des feuilles dans l'eau. Ils ont observé que le pourcentage d'humidité augmente de 4 à 6 % quand les feuilles sont conservées en les arrosant et en les trempant dans l'eau et ont aussi précisé que les feuilles peuvent être conservées pendant 24 heures sans grande détérioration pour le nourrissage, en les vaporisant avec de l'eau. Vineet Kumar et coll., (1994) ont adopté plusieurs méthodes de conservation des feuilles de mûrier pour l'élevage chawki, la toile de jute, la feuille de polyéthylène, la toile de jute avec du polyéthylène poreux de chaque côté (PGP) et une feuille de polyéthylène poreux avec de la toile de jute de chaque côté (GPG) et observé que la feuille sèche au minimum dans la méthode PGP et les caractères des cocons sont supérieurs. Avant de conserver les feuilles de mûrier, les sacs sont mouillés en les plongeant dans de l'eau. La couche de toile de jute mouillée libère de l'humidité pour les feuilles à l'intérieur du sac à travers la couche de feuille de polyéthylène poreux, fait baisser la température et accroît l'humidité relative à l'intérieur du sac. La toile de jute ne sèche pas rapidement parce que le taux d'évaporation baisse à cause de la barrière de la feuille de polyéthylène sur les deux côtés et cela permet ainsi de garder des feuilles fraîches pendant plus longtemps.

L'étude de la littérature décrite plus haut sur l'élevage « chawki » du ver à soie permet de se rendre compte qu'il faudrait entreprendre une analyse plus poussée pour trouver une technique d'élevage « chawki » convenant aux différentes conditions agro-climatiques du pays. De plus, il faudrait une étude détaillée sur (1) les méthodes de nourrissage (la feuille hachée, la feuille entière et le rameau) (2) la fréquence de nourrissage (2, 3, 4 nourrissages par jour) (3) la manipulation de la température et de l'humidité (4), les méthodes d'élevage chawki comme l'élevage Gumma (à l'intérieur d'un box d'isolation), l'élevage en boîte, l'élevage dans un sac de papier de paraffine, par empilage de plateaux et (5) les méthodes de préservation de la feuille qui sont des sujets d'étude importants. Il faudrait concevoir une à cinq techniques spécifiques pour un programme d'élevage « chawki » complet qui permettrait d'améliorer la qualité du cocon et la production de soie grège du pays. Cela permettrait surtout d'exploiter le potentiel des races de vers à soie donnant des variétés à haut rendement comme les bivoltins, qui donnent une qualité supérieure de soie pour l'exportation et les échanges sur le marché international, ce qui permettrait de gagner des devises étrangères et d'améliorer l'économie du pays.

BREEDING OF DOMINANT TRIMOLTER 953 WITH SEX-LIMITED MARKING

HE YIYUAN & HE SIMEI

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

*To improve both trimolter rate and labour productivity, a dominant trimolter strain with stabilised moltinism but undesirable economic characters and an ordinary tetramolter with superior economic characters are used as parents in this study, according to the genetic fundamentals of the moltinism gene of the silk worm **Bombyx mori**. By combining crossbreeding with pedigree selection and associating the excellent genes from parents, one trimolter race with excellent synthetical characters and stable moltinism was bred in a short period and called 953, which crosses with excellent current tetramolters resulting in F1 that can be used to produce trimolting cocoons with fine size. The F1 characteristic of the trimolter crossed with a tetramolter are as follows: strong and healthy, easy rearing, stable moltinism, trimolter rate 98%-100%, short duration of all instars, cocoon size filament 2.00-2.22 dtex, cocoon filament length 1170 meters, neatness 95-98 point, tenacity 3.62-3.71 cn/dtex. All the above characteristics can meet the requirements for reeling high grade silk. This study not only provides an excellent and high effective silkworm variety for the production of fine size silk in China but also enriches silkworm genetic resources in China.*

Keywords: *Bombyx mori*, breeding, trimolter variety.

INTRODUCTION

With the development of various and top grade silk products in international markets and the adjustment of cocoon filament production in China, new requirement for silkworm breeding have been put forward such as ultrathin silk fabrics which need fine size silkworms races. At present, there is still no practical fine size silkworm variety in China. The fine size cocoon filament is produced through inducing trimolters by feeding tetramolters with antijuvenile hormone (AJH). Although AJH can induce trimolters successfully to get fine size cocoons, the induced trimolter rate is restricted by some factors such as technology, season and mulberry leaf quality and so on, especially in the countryside for a large scale production, and moreover, using AJH takes too much time and labour. So to increase the trimolter rate and productivity, we have carried out this study. The F1 (trimolters) produced by the crossing of the dominant trimolter race bred successfully in this study and the current tetramolter race can produce high-quality fine size raw cocoons with high efficiency.

MATERIALS AND METHODS

1. Parental strain used:

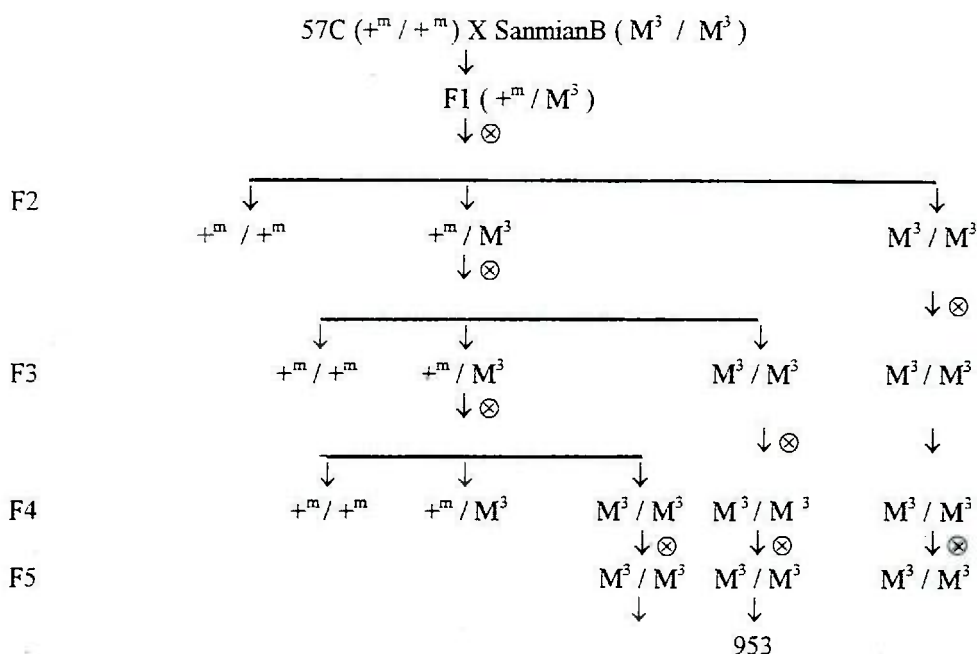
Female parent:

The variety '57C' with fine economic characters is used. 57C is a kind of variety used for both spring and autumn rearing and bears sex-limited marking which was bred at the Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences in the eighties.

Male parent:

The dominant trimolter race SanmianB with stabilised moltinism is used. SanmianB is an improved variety synthesised from the cross of Chinese with European races which were chosen out of stock resources. Although it has some defects such as inferior economic characters, small larval body size and less number of produced eggs, its moltinism is stable and its filament size is fine. It belongs to the Chinese race (Table I).

2. Crossing scheme (or breeding scheme):



3. Set up of experimental conditions:

Genotype is the innate cause of character expression. But because many economic characters of the silkworm, *Bombyx mori* are controlled by polygenes of minor effect, their expressions are affected by environment. With the purpose of minimising the environment error all efforts have been made up to keep the environment uniform.

Temperature and humidity:

Temperature 27° C - 28° C and humidity 85% - 90% are set up for young silkworms. Temperature 24° C - 25° C and humidity 75% - 80% are set up for grown silkworms.

In the spring season, besides moltinism selection, emphasis should be laid on cocoon filament quality because of the fine environment conditions and on high quality mulberry leaves.

In summer and autumn season, besides moltinism selection, life-ratio is emphatically selected.

Table I. Main economic characters of 953 parents.

Tableau I. Principaux caractères économiques des parents de 953.

Variety	Duration of all instars (D:H)	Larva-pupa rate (%)	Whole cocoon weight (g)	Cocoon Shell weight (g)	Cocoon Shell ratio	Filament length (m)	Reelability (%)	Neatness (point)	Size (D)	Number of eggs per moth
Variété	Durée de tous les ages (J:H)	Taux larve-pupe (%)	Poids total du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)	Longueur du filament (m)	Dévidabilité (%)	Netteté (point)	Titre (D)	Nombre d'oeufs par papillon
SanmianB	21:19	97.7	1.12	0.22	19.7	1010	63.3	97.5	1.41	400
57C	24:00	95.5	1.80	0.447	24.64	1300	70	95	2.80	480

4. Breeding period and breeding technology:

1. In the spring of 1993, parents were reared to produce hybrid, 57C × SanmianB. In mid-autumn 1993, F1 was reared by mixed batch rearing. Because all F1 were trimolters the small and weak silkworms were discarded during rearing and 50 cocoons with uniform shape and white colour respectively from female and male were selected to carry out successions of generation.

2. In the spring of 1994, F2 was still reared by mixed batch rearing. In F2 the moltinism began to separate, so strict elimination of tetramolters and small and weak worms was carried out. The individual cocoons with even shape, white colour and middle size were preserved for succession of generation.

3. In the mid-autumn 1994, F3 was reared by batch rearing. Eight batches were reared. Tetramolters must be eliminated strictly. The individual cocoons with even shape were selected from those batches of low tetramolter rate and high cocoon quality for succession of generation. Meanwhile, the male trimolter moths that have mated with the female trimolter moths mated again with the female tetramolter moths for test cross.

4. In the spring of 1995, F4 was reared. To speed up the purification of dominant genes, in ten batches, the corresponding test cross batches were reared. Good batches were selected and preserved according to the results of F4 batches and the corresponding test cross batches. The individuals selected from the preserved batches were preserved for succession of generation. Meanwhile, the test cross batches were prepared according to the F3 way.

5. In the mid-autumn of 1995, F5 was reared. To speed up the purification, the number of rearing batches was increased to 31. Good batches were selected by test cross. Purified batches found in this generation 57C × Sanmian B were named 953. Good individuals were selected and preserved from the selected batches for succession of generation, meanwhile the cross combinations with tetramolters were prepared to identify the combining ability. The experimental production in the countryside was carried out.

6. Up to now, the breeding work has gone to F8. The moltinism is fixed and the economic characters are quite good. The initial cross combinations are prepared.

7. The selection of moltinism can be carried out at the 3rd instar stage. Many batches during collection of newly hatched larvae must be carried out. This can gain the selection objectives.

RESULTS:

1. Pedigree results of 953 (Table II):

Table II. Pedigree results of 953.

Tableau II. Résultats de pédigré de 953.

Seasons / Saisons	Mid- -autumn 1993	Spring 1994	Mid- -autumn 1994	Spring 1995	Mid- autumn 1995	Last- autumn 1995	Spring 1996	Mid- -autumn 1996
	Mi- automne 1993	Printemps 1994	Mi- automne 1994	Printemps 1995	Mi- automne 1995	Fin de automne 1995	Printemps 1996	Mi- automne 1996
Generations	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Batches /lots	1	1	8	10	10	31	10	20
Rearing type / Type d'élevage	□	□	O	O	O	O	O	O
Duration of 4th instar (D:H)	7:15	7:13	6:22	8:00	6:12	7:00	8:00	7:00
Durée du 4ème âge								
Duration of whole instars (D:H)	22:04	22:15	21:00	22:00	21:13	22:00	22:17	21:07
Durée de tous les âges (D:H)								
Larva-pupa rate (%)	97.68	94.35	90.30	95.34	76.33	83.45	94.21	98.83
Taux larve-pupe (%)								
Larval rate (%)	99.27	97.00	95.52	97.42	93.00	90.80	96.33	99.22
Taux de larve (%)								
Dead worm cocoon rate (%)	1.40	2.73	5.47	1.52	17.92	8.30	2.20	0.39
Taux de cocons avec ver mort (%)								
Whole cocoon weight (g)	1.40	1.48	1.08	1.34	0.97	1.20	1.43	1.22
Poids total du cocon (g)								
Cocoon shell weight (g)	0.284	0.311	0.209	0.187	0.234	0.326	0.293	0.253
Poids de la coque soyeuse (g)								
Cocoon shell ratio (%)	20.29	20.29	19.34	21.94	20.25	22.80	20.50	20.80
Rapport coque cocon (%)								
Trimolter ratio (%)	98.50	72.40	95.80	99.2	97.5	98.6	99.5	98.3
Taux de trimuants (%)								

□.....mixed batch rearing / élevage mixte en lots

O batch rearing / élevage en lots.

2. Bench-scale experimental results of cross combinations:

The bench-scale experiments were carried out in mid-autumn 1995 and in spring 1996. The cross combination of 953 × 54A and 953 × 871 were determined. Table III shows the experimental results.

Table III. Record of the bench scale experiments.

Tableau III. Observations sur les expériences d'essai.

Cross combinations <i>Combinaisons de croisement</i>	953 × 871		953 × 54A	
Seasons/ <i>Saisons</i>	Mid-autumn <i>Mi-automne</i>	Spring <i>Printemps</i>	Mid-autumn <i>Mi-automne</i>	Spring <i>Printemps</i>
Duration of 4th instar (D:H) / <i>Durée du 4ème âge</i>	7:10	7:18	7:07	7:17
Duration of all instars (D:H) / <i>Durée de tous les âges</i>	21:00	22:07	21:00	21:10
Larva-pupa rate (%) / <i>Taux pupe - larve</i>	94.53	96.89	95.34	97.68
Whole cocoon weight (g) / <i>Poids total du cocon (g)</i>	1.44	1.60	1.43	1.55
Cocoon shell weight (g) / <i>Poids de la coque (g)</i>	0.334	0.362	0.330	0.348
Cocoon shell ratio (%) / <i>Richesse soyeuse (%)</i>	23.19	22.63	23.08	22.45
Cocoon filament length (m)	1101	1120	1190	1200
<i>Longueur du filament de cocon (m)</i>				
Reclability (%) / <i>Dévidabilité (%)</i>	86	82	88	85
Length of non-broken cocoon filament (m)	947	918	1047	1020
<i>Longueur du filament de cocon sans rupture (m)</i>				
Neatness (point) / <i>Netteté (point)</i>	96.00	95.00	97.50	98.13
Size (dtex) / <i>Tire (dtex)</i>	2.07	2.39	2.02	2.22
Tenacity (cN/dtex) / <i>Résistance (cN/dtex)</i>	3.64	3.62	3.71	3.67
Tetramolter ratio (%) / <i>Proportion de tétramoultants (%)</i>	7.8	3.4	4.6	2.1

Notes: The numbers in table III are the average numbers of reciprocal cross.

Les nombres du tableau III sont les nombres moyens de croisement réciproque.

The results in the table are the average of three batches. Each batch is 450 worms

Les résultats du tableau sont la moyenne de trois lots. Chaque lot comprend 450 vers à soie.

All the above cross combinations have such characteristics as fine cocoon filament size, short duration of instars, high survival rate and good quality, duration of all instars 21-22 days, larva-pupal ratio 95%-98%, whole cocoon weight 1.4 - 1.6 g, cocoon shell ratio 21%-22%, cocoon filament length 1100-1200 m, reelability 82%-88%, length of non-broken cocoon filament 900-1000 m, size 2.02-2.39 dtex and neatness 95-98 point. All these characteristics can meet the requirements for ultra-fine size varieties.

3. Experimental results in the countryside:

Rearing experiments in the countryside were carried out in the mid-autumn of 1995 in Qingzhou city, Shandong province. It was carried out again in the spring of 1996 respectively in Qingzhou city, Shangdong province and in the Jingshan county, Shanghai city.

Table IV. The results of cocoon quality (spring, 1996).

Tableau IV. Résultats concernant la qualité du cocon (printemps 1996).

Varieties / Variétés	953 × 54A	Index Indice	Qingsong × Haoyue	Index Indice
Duration of all instars (D:H) / <i>Durée de tous les âges (D:H)</i>	24:07		27:07	
Whole cocoon weight (g) / <i>Poids total du cocon (g)</i>	1.44		1.84	
Cocoon shell weight (g) / <i>Poids de la coque du cocon (g)</i>	0.291		0.417	
Cocoon shell ratio (%) / <i>Rapport cocon enveloppe (%)</i>	20:17		22.66	
Dead worm cocoon rate (%) / <i>Taux de cocons avec ver mort (%)</i>	2.00		3.2	
Cocoon number per kg (number) / <i>Nbre de cocons par kg</i>	694		544	
Cocoon yield per 50kg leaves (kg) / <i>Rendement en cocons pour 50 kg de feuilles (kg)</i>	3.340		3.345	
Amount of leaves per case of eggs (kg) / <i>Quantité de feuilles par boîte d'oeufs (kg)</i>	375	65.8	570	100
Cocoon crop per case of eggs (kg) / <i>Récolte de cocons par boîte d'oeufs (kg)</i>	25.05	65.8	38.13	100

Table V. The results of silk quality (spring, 1996)

Tableau V. Résultats concernant la qualité de la soie (printemps, 1996)

Varieties / Variétés	953 × 54A	Qingsong × Haoyue
Good cocoon rate (%) / <i>Taux de bons cocons (%)</i>	98	98
Cocoon filament length (m) / <i>Longueur du filament de cocon (m)</i>	1130	1344
Reclability (%) / <i>Dévidabilité (%)</i>	84	70
Length of non-broken cocoon filament (m) / <i>Longueur du filament de cocon sans rupture (m)</i>	950	940
Weight of cocoon filament (g) / <i>Poids du filament de cocon (g)</i>	0.2088	0.2747
Size (dtex) / <i>Titre (dtex)</i>	2.01	2.76
Neatness (point) / <i>Netteté (point)</i>	96	96
Raw silk rate of dried cocoon (%) / <i>Taux de soie grège du cocon sec (%)</i>	39.68	40.40
Cleanness (point) / <i>Propreté (point)</i>	98	98
Evenness / <i>Régularité</i>	V ₁ ⁴	V ₁ ⁶

Table IV shows that the cocoon yield per box (25 000) of 953 × 54A is 25.05 kg which is 65.8% of that of Qingsong × Haoyue (38.13 kg). But 953 × 54A consumes less mulberry leaves. The amount of leaves used per box eggs is 375kg that is only 65.8% of that of Qingsong × Haoyue (570 kg). So the cocoon yield per 50kg leaves of 953 × 54A equals to that of Qingsong × Haoyue. But 953 × 54A is more welcomed by farmers owing to the short duration of its instars, its high life ratio and easy rearing as well as for the time and labour saved.

Table V shows that the cocoon filament size of 953 × 54A is 2.01 dtex, which meets the requirement for fine size raw silk. Its cocoon filament length (1130 m) is shorter than that of the control race (1344 m) but its reelability and length of non-broken filament are higher and longer than the control race. The other results are similar to those of the control race. So it can be used to reel top-grade raw silk.

DISCUSSION

1. One trimolter variety, the Chinese race, 953, has been bred successfully in this study. It has advantages such as stabilised moltinism, fine filament size, strong robust larva physique and good economic characters. Further more, it possesses sex-limited marking. The cross combinations can produce raw silk of 5A-6A grade high quality and ultra-fine size 2.00-2.22 dtex. It is the ideal silkworm variety to produce ultra-fine size raw silk.

2. The trimolting gene M^3 is dominant over the tetramolting gene $+^m$ and the purification and fixation of dominant genes are not easy. M^3/M^3 is similar to $M^3/+^m$ in their phenotype. The tetramolting gene $+^m$ is preserved by the heterotype of $M^3/+^m$. On theory, in a mixed group, even if $+^m/+^m$ (tetramolter genotype) is completely eliminated in each generation, up to 100 generations, the genotype frequency is $R = 0.0001$ that means there is still one tetramolter in 10000 worms. So to speed up the purification of the M^3 gene, batch rearing was carried out as early as the 3rd instar in this study and the number of batches was gradually enlarged. Meanwhile, the heterozygote should be eliminated from the male parent by test crossing. The fact indicates such breeding technology has an effect on the purification of dominant genes. In the F5 generation homozygous batches appeared.

3. Both the 2nd and the 3rd instar stages are pertinent for eliminating tetramolters. The 2nd and the 3rd instar molting stages of tetramolters are shorter than those of trimolters. When tetramolters enter into the fourth molt, trimolters are still ingesting and at this time the trimolter bodies become brighter and bigger than tetramolters. Meanwhile to reduce both the rearing amount and cost, it is also the optimum time for batch selection.

REFERENCES

- HE SIMEI *et al.*. The breeding of the silkworm varieties 57A.57B × 24.46 and their hybrids for both spring and autumn rearing. *Sci. Seric.*, 1990, 16(1): 15-20.
HE YIYUAN The breeding of dominant trimolter SG, *Sericulture Science*, 1997, 23(1): 20-23.

LIGNAGE DU TRIMUANT DOMINANT 953 A MARQUAGE LIMITE AU SEXE

HE YIYUAN & HE SIMEI

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

*Pour améliorer à la fois le taux de trimuants et la productivité de la main d'oeuvre, une souche de trimuant dominant au voltinisme stabilisé mais aux caractères économiques indésirables et un tétramuant ordinaire aux caractères économiques supérieurs ont été utilisés comme parents dans cette étude, selon la génétique fondamentale du gène de la mue du ver à soie **Bombyx mori**. En conjuguant le croisement avec la sélection de pedigree et en associant les excellents gènes des parents, on a obtenu une lignée trimuante avec des caractères synthétiques excellents et un voltinisme stable pendant une courte période, appelée 953, qui croisée avec d'excellents tétramuants actuels produit une F1 qui peut être utilisée pour produire des cocons trimuants de taille correcte. Les caractéristiques en F1 du trimuant croisé avec un tétramuant sont comme suit : force et santé, élevage facile, voltinisme stable, taux de trimuants de 98%-100%, durée courte de tous les âges, titre du filament du cocon 2 à 2,22 dtex, longueur du filament du cocon de 1170 mètres, régularité de 95-98 points, ténacité de 3,62 à 3,71 cn/dtex. Toutes les caractéristiques ci-dessus répondent aux conditions requises pour la filature de soie de haute qualité. Cette étude propose non seulement une variété de ver à soie excellente et hautement efficace pour la production de soie fine en Chine mais permet également d'enrichir les ressources génétiques de la Chine.*

INTRODUCTION

Avec le développement des produits de soie variés et de haute qualité sur les marchés internationaux et l'ajustement de la production de filament de cocon en Chine, de nouvelles exigences pour l'élevage du ver à soie ont vu le jour comme par exemple des tissus de soie ultrafins nécessitant des races de vers à soie de titre fin. A présent, il n'existe pratiquement pas de variété de ver à soie fine en Chine. Le filament de cocon de titre faible est produit par l'induction de trimuants que l'on obtient en administrant de l'hormone antijuvenile (AJH) à des tétramuants. Bien que l'AJH peut induire des trimuants avec réussite et donner des cocons de titre fin, le taux d'induction de trimuants est restreint par certains facteurs tels que la technologie, la saison et la qualité de la feuille de mûrier et ainsi de suite, surtout à la campagne dans le cas de production à grande échelle. De plus, l'utilisation de AJH prend trop de temps et de main d'oeuvre. Aussi pour augmenter le taux de trimuants et la productivité, nous avons réalisé cette étude. Les F1 (trimuants) produits par le croisement de la race trimuante dominante élevée avec réussite dans cette étude et de la race tétramuante actuelle peuvent donner des cocons grèges de titre faible de haute qualité avec une grande efficacité.

MATERIELS ET METHODES

1. Souche parentale utilisée :

Parent femelle :

La variété « 57 C » aux bons caractères économiques est utilisée. 57 C est une variété utilisée à la fois pour l'élevage du printemps et de l'automne qui présente un marquage sexuel. Elle est élevée au *Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences* dans les années quatre vingt.

Parent mâle :

La race dominante trimuante SannianB au nombre de mues stabilisé est utilisée. SannianB est une variété améliorée, obtenue à partir du croisement de races chinoises avec des races européennes qui sont choisies parmi les ressources stockées. Bien qu'elle ait des défauts, tels que des caractères économiques inférieurs, une petite taille larvaire et un nombre inférieur d'oeufs produits, son nombre de mues est stable et le titre de son filament est fin. Elle appartient à la race chinoise (Tableau I).

2. Schéma de croisement (ou schéma de lignage) : (voir figure)

3. Conditions d'expérimentation :

Le génotype est la cause innée de l'expression du caractère. Mais, parce que de nombreux caractères économiques du ver à soie, *Bombyx mori*, sont contrôlés par des polygènes d'effet mineur, leurs expressions sont affectées par l'environnement. Dans le but de minimiser la variation due à l'environnement, tous les efforts ont été faits pour maintenir un environnement uniforme.

Température et humidité :

Une température de 27° C à 28° C et une humidité de 85 % à 90 % sont maintenues pour les jeunes vers à soie. Une température de 24 ° C à 25 ° C et une humidité de 75 % à 80 % sont maintenues pour les vers à soie plus âgés.

Au printemps, on doit faire attention, en plus de la sélection de la mue, à la qualité du filament de cocon à cause des bonnes conditions environnementales et à la haute qualité des feuilles de mûrier.

En été et en automne, on doit procéder à la sélection sur le ratio de vie, en plus du nombre de mues.

4. Période d'élevage et technologie d'élevage :

1. Au printemps 1993, les parents ont été élevés pour produire l'hybride 57C × SannianB. Au milieu de l'automne 1993, la F1 a été élevée en élevage mixte en lot. Tous les F1 étant des trimuants, on élimine les petits vers à soie faibles pendant l'élevage et 50 cocons de forme uniforme et de couleur blanche sont sélectionnés respectivement chez les femelles et les mâles, pour réaliser des successions de générations.

2. Au printemps 1994, la F2 a également été élevée en lots mixtes. En F2, le nombre de mues commence à se ségréger, on peut donc procéder à l'élimination stricte des tétramuants et des petits vers à soie. Les cocons individuels de forme régulière, de couleur blanche, et de taille moyenne sont préservés pour la génération suivante.

3. Au milieu de l'automne 1994, la F3 a été élevée en lots. Huit lots ont été élevés. Les tétramuants doivent être éliminés strictement. Les cocons individuels de forme régulière ont été sélectionnés à partir des lots à faible taux de tétramuants et à cocons de haute qualité pour la génération suivante. Entre-temps, les papillons mâles trimuants accouplés avec les papillons trimuants femelles, sont réaccouplés avec les papillons femelles tétramuantes pour un croisement test.

4. Au printemps 1995, la F4 a été élevée. Pour accélérer la purification des gènes dominants, en dix lots, les croisements test correspondants ont été élevés. Les bons lots sont sélectionnés et préservés selon les résultats des lots F4 et des lots de croisement test correspondants. Les individus sélectionnés à partir des lots retenus sont préservés pour la génération suivante. Entre-temps, les lots de croisement test sont préparés selon la manière F3.

5. A la mi-automne 1995, la F5 est élevée. Pour accélérer la purification, on augmente le nombre de lots d'élevage à 31. Les bons lots sont sélectionnés par croisement test. Les lots purifiés trouvés dans cette génération 57C × SannianB sont appelés 953. Les bons individus sont sélectionnés et préservés à partir des lots sélectionnés pour la génération suivante, tandis que les combinaisons de

croisement avec les tétramuants sont préparées pour identifier l'aptitude à la combinaison. La production expérimentale dans la campagne a été réalisée à ce moment là.

6. Jusqu'à présent, le travail d'élevage a été jusqu'à F8. Le nombre de mues est fixé et les caractères économiques sont assez bons. Les combinaisons de croisement initiales sont préparées.

7. La sélection sur le nombre de mues peut être réalisée au troisième âge. De nombreux lots doivent être entrepris pendant le recueil des larves nouvellement écloses. Cela permet d'atteindre les objectifs de sélection.

RESULTATS

1. Résultats du pedigree de 953 (Tableau II) :

2. Résultats d'essais des combinaisons croisées :

Les expérimentations d'essai ont été réalisées à la mi-automne 1995 et au printemps 1996. Les combinaisons croisées 953 × 54A et 953 × 871 ont été mises en essais. Le tableau III présente les résultats d'expérimentation.

Toutes les combinaisons de croisement ci-dessus ont les caractéristiques suivantes : titre de filament de cocon fin, courte durée de tous les âges, taux de survie élevée et bonne qualité, durée de tous les âges 21 à 22 jours, ratio larvo-pupal de 95 à 98 %, poids total du cocon 1,4 à 1,6 g, taux de coque soyeuse 21 à 22 %, longueur du filament de cocon 1100 à 1200 m, dévidabilité 82 % à 88 %, longueur du filament de cocon sans rupture 900 à 1000 m, titre de 2,02 à 2,39 dtex et netteté de 95 à 98 points. Toutes ces caractéristiques peuvent répondre aux conditions requises pour les variétés de titre ultra fin.

3. Résultats d'expérimentation sur le terrain :

Les expérimentations d'élevage sur le terrain ont été réalisées à la mi-automne 1995 dans la ville de Qingzhou, dans la province de Shandong. Elles ont été réalisées à nouveau au printemps 1996 respectivement dans la ville de Qingzhou, dans la province de Shangdong et dans le comté de Jingshan, dans la ville de Shanghai.

Le tableau IV montre que le rendement en cocons par boîte (25 000) de 953 × 54A est de 25,05 Kg soit 65,8 % de celui de Qingsong × Haoyue (38,13 kg). Mais 953 × 54A consomme moins de feuilles de mûrier. La quantité de feuilles utilisées par boîte d'oeufs est de 375 kg, soit seulement 65,8 % de celle de Aingsong × Haoyue (570 kg). Mais 953 × 54A est mieux accueilli par les fermiers grâce à la courte durée de ses âges, son ratio de vie élevé et son élevage facile tout comme pour le temps et la main d'oeuvre qu'il permet de gagner.

Le tableau V montre que le titre du filament du cocon de 953 × 54A est de 2,01 dtex, ce qui répond à la condition requise pour la soie grège fine. La longueur du filament du cocon (1130 m) est plus courte que celle de la race témoin (1344 m) mais la dévidabilité et la longueur du filament sans rupture sont plus élevées et plus longues que celles de la race témoin. Les autres résultats sont similaires à ceux de la race témoin. Il peut être ainsi utilisé pour filer de la soie grège de haute qualité.

DISCUSSION

1. Une variété trimuante, la race Chinoise, 953, a été élevée avec réussite dans cette étude. Elle a des avantages : nombre de mues stabilisé, titre de filament fin, larve forte et robuste et de bons caractères économiques. De plus, elle possède un marquage sexuel. Les combinaisons de croisement peuvent produire de la soie grège de haute qualité de grade 5A-6A et de titre ultrafin de 2 à 2,22 dtex. C'est la variété de ver à soie idéale pour produire une soie grège de titre ultra fin.

2. Le gène trimuant M^3 est dominant par rapport au gène tétramuant $+^m$ et la purification et la fixation des gènes dominants ne sont pas faciles. M^3/M^3 est similaire à $M^3/+^m$ dans son phénotype. Le gène tétramuant $+^m$ est conservé dans l'hétérotype $M^3/+^m$. En théorie, dans un groupe mixte, même

si $+^m/+^m$ (génotype tétramuant) est complètement éliminé à chaque génération, jusqu'à 100 générations, la fréquence du génotype est $R = 0,0001$, ce qui signifie qu'il y a toujours un tétramuant dans 10 000 vers. Ainsi, pour accélérer la purification du gène M^3 , l'élevage en lot est réalisé dès le 3ème âge dans cette étude et le nombre de lots est progressivement augmenté. Entre-temps, l'hétérozygote doit être éliminé du parent mâle par croisement test. Une telle technologie d'élevage a un effet sur la purification des gènes dominants. Dans la génération F5, des lots homozygotes apparaissent.

3. Les 2ème et 3ème âges sont tous les deux des stades pertinents pour éliminer les tétramuants. Les étapes de mue des 2ème et 3ème âges des tétramuants sont plus courtes que celles des trimuants. Quand les tétramuants entrent dans la quatrième mue, les trimuants sont toujours en train d'ingérer et à ce moment les corps trimuants deviennent plus clairs et plus gros que ceux des tétramuants. De plus, pour réduire à la fois la quantité et le coût d'élevage, c'est aussi le moment optimum pour la sélection du lot.

GENETIC CONTROL OF NONSPECIFIC ESTERASES IN MULBERRY SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.) SILK GLANDS DURING ONTOGENESIS

TEODORA STOIKOVA¹, PETAR POPOV¹, DIMITAR GREKOV², MIHAIL
PANAYOTOV³

1. Plovdiv University 'P. Hilendarski', Department of General Biology, Section of Genetics, 4000 Plovdiv, Bulgaria.
2. Agricultural University, Department of Animal Husbandry, Section of Sericulture, 4000 Plovdiv, Bulgaria.
3. Thracian University, Faculty of Agriculture, Department of Special Branches, Section of Sericulture, 6000 Stara Zagora, Bulgaria

*A study was made on the esterase spectra of silk glands in four mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.) breeds developed in Bulgaria. Polyacrylamide-gel-electrophoresis was used according to the 1st Maurer system. The effect of nine esterase loci with specific expression was determined at different stages of the individual silkworm development: from the 2nd instar to the period of spinning. Polymorphism with the presence of a 'null' allele was established for one of them.*

Keywords: *Bombyx mori* L., esterases, polymorphism.

INTRODUCTION

The problem of protein and enzyme polymorphism was widely discussed in relation to the comparative biochemistry, ecology, phylogeny, genetics and breeding of the silkworm, *B. mori* L. (Sankina *et al.*, 1974, 1975; Konicheva *et al.*, 1975; Eguchi *et al.*, 1975). Some authors used esterases as genetic markers for studying the enzyme polymorphism in different insect species (Ogita, 1965; Narang *et al.*, 1971; Garstide, 1980; Ivanova, 1991; Ivanova *et al.*, 1994, 1995).

The esterase spectra of different silkworm (*B. mori* L.) tissues and organs were studied in series of investigations (Kai *et al.*, 1973; Filippovich *et al.*, 1974, 1977; Nassirimaev *et al.*, 1977; Krishnamurthy *et al.*, 1984). The authors gave different genetic explanations to the results obtained (Eguchi *et al.*, 1965; Egorova *et al.*, 1985; Shabalina, 1990; He, 1995). In many of them no explanations were suggested (Kai *et al.*, 1972; Minima *et al.*, 1974; Konicheva *et al.*, 1977, 1979; Egorova *et al.*, 1977, 1979; Vassileva *et al.*, 1979; Eremina, 1985).

The studies on the esterase spectrum of silkworm glands are rather poor (Yoshitake *et al.*, 1966; Eguchi *et al.*, 1967; Vatanabe *et al.*, 1967; Yoshitake - by Azivov, 1989).

We found no information in the published literature concerning the breeds developed in Bulgaria. All this decided us to carry out the present study.

MATERIALS AND METHODS

Studies were made on silk glands from 200 individuals of four silkworm breeds developed in Bulgaria with the following signature: P14, P15, 19 and 20. Individuals of different families were selected. The esterase spectrum of the silk glands was analysed at different stages of the ontogenesis,

as follows: 2nd, 3rd, 4th, 5th instar and spinning larvae. All the samples compared were taken from separate individuals (individual samples).

Silk glands were isolated by dissection, washed in distilled water and crushed with quartz sand in 0.8 M trisphosphate buffer (pH = 6.7). Extracts were left for 18 hours at 40° C and centrifuged at 5000 rpm for 45 min.

Electrophoretic separation was conducted in a 7.5% polyacrylamide gel according to 1st Maurer's system (1971), on vertical plates and electric current intensity of 1.5 mA/cm for 2 hours. A 3.3% polyacrylamide concentrating gel with pH = 6.7 and 0.05 M tris - 0.2M glycine electrode buffer with pH = 8.3 were used. The nonspecific esterases were manifested in a 1M phosphate buffer with pH = 7.0 α - and β -naphthylacetates were used as substrates and Fast blue BB salt in the capacity of a dye. The stained plates were fixed in a 14% trichloroacetic acid for 2 hours and stored in a 7% acetic acid.

RESULTS

The results obtained showed some differences in the number and intensity of the esterase fractions in the silk gland spectrum at the different stages of the individual development of the tested races.

In the silk gland extracts from individuals of 2nd instar to spinning, a total of nine esterase fractions was established. According to their decreasing anode electrophoretic mobility they were marked as: Est1, Est2, Est3, Est4, Est5, Est6, Est7, Est8, and Est9 (Fig. 1).

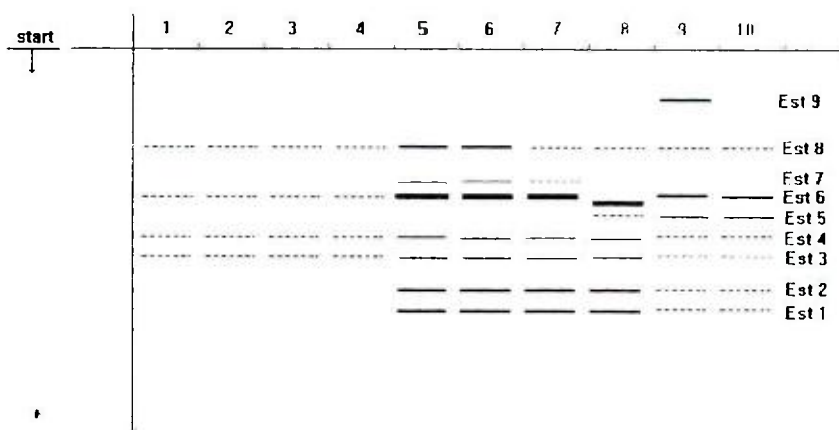


Fig. 1. Electrophoretic spectrum of nonspecific esterase in silk gland extracts:

Fig. 1. Spectre électrophorétique des estérases non-spécifiques dans les extraits de la glande séricigène :

1,2 - 2nd instar / 2ème âge.

3,4 - 3rd instar / 3ème âge.

5,6 - 4th instar / 4ème âge.

7,8 - 5th instar / 5ème âge.

9,10 - S-period / période filage.

In the individuals of 2nd and 3rd larval age, four very slight bands were visualised, corresponding to the esterase activities: Est3, Est4, Est6, and Est8 (Fig. 1), which were intensive in the 4th instar. In the same larval age (4th) Est1, Est2 and Est7 appeared, too. Most intensive in that period was Est6 (Fig. 2).

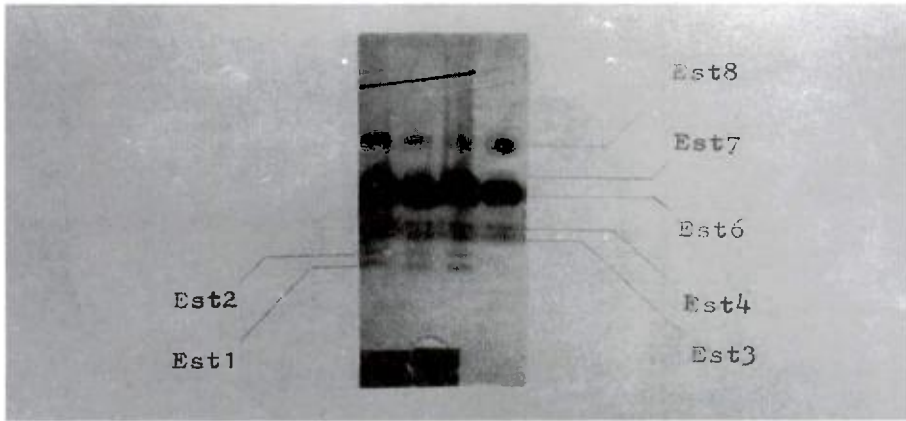


Fig. 2. Electrophoretic spectrum of nonspecific esterase in silk gland extracts: 4th instar.

Fig. 2. Spectre électrophorétique des esterase non spécifiques dans des extraits de la glande séricigène: 4ème âge.

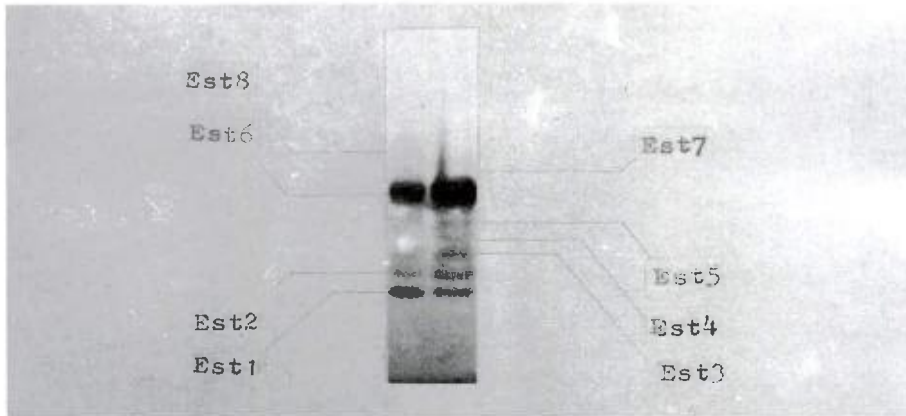


Fig. 3. . Electrophoretic spectrum of nonspecific esterase in silk gland extracts: 5th instar.

Fig. 3. Spectre électrophorétique de l'esterase non spécifique dans des extraits de la glande séricigène: 5ème âge.

In the 5th age of the larval development, changes in some esterase fraction intensity were established, i.e.: Est7 proved to be very weak in the first days of the 5th instar and disappeared at the end of this period. The Est8 intensity decreased, too. The appearance of Est5 was registered in the 5th instar period (Fig. 3).

In the silk glands of spinning larvae, a sharp decrease in the intensities of Est1, Est2, Est3, Est4, Est6, and Est8 was observed. Est5 was very intensive in that period.

A slowly mobile fraction Est9 was observed in some individuals from P14, P15, 19 (Fig. 1).

Beside that, slight differences in the Est6 mobility were detected in the spectra of some of the tested 5th instar larvae.

No specific interbreed and sexual differences in the silk gland esterase spectra were established.

DISCUSSION

Yoshitake *et al.*, (1966) showed on agarose gel the presence of three esterase types: A, B, and O. The authors suggested that the latter resulted from a three allelic codominant control. In later investigations, Yoshitake established four esterase fractions, suggesting a four allelic codominant control (by Azivov, 1989).

The results obtained by us in a polyacrylamide gel showed 9 fractions, one of which demonstrated polymorphism with a 'null' allele (Est 9), and the rest of them were monomorphic. The frequency of 'null' homozygotes in all tested breeds was very high. This allowed our assumption that this 'null' allele corresponded to that established by Yoshitake *et al.*, (1966) for the Indian silkworm. According to Eguchi *et al.*, (1965) a 'null' allele was found in the haemolymph of 20% of Japanese, Chinese and European races. Table I shows the 'null' allele frequency and that of genotype combinations on it in the breeds studied by us.

Table I. Allel and genotype frequencies of Est9 locus in P14, P15, 19 and 20 breeds.

Tableau I. Fréquences de l'allèle et du génotype du locus d'Est9 chez les lignées P14, P15, 19 et 20.

Breed / Lignée	Allel frequencies Fréquences de l'allèle		Genotype frequencies Fréquences du génotype		
	Est9A	Est90	Est9 A/A	Est9 A/O	Est9 O/O
P14	0,17	0,83	0,03	0,28	0,69
P15	0,09	0,91	0,01	0,16	0,83
19	0,18	0,82	0,03	0,3	0,67
20	0,04	0,96	0,0016	0,077	0,92

We observed slight differences in the Est6 mobility in the 5th instar of some of the individuals from the four breeds. This could demonstrate a two allelic control of that fraction. The absence of heterozygotes on one hand, and the slight mobility differences on the other, allowed our suggestion that this is the result of post-transcription modifications.

Our data cannot be explained by the concept of the single locus control of the nonspecific esterases in the silk glands of the mulberry silkworm *B. mori* L., suggested by the above-cited authors. We assume that the esterase spectrum, established in the present study, results from the control of nine separate loci. Our idea for a polylocus esterase determination is confirmed by the stage specificity in the different fractions' manifestation, established in the present study, as well. Moreover, a similar stage specificity was registered by some authors in terms of other tissues (Eguchi *et al.*, 1965; Kai *et al.*, 1972; Minina *et al.*, 1974; Eguchi *et al.*, 1975; Krishnamurthy, 1984; Xu *et al.*, 1987).

The highest esterase activity is registered in the last two larval ages. The esterase fraction intensity in the period of spinning sharply decreases, correlating with the start of silk gland involution.

According to Eguchi *et al.*, (1965) a direct or indirect hormonal control is exercised on the esterase activity. Without being explicit, the results obtained by us suggest a similar conception.

REFERENCES

- AZIZOV T. (1989) Upon the phylogenesis and differentiation in silkworm races. *Shelk*, 2, 10-12 (Russian)
- DOBROVOLOV I. (1973) Microelectrophoresis in starch gel. *Proceedings of NIORS, Varna*, XII: 157-162.
- EGOROVA T., NALETOVA S. E., LEZHENKO B., KENZHAEV U., NASSIRILAEV (1979) Esterases as markers in the determination of parent couples for crossing in silkworm breeding. *Shelk*, 6, 8-9 (Russian).
- EGOROVA T., NALETOVA E., NASSIRILAEV U. (1985) Polymorphic system of silkworm haemolymph esterase as a criterion in the development of a program for crossing parent couples. *Insect Biochemistry*, M., 54-62 (Russian).
- EGOROVA T., VASSILEVA L., SANKINA T., NASSIRILAEV U., FILIPPOVICH J. (1977) Studies on the enzymatic activities of soluble proteins in tissues of different silkworm (*B. mori* L.) races. *Journal of General Biology*, 3, 447-463 (Russian).
- EGUCHI M., YOSHITAKE M., KAI H. (1965) Type and inheritance of blood esterase in the silkworm, *Bombyx mori* L. - *Jap. J. Genetics*, 40(1) 15-19.
- EGUCHI M., YOSHITAKE N. (1967) Interrelation of non-specific esterase zymograms among various tissues in the silkworm, *B. mori* L. - *Japan J. Seric. Sci.*, 36(3), 193-198.
- EGUCHI M., IWAMOTO (1975) Changes in protease, esterase, and phosphatases in the alimentary canal of the silkworm during metamorphosis - *Insect Biochemistry*, 5, 495-507.
- EREMINA O. (1985) Studies on the effect of permethrin upon the esterase spectrum of some insects. *Insect Biochemistry*, 83-86 (Russian).
- FILIPPOVICH J., T. EGOROVA, ZJABREVA E., S. KLUNOVA, N. ZHUKOVA, KONICHEVA A., KUTUZOVA N., OSTAPENKO V. SANKINA T. (1974) Molecular principles of silkworm heterosis. - 3rd World Congress of biochemistry Scientific announcement. Vol. 1, Riga, 72.
- FILIPPOVICH J., T. EGOROVA, U. NASSIRILAEV, I. GRJABINA (1977) On the perspectives of using biochemical markers in silkworm genetics and breeding. *Proceedings of the Middle-Asiatic Research Institute in Sericulture*, 11, 130-145 (Russian).
- GARTSIDE D. (1980) Similar allozyme polymorphism in honey bees (*Apis mellifera*) from different continents. *Experientia* 36(6), 649-650.
- HE J. (1995) Studies on the inheritance of deletion type of the blood esterase isoenzymes in the silkworm, *Bombyx mori* L. - *Sericologia*, 35(1) 17-24.
- IVANOVA E. (1991) Studies on the electrophoretic spectra of the nonspecific esterases during the ontogenic course of *Apis mellifera*. - *Scientific works of the P. Hilendarski University of Plovdiv*, 29/6/, 248-251 (Bulgarian).
- IVANOVA E., P. POPOV (1994) Electrophoretic patterns of the esterase isozymes of honey bees *Apis mellifera* L. (*Hymenoptera: Apidae*). - 10th Balkan Biochemical Biophysical Days, Varna, J. 10, p. 402 - poster summary.
- IVANOVA E., P. POPOV (1995) Electrophoretic studies of nonspecific esterases during the ontogenetic course of domestic bee *Apis mellifera* L. (*Hymenoptera: Apidae*) in Bulgaria. *Genetics and breeding* (in press).
- KAI H., HASEGAVA (1973) An esterase in relation to yolk cell analysis at diapause termination in the silkworm, *B. mori* - *J. Insect Physiol.*, 19(4), 799-810.
- KAI H., K. HASEGAVA (1972) Electrophoretic protein patterns and esterase zymograms in ovaries and mature eggs of *B. mori* in relation to diapause- *J. Insect Physiol.*, 18, 133-142.
- KONICHEVA A., EGOROVA T., FILIPPOVICH J. (1977) Studies on the esterase activity in haemolymph of different silkworm races - *Proceedings of the Moscow State Pedagogical Institute*, 19, 36-39 (Russian).

- KONICHEVA A., EGOROVA T., FILIPPOVICH J. (1979) A complex assessment of silkworm races according to the soluble proteins and some enzymes - Insect Biochemistry, 21, 68-73 (Russian).
- KONICHEVA A., EGOROVA T., FILIPPOVICH J. (1975) Studies on some haemolymph enzymes in different silkworm races. Proceedings of the Moscow State Pedagogical Institute, 18, 157-171 (Russian).
- KRISHNAMURTHY N., RAMESH S., RAJASECARASETTY M. (1984) Developmental profiles in the isozymes of α and β - esterases in the embryogenesis of the silkworm *Bombyx mori*. - Curr. Sci. (India), 53(5), 281-284.
- MAURER G. (1971) Disc-electrophoresis. 244, Mir, Moscow.
- MININA N., FILIPPOVICH J. (1974) Enzymatic forms in the tissues of initial silkworm races and the hybrids obtained there from. Proceedings of the Moscow State Pedagogical Institute, 17, 5-31 (Russian)
- NARANG S., KITZMILER J. (1971) Esterase polymorphism in a natural population of *Anopheles punctipennis*. I. Genetic analysis of the esterase A-B system. J. Hered., 62(5), 259-265.
- NASSIRILAEV U., EGOROVA T., SANKINA T., MIRZAEVA G. (1977) Studies on the enzymatic activity of the soluble proteins of wintering eggs and the haemolymph of caterpillars. Shelk, 2/73/, 8-10 (Russian).
- OGITA Z., KASAI T. (1965) Genetico-biochemical analysis of specific esterases in *Musca domestica*. Japan J. Genetics, 40(3), 173-179.
- SANKINA T., EGOROVA E., FILIPPOVICH J. (1974) Studies on soluble proteins and their enzymatic activities in wintering eggs of different silkworm (*B. mori* L.) races - Proceedings of the Moscow State Pedagogical Institute, 17, 42-55 (Russian)
- SANKINA T., EGOROVA T., FILIPPOVICH J. (1975) Upon the possibilities of heterosis forecasting by the mobility of some enzymatic forms in silkworm eggs. Proceedings of the Higher School of Biological Sciences. 3, 89-96 (Russian).
- SHABALINA A. (1990) Esterase genetic polymorphism in haemolymph of larvae *Bombyx mori* L. Comptes rendus de l'académie bulgare des Sciences, 43(9), 105-108.
- VASSILEVA L., EGOROVA T., NALETOVA E. (1979) Substrate and inhibitor analysis of silkworm haemolymph esterases. Insect biochemistry, 21, 43-52 (Russian)
- VATANABE H., R. KOBARA (1967) Studies on the resistance of *B. mori* to insecticides. IV. The effect of simition on the esterase activity in the haemolymph and some other silkworm tissues. Japan J. Seric. Sci., 36(3), 183-192 (in Japanese).
- VATANABE H., R. KOBARA (1967) Studies on the silkworm (*Bombyx mori* L.) resistance to insecticides. III. Relation between the caterpillar sensitivity to simition and the esterase activity. - Japan J Appl. Entomol. and Zool., 11(1), 9-14 (in Japanese).
- XU J., H. SONG (1987) A study on esterase isozyme of silkworm (*Bombyx mori* L.) embryo. Sericologia 27(2), 309-314.
- YOSHITAKE N., EGUCHI M., TAUCHIYA Y. (1966) Distribution of different types of silk-gland esterases in different silkworm races. Japan J. Seric. Sci., 35(5), 331-335.

CONTROLE GENETIQUE DES ESTERASES NON SPECIFIQUES DANS LES GLANDES SERICIGENES DU VER A SOIE DU MURIER (*BOMBYX MORI* L.) PENDANT L'ONTOGENESE

TEODORA STOIKOVA¹, PETAR POPOV¹, DIMITAR GREKOV², MIHAIL PANAYOTOV³

1. Plovdiv University « P. Hilendarski », Department of General Biology, Section of Genetics, 4000 Plovdiv, Bulgarie.
2. Agricultural University, Department of Animal Husbandry, Section of Sericulture, 4000 Plovdiv, Bulgarie.
3. Thracian University, Faculty of Agriculture, Department of Special Branches, Section of Sericulture, 6000 Stara Zagora, Bulgarie.

*Une étude a été réalisée sur le spectre des estérases des glandes séricigènes chez quatre lignées de ver à soie du mûrier (*Bombyx mori* L.) mises au point en Bulgarie. Une électrophorèse sur gel polyacrylamide a été utilisée selon le premier système de Maurer. L'effet des loci de neuf estérases à expression spécifique a été déterminé à différents stades du développement individuel du ver à soie, du deuxième âge jusqu'à la période de filage. On a confirmé le polymorphisme avec la présence d'un allèle nul pour l'un d'entre eux.*

INTRODUCTION

Le problème du polymorphisme des protéines et des enzymes a été largement discuté en rapport avec la biochimie comparative, avec l'écologie, la phylogénie, la génétique et le breeding du ver à soie, *B. mori* L. (Sankina et coll., 1974, 1975 ; Konicheva et coll., 1975 ; Eguchi et coll., 1975). Certains auteurs ont utilisé les estérases comme marqueurs génétiques pour étudier le polymorphisme de l'enzyme chez différentes espèces d'insectes (Ogita, 1965 ; Narang et coll., 1971 ; Garstisde, 1980 ; Ivanova, 1991 ; Ivanova et coll., 1994, 1995).

Les spectres des estérases de différents tissus et organes du ver à soie (*B. mori* L.) ont été étudiés dans une série de recherches (Kai et coll., 1973 ; Filippovich et coll., 1974 ; 1977 ; Nassirimaev et coll., 1977 ; Krishnamurthy et coll., 1984). Les auteurs ont donné différentes explications génétiques aux résultats obtenus (Eguchi et coll., 1965 ; Egorova et coll., 1985 ; Shabalina, 1990 ; He, 1995). Beaucoup n'ont pas suggéré d'explication (Kai et coll., 1972 ; Minima et coll., 1974 ; Konicheva et coll., 1977, 1979 ; Egorova et coll., 1977, 1979 ; Vassileva et coll., 1979 ; Eremina, 1985).

Les études sur le spectre des estérases des glandes séricigènes du ver à soie sont plutôt rares (Yoshitake et coll., 1966 ; Eguchi et coll., 1967 ; Vatanabe et coll., 1967 ; Yoshitake - par Azizov, 1989).

Nous n'avons trouvé aucune information dans la littérature publiée sur les races mises au point en Bulgarie.

Cela nous a poussé à entreprendre cette étude.

MATERIELS ET METHODES

Des études ont été faites sur les glandes séricigènes à partir de 200 individus de quatre lignées de vers à soie mises au point en Bulgarie aux noms suivants : P14, P15, 19 et 20. Les individus de différentes familles sont sélectionnés. Le spectre des estérases des glandes séricigènes est analysé à différents stades de l'ontogenèse, comme suit : larves du 2ème, 3ème, 4ème et du 5ème âge et larves en filage. Tous les échantillons comparés sont pris à partir d'individus séparés (échantillons individuels).

Les glandes séricigènes sont isolées en procédant à une dissection, lavées dans de l'eau distillée et broyées avec du sable quartz dans un tampon trisphosphate à 0,8 M (pH = 6,7). Des extraits sont laissés pendant 18 heures à 4° C et centrifugés à 5000 tpm pendant 45 min.

La séparation électrophorétique est réalisée sur un gel de polyacrylamide à 7,5 % selon le premier système de Maurer (1971), sur des plaques verticales et sous une intensité de courant électrique de 1,5 mA/cm pendant 2 heures. Un gel de concentration en polyacrylamide de 3,3 % avec un pH = 6,7 et un tampon électrodes de 0,05 M tris - 0,2 M glycine avec un pH de 8,3 sont utilisés. Les estérases non spécifiques sont révélées dans un tampon phosphate à 1M avec un pH = 7,0. Des naphthylacétates - α et β sont utilisés comme substrats et du Bleu BB comme colorant. Les plaques colorées sont fixées dans de l'acide trichloroacétique à 14 % pendant deux heures et stockées dans de l'acide acétique à 7 %.

RESULTATS

Les résultats obtenus montrent des différences de nombre et d'intensité des bandes de la glande séricigène à différents stades du développement des races testées.

Dans les extraits de la glande séricigène des individus analysés à partir du deuxième âge jusqu'au filage, un total de neuf fractions d'estérases est obtenu. En fonction de la baisse de leur mobilité électrophorétique vers l'anode, elles sont identifiées comme Est1, Est2, Est3, Est4, Est5, Est6, Est7, Est8, et Est9 (Fig. 1).

Chez les individus du 2ème et 3ème âge larvaires, quatre bandes très fines sont visualisées, correspondant aux activités des estérases Est3, Est4, Est6 et Est8 (Fig. 1), qui sont intenses au 4ème âge. Au même âge larvaire (4ème) Est1, Est2 et Est7 apparaissent aussi. La plus marquée à cette période est Est6 (Fig. 2).

Au 5ème âge du développement larvaire, des changements d'intensités de certaines fractions estérases sont observés, c'est à dire que Est7 s'avère très faible aux premiers jours du 5ème âge et disparaît à la fin de cette période. L'intensité de Est8 baisse aussi. L'apparition de Est5 est enregistrée à la période du 5ème âge (Fig. 3).

Dans les glandes séricigènes des larves qui filent, on observe une baisse brutale des intensités de Est1, Est2, Est3, Est4, Est6 et Est8. Est5 est très intense à cette période.

Une fraction peu mobile Est9 est observée chez certains individus de P14, P15, 19 (Fig. 1).

En plus de cela, de légères différences de la mobilité d'Est6 sont détectées dans le spectre de certaines larves du 5ème âge.

Aucune différence spécifique entre les lignées et entre les sexes dans le spectre des estérases de la glande séricigène n'a été établie.

DISCUSSION

Yoshitake et coll., (1966) ont montré sur un gel agarose la présence de trois types d'estérases : A, B et O. Les auteurs ont suggéré que le dernier provient d'un contrôle codominant à trois allèles. Dans des recherches ultérieures, Yoshitake a déterminé quatre fractions d'estérases, ce qui suggère un contrôle codominant à quatre allèles (par Azizov, 1989).

Les résultats que nous avons obtenus sur un gel de polyacrylamide montrent 9 fractions, l'une d'elles montre un polymorphisme avec un allèle « nul » (Est 9) et les autres sont monomorphiques. La fréquence des homozygotes « nuls » dans toutes les lignées testées est très élevée. Cela nous a permis d'assumer que cet allèle « nul » correspond à celui établi par Yoshitake et coll., (1966) pour le ver à soie indien. Selon Eguchi et coll., (1965) on trouve un allèle « nul » dans 20 % des races japonaises, chinoises et européennes. Le tableau I montre la fréquence de l'allèle « nul » et celle des combinaisons de génotypes que l'on trouve chez les lignées que nous avons étudiées.

Nous avons observé de légères différences de la mobilité de Est6 pendant le 5ème âge chez certains individus des quatre lignées. Cela pourrait prouver un contrôle à deux allèles de cette fraction. L'absence d'hétérozygotes d'une part et les légères différences de mobilité d'autre part, nous ont permis de suggérer que ceci est le résultat de modifications post-transcriptionnelles.

Nos données ne peuvent pas être expliquées par le concept de contrôle de locus unique des estérases non spécifiques dans les glandes séricigènes du ver à soie du mûrier *B. mori* L., comme l'ont suggéré les auteurs cités plus haut. Nous supposons que le spectre des estérases, établi dans cette étude, dérive du contrôle de neuf loci séparés. Notre idée de détermination de l'estérase à polylocus est confirmée par la spécificité du stade dans la manifestation des différentes fractions, que l'on a aussi établi dans cette étude. De plus, une spécificité de stade similaire a été enregistrée par certains auteurs pour d'autres tissus (Eguchi et coll., 1965 ; Kai et coll., 1972 ; Minima et coll., 1974 ; Eguchi et coll., 1975 ; Krishnamurthy, 1984 ; Xu et coll., 1987).

L'activité estérase la plus élevée est enregistrée pendant les deux derniers âges larvaires. L'intensité de la fraction estérase pendant la période de filage baisse brutalement, ce qui correspond avec le commencement de l'involution de la glande séricigène.

Selon Eguchi et coll., (1965) un contrôle hormonal direct ou indirect est exercé sur l'activité de l'estérase. Sans être explicites, les résultats que nous avons obtenus suggèrent une conception similaire.

EFFECT OF CONSTANT TEMPERATURES AND PHOTOPERIODS ON THE ADULT LONGEVITY AND PROGENY PRODUCTION IN GREGARIOUS PARASITOIDS OF THE UZI FLY, *EXORISTA BOMBYCIS* (LOUIS)

M. R. NIRMALA & G. VEERANNA

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

The influence of constant temperatures and photoperiods on the longevity and progeny production of Trichopria sp., Exoristobia philippinensis Ashmead and Spalangia endius Walker were investigated. The adult longevity decreased with increase of constant temperatures from 25° C to 40° C in all the three parasitoids. Neither sex emerged as adults at 35° C in Trichopria sp., and S. endius Walker. E. philippinensis Ashmead did not produce adults at 40° C. A female oriented sex-ratio was observed at various constant temperatures for E. philippinensis and S. endius. In Trichopria sp., the sex-ratio was almost equal at 25° C and was female oriented at 30° C. A slight variation in longevity and a considerable decrease in progeny production of these parasitoids was observed under 24/0, 16/8, 8/16 and 0/24 light/dark conditions. A female oriented sex-ratio was observed in all the different photophase and scotophase conditions for Trichopria sp., E. philippinensis and S. endius.

Keywords: *Exorista bombycis* (Louis), *Trichopria* sp., *E. philippinensis* Ashmead, *S. endius* Walker, temperature, photoperiod, longevity, fecundity, sex-ratio.

INTRODUCTION

Various developmental processes in insects are influenced by physical factors such as temperature and photoperiod (Beck, 1980, 1983 b; Saunders, 1982; Denlinger, 1985; Ratte, 1985). Progeny production and adult longevity are two of the major factors influencing the abundance of an insect and its population dynamics. Both have been studied in relation to temperature for many species of insects (Tingle and Copland, 1988; Andrewartha and Birch, 1954; Syme 1975, 1977; Harrison *et al.*, 1985). Several workers have reported that fluctuating temperatures have adverse effects on development of insects (Hagstrum and Hagstrum, 1970; Hagstrum and Leach, 1973; Beck, 1983a).

The Indian uzifly *Exorista bombycis* (Louis), an endoparasitoid of silkworm *Bombyx mori* L. was introduced into a prosperous sericultural tract of South India (Karnataka) from West Bengal of North-eastern India during 1980. Due to continuous availability of host and conducive atmosphere in this region throughout the year, *E. bombycis* established itself as a serious pest of silkworm. Negligence and delay in adopting control measures by the sericulturists has resulted in rapid multiplication and spread of this pest to all sericulture practising areas of South India. At present, the extent of damage caused by this fly to the sericulture industry is of 12-15% (Rao *et al.*, 1993). Several larval/pupal parasitoids of uzifly *E. bombycis* have been reported (Pradip Kumar *et al.*, 1986, 1988; Veeranna *et al.*, 1987a, b; Veeranna and Jyothi, 1988, 1994; Veeranna and Nirmala, 1992), which clearly showed that *E. bombycis* has a natural enemy complex. The parasitoids of uzifly namely

Trichopria sp. (Diapriidae), *E. philippinensis* (Encyrtidae) and *S. endius* (Pteromalidae) were selected for the present study as they could develop very successfully on pupae of *E. bombycis*.

Since there is no information on the influence of temperature and photoperiod on *Trichopria* sp., *E. philippinensis* and *S. endius*, the present study unravels the same. *Trichopria* sp., and *E. philippinensis* are gregarious endoparasitoids, whereas *S. endius* is gregarious ectoparasitoid, they are capable of rapid increase in population size under favourable conditions and can be effectively manipulated to be used in integrated pest management (IPM) of uzi fly *E. bombycis*. The knowledge for optimum conditions for lifespan, oviposition and egg development will greatly enhance the laboratory rearing process of parasitoids (Tisdale and Wagner, 1990). The present investigation may help to know the optimal requirements of temperature and photoperiod for realisation of maximum fecundity and adult lifespan for mass rearing and field release to control *E. bombycis* (Louis), which is a serious pest of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* L.

MATERIALS AND METHODS

Existing laboratory cultures of *Trichopria* sp., *E. philippinensis* and *S. endius* were used in the present study.

Ten female and male adults of these parasitoids were placed in 500 ml capacity glass beakers in three replications and were provided with 40 healthy one to three day old uzi fly puparia for parasitization. The uzi fly puparia were replaced by fresh ones every 24 hours, and the experimental adults were fed on honey. The infested uzi fly puparia were maintained individually in test tubes for emergence of adults. To determine the temperature tolerance and the temperatures at which longevity and fecundity are maximal, the longevity of adults, their fecundity and the developmental time of the off-springs of these parasitoids were recorded at different temperatures of 25°, 30°, 35° and 40° C and relative humidity of 65 percent. The effect of light (300 lux) and darkness were studied at 24/0, 16/8, 12/12, 8/16 and 0/24 light/dark periods at a constant temperature of 25° C and a relative humidity of 65 percent. Control batches were run simultaneously under normal (light/dark) laboratory conditions.

The daily mortality of adults under various experimental conditions with regard to temperature and light were recorded. The emergence of progeny from infested host puparia of experimental and control batches were also recorded. Total emergence of adults was considered as total realised fecundity. The data were analysed statistically by the 'ANOVA' test (Spiegel, 1981).

RESULTS AND DISCUSSION

In *Trichopria* sp., and *S. endius*, the time needed for the development from egg to adult was reduced as the constant temperature increased from 25° to 30°C, whereas it was from 25° to 35° C in *E. philippinensis*. No observations were recorded at 35° C in *Trichopria* sp., and *S. endius*, as the adults did not survive even for a single day. According to Rueda and Axtell (1985), the developmental period for *S. endius* ranged from 18 to 28 days at constant temperature of 26.7° C. Higher temperatures favoured faster development of immature stages and thus the overall developmental period was reduced at higher temperature regimes (25° to 35° C) as in *Anagyrus dactylopii* (How) (Mani and Krishnamoorthy, 1992). In the present study the males of all the three species developed faster than the females at all the constant temperature regimes under investigation, and thus the adult males emerged earlier. This is in accordance with the reports on other hymenopterans such as *Anagyrus pseudococci* (Avidov *et al.*, 1967), *Clausenia josefi* Ishii (Berlinger, 1973), *Oenocyrtus* sp., (Tracy and Nechols, 1987), *Trichogramma pretiosum* Riley (Butler and Lopez, 1980), *Trissolcus euschisti* Wolaston (Yeagan, 1983). In insects the thermal energy input controls the developmental rate and in many cases also influences their developmental pathways like diapause and polymorphism (Beck, 1982).

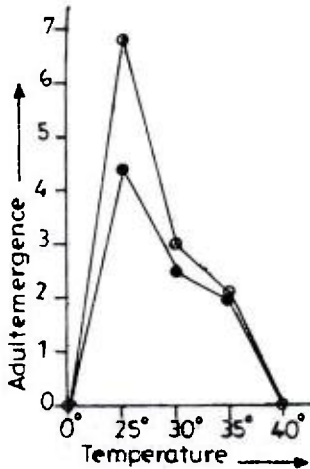


Fig. 1. Effect of temperature on longevity of *Trichopria* sp.

Fig. 1. Effet de la température sur la longévité chez *Trichopria* sp.

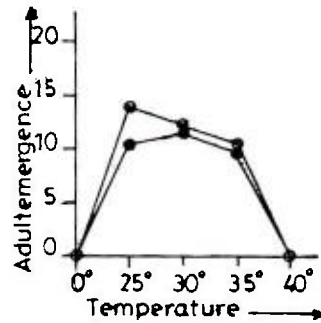


Fig. 2. Effect of temperature on longevity of *E. philippinensis* Ashmead.

Fig. 2. Effet de la température sur la longévité chez *E. philippinensis* Ashmead.

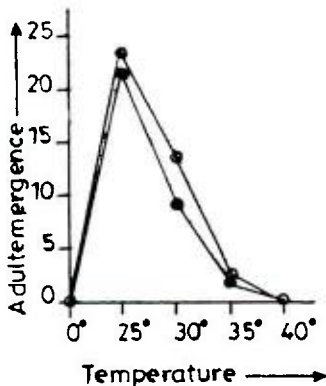


Fig. 3. Effect of temperature on longevity of *S. endius* Walker.

Fig. 3. Effet de la température sur la longévité chez *S. endius* Walker.

—○— Female
—●— Male

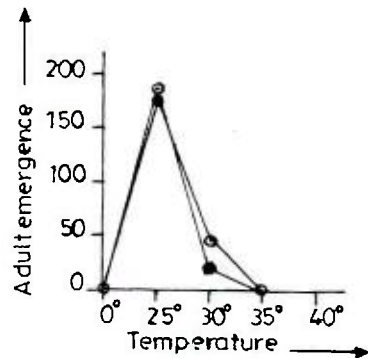


Fig. 4. Effect of temperature on fecundity of *Trichopria* sp.

Fig. 4. Effet de la température sur la fécondité chez *Trichopria* sp.

In all the three parasitoids studied, the adult longevity decreased significantly when the constant temperature increased from 25°C to 40°C (Fig. 1, 2, 3). Similar observations have been reported for *Dendroster caenopachoides* Ruschka, *D. protruberans* Nees and *Metacolus unifaciatus* Foester (Zvi Mendel, 1988) and *Chelonius inanitus* (Rechav, 1978). Reduced longevity at higher temperatures has

Table I. Effect of different constant temperature on the developmental period of *Trichopria* sp., *E. philippinensis* Ashmead and *S. endius* Walker.

Tableau I. Effet de différentes températures constantes sur la période de développement de *Trichopria* sp., *E. philippinensis* Ashmead and *S. endius* Walker.

Temperature (°C)	Species <i>Espèce</i>	Developmental period in days	
		Female (± S. E)	Male (± S. E.)
		<i>Période de développement en jours</i>	
		Femelle (± S.E)	Mâle (± E. Type)
25 °C	<i>Trichopria</i> sp.	33.24 ± 1.75	31.50 ± 2.50
	<i>E. philippinensis</i>	25.05 ± 2.06	23.25 ± 3.20
	<i>S. endius</i>	26.63 ± 2.58	24.03 ± 1.50
30° C	<i>Trichopria</i> sp.	28.10 ± 1.90	26.20 ± 1.53
	<i>E. philippinensis</i>	21.08 ± 2.32	19.32 ± 2.82
	<i>S. endius</i>	23.65 ± 1.02	20.92 ± 1.83
35° C	<i>Trichopria</i> sp.	-	-
	<i>E. philippinensis</i>	18.32 ± 1.75	16.63 ± 0.89
	<i>S. endius</i>	-	-

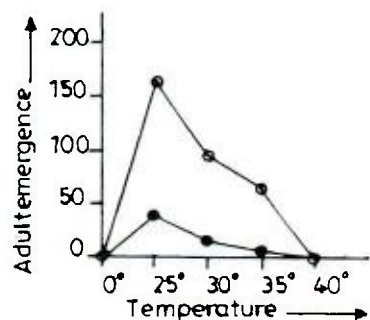


Fig. 5. Effect of temperature on fecundity of *E. philippinensis* Ashmead.

Fig. 5. Effet de la température sur la fécondité chez *E. philippinensis* Ashmead.

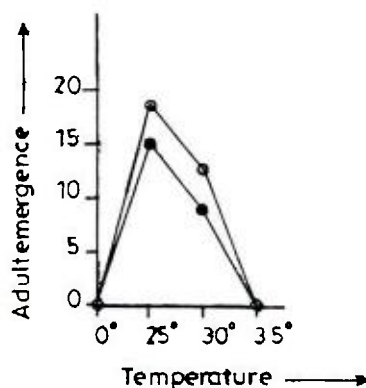


Fig. 6. Effect of temperature on fecundity of *S. endius* Walker.

Fig. 6. Effet de la température sur la fécondité chez *S. endius* Walker.

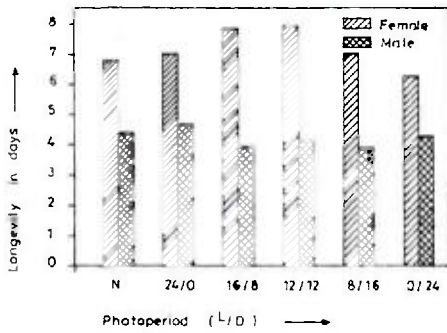


Fig. 7. Effect of photoperiod on adult longevity in *Trichopria* sp.

Fig. 7. Effet de la photopériode sur la longévité adulte chez *Trichopria* sp.

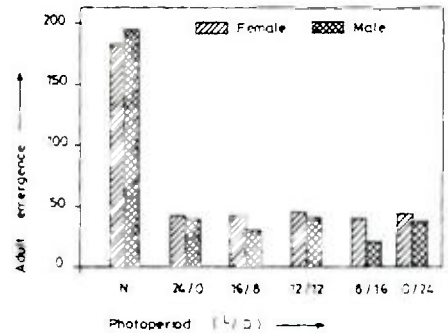


Fig. 8. Effect of photoperiod on adult emergence in *Trichopria* sp.

Fig. 8. Effet de la photopériode sur l'émergence adulte chez *Trichopria* sp.

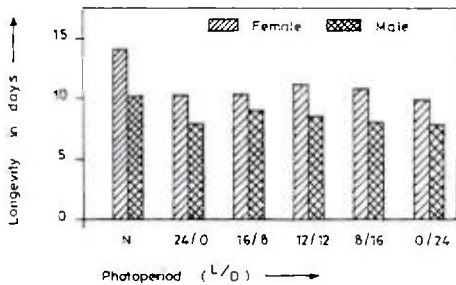


Fig. 9. Effect of photoperiod on adult longevity in *E. philippinensis* Ashmead.

Fig. 9. Effet de la photopériode sur la longévité adulte chez *E. philippinensis* Ashmead.

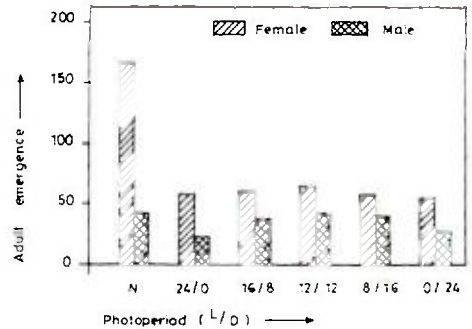


Fig 10. Effect of photoperiod on adult emergence in *E. philippinensis* Ashmead.

Fig 10. Effet de la photopériode sur l'émergence adulte chez *E. philippinensis* Ashmead.

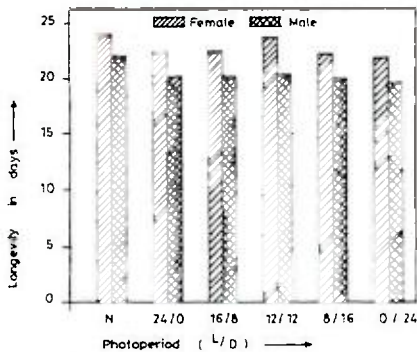


Fig. 11. Effect of photoperiod on adult longevity in *S. endius* Walker.

Fig. 11. Effet de la photopériode sur la longévité adulte chez *S. endius* Walker.

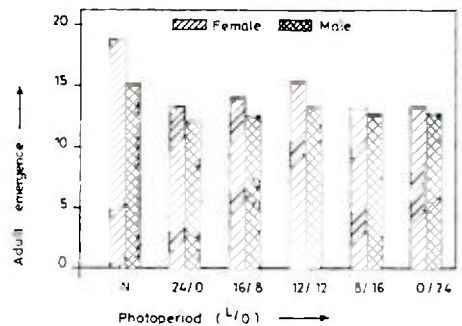


Fig. 12. Effect of photoperiod on adult emergence in *S. endius* Walker.

Fig. 12. Effet de la photopériode sur l'émergence adulte chez *S. endius* Walker.

also been observed for parasites of *Therioaphis maculata* (Force and Messenger, 1964), in *Ephedrus cerasicola* Stary (Hafsvang and Hagvar, 1975) and in *Bracon mellitor* (Barfield *et al.*, 1977). The inverse relationship between adult longevity and temperature is referred to as a relationship of longevity to intensity of life or metabolic rate by Bodenheimer (1938) and by Clark and Rockstein (1964). In the present study, the adult females of *Trichopria* sp., *E. philippinensis* Ashmead and *S. endius* Walker, outlived the males under the different temperatures studied. Similar observations have also been reported for *Cheloneurus pyrrillae* (Yadav and Chowdhary, 1986), *Hyposoter exiguae* (Browning and Oatman, 1981), *Copidosoma truncatellum* (Stoner and Weeks, 1974), *Oenocyrtus papilionis* (Rahim *et al.*, 1971), *A. dactylopii* (Mani and Krishnamoorthy, 1992) and *A. fumiferarum* (Nealis and Fraser, 1988).

For all the three parasitoids studied, 25° C was found to be the optimal temperature with regard to longevity and fecundity. The fecundity was considerably reduced at 35° C and neither sex emerged at 35° C in the case of *Trichopria* sp., and *S. endius*. Similar findings have been reported for *Catolaccus grandis* which did not produce eggs at 35° C, suggesting that the relative high temperature induced sterilisation (Ramos and Cate, 1992). *E. philippinensis* produced progeny successfully at 35° C but their size was reduced. However, in all the three parasitoids no adults emerged at 40° C (Fig. 4, 5, 6) which may be due to the failure of development at that particular temperature as in *A. dactylopii* (Mani and Krishnamoorthy, 1992). According to Hayakawa *et al.* (1990), at high temperatures, the rate of all activities will be much higher than at more favourable temperatures. However, incidence of false strikes will be very high and oviposition attacks may completely be stopped at higher temperatures. The progeny production of three parasitoids of mealybug increased with rising temperature up to an optimum and then declined: *Anagyrus pseudococci*, and *Leptomastix dactylopii*, *Leptomastidea abnormis* (Tingle and Copland, 1989). In a study on temperature preference for progeny production in pteromalid wasps using housefly pupae as hosts, Pawson and Petersen (1990) reported that *Musidifurax raptor* preferred 25° and 30° C, *M. zaraptor* preferred 30° C and *P. vindimiae* preferred 25° C, *Urolepis rufipes* also preferred 25° C for progeny production (Mathews and Petersen, 1989). On the contrary, progeny production increased at higher temperatures in *Nesolynx* sp. (Bueno *et al.*, 1987).

Except for *Trichopria* sp., where it was almost equal at 25° C, the sex-ratio was female oriented for all the three parasitoids at all the temperatures studied. This is in accordance with the female biased sex-ratio in *M. raptor* Girault and Saunders, *P. vindimiae* Rondani, *M. zaraptor* Kogan and Legner, *U. rufipes* and *Spalangia nigroaenea* Curtis (Pawson and Petersen, 1990). According to Ridgway and Mahr (1990) the sex-ratio varies with both extrinsic and intrinsic factors.

In none of the three parasitoids significant changes in lifespan were observed with different light and dark treatments (Fig. 7, 9, 11), except in females of *E. philippinensis* wherein the lifespan decreased significantly with different treatments compared to natural day light conditions. The adult emergence was significantly reduced in *Trichopria* sp., and in females of *E. philippinensis* with different light and dark treatments. In males of *E. philippinensis* and in both sexes of *S. endius* (Fig. 8, 10, 12), this influence was minimal. The progeny production under different photophase and scotophase conditions confirmed the continuous activity of oviposition as has been observed in other parasites such as *Coccysgominus turionellae* (Schultz and Kok, 1980), *Telenomus californicus* Ashmead (Ryan *et al.*, 1981). On the contrary, no female activity was observed during continuous scotophase in *Brachymeria intermedia* (Barbosa and Frongillo, 1977). Al Maliky *et al.*, (1988) reported that the female searching behaviour during dark or light is convenient in reducing the cost of extra lighting since darkness will not affect reproduction efficiency. The initiation of the next generation of the parasite depends on the female ovipositional activity. No significant difference in female lifespan and fecundity was observed with different photoperiods in *Neodiprion fulviceps* (Tisdale and Wagner, 1990).

It is apparent from the above results that the temperature influences the development, lifespan and progeny production in *Trichopria* sp., *E. philippinensis* and *S. endius* and that 25° C is optimal for longevity and fecundity. For mass multiplication of these parasitoids in the laboratory, 25° C is

optimal for maximum realisation of progeny production and lengthy lifespan of adults. Natural photoperiodic conditions are more suitable for longevity and production of offspring in these species.

ACKNOWLEDGEMENT

Authors are grateful to the Director, and the Divisional Chief (Sericulture) of Karnataka State Sericulture Research and Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore - 62 for the facilities provided. Authors are also thankful to Dr R. J Rabindra, Assistant Professor, Centre for Plant protection, T. N. A.U., Coimbatore, India for his suggestions.

REFERENCES

- AL-MALIKY S. K., AL-IZZI, M. A.J. & JABBO N. F. 1988. Effects of temperature and photoperiod on the development and oviposition of *Apanteles* sp., group *ultor* (Hymenoptera : Braconidae), a larval parasite of the carobmoth *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae). *Entomophaga*, 33, 193-200.
- ANDREWARTHA, H. G. & BIRCH L. C. 1954. The distribution and abundance of animals. University of Chicago Press, Chicago.
- AVIDOV Z., ROSSLER Y & ROSEN D. 1967. Studies on an Israel strain of *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera : Encyrtidae) II. Some biological aspects. *Entomophaga*, 12, 111-118.
- BARBOSA P. & FRONGILLO E. A. Tr. 1977. Influence of light intensity and temperature on the locomotor and the flight activity of *Brachymeria intermedia* (Hymenoptera: Chalcididae) a pupal parasitoid of the gypsy moth. *Entomophaga*, 22, 405-411.
- BARFIELD C.S., BOTTRELL D. G. & SMITH J. N. Jr. 1977. Influence of temperature on oviposition and adult longevity of *Bracon mellitor* reared on bollweevils, *Environ. Entomol.*, 6, 133-127.
- BECK S. D. 1980. Insect photoperiodism, II Ed. Academic press, New York.
- BECK S. D. 1982 Thermoperiodic induction of larval diapause in the European Corn borer *Ostrinia nubilalis*. *J. Insect. Physiology*, 28, 273-277.
- BECK S.D. 1983a Thermal and thermoperiodic effects on larval development and diapause in the European corn borer *Ostrinia nubilalis*. *J. Insect. Physiology*, 29, 107-112.
- BECK S. D. 1983b Insect thermoperiodism. *Ann. Rev. Entomology*, 28, 91-108.
- BERLINGER M. J. 1973. Biological studies of *Clausenia josefi* (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasite of *Planococcus vitis*. *Entomophaga*, 18, 279-286.
- BODENHEIMER F. S. 1938 Problems of animal ecology. Oxford University Press, London.
- BROWNING H. W., & OATMAN E. R. 1981. Effect of different constant temperatures on adult longevity, development time and progeny production of *Hyposoter exiguae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 74, 79-82.
- BUENO V.H.P, BELTI-FILHO E., MATIOLI J.C. 1987. Aspects of biology and behaviour of *Nesolynx* sp., (Hymenoptera: Eulophidae). *Anais da Escola superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz'*, Universidade de Sao Paulo., 44, 105-117.
- BUTLER G. D. Jr. & LOPEZ J. D. 1980. *Trichogramma pretiosum* development in two hosts in relation to constant and fluctuating temperatures. *Ann. Entomol. soc. Amer.*, 73, 671-673
- CLARK, A. M. & ROCKSTEIN M. 1964. Ageing in insects. In: *The physiology of insects*. (Edited by Rockstein, M), Academic press, New York, 230-271.
- DENLINGER D. L. 1985. Hormonal control of diapause. In 'Comprehensive insect physiology, Biochemistry and Pharmacology' (Eds. Kerkut, G. A and Gilbert L. I) Vol. VIII, Pergamon Press, Oxford, 353-412.
- FORCE D. C. & MESSENGER P. S. 1964. Duration of development, generation time and longevity of three hymenopterous parasites of *Therioaphis maculata* (Backton) reared at various constant temperatures. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 57, 405-413.

- HAGSTRUM D. W. & HAGSTRUM W. R. 1970. A simple device for producing fluctuating temperatures with an evaluation of the ecological significance of fluctuating temperatures. *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 63, 1385-1389.
- HAGSTRUM D. W. & LEACH C. E. 1973. Role of constant and fluctuating temperatures in determining development time and fecundity of three species of stored product of Coleoptera. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 66, 407-409.
- HARRISON W. W., KING E. G. & OUZTS J. D. 1985. Development of *Trichogramma exiguum* and *I. pretiosum* at five temperature regimes. *Environ. Entomol.*, 14, 118-121.
- HAYAKAWA D. L., GRAFIUS E. & STEHR F. W. 1990. Effects of temperature on longevity, reproduction and development of the *Asparagus* aphid (Homoptera: Aphididae) and the parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae). *Environ. Entomol.*, 19(4), 880-897.
- HOFVSANG T. & HAGVAR E. B. 1975. Development rate, longevity, fecundity and oviposition period of *Ephedrus cerasicola* Stary (Hymenoptera: Aphidiidae) parasitizing *Myzus persicae* Sulz. (Hom: Aphididae) on paprika. *Norw. J. Entomol.*, 22, 15-22.
- MANI M. & KRISHNAMOORTHY A. 1992 Influence of constant temperatures on the developmental rate, progeny production, sex-ratio and adult longevity of the grape mealybug parasitoid *Anagyrus dactylopii* (How) (Hymenoptera: Encyrtidae). *Insect. Sci. applic.* 13(5), 697-703.
- MATHEWS J. R. & PETERSEN T. J. 1989. Effect of temperature on parasitism, development and diapause of the filth fly parasite *Urolepis rufipes* (Hymenoptera: pteromalidae). *Environ. Entomol.*, 18(4), 728-731.
- NEALIS V. G. & FRASER S. 1988 Rate of development, reproduction and mass rearing of *Apanteles fumiferanae* Vier. (Hymenoptera: Braconidae) under controlled conditions. *Can. Entomol.*, 120, 197-204.
- PRADIP KUMAR, VENKATA REDDY V., SAMSON M. V. & JOLLY, M. S. 1986. Record of a new hyperparasite of *Tricholyga bombycis* Beck (Diptera: Tachinidae), a larval parasite of *Bombyx mori* L. *Curr. Sci.*, 55: 1040-1041.
- PRADIP KUMAR, REMADEVI O. K., NOAMANI M. K. R. & JOLLY, M. S. 1986. Record of a new pupal parasite *Spilomicrus karnatakensis* of *Tricholyga bombycis* Beck. *Sericologia*, 28(3):1.
- PAWSON B. M. & PETERSEN T. J. 1990. Temperature preference and effect of photoperiod on oviposition behaviour of five pteromalid wasps (Hymenoptera: Pteromalidae) using house fly (Diptera: Muscidae) pupae as hosts. *Environ. Entomol.*, 19(5), 1452-1456.
- RAHIM A., HASHMI A. A. & KHAN N.A. 1991. Effects of temperature and relative humidity on longevity and development of *Oenocyrtus papilionis* Ashmead (Hymenoptera: Eulophidae) a parasite of the sugarcane pest *Pyrilla perpusilla* Walker (Homoptera: Cicadellidae). *Environ. Entomol.*, 20(3), 774-775.
- RAMOS J.A.M & JAMES R. CATE 1992. Rate of increase and adult longevity of *Catolaccus grandis* (Burks) (Hymenoptera: Pteromalidae) in the laboratory at four temperatures. *Environ. Entomol.*, 23, (3), 620-627.
- RAOCH. N, VEERANNA G. & PRASAD N. R. 1993. Studies on the infestation of *Exorista sorbillans* on *Bombyx mori*. I. Incidence during monsoon season. In recent advances in uzi fly Research. Eds. G. P. ChannaBasavanna, G. Veeranna & S. B. Dandin, 49-56.
- RATTE H. T. 1985. Temperature and insect development. In environmental physiology and biochemistry of insects. (Ed. Hoffman, K. H.) Springer, Berlin, 33-66.
- RECHAV Y. 1978. Biological and ecological studies of the parasitoid *Chelonus inanitus* (Hymenoptera: Braconidae) in Israel. III. Effects of temperature, humidity and food on the survival of the adult. *Entomophaga.*, 23(1) 89-94.
- RIDGWAY N. M. & MAHR D. L. 1990. Reproduction and development, longevity and host mortality of *Sympiesis marylandensis* (Hymenoptera:Eulophidae), a parasitoid of spotted tentiform leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) in the laboratory. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 83(4), 795-799.

- RUEDA L. M & AXTELL R. C. 1985. Guide to common species of pupal parasites (Hymenoptera: Pteromalidae) of the house fly and other muscoid flies associated with poultry and livestock manure. North Carolina Agricultural Research Service Technical Bulletin. North Carolina State University Raleigh, N. C., 278.
- RYAN R. B., MORTENSEN R. W. & TORGENSEN T. R. 1981. Reproductive biology of *Telenomus californicus* Ashmead, and egg parasite of the Douglas fir. Tussock Moth: Laboratory studies. Ann. Entomol. Soc. Amer., 74, 213-216.
- SAUNDERS D. S. 1982. Insect clocks, 2nd Edn. Pergamon Press, Oxford.
- SCHULTZ P. B. & KOK L. T. 1980. Physical factors affecting laboratory rearing of the pupal parasite *Coccygomimus turionellae*. Ann. Entomol. Soc. Amer., 73, 522-525.
- SPIEGEL M. R. 1981. Theory and problems of statistics. Schaum's outline series. McGraw Hill International Book company, Singapore.
- STONER A & WEEKS R. E. 1974. *Copidosoma truncatellum*: Effect of temperature on the development rate, duration of emergence and longevity. Environ. Entomol., 3, 958-960.
- SYME P. D. 1975. The effects of flowers on the longevity and fecundity of two native parasites of the European pine shoot moth in Ontario. Env. Entomol., 4, 337-346.
- SYME P. D. 1977. Observations on the longevity and fecundity of *Orgillius obscurator* (Hymenoptera: Braconidae) and the effect of certain foods on longevity. Can. Entomol., 109, 995-1000.
- TINGLE C. C. D. & COPLAND M. J. W. 1988. Effects of temperature and host plant on regulation of glass house mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) population by introduced parasitoid (Hymenoptera: Encyrtidae). Bull. Entomol. Res., 78, 135-142.
- TINGLE C. C. D. & COPLAND M. J. W. 1989. Progeny production and adult longevity of the mealybug parasitoids, *Anagyrus pseudococci*, *Leptomastix dactylopii* and *Leptomastix abnormis* (Hymenoptera: Encyrtidae) in relation to temperature. Entomophaga, 34, 111-128.
- TISDALE R. A. & WAGNER M. B. 1990. Effects of photoperiod, temperature and humidity on oviposition and egg development of *Neodiprion fulviceps* (Hymenoptera: Diprionidae) on cut branches of Ponderosa pine. Environ. Entomol., 19 (3), 456-458.
- VEERANNA G., NIRMALA M. R. & MAHADEVAPPA, D. 1987a. Record of a new hyperparasite *Trichopria* sp., (Hymenoptera: Diapriidae) of *Tricholyga bombycis* Beck (Diptera: Tachinidae) a larval parasite of *Bombyx mori* L. Curr. Sci., 56(19): 1031-1032.
- VEERANNA G., NIRMALA M. R. & MAHADEVAPPA D. 1987b. Record of a new parasite *Exoristobia philippinensis* (Hymenoptera: Encyrtidae) of *Tricholyga bombycis* Beck. (Diptera: Tachinidae) a larval parasite of *Bombyx mori* L. Sericologia, 28(6):227-229.
- VEERANNA G. & JYOTHI H. K. 1988. Record of a new hymenopteran parasitoid of *Tricholyga bombycis* Beck (Diptera: Tachinidae). Curr. Sci., 57(20): 1137-1138.
- VEERANNA G. & NIRMALA M. R. 1992. *Spalangia endius* Walker (Pteromalidae) A new parasitoid of *Exorista sorbillans* Wiedemann (Tachinidae). J. Boil. Control., 6(2):93-96.
- VEERANNA G. & JYOTHI H. K. 1994. Life table studies on *Pachycrepoideus veerannai* Narendran and Anil, A chalcid (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitoid of *Exorista sorbillans* Weid. (Diptera: Tachinidae). Entomon., 19(1): 1-5.
- YADAV R. P. & CHOWDHURY J. P. 1986. Longevity and development of the egg parasitoid *Cheiloneurus pyrrillae* (Hymenoptera: Encyrtidae) at different combinations of temperature and relative humidity. Entomophaga, 31, 107-111.
- YEARGAN K. V. 1983. Effect of temperature on development rate of *Trissolcus euschiti* (Hymenoptera: Scelionidae) a parasite of stink mealybugs. Ann. Entomol. Soc. Am., 76, 757-760.
- ZVI MENDEL. 1988. Effects of food, temperature and breeding conditions on the life span of adults of three cohabitating bark beetle (Scolytidae) parasitoids (Hymenoptera). Environ. Entomol. 17(2), 293-298.

EFFET DES TEMPERATURES ET DES PHOTOPERIODES CONSTANTES SUR LA LONGEVITE ADULTE ET LA PRODUCTION DE DESCENDANCE CHEZ LES PARASITOIDES GREGAIRES DE LA MOUCHE UZI, *EXORISTA BOMBYCIS* (LOUIS)

M. R. NIRMALA & G. VEERANA

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

*On a entrepris des études sur l'influence des températures et des photopériodes constantes sur la longévité et la production de descendance chez *Trichopria* sp., *Exoristobia philippinensis* Ashmead et *Spalangia endius* Walker. La longévité adulte baisse avec l'augmentation des températures de 25° C à 40° C chez les trois parasitoïdes. Aucun sexe n'émerge comme adulte à 35° C chez *Trichopria* sp. et *S. endius* Walker. *E. philippinensis* Ashmead n'a pas donné d'adultes à 40° C. On observe un sexe ratio orienté vers les femelles à des températures constantes variées chez *E. philippinensis* et *S. endius*. Chez *Trichopria* sp., la répartition entre les sexes est presque égale à 25° C tandis qu'il y a plus de femelles à 30° C. Une légère variation de la longévité et une baisse considérable de la production de descendants de ces parasitoïdes sont observées sous des conditions de lumière/obscurité de 24/0, 16/8, 8/16 et 0/24. La répartition entre les sexes est à l'avantage des femelles pour toutes les conditions de photophase et de scotophase chez *Trichopria* sp., *E. philippinensis* et *S. endius*.*

INTRODUCTION

Plusieurs étapes de développement chez les insectes sont influencées par des facteurs physiques tels que la température et la photopériode (Beck, 1980, 1983b ; Saunders, 1982 ; Denlinger, 1985 ; Ratte, 1985). La production de descendants et la longévité adulte sont deux des principaux facteurs qui influencent l'abondance d'un insecte et sa dynamique de population. Les deux ont été étudiés par rapport à la température chez de nombreuses espèces d'insectes (Tingle et Copland, 1988 ; Andrewartha et Birch, 1954 ; Syme 1975, 1977 ; Harrison et coll., 1985). Plusieurs chercheurs ont signalé que des températures fluctuantes ont des effets adverses sur le développement des insectes (Hagstrum et Hagstrum, 1970 ; Hagstrum et Leach, 1973 ; Beck, 1983a).

La mouche uzi indienne *Exorista bombycis* (Louis), un endoparasitoïde du ver à soie *Bombyx mori* L. a été introduite dans une zone séricicole prospère du sud de l'Inde (Karnataka) en provenance du Bengale Ouest du Nord-est de l'Inde pendant les années 1980. Grâce à la présence constante de l'hôte et à une atmosphère propice dans la région pendant toute l'année, *E. bombycis* s'est établi comme un insecte sérieusement nuisible au ver à soie. La négligence et le retard de la part des sériciculteurs par rapport à l'adoption de mesures de lutte a entraîné une multiplication et une propagation rapides de cet insecte dans toutes les zones du sud de l'Inde pratiquant la sériciculture. A présent, l'étendue des dégâts causés par cette mouche est de 12-15 % pour l'industrie séricicole (Rao, et coll., 1993). Plusieurs parasitoïdes larvaires/pupaux de la mouche uzi *E. bombycis* ont été observés (Pradip Kumar et coll, 1986, 1988 ; Veeranna et coll., 1987a, b ; Veeranna et Jyothy, 1988,

1994 ; Veeranna et Nirmala, 1992), ce qui montre clairement que *E. bombycis* a un groupe naturel ennemi. Les parasitoïdes de la mouche uzi en l'occurrence *Trichopria* sp (Diapriidae), *E. philippinensis* (Encyrtidae) et *S. endius* (Pteromalidae) ont été sélectionnés pour cette étude car elles peuvent se développer avec beaucoup de succès sur les pupes de *E. bombycis*.

Comme il n'existe aucune information sur l'influence de la température et de la photopériode sur *Trichopria* sp, *E. philippinensis* et *S. endius*, nous nous y sommes intéressés. *Trichopria* sp., et *E. philippinensis* sont des endoparasitoïdes grégaires, tandis que *S. endius* est un ectoparasitoïde grégaire, la taille de leur population peut augmenter rapidement dans des conditions favorables et ils peuvent être utilisés de manière efficace pour la lutte intégrée (IPM) contre la mouche uzi *E. bombycis*. La connaissance des conditions optimales de durée de vie, de ponte et de développement de l'oeuf permettrait d'améliorer les méthodes d'élevage en laboratoire des parasitoïdes (Tisdale et Wagner, 1990). L'étude en cours pourrait permettre de connaître les besoins optimum de température et de photopériode pour l'obtention d'une fécondité et d'une durée de vie maximales et pour l'élevage en masse et l'utilisation sur le terrain pour lutter contre *E. bombycis* (Louis), qui est un insecte nuisible au ver à soie du mûrier, *Bombyx mori* L.

MATERIELS ET METHODES

Des élevages de laboratoire existants de *Trichopria* sp., *E. philippinensis* et *S. endius* ont été utilisés pour l'étude actuelle.

Dix adultes femelles et mâles de ces parasitoïdes sont placés dans des récipients en verre d'une contenance de 500 ml en trois répétitions avec 40 pupariums sains de la mouche uzi âgés de un à trois jours. Les pupariums de la mouche uzi sont remplacés par de nouveaux toutes les 24 heures, et les adultes d'expérimentation sont nourris au miel. Les pupariums de la mouche uzi infestés sont maintenus individuellement dans des tubes à essai pour l'émergence des adultes. Pour déterminer la tolérance à la température et les températures pour lesquelles la longévité et la fécondité sont maximales, la longévité des adultes, leur fécondité et le temps de développement de la progéniture de ces parasitoïdes sont enregistrés à des températures différentes de 25° C, 30°, 35° et 40° C et une humidité relative de 65 pour cent. L'effet de la lumière (300 lux) et de l'obscurité a été étudié à 24/0, 16/8, 12/12, 8/16 et 0/24 de périodes de clarté/obscurité pour une température constante de 25° C et une humidité relative de 65 pour cents. Les lots témoins sont placés simultanément dans des conditions de laboratoire normales (lumière/obscurité).

La mortalité quotidienne des adultes dans des conditions expérimentales variées par rapport à la température et à la lumière est enregistrée. L'émergence totale des adultes est considérée comme la fécondité totale réalisée. Les données sont analysées statistiquement par l'analyse de variance ANOVA (Spiegel, 1981).

RESULTATS ET DISCUSSION

Chez *Trichopria* sp et *S. endius*, le temps nécessaire de développement de l'oeuf à l'adulte baisse quand la température constante augmente de 25° à 30°C, tandis que chez *E. philippinensis* cela est le cas quand elle passe de 25° à 35° C. Aucune observation n'est enregistrée chez *Trichopria* sp., et *S. endius*, à 35° C, les adultes ne survivant même pas pendant un jour. Selon Rueda et Axtell (1985) la période de développement chez *S. endius* est comprise entre 18 et 28 jours pour une température constante de 26,7° C. Des températures plus élevées favorisent un développement plus rapide des stades immatures. Ainsi la période de développement globale baisse avec des régimes de température plus élevée (25° à 35° C) comme chez *Anagyrus dactylopii* (How) (Mani et Krishnamoorthy, 1992). Dans l'étude présente, les mâles des trois espèces se développent plus vite que les femelles, pour tous les régimes de température constante à l'étude, et donc les mâles adultes émergent plus tôt. Ceci est en accord avec les études sur d'autres hyménoptères tels qu'*Anagyrus pseudococci* (Avidov et coll., 1967), *Clausenia josefi* Ishii (Berlinger, 1973), *Ocenocyrtus* sp., (Tracy et Nechols, 1987),

Trichogramma pretiosum Riley (Butler et Lopez, 1980) et *Trissolcus euschisti* Wolaston (Yeargan, 1983). Chez les insectes, l'apport en énergie thermique contrôle le taux de développement et dans de nombreux cas influence aussi leurs modes de développement, comme avec la diapause et le polymorphisme (Beck, 1982).

Chez les trois parasitoïdes étudiés, la longévité adulte baisse de manière significative quand la température constante augmente de 25° à 40 ° C (Fig. 1, 2, 3). Des observations similaires ont été signalées pour *Dendroster caenopachoides* Ruschka, *D. protruberans* Nees et *Metacolus unifaciatus* Foester (Zvi Mendel, 1988) et *Chelonus inanitus* (Rechav, 1978). Une longévité réduite à des températures plus élevées a aussi été observée pour les parasites de *Therioaphis maculata* (Force et Messenger, 1964), chez *Ephedrus cerasicola* Stary (Hafsvang et Hagvar, 1975) et chez *Bracon mellitor* (Barfield et coll., 1977). La relation inverse entre la longévité adulte et la température est définie relation de longévité par rapport à l'intensité de vie ou par rapport au taux métabolique par Bodenheimer (1938) et par Clark et Rockstein (1964). Dans l'étude présente, les femelles adultes de *Trichopria* sp., *E. philippinensis* Ashmead et *S. endius* Walker, survivent aux mâles aux différentes températures étudiées. Des observations similaires ont aussi été signalées pour *Cheloneurus pyrrillae* (Yadav et Chowdhary, 1986), *Hyposoter exiguae* (Browning et Oatman, 1981), *Copidosoma truncatellum* (Stoner et Weeks, 1974), *Oonocyrus papilionis* (Rahim et coll., 1971), *A. dactylopii* (Mani et Krishnamoorthy, 1992) et *A. fumiferarum* (Nealis et Fraser, 1988).

Pour les trois parasitoïdes étudiés, on observe que 25 ° C est la température optimale par rapport à la longévité et à la fécondité. La fécondité baisse considérablement à 35 ° C et aucun sexe n'émerge à 35° C, dans le cas de *Trichopria* sp., et *S. endius*. Des observations similaires ont été rapportées pour *Catolaccus grandis* qui ne produit pas d'oeufs à 35 ° C, ce qui suggère qu'une température relativement élevée entraîne la stérilité (Ramos et Cate, 1992). *E. philippinensis* produit une descendance à 35° C mais de plus petite taille. Cependant, chez les trois parasitoïdes aucun adulte n'émerge à 40 ° C (Fig. 4, 5, 6), ce qui est peut-être dû à l'échec du développement à cette température particulière comme chez *A. dactylopii* (Mani et Krishnamoorthy, 1992). Selon Hayakawa et coll., (1990), le taux de toutes les activités sera beaucoup plus élevé à des températures élevées, qu'à des températures plus favorables. Cependant, l'incidence de fausses ruptures sera très élevée et les attaques de la ponte pourraient être complètement stoppées à des températures plus élevées. La production de descendance chez trois parasitoïdes de l'aleurode : *Anagyrus pseudococci*, *Leptomastix dactylopii* et *Leptomastix abnormis* augmente avec la hausse de température jusqu'à un optimum puis décline (Tingle et Copland, 1989). Dans une étude sur la température préférable pour la production de descendance chez des guêpes préromales, en utilisant les pupes de mouches comme hôtes, Pawson et Petersen (1990) ont signalé que *Musidifurax raptor* préfère 25° et 30° C, *M. zaraptor* préfère 30° C et *P. vindimiae* préfère 25° C, *Urolepis rufipes* préfère aussi 25° C pour la production de descendance (Mathews et Petersen, 1990). Par contre, la production de descendance augmente à des températures plus élevées chez *Nesolynx* sp. (Bueno et coll., 1987).

Excepté pour *Trichopria* sp., où elle est presque égale à 25° C, la répartition entre les sexes est à l'avantage des femelles pour les trois parasitoïdes pour toutes les températures étudiées. Cela est en accord avec la répartition entre les sexes à l'avantage des femelles chez *M. raptor* Girault et Saunders, *P. vindimiae* Rondani, *M. Zaraptor* Kogan et Legner, *U. rufipes* et *Spalangia nigroaenea* Curtis (Pawson et Petersen, 1990). Selon Ridgway et Mahr (1990) la répartition entre les sexes varie à la fois en fonction de facteurs extrinsèques et intrinsèques.

Aucun changement de durée de vie n'est observé avec différents traitements de lumière et d'obscurité chez les trois parasitoïdes (Figs. 7, 9, 11), excepté chez les femelles de *E. philippinensis* pour lesquelles la durée de vie baisse de manière significative avec différents traitements par rapport aux conditions de lumière du jour naturelle. L'émergence adulte baisse de manière significative chez *Trichopria* sp., et chez les femelles de *E. philippinensis* avec différents traitements de lumière et d'obscurité. Chez les mâles de *E. philippinensis* et chez les deux sexes de *S. endius* (Figs. 8, 10, 12) cette influence est minime. La production de descendance avec des conditions de photophase et de scotophase différentes confirme l'activité continue de ponte, comme on l'a observé pour d'autres

parasites tels que *Coccygomimus turionellae* (Schultz et Kok, 1980), *Telenomus californicus* Ashmead (Ryan et coll., 1981). Par contre, aucune activité femelle n'est observée pendant une scotophase continue chez *Brachymeria intermedia* (Barbosa et Frongillo, 1977). Al Maliky et coll. (1988) ont signalé que le comportement de recherche de la femelle pendant l'obscurité ou la clarté est pratique pour réduire le coût d'éclairage supplémentaire, l'obscurité n'ayant pas d'effet sur l'efficacité de reproduction. Le commencement de la prochaine génération de parasites dépend de l'activité de ponte des femelles. On n'observe aucune différence de durée de vie et de fécondité chez les femelles avec différentes photopériodes chez *Neodiprion fulviceps* (Tisdale et Wagner, 1990).

Il est apparent d'après les résultats ci-dessus que la température influence le développement, la durée de vie et la production de descendance chez *Trichopria* sp., *E. philippinensis* et *S. endius* et que 25° C est optimal pour la longévité et la fécondité. Pour la multiplication en masse de ces parasitoïdes en laboratoire, 25° C est optimal pour une obtention de descendance maximale et une longue durée de vie des adultes. Les conditions photopériodiques naturelles sont plus adaptées par rapport à la longévité et la production de descendance chez ces espèces.

EFFECTS OF GAMMA-IRRADIATION ON ADULT LONGEVITY AND REPRODUCTIVE POTENTIAL OF THE UZI FLY *EXORISTA BOMBYCIS* (LOUIS) AN ENDOPARASITOID OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

M. SARWAR JAHAN, S. MAHFUZAR RAHMAN, M. MAHBUB HASAN*
& M. SAIFUL ISLAM

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

Effects of gamma irradiation at 2.5, 5-, 10-, 20- and 40-Gy on 2 day old pupae of the uzi fly, Exorista bombycis (Louis) on adult longevity and reproductive potential were observed in the laboratory. Gamma-irradiation was found to significantly reduce the adult longevity, fecundity, oviposition period and fertility in E. bombycis when the crosses were set up between irradiated male and irradiated female and normal male and irradiated female. Radiation doses at 20-Gy and above were found to be effective in inducing sterility in E. bombycis while no egg laying was recorded at 40-Gy.

Keywords: *E. bombycis*, gamma-irradiation, reproductive potential, longevity.

INTRODUCTION

The uzi fly, *Exorista bombycis* (Louis) (Diptera: Tachinidae) is a serious endoparasitoid of the silkworm, *Bombyx mori* L., in both tropical and sub-tropical countries. It causes 20-40 percent loss to the silkworm industry (Kumar *et al.*, 1989; Nahar *et al.*, 1992; Narayanasswamy *et al.*, 1993). Control of this pest through insecticidal treatment is not feasible due to its adverse consequences on the growth and development of *B. mori* (Jahan, 1996).

Control of insects through radiosterilisation is advantageous over the chemical control as the former does not have any toxic effects on the non-target organisms. The practical applicability of radiation-induced sterile insect release method has been suggested earlier for a number of species like screwworm *Cochliomya hominivorax* (Coquerel), melonfly *Dacus cucurbitae* Coquillett and Queensland fruit fly *Dacus tryoni* (Frogg) (Knippling, 1960, Steiner *et al.*, 1965, Andrewartha *et al.*, 1967). A review of the literature also reveals that gamma radiation has been used successfully to induce sterility in several dipterans like the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* Loew (Rhode *et al.*, 1961), the house fly *Musca domestica* L. (Kilgore & Douth, 1967) and the mosquitoes, *Culex fatigans* Wied. (Pal, 1974) and *Aedes aegypti* L. (Rai *et al.*, 1974).

The efficacy of gamma radiation varies according to insect species, stage of insect subjected to radiation and the dose of radiation (Ducoff, 1972). The pupal stage of insects is recommended for irradiation since it minimises the handling problem (Tilton & Brower, 1983). Keeping in view the importance of *E. bombycis* as a serious pest of *B. mori* and prospects for its control by gamma-irradiation, the present experiments were conducted to estimate the effects of different doses of gamma radiation on various biological attributes of *E. bombycis* under laboratory conditions.

* To whom correspondence should be addressed.

MATERIALS AND METHODS

Healthy pupae of *E. bombycis* were selected from the stock culture (as mentioned in Jahan, 1996) of the uzi fly maintained at the Silkworm Research Laboratory, Department of Zoology, University of Rajshahi, Bangladesh, for the present investigation. Two day-old pupae were subjected to gamma irradiation at 2.5-, 5-, 10-, 20- and 40- Gy (1Gy = 100 rads) at a dose rate of 640 Gy/h from Co^{60} installed in the Institute of Food and Radiation Biology, Atomic Energy Research Establishment, Dhaka, Bangladesh. At each dose, 300 pupae were irradiated in three replications of 100 each. An equal number of untreated males and females of a similar age-group as those of treated batches were maintained as controls.

After treatments, the experimental pupae were kept separately in wire-mesh cages (25cm × 25cm × 25 cm). On adult emergence, they were sorted out sexwise by examining genitalia. For individual crossing (see below), five mating pairs were introduced in beakers (500 ml) covered with a fine mosquito-net tied with rubber bands. Four crosses for each dose were performed separately as follows: (i) normal male (NM) × normal female (NF); (ii) irradiated male (IM) × irradiated female (IF); (iii) irradiated male (IM) × normal female (NF) and (iv) normal male (NM) × irradiated female (IF).

The adult flies were supplied with a 10% glucose solution incorporated in cotton-wool placed in the mosquito-net cage (Kumar *et al.*, 1990). Five early fifth-instar larvae of *B. mori* were provided in the beakers for recording the fecundity and hatchability of the flies. A fresh lot of silkworm larvae replaced the old ones once every 24 h till the death of the females. The tested *B. mori* larvae were examined daily to record the number of eggs laid by the females. Subsequently they were reared in separate rearing trays in a wire-netted rearing cabinet to avoid further infestation by the natural flies. Hatching of the eggs was recorded daily by observing the black sears on the host body. Data on the fecundity, hatchability (egg hatch), oviposition period and adult longevity in all treated and control flies were recorded. The data were analysed and plotted using the software packages Minitab Inc. and Fig-P respectively. The contrast probability values (CPV) for the null hypothesis were calculated using Ray's (1982) equation: $(T_1 + T_2)/2 = T_3$ where T_1 and T_2 were the individual control and treatment crossing groups, respectively and T_3 was the crossing group of the control treatment. For evaluating radiation-induced changes in the oviposition period and adult longevity, Tukey's multiple comparison procedures (Hintz, 1990) were used. The experiments were conducted at $30 \pm 3^\circ \text{C}$ and $75 \pm 4\% \text{ RH}$.

RESULTS AND DISCUSSION

Effects of pupal irradiation on the fecundity and hatchability in *E. bombycis* are presented in Table I. The fecundity of the normal females (NF) and irradiated females (IF) mated with either normal males (NM) or irradiated males (IM) was found to decrease significantly over that recorded for the control females (Ray's contrast probability tests $P < 0.05$ and $P < 0.001$ respectively). The fecundity of females fluctuated following the dose variations from 2.5 to 10 Gy, and it has been shown that the higher doses (20-40 Gy) caused nearly complete infertile females. Fecundity of the normal females mated with irradiated males (IM × NF) declined insignificantly compared to the crosses (NM × IF) and (IM × IF), indicating that this reproductive parameter is affected by irradiating females rather than irradiating males. The hatchability, on the other hand, was found to decline significantly in a dose-dependent manner, the irradiation effect being severe at 20- and 40- Gy ($P < 0.001$). However, this parameter was found to be affected by irradiation of both sexes (Table I).

Radiation induced changes in the oviposition period and adult longevity in *E. bombycis* are shown in figures 1 and 2 respectively. The oviposition period of the flies was found to be lowered significantly at all doses from that of the control (Tukey's multiple comparisons, $P < 0.05$). It has been found that the oviposition period of the irradiated females mated either with irradiated males (IM × IF) or normal males (NM × IF) declined at higher doses, but it did not appear to be hampered in normal females mated with irradiated males (IM × NF). These results clearly indicate that egg-laying in *E. bombycis*

Table I. Effects of gamma-irradiation on the fecundity and hatchability in *E. bombycis*.Tableau I. Effets de l'irradiation gamma sur la fécondité et l'éclosion de *E. bombycis*.

Radiation Dose (Gy)	Treatments	Fecundity			Hatchability/ (% egg-hatch)		
		Mean $\pm$ SE	% Reduction over control	CPV	Mean $\pm$ SE	% Reduction over control	CPV
		Fécondité			Éclosion (% d'oeufs éclos)		
	Traitements	Moyenne $\pm$ IC	% de baisse par rapport au témoin	CPV	Moyenne $\pm$ Ecart type	% de baisse par rapport au témoin	CPV
0 (control) 0 (témoin)	NM $\times$ NF	392.00 $\pm$ 7.17a	-	-	96.38 $\pm$ 0.67a	-	-
2.5	IM $\times$ IF	340.14 $\pm$ 13.01b	13.22	-	74.26 $\pm$ 0.81bc	22.95	-
	IM $\times$ NF	253.29 $\pm$ 7.05cg	35.39	7.56***	86.83 $\pm$ 1.08ab	9.90	1.32ns
	NM $\times$ IF	278.37 $\pm$ 8.02 cd	28.99	2.82*	90.94 $\pm$ 1.33a	5.64	4.31**
5	IM $\times$ IF	326.36 $\pm$ 5.69b	16.74	-	64.34 $\pm$ 0.96cf	33.24	-
	IM $\times$ NF	272.32 $\pm$ 6.05ce	30.53	11.04***	70.58 $\pm$ 0.79cf	26.76	9.67***
	NM $\times$ IF	302.34 $\pm$ 8.66df	22.89	5.98***	79.36 $\pm$ 0.71 bc	17.65	1.04ns
10	IM $\times$ IF	355.54 $\pm$ 5.62b	9.30	-	30.95 $\pm$ 0.87d	67.89	-
	IM $\times$ NF	225.38 $\pm$ 5.09gi	42.51	20.51***	42.98 $\pm$ 1.02bc	55.41	18.34***
	NM $\times$ IF	323.38 $\pm$ 8.26bf	17.51	5.46***	58.92 $\pm$ 1.05f	38.86	4.13***
20	IM $\times$ IF	2.47 $\pm$ 0.23h	99.37	-	0	-	-
	IM $\times$ NF	218.00 $\pm$ 6.78i	44.39	3.14*	7.32 $\pm$ 0.63g	-	-
	NM $\times$ IF	1.98 $\pm$ 0.08h	99.49	81.99***	0	92.32	108.74***
40	IM $\times$ IF	0	-	-	0	-	-
	IM $\times$ NF	200.00 $\pm$ 7.5li	48.98	20.77***	0	-	-
	NM $\times$ IF	0	-	-	0	-	-

NM - Normal Male / Mâle normal ; NF - Normal female / Femelle normale ; IM - Irradiated female / Femelle irradiée ; CPV - Contrast probability values / Valeurs de probabilité ; * $P < 0.05$. ** $P < 0.01$. *** $P < 0.001$; ns - not significant / non significatif. Means followed by the same letter are not significant ($P = 0.05$) / Les moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P = 0.05$).

was adversely affected by irradiating females with 20-40 Gy.

Though in general, females lived longer than males in both control and treatment groups (Fig. 2.), longevity in either sex was found to be reduced significantly with the increase of doses ($P < 0.05$).

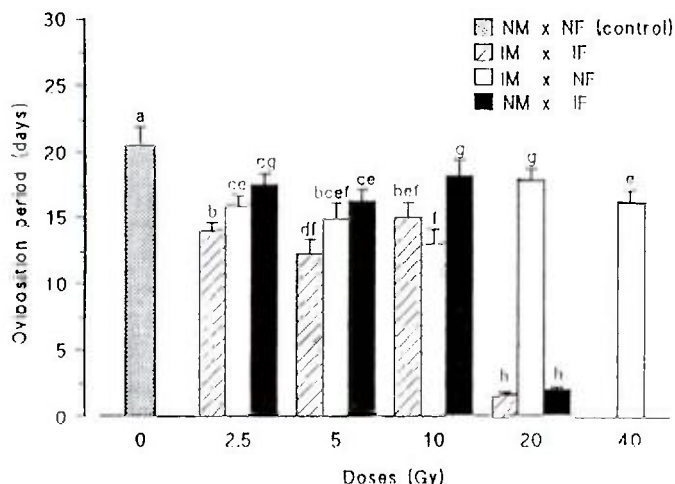


Fig. 1. Radiation-induced changes in oviposition period of *E. bombycis* obtained for different treatments (Bars followed by the same letters are not significant ($P = 0.05$)).

Fig. 1. Changements dans la durée d'oviposition chez *E. bombycis* obtenus avec différents traitements d'irradiation.

(Les colonnes suivies par les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes ($P = 0,05$).)

However, it has been noted that the females derived from the crosses IM $\times$ IF and IM $\times$ NF had much reduced longevity than those originated from the cross NM $\times$ IF. Longevity of the male, in contrast, was found to be declined sharply in crosses IM $\times$ IF and NM $\times$ IF compared to IM $\times$ NF.

The present results clearly support the findings of Kumar *et al.* (1990) who observed a sharp decline in the fecundity of *E. sorbillans* owing to pupal irradiation ranging from 10 to 80 krad. Similar decrease in fecundity of females paired with irradiated males has been reported in greater wax moth *Galleria mellonella* (L.) (Eischen *et al.*, 1984). Radiation-induced sterility in conjunction with reduced oviposition period as reported here (Table I, Fig. 1) has been noted earlier in *Stomoxys nigra* Macquart (Ramsamy, 1977). Moreover, the findings that irradiation reduces fertility in the uzi fly are in agreement with similar reports for such insects of economic importance as *Musca domestica* L., treated as late pupae at 3 krad (Jafri and Dar, 1976), *Lucilia cuprina* Wied treated as late pupae at 3- and 5 krad (Huda *et al.*, 1983) and *Dacus cucurbitae* treated as 2 days old pupae at 3 and 5 krad (Teruya, 1983).

Longevity of insects is one of the important reproductive potentials that not only influences factors such as vigour, mating ability, number of matings and sperm transfer (Fried, 1971; Hooper & Katiyar, 1971), but also is considered as a deciding factor for success of any sterile insect release program (Nation & Burditt, 1994). Here, we have clearly demonstrated that the longevity of the uzi flies obtained from irradiated pupae of either sex depended on the dose levels (Fig. 2). This is similar to the observations reported earlier for *Ceratitis capitata* Wied. (Hafez and Shoukry, 1972) and *Dacus cucumis* French (Hooper, 1975). However, our results differ from that of Kumar *et al.* (1990) who treated 8 day-old pupae of *E. sorbillans* with 8 Krad and found no significant differences in longevity between sexes. This could be due to the fact that the radiosensitivity of insects is greatly influenced by their stage/age (Hooper, 1970; Willard & Cherry, 1975; Hasan, 1995).

The findings of the present experiments led to conclude that the pupal irradiation with 20-40 Gy is effective in reducing the reproductive potential of *E. bombycis*. Such an approach appears to be quite economic and feasible for controlling *E. bombycis*.

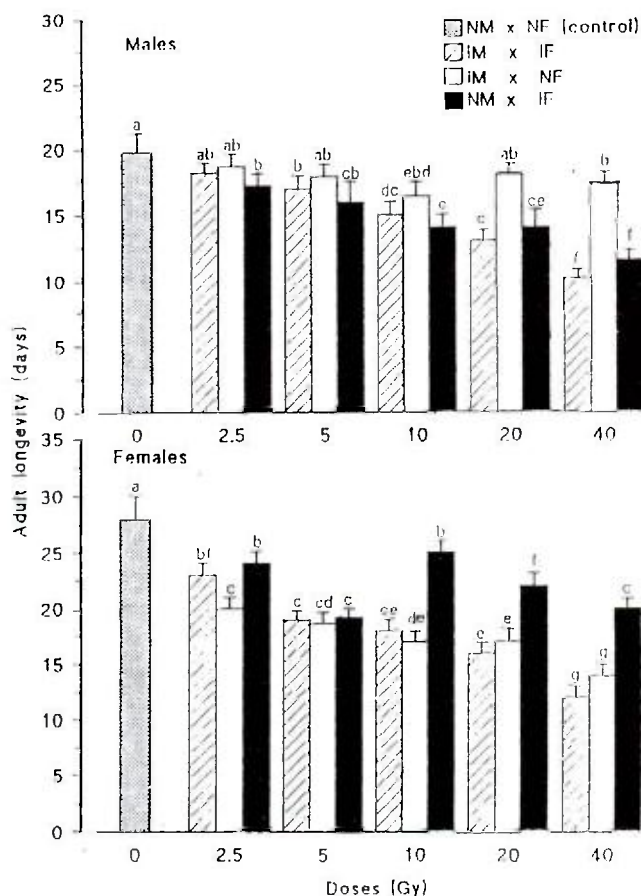


Fig. 2. Radiation-induced changes in adult longevity of *E. bombycis* recorded for different treatments (Bars followed by the same letters are not significant ($P = 0.05$)).

Fig. 2. Changements de la longévité adulte de *E. bombycis* obtenus avec différents traitements d'irradiation (les colonnes suivies par les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes ($P = 0,05$)).

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Professor A. R. Khan for suggesting the problem. The technical assistance received from the laboratory staff of the Department of Zoology, University of Rajshahi, Bangladesh is also thankfully acknowledged. We would like to thank the Director, Institute of Food and Radiation Biology, Atomic Energy Research Establishment, Dhaka, Bangladesh, for radiation facilities.

REFERENCES

- ANDREWARTHA H. G., MUMFORD J., RICHARDSON N. L. (1967) The use of sterile males to control populations of Queensland fruit fly *Dacus tryoni* (Frogg) (Diptera: Tephritidae). II. Field experiment in New South Wales. *Aust. J. Zool.*, 15, 475-499.
- DUCOFF H. S. (1972) Causes of death in irradiated adult insects. *Biol. Rev.*, 47, 211-240.
- EISCHEN F. A., DIETZ A., BROWER J. H. (1984) Effect of ageing on the mating competitiveness of irradiated male greater wax moths (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.*, 77, 1534-1536.
- FRIED M. (1971) Determination of sterile insect competitiveness. *J. Econ. Entomol.*, 64, 869-872.
- HAFEZ M., SHOUKRY A. (1972) Effect of irradiation on the adult fecundity and longevity of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* Wied. in Egypt (Diptera: Tephritidae). *Z. ang. ent.*, 72, 59-66.

- HASAN M. (1995) Comparative sensitivity of *Tribolium* spp. to gamma irradiation throughout ontogeny. Ph. D. Thesis, Newcastle Univ. UK 261 pp.
- HINTZ J. L. (1990) Number Cruncher Statistical System, version, 5.03 NCSS, Keysville, UT.
- HOOPER G. H. S. (1970) Sterilisation of the Mediterranean fruit fly. pp. 3-11. In: Sterile-male technique for control of fruit flies. IFAA, Vienna. 175 pp.
- HOOPER G. H. S. (1975) Sterilisation of *Dacus cucumis* French (Diptera: Tephritidae) by gamma radiation. I. Effect of dose on fertility, survival and competitiveness. J. Aust. ent. Soc., 14, 81-87.
- HOOPER G. H. S., KATIYAR K. P. (1971) Competitiveness of gamma-sterilised males of the Mediterranean fruit fly. J. Econ. Entomol. 64, 1068-1071.
- HUDA S. M. S., HOOPER G. H. S., SING S. (1983) Sterilisation of the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) by gamma radiation. J. Aust. ent. Soc., 22, 201-204.
- JAHAN M. S. (1996) On the incidence, biotic potency and control of the uzi-fly, *Exorista sorbillans* Wiedemann, a parasitoid of silkworm, *Bombyx mori* L., M. Phil. thesis, Inst. of Biological Sciences, Rajshahi University, pp86.
- JAFRI R. H., DAR I. A. (1976) Cytological study of gamma irradiated testes of the house fly *Musca domestica* L., Review of Appl. Entomol. series, B. vol. 64(4). Abs. 1013, pp 297.
- KILGORE W. W., DOUTT R. L. (1967) Pest control: biological, physical and selected chemical methods. Academic Press, London, 147 pp.
- KNIPLING E. F. (1960) The eradication of the screwworm. Sci. Am., 203, 54-61.
- KUMAR P., JAYAPRAKAS C. A., KISHORE R., SENGUPTA K. (1990) Effect of gamma radiation on the reproductive potential of the uzi fly. Indian J. Seric., 29, 295-296.
- KUMAR P., KUMAR A., SHING B. D., SENGUPTA K. (1989) Parasites of the uzi fly *Exorista sorbillans* Wiedemann (Diptera: Tachinidae): Morphology of immature stages of *Nesolynx thymus* (Girault) (Hymenoptera: Eulophidae) Indian J. Seric., 28, 233-237.
- NAHAR A., BARMAN A. C., PASHA K. (1992) Use of phenol as an effective ovicide for the control of imago disease of silkworm, *Bombyx mori* L., Sericologia, 32, 327-330.
- NARAYANASSWAMY K. C., DEVAIAH M., GOVINDAN R. (1993) Bioecology of Indian uzi fly, *Exorista bombycis* (Louis) (Diptera: Tachinidae). Bull. Sericult. Res., 4, 27-31.
- NATION J. L., BURDITT JR A. K. (1994) Irradiation. In: Insect pests and fresh horticultural products: Treatments and responses (Eds. Paull, R. E. and Armstrong, J. W.), CAB International. 85-102pp.
- PAL R. (1974) WHO/ICMR program of genetic control of mosquitoes in India. In: The use of genetics in insect control (Eds. Pal, R. and Whitten, M. J.) Elsevier, the Netherlands. 73-95pp.
- RAI K. S., LORIMER N., HALLINAN E. (1974) The current status of genetic methods for controlling *Aedes aegypti*. In: The use of genetics in insect control (eds. Pal, R. and Whitten, M. J.). Elsevier. The Netherlands. 119-132 pp.
- RAMSAMY M. (1977) Effects of gamma radiation on the stable fly, *Stomoxys nigra* Macquart (Diptera: Muscidae). Bull. ent. Res., 67, 49-56.
- RAY A. A. (1982) SAS user's guide: basic. SAS Institute, Cary, N. C.
- RHODE R. H., LOPEX F. D., EGUISA F., (1961) Effects of gamma radiation on the reproductive potential of the Mexican fruit fly. J. Econ. Ent., 54, 202-203.
- STEINER L. F., HARRIS E. J., MICHELL W. C., FUJIMOTO M. S., CHRISTENSON L. D. (1965) Melon fly eradication by overflooding with sterile flies. J. Econ. Ent., 58, 519-522.
- TERUYA T. (1983) Sterilisation of the melon fly, *Dacus cucurbitae* coquiliet (Diptera: Tephritidae), with gamma-radiation: Fertility of F₁ progeny of flies treated with substerilizing doses. Appli. Ent. Zool., 18(3), 335-341.
- TILTON E. W., BROWER J. H. (1983) Radiation effects on arthropods. In: preservation of food by ionizing radiation (Ed. E. S. Josephson & M. S. Peterson), vol. II pp. 269-316, CRC Press. Inc., Boca Raton, Florida.
- WILLARD W. K., CHERRY D. S. (1975) Comparative radiosensitivity in the class Insecta. J. theor. Biol., 52, 149-158.

EFFETS DE L'IRRADIATION GAMMA SUR LA LONGEVITE ADULTE ET LA REPRODUCTION DE LA MOUCHE UZI *EXORISTA BOMBYCIS* (LOUIS), UN ENDOPARASITOIDE DU VER A SOIE, *BOMBYX MORI* L.

M. SARWAR JAHAN, S. MAHFUZAR RAHMAN, M. MAHBUB HASAN* & M. SAIFUL ISLAM

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

Les effets de l'irradiation gamma à 2,5-, 10-, 20- et 40-Gy de pupes de 2 jours de la mouche uzi, Exorista bombycis (Louis) sur la longévité adulte et le potentiel reproductif ont été observés en laboratoire. On observe que l'irradiation gamma raccourcit la longévité adulte, la fécondité, la période de ponte et la fertilité de manière significative chez E. bombycis après que des croisements entre mâle irradié et femelle irradiée et mâle normal et femelle irradiée aient été faits. On observe que les doses de radiation à partir de 20-gy et au-delà sont efficaces pour induire une stérilité chez E. bombycis tandis qu'on n'observe aucune éclosion des oeufs à 40-Gy.

INTRODUCTION

La mouche uzi, *Exorista bombycis* (Louis) (Diptera : Tachinidae) est un endoparasitoïde sérieux du ver à soie, *Bombyx mori* L., à la fois dans les pays tropicaux et subtropicaux. Elle cause de 20 à 40 % de perte pour l'industrie séricicole (Kumar et coll., 1989 ; Nahar et coll., 1992 ; Narayanasswamy et coll., 1993). Il n'est pas possible de lutter contre cet insecte par traitement insecticide à cause des conséquences sur la croissance et le développement de *B. mori* (Jahan, 1996).

La lutte contre les insectes par radiostérilisation présente des avantages par rapport à la lutte chimique, car elle n'a pas d'effets toxiques sur les organismes non ciblés. Il a déjà été suggéré d'utiliser la méthode de stérilisation de l'insecte induite par radiation pour un certain nombre d'espèces comme le ver *Cochlomya hominivorax* (Coquerel), la mouche du melon *Dacus cucurbitae* Coquillett et la mouche du fruit Queensland *Dacus tryoni* (Frogg) (Knippling, 1960, Steiner et coll., 1965, Andrewartha et coll., 1967). Une analyse de la littérature révèle aussi que l'irradiation gamma a été utilisée avec succès pour induire la stérilité chez plusieurs diptères comme la mouche du fruit mexicain *Anasirepha ludens* Loew (Rhode et coll., 1961), la mouche domestique *Musca domestica* L. (Kilgore & Douth, 1967) et les moustiques, *Culex fatigans* Wied. (Pal, 1974) et *Aedes aegypti* L. (Rai et coll., 1974).

L'efficacité de l'irradiation gamma varie selon les espèces d'insectes soumises à la radiation et la dose de radiation (Ducoff, 1972). Le stade pupal des insectes est recommandé pour l'irradiation étant donné qu'il minimise le problème de manipulation (Tilton & Brower, 1983). Compte tenu de la nuisance de *E. bombycis* envers *B. mori* et des perspectives de lutte par irradiation gamma, les expériences actuelles ont été réalisées pour estimer les effets de différentes doses de radiation gamma sur plusieurs paramètres biologiques de *E. bombycis* dans des conditions de laboratoire.

* Auteur auquel la correspondance doit être adressée.

MATERIELS ET METHODES

Des pupes saines de *E. bombycis* ont été sélectionnées sur la culture mère (comme l'a mentionné Jahan, 1996) de la mouche uzi maintenue au *Silkworm Research Laboratory, Department of Zoology*, Université de Rajshahi au Bangladesh. Des pupes de deux jours sont soumises à l'irradiation gamma à 2,5-, 5-, 10-, et 40- Gy (1Gy = 100 rads) par un flux de 640 Gy/h provenant de Co^{60} à l'*Institute of Food and Radiation Biology*, Etablissement de Recherche sur l'Energie Atomique, à Dhaka au Bangladesh. Pour chaque dose, 300 pupes sont irradiées en trois répétitions de 100 chacune. Un nombre égal de mâles et de femelles non traités d'un groupe d'âge similaire à celui des lots traités sont pris comme témoins.

Après les traitements, les pupes d'expérimentation sont gardées séparément dans des cages grillagées en fer (25cm × 25cm × 25cm). A l'éclosion adulte, elles sont triées par sexe par l'examen des organes génitaux. Pour les croisements individuels (voir plus bas), cinq couples sont introduits dans des bechers (500 ml) recouverts avec une fine moustiquaire attachée avec des élastiques. Quatre croisements sont réalisés séparément pour chaque dose comme suit : (i) mâle normal (NM) × femelle normale (NF) ; (ii) mâle irradié (IM) × femelle irradiée (IF) ; (iii) mâle irradié (IM) × femelle normale (NF) et (iv) mâle normal (NM) × femelle irradiée (IF).

On donne une solution de glucose à 10 % aux mouches adultes contenue dans une boule de coton placée dans la cage (Kumar et coll., 1990). Cinq larves de *B. mori* au début du cinquième âge sont disposées dans les récipients pour enregistrer la fécondité et l'éclosion des mouches. Un lot frais de larves de vers à soie remplace les anciennes toutes les 24 h jusqu'à la mort des femelles. Les larves *B. mori* testées sont examinées quotidiennement pour enregistrer le nombre d'oeufs pondus par les femelles. Par la suite, elles sont élevées dans des plateaux séparés, dans un placard d'élevage grillagé, pour éviter l'infestation supplémentaire par des mouches naturelles. L'éclosion des oeufs est enregistrée quotidiennement pour observer les marques noires sur le corps de l'hôte. Les données sur la fécondité, l'éclosion (oeufs éclos), la période de ponte et la longévité adulte chez toutes les mouches témoins et traitées sont enregistrés. Les données sont analysées puis traitées en graphiques en utilisant respectivement les systèmes logiciels Minitab Inc. et Fig-P. Les valeurs de probabilité (CPV) pour l'hypothèse nulle sont calculées en utilisant l'équation de Ray (1982) : $(T_1 + T_2)/2 = T_3$ où T_1 et T_2 sont respectivement les groupes témoins individuels et les groupes de croisements en traitement et T_3 est le groupe de croisement du traitement témoin. Pour évaluer les changements induits par la radiation sur la période de ponte et la longévité adulte, les procédures de comparaisons multiples de Tukey (Hintz, 1990) sont utilisées. Les expériences sont réalisées à $30 \pm 3^\circ \text{C}$ et $75 \pm 4\%$ d'humidité relative.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les effets de l'irradiation pupale sur la fécondité et l'éclosion chez *E. bombycis* sont présentés dans le Tableau I. On observe que la fécondité des femelles normales (NF) et des femelles irradiées (IF) accouplées avec soit des mâles normaux (NM) soit des mâles irradiés (IM) baisse de manière significative par rapport à celle enregistrée pour les témoins femelles (tests de probabilité de Ray $P < 0,05$ et $P < 0,001$ respectivement). La fécondité des femelles fluctue suivant les variations de la dose de 2,5 à 10 Gy et il a été montré que les doses plus élevées (20-40 Gy) causent une stérilité presque complète chez les femelles. La fécondité des femelles normales accouplées avec les mâles irradiés (IM × NF) baisse de manière non significative par rapport aux croisements (NM × IF) et (IM × IF), ce qui indique que les femelles irradiées plutôt que les mâles irradiés ont un effet sur ce paramètre reproductif. L'éclosion, d'autre part, baisse de manière significative en fonction de la dose, l'effet d'irradiation étant sévère à 20- et 40- Gy ($P < 0,001$). Cependant, on observe que l'irradiation des deux sexes a des effets sur ce paramètre (Tableau I).

Les changements induits par l'irradiation sur la durée de la ponte et la longévité adulte de *E. bombycis* sont présentés respectivement dans les figures 1 et 2. La durée de ponte des mouches baisse

de manière significative pour toutes les doses par rapport au témoin (comparaisons multiples de Tukey $P < 0,05$). On observe que la durée de ponte des femelles irradiées accouplées avec soit des mâles irradiés (IM $\times$ IF) soit avec des mâles normaux (NM $\times$ IF) baisse avec des doses plus élevées, mais elle ne semble pas être touchée chez les femelles normales accouplées avec des mâles irradiés (IM $\times$ NF). Ces résultats indiquent clairement que 20-40 Gy ont des effets négatifs sur la ponte d'oeufs chez *E. bombycis*.

Bien qu'en général, les femelles vivent plus longtemps que les mâles à la fois chez les groupes témoins et les groupes traités (Fig. 2.), on observe que la longévité baisse de manière significative chez les deux sexes avec l'augmentation des doses ($P < 0,05$). Cependant, il a été noté que les femelles dérivées des croisements IM $\times$ IF et IM $\times$ NF ont une longévité bien plus réduite que celles obtenues à partir du croisement NM $\times$ IF. La longévité du mâle par opposition, baisse considérablement pour les croisements IM $\times$ IF et NM $\times$ IF par rapport à IM $\times$ NF.

Les résultats actuels confirment clairement les observations de Kumar et coll., (1990) qui ont observé une baisse soudaine de la fécondité chez *E. sorbillans* grâce à l'irradiation pupale comprise entre 10 à 80 krad. Une baisse similaire de la fécondité des femelles accouplées avec des mâles irradiés a été signalée chez la grande teigne des ruches *Galleria mellonella* L. (Eischen et coll., 1984). La stérilité induite par irradiation conjointement à une durée de ponte réduite ainsi qu'il est signalé ici (Tableau I, Fig. 1) a été déjà observée chez *Stomoxys nigra* Macquart (Ramsamy, 1977). De plus, les observations sur le fait que l'irradiation réduit la fertilité chez la mouche uzi sont en accord avec des rapports similaires sur des insectes importants sur le plan économique tels que *Musca domestica* L., traitement tardif des pupes à 3 krad (Jafri et Dar, 1976), *Lucilia cuprina* Wied traitement tardif des pupes à 3- et 5 krad (Huda et coll., 1983) et *Dacus cucurbitae* traitement des pupes de 2 jours à 3 et 5 krd (Teruya, 1983).

La longévité des insectes est un important paramètre du potentiel reproductif qui non seulement influence des facteurs tels que la vigueur, la capacité d'accouplement, le nombre d'accouplements et le transfert de sperme (Fried, 1971 ; Hooper & Katiyar, 1971) mais est aussi considérée comme un facteur décisif de succès pour n'importe quel programme de stérilisation des insectes (Nation & Burditt, 1994). Ici, nous avons clairement démontré que la longévité des mouches uzi obtenues à partir de pupes irradiées de l'un des sexes dépend des niveaux des doses (Fig. 2). Cela est similaire aux observations signalées plus tôt pour *Ceratitis capitata* Wied. (Hafez et Shoukry, 1972) et *Dacus cucumis* French (Hooper, 1975). Cependant, nos résultats diffèrent de ceux de Kumar et coll. (1990) qui ont traitées des pupes de 8 jours de *E. sorbillans* avec 8 Krad et n'ont observé aucune différence significative de longévité entre les sexes. Cela pourrait être dû au fait que la radiosensibilité des insectes est grandement influencée par leur âge (Hooper, 1970 ; Willar & Cherry, 1975 ; Hasan, 1995).

Nos observations permettent de conclure que l'irradiation pupale avec 20-40 Gy est efficace pour la réduction du potentiel reproductif chez *E. bombycis*. Une telle approche apparaît comme un moyen économique et faisable pour lutter contre *E. bombycis*.

UTILISATION DES METHODES D'ANALYSES MULTIVARIEES DANS LE GROUPEMENT DES MATERIELS GENETIQUES DU MURIER, *MORUS* SP.

IVANI POZAR OTSUK, JOSE EDUARDO DE ALMEIDA, TAMARA CANTO FONSECA

Instituto de Zootecnia, Rua Heitor Penteado 56, CP 60, CEP 13, 460-000, Nova Odessa, SP, Brésil.

Le but de ce travail a été d'évaluer des clones du mûrier appartenant à la banque de germoplasmes de l'Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, Brésil. La caractérisation morphologique et la production de feuilles ont été évaluées à travers des méthodes variées : (a) pour la vérification des caractères stables les plus distinctifs, l'analyse en composantes principales a été utilisée; (b) pour les données quantitatives (étalonnées) et qualitatives, l'analyse de groupement a été faite en utilisant la distance euclidienne moyenne et (c) pour le groupement des clones, la méthode UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic average). La méthodologie ici employée s'est révélée convenable pour caractériser des clones du mûrier.

Mots clé: Analyse de groupement, analyse en composantes principales, amélioration du mûrier, caractérisation morphologique, production de feuilles.

INTRODUCTION

La sériciculture est une activité économique importante dans plusieurs états brésiliens. Cependant, malgré les bons résultats économiques obtenus par les sériculteurs, la production des cocons par unité de terrain cultivée avec le mûrier, est basse par rapport à d'autres pays où on pratique la sériciculture (Fonseca et coll., 1985a).

Il faut rappeler que la productivité et la qualité des cocons sont fortement liées à la quantité, la qualité et la régularité de la nourriture fournie aux vers (Hazama, 1968).

En considérant les principales espèces de mûrier au monde, il y en a trois qui sont plus intéressantes pour la sériciculture : *Morus alba* L., *M. lhou* Koidz. et *M. bombycis* Koidz. (Japon, 1975).

En visant l'obtention de clones à haute valeur nutritive et à haute production, l'*Instituto de Zootecnia* au Brésil soutient un programme d'amélioration du mûrier pouvant être reproduit par bouture (Fonseca et coll., 1994). Ainsi, par ce type de reproduction, on peut profiter intégralement de tout le progrès obtenu dans un cycle de sélection (Almeida, et coll., 1991).

Des études réalisées dans le monde entier ont démontré que des individus génétiquement distants, dans une espèce déterminée, ont une probabilité majeure de produire des combinaisons supérieures dans la descendance. Ainsi, dans un programme d'amélioration qui explore l'hybridation, il est désirable d'avoir une connaissance préalable des distances génétiques des parents, ce qui permet de gagner du temps et d'obtenir une plus grande probabilité de réussite.

Dans ce but on a évalué 29 clones de la banque de germoplasmes du mûrier de l'*Instituto de Zootecnia*, à travers les méthodes d'analyse multivariée.

MATERIELS ET METHODES

Les matériels utilisés dans cette étude sont 29 clones de la banque du germoplasmes du mûrier de l'Instituto de Zootecnia, localisé au Centro Estadual de Pesquisas Aplicadas a Sericicultura (CEPAS), Galia, Etat de Sao Paulo (tableau I). Dans ces matériels, on a enregistré des caractères morphologiques et de production pendant plusieurs années, toujours sur la base moyenne de dix répétitions (tableau II) dont les données originales sont le travail de Fonseca et coll., (1985a).

Tableau I. Les 29 clones du mûrier (*Morus* sp.) de la banque de germoplasme du CEPAS, Instituto de Zootecnia, Galia, SP, Brésil.

Table I. The 29 mulberry clones (Morus sp) of the CEPAS germplasm bank, Instituto de Zootecnia, Galia, SP, Brazil.

No.	Clone	No.	Clones
01.	Branca da Espanha	16.	Moscatela
02.	Calabresa	17.	Nezumigaeshi
03.	Catania 1	18.	Nostrana
04.	Catania 2	19.	Paduana
05.	Catania Paulista	20.	pendula
06.	Contadini	21.	Rosa
07.	Fernao Dias	22.	Rosa da Lombardia
08.	Florio	23.	23.Rosol
09.	Formosa	24.	Selvage
10.	Galiana	25.	Serra das Araras
11.	Iamada	26.	Siciliana
12.	Kokuso 21	27.	Talo Roxo
13.	Kokuso 27	28.	Tietê
14.	Lopes Lins	29.	Ungaresa
15.	Moretiana		

Parmi les 29 clones unisexués faisant l'objet de cette étude, 28 appartiennent à l'espèce *M. alba* L. (Fonseca et coll., 1985b) et le Kokuso 21 appartient à *M. latifolia* Poir (Susheelama et coll., 1990).

Les données ont été séparées en deux classes à savoir :

- quantitatives: on a utilisé les données originales telles que : largeur de feuilles en centimètres ou poids de feuilles en grammes ;

- qualitatives : elles ont été divisées en classes auxquelles on a attribué des valeurs numériques telles que : aire de la feuille $\rightarrow$ valeur 1 = petite (200 cm^2), valeur 2 = moyenne (de 201 à 300 cm^2), valeur 3 = grande ($> 300 \text{ cm}^2$); nombre de feuilles par mètre de branche $\rightarrow$ valeur 1 = petit (< 22 feuilles), valeur 2 = moyenne (de 22 à 30 feuilles), valeur 3 = grand (> 30 feuilles) Il a été procédé ainsi avec tous les autres caractères.

Les données ont été, en préliminaire, soumises à l'analyse en composantes principales (Mardia et coll., 1972), en utilisant les données des dix sept caractères disponibles (tableau III). Le critère adopté pour l'élimination est basé sur les coefficients de pondération des caractères associés aux dernières composantes, qui contiennent la part minimale de la variation totale. Ainsi, les caractères qui présentent des valeurs propres (valeur propre = eigenvalue) inférieure à 0,07 dans les dernières composantes principales, doivent être écartés selon les propositions de Jolliffe (1972 et 1973) avant de continuer l'analyse.

Pour l'analyse de groupement, on admet, selon Bussab et coll., (1990) comme mesure de la disparité, la distance euclidienne moyenne, pour les données quantitatives, convenablement étalonnées et pour les données qualitatives. Les groupes ont été formés par la méthode UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic average).

Tableau II. Les 17 caractères évalués sur les 29 clones du mûrier (*Morus* sp.).

Table II. The 17 characters assessed on the 29 clones of mulberry (*Morus* sp.).

Caractères / Characters	Description
01. Longueur de feuille (C) / <i>Leaf length (C)</i>	quantitatif (cm) / <i>quantitative (cm)</i>
02. Largeur de la feuille (L) / <i>Leaf width (L)</i>	quantitatif (cm) / <i>quantitative (cm)</i>
03. Aire de la feuille (C × L) / <i>Leaf area (C × L)</i>	codes 1-3
04. Longueur du pétiole / <i>Petiole length</i>	quantitatif (cm) / <i>quantitative (cm)</i>
05. Nombre de feuilles / mètre de branche <i>Number of leaves / metre of branch</i>	codes 1-3
06. Poids total des feuilles / mètre de branche <i>Leaves total weight / metre of branch</i>	quantitatif (cm) / <i>quantitative (cm)</i>
07. Poids unitaire de la feuille / mètre de branche <i>Single leaf weight / metre of branch</i>	codes 1-3
08. Poids du mètre de branche / <i>one metre branch weight</i>	codes 1-3
09. Longueur d'entre-noeud / <i>Internodal distance</i>	codes 1-3
10. Production de feuilles/poids de branche <i>Leaf production / branch weight</i>	codes 1-3
11. Forme de surface de la feuille / <i>Leaf area shape</i>	codes 1-6
12. Forme de la base de la feuille / <i>Leaf basis shape</i>	codes 1-5
13. Forme du bord de la feuille / <i>Leaf edge shape</i>	codes 1-4
14. Surface de la feuille / <i>Leaf area</i>	codes 1-3
15. Couleur du cortex / <i>Cortex color</i>	codes 1-8
16. Grandeur du bourgeon / <i>Bud size</i>	codes 1-3
17. Sexe / <i>Sex</i>	codes 1-2

Tableau III. Estimations de la variance et pourcentage accumulé de la variance totale (%), obtenus par l'analyse des composantes principales en considérant 29 clones du mûrier (*Morus* sp) et 17 caractères.

Table III. Estimates of variance and built up percentage of total variance (%), obtained through the analysis of main components taking into account 29 clones of mulberry (Morus sp.) and 17 characters.

Composantes principales	Clones		Composantes principales	Clones	
	Valeurs propres	%		Valeurs propres	%
<i>Main components</i>	<i>Clones</i>		<i>Main components</i>	<i>Clones</i>	
	<i>Real values</i>	%		<i>Real values</i>	%
Y1	5,940	34,94	Y10	0,379	96,70
Y2	3,199	53,76	Y11	0,249	98,17
Y3	1,609	63,23	Y12	0,157	99,10
Y4	1,486	71,97	Y13	0,092	99,63
Y5	1,181	78,92	Y14	0,032	99,82
Y6	1,075	85,24	Y15	0,021	99,94
Y7	0,600	88,77	Y16	0,008	99,99
Y8	0,544	91,97	Y17	0,001	100,0
Y9	0,425	94,47			

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Analyse en composantes principales :

L'analyse en composantes principales a été réalisée en considérant les 17 caractères, car ce genre d'analyse peut éclairer des aspects de la variabilité dans l'échantillon évalué.

Mardia et coll., (1979) assurent que si dans une analyse des composantes principales, les deux ou trois premières composantes accumulent un pourcentage relativement haut de la variance totale, en général plus de 80%, ils expliqueront de manière satisfaisante la variabilité manifeste entre les clones évaluées (tableau III). En fait, il a été observé une dispersion considérable de la variance dans le matériel étudié. Par contre, la dispersion de la variance sur plusieurs composantes est commune chez les banques de germoplasmes, car dans ce cas, cela n'est pas une population, mais une collection des matériels de différentes origines, ce qui a aussi été démontré par Pereira (1989) avec le manioc (*Manihot esculenta*) et par Barros (1991) avec le cajou (*Anacardium occidentale*).

On observe dans le tableau III, que les deux premières composantes sont responsables de 53,76 % de la variation totale. Ces résultats ne sont pas très décourageants puisque Hussaini et coll., (1977), ont obtenu avec les deux premières composantes principales, une variance accumulée autour de 50 %, et ils ont réussi à séparer un ensemble de variétés du millet (*Pennisetum typhoides*) en 12 groupes.

Cependant, l'efficacité de cette méthode est directement proportionnelle à la quantité de variance accumulée dans les premières composantes (Mardia et coll., 1979). Dans ce cas, comme il y a une

dispersion de la variance dans les six premières composantes, l'utilisation de l'analyse est limitée à l'établissement des groupes phénotypiques, par manque de précision dans la détection de petites différences phénotypiques (Cury, 1993).

Le diagramme de dispersion des 29 clones du mûrier (figure 1) sur la base des deux premières composantes principales, montre l'existence d'une large variabilité entre les clones, ceci bien que le pourcentage de variance accumulé ne soit que de seulement 53,76. Cela signifie que les clones Nezumigaeshi (17), Yamada (11), Serra das Araras (25 et Rosol (23), forment des groupes individuels, distinctifs et que les clones Kokuso 21 (12) et Kokuso 27 (13) forment un autre groupe.

Des points très proches, dans le diagramme de dispersion révèlent l'existence de clones semblables ou égaux entre eux.

2. L'écart des caractères:

Avec la technique des composantes principales, on a évalué l'importance de chaque caractère étudié sur la variation totale disponible. On a écarté les caractères moins importants, parce qu'ils ont une corrélation élevée avec d'autres caractères évalués selon le critère proposé par Jolliffe (1972).

Des dix-sept caractères considérés dans ce travail il a été possible d'en écarter quatre. Parmi les caractères longueur de la feuille, largeur de la feuille et aire de la feuille, on a pris le deuxième, dû à la facilité d'obtention des données. La même procédure a été appliquée pour les caractères nombre de feuilles par mètre de branche, poids total des feuilles par mètre de branche et poids unitaire de la feuille.

3. L'analyse de groupement :

La figure 2 présente les groupements des 29 clones du mûrier en considérant les 13 caractères sélectionnés montrant qu'il y a eu formation de dix groupes.

Dans cette analyse, l'isolement des clones Nezumigaeshi (17) et Branca da Espanha (1), indique que les caractères morphologiques considérés ont permis de détecter une distance génotypique entre

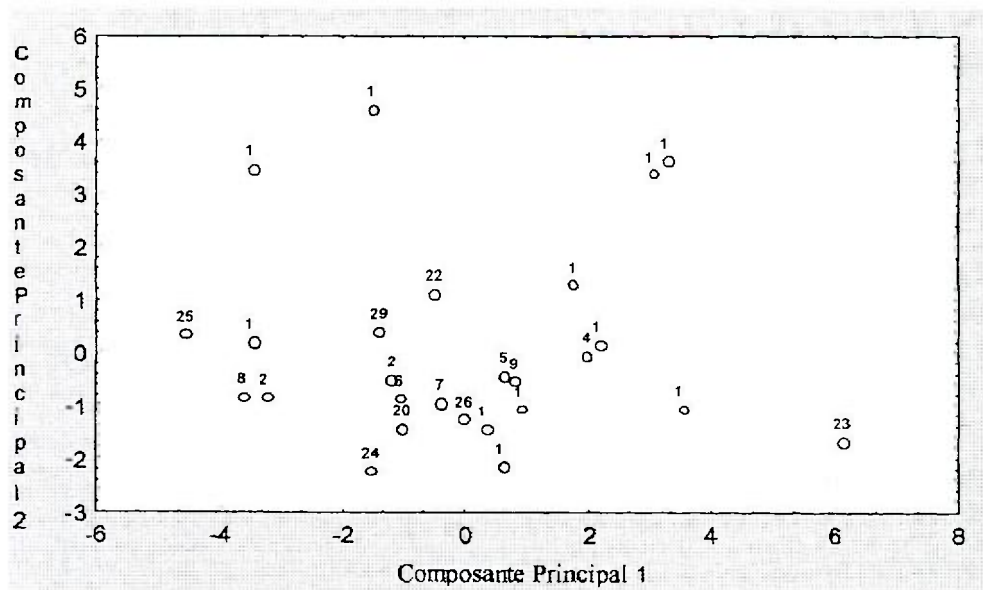


Fig. 1. Diagramme de dispersion des 29 clones de mûrier sur la base des deux premières composantes principales.

Fig 1. Dispersion diagram of the 29 mulberry clones on the basis of the first two main components.

ces clones d'origine exotique, c'est à dire japonaise et espagnole respectivement. La même certitude n'est pas atteinte pour les clones Jamada (11), Serra das Araras (25), Paduana (19) et Galiana (10), tous natifs.

Les clones Kokuso 21 et Kokuso 27 qui appartiennent au groupe III, ont été regroupés à part car ils présentent des caractéristiques morphologiques et des origines semblables (Susheelamma et coll., 1990).

En ce qui concerne le clone Rosol (23), il est isolé sur le diagramme de dispersion (figure 1) mais, il est groupé à d'autres clones sur l'analyse de groupement (figure 2). Ce clone, en fait, présente des feuilles avec un aspect différent quant à la forme et surface, suffisantes pour le séparer dans le diagramme de dispersion mais, insuffisant lorsqu'il y a plus de composantes considérées. Ainsi, le clone Rosol (23) reste associé aux clones de feuilles à grandes dimensions.

4. L'application pratique de l'analyse de groupement chez le mûrier :

Ce type d'analyse peut être considéré comme un instrument puissant dans un programme d'amélioration du mûrier, puisqu'il permet la planification de croisements qui permettent de produire des individus supérieurs.

L'Instituto de Zootecnia (Fonseca et coll., 1985b, 1986, 1987a, 1987b, 1987c, 1994) a développé un programme d'amélioration avec ces clones, avec 57 combinaisons et un nombre limité d'individus dans ces descendance. Ces travaux présentent des clones à production élevée descendant de parents qui ont été classifiés par cette analyse, en groupes distants. Par exemple, le clone IZ56/4, descend du croisement entre les clones Formosa (groupe VIII) et Catania Paulista (group IV); le clone IZ13/6 descend du croisement entre Fernao Dias (groupe VIII) et Kokuso 27 (groupe III) et le clone IZ57/2 descend du croisement entre Formosa (groupe VIII) et Kokuso 27 (groupe III); ils ont présenté des productions de feuilles égales à 12870, 11540 et 10750 kg/ha/an, respectivement. Ce sont des

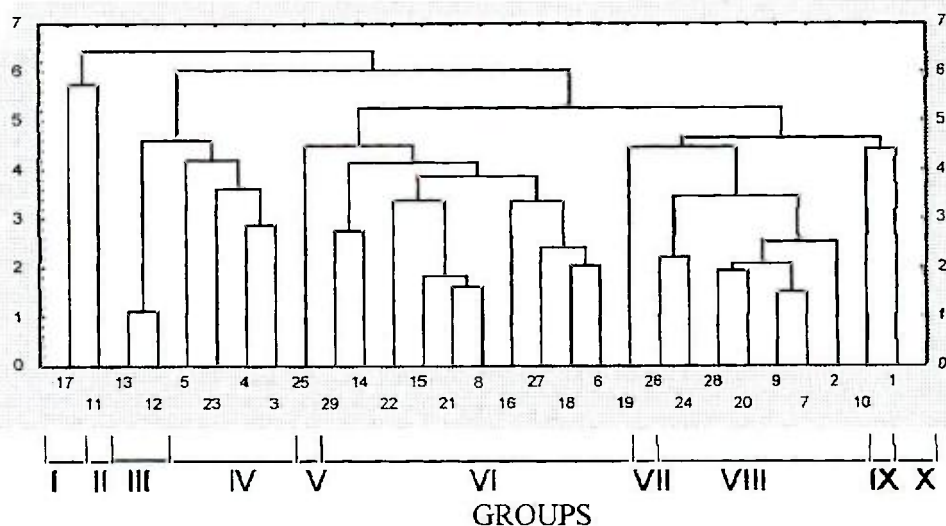


Fig 2. Groupement des 29 clones de mûrier par la méthode UPGMA, sur la base de la distance euclidienne, en considérant les 13 caractères sélectionnés.

Fig. 2. Clusters of 29 mulberry clones through the UPGMA method, on the basis of the euclidian distance considering the 13 selected characters.

productions élevées par rapport à la production de 5690 kg/ha/an obtenus pour le clone IZ23/8 provenant du croisement entre Rosol et Catania Paulista, tous les deux appartiennent au groupe IV.

Cependant, dans ce même travail, on a observé aussi des clones assez producteurs descendants des parents classifiés dans des groupes proches ou dans le même groupe et vice-versa. Il faut remarquer que ces descendants ne représentent pas la moyenne de la descendance à qui ils appartiennent, une fois qu'ils sont des individus, qui se reproduisent par bouture, sélectionnés et il n'y a pas d'information sur la production des individus écartés.

En considérant les limites des ressources et l'attention qu'il faut accorder à la sélection, il serait profitable d'établir de grandes descendance issues de croisements préalablement sélectionnés. Les clones classifiés dans des groupes distants doivent seulement être combinés de cette façon, parce qu'ils présentent une grande probabilité de produire une descendance supérieure. Par contre, il faut travailler avec des descendance plus nombreuses.

CONCLUSIONS

1. L'analyse de groupement est une méthodologie adéquate pour l'évaluation des germoplasmes du mûrier.
2. Les caractères morphologiques peuvent être utilisés de façon satisfaisante pour la séparation des clones.

REFERENCES

- ALMEIDA J.E, SOARES A. R., RAMALHO M. A.P, FONSECA T. C. (1991) Stabilité phénotypique chez le mûrier. *Sericologia*, 31(3) 469-474.
- BARROS L. M. (1991) Caracterização morfológica e isoenzimática do cajueiro. Piracicaba, 1991. 256p (Doutorado-ESALQ/USP)
- BUSSAB W. O, ANDRADE D. F. & MYAZAKI E. S. (1990) Introdução à análise de agrupamentos. In: Simposio Nacional de Probabilidade e Estatística, 9, SP, 1990, Simposio..., SP, IME/USP, 105 p.
- CURY R. (1993) Dinâmica evolutiva e caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na agricultura autóctone do sul do Estado de São Paulo. Piracicaba. 103p (Dissertação de Mestrado) Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Universidade de São Paulo.
- FONSECA A. S., FONSECA T. C., PAOLIERI L. (1985a) Caracterização de algumas variedades de amoreira. *Zootecnia*, Nova Odessa, SP, 23(2): 111-29.
- FONSECA A. F., FONSECA T. C., PAOLIERI L. (1985b) Melhoramento da amoreira por meio da hibridação artificial. *Boletim da Indústria Animal*, Nova Odessa, SP, 42(2): 265-76.
- FONSECA A. F., FONSECA T. C., SCHAMMASS E. A. (1986) Competição de híbridos naturais e artificiais de amoreira. *Boletim da Indústria Animal*, Nova Odessa, SP, 43(2) 367-373.
- FONSECA A. F., FONSECA T. C. SCHAMMASS E. A. (1987a) Competição de híbridos artificiais de amoreira (II). *Boletim da Indústria Animal*, Nova Odessa, SP, 44(2) 315-322.
- FONSECA A. F., FONSECA T. C., SCHAMMASS, E. A. (1987b) Competição de híbridos naturais e artificiais de amoreira (III). *Boletim da Indústria Animal*, Nova Odessa, SP, 44(2) 323-328.
- FONSECA A. F., FONSECA T. C., SCHAMMASS E. A. (1987c) Competição de variedades, híbridos artificiais de amoreira (IV). *Boletim da Indústria Animal*, Nova Odessa, SP, 44(2) 329-334.
- FONSECA T. C., ALMEIDA J. E., OKAMOTO F. (1994) Le programme d'amélioration du mûrier dans l'état de São Paulo au Brésil. *Sericologia* 34(4) 727-733.
- HAZAMA K. (1968) Breeding of mulberry tree. *Japan Agriculture Research Quarterly* 3(2) 15-19.
- HUSSAINI S. H., GOODMAN M. M. & TIMOTHY D. H. (1997) Multivariate analysis and the geographical distribution of the world collection of finger millet. *Crop Science*, Madison, Wis, 17:257-63.

- JAPAN (1971) Overseas Technical Cooperation Agency. Sericulture: mulberry silkworm rearing. Tokyo. 127p. (Technical Book Series, 18).
- JOLLIFFE I. T. (1972) Discarding variables in a principal component analysis: I. Artificial data. Applied Statistics, London, 21, 160-73.
- JOLLIFFE I. T. (1973) Discarding variables in a principal component analysis; I. Real data. Applied Statistics, London, 22: 21-31.
- KENDAL M. (1980) Multivariate analysis. High Wycombe, Charles Griffin. 209p.
- MARDIA K. V., KENT J. T., BIBBY J. M. (1979) Multivariate analysis. London: Academic press, 520p.
- PEREIRA A. V. (1989) Utilização de análise multivariada na caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crants). Tese Doutorado, Piracicaba, SP. ESALQ, 179f.
- SUSHEELAMMA B. N., KUMAR J. S., DANDIN, S. B, JOLLY M. S., SENGUPTA K., RAJU R. (1990) Karyomorphological studies in a exotic varieties of genus *Morus* L., Cytologia, Tokyo, 55: 107-114.

USE OF MULTIVARIATE ANALYSIS METHODS IN CLUSTERING OF MULBERRY *MORUS* SP. GENETIC MATERIALS

IVANI POZAR OTSUK, JOSE EDUARDO DE ALMEIDA, TAMARA CANTO FONSECA

Instituto de Zootecnia, Rua Heitor Penteado 56, CP 60, CEP 13, 460-000, Nova Odessa, SP, Brazil.

This work was aimed at assessing some mulberry clones belonging to the germplasm bank of the Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, Brazil. The morphological characterisation and the production of leaves were studied through various methods : (a) the main components analysis was used for checking the most distinctive stable characters ; (b) for the quantitative (standardised) and qualitative data, the cluster analysis was carried out by using the average euclidian distance and (c) for establishing clones clusters, the UPGMA method (unweighted pair group method with arithmetic average) was used. The methodology used here turned out to be suitable for characterising mulberry clones.

INTRODUCTION

Sericulture is an important economic activity in several Brazilian states. However, despite good economic results obtained by sericulturists, the production of cocoons per unit of land cultivated with mulberry, is low compared to other countries where sericulture is practised (Fonseca *et al.*, 1985a).

It has to be reminded that cocoons productivity and quality are highly linked to the quantity, the quality and the regularity of the food supplied to the worms (Hazama, 1968).

Taking into consideration the main mulberry species in the world, three of them are more interesting for sericulture : *Morus alba* L., *M. lhou* Koidz and *M. bombycis* Koidz (Japan, 1975).

In the aim of obtaining high production and nutritive value clones the *Instituto de Zootecnia* in Brazil supports an improvement program for mulberries, which can be reproduced through cuttings (Fonseca *et al.*, 1994). Thus, through this type of reproduction, it is possible to take advantage of all the progress obtained in a selection cycle (Almeida *et al.*, 1991).

Studies carried out in the whole world have proved that genetically distant individuals, in a precise species, had a major probability to produce higher combinations in the progeny. Thus in an improvement program exploring hybridisation, it is necessary to have a previous knowledge of the parents genetical distances, which enables to save time and to obtain a higher probability of success.

In this aim, 29 clones of the mulberry germplasm bank of the *Instituto de Zootecnia* were assessed, through multivariate analysis methods.

MATERIALS AND METHODS

The materials used in this study were 29 clones from the mulberry germplasm bank in the Instituto de Zootecnia, located in the *Centro Estadual de Pesquisas Aplicadas a Sericicultura* (CEPAS), Galia, Sao Paulo State (table I). The morphological and production characters for these materials, were registered during several years, always on the average basis of ten replications (table II), for which the original data come from the work of Fonseca *et al.*, (1985a).

Among the 29 unisexual clones used in this study 28 belong to the *M. alba* L. species (Fonsicca et al., 1985b) and Kokuso 21 belongs to *M. latifolia* Poir (Susheelama et al., 1990).

The data were separated into two classes i.e:

- quantitative: the original data were used such as: leaf width in centimetres or leaf weight in grams

- qualitative: they were divided into classes to which numerical values were given such as : leaf area —> value 1 = small (< 200 cm²), value 2 = average (201 to 300 cm²), value 3 = big (300 cm²); number of leaves per metre of branch —> value 1 = small (22 leaves), value 2 = average (22 to 30 leaves), value 3 = big (30 leaves). The same was done for all the characters.

The data were, first, submitted to the main components analysis (Mardia et al., 1972), using the data for the seventeen available characters (table III). The criteria adopted, for elimination was based on the balancing coefficients for the characters associated to the last components, which contained the minimum part for the total variation. Thus, the characters which presented eigenvalues lower than 0.07 in the last main components, had to be removed according to the Jolliffe proposals (1972 and 1973) before proceeding with the analysis.

For the cluster analysis, the average euclidian distance was admitted as the measure of disparity according to Bussab et al., (1990), for the quantitative data, suitably standardised and for the qualitative data. The clusters were formed according to the UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic average) method.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Main components analysis:

The main components analysis was carried out considering the 17 characters, because this type of analysis can throw light upon the variability aspects in the sample valued.

Mardia et al., (1979) claim that if in a main components analysis, the first two or three components accumulate a relatively high total variance percentage, in general more than 80 %, they will explain in a satisfactory way the obvious variability between the assessed clones (table III). In fact, a major dispersion in the variance was observed in the material studied. On the contrary, the variance dispersion in several components is common in germplasm banks because in this case, it is not a population, but a collection of materials from different origins, which was also demonstrated by Pereira (1989) with manioc (*Manihot esculenta*) and by Barros (1991) with cashew nut (*Anacardium occidentale*).

It can be noted in table III, that the first two components were responsible for 53.76% of the total variation. These results were not very discouraging since Hussaini et al., (1977) obtained an accumulated variance of about 50% with the first two main components and they succeeded in separating a group of millet varieties (*Pennisetum typhoides*) into 12 groups.

However, the efficiency of this method is directly proportional to the quantity of variance accumulated in the first components (Mardia et al., 1979). In this case, as there was a dispersion of the variance in the first six components, the use of the analysis was limited to the definition of phenotypic groups, because of the lack of precision in the detection of small phenotypic differences (Cury, 1993).

The dispersion diagram of the 29 mulberry clones (figure 1) on the basis of the first two main components, shows the existence of a big variability between the clones, although the accumulated variance percentage was only of 53.76. This means that the Nezumigacshi (17), Yamada (11), Serra das Araras (25) and Rosol (23) clones, constituted individual distinctive groups, and that the Kokuso 21 (12) and Kokuso 27 (13) clones constituted another group.

Some points very close, in the dispersion diagram disclose the existence of clones similar or equal between them.

2. Distance between characters:

With the main components technique, the importance of each character studied was assessed on the total variation available. The least important characters were removed, because they have a high correlation with other assessed characters according to the criteria proposed by Jolliffe (1972).

Out of the seventeen characters taken into consideration in this work, it was possible to set four aside. Among the characters, leaf length, leaf width and leaf area, the second one was taken, due to the easy way in obtaining the data. The same procedure was used for the characters, number of leaves per metre of branch, total weight of leaves per metre of branch and leaf unit weight.

3. Cluster analysis:

Figure 2 shows the clusters for the 29 mulberry clones considering the 13 selected characters and shows there was the formation of 10 groups.

In this analysis, the isolation of the Nezumigaeshi (17) and Branca da Espanha clones, showed that the morphological characters considered enabled to detect a genotypic distance between these clones from exotic origin, i.e Japanese and Spanish respectively. The same certainty is not reached for the lamada (11), Serra das Araras (25), Paduana (19) and Galiana (10) clones, all native.

The Kokuso 21 and Kokuso 27 clones which belong to group III, were grouped separately because they show similar morphological characters and origins (Susheelamma *et al.*, 1990).

As for the Rosol clone (23), it was isolated on the dispersion diagram (figure 1) but, it was grouped to other clones in the cluster analysis (figure 2). This clone, in fact, showed a different aspect leaf, regarding the shape and surface, sufficient for separating it in the dispersion diagram but, insufficient when there were more components considered. Thus, the Rosol clone (23) remained associated to the clones of high dimension leaf.

4. Practical implementation of the cluster analysis in mulberry:

This type of analysis can be considered as a powerful tool in a mulberry improvement program, since it enables to plan crossings which can produce superior individuals.

The *Instituto de Zootecnia* (Fonseca *et al.*, 1985b, 1986, 1987a, 1987b, 1987c, 1994) has developed an improvement program with these clones, with 57 combinations and a limited number of individuals in the progenies. These works show high production clones descending from parents which were classified in this analysis, as distant groups. For example, the IZ56/4 clone came from the crossing between the Formosa clones (group VIII) and Catania Paulista (group IV); the clone IZ13/6 came from the crossing between Fernao Dias (group VIII) and Kokuso 27 (group III) and the clone IZ57/2 came from the crossing between Formosa (group VIII) and Kokuso 27 (group III); they showed a leaf production equal to 12870, 11540 and 10750 kg/ha/year, respectively. These are high productions compared to the production of 5690 Kg/ha/year obtained for the clone IZ23/8 coming from the crossing between Rosol and Catania Paulista, which both belong to group IV.

However, in this same work, some clones producing quite a lot of progeny from parents classified in close groups or in the same group and vice-versa were observed. It has to be noticed that these progenies do not represent the progeny average to which they belong, once they are selected individuals which are reproduced through cuttings and there is no information on the production of the removed individuals.

Considering the limits of the resources and the attention to be granted to selection, it would be profitable to establish large progenies coming from crossings selected beforehand. The clones classified in the distant groups must only be combined this way, because they show a high probability of producing a high progeny. On the contrary, it is necessary to work with more numerous progenies.

CONCLUSIONS

1. The cluster analysis is a suitable methodology for assessing mulberry germplasms.
2. The morphological characters can be used in a satisfactory way for separating the clones.

FLUORIDE ACCUMULATION IN MULBERRY-SILKWORM SYSTEM NEAR INDUSTRY POLLUTION SOURCES IN NORTHERN ZHEJIANG, CHINA

LU S.-G., CHEN Y.-Y., FEI J.-M & ZHANG Z.-D.

Department of Soil Science, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029, Linhu Agricultural Extension Station, Huzhou 313018, Zhejiang Province, P. R. China.

*The transfer of fluoride from industry pollution sources to mulberry leaves and the relative fluoride loading of different organs of the silkworm body were studied in Northern Zhejiang, China. Results indicated that all mulberry leaves near chemical, cement-making plants and brick kilns showed increasing accumulation. Top leaves in the shoots of the mulberry tree within 300 m near three emitting sources had a mean fluoride concentration of 134.8, 86.2 and 130.6 mg kg⁻¹. The fluoride accumulation rate of mulberry leaves near brick kilns was affected by direction and distance to the chimney. The fluoride accumulation in leaves on the same shoot decreased with decreasing age of the leaf, due to the difference of their exposure time to fluoride. Rainfall and washing mulberry leaves could significantly decrease fluoride content. The accumulation factors of wild mulberry silkworm (*Bombyx mandarina* Moore) and mulberry geometrid (*Pathonandria atrineata* Butler) near fluoride sources reached 2.1-3.5 and 3.2-4.3, indicating a sequence of increasing fluoride accumulation from plant to phytophagous insect. The concentration of fluoride in mulberry leaves and its transfer and distribution in different organs of silkworm larvae were also analysed.*

Keywords: Fluoride, mulberry leaves, silkworm, brick kiln, pollution.

INTRODUCTION

Fluorides are recognised as common gas and particulate pollutants emanating from many industrial processes and from coal burning. The accumulation and transfer of fluoride within the environment are of particular concern because of the health and ecological hazards they pose. A considerable amount of past research has focused on their uptake and accumulation by plants and their transfer from plants to livestock. Some authors have reported considerable fluoride accumulation in mulberry (*Moraceae Morus*) and silkworm due to atmosphere pollution (Chen, 1993; Fuji and Hayashi, 1972; Qian *et al.*, 1984; Zhejiang Agricultural University, 1983). Most of these studies have been correlative in nature and have suggested that the physiology of the mulberry and silkworm are negatively affected, depending on the circumstances. In some of controlled experiments, growth and development of mulberry and silkworm were found to be negatively affected when the plants were affected by fluoride (Chen and Wu, 1995; Davics, 1982).

Silk industry is the second-highest source of essential foreign currency in China. The northern Zhejiang province, which is located at the Yangtze River Delta, is a major rice, silkworm cocoon and fish production region in China. This region produces one-quarter of China's silk. In 1982, the first case of fluorosis silkworm occurred in this region on a large scale. In recent years, the rural industry, characterised by brick making and other building material making, rapidly developed in this area, which greatly promoted the income of local farmers and also inhibited the development of sericulture. The fluoride emitted from local brick and cement making factories frequently caused toxicity to

silkworm larvae. The damage from ingestion of fluoride polluted mulberry leaves has been widespread in Zhejiang and Jiangsu provinces. Due to shortage of funds for pollution control and backward production technology in rural industry, fluoride emitted from rural industry is not easy to control in a short time. In order to maintain the most important sericulture in China, the local governments had to order all brick kilns to be shut down for one month in the spring cocoon production period to decrease fluoride pollution from rural industry.

From 1994 to 1995, Earthwatch teams undertook a survey on the source of fluoride in this region and sectioned silkworm affected by fluoride to examine the distribution of fluoride in different organs of the silkworm larvae. The clear association between fluoride pollution and reduced silk yields have been established. The aims of this project were to determine the fluoride concentration of mulberry leaves near pollution sources and to examine the relationship between fluoride content in silkworm and its mulberry leaves.

STUDY AREA AND METHODS

Study area:

The research site, Linhu town, situated 30° 45' North latitude and 120° 10' East longitude is located in the northern part of the Zhejiang province, which is typical of the Tai lake valley in the Yangtze River delta. This area is one of the ancient and developed agriculture region in China and is known as the 'rice and silk country'. Sericulture goes back to 4000 years. This region is near the main cities, Shanghai, Hangzhou and Suzhou in east China and many other middle cities. A tremendous amount of bricks is demanded by the construction industries of the surrounding big cities for the fast development of China, which greatly stimulates the building of brick kilns in this region. This town has 17 brick kilns and several chemicals and cement making factories, which constitutes the main fluoride pollution source and severely affects sericulture in this region.

Methods:

Collection of mulberry leaves:

384 samples were collected in August and September of 1994 and 1995 during an Earthwatch expedition. The 3rd, 8th and bottom leaves in the shoots of the mulberry tree within 300m near Linhu chemical plant, Linhu cement-making plant and Xinsi second brick kiln were picked up. The mulberry leaves in different distances and directions near Xinsi second brick kiln were picked up. Sites A-D were 200, 400, 500 and 1000m along south-east transects. Sites E-G were 100, 500 and 1500m along north-east transects. Sites H-K were 100, 200, 600 and 1000 m along east transects. Leaves of different ages were picked up from 5 shoots of different mulberry trees and analysed for F to determine the pattern of F accumulation with leaf ages. Rice (*Oryza sativa*), suda grass (*Sorghum sudanense* Stapf), bristle grass (*Setaria beauv*), soybean (*Glycine max*) and taro (*Colocasia esculenta* Schott) leaves near pollution sources were also collected. All samples were dried at 80° C for 12 hours for fluoride analysis. The 'control' zone was approximately 15 km west of the plant, which has no fluoride emitting plant around.

Collection of insect samples:

Mulberry geometrid (*Phthonandria atrineata* Butler) and wild mulberry silkworm (*Bombyx mandarina* Moore) were collected by hand and tweezers within 300 m near a pollution source. Specimens were then dried for 48 hours at 80° C. The samples collected from a non-industrial area were taken as controlled zone. Silkworms were collected from farmer households at different sites. At the same time, the feeding mulberry leaves and faeces were collected. The collected silkworms divided into two parts. One part was directly dried at 80° C for 48 hours, and the other part was sectioned and the gut evacuation in the midgut was washed with distilled water, the midgut and integument were sectioned respectively and dried for F analysis.

Determination of fluoride:

Samples weight of 0.5 g were used for fluoride analysis in both mulberry leaves and insect tissues. The samples were digested by 0.1 N HClO₄ and determined by fluoride ion selective electrode as described in Wu (1982).

RESULTS AND DISCUSSION**Fluoride accumulation rate of various plants near pollution sources:**

Fluoride accumulation rate of various plants near pollution sources is showed in Table I. The plants grown in fluoride pollution sources all accumulated fluoride from the atmosphere in some degree. In comparison with other plants, the mulberry tree accumulated the highest fluoride. It is reported that the fluoride content of mulberry leaves in a national natural conservation area is $10.5 \pm 3.7 \text{ mgkg}^{-1}$ dry weight (Zhejiang Agricultural University, 1983). The world average fluoride of plants is $1\text{--}15 \text{ mgkg}^{-1}$. It means that all plants in the research area accumulated some fluoride from rural industry and mulberry leaves accumulated more fluoride than other plants. Previous studies had established that the fluoride content of mulberry does not relate to fluoride in soils, indicating that the fluoride in mulberry is not absorbed from soils. There was no relationship between fluoride content in mulberry leaves and fluoride content in soils. It meant that the fluoride in mulberry leaves came from the atmospheric pollutant. The basal fluoride content in soils in this region is $426 \pm 164 \text{ mgkg}^{-1}$ dry weight (China Environment Monitoring Station, 1990). The fluoride content in raw brick made of clay from local mulberry field and paddy field is the same as that of soils, ranging from $312.5\text{--}445.0 \text{ mgkg}^{-1}$ dry weight. After burning at high temperature of $800\text{--}1000^\circ\text{C}$, the fluoride content in a brick decreased to $32.5\text{--}85.0 \text{ mgkg}^{-1}$, indicating that about 85% fluoride in brick was being emitted in gaseous fluoride. At the same time, the coal used to burn bricks in the making process also contains $130.0\text{--}215.0 \text{ mgkg}^{-1}$ fluoride. The Linhu town has 17 brick kilns and produces 535 million bricks per year and consumes about 2140 tons of coal per year. Then, the brick production process emits $432012.5 \text{ kg F/year}$. The coal burning emitted 3317 kg F/year . This gaseous fluoride precipitated on plants, water and soils, which constitutes the fluoride pollution source. Table II shows the fluoride concentration of water near a fluoride source in Linhu. This indicates that the fluoride concentration in water near fluoride pollution sources is higher than that in non-industrial area.

Fluoride accumulation rate in mulberry leaves near pollution sources:

Table III shows the fluoride concentration of mulberry leaves near fluoride sources. The relatively high fluoride content in the non-polluted area suggests mulberry metabolism tends to accumulate more fluoride than other plants even in normal situation. Results showed that fluoride concentration of mulberry leaves near pollution sources reached a very high level. Top leaves in the shoots of mulberry tree within 300 m of the chemical, cement-making plants and brick kilns had a mean fluoride concentration of 134.8, 86.2 and 130.6 mgkg^{-1} , respectively. The highest fluoride level in mulberry leaves reached 332.9 mgkg^{-1} . In comparison with brick kiln and cement-making plant, the mulberry leaves near chemical plants accumulated more fluoride. It was reported that the threshold concentration of accumulated F that was safe to silkworm larvae was under 30 mgkg^{-1} dry weight and the lethal dose between $120\text{--}200 \text{ mgkg}^{-1}$ (Chen, 1993; He *et al.*, 1991; Ma and Li, 1982; Wu, 1986). It indicates that the mulberry leaves near pollution sources were seriously toxic to silkworm.

The fluoride concentration of mulberry leaves at different distances and directions from Xinxì Second Brick Kiln is shown in Table IV. At the same pollution source, the F concentration of mulberry leaves decreased as the distance from chimney increased. It is generally believed that the effect from airborne pollutant fluoride does not extend beyond around 10 km from the source. Data in table IV indicate that the effect of fluoride pollution on mulberry leaves mainly occurs within 1500 m. The direction of the source also affected the F concentration of mulberry leaves. Generally mulberry tree along the predominant wind direction accumulated more fluoride.

The fluoride accumulation rate in mulberry depends also on the age of mulberry leaves. Fig. 1 shows the fluoride concentration changes of mulberry leaves at different positions on the same shoot. Results of two sites showed that the F concentration of leaves of the same shoot decreased from the base to the top. The base leaves could accumulate one time more fluoride than the top leaves. This is clearly due to the greater accumulation in older leaves due their longer exposure to the atmosphere. It had also been shown in mammals that fluoride content increases with age (Buse, 1986; Yu, 1991).

Table I. Fluoride concentration of plant foliages near pollution sources (mgkg⁻¹ dry weight).

Tableau I. Concentration en fluorure des feuillages de plantes près de sources de pollution (mgkg⁻¹ poids sec).

Plants	Non-polluted area	Chemical plant	Brick kiln	Cement-making plant
<i>Plantes</i>	<i>Zone non-polluée</i>	<i>Usine chimique</i>	<i>Four à briques</i>	<i>Usine de ciment</i>
Rice / Riz (<i>Oryza sativa</i>)	29.5	—	50.3	65.8
Suda grass / Herbe suda (<i>Sorghum sudanense</i> Stapf)	28.1	40.8	65.8	45.7
Bristlegrass / Sétaire (<i>Setaria beauv</i>)	31.8	—	63.1	55.1
Soybean / Soja (<i>Glycine max.</i>)	32.6	72.0	56.9	50.1
Taro (<i>Colocasia esculenta</i> Schott)	34.5	—	82.1	74.3
Mulberry / Mûrier (<i>Moraceae Morus</i>)	40.5	142.4	126.1	99.7

Table II. Fluoride concentration of water near fluoride source (mg l⁻¹).

Tableau II. Concentration en fluorure de l'eau près d'une source de fluorure (mg l⁻¹).

River water	Non-industrial area	Chemical plant	Cement-making plant	Brick kiln
<i>Eau de rivière</i>	<i>Zone non-industrielle</i>	<i>Usine chimique</i>	<i>Usine de ciment</i>	<i>Four à briques</i>
8.1	8.8	12.6	12.1	17.7

It was observed that toxicity of fluoride on silkworm was also controlled by meteorological conditions. There are less cases of fluoride toxicity to silkworm larvae in a year with a high rainfall, while, a severe fluoride toxicity frequently happens in dry years. We monitored the changes of fluoride contents in mulberry leaves before and after rain on the 19th of August 1994. The results showed that the fluoride content in the young leaves decreased by 7% and old leaves by 35% indicating that rainfalls washed out the dust fluoride on the surface of mulberry leaves. Water washing experiments also showed the same results (Table V). This suggested that particulate fluoride played a very significant part of total fluoride burden in mulberry leaves. Rainfall and washing could wash out the superficial deposition fluoride on leaves surfaces.

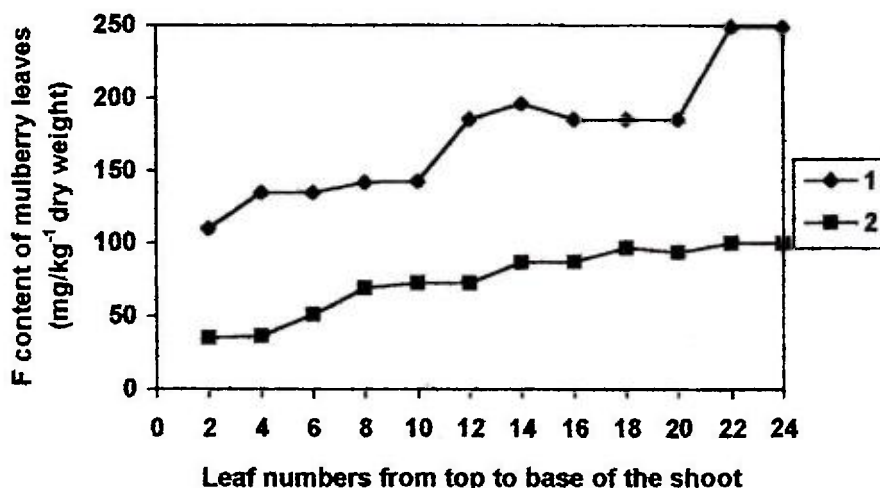


Fig. 1. Accumulation of fluoride in the leaves at different positions on the same shoot (1 - mulberry shoot near brick kiln, 2 - mulberry shoot at 1500 m from brick kiln).

Fig. 1. Accumulation de fluorure dans les feuilles à des positions différentes pour la même pousse (1 - pousse de mûrier près d'un four à briques, 2 - pousse de mûrier à 1500 m d'un four à briques).

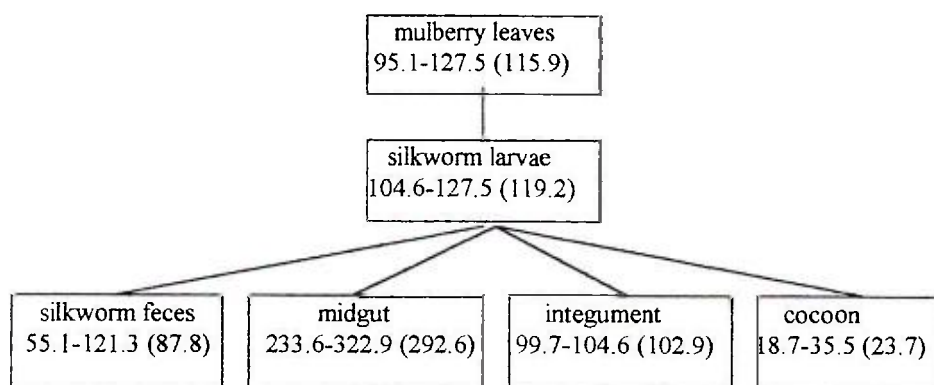


Fig. 2. Range of fluoride concentration in different parts of the silkworm (mg kg⁻¹).

Fig. 2. Fourchette de la concentration en fluorure dans différentes parties du ver à soie (mg kg⁻¹).

Table III. Fluoride concentration of mulberry leaves near different pollution sources (mgkg^{-1} dry weight, mean $\pm$ standard deviation, 1994-1995).

Tableau III. Concentration en fluorure de feuilles de mûrier près de différentes sources de pollution (mgkg^{-1} poids sec, moyenne $\pm$ l'écart type, 1994-1995).

Site	Third leaves	Eighth leaves	Base leaves
	<i>Feuilles au tiers</i>	<i>Feuilles au huitième</i>	<i>Feuilles à la base</i>
Non-pollution area / <i>Zone non-polluée</i>	36.0 $\pm$ 2.1	65.9 $\pm$ 9.3	82.7 $\pm$ 4.9
Chemical plant / <i>Industrie chimique</i>	134.8 $\pm$ 28.5**	167.7 $\pm$ 27.1**	260.6 $\pm$ 69.7**
Cement-making plant / <i>Usine de ciment</i>	86.2 $\pm$ 3.9**	138.7 $\pm$ 17.9**	159.7 $\pm$ 27.0**
Brick kiln / <i>Four à briques</i>	130.0 $\pm$ 14.3**	171.5 $\pm$ 22.5**	227.3 $\pm$ 30.3**

** denote significance level at 0.01 / *dénote un seuil de signification à 0,01.*

Table IV. The fluoride concentration of mulberry leaves at different distances and directions near a brick kiln (mgkg^{-1} dry weight, mean $\pm$ standard deviation, 1995).

Tableau IV. Concentration en fluorure de feuilles de mûrier à différentes distances et directions près d'un four à briques (mgkg^{-1} poids sec, moyenne $\pm$ l'écart type, 1995).

Sites	Direction and distance (m)	Third leaves	Eight leaves	Base leaves
		<i>Feuilles au tiers</i>	<i>Feuilles au huitième</i>	<i>Feuilles basales</i>
A	S.E. 200	95.1 $\pm$ 4.6	195.2 $\pm$ 22.6	195.8 $\pm$ 30.7
B	S.E. 400	75.3 $\pm$ 3.5	95.1 $\pm$ 11.9	157.0 $\pm$ 36.4
C	S.E. 500	78.9 $\pm$ 8.3	82.6 $\pm$ 10.7	115.4 $\pm$ 24.8
D	S.E. 1000	30.5 $\pm$ 11.3	75.3 $\pm$ 21.4	82.5 $\pm$ 22.0
E	N.E. 100	50.6 $\pm$ 9.5	104.6 $\pm$ 16.5	115.4 $\pm$ 13.6
F	N.E. 500	46.4 $\pm$ 14.0	86.5 $\pm$ 14.8	95.1 $\pm$ 18.5
G	N.E. 1500	42.9 $\pm$ 15.2	65.8 $\pm$ 7.6	68.8 $\pm$ 10.3
H	E. 100	95.1 $\pm$ 11.3	157.0 $\pm$ 19.7	195.8 $\pm$ 10.7
I	E. 200	104.6 $\pm$ 14.2	185.0 $\pm$ 16.2	210.0 $\pm$ 22.8
J	E. 600	90.7 $\pm$ 11.2	127.5 $\pm$ 13.3	134.2 $\pm$ 31.7
K	E. 1500	46.4 $\pm$ 8.7	72.0 $\pm$ 22.7	95.1 $\pm$ 23.0

Table V. Effect of washing on fluoride concentration of mulberry leaves (mgkg^{-1} dry weight).

Tableau V. Effet du lavage sur la concentration en fluorure de feuilles de mûrier (mgkg^{-1} poids sec).

Samples Echantillons	Washing time (minute) / Temps de lavage (minutes)				
	0	10	20	30	60
1	90.7 $\pm$ 4.3	75.3 $\pm$ 1.9	65.8 $\pm$ 2.3	60.2 $\pm$ 3.1	
2	109.8 $\pm$ 3.8	68.8 $\pm$ 4.5	60.2 $\pm$ 1.7	57.6 $\pm$ 2.0	50.6 $\pm$ 1.2

* six replications / six répétitions.

Table VI. The fluoride accumulation factors for insects collected in polluted sources.

Tableau VI. Facteurs d'accumulation du fluorure pour les insectes recueillis auprès de sources polluées.

Site	Wild mulberry silkworm	Mulberry geometric
	<i>Ver à soie sauvage du mûrier</i>	<i>Géométridé du mûrier</i>
Chemical plant / Usine chimique	3.5	3.7
Cement-making plant 1 / Usine de ciment 1	2.1	3.2
Cement-making plant 2 / Usine de ciment 2	2.2	3.3
Brick kiln / Four à brique	3.0	4.3

There is little previous information on transfer of fluoride accumulated by plants for herbivorous. Buse (1986) found insects near aluminium reduction plant in Wales accumulated much more fluoride. Davies *et al.*, (1992) reported that fluoride loading of different body parts in pine sawfly larvae had strong correlative with that of the pine needle. Chen and Wu (1995) found that silkworm larvae fed with mulberry leaves with artificially added fluoride showed increasing accumulation from control to high fluoride concentration group. Some authors have suggested the important role of phytophagous insects in the biomagnification and transfer of fluoride to higher trophic levels. Fig. 2 shows the concentration of fluoride in mulberry leaves, and its transfer and distribution in various parts of silkworm. The total body burden of fluoride in silkworm consists of two major fractions: the fluoride still present in food residues in the digestive tract, and that absorbed into the tissues from the gut. Gut evacuation was not carried out. There is no obvious difference in fluoride concentration between

silkworm and mulberry leaves. Previous data (Chen and Wu, 1995) indicated midgut was a fluoride enriched organ. Midgut had the highest fluoride contents, with a mean of 292.6 mg F kg⁻¹ dry weight.

Insects near a pollution source also accumulated fluoride emitted from industries. Field sampling of a wide range of invertebrates has invariably shown that near sources of fluoride pollution individual invertebrates might have greatly elevated fluoride loads and that there was also a great variation in loading between species and individuals of the same species (Davies, 1982; Dewey, 1973; Walton 1986). The degree to which fluoride accumulates in the insect can be compared by calculating an 'accumulation factor' i.e

$$\text{Accumulation factor} = \frac{\text{mean F concentration (mg kg}^{-1}\text{) in polluted zone}}{\text{mean F concentration (mg kg}^{-1}\text{) in control zone}}$$

Table VI shows the accumulation factors of wild mulberry silkworm and mulberry geometrid near a pollution source. Results indicated that insects near a pollution source accumulated more fluoride than those in a non-industrial area. Mulberry geometrid accumulated fluoride by the greatest factor, approximately 4.3 times higher than that in the control sites. At the same site, mulberry geometrid accumulated more fluoride than wild mulberry silkworm. This in agreement with the very limited amount of work published. Buse (1986) reported that levels of fluoride accumulation in invertebrates collected near sources of pollution indicated that differing accumulation occur according to feeding strategy and species and that accumulation increased along the food chain in the sequence herbivores-omnivores-predators.

ACKNOWLEDGEMENTS

This project was funded by Earthwatch (USA) and its research Corps. Special thanks are due to A. John, A. Sylvia, F. Margaret, U. Carman, J. Kate, K. Tom, B. Phylis, H. Louise and M. Haseena for their kind assistance in sample collection and analysis.

REFERENCES

- BUSE A. (1986) Fluoride accumulation in invertebrates near an aluminium reduction plant in Wales. *Environ. Pollut.*, 41, 199-217.
- CHEN Y. Y. (1993) Toxicology of fluoride to silkworm and its control, a review. *Agricultural Information Research*, 2, 36-39.
- CHEN Y.-Y. & WU Y.-C. (1995) Fluoride loading and kinetics in different tissues of larvae of fluoride-affected silkworm (*Bombyx mori* L.). *Sericologia*, 35(1), 39-48.
- CHINA ENVIRONMENTAL MONITORING STATION (1990) Element base value of soils in China. Beijing China Environmental Sci. Press.
- DAVIES M. T., DANISON A. W., PORT G. R. (1992) fluoride loading of larvae of pine sawfly from a polluted site. *J. Applied Ecology*, 29, 63-69.
- DAVIES F. B. M. (1982) Accumulation of fluoride by *Xanthoria parietina* growing in the vicinity of the Bedfordshire bricks field. *Environ. Pollut. A.*, 29, 186-196.
- DEWEY J. E. (1973) Accumulation of fluoride by insects near an emission source in Western Montana. *Environ. Entomol.*, 2, 179-182.
- FUJI I. M., HAYASHI H. (1972) Fluoride contained in mulberry leaves and silkworm in the area around a tile factory. *J. Sericult. Sci. Japan*, 41, 150-153.
- HE Z.-Y., YE Z.-J. & WU F.-Z (editors) (1991) Introduction to agricultural environment technology. Shanghai: Shanghai Sci. & Technol. Press.
- LU S.-G., CHEN Y. Y. (1994) Farms along the Yangtze. Boston: Earthwatch Research Report.

- MA D.-H., LI R.Q (1982) Experiment on effect of fluoride on silkworm. *Chinese J. Seric.*, 8(4):209-212.
- QIAN D.-F., LI T.-F. & WANG J.-X. (1984) Studies on fluoride and mulberry silkworm ecosystem. *Environ. Sci.*, 5(1), 7-11.
- WALTON K. C. (1986) Fluoride in moles, shews and earthworms near an aluminium reduction plant. *Environ. Pollut.*, 42, 361-371.
- WU F.-Z. (1982) A rapid method to determine trace fluoride in mulberry leaves and silkworm. *Bull. of Seric.*, 4, 30-32.
- WU F.-Z. (1986) Some problems on fluoride pollution of field by exhausting from brick kiln. *Acta Agriculturae Universitatis Zhejiangensis*, 4, 48-52.
- YU Y.-H (1991) Effect of fluoride on livestock ecosystem. *Agricultural Environ. protect.*, 10, 165-168.
- ZHEJIANG AGRICULTURAL UNIVERSITY (1983) Fluoride pollution and agriculture. *Environ. Protect.*, 3, pp 134

ACCUMULATION DE FLUORURE CHEZ LE VER A SOIE MURIER PRES DE SOURCES DE POLLUTION INDUSTRIELLE DANS LE NORD DU ZHEJIANG EN CHINE

LU S.-G., CHEN Y.-Y., FEI J.-M & ZHANG Z.-D.

Department of Soil Science, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029, Linhu
Agricultural Extension Station, Huzhou 3130118, Province de Zhejiang, Chine.

*Le transfert du fluorure provenant de sources de pollution industrielle vers les feuilles de mûrier et le contenu en fluorure dans les différents organes du ver à soie ont été étudiés dans le Nord du Zhejiang en Chine. Les résultats indiquent que toutes les feuilles de mûrier près d'usines chimiques, de ciment et de fours à briques présentent une accumulation accrue. Les feuilles supérieures des tiges de mûrier à 300 m de distance de trois sources émettrices ont une concentration moyenne en fluorure de 134,8 ; 86,2 et 130,6 mg kg⁻¹. Le taux d'accumulation du fluorure dans les feuilles de mûrier près de fours à briques est influencé par la direction et la distance par rapport aux cheminées. L'accumulation de fluorure dans les feuilles jeunes est plus faible que dans les feuilles âgées de la même tige à cause de la différence de durée d'exposition au fluorure. Les précipitations et le nettoyage des feuilles de mûrier peuvent faire baisser la teneur en fluorure de manière significative. Les facteurs d'accumulation pour le ver à soie sauvage (*Bombyx mandarina* Moore) et le géométridé du mûrier (*Pathonandria atrineata* Butler) près de sources de fluorure atteignent 2,1 - 3,5 et 3,2 - 4,3, ce qui indique qu'il existe un accroissement d'accumulation du fluorure de la plante à l'insecte phytophage. La concentration en fluorure dans les feuilles de mûrier et son transfert et sa distribution dans les différents organes des larves de ver à soie ont aussi été analysés.*

INTRODUCTION

Les fluorures sont reconnus comme des gaz courants et des polluants particuliers émanant de nombreux procédés industriels et du brûlage du charbon. L'accumulation et le transfert de fluorure dans l'environnement sont préoccupants à cause des risques qu'ils présentent pour la santé et pour l'écologie. Une part importante de la recherche dans le passé a porté sur leur absorption et leur accumulation par les plantes et leur transfert des plantes vers les animaux. Certains auteurs ont signalé une accumulation considérable de fluorure chez le mûrier (*Moraceae morus*) et le ver à soie provoquée par la pollution atmosphérique (Chen, 1993 ; Fuji et Hayashi, 1972 ; Qian et coll., 1984 ; *Zhejiang Agricultural University*, 1983). La plupart de ces études sont de nature corrélatrice et suggèrent que les circonstances peuvent avoir des conséquences négatives sur la physiologie du mûrier et du ver à soie. Il a été observé lors d'expériences de contrôle, que lorsque les plants sont atteints par le fluorure, cela a des conséquences négatives sur la croissance et le développement du mûrier (Chen et Wu, 1995 ; Davies, 1982).

L'industrie de la soie est la deuxième source de devises étrangères essentielles en Chine. La province du Nord du Zhejiang, qui se situe dans le delta du fleuve Yangtze, est une région principale de production de riz, de cocons de vers à soie et de poissons. Cette région produit un quart de la soie en Chine. En 1982, le premier cas de fluorose du ver à soie à grande échelle a eu lieu dans cette région. Récemment, l'industrie en zone rurale qui se caractérise par la production de briques et d'autres matériaux de construction s'est rapidement développée dans cette région, ce qui a permis d'augmenter

de manière considérable le revenu des agriculteurs locaux et a aussi freiné le développement de la sériciculture. Le fluorure dégagé par les usines locales de fabrication de briques et de ciment est souvent toxique pour les larves de vers à soie. Les dégâts causés par l'ingestion de feuilles de mûrier polluées par le fluorure sont étendus dans les provinces du Zhejiang et de Jiangsu. Le manque de fonds pour le contrôle de la pollution et le retard de la technologie de production des industries rurales, ne permettent pas de maîtriser facilement en peu de temps l'émission de fluorure par les industries rurales. Pour protéger la sériciculture la plus importante de la Chine, les gouvernements locaux ont ordonné une fermeture d'un mois pendant la production de cocons au printemps de tous les fours à briques, afin de diminuer la pollution au fluorure provenant des industries rurales.

Des équipes d'Earthwatch ont entrepris une étude sur les sources de fluorure dans cette région de 1994 à 1995 et fait des coupes de vers à soie atteints de fluorure pour examiner la distribution du fluorure dans les différents organes des larves de vers à soie. L'association certaine entre la pollution au fluorure et des rendements en soie réduits a pu être établie. Le but de ce projet est de déterminer la concentration en fluorure dans les feuilles de mûrier près de sources de pollution et d'examiner la relation entre la teneur en fluorure chez le ver à soie et les feuilles de mûrier.

ZONE D'ETUDE ET METHODES

Zone d'étude :

Le site de recherche, la ville de Linhu, situé à 30° 45' latitude Nord et 120° 10' longitude Est se trouve au Nord de la province du Zhejiang, et est typique de la vallée du lac Tai dans le delta du fleuve Yangtze. Cette zone est une des régions agricoles anciennes et développées en Chine et est connue comme 'le pays du riz et de la soie'. La sériciculture remonte à 4000 ans. Cette région est proche des villes principales, Shanghai, Hangzhou et Suzhou dans la Chine de l'est et de nombreuses villes moyennes. Les industries de construction des grandes villes proches requièrent des quantités énormes de briques pour le développement rapide de la Chine, ce qui stimule de manière considérable la construction de fours à briques dans cette région. Cette ville a 17 fours à briques et plusieurs usines chimiques et de fabrication de ciment, qui représentent la principale source de pollution au fluorure et ont des conséquences sérieuses pour la sériciculture de cette région.

Méthodes:

Ramassage des feuilles de mûrier :

384 échantillons ont été ramassés en Août et Septembre 1994 et 1995 pendant une expédition d'Earthwatch. Les feuilles au tiers, au huitième et à la base des tiges de mûrier à 300 m de l'usine chimique de Linhu, de l'usine de ciment de Linhu et du deuxième four à briques de Xinxi ont été ramassées. Les sites A à D sont à 200, 400, 500 et 1000 m le long de lignes transversales au sud-est. Les sites E à G sont à 100, 500 et 1500 m le long de lignes transversales au nord-ouest. Les sites H à K sont à 100, 200, 600 et 1000 m le long de lignes transversales à l'est. Les feuilles d'âges différents ont été ramassées sur 5 tiges de mûriers différents et analysées en F afin de déterminer le schéma d'accumulation de F en fonction des âges de la feuille. Les feuilles de riz (*Oriza sativa*), d'herbe suda (*Sorghum sudanense* Stapf), de setaire (*Setaria* Beauv.) de soja (*Glycine max*) et de taro (*Colocasia esculenta* Schott) ont elles aussi été recueillies près des sources de pollution. Tous les échantillons ont été séchés à 80° C pendant 12 heures pour l'analyse en fluorure. La zone « témoin » approximativement à 15 km à l'ouest de l'usine n'a pas d'usine dégageant du fluorure dans ses alentours.

Recueil d'échantillons d'insectes :

Le géométridé du mûrier (*Pathonandria atrineata* Butler) et le ver à soie sauvage du mûrier (*Bombyx mandarina* Moore) sont recueillis à la main et avec des pinces à 300 m d'une source de pollution. Les spécimens sont ensuite séchés pendant 48 heures à 80° C. Les échantillons recueillis dans une zone non-industrielle sont pris comme témoins. Les vers à soie sont recueillis chez des

éleveurs à des endroits différents. En même temps, les feuilles de mûrier de nourrissage et les excréments sont recueillis. Les vers à soie recueillis se divisent en deux parties. Une partie est directement séchée à 80° C pendant 48 heures, et l'autre partie est sectionnée et le canal d'évacuation de l'intestin moyen est lavé avec de l'eau, l'intestin moyen et le tégument sont respectivement sectionnés et séchés pour l'analyse en F.

Détermination du fluorure :

Des échantillons de 0,5 g sont utilisés pour l'analyse en fluorure des feuilles de mûrier et des tissus d'insectes. Les échantillons sont digérés avec 0,1 N HClO₄ et déterminés par électrode sélective des ions fluor comme l'a décrit Wu (1982).

RESULTATS ET DISCUSSION

Taux d'accumulation du fluorure chez des plantes variées près de sources de pollution :

Le taux d'accumulation du fluorure chez des plantes variées près de sources de pollution est présenté dans le Tableau I. Les plantes ayant poussé près de sources de pollution en fluorure accumulent toutes du fluorure provenant de l'atmosphère à un certain degré. Le mûrier a accumulé plus de fluorure que les autres plantes. La teneur en fluorure des feuilles de mûrier dans une zone nationale de conservation naturelle est de $10,5 \pm 3,7 \text{ mg kg}^{-1}$ poids sec (Zhejiang Agricultural University, 1983). La moyenne mondiale en fluorure des plantes est de $1-15 \text{ mg kg}^{-1}$. Cela signifie que toutes les plantes dans la zone de recherche accumulent du fluorure provenant des industries rurales et que les feuilles de mûrier accumulent plus de fluorure que les autres plantes. Les études précédentes ont établi que la teneur en fluorure du mûrier n'a pas de relation avec le contenu en fluorure des sols, ce qui indique que le fluorure dans le mûrier n'est pas absorbé à partir des sols. Il n'a pas été observé de relation entre la teneur en fluorure des feuilles de mûrier et la teneur en fluorure des sols. Cela signifie que le fluorure dans les feuilles de mûrier venait des polluants atmosphériques. La teneur de base en fluorure dans les sols de cette région est de $426 \pm 164 \text{ mg kg}^{-1}$ de poids sec (China Environment Monitoring Station, 1990). La teneur en fluorure de la brique à l'état brut faite d'argile provenant de champs de mûrier locaux et de rizières est la même que celle des sols, entre 321,5 et 445,0 mgkg⁻¹ poids sec. Après brûlage à haute température de 800 à 1000 ° C, la teneur en fluorure d'une brique baisse à 32,5-85,0 mgkg⁻¹, ce qui indique qu'environ 85 % du fluorure de la brique est dégagé en fluorure gazeux. En même temps, le charbon utilisé pour brûler les briques pendant la fabrication contient aussi 130,0-215,0 mg kg⁻¹ de fluorure. La ville de Linhu a 17 fours à briques, produit 535 millions de briques par an et consomme environ 2140 tonnes de charbon par an. De plus, la fabrication de briques dégage 432012,5 kg F/an. Le brûlage du charbon dégage 3317 kg F/an. Ce fluorure gazeux se précipite sur les plantes, l'eau et les sols et constitue la source de pollution au fluorure. Le tableau II présente la concentration en fluorure de l'eau près d'une source de fluorure à Linhu. Cela indique que la concentration en fluorure de l'eau près de sources de pollution en fluorure est plus élevée que celle en zone non-industrielle.

Taux d'accumulation du fluorure dans les feuilles de mûrier près de sources de pollution :

Le tableau III présente les concentrations en fluorure de feuilles de mûrier près de sources de fluorure. La teneur relativement élevée en fluorure dans la zone non-polluée suggère que le métabolisme du mûrier tend à accumuler plus de fluorure que les autres plantes même en situation normale. Les résultats montrent que la concentration en fluorure des feuilles de mûrier près de sources de pollution atteint un niveau très élevé. Les feuilles au tiers des tiges de mûrier à 300 m d'usines chimiques, de ciment et de fours à briques ont une concentration moyenne en fluorure de 134,8 ; 86,2 et 130,6 mg kg⁻¹, respectivement. Le niveau le plus élevé de fluorure dans les feuilles de mûrier atteint 332,9 mg kg⁻¹. Les feuilles de mûrier près d'usines chimiques accumulent plus de fluorure par comparaison avec les fours à briques et les usines de ciment. Il a été rapporté que la concentration limite en F accumulée sans danger pour les larves de vers à soie est en-dessous de 30 mg kg⁻¹ poids

sec et que la dose mortelle est entre 120—200 mg kg⁻¹ (Chen, 1993; He et coll., 1991; Ma et Li, 1982; Wu 1986). Cela indique que les feuilles de mûrier près de sources de pollution sont sérieusement toxiques pour le ver à soie.

La concentration en fluorure des feuilles de mûrier à des distances et des directions différentes du deuxième four à briques de Xinxi est présentée dans le tableau IV. La concentration en F dans les feuilles de mûrier par rapport à la même source de pollution baisse quand la distance par rapport à la cheminée augmente. On pense en général que l'effet de polluants transportés par l'air ne s'étend pas au delà d'un rayon de 10 km de la source. Les données du tableau IV indiquent que l'effet de la pollution au fluorure sur les feuilles de mûrier se produit majoritairement dans un rayon de 1500 m. La direction de la source a aussi un effet sur la concentration en F des feuilles de mûrier. En général, les mûrier situés dans la direction du vent dominant accumulent plus de fluorure.

Le taux d'accumulation de fluorure dans le mûrier dépend aussi de l'âge des feuilles de mûrier. La fig. 1. présentent les changements de la concentration en fluorure des feuilles de mûrier situées à différentes positions sur la même pousse. Les résultats de deux sites montrent que la concentration en F de feuilles de la même pousse baisse de la base vers le haut. Les feuilles à la base peuvent accumuler deux fois plus de fluorure que les feuilles supérieures. Cela est clairement dû à la plus grande accumulation dans les feuilles plus âgées due à leur plus longue exposition à l'atmosphère. Il a aussi été montré que chez les mammifères la teneur en fluorure augmente avec l'âge (Buse, 1986; Yu, 1991).

On observe que la toxicité au fluorure chez le ver à soie dépend aussi des conditions météorologiques. Il y a moins de cas de toxicité chez les larves de vers à soie pendant une année aux précipitations élevées, tandis que les années sèches, la toxicité du fluorure est souvent sévère. Nous avons observé les changements de la teneur en fluorure des feuilles de mûrier avant et après la pluie le 19 Août 1994. Les résultats montrent que la teneur en fluorure des feuilles jeunes baisse de 7 % et chez les feuilles âgées de 35 % ce qui indique que les précipitations lavent la poussière contaminée au fluorure sur la surface des feuilles de mûrier. Les expériences de nettoyage à l'eau montrent les mêmes résultats (tableau V). Cela suggère que le fluorure particulaire joue un rôle très significatif par rapport au taux total de fluorure dans les feuilles de mûrier. La pluie et le nettoyage peuvent éliminer le dépôt superficiel de fluorure sur la surface des feuilles.

On dispose de peu d'informations sur le transfert de fluorure accumulé par les plantes vers les herbivores. Buse (1986) a observé que les insectes près d'une usine de réduction d'aluminium au Pays de Galles accumulent beaucoup plus de fluorure. Davies et coll., (1992) ont signalé que le taux de fluorure dans les différentes parties corporelles des larves de la tenthrède du pin présente de fortes corrélations avec celui de l'aiguille de pin. Chen et Wu (1995) ont observé que des larves de vers à soie nourries avec des feuilles de mûrier artificiellement supplémentées en fluorure présentent une accumulation qui va en augmentant du témoin au groupe à concentration en fluorure élevée. Certains auteurs ont suggéré le rôle important des insectes phytophages dans la bioamplification et le transfert du fluorure à des niveaux trophiques plus élevés. La fig. 2. montre la concentration en fluorure dans les feuilles de mûrier et son transfert et sa distribution dans les différentes parties du ver à soie. Le taux total en fluorure dans le corps du ver à soie se divise en deux parties principales : le fluorure toujours présent dans les résidus alimentaires du tube digestif et celui absorbé par les tissus de l'intestin. L'évacuation de l'intestin n'a pas été réalisée. Il n'y a pas de différence évidente de concentration en fluorure entre le ver à soie et les feuilles de mûrier. Les données précédentes (Chen et Wu, 1995) indiquent que l'intestin moyen est un organe enrichi en fluorure. L'intestin moyen a la teneur la plus élevée en fluorure, avec une moyenne de 292,6 mg F kg⁻¹ poids sec.

Les insectes près d'une source de pollution accumulent aussi du fluorure dégagé par les industries. Un prélèvement sur le terrain d'une large gamme d'invertébrés montre invariablement que près de sources de pollution au fluorure les invertébrés peuvent avoir des charges en fluorure plus élevées et que le taux varie grandement entre les espèces et les individus des mêmes espèces (Davies, 1982; Dewey, 1973; Walton, 1986). On peut comparer le degré auquel le fluorure s'accumule dans l'insecte en calculant un « facteur d'accumulation » c'est à dire

$$\text{Facteur d'accumulation} = \frac{\text{concentration moyenne en F (mg kg}^{-1}\text{) dans la zone polluée}}{\text{concentration moyenne en F (mg kg}^{-1}\text{) dans la zone témoin}}$$

Le tableau VI présente les facteurs d'accumulation chez le ver à soie sauvage du mûrier et le géométridé du mûrier près d'une source de pollution. Les résultats indiquent que les insectes près d'une source de pollution accumulent plus de fluorure que ceux provenant d'une zone non-industrielle. Le géométridé du mûrier accumule le fluorure de manière plus importante, approximativement 4,3 fois plus que celui relevé dans les zones témoin. Au même endroit, le géométridé du mûrier accumule plus de fluorure que le ver à soie sauvage du mûrier. Cela est en accord avec le faible nombre d'études publiées. Buse (1986) a signalé que les niveaux d'accumulation en fluorure chez les invertébrés recueillis près de sources de pollution indiquent que l'accumulation est différente en fonction de la stratégie d'alimentation et des espèces et que l'accumulation augmente dans la chaîne alimentaire dans l'ordre herbivores-omnivores-prédateurs.

EFFECT OF ZINC CHLORIDE ON THE BIO-CHEMICAL CHANGES IN THE FAT BODY AND HAEMOLYMPH OF THE BIVOLTINE SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

I. I. HUGAR, R. B. NIRWANI & B. B. KALI WAL

Post-graduate Department of Studies in Zoology, Karnatak University,
Dharwad - 580 003, Karnatak, India.

*The effect of supplementing the feed with each concentration of zinc chloride 30, 60 and 90 µg/ml to the fourth and fifth instar larvae of the NB₁₈ race of the silkworm, *B. mori* on the glycogen and protein contents of the fat body and trehalose and protein contents of the fat body and haemolymph has been studied. The glycogen content of the fat body is significantly increased in all the groups fed with zinc chloride whereas the trehalose content of the haemolymph is significantly increased only in the 90 µg/ml zinc chloride fed group and in the remaining two groups the increase was not significant. The protein content of the fat body is not changed whereas that of the haemolymph is significantly increased in the 30µg fed group. The protein content of the haemolymph is significantly increased whereas that of the fat body is significantly decreased in the 60 µg/ml zinc chloride fed group. The protein content of the fat body is significantly decreased whereas that of the haemolymph is unaltered in the 90µg/ml zinc fed group.*

Keywords: *Bombyx mori*, glycogen, trehalose, protein, fat body, haemolymph.

INTRODUCTION

The silkworm, *B. mori*, is a monophagous holometabolous insect and its growth, development and metabolism is mainly dependent on its nutritional requirements and environmental conditions. The silkworm larvae accumulates a large quantity of fuel reserves in various tissues, and it is endowed with a unique biochemical adaptation to conserve nutritional resources available during the active larval stage.

The carbohydrates and proteins are very essential for pupal and adult development and are obtained from the fat body and haemolymph stored during the last larval instar. Carbohydrates are stored in the fat body as glycogen, which is converted into simple sugar, trehalose, in the fat body before it is released into the haemolymph for its utilisation.

Thakare *et al.*, (1980) have reported that trehalose is a major haemolymph sugar in the last nymphal instar of the dragonfly, *Orthetrum chrysus*, and it is also reported that trehalose in many insects is maintained at a steady state through homeostatic regulation in all the stages of life-cycle (Wyat, 1967) and the haemolymph serves as a storage tissue (Jungreis, 1980 and Mullins 1985).

Metals and their salts, cations play a key role by acting as catalyst on structural components of large molecules with a specific function which are indispensable for life. It has been reported that magnesium is essential for complete activity of trehalose synthase (Murphy and Wyatt 1965). Tobias (1948) and Ito (1967) have reported that calcium, iron, magnesium, phosphorus, potassium, manganese and zinc are essential for the growth and development of silkworm, *B. mori*.

Dasmahapatra *et al.* (1989) have reported that supplementation with cobalt, iodide, potassium, calcium chloride and potassium nitrate increases the protein, RNA and DNA content of the silk gland

in the nistari race of *B. mori*. Feeding with zinc and cupric chlorides is shown to result in an increase of the trehalose and glycogen content in the e_{11} silkworm, *Philosamia ricini* (Padaki, 1991).

From the references cited above it is evident that oral supplementation with metals and salts influences some of the economic parameters of the silkworm *B. mori*. Hence, the present investigation was undertaken to find out the effect of zinc chloride on the contents of the fat body glycogen and protein and haemolymph trehalose and protein of the bivoltine (NB₁₈) silkworm, *B. Mori*.

MATERIALS AND METHODS

The bivoltine (NB₁₈) silkworm, *B. mori* was reared according to the improved methods of silkworm rearing (Krishnaswami, 1978 b,c). The fourth instar larvae were divided into five experimental groups, each group consisting of five replications of 20 worms each. The chemical, zinc chloride procured from E-merck (India) Limited, Worli, Bombay, was dissolved in distilled water and was diluted to form three concentrations i.e. 30, 60 and 90 µg/ml. The zinc chloride was uniformly sprayed on fresh mulberry leaves with each concentration and then the leaves were dried and fed to the silkworms from the fourth to the end of fifth instar, alternately with untreated and treated mulberry leaves. Two feedings were with treated leaves and the remaining two feedings were with untreated leaves per day. The carrier controls were fed with distilled water sprayed leaves and normal controls with untreated leaves. The treated larvae, carrier controls and the normal controls were utilised for the estimation of glycogen and total protein from the fat body and total protein and trehalose from the haemolymph.

The silkworm larvae were dissected in *Bombyx* saline at pH 6.5 on 6th day of fifth instar. The fat body was immediately collected and used for the glycogen (Sciefter *et al.*, 1950) and protein (Lowry *et al.*, 1951) estimations. The haemolymph was collected by amputating one of the thoracic legs in a prechilled centrifuge tube and was used for the estimation of trehalose (Roe, 1955) and protein (Lowry *et al.*, 1951). Anthrone positive carbohydrate in the haemolymph is considered as trehalose.

Statistical analysis:

The experiments were designed by the complete randomised block design (CRBD) method and the data collected were subjected to the statistical analysis of variance (ANOVA) test to determine the significant difference between the treatment and control groups (Raghav Rao, 1983).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the present study on the effect of supplementation of feed with zinc chloride on the fat body glycogen and haemolymph trehalose content and the protein contents of the fat body and the haemolymph are presented in Table I.

Effect on fat body glycogen and haemolymph trehalose contents:

The oral supplementation of each of the three concentrations of zinc chloride significantly increased the glycogen content of the fat body in the present study. Similar increase in the fat body glycogen content has been reported after supplementing the feed with manganese, zinc and cupric chlorides and copper sulphate in the eri silkworm, *Philosamia ricini* (Padaki, 1991), and potassium and magnesium sulphates in the bivoltine silkworm *B. mori* (Nirwani and Kaliwal, 1995). Accumulation of glycogen during the feeding period in *P. ricini* is shown to be due to the increased amylase activity and glycogenesis (Pant and Morris, 1969). The increase in the amylase activity of the midgut and the increased production of carbohydrates has been reported after supplementing the feed with mineral samples in the beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Izhevaskiy, 1976). The increased glycogen content of the fat body after supplementing the feed with each of the three concentrations of the zinc chloride in the present study may possibly be due to the stimulatory effect on the amylase

Table I. Effect of zinc chloride on the fat body glycogen, haemolymph trehalose and the protein contents in the fat body and haemolymph of the silkworm, *B. mori*.

Tableau I. Effet du chlorure de zinc sur les teneurs en glycogène du corps gras, en tréhalose de l'hémolymph et en protéines du corps gras et de l'hémolymph du ver à soie B. mori.

Treatment	Concentration (µg/ml)	Fat body glycogen (µg/mg)	Haemolymph trehalose (µg/ml)	Fat body protein (µg/mg)	Haemolymph protein (µg/ml)
<i>Traitement</i>		<i>Glycogène du corps gras (µg/mg)</i>	<i>Tréhalose de l'hémolymph (µg/ml)</i>	<i>Protéines du corps gras (µg/mg)</i>	<i>Protéines de l'hémolymph (µg/ml)</i>
Zinc chloride	30	9.999*	1684	69.730	3918*
<i>Chlorure de zinc</i>		(161)	(106)	(100)	(139)
Zinc chloride	60	10.866*	1716	55.266*	3396*
<i>Chlorure de zinc</i>		(175)	(108)	(79)	(121)
Zinc chloride	90	10.866*	1984*	52.660*	2848
<i>Chlorure de zinc</i>		(175)	(125)	(76)	(101)
Carrier control	Distilled water	6.199	1585	69.180	2806
<i>Témoin porteur</i>	<i>Eau distillée</i>	(100)	(100)	(100)	(100)
Normal control	-	8.790	1386	58.060	2685
<i>Témoin normal</i>		(141)	(87)	(83)	(95)
		(S)	(S)	(S)	(S)
S. Em ±		1.743	108.38	7.132	306.91
CD at 5% / I. C. à 5%		3.217	200.01	13.164	566.42

S- Significant / Significatif. * - Significant increase / decrease at 5% / Augmentation / baisse significative à 5%.

SEM ± - Standard error mean / Intervalle de confiance de la moyenne. C. D- Critical difference / Différence critique. Percent increase/decrease over that of the carrier control in parentheses / Pourcentage d'augmentation/baisse par rapport au témoin porteur entre parenthèses.

activity of the midgut resulting in increased production of carbohydrates as suggested by Izhevskiy (1976) and Pant and Morris (1969).

The results of the present study indicate that the trehalose content of the haemolymph is significantly increased in the 90 µg/ml zinc chloride fed group. Whereas in the 30 and 60 µg/ml fed groups the increase is not significant. The increase in the haemolymph trehalose content has been reported after feeding with zinc and cupric chlorides, manganese and cobalts sulphates in the eri-silkworm, *P. ricini* (Padaki, 1991) and magnesium and potassium sulphates in the bivoltine NB4D2 race of the silkworm, *B. mori* (Nirwani and Kaliwal, 1995). It has been shown that production of trehalose by the fat body is influenced by a number of endogenous organic and inorganic factors and that the calcium ions enhance the production of trehalose by the fat body of the cockroach, *Periplaneta*

americana (Downer, 1979). Murphy and Wyatt (1965) have shown that magnesium is essential for complete activation of trehalose synthase. It is therefore, likely that the mineral salts used by Padaki (1991), Nirwani and Kaliwal (1995) and zinc chloride in the present study may have a role similar to that of calcium (Downer, 1979) and magnesium (Murphy and Wyatt, 1965) in activating the trehalose synthase activity of the fat body resulting in the increased production and release of trehalose into the haemolymph by the fat body. The significant increase in the haemolymph trehalose content in the 90 µg zinc chloride fed group in the present study suggests that this concentration is needed to enhance a significant increase in the synthesis of trehalose by the fat body and its release into the haemolymph. Since the remaining 30 and 60 µg zinc chloride concentrations did not significantly increase the concentration in the haemolymph in the NB₁₈ race of *B. mori*. The later two concentrations were probably not sufficient to stimulate the synthesis and release of trehalose by the fat body.

Effect of zinc chloride on the protein content of the fat body and haemolymph:

Wigglesworth (1977) has stated that the fat body in insects is the main site for protein synthesis as well as the intermediating metabolism of amino acids. The protein content of the fat body in the present study in 30 µg zinc chloride fed groups is not changed whereas that of the haemolymph is significantly increased, thereby possibly suggesting that the protein content of the fat body is released into the haemolymph, suggesting the increased content of the protein in the haemolymph. The silk gland weight is significantly increased in this group (Hugar and Kaliwal, 1996). Similar increase in the protein content of the silk gland is reported after supplementing the feed with cobalt chloride, potassium iodide and calcium chloride in the nistari race of *B. mori* (Dasmahapatra *et al.*, 1989). In spite of the increase in the silk gland weight, a significant amount of protein is found in the haemolymph. This may indicate that the protein in the haemolymph is in excess of that used by the silk gland for its growth at this stage and the increased protein content of the haemolymph seems to have been utilised for the synthesis of cocoon shell later at the time of spinning which is evidenced by the increased cocoon shell weight in this group (Hugar and Kaliwal, 1996).

The protein content of the fat body in the 60 µg zinc chloride fed group is significantly decreased whereas that of the haemolymph is significantly increased. The decreased protein content of the fat body in this group might possibly be due to the toxic effect of zinc chloride at this concentration on the protein synthetic activity of the fat body or zinc chloride at this concentration might have triggered the release of protein by the fat body into the haemolymph and the increased protein content of the haemolymph may be due to its non-utilisation by the silk gland for its growth at this stage since the increase in silk gland weight is not significant in this group (Hugar and Kaliwal, 1996).

The significantly decreased protein content of the fat body and unaltered protein content of the haemolymph in the 90 µg zinc chloride fed group might possibly be due to the toxic effect of zinc chloride on the protein synthetic activity of the fat body and also of the silk gland, since there is no significant change in the silk gland weight in this group (Hugar and Kaliwal, 1996). This unaltered protein content of the haemolymph might possibly be due to the inability of the silk gland to utilise the haemolymph protein at this stage.

Whether the increase/decrease in the parameters studied are due to the effect of zinc chloride on the increased/decrease intake of food or due to its effect on the enzyme activity of the gut or due to its direct effect on the synthetic activity of the fat body is not known and further investigation is needed in this regard.

The results of the present study therefore, suggest that the zinc chloride at 30 µg concentration may be utilised to increase the cocoon shell weight in NB₁₈ race of *B. mori*.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors express their sincere thanks to Karnatak University, Dharwad for providing financial support and Prof. V. L. Kallapur, Chairman and Prof. M. A. Hooli Post-graduate Department of Studies in Zoology for providing necessary facilities and valuable suggestions respectively.

REFERENCES

- DASMAHAPATRA, A. K., CHAKRABORTHI M. K. & MEDDA A. K. (1989) Effect of potassium iodide, cobalt chloride, calcium chloride and potassium nitrate on protein, RNA and DNA content of silkgland of silkworm, (*Bombyx mori* L.) Nistari race *Sericologia*, 29(3): 355-359.
- DOWNER R. G. H. (1979) Trehalose production in isolated fat body of the American cockroach, *Periplaneta americana* Comp. Biochem. Physical., 62 C:31-34.
- HUGAR I. I. & KALI WAL B. B. (1996) Effect of zinc chloride on the commercial traits of the bivoltine silkworm *B. mori*. Korean J. Seri. (communicated).
- ITO T. (1967) (Referred from CHAKRABARTI M. K. & MEDDA A. K. (1978) Effect of potassium iodide on silkworms (*Bombyx mori* L.) Nistari race. *Sci. Cult.* 44(5): 231-233). *Proc. Jap. Acad.*, 43-57.
- IZHEVSKIY S. S. (1976) The physiological effects of mineral salts on *Leptinotarsa decemlineata* (coleoptera, chrysomelidae). *Ecologiya*, 4: 90-92.
- JUNGREIS A. M. (1980) Haemolymph as a dynamic tissue In: insect biology in the future. Academic Press, New York.
- KRISHNASWAMI S. (1978b) New technology of silkworm rearing. Bulletin No. 2 CSRTI, Mysore, 1-24.
- KRISHNASWAMI S. (1978c) Improved method of rearing young age (chawki) silkworms. Bulletin no. 3, CSRTI, Mysore, 1-27.
- LOWRY H., ROSEBROUGH, N. I. FAR, A. L. & RANDALL R. J. (1951) Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.
- MURPHY T. A., WYATT G. R. (1965) The enzymes of glycogen and trehalose synthesis in silkworm fat body *J. Bio. Chem.*, 240: 1500-1508.
- MULLINS D. E. (1985) 'Chemistry and physiology of the haemolymph' in: *Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology* (Ed. Kerkut G. A. and Gilbert L. I), Vol. 3, p 356-392.
- NIRWANI R. B. & KALI WAL B. B. (1996) Increase of silk production and quantitative changes of carbohydrate and protein in fat body and haemolymph after feeding potassium sulphate to bivoltine *Bombyx mori* L., *Sericologia France* 36(3): 523-530.
- PADAKI P. R. (1991) Some aspects of physiology of the eri silkworm, *Philosamia ricini*, Ph. D. Thesis, Karnatak University Dharwad, India, 48-162.
- PANT R. & MORRIS I. D. (1969) Changes in active phosphorylase activity and glycogen content during larval and pupa development of *Philosamia ricini*. *J. Biochem. (Tokyo)*, 66:29-31.
- RAGHAVA RAO D. (1983) 'Statistical techniques in agricultural and biological research', Oxford and IBH, Publishing Co., New Delhi.
- ROE J. H. (1955) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *J. Biol. Chem.*, 242: 424-428.
- SCIEFTER S., DAYTON S., NOVIC B., & MYNTIYER E. (1950) The estimation of glycogen with the anthrone reagent, *Arch. Biochem.* 25:191.
- THAKARE V. K., TEMBHARE D. B., KHAN M. W. & PENDHARKAR V. (1980) Chemical composition of haemolymph in the larvae of the dragonfly, *orthetrum chrysis* (Anisoptera: Libellulidae) *Odonatologia*, 9: 321-324.
- TOBIAS J. M. (1948) (Referred from: CHAKRABARTI M. K. & MEDDA A. K. (1978) Effect of cobalt chloride on silkworms (*Bombyx mori* L.) Nistari race. *Sci. Cult.*, 44(9): 406-408 *J. Cell. Comp. Physiol.*, 31: 143.
- WIGGLESWORTH V. B. (1977) *The principles of insect physiology*, 7th Ed. Chapman and Hall, London.
- WYATT G. R. (1967) The biochemistry of sugars and polysaccharides in insects. *Adv. insect physiol.*, 4: 287-360.

EFFET DU CHLORURE DE ZINC SUR LES CHANGEMENTS BIOCHIMIQUES DANS LE CORPS GRAS ET L'HEMOLYPHE DU VER A SOIE BIVOLTIN BOMBYX MORI L.

I. I. HUGAR, R. B. NIRWANI & B. B. KALIWAL

Post-graduate Department of Studies in Zoology, Karnatak University,
Dharwad - 580 003, Karnatak, Inde.

*Nous avons étudié l'effet de l'addition de chlorure de zinc à 30, 60 et 90 µg/ml dans l'alimentation sur les teneurs en protéines et en glycogène du corps gras et les teneurs en tréhalose et en protéines du corps gras et de l'hémolymph chez les larves de la race Nb18 du ver à soie **B. mori** au quatrième âge et au cinquième âge. La teneur en glycogène du corps gras augmente de manière significative chez tous les groupes nourris avec du chlorure de zinc tandis que la teneur en tréhalose de l'hémolymph n'augmente de manière significative que chez le groupe nourri avec 90 µg/ml de chlorure de zinc. La teneur en protéines du corps gras ne change pas tandis que celle de l'hémolymph augmente de manière significative chez le groupe nourri à 30 µg/ml. La teneur en protéines de l'hémolymph augmente de manière significative tandis que celle du corps gras baisse de manière significative chez le groupe nourri avec 60 µg/ml de chlorure de zinc. La teneur en protéines du corps gras baisse de manière significative tandis que celle de l'hémolymph est inaltérée chez le groupe nourri avec 90 µg/ml.*

INTRODUCTION

Le ver à soie, *B. mori*, est un insecte monophage holométabole et sa croissance, son développement et son métabolisme dépendent de ses besoins nutritionnels et des conditions environnementales. La larve de ver à soie accumule une grande quantité de réserves énergétiques dans des tissus variés et est dotée d'une adaptation biochimique unique pour conserver les ressources nutritionnelles disponibles pendant le stade larvaire actif.

Les hydrates de carbone et les protéines sont essentiels pour le développement pupal et adulte et proviennent du corps gras et de l'hémolymph où ils sont stockés pendant le dernier stade larvaire. Les hydrates de carbone sont stockés dans le corps gras sous forme de glycogène, où il est converti en un sucre simple, le tréhalose, avant d'être libéré dans l'hémolymph pour être utilisé.

Thakare et coll., (1980) ont signalé que le tréhalose est un sucre principal de l'hémolymph pendant le dernier stade nymphale de la libellule, *Orthetram chrysis*, et l'on a aussi signalé que le niveau de tréhalose chez beaucoup d'insectes se maintient dans un état constant par régulation homéostatique pendant tous les stades du cycle de vie (Wyat, 1967) et que l'hémolymph sert de tissu de stockage (Jungreis, 1980 et Mullins, 1985).

Les métaux et leurs sels, les cations jouent un rôle clé en agissant comme catalyseur sur les composants structurels des grandes molécules à fonction spécifique qui sont indispensables à la vie. On a observé que le magnésium est essentiel pour l'activité complète de la tréhalose synthétase (Murphy et Wyatt, 1965). Tobias (1948) et Ito (1967) ont observé que les ions calcium, magnésium, phosphore, potassium, manganèse et zinc sont essentiels à la croissance et au développement du ver à soie, *B. mori*.

Dasmahapatra et coll. (1989) ont signalé que l'ajout de chlorure de cobalt, d'iodure, de potassium, de chlorure de calcium et de nitrate de potassium augmente la teneur en protéines, en ARN et en ADN de la glande séricigène chez la race nistari de *B. mori*. Le nourrissage avec des chlorures de zinc et cuprique entraîne une augmentation de la teneur en glycogène et en tréhalose chez le ver à soie eri, *Philosamia ricini* (Padaki, 1991).

D'après les références citées plus haut, il est évident que l'ajout oral de métaux et de sels influence certains des paramètres économiques du ver à soie *B. mori*. Ainsi, cette recherche a été entreprise pour découvrir l'effet du chlorure de zinc sur les teneurs en glycogène et en protéines du corps gras et en tréhalose et en protéines de l'hémolymph du ver à soie bivoltin (NB₁₈), *B. mori*.

MATERIELS ET METHODES

Le ver à soie bivoltin (NB₁₈), *B. mori*, est élevé selon les méthodes améliorées d'élevage du ver à soie (Krishnaswami, 1978 b, c). Les larves du quatrième âge sont divisées en cinq groupes expérimentaux, chaque groupe contenant 5 répétitions de 20 vers chacune. Le produit chimique, le chlorure de zinc, fourni par E-merck (Inde) Limited, Worli, Bombay, est dissous dans de l'eau distillée et est dilué pour former trois concentrations de 30, 60 et 90 µg/ml. Le chlorure de zinc est vaporisé de manière uniforme sur des feuilles de mûrier fraîches avec chaque concentration, puis les feuilles sont séchées et données aux vers à soie du quatrième âge, en alternant les feuilles de mûrier non traitées et traitées. Chaque jour deux nourrissages sont effectués avec des feuilles traitées et deux nourrissages avec des feuilles non traitées. Les témoins porteurs sont nourris avec des feuilles vaporisées avec de l'eau distillée et les témoins normaux avec des feuilles non traitées. Les larves traitées, les témoins porteurs et les témoins normaux sont utilisés pour l'estimation en glycogène et en protéines totales du corps gras et en protéines totales et en tréhalose de l'hémolymph.

Les larves de ver à soie sont disséquées dans un tampon *Bombyx* au pH de 6,5 le sixième jour du cinquième âge. Le corps gras est immédiatement recueilli et utilisé pour les estimations en glycogène (Sciefter et coll., 1950) et en protéines (Lowry et coll., 1951). Les hydrates de carbone positifs à l'anthrone dans l'hémolymph sont considérés comme du tréhalose.

Analyse statistique :

Les expériences sont conçues d'après la méthode aléatoire en blocs (CRBD) et les données recueillies sont soumises au test d'analyse de variance statistique (ANOVA) pour déterminer la différence significative entre le traitement et les groupes témoins (Raghav Rao, 1983).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'étude présente sur l'effet de l'enrichissement de la nourriture avec du chlorure de zinc sur le glycogène du corps gras et la teneur en tréhalose de l'hémolymph et la teneur en protéines du corps gras et de l'hémolymph sont présentés dans le Tableau I.

Effet sur la teneur en glycogène du corps gras et en tréhalose de l'hémolymph :

L'addition orale de chacune des trois concentrations de chlorure de zinc augmente de manière significative la teneur en glycogène du corps gras. Une augmentation similaire de la teneur en glycogène du corps gras a été observée après avoir enrichi l'alimentation avec du manganèse, des chlorures de zinc et cuprique et du sulfate de cuivre chez le ver eri, *Philosamia ricini* (Padaki, 1991) et avec des sulfates de potassium et de magnésium chez le ver à soie bivoltin *B. mori* (Nirwani et Kaliwal, 1995). On a montré que l'accumulation de glycogène pendant la période de nourrissage chez *P. ricini* est due à l'activité accrue de l'amylase et à la glycogénèse (Pant et Morris, 1969). L'augmentation de l'activité de l'amylase dans l'intestin moyen et la production accrue d'hydrates de carbone ont été signalées après l'enrichissement de la nourriture avec des échantillons minéraux

chez le scarabée, *Leptinotarsa decemlineata* (Izhevskiy, 1976). La teneur accrue en glycogène du corps gras après l'enrichissement de la nourriture avec chacune des trois concentrations de chlorure de zinc dans l'étude actuelle est peut-être due à l'effet stimulateur sur l'activité de l'amylase de l'intestin moyen, ce qui entraîne une production accrue d'hydrates de carbone comme l'ont suggéré Izhevskiy (1976) et Pant et Morris (1969).

Les résultats de cette étude indiquent que la teneur en tréhalose de l'hémolymph augmente de manière significative chez le groupe nourri avec 90 µg/ml de chlorure de zinc. Tandis que l'augmentation n'est pas significative chez les groupes nourris avec 30 et 60 µg/ml. L'augmentation de la teneur en tréhalose de l'hémolymph a été signalée après l'alimentation avec des chlorures de zinc et cupriques, des sulfates de manganèse et de cobalt chez le ver à soie eri, *P. ricini* (Padaki, 1991) et des sulfates de magnésium et de potassium chez la race bivoltine NB4D2 du ver à soie, *B. mori* (Nirwani et Kaliwal, 1995). Il a été montré que la production de tréhalose par le corps gras est influencée par certains facteurs endogènes organiques et inorganiques et que les ions de calcium renforcent la production de tréhalose par le corps gras du cafard, *Periplaneta americana* (Downer, 1979). Murphy et Wyatt (1965) ont montré que le magnésium est essentiel pour l'activation complète de la tréhalose synthétase. Il est donc probable que les sels minéraux utilisés par Padaki (1991), Nirwani et Kaliwal (1995) et le chlorure de zinc dans l'étude actuelle auraient un rôle similaire à celui du calcium (Downer, 1979) et du magnésium (Murphy et Wyatt, 1965) dans l'activation de l'activité de la tréhalose synthétase du corps gras, ce qui entraîne une production et une libération accrues de tréhalose dans l'hémolymph par le corps gras. L'augmentation significative de la teneur en tréhalose de l'hémolymph chez le groupe nourri avec 90 µg de chlorure de zinc dans l'étude actuelle suggère que cette concentration est requise pour promouvoir une augmentation significative dans la synthèse du tréhalose par le corps gras et sa libération dans l'hémolymph, puisque les concentrations de chlorure plus faibles de 30 et 60 µg n'augmentent pas de manière significative la concentration dans l'hémolymph chez la race NB18 de *B. mori*. Les deux autres concentrations n'étaient sûrement pas suffisantes pour stimuler la synthèse et la libération de tréhalose par le corps gras.

Effet du chlorure de zinc sur la teneur en protéines du corps gras et de l'hémolymph :

Wigglesworth (1977) a affirmé que le corps gras chez les insectes est le site principal de la synthèse des protéines et du métabolisme intermédiaire des acides aminés. Dans l'étude actuelle, la teneur en protéines du corps gras des groupes nourris avec 30 µg de chlorure de zinc ne change pas tandis que celle de l'hémolymph augmente de manière significative, ce qui suggère que les protéines du corps gras sont libérées dans l'hémolymph et donne donc une teneur en protéines accrue dans l'hémolymph. Le poids de la glande séricigène augmente de manière significative chez ce groupe (Hugar et Kaliwal, 1996). Une augmentation similaire de la teneur en protéines de la glande séricigène est signalée après enrichissement de la nourriture avec du chlorure de cobalt, du iodure de potassium et du chlorure de calcium chez la race nistari de *B. mori* (Dasmahapatra et coll., 1989). Malgré l'augmentation du poids de la glande séricigène, on trouve une quantité significative de protéines dans l'hémolymph. Cela peut indiquer que les protéines de l'hémolymph sont en quantités supérieures à celles utilisées par la glande séricigène pour sa croissance à ce stade et que la quantité supplémentaire de l'hémolymph semble avoir été utilisée pour la synthèse de la coque soyeuse plus tard au moment du filage, comme le prouve le poids accru de la coque soyeuse chez ce groupe (Hugar et Kaliwal, 1996).

La teneur en protéines du corps gras dans le groupe nourri avec 60 µg de chlorure de zinc baisse de manière significative tandis que celle de l'hémolymph augmente de manière significative. La teneur en protéines du corps gras en baisse chez ce groupe est peut-être due à l'effet toxique du chlorure de zinc à cette concentration sur l'activité protéosynthétique du corps gras ou bien le chlorure de zinc à cette concentration peut avoir déclenché la libération de protéines par le corps gras dans l'hémolymph et la teneur élevée en protéines en hausse de l'hémolymph est peut-être due à sa non-utilisation par la glande séricigène pour sa croissance à ce stade, puisque l'augmentation du poids de la glande séricigène n'est pas significative chez ce groupe (Hugar et Kaliwal, 1996).

La teneur en protéines du corps gras en baisse significative et la teneur en protéines inaltérée de l'hémolymph chez le groupe nourri avec 90 µg de chlorure de zinc sont peut être dues à l'effet toxique du chlorure de zinc sur l'activité protéo-synthétique du corps gras et de la glande séricigène, puisqu'il n'y a pas de changement significatif du poids de la glande séricigène chez ce groupe (Hugar et Kaliwal, 1996). Cette teneur en protéines inaltérée de l'hémolymph est peut-être due à l'incapacité de la glande séricigène à utiliser les protéines de l'hémolymph à ce stade.

On ne sait pas si la hausse/la baisse des paramètres étudiés sont dues à l'effet du chlorure de zinc sur l'absorption en hausse/en baisse de la nourriture à son effet sur l'activité de l'enzyme de l'intestin ou à son effet direct sur l'activité synthétique du corps gras. Il faudrait entreprendre des recherches supplémentaires à cet égard.

Les résultats de cette étude suggèrent donc que le chlorure de zinc à une concentration de 30 µg pourrait être utilisé pour augmenter le poids de la coque soyeuse chez la race NB₁₈ de *B. mori*.

STUDIES ON THE COMBINING ABILITY OF THE NEW MULTIVOLTINE RACE MU953 WITH TROPICAL BIVOLTINE RACES

G. V. KALPANA* & G. SREERAMA REDDY

Sericulture Section, Dept. of Studies in Zoology, Manasa Gangothri, Mysore, India.

The general and specific combining abilities of the new multivoltine race MU953 with four tropical bivoltine races i.e., Kalimpong-A, NB₇, NB₁₈ and NB₄D₂ were evaluated by analysing nine quantitative traits such as fecundity, hatching %, larval duration, pupation rate, cocoon yield by number, cocoon yield by weight, single cocoon weight, single shell weight and cocoon shell %. The isolated multivoltine race was used as line and four bivoltine races as testers. Evaluation of the performance of the new multi-bi hybrids for the nine economic traits revealed that the new multivoltine race combines well with all the four bivoltine races. Comparison of the performance of the new multi-bi hybrids with the traditional hybrids of pure Mysore and bivoltine races revealed the superiority of the new multi-bi hybrids over the traditional hybrids for both viability and productivity traits. The advantages of new multi-bi hybrids over traditional hybrids are discussed in relevance to the increased unit production of silk.

Keywords: Combining ability, multi-bi hybrids, viability, productivity.

INTRODUCTION

The aim of silkworm breeding is not only to synthesise the new genotypes but also to adjudicate the best hybrids for commercial exploitation. In sericulture, efforts have been made to cross different silkworm varieties to produce hybrids to improve the productivity. However, in India, the hybrids produced could not contribute to the rapid progress in productivity since the parental strains involved were multivoltine races with poor quantitative characters. Several attempts made to replace multivoltine pure Mysore in the preparation of multi × bi hybrids as well as to introduce bivoltine hybrids to improve the quantity and the quality of the silk produced have met with little success (Sengupta *et al.*, 1971, 1974; Sengupta and Datta, 1975; Narasimhanna, 1976; Jolly, 1983; Datta, 1984; Pershad *et al.*, 1986, Datta and Pershad, 1988 and Subbarao and Sahai, 1989).

After the advent of biometrical genetics, several new and highly productive hybrids were produced by employing the methods of the diallel cross technique and line × tester analysis to understand general and specific combining abilities. Of the two methods, the latter one is employed to evaluate the combining ability of the new multivoltine race MU953 and the traditional multivoltine race pure Mysore as lines and four traditional bivoltine races Kalimpong-A (KA), NB₇, NB₁₈ and NB₄D₂ as testers to adjudicate the superior hybrids for commercial exploitation.

The nine metric traits such as fecundity, hatching percentage, larval duration, pupation rate, cocoon yield by number, cocoon yield by weight, cocoon weight, shell weight and cocoon shell percentage were selected to evaluate the general combining ability of the lines and testers as well as

* Central Sericultural Research and Training Institute, Srirampura, Mysore, India.

the specific combining ability of the hybrids. The performance of new and traditional multi × bi hybrids were compared to identify the better hybrid combination for commercial exploitation.

MATERIALS AND METHODS

The newly isolated multivoltine race MU953 spinning white dumbbell cocoons and the traditional multivoltine race pure Mysore spinning flossy greenish oval cocoons and four tropical bivoltine races i.e., Kalimpong-A and NB₇ spinning white oval cocoons and NB₁₈ and NB₄D₂ spinning white dumbbell cocoons were used as testers in the present study. A total of eight hybrid combinations were produced. The general combining ability of the lines and testers as well as the specific combining ability of the hybrids were evaluated with respect to nine metric traits such as fecundity, hatching percentage, larval duration, cocoon weight, shell weight, shell percentage, yield by number, yield by weight and pupation rate. Cellular rearing in replicates of three each was conducted (post monsoon season, 1989) by following the standard rearing techniques of Yokoyama, 1963 and Krishnaswami, 1978. The data obtained on the performance of each one of the metric traits were pooled and subjected to relevant statistical methods (Kemphorne, 1957) to evaluate GCA of lines and testers and SCA of the hybrids as detailed below:

1) General combining ability:

a) Lines

$$g_l = \frac{x_i}{t_j} - \frac{x}{lt_j}$$

b) Testers

$$g_t = \frac{x_j}{l_r} - \frac{x}{ltr}$$

2) Specific combining ability:

$$S_{ij} = \frac{x_{ij}}{r} - \frac{x_i}{t_j} - \frac{x_j}{l_r} + \frac{x}{lt_j}$$

Where

g_l = general combining ability of lines

x_i = number of lines

t_j = number of replication of lines

x = grand mean

l = line, t = tester, r = replication

x_j = number of testers

Further, the genotypic values of the hybrids along with their parents were calculated by applying the following formula:

$$C(A \times B) = GCA(A) + GCA(B) + SCA(A \times B)$$

C = Genotypic value, A = line, B = tester, $(A \times B)$ = hybrid

RESULTS

The mean values of the nine metric traits analysed for both the new and traditional hybrids are presented in Table I.

Table I. Mean values of economic traits in the F₁ hybrids of new and traditional multivoltine races.*Tableau I. Valeurs moyennes des traits économiques chez les hybrides F₁ de races polyvoltines nouvelles et traditionnelles.*

FI Hybrids	Fec.	Hat. %	L D. (hrs)	Pup rate %	Yield by No.	Yield by wt (kg)	S.C.Wt (g)	S. S. Wt. (g)	S.R%
<i>Hybrides F₁</i>	<i>Fécondité</i>	<i>% d'éclosion</i>	<i>Durée larvaire</i>	<i>Taux de nymphe %</i>	<i>Rendement en nbre</i>	<i>Rendement en pds (kg)</i>	<i>Poids cocon</i>	<i>Poids coque</i>	<i>Richesse soyeuse</i>
MU 953 × KA	455	96.84	584	91.66	9337	17.43	1.868	0.318	17.04
MU953 × NB ₇	457	97.00	590	91.42	9339	16.47	1.763	0.282	16.96
MU953 × NB ₁₈	467	97.64	605	90.17	9216	14.62	1.587	0.272	17.12
MU953 × NB ₄ D ₂	474	97.72	606	91.23	9342	16.52	1.769	0.293	16.56
PM × KA	415	95.54	605	91.14	9214	16.42	1.804	0.303	16.83
PM × NB ₇	404	96.87	608	90.77	9159	14.97	1.634	0.264	16.16
PM × NB ₁₈	416	94.79	622	90.35	9105	13.66	1.500	0.256	17.08
PM × NB ₄ D ₂	436	94.23	644	90.99	9260	15.86	1.712	0.285	16.65

Table II. General combining abilities of the multivoltine lines for each of the characters.*Tableau II. Aptitudes générales à la combinaison de lignées polyvoltines pour chacun des caractères.*

Lines	Fec.	Hat. %	L D. (hrs)	Pup. rate %	Yield by no.	Yield by wt (kg)	S.C.Wt (g)	S. S. Wt (g)	S.R. %
<i>Lignées</i>	<i>Féc.</i>	<i>Eclos. %</i>	<i>Durée larvaire</i>	<i>Taux de nymphe %</i>	<i>Rendement en nbre</i>	<i>Rendement en pds (kg)</i>			
MU953	22.667	0.722	11.708	0.153	62.04	0.491	0.042	0.007	0.121
PM	22.667	0.722	11.708	0.153	62.0	0.491	0.042	0.007	0.121
S. E.	3.897	21.613	1.430	0.317	29.98	0.186	0.015	0.03	0.179
CD at 5%	11.69	64.84	4.29	0.95	89.94	0.558	0.045	0.009	0.537
D.C. à 5%									

L. D.: Larval duration / *Durée larvaire*. **S. C.Wt.:** Single cocoon weight / *Poids du cocon individuel*. **S. S. Wt.:** Single shell weight / *Poids d'une coque*. **S. R. %:** Shell ratio % / *richesse soyeuse*. **S. E.:** Standard error / *Intervalle de confiance*. **C. D.:** Critical difference / *Différence critique*.

Table III. General combining abilities of the bivoltine testers for each of the characters.

Tableau III. Aptitudes générales à la combinaison des testeurs bivoltins pour chaque caractère.

Testers	Fec.	Hat. %	L D. (hrs)	Pup. rate %	Yield by no.	Yield by wt (kg)	S.C.Wt (g)	S. S. Wt (g)	S.R. %
	<i>Fécondité</i>	<i>Eclos. %</i>		<i>Taux de nymphase %</i>	<i>Rendement en nbre</i>	<i>Rendement en pds (kg)</i>			
KA	-5.667	0.112	-13.542	0.433	28.79	1.527	0.131	0.027	0.136
NB7	-10.000	0.856	-9.042	0.126	2.625	-0.050	-0.006	-0.011	-0.239
NB18	1.167	0.132	5.458	-0.707	-86.0	-1.626	-0.161	-0.020	0.300
NB4D2	14.500	-1.101	17.125	0.148	54.62	0.419	0.036	0.005	-0.197
S.E	5.511	11.823	2.023	0.448	42.39	0.262	0.021	0.004	0.253
CD at 5%	16.533	32.841	6.06	1.344	127.2	0.786	0.063	0.012	0.759

Table IV. Specific combining abilities in the eight multi × Bi hybrids for nine economic traits.

Tableau IV. Aptitudes spécifiques à la combinaison de huit hybrides poly × b. par rapport à neuf traits économiques.

F1 hybrids	Fec.	Hat. %	L D. (hrs)	Pup. rate %	Yield by no.	Yield by wt (kg)	S.C.Wt (g)	S. S. WT (g)	S.R. %
<i>Hybrides F1</i>	<i>Féc.</i>	<i>Eclosion %</i>		<i>Taux de nymphase %</i>	<i>Rendement en nbre</i>	<i>Rendement en pds (kg)</i>			
MU953 × KA	-3.00	-0.070	1.375	0.105	-0.542	-0.085	-0.010	0.001	-0.011
MU953 × NB7	4.00	-0.657	2.542	0.172	27.958	0.255	0.022	0.002	0.280
MU953 × NB18	2.833	0.703	3.042	-0.245	-6.708	-0.011	0.001	0.001	-0.101
MU953 × NB4D2	-3.833	0.023	-6.958	-0.033	-20.708	-0.160	-0.014	-0.003	-0.168
PM × KA	3.000	0.070	-1.375	-0.105	0.542	0.085	0.010	-0.001	0.011
PM × NB7	-4.000	0.657	-2.542	-0.172	-27.958	-0.255	-0.022	-0.002	-0.280
PM × NB18	-2.833	-0.703	-3.042	0.245	6.708	0.011	-0.011	-0.001	0.101
PM × NB4D2	3.833	-0.023	6.958	0.033	20.708	0.160	0.014	0.003	0.168
S. E.	7.794	43.226	2.861	0.634	59.960	0.371	0.030	0.006	0.358
CD at 5%	23.370	129.690	8.580	1.900	179.880	1.110	0.090	0.018	1.070

L. D.: Larval duration / *Durée larvaire*. S. C.Wt.: Single cocoon weight / *Poids du cocon individuel*. S. S. Wt.: Single shell weight / *Poids d'une coque*. S. R. %: Shell ratio % / *richesse soyeuse*. S. E.: Standard error / *Ecart type*. C. D.: Critical difference / *Différence critique*

Table V. Genotypic values of both new and traditional hybrids for each of the characters.

Tableau V. Valeurs génotypiques d'hybrides nouveaux et traditionnels par rapport à chaque caractère.

Hybrids	Fec.	Hat %	L. D. (hrs)	Pup rate %	Yield/no	Yield/wt	SCW	SSW	SR%
<i>Hybrides</i>	<i>Fert.</i>	<i>% d'éclosion</i>		<i>Taux de nymphe (%)</i>	<i>Rendement /nb</i>	<i>Rendement /Poids</i>			
MU953 × KA	14.00	0.764	23.875	0.691	90.289	1.933	0.163	0.035	0.25
MU953 × NB ₇	16.67	0.921	18.208	0.451	92.963	0.696	0.058	0.012	0.16
MU953 × NB ₁₈	26.67	1.557	3.208	0.799	30.668	1.146	0.118	0.012	0.32
MU953 × NB ₄ D	33.33	0.356	1.541	0.268	95.952	0.750	0.064	0.009	0.24
PM × KA	25.33	0.540	3.209	0.175	32.708	1.121	0.099	0.019	0.03
PM × NB ₇	36.67	0.791	0.124	0.199	87.373	0.796	0.070	0.020	0.64
PM × NB ₁₈	24.33	1.293	14.124	0.615	141.330	2.106	0.204	0.028	0.28
PM × NB ₄ D ₂	4.34	1.846	35.791	0.028	13.288	0.088	0.458	0.001	0.15

L. D.: Larval duration / *Durée larvaire*. S. C.Wt.: Single cocoon weight / *Poids du cocon individuel*. S. S. Wt.: Single shell weight / *Poids d'une coque*. S. R. %: Shell ratio % / *Richesse soyeuse*.

Table VI. Genotypic values of new and traditional hybrids for viability and productivity traits.

Tableau VI. Valeurs génotypiques d'hybrides nouveaux et traditionnels par rapport à leur viabilité et à leur productivité.

Hybrids / <i>Hybrides</i>	Genotypic value / <i>Valeur génotypique</i>	
	Viability / <i>Viabilité</i>	Productivity / <i>Productivité</i>
Mu 953 × KA	90.979	2.377
MU953 × NB ₇	93.414	0.928
MU953 × NB ₁₈	31.467	0.956
MU 953 × NB ₄ D ₂	96.220	0.660
PM × KA	32.533	11.777
PM × NB ₇	87.174	1.486
PM × NB ₁₈	141.495	2.058
PM × NB ₄ D ₂	13.136	0.221

As revealed by the data, the new multivoltine hybrids were found to be superior to the traditional hybrids for all the nine metric traits. The general combining ability values of the lines and testers with respect to nine metric traits are presented in tables II and III respectively. As evidenced by the data, the new multivoltine race MU953 was found to express positive GCA values for the traits under study except for larval duration (Table II). Among the four bivoltine testers, KA and NB4D2 were observed to exhibit better GCA values for pupation rate, cocoon yield by number, cocoon yield by weight, SCW (Single Cocoon weight), SSW (Single Shell Weight) and SR (Shell ratio) % than NB7 and NB18. On the other hand, NB7 was observed to express higher GCA values for pupation rate, cocoon yield by number than NB18. While, NB18 was found to show positive GCA values for the traits fecundity, hatching percentage and cocoon shell ratio (Table III).

Table VII. Genotypic worth of new and traditional hybrids for viability and productivity traits in a descending order.

Tableau VII. Valeur génotypique des hybrides nouveaux et traditionnels par rapport à leur viabilité et à leur productivité dans un ordre descendant.

Hybrids / Hybrides	Genotypic value <i>Valeur génotypique</i>	Rank <i>Classement</i>
PM × NB18	-143.553	I
MU953 × NB4D2	96.880	II
MU953 × NB7	94.342	III
MU953 × KA	93.356	IV
PM × NB7	85.688	V
MU953 × NB18	-32.423	VI
PM × KA	-20.756	VII
PM × NB4D2	13.466	VIII

The values for specific combining ability obtained for each one of the metric traits analysed for both new and traditional multibivoltine hybrids are presented in Table IV. The new hybrid of MU953 × NB7 exhibits higher SCA values for all the nine metric traits analysed except for the hatching percentage followed by the hybrids of MU953 × NB18 with higher SCA values for productivity traits, MU953 × KA for viability traits and MU953 × NB4D2 for hatching percentage and shorter larval duration. While, PM × NB4D2 was found to express higher SCA values for both viability and productivity traits followed by PM × KA and PM × NB18 for cocoon yield by number, cocoon yield by weight and cocoon shell percentage and PM × NB7 for hatching percentage. The genotypic value for both new and traditional hybrids for the nine metric traits are presented in Table V. The traditional hybrid PM × NB18 expressed the highest genotypic value for the viability trait and PM × KA for productivity traits (Table VI). The combined genetic worth of the hybrids for viability and productivity traits revealed the highest genetic value in PM × NB18 followed by the three new hybrid combinations (Table VII).

DISCUSSION

The ultimate results in silkworm breeding are judged by the excellency of characters of the parental strains that appear in F₁. Even if the characters of both the parents are superior and if they are not reflected in the hybrids, the parent strains have not much value. In fact, many silkworm races isolated with great caution by silkworm breeders will turn out to be poor combiners in producing the hybrids. The knowledge of biometrical genetics has helped to develop several methods of which the diallel cross technique and line $\times$ tester analysis have been extensively used to evaluate the combining ability of different strains to adjudicate the superior hybrids for commercial exploitation (Osawa & Harada, 1944; Yokoyama 1979; Subbarao, 1983; Pershad *et al.*, 1986; Strunnikov, 1986; Benjamin *et al.*, 1988 and Datta and Pershad, 1988).

In the present study, the combining ability of the isolated multivoltine race MU953 along with the traditional multivoltine race pure Mysore was evaluated with four bivoltine testers namely KA, NB7, NB18, & NB4D₂ by employing the line $\times$ tester method. The data pertaining to eight hybrid combinations for nine metric traits in both the lines and testers as well as their hybrids are presented in Tables I to IV with relevant statistical analysis to evaluate the general and specific combining abilities. Both the new and traditional hybrids were observed to express marginal variations with regard to fecundity and hatching percentage indicating similarity in the contributions of these traits by the isolated line MU953 and traditional race pure Mysore. While, the reduced larval duration, increased viability traits such as pupation rate and cocoon yield by number and productivity traits such as cocoon weight, shell weight, cocoon shell percentage and cocoon yield by weight were found to be superior in the new hybrids over traditional hybrids indicating the higher contributions for these traits in the isolated multivoltine race MU953 to the hybrids (Table I).

Of the two multivoltine races, the new multivoltine race MU953 can be considered as a better general combiner than pure Mysore on the basis of GCA values obtained for all the nine metric traits analysed (Table II). On the other hand, the three testers KA, NB7 and NB4D₂, out of the four testers used can be considered as better combiners as revealed by their higher GCA values for both viability and productivity traits than NB18 (Table III).

The specific combining ability values calculated for eight hybrid combinations reveal higher SCA values in the new hybrid of MU953 $\times$ NB7 for all the nine metric traits analysed except for the hatching percentage followed by the hybrids of MU953 $\times$ NB18 with higher SCA values for productivity traits, MU953 $\times$ KA for viability traits and MU953 $\times$ NB4D₂ for hatching percentage and larval duration. While, PM $\times$ NB4D₂ was found to express higher SCA values for both viability and productivity traits followed by PM $\times$ KA and PM $\times$ NB18 for cocoon yield by number, cocoon yield by weight and cocoon shell % and PM $\times$ NB7 for hatching percentage (Table IV).

On the basis of the general combining ability of the lines and testers used in the study and the specific combining ability of the hybrids with respect to nine metric characters analysed, the new multivoltine race MU953 can be considered as a better combiner when crossed with the known testers. Thus confirming the findings of Richie (1947) who pointed out the ability of the inbred lines with higher yield to contribute significantly to the combining ability. Similarly, based on the SCA values out of eight multi $\times$ bi hybrids, the new hybrid of MU953 $\times$ NB7 and the traditional hybrid of PM $\times$ NB4D₂ were adjudicated as the best hybrids for commercial exploitation indicating superiority in the new race of MU953 in contributing to the hybrids.

On the basis of the genotypic value of the hybrids, the traditional hybrid PM $\times$ NB18 expressed the highest value of -141.45, followed by the hybrids of MU953 $\times$ NB4D₂, MU953 $\times$ NB7 and MU953 $\times$ KA in a descending order for the viability trait. Further, with regard to productivity traits, the hybrids PM $\times$ KA expressed the highest genotypic value of 11.777 followed by the hybrids of MU953 $\times$ KA and PM $\times$ NB18 in a descending order (Table VI). Based on the genotypic value for the viability and the productivity traits, out of eight hybrid combinations, PM $\times$ NB18 expressed the highest genotypic value (-143.553), followed by MU953 $\times$ NB4D₂ (96.88), MU953 $\times$ NB7 and MU953 $\times$ KA in a descending order (Table VII).

The overall improvement observed for all the metric traits in the new hybrids reflects the maximum contributions of the desirable metric traits by the new race for the expression of higher viability and productivity.

ACKNOWLEDGEMENT

One of the authors (Dr G. V. Kalpana) thanks the Council of Scientific and Industrial Research (CSIR) for the financial support.

REFERENCES

- BENCHAMIN K. V., JOLLY M. S. & BENJAMIN D. A.I., 1988. Studies on the reciprocal crosses of multivoltine and bivoltine breeds in silkworm *Bombyx mori* L. with special reference to the use of bivoltine hybrid as a parent. Indian J. Seric 27(1): 27-34.
- DATTA R. K., 1984. Improvement of silkworm race (*Bombyx mori*) in India. Sericologia, 24(3): 393-415.
- DATTA R. K. & G. D. PERSHAD, 1988. Combining ability among multivoltine × bivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.) hybrids. Sericologia: 28(1):21-29.
- JOLLY M. S. 1983 Silkworm breeding in India (Silkworm breeding and genetics). Lead paper. NaH Seminar Silk Res. div. (Bangalore) 1-9.
- KEMPTHORNE. O., 1957 An introduction to genetics statistics. Jhon Wiley and sons, New-York.
- KRISHNASWAMY S. 1978 New technology of silkworm rearing. C. S. B. publication, Bangalore, 2:1-10.
- NARASIMHANNA, M. N. 1976. Contributions to the genetics of silkworm. Ph. D. thesis. University of Mysore. Mysore, India.
- OSAWA K. & C. HARADA 1944. Studies on the F1 hybrids of the silkworm III on the effect of heterosis. Bull. Seri. Expt. Japan 12: 183-211.
- PERSHAD, C. D., DATTA R. K., BHARGAVA S. K., VIJAYA KUMAR H. V. & JOLLY M. S., 1986. Combining ability analysis in multivoltine races of *Bombyx mori* L. Sericologia, 26, 307-315.
- RICHIE F. D. 1947 Corn breedings, gamete selection, the ocnothers method and related miscellany, J. Amer. Soci. Agron. 39.
- SENGUPTA K., DATTA R.K., BISWAS S.N. & B. D. SINGH 1971. Studies on the heterosis in multivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.) I. Yield performance of F1 hybrids of Nistari and four evolved multivoltine breeds. J. Seric., 10, 6-13.
- SENGUPTA K., YUSUF M. R. & S. P. GROVER 1974. Hybrid vigour and genetic analysis of quantitative traits in silkworm. Indian J. of genetics. 34(A) : 240-256.
- SENGUPTA & R. K. DATTA, 1975 Studies on the evolution of superior multivoltine breeds of silkworm *Bombyx mori* L. XII Int Silk Cong (Barcelona) 1-16.
- STRUNNIKOV V. A. 1986 Nature of heterosis and combining ability in the silkworm. Theor. Appl. genetics 72(4): 503-512.
- SUBBA RAO G. 1983 Line × tester analysis of some character in bivoltine silkworms. Abstract. Natl. Sem. Silk. Res. and Develop. Bangalore.
- SUBBA RAO G & SAHAI, 1989 Combining ability and heterosis studies in bivoltine strains of silkworm *Bombyx mori* L. Uttar Pradesh, J. Zool. 9(2): 150-164.
- YOKOYAMA T. 1963 Sericulture A rev Ent. 8: 287-306.
- YOKOYAMA T. 1979 Silkworm selection and hybridization. Working papers. The Rockfeller foundation. Genetics in relation to insect management: 71-83.

ETUDES SUR L'APTITUDE A LA COMBINAISON DE LA NOUVELLE RACE POLYVOLTINE MU953 AVEC DES RACES BIVOLTINES TROPICALES

G. V. KALPANA* & G. SREERAMA REDDY

Sericultural Section, Dept. of Studies in Zoology, Manasa Gangothri, Mysore, Inde.

Les aptitudes générales et spécifiques à la combinaison de la nouvelle race polyvoltine MU953 avec quatre races tropicales bivoltines en l'occurrence Kalimpong-A, NB7, NB18 et NB4D2 ont été évaluées en analysant neuf traits quantitatifs : la fécondité, le pourcentage d'éclosion, la durée larvaire, le taux de pupaison, le rendement en cocons en nombre, le rendement en cocons en poids, le poids individuel du cocon, le poids individuel de la coque et la richesse soyeuse. La race polyvoltine isolée a été utilisée comme lignée et quatre races bivoltines comme testeurs. L'évaluation de la performance des nouveaux hybrides poly-bi par rapport aux neuf traits économiques révèle que la nouvelle race polyvoltine se combine bien avec les quatre races bivoltines. La comparaison de la performance des nouveaux hybrides poly-bi par rapport aux hybrides traditionnels entre la race Pure Mysore et des bivoltins révèle la supériorité des nouveaux hybrides poly-bi par rapport aux hybrides traditionnels à la fois pour les caractères de viabilité et de productivité. Les avantages des nouveaux hybrides poly-bi par rapport aux hybrides traditionnels sont débattus par rapport à l'augmentation d'unité de soie produite.

INTRODUCTION

Le but du breeding du ver à soie est non seulement d'obtenir des nouveaux génotypes mais aussi de juger les meilleurs hybrides pour l'exploitation commerciale. En sériciculture, des efforts ont été faits pour croiser différentes variétés de vers à soie pour produire des hybrides afin d'améliorer la productivité. Toutefois, en Inde, les hybrides produits n'ont pas contribué au progrès rapide de la productivité, les souches parentales concernées étant des races polyvoltines aux caractères quantitatifs pauvres. Plusieurs essais entrepris pour remplacer le polyvoltin Pure Mysore dans la préparation d'hybrides poly × bi, tout comme pour introduire des hybrides bivoltins afin d'améliorer la quantité et la qualité de la soie produite ont rencontré peu de succès (Sengupta et coll., 1971, 1974 ; Sengupta et Datta, 1975 ; Narasimhanna, 1976 ; Jolly, 1983 ; Datta, 1984 ; Pershad et coll., 1986, Datta et Pershad, 1988 et Subbarao et Sahai, 1989).

Après l'arrivée de la génétique biométrique, plusieurs hybrides nouveaux et très productifs ont été produits en employant les méthodes de croisement diallèle et l'analyse lignée × tester pour comprendre les aptitudes générales et spécifiques à la combinaison. Des deux méthodes, on a employé la dernière pour évaluer l'aptitude à la combinaison de la nouvelle race polyvoltine MU953 et de la race polyvoltine traditionnelle Pure Mysore comme lignées et de quatre races traditionnelles bivoltines Kalimpong-A (KA), NB7, NB18, et NB4D2 comme testeurs, pour juger les hybrides supérieurs pour l'exploitation commerciale.

Les neuf traits métriques tels que la fécondité, le pourcentage d'éclosion, la durée larvaire, le taux de pupaison, le rendement en cocons en nombre, le rendement en cocons en poids, le poids du cocon,

* Central Sericultural Research and Training Institute, Srirampura, Mysore, Inde.

le poids de la coque et le pourcentage de la coque soyeuse ont été sélectionnés pour évaluer l'aptitude générale à la combinaison des lignées et des testeurs tout comme l'aptitude à la combinaison spécifique des hybrides. Les performances des hybrides multi × bi nouveaux et traditionnels ont été comparées pour identifier la meilleure combinaison hybride pour l'exploitation commerciale.

MATERIELS ET METHODES

La nouvelle race polyvoltine isolée MU53 filant des cocons blancs cintrés et la race traditionnelle polyvoltine Pure Mysore filant des cocons ovales verdâtres et duveteux et quatre races tropicales bivoltines, Kalimpong-A et NB7 filant des cocons ovales blancs et NB18 et NB4D2 filant des cocons blancs cintrés sont utilisées comme testeurs dans l'étude actuelle. Un total de huit combinaisons hybrides a été obtenue. L'aptitude générale à la combinaison des lignées et des testeurs tout comme l'aptitude à la combinaison des hybrides sont évaluées par rapport à neuf traits métriques : la fécondité, le taux d'éclosion, la durée larvaire, le poids du cocon, le poids de la coque, le pourcentage de coque, le rendement en nombre, le rendement en poids et le taux de pupaison. L'élevage cellulaire, en trois répétitions, a été réalisé (saison post-mousson, 1989) en suivant les techniques d'élevage standard de Yokoyama, 1963 et Krishnaswami, 1978. Les données obtenues sur la performance de chacun des traits métriques sont regroupées et analysées par les méthodes statistiques adaptées (Kempthorne, 1957) pour évaluer le GCA des lignées et des testeurs et le SCA des hybrides comme il est spécifié ci-dessous :

1) Aptitude générale à la combinaison :

a) Lignées :

$$g_l = \frac{x_i}{t_l} - \frac{x}{lt_l} n$$

b) Testeurs :

$$g_t = \frac{x_j}{l_r} - \frac{x}{ltr}$$

2) Aptitude spécifique à la combinaison :

$$S_{ij} = \frac{x_{ij}}{r} - \frac{x_i}{t_l} \cdot \frac{x_j}{l_r} + \frac{x}{lt_l}$$

Ou

g_l = aptitude générale à la combinaison

x_i = nombre de lignées

t_l = nombre de répétitions des lignées

x = grande moyenne

l = lignée, t = testeur, r = répétition

x_j = nombre de testeurs

De plus, les valeurs génotypiques des hybrides et de leurs parents sont calculées en appliquant la formule suivante :

$$C(A \times B) = GCA(A) + GCA(B) + SCA(A \times B)$$

C = Valeur génotypique, A = lignée, B = testeur, $(A \times B)$ = hybride

RESULTATS

Les valeurs moyennes des neuf traits métriques relevées à la fois pour les hybrides traditionnels et nouveaux sont présentées dans le Tableau I.

Comme le révèlent les données, on trouve que les nouveaux hybrides polyvoltins sont supérieurs aux hybrides traditionnels pour les neuf traits métriques. Les valeurs d'aptitudes générales à la combinaison (GCA) des lignées et des testeurs par rapport aux neuf traits métriques sont présentées dans les tableaux II et III respectivement. Comme le prouvent les données, on observe que la nouvelle race polyvoltine MU953 exprime des valeurs GCA positives pour les traits à l'étude excepté pour la durée larvaire (Tableau II). Parmi les quatre testeurs polyvoltins, on observe que KA et NB4D2 présentent de meilleures valeurs GCA que NB7 et NB18 pour le taux de pupaison, le rendement en cocons en nombre, le rendement en cocons en poids, le SCW (Poids unique du cocon), le SSW (Poids unique de la coque) et le pourcentage SR (richesse soyeuse). D'autre part, on observe que NB7 exprime des valeurs GCA plus élevées que NB18 pour le taux de pupaison et le rendement en cocons en nombre. Tandis qu'on observe que NB18 présente des valeurs GCA positives pour la fertilité, le taux d'éclosion et la richesse soyeuse (Tableau III).

Les valeurs d'aptitude spécifique à la combinaison (SCA) obtenues pour chacun des traits métriques analysés à la fois pour les hybrides polybivoltins nouveaux et traditionnels sont présentées dans le tableau IV. Le nouvel hybride de MU953 × NB7 présente des valeurs SCA plus élevées pour les neuf traits métriques analysés sauf pour le taux d'éclosion suivi par les hybrides de MU953 × NB18 avec des valeurs SCA plus élevées pour les caractères de productivité, MU953 × KA pour les caractères de viabilité et MU953 × NB4D2 pour le pourcentage d'éclosion et une durée larvaire plus courte. Tandis que PM × NB4D2 exprime des valeurs SCA plus élevées à la fois pour la viabilité et les caractères de productivité suivi par PM × KA et PM × NB18 pour le rendement en cocons en nombre, le rendement en cocon en poids et la richesse soyeuse et PM × NB7 pour le taux d'éclosion. Les valeurs génotypiques des hybrides nouveaux et traditionnels pour les neuf traits métriques sont présentées dans le tableau V. L'hybride traditionnel PM × NB18 exprime la valeur génotypique la plus élevée pour le caractère de viabilité et PM × KA pour les caractères de productivité (Tableau VI). La valeur génétique combinée des hybrides pour les traits de viabilité et de productivité révèle la valeur génétique la plus élevée chez PM × NB18 suivie par les trois nouvelles combinaisons d'hybrides (Tableau VII).

DISCUSSION

Les résultats finaux dans l'élevage du ver à soie se jugent par l'excellence des caractères des souches parentales qui apparaissent en F₁. Même si les caractères des deux parents sont supérieurs, s'ils ne se reflètent pas chez les hybrides, les souches parentales n'ont pas beaucoup de valeur. En fait, de nombreuses races de vers à soie isolées avec beaucoup d'attention par les éleveurs de vers à soie s'avèreront de mauvais recombinants dans la production d'hybrides. La connaissance de la génétique biométrique a permis de mettre au point plusieurs méthodes dont la technique de croisement diallèle et l'analyse lignée × testeur qui ont été largement utilisées pour évaluer l'aptitude à la combinaison des différentes souches afin de juger les hybrides supérieurs pour l'exploitation commerciale (Osawa & Harada et coll., Yokoyama 1979 ; Subbarao, 1983 ; Pershad et coll., 1986 ; Strunnikov, 1986 ; Benjamin et coll., 1998 1988 et Datta et Pershad, 1988).

Dans l'étude actuelle, l'aptitude à la combinaison de la race polyvoltine isolée MU953 et celle de la race pure traditionnelle polyvoltine Pure Mysore a été évaluée avec quatre testeurs bivoltins en l'occurrence KA, NB7, NB18, et NB4D2 en employant la méthode lignée × testeur. Les données appartenant à huit combinaisons d'hybrides pour les neuf traits métriques chez les lignées et les testeurs tout comme chez leurs hybrides sont présentées dans les tableaux I à V, avec l'analyse statistique adaptée pour évaluer les aptitudes générales et spécifiques à la combinaison. On observe que les hybrides traditionnels et nouveaux expriment des variations marginales par rapport à la fertilité

et au taux d'éclosion, ce qui indique des contributions similaires pour ces traits de la ligne isolée MU953 et de la race traditionnelle Pure Mysore. Tandis qu'on observe qu'une durée larvaire plus courte, des caractères plus élevés de viabilité tels que taux de pupaison et rendement en cocons en nombre et des caractères de productivité tels que poids du cocon, poids de la coque, pourcentage de coque et rendement en cocons par le poids, sont supérieurs chez les nouveaux hybrides par rapport aux hybrides traditionnels, ce qui indique les contributions plus élevées envers ces traits de la race polyvoltine isolée MU953 chez les hybrides (Tableau I).

Des deux races polyvoltines, la nouvelle race polyvoltine MU953 peut être considérée comme un meilleur recombinaut que la Pure Mysore, sur la base des valeurs GCA obtenues pour les neuf traits métriques analysés (Tableau II). D'autre part, sur les quatre testeurs utilisés, les trois testeurs, KA, NB7 et NB4D2, peuvent être considérés comme de meilleurs recombinauts que NB18 comme le révèlent leurs valeurs GCA plus élevées à la fois envers les traits de viabilité et de productivité (Tableau III).

Les valeurs d'aptitude spécifique à la combinaison, calculées pour les huit combinaisons d'hybrides révèlent des valeurs SCA plus élevées chez le nouvel hybride de MU953 $\times$ NB7 pour les neuf traits métriques analysés sauf pour le pourcentage d'éclosion, suivi par les hybrides de MU953 $\times$ NB18 avec des valeurs SCA plus élevées pour les traits de productivité, MU953 $\times$ KA pour les traits de viabilité et MU953 $\times$ NB4D2 pour le pourcentage d'éclosion et la durée larvaire. Tandis qu'on observe que PM $\times$ NB4D2 exprime des valeurs SCA plus élevées à la fois pour les traits de viabilité et de productivité, suivi par PM $\times$ KA et PM $\times$ NB18 pour le rendement en cocons en nombre, le rendement en cocon par le poids et le pourcentage de coques et PM $\times$ NB7 pour le pourcentage d'éclosion (Tableau IV).

Sur la base de l'aptitude à la combinaison générale des lignées et des testeurs utilisés dans l'étude et de l'aptitude à la combinaison spécifique des hybrides par rapport aux neuf traits métriques analysés, on peut considérer que la nouvelle race polyvoltine MU953 est un meilleur recombinaut quand elle est croisée avec les testeurs connus. Ainsi, cela confirme les observations de Richie (1947) qui a souligné l'aptitude significative des lignées consanguines à haut rendement à l'aptitude à la combinaison. De même, d'après les valeurs SCA sur huit hybrides poly $\times$ bi, le nouvel hybride MU953 $\times$ NB7 et l'hybride traditionnel PM $\times$ NB4D2 sont jugés comme les meilleurs hybrides pour l'exploitation commerciale, ce qui indique la supériorité de la nouvelle race MU953 pour la contribution aux hybrides.

Sur la base de la valeur génotypique des hybrides, l'hybride traditionnel PM $\times$ NB18 exprime la valeur la plus haute de -141,45, suivi par les hybrides MU953 $\times$ NB4D2, MU953 $\times$ NB7 et MU953 $\times$ KA dans un ordre descendant pour le trait de viabilité. De plus, en ce qui concerne les traits de productivité, les hybrides PM $\times$ KA expriment la valeur génotypique la plus élevée de 11,777 suivi par les hybrides MU953 $\times$ KA et PM $\times$ NB18 dans un ordre descendant (Tableau VI). D'après la valeur génotypique pour les traits de viabilité et de productivité, sur huit combinaisons, PM $\times$ NB18 exprime la valeur génotypique la plus élevée (-143,553), suivi par MU953 $\times$ NB4D2 (96,88), MU953 $\times$ NB7 et MU953 $\times$ KA dans un ordre descendant (Tableau VII).

L'amélioration générale que l'on observe pour les neuf traits métriques chez les nouveaux hybrides reflète les contributions maximum des traits métriques désirables de la nouvelle race pour l'expression d'une viabilité et d'une productivité plus élevées.

IMPACT OF DIFFERENT TYPES OF MOUNTAGES ON COCOON AND REELING PARAMETERS IN SILKWORM, *BOMBYX MORI* L.

G. P. SINGH, M. T. HIMANTHARAJ, C. K. KAMBLE & R. K. DATTA

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore - 570 008, India

Mountages play an important role in quality cocoon production especially from the reelability point of view. There is a need to evolve a cost effective mountage suitable to Indian conditions. To evaluate it, an equal number of PM × NB4D2 larvae were mounted on different mountages. Results indicated that rotatory mountage was significantly superior as far as cocooning percentage (95.92%), defective cocoons (9.00%) etc. are concerned followed by plastic bottle brush mountage. Maximum defective cocoons (30.50%) were observed in the paddy straw batches. Cocoon characters like single cocoon weight, single shell weight, shell ratio percentage, average filament length (791.87 m) and reelability (88.629%) were significantly superior in rotatory mountages than other types of mountages.

Keywords: Mountages, cocoon characters and reelability.

INTRODUCTION

Most of the lepidopterous larvae produce a silken type thread when matured, while during pupal life, insects have no means of defence and an armour has been provided for the same. Silkworm *Bombyx mori*, also spins a silken armour around its body for protection during its metamorphosis. Spinning is also important for satisfying its physiological requirement by excreting excess amino acids from the body (Henary, 1984).

Even if the silkworm crop is healthy, wrong mounting methods, spinning conditions, mounting density and mounting of pre or over matured worms and bad type of mountages can result in spinning of inferior quality cocoons (Ullal and Narsimhanna, 1987).

Different types of mountages are used in different countries, the rotatory type of mountages are very much popular in Japan (Katsumata, 1975). Whereas the bamboo frames with bamboo interacting ribbons as fixation point for cocooning are most popular in China. Their making is simple and they are long lasting, but cocoon harvesting is time consuming and a newly introduced device consisting of plastic wire mesh mats exists. However, in Brazil most commonly practised mountages are plastic bottle brush mountages (FAO Ag. Services, 1980).

MATERIALS AND METHODS

A cross breed silkworm PM × NB4D2 was reared in the Rearing Technology and Innovation Laboratory of the Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore as per the practices advocated by Krishnaswami (1978). The rearing of the silkworms was conducted under standard environmental conditions up to the ripening of the mature worms. In seriposition the worms were mounted in nine different types of mountages i.e., rotatory, plastic bottle brush, bamboo bottle brush, plastic collapsible, seriframe, Koshika, bamboo chandrike, paddy straw and mountage of mulberry

sticks. The mature silkworms were mounted @ 40 worms per sq. ft. in all the mountages and replicated five times. The optimum temperature and relative humidity i.e. 25° C and 65±5% respectively were maintained throughout the period of seriposition. Cocoons were harvested after completion of pupation.

Data on percentage of cocooning, defective cocoon and floss (unreelable silk waste) were recorded and analysed statistically. Similarly, average single cocoon weight (g), single shell weight (g) was calculated by random sampling of normal and good sized cocoons (fifty males and fifty females) for each replication and accordingly shell ratio percent was calculated and the rest of cocoons were sent for reeling replication wise for assessing average filament length (m), filament size, renditta and reelability percentage and statistically analysed.

RESULTS

The data recorded were analysed and tabulated in Table I and II. The tables reveal that the highest cocooning percentage (95.92%) was recorded from rotatory mountages followed by plastic and bamboo bottle brush mountages (95.27 and 94.17%) respectively. Minimum cocooning was recorded from paddy straw mounted batches (84.51%). Accordingly, maximum defective cocoon percent (30.50%) was observed from paddy straw batches which was significantly higher amongst all the mountages studied, followed by mulberry sticks batch (26.73%). However, excellent cocoons were obtained with minimum defects (9.00) from the batches harvested from rotatory mountage followed by koshika (9.10%). Moreover, floss percentage was also found minimum (1.76%) from rotatory mountages and maximum (3.63%) from plastic collapsible mountage batches.

The cocoon parameters i.e. single cocoon weight, single shell weight and shell ratio were found highest (1.71 g, 0.313 g and 19.51% respectively) from rotatory mountages batch. The minimum single cocoon weight (1.60 g) was in Koshika mountage and single shell weight (0.270 g) and shell ratio (17.17%) was in the batches of mountage of mulberry sticks.

Similarly the filament length (791.87 m) was recorded highest from the rotatory mountages batch followed by plastic bottle brush mountage (768.60 m) and least (646.30 m) in bamboo chandrike batches. However, the filament size was highest (2.686) in the batches harvested from paddy straw and minimum (2.150) in plastic bottle brush mountage batch. Renditta was also minimum (11.390) in rotatory mountage batch and maximum (15.960) in paddy straw batch. The maximum reelability percentage (88.629%) was also recorded from the rotatory mountage followed by plastic bottle brush mountage (86.586%) and minimum (74.193%) from the batch of bamboo chandrike.

DISCUSSION

The silkworm *Bombyx mori* L. is the main source of quality silk. It requires specific atmospheric conditions and care in handling, during its various developmental stages. Quality and quantity of silk produced are highly related with the care taken during rearing and kind of mountages provided to them during spinning (Ullal and Narsimhanna, 1987) besides other factors.

An analysis of cocoon crop data of silkworm *B. mori* clearly indicates that among the many factors that contribute to a good quality cocoon yield, the mounting material used for spinning of cocoons also play a vital role (Yokoyama, 1954; Tanaka, 1964; and Alam *et al.*, 1977; Dar *et al.*, 1989; Barah and Samson, 1990). In the present study most of the cocoon characters i.e. cocooning and defective cocoon percent, single shell weight, shell ratio percentage and reeling characters like average filament length and reelability percentage were found significantly superior ($P < 0.01$ and $P < 0.05$) among all mountages followed by plastic bottle brush mountage. This superiority of rotatory and plastic bottle brush mountages is maybe due to the design and material used for fabrication of mountages.

According to Tazima (1972) increase or decrease of spoiled cocoons varies depending on materials and structure of cocooning frame including their quality and quantity and because of this, defective cocooning percentage was significantly high in the batches harvested from the paddy straw

because there is no definite structure contrary to the rotatory mountage having excellent design which is suited to the behaviour of spinning worms and leads to minimum defective cocoons.

Table I. Cocoon parameters of different types of mountages.

Tableau I. Paramètres des cocons sur différents types d'encabanage.

Treatment	Cocooning %	Defective cocoon %	Floss %	Single cocoon wt (g)	Single shell wt (g)	Shell ratio %
<i>Traitement</i>	<i>Coconage</i> %	<i>Cocons défectueux</i> %	<i>Blaze</i> %	<i>Poids d'un cocon</i> (g)	<i>Poids d'une coque</i> (g)	<i>Richesse soyeuse</i> %
Bamboo chandrike <i>Chandrike de bambou</i>	91.33	15.66	3.17	1.62	0.293	17.62
Plastic collapsible mountage <i>Encabanage plastique pliant</i>	90.56	19.87	3.63	1.68	0.280	17.32
Platic bottle brush mountage <i>Encabanage en écouvillon plastique</i>	95.27	19.18	2.02	1.70	0.313	18.82
Bamboo bottle brush mountage <i>Encabanage en écouvillon de bambou</i>	94.17	17.83	2.25	1.70	0.311	18.35
Rotatory mountage <i>Encabanage rotatif</i>	95.92	9.00	1.76	1.71	0.313	19.51
Seriframe <i>Séricadre</i>	93.49	18.98	2.16	1.65	0.307	17.30
Koshika	93.48	9.10	2.31	1.60	0.300	18.17
Mulberry stick mountage <i>Encabanage en branches de mûrier</i>	88.15	26.73	3.54	1.70	0.270	17.17
Paddy straw <i>Paille de riz</i>	84.51	30.50	3.41	1.69	0.270	17.61
SE / <i>Ecart type</i>	1.159	3.458	0.538	0.033	0.007	0.358
CD at 5% / <i>DC à 5%</i>	3.476	10.368	1.614	0.098	0.022	1.056
CD at 1% / <i>DC à 1%</i>	4.789	14.286	2.224	0.013	0.031	1.455
Test of significant <i>Test de signification</i>	**	*	*	N.S	**	**

Table II. Reeling parameters of different types of mountages.

Tableau II. Paramètres de dévidabilité à partir de différents types d'encabanage.

Treatment	Average filament length (m)	Filament size	Rendita	Reclability %
Traitement	Longueur moyenne du titre (m)	Titre du filament	Rendement	Dévidabilité %
Bamboo chandrike / <i>Bambou chandrike</i>	646.30	2.573	13.423	74.193
Plastic collapsible mountage <i>Encabanage plastique pliant</i>	689.33	2.463	12.250	80.256
Plastic bottle brush mountage <i>Encabanage en écouvillon plastique</i>	768.60	2.150	14.683	86.586
Bamboo bottle brush mountage <i>Encabanage en écouvillon de bambou</i>	728.93	2.423	15.886	85.945
Rotatory mountage / <i>Encabanage rotatif</i>	791.87	2.546	11.390	88.629
Seriframe / <i>Séricadre</i>	724.79	2.433	11.403	85.949
Koshika	733.00	2.606	14.683	80.256
Mulberry stick mountage <i>Encabanage en branches de mûrier</i>	705.90	2.630	13.843	74.593
Paddy straw / <i>Paille de riz</i>	655.59	2.686	15.960	75.570
SE / <i>Ecart type</i>	28.731	0.119	1.199	1.791
CD at 5% / <i>DC à 5%</i>	118.688	0.492	4.953	7.399
CD at 1% / <i>DC à 1%</i>	86.141	0.357	3.595	5.371
Test of significance / <i>Test de signification</i>	*	NS	NS	**

Each race of silkworm has its own behaviour and specificity with regards to the amount of inter connection of floss made between two supports before beginning to create the oblong cocoon chamber and the crispness with which this chamber is created without undue loss of inter-connections. The variation in these two factors determines the amount of floss, which is non-reelable silk filament that is commercially a waste for sericulturists. Furthermore, the distance between two supports should not be either less than the cocoon diameter or too far to enable the worms to reach it even after bending about three fourth of its body erect. If this is the case, worms will not be able to establish the initial filament connection. An ideal distance between two supports reduces the loss of silk as the silkworm uses minimum silk filament to create an initial filament frame, otherwise such constraints may lead to undesirable malformed, unevenly formed or perforated cocoons (Yokoyama, 1954; Perisamy and Radhakrishnan, 1987; Benhamin 1990; Paliwal and Das, 1988; Zhong, 1990). In the present study the floss loss was found significantly less, may be due to the above factors in rotatory mountage followed by plastic bottle brush mountage.

Wu Pang Chuan and Chen Da Chuang (1988) suggested that branches of the mountages should be uniformly distributed and stand firmly to form uniform and good cocooning which avoids defective cocoons as exactly seen in the rotatory type of mountage that are widely used in Japan which is an

excellent example of mountages structure (Katsumata, 1975) followed by the bottle brush mountages (Singh *et al.*, 1992).

Similarly the average filament length and reelability percentage were also significantly superior in rotatory mountages batch followed by plastic bottle brush mountage which may be due to the excellent design of mountages which suits the spinning behaviour of worms.

REFERENCES

- ALAM M. O, SHARMA A. K., ZARGAR M.A, SULTAN S., PANDITA S. L., AHSAN M. M. (1977) Studies on the performance of cocoon characters by use of different types of mountages in Kashmir. National Conference on mulberry sericulture research Dec.10-11 Mysore India, 143.
- BARAH A., SAMSON M. V. (1990) Effect of various mountages on the cocooning of the muga silkworm *Antheraea assama westwood*. *Sericologia* 30(3), 313-321.
- BENCHAMIN K. V. (1990) A hand book for sericulture extension workers. 2nd Print Central Sericultural Research and Training Institute, Shrirampura, Mysore.
- DAR HU, SINGH T. P., BHATT M. T. (1989) A comparative study of mounting materials for silkworm *Bombyx mori*. *Entomon* 14 (3 & 4), 211-215.
- FAO Agriculture Services Bulletin (1980) China Sericulture United nations. Rome.
- HENRY J. (1984) In: An introduction to Entomology. Ninth edition, Entomological Dept. Cornell University. 188.
- KATSUMATA F. (1975) Silkworm mounting In: 'Text book of tropical sericulture' III edition, Japan Overseas Co-operation Volunteers, Tokyo, Japan. 503-519.
- KRISHNASWAMI S. (1978) New technology of silkworm rearing. Bull. no. 2. Central Silk Board Publication.
- PALIWAL D. P., DAS P. K. (1988) Evolution of a new cocoonage for muga. *Indian Silk*, 27(1), 34-35.
- PARIASAMY K., RADHAKRISHNA S. (1987) Design of a new type of mountages and assessment of its advantages over the conventional bamboo mountages. *Sericologia*, 27(1), 35-44.
- SINGH G. B., RAJAN R. K., INOKUCHI T., HIMANTHARAJ M. T., MEENAL A. (1992) Studies on the use of plastic bottle brush mountages for silkworm mounting and its effect on cocoon characters and reelability. *Indian J. Seric.* 33(1), 95-97.
- TANAKA Y. (1964) *Sericology*. Translated and published by Central Silk Board. Bombay India.
- TAZIMA Y. (1972) Hand book of silkworm rearing. Translated by Central Silk Board, Bombay (1977).
- ULLAL S. R. , NARSIMHANNA, M. N. (1987) Handbook of practical sericulture. Central Silk Board. 126-130.
- WU PANG - CHUAN & CHEN DA CHUANG (1988) Mounting and cocoon harvesting. In: *Silkworm rearing*. 73/2, FAO Publication, Rome.
- YOKOYAMA T. (1954) *Synthesized science of sericulture*. Translated by Central Silk Board, Bombay, India (1962).
- ZHONG B. L. (1990) Preliminary report on cocoon frame made from Bamboo Curtain. *Canye Kexux*: 16(4) 242.

IMPACT DE DIFFERENTS TYPES D'ENCABANAGES SUR LES PARAMETRES DU COCON ET DE FILAGE CHEZ LE VER A SOIE, *BOMBYX MORI* L.

G. P. SINGH, M. T. HIMANTHARAJ, C. K. KAMBLE & R. K. DATTA

Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore - 570 008, Inde.

Les encabanages jouent un rôle important dans la production de cocons de qualité surtout du point de vue de la dévidabilité. Un besoin existe pour un encabanage économique, adapté aux conditions de l'Inde. Pour l'évaluer, un nombre égal de larves PM × NB4D2 ont été montées sur différents encabanages. Les résultats indiquent que l'encabanage rotatif est supérieur de manière significative en ce qui concerne le pourcentage de coconage (95,92 %), de cocons défectueux (9,00 %) etc., suivi par l'encabanage plastique en écouvillon. On observe un maximum de cocons défectueux (30,50 %) dans les lots avec encabanage de paille de riz. Les caractères du cocon, comme le poids du cocon, le poids de la coque, la richesse soyeuse, la longueur moyenne du filament (791,87 m) et la dévidabilité (88,629 %) sont significativement supérieurs avec les encabanages rotatifs par rapport aux autres types d'encabanages.

INTRODUCTION

La plupart des larves de lépidoptères produisent un fil semblable à la soie quand elles sont mûres, tandis que pendant la vie pupale, les insectes n'ont pas de moyen de défense et une armure leur est fournie en lieu. Le ver à soie *Bombyx mori*, file aussi une armure de soie autour de son corps par protection pendant sa métamorphose. Le filage est également important pour satisfaire ses besoins physiologiques par la sécrétion des acides aminés en excédent dans le corps (Henary, 1984).

Même si la récolte de vers à soie est saine, des méthodes de montée, des conditions de filage, de densité de montée, la montée de vers pré ou trop matures et de mauvais types d'encabanage peuvent entraîner le filage de cocons de qualité inférieure (Ullal et Narsimhanna, 1987).

Différents types d'encabanages sont utilisés dans différents pays ; les encabanages de type rotatif sont très populaires au Japon (Katsumata, 1975). Tandis que les cadres de bambou, avec des liens de bambou comme point de fixation pour le coconage sont des plus populaires en Chine. Leur fabrication est simple et ils durent longtemps, mais la récolte de cocons prend du temps et un nouveau système consisté de tapis en mailles de fil de fer plastifié existe. Cependant, au Brésil les encabanages les plus couramment utilisés sont les encabanages en écouvillon plastique (FAO Ag. Services, 1980).

MATERIELS ET METHODES

Un croisement PM × NB4D2 a été élevé au laboratoire de Technologie et d'Innovation de l'Elevage du *Central Sericultural Research and Training Institute*, de Mysore d'après les techniques recommandées par Krishnaswami (1978). L'élevage des vers à soie se réalise dans des conditions environnementales normales jusqu'à l'obtention de vers matures. Au moment du dépôt de soie, les vers à soie sont montés sur neuf différents types d'encabanages, de type rotatif, en écouvillon plastique, en écouvillon de bambou, en plastique pliant, en cadres, en Koshika, en bambou chandrike, en paille de riz et en branches de mûrier. Les vers à soie matures sont montés à raison de 40 vers par

piéd carré pour tous les encabantages, à raison de cinq répétitions. Une température optimum et une humidité relative soit respectivement 25° C et 65 ± 5% sont maintenues pendant la période de seriposition. Les cocons sont recueillis à la fin de la pupaison.

Les données sur le pourcentage de coconage, de cocons défectueux et de bourre (déchet de soie non dévidable) sont enregistrées et analysées de manière statistique. De même, le poids moyen du cocon individuel (g), le poids individuel de la coque (g) sont calculés par échantillonnage aléatoire des cocons de taille normale (cinquante mâles et cinquante femelles) pour chaque répétition et la richesse soyeuse est calculée en conséquence et le reste des cocons est envoyé au dévidage, pour évaluer la longueur moyenne du filament (m), le titre du filament, le rendement à la bassine et le pourcentage de dévidabilité avec analyse statistique.

RESULTATS

Les données enregistrées sont analysées et entrées dans les tableaux I et II. Les tableaux révèlent que le pourcentage de coconage le plus élevé (95,92 %) est enregistré pour les encabantages rotatifs, suivi par les encabantages en écouvillon plastique et en bambou (95,27 et 94,17 % respectivement). On enregistre un coconage minimum pour les lots montés sur paille de riz (84,51 %). Ainsi, le pourcentage maximal de cocons défectueux (30,50 %) est observé sur les lots de paille paddy, significativement le plus élevé parmi tous les encabantages étudiés, suivi par le lot sur branches de mûrier (26,73 %). Cependant, d'excellents cocons avec des défauts minimaux (9,00) sont obtenus à partir des lots recueillis sur encabantage rotatif, suivi par Koshika (9,10 %). De plus, le pourcentage de bourre est aussi minimal (1,76 %) sur les encabantages rotatifs et maximum (3,63 %) sur les lots sur encabantage en plastique pliant.

On observe que les paramètres des cocons, c'est à dire le poids individuel du cocon, le poids individuel de la coque et la richesse soyeuse sont les plus élevés (1,71 g, 0,313 g et 19,51 % respectivement) pour le lot sur encabantage rotatif. Le poids individuel minimum du cocon (1,60 g) apparaît pour l'encabantage Koshika et le poids individuel de la coque (0,270 g) et la richesse soyeuse (17,17 %) minimaux apparaissent pour les lots sur encabantage en branches de mûrier.

De même, la longueur du filament la plus élevée (791,87 m) est enregistrée pour le lot sur encabantages rotatifs, suivi par l'encabantage en écouvillon plastique (768,80 m), la plus faible (646,30 m) étant enregistrée pour les lots sur chandrika. Cependant, le titre du filament est le plus élevé (2,686) pour les lots recueillis sur paille de riz et il est minimum (2,150) pour le lot sur encabantage en écouvillon plastique. Le rendement à la bassine est aussi minime (11,390) pour le lot sur encabantage rotatif et maximal (15,960) pour le lot sur paille de riz. Le pourcentage de dévidabilité maximal (88,629 %) est aussi obtenu pour l'encabantage rotatif suivi par l'encabantage en écouvillon plastique (85,586 %) et il est minimum (74,193 %) pour le lot chandrika de bambou.

DISCUSSION

Le ver à soie *Bombyx mori* L. est la principale source de soie de qualité. Il a besoin de conditions atmosphériques spécifiques et d'une manipulation soignée, pendant les différentes périodes de son développement. La qualité et la quantité de soie produites dépendent étroitement du soin pris pendant l'élevage et du type d'encabantage utilisé pendant le filage (Ullal et Narsimhanna, 1987) et d'autres facteurs.

Une analyse des données sur la récolte de cocons de vers à soie *B. mori* indique clairement que parmi les nombreux facteurs qui contribuent à un rendement en soie de bonne qualité, le matériel de montée utilisé pour le filage des cocons joue aussi un rôle vital (Yokoyama, 1954 ; Tanaka, 1964 ; et Alam et coll., 1977 ; Dar et coll., 1989 ; Barah et Samson, 1990). Dans l'étude actuelle, la plupart des caractères des cocons, c'est à dire le pourcentage de coconage et de cocons défectueux, le poids individuel de la coque, la richesse soyeuse et les caractères de filage comme la longueur moyenne du filament et le pourcentage de dévidabilité sont aussi supérieurs de manière significative ($P < 0,01$ et

$P < 0,05$) parmi tous les encabanages, suivi par l'encabanage en écouvillon plastique. Cette supériorité des encabanages rotatifs et en écouvillon plastique pourrait être due au design et au matériel utilisé pour la fabrication des encabanages.

Selon Tazima (1972) la hausse ou la baisse de cocons défectueux dépendent des matériels et de la structure du cadre de coconage, y compris de leur qualité et de leur quantité et à cause de cela, le pourcentage de cocons défectueux est significativement élevé pour les lots récoltés à partir de la paille de riz parce qu'il n'y a pas de structure définie contrairement à l'encabanage rotatif, qui a un excellent design, adapté au comportement des vers qui filent et donne un nombre minimum de cocons défectueux.

Chaque race de vers à soie a ses propres comportement et spécificité par rapport à la quantité d'interconnexion de bourre faite entre deux supports, avant de commencer à créer l'enveloppe de cocon oblongue et à la précision avec laquelle cette enveloppe est créée sans perte excessive d'interconnexions. La variation de ces deux facteurs détermine la quantité de bourre, filament de soie non filable qui est commercialement un déchet pour les sériciculteurs. De plus, la distance entre deux supports ne doit pas être inférieure à celle du diamètre du cocon ou trop éloignée pour permettre aux vers de l'atteindre même après avoir plié environ trois quart de leur corps érigé. Si c'est le cas, les vers ne pourront pas établir la connexion initiale du filament. Une distance idéale entre deux supports diminue la perte de soie, étant donné que le ver à soie utilise un minimum de filament de soie pour créer le cadre initial, autrement de telles contraintes peuvent entraîner des cocons indésirables, malformés, de forme inégale ou des cocons perforés (Yokoyama, 1954 ; Perisamy et Radhakrishnan, 1987 ; Benchamin 1990 ; Paliwal et Das, 1988 ; Zhong, 1990). Dans l'étude actuelle, la perte de bourre est significativement moindre, peut-être à cause des facteurs ci-dessus, avec l'encabanage rotatif suivi par l'encabanage en écouvillon plastique.

Wu Pang Chuan et Chen Da Chuang (1988) ont suggéré que les ramifications des encabanages doivent être distribuées de manière uniforme et tenir fermement pour obtenir un coconage uniforme et bon, et pour éviter les cocons défectueux, cela est le cas pour l'encabanage rotatif, largement utilisé au Japon, qui est un excellent exemple de structure d'encabanage (Katsumata, 1975), suivi par l'encabanage en écouvillon (Singh et coll., 1992).

De même, la longueur moyenne du filament et le pourcentage de dévidabilité sont aussi significativement supérieurs pour le lot sur encabanages rotatifs, suivi par l'écouvillon en plastique, ce qui pourrait tenir à l'excellent design des encabanages, adapté au filage des vers.

IMPROVEMENT IN MUGA SILKWORM SEED TECHNOLOGY: THE BOX TYPE MOUNTAGE, A NEW MODEL FOR COCOONING OF MUGA SILKWORM *ANTHRAEA ASSAMA* WESTWOOD

A. K. SAHU, B. B. SINGHA, G. RAJKHOWA & P. K. DAS

Regional Muga Research Station, Central Silk Board, Boko, 781 123, Kamrup, Assam, India.

Mountages play a significant role in the production of quality cocoons for reeling. Traditional muga rearers use bunches of semi-dried leaves with twigs called 'Jali' to mount matured muga silkworms for spinning. 'Jali' has several disadvantages, hence an attempt was made at the Regional Muga Research Station, Boko, Assam to devise a suitable mountage for the muga silkworm with four treatments such as i) cartoon box, ii) bamboo chandraki, iii) paddy straw and the traditional jali as the control. The study was conducted over a period of 12 seasons and characters of economic importance such as cocooning percentage; pupation percentage; cocoon weight, shell weight, single cocoon reeling performance etc. were recorded under each treatment. Overall performance was found to be better in the box type mountage with more than 97.00 % cocooning and pupation as compared to 95.00% and 93.00% respectively in the control. Data pertaining to cocoon weight, shell weight, filament length and recovery were recorded as 5.53 gm, 0.42 gm, 363.82 mtr and 52.12% in the newly devised mountage against the corresponding figures of 5.33 gm, 0.39 gm, 313.11 mtr and 50.51% respectively in the traditional 'jali'.

Considering the reusable facility of the box types 10 times over the jali, the cost involved in the box type mountage for mounting 100,000 worms works out to be Rs. 1,739.00 against Rs. 2,002.00 in the case of jali for an equal number of uses. In addition to other advantages such as requirement of lesser space, transportation facility, prevention of wastage of plant biomass etc., the box type mountage has shown a gain of 2.46 kg in raw silk yield out of 100,000 worms.

Keywords: Muga silkworm, mountage, spinning characters, cocoon characters, jali.

INTRODUCTION

Collection of matured muga worms and putting them on 'jali' for spinning is a common practice. The jalis are then hung inside the cocooning hall for a 7 to 10 days period. Due to the voluminous size of each jali, huge storing space is required. Further, the method is most unscientific and facilitates disease contamination, loss of worms due to escaping, involves high labour input and consumes much time both while preparing the 'jali' and harvesting the cocoons. Moreover, since 'jali' cannot be reused, it has to be prepared afresh after every rearing by cutting off twigs from woody and economically important plants such as sal, *Shorea robusta* Roxb., jack fruit *Artocarpus heterophyllus*, mango, *Mangifera indica* etc. thus affecting their growth. Many times due to the non-availability of the desired trees, the rearers use twigs of unsuitable plants for mounting of worms thus rendering the cocoons unsuitable for reeling with poor recovery. In addition to these demerits, the worms in the jali are exposed to the attack of pests and predators like ants, lizards, rats and even snakes. To remount the escaping worms on the jali, constant watch for about 2-3 hours after mounting the worms becomes necessary involving additional manpower.

During rainy seasons, preparation of jali is a difficult task since semi-dry twigs and leaves are prerequisite. The use of wet twigs under such circumstances results in the growth of fungus on silk, formation of naked pupae and low grade cocoons. Due to continuous deforestation, woody plants generally used for the jali preparation are becoming scarce.

A review of the literature on attempts made to devise a suitable alternative of 'jali' for mounting of muga silkworms indicates that the demerits of the traditional device have attracted the attention of the scientific community only recently. Very few studies conducted in this direction include those of Paliwal *et al.*, (1988); Barah *et al.*, 1986-87, 1987-88, 1988-89 and 1990 and Kakoty *et al.*, 1990. Paliwal *et al.* (1988) used carton boxes with alternate loops of gunny cloth for mounting muga worms. However, the results did not percolate to the field. Barah *et al.*, 1986-88 experimented with collapsible plastic mountages, counter boards, chandraki and collapsible wire mesh and recorded better performance in the treatments against jali. Similar studies were made by Kakoty *et al.*, (1990) with different mountages i.e chandraki and hanging loops made of bamboo. However, due to the lack of any recommendation from the above studies a suitable device for cocooning in muga silkworm is still lacking. Similarly, as evident from, the works of Alam *et al.*, 1992; Karandikar *et al.*, 1992, Prasad *et al.*, 1992 a and b; Singh, 1995; Himantharaj *et al.*, 1995 and many others attempts are still on to standardise a suitable device for mounting mulberry silkworms.

The present experiment was conducted with four treatments namely box mountage, chandraki, paddy straw and the traditional jack fruit leaf jali (control). The study revealed better performance in the box type mountage and the same has been recommended.

MATERIALS AND METHODS

Four different types of mountages i.e. the box type, the bamboo chandraki, paddy straw and the traditional jali of the jack fruit leaf were considered under the experiment.

The box type mountage was prepared from carton boxes, measuring 44 × 25 × 20 cm. Holes measuring 0.8 cm were made in the box in two rows (hole to hole distance: 4 cm) on the two opposite sides of the box i.e. one row on the upper and the other row on the lower margins for inserting bamboo sticks to support a nylon net in 11 alternat 'U' shaped chambers (Fig. 1a-c and 2a). Each such box was used to mount 150 matured worms @ 14 worms per chamber.

Bamboo chandraki (Fig 2b) with a mounting space of 9.00 sq. ft. were used. The paddy straw was put in bamboo baskets and the worms were mounted for spinning. Jali (Fig 2c) was prepared out of semi dried twigs of jack fruit trees and treated as a control. Each treatment was triplicated with 150 worms under each replication. Bhorpok (the day of maximum maturation) worms were considered for obtaining an adequate number for all the treatments. The cocoons were harvested after 7-10 days of spinning. In the case of the box type mountage the lids of the box were opened after the worms had settled for spinning for proper aeration. The chandrakis were covered with nylon nets to prevent the worms from escaping.

Economically important characters such as cocooning and pupation percentages, cocoon weight, shell weight were recorded. Data on single cocoon analysis were obtained out of 100 cocoons from each replication under different treatments and statistically analysed.

RESULTS AND DISCUSSION

Data presented in Table 1-5 show better performance in the box type mountage for all the economically important parameters. Cocooning percentage was 97.31% in the box type followed by 96.62% in chandraki, 95.64% in jali (control) and 91.87% in paddy straw. The pupation percentage was also higher in box type being 97.11% followed by chandraki (97.00%), paddy straw (93.38%) and jali (93.26%). Cocoon weight and shell weight were also higher in the box type being 5.53 gm and 0.42 gm respectively while these were 5.22 gm and 0.40 gm in chandraki, 5.43 gm and 0.43 gm

Table I. Spinning in muga silkworm on different mountages (average values of 10 seasons i.e July, September, October and December 93 and May, June, August, September, October 94 and February 95).

Tableau I. Filage du ver à soie muga sur différents encabanages (valeurs moyennes de 10 saisons, Juillet, Septembre, Octobre et Décembre 1993 et Mai, Juin, Août, Septembre, Octobre 1994 et Février 1995).

Treatment	Cocooning (%)	Pupation (%)	Naked pupae (%)	Dead pupae (%)	Double cocoon (%)	Harvesting time (Min)
<i>Traitement</i>	<i>Coconage (%)</i>	<i>Nymphose (%)</i>	<i>Pupes nues (%)</i>	<i>Pupes mortes (%)</i>	<i>Douppions %</i>	<i>Temps de récolte (Min)</i>
Box type / Boite	97.31 (2.13)	97.11 (3.33)	0.70	1.45	0.20	5-6
Chandraki	96.62 (3.56)	97.00 (2.44)	0.38	2.90	0.42	10-15
Paddy straw / Paille de riz	91.87 (9.34)	93.38 (11.52)	1.09	1.50	0.27	10-12
Jali	95.64 (4.74)	93.26 (10.68)	1.16	3.03	0.26	20-25
CD 1% / DC à 1 %	8.13	7.22	1.20	2.89	0.31	-
CD 5% / DC à 5%	4.90	4.35	0.72	1.74	0.18	-

Figures in parenthesis indicate SD / Les chiffres entre parenthèses indiquent l'écart type.

Table II. Cocoon characters of the muga silkworm in different mountages.

Tableau II. Caractères du cocon du ver à soie muga avec différents types d'encabanages.

Treatment	Floor area covered (sq. ft)	Cocoon wt (gm)	Shell wt (gm)	Shell ratio %
<i>Traitement</i>	<i>Espace couvert au sol (pied carré)</i>	<i>Poids du cocon (g)</i>	<i>Poids de la coque (g)</i>	<i>Richesse soyeuse (%)</i>
Box type / Type boite	1.15	5.53 (0.58)	0.42 (0.06)	7.54 (0.67)
Chandraki	9.00	5.22 (0.63)	0.40 (0.06)	7.66 (0.59)
Paddy straw / Paille de riz	-	5.43 (0.59)	0.43 (0.04)	8.08 (0.08)
Jali	3.84	5.33 (0.64)	0.39 (0.07)	7.46 (0.62)
CD at 1% / DC à 1%	-	NS	0.06	2.08
CD at 5% / DC à 5%	-	NS	0.03	1.25

Figures in parenthesis indicate SD / Les chiffres entre parenthèses indiquent l'écart type.

Table III. Single cocoon analysis under different treatments.

Tableau III. Analyse du cocon individuel avec différents traitements.

Treatment	Filament length (m)	Break (no.)	Denier	Recovery (%)
Traitement	Longueur du filament (m)	Ruptures (nombre)		Rendement (%)
Box type / Boîte	*363.82 (59.75)	*5.16 (0.45)	*5.16(0.45)	52.12(6.83)
Chandraki	350.98 (72.98)	*4.80 (2.05)	*5.31 (0.57)	53.06 (9.00)
Paddy straw / Paille de riz	314.90 (42.44)	3.85 (0.78)	*5.27 (0.77)	48.81(4.03)
Control / Témoin	313.11 (57.99)	9.45 (1.46)	5.71 (0.92)	50.51 (7.05)
CD at 5% / CD à 5%	41.07	3.97	0.36	3.16
CD at 1% / CD à 1%	68.09	6.59	0.63	5.25

Figures in parenthesis indicate SD / Les chiffres entres parenthèses indiquent l'écart type.

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

Table IV. Comparative performance of different types of mountages in terms of silk yield.

Tableau IV. Performance comparative de différents types d'encabanages par rapport au rendement en soie.

Mountage	Cocooning %	Cocoons obtained (no.)	Shell wt (g)	Total shell wt (g)	Recovery %	Raw silk yield (gm)
Encabanage	Coconage %	Cocons obtenus (Nombre)	Poids de la coque (g)	Poids total de la coque (g)	Rendement %	Rendement en soie grège (g)
Box type Type boîte	97.31	9,731	0.42	4,087.02	52.12	2,130.15
Chandraki	96.62	9,662	0.40	4,864.80	53.36	2,062.25
Straw / Paille	91.87	9,187	0.43	3,950.41	48.81	1,928.19
Jali	95.64	9,564	0.39	3,729.00	50.51	1,884.00

Gain in raw silk yield for 10,000 worms works out to be 246.15 g in box type; 178.25 g in chandraki and 44.19 g in paddy straw as compared to Jali. / Le gain en soie grège pour 10 000 vers s'élève à 246,15 g pour la boîte; 178,25 g pour chandraki et 44,19 g pour la paille de riz par rapport au jali

Table V. Economics of using box type montage (for 10,000 worms).*Tableau V. Coût de l'utilisation de l'encabanage en boîte (pour 10 000 vers).*

Type	Mountage (no.)	Cost (Rs)	Total cost (Rs)	Men days required for harvesting	Labour wage (Rs)	Grand total (Rs)
Type	Encabanages (nombre)	Coût (Roupiés)	Coût total (Roupiés)	Jours de main d'oeuvre nécessaires pour la récolte	Salaire (Rs)	Somme globale (Roupiés)
Box type / Boîte	66	20.00	1,320.00	1	35.00	1,355.00
Jali	33	3.15	103.95	2.75	96.25	200.20

For 100,000 worms / pour 100,000 vers:

Particulars / Détails	Box type / Boîte	Jali
1. Mountages required (no.) / Nbre d'encabanages requis	66	330
2. Cost / montage (including wages for preparation) (Rs) <i>Coût / encabanage (y compris le salaire pour la préparation)</i>	20.00	3.15
3. Total cost (Rs) / Coût total (Rs)	1,320.00	1,039.50
4. Cost of disinfection (Rs) / Coût de la désinfection (Rs)	69.00	-
5. Men days required for cocoon harvesting (Nos) <i>Nombre de jours de travail requis pour la récolte des cocons</i>	10.00*	27.50
6. Labour wage (Rs) / Salaire (Rs)	350.00	962.00
7. Space required (sq. ft.) / Espace requis (pied carré)	56.00	480.00
8. Gain in raw silk yield (kg) <i>Gain de rendement en soie grège (kg)</i>	2.46**	-
Total	Rs 1,739.00	2,002.00

The box type montage can be reused 10 times. Therefore the cost involved after 10 uses (100,000 worms) works out as above. / L'encabanage en boîte peut être réutilisé 10 fois. Le coût après 10 utilisations (100 000 vers), est donc celui qui est indiqué ci-dessus.

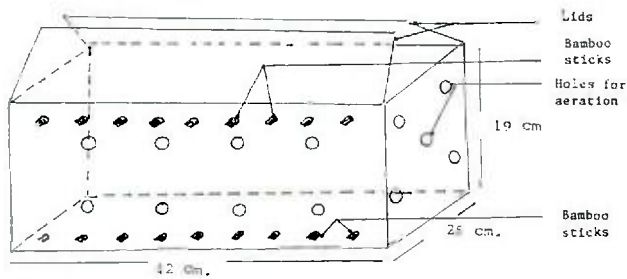


Fig. 1 a

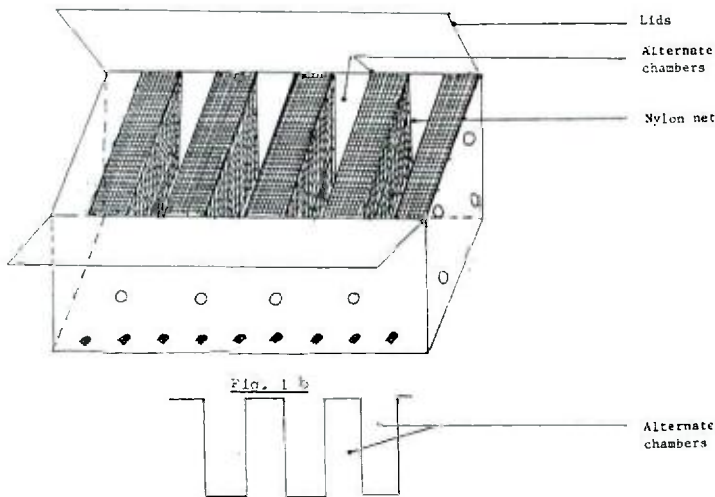


Fig. 1.a: External view of the box mountage (Diagrammatic).

Fig. 1a. *Vue extérieure de l'encabanage en boîte (diagramme).*

Fig. 1b. Internal view of the box mountage

Fig. 1b. *Vue intérieure de l'encabanage en boîte.*

Fig. 1c. Alternate chambers

Fig 1c. *Compartiments alternés.*

(Mounting capacity: 150 worms per box)

(Capacité de l'encabanage : 150 vers par boîte).

in paddy straw and 5.33 gm and 0.39 gm in jali. Dead pupae and double cocoon formation were also lowest in the box mountage being 1.40% and 0.20% respectively.

Single cocoon analysis also showed better performance in the cocoons obtained from the box type mountage. The filament length was recorded as 363.82 mtr in the box type followed by chandraki (350.98 mtr), paddy straw (314.90 mtr) and jali (313.11 mtr). The occurrence of longer filament in box type mountage with lesser breaks and low denier is attributed to the fact that the space provided in the chamber was adequate for the worms to spin cocoons without wasting silk. It on the other hand indicates that the box provided a suitable microclimate for spinning. Although the recovery percentage was higher in chandraki as compared to the box mountage, it was compensated by a relatively higher cocooning percentage in the box.

The comparative analysis of the performance of all the mountages, taking into account all the economically important parameters revealed that the ultimate raw silk yield from 10,000 worms was recorded highest in the box mountage being 2,130.15 gm followed by chandraki (2,062.25 gm), paddy straw (1,928.19 gm) and jali (1,884.00 gm). The net gain in raw silk yield in the box was 246.15 gm over the traditional jali out of 10,000 worms mounted.



Fig. 2a. Muga worms spinning in box mountage. / Fig. 2a. Vers muga filant dans un encabanage en boîte.

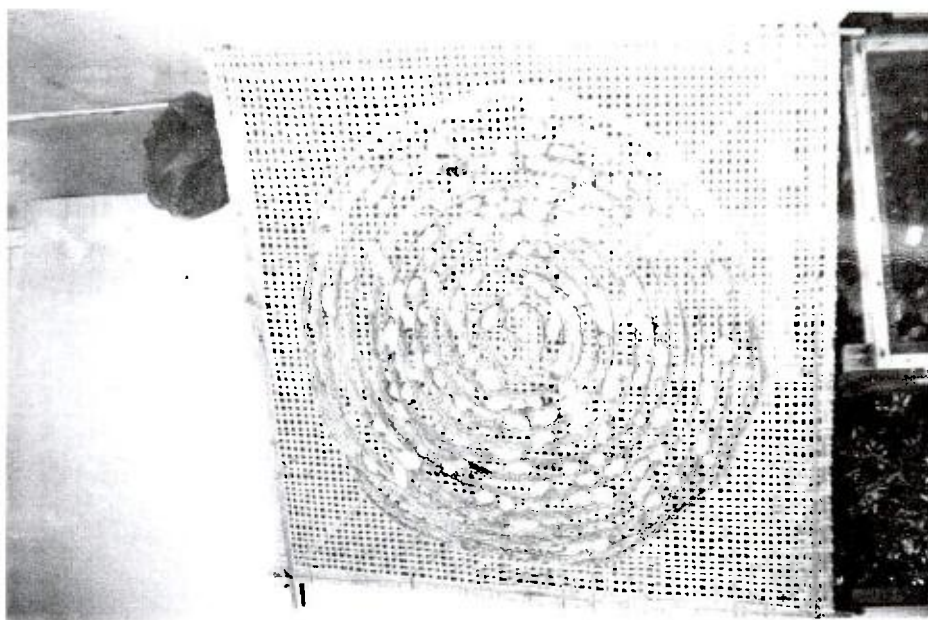


Fig. 2b. Muga cocoons in bamboo chandraki / Fig. 2b. Cocons muga sur un chandraki en bambou.



Fig. 2c. Muga cocoons in traditional Jali

Fig. 2c. Cocons muga sur le Jali traditionnel.

FIELD TRIAL OF BOX TYPE MOUNTAGE

The box type mountage was subjected to a field trial at muga seed producing units (under the Central Silk Board) located at Hahim, Kamrup, Assam and Nongpoh, Ribhoi district, Meghalaya during different seasons. Details are furnished in Table VI.

The perusal of the data furnished by the Hahim unit after the first trial during November 1994 indicated 90.00% good cocoons in the box type as compared to 87.00% in jali.

Single cocoon analysis revealed a longer filament in the box type being 360.00 mtr with fine denier of 4.6 against 354.00 mtr and 4.8 in jali. The second trial conducted during October-November 1996 (Kootia crop) also revealed better performance of the box mountage (Table VI).

A field trial report obtained from the Nongpoh unit indicated 97.00% cocooning in the box type as compared to 96.00% in jali. Cocoon and shell weights were respectively recorded as 7.20 gm and 0.70 gm for the box type against 5.8 gm and 0.60 gm for jali. Study on reeling performance indicated that the cocoons spun in the two devices were at par (Table VI).

COMPARATIVE ECONOMICS OF USING BOX TYPE MOUNTAGE AND JALI

The comparative analysis of the economics for mounting 10,000 worms in the box type mountage and the traditional jali revealed a higher initial cost in the case of the box. The initial cost involved in the box type mountage works out to be Rs. 1,355.00 (including the wage for preparation of the mountage and cost of the material) while it is only Rs. 200.20 in the case of jali as the twigs required for jali are procured from wild grown trees.

Table VI. Field trial of box type mountage at MSDP units under Central Silk Board.

Tableau VI. Essai sur le terrain avec encabanage en boîte aux centres MSDP du Central Silk Board.

MSDP unit Nongpoh, Ribhoi district, Meghalaya, season: October 1995.

Centre MSDP Nongpoh, district de Ribhoi, Meghalaya, Saison: Octobre 1995.

Treatment	Cocooning %	Double cocoon (%)	Naked pupae (%)	Melted(%)	Escape (%)
Traitement	Coconage %	Doupons %	Pupes nues %	Tachés %	Fuite %
Box type / En boîte	97.00	0.6	-	-	-
Control / Témoin	96.00	0.6	-	-	-

Cocoon assessment

Treatment	Cocoon wt (g)	Shell wt (g)	SR %	Floss %	Waste (g)	Recovery %
Traitement	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse %	Blaze %	Déchet (g)	Rendement %
Box type / En boîte	7.20	0.70	9.70	9.10	18.57	63.64
Control / Témoin	5.80	0.60	10.30	9.10	118.57	63.64

MSDP unit Hahim, Kamrup, Assam, Season: November 1994 (First trial)

Centre MSDP Hahim, Kamrup, Assam, Saison : Novembre 1994 (premier essai)

Traitement	Good cocoon%	Poor cocoon %	Naked pupae %	Melted %	Escape %
Traitement	Bons cocons %	Cocons pauvres %	Pupes nues %	Tachés %	Fuite %
Box type / Boîte	90.00	9.90	-	-	-
Control / Témoin	87.00	11.41			

Cocoon assessment

Treatment	Cocoon wt (g)	Shell wt (g)	SR %	Filament length (mtr)	Break (no.)	Denier	Recovery %
Traitement	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse	Longueur du filament (m)	Nbre de ruptures		Rendement %
Box type / Boîte	5.77	0.40	7.00	360.80	1.50	4.60	54.48
Control / Témoin	5.80	0.60	10.30	354.60	1.70	4.80	56.10

Table VI (continued).

Tableau VI. (Suite).

Second trial, Season: October-November, 1996 (Kotia crop)

Deuxième essai, saison : Octobre-Novembre, 1996 (récolte de Kotia)

Treatment	Filament length (m)	Break (No)	Silk wt (g)	Waste %	Denier	Recovery %
<i>Traitement</i>	<i>Longueur du filament (m)</i>	<i>Nbre de ruptures</i>	<i>Poids de la soie (g)</i>	<i>Déchet %</i>		<i>Rendement %</i>
Box type / En boîte	367.41*	1.22	0.22	0.179	5.20	53.63*
Control / Témoin	325.22	1.14	0.19	0.204	5.02	48.69

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

The higher initial cost involved in the box type has been found to be compensated by the gain in the silk yield and also the lesser space required for spinning i.e for mounting 10,000 worms only 56 sq. ft. of space are required in the case of the box against 480 sq. ft. in jali. Thereby 88.33% reduction in space requirement could be ensured by using the box type mountage.

As stated earlier, the gain in the raw silk yield in the box type is 246.15 gm for 10,000 worms mounted. Since, the box mountage can be reused for at least ten times, the same space will be required for mounting 1,00,000 worms in ten uses with a gain of 2.46 kg in raw silk production over the traditional device.

CONCLUSION

The overall analysis revealed that the box type mountage showed better performance followed by chandraki. Although paddy straw showed a marginal gain in the raw silk yield, it is not convenient for handling and harbours pests and predators. Keeping in view the convenience of handling, transportation of cocoons over long distances without any damage to the pupae, space economy, harvesting, prevention of escape of worms etc., the present study recommends the box type mountage for cocooning of muga silkworms. The present box mountage may be improved further with low cost material which are durable, non-corrosive and bad conductor of heat.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are indebted to the Member Secretary, Central Silk Board for providing a financial grant for carrying out the study.

REFERENCES

- ALAM M. O., SHARMA A. K., ZARGAR M. A., SULTAN S., PANDITA S. L. & AHSAN M. M. (1992) Studies on the performance of cocoon characters by use of different types of mountages in Kashmir. In National Conf. Mulberry Serie. Res. CSR&TI, Mysore, p 86.
- BARAH A., SAMSON M. V. & GOSWAMI M. (1986-87) Effect of different types of mountages for cocooning of muga silkworm. RMRS, Annual Report, p19.

- BARAH A., GOSWAMI M., & SAMSON M. V. (1987-88) Evolution of suitable mountage for cocooning of muga silkworm. RMRS, Annual Report, p 36.
- BARAH A., SAMSON M. V., BORAH B. & BHUYAN N. (1988-89) Effect of different montages on cocoon characters of muga silkworm. RMRS, Annual Report, p 29-30.
- BARAH A. & SAMSON M. V. (1990) Effect of various mountages on cocooning of muga silkworm *Antheraea assama* Westwood. Sericologia, 30(3), p 313-321.
- HIMANTHARAJ M. T., MEENAL A., RAJAN R. K., MUROGA A. & KAMBLE C. K. (1995) Rotatory mountage for quality cocoons. Indian Silk June, 1995, p 25-27.
- KAKOTI L.N., SINGH S. S. & KAKOTI J. B. (1990) Low cost mountage for spinning of muga cocoons. Indian silk, 29(7), p13-15.
- KARANDIKAR A. V., KAMTE I. A. & SOHANI G. G. (1992) Study on alternate designs of mountages. In Nat. Conf. Mulberry Seric. Res. CSR&TI, Mysore, p 86.
- PALIWAL D. P. & DAS, P. K. (1988) Evolution of new cocoonage for muga. Indian silk, May XXVII (1), p 34-35.
- PRASAD R. & NAGESHCHANDRA B. K. (1992a) Influence of different types of mountages on characteristics of mulberry silk cocoons. In Nat Conf. Mulberry., Seric Res., CSR&TI, Mysore, Dec 10-11, 1992, p 87.
- PRASAD R. & NAGESHANDRA B. K. (1992b) Influence of spiral spacing of conventional bamboo mountage on mulberry silk cocoons. In Nat. Conf. Mulberry Seric. Res. CSR&TI, Mysore, Dec 10-11, 1992.p 87.
- SINGH G. B. (1995) Silkworm mountages. Indian Silk May, 1995, p 13-16.

AMELIORATION DE LA TECHNOLOGIE DE GRAINAGE DU VER A SOIE MUGA : L'ENCABANAGE EN BOITE, UN NOUVEAU MODELE POUR LE COCONAGE DU VER A SOIE MUGA, *ANTHRAEA ASSAMA* WESTWOOD

A. K. SAHU, B. B. SINGHA, G. RAJKHOWA & P. K. DAS

Regional Muga Research Station, Central Silk Board, Boko 781 123, Kamrup, Assam, Inde.

Les encabanages jouent un rôle significatif dans la production de cocons de qualité destinés à la filature. Les éleveurs traditionnels de muga utilisent un bouquet de feuilles à moitié sèches avec des brindilles que l'on appelle « Jali » pour la montée des vers à soie muga adultes en vue du filage. Le « jali » a plusieurs inconvénients, un essai a donc été fait à la Regional Muga Research Station, Boko, Assam pour concevoir un encabanage adapté au ver à soie muga avec quatre traitements en l'occurrence i) boîte en carton, ii) chandraki bambou iii) paille de riz et le jali traditionnel comme témoin. L'étude a été menée pendant une période de 12 saisons et les caractères d'importance économique tels que le pourcentage de coconage, le pourcentage de pupaison, le poids du cocon, le poids de la coque, la performance de dévidage du cocon individuel ont été enregistrés pour chaque traitement. On observe que la performance générale est la meilleure avec l'encabanage en boîte avec plus de 97 % de coconage et de pupaison par comparaison avec 95,00 % et 93 % respectivement chez le témoin. Les données concernant le poids du cocon, le poids de coque, la longueur du filament et le rendement sont de 5,53 g, 0,42 g, 363,82 m et 52,12 % pour l'encabanage nouvellement conçu contre respectivement des chiffres correspondants de 5,33 g, 0,39 g, 313,11 mètres et 50,51 % pour le « jali » traditionnel.

Etant donné la possibilité de réutiliser l'encabanage en boîte dix fois plus que le « Jali », le coût de l'encabanage en boîte pour monter 100 000 vers revient à 1739 roupies contre 2002 roupies dans le cas du « Jali » pour un nombre égal d'utilisations. L'encabanage en boîte permet d'obtenir un gain de production en soie grège de 2,46 kg à partir de 100 000 vers et présente d'autres avantages tels que l'occupation d'un espace moindre, la facilité de transport et la prévention de la dégradation de la biomasse des plantes.

INTRODUCTION

Le recueil des vers à soie muga mûrs et leur montée sur « Jali » pour le filage est une pratique courante. Les jalis sont ensuite pendus dans la pièce de coconage pendant une période de 7 à 10 jours. Etant donnée la taille volumineuse de chaque jali, il faut un grand espace de stockage. De plus la méthode est très peu scientifique et facilite la contamination par des maladies, la perte de vers provoquée par la fuite, demande un fort apport de main-d'oeuvre et requiert beaucoup de temps à la fois pour la préparation des « Jali » et le recueil des cocons. De plus, comme le « jali » ne peut pas être réutilisé, il doit être préparé à nouveau après chaque élevage en coupant des brindilles de plantes ligneuses et d'importance économique telles que *Shorea robusta* Roxb., le jacquier *Artocarpus heterophyllus*, le manguier *Mangifera indica* etc. ce qui a des effets sur leur croissance. Bien souvent à cause de l'absence des arbres désirés, les éleveurs utilisent les brindilles de plantes non adaptées pour la montée des vers ce qui donne des cocons inadaptés au filage et un résultat faible. En plus de

ces inconvénient, les vers du jali sont exposés aux attaques d'insectes et de prédateurs tels que les fourmis, les lézards, les rats et même les serpents. Pour remonter les vers qui s'échappent des jalis, il faut surveiller les vers constamment pendant 2-3 heures après le montage des vers, ce qui requiert de nouvelles journées de main d'oeuvre.

Pendant la saison des pluies, la préparation des jalis est une tâche difficile car il faut des brindilles et des feuilles à moitié sèches. L'utilisation de brindilles mouillées dans de telles circonstances entraîne la croissance de champignons sur la soie, la formation de pupes nues et de cocons déclassés. Les plantes ligneuses utilisées en général pour la préparation des jalis deviennent rares à cause d'une déforestation continue.

L'étude de la littérature sur les essais entrepris pour concevoir une alternative adéquate au « jali » pour la montée des vers à soie muga révèle que les inconvénients du dispositif traditionnel n'ont attiré l'attention de la communauté scientifique que récemment. Le très petit nombre d'études menées dans cette direction comprennent celles de Paliwal et coll., (1988), de Barah et coll., 1986-87, 1987-88, 1988-89 et 1990 et de Kakoty et coll., 1990. Paliwal et coll., (1988) ont utilisé une boîte en carton avec des anneaux alternés en toile de jute pour la montée des vers muga. Cependant, les résultats n'ont pas filtré jusqu'au terrain. Barah et coll., 1986-88 ont fait des essais avec un encabanage en plastique pliant, un tableau de comptage, une chandraki et de la maille en fil de fer plié et enregistré une meilleure performance avec les traitements qu'avec le « Jali ». Des études similaires ont été faites par Kakoty et coll., (1990) avec différents encabanages tels que la chandraki et des anneaux pendants en bambou. Cependant, à cause de l'absence de recommandations des études ci-dessus, il manque toujours un dispositif pour le coconage du ver à soie muga. De même, tels que le montrent de manière évidente les travaux de Alam et coll., 1993 ; de Karandikar et coll., 1992 ; de Prasad et coll., 1992 a et b ; de Singh, 1995 ; d'Himantharaj et coll., 1995 et de nombreux autres essais de standardisation, il manque un dispositif adapté à la montée du ver à soie du mûrier.

L'expérience actuelle a été réalisée avec quatre traitements, en l'occurrence l'encabanage en boîte, la chandraki, la paille de riz et le jali traditionnel du jaquier (témoin). L'étude révèle une meilleure performance de l'encabanage en boîte et il est donc recommandé.

MATERIELS ET METHODES

Quatre différents types d'encabanages, l'encabanage en boîte, la chandraki en bambou, la paille de riz et le jali traditionnel de feuilles de jaquier ont été pris en considération pour l'expérience.

L'encabanage en boîte a été préparé à partir de boîtes en carton mesurant 44 × 25 × 20 cm. Des trous mesurant 0,8 cm ont été percés dans la boîte sur deux rangées (distance de trou à trou : 4 cm) sur les deux côtés opposés de la boîte, c'est à dire une rangée en haut et l'autre rangée sur le bord inférieur afin d'insérer des bâtons de bambou pour soutenir un filet de nylon pour 11 casiers alternés en forme de U (Fig. 1a-c et 2a). Chaque boîte est ainsi utilisée pour monter 150 vers à soie à raison de 14 vers à soie par compartiment.

Les bambous de chandraki (Fig. 2b) avec un espace de montée de 9 pieds carrés sont utilisés. La paille de riz est mise dans des paniers en bambou et les vers à soie montent pour le filage. Un jali (Fig. 2c) est préparé à partir de brindilles de jaquier semi sèches et utilisé comme témoin. Chaque traitement est triplé avec 150 vers pour chaque répétition. Les vers bhorpok (au jour de maturation maximale) sont pris en considération pour obtenir un nombre adapté avec tous les traitements. Les cocons sont recueillis 7-10 jours après le filage. Pour l'encabanage en boîte, les couvercles de la boîte ont été ouverts après l'installation des vers pour le filage afin d'obtenir une aération adaptée. Les chandrakis sont couverts avec des filets en nylon pour empêcher la fuite des vers.

Les caractères d'importance économique tels que le pourcentage de coconage et de pupaison, le poids du cocon et le poids de la coque ont été enregistrés. Les données d'analyse du cocon individuel sont obtenues à partir de 100 cocons pour chaque répétition sous différents traitements et analysées de manière statistique.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les données présentées dans les tableaux I-V montrent une meilleure performance de l'encabanage en boîte par rapport à tous les paramètres d'importance économique. Le pourcentage de coconage est de 97,31 % pour l'encabanage en boîte suivi par la chandraki avec 96,62 %, par le « jali » (témoin) avec 95,64 % et par la paille de riz avec 91,87 %. Le pourcentage de pupaison est aussi plus élevé avec la boîte soit 97,11 % suivi par la chandraki (97 %), par la paille de riz (93,38 %) et le jali (93,26 %). Le poids du cocon et le poids de la coque sont aussi supérieurs avec la boîte soit 5,53 g et 0,42 g respectivement tandis qu'ils sont de 5,22 g et de 0,40 g avec la chandraki, de 5,43 g et 0,43 g avec la paille de riz et de 5,33 g et de 0,39 g avec le jali. Les pupes mortes et la formation de doudions sont aussi plus faibles avec l'encabanage en boîte soit 1,40 % et 0,20 % respectivement.

L'analyse du cocon individuel révèle aussi une meilleure performance des cocons obtenus avec l'encabanage en boîte. La longueur du filament est de 363,82 m avec la boîte suivi par la chandraki (350,98 m), la paille de riz (314,90 m) et le jali (313,11 m). La production d'un filament plus long, avec moins de ruptures et d'un denier faible avec l'encabanage en boîte est attribuée au fait que l'espace fourni par le compartiment est adéquat pour les vers pour le filage des cocons sans déchet de soie. Cela signifie d'autre part que la boîte fournit un microclimat adapté pour le filage. Bien que le rendement soit plus élevé avec la chandraki qu'avec l'encabanage en boîte, cela est compensé par un pourcentage de coconage relativement plus élevé avec la boîte.

L'analyse comparative de la performance de tous les encabanages, en prenant en compte tous les paramètres économiques importants, montre que le rendement ultime en soie grège pour 10 000 vers est plus élevé avec l'encabanage en boîte, soit 2130,15 g suivis par la chandraki (2062,25 g), la paille de riz (1928,19 g) et le jali (1884 g). Le gain net en soie grège pour la montée de 10 000 vers est de 246,15 g avec la boîte par rapport au « jali » traditionnel.

ESSAI SUR LE TERRAIN AVEC L'ENCABANAGE EN BOITE

L'encabanage en boîte a été soumis à un essai sur le terrain dans des unités de production de graines muga (sous l'égide du *Central Silk Board*) situées à Hahim, Kamrup, Assam et Nongpoh, dans la région de Ribhoi, Meghalaya à différentes saisons. Les renseignements sont fournis dans le Tableau VI.

L'observation des données fournies par l'Unité d'Hahim après le premier essai en Novembre 1994 indique 90 % de bons cocons avec la boîte pour 87 % avec le jali. L'analyse du cocon révèle un filament plus long avec la boîte soit 360 m avec un denier fin de 4,6 contre 354 mètres et 4,8 avec le jali. Le second essai mené en Octobre-Novembre 1996 (récolte de Kotia) montre aussi une meilleure performance de l'encabanage en boîte (Tableau VI).

Un rapport sur un essai sur le terrain de l'Unité de Nongpoh indique 97 % de coconage avec la boîte par rapport à 96 % avec le jali. Les poids du cocon et de la coque que l'on enregistre sont respectivement de 7,20 g et de 0,70 g avec la boîte contre 5,8 g et 0,60 g avec le jali. L'étude de la performance au dévidage indique que les cocons filés avec les deux systèmes sont égaux (Tableau VI).

COUT COMPARATIF DE L'UTILISATION DE L'ENCABANAGE EN BOITE ET DU JALI

L'analyse comparative du coût pour la montée de 10 000 vers avec l'encabanage en boîte et le jali traditionnel montre un coût initial plus élevé avec la boîte. Le coût initial de l'encabanage en boîte s'élève à 1355 roupies (y compris le salaire de préparation de l'encabanage et le coût du matériel) alors qu'il n'est que de 200,20 roupies dans le cas du jali, les brindilles nécessaires au jali provenant d'arbres sauvages.

Le coût initial plus élevé de l'encabanage en boîte est compensé par le gain de production en soie et aussi par le moindre espace nécessaire pour le filage, en effet pour monter 10000 vers, il ne faut que 56 pieds carrés d'espace dans le cas de la boîte contre 480 pieds carrés pour le jali. Ainsi on peut être assuré d'une baisse en espace nécessaire de 88,33 % avec l'encabanage en boîte.

Comme il a été mentionné plus haut, le gain en production de soie grège avec l'encabanage en boîte est de 246,15 g pour 10 000 vers montés. Comme l'encabanage en boîte peut être réutilisé au moins 10 fois, le même espace sera nécessaire pour monter 100 000 vers en dix fois, avec un gain de 2,46 kg en production de soie grège par rapport au dispositif traditionnel.

CONCLUSION

L'analyse générale révèle que l'encabanage en boîte permet d'obtenir une meilleure performance suivi par la chandraki. Bien que la paille de riz donne un gain marginal en production de soie grège, elle n'est pas d'un maniement pratique et attire les insectes et les prédateurs. L'étude présente recommande l'encabanage en boîte pour le coconage du ver à soie muga grâce à son maniement pratique, au transport des cocons sur une longue distance sans effet néfaste sur les pupes, à l'économie d'espace, à la facilité de sa récolte et à la prévention de la fuite des vers. etc. L'encabanage en boîte actuel pourrait être amélioré avec des matériels bon marché durables, non corrosifs et mauvais conducteurs de chaleur.

EFFET DE QUATRE CLONES DE MURIER (*MORUS* SPP) A TROIS STADES DE DEVELOPPEMENT SUR LES CARACTERISTIQUES DU COCON DU VER A SOIE (*BOMBYX MORI* L.)

A. J. PORTO, F. OKAMOTO & J. E. ALMEIDA

Centro Estadual de Pesquisa Aplicada em Sericicultura - Estrada Galia-Fernao Dias km 1,5 - Caixa Postal 16 - CEP 17.450-000 Sao Paulo, Brésil.

La production de cocons, de coques soyeuses et la richesse soyeuse d'hybrides commerciaux de Bombyx mori L., nourris pendant le 5ème âge avec des feuilles de quatre clones du mûrier (Morus spp) à 7, 10 et 13 semaines de développement végétatif ont été étudiés. On a observé qu'il existe une interaction entre l'effet du clone et le stade de développement auquel ils est utilisé. Le clone Korin a été supérieur à la 7ème et 10ème semaine de développement, ainsi que le clone IZ 54/6 qui a montré une augmentation évidente de potentiel nutritif jusqu'à la 13ème semaine.

INTRODUCTION

La sériciculture, comme d'autres activités, a besoin d'être compétitive et d'être hautement productive pour être économiquement viable. Ainsi, d'après Scarpelli et Hazama (Fonseca, 1978), l'utilisation de clones de mûrier améliorés est un facteur essentiel pour augmenter la productivité et la qualité des cocons.

Dans ce but, des chercheurs de l'Instituto de Zootecnia se sont engagés à évaluer des nouveaux clones par rapport à la production de feuilles par hectare (Fonseca et coll., 1986, 1987a, 1987b, 1987c), à la stabilité phénotypique (Almeida et coll., 1991), à la propagation végétative (Okamoto et coll., 1993) et à la composition bromathologique (Fonseca et coll., 1993 ; Mendonça, 1994).

Le souci d'associer l'effet du clone à la production et à la qualité des cocons est un souci persistant dans la société scientifique séricicole (Thangamani et Vivekanandan, 1984 ; Tayade et Jawale, 1984 ; Periasmy et Radhakrishnan, 1985 ; Takahashi et coll., 1987 ; Fonseca et coll., 1990).

Pour évaluer l'effet de la qualité des feuilles sur la productivité des cocons, il semble que le plus indiqué est l'utilisation de vers à soie au dernier âge car selon Okino (1982) la consommation de feuilles pendant cette étape représente plus de 87 % de la totalité consommée. En outre, c'est au 5ème âge que se produit le plus grand développement des glandes séricigènes qui atteignent 41,97 % du poids larvaire (Chuan et Chuang, 1992).

Ce travail concerne l'étude de l'effet du génotype (Takahashi et Kronka, 1989), du stade de développement (Prospero, 1972 ; Jacques et coll., 1982) sur les caractéristiques économiques comme le poids des cocons, le poids de la coque soyeuse et la richesse soyeuse dans les élevages où les vers à soie ont subi différents traitements au 5ème âge.

MATERIELS ET METHODES

Cet essai a été réalisé au Centro Estadual de Pesquisa Aplicada em Sericicultura (CEPAS) dans la ville de Galia, dans l'Etat de Sao Paulo, pendant la récolte séricicole de 1995/96. Le CEPAS est

situé à la latitude 22°18' sud et à la longitude 49° 33' ouest, avec des précipitations moyennes annuelles de 1100 mm et une température moyenne de 27 ° C.

La surface expérimentale est de presque 400m² avec des mûriers de 8ans et un espacement de 2m entre les lignes et 0,5 mètres entre les plantes.

Les mêmes traitements de culture, de fumure et de chaulage ont été utilisés pour toute l'expérience. D'après l'analyse de sol réalisée préalablement et selon Okino (1982), il a fallu un amendement avec 500 kg de chaux, 1000 kg de sulfate d'ammonium, 500 kg de superphosphate et 300 kg de chlorate de potassium par hectare et par an.

Le choix des clones IZ 56/4, IZ 40, IZ 10/4 et Korin a été dû à leurs succès dans le milieu séricicole. Les plants ont été taillés au ras du sol (système ceco) dans un ordre qui a permis d'obtenir 3 stades de développement du mûrier au moment où les vers à soie étaient au début du 5ème âge (le 01/05/95). Ainsi, les tailles pour différencier les traitements ont été faites le 30/01/95 pendant 13 semaines, le 20/02/95 pendant 10 semaines et le 13/03/95 pendant 7 semaines. Dans la magnanerie, les quatre clones aux différents stades de développement sont fournis aux vers à soie 5 fois par jour. Chaque répétition est de 50 vers hybrides commerciaux venus de Fiação de Seda Bratac S/A, dans des boîtes de 0,80 m × 0,70 m d'après la méthode expérimentale aléatoire (complètement au hasard) et analysée en mode factoriel 4 × 3 avec trois répétitions par traitement.

Les paramètres évalués à partir d'un échantillon de 30 cocons sont les suivants : poids de cocons (PC), poids de la coque soyeuse (PCS) et richesse soyeuse (RS).

RESULTATS

Les données observées dans cet essai ont indiqué qu'au-delà de l'effet isolé du stade de développement du mûrier, il y a une interaction de l'effet du clone, qui met en évidence l'importance d'un maniement approprié pour chaque clone utilisé.

Le tableau I présente une analyse de la variation pour PC et PCS réalisée pour 30 cocons. On peut observer qu'il y a des différences significatives entre les clones pour les trois stades de développement (SD).

Ces différences de production découlent probablement de la qualité des feuilles chez les différents clones, laquelle semble se modifier au fur et à mesure que les rameaux se développent une fois que la consommation n'a pas été limitée. Cependant, la richesse soyeuse, qui est une relation entre ces deux paramètres, ne présente pas d'effets significatifs, en se maintenant environ à 16 % (Tableau II).

En ce qui concerne PC et PCS, on peut vérifier que le clone Korin à 7 semaines de développement a des moyennes supérieures, pourtant il n'y a pas de variation parmi les autres clones (Tableau II). Cette supériorité du clone Korin s'est maintenue par rapport à PC pour le stade de 10 semaines, toutefois le PCS ne diffère pas significativement du clone IZ 56/4.

La même chose n'arrive pas quand on utilise des feuilles de 13 semaines où on observe que le clone IZ 56/4 est égal au clone Korin pour PC et PCS, ainsi qu'au clone IZ 40 pour PCS.

En termes généraux, des valeurs moyennes supérieures ont été obtenues avec les clones Korin et IZ 56/4, bien que l'essai ne prenne pas en compte la production totale des feuilles par hectare à chaque stade de développement, ce qui est un facteur à considérer au-delà de la qualité de la feuille, dans le but de déterminer la stratégie qui sera adoptée concernant l'élevage.

DISCUSSION

Malgré le manque de registres officiels, on sait que le clone Korin est originaire d'une plante qui s'est détachée du clone Miura dans une plantation commerciale à cause de sa précocité et a probablement été sélectionnée grâce à cette caractéristique.

Les clones de l'Instituto de Zootecnia, IZ 40, IZ 10/4 et IZ 56/4, sont passés par un programme d'amélioration, où l'accent a été mis sur la sélection de bonnes caractéristiques séricicoles, comme la reproduction par bouturage, la vigueur de repousse et surtout la production totale de feuilles par an

(Fonseca et Vencovsky, 1981 ; Fonseca et coll., 1985a, 1985b). Dans les essais de compétition, réalisés avec les matériels sélectionnés, les données ont été recueillies à partir de plantes dont le stade de développement était compris entre 80 et 90 jours (Fonseca et coll., 1986, 1987a, 1987b, 1987c), ce qui suggère une sélection des clones à production élevée de feuilles et aux bonnes qualités nutritives à ce stade de développement.

Tableau I. Analyse de la variance des paramètres poids du cocon, poids de la coque soyeuse et richesse soyeuse.

Table I. Analysis of variance for cocoon weight (PC), shell weight (PCS) and silk ratio (RS) parameters.

Causes de la variation <i>Causes of the variation</i>	DL	Q.M		
		PC(g)	PCS(g)	RS(%)
Stade de développement (SD) <i>Stage of development (SD)</i>	2	14,418*	1,941**	0,867ns
Clones dans SD1 / <i>Clones in SD1</i>	3	45,209**	4,039**	1,116ns
Clones dans SD2 / <i>Clones in SD2</i>	3	92,448**	4,223**	0,004ns
Clones dans SD3 / <i>Clones in SD3</i>	3	37,056*	4,096**	0,316ns
Résidu / <i>Residue</i>	24	2,481	0,345	0,422
Total	35			
Moyenne générale / <i>General mean</i>		66,91	14,11	16,02
CV %		2,35	4,16	4,05
Δ Tukey ($P < 0,01$)		3,55	1,323	1,463

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

Tableau II. Données moyennes obtenues sur le poids du cocon, sur le poids de la coque soyeuse et sur la richesse soyeuse des vers à soie nourris avec des feuilles de mûrier pendant trois stades de développement (7S = sept semaines, 10S = dix semaines, 13S = 13 semaines).

Table II. Average data obtained on cocoon weight, on cocoon shell weight, and on silk ratio of silkworms fed with mulberry leaves at three stages of development (7S = seven weeks, 10S = ten weeks, 13S = thirteen weeks).

	Poids du cocon (g)				Poids de la coque soyeuse (g)			
	<i>Cocoon weight (g)</i>				<i>Cocoon shell weight (g)</i>			
	7S	10S	13S	Moye./Aver.	7S	10S	13S	Moye./Aver.
IZ 56/4	64,827b	70,030b	70,910a	65,589a	13,283b	15,030ab	15,070a	14,461ab
IZ40	65,627b	61,360c	63,597b	63,528b	12,880b	13,060c	13,770ab	13,237b
IZ 10/4	62,533b	66,743b	63,633b	64,303b	13,170b	14,057bc	13,197b	13,474b
Korin	71,637a	74,540a	67,497a	71,224a	15,407a	15,793a	14,593a	15,264a

Richesse soyeuse / <i>Silk ratio</i> (%)				
7S	10S	13S	Moye./Aver.	
IZ 56/4	15,573a	16,297a	16,180a	16,007a
IZ 40	14,930a	16,177a	16,463a	15,857a
IZ 10/4	16,007a	16,007a	15,767a	15,927
Korin	16,343a	16,113a	16,437a	16,298a

Ainsi, on peut supposer que le clone Korin a un cycle végétatif plus court car il atteint son meilleur stade nutritionnel avant les autres clones à l'étude.

Ainsi, le travail présent nous a permis de conclure que :

- le clone Korin présente des qualités nutritives aussi bonnes que les clones améliorés
- les clones IZ 10/4 et Korin ont produit de meilleurs résultats quand ils sont utilisés à l'âge de 10 semaines de développement, ce qui suggère que leurs feuilles atteignent leur qualité maximum pour les vers à soie à ce stade
- le clone IZ 56/4 présente une tendance à conserver et à améliorer ses qualités jusqu'à treize semaines de développement
- le clone IZ 40 a un effet d'augmentation pour le PCS au fur et à mesure que son âge augmente
- la richesse soyeuse n'est pas un bon paramètre pour évaluer la qualité nutritionnelle des feuilles utilisées dans l'alimentation.

REFERENCES

- ALMEIDA J.E., SOARES A. R., RAMALHO M.A.P, FONSECA T. C. (1991) Stabilité phénotypique chez le mûrier. *Sericologia*, 31(3), 469-74
- CHUAN W. P. & CHUANG C. D. (1992) Silkworm rearing. *FAO Agriculture Services Bulletin*, 73:2, 83 p
- FONSECA A. S., FONSECA T.C., PAOLIERI L. (1985a) Híbridos naturais de amoreira. *Boletim da Industria Animal* 42(1): 71-7.
- FONSECA A. S., FONSECA T. C., PAOLIERI L. (1985b) Melhoramento da amoreira por meio da hibridação artificial. *Boletim da Industria Animal* 42(2): 265-76.
- FONSECA A. S., FONSECA T.C., SCHAMMASS, E. A. (1986) Competição de híbridos naturais e artificiais de amoreira. *Boletim da Industria Animal* 43(2): 367-73.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., SCHAMMASS, E.A. (1987a) Competição de híbridos artificiais de amoreira II. *Boletim da Industria Animal* 43(2): 267-73.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., SCHAMMASS E.A., CUNHA E. A. (1987b) Competição de híbridos naturais e artificiais de amoreira III. *Boletim da Industria animal* 44(2): 323-8.
- FONSECA A.S., FONSECA T.C., CUNHA E.A., SCHMASS E.A (1987C) Competição de variedades, híbridos naturais e artificiais de amoreira IV. *Boletim da Industria Animal* 44(2): 329-34.
- FONSECA T.C.(1978) Estimacao de parametros visando a selecao de híbridos artificiais de amoreira (*Morus alba* L.) Tese de Mestrado, Piracicaba, SP, ESALQ, 51p.
- FONSECA T.C., ALMEIDA J.E., FONSECA A.S. (1990) Effect of mulberry selection on silkworm feeding. *Sericologia* 30(4):475-7.
- FONSECA T.C., ALMEIDA, OKAMOTO F., CUNHA E.A. 1993° Valeur nutritive de quelques clones de mûrier (*Morus alba* L.). *Sericologia* 3(4):623-30.
- FONSECA T.C. & VENCovsky, R. (1981) Estimacao de parametros visando a selecao de híbridos artificiais de amorera (*Morus alba* L.) *Boletim da Industria Animal* 38(1):85-105.
- JACQUES A.U.A. STAMEL J.G., RIBOLDI J. (1982) Efeito do estadio de crescimento e altura do corte sobre a matéria seca, proteína bruta e minerais da alfafa crioula (*Medicago sativa*, L.) *Anais da XIX Reuniao Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. Piracicaba, SP. 435p.
- MENDONÇA G.a. (1994) Utilizacao de híbridos de amoreira na produção de casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.) Tese de Mestrado, Piracicaba, SP, ESALQ, 59p.
- OKAMOTO F., CUNHA E.A., FONSECA T.C., CAMPOS B.E.S., ALMEIDA J.E (1993) Avaliação do índice de pegamento em clones de amoreira (*Morus alba* L.)
- OKINO I. (1982) Manual de Sericicultura. Bauru, SP, 80p.
- PERIASMY K. & RADHAKRISHNAN S. (1985) A quantitative study of food utilization and silk productions in *Bombyx mori* L., for evaluation of superior varieties of mulberry. *Sericologia* 25(4): 491-500.
- PROSPERO A.O. (1972) Variação estacional da composição química, bromatológica, do teor de macronutrientes minerais e da digestibilidade in vitro do capim elefante (*Penisetum purpureum* SCHUM.) variedade Napier. Tese de doutorado. Piracicaba, SP, ESALQ, 102p.
- TAKAHASHI R. & KRONKA, R. N. (1989) Efeito dos diferentes tipos de adubação na produção de amoreira (*Morus alba* L.). *Boletim da Industria Animal* 46(1): 157-64.
- TAKAHASHI R., KRONKA S. N., KRONKA R. N. (1987) Influencia da variedade de amoreira na produção de casulos do bicho-da-seda na primavera, verão e outono. *Zootecnia* 25(1): 77-84.
- TAYADE D.S. & JAWALE M.D. (1984) Physiological studies and leaf nutrients analyses in the evaluation of best mulberry variety. *Sericologia* 24(3): 317-24.

EFFECTS OF FOUR CLONES OF MULBERRY (*MORUS* SPP) AT THREE DEVELOPMENT STAGES ON THE SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.) COCOON CHARACTERS

A. J. PORTO, F. OKAMOTO & J. E. ALMEIDA

Centro Estadual de Pesquisa Aplicada em Sericicultura - Estrada Galia-Fernao Dias km 1,5 -
Caixa Postal 16 - CEP 17.450-000 Sao Paulo, Brazil.

The cocoon weight, cocoon shell weight and silk ratio of commercial hybrids of Bombyx mori L., fed during the 5th instar with leaves of four mulberry clones (Morus spp) at 7, 10 and 13 weeks of vegetative development were studied. It was observed that there is an interaction between the effect of the clone and the development stage at which it was used. The Korin clone was better at the 7th and 10th weeks of development, as well as the clone IZ 54/6 which showed an obvious increase in nutritional potential up to the 13th week.

INTRODUCTION

Sericulture, like other activities, needs to be competitive and highly productive to be economically viable. Thus, according to Scarpelli and Hazama (Fonseca, 1978), the use of improved clones is an essential factor in the increase in productivity and in the quality of cocoons.

In this aim, some researchers from the Institute of Zootecnia worked on the assessment of new clones regarding leaf production per hectare (Fonseca *et al.*, 1986, 1987a, 1987b, 1987c), phenotypic stability (Almeida *et al.*, 1991), vegetative propagation (Okamoto *et al.*, 1993) and bromathological composition (Fonseca *et al.*, 1993 ; Mendonça, 1994).

Associating the effect of the clone to the cocoons production and the quality is a constant care in the scientific and sericultural community (Thangamani and Vivekanandan, 1984 ; Tayade and Jawale, 1984 ; Periasmy and Radhakrishnan, 1985 ; Takahashi *et al.*, 1987 ; Fonseca *et al.*, 1990).

In order to assess the leaf quality effect on cocoons productivity, it seemed that the most indicated was the use of silkworms at the last instar because according to Okino (1982) the consumption of leaves during this instar represents more than 87% of the total consumption. Moreover, it is at the 5th instar that the biggest development in the silk glands takes place, which reach 41.97% of the larval weight, (Chuan and Chuang, 1992).

This work observed the genotype effect (Takahashi and Kronka, 1989), the stage of development (Prospero, 1972 ; Jacques *et al.*, 1982) and the economic characteristics like cocoon weight, cocoon shell weight and silk ratio for rearings where silkworms had different treatments at the 5th instar.

MATERIALS AND METHODS

This trial was carried out at the *Centro Estadual de Pesquisa Aplicada em Sericicultura* (CEPAS) in the town of Galia, in the Sao Paulo State, during the sericultural crop of 1995/96. The CEPAS is located at the latitude 22°18' south and longitude 49° 33' west, with average yearly rainfalls of 1,100 mm and a mean temperature of 27 ° C.

The experimental superfcy is of nearly 400m² with 8 years old mulberries and with a 2 m spacing between the lines and 0.5 metres between the plants.

The same cultivation, manure and liming treatments were used for all the experiment. According to the soil analysis carried out beforehand and according to Okino (1982), an improvement with 500 kg limewash 1000 kg ammonium sulfate, 500 kg superphosphate and 300 kg chlorate of potassium per hectare per year was necessary.

The choice of the IZ 56/4, IZ 40, IZ 10/4 and Korin clones was due to their success in the sericultural area. The plants were pruned at the base (cepo method) in a sequence which enabled to obtain 3 mulberry stages of development at the time when the silkworms were at the beginning of the 5th instar (the 01/05/95). Thus, the prunings for differentiating the treatments were made the 30/01/95 during 13 weeks, the 20/02/95 during 10 weeks and the 13/03/95 during 7 weeks. In the rearing house, the four clones at different stages of development were supplied to the silkworms 5 times a day. Each replication was of 50 commercial hybrid silkworms originating from Fiação de Seda Bratac S/A, in boxes of 0.80 m × 0.70 m according to the random block design method (completely at random) and was analysed in a factorial mode 4 × 3 with 3 replications per treatment.

The parameters measured from a 30 cocoons sample were as follows: cocoon weight (PC), cocoon shell weight (PCS) and silk ratio (RS).

RESULTS

The data observed in this trial show that beyond the effect of the mulberry development stage, there was an interaction of the clone effect, which underlines how important it is to correctly handle every clone used.

Table I shows an analysis of variance for PC and PCS carried out for 30 cocoons. It can be observed that there were significant differences between the clones for the three stages of development (SD).

These differences in production probably come from the leaf quality in the different clones, which seemed to change as the shootlets develop once the consumption has not been limited. However, the silk ratio, which is a relation between these two parameters, does not show any significant effects, by maintaining itself at about 16% (Table II).

As for PC and PCS, it could be verified that the Korin clone at 7 weeks of development had higher means, however there was no variation among the other clones (Table II). This superiority of the Korin clone maintained itself in relation to PC for the stage of 10 weeks, however PCS did not differ in a significant way from the clone IZ 56/4.

The same thing did not happen when 13 weeks old leaves were used, when it was observed that the IZ 56/4 clone was equal to the Korin clone for PC and PCS, and also to the IZ 40 clone for PCS.

In general terms, some higher average values were obtained with the Korin and IZ 56/4 clones, although the trial did not take into account the total production of leaves per hectare at each stage of development, which is a factor to be considered, beyond the leaf quality, in the aim of defining the strategy which will be adopted regarding rearing.

DISCUSSION

Despite the lack of official records, it is known that the Korin clone originates from a plant which came off the Miura clone in a commercial nursery because of its precocity and was probably selected owing to this characteristic.

The IZ40, IZ 10/4 and IZ 56/4 clones of the *Instituto de Zootecnia* went through an improvement program, where the emphasis was laid on the selection of the good sericultural characters, like the reproduction through cuttings, the vigour of regrowth and especially the total production of leaves per year (Fonseca and Vencovsky, 1981 ; Fonseca *et al.*, 1985a, 1985b). In the competition trials, carried out with the selected materials, the data were collected from plants which stage of development ranged between 80 and 90 days (Fonseca *et al.*, 1986, 1987a, 1987b, 1987c), which suggests a selection

of clones with a high production of leaves and with good nutritional qualities at this stage of development.

Thus, it can be suggested that the Korin clone had a shorter vegetative cycle because it reached its best nutritional stage before the other clones studied:

Thus, this work enabled us to conclude that:

- the Korin clone showed as good nutritional qualities as the improved clones
- the IZ 10/4 and Korin clones produced best results when they were used at 10 weeks of development, which suggests that their leaves reach their maximum quality for silkworms at this stage
- the IZ 56/4 clone showed a trend to keep and improve its qualities up to thirteen weeks of development
- the IZ 40 clone had an increasing effect for PCS as its age increased
- the silk ratio is not a good parameter to assess the nutritional quality of the leaves used in the feeding.

VARIETAL AND SEASONAL OCCURRENCE OF POWDERY MILDEW (*PHYLLACTINIA CORYLEA* PERS. KARST.) DISEASE OF MULBERRY IN TAMIL NADU

S. K. GANGWAR* & K. THANGAVELU**

Regional Sericultural Research Station, Allikuttai, Gandhi Nagar, Salem - 636 003, Tamil Nadu, India.

Out of 25 indigenous and 8 exotic mulberry varieties/accessions screened, two indigenous entries i.e. Surat and SLM-1, and three exotic varieties i.e. Shrim-2, Goshorami and M. australis were found highly resistant to the powdery mildew disease. One indigenous (CSRS-1) and two exotic (Shrim-5 and AB × Phill) varieties were the most susceptible (PDI > 15) and all other varieties were moderately susceptible (PDI range 6 - 15) to powdery mildew. Disease incidence was observed more during winter months (Dec-Jan). Average minimum temperature and total rainfall of the month had significant and positive correlation on the incidence of the disease. However, in the multiple regression analysis, a combination of minimum temperature and relative humidity gave the best fit prediction equation.

Keywords: Mulberry, varieties, powdery mildew, *Phyllactinia corylea*, ecological conditions.

Powdery mildew disease of mulberry is caused by *Phyllactinia corylea* (Pers.) Karst. and is of economic importance for sericulture due to its harmful impact on the feed value of the mulberry leaf (Chanturiya, 1968; Noamani *et al.*, 1970; Rajasekhar Gauda *et al.*, 1987). It is prevalent in many parts of Tamil Nadu (Gangwar and Thangavelu, 1995). Though some preliminary studies on its occurrence in Karnataka (Krishna Prasad and Siddaramaiah, 1979) and screening of mulberry varieties (Govindaiah *et al.*, 1989) were reported, details on the disease incidence and the role of climatic factors on the incidence of powdery mildew are not available. Therefore, the present study was taken up at the Regional Sericultural Research Station, Salem (Tamil Nadu) to evaluate its occurrence pattern and relationship with climatic factors and also to identify resistant mulberry varieties.

MATERIALS AND METHODS

Seed materials (cuttings) of 25 indigenous and 8 exotic mulberry varieties were procured from the Central Sericultural Research and Training Institute (CSR&TI), Mysore and local fields and were planted under the pit system with 90 cm × 90 cm spacing in the mulberry farm of Regional Sericultural Research Station (RSRS), Salem, during the years 1988 and 89. The plants were maintained as low bushes following the recommended agronomic practices and pruning schedules (Krishnaswamy, 1986). The mulberry plants at RSRS, Salem exhibited sufficient natural population of the powdery mildew pathogen and therefore, the study was undertaken under natural conditions.

* Present address: Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742101, West Bengal (India).

** Present address: Silkworm and mulberry Germplasm Station (CSB), P.B. No. 44, Hosur - 635 109, Tamil Nadu (India).

The data on powdery mildew disease incidence were recorded on a monthly interval from the second year of planting onward in 0-5 scale (Gangwar and Thangavelu, 1995) and percent disease index (PDI) calculated as follows:

$$\text{PDI} = \frac{\text{Sum of numerical grades} \times 100}{\text{No. of observations} \times \text{maximum grade (5)}}$$

Simultaneously, daily records of climatic parameters i.e. maximum temperature ($^{\circ}\text{C}$), minimum temperature ($^{\circ}\text{C}$), relative humidity (%) and rainfall (mm) were also collected from the meteorological observatory of RSRS, Salem. The method of disease recording and statistical analyses were the same as reported earlier (Gangwar and Thangavelu, 1995). Data of two years were compiled and mulberry varieties were ranked into 1 for highly resistant (no disease), 2 for resistant (PDI range 1-5), 3 for moderately susceptible (PDI range 6-15), 4 for susceptible (PDI range 16 - 30) and 5 for highly susceptible (PDI more than 30).

Monthly average values of PDI on most susceptible mulberry varieties (showing the highest PDI) were subjected to correlation regression analyses with average climatic parameters of the months. The best fit prediction equation was then evaluated based on the value of the coefficient of determination, R^2 .

RESULTS AND DISCUSSION

Screening of mulberry varieties:

Incidence of powdery mildew was in general low (Table I). Out of 25 indigenous mulberry varieties, two varieties i.e. Surat and SLM-1 were found completely free from the powdery mildew disease. Only one variety i.e., CSRS-1 was found susceptible (PDI > 15) and all other varieties were moderately susceptible (PDI 6-15). Amongst exotic mulberry entries, Shrim-2, Goshocrami and *M. australis* were highly resistant to this disease whereas Shrim-5 and AB $\times$ Phill were most susceptible. Shrim-8 and Maulai were found to be moderately susceptible. Govindaiah *et al.*, (1989) reported that the varieties Kanva-2, MR-2 and S-54 are moderately resistant to powdery mildew. In the present investigation also these varieties though fallen under ranks 3, had less PDI than other newly evolved high yielding varieties like S-1 and S-799. Drought resistant S-series varieties evolved from CSR&TI, Mysore i.e. S-3, S-13, S-14, S-61 were moderately susceptible to powdery mildew. Some exotic varieties like Shrim-2, *M. australis* and Goshocrami appeared to be good genetic sources for powdery mildew disease resistance and may be explored in mulberry breeding for powdery mildew resistance.

Monthly occurrence of the powdery mildew disease and its relationship with weather factors:

The disease incidence pattern on most of the highly susceptible mulberry variety (AB $\times$ Phill) showed the presence of the disease throughout the year. The curve of its PDI started rising from November and reached its peak during January and March and thereafter started declining (Figure 1). The period of high disease incidence in Tamil Nadu coincided with the dry and cool months (low humidity and temperature) (Table II). Correlation analyses of powdery mildew with weather factors showed that the disease had highly significant and negative correlation with minimum temperature and rain fall (Table III). Krishna Prasad and Siddaramaiah (1979) reported that temperature below 24°C and relative humidity around 60% favour the development of powdery mildew. The minimum temperature in Tamil Nadu reaches down 24°C during winter months only and during other months the temperature generally remains above 30°C which is unfavourable for the powdery mildew disease development. Maximum temperature in the studied zone never reached the favourable limit and hence it did not show a significant correlation. Moreover, the temperature range in Tamil Nadu is too narrow to have any significant impact on the development of powdery mildew.

Table I. Screening of some indigenous and exotic mulberry varieties/accessions to powdery mildew.**Tableau I. Examen de variétés/exemplaires de mûrier indigènes et exotiques face au mildiou poudreux.**

SI No.	Name of the variety <i>Nom de la variété</i>	Origin <i>Origine</i>	Source with ACC No <i>Source avec No. d'exemplaire</i>	PDI <i>PDI</i>	Rank <i>Rang</i>
A. Indigenous varieties:					
1.	Mysore local	Karnataka	Local fields / <i>champs de la région</i> -	10.4	3
2.	Kanva-2	Karnataka	Local fields / <i>champs de la région</i> -	07.5	3
3	MR-2	Tamil Nadu	Local fields / <i>champs de la région</i> -	05.6	3
4	S-30	CSR&TI, Mysore	CSR&TI, Mysore (ACC 156)	06.4	3
5	S-36	CSR&TI, Mysore	CSR&TI, Mysore (ACC-157)	03.4	2
6	S-41	CSR&TI, Mysore	CSR&TI, Mysore (ACC-158)	06.4	3
7	S-65	CSR&TI, Mysore	CSR&TI, Mysore (ACC- 159)	05.6	3
8	S-3	CSR&TI, Mysore	CSR&TI, Mysore	10.3	3
9	S-13	CSR&TI, Mysore	CSR&TI, Mysore	10.3	3
10	S-14	CSR&TI, Mysore	CSR&TI, Mysore	11.0	3
11	S-25	CSR&TI, Mysore	CSR&TI, Mysore	13.1	3
12	S-34	CSR&TI, Mysore	CSR&TI, Mysore	14.0	3
13	S-61	CSR&TI, Mysore	CSR&TI, Mysore	07.1	3
14	S-1	CSR&TI, Berhampore	CSR&TI, Mysore (ACC-139)	13.5	3
15	S-799	CSR&TI, Berhampore	CSR&TI, Mysore (ACC-140)	13.5	3
16	S-1531	CSR&TI, Berhampore	CSR&TI, Mysore (ACC-142)	14.4	3
17	C-763	CSR&TI, Berhampore	CSR&TI, Mysore (ACC 216)	09.2	3
18	CSRS-1	CSR&TI, Berhampore	CSR&TI, Mysore (ACC-122)	15.7	4
19	Sujapur-5	West Bengal	CSR&TI, Mysore (ACC-130)	06.4	3
20	LF-2	-	CSR&TI, Mysore (ACC-199)	09.1	3
21	Serpentine	-	CSR&TI, Mysore (ACC-184)	03.9	2
22	Kajali	-	CSR&TI, Mysore (ACC-244)	08.7	3
23	Assambola	Assam	CSR&TI (ACC-105)	12.5	3
24	Surat	Gujrat	CSR&TI, Mysore (ACC-261)	00.0	1
25	SLM-1	RSRS, Salem	RSRS, Salem -	00.0	1
B. Exotic varieties					
26	Shrim-2	Bangladesh	CSR&TI, Mysore (ACC-178)	00.0	1
27	Shrim-5	Bangladesh	CSR&TI, Mysore (ACC-179)	18.2	4
28	Shrim-8	Bangladesh	CSR&TI, Mysore (ACC-180)	14.3	3
29	Goshoerami	Japan / Japon	CSR&TI, Mysore (ACC-127)	00.0	1
30	<i>E. black</i>	France	CSR&TI, Mysore (ACC-132)	03.9	2
31	AB × Phill	-	CSR&TI, Mysore	18.4	4
32	Maulai	Burma	CSR&TI, Mysore (ACC-131)	11.5	3
33	<i>M. australis</i>	Australia	CSR&TI, Mysore (ACC-220)	00.0	1

$$\text{Percent Disease Index (PDI)} = \frac{\text{Sum of ratings} \times 100}{\text{No of observations} \times \text{max. score (5)}}$$

$$\text{Indice de pourcentage de la maladie (PDI)} = \frac{\text{Somme des classements} \times 100}{\text{Nb're d'observations} \times \text{résultat max. (5)}}$$

Ranking: 1 for immune (No disease), 2 for resistant (PDI 1-5), 3 for moderately susceptible (PDI 6-15), 4 for susceptible (PDI 16-30) and 5 for highly susceptible (PDI more than 30). / Classement: 1 = immunisé (pas de maladie), 2: résistant (PDI 1-5), 3: modérément sensible (PDI 6-15), 4: sensible (PDI 16-30) et 5 : hautement sensible (PDI supérieur à 30).

Table II. Weather parameter and their relationship with the disease index on most susceptible variety (AB × Phill).*Tableau II. Le paramètre climat et sa relation avec l'indice de maladie sur la variété la plus sensible (AB × Phill).*

Variable parameter	Range	Mean value	Standard deviation	Correlation coefficient with PDI
<i>Paramètre variable</i>	<i>Fourchette</i>	<i>Valeur moyenne</i>	<i>Ecart type</i>	<i>Coefficient de corrélation avec le PDI</i>
Max. T. (° C)	29.2 - 38.2	32.8	2.51	- 0.231
Min. T. (° C)	17.4 - 30.3	23.9	2.53	- 0.705**
R. H. (%)	55.9 - 65.9	61.6	3.00	- 0.367
Rain fall (mm) / Précipitation (mm)	0 - 450	28.4	2.07	- 0.627**
Disease index / Indice de maladie	0.5 - 45.2	18.8	13.7	-

NB: Stars indicate significance at 5% (*) and 1% (**). / Les astérix indiquent la signification à 5 % (*) et 1 % (**). **PDI** = Percent Disease Index / Indice de pourcentage de la maladie.

Table III. Regression analyses of percent disease indices over the climatic parameters.*Tableau III. Analyses de régression des indices de pourcentage de la maladie par rapport aux paramètres climatiques.*

Sl. No.	Constant	Partial regression coefficient (b)				R ²
		Max T. (° C)	Min T. (° C)	R. H. (%)	Rainfall (mm)	
Coefficient de régression partielle (b)						
		T. Max (° C)	T. Min (° C)	H. R. (%)	Précipitation (mm)	
1.	60.24	- 1.263	-	-	-	0.053
2.	110.086	-3.817**	-	-	-0.497**	
3.	123.622	-	-	1.703	-	0.135
4.	27.128	-	-	- 0.065**	0.393**	
5.	222.900	-2.879**	- 12.807*	-	0.648**	
6.	93.405	-2.897**	-	- 0.042**	0.627**	
7.	- 112.114	-	2.237**	0.008	0.486**	

Best fit equation: $Y = 222.90 - 2.879^{**} \text{ Min. temp.} - 1.807^{*} \text{ Relative humidity}$

Equation la mieux ajustée : $Y = 222.90 - 2.879^{**} \text{ Temp. min.} - 1.807^{*} \text{ Humidité relative}$

NB: Stars indicate significance at 5% (*) and 1% (**). / Les astérix indiquent la signification à 5 % (*) et 1 % (**).

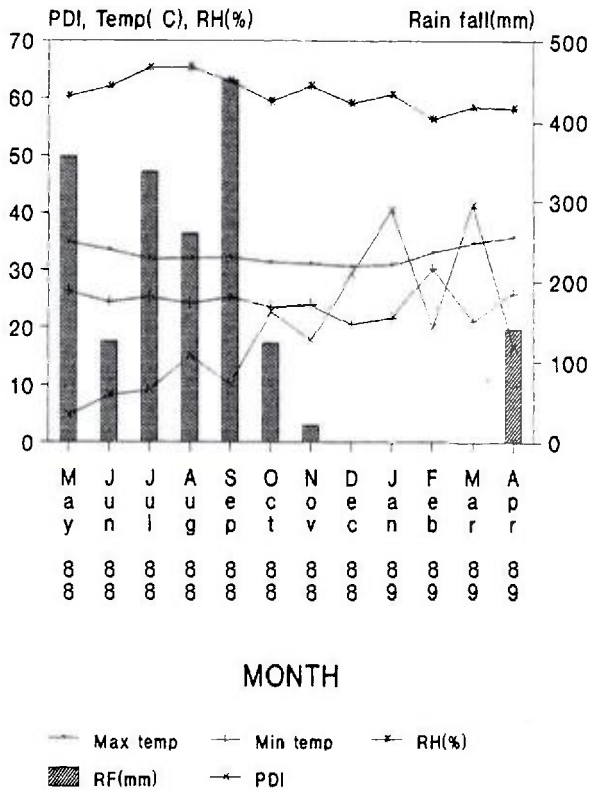


Fig. 1. Monthly severity of powdery mildew and disease - weather relationship.

Fig. 1. Etendue mensuelle du mildiou poudreux et relation maladie - climat.

When multiple regression equations with different combinations of climatic parameters were evaluated, minimum temperature and relative humidity gave the best fit equation as the coefficient of determination value for this equation was highest ($R^2 = 0.648$). It was narrowly followed by the equation consisting of minimum temperature and rain fall ($R^2 = 0.627$). Association of relative humidity with the best fit equation in spite of its non-significant correlation with disease index might be due to the indirect effect coming through the rainfall because the humidity is also dependent on the rain fall. The best fit equation for the prediction of powdery mildew disease is therefore as follows:

$$Y = 222.90 - 3.883^{**} \text{ Min Temp} - 1.807^{*} \text{ Relative humidity}$$

$$R^2 = 0.648^{**}$$

** indicate significance at $P = 0.01$, * is for significance at $P = 0.05$.

The combination of minimum temperature and rainfall had shown equally high predictability ($R^2 = 0.627$) and in this case also both partial regression coefficients and coefficient of determination were significant.

$$Y = 93.405 - 2.887^{**} \text{ Min. temp.} - 0.042^{*} \text{ rain fall}$$

$$R^2 = 0.627^{**}$$

The inference drawn from the above relationship is that the powdery mildew disease intensity increases with the reduction in the daily minimum temperature and relative humidity. In Tamil Nadu these conditions coincide with winter months (Dec. - Jan.) and therefore invite more powdery mildew disease during these months.

REFERENCES

- CHANTURIYA N. N. (1968) Biological characteristics of mulberry leaves damaged by powdery mildew. Soobshch Akad. Nauk. Gruz. SSR, 52, 799-804.
- GANGWAR S. K. & THANGAVELU K. (1991) Incidence of mulberry diseases in Tamil nadu. Indian Phytopathol., 44 (4), 545-549.
- GANGWAR S. K. & THANGAVELU K. (1995) Varietal and seasonal incidence of bacterial blight of mulberry (*Morus* spp.) caused by *Pseudomonas mori* Boyer et Lambert. Indian J. Seric., 34(2), 310-313.
- GOVINDAIAH, SHARMA D. D., SENGUPTA K., GUNASEKHAR V., SURYANARAYANA N. & MADHAV RAO Y. R. (1989) Screening of mulberry varieties against fungal diseases. Indian J. Seric., 28, 207-213.
- KRISHNASWAMY S. (1986) Mulberry cultivation in South India. CSR&TI Bull No 1. Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, 19pp.
- KRISHNA PRASAD K. S. & SIDDARAMAIAH A. L. (1979) Studies on the development of powdery mildew disease of mulberry in Karnataka. Indian J. Seric., 18, 9-17.
- NOAMANAI K. R., MUKHERJEE P. K. & KRISHNASWAMI S. (1970) Studies on the effect of feeding multivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.) larvae with mildew affected mulberry leaves. Indian J. Seric., 9(1), 49-52.
- RAJASHEKAR GOUDA R., DEVAIAH M. C. & SIDDARAMAIAH A. L. (1987) Management of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. with powdery mildew infected leaves. Indian J. Seric., 26(1), 8-10.

PRESENCE EN FONCTION DES VARIETES ET DES SAISONS DE LA MALADIE DU MILDIOU POUDREUX (*PHYLLACTINIA CORYLEA* PERS. KARST.) DU MURIER AU TAMIL NADU

S. K. GANGWAR* & K. THANGAVELU**

Regional Sericultural Research Station, Allikuttai, Gandhi Nagar, Salem - 636 003, Tamil Nadu, Inde.

Le tri de 25 variétés/exemplaires de mûriers indigènes et de 8 variétés exotiques permet de constater que deux types indigènes, *Surat* et *SLM-1*, et trois variétés exotiques, *Shrim-2*, *Goshoerami* et *M. australis* s'avèrent fortement résistantes à la maladie du mildiou poudreux. Une variété indigène (*CSRS-1*) et deux variétés exotiques (*Shrim-5* et *AB × Phill*) sont les plus sensibles ($PDI > 15$) et toutes les autres variétés sont modérément sensibles (fourchette de PDI 6 - 15) au mildiou poudreux. On observe que l'incidence de la maladie est la plus forte pendant les mois d'hiver (Dec-Jan). La température moyenne minimum et les précipitations totales du mois sont corrélées de manière significative et positive avec l'incidence de la maladie. Cependant, la combinaison de la température et de l'humidité relative minimales donnent l'équation de prédiction la plus adaptée dans l'analyse de régression multiple.

La maladie du mildiou poudreux du mûrier est provoquée par *Phyllactinia corylea* (Pers.) Karst. et est importante du point de vue économique pour la sériciculture à cause de son impact néfaste sur la valeur nutritive de la feuille de mûrier (Chanturiya, 1968 ; Noamani et coll., 1970; Rajasehkar Gauda et coll., 1987). Elle est répandue dans de nombreuses parties du Tamil Nadu (Gangwar et Thangavelu, 1995). Bien que des études préliminaires sur sa présence dans le Karnataka (Krishna Prasad et Siddaramaiah, 1979) et que le tri de variétés de mûriers (Govindaiah et coll., 1989) aient été rapportées (Krishna Prasad et Siddaramaiah, 1979), on ne dispose pas d'informations sur l'incidence de la maladie et sur le rôle des facteurs climatiques par rapport à l'incidence du mildiou poudreux. La présente étude a donc été entreprise à la *Regional Sericultural Research Station*, Salem (Tamil Nadu) pour évaluer son mode d'apparition et sa relation avec les facteurs climatiques et aussi pour identifier les variétés de mûrier résistantes.

MATERIELS ET METHODES

Les matériels de plantation (boutures) de 25 variétés de mûrier indigènes et de huit variétés exotiques ont été obtenues du *Central Sericultural Research and Training Institute* (CSR&TI), de Mysore et de champs locaux et ont été plantés avec un espacement de 90cm × 90 cm dans la mûraie de la *Regional Sericultural Research Station* (RSRS), Salem, pendant les années 1988 et 89. Les plantes ont été maintenues sous forme de buissons bas suivant les méthodes agronomiques et les calendriers de taille recommandés (Krishnaswamy, 1986). Les plants de mûriers du RSRS, Salem

* Adresse actuelle : Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore - 742101, West Bengale (Inde)

** Adresse actuelle : Silkworm and Mulberry Germplasm Station (CSB), P. B. No. 44, Hosur - 635 109, Tamil Nadu (Inde).

présentent une population naturelle suffisante en pathogène du mildiou poudreux et donc, l'étude a été entreprise dans des conditions naturelles.

Les données sur l'incidence de la maladie du mildiou poudreux sont enregistrées mensuellement à partir de la deuxième année de plantation sur une échelle de 0-5 (Gangwar et Thangavelu, 1995) et l'indice de pourcentage de la maladie (PDI) est calculé comme suit :

$$\text{PDI} = \frac{\text{Somme des grades numeriques} \times 100}{\text{Nbre d' observations} \times \text{grade maximum (5)}}$$

Simultanément, les observations quotidiennes sur les paramètres climatiques comme la température maximum (° C), la température minimum (° C), l'humidité relative (%) et les précipitations (mm) sont aussi recueillies à l'observatoire météorologique du RSRS de Salem. La méthode d'enregistrement de la maladie et les analyses statistiques sont les mêmes que celles qui ont été indiquées antérieurement (Gangwar et Thangavelu, 1995). Les données de deux années sont compilées et les variétés de mûriers sont classées de 1 pour une forte résistance (pas de maladie), à 2 pour résistante (fourchette de PDI de 1-5), 3 pour modérément sensible (fourchette de PDI 6-15), 4 pour sensible (fourchette de PDI 16-30) et 5 pour fortement sensible (PDI supérieur à 30).

Les valeurs moyennes mensuelles de PDI pour les variétés de mûriers les plus sensibles (présentant le PDI le plus élevé) sont soumises à des analyses de corrélation de régression avec les paramètres climatiques moyens mensuels. L'équation de prédiction la mieux adaptée a ensuite été évaluée sur la base de la valeur du coefficient de détermination, R^2 .

RESULTATS ET DISCUSSION

Tri des variétés de mûrier :

L'incidence du mildiou poudreux est en général faible (Tableau I). Sur 25 variétés indigènes de mûrier, deux variétés Surat et SLM-1 sont complètement exemptes de la maladie du mildiou poudreux. Seule une variété CSRS-1 est sensible (PDI >15) et toutes les autres variétés sont modérément sensibles (PDI 6-15). Parmi les variétés exotiques de mûriers, on trouve que Shrim-2, Goshoerami et *M. australis* sont fortement résistantes à cette maladie tandis que Shrim-5 et AB × Phill sont les plus sensibles. On observe que Shrim-8 et Maulai sont modérément sensibles. Govindaiah et coll., (1989) ont signalé que les variétés Kanva-2, MR-2 et S-54 sont modérément résistantes au mildiou poudreux. Dans l'étude actuelle, ces variétés bien qu'appartenant à la classe 3, avaient aussi un PDI plus faible que d'autres variétés nouvellement mises au point à haut rendement comme S-1 et S-799. Les variétés de la série-S résistantes à la sécheresse mises au point au CSR&TI, de Mysore S-3, S-13, S-14, S-61 sont modérément sensibles au mildiou poudreux. Certaines variétés exotiques comme Shrim-2, *M. australis* et Goshoerami apparaissent être de bonnes sources génétiques pour la résistance à la maladie du mildiou poudreux et pourraient être exploitées pour le breeding du mûrier pour la résistance au mildiou poudreux.

Variation mensuelle de la maladie du mildiou poudreux et relation avec les facteurs climatiques :

L'incidence de la maladie sur la variété la plus fortement sensible (AB × Phill) montre la présence de la maladie pendant toute l'année. La courbe du PDI commence à monter en Novembre et atteint son pic en Janvier et Mars et commence à baisser après (Figure 1). La période de forte incidence de la maladie au Tamil Nadu coïncide avec les mois secs et frais (température et humidité faibles) (Tableau II). Les analyses de corrélation du mildiou poudreux avec les facteurs climatiques montrent que la maladie est corrélée de manière très significative et négative avec une température et des précipitations minimum (Tableau III). Krishna Prasad et Siddaramaiah (1979) ont signalé qu'une température inférieure à 24° C et une humidité relative autour de 60 % favorisent le développement

du mildiou poudreux. La température minimum au Tamil Nadu n'est de 24° C que pendant les mois d'hiver et pendant les autres mois reste en général au-dessus de 30 ° C, ce qui n'est pas favorable au développement de la maladie du mildiou. La température maximum dans la zone étudiée n'atteint jamais la limite favorable et ainsi cela ne donne pas de corrélation significative. De plus, la fourchette de température au Tamil Nadu est trop étroite pour avoir un impact significatif sur le développement du mildiou poudreux.

Lorsque les équations de régression multiple avec les différentes combinaisons de paramètres climatiques sont évaluées, la température minimum et l'humidité relative donnent l'équation la plus adaptée étant donné que le coefficient de détermination pour cette équation est le plus élevé ($R^2 = 0,648$). Il est étroitement suivi par l'équation constituée de la température et de la précipitation minimales ($R^2 = 0,627$). L'association de l'humidité relative avec l'équation la mieux adaptée malgré sa corrélation non significative avec l'indice de la maladie pourrait être due à l'effet indirect venant des précipitations parce que l'humidité dépend aussi des précipitations. L'équation la mieux adaptée pour la prédiction de la maladie du mildiou poudreux est donc comme suit :

$$Y = 222,90 - 3,883^{**} \text{ Min Temp} - 1,807^{*} \text{ humidité relative}$$

$$R^2 = 0,648^{**}$$

** indique un seuil de signification à $P = 0,01$, * est pour un seuil à $P = 0,05$.

La combinaison de la température et des précipitations minimales montrent une prévisibilité également élevée ($R^2 = 0,627$) et dans ce cas aussi les coefficients de régression partielle et le coefficient de détermination sont significatifs.

$$Y = 93,405 - 2,887^{**} \text{ Temp. Min.} - 0,042^{*} \text{ précipitation}$$

$$R^2 = 0,627^{**}$$

La déduction que l'on peut tirer de la relation ci-dessus est que l'intensité de la maladie du mildiou poudreux augmente avec la baisse de la température quotidienne et de l'humidité relative minimales. Au Tamil Nadu, ces conditions coïncident avec les mois d'hiver (Dec. - Jan.) qui sont les plus propices à la maladie du mildiou poudreux pendant ces mois.

SCREENING OF MULBERRY GERMPLASM ACCESSIONS FOR SALT TOLERANCE

B. G. PRAKASH*, U. D. BONGALE & S. B. DANDIN

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

Pot studies were conducted in two batches at the Institute's campus, Bangalore during 1994-95, with the objective of evaluating 24 genotypes from mulberry germplasm for salt tolerance under induced salinity conditions with electric conductivity of 6.00 ds by adding NaCl. Six genotypes namely Viswa (DD), Tr-10, S-34, MR-2, Surat, Mysore Local and Cementeno with 80-90% survival were found to be salt tolerant. In both the batches, out of six characters studied, the tolerance indices (T. I.) value on survival % was a fitter tool to screen salt tolerant types as truncation point made at 75.00% survival percent value revealed better growth of salt tolerant genotypes which was confirmed by correlation analysis.

Keywords: Mulberry, *Morus*, genotypes, salt tolerance.

INTRODUCTION

In India, about 7 million hectares of land is estimated to be salt affected. Since mulberry (*Morus* spp.) is a perennial and fast growing plant, the scope for its utility in waste land management has been suggested (Dandin *et al.*, 1992). However, selection of suitable genotypes for such purposes has not received adequate attention. The present study was aimed at screening the genotypes for selection of high yielding and high rooting mulberry accessions for salt tolerance, apart from understanding the parameters associated with salt tolerance.

MATERIALS AND METHODS

The present study was conducted at the main campus of the Institute during 1994-95, using earthen pots of 17 kg capacity with red earth : farm yard manure (FYM): sand at equal proportions, as growth medium. The electrical conductivity (E.C.) values of the basal medium (1.9 ds as control) was raised to 6.0 ds by adding the requisite quantity of NaCl for the treatment with three replications each. Critical level of E.C. was fixed at 6.0 ds keeping in view the report of Shaikh and Mohamed (1994a) who reported that E. C. values of 50 m m (6.00 d.s) were highly toxic to rooting and sprouting of mulberry genotypes. Sixteen and ten accessions were selected for batch I and batch II respectively using fresh cuttings from six month old shoots for planting at the rate of 6 cuttings per pot during September-November 1994 (Batch I) and February-April 1995 (Batch II). Irrigation was given on alternate days without allowing leaching and to maintain the soil moisture uniformly below the field capacity. Observations were recorded at the biological end point on selected parameters, i.e.: sprouting % (at 30th day after planting), survival % (at 60th day after planting) and stem length (cm), root length (cm), number of

* Present address: Regional Research Station of the UAS, Konehalli, TIPTUR - 572 202, India.

Table I. Screening of mulberry genotypes for salinity tolerance at 90th day (Batch I).

Tableau I. Examen de la tolérance à la salinité de génotypes de mûriers au 90ème jour (Lot I).

Genotypes	Survival %		Stem Length (cm)		Root Length (cm)		No. of roots		Root weight (g)		Shoot weight (g)		Tolerance index	
	Control	Treated	Control	Treated	Control	Treated	Control	Treated	Control	Treated	Control	Treated	(Root Length)	Tolerance index (survival %)
Genotypes	Survie (%)		Longueur de la tige (cm)		Longueur de la racine (cm)		No. de racines		Poids de la racine (g)		Poids de la tige (g)		Indice de tolérance (Longueur de racine)	Indice de tolérance (% de survie)
	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité		
1. M-5	50.00	11.00	62.67	45.00	35.67	48.00	15.00	3.00	17.73	8.40	51.73	32.95	134.56	22.00
2. D D	67.00	66.63	39.63	37.83	32.38	33.94	10.50	11.11	15.05	14.11	33.68	35.83	104.81	100.00
3. Mysore local	50.00	44.33	50.33	47.50	37.50	38.67	10.00	7.17	21.50	10.98	26.90	23.12	103.12	89.00
4. RFS 135	50.00	28.00	33.17	38.17	36.33	37.72	7.33	6.44	25.7	9.91	36.17	20.31	103.82	56.00
5. Berhampore	0.00	22.33	-	36.00	-	26.28	-	2.00	-	7.1	-	13.70	-	-
6. Tr 10	100.00	86.67	36.33	38.60	37.17	32.39	13.50	13.28	20.53	23.25	20.18	27.10	87.14	86.67
7. Thailand	100.00	27.67	50.67	54.67	43.17	43.00	14.33	9.67	16.38	16.53	20.47	35.97	99.60	28.00
8. Almora	67.00	5.67	34.67	19.50	35.33	20.00	9.33	3.00	22.00	2.00	21.73	7.50	56.60	8.00
9. S 13	17.00	11.33	76.00	11.25	59.00	9.50	15.00	3.00	44.00	0.75	77.90	3.10	16.10	67.00
10. S 34	67.00	50.00	29.50	33.88	28.00	30.08	8.67	9.81	20.33	15.48	25.33	39.73	107.42	75.00
11. MR 2	67.00	55.33	32.85	36.80	29.08	36.66	14.25	7.64	10.03	11.22	24.93	34.94	126.06	82.00
12. Mizusawa	17.00	5.67	-	48.00	-	60.00	-	6.00	-	9.40	-	26.40	-	33.00
13. Cuckopilla (TR 8)	83.00	28.00	35.60	27.95	27.90	27.67	12.80	6.67	12.80	11.18	25.72	15.98	99.17	34.00
14. Drought resistant	83.00	16.67	37.67	40.75	38.00	35.88	6.33	8.00	8.65	7.50	33.80	35.48	94.42	20.00
Résistant à la sécheresse														
15. Guriram 8	83.00	44.67	52.32	38.97	30.10	25.50	19.20	9.89	16.22	11.31	27.04	24.03	84.71	54.00
16. Surat	100.00	77.67	62.00	48.61	42.55	31.33	13.17	10.75	13.22	7.38	24.08	21.07	73.63	77.67
Mean / Moyenne	62.56	35.10	45.24	37.71	36.58	33.53	12.10	7.33	18.82	10.40	32.11	24.82	-	-
Standard deviation	30.63	23.30	14.02	11.01	8.09	11.50	3.53	3.34	8.64	5.43	15.55	10.86	-	-
Ecart type														
C.V %	48.96	66.38	30.99	29.19	22.11	34.29	29.17	45.56	45.90	52.21	48.42	43.00	-	-

roots, root weight (g), and shoot weight (g) (at 90th day after planting). Tolerance indices were calculated by adopting the formula suggested by Walley *et al.*, (1974) as follows.

$$\text{Tolerance index (T. I.)} = \frac{\text{Mean value of characters under treatment}}{\text{Mean value of characters under control}}$$

Statistical parameters, S. D and C.V % were calculated and correlation analysis done to understand the characters associated with salt tolerance.

RESULTS

In the first batch (Table I), the accessions DD, Mysore Local, Tr-10, S34, MR2 and Surat recorded higher values of survival rates (44.33 to 86.67%) among treatments compared to other accessions. There was a general decrease in the mean values for all the characters among the treated populations as compared to control, but survival % was most affected (35.10% Vs control 62.56%). The C.V % (66.38%) was also highest among treated accessions for survival %.

Table II. Correlation among growth parameters under salinity stress in mulberry genotypes (Batch I).

Tableau II. Corrélation entre les paramètres de croissance de génotypes de mûriers soumis à la salinité (Lot I).

	Survival %	Stem length (cm)	Root length (cm)	Number of roots	Root weight (g)	Shoot weight (g)
	% de survie	Longueur de la tige	Longueur de la racine (cm)	Nombre de racines	Poids de la racine (g)	Poids de la tige (g)
Survival %	1.000	0.280	-0.077	0.800**	0.580*	0.360
% de survie						
Stem length	-	1.000	0.800**	0.430	0.490*	0.650**
Longueur de la tige						
Root length	-		1.000	0.150	0.350	0.610**
Longueur de la racine						
No. of roots	-	-	-	1.000	0.780**	0.580*
No. de racines						
Root weight	-	-	-	-	1.00	0.640**
Poids de la racine						
Shoot weight	-	-	-	-	-	1.000
Poids de la pousse						

d.f for error = 15/ degrés de liberté = 15

Critical values for corr. coef. at 5% = 0.482, at 1% = 0.606 * = Significant ** = Highly significant

Valeurs critiques de coefficient de correction à 5 % = 0,482 à 1 % = 0,606 * = Significatif. ** = Très significatif.

Table III. Screening of mulberry genotypes for salinity tolerance at 90th day (Batch II).

Tableau III. Examen de la tolérance à la salinité de génotypes de mûrier au 90ème jour (Lot II).

	Survival %		Stem length (cm)		Root length (cm)		Number of roots		Root weight (g)		Shoot weight (g)		Tolerance index (Root length)	Tolerance index (survival %)
	Control		Treated		Control		Treated		Control		Treated		Control	
	Témoin		Traité		Témoin		Traité		Témoin		Traité		Témoin	
	% de survie		Longueur de la tige (cm)		Longueur de la racine (cm)		Nombre de racines		Poids de la racine (g)		Poids de la tige (g)		Indice de tolérance (Longueur de la racine)	
1. DD (Resistant check)	76.18	47.61	36.00	40.20	28.00	33.60	7.00	8.20	4.50	8.28	34.60	42.66	120.00	62.49
1. DD (Vérificateur de résistance)														
2. Kajali Local	38.09	23.80	42.62	41.40	34.37	38.20	9.87	8.20	8.25	8.44	37.48	30.24	111.14	62.48
3. Kadaganchi mutant	61.90	14.28	39.00	51.66	30.46	40.66	6.15	6.66	3.24	4.06	17.96	35.73	130.48	23.06
3. Mutant Kadaganchi														
4. Tr-4	38.09	0.00	29.71	-	28.00	-	6.22	-	5.51	-	26.88	-	0.00	0.00
5. Mizusawa	23.80	14.28	40.25	36.00	27.50	37.00	5.25	4.00	5.40	3.20	31.52	26.30	134.54	60.00
6. BC 259	19.04	4.76	32.25	40.00	23.25	24.00	6.50	5.00	3.42	4.40	23.32	40.50	103.22	25.00
7. M 5	95.23	14.28	33.76	48.00	30.76	40.00	8.09	6.50	3.28	12.75	19.36	60.90	130.03	14.99
8. M. multicaulis	38.09	28.56	39.00	36.80	23.16	32.00	5.50	5.80	5.01	5.08	30.83	30.12	138.16	74.98
9. Bilidevalaya	19.04	9.52	68.25	36.50	38.25	15.00	7.25	2.00	5.95	0.15	39.17	10.25	39.21	50.00
10. Cementeno	47.61	38.09	23.44	30.00	27.11	18.33	5.55	5.55	4.23	2.56	27.63	20.05	67.61	80.00
Mean / Moyenne	45.70	19.51	38.37	40.06	29.08	30.97	6.73	5.76	4.87	5.43	28.87	32.97	-	-
S. D / E. T	25.21	14.96	11.89	6.52	4.64	9.58	1.40	1.97	1.53	3.79	7.22	14.49	-	-
C. V %	55.16	76.67	30.98	16.27	15.95	30.93	20.80	34.20	31.41	69.79	25.00	43.94	-	-

The tolerance index (T. I.) values on root length did not record distinct differences between the accessions while, the T.I. values on survival % helped in identifying the salt tolerant accessions. Selected accessions based on the T. I. (survival %) were DD, Mysore Local, Tr-10, S-34, MR2 and Surat which also recorded higher values of root weight and shoot weight. The correlation values (Table II) revealed significant positive correlation between survival % and number of roots, as also between survival % and root weight. The number of roots in turn showed highly significant positive correlations with root weight and shoot weight.

Table IV. Correlation among growth parameters under salinity stress in mulberry genotypes (Batch II).

Tableau IV. Corrélation entre les paramètres de croissance de génotypes de mûrier soumis à la salinité (Lot II).

	Survival %	Stem length	Root length	No. of roots	Root weight	Shoot weight
	% de survie	Longueur de la tige	Longueur de la racine	No. de racines	Poids de la racine	Poids de la tige
Survival % / % de survie	1.000	0.340	0.020	0.560*	0.490*	0.610**
Stem length / Longueur de la tige	-	1.000	0.700**	0.130	0.520*	0.660**
Root length / Longueur de la racine	-	-	1.000	0.640**	0.670**	0.640**
No. of roots / No. de racines	-	-	-	1.000	0.230	0.180
Root weight / Poids de la racine	-	-	-	-	1.000	0.870**
Shoot weight / Poids de la pousse	-	-	-	-	-	1.000

Observations on the second batch (Table III) also revealed that survival % was the most affected (45.70% and 19.51% in treated and control respectively), while the characters stem length, root length and shoot weight indicated that values under treated condition were more compared to control. The C.V % was also highest (76-77%) for survival % similar to the first batch. The T.I. on survival % as a best indicator for salt tolerance screening was substantiated by significant positive correlations between survival % and the number of roots, survival % and root weight and also between survival % and shoot weight (Table IV). The variety Cementeno was selected as a salt tolerant type based on the T.I. (survival %).

DISCUSSION

The DD variety exhibited tolerance to salt while Mizusawa showed susceptibility to salt during first batch screening, and was later included in the second batch screening as resistant and susceptible check varieties respectively. In the second batch, the DD variety showed slightly lower tolerance to salt possibly due to the seasonal effect and uncontrollable factors which also contributed to not so good a survival % among control varieties in general.

Present observations on the survival % being the most affected and the number of roots the least affected among the parameters studied, are in accordance with those of Ramanjulu *et al.*, (1994) who suggested that sprouting was delayed at higher salt concentrations. Shaik and Vivekanandan (1994b) recorded distinct differences between the accessions based on T.I. values on root length. However, in the present study the T.I. values on the survival % helped in identifying the salt tolerant accessions. The ranking of T. I. of root length did not correspond with the ranking of T.I. for survival %. Based on T.I. values of survival %, the truncation point was fixed for the present study at 75% and above, which might help the breeders in identifying salt tolerant accessions. Shaik and Vivekanandan (1994b) also identified Tr-10, Mysore local and MR-2 varieties as salt tolerant as similar to the observations from batch I of the present study.

In the second batch screening, some of the genotypes namely Viswa (DD), BC 259 and M5 rather showed increased stem length, root length, root weight and shoot weight in treatment itself compared to control ones possibly indicating that particular salt concentration (E.C 6.00) brought stimulatory effect in those genotypes.

It could be concluded that based on survival %, effective screening of germplasm accessions could be done for the selection of salt tolerant types.

ACKNOWLEDGEMENT

Help rendered by the colleagues in mulberry breeding and genetics Laboratory is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- DANDIN S.B, RANGANATHA SASTRY K. N. & BONGALE U. D. (1992) Mulberry in watershed development programmes. Indian Silk, 30(11), 4-12.
- RAMANJULU S., VEERANJANEYULU, K. & SUDHAKAR C. (1994) Sprouting and rooting of mulberry *Morus alba* L. var. Mysore local cuttings under NaCl salinity. Ind. J. Seric. 33(1):86-88.
- SHAIK MOHAMED A. S. & VIVEKANANDAN M. (1994a) Evaluation of saline tolerance in mulberry varieties by exploiting rooting potential. Sericologia 34(2) 311-321.
- SHAIK MOHAMED A. S & VIVEKANANDAN M. (1994b) Salinity responses of the triploid mulberry varieties, Ind. J. Seric. 33(1):92-94.
- WALLEY K. A., KHAN M.S.I. & BRADSHAW A. D. (1974) The potential for evolution of heavy metal tolerance in plants 1. copper and 2. zinc tolerance in *Agrostis tenuis*. Heredity, 32: 309-319.

EVALUATION DE GERMOPLASMES DE MURIERS PAR RAPPORT A LA TOLERANCE AU SEL

B. G. PRAKASH*, U. D. BONGALE & S. B. DANDIN

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

Des études en pot ont été menées en deux lots, sur le campus de l'Institut, à Bangalore en 1994-95 dans le but d'évaluer 24 génotypes de mûriers par rapport à la tolérance au sel, dans des conditions de salinité induite, avec une conductivité électrique de 6,00 ds en ajoutant du NaCl. On observe que six génotypes Viswa (DD), Tr-10, S-34, MR-2, Surat, Mysore local et Cementeno sont tolérants au sel, avec 80-90 % de survie. Pour les deux lots, sur six caractères étudiés, la valeur des indices de tolérance (T. I.) par rapport au pourcentage de survie est l'outil le plus adapté pour évaluer les types tolérants au sel, étant donné qu'un point limite fixé à un pourcentage de survie de 75,00 %, révèle une meilleure croissance des génotypes tolérants au sel, ce que confirme l'analyse de corrélation.

INTRODUCTION

En Inde, on estime qu'environ 7 millions d'hectares de terre sont salines. Le mûrier (*Morus* spp.) étant une plante vivace à croissance rapide, on a suggéré qu'il serait utile dans l'occupation des terrains en friche (Dandin et coll., 1992). Cependant, la sélection de génotypes adaptés n'a pas reçu une attention appropriée. L'étude présente a été conçue dans le but d'évaluer des génotypes, en vue de la sélection de types de mûriers à rendement et racinement élevés par rapport à la tolérance au sel, tout comme pour comprendre les paramètres associés à la tolérance au sel.

MATERIELS ET METHODES

L'étude présente a été réalisée au campus principal de l'Institut en 1994-95, en utilisant des pots en terre d'une capacité de 17 kg, avec de la terre rouge; de la fumure de ferme (FYM) : du sable en proportions égales, comme milieu de croissance. Les valeurs de conductivité électrique (E. C.) du milieu de base (1,9 ds comme témoin) ont été élevées à 6,00 ds en ajoutant la quantité nécessaire de NaCl pour le traitement, en trois répétitions. Le niveau critique de E. C. est fixé à 6,0 ds, en s'appuyant sur le rapport de Dhaik et Mohamed (1994a) qui ont signalé que des valeurs E. C. de 50 m m (6,00 d.s) sont fortement toxiques pour le racinement et le bourgeonnement de génotypes de mûrier. Seize et dix exemplaires ont été sélectionnés respectivement pour les lots I et II, en utilisant des coupes fraîches de rameaux âgés de 6 mois, pour les planter à raison de 6 coupes par pot en Septembre-Novembre 1994 (Lot I) et Février-Avril 1995 (Lot II). L'irrigation est pratiquée en jours alternés, sans permettre la filtration, pour maintenir l'humidité du sol de manière uniforme en-dessous de la capacité du champ. Les observations sont enregistrées, au point final biologique, pour les paramètres sélectionnés c'est à dire le pourcentage de bourgeonnement (au 30ème jour après la plantation), le pourcentage de survie (au 60ème jour après la plantation), la longueur de la pousse (cm), la longueur de la racine (cm), le nombre de racines, le poids des racines (g), et le poids de la

* Adresse actuelle : Regional Research Station of the UAS, Konechally, TIPTUR 572 202, Inde.

pousse (g) (au 90ème jour après la plantation). Les indices de tolérance sont calculés en adoptant la formule suggérée par Alley et coll., (1974), comme suit:

$$\text{Indice de tolérance (T. I.)} = \frac{\text{Valeur moyenne des caractères sous traitement}}{\text{Valeur moyenne des caractères témoins}}$$

Les paramètres statistiques Ecart type et coefficient de variation sont calculés et on procède à l'analyse de corrélation pour comprendre les caractères associés à la tolérance au sel.

RESULTATS

Dans le premier lot (Tableau I), les exemplaires DD, Mysore Local, Tr-10, S34, MR2 et Surat enregistrent des taux de survie plus élevés (44,33 à 86,67 %) parmi les traitements par rapport aux autres exemplaires. Il y a une baisse générale des valeurs moyennes pour tous les caractères parmi les populations traitées par comparaison au témoin, mais le pourcentage de survie est le plus touché (35,10 % contre 62,56 % pour le témoin). Le coefficient de variation (66,38 %) est aussi le plus élevé parmi les exemplaires traités par rapport au % de survie.

Les valeurs de l'indice de tolérance (T. I.) pour la longueur de la racine ne donnent pas de différences entre les exemplaires tandis que les valeurs de T.I. pour le % de survie permettent d'identifier les exemplaires tolérants au sel. Les exemplaires sélectionnés sur la base du T.I. (% de survie) sont DD, Mysore local, Tr-10, S-34, MR2 et Surat qui donnent aussi des valeurs plus élevées pour le poids de la racine et le poids de la pousse. Les valeurs de corrélation (Tableau II) révèlent une corrélation positive significative entre le pourcentage de survie et le nombre de racines et aussi entre le pourcentage de survie et le poids de la racine. Le nombre de racines à son tour présente des corrélations positives fortement significatives avec le poids de la racine et le poids de la pousse.

Les observations sur le second lot (Tableau III) révèlent aussi que le pourcentage de survie est le plus touché (45,70 % et 19,51 % pour les traitements et le témoin respectivement), tandis que les caractères longueur de pousse, longueur de racine et poids de la pousse ont des valeurs supérieures avec les traitements comparées au témoin. Le coefficient de variation est aussi plus élevé (76-77 %) pour le pourcentage de survie, comme pour le premier lot. Le T.I. à partir du pourcentage de survie est le meilleur indicateur de l'évaluation de la tolérance au sel, comme le prouvent les corrélations positives significatives entre le pourcentage de survie et le nombre de racines, entre le pourcentage de survie et le poids de la racine et aussi entre le pourcentage de survie et le poids de la pousse (Tableau IV). La variété Cementeno a été sélectionnée comme un exemplaire tolérant au sel sur la base du T. I. (pourcentage de survie).

DISCUSSION

La variété DD présente une tolérance au sel tandis que Mizusawa montre une sensibilité au sel pendant l'évaluation du premier lot ; elles ont été incluses dans l'évaluation du deuxième lot en tant que variétés de contrôle respectivement de résistance et de sensibilité. Dans le second lot, la variété DD présente une tolérance au sel légèrement inférieure, sûrement due à l'effet saisonnier et à des facteurs incontrôlables qui ont aussi entraîné un taux de survie inférieur parmi les variétés témoins en général.

Les observations actuelles sur le fait que le pourcentage de survie est le caractère le plus affecté et le nombre de racines le moins affecté, parmi les paramètres étudiés, sont en accord avec celles de Ramanjulu et coll., (1994) qui ont suggéré que le bourgeonnement est retardé à des concentrations en sel plus élevées. Shaik et Vivekanandan (1994b) ont enregistré des différences entre les exemplaires sur la base des valeurs de T. I. pour la longueur des racines. Cependant, dans l'étude actuelle, les valeurs de T. I. pour le % de survie ont permis d'identifier les exemplaires tolérants au sel. Le

classement du T. I. pour la longueur de la racine ne correspond pas au T. I. pour le pourcentage de survie. Sur la base des valeurs de T. I. pour le % de survie, le point limite a été fixé à plus de 75 % et au-dessus pour l'étude actuelle, ce qui pourrait aider les éleveurs à identifier les exemplaires tolérants au sel. Shaik et Vivekanandan (1994b) ont aussi identifié les variétés Tr-10, Mysore local et MR-2 comme tolérantes au sel, ce qui est semblable aux observations pour le lot I dans l'étude actuelle.

Dans l'évaluation du second lot, certains génotypes tels que Viswa (DD), BC 259 et M5 présentent des longueurs de pousses, des longueurs de racines, des poids de racines et des poids de pousses plutôt plus élevés avec le traitement par rapport aux témoins, ce qui indique sûrement que cette concentration particulière de sel (E. C. 6,00) a des effets stimulants sur ces génotypes.

On peut conclure qu'une évaluation efficace des germoplasmes pourrait être faite, sur la base du pourcentage de survie, pour la sélection d'exemplaires tolérants au sel.

ORIENTATION OF COCOONING IN THE SILKWORM *BOMBYX MORI* L. IN THE GRAVITATIONAL FIELD

V. M. LITVIN

Institute of Sericulture, Ukrainian Academy of Agrarian Sciences,
Merefa 312060 Kharkov Region, Ukraine.

Three types of orientation of cocooning (vertical, horizontal and intermediate) relative to the gravitational force have been studied. For B₂ race vertical orientation cocoons constituted the largest share (56.5 per cent in average) of cocoons. The share of horizontal orientation cocoons appeared to be very less (13.3 per cent in average). The rest of the cocoons had intermediate orientation. The highest cocoon characteristics such as cocoon and shell weight have been recorded for females of B₂ race and P29 clone with the vertical orientation.

Keywords: Gravitational field, orientation of cocooning, cocoon weight, shell weight, silk ratio, *Bombyx mori* L.

INTRODUCTION

The gravitational force of the earth is an important environmental factor for the silkworm *Bombyx mori* L. It is proved by the fact that larvae ready for cocooning go up to the mountages when placed over the mature worms and after finishing the cocooning pupa usually takes the position of head up condition (Mikhailov *et al.*, 1958; Seiji Hori *et al.*, 1990). However, no information is available on the study of orientation of cocooning relative to the gravitational force vector. In the present study the author has studied different types of orientation of cocooning in the gravitational field and their characteristics.

MATERIALS AND METHODS

The plastic mountages consisting of vertical plates of $14.5 \times 30 \text{ cm}^2$ in size with the needles at the angle of $38-45^\circ$ for formation of the cells were used for cocooning (Fig. 1). Before taking the cocoons from the mountages the angle of the deviation of the longitudinal axis of the cocoon from the vertical was measured using a protractor. In accordance with this angle the cocoons were attributed to one of the three types of orientation relative to the gravitational vector (vertical, horizontal, and intermediate, Fig. 2). Moreover, the position of the upper pole of each cocoon was marked in order to determine the direction of the pupa head (up or down) after cocoon cutting.

The cocooning room was kept dark to prevent the photo-orientation of the larvae. Three replications of 150 larvae/replication of the race and clone were utilised. The experiment was repeated three times during 1997. The various parameters namely cocoon and shell weight, silk ratio, diameter and length of the cocoon, and their ratio were studied. For the assessment of these cocoon parameters 50 cocoons of each type of orientation were considered.

RESULTS AND DISCUSSION

The distribution of cocoons by ability to orient oneself in the gravitational field was not homogeneous. The largest share of cocoons (56.6 per cent for females and 56.4 per cent for males) was achieved in vertically orientated cocoons (Table I). The share of horizontally orientated cocoons was 13.6 per cent for females and 12.9 per cent for males. The share of cocoons of intermediate orientation for females and males was 31.8 and 30.7 per cent respectively. The statistical difference between all above mentioned cocoon shares was significant (Table II).

Table I. Effect of orientation of cocooning in the gravitational field on parameters of cocoons of silkworm *Bombyx mori* L.

Tableau I. Effet de l'orientation du coconage dans le champ gravitationnel sur les paramètres des cocons du ver à soie, Bombyx mori L.

Type of orientation of cocooning	Cocoon share (%)	Cocoon length (mm) l	Cocoon diameter (mm) d	l/d	Cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (g)	Silk ratio (%)
Type d'orientation du coconage	Proportion de cocons (%)	Longueur du cocon (mm) l	Diamètre du cocon (mm) d	l/d	Poids du cocon (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse (%)
Female B ₂ / Femelle B ₂							
Vertical (↑)	56.6 ≈	32.855	18.700	1.766	1.901	0.319	16.834
Horizontal (→)	13.6	32.433	18.471	1.765	1.783	0.297	16.714
Intermediate (↗)	31.8 ≈	32.655	18.200	1.802	1.818	0.309	16.985
Male B ₂ / Mâle B ₂							
Vertical (↑)	56.4	32.358	17.931	1.811	1.513	0.319	21.086
Horizontal (→)	12.9	32.590	17.716	1.833	1.527	0.313	20.484
Intermediate (↗)	30.7	31.863	17.877	1.786	1.499	0.308	20.634
Clone P 29							
Vertical (↑)	41.5	32.325	18.290	1.770	1.631	0.223	13.621
Horizontal (→)	12.8	31.678	17.941	1.770	1.540	0.207	13.364
Intermediate (↗)	45.8	31.634	17.990	1.772	1.530	0.203	13.190

≈ Values are significant at 1% level according to χ^2 - criteria / Les valeurs sont significatives à un seuil de 1% selon le critère χ^2 .

l/d: ratio cocoon length/cocoon diameter / rapport longueur du cocon/ diamètre du cocon.

Table II. Relative cocoon parameters as calculated in accordance with Table I.

Tableau II. Paramètres relatifs au cocon calculés en accord avec le Tableau I.

Variant of orientation correlation	Relative cocoon parameters / Paramètres relatifs au cocon						
	Cocoon share	Cocoon length, l	Cocoon diameter, d	l/d	Cocoon weight	Cocoon shell weight	Silk ratio
Variable d'orientation corrélation	Proportion de cocons	Longueur du cocon, l	Diamètre du cocon, d	l/d	Poids du cocon	Poids de la coque	Richesse soyeuse
Female B ₂ / Femelle B ₂							
↑/→	4.612 ≈	1.013	1.012	1.000	1.066*	1.074*	1.007
↑/↗	1.780 ≈	1.006	1.028	0.980	1.046*	1.032	0.991
↗/→	2.338 ≈	1.007	0.985	1.021	1.020	1.042	1.017
Male B ₂ / Mâle B ₂							
↑/→	4.372 ≈	0.993	1.012	0.988	0.991	1.018	1.029
↑/↗	1.837 ≈	1.016	0.003	1.014	1.009	1.035	1.035
↗/→	2.380 ≈	0.978	1.009	0.975	0.982	0.985	1.007
Clone P29							
↑/→	3.242 ≈	1.020	1.020	1.000	1.059*	1.077*	1.019
↑/↗	0.906	1.022	1.017	0.999	1.066**	1.099**	1.033
↗/→	3.578 ≈	0.999	1.003	1.001	0.994	0.981	0.987

** Values are significant at 1% level according to t- criteria / Les valeurs sont significatives à un seuil de 1 % selon le test t.

* Values are significant at 5% level according to t-criteria. / Les valeurs sont significatives au seuil de 5 % selon le test t.

≈ Values are significant at 1% level according to χ^2 - criteria. / Les valeurs sont significatives à un seuil de 1 % selon le test χ^2 .

The remaining values are not significant / Les valeurs restantes ne sont pas significatives

l.d: ratio cocoon length/cocoon diameter/ rapport longueur du cocon/ diamètre du cocon

Other correlations between share of cocoons of these orientation types were obtained for clone P29 which consists of females only (Table I). In this case the share of the vertical, horizontal and intermediate orientation observed was 41.5, 12.8 and 45.8 per cent, respectively. The statistical difference between the shares of cocoons with vertical and horizontal orientation was significant as well, and this was the case for the shares of cocoons with intermediary and horizontal orientation, while the statistical difference between the shares of cocoons with vertical and intermediary orientation was non-significant (Table II). As Table I shows, the share of vertical cocoons for B₂ race females is higher by 15.1 per cent as compared with P29 clone with a high confidence level while the

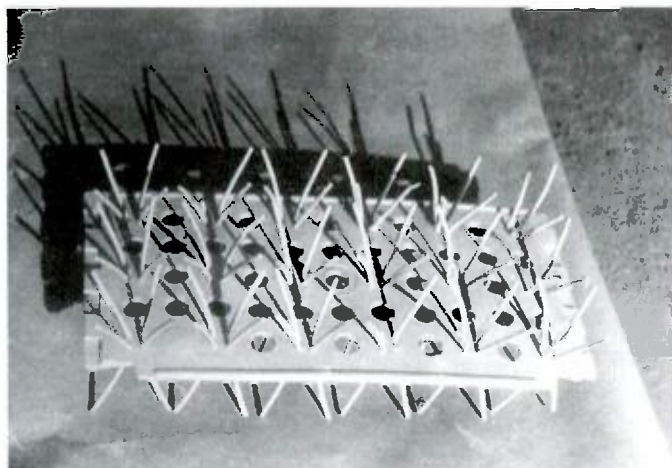


Fig. 1. Plastic mountage.

Fig. 1. Encubage en plastique.

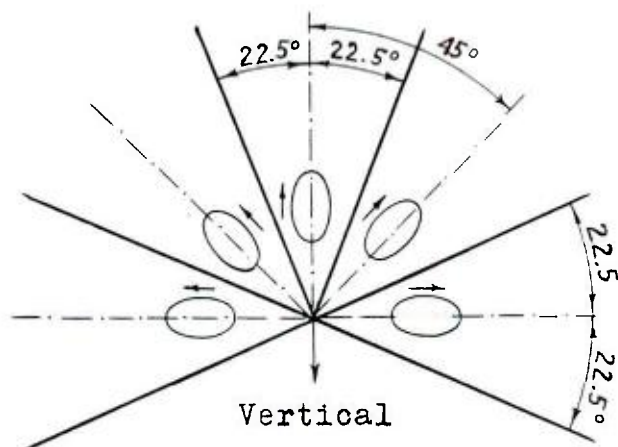


Fig. 2. Variation in the angle of the deviation of the longitudinal axis of the cocoon from the vertical for the vertical (↑), horizontal (→) and intermediate (↗).

Fig. 2. Variation de l'angle de déviation de l'axe longitudinal du cocon par rapport à la verticale pour les verticaux (↑), les horizontaux (→) et les intermédiaires (↗)

share of cocoons with intermediary orientation is, on the contrary, less by 14.0 per cent with a high confidence level. The difference between the shares of horizontal cocoons for them is non-significant.

The cocoon parameters such as cocoon and shell weight, silk ratio, length and diameter of the cocoon depended on the type of the orientation relative to the gravitational vector (Table I, II). The parameters of the cocoons of the vertical orientation for female B₂ and P29 had an advantage as compared with the horizontal orientation. The maximum difference (7.4 - 7.7 per cent) was recorded for the shell weight of cocoon. The advantage of the vertical orientation as compared with the intermediate orientation for this species was observed as well. In this case the highest effect (9.9 per cent) significant at 1% level was observed for the shell weight in P29 clone. Thorough differences in the cocoon parameters were not observed for intermediate and horizontal orientations for the silkworm used in the present work.

No thorough difference was observed for B₂ male cocoons for any of the parameters studied when comparing all the variants of orientation. Tendency towards increasing of all cocoon parameters for the vertical cocoons as compared to intermediate cocoons, however, was observed (Table II).

In individuals, with vertical and intermediate orientations of cocoons the pupa was oriented head up for 100 per cent of females B₂, 98.7 per cent of the males and 99.6 per cent of the female P29 clone. Thus during the cocooning stage the larvae controls the direction of the gravity from the beginning of motion upwards the mountage till the completion of the cocooning.

CONCLUSIONS

The results obtained here demonstrate the dependence of the cocoon parameters such as at least cocoon and shell weight on the type of the cocoon orientation in the gravitational field. Also, when in the gravitational field, selection of caterpillar takes place in accordance to which each type of species chooses an optimum energy position relative to the above mentioned field prior to cocooning. This information must be taken into consideration when making artificial mountages.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to thank Prof. V. G. Shakhbazov for both possibility granted to carry out this experiment and discussion of the results thereof, Prof. V. V. Klimenko for P29 clone eggs received from him.

REFERENCES

- MIKHAILOV E. N., GERCHENZON C. M. (1958) Biology of the mulberry and oak eggar moths., 206 pp, State publishing house of agricultural letters, Moscow (in Russian).
SEIJI HORI, ISAMU SHIMIZU (1990) Geo-orientation and photo-orientation behaviour of *Bombyx mori* L. at termination of cocoon construction. Appl. Ent. Zool. 25(2), 177-186.

ORIENTATION DU COCONAGE DU VER A SOIE *BOMBYX MORI* L., DANS LE CHAMP GRAVITATIONNEL

V. M. LITVIN

Institute of Sericulture, Ukrainian Academy of Agrarian Sciences,
Merefa 312060 Region de Kharkov, Ukraine.

Trois types d'orientation du coconage (vertical, horizontal et intermédiaire) ont été étudiés par rapport à la force de gravité. Pour la race B₂, les cocons d'orientation verticale représentent la plus grande partie (56,5 pour cent en moyenne) des cocons. La part des cocons d'orientation horizontale apparaît bien moindre (13,3 pour cent en moyenne). Le reste des cocons a une orientation intermédiaire. Les caractéristiques des cocons telles que poids du cocon et de la coque les plus élevées sont enregistrées chez les femelles de la race B₂ et chez le clone P29 à orientation verticale.

INTRODUCTION

La force de gravité terrestre est un facteur environnemental important pour le ver à soie *Bombyx mori* L. Cela est prouvé par le fait que les larves prêtes au coconage montent aux encabanages quand elles sont placées sur les vers matures et qu'après la fin du coconage la chrysalide se positionne en général la tête en haut (Mikhailov et coll., 1958 ; Seiji Hori et coll., 1990). Cependant, aucune information n'est disponible sur l'étude de l'orientation du coconage par rapport au vecteur de la force gravitationnelle. Dans l'étude actuelle, l'auteur a étudié les différents types d'orientation du coconage dans le champ gravitationnel et leurs caractéristiques.

MATERIELS ET METHODES

Des encabanages en plastique constitués de planches verticales d'une taille de 14,5 × 30 cm² avec des aiguilles à un angle de 38-45 ° pour la formation des cellules sont utilisés pour le coconage (Fig. 1). Avant d'enlever les cocons des encabanages, on mesure avec un rapporteur l'angle de déviation de l'axe longitudinal du cocon par rapport à la verticale. En fonction de cet angle, les cocons sont répartis entre l'un des trois types d'orientations par rapport au vecteur gravitationnel (vertical, horizontal et intermédiaire, Fig. 2). De plus, la position du pôle supérieur de chaque cocon est marquée afin de déterminer la direction de la tête de la chrysalide (en haut ou en bas) après l'ouverture du cocon.

La pièce de coconage est maintenue dans l'obscurité afin d'éviter la photo-orientation des larves. Trois répétitions de 150 larves de la race et du clone sont utilisées. L'expérience a été répétée trois fois pendant l'année 1997. Les différents paramètres comme le poids du cocon et de la coque, la richesse soyeuse, le diamètre et la longueur du cocon et leur proportion sont étudiés. Pour l'évaluation de ces paramètres du cocon, 50 cocons de chaque type d'orientation sont pris en considération.

RESULTATS ET DISCUSSION

La distribution des cocons selon la capacité d'orientation dans le champ gravitationnel n'est pas homogène. La plus grande partie de cocons de la race B₂ (56,6 pour cent des femelles et 56,4 pour

cent des mâles) est obtenue avec l'orientation verticale (Tableau I). La part de cocons d'orientation horizontale est de 13,6 pour cent pour les femelles et de 12,9 pour cent pour les mâles. La part des cocons d'orientation intermédiaire est respectivement de 31,8 et 30,7 % pour les femelles et les mâles. La différence statistique entre les pourcentages de cocons mentionnés plus haut est significative (Tableau II).

D'autres corrélations sont obtenues pour le clone P29 qui n'est constitué que de femelles concernant la répartition des cocons pour ces types d'orientation (Tableau I). Dans ce cas, la proportion d'orientation verticale, horizontale et intermédiaire observée est respectivement de 41,5, 12,8 et 45,8 %. La différence statistique entre les proportions de cocons d'orientation verticale et horizontale est aussi significative, et cela est le cas pour les proportions de cocons avec des orientations intermédiaire et horizontale, tandis que la différence statistique entre les proportions de cocons d'orientations verticale et intermédiaire n'est pas significative (Tableau II). Comme le montre le tableau I, la proportion de cocons verticaux pour les femelles de la race B₂ est plus élevée de 15,1 pour cent par rapport au clone P29 avec un intervalle de confiance élevé tandis que la proportion de cocons d'orientation intermédiaire est, au contraire, inférieure de 14 % avec un intervalle de confiance élevé. La différence entre les pourcentages de cocons horizontaux n'est pas significative.

Les paramètres du cocon tels que le poids du cocon et de la coque, la richesse soyeuse, la longueur et le diamètre du cocon dépendent du type d'orientation par rapport au vecteur gravitationnel (Tableaux I, II). Les paramètres des cocons d'orientation verticale pour les femelles B₂ et P29 sont plus élevés par rapport à ceux des cocons à orientation horizontale. La différence maximale (7,4 - 7,7 pour cent) est enregistrée pour le poids de la coque soyeuse. On observe également que l'orientation verticale est préférable à l'orientation intermédiaire. On observe l'effet le plus élevé (9,9 pour cent), significatif à un seuil de 1 %, pour le poids de la coque chez le clone P29. On n'observe pas de différences importantes des paramètres des cocons entre les orientations intermédiaire et horizontale pour les vers à soie utilisés dans l'étude présente.

Aucune différence importante des paramètres étudiés n'est observée pour les cocons mâles de B₂ lorsqu'on les compare avec les autres variantes d'orientation. On observe, cependant, une tendance à la hausse de tous les paramètres des cocons pour les cocons verticaux par rapport aux cocons intermédiaires (Tableau III).

Chez les individus avec des cocons d'orientation verticale et intermédiaire, la chrysalide est orientée la tête en haut chez 100 pour cent des femelles B₂, chez 98,7 pour cent des mâles B₂ et chez 99,6 pour cent du clone P29 femelle.

Ainsi, pendant le stade de coconage la larve contrôle la direction de gravité du début du mouvement vers le haut de l'encabanage jusqu'à la fin du coconage.

CONCLUSIONS

Les résultats obtenus ici prouvent que les paramètres des cocons tels que, du moins le poids du cocon et de la coque, dépendent du type d'orientation du cocon dans le champ gravitationnel. De plus, dans le champ gravitationnel, une sélection de la chenille a lieu selon laquelle chaque type de variété choisit une position d'énergie optimale par rapport au champ mentionné ci-dessus avant le coconage. Cette information doit être prise en compte lors de la réalisation d'encabanages artificiels.

SEASONAL VARIATIONS IN THE CARBOHYDRATE CONTENT DURING DIFFERENT LARVAL STAGES OF TASAR SILKWORM, *ANTHERAEA MYLITTA* DRURY

U. S. P. SINHA, A. K. SINHA, B. N. BRAHMACHARI & S. S. SINHA

Central Tasar Research & Training Institute, P. O. Piska Nagri, Dist. Ranchi 835303, State- Bihar (India).

*Carbohydrate functions as a major source of energy in insects. Biochemical studies of larval haemolymph of *Antheraea mylitta* Drury with respect to total carbohydrate content revealed that the carbohydrate content in the haemolymph increases considerably during the larval development and reaches its peak in the late fifth instar larvae. Besides it was also found that the change in season, year and stage of larvae and their interactions also influence significantly the carbohydrate content in the larval haemolymph of *A. mylitta*.*

Keywords: Carbohydrate, *Antheraea mylitta*, seasonal variations.

Out of four developmental stages in the tasar silkworm, *Antheraea mylitta* Drury, the larval stage is of great importance as this is the only feeding stage and most of the biochemical studies have been conducted at this stage. The larval haemolymph of this insect has been analysed with respect to proteins (Sinha *et al.*, 1985), uric acid (Griyaghey *et al.*, 1987), free amino acids (Sinha *et al.*, 1988) and phosphorus compounds (Sinha *et al.*, 1991). Carbohydrates function as a major source of energy in insects. However, no work has so far reportedly been done on the seasonal variations in the carbohydrate content in the haemolymph of this insect. The present communication gives an account of the seasonal variations in the carbohydrate content during different larval stages of the tasar silkworm *A. mylitta*.

MATERIALS AND METHODS

Hatched larvae from the eggs of healthy moths of *A. mylitta* were reared on *Terminalia arjuna* in the experimental field of Central Tasar Research and Training Institute, Nagri, Ranchi during two rearing seasons i.e. July-August and September-November for two consecutive years. Larval haemolymphs during III, IV & V instars were collected separately. One ml. of haemolymph was taken for the analysis at each stage.

Proteins were precipitated from the haemolymph (1 ml) by the addition of trichloro acetic acid (9 ml., 6% W/V). The contents were well mixed and kept refrigerated for about ten minutes. The residue was separated by centrifugation and subsequently washed with trichloro acetic acid (1 ml.). The supernatant and washings were combined together and used for estimating carbohydrates by the method of Trevelyan and Harrison (1952). The application of standard rules for the computation of sum of squares in the analysis of variance (by constructing two way tables of totals for two-factor interactions, three way table of totals for three factor interactions) has been followed.

RESULTS AND DISCUSSION

Table I shows the mean values of total carbohydrates in six samples in the larval haemolymph of *A. mylitta* during different instars, seasons and years. Results indicate that the carbohydrates content in the haemolymph increases considerably during the larval development and reaches its maximum in the late fifth instar larvae during both the years and seasons. The carbohydrates are among the largest and most important classes of naturally occurring organic substances. They are widely spread in plants (Chatwal, 1985). As the fifth instar larvae consume the maximum quantity (80% of total consumption) of leaf (Jolly *et al.*, 1974), the highest concentration of carbohydrates has been found in the haemolymph of late fifth instar larvae.

Table I. Mean values of total carbohydrates (mg/ml) in the larval haemolymph of *A. mylitta* during different instars, seasons and years.

Tableau I. Valeur moyenne de la totalité des hydrates de carbone (mg/ml) dans l'hémolymphé larvaire chez A. mylitta pendant différents âges, saisons et années.

Sl No.	Larval stage <i>Age larvaire</i>	1st year		2nd year	
		Season I	Season II	Season I	Season II
		<i>1ère année</i>		<i>2ème année</i>	
		<i>Saison I</i>	<i>Saison II</i>	<i>Saison I</i>	<i>Saison II</i>
1.	Third instar / <i>Troisième âge</i>	9.40	10.00	9.00	9.20
2.	Fourth instar / <i>Quatrième âge</i>	11.20	11.70	9.90	10.20
3.	Fifth instar early (2 days after fourth moult) <i>Début cinquième âge (deux jours après la mue)</i>	13.00	15.30	11.50	10.90
4.	Fifth instar middle (8 days after fourth moult) <i>Milieu du 5ème âge (8 jours après la mue)</i>	17.50	18.20	13.50	14.20
5.	Fifth instar late (14 days after fourth moult) <i>Fin du 5ème âge (14 jours après la mue)</i>	18.20	20.50	21.80	22.50

N. B. Each value represents the mean of six replications / *Chaque valeur représente la moyenne de six répétitions.*

Table II represents ANOVA for the observations under study. The table shows a single and comprehensive statistical analysis comprising three main factors i.e., years, seasons and stages of silkworm larvae and its interaction effects using the randomised complete block design of experiment. It is evident from the table that all the three main effects (stage of the larvae, season and year) and their four interaction effects (stage × season, stage × year, season × year and stage × season × year) are highly significant and each of them differ significantly from one another.

Table II. Analysis of variance (ANOVA) of total carbohydrates in the larval haemolymph of *A. mylitta* during different instars, seasons, years and their interactions.

*Tableau II. Analyse de variance (ANOVA) des hydrates de carbone totaux dans l'hémolymph de *A. mylitta* à différents âges, saisons et années et leurs interactions.*

Source of variation	D.F	S. S.	M.S.S	Computed F	S.E. (Mean) ±	C. D. (5%)
<i>Source de variation</i>				<i>Calcul de F</i>	<i>E. T. (moyenne) ±</i>	<i>D. C. (5%)</i>
Replication / Répétition	5	1.57	0.31	-	-	-
Treatments / Traitements	19	2226.15	117.17	5858.50***	0.050	0.137
Stage (S) / Age (S)	4	1975.53	493.88	24964.00***	0.041	0.081
Season (s) / Saison (s)	1	17.78	17.78	889.00***	0.026	0.051
Year (Y) / Année (Y)	1	45.38	45.38	2269.00***	0.026	0.051
S × s	4	4.91	1.23	61.50***	0.058	0.114
S × Y	4	163.79	40.95	2047.50***	0.058	0.114
s × Y	1	7.81	7.81	390.50***	0.037	0.072
S × s × Y	4	10.95	2.74	137.0***	0.082	0.162
Error / Erreur	95	1.57	0.02	-	-	-

*** Significant at $P \leq 0.001$ / *Significatif à $P \leq 0.001$* . **DF**: Degree of freedom / Degré de liberté. **S.S.**: Sum of squares / Somme des carrés. **M.S.S.**: Mean of sum squares / Moyenne de la somme des carrés.

Thus from the present study, it is inferred that the change in season, year and stage of larvae and their interactions significantly influence the carbohydrate content in the haemolymph of different instars of tasar silkworm *A. mylitta*.

REFERENCES

- CHATWAL R. G. (1985) Organic chemistry of natural products. Vol. I, 2nd edition, Himalaya Publishing House, Bombay.
- GRIYAGHEY U. P., SENGUPTA K., KUMAR P., MURTI R., SINHA A. K. & SINHA U. S. P. (1987) Studies on the effectiveness of Bengard in controlling the microsporidian disease of *Antheraea mylitta* D. *Sericologia*, 27(3): 533-540.
- JOLLY M.S., SEN S. K. & AHSAN M. M. (1974) *Tasar culture*, Ambika publishers, Bombay.

- SINHA A. K., CHAUDHURY S. K. & SENGUPTA K. (1985) Changes in protein content in the larval and pupal haemolymph of *Antheraea mylitta* D. *Sericologia*, 25(1): 39-43.
- SINHA, A. K., CHAUDHURY S. K. & SENGUPTA K. (1988) Changes in free amino acids in the larval and pupal haemolymph of *Antheraea mylitta* Drury reared on *Terminalia arjuna* and *Terminalia tomentosa* A. and W. *Indian J. Seric.*, 27(2), 95-108.
- SINHA U. S. P., SINHA A. K., SINHA S. S. & SENGUPTA K. (1991) Changes in phosphorus compounds in the haemolymph of healthy and pebrine infected larvae and pupae of tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D., *Indian J. Seric.*, 30(1): 75-77.
- TREVELYAN W. E. & HARRISON J. S. (1952) Studies on yeast metabolism. Fractionation and micro determination of cell carbohydrates. *Biochem. J.*, 50: 298-303.

VARIATIONS SAISONNIERES DE LA TENEUR EN HYDRATES DE CARBONE CHEZ LE VER A SOIE TASAR *ANTHERAEA MYLITTA* DRURY AU COURS DES DIFFERENTS STADES LARVAIRES

U. S. P. SINHA, A. K. SINHA, B. N. BRAHMACHARI & S. S. SINHA

Central Tasar Research & Training Institute, P. O. Piska Nagri, Dist. Ranchi 835303, Etat de Bihar (Inde).

*Les hydrates de carbone sont une source principale d'énergie chez les insectes. Des études biochimiques de l'hémolymph larvaire d'*Antheraea mylitta* Drury révèlent que la teneur en hydrates de carbone augmente de manière considérable pendant le développement larvaire et atteint son pic chez la larve à la fin du cinquième âge. De plus, on observe que le changement de saison, d'année et de stade larvaire et leurs interactions influencent aussi de manière significative la teneur en hydrate de carbone dans l'hémolymph larvaire de *A. mylitta*.*

Parmi les quatre étapes de développement chez le ver à soie tasar, *Antheraea mylitta* Drury, le stade larvaire est d'une grande importance car c'est le seul stade d'alimentation et la plupart des études biochimiques ont été entreprises pour ce stade. L'hémolymph larvaire de cet insecte a été analysée par rapport aux protéines (Sinha et coll., 1985), à l'acide urique (Griyaghey et coll., 1987), aux acides aminés libres (Sinha et coll., 1988) et aux composés phosphorés (Sinha et coll., 1991).

Les hydrates de carbone sont une source principale d'énergie chez les insectes. Cependant, aucun travail n'a jusqu'à présent été mené sur les variations saisonnières de la teneur en hydrates de carbone dans l'hémolymph de cet insecte. Le présent rapport présente un compte-rendu sur les variations saisonnières de la teneur en hydrates de carbone pendant les différents stades larvaires du ver à soie tasar *A. mylitta*.

MATERIELS ET METHODES

Les larves écloses provenant des oeufs de papillons sains de *A. mylitta* ont été élevées sur *Terminalia arjuna* dans le champ d'expérimentation du *Central Tasar Research and Training Institute*, Nagri, Ranchi pendant deux saisons d'élevage soit Juillet-Août et Septembre-Novembre au cours de deux années consécutives. Les hémolymphes larvaires pendant les 3ème, 4ème et 5ème âges sont recueillies séparément. Un ml d'hémolymph est prélevé pour l'analyse à chaque stade.

Les protéines de l'hémolymph sont précipitées (1 ml) par l'addition d'acide trichloro acétique (9 ml, 6% P/V). Le contenu est bien mélangé et réfrigéré pendant environ dix minutes. Le résidu est séparé par centrifugation, puis lavé avec de l'acide trichloro acétique (1 ml.). Le surnageant et les lavages sont mélangés et utilisés pour estimer les hydrates de carbone par la méthode de Trevelyan et Harrison (1952). L'application des règles standard de calcul de la somme des carrés pour l'analyse des variances (en concevant des tableaux à deux entrées des totaux pour des interactions à deux facteurs, des tableaux à trois entrées des totaux pour des interactions de trois facteurs) est suivie.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le tableau I présente les valeurs moyennes en hydrates de carbone totaux pour six échantillons dans l'hémolymph larvaire de *A. mylitta* pendant des âges, des saisons et des années différents. Les résultats indiquent que la teneur en hydrates de carbone de l'hémolymph augmente de manière considérable pendant le développement larvaire et atteint son maximum chez la larve à la fin du cinquième âge quelles que soient les années et les saisons. Les hydrates de carbone appartiennent aux plus grandes et aux plus importantes classes de substances organiques produites naturellement. Ils sont largement répandus chez les plantes (Chatwal, 1985). Comme les larves du cinquième âge consomment la plus grande quantité (80 % de la consommation totale) de feuilles (Jolly et coll., 1974), on observe la concentration la plus élevée en hydrates de carbone dans l'hémolymph des larves du cinquième âge.

Le tableau II représente l'ANOVA pour les observations de l'étude. Le tableau présente une analyse statistique individuelle et globale comprenant trois facteurs principaux soient les années, les saisons et les âges des larves de vers à soie et les effets d'interaction, en utilisant la méthode d'expérimentation par analyse aléatoire en blocs. Il est évident d'après le tableau que trois variables principales (âge larvaire, saison et année) et quatre interactions (âge $\times$ saison, âge $\times$ année, saison $\times$ année et âge $\times$ saison $\times$ année) ont un effet fortement significatif et chacun d'eux diffère l'un de l'autre de manière significative.

Ainsi, d'après l'étude actuelle on peut déduire que le changement de saison, d'année et de stade larvaire et leurs interactions influencent de manière significative la teneur en hydrates de carbone dans l'hémolymph des différents âges du ver à soie tassar *A. Mylitta*.

OBSERVATIONS ON DEVELOPMENT OF MULBERRY GALL MIDGE, *DIPLOSIS MORICOLA* AND ITS OCCURRENCE FORECAST

MINGER ZHEN

Sericultural Research Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, 198 Shiqiao Road, Hangzhou 310021, P. R. China.

Generation development of the mulberry gall midge (Diplosis moricola Matsumura) was observed in the laboratory. Threshold temperature and thermal constant calculated with the method of the thermal sums were $13.3 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ and $238 \pm 9.8^{\circ}\text{C day-degrees}$, respectively, and there were about 7 generations of gall midge in the region of west Hangzhou. The calculated generation number and occurrence time basically coincided with actual ones in the field.

Keywords: Mulberry gall midge, threshold temperature, thermal constant, number of generations, occurrence time.

INTRODUCTION

Mulberry gall midge, *Diplosis moricola* Matsumura (Diptera: Cecidomyiidae) is one of the main insect pests which damages the buds of mulberry. It was listed as an important pest as early as 1916 in Japan and now is also dominant in some other Asian countries. In China, the pest is distributed in the Guangdong, Sichuan, Shangdong, Jiangsu, Zhejiang and Anhui provinces and often has an outbreak which spreads quickly, resulting in destructive damages to mulberry. It is known that mature larvae of the gall midge overwinter in soil less than 10 cm deep, adults emerge from the soil and mated next year, eggs are laid on buds, and larvae damage the buds and pupate in soil after maturity. However, there is little concern with the biology and ecology of the mulberry gall midge. The author attempted to make an observation on growth and development of the pest, on the threshold temperature and thermal constant and on giving a forecast for its occurrence stage to help control the pest.

MATERIALS AND METHODS

1. The insect:

Mulberry buds with gall midge were collected in the fields in Linan, Fuyang, Tonglu and Chauan counties and brought to the laboratory in the Sericultural Research Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, in Hangzhou.

2. Observation:

The mature larvae were isolated from the mulberry buds and put into test tubes which were filled with moist soil in advance, 100 larvae in each tube and 5 to 10 tubes for each temperature. After eclosion, the male and female adults were sexed and mated in a rearing container into which a cotton ball soaked with 10 to 15% sugar solution was put for giving the supplement nutrition to the adults. 1 to 5 pairs of adults were fed on young buds of a living tree, which was enclosed with a gauze bag.

Egg-laying and larva hatching were recorded day by day. Then the mature larvae were collected into the test tubes to be reared beneath the soil, and observed every day.

For rearing the mature larvae and pupae under the soil, there were 3 temperature treatments, i.e. 24° C, 30° C (constant temperature) and natural changeable temperature, which was recorded with auto thermometer four times a day (2:00, 8:00, 14:00, 20:00) and the mean of the 4 records was taken as the daily average temperature.

3. Calculation:

The threshold temperature and thermal constant for the pest development can be calculated as follows:

$$K = N(T - C)$$

$$C = T - KV$$

$$V = 1/N$$

$$K = \frac{n \sum VT - \sum V \sum T}{n \sum V^2 - (\sum V)^2}$$

$$C = \frac{\sum V^2 \sum T - \sum V \sum VT}{n \sum V^2 - (\sum V)^2}$$

$$S_k = \sqrt{\frac{(\sum (T - T')^2)}{(n-2) \sum (V - \bar{V})^2}}$$

$$S_c = \sqrt{\frac{\sum (T - T')^2}{n-2} \left(\frac{1}{n} + \frac{\bar{V}^2}{\sum (V - \bar{V})^2} \right)}$$

K: thermal constant

C: threshold temperature

V: development speed

T': recorded mean temperature

N: days

n: number of group

T: calculated value of mean temperature

S_k: standard deviation of thermal constant

S_c: Standard deviation of threshold temperature

$$n = \sum N_i(t_i - C) / K$$

n: generation

N_i: days in i month,

t_i: temperature in i month

RESULTS

1. Threshold temperature of development and thermal constant:

The duration of pupa development for the mulberry gall midge varied with temperature. It took 8, 8.5, 9.5, 12 and 14.5 days under 30 °C, 29°C, 27°C, 24°C and 22°C respectively. Based on the calculation, the threshold temperature and thermal constant of pupa development were $12.0 \pm 0.03^\circ\text{C}$ and 143 ± 0.88 day-degrees, respectively, as seen in Table I.

The adult had a short life of no more than 1 day without feeding sugar solution or around 3 days with sugar feeding under 24° C. Therefore, it was difficult to find out the duration of adult development under different temperatures, and the durations of adult and egg development were put together, for which the threshold temperature and thermal constant were $17 \pm 0.38^\circ\text{C}$ and 32.3 ± 1.4 day-degrees, respectively.

Larva development under different temperatures showed the same trend as pupa, the duration was 4, 5, 6, 7 and 8 days under 30°C, 29°C, 27° C, 25° C and 24° C respectively. The threshold temperature and thermal constant of larval development were $18.2 \pm 1.4^\circ\text{C}$ and 49.7 ± 7.5 day-degrees, respectively.

Table I. Threshold temperature and thermal constant of the gall midge development (Hangzhou, China, 1985).

Tableau I. Seuil de température et constante thermique du développement de la galle du moucheron (Hangzhou, Chine, 1985).

Metamorphosis stage	Number tested	Duration (N)			Threshold temperature	Thermal constant	Forecast formula
		l	s	m	(day-degrees)	(°C)	(days)
Stade de métamorphose	Nombres testés	Durée (N)			Seuil de température (°C)	Constante thermique	Formule de prévision (jours)
		l	s	m			
adult + egg	152	9	2.5	4	17.0 ± 0.38	32.3 ± 0.4	$N = \frac{32.3 \pm 0.4}{T - (17.0 \pm 0.38)}$
adulte + oeuf							
larva / larve	152	8	4	6	18.2 ± 1.4	49.7 ± 7.5	$N = \frac{49.7 \pm 7.5}{T - (18.2 \pm 1.4)}$
pupa / pupe	268	14.5	7	10.5	12.0 ± 0.03	143.1 ± 0.88	$N = \frac{143.1 \pm 0.83}{T - (12.0 \pm 1.4)}$
one generation	152	27.5	14	19.3	13.3 ± 0.5	238 ± 9.8	$N = \frac{238 \pm 9.8}{T - (13.3 \pm 0.5)}$
une génération							

Note: **l**: longest / la plus longue, **s**: shortest / la plus courte; **m**: mean / moyenne; **T**: temperature
The range of temperature during testing was 30-22 °C / Les températures pendant les tests étaient comprises entre 30-22 °C.

2. Relationship between generations and thermal constant:

For one generation of gall midge, the threshold temperature and thermal constant were $13.3 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and 238 ± 9.8 day degrees, respectively. From meteorological data (Table II) in Linan, Zhejiang and calculation, the number of generations in a year of gall midge would be 7.1 to 7.5. According to the observations in the field, this number of generations obtained from the calculation of forecast formula basically coincided with the actual ones.

Table II. Monthly average temperature in Linan in 1983-1984.

Tableau II. Moyenne mensuelle de température au Linan en 1983-1984.

Month	Jan	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov	Dec.
Mois	Janvier	Fev.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août				
(° C)	1.75	3.0	8.0	14.8	19.9	23.6	26.7	26.8	23.0	16.8	10.8	3.9

Note : The temperature in Jan., Feb., March and December was less than the threshold temperature (13.3°C) / La température en Janvier, Février, Mars et Décembre était inférieure à la température seuil ($13,3^\circ\text{C}$).

3. Relationship between occurrence time and thermal constant:

In order to control the pest, it was necessary to calculate the occurrence time of different insect stages based on the information data of thermal constant and meteorological factors. Table III shows the results of the calculation and its comparison with the nature in Linan, Zhejiang, in 1984.

The results indicated that gall midge in Linan had about 7 generations a year. The 1st generation started in second ten-days of May with the larvae attacking the mulberry buds and lasted for 20 to 25 days. There were 3 generations during July and August when the atmosphere temperature was the highest. Especially, during the first and second ten-days of July, the gall midge was seriously harmful to mulberry, resulting from the overlapping occurrence of the 2nd and 3rd generation larvae. There would be another occurrence peak in August when moisture was sufficient. The calculated development stages basically coincided with the actual ones.

DISCUSSION

This paper deals with the development of generations and occurrence time of the mulberry gall midge by means of observations both in the laboratory and in the fields. Through the comparison, the number of generations and occurrence time, which were calculated from the threshold temperature and thermal constant, basically coincided with the actual ones. Therefore, the results may be used to forecast the pest. The author hopes that the forecast formula might be further improved and perfected.

Table III. Relationship between occurrence time and thermal constant of the gall midge.

Tableau III. Relation entre la période d'apparition et la constante thermique de la galle du puceron.

Month	Ten-days period	Mean temperature (°C)	Generation order no.	Calculated stage (A)	Actual stage (B)	Compare A with B
Mois	Période de dix jours	Température moyenne (°C)	Nombre de génération	Stade calculé	Stade réel	Comparaison de A avec B
Apr. Avr.	First / Première	11.6	Winter dormant stage Hiver stade de dormance	Dormant body Corps dormant	Dormant body Corps dormant	Coincidence
	Second / Seconde	14.7				
	Last	16.4				
May Mai	First	17.1	1	Pupa / Pupa	Dor. body & pupa Corps dorm. & pupa	Slight late / Léger retard
	Second / Seconde	18.8		Larva / Larve	Larva / Larve	Coincidence
	Last / Dernière	20.5		Larva / Larve	Larva / Larve	Coincidence
Jun. Juin	first / première	22.4	2	Pupa / Pupa	Adult & egg / Adulte et oeuf	Slight late / léger retard
	Second / Seconde	24.0		Larva / Larve	Larva / Larve	Coincidence
	Last / Dernière	26.9		Larva / Larve	Larva / Larve	Coincidence
Jul. Juil	First	27.0	3	Adult & egg / Adulte & oeuf	Larva / Larve	Slight late / Léger retard
	Second / Seconde	27.4		Larva / Larve	Adult & egg / Adulte & oeuf	Slight late / Léger retard
	Last / Dernière	27.3		Larva / Larve	Larva / Larve	Coincidence
Aug Août	First	28.3	4	Larva / Larve	Larva / Larve	Coincidence
	Second / Seconde	25.7		Adult & egg / Adulte & oeuf	Adult & egg / Adulte & oeuf	Coincidence
	Last / Dernière	26.6	5	Pupa / Pupa	Adult & egg / Adulte & oeuf	Slight late / Léger retard
Sep.	First / Première	24.4	6	Larva / Larve	Larva / Larve	Coincidence
	Second / Seconde	19.6		Larva & pupa / Larve & pupa	Larva & pupa / Larve & pupa	Coincidence
	Last	22.5		Adult & egg / Adulte & oeuf	Adult & egg / Adulte & oeuf	Coincidence
Oct.	First / Première	18.3	7	Larva / Larve	Larva / Larve	Coincidence
	Second / Seconde	16.9		—	—	—
	Last / Dernière	13.6		—	—	—

During the tests, some mature larva of the gall midge entering the soil would become dormant bodies when the temperature reached 30° C, which gave the calculation some difficulties and might influence the accuracy of the forecast.

REFERENCES

- LIN C.-S., CHENG C.-L (1958) Testing the number of generations of the army worm (*Cirphis unipuncta* Haw.) occurring in various geographical regions in China by the method of 'thermal sums'. Acta Entomologica Sinica, 8(1), 41-56.
- ZHENG M.-E, WANG Z.-H., KONG Q.-Y., Preliminary observation on the life cycle of mulberry gall midge (*Diplosis* spp.). Sericult. Sci., 11(3), 9-11.
- F.A.O. (1976) Manual of sericulture. Vol. 1. Mulberry cultivation.

OBSERVATIONS SUR LE DEVELOPPEMENT DE LA GALLE DU PUCERON DU MURIER, *DIPLOSIS MORICOLA* ET PREDICTION DE SON APPARITION

INGER ZHEN

Sericultural Research Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, 198 Shiqiao Road,
Hangzhou 310021, P. R. Chine.

Le développement des générations de la galle du puceron du mûrier (Diplosis moricola Matsumura) a été observé en laboratoire. Les seuils de température et de constante thermique calculés avec la méthode des sommes thermiques sont de $13,3 \pm 0,5$ °C et de $238 \pm 9,8$ °C degrés journaliers, respectivement, et il y a eu environ 7 générations de la galle du puceron dans la région de Hangzhou Ouest. Le nombre de générations et la période d'apparition calculés coïncident avec les valeurs observées sur le terrain.

INTRODUCTION

La galle du puceron du mûrier, *Diplosis moricola* Matsumura (Diptera : Cecidomyidae) est l'un des principaux insectes nuisibles qui détériorent les bourgeons du mûrier. Il a été enregistré comme un insecte nuisible important dès 1916 au Japon et est maintenant présent dans d'autres pays asiatiques. En Chine, l'insecte est distribué dans les provinces de Guangdong, Sichuan, Shangdong, Jiangsu, Zhejiang et d'Anhui et se propage rapidement, ce qui entraîne des dégâts pour le mûrier. On sait que les larves matures de la galle du puceron hibernent dans le sol à moins de 10 cm de profondeur, que les adultes émergent du sol après maturité, qu'ils s'accouplent l'année suivante, qu'ils pondent des oeufs sur les bourgeons et que les larves endommagent les bourgeons et se nymphosent après maturité. Cependant, on s'est peu préoccupé de la biologie et de l'écologie de la galle du puceron du mûrier. L'auteur a essayé de faire une observation sur la croissance, le développement de l'insecte nuisible, sur les seuils de température et de constante thermique et de prédire sa période d'apparition pour permettre de lutter contre l'insecte.

MATERIELS ET METHODES

1. L'insecte :

Des bourgeons de mûrier atteints par la galle du puceron ont été recueillis dans les champs des comtés de Linan, Fuyang, Tonglu et de Chauan et apportés au laboratoire du *Sericultural Research Institute*, de la Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, à Hangzhou.

2. Observations :

Les larves matures sont isolées sur les bourgeons de mûriers et mises dans des tubes à essai remplis préalablement avec du sol humide à raison de 100 larves dans chaque tube et de 5 à 10 tubes pour chaque température. Après l'éclosion, les adultes mâles et femelles sont sexés et accouplés dans un récipient d'élevage dans lequel est placée une boule de coton trempée dans une solution de sucre de 10 à 15 %, pour donner un supplément nutritionnel aux adultes. Un à cinq couples d'adultes sont nourris sur des jeunes bourgeons d'un arbre vivant, qui est entouré d'une enveloppe de gaze.

La ponte et l'éclosion des larves sont enregistrées jour après jour. Puis les larves matures sont recueillies dans les tubes à essai pour les élever dans le sol et observées chaque jour.

Pour élever les larves matures et les pupes dans le sol, il y a eu trois traitements de températures soit 24° C, 30 °C, (température constante) et la température variable naturelle, qui a été enregistrée avec un thermomètre quatre fois par jour (2:00, 8:00, 14:00, 20:00) et la moyenne des 4 enregistrements est prise comme la température quotidienne moyenne.

3. Calcul :

Les seuils de température et de constante thermique pour le développement de l'insecte peuvent être calculés comme suit :

$$K = N (T - C)$$

$$C = T - KV$$

$$V = 1/N$$

$$K = \frac{n \sum VT - \sum V \sum T}{n \sum V^2 - (\sum V)^2}$$

$$C = \frac{\sum V^2 \sum T - \sum V \sum VT}{n \sum V^2 - (\sum V)^2}$$

$$S_k = \sqrt{\frac{(T - T')^2}{(n-2) \sum (V - \bar{V})^2}}$$

$$S_c = \sqrt{\frac{\sum (T - T')^2}{n-2} \left(\frac{1}{n} + \frac{\bar{V}^2}{\sum (V - \bar{V})^2} \right)}$$

K : constante thermique

C: seuil de température

V: vitesse de développement

T': température moyenne enregistrée

N: jours

n: nombre de groupes

T: valeur calculée de la température moyenne

Sk : écart type de la constante thermique

Sc: écart type de la température seuil

$$n = \sum N_i (t_i - C) / K$$

n: génération

Ni : jours dans le mois i

ti : température dans le mois i

RESULTATS

1. Seuils de température de développement et constante thermique :

La durée du développement de la pupe de la galle du puceron du mûrier varie avec la température. Cela a pris 8, 8,5, 9,5 et 14,5 jours à respectivement 30 °C, 29 °C, 27 °C, 24 °C, et 22 °C. D'après le calcul, les seuils de température et de constante thermique du développement de la pupe sont de $12,0 \pm 0,03$ °C et de $143 \pm 0,88$ degrés journaliers, respectivement, comme on peut le voir dans le Tableau I.

L'adulte a une vie courte de moins d'un jour sans administration de solution sucrée et d'environ de 3 jours avec une alimentation sucrée à 24° C. Il est donc, difficile de trouver la durée du développement adulte à différentes températures et les durées du développement adulte et de l'oeuf sont groupées, pour lesquels les seuils de température et de constante thermique sont de $17 \pm 0,38$ °C et $32,3 \pm 1,4$ degrés journaliers, respectivement.

Le développement des larves sous différentes températures montre la même tendance que les pupes, la durée est de 4, 5, 6, 7 et 8 jours sous 30 °C, 29 °C, 27 °C, 25°C et 24 °C respectivement. Les seuils de température et de constante thermique du développement larvaire sont de $18,2 \pm 1,4$ °C et de $49,7 \pm 7,5$ degrés journaliers, respectivement.

2. Relation entre les générations et la constante thermique :

Pendant une génération de galle du puceron, les seuils de température et de constante thermique sont de $13,3 \pm 0,5$ °C et de $238 \pm 9,8$ degrés journaliers, respectivement. D'après les données météorologiques (Tableau II) à Linan, Zhejiang et d'après le calcul, le nombre de générations pendant une année de la galle de puceron serait de 7,1 à 7,5. Selon les observations sur le terrain, ce nombre de générations obtenu d'après le calcul de la formule de prédiction coïncide avec la réalité.

3. Relation entre la période d'apparition et la constante thermique :

De manière à lutter contre l'insecte, il est nécessaire de calculer la période d'apparition des différents stades de l'insecte à partir des données d'information de la constante thermique et des facteurs météorologiques. Le tableau III présente les résultats de calcul et les comparaisons avec la nature à Linan, Zhejiang, en 1984.

Les résultats indiquent que la galle du puceron à Linan donne 7 générations par an. La première génération a commencé après le 20ème jour en Mai, quand les larves attaquent les bourgeons de mûrier et dure de 20 à 25 jours. Il y a eu 3 générations pendant Juillet et Août, quand la température de l'atmosphère était la plus élevée. La galle du puceron a été sérieusement néfaste au mûrier, surtout pendant les dix et vingt premiers jours de Juillet, en raison du chevauchement de l'apparition des larves de la 2ème et de la 3ème génération. Il y a un autre pic d'apparition en Août quand l'humidité est suffisante. Les stades de développement calculés coïncident en gros avec les vrais.

DISCUSSION

Cet article traite du développement des générations et de la période d'apparition de la galle du puceron au moyen d'observations à la fois en laboratoire et sur le terrain. En les comparant, le nombre de générations et la période d'apparition, qui sont calculés d'après les seuils de température et de constante thermique, coïncident en gros. Donc, les résultats peuvent être utilisés pour prédire l'apparition de l'insecte. L'auteur espère que la formule de prédiction pourra être améliorée et parachevée.

Pendant les tests, certaines larves matures de la galle du puceron qui sont entrées dans le sol sont devenues des corps dormants quand la température a atteint 30 °C, ce qui a pu présenter des difficultés pour le calcul et a pu influencer la justesse de la prédiction.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

1) Les articles présentés doivent concerner soit des travaux originaux, soit des synthèses. Ils doivent être rédigés en français ou en anglais. Ils doivent avoir trait à la sériciculture qui inclut les vers à soie, les plantes nourricières, la filature de la soie quelle que soit la nature des recherches (fondamentales ou appliquées) et des sujets (biochimie, écologie, économie, virologie, génétique, etc.).

2) Les articles doivent être soumis à : **Dr G. CHAVANCY**. Les articles soumis au Rédacteur doivent être inédits et ne doivent pas être présentés pour publication chez un autre éditeur. Les articles acceptés pour publication dans *SERICOLOGIA* ne pourront être publiés ailleurs sous la même forme sans le consentement écrit de l'éditeur.

3) Les manuscrits et illustrations doivent être soumis en double exemplaire, l'auteur conservant une copie. Dans le cas d'une co-rédaction, les auteurs doivent indiquer le nom de celui qui recevra les épreuves.

4) Les manuscrits doivent être dactylographiés avec un double interligne et des marges importantes. Les auteurs sont priés de rédiger des communications aussi concises que possible. Les renvois de bas de page sont à éviter et les caractères en italique ne doivent pas être utilisés pour la mise en relief.

5) L'article doit être présenté de la façon suivante :

- Le titre suivi du nom de l'auteur et de son adresse complète.
- Le résumé qui doit indiquer le contenu et les conclusions de l'article et doit faire référence à des informations nouvelles. Le résumé ne doit pas excéder 200 mots et peut être divisé en paragraphes numérotés.
- Les mots clés. Une petite liste de mots clés permettant une rapide analyse du contenu de l'article et utilisable pour la compilation de l'index.

- Les articles doivent être divisés en : Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats et Discussion. Pour les articles de synthèse, les auteurs peuvent choisir la présentation qui leur convient.

- Remerciements.

- Références. Les auteurs doivent suivre le "Harvard system". Les références doivent être données dans l'ordre suivant : nom de l'auteur et ses initiales, date (entre parenthèses), titre de l'article, nom du journal tel qu'il est abrégé dans la liste mondiale des périodiques scientifiques (4^{ème} édit. 1963), le volume et les première et dernières pages de l'article.

Pour les livres, il est nécessaire d'indiquer le nom de l'auteur et ses initiales, la date de publication, le titre, l'édition, le nombre de pages, le nom de l'éditeur et le lieu d'édition.

Dans le texte, les références doivent être indiquées sous la forme suivante : Dupont (1964) ou (Dupont, 1964). Lorsque la référence comprend plus de deux auteurs, par exemple Dupont, Durand et Martin, l'article doit être cité comme Dupont et coll. sauf si cela peut prêter à confusion. Si l'on cite des articles d'un même auteur publiés la même année, ils doivent être distingués par les lettres a, b, etc.

La référence à un article sous presse doit signifier que l'article a été accepté pour publication et elle doit s'écrire de la façon suivante :

SETOYAMA K. (1982) Effect of water on molecular motion of silk fibroin. *J. Seric. Sci. Jpn.* Sous presse.

6) Illustrations. Le manuscrit sera accompagné de toutes les illustrations nécessaires mais celles-ci ne doivent pas être insérées dans le texte. Toutes les photographies, graphiques et diagrammes doivent être numérotés consécutivement en chiffres arabes, dans l'ordre de citation du texte.

Les photographies sur papier brillant, ou les épreuves positives (pas de négatifs ou de diapositives) doivent être envoyées si possible sans montage et en nombre limité.

Les cartes, graphiques ou diagrammes doivent être dessinés nettement à l'encre noire sur le papier ou du carton blanc de bonne qualité. Les inscriptions apparaissant sur les illustrations doivent être complètes et de taille suffisante pour permettre une réduction importante si nécessaire.

Les illustrations ne doivent pas dépasser le format 14 x 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.

* * *