

sericologia

Journal of the silkworms. Revue des vers à soie.

publiée par la Commission Séricicole Internationale
25, quai Jean-Jacques Rousseau - 69350 La Mulatière - France.

Managing Director

Dr H. BOUVIER

Directeur Gérant

Editors

Dr G. CHAVANCY

Dr A. FOURNIER

Rédacteurs

Université Cl. Bernard, Lyon, France

EDITORIAL BOARD

CONSEIL DE REDACTION

T. FUKUDA	Tsukuba, Japan
J.P. GAREL	Clermont-Ferrand, France
T. ITO	Tsukuba, Japan
M.S. JOLLY	Mysore, India
J.M. LEGAY	Lyon, France
G. REALI	Padova, Italie
R. TAKAHASHI	Brazil

Revue des vers à soie.

Journal of the silkworms.

CONTENTS

SOMMAIRE

Comparative consumption, utilization, % pupation and silk production in silkworms (<u>Bombyx mori</u>) fed on various varieties of mulberry existing in Jammu division of Jammu & Kashmir State. Etude comparative de la consommation, l'utilisation, le % de nymphose et la production de soie chez les vers à soie (<u>Bombyx mori</u>) nourris de différentes variétés de mûrier dans la région de Jammu (Etat de Jammu & Kashmir).	
BALDEV SHARMA, P. BADAN, J.S. TARA	419
Aminoacid sequence and putative conformational characteristics of the 25KD silk protein of <u>Bombyx mori</u> . Séquence d'acides aminés et caractéristiques structurales de la protéine de la soie de 25KD chez <u>Bombyx mori</u> .	
M. CHEVILLARD, G. DELEAGE, P. COUBLE	435
Giant cocoon formation in <u>Bombyx mori</u> L., topically treated with juvenile hormone SJ-42-F. Formation de cocons géants chez le ver à soie <u>Bombyx mori</u> L. traité localement avec l'hormone juvénile SJ-42-F.	
S.K. CHOWDHARY, F. SEHNAL, S.K. RAJ, P.S. RAJU, SARITA MATHU	455
Mulberry descriptor. Descripteur du mûrier.	
S.B. DANDIN, M.S. JOLLY	465
Linkage maps of <u>Bombyx mori</u> - Revised in 1986. Cartes de liaison chez <u>Bombyx mori</u> - Révisée en 1986.	
H. DOIRA	485
	417

Effect of refrigeration of just hatched out multivoltine silkworms of <u>Bombyx mori</u> L.	
Effet de la réfrigération des larves néonates de ver à soie polyvoltin <u>Bombyx mori</u> L.	
R. GOVINDAN, T.K. NARAYANA SWAMY	493
Non-spinning syndrome in silkworm <u>Bombyx mori</u> L.	
Le syndrome d'absence de filage du cocon chez le ver à soie <u>Bombyx mori</u> L.	
O. JOY, M.B. SHYAMALA	503
The effects of the number of maggots per host on the developmental stages of <u>Tricholyga bombycis</u> Beck., an endoparasite of <u>Bombyx mori</u> L.	
Influence du nombre d'asticots par hôte sur les stades du développement de <u>Tricholyga bombycis</u> Beck., un endoparasite de <u>Bombyx mori</u> L.	
PRADIP KUMAR, M.S. JOLLY, V. VENKATA REDDY	519
Studies on the phylloplane microflora of mulberry. I. Bacterial populations on healthy leaves.	
Etudes sur la flore microbienne de la surface foliaire du mûrier. I. Populations bactériennes des feuilles saines.	
J. SUKUMAR, A. RAMALINGAM	535
Epidemiology of cercospora leaf spot disease of mulberry. I. Stages of infection spots and conidial production.	
Epidémiologie de la maladie de la tache du mûrier due à <u>Cercospora</u> . I. Stades d'infection et production de conidies.	
J. SUKUMAR, A. RAMALINGAM	549
Bibliography.	
Revue Signalétique	559

COMPARATIVE CONSUMPTION, UTILIZATION, % PUPATION AND SILK PRODUCTION
IN SILKWORMS (BOMBYX MORI) FED ON VARIOUS VARIETIES OF MULBERRY
EXISTING IN JAMMU DIVISION OF JAMMU & KASHMIR STATE

BALDEV SHARMA, P. BADAN and J.S. TARA*

*Department of Biosciences,
University of Jammu,
Jammu 180 001,
India.*

Despite the great economic importance of silkworms (*Bombyx mori*) in sericulture industry not much work has been done in India to investigate the comparative effect of various varieties of mulberry (the only food on which these insects feed) on the consumption and utilization by these insects except Koul *et al.* (1979) who tried 3 varieties of mulberry such as Gosheerami, local and Sujanpuri for comparing their performance with regard to parameters like increase in larval body weight, silk gland weight and silk production. Badan and Tara (1984) recorded the comparative weight gain in silkworms when fed on 5 varieties of mulberry (which also forms a part of the present work only).

However, such studies on other lepidopterous moths with regard to various food plants are on record (Bhat and Bhattacharya, 1978; Yadava *et al.*, 1978; Babu *et al.*, 1979; Sharma *et al.*, 1984; and Sharma and Tara, 1984).

Thus in the present work the authors undertook to investigate various parameters such as comparative weight gain, total larval period, % of pupation, weight of the cocoon formed, amount of food utilized, consumption index, growth rate, approximate digestibility, efficiency of conversion of ingested and digested food, etc., in the case of silkworms fed on different varieties of mulberry (such as Berhampuri, Sujanpuri, KNG, Chackmajra and local wild) which have been maintained in various sericulture nurseries of Jammu division of Jammu & Kashmir State and which are used by the rearers during the rearing of silkworms in the region. These studies are aimed to pinpoint the most suitable varieties which give best performance for the purposes

* Present address: Sericulture Section, Regional Research Laboratory, Jammu (J&K).

of silk yield.

MATERIALS AND METHODS

Immediately after hatching, an equal number (20 in each batch) of simultaneously hatched larvae of *B. mori* were reared under similar conditions till they pupated, on different varieties in petridishes which were disinfected before use.

Weighed amount of food of tender and fresh leaves of mulberry were provided to these larvae twice a day. Both weights of residual food and faecal matter were recorded daily till they pupated.

Side by side another control set but without larvae was also maintained. Leaves kept in the control set were also weighed daily as in the experimental ones.

The rate of growth in the live weights of the larvae during developmental stages was determined by weighing 5 randomly selected larvae on alternate days and then calculating the mean weight of one larva.

Percentage of larvae pupated (n), average larval period (av) and growth index values (n/av) were calculated according to Pandey *et al.* (1968). Other parameters like duration of larval period of each instar, average weight of one larva, fresh weight of leaves consumed by one larva, weight of faeces produced by one larva and weight gained by the larva during the feeding period were calculated separately following the methods suggested by Waldbauer (1968).

Average weight of cocoon along with and without pupa was calculated after the cocoon formation for the larvae fed on each variety.

RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained from the above studies have been recorded in Tables I-VII.

Table I records the comparative survival percentage, range of larval period and average weight of cocoon in addition to growth index when these worms were fed on different varieties of mulberry under identical rearing conditions.

A look at the referred table reveals that 100% pupation has been observed in the silkworms which were fed on KNG and Chackmajra varieties while Berhampuri showed 80%, Sujanpuri showed 75% and local wild showed 60% pupation. Minimum larval period of 29-32/33 days has been observed in Berhampuri, KNG and Chackmajra varieties while the longest (33-37 days) larval period has been recorded in the larvae which were fed on local variety.

The growth index (Table I) calculated by dividing the percentage of larvae pupated by the average larval feeding period has been observed to be maximum in the case of Chackmajra (3.448) followed by KNG (3.33), Berhampuri (2.75), Sujanpuri (2.34) and local (1.76).

Maximum average cocoon weight (1.376 g along with pupa and 0.1160 g without pupa) has been registered in the larvae fed on Berhampuri variety followed by Chackmajra (1.197/0.0925), KNG (0.8120/0.0831), Sujanpuri (0.7991/0.0675) and local wild (0.4940/0.0575).

Table II records the observations on the maximum and minimum weight gained by the larvae when fed on different varieties of mulberry observed on alternate days. It is evident from this table that the first place on the 29th day when the larvae were fully mature has been occupied by the batch of silkworms fed on Berhampuri variety by registering the highest weights (3.050 g, max. 2.350 g min.) followed by Chackmajra (2.600/2.224), KNG (2.280/2.100), Sujanpuri (1.605/0.765) and local (0.710/0.370).

Tables III-VII record parameters like average weight, weight of the fresh leaves consumed by one larva, weight of the faecal matter produced by one larva and weight gained by one larva during the entire feeding period in each instar and for each variety individually.

From these data various indexes like consumption index (CI), growth rate (GR), approximate digestibility (AD), efficiency of conversion of ingested food (ECI) and efficiency of conversion of digested food (ECD) have been calculated.

From all the referred tables (III-VII) it is evident that CI values are inversely related with the instar-wise growth pattern of the larva i.e. as the larva goes on growing its CI value goes on decreasing. GR values show similar relationship with the age and growth of the larvae in two varieties viz., Berhampuri and local while no such relationship appears to exist in the remaining varieties, as here the GR values have been recorded to be haphazard.

While approximate digestibility (AD) values also show a decreasing trend in all the cases (Tables III-VII) from the 1st instar to the 5th instar larvae, ECI and ECD values show a positive relationship with the growing larvae as both parameters go on increasing with the age of larvae. Furthermore, this is also evident from all the tables under reference that uptill the 3rd instar, ECI and ECD values registered gradual and minimum increase in all the cases but with the coming of the 4th instar, these values shoot up all of a sudden. The maximum ECI and ECD values (57.19 and 59.84) have been observed in the 5th instar in the case of the larvae fed on Berhampuri variety. This is followed by Chackmajra (47.03 & 49.94), KNG (36.79 & 38.65), Sujanpuri (29.26 & 30.66) and the local with these values to be mere 11.67 and 11.91 respectively. This sequence is exactly parallel with the sequence of weight gained by fully mature larvae (on 29th day) as is evident from Table II, suggesting thereby that the gain in weight is directly related with ECI and ECD.

From all the foregoing observations it is evident that the overall performance in ascending order of sequence of silkworms fed on the varieties under experiment is Berhampuri, Chackmajra, KNG, Sujanpuri, and local as far as silk yield is concerned. The first three out of these appear to be most preferred by the silkworms as they help in their better growth. This differential performance between various varieties of mulberry should be due to the differential nutritive value of the leaves of these varieties, which, however, needs to be investigated. As far as mortality of the silkworms is concerned, in these three varieties, Chackmajra and KNG show 100% pupation (thus with no mortality) in the larvae fed on them but Berhampuri shows only 80% pupation (i.e., 20% mortality). The remaining two varieties viz., Sujanpuri and local have registered a far less pupation rate i.e., 75% and 60%, thereby showing 25% and 40% mortality respectively.

Thus the Chackmajra and KNG varieties outdo the remaining as far as the economic point of view is concerned. Though these two produce slightly lesser amount of silk yield as compared to Berhampuri but the last named has shown more mortality (20%) in the silkworms fed on it. Sharma and Tara (1984a) while investigating the effect of insect pests on mulberry varieties planted in Jammu region observed that Chackmajra

variety was most tolerant to the attack of various insect pests recorded in Jammu region. The studies undertaken by the present authors again support Chackmajra variety for its performances as far as silk yield is concerned. Thereby, suggesting that this is the most suitable variety of mulberry for the area under investigation.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to Prof. A.K. Koul, Head of the Department of Biosciences, University of Jammu, for the laboratory facilities and to the Deputy Director of Sericulture, J&K State, for the permission to use the leaves of Berham-puri variety from their nursery.

REFERENCES

- BABU M.H., BHATTACHARYA A.K., RATHORE Y.S., (1979) Rate of intake, growth and digestibility of three lepidopterous insects on soybean and green gram. *Z. Angew. Ent.*, 87(3), 322-327.
- BADAN P., TARA J.S., (1984) Comparative weight gain in silkworms (*Bombyx mori*) fed on different varieties of mulberry. *Zoologica Orientalis*, 1(2), 53-54.
- BHAT N.S., BHATTACHARYA A.K., (1978) Consumption and utilization of soybean by *Spodoptera litura* (Fabricius) at different temperatures. *Ind. J. Ent.*, 40(1), 16-25.
- KOUL O., TIKKU K., SAXENA B.P., ATAL C.K., (1979) Growth and silk production in *Bombyx mori* L. fed on three different varieties of mulberry. *Ind. J. Seric.*, 18, 1-5.
- PANDEY N.D., YADAVA D.R., TEOTIA T.P.S., (1968) Effect of different food plants on the larval and post larval development on *Diacrisia obliqua* Walk. *Ind. J. Ent.*, 30(3), 229-234.
- SHARMA M.M., SEHGAL V.K., BHATTACHARYA A.K., (1984) Consumption and utilization of six plant species by *Athalia proxima* Klug. *Ind. J. Ecol.*, 11(2), 291-296.
- SHARMA BALDEV, TARA J.S., (1984) Consumption and utilization of mulberry leaves in two lepidopterous moths, *Spodoptera litura* (F) and *Diacrisia obliqua* (Walk.), communicated, *Ind. J. Ent.*
- SHARMA, BALDEV, TARA J.S., (1984a) Infestation of *Batocera rufomaculata* De Geer (Coleoptera : Cerambycidae) in various varieties and age groups of mulberry plants in Jammu division of J&K State. Communicated *Ind. J. Ser.*
- YADAVA P.R., SINGH R., KUMAR A.K., MAHTO M.N., SINHA M.M., (1978) Larval survival and growth potential of *Diacrisia obliqua* Walker in relation to some promising varieties of black gram. *Ind. J. Ent.*, 40(2), 146-149.
- WALDBAUER G.P., (1968) Consumption and utilization of food by insects. *Adv. Insect Physiol.*, 5, 229-288.

Varieties/ Variétés	Percentage of larvae pupated/ % de nymphose (n)	Range of larval period (in days)/ Période larvaire (en jours)	Average larval feeding period/ Période moyenne d'alimentation des larves (Av.)	Growth index/ Indice de croissance (n/Av.)	Average weight of cocoon/ Poids moyen du cocon (g)	Average weight of cocoon shell/ Poids moyen de la coque soyeuse (g)
Chackmajra	100	29-33	29	3.448	1.197	0.0925
Sujanpuri	75	29-35	32	2.34	0.7991	0.0675
Local wild	60	33-37	34	1.76	0.4940	0.0575
KNG	100	29-33	30	3.33	0.8120	0.0833
Berhampuri	80	29-32	29	2.75	1.376	0.1160

Table I. The survival percentage, range of larval period, average weight of cocoon in relation to the type of food supplied.

Tableau I. Taux de survie, durée de la période larvaire, poids moyen du cocon en fonction du type de nourriture.

Day/ Jour	Chackmajra		Sujanpuri		KNG		Local		Berhampur	
	Maximum	Minimum	Maximum	Minimum	Maximum	Minimum	Maximum	Minimum	Maximum	Minimum
2nd	.001	.0005	.002	.001	.002	.001	.001	.0005	.0015	.001
4th	.004	.003	0.003		.005	.003	.004	.003	0.004	
6th	.008	.006	.008	.005	.017	.015	.013	.008	.0145	.011
8th	.021	.015	.021	.014	.0385	.0325	.0355	.024	.034	.0275
10th	.034	.021	.033	.019	.047	.038	.048	.029	.038	.035
12th	.058	.030	.036	.029	0.118	0.108	0.101	.053	0.106	.081
14th	0.134	0.1084	.096	.060	0.201	0.165	0.142	.098	0.126	0.117
17th	0.220	0.133	0.146	0.099	0.523	0.241	0.190	0.128	0.350	0.274
19th	0.501	0.258	0.268	0.163	0.671	0.509	0.279	0.235	0.578	0.435
21st	0.628	0.431	0.431	0.340	0.809	0.677	0.343	0.295	0.572	0.507
23rd	0.966	0.533	0.564	0.432	1.000	0.873	0.423	0.275	1.000	0.720
25th	1.340	0.780	1.000	0.578	1.550	1.300	0.429	0.314	1.550	1.300
27th	2.100	1.010	1.590	0.580	2.065	1.610	0.529	0.362	2.170	2.040
29th	2.600	2.220	1.605	0.765	2.280	2.100	0.710	0.370	3.050	2.350
31st							0.790	0.400		

Table II. The changes in the larval weight of *Bombyx mori* fed on five different varieties of mulberry (in gm).

Tableau II. Variations du poids des larves de *Bombyx mori* nourries avec cinq variétés de mûrier différentes (en g).

Instar/ Age larvaire	Average weight/ Poids moyen	Duration of Feeding period (days)/ Durée de la période d'alimentation (jours)	Fresh weight of leaves consumed/ Poids des feuilles fraîches consommées	Weight of faecal matter produced/ Poids de la matière fécale produite	Weight gained during feeding period/ Prise de poids pendant la période d'alimentation	C.I. = F/TA	G.R. = G/TA	A.D. = F-H/F x 100	E.C.I. = G/F x 100	E.C.D. = G/F-H x 100
	(A)	(T)	(F)	(H)	(G)					
I	2.86	6	6295.2	1.51	6.1	366.85	0.3554	99.97	0.0968	0.0969
II	19.9	5	3152.0	2.46	20.6	31.67	0.2070	99.92	0.6535	0.6540
III	95.75	5	5182.0	10.86	99.8	12.14	0.2084	99.81	1.7171	1.720
IV	272.31	8	1787.4	43.64	212.5	0.8205	0.0975	97.55	11.88	12.181
V	537.66	10	3272.5	84.14	380.0	0.6086	0.0706	97.42	11.67	11.91

Table III. Consumption and utilization of local wild variety leaves per silkworm larva (mg).

Tableau III. Consommation et utilisation des feuilles de la variété sauvage locale par larve de ver à soie (mg).

Instar/ Age larvaire	Average weight/ Poids moyen	Duration of feeding period (days)/ Durée de la période d'alimentation (jours)	Fresh weight of leaves consumed/ Poids des feuilles fraîches consommées	Weight of faecal matter produced/ Poids de la matière fécale produite	Weight gained during feeding period/ Prise de poids pendant la période d'alimentation	C.I. = F/TA	G.R. = G/TA	A.D. = F-H/F x 100	E.C.I. = G/F x 100	E.C.D. = G/F-H x 100
	(A)	(T)	(F)	(H)	(G)					
I	1.98	6	5711.7	1.98	3.6	484.04	0.3030	99.96	0.0630	0.0630
II	15.81	7	4166.1	6.20	26.6	37.66	0.2405	99.10	0.6384	0.6442
III	70.1	6	5167.2	16.39	52.8	12.28	0.1255	98.41	1.0218	1.0382
IV	266.6	6	1925.6	40.74	360.6	1.20	0.2254	97.88	18.72	19.13
V	979.2	7	3183.0	146.0	931.4	0.4643	0.1358	95.41	29.26	30.66

Table IV. Consumption and utilization of Sujanpuri variety leaves per silkworm larva (mg).

Tableau IV. Consommation et utilisation des feuilles de la variété Sujanpuri par larve de ver à soie (mg).

Instar/ Age larvaire	Average weight/ Poids moyen	Duration of feeding period (days)/ Durée de la période d'alimentation (jours)	Fresh weight of leaves consumed/ Poids des feuilles fraîches consommées	Weight of faecal matter produced/ Poids de la matière fécale produite	Weight gained during feeding period/ Prise de poids pendant la période d'alimentation	C.I. = F/TA	G.R. = G/TA	A.D. = F-H/F x 100	E.C.I. = G/F x 100	E.C.D. = G/F-H x 100
	(A)	(T)	(F)	(H)	(G)					
I	2.2	5	6679.2	1.38	3	607.2	0.2727	99.97	0.0449	0.04499
II	21.56	5	5585.2	3.83	30.7	51.81	0.2847	99.93	0.5496	0.5500
III	112.7	6	4858.6	17.98	150.0	7.18	0.2218	99.62	3.087	3.098
IV	463.4	6	1773.0	62.13	466.4	0.6377	0.1677	96.49	26.30	27.26
V	1530.27	8	3935.7	189.24	1448.0	0.3214	0.1182	95.19	36.79	38.65

Table V. Consumption and utilization of KNG variety leaves per silkworm larva (mg).

Tableau V. Consommation et utilisation des feuilles de la variété KNG par larve de ver à soie (mg).

Instar/ Age larvaire	Average weight/ Poids moyen	Duration of feeding period (days)/ Durée de la période d'alimentation (jours)	Fresh weight of leaves consumed/ Poids des feuilles fraîches consommées	Weight of faecal matter produced/ Poids de la matière fécale produite	Weight gained during feeding period/ Prise de poids pendant la période d'alimentation	C.I. = F/TA	G.R. = G/TA	A.D. = F-H/F x 100	E.C.I. = G/F x 100	E.C.D. = G/F-H x 100
	(A)	(T)	(F)	(H)	(G)					
I	2.4	6	6158.8	1.15	4	427.69	0.2777	99.98	0.0649	0.0649
II	16.28	5	5260.2	3.56	31	64.62	0.3808	99.93	0.5893	0.5897
III	72.2	5	4581.2	15.08	75.7	12.68	0.2096	99.67	1.6480	1.6572
IV	387.24	6	1884.2	56.41	406.0	0.8110	0.1747	97.00	21.56	22.21
V	1438.5	7	3897.28	227.31	1833.0	0.3870	0.1820	94.16	47.03	49.94

Table VI. Consumption and utilization of Chackmajra variety leaves per silkworm larva (mg).

Tableau VI. Consommation et utilisation des feuilles de la variété Chackmajra par larve de ver à soie (mg).

Instar/ Age larvaire	Average weight/ Poids moyen	Duration of feeding period (days)/ Durée de la période d'alimentation (jours)	Fresh weight of leaves consumed/ Poids des feuilles fraîches consommées	Weight of faecal matter produced/ Poids de la matière fécale produite	Weight gained during feeding period/ Prise de poids pendant la période d'alimentation	C.I. = F/TA	G.R. = G/TA	A.D. = F-H/F x 100	E.C.I. = G/F x 100	E.C.D. = G/F-H x 100
	(A)	(T)	(F)	(H)	(G)					
I	3.3	6	6071.2	1.40	6.8	306.62	0.3434	99.97	0.1120	0.1120
II	19.32	4	4418.0	4.82	20.7	57.16	0.2678	99.88	0.4685	0.4690
III	83.82	6	4579.0	16.25	93.5	9.105	0.1859	99.64	2.041	2.049
IV	445.47	6	1858.0	47.85	405.6	0.8343	0.1821	97.42	21.82	22.40
V	1430.1	8	3659.4	160.45	2093.0	0.3198	0.1829	95.61	57.19	59.84

Table VII. Consumption and utilization of Berhampurí variety leaves per silkworm larva (mg).

Tableau VII. Consommation et utilisation des feuilles de la variété Berhampurí par larve de ver à soie (mg).

ETUDE COMPARATIVE DE LA CONSOMMATION, L'UTILISATION, LE % DE NYMPHOSE
ET LA PRODUCTION DE SOIE CHEZ LES VERS A SOIE (BOMBYX MORI)
NOURRIS DE DIFFERENTES VARIETES DE MURIER DANS LA REGION
DE JAMMU (ETAT DE JAMMU & KASHMIR)

BALDEV SHARMA, P. BADAN et J.S. TARA*

*Department of Biosciences,
University of Jammu,
Jammu 180 001,
Inde.*

En dépit de l'importance économique des vers à soie (*Bombyx mori*) dans l'industrie séricicole, peu d'études comparatives ont été faites en Inde sur les diverses variétés de mûrier (la seule nourriture acceptée par ces insectes) et leur influence sur la consommation et l'utilisation par ces insectes, en dehors de celle de Koul *et al.* (1979) dans laquelle ils testent trois variétés de mûrier telles que Gosheerami, la variété locale et Sujanpuri, et comparent leur performance sur des paramètres tels que l'augmentation du poids larvaire, le poids de la glande séricigène et la production de soie. Badan et Tara (1984) ont mesuré le taux de croissance chez les vers à soie nourris avec cinq variétés de mûrier (ce qui représente aussi une partie de la présente étude)

Pourtant d'autres études ont été faites sur différentes plantes nourricières (Bhat et Bhattacharya, 1978 ; Yadava *et al.*, 1978 ; Babu *et al.*, 1979 ; Sharma *et al.*, 1984 ; Sharma et Tara, 1984).

Nous avons donc entrepris l'étude des différents paramètres tels que l'augmentation de poids, la période larvaire totale, le pourcentage de nymphose, le poids du cocon, la quantité de nourriture utilisée, l'indice de consommation, le taux de croissance, l'efficacité approximative de digestibilité dans le cas de vers à soie nourris avec différentes variétés de mûrier (telles que Berhampur, Sujanpuri, KNG, Chackmajra et variété sauvage locale) qui sont maintenues dans certaines pépinières de la région de Jammu, dans l'Etat de Jammu & Kashmir et qui sont utilisées pour l'élevage des vers à soie dans cette région. Ces études ont pour but de sélectionner les variétés qui permettront un rendement de soie maximum.

* Sericulture Section, Regional Research Laboratory, Jammu (J&K).

MATERIEL ET METHODES

Immédiatement après l'éclosion, un nombre égal (20 par lot) de larves de *B. mori* de variétés différentes, écloses simultanément sont prélevées et élevées jusqu'à la nymphose dans des conditions similaires dans des boîtes de Petri désinfectées.

Un poids donné de feuilles de mûrier tendres et fraîches leur est fourni deux fois par jour. Les poids de nourriture résiduelle et de matières fécales sont mesurés chaque jour jusqu'à la nymphose.

Un lot-témoin de feuilles (sans larves) est maintenu parallèlement. Les feuilles utilisées dans le lot-témoin sont aussi pesées chaque jour comme dans le lot expérimental.

Le pourcentage d'augmentation du poids des larves au cours du développement est déterminé en pesant un jour sur deux cinq larves prises au hasard et en calculant ensuite le poids moyen d'une larve.

Le pourcentage des larves nymphosées (n), la durée moyenne de la période larvaire (av) et les valeurs de l'indice de croissance (n/av) sont calculés selon la méthode de Pandey *et al.* (1968). D'autres paramètres, tels que la durée de la période de chaque âge larvaire, le poids moyen d'une larve, le poids de feuilles fraîches consommées par larve, le poids des matières fécales produites par larve et le poids gagné par larve pendant la période de nourrissage ont été calculés séparément selon les méthodes suggérées par Waldbauer (1968).

Le poids moyen du cocon avec et sans la chrysalide est mesuré après la formation du cocon pour chaque larve nourrie sur chaque variété.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus ont été portés sur les tableaux I-VII.

Le tableau I donne le pourcentage comparatif de survie, les différentes périodes larvaires et le poids moyen du cocon, ainsi que l'indice de croissance des vers nourris avec différentes variétés de mûriers cultivées dans des conditions identiques.

On obtient 100% de nymphose chez les vers nourris sur les variétés KNG et Chackmajra, 80% sur Berhampuri, 75% sur Sujanpuri et 60% sur les variétés sauvages locales. La période larvaire minimum de 29-32/33 jours est obtenue avec les variétés Berhampuri, KNG et Chackmajra ; la période larvaire la plus longue (33-37 jours) chez les larves nourries sur les variétés locales.

L'indice de croissance (Tableau I) obtenu en divisant le pourcentage des larves nymphosées par la durée moyenne de la période d'alimentation larvaire, est maximum avec Chackmajra (3,448) suivi de KNG (3,33), Berhampuri (2,75), Sujanpuri (2,34) et la variété locale (1,76).

Le poids moyen maximum de cocon (1,376 g avec chrysalide et 0,1160 g sans chrysalide) est obtenu chez les larves nourries sur la variété Berhampuri, suivi de Chackmajra (1,197/0,0925), KNG (0,8120/0,0833), Sujanpuri (0,7991/0,0675) et la variété sauvage locale (0,4940/0,0575).

Le tableau II donne les poids maximum et minimum gagnés par les larves nourries sur différentes variétés de mûrier, enregistrés un jour sur deux. Ce tableau montre que la première place est occupée le 29ème jour, lorsque les larves sont complètement matures, par un lot de vers nourris sur la variété Berhampuri qui enregistre les poids maximum (3,050 g max., 2,350 g min.) suivi de Chackmajra (2,600/2,224), KNG (2,280/2,100), Sujanpuri (1,605/0,765) et la variété locale (0,710/0,370).

Les tableaux III à VII indiquent la valeur des paramètres tels que le poids moyen, le poids des feuilles fraîches consommées par une larve, le poids de matière fécale produite par une larve et l'augmentation de poids par larve pendant la totalité de la période d'alimentation, au cours de chaque âge larvaire et pour chaque variété.

A partir de ces données, nous avons calculé les différents indices comme l'indice de consommation, le taux de croissance (GR), la digestibilité approximative (AD), le taux de conversion de la nourriture ingérée (ECI) et le taux de conversion de la nourriture digérée (ECD).

Tous ces tableaux (III-VII) montrent que les valeurs CI sont en rapport inverse avec le schéma de croissance larvaire, c'est-à-dire que les valeurs CI diminuent au fur et à mesure de la croissance de la larve. Les valeurs GR donnent une relation identique entre l'âge et la croissance des larves avec les deux variétés Berhampuri et locale, alors qu'aucune relation ne semble exister pour les autres variétés où les valeurs GR enregistrées paraissent fortuites.

Alors que les valeurs approximatives de la digestibilité (AD) indiquent également une tendance décroissante dans tous les cas (Tableaux III-VII) du 1er au 5ème âge larvaire, les valeurs ECI et ECD montrent une relation positive avec les larves en cours de croissance, puisque les deux paramètres augmentent régulièrement avec l'âge des larves. De plus, tous les tableaux cités indiquent clairement que jusqu'au 3ème âge, les valeurs ECI et ECD marquent une augmentation graduelle et minimum dans tous les cas, ces valeurs augmentant soudainement au début du 4ème âge. Les valeurs ECI et ECD maximales (57,19 et 59,84) sont enregistrées au 5ème âge chez les larves nourries avec la variété Berhampuri. Elle est suivie par Chackmajra (47,03 et 49,94), KNG (36,79 et 38,65), Sujanpuri (29,26 et 30,66), et la variété locale (11,67 et 11,91). Cette séquence est exactement parallèle à la séquence du gain de poids par les larves matures (au 29ème jour) comme le montre le Tableau II, suggérant ainsi que le gain de poids est directement lié à ECI et ECD.

La performance globale concernant le rendement en soie donne le classement suivant par ordre croissant : Berhampuri, Chackmajra, KNG, Sujanpuri et locale. Les trois premières semblent être les variétés préférées des vers à soie, dans la mesure où elles favorisent leur croissance. Cette différence entre les diverses variétés de mûrier pourrait être due à la différence de valeur nutritive des feuilles de ces variétés, laquelle devra être étudiée plus avant. En ce qui concerne la mortalité des vers à soie, on enregistre 100 % de nymphose (donc pas de mortalité) chez les larves nourries sur Chackmajra et KNG, mais 80 % de nymphose (c'est-à-dire une mortalité de 20 %) chez les larves nourries sur Berhampuri. Les deux variétés restantes, Sujanpuri et la variété locale, donnent un taux de nymphose beaucoup plus faible, de 75 et 60 %, c'est-à-dire une mortalité de 25 et 40 %.

Ainsi les variétés Chackmajra et KNG surpassent les autres du point de vue économique. Ces deux variétés produisent légèrement moins de soie que Berhampuri, laquelle donne en revanche une mortalité plus importante (20 %). Sharma et Tara (1984a) qui ont étudié les effets des parasites sur les variétés de mûriers plantés dans la région de Jammu, ont observé que la variété Chackmajra supporte mieux

l'attaque des différents parasites de la région de Jammu. Nos résultats montrent également que la variété Chackmajra donne les meilleures performances quant à la production de soie, suggérant donc qu'elle est la variété de mûrier la plus appropriée dans cette région.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Professeur A.K. Koul, Chef du Department of Biosciences, University of Jammu, pour les facilités offertes en laboratoire, et le Directeur Adjoint de Sériciculture, Etat de Jammu & Kashmir, pour nous avoir fourni les feuilles de la variété Berhampuri.

AMINOACID SEQUENCE AND PUTATIVE CONFORMATIONAL CHARACTERISTICS
OF THE 25KD SILK PROTEIN OF BOMBYX MORI

Martine CHEVILLARD*, Gilbert DELEAGE** and Pierre COUBLE*

UA CNRS 92 (*) and UM CNRS 24 (**),
Université Claude Bernard,
43, boulevard du 11 Novembre 1918,
69622 VILLEURBANNE,
France.

The protein P25 of *Bombyx mori* is a silk component of 25 kD which binds through disulfide bonds to the large 370 kD fibroin (Couble *et al.*, 1983). This protein is encoded by a 1100 nucleotides long mRNA specifically transcribed by the posterior silk gland cells. The P25 mRNA and fibroin mRNA accumulate in the posterior silk gland cells in a very concerted manner, so that their cell molar concentration is identical all along the period of silk synthesis (Couble *et al.*, 1983). This may result from the existence of similar promotor in their respective genes as suggested by the existence of highly homologous sequences in the 5' flanking DNA of these genes (Couble *et al.*, 1985). In this paper, we described the aminoacid sequence of the protein P25 and present its putative conformational characteristics predicted from programs of secondary structure of proteins.

MATERIALS AND METHODS

The aminoacid sequence of the protein P25 was determined by conceptual translation of the exonic sequence of the P25 gene (Chevillard *et al.*, 1986).

The hydrophobicity profile of the protein has been established according to the procedure of Kyte and Doolittle (1982) using a window width of nine aminoacids. Secondary structure predictions were performed according to the method of Chou and Fasman (1978) and that of Garnier *et al.* (1978). These methods use known three dimensional structure of proteins to measure the frequency of occurrence of aminoacid residues in helix, sheet and turn conformations. Refinements of the proposed structure were obtained by means of boundary analysis as recommended by Chou and Fasman (1978).

For the study of codon usage, the codon distribution from a compilation of 25 insect mRNA sequences was established using the data and programs of the ACNUC bank of the Institut d'Evolution Moléculaire (Lyon).

RESULTS AND DISCUSSION

Aminoacid sequence of the protein P25

The gene of the silk protein P25 consists of a sequence of 3485 nucleotides, 1173 of which are retained in the mature P25 mRNA after splicing of five exonic sequences (Figure 1). The nucleotide sequence of the exons has been deduced by comparing the sequence of the entire gene with that of the P25 cDNA (Couble *et al.*, 1985; Chevillard *et al.*, 1986). This allowed to predict the primary sequence of the P25 protein presented on Figure 2. The whole protein comprises 220 aminoacids and has a molecular weight of 25179 daltons.

The N-terminal portion of the protein that spans the 17 aminoacids encoded by the exon 1 has the characteristics of a peptide signal (Sabatini *et al.*, 1982): a charged aminoacid near the N-terminus (an arginine in position 4) followed by a stretch of hydrophobic residues (13 aminoacids with 9 valine or alanine). The existence of a peptide signal sequence was presumed since the protein P25 is exported after packaging in membrated cell compartments. The presence of an intervening sequence that interrupts the peptide signal is also a characteristic of the genes encoding fibroin (Tsujiimoto and Suzuki, 1979) and sericin (Okamoto *et al.*, 1982) and is a rather common feature of many genes encoding secreted proteins (Breathnach and Chambon, 1981).

The composition of the presumed mature P25 protein (devoid of the N-terminal aminoacids) is presented on Figure 3. We found it to be rather balanced with leucine as the most abundant residue at 9.4%; this composition of P25 was compared with that of the major small molecular weight silk component determined by Shimura *et al.* (1976) and Gamo *et al.* (1977). As shown on Fig. 3 a and b, the compositions deduced from the gene sequence and from the extracted silk protein diverge in particular on the glycine, alanine and also phenylalanine and cysteine contents. This discrepancy may lie in the fact that the small molecular weight silk protein is heterogeneous and therefore contains, besides P25, other protein(s) of similar size, also possibly associated to fibroin.

Codon usage of the P25 mRNA

It is well documented that bias in codon usage occur for the major aminoacids encoded by fibroin mRNA. Thus, we search for putative similarities in codon differential usage between P25 and fibroin mRNA, since both mRNA are present in equimolar amounts in the posterior silk gland cells (Couble *et al.*, 1983). This was carried out for only the triplets encoding the aminoacids glycine, alanine and serine - the most abundant codons of fibroin mRNA - for which codon preferences are known. Indeed, the analyses of the nucleotides resulting from RNase digestion of the fibroin mRNA (Suzuki and Brown, 1972) and of the restriction enzyme pattern of its gene (Morrow *et al.*, 1977; Manning and Gage, 1978) have evidenced that glycine codons are GCU (27% of total codons) and GCA (19%), that most alanine codons are GCU (29%) and most serine codons are UCA (12%). These codon preferences in the fibroin mRNA contrast drastically with the codons used for these aminoacids in P25 mRNA (see Figure 4a) in which the frequencies of the four triplets for glycine and for alanine are balanced, and for which the only serine codon avoided is actually UCA, the almost exclusive one in fibroin mRNA. This suggests that, with respect to these four amino-

acids of the core sequence of fibroin, the P25 mRNA coding strategy is poorly related to that of the fibroin mRNA, despite the fact that the two corresponding genes are highly expressed in the same cells.

With the aim of comparing the codon usage of the P25 mRNA with that of other insect mRNA, we established the distribution of synonymous triplets from a compilation of sequence data of 25 insect mRNA i.e. 7100 codons. The distribution of synonymous codons in the P25 mRNA reveals differential codon usage for certain aminoacids. Thus, the pattern of codon usage presented on Figure 4 shows a higher incidence of the codons CUG for leucine (9 out of 22), CAC for histidine (8/9), GAC for aspartic acid (10/14), UAC for tyrosine (8/10), UUC for phenylalanine (11/14) and AUC for isoleucine (9/14). The Figure 4a and b shows that for most of these aminoacids (Leu, Asn, Tyr, Phe and Ile), the distribution patterns of the corresponding codons in the two populations are very similar. Though, a divergence in codon usage can be noted for what concerns arginine codons: 1 out 2 arginine in average is encoded by GCG in the compiled insect data, while only 1 out of 13 is encoded by the same triplet in the P25 mRNA.

These analyses suggest that the coding strategy of the P25 mRNA is closely related to that of an average insect mRNA sequence in contrast with fibroin mRNA.

Hydrophobicity and secondary structure predictions

The putative hydrophobic and hydrophilic domains of the protein P25 were deduced from the variations, all along the protein, of the "hydropathy index" determined by the computer program of Kyte and Doolittle (1982). They are presented on the top of the Figure 5. A large peak of hydrophobicity is observed in the 1-17 aminoacid region of the protein regardless of the window chosen. This agrees with the presence of a peptide signal sequence at the amino terminal region of the protein. It is followed by a neutral sequence up to the amino acids 50-53. From there, down to the carboxy terminus, the protein is featured by a rather regular alternation of hydrophobic and hydrophilic regions. The possibility that this periodicity may reflect higher order structures of the protein is strengthened by the observation that large portions of the hydrophobic domains match regions preferentially predicted to be ordered as β -sheet.

The determination of the highest probabilities of accessibility to the surface of the protein along the sequence of P25 according to Boyer *et al.* (1986) matches the localization of the hydrophilic valleys predicted by the program of Kyte and Doolittle (results not shown). Thus, the highest probability of interaction with the solvent falls at the aminoacids 80 to 85, a high hydrophilic domain.

The assignment of a folding type to the protein P25 was realized in locating the protein P25 in the "composition space" grouping 135 proteins of known class, built by Nakashima *et al.* (1986). By this approach, P25 appears closely related to the sub group of protein of $\alpha + \beta$ type. Interestingly, such a proposition was corroborated by the predictions of the secondary structures investigated by both the prediction scheme of Chou and Fasman (1978) and the algorithm of Garnier *et al.* (1978). The conformational profile for helical, β -sheet and β -turn potentials of tetrapeptides is shown for the complete sequence on Figure 5. The first method indicated a relative composition of 25% α -helix, 34% β -sheet and 19% of β -turns. Garnier's method which gives similar predictions led to increase the ordered secondary structure of the protein with 42% of β -sheet and 27% of α -helix and 21% of β -turns.

Both analysis are in quite good agreement for the distribution of domains of structure along the sequence of the protein. The main divergence on the predictions concerns the probable conformation of the 1-17 aminoacid sequence. This region exhi-

bits almost identical high helix and sheet potentials with the program of Chou and Fasman whereas that of Garnier and collaborators predicted high helix potentials.

From these analyses it comes out that the protein P25 is highly ordered with a predilection for β -sheet conformation versus α -helix and with noticeably frequent β -turns. A periodical structure arises from the repetition of β -turn- β -sheet- β -turn stretches, and from the regular occurrence of short α -helix regions in the carboxy terminal portion of the protein. The assignment of P25 to be of $\alpha\beta$ type is consistent with such a preponderance of α -helix in the half carboxy-terminal part of the mature protein.

The establishment of covalent bonds between P25 and fibroin may occur very early during the biosynthesis of these proteins since this linkage seems to be required for the fibroin to be secreted into the lumen (Takei *et al.*, 1984). There are several cysteine residues in the protein P25 that may participate in inter-chain bonding. In view of its location in the predicted secondary structure of the protein, the cysteine residue in position 85 may be particularly exposed. It has the property of falling into the region of highest probability of surface accessibility, on the edge of a β -turn -or possibly included in- at the interface of two regions predicted in β -sheet conformation. The cysteine residues in the fibroin sequence have not been localized except for the one in position 11 within the putative peptide signal (see Tsujimoto and Suzuki, 1979). Unfortunately, it is not known whether it is conserved or not in the mature protein.

Notwithstanding the preliminary character of this study of the conformation of the protein P25, our results suggest that the protein has a highly ordered secondary structure and emphasise the existence of a periodicity in the conformation which may be a clue in understanding the relationship between P25 and fibroin.

REFERENCES

- BOGER J., EMINI E.A., SCHMIDT J.A., (1986) Reports on the Sixth International Congress of Immunology (Toronto) July 1986. p250.
- BREATHNACH R., CHAMBON P., (1981) *Annu. Rev. Biochem.*, 50, 349-383.
- CHEVILLARD M., COUBLE P., PRUDHOMME J.C., (1986) *Nucleic Acids Res.*, 14, 6341-6342.
- CHOU P.Y., FASMAN G.D., (1978) *Adv. in Enzymol.*, 47, 45-148.
- COUBLE P., CHEVILLARD M., MOINE A., RAVEL CHAPUIS P., PRUDHOMME J.C., (1985) *Nucleic Acids Res.*, 13, 1801-1814.
- COUBLE P., MOINE A., GAREL A., PRUDHOMME J.C., (1983) *Develop. Biol.*, 97, 398-407.
- GAMO T., INOKUCHI T., LAUFER H., (1977) *Insect Biochem.*, 7, 285-295.
- GARNIER J., OSGUTHORPE D.J., ROBSON B., (1978) *J. Mol. Biol.*, 120, 97-120.
- KYTE J., DOOLITTLE R.F., (1982) *J. Mol. Biol.*, 157, 105-132.
- MANNING R.F., GAGE L.P., (1978) *J. Biol. Chem.*, 253, 2044-2052.
- MORROW J.F., WOZNEY J.M., ESFRATIADIS A., (1977) in *Recombinant molecules* (R.F. Beers and E.G. Bassett Edts), Raven Press, New York, 409-417.
- NAKASHIMA H., NISHIKAWA K., OOI T., (1986) *J. Biochem.*, 99, 153-162.
- SABATINI D.D., KREIBICH G., MORIMOTO T., ADESNIK M. (1982) *J. Cell. Biol.*, 92, 1-22.
- SHIMURA K., KIKUCHI A., OHOTOMO K., KATAGATA Y., HYODO A., (1976) *J. Biochem.*, 80, 693-702.
- SUZUKI Y., BROWN D.D., (1972) *J. Mol. Biol.*, 63, 407-425.
- TAKEI F., OYAMA F., KIMURA, HYODO A., MIZUNO S., SHIMURA K., (1984) *The Journal of Cell Biology*, 99, 2005-2010.
- TSUJIMOTO Y., SUZUKI Y., (1979) *Cell*, 1B, 591-600.

FIGURE 1.

Organization of the gene of P25. Overlapping genomic insert of genomic clones carrying P25 gene sequence are shown on top of the figure. Exons and introns are represented as black and empty boxes respectively. Hatched boxes represent the untranslated region of E1 at the 5' end and of E55 at the 3' end of the gene. Restriction map for the enzyme listed is shown on the bottom line.

Organisation du gène de P25. Les clones génomiques contenant le gène P25 sont indiqués sur le haut de la figure. Les exons et les introns sont représentés respectivement par des rectangles pleins et vides. Les rectangles hachurés représentent les régions non traduites de E1 à l'extrémité 5' et de E5 à l'extrémité 3' du gène. La carte de "restriction" pour les enzymes indiquées est portée sur la ligne du bas.

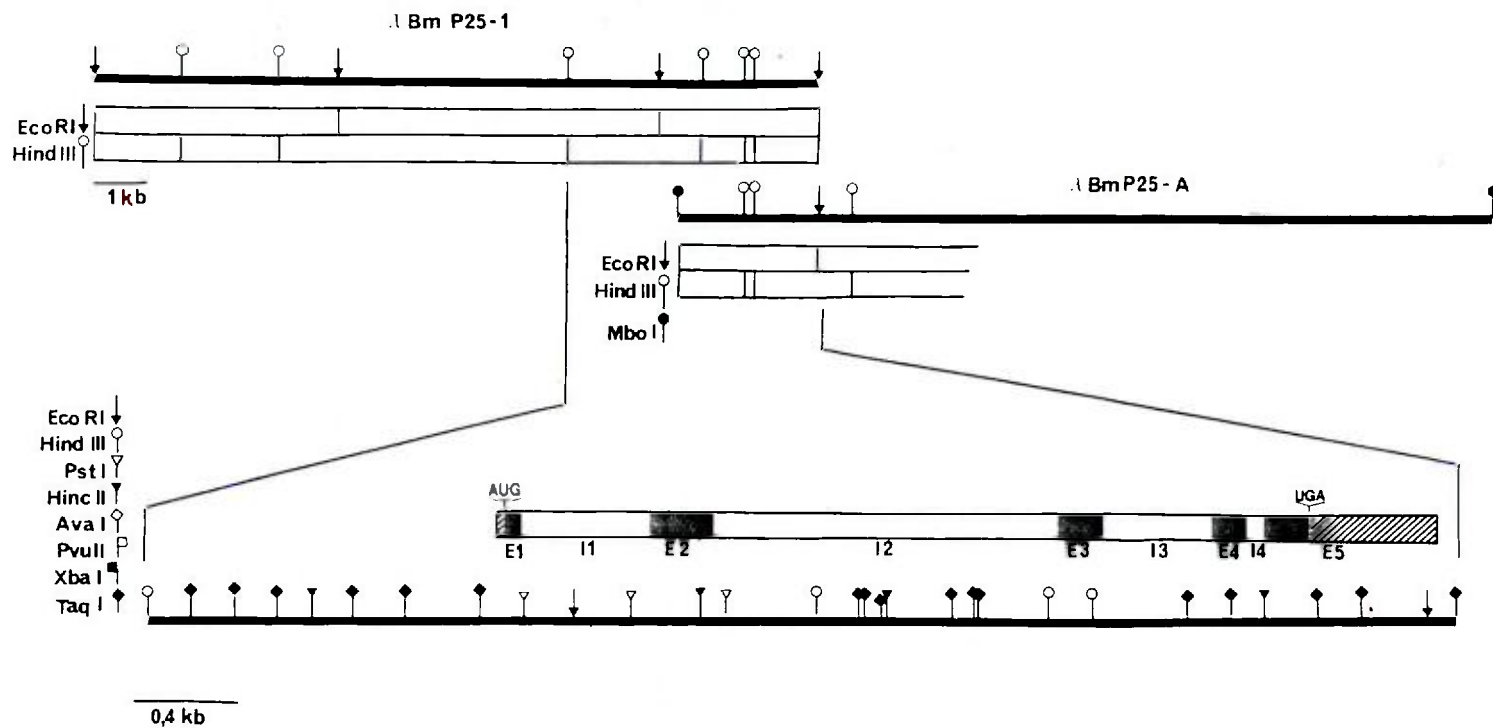


FIGURE 1

FIGURE 2.

Coding sequence of the P25 gene and conceptual aminoacid sequence of the protein. Arrows indicated the position of intron insertion.

Séquence codante du gène P25 et séquence conceptuelle de la protéine. Les flèches indiquent la position des insertions d'intron.

Met	Leu	Ala	Arg	Cys	Leu	Ala	Val	Ala	Ala	Val	Ala	Val	Leu	Ala	Ser	Ala	Gly	Pro	Pro	Ser	Pro	Ile	Tyr	Arg	Pro	Cys	Tyr	Leu	Asp
AUG	CUG	GCG	CGG	UGU	CUA	GCU	GUA	GCC	GCU	GUU	GCA	GUU	UUG	GCU	UCU	GCA	GGG	CCG	CCG	AGU	CCG	AUC	UAC	AGG	CCC	UGC	UAC	UUG	6AC
	6		12		18		24		30		36		42		48		54		60		66		72		78		84		90
Asp	Tyr	Lys	Cys	Ile	Ser	Asp	His	Leu	Ala	Ala	Asn	Ser	Lys	Cys	Ile	Pro	Gly	Arg	Gly	Gln	Ile	Pro	Ser	Gln	Tyr	Glu	Ile	Pro	Val
GAU	UAC	AAA	UGC	AUC	UCC	GAC	CAC	CUG	GCC	GCG	AAC	UCG	AAA	UGU	AUC	CCG	GGC	AGA	GGG	CAG	AUC	CCC	UCG	CAG	UAC	GAG	AUA	CCG	GUG
	96		102		108		114		120		126		132		138		144		150		156		162		168		174		180
Phe	Gln	Phe	Glu	Ile	Pro	Tyr	Phe	Asn	Ala	Thr	Tyr	Val	Asp	His	Asn	Leu	Ile	Thr	Arg	Asn	His	Asp	Gln	Cys	Arg	Val	Ser	Glu	Phe
UUC	CAG	UUU	GAA	AUA	CCA	UAC	UUC	AAC	GCC	ACC	UAC	GUC	GAC	CAU	AAU	CUC	AUU	ACC	CGU	AAU	CAC	GAU	CCC	UGC	CGU	GUC	AGC	GAA	UUU
	186		192		198		204		210		216		222		228		234		240		246		252		258		264		270
Tyr	Asp	Asn	Val	Arg	Thr	Leu	Lys	Thr	Val	Leu	Thr	Val	Asp	Cys	Pro	Trp	Leu	Asn	Phe	Glu	Ser	Asn	Arg	Thr	Leu	Ala	Gln	His	Met
UAU	GAC	AAU	GUG	AGA	ACU	UUA	AAA	ACA	GUU	UUA	ACC	GUG	GAC	UGU	CCG	UGG	CUG	AAC	UUU	GAA	UCC	AAC	CGG	ACC	UUG	ACU	CAG	CAC	AUG
	276		282		288		294		300		306		312		318		324		330		336		342		348		354		360
Ser	Phe	Lys	Glu	Asp	Val	Val	Leu	Ser	Phe	Tyr	Ile	Asn	Gly	Ser	Tyr	Pro	Leu	Ile	Arg	Leu	Thr	Thr	Val	Phe	Asp	Lys	Glu	Asn	Asn
UCG	UUC	AAU	GAA	GAC	GUC	GUC	UUA	AGC	UUC	UAC	AUC	AAU	GGG	UCU	UAU	CCU	UUG	AUC	AGG	CUA	ACG	ACA	GUG	UUU	GAU	AAG	GGC	AAC	AAU
	366		372		378		384		390		396		402		408		414		420		426		432		438		444		450
Phe	Asp	Leu	Cys	Ser	Ala	Phe	Thr	Phe	Ala	Asp	Leu	Ala	Gly	Gly	Leu	Pro	Ile	Phe	His	Ile	Asn	Pro	Asn	Asp	Gln	Arg	Thr	Ala	Gln
UUC	GAC	UUU	UGU	UCC	GUU	UUC	ACG	UUC	GCA	GAC	CUG	GCC	GGG	GGU	CUG	CCC	AUC	UUC	CAC	AUU	AAC	CCU	AAU	GAC	CAA	CGC	ACA	GCG	CAG
	456		462		468		474		480		486		492		498		504		510		516		522		528		534		540
Trp	Leu	Ser	Lys	Asp	Leu	Thr	Leu	Leu	His	Ile	Tyr	Glu	Arg	Glu	His	Ile	Phe	Gly	Lys	Arg	Asn	Trp	Leu	Ala	Arg	Ser	Phe	Ile	Ser
UGG	UUG	UCU	AAA	GAU	CUG	ACC	CUG	CUG	CAC	AUU	UAC	GAG	AGA	GAG	CAC	AUC	UUC	GGA	AAG	AGG	AAC	UGG	CUG	GCG	AGG	UCC	UUC	AUC	AGC
	546		552		558		564		570		576		582		588		594		600		606		612		618		624		630
Arg	Thr	Leu	Cys	Asp	Phe	Gly	Cys	His	His																				
AGA	ACA	CUC	UGC	GAC	UUC	GGU	UGC	CAC	CAC																				
	636		642		648		654		660																				

FIGURE 2

FIGURE 3.

Aminoacid composition of the protein P25 predicted from the gene coding sequence, expressed in percent of aminoacid residues. (a) and (b) correspond to the aminoacid composition of the small molecular weight silk protein determined respectively by Shimura *et al.* (1976) and Gamo *et al.* (1977).

Composition en acides aminés de la protéine P25 déduite de la séquence de la partie codante du gène, exprimée en pourcentage des acides aminés. (a) et (b) correspondent respectivement à la composition de la protéine soyeuse de faible poids moléculaire obtenue par Shimura *et coll.* (1976) et Gamo *et coll.* (1977).

		(a)	(b)
Leu	9.4	7.17	7.0
Phe	7.4	2.67	1.7
Ile	6.9	7.28	6.4
Asp	6.9		
Asn	6.4	15.4	14.7
Ser	6.4	7.93	10.9
Arg	5.9	3.78	4.1
Thr	5.9	2.83	3.4
Pro	5.9	3.04	3.4
Tyr	4.9	3.42	3.1
Ala	4.4	16.9	13.7
Gly	4.4	10.0	11.4
Val	4.4	7.38	5.5
His	4.4	1.64	2.2
Cys	3.9	1.64	1.3
Lys	3.4	1.51	2.2
Gln	3.4		
Glu	3.4	8.35	8.9
Trp	1.5	ND	ND
Met	0.5	0.38	0.3

FIGURE 3

FIGURE 4.

Codon usage of the P25 mRNA (a) and distribution of the synonymous codons of 25 compiled insect mRNA coding sequences (b).

Utilisation des codons dans l'ARNm de P25 (a) et distribution des codons synonymes dans les séquences codantes de 25 ARNm d'insectes (b).

		(a)	(b)			(a)	(b)	
ARG	AGA	4	16	URL	GUA	1	36	
	AGG	4	16		GUC	4	158	
	CGA	0	28		GUG	5	240	
	CGC	1	164		GUU	2	83	
	CGG	2	32	LYS	AAA	4	65	
	CGU	2	66		ARG	3	356	
LEU	CUA	2	31	ASN	AAC	7	193	
	CUC	2	113		AUU	6	72	
	CUG	9	306	GLN	CAA	1	50	
	CUU	0	45		CAG	6	209	
	UUA	3	13	HIS	CAC	8	97	
	UUG	6	111		CAU	1	50	
SER	AGC	3	82		GLU	GAA	4	87
	AGU	1	41			GAG	3	386
	UCA	0	22	ASP	GAC	10	240	
	UCC	3	137		GAU	4	173	
	UCG	4	88	TYR	UAC	8	162	
	UCU	3	49		UAU	2	69	
THR	ACA	4	43	CYS	UGC	5	88	
	ACC	5	225		UGU	4	26	
	ACG	2	74	PHE	UUC	11	178	
	ACU	1	53		UUU	4	62	
PRO	CCA	1	62	ILE	AUA	2	25	
	CCC	3	157		AUC	9	271	
	CCG	6	82		AUU	3	107	
	CCU	2	47	MET	AUG	2	136	
ALA	GCA	3	91		TRP	UGG	3	64
	GCC	4	278					
	GCG	4	75					
	GCU	5	180					
GLY	GGA	2	182	NET	AUG	2	136	
	GGC	2	280					
	GGG	3	23					
	GGU	2	205					

FIGURE 4

FIGURE 5.

Hydropathy index plot and secondary structure of the protein P25.

The hydropathy index displayed on top of the figure was determined using a span setting of nine aminoacids.

Stippled boxes represent the domains of the protein with α or β conformation predicted with the method of Chou and Fasman (1978). Black boxes correspond to the prediction of conformation using the algorithm of Garnier *et al.* (1978). Empty triangles represent the position of β -turns deduced from the Chou and Fasman's analysis; the corresponding variations of the β -turns potentials with this method are shown at the bottom of the figure. Black triangles are centered on β -turn stretches predicted by Garnier and collaborators. Arrows indicated the positions of each of the nine cysteine residues of the protein.

"Indice d'hydropathie" et structure secondaire de la protéine P25.

L'indice porté sur le haut de la figure a été déterminé en utilisant un pas d'analyse de neuf acides aminés.

Les rectangles pointillés représentent les domaines avec une conformation α ou β prédites à partir de la méthode de Chou et Fasman (1978). Les rectangles pleins correspondent aux prédictions découlant de l'algorithme de Garnier et coll. (1978). Les triangles vides donnent les positions des coudes déterminées selon Chou et Fasman ; les variations des potentiels de coude selon cette méthode sont indiquées au bas de la figure. Les triangles noirs sont centrés sur les motifs en coude prédits à partir de la méthode de Garnier et coll. Les flèches indiquent la position de chacune des neufs cystéines de la protéine.

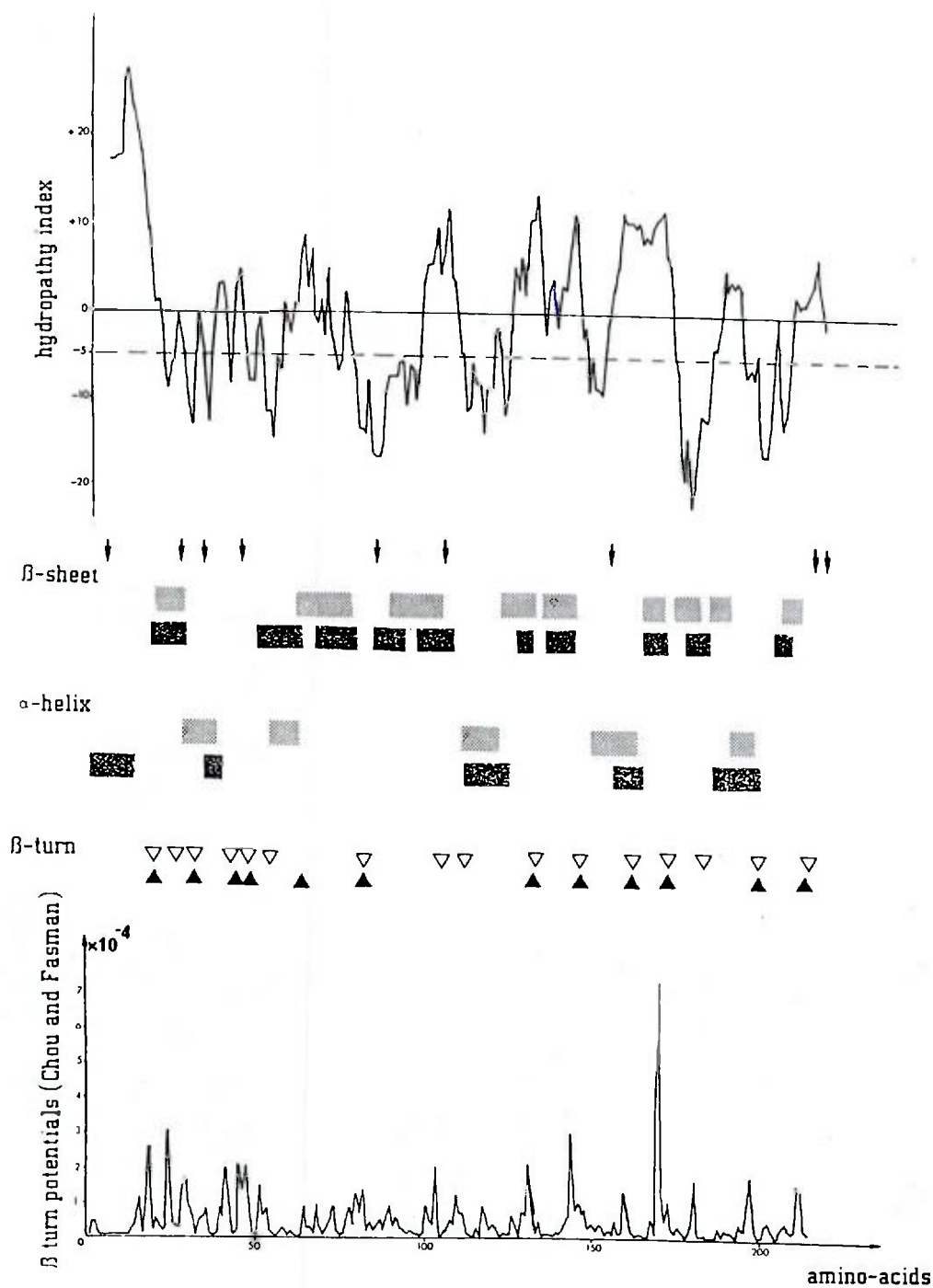


FIGURE 5

SEQUENCE D'ACIDES AMINES ET CARACTERISTIQUES STRUCTURALES
DE LA PROTEINE DE LA SOIE DE 25KD CHEZ BOMBYX MORI

Martine CHEVILLARD*, Gilbert DELEAGE** et Pierre COUBLE*

UA CNRS 92 (*) and UM CNRS 24 (**),
Université Claude Bernard,
43, boulevard du 11 Novembre 1918,
69622 VILLEURBANNE,
France.

La protéine P25 de *Bombyx mori* est un composant de la soie de 25 KD lié par des ponts disulfure à la grande fibroïne de 370 KD (Couble et coll., 1983). Cette protéine est codée par un long ARNm de 1100 nucléotides traduit par les cellules de la partie postérieure de la glande séricigène (sécréteur). L'ARNm de P25 et celui de la fibroïne s'accumulent de manière conjointe dans les cellules du sécréteur de telle sorte que leur concentration molaire est identique tout au long de la période de synthèse de la soie (Couble et coll., 1983). Ceci peut résulter de la présence de promoteurs semblables dans les deux gènes comme le suggère l'existence de séquences fortement homologues entre les régions flanquantes en 5' de ces deux gènes (Couble et coll., 1985). Dans cet article, nous décrivons la séquence de la protéine P25 et présentons les conformations possibles prédites par des programmes d'analyse des structures secondaires des protéines.

MATERIELS ET METHODES

La séquence d'acides aminés de la protéine P25 a été déterminée par la traduction théorique de la séquence exonique du gène de P25 (Chevillard et coll., 1986).

Le profil d'hydrophobicité de la protéine a été établi selon le procédé de Kyte et Doolittle (1982) en utilisant une "fenêtre" de neuf acides aminés. Les prédictions de structure secondaire ont été obtenues par la méthode de Chou et Fasman (1978) et celle de Garnier et coll. (1978). Ces méthodes utilisent les structures tri-dimensionnelles connues de protéines variées pour calculer la fréquence et l'importance des acides aminés dans les différentes conformations hélicoïdales, en feuillets et en

coudes. Des précisions dans la structure proposée ont été apportées par l'analyse des bornes selon les recommandations de Chou et Fasman (1978).

Pour l'étude de l'usage des codons, nous avons compilé 25 séquences d'ARNm d'insectes en utilisant les données et les programmes de la banque ACNUC de l'Institut d'Evolution Moléculaire (Lyon).

RESULTATS ET DISCUSSION

Séquence d'acides aminés de la protéine P25

Le gène de la protéine de la soie P25 est constitué d'une séquence de 3485 nucléotides, 1173 d'entre eux se retrouvant dans l'ARNm mature après l'épissage de cinq exons (Figure 1). La séquence des exons a été déduite par comparaison de la séquence du gène entier avec celle de l'ADN complémentaire du mRNA P25 (Couble et coll., 1985 ; Chevillard et coll., 1986). Ceci permet de prédire la séquence primaire de la protéine P25 présentée sur la Figure 2. La protéine complète est constituée de 220 acides aminés et a un poids moléculaire de 25179 daltons.

La partie N-terminale de la protéine qui correspond aux 17 acides aminés codés par l'exon 1 a les caractéristiques d'un signal peptidique (Sabatini et coll., 1982): un acide aminé chargé près de l'amine terminal (une arginine en position 4) suivi par une série de résidus hydrophobes (13 acides aminés dont 9 valine ou alanine). L'existence d'un signal peptidique était attendue puisque la protéine P25 est exportée après l'emballage dans les compartiments membranaires de la cellule. La présence d'une séquence intronique qui interrompt le signal peptidique est également une caractéristique des gènes codant pour la fibroïne (Tsujimoto et Suzuki, 1979) et la sérécine (Okamoto et coll., 1982) et est un trait ordinaire de nombreux gènes codant pour des protéines sécrétées (Breathnach et Chambon, 1981).

La composition supposée de la protéine P25 mature (en dehors des acides aminés N-terminaux) est présentée sur la Figure 3. Elle est équilibrée avec la leucine comme acide aminé prépondérant qui constitue 9,4 % des résidus ; cette composition peut être comparée à celle du composé majeur de la soie de faible poids moléculaire déterminée par Shimura et coll. (1976) et Gamo et coll. (1977). Comme le montre la Figure 3a et b, les compositions déduites de la séquence du gène et de la protéine extraite de la soie divergent principalement pour la teneur en glycine, alanine, phénylalanine et cystéine. Ceci peut signifier que le composé à faible poids moléculaire extrait de la soie est hétérogène et contient en plus de P25 d'autres protéines de taille similaire qui pourraient aussi être associées à la fibroïne.

Utilisation des codons dans l'ARNm de P25

Il est bien connu que l'usage des codons est très déséquilibré dans l'ARN de la fibroïne, pour les acides aminés majeurs. Aussi, nous avons cherché si une telle utilisation différentielle des codons existe à la fois pour l'ARNm P25 et l'ARNm de la fibroïne, puisque ces deux ARNm sont présents en quantités équimolaires dans les cellules de la partie postérieure de la glande sérécigène (Couble et coll., 1983). Cette comparaison a été faite seulement pour les triplets correspondant à la glycine, l'alanine et la sérine (les codons les plus abondants dans l'ARNm de la fibroïne) pour lesquels l'usage préférentiel est connu. Les analyses des nucléotides provenant de la digestion à la RNase de l'ARNm de la fibroïne (Suzuki et Brown, 1972) et celles des profils de digestion par enzymes de restriction du gène lui-même (Morrow et coll., 1977 ; Manning et Gage, 1978) ont montré que les codons de la glycine sont GCU (27 % de l'ensemble des codons) et GCA (19 %), que les codons prépondérants pour l'alanine

sont GCU (29 %) et pour la sérine UCA (12 %). Cette "préférence" observée dans l'ARNm de la fibroïne contraste pour ces mêmes acides aminés avec celle de l'ARNm de P25 (voir Figure 4a) dans lequel les fréquences des quatre codons de la glycine et de l'alanine sont voisines et où le seul codon absent pour la sérine est UCA, celui-là même qui est presque exclusif dans l'ARNm de la fibroïne. Ceci suggère que, pour ce qui concerne ces quatre acides aminés principaux de la fibroïne, la stratégie de codage dans l'ARNm P25 a peu de rapport avec celle de l'ARNm de fibroïne, malgré le fait que les deux gènes concernés soient fortement exprimés dans les mêmes cellules.

Dans le but de comparer la fréquence des codons de l'ARNm P25 et celle des ARNm d'autres insectes, nous avons établi la distribution des triplets synonymes à partir des séquences de 25 ARNm d'insectes, c'est-à-dire 7100 codons. L'analyse de la distribution des codons synonymes dans l'ARNm P25 indique un usage différentiel pour certains acides aminés. Ainsi, les résultats de la Figure 4 montrent une fréquence élevée des codons CUG pour la leucine (9 sur 22), CAC pour l'histidine (8 sur 9), GAC pour l'acide aspartique (10 sur 14), UAC pour la tyrosine (8 sur 10), UUC pour la phénylalanine (11 sur 14) et AUC pour l'isoleucine (9 sur 14). La figure 4 (a et b) montre que pour la plupart de ces acides aminés (Leu, Asn, Tyr, Phe et Ile) la distribution des codons correspondants dans les deux populations est très voisine. Une divergence peut être notée concernant les codons de l'arginine : une arginine sur deux en moyenne est codée par CGC dans les ARNm d'insectes pris globalement, alors que une sur 13 seulement est codée par le même triplet dans l'ARNm P25.

Ces analyses suggèrent que la stratégie de codage de l'ARNm P25 est très proche de celle de la séquence moyenne des ARNm d'insecte contrairement à l'ARNm de fibroïne.

Hydrophobicité et structure secondaire putatives

Les domaines hydrophobes et hydrophiles supposés de la protéine P25 ont été déduits des variations, tout le long de la protéine, de l'"indice d'hydropathie" déterminé par le programme de Kyte et Doolittle (1982). Elles sont présentées en haut de la Figure 5. Un pic important d'hydrophobicité est observé dans la région des acides aminés 1 à 17 quelle que soit la "fenêtre" choisie. Ceci est en accord avec la présence du signal peptidique de la région amino-terminale de la protéine. Une séquence neutre suit cette région jusqu'aux acides aminés 50-53. A partir de là et jusqu'à la partie carboxy-terminale, la protéine est constituée par une alternance presque régulière de régions hydrophobes et hydrophiles. La possibilité que cette périodicité reflète des structures d'ordre supérieur de la protéine est renforcée par le fait que des régions importantes des domaines hydrophobes recouvrent des régions prédites sous forme de feuillet β .

La détermination des probabilités les plus élevées d'accessibilité en surface le long de la séquence de la protéine P25 selon la méthode de Boyer et coll. (1986) recoupe la localisation des vallées hydrophiles déterminées par le programme de Kyte et Doolittle (résultats non montrés). Ainsi, la plus forte probabilité d'interaction avec le solvant correspond aux acides aminés 80 à 85, un domaine très hydrophile.

L'attribution d'une structure type à la protéine P25 a été réalisée en localisant la protéine P25 dans l'"espace de composition" construit par Nakashima et coll. (1986), groupant 135 protéines de classe connue. Par ce procédé, P25 apparaît très proche du sous-groupe des protéines de type α + β . Il est intéressant de constater que cette proposition est corroborée par les prédictions de structures secondaires établies selon la méthode de Chou et Fasman (1978) et l'algorithme de Garnier et coll. (1978). Les profils de conformation prédite en hélice, feuillet β et coude sont indiqués sur la Figure 5 pour la séquence complète. La première méthode donne une composition relative de 25% en hélice α , 34% en feuillet β et 19% en coude. La méthode de

Garnier qui donne des prédictions similaires conduit à une augmentation des structures secondaires de la protéine avec 42% de feuillet β et 27% d'hélice α et 21% de coude.

Les deux analyses sont assez convergentes quant à la distribution des domaines structurés tout au long de la séquence de la protéine. Le principal désaccord entre ces prédictions concerne la conformation de la séquence des acides aminés 1 à 17. Cette région possède des potentiels presque aussi importants pour la structure en hélice ou en feuillet selon le programme de Chou et Fasman alors que la méthode de Garnier et coll. prédit seulement une conformation en hélice.

A partir de ces analyses, il apparaît que la protéine P25 est fortement ordonnée avec une prédilection pour la conformation en feuillet β par rapport à l'hélice α et une fréquence notable de coudes. Une structure périodique émerge de la répétition du motif "coude-feuillet β -coude" et de la disposition régulière de courtes régions en hélice α dans la partie carboxy-terminale de la protéine. L'attribution du type $\alpha + \beta$ à P25 est cohérente avec une telle prépondérance d'hélices α dans la moitié carboxy-terminale de la protéine mature.

La mise en place de liaisons covalentes entre P25 et la fibroïne peut intervenir très tôt lors de la biosynthèse de ces protéines puisque cette liaison semble nécessaire à la sécrétion de la fibroïne dans la lumière de la glande séricigène (Takei et coll., 1984). Il existe plusieurs résidus cystéine dans P25 qui peuvent intervenir dans la liaison inter-chaînes. Du point de vue de la structure secondaire, le résidu cystéine en position 85 peut être particulièrement exposé. Il est dans la région de plus forte probabilité d'accessibilité de surface, près d'un coude - ou inclus dans celui-ci - à l'interface entre deux régions ayant une conformation supposée en feuillet β . Les résidus cystéine dans la séquence de la fibroïne n'ont pas été localisés sauf pour un en position 11 à l'intérieur du signal peptidique supposé (voir Tsujimoto et Suzuki, 1979). Néanmoins, nous ne savons pas si ce résidu est conservé dans la protéine mature.

Malgré le caractère préliminaire de cette étude de la conformation de la protéine P25, nos résultats suggèrent que la protéine possède une structure secondaire fortement ordonnée et met l'accent sur l'existence d'une périodicité conformationnelle, ce qui peut constituer un indice dans la compréhension des relations entre P25 et fibroïne.

GIANT COCOON FORMATION IN BOMBYX MORI L., TOPICALLY TREATED
WITH JUVENILE HORMONE SJ-42-F

S.K. CHOWDHARY, F. SEHNAL*, S.K. RAJ, P.S. RAJU and SARITA MATHU

Regional Research Laboratory (Branch),
Sanat Nagar, Srinagar 190 005,
Kashmir,
India.

The effect of the juvenile hormone SJ-42-F applied topically on the abdominal tergum of the silkworm, Bombyx mori L., after the fourth ecdysis, has been studied. Several parameters such as the right time and dose of application of this juvenile hormone were also determined. An increase in shell weight and shell ratio, a decrease in pupal weight and the prolongation of the feeding period were observed.

INTRODUCTION

Juvenile hormones are known to affect the larval period as evidenced by the work of Wigglesworth (1936). Later, Williams (1959,61) revealed that JH prevented adult development of Saturniid pupae; similar observations have also been made by him on several metabulous species. The work on the application of JH for increasing silk production in *B. mori*, started with the findings of Akai and his associates (1971). They reported that an injection of *Cecropia* JH brought an increase in the duration of feeding period and also in the fibroin synthesis of the fifth instar larva. A few reports have subsequently been published relating to the utilization of JH analog for silkworm rearing (Chang *et al.*, 1972; Murakoshi *et al.*, 1972 and Nihmura *et al.*, 1972). Nihmura and his associates (1972) revealed that JH analogs bearing an ethyl substituent on C-7 and an n-propyl substituent on C-11 possessed 40-80 times more activity as that of the natural C18 JH. Nihmura *et al.* (1974) also worked on a number of synthetic JH analogs and observed that most of the JH analogs delay maturation of larvae, thereby prolonging the instar duration and increasing the cocoon silk.

The present study was undertaken with the view of evaluating the effect of SJ-42-F JH on the growth and silk production in the larvae of *B. mori* L.

* Department of Physiology, Institute of Entomology, Czechoslovak Academy of Sciences Prague, Czechoslovakia.

MATERIAL AND METHODS

Preparation of doses:

The Juvenile Hormone SJ-42-F (Structure 1) was used in the present study (Fig. 1).

This compound was supplied by one of the authors (F. Sehnal, Czechoslovak Academy of Sciences, Czechoslovakia). The compound was dissolved in acetone and three concentrations of 20 μ g/10 μ l, 2 μ g/10 μ l and 0.2 μ g/10 μ l were prepared.

Test animals and method of application:

Fifth instar larvae of the silkworm, *Bombyx mori* L., of F1 hybrid between Shunrie x Shogestu were used. The larvae were reared on mulberry leaves at 24°C $\pm$ 1°C and 70% relative humidity. Larvae of equal size and weight were selected after the fourth ecdysis. The selected larvae were divided into 12 batches consisting of 3 replicates each. Each replicate had 20 animals. 0.2 μ g, 2 μ g and 20 μ g of the test compound was dissolved in 10 μ l of acetone, was topically applied on the abdominal tergum of the larva using a 100 μ l microsyringe controlled by a micro-applicator. The applications on the first three batches were carried out 48 hours after the fourth ecdysis while the fourth, fifth and sixth batches were treated at 72 hrs and the batches no. 7, 8 and 9 were treated at 96 hrs after the fourth ecdysis. Along with each treatment, a control was run which was only treated with 10 μ l of acetone.

RESULTS AND DISCUSSION

The findings presented in Table I, reveal that the shell weight varied with the time and dose of application. The most suitable time of application was found to be 48 and 72 hrs after the fourth ecdysis, with doses of 2 μ g/larva and 20 μ g/larva. The significant observation was the increase in silk weight, silk ratio, larval prolongation and decrease in pupal weight.

Silk weight

It was observed that the most suitable time of application is between 48 hrs and 72 hrs, with a dose of 2 μ g/larva and 20 μ g/larva to get the highest increase in silk content, i.e. 0.42g and 0.47g respectively; whereas the control has only 0.33g silk weight.

Silk ratio

As is evident from Table I, the most significant value of silk ratio was observed with the dose of 2.0 μ g/larva on the second and third day. The highest increase in shell ratio varied from 22.86% to 22.95%. It is thus clear that this juvenile hormone increases the silk contents and decreases the pupal weight, thereby increases the economic character of the cocoon.

Length of development

It is very important for any JH study to take into account the larval development i.e. prolongation of feeding period. In the present studies it has been observed that the application of 2 g/larva at 48 hours after the fourth ecdysis resulted in the minimum increase in feeding period, i.e. 26 hours (1 day and 2 hours) and is significant.

Akai *et al.* (1971) also reported similar results with one of the synthetic hormone C18 JH which gave a 30% increase in silk layer over control. In the present study, it is a 41.98 to 42.54% increase in shell ratio over the control. Chang *et al.* (1972) also observed a 20% increase in cocoon and pupal weight with giant cocoon production when the larvae were treated with the methylenedioxyphenyl derivatives.

The application of JH after the third day prolonged the feeding period from 2 to 5 days and no cocoon formation took place, instead malformation and death was observed. These findings are in accordance with Chang *et al.* (1972), who also found that the effect of JH on silkworm larvae prolonged the feeding period when applied after the 3rd day onwards. They also found that the highest increase in silk production takes place when the application is done on the 2nd and 3rd day. In the present studies it is also observed that the application of 20µg/larva at 72 hrs increases the silk contents upto 0.47g but is not significant as it increases the larval period by 67 hrs (2 days and 19 hrs). The increase in larval period i.e. feeding period is directly proportional to feed consumed and labour inputs. Thus the increase in larval period is only significant if the increase in silk content is the highest as is being observed with the treatment of 2µg/larva at 48 hrs.

The fecundity of giant cocoon moths was also observed. It is found that the number of eggs per laying in the treated moths varied from 350 to 400, whereas in the control the number of eggs per laying varied from 300 to 350. The same finding was also recorded by Chang *et al.* (1972).

It is evident from the above findings that the JH along SJ-42-F is extremely effective in increasing the silk weight of cocoon with a slight increase in the feeding period. Taking into account the silk increase, feed and labour input, the application of SJ-42-F (JH analog) is significantly economical and the production of silk by its use can be increased by more than 21% over control.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are highly thankful to Dr. C.K. Atal, Director, Regional Research Laboratory, Jammu/Srinagar, for his constant guidance and encouragement during the course of study.

REFERENCES

- AKAI H., KIGUCHI K., MORI K., (1971) Increased accumulation of silk protein accompanying JH-induced prolongation of larval life in *Bombyx mori* L., Appl. Entomol. Zool., 6, 218-220.
- AKAI H., KIGUCHI K., (1971) Abst. Paper 41st Annual Meet., Sericulture Society, Tokyo (Japan), 40.
- CHANG C.F., MURAKOSHI S., TAMURA S., (1972) Giant cocoon formation in the silkworm *Bombyx mori* L., topically treated with methylenedioxyphenyl derivatives, Agric. Biol. Chem., 36(4), 692-694.
- MURAKOSHI S., CHANG C.F., TAMURA S., (1972) Increase in silk production by silkworm *Bombyx mori* L. due to oral administration of Juvenile Hormone analog, Agricultural and Biological Chemistry, 36, 695-696.

- NIHMURA M., AOMORI S., MORI K., MATSUI M., (1972) Utilization of synthetic compounds with JH activity for the silkworm rearing, Agri. Biol. Chem., 38, 889-892.
- NIHMURA M., AOMORI S., OZAWA Y., MORI K., MATSUI M., (1974) Effect of novel analogs of the juvenile hormone. I. Effects of Juvenile Hormone analogs with different alkyl substituents at C-7 and C-11 on the silkworm *Bombyx mori* L. (Lepidoptera-Bombycidae), Appl. Entomol. Zool., 9(1), 34-40.
- WIGGLESWORTH V.B., (1936) The function of the corpus allatum in the growth and reproduction of *Rhodnius prolixus*, Quart. J. Micr. Sci., 79, 91-119.
- WILLIAMS C.M., (1959) The Juvenile Hormone. I. Endocrine activity of the corpora allata of the adult *Cecropia* silkworm, Biol. Bull. Wood's Hole., 116, 323-338.
- WILLIAMS C.M., (1961) The Juvenile Hormone. II. Its role in endocrine control of moulting pupation and adult development in the *Cecropia* silkworm, Biol. Bull. Wood's Hole., 121, 572-585.

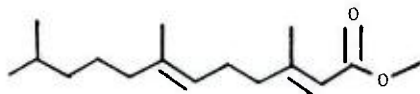


Fig. 1. STRUCTURE I. SJ-42-F

	Dose (μ g/larva)/	Time of application (hrs)/	Larval period (days-hrs)/	Larval prolongation (days-hrs)/	Cocoon weight (gms)/	Pupal weight (gms)/	Shell weight (gms)/	Shell ratio %/	Increase in shell ratio over control/ Augmentation richesse soyeuse par rapport au témoin %
	Dose (μ g/larve)	Moment du traitement (heures)	Période larvaire (jours-h)	Prolongation larvaire (jours-h)	Poids du cocon (g)	Poids de la chrysalide (g)	Poids de la coque (g)	Richesse soyeuse %	
1	0.2	A	28-21	1-19	1.97(0.014)	1.55(0.009)	0.42(0.012)	21.32	32.42
2	2.0		28-04	1-02	1.83(0.012)	1.41(0.010)	0.42(0.008)	22.95	42.54
3	20.0		28-21	1-19	1.94(0.013)	1.58(0.006)	0.36(0.10)	18.56	15.27
4	0.2	B	29-04	2-02	1.79(0.010)	1.55(0.009)	0.24(0.006)	13.41	16.70
5	2.0		29-03	2-01	1.40(0.012)	1.08(0.010)	0.32(0.007)	22.86	41.98
6	20.0		29-21	2-19	2.34(0.013)	1.87(0.007)	0.47(0.008)	20.09	24.78
7	0.2	C	32-02	5-0	No cocoon formation/ Pas de formation du cocon ...				
8	2.0		32-04	5-02	do/idem ...				
9	20.0		32-03	5-01	do/idem ...				
10	CONTROL		27-02	-	2.05(0.008)	1.72(0.008)	0.33(0.008)	16.10	

The experiment was conducted in 3 replicates/ L'expérience a été effectuée en 3 replicatas

Table I. Effect of SJ-42-F(JH) on growth and silk % increase in *Bombyx mori* L.

Tableau I. Effet de SJ-42-F(JH) sur la croissance et l'augmentation de la production de soie chez *Bombyx mori* L.

FORMATION DE COCONS GEANTS CHEZ LE VER A SOIE BOMBYX MORI L.
TRAITE LOCALEMENT AVEC L'HORMONE JUVENILE SJ-42-F

S.K. CHOWDHARY, F. SEHNAL*, S.K. RAJ, P.S. RAJU et SARITA MATHU

Regional Research Laboratory (Branch),
Sanat Nagar, Srinagar 190 005,
Kashmir,
Inde.

Nous avons étudié l'effet de l'hormone juvénile SJ-42-F appliquée localement sur le tergum abdominal du ver à soie Bombyx mori L., après la 4ème mue. Plusieurs paramètres tels que le moment et la dose adéquats de l'application de cette hormone juvénile ont aussi été déterminés. Nous avons observé une augmentation du poids de la coque soyeuse et de la richesse soyeuse, une diminution du poids de la chrysalide et un allongement de la période d'alimentation.

INTRODUCTION

On sait que les hormones juvéniles affectent la période larvaire comme l'a montré le travail de Wigglesworth (1936). Plus tard, Williams (1959, 61) a montré que l'hormone juvénile empêche le développement en adulte des chrysalides de saturniides. Il a également fait des observations similaires chez plusieurs autres espèces holométaboles. La recherche concernant l'application de JH pour accroître la production de soie chez B. mori, a débuté avec les découvertes de Akai et ses collaborateurs (1971). Il ont montré qu'une injection d'hormone juvénile de Cecropia avait comme conséquences une augmentation de la période d'alimentation et de synthèse de la fibroïne chez les larves du 5ème âge. Quelques rapports ont ensuite été publiés au sujet de l'utilisation d'analogues de l'hormone juvénile pour l'élevage du ver à soie (Chang *et al.*, 1972; Murakoshi *et al.*, 1972 et Nihmura *et al.*, 1972). Nihmura et ses collaborateurs (1972) ont montré que les analogues de l'hormone juvénile comportant un substituant éthyl sur C-7 et un substituant n-propyl sur C-11 avaient une activité 40 à 80 fois plus importante que l'hormone juvénile naturelle C18. Nihmura *et al.* (1974) ont également travaillé sur un certain nombre d'analogues synthétiques

* Département de Physiologie, Institut d'Entomologie, Académie des Sciences Tchécoslovaque, Prague, Tchécoslovaquie.

de l'hormone juvénile et ont observé que la plupart des analogues de JH retardent la maturité des larves prolongeant ainsi la durée de l'âge larvaire et augmentant la soie du cocon.

La présente étude a été entreprise pour évaluer les effets de SJ-42-F sur la croissance et la production de soie chez les larves de *B. mori* L.

MATERIEL ET METHODES

Préparation des doses :

L'hormone juvénile SJ-42-F (Structure 1) a été utilisée pour cette étude (Fig. 1).

Ce composé a été fourni par l'un des auteurs (F. Sehnal, Académie des Sciences Tchécoslovaque, Tchécoslovaquie). Le composé a été dissous dans de l'acétone et trois concentrations (20µg/10µl, 2µg/10µl et 0,2µg/10µl) ont été préparées.

Animaux testés et méthode d'application :

Des larves au 5ème âge du ver à soie *Bombyx mori* L., de l'hybride F₁ de Shunrie x Shogestu, ont été utilisées. Les larves ont été élevées sur feuilles de mûrier à une température de 24°C±1°C et une humidité relative de 70%. Les larves de taille et de poids identiques ont été sélectionnées après la 4ème mue. Les larves choisies ont été réparties en douze lots comprenant chacun trois replicatas. Chaque replicata est composé de 20 individus. 0,2µg, 2µg et 20µg du composé testé ont été dissous dans 10µl d'acétone et appliqués localement sur le tergum abdominal des larves avec une microseringue de 100µl contrôlée par un micro-applicateur. L'application a été effectuée sur les trois premiers lots 48 h après la 4ème mue tandis que les 4ème, 5ème et 6ème lots ont été traités 72 h après la 4ème mue, et que les lots 7, 8 et 9 l'ont été 96 h après la 4ème mue. Correspondant à chaque traitement, un lot témoin a été formé, seulement traité avec 10µl d'acétone.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats présentés dans le Tableau I montrent que le poids de la coque soyeuse varie selon le moment de l'application et la dose. Le moment le plus favorable à l'application se trouve entre 48 et 72 heures après la 4ème mue, avec des doses de 2µg/larve et de 20µg/larve. Les observations les plus significatives sont l'augmentation du poids de la coque soyeuse, de la richesse soyeuse, la prolongation de la période larvaire et la diminution du poids de la chrysalide.

Poids de la coque soyeuse :

Nous avons observé que le moment le plus approprié pour l'application se situe entre 48 et 72 heures avec une dose de 2µg/larve et de 20µg/larve pour obtenir l'augmentation maximum de soie, c'est-à-dire respectivement 0,42 g et 0,47 g, alors que le poids de la coque soyeuse chez le témoin est de 0,33 g seulement.

Richesse soyeuse :

Comme le montre le Tableau I, la valeur la plus significative pour la richesse soyeuse a été enregistrée avec la dose de 2,0µg/larve au second et au 3ème jour. L'augmentation maximale de la richesse soyeuse varie de 22,86 % à 22,95 %. Il est

donc clair que cette hormone juvénile accroît la production de soie et diminue le poids de la chrysalide, améliorant ainsi les caractères économiques du cocon.

Durée du développement :

Dans toutes les études sur l'hormone juvénile, il est très important de tenir compte du développement larvaire, c'est-à-dire de la prolongation de la période d'alimentation. Au cours de l'étude présente, il a été observé que l'application de $2\mu\text{g/larve}$ 48 heures après la 4ème mue provoquait l'augmentation minimale de la période d'alimentation, c'est-à-dire 26 heures (1 jour et 2 heures) et cela est significatif.

Akai *et al.* (1971) rapportent également des résultats similaires avec l'hormone juvénile synthétique C18 qui provoque une augmentation de 30 % de soie par rapport au témoin. Dans la présente étude, c'est une augmentation de la richesse soyeuse de 41,98 à 42,54 % par rapport au témoin. Chang *et al.* (1972) ont également observé une augmentation de 20 % du poids du cocon et de la chrysalide avec la formation d'un cocon géant lorsque les larves étaient traitées avec des dérivés méthylène-dioxyphényl.

L'application de l'hormone juvénile après le 3ème jour prolonge la période d'alimentation de 2 à 5 jours, la formation du cocon n'a pas lieu et on observe une malformation et la mort. Ces résultats s'accordent avec ceux de Chang *et al.* (1972) qui ont également trouvé que l'hormone juvénile appliquée sur les larves de ver à soie avait pour effet de prolonger la période d'alimentation lorsqu'elle était administrée à partir du 3ème jour et ensuite. Ils ont également découvert que l'augmentation de la production de soie la plus importante a lieu lorsque l'application est faite le 2ème ou le 3ème jour. Nous avons également observé au cours des présentes études que l'application de $20\mu\text{g/larve}$ à 72 heures augmente le poids de la coque soyeuse jusqu'à 0,47 g, mais cela n'est pas significatif car la période larvaire est aussi augmentée de 67 heures (2 jours et 19 heures). La prolongation de la période larvaire, c'est-à-dire de la période d'alimentation, est directement proportionnelle à la nourriture consommée et à la main-d'oeuvre utilisée. L'allongement de la période larvaire est significatif seulement si l'augmentation de soie est supérieure comme on l'a observé lors du traitement à $2\mu\text{g/larve}$ à 48 heures.

Nous avons également étudié la fécondité des papillons provenant des cocons géants. Le nombre d'oeufs par ponte varie de 350 à 400 chez les papillons ayant subi le traitement, tandis qu'il se situe entre 300 et 350 chez les témoins. Les mêmes résultats ont également été obtenus par Chang *et al.* (1972).

Les résultats mentionnés ci-dessus mettent en évidence que l'hormone juvénile, de même que SJ-42-F, est très efficace pour accroître le poids de la coque soyeuse avec une légère augmentation de la période d'alimentation. Si l'on prend en compte l'augmentation de soie, la nourriture et la main-d'oeuvre nécessaires, l'application de SJ-42-F (analogue de l'hormone juvénile) est intéressante du point de vue économique et la production de soie peut alors être augmentée de 21 % par rapport au témoin.

REMERCIEMENTS

Les auteurs sont extrêmement reconnaissants au Dr C.K. Atal, Directeur du Regional Research Laboratory, Jammu/Srinagar, pour ses conseils et encouragements permanents tout au long de cette étude.

MULBERRY DESCRIPTOR

S.B. DANDIN and M.S. JOLLY

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

250 accessions belonging to 13 species of the genus *Morus* L. were taken for the present study. The materials studied were collected from various states of India and other countries where sericulture is being practised. 138 characters of nine major groups were analysed for a period of three years. Classification of attributes was made based on the total extent of variability found in each character. The influence of environment on phenotypic expression was avoided by growing the material under uniform climatic/edaphic conditions. Major diseases and pests prevailing in other countries were also considered for the universal use of the descriptor. In addition, agronomical attributes - qualitative and quantitative - were included to indicate the cultural requirements of each strain.

INTRODUCTION

The effective utilisation of germplasm depends on systematic characterisation and identification of genotypes with specific traits. Owing to the fast spread of sericulture to different Indian states and to tropical countries, the need for a mulberry genotype of specific characters is very much felt. Though a large amount of variability is available in existing population and in the introduced material, systematic characterisation has not been made. This is mainly due to the lack of internationally accepted mulberry descriptor. Even in the most advanced sericultural countries no attempt has been made to suggest a model descriptor for describing the existing mulberry genotypes. As a result, the valuable genetic variability is not exploited. Considering this lacuna, an attempt has been made to formulate mulberry descriptor according to Hackett (1979a) and acceptable to International Compendium Programme and International Board of Plant Genetic Resources (IBPGR). This may serve as a model to describe different taxa.

MATERIAL AND METHODS

250 accessions of both wild and cultivated forms belonging to 13 species of the genus *Morus* L. (Table I) from 11 different countries were studied. From India, material was collected from 10 different states and germplasm conserved at Central Sericultural Research and Training Institute, Berhampore; Regional Sericultural Research Station, Pampore; Regional Sericultural Research Station, Kalimpong and Univoltine Research Station, Majra (Table II). Both exotic and indigenous materials were planted in the mulberry germplasm bank of Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore under identical agro-climatic conditions. Uniform package of practices was followed with respect to spacing, planting method, manurial/fertilizer doses, intercultivation and harvesting. Studies included 12 observations for three years covering the major seasons of the year. Average values of the observations were taken. The descriptor includes nine major groups of characters covering phytogeography, gross morphology, reproductive biology, anatomy, cytology, growth/yield attributes, quality parameters, response to different cultivation practices and resistance to pests and diseases. 138 characters contributing directly or indirectly to the growth and yield were taken into consideration. Provision has been made to include all specific characters of the genotypes and group them into different clusters.

RESULTS AND DISCUSSION

The descriptor prepared based on 130 characters of 9 major groups is presented in Annex. 1. The extent of variability observed in each character is taken as a base for describing the particular character. Morphological characters such as leaf lobation, internodal distance, sex of the plant, nature of style and stigma were observed in detail and their possible utilization for classifying mulberry is suggested. 9 important growth/yield parameters as suggested by Das and Krishnaswami (1969); Dandin *et al.* (1983), were considered for this study. The extent of variability and average value of these parameters are given in Table III. Responses of the genotypes for different agronomical practices are taken into consideration to suggest suitable package deal for each genotype. All the major diseases and pests prevalent in the important sericultural countries of the world are included so that genotypes of diverse nature showing resistance to any one of these pathogens can be chosen.

The main objective of the present descriptor is to serve as a ready reckoner for morphological and agronomical description of the strain/variety. As provision is made for all the known characters which influence/contribute to the full growth and foliage production of the plant, it is hoped that this will serve as a model for quick review of the features of a genotype. Also it serves the purposes of information resource for genetic variability, growth requirements and special genes.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors wish to thank Dr R. Kumar, Dr S. Ravindran and Dr. A.K. Jain, Senior Research Assistants, for their help rendered during the preparation of this paper.

REFERENCES

- DANDIN S.B., JOLLY M.S., SUSHEELAMMA B.N., MALLIKARJUNAPPA R.S., SASTRY C.R., (1983) Evaluation and utilization of existing genetic variability in mulberry. Paper presented at National Seminar on Silk Research and Development, Bangalore. Abstracts. 2.
- DAS B.C., KRISHNASWAMI S., (1969) Estimation of components of variation of leaf yield and its related traits in mulberry. J. Seric. Sci. Jpn., 38(3), 242-248.
- HACKETT C., (1979) A rapidly searchable compendium of information on cultivated fruit, vegetable, spice and nut species. Chron. Hort., 19(2), 31.

MULBERRY DESCRIPTOR**I. PHYTOGEOGRAPHICAL INFORMATION**

- | | |
|-------------------------|---|
| 1. Botanical name | : |
| 2. Common/Varietal name | : |
| 3. Origin | : Indigenous/Exotic (country/State/Province) |
| 4. Wild or cultivated | : |
| 5. If cultivated | |
| a. Mode of origin | : Introduction/Selection/Hybrid/Mutant/
Polyloid |
| b. Areas of cultivation | : Temperate/Tropical/Subtropical |

II. MORPHOLOGICAL CHARACTERS**A. Vegetative**

- | | |
|------------------------------|--|
| 1. Habit | : Tree/Bush |
| 2. Branching nature | : Erect/Spreading/Drooping |
| 3. Colour of the stem | : |
| 4. Lenticels | |
| a. Presence | : Present/Absent |
| b. Distribution | : Dense/Medium/Sparse |
| 5. Colour of the young shoot | : Green/Purple/Dark purple |
| 6. Leaf | |
| a. Internodal distance | : Top (1-7 leaf)
Middle (8-15 leaf)
Base (below 15th leaf) |
| b. Phyllotaxy | : Alternate/Opposite |
| c. Rank | : 1/2, 2/3, 2/5, 3/5 |
| d. Nature | : Uniform/Heterophyllus |
| e. Stipules | |
| i. Presence | : Present/Absent |
| ii. Nature | : Simple/Foliaceous |
| iii. Duration | : Deciduous/Caducous |
| f. Petiole length (cm) | : |
| g. Lamina | |
| i. Lobation | : Lobed/Entire |
| If lobed | : Regular/Irregular |
| ii. Shape | : |
| iii. Base | : |
| iv. Tip | : |
| v. Margin | : |

vi. Surface	:
vii. Texture	:
viii. Venation	:
ix. Average leaf size	: Length/Breadth (cm)/Area (sq.cm)
x. Thickness (μ)	:
xi. Hairiness	:

III. REPRODUCTIVE STRUCTURES

1. Sexuality	: Male/Female/Monoecious/Bisexual/Mixed
2. Flowering nature	: Regular/Occasional
3. Frequency	: Heavy/Shy
4. Inflorescence	
a. Length (cm)	:
b. Diameter (cm)	:
c. Flower arrangement	: Loose/Thick
5. Male flowers	
a. No. of stamens	:
b. Nature	:
6. Pollen grains	
a. Size	:
b. Openings	:
c. Fertility (%)	:
d. Viability (%)	:
7. Female flowers	
a. Style length (mm)	:
b. Stigma	
i. Length (mm)	:
ii. Hairiness	: Pappilose/Pubescence
iii. Nature	: Bifid erect/Bifid divericcate/Bifid spreading
8. Fruit	
a. Size, length and diameter (cm)	:
b. Colour	:
c. Taste (ripe fruit)	: Sweet/Salty/Sour
9. Seed	
a. 100 seed weight (mg)	:
b. Germination (%)	:
c. Viability	:

IV. ANATOMICAL FEATURES

1. Idioblasts	
a. Presence	: Present /Absent
b. Frequency (No./sq.cm)	:
c. Size (width)	:
d. Shape	:
e. Projection length (μ)	:
2. Stomata	
a. Distribution	: Abaxial/Adaxial
b. Type	:

- c. Position : Sunken/Surface
- d. Frequency (per unit area) :
- e. Size (μ) : Length/Breadth
- f. Guard cell size (μ) : Length/Breadth
- g. Stomatal chloroplast No. :
- 3. No. of palisade layers :
- 4. Ratio of palisade/spongy layer by thickness :
- 5. Thickness of cuticle (μ) :
- 6. Special features, if any :

V. CYTOLOGICAL DETAILS

- 1. Somatic
 - a. $2n$ chromosome No. :
 - b. Ploidy level :
 - c. Karyotype formula :
 - d. Total chromatin length :
 - e. No. of sat chromosomes :
 - f. No. of large chromosome pairs :
- 2. Meiotic
 - a. Meiotic behaviour : Regular/Irregular
 - b. Chromosome configuration :
 - c. Meiotic abnormalities :
 - d. Tetrad type :
- 3. Special features, if any :

VI. PROPAGATION

- 1. Sprouting
 - a. Quality : Fast/Medium/Slow
 - b. Percentage on 20th day :
- 2. Rooting
 - a. Nature : Fast/Medium/Slow
 - b. Percentage (on 60th day) :
- 3. Root proliferation rate (on 90th day)
 - a. Weight of dry roots :
 - b. Length of longest root :
 - c. Dry shoot/root ratio (by weight) :
- 4. Suitability as stock : Good/Medium/Poor
- 5. Cuttings standard for propagation
 - a. Optimum age of shoot :
 - b. Optimum length of cuttings : Buds Length
 - c. Optimum girth of cuttings :

VII. GROWTH AND YIELD ATTRIBUTES

A. Quantitative

1. Growth

- a. Nature : Slow/Medium/Fast
- b. Rate/90 days (cm) :
- i. No. of primary branches :
- ii. Length of primary branches (cm):
- iii. No. of secondary branches :
- iv. Length of secondary branches (cm) :
- v. Total shoot length (cm) :
- vi. Leaf No./meter :
- vii. Wt. of 100 fresh leaves (gm) :
- c. Lamina/Petiole ratio :
- i. By length :
- ii. By weight :
- d. Leaf-shoot ratio by weight :
- e. Total leaf yield/plant/harvest :
- f. Annual yield/plant :
- g. Calculated yield/ha :

B. Qualitative

1. Moisture % of leaves

- a. Top Middle Base :
(1-7) (8-15) (below 15)
- b. average :

2. Moisture retention capacity, average at 12th hour of harvest :

3. Chemical contents

- i. Non reducing sugars (%) :
- ii. Reducing sugars (%) :
- iii. Total sugars (%) :
- iv. Crude protein (%) :
- v. Mineral (%) :
- vi. Fibre :

4. Palatability :

5. Moultin test (70% feed upto 2nd moult) :

6. Leaf cocoon ratio (by feeding trial) :

VIII. RESPONSE TO DIFFERENT PHYSIOLOGICAL CONDITIONS

- 1. Resistance to drought : Resistant/Tolerant/Susceptible
- 2. Resistance to salinity : Resistant/Tolerant/Susceptible
- 3. Response to winter : Good/Medium/Poor
- 4. Response to repeated pruning : Good/Medium/Poor

IX. RESISTANCE TO DISEASE AND PESTS

1. Diseases

- a. Fungal leaf spot
(*Cercospora moricola* Cooke) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- b. Powdery mildews
(*Phyllactinia corylea* (Pers) Karst) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- c. Leaf rust
(*Cerotelium fici*) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- d. White root rot
(*Rosellinia necatrix* Berlese) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- e. Violet root rot
(*Helicobasidium mompa* Tanaka) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- f. Bacterial leaf spot
(*Pseudomonas mori*) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- g. Any other disease
(not covered above) :

2. Pests

- a. Hairy caterpillar
(*Diaparsia obliqua* Walk) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- b. Jassids
(*Empoasca flavescens* Fb.) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- c. Mealy bugs
(*Maconellicoccus hirsutus*) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- d. Red scale
(*Aonidella aurantii* Mask) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- e. Thrips (5 species) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- f. Mites
(*Tetranychus* spp) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- g. Root knot nematode
(*Meloidogyne incognita* Kofoid) : Resistant/Tolerant/Susceptible
- h. Any other pests
(not covered above) :

Species/ Espèces	No. of accessions/ Nb d'exemplaires
<u>M. alba</u>	18
<u>M. australis</u> (<u>M. acidosa</u>)	1
<u>M. bombycis</u>	5
<u>M. cathyana</u>	1
<u>M. chinensis</u>	2
<u>M. indica</u>	21
<u>M. laevigata</u>	4
<u>M. latifolia</u> (<u>M. multicaulis</u>)	24
<u>M. lhou</u>	2
<u>M. nigra</u>	2
<u>M. serrata</u>	4
<u>M. tilaefolia</u>	1
Unidentified / Non identifiées	73
Total	158

Table I. Specieswise composition of mulberry strains maintained at Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore.

Tableau I. Répartition par espèce des lignées de mûrier conservées au Central Sericultural Research and Training Institute de Mysore.

1. CSRTI, Mysore	38
2. CSRTI, Berhampore	12
3. RSRS, Kalimpong	-
4. RSRS, Majra	20
5. RSRS, Pampore	14
6. RSRS, Coonoor	2
7. BS1, Calcutta	2
8. Sericultural Department, J & K, Meergund	4
9. Other country (exotic)/ Autres pays (exotiques)	66
10. Elite F1 hybrids/ Hybrides F1 Elite CSRTI, Mysore	101
TOTAL	259

Table II. Mulberry germplasm included in the present study.

Tableau II. Collection de mûriers utilisée dans cette étude.

Character/ Caractère	Maximum/ Maximum	Minimum/ Minimum	Average/ Moyenne	No. of accessions exceeding the average/ Nb d'exemplaires au-dessus de la moyenne
Plant height (cm)/ Hauteur du plant (cm)	355.40(141)	100.30 (Goshoerami)	227.85	37
Internodal distance (cm)/ Distance internodale (cm)	7.38 (Miz x BC-P ₄)	2.55(102)	4.81	38
Weight of 100 leaves (gm)/ Poids de 100 feuilles (g)	1400 (Goshoerami)	98.0(117)	430.52	73
Leaf petiole ratio by weight/ Rapport de poids feuille/pétiole	92.98:7.02 (132)	64.5:35.5 (135)	78.74:21.26	129
Sprouting percentage/ Pourcentage de débourrement	99.2(103)	1.36 (K2 x BC-P ₆)	49.6	110
Rooting percentage/ Pourcentage d'enracinement	100.0(117)	2.44 (Local x Kosen)P3	50.0	85
Moisture percentage/ Pourcentage d'humidité	78.7(116)	45.8 (W8 x Kosen P1)	62.25	114
Moisture retaining capacity/ Capacité de rétention d'eau	76.80 (Miz. x catt.P3)	41.26 (W8 x Kosen P1)	59.03	137
Leaf area/meter length of shoot/ Surface de la feuille/longueur en mètres de la tige	7093.75(167)	1225.73(138)	4159.74	38

Table III. Range of variability of the characters of the accessions studied.

Tableau III. Etendue de la variabilité des caractères étudiés selon les exemplaires.

DESCRIPTEUR DU MURIER

S.B. DANDIN et M.S. JOLLY

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

250 exemplaires appartenant à 13 espèces du genre *Morus* L. ont été choisis pour cette étude. Les exemplaires utilisés pour cette étude ont été collectés dans divers états de l'Inde et dans d'autres pays séricicoles. 138 caractères classés en 9 groupes ont été analysés pendant trois ans. La classification des attributs a été faite en se basant sur l'étendue totale de la variabilité pour chaque caractère. L'influence de l'environnement sur l'expression du phénotype est évitée en faisant pousser le matériel dans des conditions climatiques/édaphiques uniformes. Les maladies et les nuisibles principaux rencontrés dans d'autres pays sont également pris en compte pour que le descripteur soit utilisable de manière universelle. De plus, les attributs agronomiques - qualitatifs et quantitatifs - sont inclus pour indiquer les besoins culturels de chaque souche.

INTRODUCTION

L'utilisation effective d'une banque de souches dépend de la caractérisation systématique et de l'identification des génotypes avec leurs traits spécifiques. A cause du rapide développement de la sériciculture dans les différents états de l'Inde et dans les pays tropicaux, le besoin d'un génotype du mûrier avec des caractères spécifiques se fait fortement sentir. Bien qu'il existe une variabilité importante chez les populations existantes et chez le matériel introduit, une caractérisation systématique n'a pas été faite. Ceci est dû principalement à l'absence d'un descripteur du mûrier reconnu internationalement. Même dans les pays séricicoles les plus avancés, aucune tentative n'a été faite pour suggérer un descripteur modèle pour décrire les génotypes de mûriers existants. Cela fait que la variabilité génétique n'est pas exploitée. Prenant en compte cette lacune, nous avons essayé de mettre au point un descripteur du mûrier en nous référant à Hackett (1979a), qui soit acceptable par le Programme du Compendium International et le Conseil International des Ressources Génétiques Végétales (IBPGR). Celui-ci pourrait servir de modèle pour décrire les différentes appellations taxonomiques.

MATERIEL ET METHODES

250 exemplaires de formes sauvages et cultivées appartenant à 13 espèces du genre *Morus* L. (Tableau I) provenant de 11 pays différents ont été étudiés. En Inde, le matériel a été collecté dans 10 états différents et la collection conservée au Central Sericultural Research and Training Institute de Berhampore, à la Regional Sericultural Research Station de Pampore, à la Regional Sericultural Research Station de Kalimpong et à l'Univoltine Research Station de Majra (Tableau II). Les matériaux exotiques et indigènes ont été plantés dans la collection de mûriers du Central Sericultural Research and Training Institute de Mysore dans des conditions agromatématiques identiques. Une méthode globale uniforme a été suivie en ce qui concerne l'espacement, la méthode de plantation, les doses de fumure/fertilisants, l'interculture et la récolte. Les études englobent 12 observations sur trois années couvrant les principales saisons de l'année. Les valeurs moyennes des observations ont été prises en compte. Le descripteur inclut neuf groupes principaux de caractères couvrant la phytogéographie, la morphologie générale, la biologie de la reproduction, l'anatomie, la cytologie, les caractères de la croissance et de la productivité, les paramètres qualitatifs, la réponse aux différentes méthodes culturales et la résistance aux maladies et aux nuisibles. 138 caractères contribuant directement ou indirectement à la croissance et à la productivité ont été pris en compte. Il a été prévu la possibilité d'inclure tous les caractères spécifiques des génotypes et de les grouper dans différentes rubriques.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le descripteur préparé basé sur 138 caractères en 9 groupes principaux est présenté en Annexe 1. L'étendue de la variabilité observée pour chaque caractère est prise comme base pour décrire le caractère particulier. Les caractères morphologiques tels que la lobation de la feuille, la distance internodale, le sexe de la plante, la nature du style et des stigmates, sont observés en détail et leur utilisation pour la classification du mûrier, est suggérée. Neuf paramètres importants de croissance/productivité ont été pris en compte pour cette étude en accord avec les suggestions de Das et Krishnaswami (1969) ; Dandin *et al.* (1983). L'étendue de la variabilité et la valeur moyenne de ces paramètres sont données dans le Tableau III. La réponse des génotypes aux différentes méthodes culturales est prise en compte pour proposer une technique adaptée à chaque génotype. Toutes les maladies importantes et les nuisibles courants dans les principaux pays sérícicoles du monde sont inclus de manière à ce que les génotypes de nature diverse montrant une résistance à l'un de ces pathogènes puissent être sélectionnés.

L'objectif principal de ce descripteur est de servir de barème pour la description morphologique et agronomique d'une souche ou d'une variété. Comme tous les caractères connus qui influencent ou contribuent à la croissance complète et à la production de feuilles de la plante ont été prévus, nous espérons que ce descripteur servira de modèle pour passer rapidement en revue les caractéristiques d'un génotype. Il peut également servir pour former des bases de données sur la variabilité génétique, les besoins de la plante pour sa croissance, et certains gènes particuliers.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Dr R. Kumar, le Dr S. Ravindran et le Dr A.K. Jain, Assistants de Recherche, pour l'aide apportée à la préparation de cet article.

DESCRIPTEUR DU MURIER

I. RENSEIGNEMENTS PHYTOGEOGRAPHIQUES

- | | |
|---------------------------------|--|
| 1. Nom botanique | : |
| 2. Nom commun/Nom de la variété | : |
| 3. Origine | : Indigène/Exotique (Pays/Etat/Province) |
| 4. Sauvage ou cultivé | : |
| 5. Si cultivé : | |
| a. Mode d'origine | : Introduction/Sélection/Hybride/Mutant/
Polypléide |
| b. Aire de culture | : Tempérée/Tropicale/Subtropicale |

II. CARACTERES MORPHOLOGIQUES

A. Végétatifs

- | | | |
|-----------------------------|---|--|
| 1. Forme habituelle | : | Arbre/Buisson |
| 2. Nature des branches | : | Dressées/Etalées/Retombantes |
| 3. Couleur du tronc | : | |
| 4. Lenticelles | | |
| a. Présence | : | Présentes/Absentes |
| b. Distribution | : | Dense/Moyenne/Clairsemée |
| 5. Couleur de la jeune tige | : | Verte/Violette/Violet foncé |
| 6. Feuille | | |
| a. Distance internodale | : | Au sommet (feuilles 1-7)
Au milieu (feuilles 8-15)
A la base (en dessous de la feuille 15) |
| b. Phyllotaxie | : | Alterne/Opposée |
| c. Position | : | 1/2, 2/3, 2/5, 3/5 |
| d. Nature | : | Uniforme/Hétérophylle |
| e. Stipules | | |
| i. Présence | : | Présentes/Absentes |
| ii. Nature | : | Simple/Foliacées |
| iii. Durée | : | Persistantes/Caduques |
| F. Longueur du pétiole (cm) | : | |
| g. Limbe | | |
| i. Lobe | : | Découpé/Entier |
| Si découpé | : | Régulier/Irrégulier |
| ii. Forme | : | |
| iii. Base | : | |
| iv. Pointe | : | |
| v. Bord | : | |

vi. Surface	:
vii. Texture	:
viii. Nervures	:
ix. Taille moyenne de la feuille	: Longueur/Largeur (cm)/Surface (cm ²)
x. Epaisseur (μ)	:
xi. Pilosité	:

III. STRUCTURES DE REPRODUCTION

1. Sexualité	: Mâle/Femelle/Monoïque/Bisexuel/Mixte
2. Nature de la floraison	: Régulière/Occasionnelle
3. Fréquence	: Grande/Faible
4. Inflorescence	
a. Longueur (cm)	:
b. Diamètre (cm)	:
c. Disposition des fleurs	: Lâche/Serrée
5. Fleurs mâles	
a. Nbre d'étamines	:
b. Nature	: Erigées/Incluses
6. Grains de pollen	
a. Taille	:
b. Ouvertures	:
c. Fertilité (%)	:
d. Viabilité (%)	:
7. Fleur femelle	
a. Longueur du style (mm)	:
b. Stigmate	
i. Longueur (mm)	:
ii. Pilosité	: Papilleuse/Pubescente
iii. Nature	: Erigée bifide/Divariqué bifide/ Etalée bifide
8. Fruit	
a. Taille (longueur/diamètre, cm)	:
b. Couleur	:
c. Goût (fruit mûr)	: Doux/Salé/Acide
9. Graine	
a. Poids de 100 graines (mg)	:
b. Germination (%)	:
c. Viabilité	:

IV. TRAITS ANATOMIQUES

1. Idioblastes	
a. Présence	: Présents/Absents
b. Fréquence (Nb/cm ²)	:
c. Taille (largeur)	:
d. Forme	:
e. Longueur de projection (μ)	:

2. Stomates
 - a. Distribution : Abaxiale/Adaxiale
 - b. Type :
 - c. Position : Immergé/En surface
 - d. Densité (par unité de surface) :
 - e. Taille (μ) : Longueur/Largeur
 - f. Taille de l'ostiole (μ) :
 - g. Nbre de chloroplastes :
3. Nbre de couches palissadiques :
4. Ratio des couches palissadiques/
couches spongieuses par
épaisseur (μ) :
5. Epaisseur de la cuticule (μ) :
6. Autres traits éventuels :

V. DETAILS CYTOLOGIQUES

1. Traits somatiques
 - a. Nbre de chromosomes $2n$:
 - b. Ploïdie :
 - c. Caryotype :
 - d. Longueur totale de la
chromatine :
 - e. Nbre de chromosomes satellites :
 - f. Nbre de paires de chromosomes
larges :
2. Traits méiotiques
 - a. Comportement méiotique : Régulier/Irrégulier
 - b. Configuration chromosomique :
 - c. Anomalies méiotiques :
 - d. Type du tétrade :
3. Traits particuliers éventuels :

VI. MULTIPLICATION

1. Débourrement
 - a. Qualité : Rapide/Moyen/Lent
 - b. % le 20ème jour :
2. Enracinement
 - a. Nature : Rapide/Moyen/Lent
 - b. % le 60ème jour :
3. Taux d'exubérance des racines
(le 90ème jour)
 - a. Poids des racines sèches :
 - b. Longueur de la racine la
plus longue :
 - c. Ratio Poids racine sèche/
Poids racine :

4. Performances en tant que souche : Bonnes/Moyennes/Faibles
5. Critères de bouturage
 - a. Age optimal de la tige :
 - b. Longueur optimale de la bouture : Bourgeons Longueur
 - c. Circonférence optimale de la tige :

VII. CARACTERES DE CROISSANCE ET DE PRODUCTIVITE

A. Quantitatifs

1. Croissance
 - a. Nature : Lente/Moyenne/Rapide
 - b. Taux/90 jours (cm) :
 - i. Nb. de branches primaires :
 - ii. Long. des branches primaires (cm) :
 - iii. Nb. de branches secondaires :
 - iv. Long. des branches secondaires (cm) :
 - v. Longueur totale des tiges (cm) :
 - vi. Nb. de feuilles/mètre :
 - vii. Poids de 100 feuilles fraîches (g) :
 - c. Rapport lobe/pétiole
 - i. En longueur :
 - ii. En poids :
 - d. Rapport de poids feuilles/tiges :
 - e. Production totale de feuille/plant/récolte :
 - f. Productivité annuelle/plant :
 - g. Rendement calculé à l'ha :

B. Qualitatifs

1. % d'humidité des feuilles
 - a. Sommet Milieu Base :
(1-7) (8-15) (au-dessous de 15)
 - b. Moyenne :
2. Capacité de rétention d'eau, moyenne 12 h après la récolte :
3. Composition chimique
 - i. Sucres non réducteurs (%) :
 - ii. Sucres réducteurs (%) :
 - iii. Sucres totaux (%) :
 - iv. Protéines brutes (%) :
 - v. Minéraux (%) :
 - vi. Fibres (%) :
4. Sapidité :
5. Test de mue
(70 % de la nourriture nécessaire : jusqu'à la 2ème mue)

6. Rapport feuille/cocon :
 (expérimenté par le nourrissage
 des vers à soie)

VIII. REPONSE AUX DIFFERENTES CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES

1. Résistance à la sécheresse : Elevée/Moyenne/Faible
 2. Résistance à la salinité : Elevée/Moyenne/Faible
 3. Résistance à l'hiver : Elevée/Moyenne/Faible
 4. Réponse lors de la taille répétée : Bonne/Moyenne/Faible

IX. RESISTANCE AUX MALADIES ET AUX NUISIBLES

1. Maladies

- a. Tache de la feuille
 (champignon)
(Cercospora moricola Cooke) : Elevée/Moyenne/Faible
 b. Mildiou poudreux
(Phyllactinia corylea (Pers) Karst) : Elevée/Moyenne/Faible
 c. Rouille de la feuille
(Cerotelium fici) : Elevée/Moyenne/Faible
 d. Pourriture blanche de la racine
(Rosellinia necatrix Berlese) : Elevée/Moyenne/Faible
 e. Pourriture violette de la
 racine
(Helicobasidium mompa Tanaka) : Elevée/Moyenne/Faible
 f. Tache de la feuille (bactérie) : Elevée/Moyenne/Faible
(Pseudomonas mori)
 g. Autres :

2. Nuisibles

- a. Chenille poilue
(Diacrisia obliqua Walk) : Elevée/Moyenne/Faible
 b. Jassidés
(Empoasca flavescens Fb.) : Elevée/Moyenne/Faible
 c. Aleurode (cochenille)
(Maconellicoccus hirsutus : Elevée/Moyenne/Faible
 d. Cochenille rouge
(Aonidella aurantii Mask) : Elevée/Moyenne/Faible
 e. Thrips (5 espèces) : Elevée/Moyenne/Faible
 f. Acariens
(Tetranychus spp) : Elevée/Moyenne/Faible
 g. Nématode du noeud de la
 racine
(Meloidogyne incognita Kofoid) : Elevée/Moyenne/Faible
 h. Autres :

LINKAGE MAPS OF BOMBYX MORI - REVISED IN 1986

Hiroshi DOIRA

*Institute of Silkworm Genetics, Faculty of Agriculture,
Kyushu University, Hakozaki, Higashi-ku,
Fukuoka 812,
Japan.*

Three years have passed since the author described "any changes on the (genetic) maps (of *Bombyx mori*) will be reported in future issues of this journal". During these years the Japanese Society of Sericulture has organized the Committee on Genetic Symbols of *Bombyx mori*, Dr. M. Nakajima as the chairman, to formulate general principles of nomenclature and symbolism in this special insect of genetic interests. It was the opinion of the J.S.S. that adoption of common rules and standardization of symbols, if possible, are highly desirable to lessen confusion and to facilitate communication between specialists in different areas of sericulture and genetics. The Committee took as a basis of its work the "Recommended Rules for Symbolization" prepared by the International Committee on Genetic Symbols and Nomenclature (Tanaka *et al.*, 1957).

Development of the system of nomenclature designating genetic variations of *B. mori* has been rather haphazard. Consequently, the system is not a logical structure but is plentiful of redundancies and inconsistencies. In historic terminology, *e. g.*, allelic genes situating at a locus are designated by different names and symbols, while the other alleles at a particular genetic locus are designated by the same symbol and are differentiated by distinguishing superscripts. Symbol *I-a*, which implies "Inhibitor of ant (newly hatched larva) color", misleads to "Inhibitor of *a* gene" under the light of International Recommended Rules. Revision into a consistent scheme is of the inevitable importance. It is of the very same importance to minimize inducing the chaotic discontinuity in the literature. From this point of view, the Nakajima Committee took a stand on the principle that well established names and symbols should not be changed unless new results and rules make the current terms scientifically meaningless or misleading.

In this article the author describes: 1) eight of newly discovered mutations; 2) altered gene symbols and names after Nakajima Committee's report (1986); and the

latest linkage maps, presented as Figure 1, involve 3) seven loci determined positions on previously known linkage groups; and 4) changes in map position followed by the alteration of the base-point, the gene at 0.0 position, of the linkage group.

The author and his colleagues demonstrated that the newly discovered *oj* gene was located 16.2 units away to the left of *I* which had been mapped at 0.0 position on the linkage group 9. The base-point gene on the linkage group 19 has also been changed from *nb* to *GL*, the *nb* gene is presently mapped at 12.0. Their genetic analysis on the *Nd-t*, which had previously been mapped at 0.0 on the linkage group 23, revealed that the *Nd-t* was not a mimic mutation to *Nd* (25-0.0) but was the real *Nd* gene; the chromosome 25 bearing the *Nd* gene was attached to the chromosome 23. The origin of the *Nd-t* was in a batch of *Nd* stock, and twenty-seven sets of metaphase chromosomes, less than normal by one, were counted in spermatogenic meiosis of larvae heterozygous for *Nd-t*. The reconstruction of the map of the linkage group 23 has been carried out.

A catalogue of mutants discovered during 1983 to 1985 is given according to the format of previous report (Doira, 1983). The gene which symbol was altered is also listed, the old terminology indicated by an asterisk on the left, follows in parentheses.

LINKAGE GROUP 1

Bt (Beet feeder): X-ray induced; larvae unable to discriminate mulberry leaves from others, selected by feeding on beet leaves; dominance incomplete, COV between *od* locus about 5%.

l-ne (**lne*)

LINKAGE GROUP 3

Pst (Storage protein 2): Spontaneous; SP-2, one of the two hemolymph proteins selectively incorporated into the fat body during larval-pupal transformation.

LINKAGE GROUP 4

nm-k (non-molting k): Spontaneous; homozygotes survive about one week as first instar larvae without molting and then die.

LINKAGE GROUP 6

Ign-1 (Inhibited green 1) (**I-gn₁*, Inhibitor of Green 1)

LINKAGE GROUP 9

oj (Japanese translucent): Spontaneous; larval skin moderately translucent, accompanied with light egg color.

Ia (**I-a*)

LINKAGE GROUP 10

Dp-2 (**Dp'*)

LINKAGE GROUP 11

l-11 (lethal 11): Spontaneous; homozygous lethal in embryo.

Bo (Bamboo): Spontaneous; abdomen of larva compact and hard, bulges appear at posterior margin of each segment; thorax stout; inhibits eye-spots and crescents; scales on the back of adult moth poor.

LINKAGE GROUP 13

bpa (black-striped pupal wing): Spontaneous; temperature sensitive, narrow black stripes appear on wings of pupa depending on temperature during two days prepupation stage, after the end of spinning to the completion of larval-pupal ecdysis; becomes black-striped when kept under 20°C but manifests normal amber color if kept at 23°C.

mu-oal (mutator of *oal*) (**i-oal*, inhibitor of *oal*)

LINKAGE GROUP 23

Pfl (Larval female-protein): Spontaneous; a female-specific protein of larval hemolymph, FL-1, having storage rolls in larval-pupal metamorphosis; from this respect this protein component is designated also as SP-1.

(**Nd-t*) erased from the map of linkage group 23, as "*Nd-t*" is a chromosomal aberration of the type T(23;25)*Nd* and not a gene mutation on the chromosome 23.

REFERENCES

- DOIRA H., (1983) Linkage maps of *Bombyx mori* - Status quo in 1983, *Sericologia*, 23, 245-269.
- NAKAJIMA M., EGUCHI M., OHI H., SAKAGUCHI B., DOIRA H., NAGASHIMA E., MURAKAMI A., YAMAMOTO T., YOSHITAKE N., (1986) Names and symbols of the genes in *Bombyx mori*, *J. Seric. Sci. Jpn.*, 55, 95-111. (in Japanese)
- TANAKA Y., EPHRUSSI B., HADORN E., HAGBERG A., KFMP T., LOVE A., NACHTSHEIM H., PONTECORVO G., RHOADES M.M., (1957) Report of the International Committee on Genetic Symbols and Nomenclature, International Union of Biological Sciences, Series B, No. 30 (Paris).

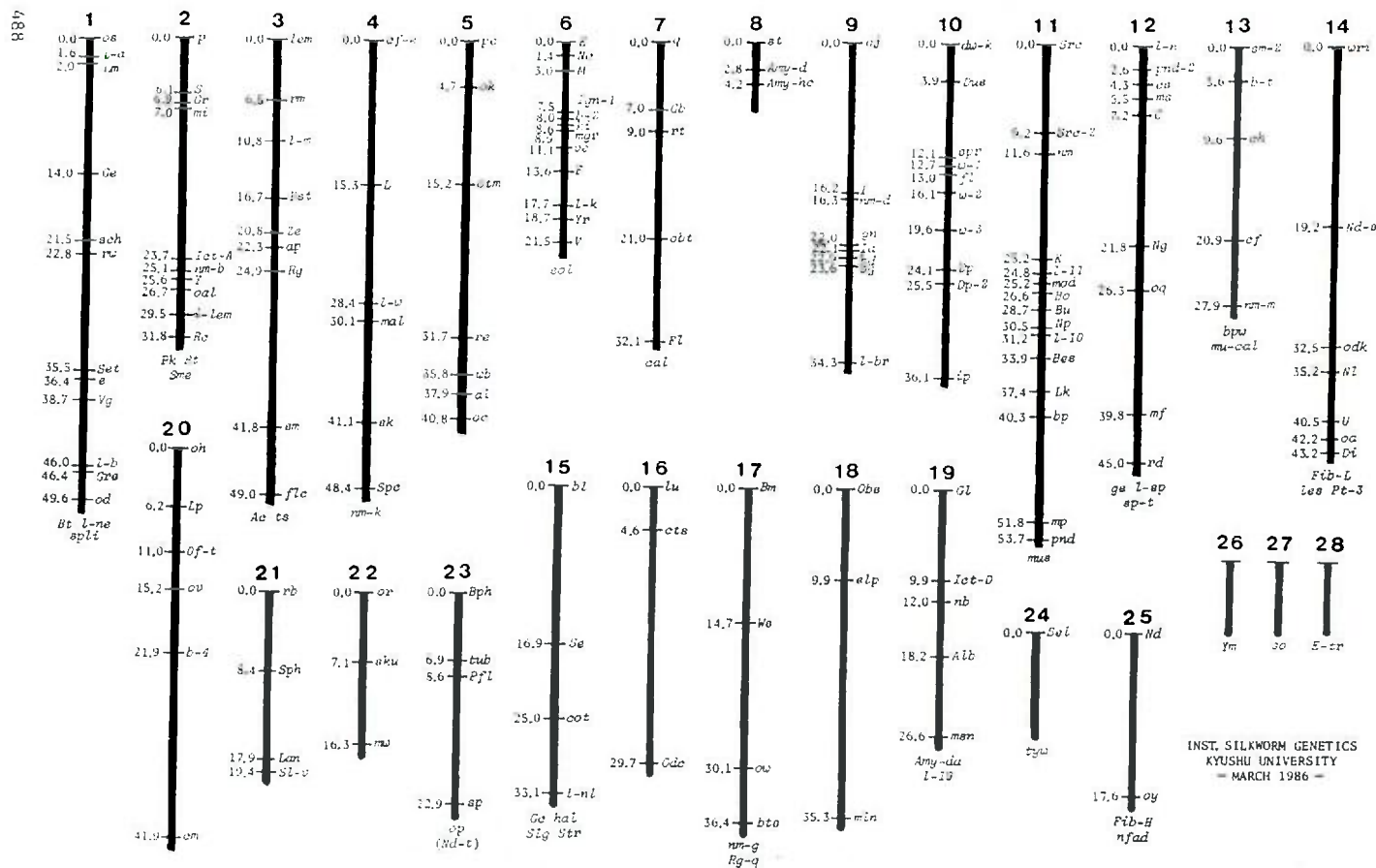
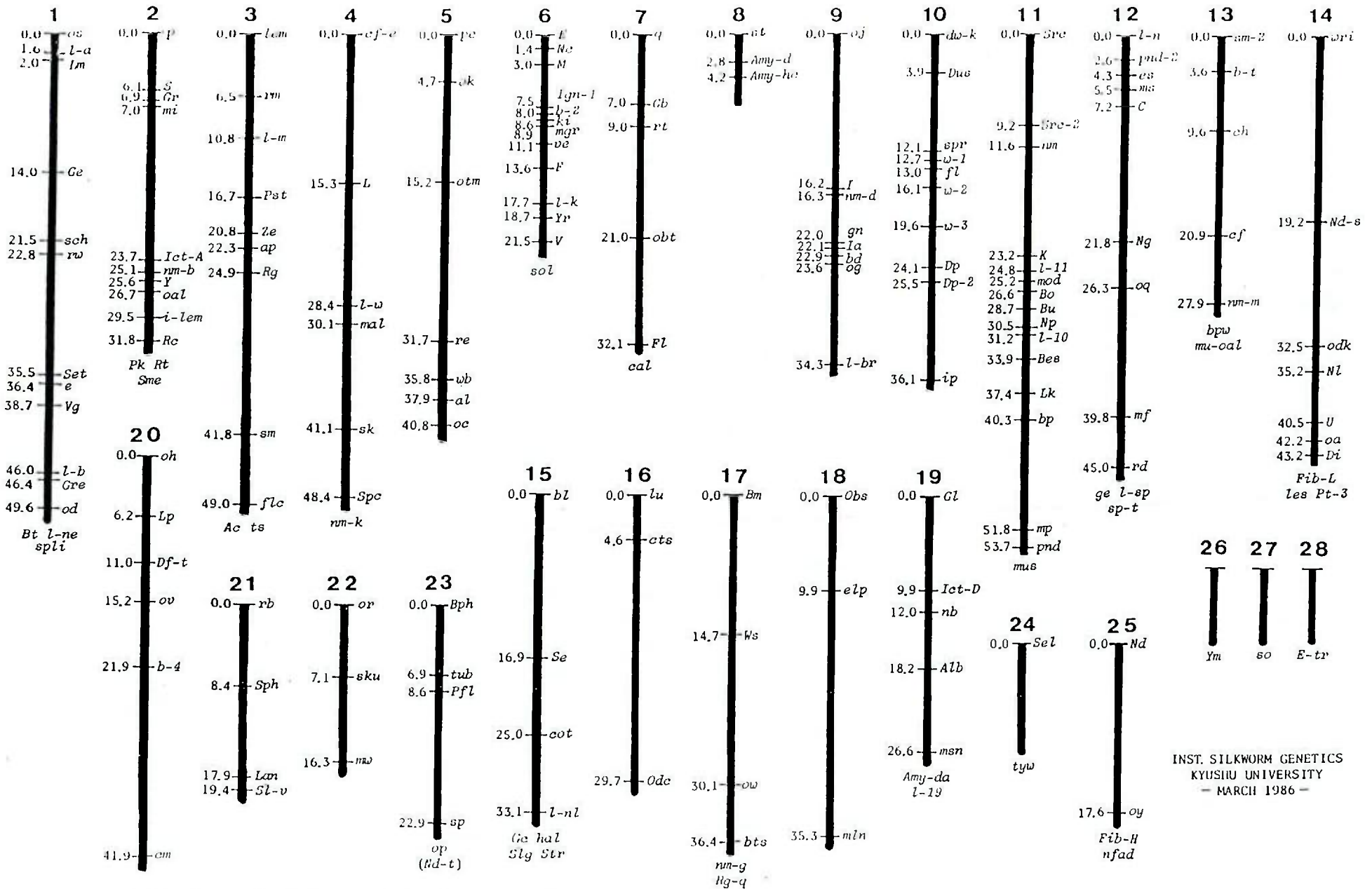


Fig. 1. Linkage maps of *Bombyx mori*. Females are XY and males are XX. The X chromosome is number 1.

Fig. 1. Carte de liaisons des gènes chez *Bombyx mori*. Les femelles sont XY et les mâles sont XX. Le chromosome X est numéro 1.

Linkage Maps of *Bombyx mori*



INST. SILKWORM GENETICS
KYUSHU UNIVERSITY
- MARCH 1986 -

Fig. 1. Linkage maps of *Bombyx mori*. Females are XY and males are XX. The X chromosome is number 1.

Fig. 1. Carte de liaisons des gènes chez *Bombyx mori*. Les femelles sont XY et les mâles sont XX.
Le chromosome X est numéro 1.

CARTES DE LIAISON CHEZ BOMBYX MORI - REVISEE EN 1986

Hiroshi DOIRA

*Institute of Silkworm Genetics, Faculty of Agriculture,
Kyushu University, Hakozaki, Higashi-ku,
Fukuoka 812.
Japan.*

Il y a trois ans, l'auteur a annoncé que "toute modification de la carte sera communiquée ultérieurement dans ce journal". Pendant ces trois années, la Japanese Society of Sericulture a organisé le Comité des symboles génétiques chez *Bombyx mori*, avec Dr. M. Nakajima comme président, pour formuler les principes généraux de nomenclature et de symbolisation de cet aspect particulier de la génétique. La J.S.S. estime que l'adoption de règles communes et la standardisation des symboles, si elle est possible, serait très souhaitable et permettrait de diminuer les confusions et ainsi faciliter la communication entre spécialistes des différents domaines de la sériciculture et de la génétique. Le Comité a adopté comme base de travail les "Règles conseillées pour la symbolisation" établies par le Comité International sur les symboles génétiques et la Nomenclature (Tanaka *et al.* 1957).

Le système de nomenclature désignant les variations génétiques de *B. mori* s'est développé de manière aléatoire. En conséquence, le système n'a pas de structure logique et contient de nombreuses redondances et contradictions. Dans la terminologie historique, par exemple, les gènes alléliques situés sur un locus sont désignés par différents noms et symboles, alors que les autres allèles d'un locus génétique particulier sont désignés par le même symbole et sont différenciés les uns des autres par des exposants. Le symbole $I-a$, qui signifie "Inhibiteur de couleur chez la fourmi (larve néonate)" peut être confondu, si l'on se réfère aux Règles internationales, avec "Inhibiteur du gène a ". Il est donc important et indispensable de réviser ce schéma. Il est tout aussi important de réduire la confusion et le manque de rigueur dans l'utilisation des termes. De ce point de vue, le Comité Nakajima s'est prononcé sur le principe suivant : les noms et symboles bien établis ne doivent pas être modifiés sauf dans le cas où de nouveaux résultats ou règles rendent les termes actuellement employés scientifiquement dénués de sens ou sont une source d'erreur.

Dans cet article, l'auteur décrit : 1) huit mutations récemment découvertes ; 2) les symboles et gènes modifiés à la suite du Rapport du Comité Nakajima (1986) ; les dernières cartes de liaison, présentées sur la Figure 1, comprenant 3) sept positions de loci, déterminées sur les groupes de linkage déjà connus ; et 4) les changements de position sur la carte, suivies d'une modification du point d'origine ; le gène à la position 0,0 du groupe de linkage.

L'auteur et ses collaborateurs ont démontré que le gène *oj* découvert récemment, est situé à 16,2 unités à gauche de *I* qui avait été placé à la position 0,0 du groupe de linkage 9. Le gène du point d'origine du groupe de linkage 19 a également été modifié de *nb* à *GL*, le gène *nb* étant actuellement positionné à 12,0. L'analyse génétique de *Nd-t*, qui était précédemment à 0,0 sur le groupe de linkage 23 a montré que *Nd-t* n'était pas une mutation mimétique de *Nd* (25.00) mais était le véritable gène *Nd* ; le chromosome 25 portant les gènes *Nd* était attaché au chromosome 23. L'origine du *Nd-t* était une souche *Nd*, où on a pu dénombrer vingt sept groupes de chromosomes en métaphase, la normale moins un, lors de la méiose spermatogénique des larves hétérozygotes pour *Nd-t*. Nous avons établi la nouvelle carte du groupe de linkage 23.

Nous donnons un catalogue des mutants découverts entre 1983 et 1985, en suivant le même schéma que celui adopté dans le rapport précédent (Doira, 1983). Le gène dont le symbole a été modifié est également noté, l'ancienne terminologie indiquée par un astérisque placé à sa gauche, suit le symbole entre parenthèses.

GROUPE DE LINKAGE 1

- Bt* (se nourrit de betteraves) : obtenu par irradiation aux rayons X. Larves incapables de sélectionner les feuilles de mûrier des autres feuilles : sélectionné par nourrissage sur feuilles de betteraves : dominance incomplète, COV entre le locus *od*, environ 5%.
- l-ne* (**lne*)

GROUPE DE LINKAGE 3

- Pst* (Protéine 2 de stockage) : Spontané ; SP-2, l'une des deux protéines de l'hémolymphe incorporée de manière sélective dans le corps gras pendant la transformation larvo-nymphale.

GROUPE DE LINKAGE 4

- nm-k* (k sans mue) : Spontané : les homozygotes survivent environ une semaine, comme les larves du premier âge larvaire, sans muer, puis meurent.

GROUPE DE LINKAGE 6

- Ign-1* (vert inhibé 1) (**I-gn₁*, inhibiteur de vert 1)

GROUPE DE LINKAGE 9

- oj* (translucide, japonais) : Spontané ; peau larvaire modérément translucide, couleur de l'oeuf claire.
- Ia* (**I-a*)

GROUPE DE LINKAGE 10

- Dp-2* (**Dp'*)

GROUPE DE LINKAGE 11

- l-11* (léthal 11) : Spontané ; homozygote létal dans l'embryon.
- Bo* (Bambou) : Spontané ; abdomen des larves compact et dur, des renflements apparaissent sur le bord postérieur de chaque segment ; thorax fort ; inhibe les taches et les croissants ; faibles rayures sur le dos des papillons adultes.

GROUPE DE LINKAGE 13

- bpu* (ailes des chrysalides rayées noir) : Spontané ; sensibilité thermique, des bandes noires étroites apparaissent sur les ailes de la chrysalide selon la température, pendant les deux jours précédant la nymphose, après la fin du filage jusqu'à l'achèvement de l'ecdysis larvo-nymphale ; devient rayé noir à une température de 20°C mais est normalement de couleur ambrée à 23°C.
- mu-oal* ("mutateur de *oal*) (**i-oal*, inhibiteur de *oal*).

GROUPE DE LINKAGE 23

- Pfl* (Protéine femelle larvaire) : spontanée ; une protéine spécifique de l'hémolymphe de la larve femelle, Fl-1, ayant des rouleaux de stockage dans la métamorphose larvo-nymphale ; de ce point de vue, ce composé protéique est aussi appelé SP-1.
- (**Nd-t*) éliminé de la carte du groupe de linkage 23, en tant que "*Nd-t*", est une aberration chromosomique de Type T (23 ; 25*Wd* et n'est pas une mutation de gènes sur le chromosome 23.

EFFECT OF REFRIGERATION OF JUST HATCHED OUT MULTIVOLTINE SILKWORMS OF BOMBYX MORI L.

R. GOVINDAN and T.K. NARAYANA SWAMY

*Department of Sericulture,
College of Agriculture,
Dharwad 580 005,
India.*

Refrigeration of just hatched out worms of Pure Mysore breed for 12 hrs to 9 days at 5°C resulted in a mortality of 0.00 to 50.68% during refrigeration, maximum larval weight of 12.48 to 18.51g for 10 worms, 10 cocoons weight of 7.14 to 10.38g, 10 shells weight of 0.85 to 1.29g, cocooning of 23.67 to 31.00%, moth emergence of 71.55 to 95.58% and fecundity of 403.4 to 518.2 eggs compared to 0.00%, 21.64g, 11.09g, 1.35g, 95.00%, 94.87% and 473.0 eggs respectively for control.

INTRODUCTION

Refrigeration is a common means practised to postpone hatching of silkworm eggs. It may also be employed for safe preserving of early hatched out silkworms (ants) so as to synchronise brushing on a large scale. Survey of literature revealed scanty information on the effect of refrigeration of ants of silkworm, *Bombyx mori* L., on the performance of the refrigerated batch as well as with regard to the economic traits. As such, an experiment was conducted to find out the effect of refrigeration of just hatched out silkworms and the results are reported in this paper.

MATERIALS AND METHODS

Just hatched out silkworms of a well known multivoltine silkworm breed, Pure Mysore, were refrigerated at 5°C for durations of 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 9 days with three replications of 100 worms each for every duration along with suitable unrefrigerated control. Extra batches of worms for different durations were refrigerated separately to make up the total number of worms constant by way of supplementing

during brushing.

Mortality of worms during refrigeration was recorded after removal from the refrigerator. The worms were brushed and reared as per the recommendations of Krishnaswami (1978). Observations were recorded on the mortality of the worms at the end of 3rd and 5th instars, maximum larval weight for 10 worms, weight of 10 cocoons, weight of 10 cocoon shells, weight of 10 pupae, effective rate of rearing, successful moth emergence, fecundity per female and egg hatching. The data were analysed statistically after transformations where ever necessary and inference drawn.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the experiment are discussed below under pre-cocoon, cocoon and post-cocoon parameters.

Effect on pre-cocoon parameters

The mortality of ants during refrigeration was significant. It ranged from 0.53 at 1 day of refrigeration to 50.68% at 9 days of refrigeration while no mortality was observed with 0.5 day of refrigeration as well as in unrefrigerated control. The mortality at the end of 3rd instar was statistically similar (0.33 to 1.00%) with unrefrigerated control and 0.5 and 1 day of refrigeration. However, the mortality increased gradually with the increase in duration of refrigeration (Table I). A more or less similar trend was observed in respect of mortality at the end of fifth instar that ranged from 9.00 to 75.67% with refrigeration whereas in control it was 5.00%.

The maximum larval weight in unrefrigerated control batch was 21.6354g for 10 worms and it was 12.4843 to 18.5094g under various durations of refrigeration. The control batch of worms weighed significantly more compared to the worms in respect of 0.5, 1 and 2 days of refrigeration and the latter remained on par with each other (Table II).

The effective rate of rearing varied between 23.67 to 91.00%, the maximum and minimum being with 0.5 and 9 days of refrigeration respectively. Nevertheless, control (95.00%) and 0.5 day of refrigeration had similar values (Table III).

Effect on cocoon parameters

The weight of 10 cocoons was 7.1371 to 10.3831g under different durations of refrigeration and a significant difference existed between control (11.0900g) and 0.5 day of refrigeration. The weight of 10 cocoon shells fluctuated between 0.8487 to 1.2864g under refrigeration treatment. However, 0.5 day refrigeration and unrefrigerated control (1.3510g) were the same (Table II). In check the weight of 10 pupae was 9.6998g while it ranged between 6.2884 to 9.1089g under the influence of refrigeration for different durations. It has been observed in general that the cocoon parameters tended to reduce with the increase in the duration of refrigeration of just hatched out silkworms.

Effect on post-cocoon parameters

The successful moth emergence resulted under different refrigeration durations was 71.55 to 95.58%, the lowest being at more duration and the highest with less duration of refrigeration. No statistical difference existed between control (94.87%) and 0.5 and 1 day refrigerated batches.

With regard to the number of eggs laid by a female, the data tended to be inconsistent. However, control (473.00 eggs) did not differ from 0.5 day of refrigeration (451.40 eggs) though for the other durations the fecundity was 403.40 to 518.20 eggs.

The percentage of hatching of eggs obtained from moths resulting from ants refrigerated for different durations varied between 89.43 to 97.01 while in control it was 96.43. Unrefrigerated check, 0.5, 1, 2 and 3 days refrigeration had the same effect.

The post cocoon observations too generally tended to show lower values with more duration of refrigeration.

In the light of the above observations, it may be concluded that the just hatched out worms of *B. mori* can be refrigerated for a period of 12 to 24 hours and not for a longer period. Krishnaswami *et al.* (1973) have also recommended refrigeration of just hatched out mulberry silkworms at 10°C for a period of 24 hours. The deterioration in some of the economic traits to some extent may be ascribed to the refrigeration temperature of 5°C experimented currently.

REFERENCES

- KRISHNASWAMI S., (1978) New technology of silkworm rearing. Bulletin no. 2, Central Sericultural Research and Training Institute, Mysore, 23.
- KRISHNASWAMI S., NARASIMHANNA M.N., SURYANARAYAN S.K., KUMARARAJ S., (1973) FAO Manual on sericulture, vol. 2, Silkworm rearing, FAO, Rome, 131.

Larval mortality/ Mortalité larvaire (%)	Duration of refrigeration (days)/ Durée de la réfrigération (jours)									Unrefrigerated control/ Témoin non réfrigéré
	0.5	1	2	3	4	5	6	7	9	
During refrigeration/ Pendant la réfrigération	0.00 (0.00)*	0.53 (4.17)	1.66 (7.42)	2.98 (9.92)	6.29 (14.50)	12.57 (21.61)	17.39 (25.37)	23.46 (29.62)	50.68 (45.94)	0.00 (0.00)
At the end of third instar/ A la fin du 3ème âge	0.33 (1.91)	1.00 (4.62)	1.67 (7.33)	1.33 (5.24)	4.00 (11.48)	4.67 (12.46)	5.00 (12.75)	7.33 (15.57)	11.67 (20.14)	0.67 (3.83)
At the end of fifth instar/ A la fin du 5ème âge	9.00 (17.50)	16.00 (24.33)	21.67 (28.07)	23.00 (29.31)	31.67 (34.79)	40.00 (39.81)	48.67 (44.81)	61.00 (51.95)	75.67 (61.12)	5.00 (12.88)
Mortality during refrigeration/ Mortalité pendant la réfrigération			S.E.m. $\pm$ 0.17			C.O. at 5% 0.49				
Mortality at the end of 3rd instar/ Mortalité à la fin du 3ème âge			1.58			4.70				
Mortality at the end of 5th instar/ Mortalité à la fin du 5ème âge			1.36			4.03				

* Figures in parentheses are the angular transformed values/ Les chiffres entre parenthèses sont des valeurs transformées angulaires

Table I. Effect of refrigeration of just hatched out silkworms on the mortality during refrigeration and at the end of third and fifth instars.

Tableau I. Effet de la réfrigération des larves néonates du ver à soie sur la mortalité observée au cours de la réfrigération et à la fin du 3ème et du 5ème âges.

Observations/ Observations	Duration of refrigeration (days)/ Durée de la réfrigération (jours)									Unrefrigerated control/ Témoin non réfrigéré
	0.5	1	2	3	4	5	6	7	9	
Maximum larval weight of 10 worms (g)/ Poids larvaire maximum pour 10 larves (g)	18.5094	17.3102	17.1523	16.6937	15.2948	14.5876	14.2612	14.0313	12.4843	21.6354
Weight of 10 cocoons (g)/ Poids de 10 cocons (g)	10.3831	9.7546	9.7427	9.3191	8.6813	8.6243	7.6958	7.6674	7.1371	11.0900
Weight of 10 cocoon shells (g)/ Poids de 10 coques soyeuses (g)	1.2864	1.1739	1.1645	1.1047	1.0029	1.0291	0.8677	0.9098	0.8487	1.3510
Weight of 10 pupae (g)/ Poids de 10 chrysalides (g)	9.1089	8.5806	8.5781	8.2144	7.6784	7.5952	6.8282	6.7577	6.2884	9.6998
			S.E.m. $\pm$		C.D. at 5%/ C.O. à 5%					
Maximum larval weight/ Poids larvaire maximum			0.4974		1.4779					
Cocoon weight/ Poids du cocon			0.1959		0.5820					
Cocoon shell weight/ Poids de la coque soyeuse			0.0302		0.0897					
Pupal weight/ Poids de la chrysalide			0.1761		0.5234					

Table II. Effect of refrigeration of just hatched out silkworms on the maximum larval weight, cocoon weight, cocoon shell weight and pupal weight.

Tableau II. Effet de la réfrigération des larves néonates du ver à soie sur le poids larvaire maximum, le poids du cocon, le poids de la coque soyeuse et le poids de la chrysalide.

Observations/ Observations	Duration of refrigeration (days)/ Durée de la réfrigération (jours)									Unrefrigerated control/ Témoin non réfrigéré
	0.5	1	2	3	4	5	6	7	9	
Effective rate of rearing (%)/ Taux effectif d'élevage (%)	91.00 (73.88)*	84.00 (67.24)	81.67 (65.42)	77.00 (62.06)	65.00 (54.35)	60.00 (51.37)	51.33 (46.34)	39.00 (42.56)	23.67 (29.78)	95.00 (78.52)
Successful moth emergence (%)/ Emergence du papillon (%)	95.58 (81.89)	95.03 (79.73)	89.05 (71.68)	86.90 (69.68)	86.55 (69.34)	86.19 (69.04)	84.75 (67.81)	76.65 (61.79)	71.55 (58.46)	94.87 (78.36)
Fecundity (No of eggs/female) / Fécondité (nb d'oeufs/femelle)	451.40	437.20	494.20	407.40	518.20	451.20	403.40	457.60	447.40	473.00
Egg hatching (%)/ % d'éclosion	97.01 (82.03)	96.16 (80.62)	95.16 (79.67)	93.65 (77.21)	92.05 (74.92)	91.75 (74.84)	89.78 (72.73)	89.56 (74.05)	89.43 (73.00)	96.43 (81.58)
Effective rate of rearing/ Taux effectif d'élevage		S.E.m.± 1.65			C.D. at 5%/ C.D. à 5 % 4.91					
Successful moth emergence/ Emergence du papillon		2.42			7.20					
Fecundity/ Fécondité		30.97			68.80					
Egg hatching/ Eclosion		2.40			6.87					

* Figures in parentheses are the angular transformed values/ Les chiffres entre parenthèses sont des valeurs transformées angulaires

Table III. Effect of refrigeration of just hatched out silkworms on the effective rate of rearing, successful moth emergence, fecundity and egg hatching.

Tableau III. Effet de la réfrigération des larves néonates du ver à soie sur le taux effectif d'élevage, l'émergence réussie des papillons, la fécondité et le pourcentage d'éclosion.

EFFET DE LA REFRIGERATION DES LARVES NEONATES DE VER A SOIE
POLYVOLTIN BOMBYX MORI L.

R. GOVINDAN et T.K. NARAYANA SWAMY

Department of Sericulture,
College of Agriculture,
Dharwad 580 005,
Inde.

La réfrigération des larves néonates de souche Pure Mysore pendant 12 heures à 9 jours à 5°C a donné les résultats suivants : une mortalité de 0,00 à 50,68 % au cours de la réfrigération, un poids larvaire maximum pour 10 larves de 12,48 à 18,51 g, un poids pour 10 cocons de 7,14 à 10,38 g, un poids pour 10 coques soyeuses de 0,85 à 1,29 g, un filage du cocon de 23,67 à 91,00 %, une émergence des papillons de 71,55 à 95,58 % et une fécondité de 403,4 à 518,2 oeufs. Ces valeurs étaient respectivement les suivantes pour le lot témoin : 0,00 %, 21,64 g, 11,09 g, 1,35 g, 95,00 %, 94,87 % et 473,0 oeufs.

INTRODUCTION

La réfrigération est couramment utilisée pour retarder l'éclosion des oeufs de ver à soie. Elle peut aussi être employée pour conserver sans risque les larves néonates (fourmis) afin de synchroniser la levée sur une grande échelle. La littérature ne révèle que peu d'informations sur l'effet de la réfrigération des "fourmis" de ver à soie *Bombyx mori* L. sur les performances des lots réfrigérés en ce qui concerne les caractères économiques. Une expérience a donc été conduite pour déterminer l'effet de la réfrigération des larves néonates, dont les résultats sont rapportés ici.

MATERIEL ET METHODES

Des larves néonates de la souche polyvoltine bien connue Pure Mysore sont réfrigérées à 5°C pendant des durées de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 9 jours avec trois replicatas de 100 larves chacun pour chaque durée, ainsi qu'un lot témoin non-

réfrigéré approprié. Des lots supplémentaires de larves sont réfrigérés séparément selon les différentes durées pour en ajouter lors de la levée et avoir ainsi un nombre de larves constant.

La mortalité des vers à soie au cours de la réfrigération est enregistrée après la sortie du réfrigérateur. Les larves sont levées et élevées selon la méthode de Krishnaswami (1978). La mortalité des larves à la fin du 3ème et du 5ème âge, le poids larvaire maximum pour 10 larves, le poids de 10 cocons, le poids de 10 coques soyeuses, le poids de 10 chrysalides, le taux effectif d'élevage, l'émergence des papillons, la fécondité par femelle et l'éclosion des oeufs ont été enregistrés. Les données ont été analysées statistiquement après transformations lorsqu'elles étaient nécessaires, et les conclusions ont été tirées.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'expérience sont discutés ci-après en prenant en compte les paramètres des stades pré-cocon, cocon et post-cocon.

Effets sur les paramètres du stade pré-cocon

La mortalité des "fourmis" au cours de la réfrigération est significative. Elle va de 0,53 % le 1er jour de réfrigération à 50,68 % le 9ème jour tandis qu'on n'observe pas de mortalité pour 0,5 jour de réfrigération, ni dans le lot témoin non réfrigéré. La mortalité à la fin du 3ème âge est similaire statistiquement (0,33 à 1,00 %) chez les témoins non-réfrigérés et les lots réfrigérés pendant 0,5 et 1 jour. Cependant, la mortalité augmente progressivement avec la durée de réfrigération (Tableau I). Une tendance plus ou moins similaire est observée en ce qui concerne la mortalité à la fin du 5ème âge (de 9,00 à 75,67 % après réfrigération alors qu'elle est de 5,00 % chez le lot témoin).

Le poids larvaire maximum chez le lot témoin est de 21,6354 g pour 10 larves et il est de 12,4843 à 18,5094 g selon les différentes durées de réfrigération. Les vers à soie du lot témoin pèsent plus lourd que ceux qui ont subi 0,5, 1 et 2 jours de réfrigération et il n'y a pas de différences entre ces derniers (Tableau II).

Le taux effectif d'élevage varie de 23,67 à 91,00 %, le maximum et le minimum se trouvant respectivement avec les lots réfrigérés pendant 0,5 et 9 jours. Cependant, la valeur est la même (95,00 %) pour le lot témoin et le lot réfrigéré pendant 0,5 jour (Tableau III).

Effets sur les paramètres du stade du cocon

Le poids de 10 cocons varie de 7,1371 à 10,3831 g selon les différentes durées de réfrigération et il existe une différence significative entre le lot témoin (11,0900 g) et le lot réfrigéré pendant 0,5 jour. Le poids de 10 coques soyeuses fluctue entre 0,8487 et 1,2864 g lors du traitement. Cependant le lot témoin et le lot réfrigéré pendant 0,5 jour donnent le même résultat (1,3510 g) (Tableau II). Chez le lot témoin le poids de 10 chrysalides est de 9,6998 g tandis qu'il varie de 6,2884 à 9,1089 g sous l'influence du froid pour les différentes durées. Nous avons observé en général que les valeurs obtenues pour les paramètres du stade du cocon tendent à diminuer avec l'augmentation de la durée de la réfrigération des larves néonates.

Effet sur les paramètres du stade post-cocon

Le taux d'émergence des papillons obtenu lors des différentes durées de réfrigération va de 71,55 à 95,58 %, le plus faible étant obtenu avec la réfrigération la plus longue, et le plus élevé avec la durée de réfrigération la plus courte. Il n'existe pas de différence statistique entre le lot témoin (94,87 %) et les lots réfrigérés pendant 0,5 et 1 jour.

En ce qui concerne le nombre d'oeufs pondus par femelle, les valeurs ne semblent pas avoir de signification. Cependant, le lot témoin (473,00 oeufs) ne diffère pas du lot réfrigéré pendant 0,5 jour (451,40 oeufs) alors que pour les autres durées, la fécondité varie de 403,40 à 518,20 oeufs.

Le pourcentage d'éclosion des oeufs provenant des papillons obtenus à partir des "fourmis" réfrigérées pendant différentes durées, varie de 89,43 à 97,01 tandis qu'il est de 96,43 chez le lot témoin. Le lot témoin, ainsi que les lots réfrigérés pendant 0,5, 1, 2 et 3 jours donnent les mêmes résultats.

Les observations sur le stade post-cocon ont également tendance à montrer des valeurs moins bonnes avec l'augmentation de la durée de la réfrigération.

A la lumière de ces observations, on peut conclure que les larves néonates de *B. mori* peuvent être réfrigérées pendant une période de 12 à 24 heures et pas plus. Krishnaswami *et al.* (1973) ont également recommandé d'effectuer une réfrigération à 10°C des larves néonates pendant 24 heures. La détérioration des caractères économiques peut être attribuée pour une partie à la température de réfrigération de 5°C utilisée pour la présente expérience.

NON-SPINNING SYNDROME IN SILKWORM BOMBYX MORI L.

O. JOY

Department of Sericulture,
Bangalore University,
Bangalore 560 009,
India.

and M.B. SHYAMALA

Department of Sericulture,
University of Agricultural Sciences,
G.K.V.K. Campus,
Bangalore 560 024,
India.

The incidence of the non spinning disease is sporadic in silkworm rearings in Karnataka. Recently crop losses ranging from 10-50% were observed in different regions of Karnataka due to this syndrome. Silkworms apparently healthy at the time of mounting did not spin cocoons or pupate. This was followed by death. Larval body looked swollen and stretched.

It was observed that these larvae did not excrete meconium. The Malpighian tubules showed degeneration and exfoliation of epithelium. Also rod shaped inclusions could be observed in the Malpighian tubules. The silk glands showed edema. Spinneret was devoid of sclerotization.

Malfunctioning of excretory system and spinneret could be clearly observed in the non-spinning silkworm larvae. Experiments are being conducted to elucidate the causative organism of this syndrome.

INTRODUCTION

Sporadic appearance of non-spinning in silkworms is a common occurrence in silkworm rearings, and does not cause appreciable loss to the sericulturist. However, recently non-spinning syndrome was found to cause appreciable damage to silkworms in some areas of Karnataka. Hence, investigations were undertaken to assess the loss caused and also to understand the patho-physiology of the disease. Vago (1963) discussed the causes for the failure of mature silkworms to spin cocoons and expressed

the view that certain virus or protozoan infections could be responsible. The suspected cause was a metabolic imbalance resulting in pupation overtaking silk spinning which lead to silk retention in silkworms with pebrine disease. Machida (1970), Iijima (1972) reported two types of non-spinning in silkworms resulting in naked pupae - Nd₁ and Nd₂. The former was reported to possess a highly underdeveloped posterior silk gland as compared to the latter which revealed well developed posterior silk glands.

In the present investigations, the symptoms of the syndrome are described and the loss due to this disease is assessed and reported. Some pathophysiological changes in non-spinning silkworms collected from commercial and laboratory rearings are also reported.

MATERIALS AND METHODS

1. Collection of diseased silkworms:

Healthy as well as diseased insects were collected from farmers' rearings and from mass rearings conducted in the laboratory. Mountages were examined for non-spinning silkworms on the 2nd/3rd day of mounting. Only larvae which showed typical symptoms of non-spinning without any obvious symptoms of other diseases were collected.

2. Assessment of loss due to non-spinning:

The number of non-spinning larvae on mountages was counted on the 2nd/3rd day of mounting. All the mountages in a rearer's house were examined for calculating the percentage incidence. Surveys were conducted in Anekal, Nelamangala, Ramanagar, K.E. Pet and Channarayana Taluks.

3. Gross pathology:

External examination of the larvae was made. Morphological changes in the spinneret as well as Malpighian tubes were observed under the stereo microscope. The dissected spinneret and Malpighian tubes were also observed under the research microscope. Over 100 larvae each of healthy and diseased silkworms were examined.

4. Pathophysiology:

The length, weight, volume and moisture content of the silk glands were determined. The volume of the gland was estimated by water displacement. Moisture content was determined by drying the glands overnight at 80°C.

Five sets of experiments were conducted. In each set, five each from diseased and healthy worms were used, estimations being conducted on individual worms. Statistical analysis has been presented for the pooled data of the five sets.

RESULTS

1. Occurrence of the disease:

Normally the incidence of non-spinning disease is sporadic. However, the survey conducted shows that losses ranging from 10-50% were found in different areas (Table 1).

2. Symptoms and gross pathology:

The mature, non-spinning worms apparently looked normal when they were left on the mountages but failed to spin even after 2 or 3 days and remained immobile in a stretched position on the ridges of the mountages. In the later stages, the colour of the skin gradually turned paler and lacked the lustre of the healthy insect. Apparently healthy looking silkworms could be collected from the mountages on the day of spinning. The worms died without pupating.

Meconium excretion was not observed in non-spinning worms as a result of which the posterior region showed a darker colour. Dissection of the worms indicated the presence of food material in the posterior midgut and hindgut.

Occasionally, a small percentage (about 15%) of the affected worms could be stimulated to spin by exposure to sunlight. The cocoons were small and flimsy, the shell weight being much lower than in the healthy cocoon (Table II).

3. Morphological changes in the spinneret:

Observation of the healthy, spinning silkworms and the non-spinning ones indicated difference in the morphology of the spinneret.

The spinneret is a retractile, tubular, membranous structure conical in shape and bluntly pointed at the apex. The base of the spinneret is surrounded by a chitinous ring present on the labrum. In the healthy insect, the spinneret did not show appreciable sclerotized regions before spinning. However, during spinning it showed localized intensely sclerotized bars, sclerotization was exhibited in the form of ventral bars - three in number - (Fig. 1a). The diseased silkworms collected on the 3rd day after mounting did not show this particular sclerotization (Fig. 1b).

Examination of the spinneret in the diseased silkworms which were able to spin cocoons after exposure to sunlight indicated partial tanning. Sclerotization of the spinneret region appears to be an integral step in the overall spinning process. In fact, the observation of more than 200 silkworms indicated that the extent of sclerotization can serve as a useful guide in identifying the non-spinning silkworms.

4. Pathophysiological changes in the silk gland:

The silk glands of non-spinning worms registered an increase in size over that of healthy worms. Although no significant differences were evident in the wet weight or length. Statistically significant difference was seen in the moisture content. Thus, the swollen state of the silk glands in the non-spinning worms is revealed (Table III).

5. Pathophysiology of Malpighian tubes:

The Malpighian tubes in the healthy insect show a deep yellow colour. In the non-spinning insect they were almost colourless. In an advanced stage of the disease, epithelial degeneration was evident even on gross examination. Localized exfoliation of the epithelium was observed especially in the anterior region of the Malpighian tubes. The disintegrated epithelial fragments could be seen within the lumen (Fig. 2). Examination of the contents of the lumen indicated the presence of numerous rod-like inclusions 4 to 8 μ m in length (Fig. 3). In the healthy insects, such forms were found in very small numbers. Examination of intestines and also body fluid did not show the presence of polyhedra or pebrine spores. Since the inclusions in Malpighian tubes are not commonly seen in healthy insects, these might be causing the degenera-

tion of the epithelium as well as the blocking. The nature of the inclusions needs to be elucidated.

DISCUSSION

The non-spinning syndrome is normally sporadic. However, the incidence was found to increase substantially during the period August to November and also in October. In few areas the farmer lost his crop completely. A detailed study is needed to elucidate the specific environmental or other factors which lead to such outbreaks.

The present investigations on the pathology have indicated a mal-functioning of the silk gland and Malpighian tubes. Non-spinning is found to be associated with the conspicuous absence of morphological changes on the spinneret which appears to be a normal feature in spinning silkworms. The absence of sclerotization of the spinneret in fifth instar larvae before spinning indicates the hardening of the spinneret as a requisite for normal spinning. Sclerotization is perhaps necessary to give the spinning apparatus the required mechanical rigidity for the forcible ejection of silk through the fine orifice. Supporting evidence for increased sclerotization during spinning is available from Kawase (1960) who reported an increase in the tyrosine oxidase in integument in the mature silkworms. The activity gradually decreased and reached the lowest values before pupation. The close association between silk spinning and hardening of the spinneret is in conformity with the established role of hormones, notably ecdysone, in silk spinning which has been described by Akai (1970). In view of the role of bursicon as the hormone which regulates tanning in a variety of insect species, it would be interesting to investigate its role in silk spinning (Wills, 1979; Post, 1972).

The changes in the silk gland are more deepseated than those involved in tanning and hardening and are evident from the edema of the gland as a whole and the decreased silk protein synthesis as evidenced by the reduced silk spinning in non-spinning silkworms subjected to stimulation by sunlight.

The failure of non-spinning worms to excrete meconium and the retention of large quantity of food material in the gut, especially the hind gut and the degeneration of the epithelium of the Malpighian tubes indicate an upset in the excretory mechanism. The situation is reminiscent of the mechanical blockage seen in infection of *Apis mellifera* with *Malpighamoeba mellifecae*, locusts with *Malamoeba locustae* and *Nosema muscularis* in *Prothetria dispar*. The derangement in excretion could be an ample reason for fluid accumulation because of the impairment of water and osmotic regulation (Benz, 1963; Martignani, 1964). The large number of inclusions in the Malpighian tubes of non-spinning silkworms may be responsible for a mechanical blockage. Further investigations are, however, needed not only to elucidate the nature of inclusions but also to reveal the exact role of these inclusions in the incidence of disease.

REFERENCES

- AKAI H., (1979) Hormonal control of silk production in silkworm *Bombyx mori*. Japan Agricultural Research Quarterly, 136, 116-122.
- BENZ G., (1963) Genetic diseases and aberration in insect pathology, an advanced treatise (Ed. by E.A. Steinhaus) 1, 161-185, Academic Press, New York and London.

- IIJEMA T., (1972) Ultrastructure of the posterior silk gland of the 'Naked Pupa' silkworm *Bombyx mori*. J. Insect Physiol., 18, 2055-2063.
- KAWASE S., (1960) Tyrosinase in the silkworm during pupation period. J. Insect Physiol., 5, 335-340.
- MACHIDA Y., (1970) Studies on the silk gland of silkworm *Bombyx mori* L. II. The singularity of the silk gland in hereditary traits, naked pupa (Nd) in the silkworm. Bull. Fukuoka Women's Junior College, 3, 1.21.
- MARTIGNONI M.E., (1964) Pathophysiology in the insect. Ann. Rev. Entomol., 9, 179-206.
- POST L.C., (1972) Bursicon: Its effect on tyrosine permeation into insect haemocytes. Biochem. Biophys. Acta, 290, 424-428.
- VAGO C., (1963) Predisposition and inter-relations in insect diseases. In Insect pathology and advanced treatise (Ed. E.A. Steinhaus) I, 339-372. Academic Press, New York and London.
- WILLIS J.H., (1974) Morphogenetic action of insect hormones. Ann. Rev. Entomol., 19, 97-115.

Taluks/ Elevages	Mountages counted/ Nombre d'encabanas	Percentage of incidence/ Pourcentage d'incidence			
		August to October/ août à octobre	November to January/ novembre à janvier	February to April/ février à avril	May to July/ mai à juillet
Anekal	400	51.0	33.0	13.0	20.0
Channapatana	200	40.9	25.8	20.1	22.0
K.R. Pet	420	35.8	26.0	33.5	22.1
Nelamangala	50	33.2	21.2	21.5	11.8
Ramanagara	400	10.0	6.0	12.0	8.9
University laboratory/ Laboratoire de l'Université	10	17.0	12.0	9.0	12.5

Table I. Incidence of non-spinning syndrome in some taluks of Karnataka.
(expressed in percentage)

Tableau I. Incidence du syndrome non-fileur dans quelques élevages du Karnataka.
(exprimée en pourcentages)

Particulars/ Caractères	Non-spinning worms/ Vers non-fileurs	Spinning silkworms (control)/ Vers à soie fileurs (témoins)	P
Cocoon weight/ Poids du cocon	0.9558 ± 0.0473	1.2734 ± 0.0554	0.005
Pupal weight/ Poids de la chrysalide	0.9105 ± 0.0466	1.0453 ± 0.0136	not significant/ sans signification
Shell weight/ Poids de la coque soyeuse	0.1425 ± 0.0065	0.2141 ± 0.0043	less than zero/ inférieur à zéro

Table II. Cocoon weight and shell weight in non-spinning silkworms exposed to
sunlight. (expressed in gms/individual)

Tableau II. Poids du cocon et de la coque soyeuse chez les vers à soie
non-fileurs exposés à la lumière du jour. (exprimés en g/individu)

Particulars/ Caractères	Non-spinning worms/ vers non-fileurs	Spinning worms (control)/ Vers à soie fileurs (témoins)	P
Length of silk gland (cm)/ Longueur de la glande séricigène (cm)	21.3 ± 0.4683	31.6 ± 0.3265	not significant/ sans signification
Weight of silk gland (gms)/ Poids de la glande séricigène (g)	1.0697 ± 0.0402	1.1656 ± 0.0319	not significant/ sans signification
Volume of silk gland (cc)/ Volume de la glande séricigène (cc)	1.366 ± 0.0202	1.0506 ± 0.0107	less than 0.01/ inférieur à 0.01
% of moisture in the silk gland/ % d'humidité dans la glande séricigène	65.8016 ± 0.5965	40.2801 ± 1.2038	less than 0.01/ inférieur à 0.01

Table III. Weight, volume and moisture determination in the silk glands of non-spinning and spinning silkworms.

Tableau III. Détermination du poids, du volume et de l'humidité de la glande séricigène des vers à soie non-fileurs et fileurs.

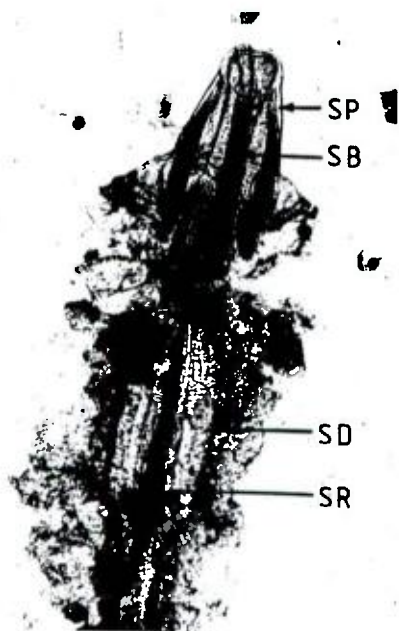


Fig. 1a

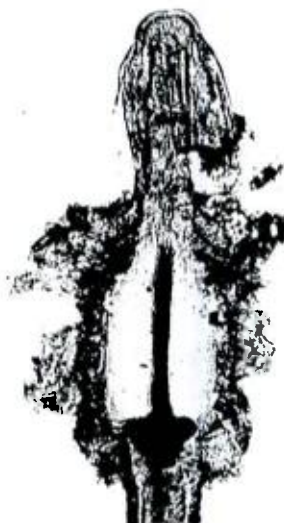


Fig. 1b

Fig. 1a Spinneret of spinning silkworm, ventral view (x200).

Filière d'un ver à soie fileur, face ventrale (x200).

SP: Spinneret/ Filière

SB: Sclerotized bar/ Barre sclérotique

SR: Sclerotized raphae/ Raphae sclérotique

SD: Silk gland duct/ Tube fileur

Fig. 1b Spinneret of non-spinning silkworm, ventral view (x200).

Note the spinneret without sclerotized bars and the swollen nature of the silk gland duct.

Filière d'un ver à soie non-fileur, face ventrale (x200).

Remarquer que la filière ne comporte pas de barres sclérotiques et le gonflement du tube fileur.



Fig. 2 Malpighian Tubule of non-spinning silkworm (x200).
Tube de Malpighi d'un ver à soie non-fileur (x200).
DE: Degenerated epithelium/ Epithélium dégénéré



Fig. 3 Inclusions inside the Malpighian tubule of non-spinning silkworm (x2000).
Inclusions à l'intérieur du tube de Malpighi d'un ver à soie non-fileur (x2000).

IN: Rod-like inclusion/ Inclusion en forme de bâtonnet

LE SYNDROME D'ABSENCE DE FILAGE DU COCON CHEZ LE VER A SOIE
BOMBYX MORI L.

O. JOY

*Department of Sericulture,
Bangalore University,
Bangalore 560 009,
Inde.*

et M.B. SHYAMALA

*Department of Sericulture,
University of Agricultural Sciences,
G.K.V.K. Campus,
Bangalore 560 024,
Inde.*

La maladie du non-filage apparaît sporadiquement dans les élevages de vers à soie du Karnataka. Récemment, des pertes infligées aux récoltes de l'ordre de 10 à 15 % ont été observées dans différentes régions du Karnataka, dues à ce syndrome. Les vers à soie apparemment en bonne santé au moment de la montée ne filent pas leur cocon, ni ne se transforment en chrysalides. Ce phénomène est suivi par la mort. Le corps des larves est gonflé et étiré.

On a observé que ces larves n'excrètent pas de méconium. Les tubes de Malpighi montrent une dégénérescence et une exfoliation de l'épithélium. On a également pu observer des inclusions en forme de bâtonnets dans les tubes de Malpighi. La glande séricigène a des oedèmes. La filière n'est pas sclérosée.

Le mauvais fonctionnement du système excréteur et de la filière a pu être clairement observé chez les larves de vers à soie non fileurs. Des recherches sont en cours pour découvrir quel est l'organisme à l'origine de ce syndrome.

INTRODUCTION

L'apparition sporadique de l'absence de filage du cocon chez les vers à soie est assez courante dans les magnaneries et ne cause pas de dégâts considérables pour le sériciculteur. Cependant, récemment, ce syndrome de non-filage a occasionné des pertes importantes dans les élevages de quelques régions du Karnataka. Des recherches ont donc été entreprises pour évaluer les pertes causées et aussi pour comprendre la physio-pathologie de la maladie. Vago (1963) a recherché pour quelles raisons les larves matures ne filaient pas de cocons et a suggéré que ce pourrait être le fait d'infections virales ou protozoaires. La cause supposée étant un déséquilibre métabolique entraînant une prédominance de la nymphose sur le filage qui conduit à une rétention de la soie chez les larves accompagnée de pébrine. Machida (1970), Ijima (1972) décrivent deux exemples d'absence de filage chez les vers à soie donnant des chrysalides "nues", Nd₁ et Nd₂. Le premier de ces deux types avait la partie postérieure de la glande séricigène très peu développée comparativement au deuxième qui avait une glande séricigène normalement développée dans sa partie postérieure.

Dans l'étude présente, les symptômes du syndrome sont décrits et les pertes dues à cette maladie sont évaluées. Certaines variations physiopathologiques observées chez les vers à soie non-fileurs collectés dans des élevages commerciaux et de laboratoire, sont également décrits.

MATERIEL ET METHODES

1. Collection des vers à soie malades :

Des insectes sains et malades ont été collectés dans des élevages de fermiers et dans des élevages de masse conduits dans le laboratoire. Les encabannages ont été examinés pour détecter les vers à soie non-fileurs, le 2^e et le 3^e jour de la montée. Chaque larve qui montrait les symptômes typiques de non-filage sans aucun symptôme évident d'une autre maladie a été collectée.

2. Evaluation des pertes dues au non-filage :

Le nombre de larves non-fileuses a été compté sur les encabannages le 2^e ou le 3^e jour de la montée. Tous les encabannages d'une magnanerie ont été examinés pour calculer le pourcentage d'incidence. Cette enquête a été conduite dans les "taluks" de Anekai, Nelamangala, Ramanagar, K.R. Pet. et Channapatana.

3. Pathologie globale :

Les larves ont été examinées de façon externe. Les changements morphologiques de la filière comme des tubes de Malpighi ont été observés au microscope. Plus de 100 larves saines et plus de 100 larves malades ont été examinées.

4. Physiopathologie :

La longueur, le poids, le volume et la teneur en eau des glandes séricigènes ont été déterminés. Le volume de la glande séricigène a été calculé par déplacement d'eau. La teneur en eau a été déterminée en séchant les glandes une nuit entière à 80°C.

L'expérience a été répétée pour cinq lots. Dans chaque lot, 5 vers à soie malades et 5 vers à soie sains ont été utilisés, les évaluations ayant été faites indivi-

duellement pour chaque ver à soie. L'analyse statistique est présentée pour les valeurs groupées en cinq lots.

RESULTATS

1. Apparition de la maladie :

En temps normal, la maladie du non-filage a une incidence sporadique. Cependant, l'enquête menée montre que des pertes de l'ordre de 10 à 50 % ont été trouvées dans différentes régions (Tableau I).

2. Symptômes et pathologie globale :

Les vers à soie matures non-fileurs ont une apparence normale lorsqu'ils sont laissés sur les encabanages mais ne filent pas, même au bout de deux ou trois jours et restent immobiles dans une position allongée sur les arêtes des encabanages. Dans les derniers stades, la couleur de la peau pâlit progressivement et perd le lustre de l'insecte en bonne santé. Les vers à soie paraissant en bonne santé ont pu être collectés sur les encabanages le jour du filage. Les vers à soie meurent sans nymphoser.

On n'a pas observé d'excrétion de méconium chez les vers à soie non-fileurs et il en résulte que la partie postérieure de la larve a une couleur plus foncée. La dissection des larves a montré la présence de nourriture dans la partie postérieure de l'appareil digestif et dans l'intestin.

Parfois, un faible pourcentage (environ 15 %) des vers affectés a pu être stimulé pour filer par l'exposition à la lumière du jour. Les cocons obtenus sont petits et faibles, le poids de la coque étant bien inférieur à celui d'un cocon sain (Tableau II).

3. Changements morphologiques de la filière :

L'observation de la filière chez les vers à soie sains filant leur cocon, et les vers à soie non-fileurs indique une différence morphologique.

La filière est une structure rétractile, tubulaire, membraneuse, de forme conique et modérément pointue à son sommet. La base de la filière est entourée par un anneau chitineux présent sur le labre. Chez l'insecte en bonne santé, la filière ne montre pas de régions sclérotiques importantes avant le filage. Cependant, pendant le filage, elle montre des barres intensément sclérotiques localisées, la sclérotisation apparaissant sous la forme de barres ventrales (au nombre de trois) (Fig. 1a). Les vers à soie malades collectés le 3ème jour après la montée ne montrent pas cette sclérotisation particulière (Fig. 1b).

L'examen de la filière chez les vers à soie malades qui parviennent à filer leur cocon après exposition à la lumière du jour, indique une coloration partielle. La sclérotisation de la région de la filière apparaît comme un pas important dans le processus du filage. En fait, l'observation de plus de 200 vers à soie a indiqué que l'importance de la sclérotisation peut servir de repère pour identifier les vers à soie non-fileurs.

4. Changements physiopathologiques dans la glande séricigène :

La glande séricigène des vers à soie non-fileurs augmente en taille par rapport aux vers sains. Bien qu'on n'enregistre pas de différence significative dans le poids frais ou la longueur, il existe une différence statistiquement significative dans la teneur en eau. Cela explique le gonflement de la glande séricigène chez les vers à soie non-fileurs (Tableau III).

5. Physiopathologie des tubes de Malpighi :

Les tubes de Malpighi sont de couleur jaune vif chez l'insecte sain. Chez le ver à soie non-fileur, ils sont presque incolores. A un stade avancé de la maladie, la dégénérescence de l'épithélium apparaît évidente à l'examen général. L'exfoliation localisée de l'épithélium est observée en particulier dans la région antérieure des tubes de Malpighi. Les fragments d'épithélium désintégré peuvent être observés à l'intérieur du lumen (Fig. 2). L'examen du contenu du lumen montre la présence de nombreuses inclusions en forme de bâtonnet de 4 à 8 μm de long (Fig. 3). Chez l'insecte sain, on trouve ces formes en tout petit nombre. L'examen des intestins et aussi de l'hémolymphe ne fait pas apparaître la présence de polyédres ou de spores de pébrine.

Ces inclusions qui ne se voient pas couramment dans les tubes de Malpighi chez l'insecte sain, pourraient être la cause de la dégénérescence de l'épithélium et du blocage. La nature de ces inclusions doit être recherchée.

DISCUSSION

Habituellement, le syndrome de non-filage est sporadique. Cependant, l'incidence de la maladie augmente d'août à novembre et aussi en octobre. Dans quelques régions, les fermiers ont complètement perdu leur récolte. Une étude détaillée doit être entreprise pour trouver quels sont les facteurs de l'environnement ou autres qui entraînent de telles percées de la maladie.

Les présentes recherches pathologiques indiquent un mauvais fonctionnement de la glande séricigène et des tubes de Malpighi. Le non-filage paraît associé à l'absence de changements morphologiques dans la filière qui semblent être normaux chez le ver à soie. L'absence de sclérotisation de la filière chez les larves du 5ème âge avant le filage indique que le durcissement de la filière est nécessaire pour filer le cocon. La sclérotisation est peut-être nécessaire pour donner à l'appareil séricigène la rigidité requise mécaniquement pour éjecter la soie à travers le minuscule orifice. Une preuve de l'augmentation de la sclérotisation au cours du filage a été apportée par Kawase (1960) qui a observé une augmentation de la tyrosine oxydase dans le tégument chez les larves matures. L'activité diminue progressivement et atteint les valeurs les plus faibles avant la nymphose. L'association étroite entre le filage de la soie et le durcissement de la filière est conforme au rôle établi des hormones, notamment l'ecdysone, dans le filage de la soie, qui a été décrit par Akai (1970). Il serait intéressant de rechercher quel est le rôle du bursicon - qui est l'hormone régulant la coloration chez diverses espèces d'insectes - dans le filage de la soie (Wills, 1979; Post, 1972).

Les changements intervenant dans la glande séricigène sont plus profonds que ceux impliqués dans la coloration et le durcissement, et sont mis en évidence globalement par l'œdème de la glande et la diminution de la synthèse des protéines de la soie comme le montre la diminution du filage de la soie chez les vers à soie non-fileurs stimulés par l'exposition à la lumière du jour.

Le fait que les vers à soie non-fileurs ne puissent excréter de méconium, la rétention d'une grande quantité de nourriture dans l'appareil digestif, particulièrement dans l'intestin, et la dégénérescence de l'épithélium des tubes de Malpighi indiquent que le mécanisme d'excrétion ne fonctionne plus normalement. La situation rappelle le blocage mécanique observé dans l'infection de *Apis mellifera* par *Malpighamoeba mellifecae*, des criquets par *Malamoeba locustae* et de *Prothetria dispar* par *Nosema muscularis*. Le dérèglement de l'excrétion peut être une raison suffisante expliquant l'accumulation de fluide à cause de l'altération de la régulation osmotique (Benz, 1963 ; Martignoni, 1964). Le grand nombre d'inclusions dans les tubes de Malpighi des vers à soie non-fileurs peut être responsable d'un blocage mécanique. Des recherches approfondies sont cependant nécessaires pour déterminer la nature des inclusions et le rôle exact de ces inclusions dans l'incidence de la maladie.

THE EFFECTS OF THE NUMBER OF MAGGOTS PER HOST
ON THE DEVELOPMENTAL STAGES OF TRICHOLYGA BOMBYCIS BECK.,
AN ENDOPARASITE OF BOMBYX MORI L.

PRADIP KUMAR, M.S. JOLLY and V. VENKATA REDDY
Central Sericultural Research & Training Institute,
Mysore 570 008,
India.

Significant decrease in the length of maggot development period, maggot recovery percentage, pupal weight, pupal size, emergence percentage and fecundity of Tricholyga bombycis Beck. (Diptera : Tachinidae) was recorded as the host Bombyx mori L. (Lepidoptera : Bombycidae) became more heavily parasitised.

As the density of maggots per host increased, the percentage of males increased and the percentage of females decreased significantly. No significant effect was recorded on the pupal period and the longevity of male and female fly parasite. The probable cause for the biological adaptations by uzi fly for limited oviposition per host in the field crops is also discussed.

INTRODUCTION

Tricholyga bombycis commonly known as uzi fly quickly built its population and caused considerable loss to silkworm crops in Karnataka and bordering states viz., Andhra Pradesh and Tamil Nadu in a short span of time (Jolly and Kumar, 1985).

In the field usually uzi fly infests each silkworm larva with 2-3 eggs (Jolly, 1981). The authors during survey of uzi fly infestation at the farmers level have rarely observed a silkworm with more than five eggs/scars.

In the present study an attempt has been made to determine the cause for biological adaptation by the uzi fly to lay few eggs per host in the field crops by determining the effect of number of maggots of the parasite per host on length of maggot development, maggot recovery percentage, pupal size, weight and period, emergence percentage, sex ratio, longevity and fecundity.

MATERIAL AND METHODS

Silkworm larvae (NB7 race) were reared in the laboratory (Krishnaswami, 1978). Fifth stadium silkworms from this population were used in this experiment.

Adults of *T. hombya* used were from the laboratory culture maintained in netted cages (45 x 45 x 45 cm). These flies were fed with a 10% glucose solution soaked in the sterilized cotton (Sriharan *et al.*, 1980). Five days old female flies were used from this culture.

1500 silkworm larvae were exposed for infestation to 100 female flies for 30 minutes in netted cage (90 x 90 x 90 cm). The infested silkworms were reared. On hatching of uzi fly eggs, the silkworm larvae with different numbers of scars were screened. Ten groups of silkworms each with an equal number of scars varying from 1-10 were separated. Three replications each with 25 larvae bearing an equal number of scars were reared in individual groups in small plastic trays (35 x 25 cm) for further observations. Data towards length of maggot development, maggot recovery percentage, pupal weight, size and period, emergence percentage, longevity, fecundity and sex ratio were recorded.

The maggots were allowed to pupate in cardboard boxes (20 x 20 x 12 cm) containing 10 cms. thick layer of sterilized soil. 24 hours after pupation the size and weight of each pupa were recorded. Subsequently each pupa was kept in a separate glass tube covered with muslin cloth to record pupal period, emergence percentage and sex ratio. On emergence, flies of each group were transferred into netted cages (45 x 45 x 45 cm). Silkworm larvae (5th instar) were provided daily to these flies till they were alive for oviposition to record fecundity. The data obtained were statistically analysed (Fisher and Yates, 1982).

The experiment was carried out at average temperature of 25°C and relative humidity of 65%.

RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained are presented in Table I.

Length of maggot development:

The density of maggots per host was inversely proportional to the developmental time. The maximum developmental time averaged 170 hr. when only one maggot developed from the host whereas the minimum developmental time recorded was 121 hr. when ten maggots developed per host (Figure 1). The maggot development period significantly decreased with the increase in the number of maggots per host. However, the developmental period was non-significant when one or two, four or five, five, six or seven maggots developed per host (Table I).

A tachinid, *Lixophaga diatraeae* (Townsend) also developed more rapidly within its host, *Diatraea saccharalis* (F) as the density of parasite per host increased (King *et al.*, 1976). This finding is also in agreement with the observations that developmental time for *Eucelatoria* sps. (Tachinidae) in the host *Heliothis virescens* decreased as the number of puparia per host increased (Stephen *et al.*, 1977; Brewer and King, 1980).

Maggot recovery percentage:

When 1-4 maggots developed per host the recovery percentage remained unchanged. At densities of 5-10 there was a significant decrease in the maggot recovery percentage compared to the percentage of recovery of 1-4 maggots per host. However, no significant difference was observed when the density of maggots per host was five or six, six or seven and eight or nine. The minimum recovery percentage obtained averaged 78.66 when 10 maggots developed per host compared to 100 per cent recovery when 1-4 maggots developed per host.

Pupal size and weight:

Pupae of a particular group were nearly equal in size and weight. The average pupal weight (single) decreased significantly as the number of pupae per host increased ranging from 0.085 gm when one parasite developed to 0.025 gm when 10 maggots developed per host (Figure 2). However, the pupal weight did not decrease significantly when the number of maggots per host increased from 1 to 2 and from 3 to 4. Accordingly the size of the pupae ranged from 0.944 (L) x 0.427 (W) cm when the density of maggot per host was one to 0.622 (L) x 0.277 (W) cm when the density of maggot per host was ten.

The pupal weight of *Lixophaga diatraeae* (Townsend) also decreased as the density of maggots per host increased (King *et al.*, 1976). DeLoach and Rabb (1971) reported that the mean weight of puparia of a tachinid *Winthemia manduca* decreased as the number of full grown larvae per host increased. In case of another tachinid *Eucelatoria* sps. the results are in complete agreement with the present finding (Stephen *et al.*, 1977).

Pupal period:

The pupal period decreased as the host became heavily parasitized ranging from 13 days when 1-2 parasites developed per host to 11 days when 5-10 parasites developed per host (Table I). The difference in the pupal period with the increase in the number of maggots per host was non-significant.

Stephen *et al.* (1977) reported in case of *Eucelatoria* sps. that the pupal period decreased as the density of maggots per host increased.

Emergence percentage:

The results obtained towards emergence percentage indicate that uzi fly survival from pupation to adult emergence was not affected when 1-4 maggots developed per host. Percentage of viable adults decreased significantly from 98.33 to 77.07 when the silkworms were parasitized by 4-10 maggots per host (Figure 3).

Sex ratio:

There was a significant increase in the percentage of male flies and simultaneously a significant decrease in the percentage of female flies obtained as the number of maggots per host increased beyond 8 (Table I). The present finding is in full agreement with the results obtained by Stephen *et al.* (1977). Contrary to this, Adam and Watson (1971) reported that males of tachinid *Exorista mella* Walker had no competitive advantage over females during larval development as the density of maggots per host increased. The sex ratio of another tachinid *Diatracophaga steriatalis* (Townsend) remained unchanged as the density of maggots per host increased (Etienne, 1969). Patel and Singh (1972) reported the similar results with the tachinid

Goniophthalmus halli Mesnil.

Longevity:

The number of maggots per host had no significant effect on the longevity of male flies which varied from 15-17 days. Similarly the longevity of female flies was also not significantly (17-20 days) affected by the number of maggots per host (Table I).

Fecundity:

The fecundity reduced significantly when 9-10 maggots developed per host compared to 1-8 maggots per host (Figure 4).

The decrease in the pupal weight of *T. bombycis* corresponded with the shorter maggot development period as the number of parasites increased per host.

As the density of maggots per host increases, the availability of host tissue as food for the development of maggot reduced proportionally. This caused the decrease in the recovery of viable maggot which in turn reflected on the pupal weight. The significant reduction in the emergence percentage when the number of maggots per host increased beyond 5 may be due to the reduction in the puparial weight.

The results (Table I) indicate that *T. bombycis* is not able to survive well when the number of maggots per host increases. The present finding also agrees with Hughes (1975) and King *et al.* (1976), the fewer the maggots in the host, the greater the percentage of hosts producing adult flies. Besides emergence percentage, the maggot recovery percentage, pupal weight and fecundity of uzi fly decreased significantly when the density of maggots per host increased beyond five, which may be the probable cause for biological adaptation by the uzi fly to lay few eggs per host in the field condition.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Mrs. Kshama Giridhar, Central Sericultural Research and Training Institute for statistical analysis of data.

REFERENCES

- ADAM D.S., WATSON T.F., (1971) Adult biology of *Exorista mella*. Ann. Entomol. Soc. Am., 64, 146-149.
- BREWER F.D., KING E.G., (1980) Consumption and utilization of a soy flour-wheat germ diet by larvae of the tobacco budworm parasitized by the tachinid, *Eucelatoria* sp., Entomophaga, 25(1), 95-101.
- DELOACH G.J., RABB R.L., (1971) Life history of *Winthemia manducae* (Diptera: Tachinidae), a parasite of the tobacco hornworm.
- ETIENNE J., (1969) Etude en laboratoire de la tachinaire *Diatraeophaga striatalis* Townsend, parasite naturel de *Chilo sacchariphagus* Bojer. Entomophaga, 14, 407-419.

- FISHER R.A., YATES F., (1982) Statistical tables for biological agricultural and medical research. Longman Press, England, 74-75.
- HUGHES P.S., (1975) The biology of *Archytas marmoratus* (Townsend). Ann. Entomol. Soc. Am., 68, 759-767.
- JOLLY M.S., (1981) Uzi fly, its identification, prevention and control. Bulletin no. 4, CSR&TI, Mysore, 1-8.
- JOLLY M.S., KUMAR PRADIP, (1985) A three pronged approach to control uzi fly. Indian Silk, Feb-March, 5-9.
- KING E.G., MILES L.R., MARTIN D.F., (1976) Some effects of superparasitism by *Lixophaga diatraeae* of sugar-cane borer larvae in the laboratory. Entomol. Exp. Appl., 20, 261-269.
- KRISHNASWAMI S., (1978) New technology of silkworm rearing. Bulletin no. 2, CSR&TI, Mysore, 1-23.
- PATEL R.C., SINGH R., (1972) Biology and breeding method of *Goniophthalmus halli* Mesnil (Diptera : Tachinidae), a larval parasite of *Heliothis armigera* (Hbn). Indian J. Agric. Sci., 42, 739-743.
- SRIHARAN T.P., SAMSON M.V., KRISHNASWAMI S., (1980) Effects of glucose, molasses, honey and yeast on *Tricholyga bombycis* Beck. Indian J. Seric., 19, 1-3.
- STEPHEN W.Z., JOHN A.W., WILLIAM C.N. Jr., (1977) The effects of number of maggots per host on length of development, puparial weight and adult emergence of *Eucelatoria* sp. Ann. Entomol. Soc. Am., 70(5), 733-735.

No. of maggots per host	Length of maggot development (hours)	Maggot recovery (%)	Puparium weight (gm)	Pupal size (length x width) (cm)	Pupal period (days)	Emergence (%)	Sexwise emergence (%)		Longevity (days)		Fecundity (No.)
							Male	Female	Male	Female	
1	170	100.00 (90.00)*	0.085	0.944 x 0.427	13	98.88 (87.95)	65.30 (54.10)	34.69 (35.89)	16	19	757
2	169	100.00 (90.00)	0.084	0.900 x 0.383	13	98.33 (85.69)	65.20 (53.90)	34.79 (36.09)	16	18	753
3	159	100.00 (90.00)	0.080	0.869 x 0.361	12	98.14 (85.49)	63.40 (52.82)	36.58 (37.14)	17	18	755
4	149	100.00 (90.00)	0.079	0.844 x 0.358	12	98.33 (85.79)	66.66 (54.78)	33.33 (35.20)	17	20	750
5	148	94.66 (77.93)	0.062	0.797 x 0.336	11	88.61 (70.27)	63.58 (52.88)	36.41 (37.06)	17	18	707
6	146	93.88 (76.24)	0.045	0.738 x 0.366	11	86.81 (68.07)	66.58 (50.68)	33.42 (35.25)	16	19	650
7	146	92.37 (74.30)	0.038	0.713 x 0.325	11	82.55 (65.35)	66.45 (54.64)	33.54 (35.30)	17	18	649
8	137	87.22 (69.13)	0.035	0.705 x 0.327	11	80.80 (64.01)	65.12 (53.80)	34.86 (36.14)	16	18	642
9	130	85.92 (67.97)	0.031	0.694 x 0.304	11	80.89 (64.09)	72.87 (58.14)	28.00 (31.77)	16	19	637
10	121	78.66 (62.58)	0.025	0.622 x 0.277	11	77.97 (62.04)	77.94 (62.28)	22.08 (27.67)	15	17	568
CO at 5%	3	3.09	0.002	0.0285	NS	5.81	3.73	3.73	NS	NS	91

* Data in parenthesis represent angularly transformed values.

NS = non significant

Table I. Relationship between the density of maggots per host and certain developmental stages of uzi fly.

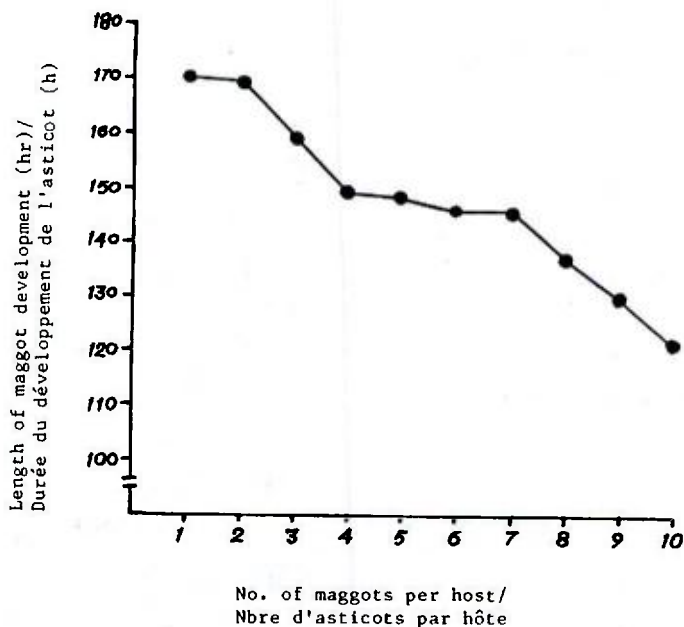


Figure 1. The relationship between the number of maggots per host and the maggot development period.

Figure 1. Relation entre le nombre d'asticots par hôte et la durée du développement de l'asticot.

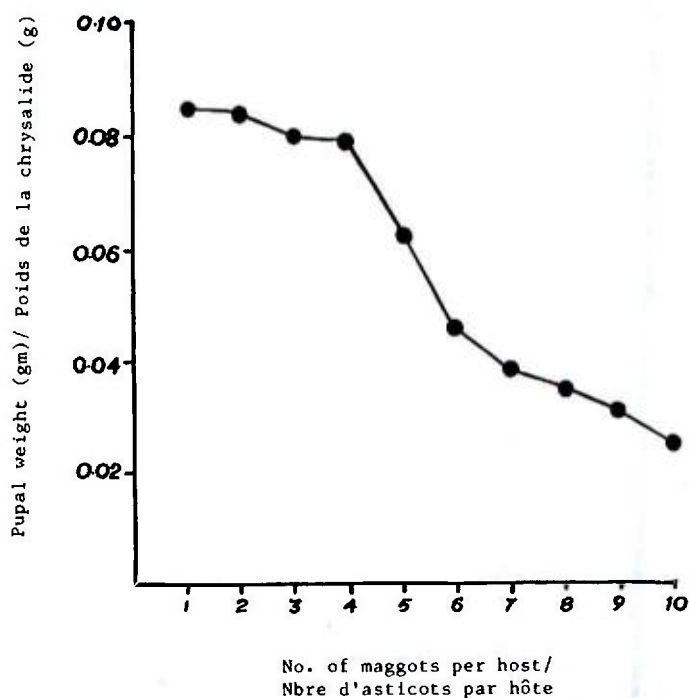
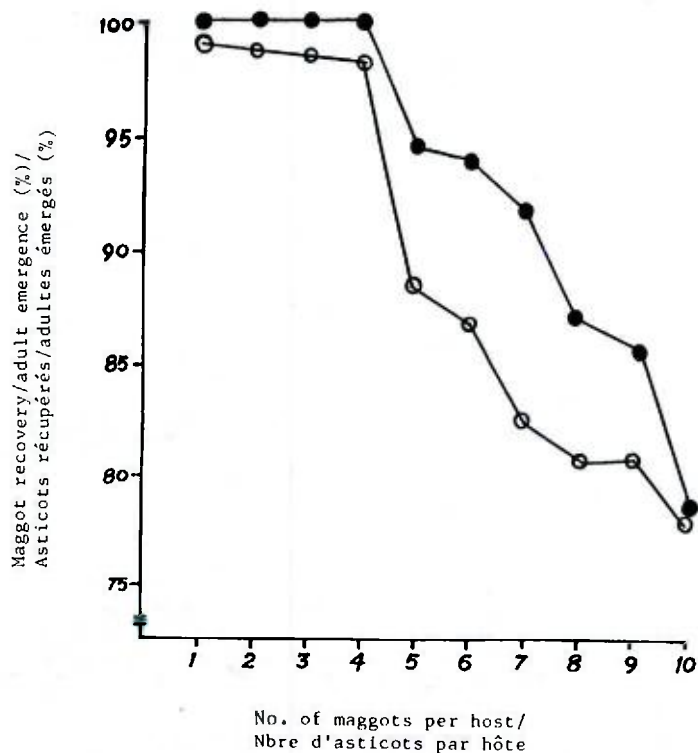


Figure 2. The relationship between the number of maggots per host and pupal weight.

Figure 2. Relation entre le nombre d'asticots par hôte et le poids de la chrysalide.



- Maggot recovery percentage/ % d'asticots récupérés
- Adult emergence percentage/ % d'émergence des adultes

Figure 3. Figure showing the relationship between the number of maggots per host, their recovery and adult emergence.

Figure 3. Relation entre le nombre d'asticots par hôte, le pourcentage d'asticots récupérés et le pourcentage d'émergence des adultes.

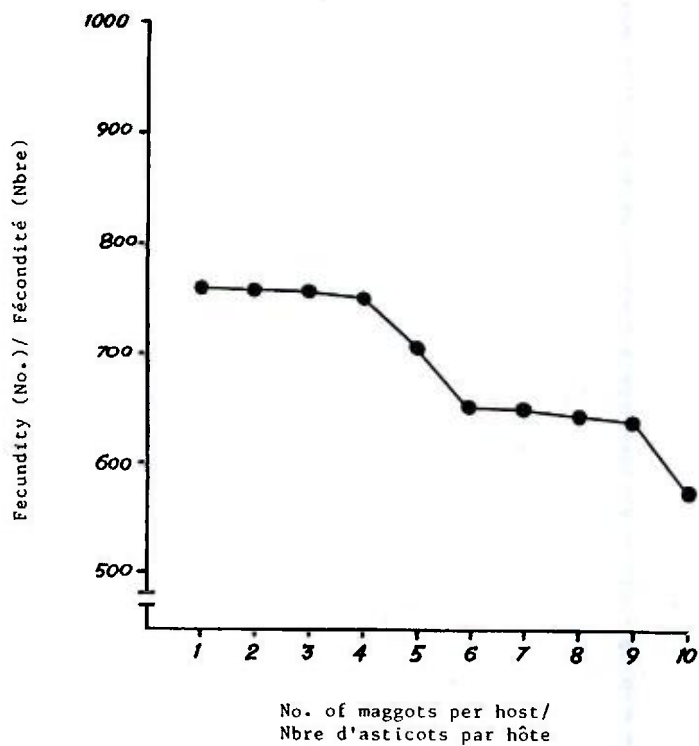


Figure 4. The relationship between the number of maggots per host and fecundity.

Figure 4. Relation entre le nombre d'asticots par hôte et la fécondité.

INFLUENCE DU NOMBRE D'ASTICOTS PAR HÔTE SUR LES
STADES DU DEVELOPPEMENT DE TRICHOLYGA BOMBYCIS BECK.,
UN ENDOPARASITE DE BOMBYX MORI L.

PRADIP KUMAR, M.S. JOLLY et V. VENTAKA REDDY

Central Sericultural Research & Training Institute,
Mysore 570 008
Inde.

Nous avons observé une diminution significative de la longueur de la période de développement de l'asticot, du pourcentage d'asticots récupérés, du poids larvaire, de la taille des chrysalides, du pourcentage d'émergence, et de la fécondité chez Tricholyga Bombycis Beck (Diptera Tachinidae), lorsque l'hôte Bombyx mori L. (Lepidoptera : Bombycidae) devient parasité de manière importante.

Lorsque la densité d'asticots par hôte augmente, le pourcentage de mâles augmente et le pourcentage de femelles diminue de manière significative. Aucun effet remarquable n'a été observé sur la période nymphale et la longévité de la mouche parasite mâle ou femelle. La cause probable de l'adaptation biologique de la mouche ouzi pour limiter l'oviposition par hôte dans les élevages, est également discutée.

INTRODUCTION

Tricholyga bombycis, dont le nom courant est la mouche ouzi, a rapidement formé une population importante et causé des dégâts considérables dans les élevages de ver à soie du Karnataka et des états limitrophes, à savoir, Andhra Pradesh et Tamil Nadu, et cela en très peu de temps (Jolly et Kumar, 1985).

Sur le terrain, la mouche ouzi infeste d'habitude chaque larve de ver à soie avec deux ou trois oeufs (Jolly, 1981). Nous avons rarement observé, lors de notre enquête sur le terrain, un ver à soie avec plus de cinq oeufs ou cicatrices.

Dans la présente étude, nous avons essayé de déterminer la cause de l'adaptation biologique de la mouche ouzi qui ne pond que peu d'oeufs par hôte dans les élevages,

en déterminant quelle est l'influence du nombre d'asticots par hôte sur la longueur du développement de l'asticot, le pourcentage d'asticots récupérés, la taille et le poids de la chrysalide, la période nymphale, le pourcentage d'émergence, le sex ratio, la longévité et la fécondité.

MATERIEL ET METHODES

Les larves de vers à soie (race NB7) ont été élevées en laboratoire (Krishnaswamy, 1978). Des vers à soie du cinquième âge de cette population ont été utilisés pour l'expérience.

Les adultes de *T. bombycis* utilisés proviennent d'un élevage en laboratoire dans des cages grillagées (45 x 45 x 45 cm). Ces mouches ont été nourries avec une solution de glucose à 10% présentée sur du coton stérilisé imbibé (Shriharan *et al.*, 1980). Des mouches femelles âgées de cinq jours ont été utilisées pour l'expérience.

1500 larves de vers à soie ont été exposées à l'infestation par 100 mouches femelles pendant 20 minutes dans une cage grillagée (90 x 90 x 90 cm). Les vers à soie infestés ont été élevés. Lors de l'éclosion des oeufs ouzi, les larves de vers à soie comportant un nombre différent de cicatrices ont été comptabilisées. Dix groupes de vers à soie portant le même nombre de cicatrices ont été formés. Trois lots, de 25 larves portant le même nombre de cicatrices ont été élevés séparément sur des petites claies en plastique (35 x 25 cm) pour être observés ensuite. Les valeurs concernant la longueur du développement de l'asticot, le pourcentage d'asticots récupérés, le poids et la taille de la chrysalide, la période nymphale, le pourcentage d'émergence, la longévité, la fécondité et le sex ratio, ont été enregistrées.

Pour effectuer la nymphose, les asticots ont été placés dans des boîtes en carton (20 x 20 x 20 cm) contenant une couche de 10 cm d'épaisseur de sol stérilisé. 24 heures après la nymphose, le poids et la taille de chaque chrysalide ont été mesurés. Chaque chrysalide a été gardée à part dans une éprouvette recouverte d'une gaze, pour mesurer la période nymphale, le pourcentage d'émergence et le sex ratio. Lors de l'émergence, les mouches de chaque groupe ont été transférées dans des cages grillagées (45 x 45 x 45 cm). Des larves de ver à soie (5^e âge) ont été fournies à ces mouches chaque jour jusqu'à leur mort pour permettre l'oviposition et mesurer la fécondité. Les données obtenues ont été analysées statistiquement (Fisher and Yates, 1982).

L'expérience a été conduite à une température moyenne de 25°C et une humidité relative de 65%.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau I.

Longueur du développement de l'asticot :

La durée du développement est inversement proportionnelle à la densité d'asticots. La durée de développement maximale est en moyenne de 170 heures lorsqu'un seul asticot se développe sur l'hôte tandis que la durée la plus courte enregistrée est de 121 heures lorsque 10 asticots se développent sur l'hôte (Figure 1). La période de développement de l'asticot diminue de manière significative avec l'augmentation du nombre d'asticots par hôte. Cependant, la période de développement n'est pas significativement différente dans le cas de un ou deux, quatre ou cinq, cinq, six ou sept asticots par hôte (Tableau I).

Le tachidé, *Lixophaga diatraeae* (Townsend) se développe aussi plus rapidement à l'intérieur de son hôte, *Diatraea saccharalis* (F.), lorsque la densité de parasites par hôte augmente (King et al., 1974). Cette découverte est également en accord avec les observations faites sur la durée du développement de *Eucelatoria* sps. (Tachinidae) chez l'hôte *Heliothis virescens* qui diminue lorsque le nombre de pupariums par hôte augmente (Stephen et al., 1977. Brewer et King, 1980).

Pourcentage d'asticots récupérés :

Lorsque 1 à 4 asticots se développent par hôte, le pourcentage d'asticots récupérés ne change pas. Lorsque la densité est de 5 à 10, on observe une diminution significative du pourcentage d'asticots récupérés par rapport au pourcentage obtenu avec une densité de 1 à 4 asticots. Cependant, on n'observe pas de différences remarquables entre les densités 5 ou 6, 6 ou 7 et 8 ou 9. Le pourcentage le plus faible obtenu se situe autour de 78,66 lorsque 10 asticots se développent par hôte alors qu'il est de 100% dans le cas de 1 à 4 asticots par hôte.

Taille et poids de la chrysalide :

Les chrysalides d'un même groupe ont sensiblement la même taille et le même poids. Le poids moyen d'une chrysalide diminue de manière remarquable lorsque le nombre de chrysalides par hôte augmente, variant de 0,085g dans le cas d'un asticot par hôte à 0,025g dans le cas de 10 asticots par hôte (Fig. 2). Cependant le poids nymphal ne diminue pas de manière significative lorsque le nombre d'asticots augmente de 1 à 2 et de 3 à 4. De la même manière, la taille de la chrysalide varie de 0,944 (L) x 0,427 (l) cm lorsque la densité d'asticots est de 1 par hôte à 0,622 (L) x 0,277 (l) cm lorsque la densité d'asticots est de 10.

Le poids de la chrysalide de *Lixophaga diatraeae* (Townsend) diminue aussi lorsque la densité d'asticots par hôte augmente (King et al., 1976). De Loach et Rabb (1971) rapportent que le poids moyen du puparium de tachinidé *Wintermia manduca* diminue quand le nombre de larves matures par hôte augmente. Dans le cas du tachinidé *Eucelatoria* sps., les résultats sont en accord total avec l'étude présente (Stephen et al., 1977).

Période nymphale :

La période nymphale diminue lorsque l'hôte devient fortement parasité, passant de 13 jours dans le cas de 1-2 parasites par hôte à 11 jours dans le cas de 5-10 parasites par hôte (Tableau I). La différence observée dans la durée de la période larvaire avec l'augmentation du nombre d'asticots par hôte n'est pas significative.

Stephen et al., (1977) rapportent que la période nymphale de *Eucelatoria* sps. diminue lorsque la densité d'asticots par hôte augmente.

Pourcentage d'éclosion :

Les résultats obtenus en ce qui concerne le pourcentage d'éclosion montrent que la survie de la mouche ouzi entre la nymphose et l'éclosion de l'adulte n'est pas affectée lorsque 1 à 4 asticots se développent dans l'hôte. Le pourcentage d'adultes viables diminue de façon significative, passant de 98,33 à 77,07 dans le cas de 1 à 4 parasites par hôte (Figure 3).

Sex ratio :

On observe une augmentation importante du pourcentage de mouches mâles et simultanément une diminution importante du pourcentage de mouches femelles obtenues lorsque le nombre d'asticots par hôte est supérieur à 8 (Tableau I). Ce résultat est en parfait accord avec ceux obtenus par Stephen *et al.* (1977). Au contraire, Adam et Watson (1971) rapportent que les mâles du tachinidé *Exorista mella* Walker ne sont pas avantagés par rapport aux femelles au cours du développement larvaire lorsque la densité d'asticots par hôte augmente. Le sex ratio d'un autre tachinidé *Diatracophaga steriatalis* (Townsend) reste inchangé lorsque la densité d'asticots par hôte augmente (Etienne, 1969). Patel et Singh (1972) rapportent des résultats similaires chez le tachinidé *Goniophthalmus halli* Mesnil.

Longévité :

Le nombre d'asticots par hôte n'affecte pas de manière significative la longévité des mouches mâles qui varie de 15 à 17 jours. De la même manière, la longévité des mouches femelles n'est pas réellement affectée (17 à 20 jours) par le nombre d'asticots par hôte (Tableau I).

Fécondité :

La fécondité est considérablement réduite dans le cas de 9 à 10 asticots par hôte comparativement à la densité de 1 à 8 asticots par hôte (Figure 4).

La diminution du poids de la chrysalide de *T. bombycis* correspond à la diminution de la période de développement de l'asticot lorsque le nombre de parasites par hôte augmente.

Lorsque la densité d'asticots par hôte augmente, la quantité de tissus hôtes disponible comme nourriture pour le développement de l'asticot est réduite en proportion. Ceci provoque la diminution du pourcentage d'asticots viables ce qui se répercute sur le poids de la chrysalide. La diminution importante du pourcentage d'émergence lorsque le nombre d'asticots est supérieur à 5 peut être due à la diminution du poids du puparium.

Les résultats (Tableau I) indiquent que *T. bombycis* ne peut pas bien survivre lorsque le nombre d'asticots par hôte augmente. Ces résultats sont également en accord avec ceux de Hughes (1975) et King *et al.* (1976) selon lesquels moins les asticots sont nombreux et plus le pourcentage d'hôtes produisant des mouches adultes devient important. Le pourcentage d'émergence, le pourcentage d'asticots viables, le poids de la chrysalide et la fécondité de la mouche ouzi diminuent de manière importante lorsque la densité d'asticots par hôte dépasse 5, ce qui est probablement la cause de l'adaptation biologique de la mouche ouzi à ne pondre qu'un petit nombre d'oeufs par hôte dans la nature.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Madame Kshma Giridhar, Central Sericultural Research and Training Institute pour l'analyse statistique des données.

Nombre d'asticots par hôte	Durée du développement de l'asticot (heures)	% d'asticots récupérés	Poids du puparium (g)	Taille de la chrysalide (longueur x largeur) (cm)	Durée de la nymphose (jours)	Emergence (%)	% d'émergence selon le sexe		Longévité (jours)		Fécondité (nb)
							Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	
1	170	100.00 (90.00)*	0.085	0.944 x 0.427	13	98.88 (87.95)	55.30 (54.10)	34.69 (35.89)	16	19	757
2	169	100.00 (90.00)	0.084	0.900 x 0.383	13	98.33 (85.69)	55.20 (53.90)	34.79 (36.09)	16	18	753
3	159	100.00 (90.00)	0.080	0.869 x 0.361	12	98.14 (85.49)	63.40 (52.82)	36.58 (37.14)	17	18	755
4	149	100.00 (90.00)	0.079	0.844 x 0.358	12	98.33 (85.79)	66.66 (54.78)	33.33 (35.20)	17	20	750
5	148	94.66 (77.93)	0.062	0.797 x 0.336	11	88.61 (70.27)	63.58 (52.88)	36.41 (37.06)	17	18	707
6	146	93.88 (76.24)	0.045	0.738 x 0.366	11	86.81 (68.07)	66.58 (50.68)	33.42 (35.25)	16	19	650
7	146	92.37 (74.30)	0.038	0.713 x 0.325	11	82.55 (65.35)	66.45 (54.64)	33.54 (35.30)	17	18	649
8	137	87.22 (69.13)	0.035	0.705 x 0.327	11	80.80 (64.01)	65.12 (53.80)	34.86 (36.14)	16	18	642
9	130	85.92 (67.97)	0.031	0.694 x 0.304	11	80.89 (64.09)	72.87 (58.14)	28.00 (31.77)	16	19	637
10	121	78.66 (62.58)	0.025	0.622 x 0.277	11	77.97 (62.04)	77.94 (62.28)	22.08 (27.67)	15	17	568
CD at 5%	3	3.09	0.002	0.0285	NS	5.81	3.73	3.73	NS	NS	91

* Les données entre parenthèses sont des valeurs angulaires transformées.

NS = sans signification

Tableau I. Relation entre la densité d'asticots par ver à soie hôte et certains stades du développement de la mouche ouzi.

STUDIES ON THE PHYLLOPLANE MICROFLORA OF MULBERRY

1. BACTERIAL POPULATIONS ON HEALTHY LEAVES

J. SUKUMAR* and A. RAMALINGAM

*Department of Post-Graduate Studies and Research in Botany,
University of Mysore,
Manasagangotri, Mysore 570 006,
India.*

Healthy mulberry leaves analyzed by serial dilution method for a period of two years yielded five types of bacteria. An enormous increase in their population was noticed with the increase in the leaf age and senescent leaves harboured the highest concentration of bacteria. They exhibited a seasonal peak during the rainy months of September and October, with lowest numbers in the hot months of March and April. Rainfall and height of the leaves above ground level had an increasing as well as decreasing influence on bacterial populations.

INTRODUCTION

The surfaces of plant leaves called the "phylloplane" support a variety of micro-organisms. These microbes are known to interact with plant pathogens and in a number of cases are shown to reduce the disease severity (Fokkema, 1978). There is also evidence to show that the leaf surface saprophytes accelerate leaf senescence and reduce grain yield (Dickinson and Walpole, 1975). The qualitative and quantitative aspects of microbial colonization of leaf surfaces have been extensively reviewed by Preece and Dickinson (1971), Dickinson and Preece (1976) and Blakeman (1981). However, information on the influence of these microbes on the animals which consume them along with the leaves is scanty. Sukumar (1983) and Sukumar and Ramalingam (1986) have shown the yield reducing and disease causing abilities of mulberry phylloplane microbes on silkworms. A detailed investigation on the phylloplane microbes of mulberry was undertaken by us in 1978 with a view to provide basic data

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

for further research on their influence on silkworms. The present paper reports the bacterial flora of healthy mulberry leaves, their seasonal variations, effect of plant growth and weather.

MATERIAL AND METHODS

Mulberry leaves of the variety M5 of *Morus indica* L. were used for the study. The plants were raised at 2' x 2' spacing in Manasagangotri, the Post-Graduate campus of the University of Mysore in half an acre area. The leaves numbering 1-10 from the tip of randomly chosen branches were collected in separate polythene bags at fortnightly intervals. Twenty-four leaf discs, 2.1 cm in diameter were cut immediately after collection and placed in 100 ml sterilized distilled water with a drop of Tween-80 and agitated for thirty minutes on a magnetic stirrer. Three suitable dilutions were prepared from the leaf washings and used for plating. One ml of each dilution was placed in sterile Petri dishes using sterile pipettes and molten beef peptone agar medium approximately at 35°C was poured into each plate. The plates were swirled to distribute the solution and agar was allowed to solidify. Triplicates were maintained for each dilution. The Petri dishes were incubated at room temperature (24-28°C). The colony counts were made on the third day of incubation and the concentration of bacteria was estimated per unit area of the leaf surface sampled. The weather conditions were monitored using standard meteorological instruments installed in the field. The studies were carried out for a period of two years during 1978 and 1979.

RESULTS

Five types of bacteria, *Erwinia herbicola*, *Corynebacterium* sp., *Pseudomonas maltophila*, *Staphylococcus* sp., and *Serratia marcescens* were isolated from the leaves. In general, the populations of bacteria outnumbered those of yeasts and filamentous fungi. *Erwinia herbicola* contributed a major share of bacterial counts and was followed by *Corynebacterium* sp., *Pseudomonas maltophila* and *Staphylococcus* sp. *Serratia marcescens*, a pink bacterium, was isolated only three times and the rest were isolated consistently throughout the sampling period.

Seasonal variations:

Distinct seasonal pattern was recorded for the phylloplane bacteria. The figures 1 and 2 depict the seasonal variations in the populations of bacteria on leaves. In general, most bacteria enumerated were less in number during hot dry months of March and April, gradually increasing from the month of May with peak concentrations during September and October.

Effect of leaf age:

The variations in the populations of phylloplane bacteria on leaves 1-10 through different months of 1978 and 1979 in figures 1 and 2 clearly reveal the influence of leaf age. The freshly unfolded leaf supported a low concentration of bacteria. With the passage of time a gradual increase in the populations per unit area was noticed and the leaf number 10 recorded around 100 times greater number of bacteria than that of the first leaf.

In order to present a clear picture on the influence of leaf age on the populations of bacteria, the mean data for leaf 1, 5 and 10 based on the results of 48 tests were taken and plotted in figure 3 along with the mean data based on 8 experiments for aged and senescent leaves. The aged leaves were 75-80 days and the senescent leaves

more than 85 days old at the time of sampling. Predominant differences were noticed in the rate of increase in the populations of different bacteria. A greatest increase in the population with senescence was noticed in *Pseudomonas maltophilia* (142,860 fold) followed by *Staphylococcus* sp. (26,224 fold), *Corynebacterium* sp. (13,079 fold) and *Erwinia herbicola* (7,028 fold) compared to that on the first leaf.

Combined effect of plant height and rainfall on phylloplane bacteria:

An experiment was conducted on 19th September 1980, a rainless day, followed by four rainy days with a total rainfall of 76mm. Leaves were sampled again on 24th September 1980. The data for the alternate leaves 1, 3, 5 and 7 situated at different heights above the ground level are given in Table 1. In general, the populations of bacteria were 1.5 times more after the receipt of rain. Leaf number 7 recorded the highest concentration as compared to leaf number 1 both before and after rain. However, individual differences were noticed with reference to their concentration after rain. The populations of *Erwinia herbicola* and *Pseudomonas maltophilia* declined on leaves 1, 3 and 5 while it was the highest on leaf 7, whereas *Corynebacterium* sp. got reduced after rain on all the leaves and *Staphylococcus* sp. showed no significant difference.

DISCUSSION

The surfaces of mulberry leaves support a large number of bacteria, fungi and yeasts (Sukumar, 1983) which are obviously consumed by silkworms. Sukumar and Ramalingam (1986) have also showed that *Aspergillus flavus* and *A. niger*, two common phylloplane fungi of mulberry, increase enormously under prolonged storage and cause aspergillosis in silkworms. Sukumar (1983) has also showed that high concentrations of *Sporobolomyces roseus* and *Cryptococcus laurentii* on leaves respectively had an enhancing and reducing effect on cocoon yield.

In the present study five types of bacteria were isolated from mulberry leaves of which *Erwinia herbicola* was the most predominant as reported for many graminaceous and leguminous plants by Dye (1969). *Corynebacterium* sp. which occupied the second place on mulberry was the most dominant constituent on sorghum leaves (Appaji Gowda, 1982). The genus *Staphylococcus*, hitherto unrecorded on leaves was isolated for the first time by us and its role in silkworm health needs detailed investigation. *Pseudomonas maltophilia* most generally considered as a casual epiphyte, occurred as a resident on mulberry leaves.

Mulberry leaves that have just differentiated from buds supported a very low population of bacteria which attained maximum levels on senescent leaves. Similar results have been reported by Last and Daughton (1965). The gradual increase in the number of micro-organisms with time is attributed to the increased deposition of microbes from air-spores during prolonged exposures (Kerling, 1964), multiplication of microbes on leaf surfaces (Stout, 1960) aided by the excretion of nutrients on leaf surfaces (Dickinson, 1967). Senescing leaves were stated to lose their ability to produce toxins and phytoalexins (Bailey, 1971; Baddeley, 1971) and become better substrates for colonization and reproduction. The mulberry leaf takes 2-3 days to completely unfold from the bud and may remain on the branch in a physiologically active state upto 80 days. The 1, 10, 27 and the senescent leaves investigated for a comparative study respectively would be 3, 30, 81 and 85 days old. If the total microflora of the first leaf is taken as the deposit of air-spores over 3 days duration, that of leaf 10 should be 10 times and the senescent leaves 28 times. Depletion due to wash off by rain might result in a decrease in the population and multiplication of propagules due to growth and reproduction will result in an increase.

The seasonal fluctuations of bacteria seem to be due to the combined effect of temperature and relative humidity. The reduction of their populations in hot weather might be due to non-availability of free moisture on leaf surface as stated by Leben and Daft (1967) and peak concentration during the rainy season was due to the high relative humidity and relatively constant temperature.

The direct and immediate effect of rainfall varied with the height at which the leaves are situated above ground and also the type of bacteria involved. The recordings of high concentration of *Erwinia herbicola* and *Pseudomonas maltophilia* on the lowermost leaves was due to the splash-borne deposition of bacteria residing on debris in the soil and their reduction on leaves above was due to the wash off by rain. Since silkworms are susceptible to infection by a number of bacteria, detailed studies on the influence of phylloplane bacteria on them are underway.

ACKNOWLEDGEMENTS

Our sincere thanks are due to CSIR, New Delhi for financial assistance, Commonwealth Mycological Institute, England for identifying the bacteria and University of Mysore for facilities.

REFERENCES

- APPAJI GOWDA B., (1982) Studies on the phylloplane microflora of sorghum in healthy and diseased plants. Ph.D. thesis, Univ. of Mysore, 223 p.
- BAILEY J.A., (1971) Phytoalexins and the ability of leaf tissues to inhibit fungal growth. In: Ecology of leaf surface micro-organisms, T.F. Preece & C.H. Dickinson (Eds.), Academic Press, London, 519-528.
- BADDELEY M.S., (1971) Biochemical aspects of senescence. In: Ecology of leaf surface micro-organisms, T.F. Preece & C.H. Dickinson (Eds.), Academic Press, London, 415-429.
- BLAKEMAN J.P., (1981) Microbial ecology of the phylloplane, Academic Press, London, 502 p.
- DICKINSON C.H., (1967) Fungal colonization of *Pisum* leaves. Can. J. Bot., 45, 915-927.
- DICKINSON C.H., PREECE T.F., (1976) Microbiology of the aerial plant surfaces. Academic Press, London, 669 p.
- DICKINSON C.H., WALPOLE P.R., (1975) The effect of late application of fungicides on the yield of winter wheat. Exper. Husb., 29, 23-28.
- DYE D.W., (1969) A taxonomic study of the genus *Erwinia*. III. The herbicola group. N. Z. Jl. Sci., 12, 223-236.
- FOKKEMA N.J., (1978) Fungal antagonism in the phyllosphere. Ann. appl. Biol., 89, 115-119.
- KERLING L.C.P., (1964) Fungi in the phyllosphere of leaves of rye and strawberry. Meded. Landbougesch. Opzoekstns. Gent., 29, 885-895.

- LAST F.T., DEIGHTON F.C., (1965) The non-parasitic microflora on the surfaces of living leaves. Trans. Br. mycol. Soc., 48, 83-99.
- LEBEN C., DAFT G.C., (1967) Epiphytic bacteria and the germination of *Colletotrichum lagenarium* conidia on cucumber leaves. Phytopathology, 57, 527-529.
- PREECE T.F., DICKINSON C.H., (1971) Ecology of the leaf surface micro-organisms. Academic Press, London, 640 p.
- STOUT J.D., (1960) Biological studies of some tussock-grassland soils. XV. Bacteria of two cultivated soils. N.Z. Jl. agric. Res., 3, 214-228.
- SUKUMAR J., (1981) Studies on the phylloplane microflora of mulberry (*Morus indica* L.). Ph.D. thesis, Univ. of Mysore, 233 p.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A., (1986) Changes in the microbial population on mulberry leaves under prolonged storage. Sericologia, 26(3), 371.

Period/ Période	Before rain/ Avant la pluie				After rain/ Après la pluie			
	19 Sep. 1980				24 Sep. 1980			
Leaf number/ Numéro de la feuille	1	3	5	7	1	3	5	7
Leaf height (cm) a.g.l.*/ Hauteur de la feuille (cm) *	45	38	20	15	45	38	20	15
<u>Erwinia herbicola</u>	300	634	1 900	8 450	110	160	919	17 300
SD/ Ecart type	6.00	3.60	2.60	9.30	10.84	11.78	2.99	10.53
<u>Corynebacterium sp.</u>	126	184	1 658	6 580	78	102	782	2 375
SD/ Ecart type	4.00	6.00	2.50	3.00	12.76	4.00	1.73	5.00
<u>Pseudomonas maltophilia</u>	-	12	-	14	-	10	7	74
SD/ Ecart type	-	1.00	-	2.64	-	1.73	2.00	5.56
<u>Staphylococcus sp.</u>	-	-	12	12	-	-	-	11
SD/ Ecart type	-	-	1.50	1.00	-	-	-	1.73
Other bacteria/ Autres bactéries	461	830	3 961	17 065	205	329	2 708	29 803
SD/ Ecart type	3.60	5.00	5.57	2.00	11.37	1.22	2.38	4.00

* above ground level/ au-dessus du niveau du sol

Table I. Combined effect of rain and leaf height on the microflora of mulberry leaves.
Data are number of colonies/cm² leaf area sampled.

Tableau I. Effet conjugué de la pluie et de la position de la feuille en hauteur sur la microflore
des feuilles de mûrier.

Les données représentent le nombre de colonies par cm² de surface de feuille.

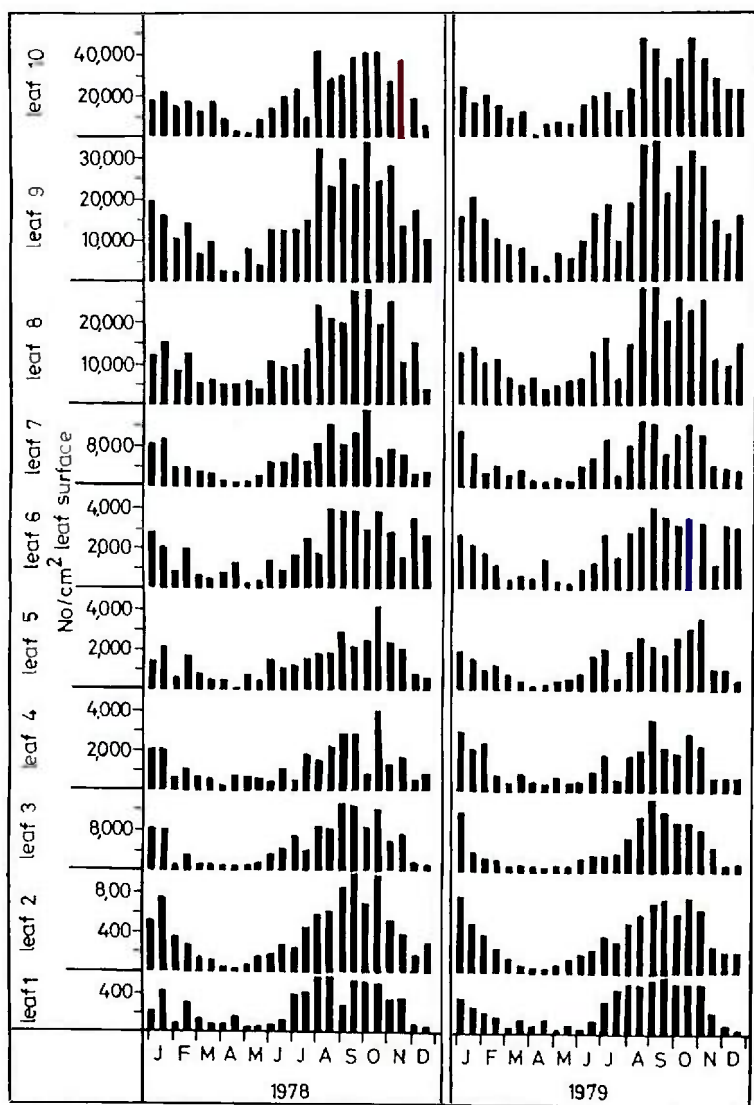


Figure 1. Colonization pattern of *Erwinia herbicola* on the healthy leaves of mulberry in relation to leaf age and season.

Figure 1. Tableau de colonisation de *Erwinia herbicola* sur les feuilles de mûrier saines selon l'âge de la feuille et la saison.

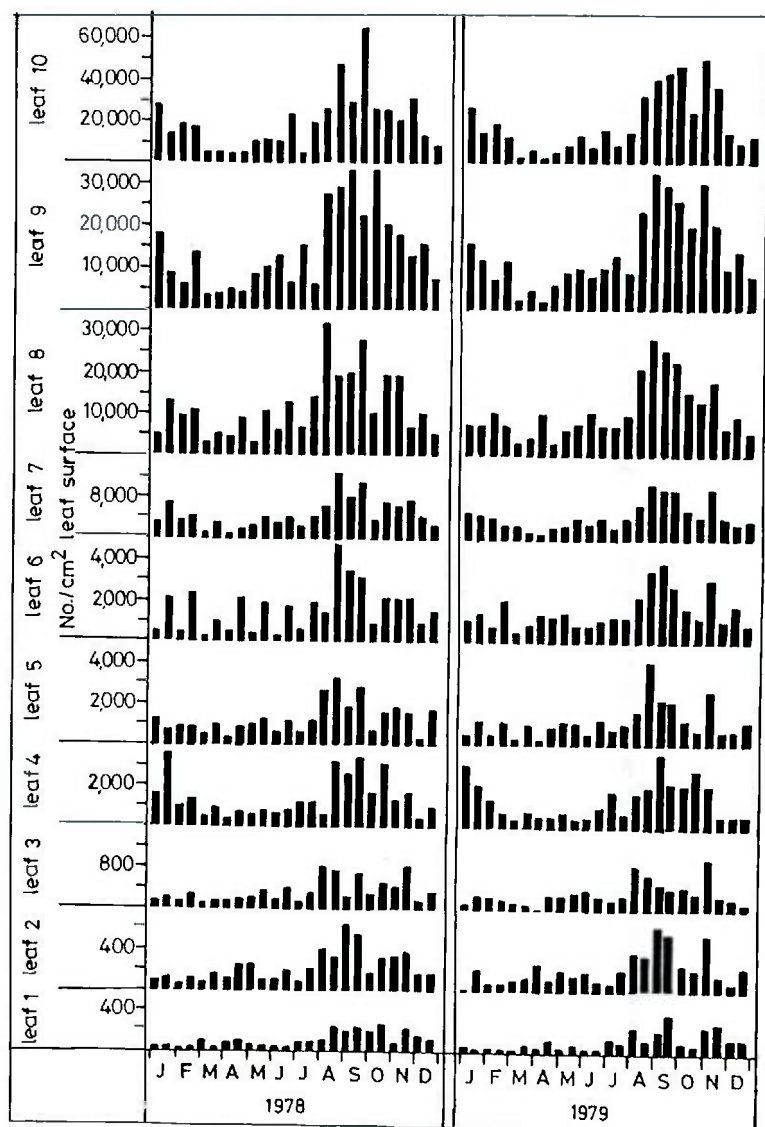


Figure 2. Colonization pattern of *Corynebacterium* sp., on the healthy leaves of mulberry in relation to leaf age and season.

Figure 2. Tableau de colonisation de *Corynebacterium* sp. sur les feuilles de mûrier saines selon l'âge de la feuille et la saison.

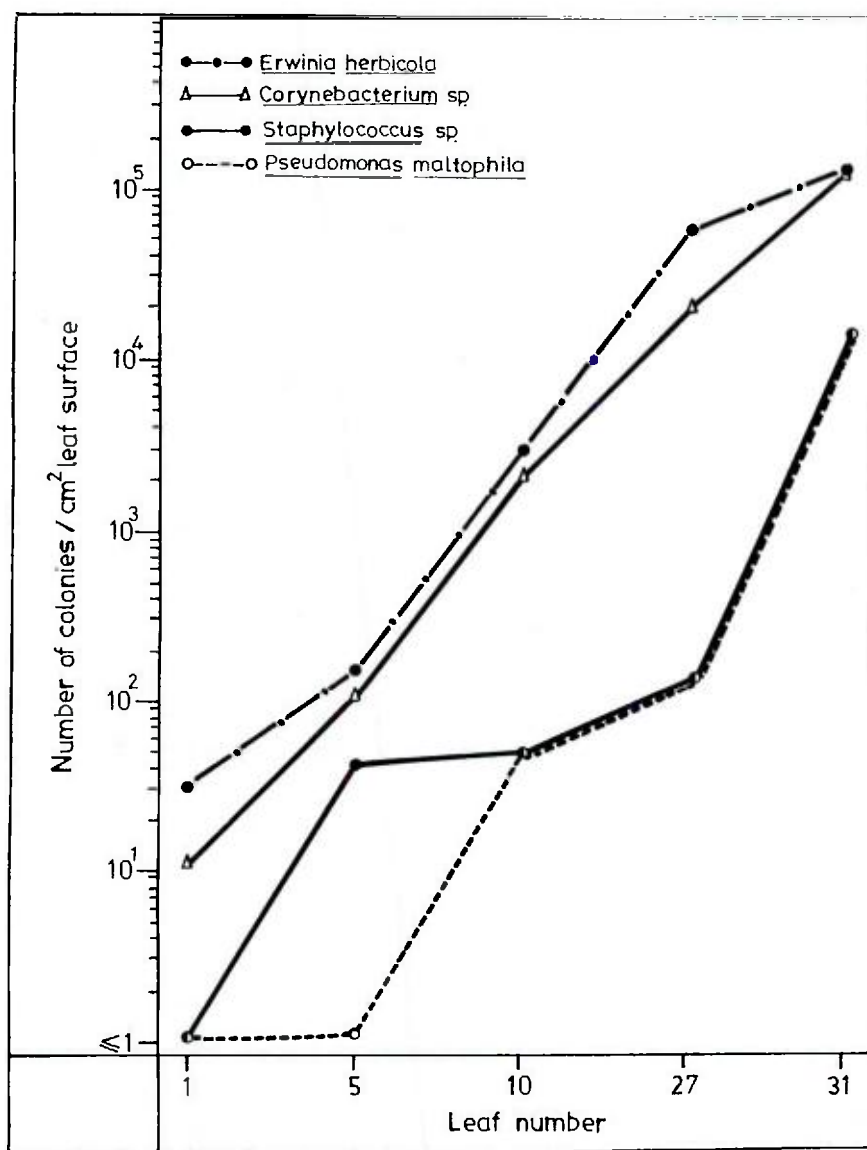


Figure 3. Effect of leaf age on the populations of bacteria on mulberry leaves.

Figure 3. Effet de l'âge de la feuille sur les populations de bactéries des feuilles de mûrier.

ETUDES SUR LA FLORE MICROBIENNE DE LA SURFACE FOLIAIRE DU MURIER.

I. POPULATIONS BACTERIENNES DES FEUILLES SAINES

J. SUKUMAR* et A. RAMALINGAM

*Department of Post-Graduate Studies and Research in Botany,
University of Mysore,
Manasagangothri, Mysore 570 006,
Inde.*

L'analyse pendant deux ans par la méthode des dilutions en série de feuilles de mûrier saines, a permis d'obtenir 5 types de bactéries. On a observé une augmentation énorme de leur population avec le vieillissement de la feuille et les feuilles sénescentes abritent la concentration de bactéries la plus élevée. On observe un pic saisonnier pendant les mois pluvieux (septembre et octobre), et un creux pendant les mois chauds de mars et avril. La pluviométrie et la situation de la feuille en hauteur par rapport au niveau du sol ont une influence sur l'augmentation et la diminution des populations bactériennes.

INTRODUCTION

La surface des feuilles des végétaux, appelée "phylloplane", comporte divers micro-organismes. On sait que ces microbes interagissent avec les pathogènes de la plante et réduisent la gravité de la maladie dans un certain nombre de cas (Fokkema, 1978). Il a également été prouvé que les saprophytes de la surface foliaire accélèrent la sénescence foliaire et réduisent la production de graines (Dickinson et Walpole, 1975). Les aspects qualitatifs et quantitatifs de la colonisation microbienne à la surface des feuilles ont été décrits de manière extensive par Preece et Dickinson (1971), Dickinson et Preece (1976) et Blakeman (1981). Cependant, on ne dispose que de peu d'informations sur l'influence de ces microbes sur les animaux qui les ingèrent en même temps que les feuilles. Sukumar (1983) et Sukumar et Ramalingam (1986) ont montré que les microbes de la phylloplane du mûrier sont la cause d'une baisse de la productivité et d'apparitions de maladies chez les vers à soie. Nous avons entrepris en 1978 une étude détaillée sur les microbes de la phylloplane du mûrier afin de fournir les premières données qui permettront de poursuivre les recherches sur leur influence envers les vers à soie. Le présent article traite

de la flore bactérienne des feuilles de mûrier saines, de ses variations saisonnières et de l'effet de la croissance de la plante et de la météorologie.

MATERIEL ET METHODES

On a utilisé pour cette étude des feuilles de mûrier de la variété M5 de *Morus indica* L. Les mûriers ont été plantés à une distance de 2' x 2' à Manasagangotri, sur le campus de l'Université de Mysore, sur une surface d'un demi-acre. Les feuilles numérotées de 1 à 10 en partant du bout des branches choisies au hasard, ont été collectées dans des sacs en polyéthylène différents, tous les 15 jours. Immédiatement après chaque cueillette, on découpe 24 disques de 2,1 cm de diamètre dans les feuilles et on les plonge dans 100 ml d'eau distillée stérilisée avec une goutte de Tween-80, et on agite le tout pendant 30 minutes avec un agitateur magnétique. Trois dilutions adéquates ont été préparées à partir du lavage de la feuille, et utilisées pour l'expérience. 1 ml de chaque dilution est versé dans une boîte de Pétri stérile au moyen de pipettes stériles, et on ajoute dans chaque boîte un milieu gélosé de peptone de boeuf, fondu à environ 35° C. Les boîtes sont agitées pour que la solution puisse se répartir et on laisse la gélose se solidifier. Pour chaque dilution, trois replicatas sont effectués. Les boîtes de Pétri sont laissées en incubation à température ambiante (24-28°C). Les dénombrements des colonies sont faits le 3ème jour de l'incubation et la concentration de bactéries est évaluée par unité de surface foliaire échantillonnée. Les conditions climatiques sont surveillées en utilisant du matériel météorologique standard installé sur le terrain. Les études ont été conduites sur une période de deux ans en 1978 et 1979.

RESULTATS

Cinq types de bactéries (*Erwinia herbicola*, *Corynebacterium* sp., *Pseudomonas maltophila*, *Staphylococcus* sp., et *Serratia marcescens*) ont été isolés à partir des feuilles. En général, les populations bactériennes surpassent en nombre celles des levures et des champignons. *Erwinia herbicola* est la plus importante, étant suivie de *Corynebacterium* sp., *Pseudomonas maltophila* et *Staphylococcus* sp. *Serratia marcescens*, une bactérie rose, a été isolée seulement trois fois, tandis que les autres bactéries ont été isolées en grand nombre pendant toute la période d'échantillonnage.

Variations saisonnières :

Un profil saisonnier distinct a été enregistré pour les bactéries de la phylloplane. Les figures 1 et 2 montrent les variations saisonnières des populations bactériennes sur les feuilles. En général, les bactéries dénombrées sont moins nombreuses pendant les mois chauds et secs de mars et avril, et augmentent progressivement à partir du mois de mai avec des concentrations maximales pendant septembre et octobre.

Effet de l'âge des feuilles :

Les variations de populations bactériennes de la phylloplane sur les feuilles 1 à 10, au cours des différents mois de 1978 et 1979, représentées dans les figures 1 et 2, montrent nettement l'influence de l'âge de la feuille. La feuille qui vient juste de se déplier comporte une faible concentration de bactéries. Avec le vieillissement, on remarque une augmentation progressive des populations par unité de surface et le nombre de bactéries enregistré sur la feuille n° 10 est 100 fois plus grand que sur la feuille n° 1.

Afin de présenter une image claire de l'influence de l'âge de la feuille sur les populations bactériennes, les valeurs moyennes pour les feuilles 1, 5 et 10, obtenues d'après les résultats de 48 tests, sont représentées sur la figure 3, ainsi

que les valeurs moyennes obtenues lors de huit expériences faites sur des feuilles âgées et sénescences. Les feuilles âgées ont de 75 à 80 jours et les feuilles sénescences ont plus de 85 jours au moment de l'échantillonnage. Des différences très importantes sont observées dans le taux d'augmentation des populations des différentes bactéries. Avec la sénescence de la feuille, on observe l'accroissement de population le plus important chez *Pseudomonas maltophila* (x 142 860) suivi de *Staphylococcus* sp. (x 26 224), *Corynebacterium* sp. (x13 079) et *Erwinia herbicola* (x 7 028) à partir de la feuille n° 1.

Effet conjugué de la hauteur de la plante et de la pluviométrie sur les bactéries de la phylloplane :

Une expérience a été conduite le 19 septembre 1980, un jour sans pluie, suivi de quatre jours pluvieux avec une pluviométrie totale de 76 mm. Des feuilles ont encore été échantillonnées le 24 septembre 1980. Les données obtenues pour les feuilles alternes 1, 3, 5 et 7 situées à des hauteurs différentes au-dessus du niveau du sol, sont données dans le tableau I. En général, les populations de bactéries sont multipliées par 1,5 après la pluie. On a enregistré la concentration la plus élevée sur la feuille n° 7 à la fois avant et après la pluie. Cependant des différences individuelles ont été remarquées en ce qui concerne les concentrations après la pluie. Les populations de *Erwinia herbicola* et *Pseudomonas maltophila* diminuent sur les feuilles 1, 3 et 5 tandis qu'elles sont les plus élevées sur la feuille n° 7, alors que *Corynebacterium* sp. diminue après la pluie sur toutes les feuilles et que *Staphylococcus* sp. ne montre pas de différence remarquable.

DISCUSSION

Les surfaces des feuilles de mûrier supportent un grand nombre de bactéries, champignons et levures (Sukumar, 1983) qui sont évidemment ingérés par les vers à soie. Sukumar et Ramalingam (1986) ont également montré que *Aspergillus flavus* et *A. niger*, deux champignons courants de la phylloplane du mûrier, se développent énormément lors du stockage prolongé et provoquent l'aspergilliose chez les vers à soie. Sukumar (1983) a également montré que des fortes concentrations de *Sporobolomyces roseus* et de *Cryptococcus laurentii* sur les feuilles ont respectivement un effet favorable et défavorable sur le rendement en cocon.

Dans la présente étude, cinq types de bactéries ont été isolés à partir des feuilles de mûrier, parmi celles-ci *Erwinia herbicola* est la plus importante comme dans le cas de nombreuses graminées et légumineuses décrit par Dye (1969). *Corynebacterium* sp., qui vient en seconde place chez le mûrier, est le constituant principal chez les feuilles de sorgho (Appaji Gowda, 1982). Nous avons isolé pour la première fois le genre *Staphylococcus*, qui n'avait jamais été observé sur des feuilles jusqu'ici, et son rôle dans la pathologie des vers à soie doit être étudié plus en détail. *Pseudomonas maltophila*, considéré le plus souvent comme un épiphyte occasionnel, s'est révélé résider sur les feuilles de mûrier.

Les feuilles de mûrier qui viennent juste de se différencier des bourgeons n'abritent qu'une très faible population de bactéries qui atteint son apogée sur les feuilles sénescences. Des résultats similaires ont été décrits par Last et Deighton (1965). L'augmentation progressive du nombre de micro-organismes avec le temps est attribuée à la déposition de microbes par les spores aériennes pendant les expositions prolongées (Kerling, 1964), la multiplication des microbes sur les surfaces (Stout, 1960) étant favorisée par l'excrétion d'éléments nutritifs sur les surfaces des feuilles (Dickinson, 1967). Les feuilles vieillissantes perdent leur capacité de produire des toxines et des phytoalexines (Bailey, 1971 ; Baddeley, 1971) et deviennent de meilleurs substrats pour la colonisation et la reproduction. Il faut

deux à trois jours pour que la feuille de mûrier se déplie complètement hors du bourgeon, elle peut rester sur la branche dans un état physiologique actif jusqu'à 80 jours. Les feuilles n° 1, 10, 27 et les feuilles sénescentes étudiées pour une étude comparative seraient respectivement âgées de 3, 30, 81 et 85 jours. Si l'on considère la totalité de la microflore de la première feuille comme le dépôt des spores aériennes pendant trois jours, celle de la feuille n° 10 devrait être dix fois plus importante, et celle des feuilles sénescentes, 28 fois. Le dépeuplement dû au lessivage par la pluie devrait entraîner une diminution de la population et la multiplication des germes par la croissance et la reproduction aura comme résultat une augmentation.

Les variations saisonnières des bactéries semblent être dues à l'effet conjugué de la température et de l'humidité relative. La diminution des populations bactériennes par temps chaud est peut-être due à l'absence d'humidité libre sur la surface de la feuille comme l'ont écrit Leben et Daft (1967) et le pic pendant la saison des pluies serait dû à l'humidité relative élevée et à la température relativement constante.

L'effet immédiat et direct de la pluie varie selon la hauteur à laquelle sont situées les feuilles et aussi selon le type de bactéries concernées. La concentration élevée de *Erwinia herbicola* et *Pseudomonas maltophila* enregistrée sur les feuilles les plus basses est due au dépôt de bactéries se trouvant sur des débris dans le sol, grâce aux éclaboussures, et la diminution observée sur les feuilles plus hautes est due au lessivage de la pluie. Comme les vers à soie sont sensibles à l'infection provoquée par un certain nombre de bactéries, nous sommes en train de mener des études détaillées sur l'influence des bactéries de la phylloplane.

REMERCIEMENTS

Nous remercions sincèrement le CSIR de New Delhi pour son aide financière, le Commonwealth Mycological Institute, en Angleterre, pour avoir identifié les bactéries et l'Université de Mysore pour les facilités accordées.

EPIDEMIOLOGY OF CERCOSPORA LEAF SPOT DISEASE OF MULBERRY

I. STAGES OF INFECTION SPOTS AND CONIDIAL PRODUCTION

J. SUKUMAR* and A. RAMALINGAM

Department of Post-Graduate Studies and Research in Botany,
University of Mysore,
Manasagangothri,
Mysore 570 006,
India.

Four stages in the development of *Cercospora* leaf spot were identified. Conidial production on different stages was estimated for ten days from the date of appearance of the leaf spots. Production of conidia commenced on the third day when the spots were in the second stage of development. The maximum number of conidia was produced on the fifth day from stage-3 spot which was recognized as epidemiologically the most acute stage. The number of conidia produced on the upper surfaces of the leaves was twice as great as those produced on the lower surfaces.

INTRODUCTION

Mulberry, the basic source of food for silkworms (*Bombyx mori* L.) suffers from many diseases of various etiological nature. The leaf spot disease caused by *Cercospora moricola* Cooke is one of the major constraints in the leaf production. The disease occurs in alarming proportions during the monsoon season with peak development in September and October months. The pathogen produces slimy spores which are disseminated by rain splash (Sukumar & Ramalingam, 1981a). Many studies have been carried out on the sporulation of *Cercospora* species in culture. But the literature on the conidial production from different stages of infection spots on the leaf surfaces is scanty. The number of conidia produced on different surfaces of leaves appears to have a direct relationship with the spore presentation mechanism for liberation and dissemination by splash-borne pathogens. The present investigations were carried out to find out the epidemiologically significant stage in the development

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

of the leaf spot where the maximum number of conidia is produced. The results are discussed in relation to the cultural methods of controlling the disease.

MATERIALS AND METHODS

The studies were conducted on the mulberry variety M5 of *Morus indica* L. raised in earthen pots. The third leaf at the tip of the branches was inoculated with the washed conidial suspension of *Cercospora moricola* (10^8 conidia/ml), prepared from a 10 day old culture grown on potato dextrose agar medium. The inoculated plants were incubated under high humidity overnight and later removed to an isolated place for disease expression. The infection spots were classified into four stages based on the colour and morphology. The conidial production was estimated for a period of 10 days from the date of appearance of the lesions. For this, fifty infected leaf bits were placed in 100 ml distilled water with a drop of Tween-80 and agitated for 30 minutes on a magnetic stirrer. The conidial concentration was estimated using a haemocytometer. The area of leaf spots was determined by tracing them on to a transparent graph paper and the production of conidia per mm^2 of the infection spot was calculated. Conidial production on the upper and lower surfaces of the leaves was estimated by wash off technique (Fig. 1). A leaf bearing a well sporulated lesion which was in the third stage of development was trimmed to form a pointed tip at one end. It was mounted with the chosen surface in an inclined position (45°) on a similarly trimmed aluminium foil, from the arm of an iron stand. Water drops of 4-5 mm in diameter were allowed to flow over the infected spot and the run off water was collected in a measuring cylinder until the last flowing drops, when examined under a microscope revealed the absence of conidia.

RESULTS

Stages of infection spots

Four stages were recognized in the development of infection spots caused by *C. moricola*. The leaf spots in the first stage of development were minute, light brown specks distinct from healthy areas and seen clearly against light. In the second stage, the spots turned dark brown, nearly circular and produced sporodochia in circlets or in scattered groups. The spots in the third stage were irregular and produced whitish masses of conidia held together in slimy matrix. In the fourth stage they enlarged irregularly and the infected portion often showed a split in the middle.

Conidial production

The data obtained on the production of conidia from different stages of infection spots are presented in Table I. Conidia were not produced on the first and second day after the appearance of symptoms when the spots were in the first stage of development. Sporulation commenced on the third day when the spots were in the second stage of development. Peak production of conidia was observed on the fifth day when the spots were in third stage. The estimates of conidia per unit area of the leaf spot decreased with passage of time and increase in the size of the leaf spot. Conidial production was observed on both the surfaces of the leaves. Their number was approximately twice as great on the upper surface as those produced on the lower surface of the leaves (Table II).

DISCUSSION

Four stages in the development of the infection spots were recognized and the most significant stage in the disease cycle was identified. *C. moricola* is amphigenous producing conidia on both the surfaces of the leaves. They are embedded in a slimy matrix (Sukumar & Ramalingam, 1981a) unlike other *Cercospora* species which possess dry spores. The infection spot in the third stage of development is the most acute stage since it produces a large number of conidia for further spread and disease outbreak. The reduction in the number of conidia with the passage of time may be due to the increase in the area of the leaf spot without corresponding increase in the production of conidia and also by the activities of the mites and thrips which were found crawling over the surface of the infected spot. *C. moricola* solely depends on rain splash for the dissemination of its conidia (Sukumar & Ramalingam, 1981a). The production of a large number of conidia on the upper surface of leaves is an adaptation by the pathogen for effectively presenting its conidia for liberation and dissemination by rain splash. The mulberry leaves are hypostomatous and successful infection can take place only when the conidia are deposited on lower surfaces of the leaves (Sukumar & Ramalingam, 1981b). The conidia produced on the upper surfaces of the leaves are directly carried to the undersurfaces of the leaves above by the rain splash bringing about an effective deposition of the conidia and infection by the pathogen. Disease control through cultural or biological methods has many advantages in mulberry cultivation since the application of chemicals has deleterious effects on silkworms which feed on them. Leaf spot disease can easily be controlled by cultural method if the infected leaves are manually removed before the commencement of sporulation, within two days after the appearance of the lesions, prior to the receipt of rainfall.

ACKNOWLEDGEMENTS

Our sincere thanks are due to CSIR, New Delhi for financial assistance and the University of Mysore for facilities.

REFERENCES

- SUKUMAR J., RAMALINGAM A., (1981a) Splash dispersal of *Cercospora moricola*. Sci. Cult., 47, 173-175.
- SUKUMAR J., RAMALINGAM A., (1981b) Detached leaf technique to study leaf spot and other foliar diseases of mulberry. Indian Phytopath., 34, 100-101.

Days after appearance of infection spots/ Nb de jours après l'apparition des taches d'infection	Stage of infection spot/ Stade des taches d'infection	No. of conidia/mm ² / Nb de conidies/mm ²
1	1	0
2	1	0
3	2	7 290
4	2	14 844
5	3	18 520
6	3	15 740
7	3	15 370
8	4	14 910
9	4	10 560
10	4	6 670

Table I. Conidial production of *Cercospora moricola* from different stages of infection spots from the date of appearance of the symptoms.
Data are the averages of 3 experiments.

Tableau I. Production de conidies de *Cercospora moricola* à partir de différents stades des taches d'infection à compter de la date d'apparition des symptômes.
Les données représentent la moyenne de 3 expériences.

Adaxial surface/ Surface adaxiale	Abaxial surface/ Surface abaxiale
12 580	5 880

Table II. Spore production (no./mm²) by *Cercospora moricola* on the adaxial and abaxial surfaces of mulberry leaves.
Data are the averages of 3 experiments.

Tableau II. Production de spores (nb/mm²) par *Cercospora moricola* sur les surfaces adaxiale et abaxiale des feuilles de mûrier.
Les données représentent la moyenne de 3 expériences.

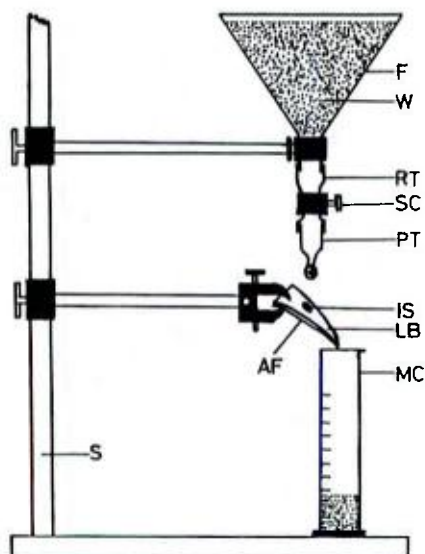


Fig. 1. Device used to wash conidia from leaf spots.

Fig. 1. Appareil utilisé pour enlever les conidies des taches de la feuille.

- AF: aluminium foil/ feuille d'aluminium
 F : funnel/ entonnoir
 IS: infection spot/ tache d'infection
 LB: leaf bit/ morceau de feuille
 MC: measuring cylinder/ éprouvette graduée
 PT: pointed tube/ tube pointu
 RT: rubber tube/ tube en caoutchouc
 S : stand/ statif
 SC: screw clip/ système à vis
 W : water/ eau

EPIDEMIOLOGIE DE LA MALADIE DE LA TACHE DU MURIER DUE A CERCOSPORA

I. STADES D'INFECTION ET PRODUCTION DE CONIDIES

J. SUKUMAR* et A. RAMALINGAM

*Department of Post-Graduate Studies and Research in Botany,
University of Mysore,
Manasagangothri,
Mysore 570 006,
Inde.*

Nous avons identifié quatre stades dans le développement de la tache d'infection de Cercospora. La production de conidies aux différents stades a été mesurée pendant dix jours à partir de la date de l'apparition des taches. La production de conidies débute le 3ème jour lorsque les taches sont au 2ème stade de leur développement. Le nombre maximal de conidies est produit le 5ème jour, à partir de taches au 3ème stade, lequel a été reconnu comme le stade le plus critique. Le nombre de conidies produites sur les surfaces supérieures des feuilles est deux fois plus grand que celui produit sur les surfaces inférieures.

INTRODUCTION

Le mûrier, base de l'alimentation des vers à soie (*Bombyx mori* L.) souffre de nombreuses maladies de nature étiologique diverse. La maladie de la tache de la feuille causée par *Cercospora moricola* Cooke est une gêne très importante pour la production de feuilles. La maladie apparaît dans des proportions alarmantes pendant la mousson avec un développement maximal pendant les mois de septembre et octobre. Le pathogène produit des spores gluantes qui sont éparpillées par la pluie (Sukumar et Ramalingam, 1981a). Beaucoup d'études ont été faites sur la sporulation de *Cercospora* en culture. Mais on trouve peu d'informations en ce qui concerne la production de conidies lors des différents stades des taches d'infection sur la surface des feuilles. Le nombre de conidies produites sur les différentes surfaces des feuilles apparaît être directement lié au mécanisme de présentation de spores pour la libération et la dissémination des pathogènes par les éclaboussures. Les présentes

* Karnataka State Sericulture Development Institute, Thalaghattapura, Bangalore.

recherches ont été effectuées pour connaître le stade significatif au point de vue épidémiologique, dans le développement de la tache de la feuille, pendant lequel est produit le plus grand nombre de conidies. Les résultats sont discutés en comparant les méthodes culturales pour lutter contre la maladie.

MATERIEL ET METHODES

Les études ont été effectuées sur la variété M5 du mûrier *Morus indica* L., cultivée dans des pots de terre. La 3ème feuille au bout des branches est inoculée avec une suspension de conidies de *Cercospora moricola* (10⁶ conidies/ml), préparée à partir d'une culture de dix jours sur milieu gélosé de dextrose de pomme de terre. Les plants inoculés sont placés en incubation sous une humidité élevée pendant une nuit et sont ensuite placés dans un lieu isolé afin de laisser la maladie se développer. Les taches d'infection sont classées en quatre stades basés sur la couleur et la morphologie. La production de conidies est mesurée pendant une période de dix jours à partir de la date d'apparition des lésions. Pour cela, cinquante morceaux de feuilles infectées sont placés dans 100 ml d'eau distillée avec une goutte de Tween-80 et agités pendant 30 minutes sur un agitateur magnétique. La concentration de conidies est évaluée au moyen d'un hémocrite. La surface des taches foliaires est déterminée en les retraçant sur un papier calque. La production de conidies sur les surfaces supérieure et inférieure de la feuille est estimée par la technique de lessivage (Fig. 1). Une feuille portant une lésion bien sporulée, au 3ème stade de développement, est découpée de façon à former un bout pointu. Elle est placée avec la surface choisie dans une position inclinée (45°) sur une feuille d'aluminium, tenue par le bras d'un statif en fer. Des gouttes d'eau de 4-5 mm de diamètre coulent sur le point infecté et l'eau est ensuite collectée dans une éprouvette graduée, jusqu'à ce qu'on ne trouve plus de conidies dans les dernières gouttes examinées au microscope.

RESULTATS

Stades des taches d'infection

On distingue quatre stades dans le développement des taches d'infection causées par *C. moricola*. Les taches foliaires, au 1er stade de développement, sont minuscules, constituées par des points marron clair distincts des surfaces saines et que l'on voit clairement à contre-jour. Au 2ème stade, les taches deviennent marron foncé, presque circulaires et produisent des sporodochia en cercles ou en groupes éparés. Au 3ème stade, les taches sont irrégulières et produisent des masses blanchâtres de conidies rassemblées dans une matrice gluante. Au 4ème stade, elles s'agrandissent de manière irrégulière et la partie infectée montre souvent une cassure en son milieu.

Production de conidies

Les données obtenues sur la production de conidies au cours des différents stades sont présentées dans le Tableau I. Les conidies ne sont pas produites pendant le 1er et le 2ème jour après l'apparition des symptômes, lorsque les taches sont au 1er stade de développement. La sporulation commence le 3ème jour lorsque les taches sont au 2ème stade de développement. La production maximale de conidies est observée le 5ème jour lorsque les taches sont au 3ème stade. Les évaluations de conidies par unité de surface de la tache diminuent avec le temps et l'augmentation de la taille de la tache. Les conidies sont produites sur les deux surfaces des feuilles. Leur nombre est approximativement deux fois plus grand sur la surface supérieure que sur

la surface inférieure (Tableau II).

DISCUSSION

Quatre stades sont déterminés dans le développement des taches d'infection et le stade le plus significatif dans le cycle de la maladie a été identifié. *C. moricola* est un amphigène produisant des conidies sur les deux surfaces des feuilles. Elles sont enveloppées dans une matrice gluante (Sukumar et Ramalingam, 1981a), contrairement aux autres espèces de *Cercospora* qui possèdent des spores sèches. Le 3ème stade de développement de la tache est le plus critique car c'est à ce moment qu'est produit le plus grand nombre de conidies qui propagent ensuite la maladie. La diminution du nombre de conidies avec le temps peut être due à l'augmentation de la surface de la tache sans augmentation correspondante de la production des conidies et également aux activités des acariens et des thrips qui ont été trouvés rampant à la surface de la tache. La dissémination des conidies de *C. moricola* dépend uniquement des éclaboussures de la pluie (Sukumar et Ramalingam, 1981a). La production de nombreuses conidies sur la surface supérieure des feuilles représente une adaptation du pathogène pour que ses conidies soient efficacement libérées et disséminées par les éclaboussures de la pluie. Les feuilles de mûrier sont hypostomateuses et la réussite de la contamination peut seulement avoir lieu lorsque les conidies sont disposées sur les surfaces inférieures des feuilles (Sukumar et Ramalingam, 1981b). Les conidies produites sur les surfaces supérieures des feuilles sont directement transportées sur les surfaces inférieures des feuilles supérieures par les éclaboussures de la pluie qui déclenchent ainsi la déposition efficace des conidies et l'infection par le pathogène. Le contrôle de la maladie au travers de méthodes culturales ou biologiques a beaucoup d'avantages en moriculture car l'utilisation de produits chimiques nuit aux vers à soie qui s'en nourrissent. La maladie de la tache de la feuille peut être aisément contrôlée par une méthode culturale si les feuilles contaminées sont enlevées manuellement avant le début de la sporulation, dans les deux jours qui suivent l'apparition des lésions, et avant la pluie.

REMERCIEMENTS

Nous remercions sincèrement le CSIR de New Delhi pour son aide financière et l'Université de Mysore pour les facilités accordées.

REVUE SIGNALÉTIQUE

BIBLIOGRAPHY

INDICATIFS DES LANGUES UTILISÉES

LANGUAGE SYMBOLS USED

(Bg)	Bulgare, Bulgarian.	(C)	Chinois, Chinese.
(D)	Allemand, German.	(E)	Anglais, English.
(F)	Français, French.	(J)	Japonais, Japanese.
(K)	Coréen, Korean.	(Pl)	Polonais, Polish.
(Pt)	Portugais, Portuguese.	(R)	Russe, Russian.
(Ro)	Roumain, Rumanian.	(S)	Espagnol, Spanish.

Les lettres minuscules correspondantes sont utilisées pour indiquer la langue du résumé.

The corresponding small letters are used for indicating the language of the summary.

Sériciculture Générale

General Sericulture

BALASUBRAMANIAN V.

Sericulture as a high employment oriented industry.

La sériciculture, une activité orientée vers le plein emploi.

Indian Silk, 1986, 25(6), 27-29. (E)

GREENHALGH P.

The world market for silk.

Le marché mondial de la soie.

Tropical Development and Research Institute, London, 1986, 118 p. (E)

JOLLY M.S.

Economics of sericulture under rainfed conditions.

Aspect économique de la sériciculture en culture non-irriguée

Central Sericultural Research & Training Institute, Mysore, Sericulture Project no.1, 1986, 19 p.

JOUSSELIN W.

La sériciculture en Cévennes : son renouveau.

Sericulture revival in the Cévennes (France).

Bull. Soc. Vét. Prat. de France, 1986, 70(1), 45-52. (F)

JOUSSELIN W.

Sériciculture : quelques précisions sur la soie sauvage.

Sericulture: some more information on wild silk.

Bull. Soc. Vét. de France, 1986, 70(4), 247-248. (F)

SAKAMOTO M.

Japanese contributions in the science of wool and silk.

Contributions japonaises à la science de la laine et de la soie.

In Proc. Int. Wool & Text. Res. Conf. 7th, 1985, 1, 1-26. Ed. by Sakamoto M., Publ. Soc. Fiber Sci. Technol. Jpn., Tokyo. (E)

ZHANG X., et al.

Brief report on resources and divisions of tussah silkworm in Liaoning Province.

Rapport bref sur les ressources et divisions du ver à soie tussah dans la Province de Liaoning.

Canye Kexue, 1986, 12(3), 168. (C)

Mûrier

Mulberry

DWIVEDI N.K., SIKDAR A.K., DANDIN S.B., SASTRY C.R., JOLLY M.S.
Induced tetraploidy in mulberry. 1) Morphological, anatomical and cytological investigations in cultivar RFS 135.
Tétraploïdie induite chez le mûrier. 1) Etudes morphologiques, anatomiques et cytologiques chez le cultivar RFS 135.

Cytologia, 1986, 51, 393-401. (E)

HANO Y., KIRAKURA K., SOMEYA T., NOMURA T.
Structure of mulberrofuran M, a novel 2-arylbenzofuran derivative from the cultivated mulberry tree (*Morus alba* L.).
Structure du mulberrofuran M, un nouveau dérivé du 2-arylbenzofuran provenant du mûrier cultivé (*Morus alba* L.).

Heterocycles, 1986, 24(5), 1251-1255. (E)

HANO Y., NOMURA T.
Constituents of the cultivated mulberry tree. 36) Structure of mulberrofuran P, a novel 2-arylbenzofuran derivative from the cultivated mulberry tree (*Morus alba* L.).
Composants du mûrier cultivé. 36) Structure du mulberrofuran P, un nouveau dérivé du 2-arylbenzofuran provenant du mûrier cultivé (*Morus alba* L.).

Heterocycles, 1986, 24, 1381-1386. (E)

HANO Y., TSUBURA H., NOMURA T.
Structure of mulberrofuran Q, a novel 2-arylbenzofuran derivative from the cultivated mulberry tree (*Morus alba*).
Structure du mulberrofuran Q, un nouveau dérivé du 2-arylbenzofuran provenant du mûrier cultivé *Morus alba*.

Heterocycles, 1986, 24(7), 1807-1813. (E)

HANO Y., KOHNO H., SUZUKI S., NOMURA T.
Constituents of the cultivated mulberry tree. 37) Constituents of the Chinese crude drug Sang-Bai-Pi (*Morus* root bark). 8) Structure of sanggenons E and P, two new Diels Alder type adducts from the Chinese crude drug Sang Bai Pi.
Composants du mûrier cultivé. 37) Composants de la substance naturelle Sang-Bai-Pi (écorce de la racine de *Morus*). 8) Structure des sanggenons E et P, deux nouveaux adduits de type Diels-Alder de la substance naturelle chinoise Sang-Bai-Pi.

Heterocycles, 1986, 24, 2285-2291. (E)

Mulberry

HIBI T.

Physical and chemical properties of several plant viruses.

Propriétés physiques et chimiques de plusieurs virus de plantes.

Trop. Agric. Res. Ser., 1986, 19, 86-91. (E)

HU T.K., YEN H., THSENG F.S.

Screening method for drought tolerance in mulberry.

Méthode de calcul de la résistance à la sécheresse chez le mûrier.

Nung Lin Hsueh Pao (Kuo Li Chung Hsing Ta Hsueh), 1984, 33(2), 111-122. (C)

IKUTA J., FUKAI T., NOMURA T., UEDA S.

Constituents of *Morus alba* L. cell cultures. 1) Structures of four new natural Diels-Alder type adducts, Kuwanon J, Q, R and V.

Composants des cultures cellulaires de *Morus alba* L. 1) Structure de quatre nouveaux adduits naturels de type Diels-Alder, Kuwanon J, Q, R et V.

Chem. Pharm. Bulletin, 1986, 34, 2471. (E)

LEE J.W.

Effects of foliar spray of kinetin (6-furfurylamino purine) on the growth of mulberry tree and the metabolic activities in the leaves.

Effet de la vaporisation foliaire de kinétine (6-furfurylamino purine) sur la croissance du mûrier et les activités métaboliques dans les feuilles.

Han'guk Chamsa Hakhoechi, 1984, 26(1), 1-20. (K)

LEE W.C., LEE K.Y.

Studies on glutamic acid fermentation residue fertilizer. 1) Application rate of fertilizers and soil chemical properties of mulberry fields used glutamic acid fermentation residue fertilizer.

Etudes sur le fertilisant résultant de la fermentation de l'acide glutamique. 1) Taux d'application des fertilisants et propriétés chimiques du sol dans les plantations de mûriers où l'on a utilisé ce fertilisant.

Han'guk Chamsa Hakhoechi, 1984, 26(1), 21-24. (K)

OHNISHI T.

Influence of gibberellin treatment on the growth of mulberry trees under different conditions of soil water content.

Influence du traitement à la gibberelline sur la croissance du mûrier dans différentes conditions d'humidité du sol.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 289-292. (E)

OHNISHI T.

Influence of gibberellin treatment on the growth of mulberry trees under different conditions of soil temperature.

Influence du traitement à la gibberelline sur la croissance du mûrier dans différentes conditions de température du sol.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 293-296. (E)

OKA S., OHYAMA K.

Mulberry (*Morus alba* L.).

Le mûrier (*Morus alba* L.).

Biotechnology in Agriculture and Forestry, 1986, vol. 1, Trees 1. (F)

REN D., et al.

Studies on the stand structure of mulberry trees. II. Relationship between stand structure and planting densities.

Etude de la structure sur pied du mûrier. Relation entre la structure sur pied et la densité de la plantation.

Canye Kexue, 1986, 12(3), 129. (C,e)

SHIKATA M., FURUSAWA T., FUH B.S., LIU J.L.

Tropical sericulture. 7) A comparative study on the leaf wax hydrocarbon composition between tropical and temperate mulberry varieties.

Sériciculture tropicale. 7) Etude comparative de la composition en hydrates de carbone de la cire des feuilles de mûrier de variétés tropicales et tempérées.

Kyoto Kogei Sen'i Daigaku Sen'igakubu Gakujutsu Hokoku, 1985, 11(1), 31-37. (J)

SUZUKI T.

Effects of ethrel, auxin and abscissic acid on leaf (petiole) abscission of new shoots of mulberry.

Effets de l'éthrel, de l'auxine et de l'acide abscissique sur l'abscission de la feuille (pétiole) de jeunes pousses de mûrier.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 309-313. (J,e)

SUZUKI T., KOHNO K.

The formation of long shoots and short shoots in mulberry and the abscission of the apical bud of the short shoot.

La formation de longues tiges et de tiges courtes chez le mûrier et l'abscission du bourgeon apical de la tige courte.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 349-350. (J)

WATANABE Y.

Effects of ethrel and low temperature on germination of the triploid seeds in mulberry.

Effets de l'éthrel et des basses températures sur la germination des graines triploïdes chez le mûrier.

Sanshi Kenkyu, 1985, 134, 45-53. (J)

YAMASHITA T.

Changes in ribulose 1,5-biphosphate carboxylase concentration due to external nitrogen supply in mulberry leaves (*Morus alba* L.).

Modification de la concentration en ribulose 1,5-biphosphate carboxylase, due à l'apport extérieur d'azote sur les feuilles de mûrier (*Morus alba* L.).

Ann. Bot., 1986, 58(2), 277-280. (F)

B. mori : élevage, nutrition, pathologie.
B. mori : rearing, feeding, pathology.

BIHAT D.V., SHIVAKUMAR G.R.

Bivoltine seed cocoon production in Anekal seed area.

Grainage de souches bivoltines dans la région d'Anekal.

Indian Silk, 1986, 25(6), 21-25. (E)

HORIE Y., WATANABE K.

Daily utilization of nitrogen in food by the silkworm *Bombyx mori*.

Utilisation journalière de l'azote de la nourriture par le ver à soie *Bombyx mori*.

Appl. Entomol. Zool., 1986, 21, 289-298. (E)

JOLLY M.S.

Pebrine and its control.

La pébrine et son contrôle.

Central Sericultural & Training Institute, Mysore, 1986, Bull. no. 5, 34 p. (E)

KURISU K.

Simplified calculation of the operating characteristics in the pebrine inspection of the grouping mother moths method.

Calcul simplifié des caractéristiques d'opération de l'inspection de la pébrine par la méthode de regroupement des papillons femelles.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 351-352. (J)

LI X., et al.

Studies on the techniques of cocooning management. II. The influence of the type of cocooning frame and the mounting density to cocoon quality.

Etudes sur les techniques d'encabanage. II. Influence du type d'encabanage et de la densité des vers à la montée sur la qualité du cocon.

Canye Kexue, 1986, 12(3), 148. (C)

LU Yiyu

Properties and application of common home-made quaternary ammonium compounds in disinfection of silkworm rearing.

Propriété et application du composé d'ammonium quaternaire, préparé artisanalement, dans la désinfection de l'élevage du ver à soie.

Canye Kexue, 1986, 12(3), 161. (C,e)

MIYAJIMA S., WAHIDA S.

Inhibitory effect of inactivated polyhedra added to an artificial diet on the incidence of cytoplasmic polyhedrosis in the silkworm, *Bombyx mori*.

Effet inhibiteur de polyèdres inactivés ajoutés à l'aliment artificiel sur l'incidence de la polyédrose cytoplasmique chez le ver à soie *Bombyx mori*.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 297-300. (J,e)

MIYAJIMA S.

Synergism in the incidence of cytoplasmic polyhedrosis by co-infection of species of bacteria in the silkworm, *Bombyx mori*, reared on artificial diet.

Synergisme dans l'incidence de la polyédrose cytoplasmique par infection conjointe de plusieurs espèces de bactéries chez le ver à soie *Bombyx mori* élevé sur aliment artificiel.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 301-304. (J,e)

XU H., et al.

Studies on PY-80-type combined machine for rearing young silkworms.

Etudes sur l'utilisation de la machine mixte de type PY-80 dans l'élevage des jeunes vers à soie.

Canye Kexue, 1986, 12(3), 175. (C)

YAMANOI F.

Toxicity of pyrethroid insecticides to the silkworm, *Bombyx mori*.

Toxicité des insecticides au pyrèthroïde envers le ver à soie *Bombyx mori*.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 329-334. (J,e)

YANG J., et al.

Analysis of correlations between physical and chemical characters of leaves and their food value in mulberry varieties (*Morus alba* L.).

Analyse des corrélations existant entre les caractères physiques et chimiques des feuilles et leur valeur nutritive chez les différentes variétés de mûrier (*M. alba*).

Canye Kexue, 1986, 12(3), 139. (C)

ZHANG B.

A discussion on rearing techniques of mulberry silkworm in ancient agricultural book "Essentials of Agriculture and Sericulture".

Discussion sur les techniques d'élevage du ver à soie du mûrier à partir du livre ancien "Données essentielles en Agriculture et en Sériciculture".

Canye Kexue, 1986, 12(3), 171. (C)

Séricigènes non-mûrier : élevage, nutrition, pathologie.

Non-mulberry silkworms : rearing, feeding, pathology.

JOSHI K.L.

Lipid utilization by larvae of eri silkworm moth, *Philosamia ricini* Hutt.

Utilisation des lipides par les larves du ver à soie eri, *Philosamia ricini* Hutt.

Sci. Cult., 1985, 51(9), 303-304. (E)

SHI Q., QU X., LU Z.

Analysis of the conformation of cecropin D from the Chinese oak silk moth.

Analyse de la structure de la cécropine D chez le papillon du ver à soie du chêne chinois.

Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao, 1986, 18(2), 210-212. (C)

SINHA A.K., CHAUDHARY S.K., BRAHMACHARI B.N., SENGUPTA K.

Foliar constituents of the food plants of temperate tasar silkworm *Antheraea proylei* J.

Constituants foliaires des plantes nourricières du ver à soie tussah tempéré, *Antheraea proylei* J.

Indian J. Seric., 1986, 25(1), 41. (F)

SRIVASTAV P.K.

Terminalia and tasar culture: yesterday, today and tomorrow.

Culture de *Terminalia* et élevage du tussah : hier, aujourd'hui et demain.

Indian Silk, 1986, 25(6), 35-37. (E)

Vers à soie : génétique.

Silkworms: genetics.

LI Yiren, et al.

Experiment in comparison with parent silkworm for hybridization, crossed-parent silkworm for hybridization and all hybrids of the different cross combination at the same rearing time.

Expériences comparatives entre des vers à soie parents pour l'hybridation, des parents croisés pour l'hybridation et tous les hybrides obtenus par différents croisements au cours de la même période d'élevage.

Ganyu Kexue, 1986, 12(3), 154. (C)

SHIMIZU K., FUJIMAKI T., FUJIMORI H.

Maternal brown of Tsujita 2, an allelic mutation to *b-t* located on the 13th linkage group of *Bombyx mori*.

Brun maternel de Tsujita 2, une mutation allélique de *b-t* située sur le 13ème groupe de linkage de *Bombyx mori*.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 355-356. (J)

STRUNNIKOV V.A.

Nature of heterosis and combining ability in the silkworm.

Nature de l'hétérosis et capacités combinatoires chez le ver à soie.

Theor. & Appl. Genetics, 1986, 72, 503.

Vers à soie : physiologie, biochimie. Silkworms: physiology, biochemistry.

ASAKURA T., KASHIBA H., HAMANO K., MUKAIYAMA F.
NMR spectroscopy of the urine of *Bombyx mori*.
Spectroscopie au NMR de l'urine de *Bombyx mori*.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 353-354. (J)

ASANO S., KUWANO E., ETO M.

Precocious metamorphosis induced by an antijuvenile hormone compound applied to 3rd instar silkworm larvae, *Bombyx mori*.

Métamorphose précoce induite par un composé anti-hormone juvénile administré aux larves du 3ème âge du ver à soie *Bombyx mori*.

Appl. Entomol. Zool., 1986, 21, 305-312. (E)

CAO M.

Radio immuno assay of 20-hydroxyecdysone.

Dosage radio-immunologique de la 20-hydroxyecdysone.

Kunchong Zhishi, 1986, 23(2), 87-90. (C)

EGUCHI M., MATSUI Y., MATSUMOTO T.

Developmental changes and hormonal control of chymotrypsin inhibitors in the haemolymph of the silkworm *Bombyx mori*.

Changements au cours du développement et contrôle hormonal des inhibiteurs de la chymotrypsine dans l'hémolymphe du ver à soie *Bombyx mori*.

Comp. Biochem. Physiol., 1986, 84, 327. (E)

FUNATSU G., FUNATSU M., KOBAYASHI M.

In vitro action of prothoracicotropic hormone on RNA synthesis in the prothoracic gland of the silkworm *Bombyx mori*.

Action *in vitro* de l'hormone prothoracicotrope sur la synthèse de l'ARN chez la glande prothoracique du ver à soie *Bombyx mori*.

J. Insect Physiol., 1986, 32, 711. (E)

FURUSAWA M., MAEDA S.

Plasmid containing silkworm nuclear polyhedrin protein structural gene for the manufacture of physiologically active substances.

Plasmide contenant le gène structural de la protéine de la polyédrose nucléaire du ver à soie pour la fabrication de substances physiologiquement actives.

Jpn. Kokai Tokyo Koho, (Patent/Brevet), 1986, JP 61 09, 288.

INAMORI Y., KUBO Y., TSUJIBO H., SAKAI M., KOZAWA M.

Changes of tissue histopathology and uric acid excretion in silkworm larvae intoxicated with Deoxypodo phyllotoxin and Racemonycin D, and during starvation.

Variations de l'histopathologie des tissus et de l'excrétion de l'acide urique chez les larves du ver à soie intoxiquées avec de la déoxypodo phyllotoxine et de la Racemonycine D, et pendant le jeûne.

Chem. Pharm. Bull., 1986, 34, 2542. (E)

JIANG Y., HUANG M., ZHU G., ZHOU L., WANG M., ZHENG Y.

Analysis of free aminoacids in silkworm excrements, *Dioscorea opposita*, *Astragalus membranaceus*, *Angelica sinensis* and *Codonopsis pilulosa*.

Analyse des acides aminés libres dans les excréments du ver à soie, chez *Dioscorea opposita*, *Astragalus membranaceus*, *Angelica sinensis* et *Codonopsis pilulosa*.

Zhongcaoyao, 1986, 17(3), 105-107. (C)

KANZAKI R., SHIBUYA T.

Identification of the deutocerebral neurons responding to the sexual pheromone in the male silkworm moth brain.

Identification des neurones deutocérébraux répondant à la phéromone sexuelle dans le cerveau du papillon mâle du ver à soie.

Zoological Science, 1986, 3, 409-418. (E)

KENT K.S., KARROW I.D., QUARTARARO P., HILDEBRAND J.G.

An accessory olfactory pathway in Lepidoptera: the labial pit organ and its central projections in *Manduca sexta* and certain other sphinx moths and silk moths.

Un passage olfactif accessoire chez les lépidoptères : l'orifice labial et ses projections centrales chez *Manduca sexta* et d'autres papillons sphinx et séricigènes.

Cell & Tissue Research, 1986, 245, 237-245. (E)

KITAGAKI H., IIDA N., MATSUMOTO I., SENO N.

Carbohydrate-binding specificity of silkworm lectin.

Spécificité de liaison des hydrates de carbone par la lectine du ver à soie.

Carbohydr. Res., 1986, 151, 271-278. (E)

KOGA D., NAKASHIMA M., MATSUKURA T., KIMURA S., IDE A.

Purification and properties of β -N-acetyl-D-glucosaminidase from alimentary canal of the silkworm *B. mori*.

Purification et propriétés de la β -N-acétyl-D-glucosaminidase provenant de l'appareil digestif du ver à soie *B. mori*.

Agr. Biol. Chem., 1986, 50, 2357. (E)

LYLO V.V., SEREBRYANYI S.B.

Production of the purified 11S oligomer of the inclusion body protein of nuclear polyhedrosis virus of the silkworm *Bombyx mori*.

Production de l'oligomère purifié 11S de la protéine de l'inclusion du virus de la polyédrose nucléaire du ver à soie *Bombyx mori*.

Biochemistry USSR, 1986, 51, 34. (E)

MATSUMOTO S., ISOGAI A., SUZUKI A.

Isolation and aminoterminal sequence of melanization and reddish coloration hormone (MRCH) from the silkworm, *Bombyx mori*.

Isolement et séquence aminoterminal de l'hormone de mélanisation et de coloration rougeâtre (MCRH) du ver à soie *Bombyx mori*.

Insect Biochemistry, 1986, 16, 775. (E)

MIKHAILOV V.S., MARLYEV K.A., ATAIEVA D.O., KULLYEV P.K., ATRAZHEV A.M., KRAEVSKII A.A.

Inhibition analysis of DNA replicase (DNA polymerase α -DNA primase complex) and DNA polymerase of nuclear polyhedrosis virus from silkworm cells.

Analyse de l'inhibition de la DNA-replicase (complexe DNA polymérase α -DNA primase) et de la DNA polymérase du virus de la polyédrose nucléaire chez les cellules du ver à soie.

Bioorg. Khim., 1986, 12(5), 626-632. (R)

MIKHAILOV V.S., MARLYEN K.A., ATAIEVA D.O., KULLYEV P.K.

Presence of 3'-5' exonuclease activity in DNA polymerase of the *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus.

Présence d'une activité exonucléase 3'-5' chez la DNA-polymérase du virus de la polyédrose nucléaire de *Bombyx mori*.

Dokl. Akad. Nauk. SSSR, 1986, 288(2), 499-502. (R)

MIYAJIMA S.

Toxic effect of cartap on silkworm larvae. 1) Lethal doses and electrophoretic patterns of silkworm hemolymph.

Effet toxique du cartap sur les larves de ver à soie. 1) Dose létale et figure électrophorétique de l'hémolymphe du ver à soie.

Aichi-ken Nogyo Sogo Shikenjo Kenkyu Hokoku, 1985, 17, 338-341. (J)

NAGASAWA H., KATAOKA H., ISOGAI A., TAMURA S., SUZUKI A., MISOGUCHI A., FUJIWARA Y., SUZUKI A., TAKAHASHI S.Y., ISHIZAKI H.

Aminoacid sequence of a prothoracic hormone of the silkworm *Bombyx mori*.

Séquence des acides aminés d'une hormone prothoracique du ver à soie *Bombyx mori*.

Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1986, 83, 5840. (E)

NAKAMURA M., HORIE Y.

Partial purification and properties of alanine and aspartate aminotransferases in the midgut tissue of the silkworm, *Bombyx mori*.

Purification partielle et propriétés des alanine- et aspartate-aminotransférases des tissus de l'intestin du ver à soie *Bombyx mori*.

Appl. Entomol. Zool., 1986, 21, 236-243. (E)

NANDI J., DAS A.K., SHAMSUDDIN M., MEDDA J.N.

Changes in ascorbic acid concentration in the whole body and in several organs of *Bombyx mori* L. (Nistari) during post-embryonic development.

Modification de la concentration d'acide ascorbique dans le corps entier du ver à soie *Bombyx mori* L. (Nistari) et dans plusieurs de ses organes, pendant le développement post-embryonnaire.

Indian J. Physiol. Allied Sci., 1986, 40(1), 17-25. (E)

OHTAKI T., YAMANAKA F., SAKURAI S.

Differential timing of pupal commitment in various tissues of the silkworm *Bombyx mori*.

Chronologie différentielle de l'engagement de la nymphose chez divers tissus du ver à soie *Bombyx mori*.

J. Insect Phys., 1986, 32, 635. (E)

OSANAI M., AIGAKI T., KASUGA H., YONEZAWA Y.

Role of arginase transferred from the vesicula seminalis during mating and changes in amino acid pools of the spermatophore after ejaculation in the silkworm, *Bombyx mori*.

Rôle de l'arginase transférée des glandes séminales au cours de l'accouplement et changement dans les pools d'acides aminés du spermatophore après éjaculation chez le ver à soie *Bombyx mori*.

Insect Biochem., 1986, 16(6), 879-885. (E)

PII G., et al.

Studies on the sex pheromone of *Euproctis similis xanthocampa*. III. Experiments on monitoring and forecasting populations by using synthetic sex attractant.

Etude de la phéromone sexuelle chez *Euproctis similis xanthocampa*. III. Expériences sur le contrôle et la prévision des populations avec utilisation d'un attractif sexuel synthétique.

Ganyu Kexue, 1986, 12(3), 133. (C,e)

RADZINSKAYA L.I., NIKOL'SKAYA I.S.

Changes in the level of mitochondrial protein and the intensity of respiration during ontogenesis of *Bombyx mori*.

Variations du niveau de la protéine mitochondrienne et intensité de respiration au cours de l'ontogenèse chez *Bombyx mori*.

Ontogenez, 1986, 17(3), 306-309. (R)

SAITO A., KOGA K., SAKAGUCHI B.

Stage dependent synthesis of a protein during post-diapause development of *B. mori*.
Synthèse d'une protéine au cours du développement post-diapause de *B. mori*.

Agr. Biol. Chem., 1986, 50, 2425. (E)

SIMEK V., RODRIK D.

Changes in tissue glycogen and free carbohydrates of hemolymph during the last larval instar and metamorphosis of the silkworm, *Bombyx mori*.

Modification du glycogène des tissus et des hydrates de carbone libres de l'hémolymph, pendant le dernier âge larvaire et la métamorphose du ver à soie *Bombyx mori*.

Acta Entomol. Bohemoslov., 1986, 83(2), 92-100. (E)

SINGH S.P., SINGH J.

Tissue specific kinetic properties of trehalase in the eri-silkworm, *Philosamia ricini*.

Propriétés cinétiques spécifiques des tissus, de la tréhalase chez le ver à soie eri *Philosamia ricini*.

Comp. Physiol. Ecol., 1986, 11(1), 28-31. (E)

SRINIVAS P., RAMMURTHY M., RAO M., PURUSHOTHAM A.

Effect of rogor on certain aspects of metamorphosis in silkworm, *Bombyx mori*.

Effets du rogor sur certains aspects de la métamorphose chez le papillon *Bombyx mori*.

Geobios, 1985, 12(5), 216-218. (E)

STEINBRECHT R.A.

ATPase particles (portosomes) on mitochondrial cristae and the plasma membrane of an insect as demonstrated by freeze substitution.

Particules ATPase (portosomes) sur les cristaux mitochondriaux et la membrane plasmique d'un insecte. Démonstration par substitution par congélation.

Naturwissenschaften, 1986, 73(5), 275-276. (E)

TAO L.

Purification and properties of γ -glutamylcyclotransferase from the silkworm, *Bombyx mori* L.

Purification et propriétés de la γ -glutamylcyclotransférase du ver à soie *Bombyx mori* L.

Can. J. Biochem., 1986, 64(3), 143. (C,e)

UNNI B.

Effect of X-irradiation of some enzymes on carbohydrate metabolism in *Philosamia ricini* (eri silkworm) pupae.

Effets de l'irradiation aux rayons X de certains enzymes sur le métabolisme des hydrates de carbone chez les chrysalides du ver à soie eri *Philosamia ricini*.

Orient. J. Chem., 1986, 2(2), 149-151. (E)

WU A.Z., SUN Y.K.

Isolation and reconstitution of the RNA replicase of the cytoplasmic polyhedrosis virus of silkworm, *Bombyx mori*.

Isolement et reconstitution de la RNA replicase du virus de la polyédrose cytoplasmique du ver à soie *Bombyx mori*.

Theor. & Appl. Genetics, 1986, 72, 662. (E)

ZOU B., LIN H., XU T.

Studies on γ -glutamyl transpeptidase in *Philosamia cynthia ricini*.

Etudes sur la γ -glutamyl transpeptidase chez *Philosamia cynthia ricini*.

Kunchong Xuebao, 1986, 29(1), 16-24. (C)

Vers à soie : oeufs, embryologie.

Silkworms: eggs, embryology.

BOCK S.C., CAMPO K., GOLDSMITH M.R.

Specific protein synthesis in cellular differentiation. 6) Temporal expression of chorion gene families in *B. mori* strain C108.

Synthèse d'une protéine spécifique de la différenciation cellulaire. 6) Expression temporelle des familles de gènes du chorion chez la souche C108 du ver à soie *Bombyx mori*.

Dev. Biol., 1986, 117, 215. (E)

BURKE W.D., EICKBUSH T.H.

The silkworm late chorion locus. 1) Variation within two paired multigene families.

Le locus des gènes tardifs du chorion du ver à soie. 1) Variation à l'intérieur de deux familles multigéniques appariées.

J. Mol. Biol., 1986, 190, 343. (E)

EICKBUSH T.H., BURKE W.D.

The silkworm late chorion locus. 2) Gradients of gene conversion in two paired multigene families.

Le locus des gènes tardifs du chorion du ver à soie. 2) Gradients de conversion dans deux familles multigéniques appariées.

J. Mol. Biol., 1986, 190, 357. (E)

HAMODRAKAS S.J., MARGARITIS L.H., PAPASSIDERI I., FOWLER A.

Fine structure of the silkworm *Antheraea polyphemus* chorion as revealed by X-ray diffraction and freeze fracturing.

Structure fine du chorion du ver à soie *Antheraea polyphemus* telle qu'elle est révélée par l'irradiation aux rayons X et le fractionnement par congélation.

Int. J. of Biological Macromolecules, 1986, 8, 237.

HATZOPOULOS A.K., REGIER J.C.

Organisation of regionally expressed silkworm chorion genes.

Organisation des gènes du chorion exprimés régionalement.

Mol. Cell Biol., 1986, 6, 3215-3220. (E)

KAFATOS F.C., MITSIALIS S.A., SPOEREL N., MARIANI B., LINGAPPA J.R., DELIDAKIS G.
Studies on the developmentally regulated expression and amplification of insect chorion genes.

Etudes sur la régulation de l'expression au cours du développement et l'amplification des gènes du chorion chez les insectes.

Cold Spring Harbor Symp. Quantitative Biology, 1985, 50, 537-547. (E)

KIMURA K., KIUCHI M., AKAI H.

Effects of JH analogue and anti-JH treatments on the number and size of silkworm eggs.

Effets des traitements par l'analogue de l'hormone juvénile et d'une anti-JH sur le nombre et la taille des oeufs du ver à soie.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 335-337. (J,e)

KOBAYASHI J., EBINUMA H., KOBAYASHI M., YOSHITAKE N.

Effect of photoperiod on the diapause egg production in the tropical races of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effet de la photopériode sur la production d'oeufs diapausants chez les races tropicales du ver à soie *Bombyx mori*.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 322-328. (J,e)

KOBAYASHI J., EBINUMA H., KOBAYASHI M.

Effect of temperature on the diapause egg production in the tropical race of the silkworm, *Bombyx mori*.

Effet de la température sur la production d'oeufs diapausants chez les races tropicales du ver à soie *Bombyx mori*.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 343-348. (J,e)

LECANIDOU R., RODAKIS G.C., EICKBUSH T.H., KAFATOS F.C.

Evolution of the silkworm chorion gene superfamily: gene families CA and CB.

Evolution de la superfamille des gènes du chorion du ver à soie : les familles de gènes CA et CB.

P.N.A.S., 1986, 83, 6514. (E)

OHNISHI E.

Ovarian ecdysteroids of *B. mori*: retrospect and prospect.

Ecdystéroïdes ovariens de *B. mori* : rétrospective et perspectives.

Zool. Sci., 1986, 3(3), 401-407. (E)

REGIER J.C.

Evolution and higher-order structure of architectural proteins in silkworm chorion.

Evolution et structure d'ordre élevé des protéines architecturales chez le chorion du ver à soie.

EMBO J., 1986, 5, 1981. (E)

SUNOBE H.

Studies on the embryonic diapause of the *pnd* mutant of the silkworm, *Bombyx mori*.
I. Responsiveness of the ovaries to the diapause factor.

Etudes sur la diapause embryonnaire du mutant *pnd* du ver à soie *Bombyx mori*.
I. Réponse ovarienne au facteur de la diapause.

Mem. Konan Univ., Sci. Ser., 1984, 31(2), 95-103. (E)

TAN E., SUZUKI K., KUWANO E., ABE S., KURIHARA M.

Effect of anti-JH (KK-42) treatment on the breaking of the diapause of the eggs of the silkworm, *Antheraea yamamai*.

Effet du traitement à l'anti-hormone juvénile (KK-42) sur l'interruption de la diapause des oeufs du ver à soie *Antheraea yamamai*.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 305-308. (J,e)

ZHU J., INDRASITH L.S., YAMASHITA O.

Characterization of vitellin, egg-specific protein and 30 kDa protein from *Bombyx* eggs, and their fates during oogenesis and embryogenesis.

Caractérisation de la vitelline, de la protéine spécifique de l'oeuf et de la protéine 30 kDa provenant des oeufs de *Bombyx* et leurs destins au cours de l'ovogenèse et de l'embryogenèse.

Biophys. Biochim. Acta, 1986, 882, 427.

Vers à soie : glandes séricigènes. Silkworms: silkglands.

CHEVILLARD M., COUBLE P., PRUDHOMME J.C.

Complete nucleotide sequence of the gene encoding the *Bombyx mori* silk protein P25 and predicted amino acid sequence of the protein.

Séquence nucléotidique complète du gène codant pour la protéine de la soie P25 de *Bombyx mori* et séquence probable des acides aminés de la protéine.

Nucl. Acid Res., 1986, 14(15), 6341-6342. (E)

MOUNIER N., PRUDHOMME J.C.

Isolation of actin genes in *Bombyx mori*: the coding sequence of a cytoplasmic actin gene expressed in the silk gland is interrupted by a single intron in an unusual position.

Isolement de gènes d'actine chez *Bombyx mori* : la séquence codante d'un gène d'actine cytoplasmique, exprimé dans la glande séricigène, est interrompue par un intron unique dans une position inhabituelle.

Biochimie, 1986, 68, 1053-1061. (E,f)

TRIPOULAS N.A., SAMOLS D.

Developmental and hormonal regulation of sericin mRNA in the silkworm *Bombyx mori*.

Régulation hormonale et au cours du développement de l'ARNm de la sérécine chez le ver à soie *Bombyx mori*.

Dev. Biol., 1986, 116, 328. (E)

UEDA H., MIZUNO S., SHIMURA K.

Transposable genetic element found in the 5' flanking region of the fibroin H-chain in a genomic clone from the silkworm *Bombyx mori*.

Élément génétique transposable se trouvant dans la région flanquante 5' de la chaîne lourde de la fibroïne chez un clone génomique du ver à soie *Bombyx mori*.

J. Mol. Biol., 1986, 190, 319.

Soie

Silk

ASAKURA T.

Carbon-13 NMR study of silk fibroin structure in solution, in the solid state, and in silkworm.

Etude par NMR du carbone-13 de la structure de la fibroïne en solution, à l'état solide, et dans le ver à soie.

Proc. Int. Wool Text. Res. Conf. 7th, 1985, 1, 354-363. (E)

DOHMYO M., SHIMIZU Y., KIMURA M.

Dyeing of silk with new types of marketed dyes.

Teinture de la soie avec de nouveaux types de colorants commercialisés.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 338-342. (J,e)

IIZUKA E.

Silk thread-mechanism of the spinning and the physical properties.

Mécanisme du filage du fil de soie et propriétés physiques.

Proc. Int. Wool Text. Res. Conf. 7th, 1985, 1, 319-328. (E)

KOMATSU K.

Chemical and structural studies of silk sericin.

Etudes chimiques et structurales de la sérécine.

Proc. Int. Wool Text. Res. Conf. 7th, 1985, 1, 373-382. (E)

MAGOSHI J., KAMIYAMA S., NAKAMURA S.

Crystallization of silk fibroin induced under various conditions.

Cristallisation de la fibroïne induite dans diverses conditions.

Proc. Int. Wool Text. Res. Conf. 7th, 1985, 1, 337-344. (E)

MAGOSHI J., MAGOSHI Y., NAKAMURA S.

Liquid crystal and fiber formation of silk.

Cristal liquide et formation de la fibre de soie.

Proc. Int. Wool Text. Res. Conf. 7th, 1985, 1, 239-336. (E)

MITSUISHI M., YAGI T., ISHIWARI T.

Mixture dyeing of silk with acid dyes. I. Equilibrium study.

Teinture mixte de la soie avec des colorants acides. I. Etude d'équilibre.

J. Seric. Sci. Jpn., 1986, 55(4), 314-321. (J,e)

MORIMOTO H., ARIHARA S., IKUINE T.

Physical and chemical characteristics of the newly formed raw silk.

Caractéristiques physiques et chimiques de la soie grège nouvellement formée.

Kito Kensa Kenkyu Hokoku, 1985, 39, 35-49.

NAGURA M., YAMAZAKI S., TSUKADA M.

Structural changes in tussah silk fibroin and the model polypeptide.

Changements de la structure de la fibroïne de soie tussah et le polypeptide modèle.

Proc. Int. Wool Text. Res. Conf. 7th, 1985, 1, 345-353. (E)

SATO K.

Anisotropic electro-polarization effects induced in C₂-O bonds present around the α -helices of silk fibroin.

Effets d'électropolarisation anisotrope induits dans les liaisons C₂-O présentes autour des hélices α de la fibroïne.

Int. J. Infrared Millimeter Waves, 1986, 7, 927-947. (E)

SATO K.

Anisotropic C₂-O reflection bands measured in α -helices of silk fibroin.

Bandes de réflexion C₂-O anisotropes mesurées dans les hélices α de la fibroïne.

Int. J. Infrared Millimeter Waves, 1986, 7, 949-961. (E)

SONG Z.T., SPEAKMAN P.T.

Action of α chymotrypsin on silk fibroin at pH5 and pH6.

Action de la chymotrypsine α sur la fibroïne à pH 5 et pH 6.

Proc. Int. Wool Text. Res. Conf. 7th, 1985, 1, 364-372. (E)

TSUKADA M., NAGURA M., ISHIKAWA H.

Molecular conformation and crystalline structure in model compounds of silk sericin.

Conformation moléculaire et structure cristalline des composés modèles de la sérécine.

Proc. Int. Wool Text. Res. Conf. 7th, 1985, 1, 383-388. (E)

YOSHIDA M.

Studies on the physicochemical properties of fresh cocoon raw silk. 3) On the photo-degradation of the silk and yellowing silk induced by ultraviolet radiation.

Etudes sur les propriétés physicochimiques de la soie grège des cocons frais. 3) Photodégradation de la soie et jaunissement de la soie induits par les rayons ultraviolets.

Kiito Kensa Kenkyu Hokoku, 1985, 39, 15-22. (J)

Directeur Gérant : Dr H. BOUVIER

Dépôt Légal : 4e trimestre 1986